

## تأثیر مقدار نیترات و زمان برداشت بر غلظت آهن، روی، مس، پتاسیم و فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز در کاهو و اسفناج

زهرا قشلاقی<sup>۱\*</sup>، رضا خراسانی<sup>۲</sup>، غلامحسین حق‌نیا<sup>۳</sup> و محمد کافی<sup>۴</sup>

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۳/۴؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۶/۲۰)

### چکیده

سبزی‌های برگ‌ریز از مهم‌ترین منابع روزانه تأمین نیترات در انسان هستند. بدین منظور برای بررسی اثر سطوح مختلف نیترات و زمان برداشت بر انباشت نیترات و غلظت عناصر آهن، روی، مس و پتاسیم و فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز در کاهو و اسفناج، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار و ۸ تیمار در محلول غذایی هوگلند و آرنون با دو سطح نیترات (۱۰ و ۲۰ میلی‌مول در لیتر) و دو زمان برداشت (۲۹ و ۴۶ روز) بر روی دو گیاه کاهو و اسفناج انجام شد. نتایج نشان داد با افزایش غلظت نیترات در محلول، انباشت نیترات در ریشه و اندام هوایی دو گیاه و هم‌چنین فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز در اندام هوایی آنها به‌طور معنی‌داری در سطح ۵ درصد افزایش یافت، در صورتی که وزن خشک اندام هوایی، غلظت آهن و مس در هر دو گیاه کاهش و غلظت پتاسیم و روی در اندام هوایی آنها در هر دو زمان برداشت افزایش یافت. گذشت زمان موجب تشدید انباشتگی نیترات و کاهش فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز در اندام هوایی دو گیاه شد. غلظت آهن، مس و پتاسیم در اندام هوایی دو گیاه، با گذشت زمان کاهش یافت، در حالی که غلظت روی در اندام هوایی آنها با گذشت زمان افزایش یافت. نتایج نشان داد افزایش غلظت نیترات در محلول بیش از ظرفیت گیاه برای احیا و جذب خالص آن، منجر به انباشتگی آن در گیاه شد که با گذشت زمان تشدید یافته و سبب کاهش عملکرد و غلظت آهن و مس و هم‌چنین کاهش فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز در اندام هوایی کاهو و اسفناج شده است.

واژه‌های کلیدی: انباشت نیترات، عناصر کم مصرف، کاهو، اسفناج، نیترات ردوکتاز

۱ و ۲. به‌ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشیار و استاد گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

۳. به‌ترتیب عضو هیأت علمی پژوهشکده علوم گیاهی و دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

\*: مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: za.gheshlaghi@stu.um.ac.ir

## مقدمه

در فرآیند انباشتگی نیترات، بررسی فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز به عنوان یک فاکتور ژنتیکی و اولین آنزیم مؤثر در احیا و متابولیسم نیترات دارای اهمیت بسیار است، بدین گونه که نیترات در حضور این آنزیم به آمونیوم تبدیل می شود و مانع انباشتگی نیترات در بافت های گیاهی می گردد. طول عمر پروتئین نیترات ردوکتاز به طور معمول کوتاه است و عوامل مختلفی ستنز این آنزیم را کنترل می کنند. آنیون نیترات، حضور نور، گلوکز و سایر کربوهیدرات ها بیان ژن مذکور را تحریک کرده و آمونیوم، گلوتامین و سایر اسید آمینه ها فعالیت این آنزیم را متوقف می کنند (۱). نتایج مطالعات چن و همکاران در سال ۲۰۰۴ (۵) نشان داد که با افزایش غلظت نیترات عرضه شده به خاک فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز در کلم، اسفناج و شلغم به طور معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد افزایش یافت.

مطالعات زیادی در ارتباط با اثر زمان برداشت به عنوان یک فاکتور محیطی، بر روی انباشتگی نیترات و فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز صورت گرفته، در بیشتر این مطالعات، هدف اصلی زمان، تغییرات شدت نور و میزان فتوسنتز گیاهی بوده است. در صورتی که نتایج کمتری در ارتباط با بررسی پراکنش جذب نیترات با مراحل رشد گیاه انجام شده است. نتایج سانتورو و مگالیز با بررسی تغییرات فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز در مراحل رشد گیاه نشان داد که با افزایش رشد گیاه میزان انباشت نیترات در گیاه افزایش یافته است (۲۰). نتایج حاصل از آزمایشات محققان با بررسی اثر سطوح نیترات بر انباشت آن در سبزی ها، نشان می دهد که با افزایش غلظت نیترات عرضه شده به گیاه، غلظت آن در اندام های گیاهی هم افزایش می یابد همان طور که کاتسیراس و همکاران (۱۶) با بررسی تأثیر سطوح مختلف نیتروژن محلول غذایی (۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم در لیتر) بر عملکرد و کیفیت خیار سبز نشان دادند که بیشترین عملکرد در سطوح ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم در لیتر به دست آمد و با افزایش سطوح نیتروژن به بیشتر از ۲۰۰ میلی گرم در لیتر عملکرد، تعداد میوه و میانگین طول، قطر و وزن تک میوه

نیترات و آمونیوم از فرم های قابل جذب نیتروژن در گیاهان محسوب می شوند که میزان جذب هر کدام بسته به نوع خاک، گونه گیاهی و غلظت آنها در محیط متفاوت خواهد بود. امروزه مصرف کودهای نیتراتی به عنوان یکی از مهم ترین منابع جذب نیتروژن در سبزی های برگی، بیش از حد افزایش یافته است و از آنجایی که در مورد نیترات سهم حرکت جریان توده ای غالب است، سرعت حرکت این آنیون در خاک رخ بیشتر از آمونیوم می باشد. به همین دلیل مصرف بیش از نیاز کودهای حاوی نیترات، علاوه بر انباشت آن در سبزی ها باعث افزایش تلفات و آبخش نیترات می شود (۴)، که در صورت بالا بودن سطح ایستابی، آب های زیرزمینی نیز می تواند در معرض آلودگی نیترات قرار گیرند که طبیعتاً استفاده از این آب برای آبیاری موجب تشدید انباشتگی نیترات در گیاهان می شود (۲۳). نتیجه این امر بروز اثرات منفی نیترات و کاهش کیفیت و سلامت محصولات می باشد به طوری که نیترات نه تنها به عنوان یک کود شیمیایی، بلکه به عنوان یک تهدید کننده سلامت انسان و محیط اطراف بشر نیز شناخته می شود.

انباشت نیترات در گیاهان علاوه بر عوامل تغذیه ای مثل کاربرد زیاد کودهای نیتراتی، تابع عوامل محیطی و ژنتیکی نیز می باشد (۱۹). در یک شرایط محیطی و تغذیه ای یکسان، بین گیاهان مختلف و حتی ارقام یک گیاه در توانایی آنها در میزان انباشت نیترات تفاوت هایی وجود دارد (۴). انباشتگی نیترات بیشتر در خانواده های براسیکاسه آ (Brassicaceae)، کنوپودیاسه آ (Chenopodiaceae)، آماران تاسه آ (Amaranthaceae)، کاسنی (Asteraceae) و چتریان (Apiaceae) گزارش شده است (۱۹)، گزارشات اعلام شده حاکی از آن است که در بین سبزی های برگی کاهو و اسفناج به عنوان یکی از مهم ترین اجزای رژیم غذایی از بیشترین انباشت دهنده های نیترات محسوب می شوند و تقریباً ۷۲ تا ۹۴ درصد میانگین مصرف روزانه بشر، به نیترات را به خود اختصاص می دهند (۷).

عناصر کم مصرف (آهن، روی و مس) و پتاسیم در اندام هوایی کاهو و اسفناج اجرا شد.

