Archive of SID

نشریه پژوهش‌های تولید گیاهی
جلد بیست و هفتم، شماره چهارم، ۱۳۹۹
۷۷-۹۸
http://jopp.gau.ac.ir
DOI: 10.22069/jopp.2020.16779.2538

اثر نیکل بر متابولیسم نیتروژن و رشد کلزای تغذیه شده با منابع مختلف نیتروژن در کشت محلول

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

[۱]استادیار پژوهش مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی قم، سازمان تحقیقات، ترویج و آموزش کشاورزی، ایران،
[۲]استاد گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران،
[۳]استاد گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران،
[۴]استادیار مؤسسه تحقیقات خاک و آب، سازمان تحقیقات، ترویج و آموزش کشاورزی، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۳/۲۶؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۵/۱۰

چکیده

سابقه و هدف: اطلاعات بسیار اندکی درباره تأثیر تغذیه نیکل بر متابولیسم نیتروژن در شرایط حضور و عدم حضور اوره و اسیدهای آمینه مختلف در گیاهان وجود دارد. مصرف مقادیر بالای اوره در مزارع کلزا، لزوم بررسی اثر نیکل در بهبود کارآیی متابولیسم نیتروژن در این شرایط را نشان می‌دهد. هدف از اجرای این پژوهش، بررسی اثر نیکل در حضور و عدم حضور اوره و سه نوع اسیدآمینه هیستیدین، آرجنین و تریپتوفان بر رشد کلزا و متابولیسم نیتروژن در کشت محلول بود.

مواد و روش‌ها: این پژوهش گلخانه‌ای به‌صورت کاملاً تصادفی در آرایش کرت‌های خرد شده فاکتوریل و در سه تکرار در محیط کشت محلول بر روی کلزا (رقم هایولا-۴۰۱) انجام شد. کرت اصلی آزمایش شامل محلول غذایی حاوی اوره و محلول غذایی فاقد اوره و کرت فرعی شامل نیکل در سه سطح صفر، ۵ و ۱۰ میکرومولار از منبع سولفات نیکل و اسیدآمینه در چهار سطح شامل عدم کاربرد اسیدآمینه و کاربرد اسیدهای آمینه تریپتوفان، آرجنین و هیستیدین با غلظت ۱۰۰ میکرومولار بودند. در پایان آزمایش، وزن خشک شاخساره و ریشه، غلظت و جذب نیکل و برخی ترکیبات نیتروژنی از جمله نیتروژن، نیترات، آمونیم، اوره و اسید آمینه شاخساره و ریشه و هم‌چنین فعالیت آنزیم اوره‌آز این دو بخش، اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: به‌طورکلی، صرف‌نظر از سطوح نیکل و اسیدآمینه، وزن خشک شاخساره در محلول غذایی حاوی اوره، به‌صورت قابل‌توجه و معنی‌دار، کم‌تر از محلول غذایی فاقد اوره بود. در محلول حاوی اوره، مصرف ۵ میکرومولار نیکل به همراه هیستیدین، سبب افزایش معنی‌دار وزن خشک شاخساره گردید. همین نتایج در محلول فاقد اوره نیز مشاهده شد. در محلول غذایی حاوی اوره، با حضور اسیدهای آمینه، تأثیر مثبت نیکل بر رشد شاخساره گیاه افزایش یافت. هم‌چنین، حضور نیکل به‌همراه اسیدهای آمینه سبب افزایش فعالیت آنزیم اوره‌آز برگ شد اگرچه فعالیت اوره‌آز در بوته‌های تغذیه شده با اوره به مراتب بیش‌تر از بوته‌های رشد کرده در محلول غذایی فاقد اوره بود.

* مسئول مکاتبه: mhmirzap@yahoo.com

www.SID.ir

Archive of SID

نتیجه‌گیری: تأثیر مثبت کاربرد نیکل بر متابولیسم نیتروژن و رشد گیاه به سطح نیکل و حضور یا عدم حضور اوره و اسیدهای آمینه بستگی داشت. کاربرد ۵ میکرومولار نیکل، تأثیر مثبتی بر متابولیسم نیتروژن و رشد کلزا در شرایط تغذیه با اوره داشت در حالی‌که در شرایط بدون اوره تأثیری بر رشد گیاه نداشت. در محلول غذایی حاوی اوره، با حضور اسیدهای آمینه به‌ویژه هیستیدین، تأثیر مثبت نیکل بر رشد ریشه گیاه افزایش یافت. صرف‌نظر از تیمار اوره، سطح ۱۰ میکرومولار نیکل برای کلزا سمیت ایجاد کرد اگرچه حضور اسیدهای آمینه به کاهش سمیت منجر شد.

واژه‌های کلیدی: آرجنین، اوره، اوره آز، تریپتوفان، هیستیدین

مقدمه

کلزا یکی از گیاهان دانه روغنی است که دانه آن حاوی ٤٠ تا ٤٥ درصد روغن و ۲۵ تا ۳۵ درصد پروتئین است. به‌دلیل ترکیب مناسب اسیدهای چرب غیراشباع و درصد اندک اسیدهای چرب اشباع شده، کلزا همانند زیتون یکی از با ارزش‌ترین روغن‌های خوراکی محسوب می‌شود. کشت کلزا یکی از محصولات راهبردی در کشور برای افزایش ضریب خوداتکایی است. برهمین اساس، توجه به افزایش عملکرد و کیفیت این محصول به‌ویژه از طریق بهبود مدیریت تغذیه گیاه اهمیت زیادی دارد. یکی از عناصر غذایی که در سال‌های اخیر مورد توجه متخصصان تغذیه گیاه قرار گرفته است، نیکل می‌باشد (٤۲).

نیکل یکی از عناصر کم‌مصرف ضروری برای گیاهان عالی می‌باشد (۳ و ٤). با وجود آن‌که بسیاری از پروتئین‌ها حاوی نیکل هستند (٤٠)، اما نقش این فلز در تغذیه گیاه، فیزیولوژی و فعالیت‌های متابولیسمی (سوخت‌وسازی) آن کم‌تر مورد توجه قرار گرفته است. آنزیم‌های گوناگونی هم‌چون نیکل-آهن هیدروژناز، سوپر اکسید دیسماتاز و متیلن اوره‌آز در باکتری‌ها توسط نیکل به‌عنوان یکی از اجزاء ساختمانی آن‌ها فعال می‌شوند (۳۱ و ٤۱)، ولی، به‌نظر می‌رسد در حال حاضر، نیکل، تنها در فعال کردن آنزیم اوره‌آز در گیاهان عالی نقش داشته باشد (۷ و ١٤). نتایج برخی مطالعات نشان داده است در صورتی که نیکل کافی در اختیار سویا قرارگیرد، محلول‌پاشی نیتروژن به شکل اوره، اثربخشی بیش‌تری در مقایسه با سایر منابع نیتروژنی دارد (۲۵).

اگرچه تاکنون نقش نیکل تنها در هیدرولیز اوره (به‌عنوان یکی از منابع نیتروژن در دسترس گیاه) از طریق فعال‌کردن آنزیم اوره‌آز شناخته شده است، گزارش‌هایی از تأثیر این عنصر بر متابولیسم سایر شکل‌های نیتروژن در گیاه نیز وجود دارد. گیاهان قادرند از اشکال مختلف نیتروژن استفاده کنند. عمده‌ترین اشکال قابل‌جذب نیتروژن، نیترات و آمونیم می‌باشد (١٤). به‌علاوه، اوره نیز می‌تواند به‌صورت برگ‌پاشی مصرف شود و پس از هیدرولیز توسط آنزیم اوره‌آز (موجود در محیط ریشه و یا تولید شده در داخل سلول) قابل استفاده شود (۲۸ و ۲۹). با توجه به این‌که اوره قادر نیست مستقیماً در متابولیسم گیاه شرکت کند، بنابراین در صورت مصرف به‌عنوان تنها منبع نیتروژن، در گیاه تجمع می‌یابد و باعث ایجاد سمیت در آن می‌شود. دلیل احتمالی سمیت آن می‌تواند به‌خاطر یون آمونیم تولید شده در حین آسیمیلاسیون اوره (۱۰) و یا خود اوره (۲۵) باشد. از راه‌های غلبه بر سمیت اوره در گیاهان عالی، استفاده از نیکل است. دو اتم نیکل در ساختمان اوره‌آز که

www.SID.ir

Archive of SID

شامل ٦ واحد ساختمانی مجزاست، مشارکت دارد (۱ و ۲۷). در گیاه، اوره توسط آنزیم اوره‌آز، به آمونیم و گاز دی‌اکسیدکربن تبدیل می‌شود (١٤). در غیاب نیکل، انباشت اوره در برگ اتفاق می‌افتد که سبب نکروز شدید و از بین رفتن گیاه می‌شود (۱۰). از سوی دیگر، همبستگی خوبی بین فعالیت اوره‌آز و متابولیسم نیتروژن ارائه شده است (١٤). برخی پژوهش‌گران به اثر فزاینده نیکل بر عملکرد گیاهان در شرایط آب‌کشت و با مصرف اوره به‌عنوان منبع نیتروژن اشاره کرده‌اند (١٦ و ۳۵). یافته‌های دانشمندان نشان داده است نشانه‌های سمیت اوره (در شرایط به‌کارگیری اوره به‌عنوان تنها منبع نیتروژن) در حضور نیکل کاهش می‌یابد. این در حالی است که نیکل در محیط کشت حاوی نیترات، اثر کم‌تری بر رشد و آسیمیلاسیون نیتروژن داشته است (۳۹). مطالعات بر روی گندم، سویا، کدو، آفتابگردان و چاودار نشان داده است که در غیاب نیکل، فعالیت اوره‌آز به‌شدت کاهش یافته و در نتیجه، انباشت اوره و کاهش عملکرد ماده خشک و جذب نیتروژن اتفاق می‌افتد (١٤). از دیگر منابع نیتروژن قابل‌جذب گیاه، می‌توان به اسیدهای آمینه اشاره کرد. اغلب گیاهان قادرند به‌طور مستقیم، اسیدآمینه را بدون نیاز به معدنی شدن میکروبی و تبدیل آن به آمونیم و نیترات جذب کنند (۱۹). در شرایط کمبود نیتروژن، حدود ۲۰ درصد از نیاز گیاه به نیتروژن می‌تواند از طریق اسیدهای آمینه تأمین شود (۱۹). اسیدهای آمینه از طریق آوند چوب و آبکش در گیاه منتقل می‌شوند که این عمل، علاوه بر باز چرخ نیتروژن بین ریشه و اندام هوایی، باعث افزایش انتقال برخی از عناصر از جمله روی و نیکل در اندام‌های هوایی می‌گردد که این فرآیند برای عناصر کم‌تحرک دارای اهمیت است (۲۳). تنها، بخش اندکی از عناصر کم‌مصرف در محیط ریشه به شکل آزاد وجود داشته و غالب یون‌ها، به مولکول‌های کم‌وزن ترشح شده از ریشه‌ها، لیگاند می‌شوند (۵ و ۳۲). برخی از این مولکول‌ها شامل قندها، اسیدهای آمینه و اسیدهای آلی هستند (۱۱، ۱۸ و ۳۲). اسید آمینه‌هایی که با فلزات، کمپلکس تشکیل می‌دهند، دارای عامل کربوکسیلات(COO^-) و آمین ($-NH_2$) می‌باشند (۱۱ و ۱۵). تشکیل کمپلکس اسیدآمینه–نیکل، چه در داخل و چه در خارج ریشه، باعث می‌شود این عنصر به‌همراه عوامل کلات‌کننده، به اندام‌های هوایی منتقل شود و این امر می‌تواند به تسهیل جذب عناصر کم‌مصرف کمک نماید (۸). در شرایط تنش‌های محیطی، غلظت اسیدهای آمینه در گیاه افزایش می‌یابد که این اسیدهای آمینه می‌توانند به‌عنوان عامل اُسمولایت[1] عمل کرده و در تنظیم انتقال انتقال یون، باز شدن روزنه‌ها، حفظ پروتئین‌ها، استحکام غشاء سلولی، فعالیت برخی آنزیم‌ها و سمیت‌زدایی فلزات سنگین نقش به‌سزایی ایفا کنند (٣٤).

