

اثر تنش شوری و تغذیه ازت بر پرولین آزاد و روغن کدوی بذر برهنه*
Effects of Salinity and Nitrogen Nutrition on Free - Proline and Oil
Content of Common Pumpkin

حسین آروئی، عبدالکریم کاشی و رضا امیدبیگی

دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس

تاریخ دریافت: ۱۳۷۸/۶/۲۴

چکیده

آروئی، ح.، کاشی، ع. و امیدبیگی، ر. ۱۳۷۹. اثر تنش شوری و تغذیه ازت بر پرولین آزاد و روغن کدوی بذر برهنه. نهال و بذر
:۱۶ ۳۷۳-۳۵۹.

به منظور بررسی تأثیر تنش شوری و تغذیه ازت بر پرولین آزاد و همچنین تأثیر تنش شوری بر تولید روغن کل در کدوی بذر برهنه (*Cucurbita pepo* subsp. *pepo* var. *styriaca*)، در دو سال متوالی ۱۳۷۷ و ۱۳۷۸ آزمایش‌هایی انجام شد. با توجه به این که در آزمایش‌های انجام شده از تیمارهای مختلف استفاده گردیده بود، برای هر گروه از آن‌ها از طرح‌های آماری مختلف استفاده شد. طرح آماری کرت‌های خرد شده برای بررسی تأثیرات تنش شوری و تغذیه ازت بر پرولین آزاد و طرح آماری بلوک‌های کامل تصادفی برای بررسی تأثیر تنش شوری بر میزان روغن کل بذرهای به دست آمده، مورد استفاده قرار گرفت. این تحقیق در محل گلخانه و مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس انجام شد. در این تحقیق تیمارهای شوری در دو زمان مختلف اعمال شدند. مرحله اول، قبل از کاشت بذرهای انجام شد که برای این امر بذرهای را در محلول‌های نمک ۰، ۲/۵، ۵ و ۱۰ گرم در لیتر NaCl دارای EC به ترتیب برابر با ۰، ۳۹۰، ۷۸۰ و ۱۵۶۰ دسی زیمنس بر سانتی‌متر (msecm^{-1}) برای مدت ۳۶ ساعت خیسانده و سپس کاشته شدند. مرحله دوم تیمارها، از شروع چهار برگی آغاز و تا گل‌دهی تداوم می‌یافت. تیمارهای ازت شامل ۰، ۷۵، ۱۵۰، ۲۲۵ و ۳۰۰ کیلوگرم در هکتار بود که در سه زمان مختلف (همزمان با کاشت بذر، مرحله چهار برگی و شروع گل‌دهی) در اختیار گیاهان قرار داده شدند. نتایج به دست آمده از آزمایش‌های سال ۱۳۷۷ نشان داد که تنش شوری باعث افزایش سطح پرولین آزاد برگ‌ها در مقایسه با شاهد شده است. بالاترین میزان پرولین آزاد برگ‌ها در زمانی که سطح تنش شوری

* قسمتی از رساله دکتری نگارنده اول که به گروه باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس ارائه گردیده است.

۲/۵ گرم در لیتر NaCl (390 mscm^{-1}) و سطح ازت در میزان ۲۲۵ کیلوگرم در هکتار بوده مشاهده گردید. میزان روغن کل نیز زمانی در بالاترین حد خود بود که تنش شوری ۲/۵ گرم در لیتر ($390 \text{ NaCl mscm}^{-1}$) اعمال گردید. نتایج فوق نیز در آزمایش‌های انجام شده در سال ۱۳۷۸ هم مشاهده شد.

واژه‌های کلیدی: کدوی بذر برهنه، تغذیه ازت، تنش شوری، روغن دانه، پرولین آزاد.

مقدمه

کدوی بذر برهنه (رقم KaKai) از جمله گیاهان حائز اهمیت در صنعت داروسازی می‌باشد. گیاهی است یکساله که دارای ساقه‌های خزانده، کرک دار و توخالی با برگ‌هایی بزرگ و پنجه‌ای بوده که توسط دم‌برگ نسبتاً بلندی به ساقه‌ها متصل می‌شوند. ریشه این گیاه عمیق و منشعب است. این گیاه متعلق به خانواده *Cucurbitaceae*، زیرخانواده *Cucurbitidae*، طایفه *Cucurbitaceae* و زیر طایفه *Cucurbitinae* می‌باشد. وجود موادی نظیر اسیدهای چرب لینولئیک و لینولنیک، دلتا-۷- فیتوسترول و ویتامین E در بذر این گیاه موجب معرفی و توسعه این گیاه در قرن بیستم شده است (امید بیگی، ۱۳۷۹). میزان عملکرد میوه این گیاه در شرایط مناسب ۱۵ تا ۸۰ تن در هکتار می‌باشد که از این مقدار ۹/۰ تا ۱/۵ تن دانه استحصال می‌گردد. عملکرد روغن این گیاه نیز ۳۰ تا ۴۰ درصد می‌باشد (امید بیگی، ۱۳۷۹). این گیاه در شرایطی که محیط کشت دارای pH قلیایی باشد (بین ۷/۵ تا ۸/۵) بهترین رشد را داشته که بیشترین عملکرد را تولید می‌کند.

