علوم باغبانی ایران
دورهٔ ۴۷، شمارهٔ ۳، پاییز ۱۳۹۵ (ص ۵۵۲-۵۴۳) DOI: 10.22059/ijhs.2016.59816

بررسی تأثیر محلول‌پاشی آهن بر برخی فراسنجه‌های بیوشیمیایی و نورساختی گیاه ریحان مقدس (*Ocimum sanctum*)

محمد محمودی سورستانی[1*]، امل مقدم[2] و احمد فرخیان فیروزی[3]
۱، ۲ و ۳. استادیار، دانشجوی کارشناسی ارشد و استادیار، دانشکدهٔ کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۱۱/۲۷- تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۲/۲۹)

چکیده

ریحان مقدس (*Ocimum sanctum*) یکی از مهم‌ترین گیاهان دارویی تیرهٔ نعناعیان است. به‌منظور بررسی تأثیر محلول‌پاشی آهن بر میزان آهن جذب‌شده، سبزینه (کلروفیل) و فراسنجه‌های نورساختی (فتوسنتزی) ریحان مقدس، آزمایشی در سال زراعی ۹۱-۱۳۹۲ در مزرعهٔ تحقیقاتی گروه علوم باغبانی، دانشگاه شهید چمران اهواز بر پایهٔ طرح بلوک‌های کامل تصادفی در شش تیمار و سه تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل: شاهد (بدون محلول‌پاشی)، محلول‌پاشی با کلات آهن (۱ و ۱/۵ گرم در لیتر) و نانوکلات آهن (۰/۵، ۱ و ۱/۵ گرم در لیتر) بودند. نتایج نشان داد، کاربرد محلول‌پاشی کود آهن بر صفات میزان آهن و سبزینه برگ، نرخ هدایت روزنه‌ای، تعرق، نورساخت خالص و کارایی مصرف نور در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود. بیشترین میزان آهن جذب‌شده، هدایت روزنه‌ای، نرخ تعرق و کارایی مصرف نور در تیمار محلول‌پاشی ۱ گرم در لیتر نانوکلات آهن مشاهده شد. همچنین بیشترین میزان سبزینه، کاروتنوئید و نرخ نورساخت خالص در تیمار محلول‌پاشی ۱/۵ گرم در لیتر نانوکلات آهن به‌دست آمد. کمترین میزان صفات یادشده در تیمار شاهد مشاهده شد. ترکیب غالب اسانس گیاه شامل اوژنول، ۱،۸- سینئول و متیل‌کاویکول بود. بر پایهٔ نتایج به‌دست‌آمده، برای بهبود صفات یادشده، محلول‌پاشی ۱ گرم در لیتر نانوکلات آهن پیشنهاد می‌شود.

واژه‌های کلیدی: ریحان مقدس، سبزینه، کود آهن، نورساخت.

The effect of foliar application of iron on some biochemical and photosynthetic characteristics of Holy basil (*Ocimum sanctum*)

Mohammad Mahmoodi Sourestani[1*], Emel Moghadam[2] and Ahmad Farrokhian Firoozi[3]
1, 2, 3. Assistant Professor, M.Sc. Student and Assistant Professor, Faculty of Agriculture, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
(Received: Feb. 16, 2015 - Accepted: May 19, 2015)

ABSTRACT

Holy basil (*Ocimum sanctum*) is one of the important medicinal plant belongs to Lamiaceae family. In order to evaluate the effect of foliar application of iron on iron and chlorophyll contents and photosynthetic parameters of holy basil, an experiment was conducted at research farm of Department of Horticultural Science, Shahid Chamran University of Ahvaz based on randomized complete block design, with six treatments and three replications. The treatments were control, nano iron chelate (0.5, 1 and 1.5 $g.l^{-1}$) and iron chelate (1 and 1.5 $g.l^{-1}$) fertilizers. The results showed that the effect of foliar application of iron fertilizers was significant on iron and chlorophyll contents, stomatal conductance, transpiration, net photosynthesis and quantum yield. The highest iron content, stomatal conductance, transpiration and quantum yield were observed in plant sprayed with 1 $g.l^{-1}$ nano iron chelate. The highest values of chlorophyll, cartenoid and net photosynthesis were obtained in plant sprayed with 1.5 $g.l^{-1}$ nano iron chelate. The lowest values of mentioned traits were observed in control treatment. Eugenol, 1,8-cineol and methyl chavicol were the main oil components. Overall, in regard to obtained results, for increasing mentioned traits of holy basil, foliar application of nano iron chelate with 1 $g.l^{-1}$ is recommended.

Keywords: chlorophyll, Holy basil, iron, net photosynthesis.

* Corresponding author E-mail: f_mahmoodi2000@yahoo.com Tel: +98 912 8087712, +98 611 3364053

مقدمه

ریحان مقدس (*Ocimum sanctum*) گیاهی چندساله و متعلق به تیرهٔ نعناعیان است که به‌صورت بوته‌ای رشد کرده و ارتفاع آن بسته به شرایط اقلیمی محل رویش بین ۶۰-۳۰ سانتی‌متر است، این گیاه شاخه‌های پرشمار با برگ‌های کوچک، ساده و کرک‌دار دارد (Pojjanapimol, 2004). از اثرگذاری‌های دارویی این گیاه می‌توان به درمان بیماری‌های پوستی (Harsa *et al*., 2003)، زخم معده، ورم مفاصل، درمان دیابت (Mondal *et al*., 2009)، چربی خون (Kalyankumar *et al*., 2012) و تنگی نفس (Harsa *et al*., 2003) اشاره کرد. اسانس ریحان مقدس به‌وفور در صنایع آرایشی و بهداشتی، صنایع غذایی و عطرسازی کاربرد دارد (Kakaraparthi *et al*., 2013). همچنین این گیاه طیف گسترده‌ای از فعالیت‌های زیستی (بیولوژیکی) مانند کنترل آفات (Sharma, 2010)، خواص ضد باکتری، ضدقارچی و ضدمیکروبی (Prakash & Gupta, 2005) دارد. وجود این خواص منحصربه‌فرد سبب شده نام ملکهٔ گیاهان دارویی به این گیاه نسبت داده شود (Kibler, 2014).