## مواد و روش‌ها

### تیمارهای آزمایش و ترکیب محلول غذایی

این آزمایش گلخانه‌ای در محیط آبکشت، در گلخانه دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد در سال ۱۳۹۱ به اجرا درآمد. این آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با دو سطح غلظت نیترات (۱۰ و ۲۰ میلی مول در لیتر) و دو زمان برداشت (۲۹ و ۴۶ روز بعد از انتقال نشاء ها به محلول غذایی) با سه تکرار در دو گیاه کاهو بلند - سیاهو و اسفناج (*Lactuca sativa L. Var Longifolia*) با نام تجاری کاهو پیچ نام تجاری اسفناج بدون تیغ فوسیلو ایتالیا در محلول غذایی تغییر یافته هوگلند و آرنون انجام گرفت (۱۰). منبع نیتروژن به صورت نیترات از دو نمک نیترات کلسیم و نیترات پتاسیم تأمین شد. در مجموع تیمارهای آزمایشی عبارتند از:  $LN_{10}H_1$  و  $LN_{10}H_2$  به ترتیب برداشت اول و دوم در کاهو با سطح ۱۰ میلی مول در لیتر نیترات،  $LN_{20}H_1$  و  $LN_{20}H_2$  به ترتیب برداشت اول و دوم در کاهو با سطح ۲۰ میلی مول در لیتر نیترات،  $SN_{10}H_1$  و  $SN_{10}H_2$  به ترتیب برداشت اول و دوم در اسفناج با سطح ۱۰ میلی مول در لیتر نیترات و  $SN_{20}H_1$  و  $SN_{20}H_2$  برداشت اول و دوم، گیاه اسفناج با سطح ۲۰ میلی مول در لیتر نیترات.

### کاشت بذر و نگهداری گیاهان

ابتدا بذور کاهو و اسفناج در گلدان‌هایی حاوی مخلوط کوکوپیت، پرلیت و ماسه به ترتیب با نسبت‌های حجمی ۰/۲۵، ۰/۲۵ و ۰/۵ کشت شدند. بعد از ۲۳ روز، نشاءها در مرحله دو تا سه برگی به داخل ظرف‌های بیست و پنج لیتری حاوی محلول هوادهی شده هوگلند و آرنون (جدول ۱) انتقال یافتند. به طوری که در هر ظرف برای برداشت اول ۱۴ و برای برداشت

کاهش یافت. چن و همکاران (۵) نیز با بررسی اثر سطوح مختلف نیتروژن نیتراتی (صفر، ۰/۱۵، ۰/۳، ۰/۴۵ و ۰/۶ گرم نیتروژن در کیلوگرم خاک) بر عملکرد و غلظت نیترات در کلم، اسفناج و شلغم نشان دادند که در بیشترین سطح نیترات، کمترین عملکرد و بیشترین انباشت نیترات در سبزی‌ها حاصل شده است.

استانداردهای مختلفی برای غلظت مجاز نیترات در سبزی‌ها ارائه شده است، اتحادیه اروپا (۹) حداکثر غلظت مجاز نیترات برای کاهو و اسفناج را در کشت‌های بهاره (آبکشت)، به ترتیب حدود ۳۵۰۰ و ۴۰۰۰ میلی گرم در کیلوگرم وزن تازه گیاهی توصیه کرده است. این مقادیر برای کشت‌های مزرعه‌ای حدود ۲۵۰۰ میلی گرم در کیلوگرم است.

توجه به این نکته حائز اهمیت است که اثرات منفی نیترات علاوه بر جنبه‌های زیست محیطی و سلامت دام و انسان از بعد تأثیر آن بر تغذیه‌ی گیاه نیز قابل بررسی است. در اکثر مطالعات انجام شده بیشتر به بررسی دو مورد اول پرداخته شده است و مطالعات کمتری بر روی تأثیر منفی نیترات بر تغذیه‌ی گیاه انجام گرفته است در حالی که غلظت‌های زیاد نیترات در محیط و انباشت آن در گیاه می‌تواند تعادل عناصر غذایی کم مصرف در اندام‌های گیاهی و کیفیت محصول را به شدت تحت تأثیر قرار دهد (۸ و ۱۱). نتایج حاصل از انجام مطالعات نیز بیانگر این مطلب است که تغذیه‌ی گیاهان در شرایط انباشت نیترات، به شدت تحت تأثیر قرار می‌گیرد و موجب کاهش عملکرد، کیفیت و برهم خوردن تعادل سایر عناصر غذایی در گیاهان می‌شود (۸ و ۱۸). کاتسیراس و همکاران در سال ۲۰۰۲ (۱۵) گزارش کردند که مصرف زیاد نیتروژن در محلول غذایی نه تنها عملکرد بلکه کیفیت و ارزش تغذیه‌ای محصولات کشاورزی به خصوص سبزی‌های گلخانه‌ای را نیز به شدت کاهش می‌دهد. لذا با توجه به این نکته و ضرورت اهمیت سلامت فرآورده‌های غذایی برای بشر، پژوهش حاضر به منظور مطالعه اثر سطوح نیترات و زمان برداشت بر انباشت نیترات و تأثیر آن بر فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز و غلظت

جدول ۱. غلظت عناصر غذایی در محلول تغییر یافته هوگلند و آرنون (۱۹۵۰)

محلول پایه	فرمول شیمیایی	غلظت محلول مادر (میلی مولار)	میلی لیتر محلول مادر در ۲۵ لیتر
نیترات کلسیم*	Ca(NO <sub>3</sub> ).4H <sub>2</sub> O	۶/۶	۵۰ - ۱۰۰
نیترات پتاسیم*	KNO <sub>3</sub>	۸/۲	۵۰ - ۱۰۰
پتاسیم دی هیدروژن فسفات	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	۱	۵۰
سولفات منیزیم	MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	۲	۵۰
اسید بوریک	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	۴۶/۲	۲۵
کلرید منگنز	MnCl <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O	۹/۱	۲۵
سولفات روی	ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	۰/۷	۲۵
سولفات مس	CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	۰/۳	۲۵
اسید مولیبدیک	H <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> .H <sub>2</sub> O	۰/۱	۲۵
کلات آهن	Fe-EDTA	۱۰۹/۴	۲۵

\* بسته به تیمار مورد نظر نیترات کلسیم و نیترات پتاسیم با غلظت تعیین شده به محلول اضافه شده است.

فعالیت آنزیم در زمان‌های ذکر شده در طول موج ۵۴۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر بر حسب میکرومول نیتريت در گرم وزن تازه گیاهی در ساعت ( $\mu\text{mol NO}_2^- \text{g}^{-1} \text{fw h}^{-1}$ ) محاسبه گردید.

#### اندازه‌گیری غلظت نیترات و عناصر کم مصرف در گیاه

پس از جدا کردن اندام هوایی از ریشه‌ی گیاه در زمان برداشت و شست و شوی آنها، اندام هوایی و ریشه گیاهان به‌طور مجزا، به مدت ۴۸ و ۷۲ ساعت به‌ترتیب برای اسفناج و کاهو در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد در خشک‌کن قرار گرفتند و پس از ثابت شدن وزن آنها توزین شدند. نمونه‌های گیاهی خشک شده توسط آسیاب کاملاً پودر شد (اندام هوایی و ریشه به‌صورت مجزا) و مقدار ۰/۱ گرم از هر نمونه توزین و ۲۰ سی‌سی اسید استیک ۲ درصد به آن اضافه شد و به مدت نیم ساعت شیک گردید و بعد از عصاره‌گیری با کاغذ صافی واتمن ۴۲، میزان نیترات موجود در عصاره با روش دی‌آزو و دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۴۰ نانومتر بر حسب میلی‌گرم نیترات در گرم وزن خشک گیاهی ( $\text{mg NO}_3^- \text{g}^{-1} \text{dw}$ )

دوم ۷ گیاه مستقر گردید. محلول غذایی هر هفته یکبار براساس سنجش سطح نیترات، pH و EC تعویض می‌گردید. سطح محلول نیز در صورت کاهش حجم، با آب مقطر به حجم رسانده می‌شد، میانگین دمای گلخانه در روز و شب به‌ترتیب حدود ۲۵ و ۱۶ درجه بود.