اگرچه نقش نیکل در متابولیسم اوره در گیاهان مختلف بررسی شده است، اما اطلاعات بسیار اندکی درباره تأثیر تغذیه نیکل بر متابولیسم نیتروژن در محیط‌های حاوی اوره و یا فاقد اوره در حضور برخی اسیدهای آمینه وجود دارد. هدف از اجرای این پژوهش، بررسی اثر نیکل در شرایط حضور و عدم حضور اوره و سه نوع اسیدآمینه هیستیدین، آرجنین و تریپتوفان بر رشد و متابولیسم نیتروژن در گیاه کلزا می‌باشد.

1- Osmolyte

www.SID.ir

Archive of SID

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر در بهار سال ۱۳۹٦ در شرایط گلخانه‌ای (دمای ۳۲ درجه سلسیوس روزانه، ۲۰ درجه سلسیوس شبانه و رطوبت ۸۰ درصد) در گلخانه مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی قم با مختصات "۲۳,۱٦ '٤٥ °٥۰ شرقی و "۲٤,۷۳ '۳۳ °۳٤ شمالی و ۱۰۰۹ متر بالاتر از سطح دریا به‌صورت کاملاً تصادفی در آرایش کرت‌های خرد شده فاکتوریل و در سه تکرار در محیط کشت محلول انجام شد. کرت اصلی آزمایش شامل محلول غذایی حاوی اوره و محلول غذایی فاقد اوره و کرت فرعی شامل نیکل در سه سطح صفر، ۵ و ۱۰ میکرومولار از منبع سولفات نیکل و اسیدآمینه در چهار سطح شامل عدم کاربرد اسیدآمینه و کاربرد اسیدهای آمینه تریپتوفان، آرجنین و هیستیدین با غلظت ۱۰۰ میکرومولار بودند. مبنای انتخاب این غلظت اسیدآمینه، بر اساس حداقل غلظت اسیدآمینه در محلول خاک بود (٤۳).

بذرهای کلزا (*Brassica napus* L.) رقم هایولا-٤۰۱، پس از تهیه از مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، با محلول یک در هزار قارچ‌کش ضدعفونی شده و در بستر ماسه‌ای شسته شده با اسید و سترون‌شده کشت شدند. پنج روز پس از جوانه‌زنی، نشاءهای یک دست کلزا به ظروف پلی‌اتیلنی یک لیتری حاوی محلول غذایی هوگلند تغییر یافته (جدول ۱) (تهیه شده با آب مقطر یون‌زدایی شده و مواد شیمیایی با خلوص بیش از ۹۹ درصد) و نیز سطوح مختلف نیکل و اسیدآمینه منتقل شدند. هر ظرف پلی‌اتیلنی (هر تکرار) شامل دو بوته کلزا بود. جهت جلوگیری از رشد جلبک، اطراف ظروف با پلاستیک مشکی ضخیم پوشانده شدند. هوادهی ریشه‌ها به‌طور منظم و روزانه انجام شد. اسیدیته محلول غذایی با افزودن هیدروکسید سدیم و یا اسیدکلریدریک یک مولار، در محدوده ٦-۵/۵ ثابت نگه داشته شد. محلول غذایی هر ۷-۵ روز یک‌بار تعویض گردید. پس از گذشت ٤۵ روز، شاخساره و ریشه از هم جدا شده و به‌صورت جداگانه توزین و به آزمایشگاه منتقل گردید. جهت اندازه‌گیری غلظت نیکل، نمونه گیاه به‌مدت ۷۲ ساعت در دمای ۷۰ درجه سلسیوس در خشک‌کن برقی، خشک شد. نمونه‌های خشک شده آسیاب شده و به روش سوزاندن در کوره و عصاره‌گیری با اسید کلریدریک دو نرمال هضم گردید. غلظت نیکل با دستگاه پلاسمای جفت شده القایی-نوری[1] شرکت وریان، مدل ام-پی-ایکس (آمریکا) اندازه‌گیری شد.

جدول ۱- ترکیب محلول غذایی مورد استفاده در آزمایش (۱۷).

Table 1. Composition of nutrient solution.

عنصر غذایی	میلی‌مولار ($mmole.lit^{-1}$)	عنصر غذایی	میکرومولار ($\mu mole.lit^{-1}$)
(Urea or NO_3^-) N	5	Fe	20
K	2.5	Zn	2
P	0.5	B	24
Ca	2	Mn	3
Mg	0.8	Cu	1
S	3.5	Mo	0.1

1- Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Spectroscopy (ICP-OES)

www.SID.ir

Archive of SID

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم اوره‌آز، روش ارائه شده توسط فرانکنبرگر و طباطبایی (۱۹۸۲) به‌کار گرفته شد (۱۲).

فعالیت آنزیم اوره‌آز بر حسب میکرومول آمونیم تولید شده بر گرم ماده تر در ساعت محاسبه شد. برای اندازه‌گیری نیترات، از روش کاتالدو و همکاران (۱۹۷۵) استفاده شد (٦). مقدار جذب در طول موج ٤١٠ نانومتر توسط دستگاه طیف‌سنج نوری (ATI UNICAM, 5626, UK) قرائت شد. غلظت نیترات بر حسب میکروگرم در گرم ماده تر بیان شد. اندازه‌گیری آمونیم برگ و ریشه به‌روش کینی و نلسون (۱۹۸۲) انجام (۲۰) و بر اساس میلی‌گرم در گرم ماده خشک ارائه شد. نیتروژن کل به‌روش کجلدال اندازه‌گیری و برحسب درصد ماده خشک، بیان شد. اندازه‌گیری غلظت اوره به روش لنگ و کایسر (۱۹۹٤) انجام شد (۲٦). جهت اندازه‌گیری غلظت اسیدآمینه کل، از روش روسن (۱۹۵۷) استفاده شد (۳٦). رنگ در طول موج ۵۷۰ نانومتر توسط دستگاه طیف‌سنج نوری (ATI UNICAM, 5626, UK) قرائت و غلظت اسیدآمینه بر حسب میکرومول بر گرم ماده تر بیان شد. شاخص کلروفیل با دستگاه کلروفیل‌متر (SPAD-502, Minolta) قبل از برداشت اندازه‌گیری گردید. هم‌چنین، سطح برگ بوته‌ها توسط سطح‌سنج قابل‌حمل LAM-A (China) اندازه‌گیری شد.

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

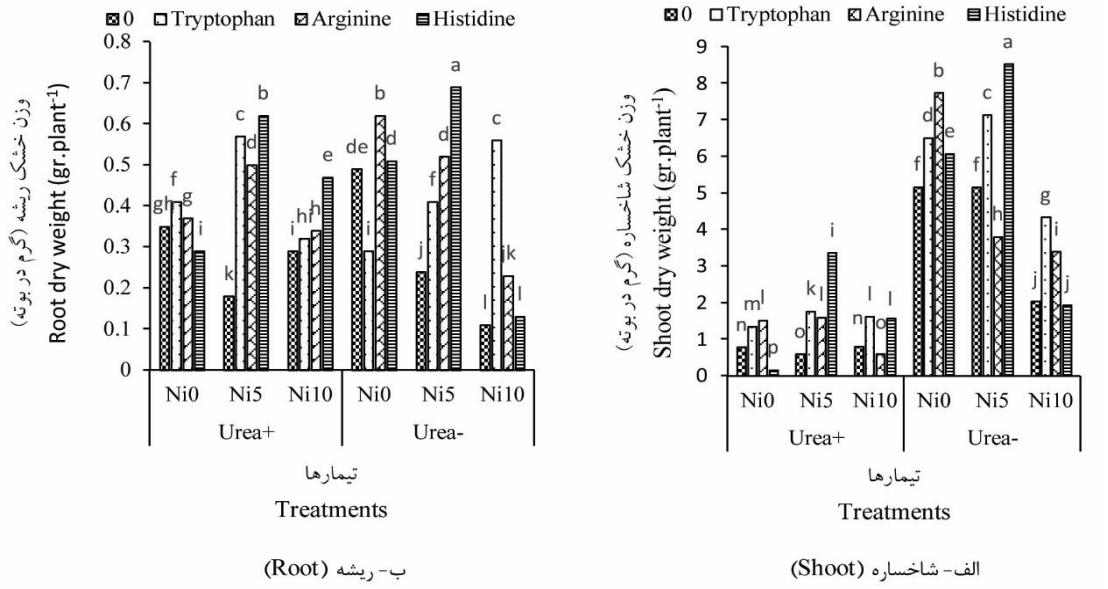
نتایج و بحث

عملکرد وزن خشک شاخساره و ریشه: تأثیر کاربرد نیکل بر وزن خشک شاخساره کلزا بسته به نوع اسید آمینه، سطح نیکل و منبع نیتروژن محلول غذایی متفاوت بود. جایگزینی نیترات با اوره در محلول غذایی، صرف‌نظر از تیمار نیکل و اسیدآمینه سبب کاهش معنی‌دار و قابل‌توجه عملکرد وزن خشک شاخساره شد (شکل ۱- الف). در محلول غذایی فاقد اوره، کاربرد ۵ میکرومولار نیکل، به‌جز در محلول حاوی آرجنین، سبب افزایش معنی‌دار عملکرد وزن خشک شاخساره گیاه شد اما کاربرد سطح بالاتر نیکل (۱۰ میکرومولار) سبب کاهش عملکرد وزن خشک شاخساره شد (شکل ۱- الف).

در شرایط تغذیه بدون اوره نیز تأثیر کاربرد نیکل بر عملکرد وزن خشک شاخساره بسته به غلظت نیکل مصرفی و نوع اسیدآمینه کاربردی متفاوت بود (شکل ۱- الف). کاربرد ۵ میکرومولار نیکل سبب افزایش عملکرد وزن خشک شاخساره در تیمارهای تریپتوفان و هیستیدین شد اما در تیمارهای آرجنین و بدون کاربرد اسیدآمینه، تأثیری بر عملکرد وزن خشک شاخساره نداشت. کاربرد ۱۰ میکرومولار نیکل تأثیر معنی‌داری بر عملکرد وزن خشک شاخساره نداشت. بالاترین میانگین وزن خشک شاخساره با کاربرد ۵ میکرومولار نیکل به همراه اسیدآمینه هیستیدین در محلول غذایی فاقد اوره به‌دست آمد (شکل ۱- الف).

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۱- تأثیر سطوح مختلف نیکل بر وزن خشک شاخساره و ریشه کلزا در محلول غذایی با و بدون اوره و در حضور و غیاب اسیدهای آمینه مختلف (حروف مختلف بر روی ستون‌ها نشانگر تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد آزمون دانکن بین میانگین‌ها می‌باشد).

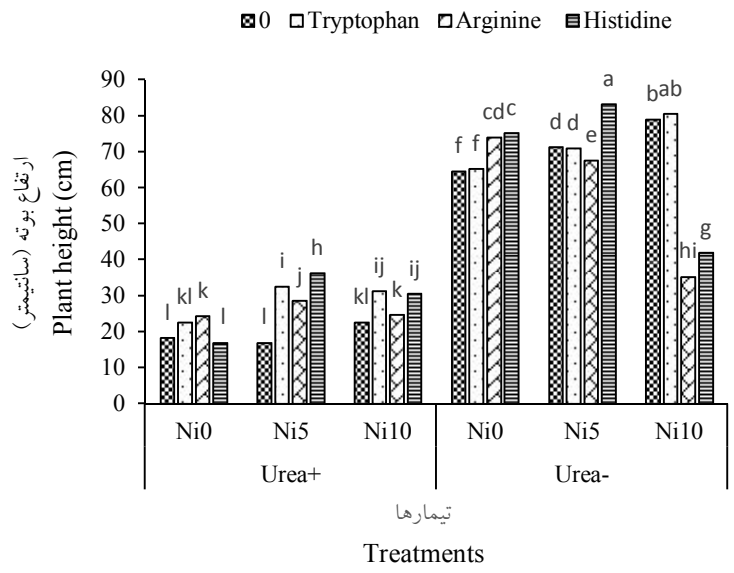
Fig. 1. Effect of different levels of nickel on canola shoot and root dry weight in solution with and without urea in presence and absence of amino acids (Different alphabets indicate significant differences between means at 5% probability level and based on the Duncan test).

