مجله علوم گیاهان زراعی ایران
دوره ۴۲، شماره ۱، ۱۳۹۰ (۲۰۷-۱۹۹)

اثر سطوح مختلف شوری و سه نوع تغذیه نیتروژنی بر رشد و واکنش‌های بیوشیمیایی اسفرزه

مصطفی حیدری[1]*، احمد عبدل‌زاده[2] و فاطمه فرزانه[3]
۱، دانشیار دانشکده کشاورزی دانشگاه زابل، ۲، ۳، دانشیار و دانشجوی سابق کارشناسی ارشد دانشکده علوم دانشگاه گلستان
(تاریخ دریافت: ۸۹/۳/۲۵ - تاریخ تصویب: ۸۹/۱۰/۲۹)

چکیده

به منظور بررسی اثر سطوح مختلف شوری و سه نوع تغذیه نیتروژنی بر واکنش‌های بیوشیمیایی و تغییرات وزن خشک بخش هوایی و ریشه گیاه دارویی اسفرزه، آزمایشی به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در سال ۱۳۸۸ در مرکز زیست فناوری دانشگاه زابل انجام گرفت. سه سطح شوری ۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار نمک NaCl به عنوان فاکتور A و دو منبع نیتروژن به سه شکل نیترات: از منبع نیترات کلسیم، آمونیوم از منبع سولفات آمونیوم و ترکیب نیترات و آمونیوم به نسبت یک دوم از هر منبع نیتروژن به عنوان فاکتور B در نظر گرفته شدند. اعمال تنش شوری از مرحله دو برگی در گیاهان آغاز و تا ۳۰ روز ادامه یافت. با بالا رفتن میزان شوری از شاهد به ۲۰۰ میلی‌مولار از مقدار ماده خشک بخش هوایی و ریشه به ترتیب معادل ۴۲/۸ و ۱۳/۴ درصد کاسته شدند. در بین تغذیه نیتروژنی و در بالاترین سطح شوری، منبع کودی نیترات+آمونیوم به میزان بیشتری سبب افزایش این دو بخش گردید. در این آزمایش تنش شوری، تیمار کودی نیتروژن و اثر متقابل آنها (به جز درصد نیتروژن) تأثیر معنی‌داری بر مقادیر نیتروژن، نیترات، پروتئین‌های محلول و اسیدهای آمینه داشتند بطوری که شوری سبب کاهش آنها گردید. در بالاترین سطح شوری، تیماری کودی نیترات+آمونیوم به نسبت بیشتری سبب افزایش این فاکتورها شد. با افزایش شوری از شاهد به ۲۰۰ میلی‌مولار از محتوای کلروفیل برگ‌ها کاسته و بر میزان کربوهیدرات محلول و پرولین افزوده شد. در این آزمایش نوع تغذیه نیتروژنی تنها بر میزان پرولین معنی‌دار بود. تأثیر آن بر محتوای کلروفیل و میزان کربوهیدرات محلول برگ‌ها معنی‌دار نبود. در بین سه نوع کود مصرفی، منبع نیتروژنی آمونیوم+نیترات از بیشترین کارآیی نسبت به دیگر منابع نیتروژن در افزایش میزان پرولین برخوردار بود. بر اساس نتایج این آزمایش می‌توان بیان کرد که شوری سبب کاهش رشد، میزان کلروفیل، اسیدهای آمینه، میزان پروتئین و درصد جذب نیتروژن در گیاه اسفرزه می‌شود. استفاده از نیتروژن به صورت نیترات+آمونیوم در سطح ۲۰۰ میلی‌مولار NaCl از کارآیی بیشتری در بهبود این پارامترها در این گیاه برخوردار است.

واژه‌های کلیدی: شوری، $N\text{-}NO_3^-$، $N\text{-}NH_4^+$، واکنش‌های بیوشیمیایی، اسفرزه.

* نویسنده مسئول: مصطفی حیدری تلفن: ۰۹۱۵-۵۷۱۰۹۷۲ E-mail: Haydari2005@gmail.com

مقدمه

تنش شوری بعد از خشکی مهمترین عامل کاهش تولیدات محصولات زراعی، باغی و دارویی در سراسر جهان به شمار می‌رود. وسعت اراضی شور در جهان دقیقا مشخص نیست اما تا ۹۶۰ میلیون هکتار تخمین زده شده است. شوری (تجمع املاح نمک در محیط ریشه) بر فرآیندهای رشد و نمو گیاهان اثر گذاشته و این روابط را تحت تأثیر قرار می‌دهد. با وجود تحقیقات دامنه‌داری که از چند دهه گذشته تاکنون در بسیاری از آزمایشگاهای پیشرفته دنیا جریان دارد، هنوز درک درست و کاملی از مبانی بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی مقاومت به شوری در بسیاری از گیاهان وجود ندارد (Munns et al., 2006). واکنش معمول گیاهان به بالا رفتن غلظت نمک در محیط ریشه؛ تنش اسمزی، سمیت یونی و کمبود عناصر غذایی است (Appel & Hirt, 2004).