گسترهٔ زیادی از خاک ایران به دلیل آهکی بودن دچار کمبود آهن هستند. از مهم‌ترین ویژگی‌های خاک‌های آهکی می‌توان به مادهٔ آلی کم، pH بالا و غلظت زیاد بی‌کربنات اشاره کرد (Khoshgoftarmanesh, 2007). در این خاک‌ها آهن ممکن است برای گیاه غیرمتحرک و غیرقابل‌دسترس شود. یکی از روش‌های تأمین عناصر کانی موردنیاز گیاهان، تغذیهٔ برگی است. در این روش عناصر موردنیاز گیاه به‌سرعت و با کارایی نسبی بالایی به‌وسیلهٔ گیاه استفاده می‌شود. کلات‌های آهن مؤثرترین کود برای برطرف کردن کمبود آهن در خاک‌های آهکی هستند (Khoshgoftarmanesh, 2007). گزارش شده کاربرد کود آهن در گیاه سیاه‌دانه (Kakaraparthi *et al*., 2003) باعث افزایش غلظت آهن گیاه می‌شود. در تحقیق دیگری تأثیر کاربرد خاکی و محلول‌پاشی آهن بر گیاه زینتی اسپاتی‌فیلیوم بررسی و نتایج نشان داده است که بیشترین میزان سبزینهٔ (کلروفیل) برگ با محلول‌پاشی کلات آهن به‌دست می‌آید (Mohammadi poor *et al*., 2013). همبستگی مثبت و معنی‌داری بین میزان عنصر آهن مصرفی و میزان سبزینه و میانگین کارایی فتوشیمیایی نظام نورساختی (فتوسنتزی) II در گل رز مشاهده شده است (Kiani, 2012). با توجه به نقش عنصر آهن در تغذیه، سوخت‌وساز (متابولیسم) و رشد گیاهان و همچنین شرایط اقلیمی و خاکی (ادافیکی) استان خوزستان و همچنین به دلیل اهمیت گیاه دارویی ریحان مقدس و نبود اطلاعات کافی دربارهٔ تغذیه آن، این پژوهش با هدف بررسی تغذیهٔ گیاه با آهن و تأثیر آن روی سبزینه، فراسنجه‌های نورساختی و اجزای اسانس گیاه دارویی ریحان مقدس طراحی و اجرا شد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در مزرعهٔ تحقیقاتی گروه علوم باغبانی دانشگاه شهید چمران اهواز طی سال‌های ۹۲-۱۳۹۱ در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با شش تیمار و سه تکرار طراحی و اجرا شد. تیمارهای آزمایشی شامل: شاهد (محلول‌پاشی با آب مقطر)، محلول‌پاشی نانوکلات آهن با غلظت‌های ۰/۵، ۱ و ۱/۵ گرم در لیتر و کلات آهن با غلظت‌های ۱ و ۱/۵ گرم در لیتر بودند. نانوکلات آهن از شرکت خضرا خریداری و ۹ درصد آهن داشت. کود کلات آهن از نوع Fe-EDTA (شرکت سیبا، انگلستان) و ۱۳/۲ درصد آهن داشت. بدین منظور پس از شخم عمیق قطعه زمین آزمایشی، دیسک‌زنی و تسطیح کامل انجام گرفت. پیش از کاشت گیاه، نمونهٔ مرکب از عمق ۰-۳۰ سانتی‌متری خاک به‌طور تصادفی تهیه و برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی آن اندازه‌گیری شد (جدول ۱). پس از ایجاد ردیف‌های موردنظر، زمین به سه بلوک که هر بلوک شش واحد آزمایشی را در بر داشت تقسیم و در هر واحد آزمایشی چهار پشته به طول ۲ متر قرار داده شد. پس از تهیهٔ زمین، بذرها بافاصله روی ردیف ۱۵ سانتی‌متر و بین ردیف ۴۰ سانتی‌متر کشت شدند. نخستین آبیاری بی‌درنگ پس از کشت بذر انجام شد. مراقبت‌های زراعی لازم ازجمله وجین علف‌های هرز در زمان‌های لازم و به‌صورت دستی انجام گرفت. پس

از استقرار کامل گیاه، نخستین محلول‌پاشی در مرحلهٔ شش تا هشت برگی انجام و تا مرحلهٔ تمام گل در فاصله‌های زمانی پانزده روز تکرار و به‌طورکلی گیاهان در طول دورهٔ یادشده سه مرتبه محلول‌پاشی شدند. برای اندازه‌گیری میزان آهن قابل‌جذب برگ، از روش خاکستر خشک برای هضم نمونه‌ها استفاده شد (Lindsay & Norvell, 1978). سپس میزان آهن عصارهٔ به‌دست‌آمده با استفاده از دستگاه جذب اتمی با طول‌موج ۲۴۸/۳ نانومتر خوانده شد. به‌منظور اندازه‌گیری میزان سبزینهٔ a، b و کاروتنوئید، پس از پایان دورهٔ رویشی گیاه نمونه‌هایی از برگ‌های بالغ و بسیار توسعه‌یافتهٔ جفت برگ ششم و هشتم برداشت و از روش آرنون (Arnon, 1967) استفاده شد. میزان جذب نمونه‌ها در سه طول‌موج ۶۶۳، ۶۴۵ و۴۷۰ نانومتر (به ترتیب برای سبزینهٔ a، b و کارتنوئید) توسط دستگاه طیف‌سنج نوری (اسپکتروفتومتر) خوانده شد. برای اندازه‌گیری نرخ نورساخت خالص، نرخ تعرق، نرخ هدایت روزنه‌ای و غلظت CO_2 زیر روزنه‌ای از دستگاه تجزیه‌گر فروقرمز دی‌اکسیدکربن مدل LCA_4 استفاده شد. کارایی مصرف آب و عملکرد کوانتومی نورساخت با توجه به رابطه‌های زیر محاسبه شدند (Mahmoodi, 2013):

$$WUE = Pn/ E \quad (۱)$$

$$QYP = Pn/ PAR \quad (۲)$$

در رابطه‌های بالا WUE: کارایی مصرف آب، Pn: نورساخت خالص، E: تعرق، QYP: عملکرد کوانتومی نورساخت و PAR: میزان تابش فعال نور خورشید هستند.

گیاه ریحان مقدس در مرحلهٔ تمام گل برداشت و در سایه، با رطوبت پایین و در دمای اتاق (۳۰ درجهٔ سلسیوس) خشک و اسانس آن به مدت سه ساعت با استفاده از دستگاه کلونجر استخراج شد. برای تعیین کمیت و کیفیت ترکیب‌های تشکیل‌دهندهٔ اسانس‌ها از دستگاه فام‌نگار (کروماتوگرافی) گازی (GC) و فام‌نگار گازی متصل به طیف‌سنج جرمی (GC/MS) استفاده شد.

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS تجزیه‌وتحلیل شد. سپس میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن مقایسه شد و همبستگی آن‌ها نیز با نرم‌افزار SPSS تعیین شد.