اگرچه وزن خشک شاخساره کلزا در محلول غذایی حاوی اوره به‌طور قابل‌ملاحظه‌ای کم‌تر از محلول فاقد اوره بود، اما تأثیر کاربرد نیکل در افزایش وزن خشک شاخساره گیاه در محلول غذایی دارای اوره آشکارتر بود به‌گونه‌ای که با مصرف ۵ میکرومولار نیکل به همراه اسیدآمینه هیستیدین، عملکرد خشک شاخساره در مقایسه با عدم مصرف نیکل درهمان شرایط، حدود ۲۱ برابر افزایش داشته در حالی‌که این مقدار برای محلول غذایی فاقد اوره حدود ۱/٤ برابر بود. در محلول حاوی اوره و اسیدهای آمینه، مصرف ۵ میکرومولار نیکل سبب افزایش معنی‌دار وزن خشک ریشه در مقایسه با تیمار بدون نیکل گردید درحالی‌که در این محلول و در تیمار بدون اسید آمینه، تغذیه نیکل سبب کاهش معنی‌دار وزن خشک ریشه شد. کاربرد ۱۰ میکرومولار نیکل تنها در محلول غذایی حاوی هیستیدین توانست وزن خشک ریشه را به‌طور معنی‌داری در مقایسه با عدم مصرف نیکل افزایش دهد و در سایر تیمارهای اسیدآمینه، سبب کاهش این صفت شد. در محلول فاقد اوره، پاسخ وزن خشک ریشه به کاربرد نیکل بسته به غلظت نیکل مصرفی و نوع اسیدآمینه متفاوت بود. کاربرد ۵ میکرومولار نیکل در حضور هیستیدین و تریپتوفان سبب افزایش وزن خشک ریشه در مقایسه با تیمار بدون نیکل این تیمارها شد اما در حضور آرجنین و تیمار بدون اسیدآمینه، وزن خشک ریشه را کاهش داد. در محلول غذایی فاقد اوره، کاربرد ۱۰ میکرومولار نیکل، باعث کاهش معنی‌دار وزن خشک ریشه (به‌جز در تیمار اسیدآمینه تریپتوفان) گردید (شکل ۱- ب).

www.SID.ir

Archive of SID

ارتفاع گیاه: صرف‌نظر از سطح نیکل و اسیدآمینه مصرفی، میانگین ارتفاع بوته در محلول غذایی حاوی اوره به‌طور معنی‌داری کم‌تر از محلول غذایی فاقد اوره بود (شکل ۲). مصرف ۵ میکرومولار نیکل در حضور اسیدآمینه هیستیدین باعث افزایش معنی‌دار ارتفاع بوته در محلول غذایی حاوی اوره گردید به‌طوری‌که ارتفاع گیاه در این تیمار در حدود دو برابر شاهد (عدم مصرف اسید آمینه) در همان سطح نیکل بود. در محلول غذایی فاقد اوره، مصرف اسیدآمینه هیستیدین در سطح ۵ میکرومولار نیکل بالاترین ارتفاع بوته را تولید کرد.



شکل ۲- تأثیر سطوح مختلف نیکل بر ارتفاع بوته کلزا در محلول غذایی با و بدون اوره و در حضور و غیاب اسیدهای آمینه مختلف (حروف مختلف بر روی ستون‌ها نشانگر تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد آزمون دانکن بین میانگین‌ها می‌باشد).

Fig. 2. Effect of different levels of nickel on canola height in solution with and without urea in presence and absence of amino acids (Different alphabets indicate significant differences between means at 5% probability level and based on the Duncan test).

سطح برگ: بر اساس شکل ۳، میانگین سطح برگ در محلول حاوی اوره به‌طور معنی‌داری نسبت به محلول غذایی فاقد اوره کم‌تر بود. مصرف نیکل در سطح ۵ میکرومولار به همراه اسیدآمینه هیستیدین باعث افزایش معنی‌دار سطح برگ کلزا در محلول حاوی اوره شد ولی با مصرف ۱۰ میکرومولار نیکل، سطح برگ کاهش یافت. در محلول فاقد اوره، بالاترین میانگین سطح برگ با مصرف ۵ میکرومولار نیکل و با مصرف هیستیدین و یا آرجنین به‌دست آمد. هم‌چنین، پائین‌ترین سطح برگ در تیمار ۵ میکرومولار نیکل بدون مصرف اسیدآمینه و در محلول غذایی حاوی اوره تولید شد (شکل ۳) .

صرف‌نظر از نوع اسیدآمینه مصرفی، گیاهان تغذیه شده با محلول حاوی اوره، رشد کم‌تری در مقایسه با گیاهان تغذیه شده با محلول فاقد اوره داشتند. این نتایج با یافته‌های سایر پژوهشگران (۱۳، ۲۱ و ۲۲) هم‌خوانی دارد و نشان‌دهنده کارایی کم هیدرولیز اوره حتی در حضور نیکل و عدم تامین نیتروژن

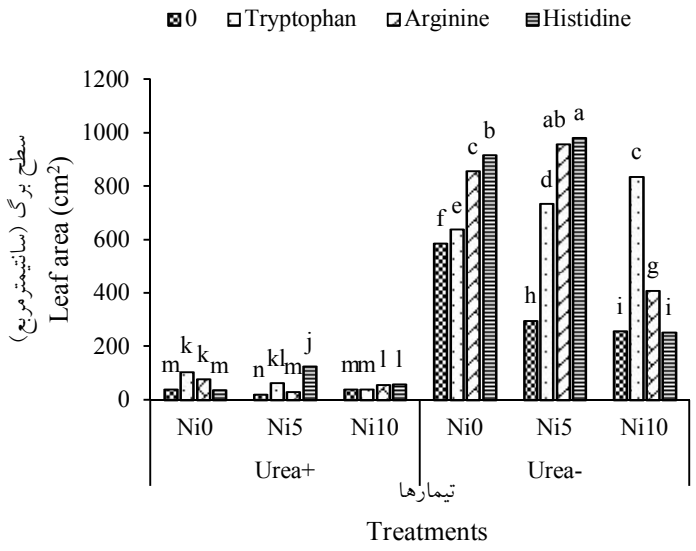
www.SID.ir

Archive of SID

قابل‌استفاده برای گیاه از یکسو و احتمال سمیت اوره در بافت‌های گیاهی از سوی دیگر است. با این‌حال، مصرف نیکل تا سطح ۵ میکرومولار، باعث بهبود رشد گیاهان تغذیه شده با اوره گردید اگرچه هنوز رشد گیاه کمتر از شرایط تغذیه با محلول فاقد اوره بود. هم‌چنان‌که نتایج سایر پژوهش‌ها نیز نشان داده، نقش مثبت نیکل در بهبود رشد گیاهان تغذیه شده با اوره به افزایش فعالیت آنزیم اوره‌آز مربوط می‌باشد (۱، ۳، ۹، ۱۳ و ۲۱). افزایش غلظت نیکل به ۱۰ میکرومولار در محلول‌های با و بدون اوره، سبب کاهش شدید رشد شد. کاهش رشد گیاه در این سطح نیکل همراه با بروز نشانه‌های سمیت به‌شکل نقاط نکروزه قهوه‌ای در برگ‌ها بود (۱۰). در مجموع، در محلول غذایی حاوی اوره، با حضور اسیدهای آمینه، تأثیر مثبت نیکل بر رشد ریشه گیاه افزایش یافت به‌طوری‌که بالاترین عملکرد ریشه مربوط به تیمار ۵ میکرومولار نیکل همراه با هیستیدین بود. در مقابل، در شرایط تغذیه نیکل، عدم کاربرد اسیدهای آمینه سبب تولید کم‌ترین وزن خشک ریشه شد. یکی از دلایل تأثیر مثبت تأثیر اسیدهای آمینه‌ها بر رشد گیاه می تواند به اثر تحریک‌کنندگی این اسیدهای آلی بر رشد گیاه باشد. تأمین بخشی از نیتروژن مورد نیاز گیاه نیز از طریق اسیدهای آمینه، ممکن است در افزایش رشد گیاه موثر باشد. اما مقایسه تأثیر اسیدهای آمینه در حضور و غیاب نیکل (به‌ویژه سطح ۵ میکرومولار که سطح بهینه این عنصر است) نشان‌دهنده این است که وقتی اسیدهای آمینه توانسته‌اند به تحریک رشد گیاه کمک کنند و یا نیتروژن قابل‌دسترس برای گیاه فراهم کنند که نیکل کافی در محیط وجود داشته است. البته این استثناء در مورد اسیدهای آمینه تریپتوفان وجود دارد و کاربرد این اسیدآمینه در شرایط بدون نیکل در محلول حاوی اوره به بهبود رشد گیاه کمک کرده است. به‌نظر می‌رسد وابستگی متابولیسم این اسیدآمینه و اثرگذاری آن بر رشد گیاه به نیکل، کم‌تر از آرجنین و هیستیدین می‌باشد. در محلول غذایی فاقد اوره، در شرایط بدون حضور اسیدهای آمینه، کاربرد هر دو سطح نیکل سبب کاهش رشد گیاه شده است. اگرچه نقش نیکل در فعالیت برخی آنزیم‌های دخیل در متابولیسم نیتروژن مانند نیترات رداکتاز گزارش شده است، اما بسیاری از پژوهشگران نقش اثبات شده نیکل در گیاه را در فعالیت آنزیم اوره‌آز می‌دانند (١٤، ۲۱ و ۳۸) و بر همین اساس، بهبود رشد گیاه در شرایط تغذیه اوره و عدم تغییر رشد در شرایط بدون اوره قابل توجیه است. در مقابل، در حضور اسیدهای آمینه، تغذیه گیاه با ۵ میکرومولار نیکل، به بهبود رشد و عملکرد گیاه منجر شده است به‌طوری‌که وزن خشک ریشه در حضور تریپتوفان و هیستیدین به بالاتر از شرایط بدون نیکل افزایش یافته است. البته در سطح ۱۰ میکرومولار نیکل، به‌طورکلی عملکرد کلزا کم‌تر از سطوح صفر و ۵ میکرومولار نیکل بوده که نشان‌دهنده سمیت این سطح از نیکل برای گیاه است. با توجه به این که غلظت ۵ میکرومولار نیکل در غیاب اسیدهای آمینه تأثیری بر عملکرد گیاه نداشته، نمی‌توان گفت این سطح نیکل سمیت را در پی داشته است. در واقع هم در شرایط تغذیه با اوره و هم بدون اوره، سطح ۱۰ میکرومولار نیکل برای کلزا سمیت را در پی داشته است. البته در شرایط تغذیه بدون اوره، حضور آرجنین و به‌ویژه تریپتوفان به کاهش اثرهای سمی ۱۰ میکرومولار نیکل منجر شده است که یکی از دلایل احتمالی آن، تشکیل کمپلکس اسیدهای آمینه- نیکل و کاهش فعالیت یون آزاد نیکل (۸) و یا اثر رقت (۲۷) است. هم‌چنان که نتایج غلظت نیکل شاخساره نشان‌دهنده کاهش غلظت این عنصر در تیمارهای حاوی آرجنین و تریپتوفان است.

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۳- تأثیر سطوح مختلف نیکل بر سطح برگ کلزا در محلول غذایی با و بدون اوره و در حضور و غیاب اسیدهای آمینه مختلف (حروف مختلف بر روی ستون‌ها نشانگر تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد آزمون دانکن بین میانگین‌ها می‌باشد).