گیاهان زراعی، باغی و دارویی از لحاظ تحمل نسبت به املاح تجمع یافته در محیط ریشه (شوری) تا حد زیادی با هم متفاوتند. این تحمل به عواملی همچون میزان تجمع یونها در بافت، ممانعت از ورود برخی از یونها به درون گیاه و قابلیت تولید ترکیبات سازگارکننده (تنظیم‌کنندهای اسمزی) بستگی دارد (Grattan & Grieve, 1999). مطالعات بیوشیمیایی نشان داده که در گیاهان تحت تنش شوری تعدادی از ترکیبات آلی (محلول‌های سازگارکننده) تجمع می‌یابد، این ترکیبات تداخلی در فرآیندهای شیمیایی گیاه وارد نمی‌کنند. از این ترکیبات می‌توان به انواعی از کربوهیدراتهای محلول (مانیتول، ساکارز، رافینوز، و الیگو ساکارید) و ترکیبات نیتروژنه (اسید آمینه، پرولین و گلیسین - بتائین) اشاره کرد. ترکیبات سازگارکننده نقش مهمی در بهبود تنظیم اسمزی در گیاهان تحت تنش دارند (Good & Zaplachiniski, 1994). یکی از اثرات اصلی تنش شوری تداخل در جذب عناصر غذایی است. Grattan & Grieve (1999) اعلام کردند که شوری از جذب بسیاری از عناصر پر و کم مصرف در گیاهان می‌کاهد. در این بین نیتروژن یکی از عناصر پرمصرف بسیار ضروری برای گیاهان به شمار می‌رود که کمبود آن تداخل فراوانی را در رشد و نمو گیاهان وارد می‌کند (Marschner, 1995). ماده خشک گیاهی تقریبا دارای ۲ تا ۴ درصد نیتروژن است. نیتروژن جزء اولیه تشکیل‌دهنده ترکیبات آلی همانند اسیدهای آمینه، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک به شمار می‌رود. نیترات و آمونیوم دو فرم نیتروژن است که توسط گیاهان جذب و در متابولیسم آنها وارد می‌شود. نیترات اغلب منبع بهتری برای رشد گیاهان می‌باشد، اما این امر بستگی به گونه گیاهی و عوامل محیطی دارد (Marshner, 1995).

بسیاری از تنش‌های محیطی از جمله شوری، بر جذب و اسیمیلاسیون نیتروژن تأثیر سوء دارند. برخی از مطالعات نشان داده که شوری، جدب و تجمع نیتروژن در بخش‌های هوایی گیاهان را کاهش می‌دهد (Feigin, 1985). در شرایط تنش شوری به دلیل غلظت بالای یون Cl^- از میزان NO_3^- در بخش هوایی گیاهان کاسته می‌شود. Kafkafi et al. (1982) این کاهش مربوط به اثرات آنتاگونیسمی بین Cl^- و NO_3^- می‌دانند. در مقابل Lea-Cox & Syverttsen (1993) دلیل این موضوع را مربوط به تأثیر شوری بر کاهش جذب آب می‌دانند. Kafkafi et al. (1982) گزارش کردند که بیش از ۶۰ مول بر مترمکعب یون کلر از نمک $CaCl_2$ و۲۰۰-۱۰۰ مول بر مترمکعب از نمک KCl باعث ممانعت از جذب NO_3^- در گوجه‌فرنگی می‌شود. این محققان نتیجه گرفتند که اثر کلرید سدیم و کلرید پتاسیم مشابه است اما ممانعت ازجذب نیترات به وسیله یون کلر حتی در دامنه کمی از شوری در زمان وجود یون کلسیم نسبت به کاتیون تک ظرفیتی، بیشتر بود. نتیجه دیگر اینکه میزان انتقال نیترات یا اثر متقابل بین NO_3^- و Cl^- بستگی به میزان مقاومت رقم گیاه در شرایط تنش دارد. این محققین دریافتند که ارقام مقاوم گوجه‌فرنگی دارای میزان بیشتری از انتقال نیترات نسبت به ارقام حساس بودند. نوع منبع نیتروژنی بکار گرفته در محیط ریشه می‌تواند در میزان مقاومت به شوری در اکثر گیاهان مؤثر باشد. Ashraf (1999) اعلام کرد که حساست گیاه آفتابگردان به شوری در طی استفاده از منبع نیتروژنی آمونیوم نسبت به نیترات بیشتر است.

اسفرزه (*Plantago ovata*) یکی از گیاهان دارویی مهم ازخانواده بارهنگ (Plantaginaceae) است. این گیاه بومی هند و ایران بوده و در مناطق بیابانی مجاور