جدول ۱. ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک محل آزمایش (عمق ۳۰-۰ سانتی‌متری)

Table 1. Physical and chemical properties of field soil (0-30 cm)

Texture	pH	EC ($ds.m^{-1}$)	Organic matter (%)	Total N (%)	P	K	Fe	Zn	Mn	Cu
					$mg.kg^{-1}$					
Loam Sandy	7.85	7.0	0.93	0.03	34	355	1.8	1.6	2.6	0.6

نتایج

نتایج به‌دست‌آمده از تجزیهٔ واریانس نشان داد محلول‌پاشی آهن اثر معنی‌داری بر غلظت آهن گیاه، میزان سبزینهٔ a، b، کاروتنوئید و فراسنجه‌های نورساختی مانند نرخ هدایت روزنه‌ای، نرخ نورساخت خالص، نرخ تعرق و کارایی مصرف نور داشت ولی اثر معنی‌داری بر میزان کارایی مصرف آب و میزان CO_2 زیر روزنه‌ای گیاه نداشت (جدول ۲).

میزان آهن

جدول تجزیهٔ واریانس نشان داد، تأثیر غلظت‌های مختلف کود آهن بر میزان آهن گیاه در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شد (جدول ۲). بیشترین میزان آهن برگ (۳۲۰/۴۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن خشک) در تیمار ۱ گرم در لیتر نانوکلات آهن مشاهده شد. تیمارهای ۱/۵ گرم در لیتر نانوکلات آهن (۲۸۵/۶۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن خشک) و ۱/۵ گرم در لیتر کلات آهن (۲۷۳/۴۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن خشک) در یک گروه قرار گرفتند و با دیگر تیمارها اختلاف معنی‌داری نشان دادند. پس از تیمارهای یادشده، تیمار ۰/۵ گرم در لیتر نانوکلات آهن (۲۰۴/۴۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن خشک) و ۱ گرم در لیتر کلات آهن (۱۸۲/۸۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن خشک) افزایش میزان آهن را در برگ نسبت به تیمار شاهد در پی داشت. کمترین غلظت آهن برگ (۱۰۰/۰۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن خشک) در تیمار

شاهد مشاهده شد (جدول ۳). نتایج همسانی در رابطه با تأثیر کود آهن بر غلظت آهن دیگر گیاهان وجود دارد. در تحقیقی کاربرد سولفات آهن سبب افزایش غلظت عنصر آهن بابونهٔ آلمانی شده است (Nasiri *et al*., 2013). نتایج تجزیهٔ خاک (جدول ۱) نشان داد میزان pH و شوری خاک منطقهٔ مورد آزمایش بالا است. از سوی دیگر میزان آهن قابل‌جذب خاک کمتر از حد بحرانی یعنی ۵ میلی‌گرم در کیلوگرم بود. ازآنجاکه وجود میزان بالای pH و شوری خاک از جذب آهن از راه خاک جلوگیری می‌کند، بنابراین به دلیل نامساعد بودن شرایط جذب آهن توسط خاک، محلول‌پاشی آهن بهترین و کارآمدترین راه برای تأمین این عنصر در گیاه است (Khoshgoftarmanesh, 2007). در این تحقیق مشاهده شد نانوکلات آهن تأثیر بیشتری نسبت به کلات آهن معمولی بر جذب آهن توسط گیاه داشت. دلیل این امر به‌احتمال تحرک‌پذیری، حلالیت و واکنش‌پذیری بیشتر و نیز اندازهٔ کوچک‌تر نانوکلات نسبت به کلات معمولی است که این امر جذب آهن توسط گیاه را آسان‌تر می‌کند (Mazaherinia *et al*., 2010). همچنین نانوکلات آهن می‌تواند آسان‌تر و به میزان بیشتری در برگ گیاه نفوذ کند و از راه پوستک (کوتیکول) و روزنه‌ها جذب و با طی کوتاه‌ترین مسیر ممکن وارد دسته‌های آوندی، یاخته‌های میان‌برگ (مزوفیل) و آپوپلاست شود و تأثیر بیشتری بر گیاه بگذارد. در نتیجه غلظت آهن بافت گیاه را به میزان بیشتری نسبت به کلات‌های معمولی افزایش می‌دهد (Mazaherinia *et al*., 2010).

میزان سبزینهٔ a

نتایج تجزیهٔ واریانس نشان داد تأثیر غلظت‌های مختلف کود آهن بر میزان سبزینهٔ a در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شد (جدول ۲). مقایسهٔ میانگین تیمارها (جدول۳) نشان داد تیمار ۱/۵ گرم در لیتر نانوکلات آهن سبب افزایش دو برابری میزان سبزینهٔ a نسبت به تیمار شاهد شد. بیشترین میزان سبزینهٔ a (۱/۰۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در تیمار ۱/۵ گرم بر لیتر نانوکلات آهن به دست آمد. این تیمار با دیگر تیمارها به‌جز ۱ گرم در لیتر نانوکلات آهن (۰/۹۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) اختلاف معنی‌داری نشان داد. تیمارهای ۱/۵ گرم در لیتر کلات آهن (۰/۶۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و ۰/۵ گرم بر لیتر نانوکلات آهن (۰/۷۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند. کمترین میزان سبزینهٔ a (۰/۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در تیمار شاهد و ۱ گرم در لیتر کلات آهن (۰/۵۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) مشاهده شد.

میزان سبزینهٔ b

جدول تجزیهٔ واریانس (جدول ۲) نشان داد تأثیر غلظت‌های مختلف کود آهن بر میزان سبزینهٔ b در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شد. با توجه به مقایسهٔ میانگین تیمارها، با افزایش غلظت آهن، میزان سبزینهٔ b نیز افزایش یافت. به‌طوری‌که بیشترین میزان سبزینهٔ b (۰/۳۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در گیاهان تیمار شده با ۱/۵ گرم در لیتر نانو کلات آهن به دست آمد. این تیمار با دیگر تیمارها به‌جز ۱ گرم در لیتر نانو کلات آهن (۰/۳۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) اختلاف معنی‌داری نشان داد. دو تیمار ۰/۵ گرم در لیتر نانوکلات آهن (۰/۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و ۱/۵ گرم در لیتر کلات آهن (۰/۲۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند. کمترین میزان سبزینهٔ b (۰/۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در تیمار شاهد مشاهده شد. بین این تیمار و تیمار ۱ گرم بر لیتر کلات آهن (۰/۲۴ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (جدول ۳).

میزان سبزینهٔ کل

نتایج به‌دست‌آمده از تجزیهٔ واریانس نشان داد تأثیر محلول‌پاشی آهن بر میزان سبزینهٔ کل در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شد (جدول ۲). بیشترین میزان سبزینهٔ کل (۱/۳۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) به گیاهان تیمارشده با ۱/۵ گرم در لیتر نانوکلات آهن و کمترین میزان (۰/۷۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) به تیمار شاهد تعلق داشت. تیمار ۱ گرم در لیتر نانوکلات آهن (۱/۲۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) اختلاف معنی‌داری با تیمار ۱/۵ گرم در لیتر نانوکلات آهن نشان نداد. همچنین تیمارهای ۰/۵ گرم در لیتر

نانوکلات آهن و ۱/۵ گرم در لیتر کلات آهن اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند (به ترتیب ۱/۰۱ و ۰/۹۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر). بین تیمار ۱ گرم در لیتر کلات آهن (۰/۷۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (جدول ۳).