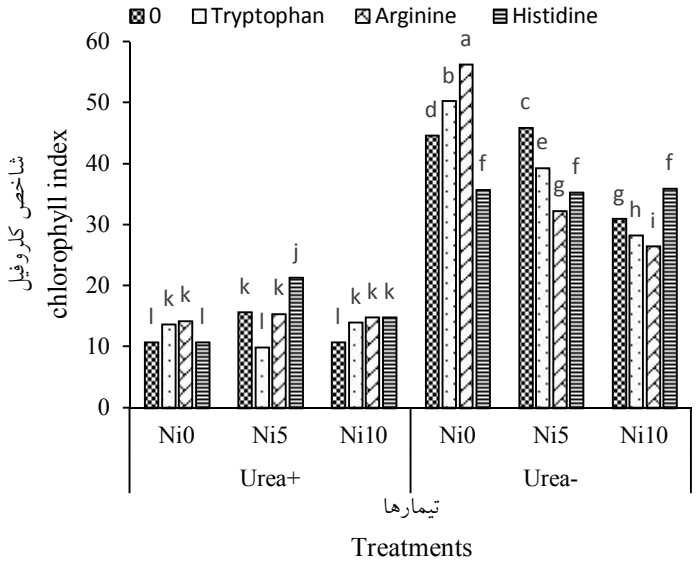
Fig. 3. Effect of different levels of nickel on leaf area of canola in solution with and without urea in presence and absence of amino acids (Different alphabets indicate significant differences between means at 5% probability level and based on the Duncan test).

شاخص کلروفیل: شاخص کلروفیل در محلول غذایی حاوی اوره، صرف‌نظر از سطوح نیکل و اسید آمینه، پایین‌تر از محلول فاقد اوره بود (شکل ٤). در هر دو تیمار با و بدون اوره، تأثیر کاربرد نیکل بر شاخص کلروفیل برگ، بسته به غلظت نیکل مصرفی و نوع اسیدآمینه موجود در محلول غذایی متفاوت بود. در محلول غذایی فاقد اوره، مصرف ۵ و ۱۰ میکرومولار نیکل، با توجه به نوع اسید آمینه، باعث کاهش شاخص کلروفیل برگ در مقایسه با عدم مصرف نیکل گردید (شکل ٤). در محلول غذایی فاقد اوره، بیش‌ترین و کم‌ترین مقدار شاخص کلروفیل به‌ترتیب مربوط به تیمارهای آرجنین و عدم مصرف نیکل و آرجنین و مصرف ۱۰ میکرومولار نیکل بود (شکل ٤). در محلول حاوی اوره، مصرف نیکل، به‌جز در سطح ۵ میکرومولار و مصرف اسید آمینه هیستیدین که افزایش معنی‌دار شاخص کلروفیل را به‌همراه داشت در سایر سطوح نیکل و اسید آمینه، اثری کاهشی داشته و یا بدون تاثیر بود (شکل ٤). در محلول فاقد اوره، افزایش سطح نیکل، بدون در نظر گرفتن نوع اسیدآمینه، باعث کاهش شاخص کلروفیل گردید. در این بین، تاثیر آرجنین بر این کاهش بیش‌تر بود در حالی‌که در تیمار عدم مصرف نیکل، مصرف آرجنین دارای بالاترین شاخص کلروفیل شد (شکل ٤). یکی از سازوکارهای پیشنهادی برای کاهش شاخص کلروفیل، کاهش جذب عناصر غذایی در اثر رقابت برای پیوند با مکان‌های جذب به سبب شعاع یونی قابل مقایسه یون نیکل (Ni^{2+}) با کاتیون‌هایی مانند آهن و منیزیم می‌باشد که توسط برخی پژوهشگران گزارش شده است (٢٤ و ٣٣). هم‌چنین، کاهش نرخ فتوسنتز ناشی از کاهش محتوای کلروفیل با مصرف ۱۰۰ میکرومولار نیکل گزارش شده که دلیل آن تخریب ساختار کلروپلاست، مسدود شدن سنتز کلروفیل، اختلال در انتقال الکترون و فعالیت آنزیم‌های چرخه کلوین و کمبود دی‌اکسیدکربن ناشی

www.SID.ir

Archive of SID

از بسته شدن روزنه‌ها بیان شده است (۳۰ و ۳۷). در محلول حاوی اوره، تنها با مصرف ۵ میکرومولار نیکل به‌همراه هیستیدین، افزایش شاخص کلروفیل رخ داده و سایر سطوح نیکل و اسیدآمینه، بی‌تأثیر و یا اثری کاهشی بر این شاخص داشته است. به‌نظر می‌رسد با توجه به افزایش فعالیت آنزیم اوره‌آز در این تیمار، افزایش متابولیسم نیتروژن و بهبود شرایط رشد نسبت به سایر تیمارها اتفاق افتاده است.



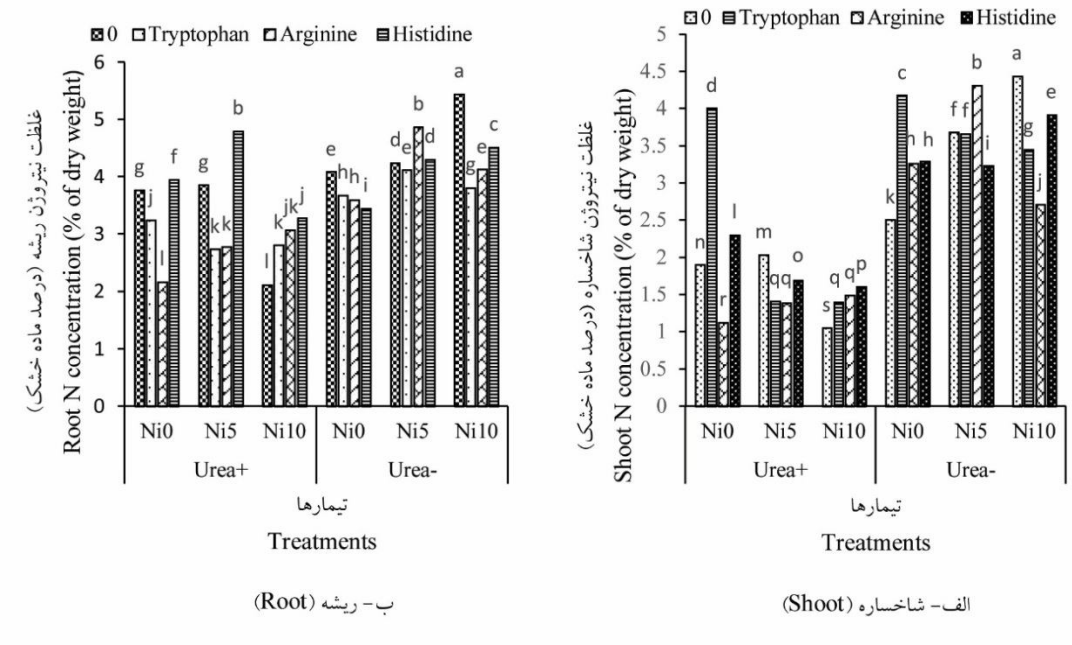
شکل ٤- تأثیر سطوح مختلف نیکل بر شاخص کلروفیل برگ کلزا در محلول غذایی با و بدون اوره و در حضور و غیاب اسیدهای آمینه مختلف (حروف مختلف بر روی ستون‌ها نشانگر تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد آزمون دانکن بین میانگین‌ها می‌باشد).

Fig. 4. Effect of different levels of nickel on leaf chlorophyll index of canola in solution with and without urea in presence and absence of amino acids (Different alphabets indicate significant differences between means at 5% probability level and based on the Duncan test).

غلظت و جذب نیتروژن شاخساره و ریشه: کاربرد نیکل در محلول‌های غذایی حاوی اوره و فاقد اوره همراه با اسیدهای آمینه مختلف، آثار متفاوتی بر غلظت نیتروژن شاخساره و ریشه داشت (شکل ۵-الف و ب). در محلول حاوی اوره، عدم مصرف نیکل و مصرف اسید آمینه تریپتوفان باعث افزایش معنی‌دار غلظت نیتروژن شاخساره گردید در حالی‌که در محلول غذایی فاقد اوره، مصرف ۱۰ میکرومولار نیکل بدون مصرف اسیدآمینه دارای بالاترین غلظت نیتروژن بود (شکل ۵- الف). بررسی میانگین جذب نیتروژن شاخساره در محلول غذایی حاوی اوره نشان داد مصرف ۵ میکرومولار نیکل به همراه اسیدآمینه هیستیدین دارای بالاترین مقدار جذب نیتروژن بود (شکل ٦- الف). در محلول غذایی فاقد اوره نیز مصرف ۵ میکرومولار نیکل به همراه اسیدآمینه آرجنین دارای بالاترین مقدار جذب نیتروژن بود (شکل ٦- الف). بررسی غلظت و جذب نیتروژن شاخساره، نشان‌دهنده رابطه‌ای معکوس بین این دو بود به گونه‌ای که با افزایش غلظت، به‌دلیل پایین‌بودن وزن خشک، جذب نیز کاهش یافت که احتمالاً مربوط به اثر غلظت و رقت باشد (۲۷).

www.SID.ir

Archive of SID



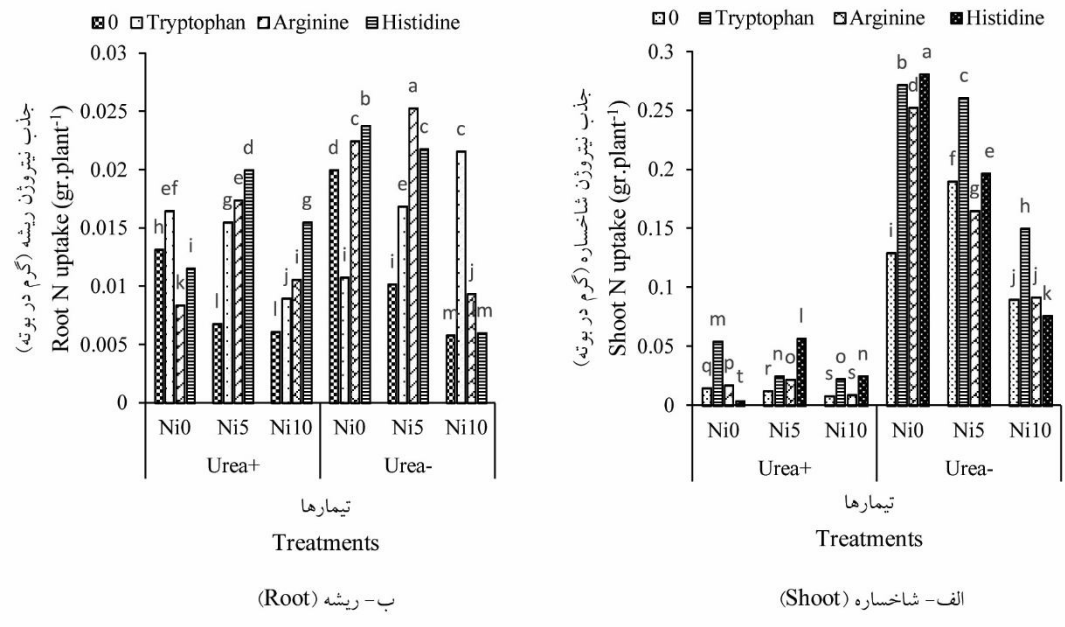
شکل ۵- تأثیر سطوح مختلف نیکل بر غلظت نیتروژن شاخساره و ریشه کلزا در محلول غذایی با و بدون اوره و در حضور و غیاب اسیدهای آمینه مختلف (حروف مختلف بر روی ستون‌ها نشانگر تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد آزمون دانکن بین میانگین‌ها می‌باشد).