از جمله نواحی غرب آسیا، کشورهای مدیترانه و عراق گسترش یافته است. به سبب سازگاری آن به مناطق بیابانی می‌تواند در شرایط بروز عوامل محدودکننده محیطی همانند خشکی و شوری تا حدی رشد نماید (Asgharipoor chaman, 2002). ارزش دارویی این گیاه در بذرهای آن می‌باشد. لذا بررسی استفاده از نوع منبع نیتروژنی در شرایط بروز عامل محدودکننده محیطی (شوری) می‌تواند کمک بسیار مهمی در توسعه کشت آن در اکثر نقاط کشور نماید. شوری بعد از تنش خشکی دومین عامل بازدارنده رشد و تولید گیاهان در سراسر دنیا به شمار می‌رود (Munns, 2006). لذا هدف از انجام این آزمایش بررسی واکنش‌های بیوشیمیایی گیاه دارویی اسفرزه در واکنش به سطوح مختلف شوری و تعیین این واکنش‌ها با نوع تغذیه نیتروژنی بوده است. همچنین در این آزمایش سعی شده ارتباط بین واکنش‌های بیوشیمیایی با رشد گیاه در طی تیمارهای تلفیقی شوری و نیتروژن مشخص گردد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در سال ۱۳۸۸ در مرکز زیست فناوری دانشگاه زابل (بیوسنتر) انجام گرفت. سه سطح شوری S_0=۰، S_1=۱۰۰ و S_2=۲۰۰ میلی‌مولار نمک NaCl به عنوان فاکتور A و دو منبع نیتروژن به سه شکل N_1= نیترات: از منبع نیترات کلسیم، N_2= آمونیوم: از منبع سولفات آمونیوم و N_3= ترکیب نیترات و آمونیوم به نسبت یک دوم از هر منبع نیتروژن به عنوان فاکتور B در نظر گرفته شدند. جهت انجام این آزمایش ابتدا بذر گیاه دارویی اسفرزه از مرکز تحقیقات کشاورزی زابل تهیه، درگلدان‌های کوچک پلاستیکی به قطر ۱۰cm که حاوی ماسه شسته شده که قبلاً از الک دو میلیمتری عبور داده شده بودند، کشت شدند. گلدان‌ها به اتاقک رشد با دمای ۲۵ درجه سانتی گراد و طول دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی منتقل شدند. ابتدا درون گلدان‌ها ۱۰ عدد بذر کشت، بعد از ظهور گیاهچه‌ها و در مرحله دو برگی تنک و به ۴ بوته در سطح هر گلدان رسانده شدند. آبیاری و تغذیه بوته‌ها تا مرحله دو برگی به وسیله محلول غذایی تعدیل یافته هوگلند که شامل ۰/۵ میلی‌مول $NH_4H_2PO_4$، ۲/۵ میلی‌مول KNO_3، ۱/۵ میلی‌مول $Ca(NO_3)$ و ۰/۵ میلی‌مول $MgSO_4$ در لیتر به همراه عناصر میکرو، صورت گرفت. در طول دوره آزمایش تغذیه گیاهان با استفاده از محلول غذایی هوکلند صورت می‌گرفت که براساس تیمارهای نیتروژنی تهیه شده بودند. از این رو سه نوع محلول هوگلند تعدیل شده با سه نوع تغذیه متفاوت نیتروژن (دو منبع نیترات و آمونیوم) که شامل نیترات به تنهایی، آمونیوم به تنهایی و نیترات به همراه آمونیوم بودند تهیه و در اختیار گیاهان قرار داده می‌شدند (جدول‌های ۱ و ۲). اعمال تنش شوری در این آزمایش بعد از مرحله دو برگی آغاز، به منظور جلوگیری از وارد شدن یکباره شوک به گیاهچه‌ها تیمارهای شوری با روزی ۲۵ میلی‌مولار NaCl شروع گردید. در نهایت بعد از ۴ روز سطوح شوری به حد مورد نظر رسانده شدند. اعمال تنش شوری کلاً تا ۳۰ روز ادامه یافت.

در پایان دوره آزمایش، گیاهان موجود در سطح هر گلدان برداشت و صفات زیر شامل وزن خشک بخش هوایی و ریشه، مقدار کل نیترات، ازت، اسیدهای آمینه کل، پروتئین‌های محلول، کربوهیدرات، پرولین و مقدار کلروفیل موجود در بافت سبز برگ‌ها اندازه‌گیری شدند.

جدول ۱- نوع و غلظت مواد معدنی ماکرو در تیمارهای مختلف نیتروژن

تیمار نیترات		تیمار آمونیوم		تیمار نیترات آمونیوم	
میلی‌مولار در محلول	مواد معدنی	میلی‌مولار در محلول	مواد معدنی	میلی‌مولار در محلول	مواد معدنی
-	-	۵/۵	$(NH_4)_2SO_4$	۲/۵	$(NH_4)_2SO_4$
۵	KNO_3	۵	KCL	۵	KCL
۱	$MgSO_4$	۱	$MgSO_4$	۱	$MgSO_4$
۱	KH_2PO_4	۱	KH_2PO_4	۱	KH_2PO_4
۳	$Ca(NO_3)_2$	۳	$CaCL_2$	۳	$Ca(NO_3)_2$

جدول ۲- نوع و غلظت مواد معدنی میکرو در کلیه تیمارهای مختلف نیتروژن

مواد معدنی		گرم در لیتر	مواد معدنی		گرم در لیتر
اسید بوریک	$_3BO_3H$	۲/۸۶	سولفات مس	$CuSO_4,5H_2O$	۰/۰۸
کلرید منگنز	$O_3H_2,4MnCL$	۱/۸۱	اسید مولیبدیک	H_2MO_4,H_2O	۰/۰۲
سولفات روی	$O_3H_4,7ZnSO$	۰/۲۲			

برای وزن خشک، اندام‌های دو بخش ریشه و بخش هوایی در آون و در دمای ۷۵ درجه به مدت ۴۸ ساعت قرار داده سپس اقدام به اندازه‌گیری وزن خشک گردید. میزان کلروفیل با استفاده از دستگاه کلروفیل سنج Hansatech مدل CL-01 صورت گرفت. جهت اندازه‌گیری اسیدهای آمینه کل از روش Yemm & Cocking (1954)، پروتئین‌های محلول از روش Lowry (1951)، نیترات کل از روش .Cataldo et al (1975)، مقدار کربوهیدارت از روش .Irrigoyen et al (1992) و پرولین براساس روش .Bates et al (1973) و مقدار نیتروژن کل با استفاده از دستگاه کجلدال اندازه‌گیری شدند. در نهایت داده‌های حاصل از این آزمایش با استفاده از نرم‌افزار SAS تجزیه و مقایسه میانگین‌ها براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵٪ انجام پذیرفت. برای رسم نمودارها و جداول از نرم‌افزار EXCEL استفاده گردید.