میزان کاروتنوئید

نتایج تجزیهٔ واریانس نشان داد تأثیر غلظت‌های مختلف کود آهن بر میزان کاروتنوئید در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شد. بیشترین میزان کاروتنوئید (۰/۱۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در تیمار ۱/۵ گرم در لیتر نانوکلات آهن مشاهده شد. این تیمار با دیگر تیمارهای کود آهن به‌جز ۱ گرم در لیتر نانوکلات آهن (۰/۱۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و ۱/۵ گرم در لیتر کلات آهن (۰/۱۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) اختلاف معنی‌داری داشت و سبب افزایش دو برابری میزان کاروتنوئید نسبت به تیمار شاهد شد. دو تیمار ۱ گرم در لیتر کلات آهن (۰/۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و ۰/۵ گرم در لیتر نانوکلات آهن (۰/۱۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند. کمترین میزان کاروتنوئید (۰/۰۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در تیمار شاهد مشاهده شد (جدول۳).

افزایش میزان سبزینهٔ برگ در نتیجه افزایش میزان آهن مصرفی با تحقیقات انجام‌شده توسط دیگر محققان روی ریحان همخوانی دارد (Peyvandi *et al.*, 2011). نتایج آزمایش دیگری روی مرزه نشان داد، کاربرد نانوکلات آهن و کلات آهن سبب افزایش میزان سبزینهٔ کل و کاروتنوئید گیاه دارویی مرزه می‌شود (Peyvandi *et al.*, 2011). نتایج همسانی در تحقیق روی گیاه چغندرقند گزارش شده است (Larbi *et al.*, 2001). آهن در ساختار سبزینه نقش بسیار مهمی دارد، در این فرآیند در آغاز ترکیب‌هایی هم ساخته می‌شود که مولکول آن به‌طورکلی همسان سبزینه است با این تفاوت که به‌جای منیزیم در مرکز آن، عنصر آهن قرار می‌گیرد. جابه‌جایی این عناصر سبزینه را می‌سازد و به همین دلیل کمبود آهن در گیاه سبب کاهش سبزینه می‌شود افزایش میزان سبزینه در نتیجه افزایش میزان کاربرد آهن، به دلیل نقش مهم آهن در ساخت سبزینه است. از سویی عنصر آهن نقش مهمی در نظام‌های آنزیمی مانند کاتالاز، پراکسیداز، سیتوکروم اکسیداز و سیتوکروم دارد. بنابراین در شرایطی که گیاه تحت تأثیر تنش‌های محیطی قرار می‌گیرد، از تجزیهٔ سبزینه جلوگیری می‌کند (Marscher, 2011).

جدول ۲. تجزیهٔ واریانس صفات غلظت آهن، سبزینه و فراسنجه‌های نورساختی گیاه دارویی ریحان مقدس (*Ocimum sanctum*) تحت تیمارهای کود آهن

Table 2. Analysis of variance of Fe content, chlorophyll and photosynthesis parameters of holy basil (*Ocimum sanctum*) under Fe fertilizer treatments

Source of variation	df	MS										
		Fe content	Chlorophyll a	Chlorophyll b	Total chlorophyll	Carotenoid	Stomatal conductance	Net photosynthesis	Transpiration	Light Use Efficency	Water Use Efficency	CO_2 under stomatal
Block	2	39.15^{ns}	0.01^{ns}	0.003^{ns}	0.23^{ns}	0.0004^{ns}	0.03^{ns}	1.00^{ns}	0.59^{ns}	0.058^{ns}	1.25^{ns}	2031.8^{ns}
Treatment	5	19742.03^{**}	0.13^{**}	0.014^{**}	0.029^{**}	0.004^{**}	0.006^{**}	0.85^{**}	0.05^{**}	23.30^{**}	0.22^{ns}	592.23^{ns}
Error	10	140.64	0.007	0.001	0.014	0.0007	0.004	1.07	0.05	0.485	0.38	993.47
CV (%)		5.2	11.9	18.67	13.87	17.38	14.99	10.79	11.03	10.78	13.65	17.19

ns، * و **: به ترتیب نبود تفاوت معنی‌دار و معنی‌داری در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.

ns, * and **: non significant, significant at 5% and significant at 1% , respectively.

میزان هدایت روزنه‌ای

نتایج به‌دست‌آمده از تجزیهٔ واریانس (جدول ۲) نشان داد محلول‌پاشی گیاهان با کود آهن اثر معنی‌داری بر میزان هدایت روزنه‌ای گیاه در سطح احتمال ۱ درصد دارد. بیشترین میزان هدایت روزنه‌ای (۴۰۱ میلی‌مول آب بر مترمربع در ثانیه) با محلول‌پاشی ۱ گرم در لیتر

نانو کلات آهن به دست آمد. گیاهان تیمارشده با ۱/۵ گرم در لیتر نانوکلات آهن (۲۹۴ میلی‌مول آب بر مترمربع در ثانیه)، ۰/۵ گرم در لیتر نانوکلات آهن (۲۸۱ میلی‌مول آب بر مترمربع در ثانیه) و ۱/۵ گرم در لیتر کلات آهن (۲۶۵ میلی‌مول آب بر مترمربع در ثانیه) اختلاف معنی‌داری از نظر میزان هدایت روزنه‌ای با هم نداشتند. کمترین میزان هدایت روزنه‌ای در تیمار شاهد (۱۷۴ میلی‌مول آب بر مترمربع در ثانیه) مشاهده شد. این تیمار با تیمار ۱ گرم در لیتر کلات آهن (۱۷۶ میلی‌مول آب بر مترمربع در ثانیه) اختلاف معنی‌داری نشان نداد (جدول ۳).

شدت تعرق

نتایج به‌دست‌آمده از تجزیهٔ واریانس (جدول ۲) نشان داد محلول‌پاشی گیاهان با کود آن اثر معنی‌داری بر شدت تعرق گیاه در سطح احتمال ۱ درصد دارد. بیشترین شدت تعرق (۳/۱۰ میلی‌مول بر مترمربع در ثانیه) به گیاهان تیمارشده با ۱ گرم در لیتر نانوکلات آهن و کمترین شدت تعرق (۲/۲۵ میلی‌مول بر مترمربع در ثانیه) به تیمار شاهد تعلق داشت. تیمارهای ۱/۵ گرم در لیتر نانو کلات آهن (۲/۶۴ میلی‌مول بر مترمربع در ثانیه)، ۰/۵ گرم در لیتر نانوکلات آهن (۲/۷۶ میلی‌مول بر مترمربع در ثانیه) و ۱/۵ گرم در لیتر کلات آهن (۲/۷۵ میلی‌مول بر مترمربع در ثانیه) اختلاف معنی‌داری از نظر شدت تعرق با هم نداشتند. تیمار ۱ گرم در لیتر کلات آهن (۲/۳۱ میلی‌مول بر مترمربع در ثانیه) با شاهد اختلاف معنی‌داری نداشت (جدول ۳).