Fig. 5. Effect of different levels of nickel on canola shoot and root nitrogen concentration in solution with and without urea in presence and absence of amino acids (Different alphabets indicate significant differences between means at 5% probability level and based on the Duncan test).

تأثیر سطوح مختلف نیکل بر غلظت نیتروژن ریشه بسته به حضور و عدم حضور اوره و کاربرد اسیدهای آمینه متفاوتی بود (شکل ۵- ب). در محلول حاوی اوره، کاربرد ۵ میکرومولار نیکل همراه با اسیدآمینه هیستیدین، سبب افزایش غلظت نیتروژن شد ولی با کاربرد ۱۰ میکرومولار نیکل، غلظت نیتروژن کاهش یافت. در محلول فاقد اوره، افزایش سطح نیکل تا ۱۰ میکرومولار و عدم مصرف اسید آمینه، بالاترین غلظت نیتروژن را تولید کرد (شکل ۵-ب). همین رویه، تقریباً در جذب نیتروژن نیز مشاهده گردید با این تفاوت که در سطح ۱۰ میکرومولار نیکل و در محلول فاقد اوره و عدم مصرف اسید آمینه، کاهش جذب نیتروژن در مقایسه با شاهد مشاهده شد (شکل ٦-ب). بالاترین غلظت و جذب نیتروژن ریشه به‌ترتیب با مصرف ۱۰ میکرومولار نیکل در محلول فاقد اوره و اسیدآمینه و سطح ۵ میکرومولار نیکل در محلول فاقد اوره و با مصرف آرجنین به‌دست آمد (شکل‌های ۵- ب و ٦- ب). این امر نیز به احتمال زیاد مربوط به اثر غلظت و رقت باشد (۲۷).

www.SID.ir

Archive of SID



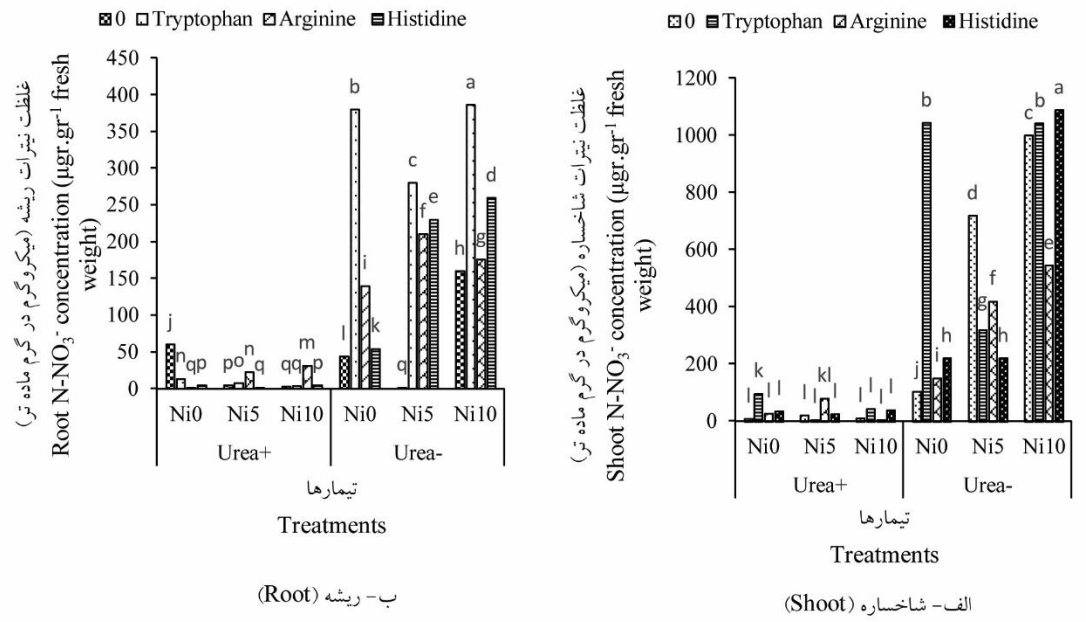
شکل ٦- تأثیر سطوح مختلف نیکل بر جذب نیتروژن شاخساره و ریشه کلزا در محلول غذایی با و بدون اوره و در حضور و غیاب اسیدهای آمینه مختلف (حروف مختلف بر روی ستون‌ها نشانگر تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد آزمون دانکن بین میانگین‌ها می‌باشد).

Fig. 6. Effect of different levels of nickel on canola shoot and root nitrogen uptake in solution with and without urea in presence and absence of amino acids (Different alphabets indicate significant differences between means at 5% probability level and based on the Duncan test).

غلظت نیترات شاخساره و ریشه: غلظت نیترات شاخساره، صرف نظر از سطوح نیکل و اسید آمینه، در محلول دارای اوره نسبت به محلول فاقد اوره به‌طور معنی‌داری کم‌تر بود (شکل ۷- الف). در محلول غذایی فاقد اوره، مصرف ۱۰ میکرومولار نیکل (بدون در نظر گرفتن نوع اسید آمینه) بالاترین غلظت نیترات در شاخساره گیاهی را سبب شد. در این سطح نیکل، با مصرف هیستیدین، بیش‌ترین غلظت نیترات به‌دست آمد (شکل ۷- الف). غلظت نیترات ریشه در محلول فاقد اوره به‌طور بارزی نسبت به محلول حاوی اوره بالاتر بود (شکل ۷- ب). افزایش مصرف نیکل در محلول حاوی اوره در حضور اسیدهای آمینه مختلف، تأثیر متفاوتی بر غلظت نیترات ریشه داشت. بالاترین غلظت نیترات ریشه در این محلول غذایی در سطح صفر نیکل و عدم مصرف اسیدآمینه به‌دست آمد. در محلول غذایی فاقد اوره، مصرف ۱۰ میکرومولار نیکل و اسیدآمینه تریپتوفان بالاترین غلظت نیترات ریشه را سبب شد (شکل ۷- ب).

www.SID.ir

Archive of SID



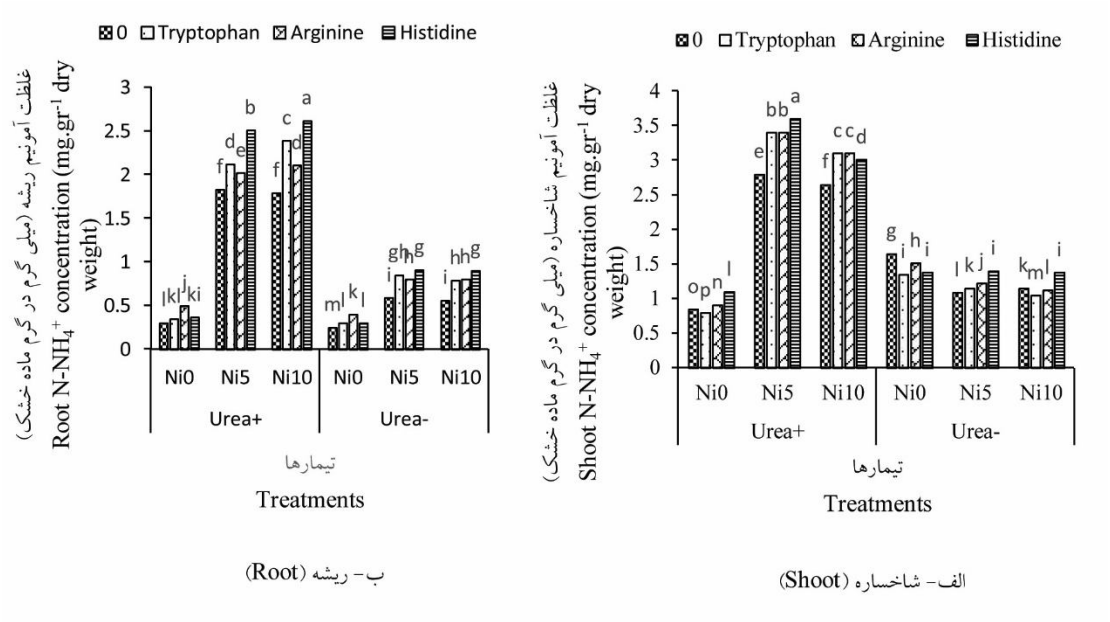
شکل ۷- تأثیر سطوح مختلف نیکل بر غلظت نیترات شاخساره و ریشه کلزا در محلول غذایی با و بدون اوره و در حضور و غیاب اسیدهای آمینه مختلف (حروف مختلف بر روی ستون‌ها نشانگر تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد آزمون دانکن بین میانگین‌ها می‌باشد).

Fig. 7. Effect of different levels of nickel on canola shoot and root $N\text{-}NO_3^-$ concentration in solution with and without urea in presence and absence of amino acids (Different alphabets indicate significant differences between means at 5% probability level and based on the Duncan test).

غلظت آمونیم شاخساره و ریشه: براساس شکل ۸-الف، غلظت آمونیم شاخساره در سطوح ۵ و ۱۰ میکرومولار نیکل و تمامی اسیدهای آمینه، در محلول دارای اوره نسبت به محلول فاقد اوره به‌طور معنی‌داری بیش‌تر بود. در محلول غذایی حاوی اوره، مصرف ۵ میکرومولار نیکل به‌همراه اسیدآمینه هیستیدین باعث افزایش معنی‌دار غلظت آمونیم شاخساره گردید (شکل ۸- الف). در محلول غذایی فاقد اوره، عدم مصرف نیکل و اسیدآمینه، بالاترین غلظت آمونیم شاخساره را تولید کرد (شکل ۸- الف). اگرچه غلظت آمونیم ریشه در سطوح ۵ و ۱۰ میکرومولار نیکل در محلول دارای اوره نسبت به محلول فاقد اوره بیش‌تر بود اما به‌جز تیمار مصرف تریپتوفان در سطح ۵ میکرومولار نیکل در محلول دارای اوره، بین سایر تیمارها، اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد آزمون دانکن مشاهده نشد (شکل ۸- ب).

www.SID.ir

Archive of SID



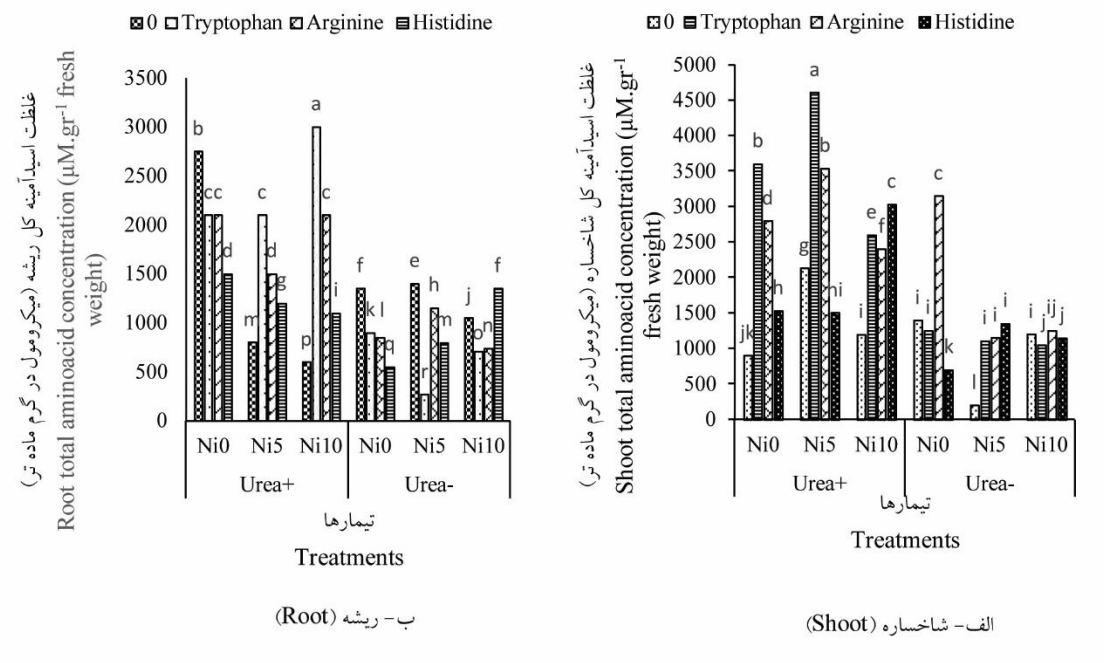
شکل ۸- تأثیر سطوح مختلف نیکل بر غلظت آمونیم شاخساره و ریشه کلزا در محلول غذایی با و بدون اوره و در حضور و غیاب اسیدهای آمینه مختلف (حروف مختلف بر روی ستون‌ها نشانگر تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد آزمون دانکن بین میانگین‌ها می‌باشد).