#### اندازه‌گیری فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز

در این پژوهش برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز از روش ارائه شده توسط جاوورسکی در سال ۱۹۷۱ استفاده شد (۱۲). در این روش با استفاده از وسیله‌ی پانچ نمونه‌هایی مشابه از نظر اندازه، از برگ‌های بالغ و سالم (بدون نشان زردی و بافت مردگی) تهیه شد و بعد از توزین به‌منظور تأمین شرایط غیر هوازی بلافاصله به لوله‌های آزمایش دربار حاوی ۱۰ سی‌سی محلول بافر با pH ۷/۵ منتقل گردید. اندازه‌گیری فعالیت آنزیم در دو زمان صفر و یک ساعت انجام شد. توقف فعالیت آنزیم و ایجاد رنگ صورتی با به‌کاربردن محلول سولفانیل آمید ۱ درصد و نفتیل اتیلن دی‌آمین هیدروکلرید (NEED) (Dihydrochloride Ethylenediamine N-(1-naphthyl)) 0/02 درصد انجام گرفت و میزان نیتريت تولید شده در اثر

جدول ۲. اثر سطح نیترات و زمان برداشت بر غلظت نیترات ریشه و اندام هوایی کاهو و اسفناج

زمان برداشت (روز بعد از انتقال نشاءها به محلول غذایی)						سطح نیترات (میلی مول در لیتر)	
۲۹			۴۶				
میانگین	۴۶	۲۹	میانگین	۴۶	۲۹		
	غلظت نیترات اندام هوایی (میلی گرم در گرم)			غلظت نیترات ریشه (میلی گرم در گرم)			
۱/۷۴ <sup>B</sup>	۱/۹۳ <sup>C</sup>	۱/۵۵ <sup>D</sup>	۰/۴۳ <sup>B</sup>	۰/۴۶ <sup>C</sup>	۰/۳۶ <sup>D</sup>	۱۰	
۴۲۰/۱۹ <sup>A</sup>	۶۴۶/۶۵ <sup>A</sup>	۱۹۳/۷۳ <sup>B</sup>	۳۲/۶۴ <sup>A</sup>	۵۷/۶۳ <sup>A</sup>	۷/۶۵ <sup>B</sup>	۲۰	
	۳۲۴/۲۹ <sup>A</sup>	۹۷/۶۴ <sup>B</sup>		۲۹/۰۴ <sup>A</sup>	۴/۰۱ <sup>B</sup>	میانگین	

در هر سطر یا ستون برای هر صفت، میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک می‌باشند، طبق آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

افزایش غلظت نیترات در ریشه و اندام هوایی شد، به طوری که بیشترین غلظت نیترات اندام هوایی در سطح ۲۰ میلی‌مول در لیتر نیترات و در زمان برداشت دوم و کمترین آن در سطح ۱۰ میلی‌مول در لیتر نیترات و در زمان برداشت اول به دست آمد.

نتایج مقایسه میانگین (جدول ۳) نشان داد که غلظت نیترات در اندام هوایی کاهو به طور معنی‌داری بیش از اسفناج بود. بیشترین غلظت نیترات در اندام هوایی کاهو و در سطح ۲۰ میلی‌مول در لیتر نیترات مشاهده شد.

مقایسه میانگین‌های وزن خشک اندام هوایی نشان داد که با افزایش غلظت نیترات در محلول غذایی، وزن خشک اندام هوایی کاهو و اسفناج به طور معنی‌داری در سطح ۵ درصد کاهش یافت (جدول ۳). بیشترین عملکرد رویشی دو گیاه در سطح ۱۰ میلی‌مول در لیتر نیترات به دست آمد. افزایش غلظت نیترات در محلول و تشدید انباشتگی آن در اندام هوایی دو گیاه سبب کاهش عملکرد رویشی دو گیاه شد.

اثر متقابل سطوح نیترات، نوع گیاه و زمان برداشت بر وزن خشک اندام هوایی (شکل ۱) نشان داد که با گذشت زمان، افزایش عملکرد رویشی دو گیاه در سطح ۲۰ میلی‌مول در لیتر نیترات نسبت به سطح ۱۰ میلی‌مول در لیتر نیترات با شیب بیشتری افزایش یافت.

اندازه‌گیری گردید. به منظور اندازه‌گیری غلظت عناصر کم مصرف و پتاسیم در اندام‌های گیاهی، پس از آماده‌سازی و هضم مرطوب نمونه‌ها، غلظت عناصر کم مصرف شامل آهن، روی و مس با استفاده از دستگاه جذب اتمی مدل PG-990 بر حسب میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن خشک گیاهی و غلظت پتاسیم توسط دستگاه فلیم فوتومتر مدل JENWAY PFP7 بر حسب درصد اندازه‌گیری و گزارش گردید. پس از اندازه‌گیری‌ها و ثبت نتایج، داده‌های خام توسط نرم افزار MSTAT-C مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد استفاده شد و رسم نمودارها نیز توسط نرم افزار Sigma Plot 11 صورت گرفت.

## نتایج و بحث

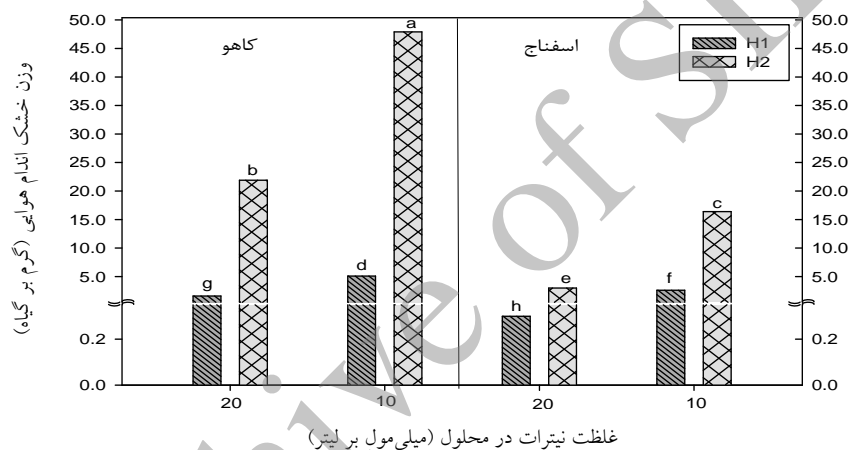
### بررسی غلظت نیترات اندام هوایی و ریشه

بر اساس نتایج تجزیه واریانس داده‌ها، اثر سطح نیترات، زمان برداشت و نوع گیاه بر غلظت نیترات ریشه و اندام هوایی در سطح ۱ درصد معنی‌دار بود. بررسی اثر سطح نیترات و زمان برداشت بر غلظت نیترات ریشه و اندام هوایی (جدول ۲) نشان داد که با افزایش غلظت نیترات در محلول، انباشت نیترات در ریشه و اندام هوایی افزایش یافت. گذشت زمان نیز موجب

جدول ۳. اثر سطح نیترات و نوع گیاه بر وزن خشک اندام هوایی و غلظت نیترات اندام هوایی

گیاه						سطح نیترات (میلی مول در لیتر)
میانگین	اسفناج	کاهو	میانگین	اسفناج	کاهو	
غلظت نیترات اندام هوایی (میلی گرم در گرم)			وزن خشک اندام هوایی (گرم در گیاه)			
۱/۷۴ B	۱/۰۲ d	۲/۴۶ c	۱۸/۰۴ A	۹/۵۲ c	۲۶/۵۴ a	۱۰
۴۲۰/۱۹ A	۱۷۶/۲۱ b	۶۶۴/۱۸ a	۶/۷۲ B	۱/۶۷ d	۱۱/۷۸ b	۲۰
	۸۸/۶۱ B	۳۳۳/۳۲ A		۵/۵۹ B	۱۹/۱۶ A	میانگین

در هر سطر یا ستون برای هر صفت، میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک می‌باشند، طبق آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

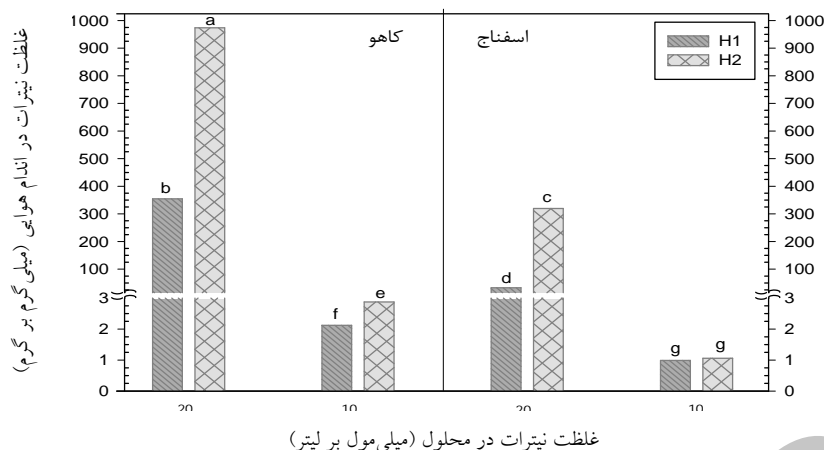


شکل ۱. اثر متقابل سطوح نیترات، نوع گیاه و زمان برداشت بر وزن خشک اندام هوایی. حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد بین تیمارها است. (برداشت اول: H1 و برداشت دوم: H2). (//: ایجاد شکست در داده‌ها برای نمایش بهتر آنها از محدوده‌ی ۰/۳ تا ۰/۵)

انباشت نیترات در کاهو به این نتیجه رسیدند که در سطوح ۱۳ میلی‌مولار نیترات نسبت به سطوح پایین‌تر آن، عملکرد کاهو کاهش و انباشت نیترات به‌طور معنی‌دار در سطح ۵ درصد افزایش یافت. هم‌چنین نتایج این پژوهش با نتایج کاتسیراس و همکاران در سال ۲۰۰۲ (۱۵) مطابقت دارد.