میزان نورساخت خالص

نتایج به‌دست‌آمده از تجزیهٔ واریانس نشان داد محلول‌پاشی گیاهان با کود آهن اثر معنی‌داری بر میزان نورساخت گیاه در سطح احتمال ۱ درصد دارد (جدول ۲). بر پایهٔ مقایسهٔ میانگین تیمارها (جدول ۳) محلول‌پاشی گیاهان با کود آهن سبب افزایش ۱/۵ برابری میزان نورساخت خالص شده است. بیشترین میزان نورساخت خالص (۱۲ میکرومول دی‌اکسید کربن بر مترمربع در ثانیه) به گیاهان تیمارشده با ۱/۵ گرم در لیتر نانوکلات آهن و کمترین میزان (۷/۰۲ میکرومول دی‌اکسیدکربن بر مترمربع در ثانیه) به تیمار شاهد تعلق داشت. تیمار ۱ گرم در لیتر نانوکلات آهن (۱۱/۴۴ میکرومول دی‌اکسیدکربن بر مترمربع در ثانیه) اختلاف معنی‌داری از نظر میزان نورساخت خالص با تیمار ۱/۵ گرم بر لیتر نانوکلات آهن نشان نداد. بین تیمارهای ۰/۵ گرم در لیتر نانوکلات آهن و ۱/۵ گرم در لیتر کلات آهن اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (به ترتیب ۹/۷۲ و ۹/۶۷ میکرومول دی‌اکسید کربن بر مترمربع در ثانیه). تیمار ۱ گرم در لیتر کلات آهن (۸/۲۴ میکرومول دی‌اکسیدکربن بر مترمربع در ثانیه) اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد نداشت.

جدول ۳. مقایسهٔ میانگین صفات میزان آهن، سبزینه و فراسنجه‌های نورساختی گیاه دارویی ریحان مقدس (*Ocimum sanctum*) تحت تیمارهای کود آهن

Table 3. Comparison means of Fe content, chlorophyll and photosynthesis parameters of holy basil (*Ocimum sanctum*) under Fe fertilizer treatments

Fe Treatment ($g.L^{-1}$)		Fe content ($mg.kg^{-1}$)	Chlorophyll a ($mg.g^{-1}$)	Chlorophyll b ($mg.g^{-1}$)	Total chlorophyll ($mg.g^{-1}$)	Carotenoid ($mg.g^{-1}$)	Stomatal conductance (mmol $H_2O.m^{-2}.s^{-1}$)	Net photosynthesis (µmol $CO_2.m^{-2}.s^{-1}$)	Transpiration (mmol $H_2O.m^{-2}.s^{-1}$)	Light Use efficency (µmol CO_2.µmol photon^{-1})
Control	0	100.03^{e}	0.51^{c}	0.20^{c}	0.71^{c}	0.08^{c}	174^{b}	7.02^{c}	2.25^{c}	4.80^{c}
Chelate	1	182.83^{d}	0.50^{c}	0.21^{c}	0.71^{c}	0.1^{bc}	176^{b}	8.24^{c}	2.31^{bc}	4.86^{c}
fertilizer	1.5	273.46^{b}	0.67^{b}	0.25^{bc}	0.92^{bc}	0.13^{abc}	265^{ab}	9.67^{b}	2.75^{ab}	5.71^{b}
Nano	0.5	204.43^{c}	0.71^{b}	0.30^{ab}	1.01^{bc}	0.12^{bc}	281^{ab}	9.72^{b}	2.76^{ab}	5.53^{b}
Chelate	1	320.43^{a}	0.92^{a}	0.36^{a}	1.28^{a}	0.15^{ab}	401^{a}	11.44^{a}	3.10^{a}	6.86^{a}
fertilizer	1.5	285.63^{a}	1.01^{a}	0.38^{a}	1.39^{a}	0.18^{a}	294^{ab}	12^{a}	2.64^{abc}	6.78^{a}

عملکرد کوانتومی نورساخت

نتایج به‌دست‌آمده از تجزیهٔ واریانس (جدول ۲) نشان داد محلول‌پاشی گیاهان با کود آهن اثر معنی‌داری بر عملکرد کوانتومی نورساخت در سطح احتمال ۱ درصد دارد. بر پایهٔ نتایج به‌دست‌آمده از مقایسهٔ میانگین تیمارها (جدول ۳) بیشترین عملکرد کوانتومی نورساخت (۶/۸۶ میکرومول دی‌اکسیدکربن بر میکرومول فوتون) به تیمار ۱ گرم در لیتر نانوکلات آهن تعلق داشت، این تیمار با دیگر تیمارها به‌جز تیمار ۱/۵گرم در لیتر نانوکلات آهن (۶/۷۸ میکرومول دی‌اکسیدکربن بر میکرومول فوتون) اختلاف معنی‌داری نشان داد. تیمارهای ۰/۵ گرم در لیتر نانوکلات آهن (۵/۵۳ میکرومول دی‌اکسیدکربن بر میکرومول فوتون) و ۱/۵ گرم بر لیتر کلات آهن (۵/۷۱ میکرومول دی‌اکسیدکربن بر میکرومول فوتون) اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند. همچنین تیمار ۱ گرم بر لیتر کلات آهن (۴/۸۶ میکرومول دی‌اکسیدکربن بر میکرومول فوتون) اختلاف معنی‌داری از نظر عملکرد کوانتومی نورساخت با تیمار شاهد (۴/۸۰ میکرومول دی‌اکسیدکربن بر میکرومول فوتون) نداشت.