Fig. 8. Effect of different levels of nickel on canola shoot and root nickel uptake in solution with and without urea in presence and absence of amino acids (Different alphabets indicate significant differences between means at 5% probability level and based on the Duncan test).

غلظت اسیدآمینه کل شاخساره و ریشه: شکل ۹- الف نشان می‌دهد غلظت اسیدآمینه کل شاخساره در محلول حاوی اوره، بدون در نظر گرفتن سطح نیکل و اسید آمینه، بالاتر از محلول فاقد اوره بود که با نتایج ارائه شده توسط سایر پژوهشگران هم‌خوانی دارد (۳٤). در محلول غذایی حاوی اوره، مصرف ۵ میکرومولار نیکل و اسیدآمینه تریپتوفان، باعث افزایش معنی‌دار غلظت اسیدآمینه کل شاخساره در مقایسه با سایر سطوح نیکل و اسیدآمینه شد (شکل ۹- الف). پائین‌ترین غلظت اسیدآمینه در سطح ۵ میکرومولار نیکل و عدم مصرف اسیدآمینه در محلول غذایی فاقد اوره به‌دست آمد (شکل ۹- الف). تأثیر کاربرد نیکل بر غلظت اسیدآمینه کل ریشه بسته به تغذیه اوره و تیمار اسیدآمینه متفاوت بود. در محلول غذایی حاوی اوره، تیمار ۱۰ میکرومولار نیکل و اسیدآمینه تریپتوفان دارای بالاترین غلظت اسیدآمینه ریشه بود (شکل ۹- ب). پایین‌ترین غلظت اسیدآمینه ریشه در محلول غذایی حاوی اوره در سطح ۵ میکرومولار نیکل و مصرف تریپتوفان حاصل گردید (شکل ۹- ب).

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۹- تأثیر سطوح مختلف نیکل بر غلظت اسیدآمینه شاخساره و ریشه کلزا در محلول غذایی با و بدون اوره و در حضور و غیاب اسیدهای آمینه مختلف (حروف مختلف بر روی ستون‌ها نشانگر تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد آزمون دانکن بین میانگین‌ها می‌باشد).

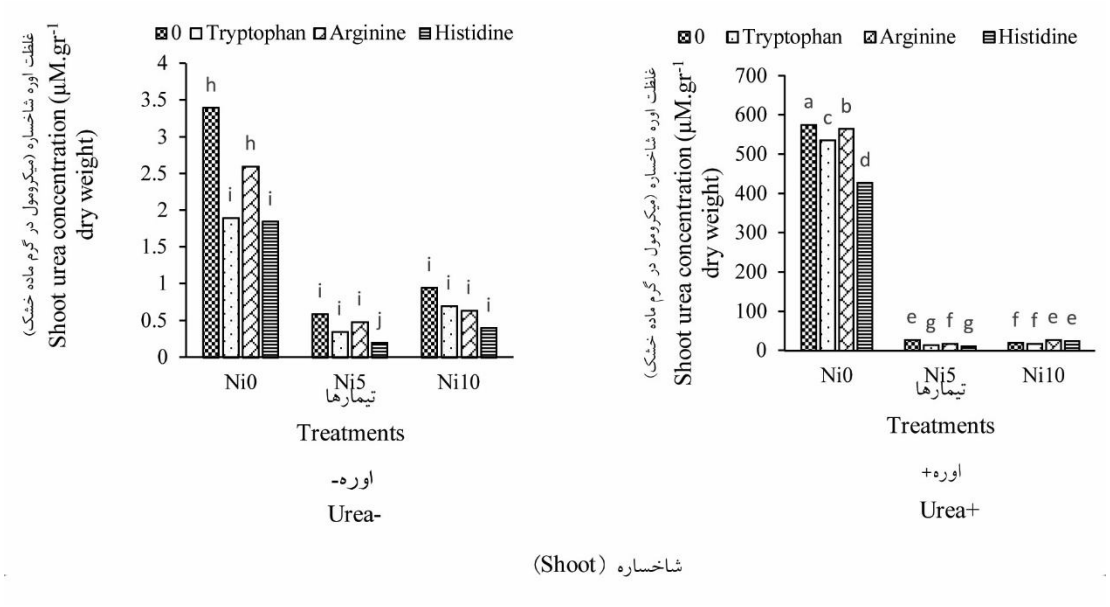
Fig. 9. Effect of different levels of nickel on canola shoot and root total amino acid concentration in solution with and without urea in presence and absence of amino acids (Different alphabets indicate significant differences between means at 5% probability level and based on the Duncan test).

غلظت اوره شاخساره و ریشه: تأثیر کاربرد نیکل بر غلظت اوره شاخساره و ریشه کلزا بسته به تیمار اوره و اسیدآمینه متفاوت بود (شکل‌های ۱۰ و ۱۱). در محلول حاوی اوره، مصرف نیکل و اسیدآمینه سبب کاهش غلظت اوره شاخساره شد. همین روند در محلول غذایی فاقد اوره نیز مشاهده گردید (شکل ۱۰). مصرف نیکل تا سطح ۱۰ میکرومولار در هر دو محلول حاوی و فاقد اوره، صرف‌نظر از نوع اسیدآمینه مصرفی، سبب کاهش غلظت اوره شاخساره نسبت به شاهد شد (شکل ۱۰). به‌طورکلی، مصرف نیکل در هر دو محلول حاوی و فاقد اوره، باعث کاهش معنی‌دار غلظت اوره شاخساره کلزا گردید که این کاهش در محلول حاوی اوره بسیار بالاتر از محلول فاقد اوره بود. بالاترین غلظت اوره شاخساره در محلول حاوی اوره و عدم مصرف نیکل و اسیدآمینه و پایین‌ترین غلظت آن در محلول فاقد اوره و در سطح ۵ میکرومولار نیکل در حضور هیستیدین به‌دست آمد (شکل ۱۰).

در محلول حاوی اوره، افزایش سطح نیکل تا ۱۰ میکرومولار، صرف‌نظر از نوع اسیدآمینه مصرفی، باعث کاهش معنی‌دار غلظت اوره ریشه کلزا شد (شکل ۱۱). در محلول فاقد اوره نیز روند مشابهی دیده شد اگرچه بین سطوح نیکل مصرفی اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید (به‌جز تیمار عدم مصرف نیکل و اسیدآمینه). بالاترین غلظت اوره ریشه در سطح صفر نیکل و مصرف تریپتوفان به‌دست آمد (شکل ۱۱).

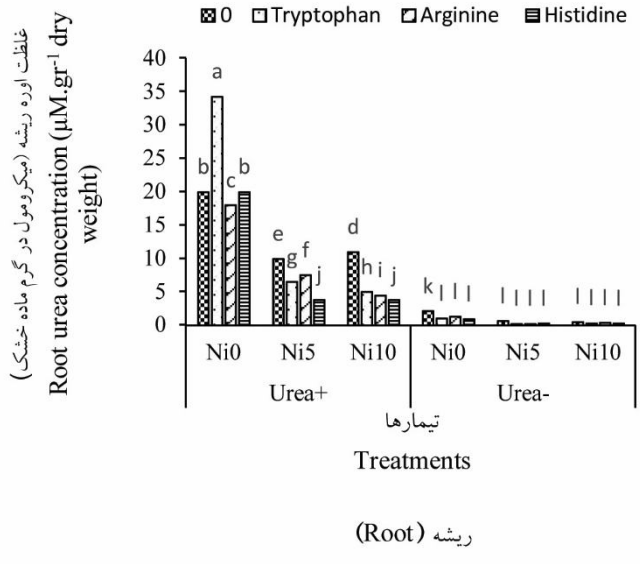
www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۱۰- تأثیر سطوح مختلف نیکل بر غلظت اوره شاخساره کلزا در محلول غذایی با و بدون اوره و در حضور و غیاب اسیدهای آمینه مختلف.

Fig. 10. Effect of different levels of nickel on canola shoot urea concentration in solution with and without urea in presence and absence of amino acids (Different alphabets indicate significant differences between means at 5% probability level and based on the Duncan test).



شکل ۱۱- تأثیر سطوح مختلف نیکل بر غلظت اوره ریشه کلزا در محلول غذایی با و بدون اوره و در حضور و غیاب اسیدهای آمینه مختلف (حروف مختلف بر روی ستون‌ها نشانگر تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد آزمون دانکن بین میانگین‌ها می‌باشد).

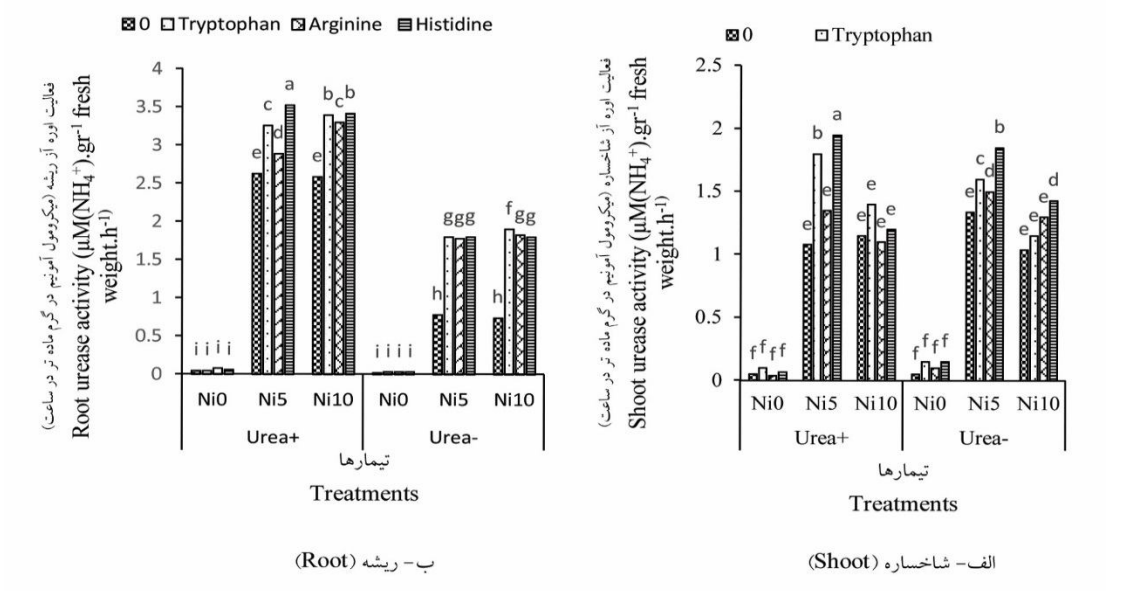
Fig. 11. Effect of different levels of nickel on canola root urea concentration in solution with and without urea in presence and absence of amino acids (Different alphabets indicate significant differences between means at 5% probability level and based on the Duncan test).

www.SID.ir

Archive of SID

کم‌ترین غلظت اوره در تیمار ۵ میکرومولار نیکل به همراه کاربرد هیستیدین مشاهده شد. نقش هیستیدین در افزایش جذب نیکل توسط ریشه و انتقال آن به اندام هوایی در گیاهان مختلف گزارش شده است (۸، ۱۳، ۲۱ و ۲۲). علاوه بر کاهش غلظت آمونیوم، کاهش غلظت اسیدهای آمینه در تیمار ۵ میکرومولار نیکل مشاهده شد که دلیل احتمالی آن، بهبود متابولیسم نیتروژن اسیدهای آمینه و افزایش تولید پروتئین در حضور این سطح نیکل است. البته انجام مطالعات تکمیلی درباره نقش نیکل در این زمینه لازم است. در مقابل، سطح ۱۰ میکرومولار نیکل با وجود افزایش فعالیت اوره‌آز، سبب افزایش غلظت اسیدهای آمینه و کاهش رشد گیاه شد. در این تیمار، علاوه بر کاهش رشد گیاه، نشانه‌های ظاهری سمیت نیکل شامل نقاط نکروزه قهوه‌ای رنگ بر روی برگ‌ها مشاهده شد (۱۰ و ۱۳). در محلول غذایی بدون اوره، همانند محلول غذایی حاوی اوره، کاربرد نیکل سبب افزایش غلظت آمونیوم ریشه شد اما تأثیر نیکل بر غلظت آمونیوم برگ، کم و در بیش‌تر تیمارها، بی‌تأثیر بوده است. این نتایج نشان می‌دهد افزایش غلظت آمونیوم بافت گیاه در بوته‌های تغذیه شده با اوره به‌دلیل افزایش هیدرولیز اوره ناشی از افزایش فعالیت آنزیم اوره‌آز است.