اثر متقابل سطوح نیترات، نوع گیاه و زمان برداشت بر غلظت نیترات اندام هوایی نشان داد که با افزایش غلظت نیترات محلول، غلظت نیترات در اندام‌هوایی هر دو گیاه و در هر دو زمان برداشت به‌طور معنی‌داری در سطح ۵ درصد افزایش یافته

یکی از دلایل عمده‌ی کاهش عملکرد کاهو و اسفناج در تیمارهایی با سطح ۲۰ میلی‌مول در لیتر نیترات نسبت به تیمارهایی با سطح کمتر آن، افزایش غلظت نیترات در محلول می‌باشد. غلظت زیاد نیترات در محلول، از یک سو با برهم زدن تعادل عناصر غذایی موجود در محلول و از سوی دیگر با افزایش غلظت نیترات در اندام‌های گیاهی و تشدید عدم تعادل عناصر در جذب توسط گیاه، موجب کاهش عملکرد رویشی گیاهان می‌گردد. کاسجان مارسپیک و اوسوالد (۱۳) با بررسی اثر دو سطح نیترات (۵ و ۱۳ میلی‌مولار) بر عملکرد و میزان



شکل ۲. اثر متقابل سطوح نیترات، نوع گیاه و زمان برداشت بر غلظت نیترات اندام هوایی

حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد بین تیمارها است. (برداشت اول: H1 و برداشت دوم: H2) (// : ایجاد شکست در داده‌ها برای نمایش بهتر آنها از محدوده‌ی ۳ تا ۲۰)



شکل ۳. اثر متقابل سطوح نیترات، نوع گیاه و زمان برداشت بر غلظت نیترات ریشه

حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد بین تیمارها است. (برداشت اول: H1 و برداشت دوم: H2) (// : ایجاد شکست در داده‌ها برای نمایش بهتر آنها از محدوده‌ی ۳ تا ۵/۳۵)

ریشه‌ی کاهو در هر دو برداشت افزایش یافت. بیشترین غلظت نیترات ریشه، در اسفناج با سطح ۲۰ میلی مول در لیتر نیترات در زمان برداشت دوم به دست آمد.

با گذشت زمان غلظت نیترات در اندام هوایی کاهو، در سطح ۱۰ و ۲۰ میلی مول در لیتر نیترات به ترتیب ۷/۱۵ و ۳۵/۵۴ درصد و در اسفناج نیز غلظت نیترات اندام هوایی در دو سطح نیترات به ترتیب ۱۷۴/۴۵ و ۸۷۵/۴۳ درصد افزایش یافت. نتایج

است (شکل ۲). بیشترین غلظت نیترات اندام هوایی، در کاهو با سطح ۲۰ میلی مول در لیتر نیترات در زمان برداشت دوم مشاهده شد.

نتایج حاصل از اندازه‌گیری غلظت نیترات در ریشه‌ی این گیاهان نشان داد که روند تغییرات غلظت نیترات در ریشه، مشابه روند تغییرات غلظت نیترات در اندام هوایی آنها است (شکل ۳). با افزایش غلظت نیترات محلول، غلظت آن در

جدول ۴. مقایسه غلظت نیترات اندازه‌گیری شده در کاهو و اسفناج با حد مجاز ارائه شده توسط سازمان بهداشت جهانی

غلظت نیترات ( $\text{mg kg}^{-1} \text{fw}$ )		تیمار
حد مجاز غلظت نیترات	مقادیر اندازه‌گیری شده	
۳۸۲ - ۳۶۲۰	۲۱۲/۰۶ <sup>f</sup>	LN <sub>10</sub> H <sub>1</sub>
	۲۸۷/۴۴ <sup>e</sup>	LN <sub>10</sub> H <sub>2</sub>
	۳۵۴۷۶/۶۷ <sup>b</sup>	LN <sub>20</sub> H <sub>1</sub>
	۹۷۳۶۶/۶۷ <sup>a</sup>	LN <sub>20</sub> H <sub>2</sub>
۳۴۵ - ۳۸۹۰	۹۸/۷۵ <sup>g</sup>	SN <sub>10</sub> H <sub>1</sub>
	۱۰۵/۸۲ <sup>g</sup>	SN <sub>10</sub> H <sub>2</sub>
	۳۲۷۶/۶۷ <sup>d</sup>	SN <sub>20</sub> H <sub>1</sub>
	۳۱۹۶۱/۹ <sup>c</sup>	SN <sub>20</sub> H <sub>2</sub>

در کاهو و (LN<sub>20</sub>H<sub>2</sub>، LN<sub>10</sub>H<sub>1</sub> و LN<sub>20</sub>H<sub>1</sub>، LN<sub>10</sub>H<sub>2</sub>) به ترتیب برداشت اول و دوم هر کدام با سطح ۱۰ و ۲۰ میلی‌مول در لیتر نیترات در اسفناج. حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد بین تیمارها است.

ریکاو استات (۱۷) دریافتند که رابطه مستقیمی بین غلظت نیترات محلول و غلظت نیترات اندام هوایی وجود دارد. سانتاماریا (۱۹)، چن و همکاران (۵) اعلام کردند که در یک شرایط تغذیه‌ای یکسان برخی از گیاهان توانایی بیشتری در جذب نیترات دارند که یکی از دلایل آن می‌تواند به محل و میزان فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز در گیاهان مختلف مربوط باشد، به همین دلیل فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز در کاهو و اسفناج مورد بررسی قرار گرفت تا بتوان به این سؤال پاسخ داد که آیا بین فعالیت آنزیم مذکور و انباشت نیترات در گیاه رابطه‌ای وجود دارد و این که فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز تا چه حد می‌تواند انباشت نیترات در گیاهان را توجیه کند.

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر سطوح نیترات، نوع گیاه و زمان برداشت بر فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۵).

اثر سطح نیترات و نوع گیاه بر فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز نشان داد (جدول ۶) که با افزایش غلظت نیترات محلول، فعالیت آنزیم به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. بیشترین و کمترین فعالیت آنزیم به ترتیب در اسفناج و کاهو مشاهده شد.

حاصل از این آزمایش با نتایج استگناری و همکاران در سال ۲۰۰۷ (۲۱) که آزمایشاتی را در زمینه‌ی بررسی تأثیر کودهای حاوی نیتروژن و مقادیر آن بر روی عملکرد و سلامت غذایی ژنوتیپ‌های مختلف اسفناج انجام دادند، مطابقت دارد. براساس محاسبات انجام شده به‌طور متوسط ۹۰ درصد از وزن نمونه‌های برداشت شده را آب تشکیل می‌داد بر این اساس اگر وزن خشک کاهو و اسفناج را ۱۰ درصد در نظر بگیریم، مقایسه غلظت نیترات در دو گیاه با حد مجاز آن (۲۴) در جدول ۴ ارائه شده است. نتایج نشان داد غلظت نیترات در اندام هوایی کاهو در هر دو زمان برداشت در سطح ۲۰ میلی‌مول در لیتر نیترات بیش از حد مجاز تعیین شده (۳۶۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن تازه گیاه - مخصوص کشت آبکشت) بود. غلظت نیترات در اسفناج نیز تنها در زمان برداشت دوم و در سطح ۲۰ میلی‌مول در لیتر نیترات بیش از حد مجاز (۳۸۹۰ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن تازه گیاه - مخصوص کشت آبکشت) بوده است.