کمبود آهن منجر به کاهش غلظت رنگ‌دانه‌های نورساختی مانند سبزینه و کاروتنوئید در واحد سطح برگ گیاه چغندر شده که به دنبال آن میزان نورساخت برگ به دلیل کاهش شمار واحدهای نورساختی و همچنین کاهش کارایی فتوشیمیایی سامانهٔ نورساختی واحدهای باقی‌مانده دچار کاهش می‌شود (Morales *et al*., 1998). در بررسی تأثیر آهن بر میزان نورساخت برگ گیاه انبه مشخص شد که افزایش میزان آهن سبب افزایش میزان نورساخت در گیاه می‌شود (Balakrishnan *et al*., 2000). همچنین تحقیقات انجام‌شده روی ریحان مقدس نشان داده ژنوتیپ‌هایی از ریحان مقدس که توانایی بیشتری در جذب آهن خاک دارند، میزان نورساخت و همچنین اسانس بیشتری دارند (Misra *et al*., 2007). عنصر آهن در واکنش‌های اکسایش (اکسیداسیون) و احیا به‌واسطهٔ حضور پروتئین‌های حاوی آهن مانند سیتوکروم‌ها و فرودکسین‌ها نقش دارد. سیتوکروم‌ها از شناخته‌ترین پروتئین‌های هم هستند که در واکنش‌های اکسایش و احیا در کلروپلاست‌ها و میتوکندری‌ها نقش داشته و به‌عنوان گروه‌های دهنده-گیرندهٔ الکترون در واکنش‌های نورساخت و تنفس شرکت می‌کنند. فرودکسین‌ها مهم‌ترین پروتئین‌های حاوی آهن-گوگرد هستند که در نورساخت به‌عنوان جابه‌جاکنندهٔ الکترون نقش دارند. در اثر کمبود آهن، انتقال الکترون نورساختی کاهش یافته که این امر موجب کاهش تثبیت دی‌اکسید کربن و کاهش غلظت نشاسته و کربوهیدرات‌های محلول در گیاهان طی دورهٔ رشد رویشی شده و از این راه موجب کم شدن تولید مادهٔ خشک گیاهی یا کاهش رشد سبزینه‌ای گیاه می‌شود (Marscher, 2011). بنابراین با توجه به موارد بالا، کمبود آهن می‌تواند منجر به ایجاد محدودیت در ظرفیت چرخهٔ انتقال الکترون و به دنبال آن کاهش کارایی فتوشیمیایی نظام نورساختی II شود. از سوی دیگر تحقیقات انجام‌شده روی چغندرقند نشان داده است که کمبود آهن باعث کاهش سبزینه و نورساخت خالص می‌شود. افزون بر نقش آهن در ساخت (سنتز) سبزینه، این عنصر فعالیت دو آنزیم مهم در نورساخت یعنی روبیسکو در گیاهان C_3 و فسفو اینول پیروات کربوکسیلاز در گیاهان C_4 را تحت تأثیر قرار می‌دهد. در تحقیق انجام‌شده روی چغندرقند میزان هدایت روزنه‌ای و تعرق گیاه تحت تأثیر میزان آهن قرار نگرفتند که این نشان می‌دهد که تأثیر آهن روی گیاه به‌صورت هیدرولیکی و باز شدن روزنه‌ها نیست و بیشتر نورساخت گیاه را از راه اثر روی مسیرهای بیوشیمیایی تحت تأثیر قرار می‌دهد. کاهش فعالیت آنزیم‌های دخیل در تثبیت منجر به افزایش یا تغییر نیافتن میزان CO_2 زیر روزنه‌ای می‌شود (Rombol*et al*., 2007). نتایج این تحقیق هم نشان داد که CO_2 زیر روزنه‌ای گیاه تحت تأثیر تیمارهای کود آهن قرار نگرفت. نتایج جدول همبستگی

(جدول۴) نشان داد که بین میزان آهن گیاه با صفات سبزینهٔ a، b، کاروتنوئید، هدایت روزنه‌ای، نورساخت و کارایی مصرف نور گیاه همبستگی مثبت و معنی‌داری در سطح ۱درصد وجود دارد. بنابراین تیمار ریحان مقدس با آهن منجر به افزایش آهن بافت برگ و سپس افزایش سبزینهٔ گیاه شده است. با افزایش میزان سبزینهٔ گیاه، ظرفیت نورساختی گیاه افزایش یافته و در مجموع گیاه از تابش فعال نورساختی تابیده‌شده به برگ بیشترین بهره را برده و عملکرد کوانتومی آن افزایش یافته است که نتیجهٔ آن افزایش وزن خشک بوته و اسانس گیاه خواهد بود.

جدول ۴. همبستگی صفات فیزیولوژیکی گیاه دارویی ریحان مقدس (*Ocimum sanctum*)

Table 4. Correlation between physiological traits of holy basil (*Ocimum sanctum*)

No.	Traits	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1	Fe content	1										
2	Chlorophyll a	0.74**	1									
3	Chlorophyll b	0.69**	0.93**	1								
4	Total chlorophyll	0.75**	0.99**	0.96**	1							
5	Carotenoid	0.73**	0.76**	0.66**	0.74**	1						
6	Stomatal conductance	0.55*	0.42 ns	0.36 ns	0.41 ns	0.49 ns	1					
7	Transpiration	0.60**	0.43 ns	0.40 ns	0.43 ns	0.45 ns	0.94**	1				
8	Net photosynthesis	0.74**	0.83**	0.79**	0.83**	0.71**	0.45*	0.45*	1			
9	CO_2 under stomatal	-0.03 ns	-0.30 ns	-0.27 ns	-0.29 ns	-0.19 ns	0.53**	0.45*	-0.41 ns	1		
10	Water Use Efficency	0.26 ns	0.49*	0.46*	0.49*	0.36 ns	-0.33 ns	-0.38 ns	0.64**	-0.92 ns	1	
11	Light Use Efficency	0.73**	0.82**	0.79**	0.83**	0.68**	0.40ns	0.42 ns	0.97**	-0.40 ns	0.63**	1

ns ، * و **: به ترتیب نبود تفاوت معنی‌دار و معنی‌داری در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.

ns, * and **: non significant, significant at 5 and 1% , respectively.