نتایج و بحث

وزن خشک بخش هوایی و ریشه

نتایج تجزیه آماری داده‌ها در جدول ۳ نشان می‌دهد تفاوت معنی‌داری بین سطوح مختلف شوری، نوع تغذیه نیتروژنی و بر هم کنشی آنها بر وزن خشک بخش هوایی و ریشه گیاه اسفرزه وجود دارد. با بالا رفتن میزان شوری از شاهد به ۲۰۰ میلی‌مولار از مقدار ماده خشک این دو بخش کاسته شدند. این کاهش برای بخش هوایی و ریشه در سطح شوری ۲۰۰ میلی‌مولار نسبت به شاهد به ترتیب معادل ۴۲/۸ و ۱۳/۴ درصد بودند (جدول۴). بر اساس نظر Munns (2006) با افزایش تجمع املاح نمک در محیط ریشه از رشد و توسعه بسیاری از گیاهان زراعی، باغی و دارویی تا حد زیادی کاسته می‌شود. دلیل این کاهش مرتبط با کاهش پتانسیل اسمزی محلول خاک یا محلول غذایی است که مانع جذب آب و املاح مورد نیاز توسط ریشه گیاه می‌شود. عدم تعادل عناصر غذایی و نیز سمیت برخی از یونها همانند سدیم و کلر در گیاهان از دیگر دلایل کاهش رشد در این شرایط به شمار می‌رود.

استفاده از منبع تغذیه نیتروژنی نیترات نسبت به آمونیوم و یا ترکیب آمونیوم + نیترات به میزان بیشتری سبب افزایش دو بخش هوایی و ریشه گیاه اسفرزه گردید (جدول ۴). در بررسی اثر متقابل شوری و نیتروژن مشخص گردید که در طی اعمال تنش شوری و در بالاترین سطح شوری، منبع نیتروژنی آمونیوم+نیترات از کارآیی بیشتری برخودار بود و منجر به افزایش وزن دو بخش هوایی و ریشه شد. بسته به گونه گیاهی استفاده از منبع نیتروژنی نیترات و یا آمونیوم می‌تواند در بهبود رشد گیاهان در طی بروز تنش شوری مؤثر باشد. برای مثال .Bourgeais-chaillou et al (1992) گزارش کردند که استفاده از منبع نیتروژنی نیترات و یا آمونیوم به نسبت متفاوتی مانع کاهش بیوماس تولیدی در گیاه سویا تحت تنش شوری می‌شود. در این آزمایش نیز مشخص گردید تیمار ترکیبی آمونیوم + نیترات در بالاترین سطح شوری (۲۰۰ میلی‌مولار NaCl) سبب بهبود بیوماس تولیدی در دو بخش هوایی ریشه گیاه اسفرزه گردید (شکل‌های ۱ و ۲).

مقادیر نیتروژن کل، نیترات، پروتئین‌های محلول و اسیدهای آمینه

تغییر در میزان وزن خشک بخش‌های هوایی و ریشه مرتبط با تغییراتی است که در جذب عناصر غذایی و سنتز ترکیبات آلی در گیاهان به وجود می‌آید. در این آزمایش مشخص گردید که همبستگی معنی‌دار و مثبتی بین مقادیر نیتروژن، نیترات، پروتئین‌های محلول و اسیدهای آمینه با مقادیر ماده خشک تولیدی در دو بخش هوایی و ریشه گیاه اسفرزه وجود دارد (جدول ۵). تنش شوری و تیمار کودی نیتروژن و اثر متقابل آنها (به جز درصد نیتروژن) تأثیر معنی‌داری بر کلیه این فاکتورها داشتند (جدول ۳).

جدول ۳- تجزیه واریانس وزن خشک بخش هوایی و ریشه، درصد نیتروژن کل، نیترات، پروتئین‌های محلول، اسیدهای آمینه و محتوای کلروفیل به همراه مقادیر کربوهیدرات و پرولین اسفرزه

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات								
		وزن خشک		درصد نیتروژن	نیترات کل	پروتئین‌های محلول	اسیدهای آمینه	محتوای کلروفیل	کربوهیدرات	پرولین
		هوایی	ریشه							
شوری (S)	۲	۰/۰۱۹**	۰/۰۰۰۱۸**	۰/۰۴۱**	۰/۸۳**	۳/۵۴**	۱۱۸۲۲/۶**	۵/۱۲*	۲۷۲/۴۶**	۱۳۸۳/۴**
نیتروژن (N)	۲	۰/۰۰۹**	۰/۰۰۰۱۱**	۰/۰۰۵۶*	۲/۸۶**	۰/۳۳**	۲۸۱۱/۵۶**	۰/۵۴ns	۲/۴۳ns	۳۸/۷۷**
شوری× نیتروژن	۴	۰/۰۰۰۵**	۰/۰۰۰۲*	۰/۰۰۱۱ns	۰/۲۴**	۱/۲۳**	۱۸۱۹/۴۴**	۳/۴۹ns	۴/۳۳ns	۲۵/۷۱**
خطا	۱۸	۰/۰۰۰۰۸۷	۰/۰۰۰۰۰۸۲	۰/۰۰۱۴	۰/۰۰۳۴	۰/۰۵۴	۴۵۶۸/۲۸	۱/۳۱	۲/۷۱	۰/۹۹
٪CV		۵/۴	۴/۶	۷/۹	۱۰/۱	۹/۷	۴/۴	۵/۵	۱۲/۸	۵/۳

*، ** و ns: به ترتیب نشان‌دهنده معنی‌دار بودن در سطح ۵٪ و ۱٪ و عدم اختلاف معنی‌دار.