#### بررسی فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز

عوامل متعددی بر میزان انباشت نیترات در گیاهان مؤثرند،



جدول ۵. تجزیه واریانس اثرهای اصلی و متقابل فاکتورها بر فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات
سطح نیترات	۱	۰/۰۱۴**
زمان برداشت	۱	۰/۰۰۵**
نوع گیاه	۱	۰/۱۲۱**
سطح نیترات × زمان برداشت	۱	۰/۰۰۰۹*
سطح نیترات × نوع گیاه	۱	۰/۰۰۵**
زمان برداشت × نوع گیاه	۱	۰/۰۰۲**
اثرات متقابل سه گانه	۱	۰/۰۰۰۰۷ <sup>ns</sup>
خطا	۱۶	۰/۰۰۰۵

\*, \*\* و ns به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد و بدون اختلاف معنی دار

جدول ۶. اثر سطح نیترات و نوع گیاه بر فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز

گیاه		سطح نیترات (میلی مول در لیتر)
اسفناج	کاهو	
فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز ( $\mu\text{mol NO}_2^- \cdot \text{g}^{-1} \text{FW h}^{-1}$ )		
۰/۱۱۸ B	۰/۱۷۷ b	۰/۰۵۸ d
۰/۱۷۲ A	۰/۲۵۷ a	۰/۰۸۷ c
	۰/۲۱۷ A	۰/۰۷۲ B

در هر سطر یا ستون، میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک می‌باشند، طبق آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد تفاوت معنی داری ندارند.

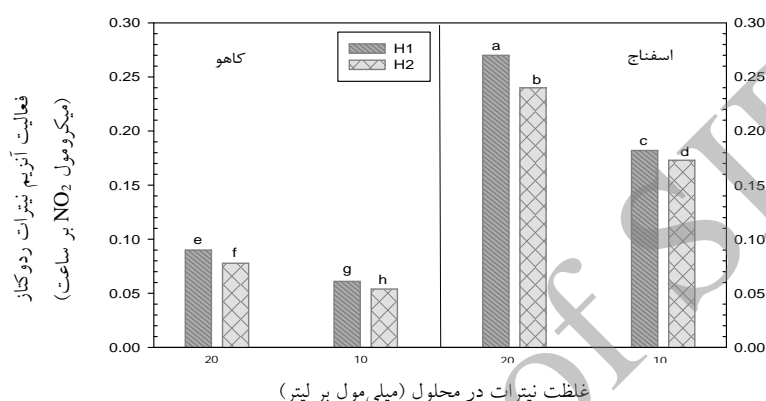
چن و همکاران (۵) می‌باشند. همان‌طور که نتایج در شکل ۴ نشان می‌دهد با گذشت زمان فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز کاهش یافت، به طوری که در غلظت ۲۰ میلی‌مول در لیتر نیترات نسبت به سطوح پایین‌تر آن، فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز با گذشت زمان با شیب بیشتری کاهش یافته است. به عبارتی بیشترین فعالیت آنزیم مربوط به اوایل رشد گیاه است به همین دلیل همان‌طور که نتایج در شکل ۲ نشان داده شده، میزان انباشت نیترات در اندام هوایی دو گیاه در اوایل رشد (۲۹ روز پس از انتقال نشاءها به محلول غذایی) نسبت به مراحل آخر

بررسی اثر زمان (جدول ۷) بر فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز نشان داد که با گذشت زمان فعالیت آنزیم به طور معنی داری کاهش یافت. بیشترین فعالیت آنزیم در اندام هوایی کاهو و اسفناج، در زمان برداشت اول به دست آمد. بررسی اثر متقابل سطوح نیترات، نوع گیاه و زمان برداشت بر فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز اندام هوایی نشان داد که با افزایش غلظت نیترات محلول، فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز در هر دو گیاه و در هر دو زمان برداشت به طور معنی داری در سطح ۵ درصد افزایش یافت (شکل ۴). این نتایج مشابه نتایج

جدول ۷. اثر زمان برداشت و نوع گیاه بر فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز

زمان برداشت (روز بعد از انتقال نشاءها به محلول غذایی)			
گیاه	۲۹	۴۶	میانگین
کاهو	۰/۰۷۸ <sup>c</sup>	۰/۰۶۶ <sup>d</sup>	۰/۰۷۲ <sup>B</sup>
اسفناج	۰/۲۲۷ <sup>a</sup>	۰/۲۰۷ <sup>b</sup>	۰/۲۱۷ <sup>A</sup>
میانگین	۰/۱۵۳ <sup>A</sup>	۰/۱۳۷ <sup>B</sup>	

در هر سطر یا ستون، میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک می‌باشند، طبق آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.



شکل ۴. اثر متقابل سطوح نیترات، نوع گیاه و زمان برداشت بر فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز اندام هوایی

حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد بین تیمارها است. (برداشت اول: H1 و برداشت دوم: H2)

برداشت) یکسان، با تغییر نوع گیاه از کاهو به اسفناج میزان انباشت نیترات به‌طور معنی‌داری کاهش یافته است. نتایج سانتاماریا (۱۹) نشان داد که در شرایط غلظت‌های زیاد نیترات، عامل تغذیه‌ای نسبت به عوامل ژنتیکی و محیطی قوی‌تر بوده است. نتایج چن و همکاران نیز (۵) با بررسی غلظت نیترات و فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز در اندام هوایی کلم، اسفناج و شلغم نشان داد که در غلظت‌های زیاد نیترات عرضه شده به خاک، میزان انباشت نیترات در این سه گیاه بیشتر تحت‌تأثیر مقدار نیترات خارجی بوده است و نقش عوامل ژنتیکی در میزان انباشت نیترات، در غلظت‌های کم نیترات خارجی محسوس‌تر است.

#### بررسی غلظت عناصر

با افزایش غلظت نیترات محلول و هم‌چنین با گذشت زمان

رشد (۴۶ روز پس از انتقال نشاءها به محلول غذایی) کمتر بوده است. فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز در هر دو سطح نیترات در اسفناج بیشتر از کاهو بوده، به همین دلیل غلظت نیترات در اندام هوایی اسفناج در هر دو سطح نیترات و دو زمان برداشت کمتر از کاهو بوده است (شکل ۲ و ۴).

همان‌طور که نتایج نشان داد انباشت نیترات در گیاه تابع مقدار نیترات محلول، نوع گیاه و زمان برداشت است. بررسی ضرایب همبستگی ساده بین غلظت نیترات و فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز گیاه با این سه پارامتر (جدول ۸) نشان داد که، انباشت نیترات اندام هوایی بیشتر تحت‌تأثیر مقدار نیترات محلول و سپس گونه گیاه بوده است. درحالی‌که فعالیت آنزیم به‌عنوان یک عامل ژنتیکی بیشتر تحت‌تأثیر گونه گیاه است.

منفی بودن ضریب همبستگی نوع گیاه بدین معنا است که در یک شرایط تغذیه‌ای (مقدار نیترات محلول) و محیطی (زمان

جدول ۸. ضرایب همبستگی ساده بین غلظت نیترات و فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز اندام هوایی با نوع گیاه، غلظت نیترات محلول و زمان برداشت

نوع گیاه	مقدار نیترات محلول	زمان برداشت
غلظت نیترات اندام هوایی	۰/۶۵۳**	۰/۳۵۴
فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز	۰/۳۴۳	-۰/۱

\*\* و \* به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد

جدول ۹. اثر سطح نیترات و زمان برداشت بر میانگین غلظت آهن و مس در کاهو و اسفناج

زمان برداشت (روز بعد از انتقال نشاءها به محلول غذایی)					
میانگین	۲۹		۴۶		سطح نیترات (میلی مول در لیتر)
	غلظت مس (میلی گرم در کیلوگرم)	میانگین	غلظت آهن (میلی گرم در کیلوگرم)	میانگین	
۱۱۸/۳۶ <sup>A</sup>	۱۰۶/۶۷ <sup>b</sup>	۱۳۰/۰۵ <sup>a</sup>	۱۵۰/۹۸ <sup>A</sup>	۱۲۵/۸۵ <sup>c</sup>	۱۰
۱۱/۰۷ <sup>B</sup>	۹/۸۸ <sup>d</sup>	۱۲/۲۷ <sup>c</sup>	۹۳/۴۸ <sup>B</sup>	۷۶/۰۳ <sup>d</sup>	۲۰
	۵۸/۲۷ <sup>B</sup>	۷۱/۱۶ <sup>A</sup>		۱۰۰/۹۴ <sup>B</sup>	میانگین

در هر سطر یا ستون برای هر صفت، میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک می‌باشند، طبق آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد تفاوت معنی داری ندارند.