اجزای اسانس

تجزیه‌وتحلیل اسانس به‌وسیلهٔ دستگاه GC/MS (جدول ۵) نشان داد بیش از سی ترکیب مختلف در اسانس ریحان مقدس وجود داشت. ترکیب غالب اسانس گیاه شامل اوژنول، ۱،۸- سینئول و متیل‌کاویکول بود که بر پایهٔ تجزیهٔ نتایج به‌دست‌آمده از دستگاه GC بیش از ۶۵ درصد اسانس ریحان مقدس را به خود اختصاص دادند. محلول‌پاشی آهن سبب افزایش نسبی میزان اوژنول و کاهش میزان ۱،۸- سینئول شد. بیشترین (۳۳/۲۷درصد) و کمترین (۲۹/۱۳ درصد) میزان اوژنول به ترتیب در تیمارهای ۱ گرم در لیتر نانوکلات آهن و تیمار ۱/۵ گرم در لیتر نانوکلات آهن مشاهده شد. میزان متیل‌کاویکول در همهٔ تیمارهای محلول‌پاشی به‌جز تیمار ۱ گرم در لیتر نانوکلات آهن، نسبت به شاهد اندکی افزایش یافت. همچنین بیشترین (۱۲/۲۱ درصد) میزان متیل‌کاویکول با محلول‌پاشی ۱/۵ گرم در لیتر نانوکلات آهن به دست آمد و کمترین (۱۱/۰۳ درصد) میزان این ترکیب با محلول‌پاشی ۱ گرم در لیتر نانو کلات آهن به دست آمد. با توجه به جدول ۵ با افزایش غلظت آهن در کود، میزان ۱،۸- سینئول در اسانس کاهش یافت. به‌طوری‌که بیشترین (۲۴/۷۹ درصد) و کمترین (۲۰/۵۳درصد) میزان ۱،۸- سینئول به ترتیب در تیمارهای شاهد و ۱/۵ گرم در لیتر نانو کود کلات آهن مشاهده شد. در این آزمایش، اوژنول بیشترین درصد اسانس را تشکیل داد. فنیل‌پروپانوئیدها از فنیل‌آلانین مشتق می‌شوند که در آغاز در اثر آمین‌زدایی (deaminat) به‌وسیلهٔ آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالیاز (PAL) به اسید ترانس سینامیک تبدیل می‌شوند. سپس توسط سینامات-۴ هیدروکسیلاز، اسید *p*- کوماریک به‌وجود می‌آید. اسید *p*- کوماریک در طی مراحلی به متیل کاویکول و اوژنول تبدیل می‌شود (Gang *et al.*,2001). اگر مسیر در برای ساخت اوژنول هدایت شود میزان متیل کاویکول در ترکیب اسانس کاهش می‌یابد که این، دلیل کاهش متیل-کاویکول در ترکیب اسانس ریحان مقدس در این تحقیق است.

جدول ۵. اجزای اسانس گیاه دارویی ریحان مقدس (*Ocimum sanctum*) تحت تیمارهای محلول‌پاشی کود آهن

Table 5. Essential oil components of holy basil (*Ocimum sanctum*) under Fe treatments

No.	Retention time	Retention index	Components	Control	Fe Chelate fertilizer		Fe Nano chelate fertilizer		
					1	1.5	0.5	1	1.5
1	4.82	789.6	Isovaleric acid	0.16	0.14	0.10	0.16	0.11	0.14
2	4.86	908.8	α-pinene	1.40	1.28	0.98	1.41	0.99	1.23
3	6.12	967.2	β-phellandrene	1.18	0.98	1.01	1.05	1.02	0.93
4	6.73	969.4	Comphene	0.58	0.51	0.50	0.52	0.49	0.47
5	6.79	972.9	β-pinene	2.57	2.21	2.25	2.27	2.19	2.09
6	6.97	989.2	β-myrcene	0.75	0.67	0.67	0.67	0.64	0.62
7	7.64	1039.2	1, 8-cineole	24.79	22.12	22.19	21.62	20.91	20.53
8	7.85	1052.5	o-Cymene	5.24	5.02	5.14	5.08	4.92	3.92
9	8.03	1064.7	Carene	0.16	0.12	0.15	0.11	0.13	0.14
10	8.19	1037.7	Sabinene hydrate	0.43	0.36	0.45	0.56	0.47	0.41
11	8.64	1104.0	Linalyl acetate	0.18	0.13	0.17	0.18	0.15	0.20
12	9.12	1138.5	Limonene	0.21	0.25	0.21	0.24	0.22	0.26
13	9.67	1174.8	Terpineol	0.40	0.34	0.30	0.30	0.31	0.53
14	9.83	1185.5	Terpinene	0.37	0.28	0.32	0.25	0.29	0.31
15	10.01	1198.5	α-Terpinyl	1.36	1.28	1.25	1.24	1.25	1.26
16	10.10	1207.9	Methyl Chavicol	11.37	11.82	11.89	12.00	11.03	12.21
17	10.21	1210.8	Casmene	0.10	0.13	0.10	0.15	0.11	0.12
18	10.88	1257.6	Chavicol	1.01	0.87	1.04	0.95	1.05	0.98
19	12.28	1375.9	Eugenol	30.29	32.71	32.17	29.43	33.27	29.13
20	13.14	1409.2	Methyl eugenol	1.06	1.02	1.15	1.22	1.19	1.09
21	13.27	1439.0	Caryophyllene	0.86	0.93	0.97	1.12	1.02	0.94
22	13.35	1448.3	α-Farnesene	0.27	0.30	0.31	0.36	0.33	0.31
23	13.46	1455.3	β-Sesquiphellandrene	0.34	0.39	0.36	0.44	0.40	0.56
24	13.56	1463.2	β-Farnesene	1.68	1.62	1.83	1.97	1.95	1.69
25	13.89	1500.8	Germacrene D	0.94	0.91	0.99	1.13	1.04	0.98
26	14.14	1523.2	Bisabolene	5.77	6.85	6.66	8.06	7.30	7.50
27	14.53	1568.3	α-Bisabolene	4.43	4.59	4.79	5.48	5.17	4.84
28	15.12	1601.0	Phenole	0.16	0.25	0.19	0.20	0.23	0.44
29	15.41	1605.1	Caryophyllene oxide	0.18	0.29	0.21	0.23	0.28	0.31
30	15.74	1632.6	Cyclohexane	0.10	0.09	0.09	0.12	0.11	0.13
31	16.15	1673.6	Spathulenol	0.19	0.22	0.18	0.22	0.22	0.26
			Total	97.85	98.68	98.62	98.74	98.79	94.53

نتیجه‌گیری کلی

با توجه به نتایج تجزیهٔ خاک منطقه و میزان کم عنصر آهن در خاک و شرایط قلیایی حاکم بر منطقهٔ مورد آزمایش (جدول ۱)، به نظر می‌رسد جذب و فراهمی این عنصر از خاک با مشکل روبه‌رو شده و محلول‌پاشی به‌طور مؤثری باعث افزایش جذب برگی این عنصر شده است. نتایج به‌دست‌آمده نشان می‌دهد محلول‌پاشی عنصر آهن بر گیاه دارویی ریحان مقدس می‌تواند سبب افزایش میزان آهن، سبزینه، کاروتنوئید و فراسنجه‌های نورساختی این گیاه شود. ترکیب غالب اسانس گیاه شامل اوژنول، ۱،۸- سینئول و متیل‌کاویکول بود. بهترین نتایج با محلول‌پاشی ۱ گرم در لیتر نانوکلات آهن به دست آمد و در بیشتر موارد این تیمار با تیمارهای محلول‌پاشی ۱/۵ گرم در لیتر نانوکلات آهن و ۱/۵ گرم در لیتر کلات آهن اختلاف معنی‌داری نشان نداد. بنابراین برای افزایش و بهبود صفات یادشده محلول‌پاشی ۱ گرم در لیتر نانوکلات آهن پیشنهاد می‌شود.

سپاسگزاری

از مسئولان محترم دانشگاه شهید چمران اهواز به خاطر حمایت مالی از این تحقیق، تشکر و قدردانی می‌گردد.