جدول ۴- مقایسه میانگین وزن خشک بخش هوایی و ریشه، درصد نیتروژن کل، نیترات، پروتئین‌های محلول، اسیدهای آمینه و محتوای کلروفیل به همراه مقادیر کربوهیدرات و پرولین اسفرزه

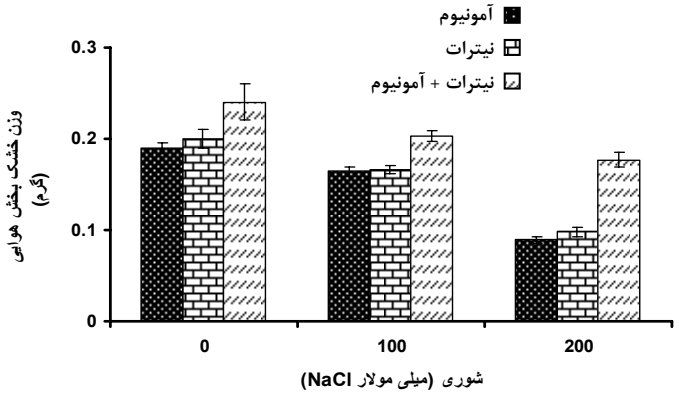
تیمار	وزن خشک (گرم)		درصد نیتروژن	نیترات کل (میلی‌گرم در گرم وزن خشک)	پروتئین‌های محلول (میلی‌گرم پروتئین در گرم وزن تر)	اسیدهای آمینه (میکروگرم در گرم وزن تر)	محتوای کلروفیل (قرائت SPAD)	کربوهیدرات (میکروگرم گلوکز در گرم وزن تر)	پرولین (میکرومول در گرم وزن تر)
	هوایی	ریشه							
شوری (میلی‌مولار نمک NaCl)									
۰	۰/۲۱a	۰/۰۶۷c	۰/۵۳a	۰/۸۷a	۳/۰۴a	۱۲۳/۸۲a	۲۱/۲۴a	۷/۹۳c	۱۰/۶۴c
۱۰۰	۰/۱۷b	۰/۰۶۱b	۰/۴۷b	۰/۶۱b	۲/۳۲b	۸۹/۷۷b	۲۰/۸a	۱۱/۷۱b	۱۲/۱۸b
۲۰۰	۰/۱۲c	۰/۰۵۸c	۰/۴۰c	۰/۲۶c	۱/۷۶c	۵۱/۳۷c	۲۰/۰۷c	۱۸/۷۷c	۳۲/۸۴a
منبع نیتروژن									
نیترات	۰/۲۱a	۰/۰۶۵a	۰/۴۹a	۱/۱۴a	۲/۵۹a	۱۰۸/۶۶a	۲۰/۹۷a	۱۳/۲۴a	۱۸/۰۱b
آمونیوم	۰/۱۴b	۰/۰۵۸b	۰/۴۴b	۰/۰۱۳c	۲/۸ab	۷۹/۶b	۲۰/۶۶a	۱۲/۲۳a	۱۶/۸۱c
آمونیوم+نیترات	۰/۱۵b	۰/۰۶۲a	۰/۴۸a	۰/۵۹b	۲/۲۱b	۷۸/۷b	۲۰/۴۸a	۱۲/۹۴a	۲۰/۸۵a

میانگین‌های دارای حروف مشابه در هر ستون تفاوت معنی‌داری ندارند.

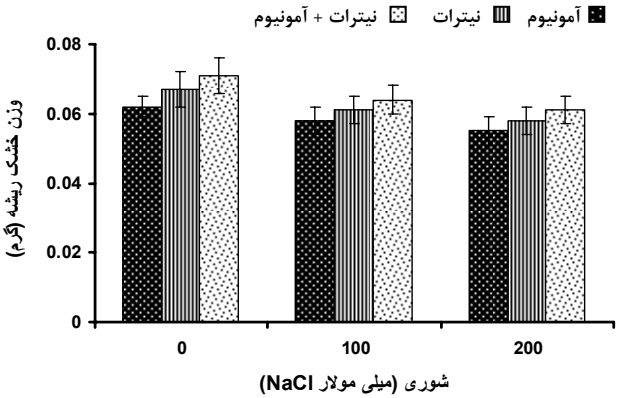
جدول ۵- ضرائب همبستگی بین وزن خشک بخش هوایی و ریشه، درصد نیتروژن کل، نیترات، پروتئین‌های محلول، اسیدهای آمینه و محتوای کلروفیل به همراه مقادیر کربوهیدرات و پرولین اسفرزه

	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹
(۱) وزن خشک بخش هوایی	۱								
(۲) وزن خشک ریشه	۰/۸۲**	۱							
(۳) درصد ازت	۰/۷۶**	۰/۷۴**	۱						
(۴) نیترات کل	۰/۷۳**	۰/۷۹**	۰/۶۴**	۱					
(۵)پروتئین‌های محلول	۰/۶۹**	۰/۴۶**	۰/۵۶**	۰/۲۳ns	۱				
(۶) اسیدهای آمینه	۰/۸۹**	۰/۶۷**	۰/۷۰**	۰/۴۹*	۰/۸۴**	۱			
(۷) محتوای کلروفیل	۰/۴۴*	۰/۲۶ns	۰/۳۴*	-۰/۰۰۷۱ns	۰/۶۶**	۰/۵۶**	۱		
(۸)کربوهیدرات	-۰/۷۷**	-۰/۶۴**	-۰/۷۷**	-۰/۴۶**	-۰/۶۶**	-۰/۸۰**	-۰/۳۶*	۱	
(۹) پرولین	-۰/۷۱**	-۰/۵۱**	-۰/۷۰**	-۰/۳۶*	۰/۶۴**	-۰/۷۲**	-۰/۲۱ns	۰/۸۵**	۱

*، ** و ns: به ترتیب نشان‌دهنده معنی‌دار بودن در سطح ۵٪ و ۱٪ و عدم اختلاف معنی‌دار.