معنی دار غلظت روی و پتاسیم برگ کلم بروکلی گردید. بررسی اثر متقابل سطح نیترات، نوع گیاه و زمان برداشت بر غلظت عناصر آهن و مس اندام هوایی (جدول ۱۱) نشان داد که اگر چه با گذشت زمان غلظت این دو عنصر در اندام هوایی کاهو و اسفناج کاهش یافت اما در سطح ۲۰ میلی مول در لیتر نیترات، غلظت آهن و مس با شیب بیشتری کاهش یافته است.

با گذشت زمان غلظت آهن و مس در اندام هوایی کاهو، در سطح ۱۰ میلی مول در لیتر نیترات به ترتیب ۳۱/۸۱ و ۱۰/۴۷ درصد و در سطح ۲۰ میلی مول در لیتر نیترات به ترتیب ۳۴/۲۷ و ۱۵/۱۵ درصد کاهش یافت. غلظت آهن و مس در اندام هوایی اسفناج نیز با گذشت زمان در سطح ۱۰ میلی مول در لیتر نیترات به ترتیب ۴۵/۶۵ و ۳۲/۶۶ درصد و در سطح

غلظت آهن و مس در اندام هوایی کاهو و اسفناج به طور معنی داری در سطح ۵ درصد کاهش یافت (جدول ۹). بررسی اثر سطح نیترات و زمان برداشت بر غلظت روی و پتاسیم اندام هوایی کاهو و اسفناج (جدول ۱۰) نشان داد که افزایش غلظت نیترات محلول، سبب افزایش غلظت روی و پتاسیم در اندام هوایی دو گیاه شد، هم‌چنین با گذشت زمان غلظت روی در هر دو گیاه افزایش یافت در حالی که گذشت زمان سبب کاهش غلظت پتاسیم در اندام هوایی گردید. بیشترین غلظت روی و پتاسیم اندام هوایی، در سطح ۲۰ میلی مول در لیتر نیترات و در زمان برداشت دوم مشاهده شد.

یولداس و همکاران (۲۵) گزارش کردند که افزایش سطح نیتروژن از صفر به ۶۰۰ کیلوگرم در هکتار باعث افزایش

جدول ۱۰. اثر سطح نیترات و زمان برداشت بر میانگین غلظت روی و پتاسیم در کاهو و اسفناج

زمان برداشت (روز بعد از انتقال نشاءها به محلول غذایی)						
سطح نیترات (میلی مول در لیتر)	۲۹	۴۶	میانگین	۲۹	۴۶	میانگین
	غلظت روی (میلی گرم در کیلوگرم)			غلظت پتاسیم (میلی گرم در کیلوگرم)		
۱۰	۵۰/۱۲ <sup>d</sup>	۵۴/۲۴ <sup>b</sup>	۵۲/۱۸ <sup>B</sup>	۲/۳۲ <sup>c</sup>	۱/۸۸ <sup>d</sup>	۲/۱۰ <sup>B</sup>
۲۰	۵۲/۴۵ <sup>c</sup>	۵۹/۶۲ <sup>a</sup>	۵۶/۰۳ <sup>A</sup>	۳/۴۱ <sup>b</sup>	۳/۶۴ <sup>a</sup>	۳/۵۲ <sup>A</sup>
میانگین	۵۱/۲۹ <sup>B</sup>	۵۶/۹۳ <sup>A</sup>		۲/۸۷ <sup>A</sup>	۲/۷۶ <sup>B</sup>	

در هر سطر یا ستون در هر صفت، میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک می‌باشند، طبق آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

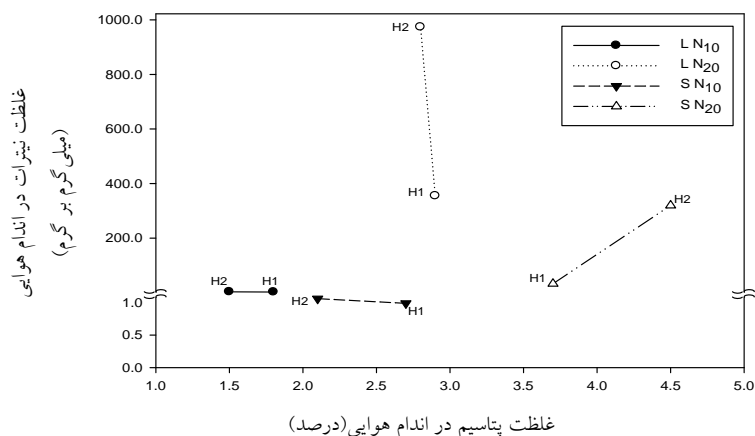
جدول ۱۱. مقایسه میانگین‌های غلظت آهن، روی، مس و پتاسیم در اندام هوایی کاهو و اسفناج

تیما	غلظت آهن (میلی گرم بر کیلوگرم)	غلظت روی (میلی گرم بر کیلوگرم)	غلظت مس (درصد)	غلظت پتاسیم (درصد)
LN <sub>10</sub> H <sub>1</sub>	۱۷۶/۵ <sup>a</sup>	۳۸/۷ <sup>h</sup>	۱۲۷/۳۵ <sup>b</sup>	۱/۸ <sup>e</sup>
LN <sub>10</sub> H <sub>2</sub>	۱۳۳/۹ <sup>c</sup>	۴۰/۱ <sup>g</sup>	۱۱۵/۲۸ <sup>c</sup>	۱/۵ <sup>f</sup>
LN <sub>20</sub> H <sub>1</sub>	۱۱۴/۴ <sup>e</sup>	۴۲/۱ <sup>f</sup>	۱۱/۴ <sup>f</sup>	۲/۹ <sup>c</sup>
LN <sub>20</sub> H <sub>2</sub>	۸۵/۲ <sup>g</sup>	۴۵/۱ <sup>e</sup>	۹/۹ <sup>g</sup>	۲/۸ <sup>c</sup>
SN <sub>10</sub> H <sub>1</sub>	۱۷۵/۸ <sup>b</sup>	۶۱/۵ <sup>d</sup>	۱۳۲/۸ <sup>a</sup>	۲/۷ <sup>c</sup>
SN <sub>10</sub> H <sub>2</sub>	۱۲۰/۷ <sup>d</sup>	۶۸/۳ <sup>b</sup>	۱۰۰/۱ <sup>d</sup>	۲/۲ <sup>d</sup>
SN <sub>20</sub> H <sub>1</sub>	۱۰۷/۳ <sup>f</sup>	۶۲/۷ <sup>c</sup>	۱۴/۱۲ <sup>e</sup>	۳/۹ <sup>b</sup>
SN <sub>20</sub> H <sub>2</sub>	۶۶/۶ <sup>h</sup>	۷۳/۵ <sup>a</sup>	۹/۸ <sup>g</sup>	۴/۵ <sup>a</sup>