فعالیت اوره‌آز شاخساره و ریشه: در تیمار محلول حاوی اوره و در تیمار محلول فاقد اوره، افزایش مصرف نیکل، بدون در نظر گرفتن نوع اسیدآمینه استفاده شده، باعث افزایش فعالیت آنزیم اوره‌آز شاخساره کلزا گردید (شکل ۱۲- الف). در محلول حاوی اوره، بالاترین میزان فعالیت آنزیم اوره‌آز، در سطح ۵ میکرومولار نیکل و با مصرف هیستیدین به‌دست آمد. بالاترین میزان فعالیت اوره‌آز در محلول فاقد اوره، در سطح ۵ میکرومولار نیکل و با مصرف هیستیدین حاصل شد (شکل ۱۲- الف). پایین‌ترین مقدار فعالیت اوره‌آز مربوط به تیمار عدم مصرف نیکل و در هر دو محلول حاوی و فاقد اوره بود.



شکل ۱۲- تأثیر سطوح مختلف نیکل بر فعالیت آنزیم اوره‌آز شاخساره و ریشه کلزا در محلول غذایی با و بدون اوره و در حضور و غیاب اسیدهای آمینه مختلف (حروف مختلف بر روی ستون‌ها نشانگر تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد آزمون دانکن بین میانگین‌ها می‌باشد).

Fig. 12. Effect of different levels of nickel on canola shoot and root urease activity in solution with and without urea in presence and absence of amino acids (Different alphabets indicate significant differences between means at 5% probability level and based on the Duncan test).

www.SID.ir

Archive of SID

فعالیت آنزیم اوره‌آز در حضور نیکل در آزمایش حاضر، تقریباً در گستره فعالیت سایر محصولات از جمله گندم، سویا، کدو، خیار و کلزا بوده است (۱۳). اگرچه میزان فعالیت این آنزیم در ریشه کلزا و در محلول حاوی اوره، بالاتر از محلول غذایی فاقد اوره بود. هم‌چنین، وجود فعالیت آنزیم اوره‌آز، به وجود و یا عدم وجود نیکل بستگی داشت به‌نحوی‌که در عدم حضور نیکل، فعالیت این آنزیم به‌شدت کاهش یافته است که با سایر پژوهش‌ها هم‌خوانی دارد (۱۳، ۳۸ و ۳۹) و نشان‌دهنده اهمیت نیکل در فعالیت آنزیم اوره‌آز می‌باشد.

اسیدهای آمینه مصرفی به‌ویژه هیستیدین و آرجنین در صورت تغذیه گیاه با نیکل منجر به افزایش عملکرد شده‌اند و این امر به احتمال زیاد به‌دلیل نقش نیکل در بهبود متابولیسم نیتروژن باشد. هم‌چنان که نتایج فعالیت اوره‌آز در گیاه نشان‌دهنده بالاتر بودن فعالیت این آنزیم در تیمارهای با اسیدهای آمینه در مقایسه با تیمار بدون اسیدهای آمینه است (شکل ۱۲). کاربرد هر دو سطح ۵ و ۱۰ میکرومولار نیکل به افزایش فعالیت آنزیم اوره‌آز منجر شده است. این افزایش فعالیت اوره‌آز در گیاهان تغذیه شده با اوره توسط پژوهشگران مختلف گزارش شده است (۱۳ و ۳۸) و به نقش نیکل در فعالیت اوره‌آز مربوط است. افزایش فعالیت اوره‌آز در حضور نیکل و نیز در تیمارهای با اسیدهای آمینه با کاهش غلظت اوره برگ همراه بود که نشان‌دهنده افزایش کارایی هیدرولیز اوره در این تیمارها است. در واقع، در حضور اسیدهای آمینه، تأثیر مثبت نیکل بر افزایش کارایی هیدرولیز اوره افزایش یافته است (۲۱ و ۲۲). شاهد این موضوع، افزایش غلظت آمونیوم همراه با کاهش اوره در تیمارهای نیکل و اسیدهای آمینه است.

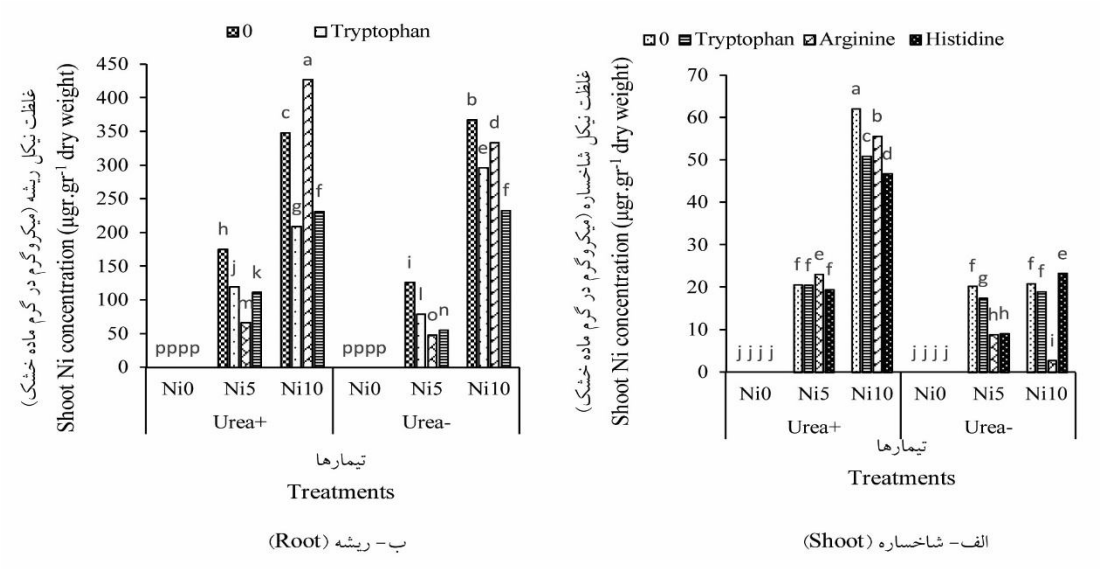
همانند شرایط تغذیه با اوره، حضور نیکل به همراه اسیدهای آمینه سبب افزایش فعالیت آنزیم اوره‌آز برگ در محلول فاقد اوره شد اگرچه فعالیت اوره‌آز در بوته‌های تغذیه شده با اوره به مراتب بیش‌تر از بوته‌های رشد کرده در محلول غذایی فاقد اوره بود. دلیل این امر نیز بالاتر بودن غلظت اوره به‌عنوان بستره فعالیت آنزیم اوره‌آز در برگ گیاهان تغذیه شده با اوره است.

غلظت نیکل شاخساره و ریشه: غلظت نیکل شاخساره، صرف‌نظر از سطح نیکل و اسید آمینه، در محلول غذایی حاوی اوره نسبت به محلول فاقد اوره بالاتر بود (شکل ۱۳- الف). افزایش سطح نیکل تا ۱۰ میکرومولار در محلول غذایی حاوی اوره سبب افزایش معنی‌دار غلظت و جذب نیکل (به‌جز تریپتوفان) شاخساره گردید (شکل‌های ۱۳-الف و ١٤-الف). در محلول غذایی فاقد اوره، سطوح نیکل و تمامی اسیدهای آمینه، اثرهای متفاوتی بر غلظت و جذب نیکل شاخساره داشتند. بالاترین غلظت و جذب نیکل در این محلول غذایی به‌ترتیب در سطح ۱۰ میکرومولار نیکل و مصرف اسیدآمینه هیستیدین و ۱۰ میکرومولار نیکل با مصرف تریپتوفان به‌دست آمد (شکل‌های ۱۳-الف و ١٤-الف) که به احتمال زیاد مربوط به اثر غلظت و رقت باشد (۲۷).

در هر دو محلول حاوی و فاقد اوره، افزایش سطح نیکل تا ۱۰ میکرومولار، صرف‌نظر از نوع اسیدآمینه مصرفی، باعث افزایش معنی‌دار غلظت نیکل ریشه کلزا شد (شکل ۱۳-ب). بالاترین غلظت نیکل، در محلول غذایی حاوی اوره و سطح ۱۰ میکرومولار نیکل به‌همراه اسیدآمینه آرجنین به‌دست آمد. اگرچه افزایش سطح نیکل تا ۱۰ میکرومولار در محلول غذایی حاوی اوره سبب افزایش معنی دار جذب نیکل (به‌جز تریپتوفان) ریشه کلزا گردید (شکل ١٤-ب) اما، بالاترین مقدار جذب نیکل ریشه در سطح ۱۰ میکرومولار نیکل و مصرف تریپتوفان به‌دست آمد (شکل ١٤-ب).

www.SID.ir

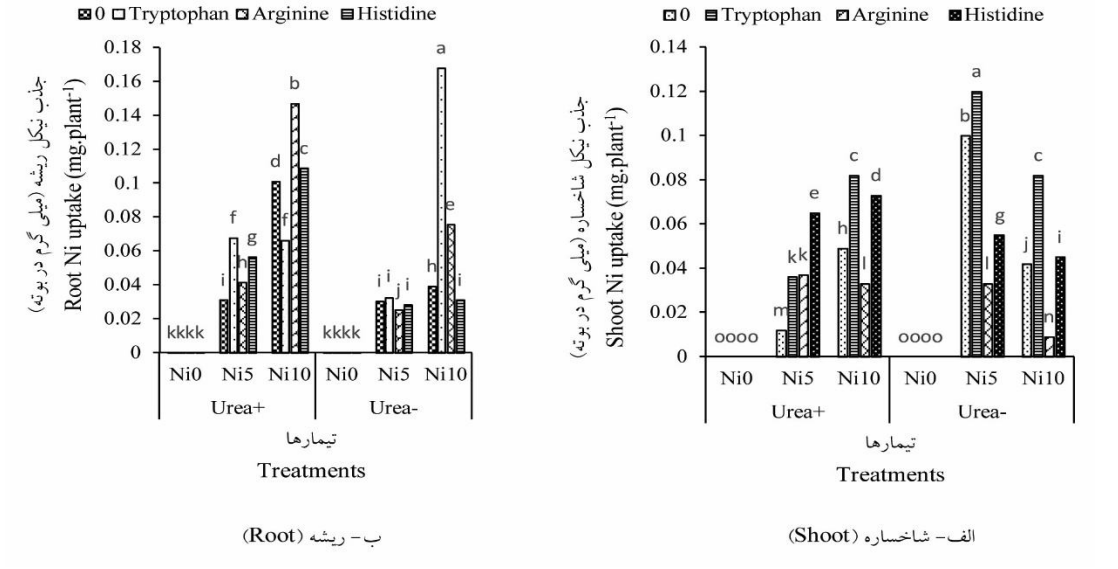
Archive of SID



شکل ۱۳- تأثیر سطوح مختلف نیکل بر غلظت نیکل شاخساره و ریشه کلزا در محلول غذایی با و بدون اوره و در حضور و غیاب اسیدهای آمینه مختلف.