شکل ۱- اثر متقابل شوری و تغذیه نیتروژن بر وزن خشک بخش هوایی اسفرزه

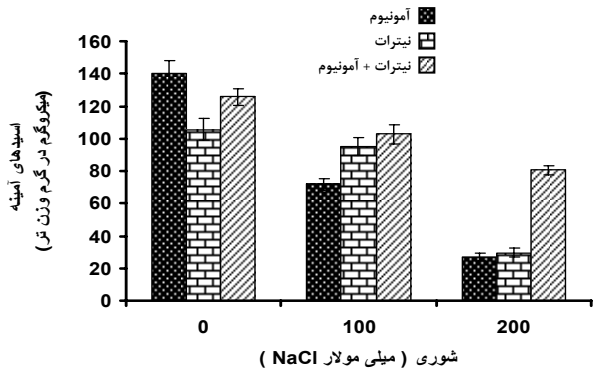


شکل ۲- اثر متقابل شوری و تغذیه نیتروژن بر وزن خشک ریشه اسفرزه

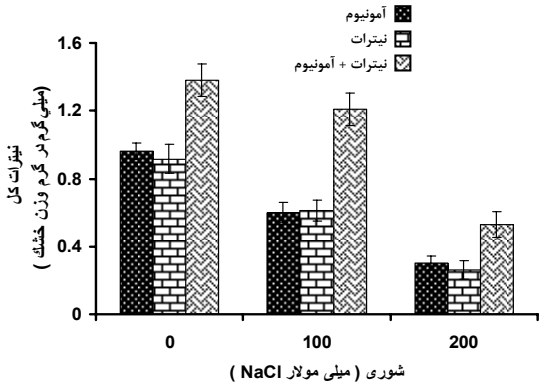
با بالا رفتن میزان شوری از شاهد به ۲۰۰ میلی‌مولار نمک NaCl به صورت معنی‌داری از مقادیر کلیه این فاکتورها کاسته شدند. میزان کاهش برای درصد نیتروژن، مقدار کل نیترات، پروتئین‌های محلول و اسیدها آمینه موجود در بافت سبز برگ‌ها در شوری ۲۰۰ میلی‌مولار نسبت به شوری شاهد به ترتیب معادل ۲۴/۵، ۷۰/۱، ۴۲/۱ و ۵۸/۵ درصد بودند (جدول ۴). یکی از اثرات شوری تداخل در جذب عناصر غذایی، به ویژه نیتروژن است. Irshad (2002) گزارش کرد که Cl^- مانع جذب NO_3^- در شرایط تنش شوری می‌شود. از طرفی Na^+ مانع جذب نیتروژن به صورت NH_4^+ می‌گردد. از اینرو بسیاری از فرآیندهای مرتبط با نیتروزن در گیاهان دچار اختلال شده و در نهایت از رشد و عملکرد گیاهان کاسته می‌شود.

در بین نوع تغذیه نیتروژنی، استفاده از منبع نیتروژنی نیترات بهتر از دو نوع دیگر تغذیه نیتروژنی بود و بالاترین مقادیر این فاکتورها در تیمار کودی نیترات به دست آمد. تیمار کودی آمونیوم + نیترات و آمونیوم به ترتیب در مرحله دوم و سوم قرار داشتند (جدول ۴). در بررسی اثر متقابل شوری و تغذیه نیتروژن مشخص گردید که شوری به صورت معنی‌داری سبب کاهش تمامی این فاکتورها در بافت سبز برگ گیاه اسفرزه گردید اما استفاده از منبع نیتروژن از نوع ترکیبی آمونیوم+نیترات در بالاترین سطح شوری (۲۰۰ میلی‌مولار نمک NaCl) به میزان بیشتری از دیگر تغذیه نیتروژنی توانست سبب افزایش مقادیر این فاکتورها شود (شکل‌های ۳ تا ۶). استفاده از منبع نیتروژن آمونیوم + نیترات همچنین توانست بر میزان جذب نیتروژن در گیاه اسفرزه تحت تنش شوری بیافزاید. در بالاترین سطح شوری مقدار نیتروژن جذب شده نسبت به مصرف دو نوع دیگر تغذیه نیتروژنی (آمونیوم و نیترات) بیشتر بود.

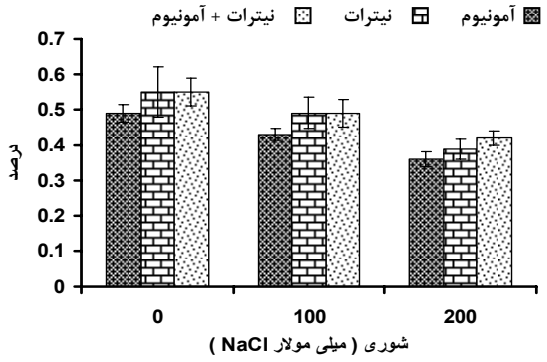
بر اساس نظر Marschner (1995) بسیاری از فرآیندهای حیاتی گیاهان وابسته به حضور میزان مناسبی نیتروژن در بافت‌های آنها دارد. سنتز پروتئین، کلروفیل و سنتز آنزیم‌ها وابسته به نیتروژن است.