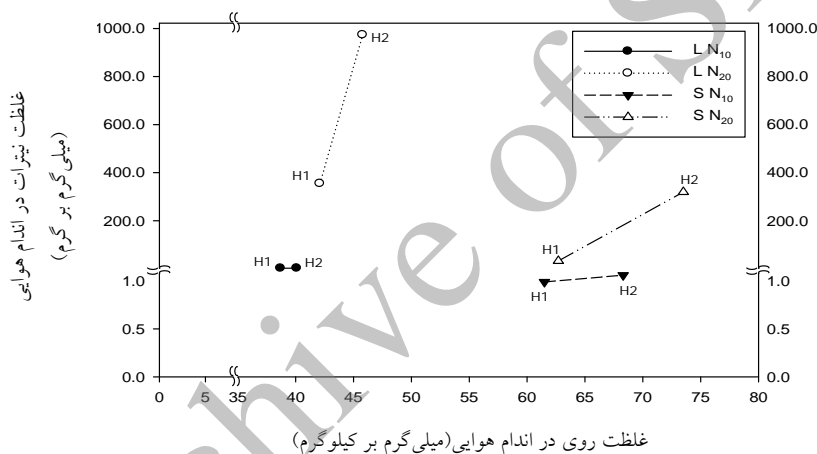
• در هر ستون میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک می‌باشند، مطابق آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند. (LN<sub>20</sub>H<sub>2</sub>، LN<sub>10</sub>H<sub>1</sub> و LN<sub>20</sub>H<sub>2</sub>، LN<sub>10</sub>H<sub>1</sub>)، به ترتیب برداشت اول و دوم هر کدام با سطح ۱۰ و ۲۰ میلی مول در لیتر نیترات در کاهو و (SN<sub>20</sub>H<sub>2</sub>، SN<sub>20</sub>H<sub>1</sub> و SN<sub>10</sub>H<sub>2</sub>، SN<sub>10</sub>H<sub>1</sub>) به ترتیب برداشت اول و دوم هر کدام با سطح ۱۰ و ۲۰ میلی مول در لیتر نیترات در اسفناج

نسبت به سطح ۲۰ میلی مول در لیتر آن با شیب بیشتری کاهش یافت (جدول ۱۱). در صورتی که با گذشت زمان غلظت روی در اندام هوایی کاهو و اسفناج در سطح ۲۰ میلی مول در لیتر نیترات نسبت به سطح ۱۰ میلی مول در لیتر آن، با شیب بیشتری کاهش یافته است. نسبت به سطح ۲۰ میلی مول در لیتر آن با شیب بیشتری کاهش یافت (جدول ۱۱). در صورتی که با

۲۰ میلی مول در لیتر نیترات به ترتیب ۶۱/۱۱ و ۴۴/۰۸ درصد کاهش یافت. بیشترین غلظت آهن در اندام هوایی کاهو و اسفناج، در سطح ۱۰ میلی مول در لیتر نیترات و در زمان برداشت اول مشاهده گردید (جدول ۱۱). با گذشت زمان غلظت پتاسیم در اندام هوایی کاهو و اسفناج در سطح ۱۰ میلی مول در لیتر نیترات



شکل ۵. رابطه‌ی بین غلظت نیترات در اندام هوایی با غلظت پتاسیم در کاهو و اسفناج در دو سطح نیترات و دو زمان برداشت LN<sub>10</sub> و LN<sub>20</sub> به ترتیب سطح ۱۰ و ۲۰ میلی مول در لیتر نیترات در کاهو. SN<sub>10</sub> و SN<sub>20</sub> به ترتیب سطح ۱۰ و ۲۰ میلی مول در لیتر نیترات در اسفناج (برداشت اول: H1 و برداشت دوم: H2)، (//: ایجاد شکست در داده‌ها برای نمایش بهتر آنها)



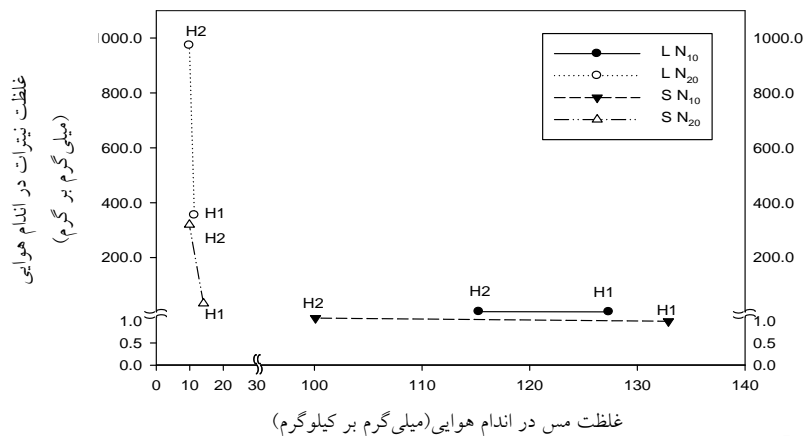
شکل ۶. رابطه‌ی بین غلظت نیترات در اندام هوایی با غلظت روی در کاهو و اسفناج در دو سطح نیترات و دو زمان برداشت LN<sub>10</sub> و LN<sub>20</sub> به ترتیب سطح ۱۰ و ۲۰ میلی مول در لیتر نیترات در کاهو. SN<sub>10</sub> و SN<sub>20</sub> به ترتیب سطح ۱۰ و ۲۰ میلی مول در لیتر نیترات در اسفناج. (برداشت اول: H1 و برداشت دوم: H2)، (//: ایجاد شکست در داده‌ها برای نمایش بهتر آنها)

نشان داد که با افزایش غلظت نیترات در گیاه، غلظت پتاسیم به‌عنوان یون همراه نیترات برای حفظ تعادل بار الکتریکی افزایش می‌یابد.

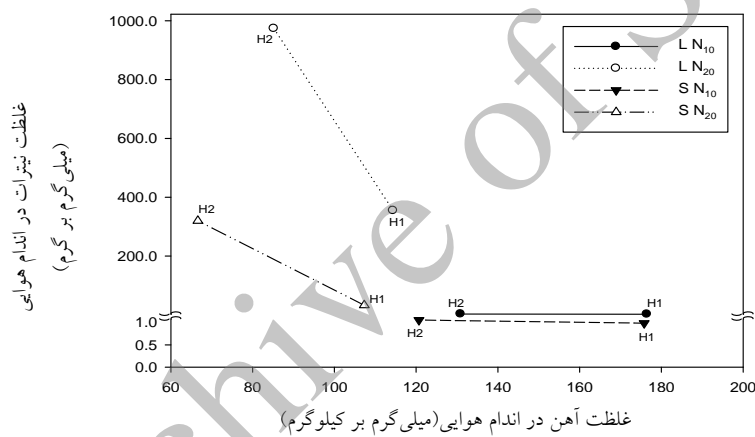
همان‌طور که نتایج نشان می‌دهد با افزایش غلظت نیترات در اندام هوایی دو گیاه، غلظت مس و آهن در اندام هوایی آنها به‌طور معنی‌داری در سطح ۵ درصد کاهش یافت (شکل ۷ و ۸). کاهش غلظت آهن و مس با گذشت زمان مربوط به افزایش رشد گیاه و اثر رقت بوده، در صورتی که علت کاهش غلظت این

گذشت زمان غلظت روی در اندام هوایی کاهو و اسفناج در سطح ۲۰ میلی مول در لیتر نیترات نسبت به سطح ۱۰ میلی مول در لیتر آن، با شیب بیشتری کاهش یافته است.

نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌های غلظت پتاسیم و روی در اندام هوایی کاهو و اسفناج نشان داد که، با افزایش غلظت نیترات در محلول غذایی و افزایش غلظت آن در اندام هوایی دو گیاه، غلظت پتاسیم و روی نیز در اندام هوایی دو گیاه در دو زمان برداشت افزایش یافت (شکل ۵ و ۶). نتایج کربسی (۱۴)



شکل ۷. رابطه‌ی بین غلظت نیترات در اندام هوایی با غلظت مس در کاهو و اسفناج در دو سطح نیترات و دو زمان برداشت  $LN_{10}$  و  $LN_{20}$  به ترتیب سطح ۱۰ و ۲۰ میلی مول در لیتر نیترات در اسفناج، (برداشت اول: H1 و برداشت دوم: H2)، (//: ایجاد شکست در داده‌ها برای نمایش بهتر آنها)



شکل ۸. رابطه‌ی بین غلظت نیترات در اندام هوایی با غلظت آهن در کاهو و اسفناج در دو سطح نیترات و دو زمان برداشت  $LN_{10}$  و  $LN_{20}$  به ترتیب سطح ۱۰ و ۲۰ میلی مول در لیتر نیترات در کاهو،  $SN_{10}$  و  $SN_{20}$  به ترتیب سطح ۱۰ و ۲۰ میلی مول در لیتر نیترات در اسفناج، (برداشت اول: H1 و برداشت دوم: H2)، (//: ایجاد شکست در داده‌ها برای نمایش بهتر آنها)