Fig. 13. Effect of different levels of nickel on canola shoot and root nickel concentration in solution with and without urea in presence and absence of amino acids (Different alphabets indicate significant differences between means at 5% probability level and based on the Duncan test).

غلظت نیکل بوته‌های تغذیه شده با ۱۰ میکرومولار نیکل به ۲۳ تا ٦۲ میکروگرم در گرم افزایش یافت که توسط برخی پژوهشگران به‌عنوان حد سمیت این عنصر در گیاهان در نظر گرفته شده است (۳ و ۱۰). غلظت بحرانی سمیت نیکل در گیاهان مختلف بین ۰/۰۵ تا ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم گزارش شده است (٤ و ۱۳).



شکل ١٤- تأثیر سطوح مختلف نیکل بر بر جذب نیکل شاخساره و ریشه کلزا در محلول غذایی با و بدون اوره و در حضور و غیاب اسیدهای آمینه مختلف (حروف مختلف بر روی ستون‌ها نشانگر تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد آزمون دانکن بین میانگین‌ها می‌باشد).

Fig. 14. Effect of different levels of nickel on canola shoot and root nickel uptake in solution with and without urea in presence and absence of amino acids (Different alphabets indicate significant differences between means at 5% probability level and based on the Duncan test).

www.SID.ir

Archive of SID

نتیجه‌گیری

تأثیر نیکل بر متابولیسم نیتروژن و رشد گیاه کلزا بسته به سطح نیکل مصرفی، وجود یا عدم وجود اوره و اسیدهای آمینه متفاوت بود. تأثیر مثبت کاربرد ۵ میکرومولار نیکل بر متابولیسم نیتروژن و رشد کلزا در شرایط تغذیه با اوره مشاهده شد و در شرایط بدون اوره تغذیه نیکل تأثیری بر رشد گیاه نداشت. در محلول غذایی حاوی اوره، با حضور اسیدهای آمینه به‌ویژه هیستیدین، تأثیر مثبت نیکل بر رشد ریشه گیاه افزایش یافت. صرف‌نظر از تیمار اوره، سطح ۱۰ میکرومولار نیکل برای کلزا سمیت ایجاد کرد اگرچه حضور اسیدهای آمینه به کاهش سمیت نیکل منجر شد. با توجه به نتایج این پژوهش می‌توان عنوان کرد تغذیه سطح بهینه نیکل (۵ میکرومولار) با بهبود متابولیسم اوره، به افزایش عملکرد گیاهان تغذیه شده با اوره (به‌عنوان منبع اصلی نیتروژن) کمک می‌کند و در صورت حضور برخی اسیدهای آمینه به‌ویژه هیستیدین، نقش مثبت نیکل افزایش می‌یابد. در مقابل، در شرایطی که منبع نیتروژن کلزا، نیترات یا آمونیوم است، کاربرد نیکل چندان اثرگذار نیست. با توجه به این‌که منبع اصلی نیتروژن در مزارع کلزا، اوره است، مطالعات تکمیلی برای بررسی اثرگذاری تغذیه نیکل برای بهبود عملکرد گیاه در شرایط مزرعه لازم است.

منابع

1. Bekkari, N.B. and Pizzelle, G. 1992. In vivo urease activity in Robinia pseudoacacia. Plant Physiol. Biochem. 30: 2. 187-192.
2. Brinza, M. and Iapichino, G. 2015. The effect of nickel on seed germination and plant sprouting in the case of some Alyssum species. Abs/J. Biotech. 208: 60.
3. Brown, P.H., Welch, R.M. and Cary, E.E. 1987a. Nickel: a micronutrient essential for higher plants. Plant Physiol. 85: 801-3.
4. Brown, P.H., Welch, R.M., Cary, E.E. and Checkai, R.T. 1987b. Beneficial effects of nickel on plant growth. J. Plant Nutr. 10: 2125-35.
5. Callahan, D.L., Baker, A.J.M., Kolev, S.D. and Wedd, A.G. 2006. Metal ion ligands in hyperaccumulating plants. Biol. Inorg. Chem. 11: 2-12.
6. Cataldo, D.A., Maroon, M., Schrader, L.E. and Youngs, V.L. 1975. Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid. Commun. Soil Sci. Plant Anal. 6: 1. 71-80.
7. Ciurli, S. 2001. Electronic structure of the nickel ions in the active site of urease. Chem. (Easton) 6: 99-100.
8. Dalir, N. and Khoshgoftarmanesh, A.H. 2014. Symplastic and apoplastic uptake and root to shoot translocation of nickel in wheat as affected by exogenous amino acids. J. Plant Physiol. 171: 531-536.
9. Dixon, N.E., Gazzola, C., Blakeley, R.L. and Zerner, B. 1975. A Jack bean urease (EC 3.5.1.5.) metalloenzyme. A simple biological role for nickel. J. Am. Chem. Soc. 97: 14. 4131-4133.
10. Eskew, D.L., Welch, R.M. and Norvall, W.A. 1984. Nickel in higher plants. Further evidence for an essential role. Plant Physiol. 76: 691-3.
11. Fageria, N.K. and Stone, L.F. 2006. Physical, chemical and biological changes in the rhizosphere and nutrient availability. J. Plant Nutr. 29: 1327-56.
12. Frankenberger, W.T. and Tabatabai, M.A. 1982. Amidase and urease activity in plants. Plant Soil. 64: 153-166.
13. Gerendàs, J. and Sattelmacher, B. 1997. Significance of Ni supply for growth, urease activity and the concentrations of urea, amino acids and mineral nutrients for urea-grown plants. Plant Soil. 190: 153-162.
14. Gerendàs, J., Polacco, J., Freyermuth, S. K. and Sattelmacher, B. 1999. Significance of nickel for plant growth and metabolism. J. Plant Nutr. Soil Sci. 162: 241-56.

www.SID.ir

Archive of SID

15. Ghasemi, S., Khoshgoftarmanesh, A.H., Afyuni, M. and Hadadzadeh, H. 2013. Zinc-amino acid complexes are more stable than free amino acids in saline and washed soils. Soil Bio. Biochem. 63: 73-79.
16. Gordon, W.R., Schwemmer, S.S. and Hillman, W.S. 1978. Nickel and the metabolism of urea by *Lemna paucicostata* Hegelm. Planta. 140: 265-268.
17. Hoagland, D.R. and Arnon, D.I. 1950. The water-culture method for growing plants without soil. Berkeley, California: University of California, College of Agriculture, Agricultural Experiment Station, 347p.
18. Jones, D.L. and Hodge, A. 1999. Biodegradation kinetics and sorption reactions of three differently charged amino acids in soil and their effects on plant organic nitrogen availability. Soil Biol. Biochem. 31: 1331-1342.
19. Jones, D.L., Hodge, A. and Kuzyakov, Y. 2004. Plant and mycorrhizal regulation of rhizodeposition. New Phytol. 163: 459-80.
20. Keeney, D.R. and Nelson, D.W. 1982. Nitrogen – inorganic forms. In: Page, A.L. (Ed.), Methods of Soil Analysis. Agronomy Monograph 9. Part 2, 2nd ed. American Society of Agronomy, Madison, WI, pp. 643-698.
21. Khoshgoftarmanesh, A.H., Hosseini, F. and Afyuni, M. 2011. Nickel supplementation effect on the growth, urease activity and urea and nitrate concentrations in lettuce supplied with different nitrogen sources. Sci. Hort. 130: 381-5.
22. Khoshgoftarmanesh, A.H. and Bahmanziari, H. 2012. Stimulating and toxicity effects of nickel on growth, yield and fruit quality of cucumber supplied with different nitrogen sources. J. Plant Nutr. Soil Sci. 175: 474-81.
23. Koksal, A.L. and Dumanoglu, H. 1999. The effects of different amino acid chelate foliar fertilizers on yield, fruit quality, shoot growth and Fe, Zn, Mn content of leaves in williams pear cultivar (*Pyrus Communis* L.). J. Agr. Forest. 23: 651-658.
24. Kupper, H., Kupper, F. and Spiller, M. 1998. In situ detection of heavy metal substituted chlorophylls in water plants. Photosynth. Res. 58: 123-133.
25. Kutman, B., Kutman, U. and Cakmak, I. 2013. Nickel-enriched seed and externally supplied nickel improve growth and alleviate foliar urea damage in soybean. Plant Soil. 363: 61-75.
26. Lang, B. and Kaiser, W.M. 1994. Solute and energy status of roots of barley plants cultivated at different pH on nitrate or ammonium nitrogen. New Phytol. 128: 451-459.
27. Marschner, H. 1995. Mineral Nutrition of Higher Plants. 2nd Edition, Academic Press, London, 645p.
28. Mobley, H.L. and Hausinger, R.P. 1989. Microbial urease: Significance regulation and molecular characterization. Microbiol. Rev. 53: 85-108.
29. Mobley, H.L. 1996. Virulence of Proteus mirabilis, In: Urinary tract infection, molecular pathogenesis and clinical management. Warren, J. W. editor. Washington, D.C., ASM. Press.
30. Molas, J. 2002. Changes of chloroplast ultrastructure and total chlorophyll concentration in cabbage leaves caused by excess of organic Ni II complexes. Environ. Exp. Bot. 47: 115-126.
31. Mulrooney, S.B. and Hausinger, R.P. 2003. Nickel uptake and utilization by microorganisms. Microbiol Rev. 27: 239-61.
32. Nowack, B., Schulin, R. and Robinson, B.H. 2006. A critical assessment of chelant-enhanced metal Phytoextraction. Environ. Sci. Technol. 40: 5225-32.
33. Panday, N. and Sharma, C.P. 2002. Effect of heavy metals Co^{2+}, Ni^{2+}, and Cd^{2+} on growth and metabolism of cabbage. Plant Sci. 163: 753-758.
34. Paschalidis, A.K. and Roubelakis-Angelakis, A.K. 2005. Sites and regulation of polyamine catabolism in the tobacco plant. Correlation with cell division/expansion, cell cycle progression and vascular development. Plant Physiol. 138: 2174-2184.
35. Polacco, J.C. 1976. Nitrogen metabolism in soybean tissue culture. Plant Physiol. 58: 350-357.

www.SID.ir

Archive of SID

36. Rosen, H. 1957. A modified Ninhydrin colorimetric analysis for amino acids. Arch. Biochem. Biophysics. 67: 10-15.
37. Seregin, I.V. and Kozhevnikova, A.D. 2006. Physiological role of nickel and its toxic effects on higher plants. Russ. J. Plant Physiol. 53: 257-277.
38. Shimada, N. and Ando, T. 1980. Role of Nickel in Plant Nutrition. Effect of nickel on the assimilation of urea by plants. Jap. J. Soil Sci. Plant Nutr. 51: 493-496.
39. Tan, X.W., Ikeda, H. and Oda, M. 2000. Effect of nickel concentration in the nutrient solution on the nitrogen assimilation and growth of tomato seedling in hydroponic culture supplied with urea or nitrate as the sole nitrogen source. Sci. Hort. 84: 265-273.
40. Thomson, A.J. 1982. Proteins containing nickel. Nature. 298: 602-3.
41. Walsh, C.T. and Orme-Johnson, W.H. 1987. Nickel enzymes. Biochem. 26: 4901-6.
42. White, M. 2016. Rapeseed: Chemical Composition, Production and Health Benefits. Nova Science Publishers, Inc., New York, USA, 125p.
43. Yu, Z., Zhang, Q., Kraus, T.E.C., Dahlgren, R.A., Anastasio, C. and Zasoski, R.J. 2002. Contribution of amino compounds to dissolved organic nitrogen in forest soils. Biogeochem. 61: 173-198.

www.SID.ir