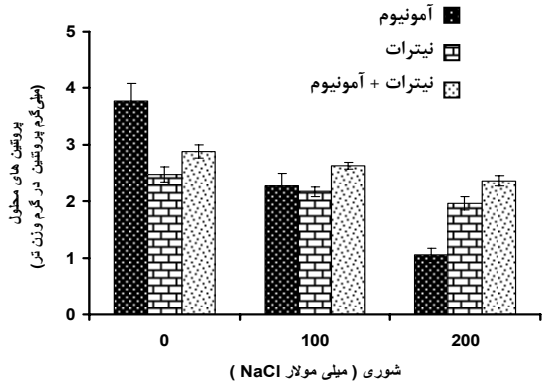
شکل ۳- اثر متقابل شوری و تغذیه نیتروژن بر میزان اسیدهای آمینه اسفرزه



شکل ۴- اثر متقابل شوری و تغذیه نیتروژن بر میزان کل نیترات اسفرزه



شکل ۵- اثر متقابل شوری و تغذیه نیتروژن بر درصد نیتروژن اسفرزه



شکل ۶- اثر متقابل شوری و تغذیه نیتروژن بر میزان پروتئین‌های محلول اسفرزه

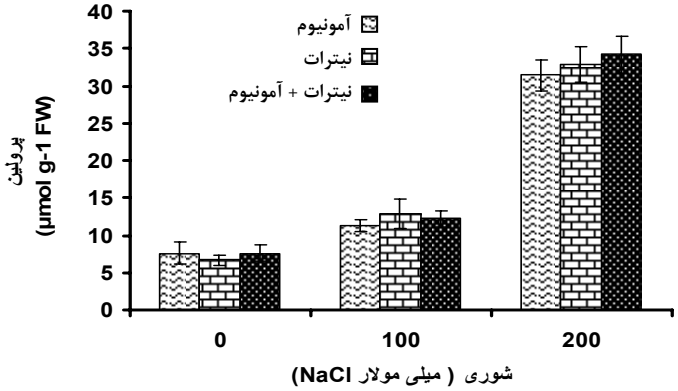
محتوای کلروفیل، مقادیر کربوهیدرات محلول و پرولین

نتایج حاصل از تجزیه واریانس در این آزمایش (جدول ۳) نشان داد تنش شوری تأثیر معنی‌داری بر تمامی سه فاکتور فیزیولوژیک محتوای کلروفیل، میزان کربوهیدرات و پرولین در گیاه اسفرزه دارد. مقایسه میانگین داده‌ها بر اساس میانگین‌های چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵٪ نشان داد با افزایش سطح تنش شوری از شاهد به ۲۰۰ میلی‌مولار نمک NaCl در محیط ریشه از میزان کلروفیل کاسته و در مقابل بر مقدار کربوهیدرات و پرولین برگ افزوده شد (جدول ۴). در بالاترین سطح شوری (۲۰۰ میلی‌مولار نمک NaCl) میزان افزایش پرولین و کربوهیدرات نسبت به شوری شاهد به ترتیب معادل ۶۷/۶ و ۵۷/۷ درصد بود (جدول۴). در این آزمایش مشخص گردید که بین میزان تجمع پرولین و کربوهیدرات محلول در بافت سبز برگ با ماده خشک در دو بخش ریشه و هوایی همبستگی معنی‌دار و منفی وجود دارد در مقابل این همبستگی برای کلروفیل معنی‌دار و مثبت بود (جدول ۵).

Ashraf (2004) گزارش کرد که از میزان فتوسنتز گیاهان در شرایط تنش شوری کاسته می‌شود. دلیل این کاهش مرتبط با کاهش میزان کلروفیل، افزایش فلورسانس کلروفیل و بسته شدن دهانه روزنه‌ها می‌باشد. در طی بروز تنش شوری گیاهان سعی در تنظیم اسمزی با استفاده از ترکیبات آلی همانند پرولین و کربوهیدرات دارند. این ترکیبات تا حدی شرایط لازم برای ادامه رشد و فتوسنتز برای گیاهان فراهم می‌کنند. مطالعات بیوشیمیایی نشان داده که در گیاهان تحت تنش شوری و خشکی تعدادی از ترکیبات آلی (محلول‌های سازگارکننده) تجمع می‌یابد، این ترکیبات تداخلی در فرآیندهای شیمیایی آنها وارد نمی‌کنند. از این ترکیبات می‌توان به انواعی از کربوهیدراتهای محلول (مانیتول، ساکارز، رافینوز و الیگوساکارید) و ترکیبات نیتروژنه (اسید آمینه، پرولین و گلیسین-بتائین) اشاره کرد. ترکیبات سازگارکننده نقش مهمی در بهبود تنظیم اسمزی در گیاهان تحت تنش دارند (Good & Zaplachiniski, 1994).

در این آزمایش نوع تغذیه نیتروژنی تنها بر میزان پرولین معنی‌دار شد. تأثیر آن بر دیگر دو فاکتور فیزیولوژیک یعنی محتوای کلروفیل و میزان کربوهیدرات بافت سبز معنی‌دار نبود (جدول ۳). در بین سه نوع کود مصرفی، منبع نیتروژن از نوع ترکیب آمونیوم + نیترات از بیشترین کارآیی نسبت به دو نوع دیگر تغذیه نیتروژنی در افزایش میزان پرولین برخوردار بود (جدول۴). اثر متقابل تیمار شوری و نوع تغذیه نیتروژنی نیز تنها دارای تأثیر معنی‌دار بر میزان پرولین بود (جدول ۳). مشخص گردید که در بالاترین سطح شوری (۲۰۰ میلی‌مولار نمک NaCl)، استفاده از تیمار ترکیبی آمونیوم+نیترات نسبت به سایر منابع نیتروژنی می‌تواند به مقدار بیشتری در بهبود افزایش میزان پرولین مؤثر باشد (شکل ۷).