نیز بیان کردند که غلظت زیاد نیترات از انتقال آهن در گیاه شاهی آبی جلوگیری کرده و به نظر می‌رسد که نیترات به‌عنوان یک آنیون رقیب از انتقال متابولیک فعال آهن در مکان‌های جذب در ساقه جلوگیری می‌کند. آلپسلان و تابان (۳) نیز در بررسی ارتباط بین عنصر نیترات با عناصر روی و آهن در گیاه برنج نشان دادند که با افزایش غلظت نیترات در محیط رشد، فراهمی عنصر روی افزایش یافته است و منجر به کاهش میزان

دو عنصر با افزایش سطح نیترات به موضوع انباشت نیترات در گیاه و تشدید عدم تعادل عناصر غذایی در جذب توسط گیاه مربوط می‌شود. آدیلوگلو (۲) در پژوهشی با بررسی اثر سطوح نیتروژن بر غلظت عناصر میکرو نشان داد که در یک خاک آهکی مقدار آهن و منگنز در گیاه با کاربرد غلظت زیاد نیترات کاهش معنی‌داری در سطح ۱ درصد پیدا کرد که به دلیل رابطه تنازعی بین نیترات و آهن بوده است. کامباس و همکاران (۶)

آهن، مس و هم‌چنین وزن خشک اندام هوایی کاهو و اسفناج کاهش یافت درحالی‌که غلظت روی و پتاسیم در اندام هوایی آنها افزایش یافت، علت این پدیده را می‌توان به تشدید انباشت نیترات و ایجاد عدم تعادل عناصر غذایی در جذب گیاه در شرایط غلظت زیاد نیترات مربوط دانست. وجود رابطه مستقیم بین غلظت نیترات محلول و غلظت آن در اندام هوایی باعث شد میزان ورودی و جذب نیترات توسط دو گیاه بیشتر از سرعت احیا و جذب خالص آن توسط آنزیم نیترات ردوکتاز باشد، همین امر نیز موجب تشدید انباشتگی نیترات با گذشت زمان شده است. نتایج این پژوهش نشان داد که بین انباشت نیترات در کاهو و اسفناج با فعالیت آنزیم نیترات و غلظت عناصر آهن و مس در اندام هوایی آنها رابطه‌ی غیرمستقیمی وجود دارد.

جذب آهن در برنج و کاهش عملکرد آن خواهد شد. غلظت آهن و مس در اندام هوایی کاهو و اسفناج با گذشت زمان کاهش یافت که می‌تواند دلیلی برای کاهش فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز با گذشت زمان باشد. مطالعات تری (۲۲) نشان داد که میزان فتوسنتز گیاه در واحد سطح برگ، در گیاهانی که کمبود آهن و مس دارند کاهش یافت و علت آن را مربوط به نقش این دو عنصر به‌عنوان اجزای فلزی در ساختار آنزیم‌هایی همچون آنزیم نیترات ردوکتاز دانست.

### نتیجه‌گیری

با گذشت زمان، غلظت نیترات در اندام هوایی کاهو و اسفناج در هر دو سطح نیترات افزایش یافت که با کاهش غلظت آهن، مس، پتاسیم و هم‌چنین فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز در اندام هوایی دو گیاه همراه بود. با افزایش غلظت نیترات، غلظت

### منابع مورد استفاده

1. Abbasi, A. R., M. Shafi Rahmani and Y. Vafayi. 2011. Plant Biochemistry. Translation, First Printing, Tehran University Press, Tehran. (In Farsi)
2. Adiloglu, S. 2006. The effect of increasing nitrogen and zinc doses on the iron, copper and manganese contents of maize plant in calcareous and zinc deficient soils. *Asian Journal of Plant Sciences* 5: 504-507.
3. Alpaslan, M. and S. Taban. 1996. Zinc-iron relationship in rice (*Oryza sativa* L.). Ankara university., *Turkish Journal of Agricultural Sciences* 2: 45-49
4. Barber, S. A. 1984. Soil Nutrient Bioavailability. A Mechanistic Approach. John Wiley & Sons, New York, NY.
5. Chen, B. M., Z. H. Wang, S. X. Li, G. X. Wang, H. X. Song and X. N. Wang. 2004. Effects of nitrate supply on plant growth, nitrate accumulation, metabolic nitrate concentration and nitrate reductase activity in three leafy vegetables. *Asian Journal of Plant Sciences* 167: 635-643.
6. Cumbus, I. P., D. J. Hornsey and L. W. Robinson. 1977. The influence of phosphorus, zinc and manganese on absorption and translocation of iron in watercress. *Journal of Plant and Soil Sciences* 78: 651-660.
7. Dejon, C. W. and W. Stekbaut. 1995. Nitrate in food commodities vegetable origin and the total diet in Belgium, Ghent university. *Faculty Bio-Ingenuous Wetenschappen (FLTBW)* 15: 625-631.
8. Durner, J. and D. F. Klessig. 1999. Nitric oxide as a signal in plants. *Journal of Current Opinion in Plant Biology* 2: 369-374.
9. European Union. 2002f. Commission Regulation (EC) No563/2002 of 2 April 2002 amending regulation (EC) No466/2001 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. *Official Journal* 77: 1-13.
10. Hoagland, D. R. and D. I. Arnon. 1950. The water-culture method for growing plants without soil. *Circular California Agricultural Experiment Station* 347: 1-32.
11. Ikemoto, Y., M. Teraguchi and Y. Kogayashi. 2002. Plasma level of nitrate in congenital heart disease: comparison with healthy children. *Journal of Pediatric Cardiology* 23: 132-136.
12. Jaworski, E. G. 1971. Nitrate reductase assay in intact plant tissues. *Biochemical & Biophysical Research Communications* 43: 1274-1279.
13. Kacjan Marsic, N. and J. Osvald. 2002. Effects of different nitrogen levels on lettuce growth and nitrate accumulation in iceberg lettuce (*Lactuca sativa* Var. Capitata L.) grown hydroponically under greenhouse conditions. *European Journal of Horticultural Science* 67: 128-134.
14. Kirkby, E. A. 1968. Influence of ammonium and nitrate nutrition on the cation-anion balance and nitrogen and

- carbohydrate metabolism of white mustard plants grown in dilute nutrient solutions. *Journal of Soil Sciences* 105: 133-141.
15. Kotsiras, A., C. M. Olympios, J. Drosopoulos and H. C. Passam. 2002. Effects of nitrogen form and concentration on the distribution of ions within cucumber fruits. *Scientia Horticulturae* 95: 175-183.
  16. Kotsiras, A., C. M. Olympios and H. C. Passam. 2005. Effects of Nitrogen form and concentration on yield and quality of cucumbers grown on rock wool during spring and winter in southern Greece. *Journal of Plant Nutrition* 28: 2027-2035.
  17. Rebecca, L. and G. W. Stutte. 2001. Nitrate concentration effects on  $\text{NO}_3^-$  uptake and reduction, growth and fruit yield in strawberry. *American Journal of Horticultural Science* 126(5): 125-131.
  18. Ruiz, J. M. and L. Romero. 1999. Cucumber yield and nitrogen metabolism in response to nitrogen supply. *Scientia Horticulturae* 82: 309-316.
  19. Santamaria, P. 2006. Nitrate in vegetables: toxicity, content, intake and Ec regulation. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 86: 10-17.
  20. Santoro, L. G. and A. C. N. Magalhaes. 1983. Changes in nitrate reductase activity during development of soybean leaf. *Journal of Plant Physiology* 112: 113-121
  21. Stagnari, F., V. D. Bitetto and M. Pisante. 2007. Effects of n fertilizers and rates on yield, safety and nutrients in processing spinach genotypes. *Scientia Horticulturae* 114: 225-233
  22. Terry, N. 1980. Limiting factors in photosynthesis. *Journal of Plant Physiology* 65: 114-120.
  23. Vieira, I. S., E. P. Vasconcelos and A. A. Monteiro. 1998. Nitrate accumulation, yield and leaf quality of turnip greens in response to nitrogen fertilization. *Journal of Nutrient Cycling in Agro ecosystems* 51: 249-2.
  24. WHO. 1978. Nitrates, Nitrites and N-Nitroso Compounds. Geneva, Environmental Health criteria.
  25. Yoldas, F., S. Ceylan, B. Yagmur and N. Morologan. 2008. Effect of nitrogen fertilizer on yield quality and nutrient content in broccoli. *Journal of Plant Nutrition* 31(7): 1333-1343.