REFERENCES

1. Arnon, A. N. (1967). Method of extraction of chlorophyll in the plants. *Agronomy Journal*, 23, 112- 121.
2. Balakrishnan, K., Rajendran, C. & Kulandaivelu, G. (2000). Differential responses of iron, magnesium, and zinc deficiency on pigment composition, nutrient content and photosynthetic activity in tropical fruit crops. *Photosynthetica*, 38, 477- 479.
3. Gang, D. R., Wang, J., Dudareva, N., Nam, K. H., Simon, J. E., Lewinsohn, E. & Pichersky, E., 2001. An investigation of the storage and biosynthesis of phenylpropenes in sweet basil. *Journal of Plant Physiology*, 125, 539- 555.
4. Harsa, B.H., Hebbar, S.S., Shripathi, V. & Hedge, G.R. (2003). Ethnobotany of Uttara Kannada district in Karnataka, India - plants in treatment in skin diseases. *Journal of Ethnopharmacology*, 84, 37-40.

5. Kakaraparthi, P.S., Rajput, D.K. & Arigarui, N.K. (2013). Response of *Ocimum tenuiflorum* variety CIM-AYU to sulphur fertilization in the semi-arid tropical region of Deccan plateau in India. *International Journal of Scientific Research*, 2(10), 1- 6.
6. Kalyankumar, P., Rupesh Kumar, M., Kavitha, K., singh, J. & Rawoof, Kh. (2012). Pharmacological Actions of *Ocimumsacntum*-Review Article. *International Journal of Advances in Pharmacy, Biology and Chemistry*, 1(3), 406- 411.
7. Khoshgoftarmanesh, A.H. (2007). *Principle in plant nutrition*. Isfahan University of Technology Pub. (in Farsi)
8. Kiani, Sh. (2012). Effects of iron on efficiency and map of photosystem II photochemical yield of rose flower using chlorophyll fluorescence imaging. *Journal of Science and Technology of Greenhouse Culture*, 2(8), 25-35. (in Farsi)
9. Kibler, A. (2014). *Establishment of an efficient protocol for the Micro propagation of Holy Basil (Ocimum Sanctum L.)*. M.Sc. thesis, Faculty of Agriculture. Guelph University, Canada.
10. Larbi, A., Morales, F., Lopez-Millan, A. F., Gogorcena, Y., Abadia, A., Moog, P. R. & Abadia, J. (2001). Technical advance: reduction of Fe (III) chelate by mesophyll leaf disks of sugar beet. Multi-component origin and effect of Fe deficiency. *Plant Cell Physiology*, 42(1), 94- 105.
11. Lindsay, W.L. & Norvell, W.A. (1978). Development of a DTPA soil test for zinc, iron, manganese, and copper. *Soil Science Society of America*, 42, 421-428.
12. Mahmoodi, M. (2013). Diurnal variations of gas exchange characteristics in leaves of anise hyssop (*Agastache foeniculum*) under normal, drought stress and recovery conditions. *Journal of Medicinal Plants and By-products*, 1, 91-101.
13. Marscher, H. (2011). *Mineral Nutrition of High Plant*. (3th ed.). Academic press.
14. Mazaherinia, S., Astaraei, A., Fotovat, A. & Monshi, A. (2010). Effect of iron oxides (ordinary and nano) and municipal solid waste compost (MSWC) coated sulfur on wheat (*Triticum aestivum* L.) plant iron concentration and growth, *Journal of Iranian Field Crop Research*, 8(5), 855-861. (in Farsi)
15. Misra, A., Dwivedi, S., Tewari, S., Khan, A. & Kumar, R. (2007). Analysis of growth, physiology, photosynthesis, essential monoterpene oil (s) yield and quality in *Ocimum sanctum* L. genotypes. *Bioscience Research*, 4(1), 1-5.
16. Mohammadi poor, R., Sedaghathoor, S. & Mahboub homami, A. (2013). Effect of application of iron fertilizers in two methods 'foliar and soil application' on growth characteristics of *Spathyphyllum illusion. European Journal of Experimental Biology*, 3(1), 232- 240.
17. Mondal, Sh., Mirdha, B.R. & Mahapatra, S.C. (2009). The science behind sacredness of tulsi (*Ocimum sanctum* L.). *Indian Journal of Physiology and Pharmacology*, 53(4), 291-306.
18. Morales, F., Abadía, A. & Abadía, J. (1998). Photosynthesis, quenching of chlorophyll fluorescence and thermal energy dissipation in iron-deficient sugar beet leaves. *Journal of Plant Physiology*, 25, 403-412.
19. Mousa, G.T., El-Sallami, I. H. & Ali, E. F. (2003). Response of *Nigella sativa* L. to foliar application of gibberellic acid, benzyl adenine, iron and zinc. *Assiut Journal of Agricultural of Science (Egypt)*, 32, 141-156.
20. Nasiri, Y., Zehtab Salmasi, S., Nasrullah Zadeh, S., Ghassemi Gholezani, K., Najafi, N. & Javanmard, A. (2013). Evaluation of foliar spray of ferrous sulfate and zinc sulfate on yield and nutrients concentration of aerial parts in German chamomile. *Journal of Agricultural Science*, 23(3), 105-115. (in Farsi)
21. Peyvandi, M., Mirza, M. & Kamali Jamakani, Z. (2011). The effect of nano Fe chelate and Fe chelate on the growth and activity of some antioxidant of *Satureja hortensis*, *New Cellular and Molecular Biotechnology Journal*, 2(5), 25-32. (in Farsi)
22. Peyvandi, M., Parande, H. & Mirza, M. (2011). Comparison of nano Fe chelate with Fe chelate effect on growth parameters and antioxidant enzymes activity of *Ocimum basilicum*. *New Cellular and Molecular Biotechnology Journal*, 1(4), 89-98. (in Farsi)
23. Pojjanapimol, S. (2004). *Characterization of aroma impact compounds in fresh, heated and dried holy basil (Ocimum sanctum) Leaves*. Ph.D. Dissertation, Kasetsart University, Thailand.
24. Prakash, P. & Gupta, N. (2005). Therapeutic uses of *Ocimum sanctum* Linn (tulsi) with a note on eugenol and its pharmacological actions: a short review. *Indian Journal* of *Physiology and Pharmacology*, 49(2), 125-131.
25. Rombol, A.D., Gogorcena, Y., Larbi, A., Morales, F., Baldi, E., Marangoni, B., Tagliavini, M. & Abad, J. (2005). Iron deficiency-induced changes in carbon fixation and leaf elemental composition of sugar beet (*Beta vulgaris*) plants. *Plant and Soil*, 271, 39-45.
26. Sharma, T. (2010).Toxic effect of *Ocimum sanctum* plant extract against *Acrida exaltata* (Orthoptera: Acrididae) adults. *Journal of Environmental Research and Development*, 4(4), 1008-1012.