براساس نظر Marschner (1995) یک پرولین ترکیب آلی است که در ساختمان آن نیتروژن به کار رفته است و مصرف نیتروژن به صورت نیترات و یا ترکیب نیترات + آمونیوم می‌تواند در افزایش سنتز آن مؤثر باشد. Heuer (1994) اعلام کرد در طی بروز



شکل ۷- اثر متقابل شوری و تغذیه نیتروژن بر میزان تجمع پرولین اسفرزه

خشکی بر میزان تجمع ترکیبات آلی همانند پرولین در تمام اندامهای گیاهان افزوده می‌شود. پرولین اسید آمینه ذخیره شده در سیتوپلاسم سلول بوده و مولکول‌های آن شامل قسمت‌های آبدوست و آبگریزند. تجمع پرولین در بافتهای گیاهان تحت تنش می‌تواند تا حدی شرایط لازم برای ادامه جذب آب از محیط ریشه برای گیاهان فراهم آورد.

بر اساس نتایج به دست آمده در این آزمایش می‌توان بیان کرد که شوری سبب کاهش رشد و میزان بیوماس تولیدی در گیاه دارویی اسفرزه می‌شود. همچنین شوری سبب کاهش میزان کلروفیل، اسیدهای آمینه، میزان پروتئین و درصد جذب نیتروژن در این گیاه گردید. استفاده از نیتروژن که به عنوان یکی از عناصر پرمصرف در گیاهان به شمار می‌رود تا حدی توانست از بروز صدمات بیشتر شوری بخصوص در سطح ۲۰۰ میلی‌مولار NaCl بر این گیاه بکاهد. این کاهش بیشتر در مصرف تیمار ترکیبی نیتروژن به صورت آمونیوم + نیترات مشاهده گردید.

REFERENCES

1. Appel, K. & Hirt, H. (2004). Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress and signal transduction. *Annu Rev Plant Biol*, 55, 373-399.
2. Asgharipoor chaman, M. R. (2002). *Effects of planting date and amount of seed per unit area on the morphological characteristics and quality on Psyllium (Plantago ovata F.)*. M.Sc. Thesis, University of Mashhad. (in Farsi).
3. Ashraf, M. (1999). Interactive effect of salt (NaCl) and nitrogen source on growth, water relations and photosynthetic capacity of sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Annals of Applied Biology*, 135, 509–513.
4. Ashraf, M. (2004). Some important physiological selection criteria for salt tolerance in plants. *Flora*, 199, 361-376.
5. Bates, S., Waldern, R. P. & Teare, E. D. (1973). Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil*, 39, 205-207.
6. Bourgeais-Chaillou, P., Perez-Alfocea, F. & Guerrier, G. (1992). Comparative effect of N-sources on growth and physiological responses of soybean exposed to NaCl-stress. *J Exp Bot*, 43, 1225–1233.
7. Cataldo, D. A., Haroon, M., Schrader, L. E. & Youngs, V. L. (1975). Rapid calorimetric determination of nitrate in plant tissues by nitration of salicylic acid. *Soil Sci Plant Ana*, 6, 71-80.
8. Feigin, A. (1985). Fertilization management of crops irrigated with saline water. *Plant and Soil*, 89, 285-291.
9. Good, A. & Zaplachiniski, S. (1994). The effects of drought on free amino acid accumulation and protein syntesis in *Brassica napus*. *Physiologia Plantarum*, 90, 9–14.
10. Grattan, S. R. & Grieve, C. M. (1999). Salinity – mineral nutrient relations in horticultural crops. *Scientica Horticuture*, 78, 127 – 157
11. Heuer, B. (1994). Osmoregulatory role of proline in water stress and salt-stressed plants. pp 363-481. In: M. Pessarkli (Ed), *Handbook of Plant and Crop stress*. Marcel Dekker pub. New York. 1254 pages.
12. Irrigoyen, J. H., Emerich, D. W. & Sanchez Diaz, M. (1992). Water stress induced changes in concentration of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa plant. *Physiologia Pantarum*, 84, 55-66.
13. Irshad, M., Yamamoto, S., Eneji, A. E., Honna, T. & Endo, T. (2002). Urea and manure effect on growth and mineral contents of maize under saline conditions. *J Plant Nutr*, 25, 189–200.
14. Kafkafi, U., Valoras, N. & Letey, J. (1982). Chlorid interaction with nitrate and phosphate nutrition in tomato. *J Plant Nut*, 5, 1369-1389.
15. Lea-Cox, J. D. & Syverttsen, J. P. (1993). Salinity reduces water use nitrate–N use efficiency of citrus. *Ann Bot*, 72, 47-54.
16. Lotfi1, A., Vahabi Sedehi, A. A., Ganbari, A. & Heydari, M. (2009). The effect of deficit irrigation and manure on quantity and quality traits of *plantago ovata* Forssk. In Sistan region. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 24(4), 506-518.
17. Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. & Randall, R. J. (1951). Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem*, 193, 265- 267.
18. Marschner, H. (1995). *Mineral nutrition of higher plants*. 2nd Academic Press. Ltd. London. 862 pages.
19. Munns, R., James, R. A. & Lauchli, A. (2006). Approaches to increasing the salt tolerance of wheat and other cereals. *J Exp Botany*, 57(5), 1025-1043.
20. Yemm, E. W. & Cocking, E. C. (1954). The determination of amino-acids by ninhydrin. *Analyst*, 80, 209-213.