یکی از معمولی‌ترین عکس‌العمل‌های تعداد زیادی از موجودات، از باکتری‌ها تا گیاهان عالی، در برابر تغییرات اسمزی محیط، تجمع مواد آلی

سازگار (Compatible solutes) مانند قندها و اسیدهای آمینه خنثی (برای تنظیم اسمزی) می‌باشد (Volkmar et al., 1997; Roosens et al., 1998; Levitt, 1980; Salisbury and Ross, 1991). خشکی و شوری از تنش‌های محیطی هستند که به طور جدی رشد و تولید محصول را در گیاهان محدود می‌کنند. (Nakashima et al., 1998; et al., 1995; Kiyosue et al., 1996 Kavi Kishor). تجمع پرولین یکی از روش‌های متابولیسمی بارز می‌باشد که در پاسخ به تنش اسمزی و یا سایر تنش‌ها توسط گیاهان عالی (و باکتری‌ها) انجام می‌گیرد (Hua et al., 1997; 1980; Levitt). پرولین تجمع یافته نقش‌هایی از قبیل ایجاد ترکیب اسمزی (Osmoticum) (برای جذب انرژی به سمت این ترکیبات)، ترکیب ذخیره‌ای ازت (زیرا این مواد ترکیبات چهارتایی آمونومی هستند). از بین برنده رادیکال‌های هیدروکسیل (Hydroxy-radical scavenger)، محافظ، تنظیم پتانسیل‌های اکسیداسیونی سلولی، کاهش (تنظیم) pH و حفظ تورژسانس و حجم سلول را به عهده دارد که نهایتاً همه آن‌ها موجبات سازش و یا تحمل در برابر تنش اسمزی (شوری) را فراهم می‌نمایند (Nakashima et al., 1998; Volkmar et al., 1997; Hua et al.,

از آنجا که برای تولید اسمولیت‌ها، انرژی زیادی مصرف می‌شود و این انرژی از طریق مصرف مقادیر زیادی کربن حاصل می‌شود، لذا این فرآیند، کاهش رشد گیاه را بدنبال داشته (Volkmar *et al.*, 1997; Nakashima *et al.*, 1998). این کاهش رشد موجب عدم مصرف یون‌های جذب شده گشته و تجمع و نهایتاً مسمومیت ناشی از آن‌ها را در گیاهان موجب می‌گردد (Volkmar *et al.*, 1997).

بیتز و همکاران (Bates *et al.*, 1973) گزارش نمودند که پرولین، مؤثرترین ماده تنظیم‌کننده اسمزی در گیاهان تحت تنش شوری و خشکی است و سپس طرح استخراج مصنوعی پرولین را ارائه نمودند.

از جمله تحقیقات دیگری که در رابطه با افزایش و تجمع پرولین در گیاهان تحت تنش شوری انجام شده است می‌توان به تحقیقات استوارت و ووتبرگ در سال ۱۹۸۵ اشاره نمود (Stewart and Voetberg, 1985). آن‌ها افزایش پرولین را برای مدت ۵-۳ ساعت در برگ‌های جو مشاهده نمودند و بیان داشتند که ممکن است این افزایش پس از مدتی کاهش یابد.

در آزمایش‌هایی که بر روی ذرت انجام گرفته، نشان داده شده است که حتی تیمارهای متوسط تنش آبی موجب افزایش پرولین در گیاه شده است. در مقابل، افزایش سایر اسیدهای آمینه و گلايسين بتائين به طور مقایسه‌ای، کمتر بوده است (Voetberg and Sharp, 1991). گـ گیاهان ترانس ژنیک تنباکو که در معرض تنش شوری قرار داشتند، نسبت به گیاهان شاهد، ۱۰ تا ۱۸ برابر

et al., 1995; Kiyosue *et al.*, 1996; Irigoyen *et al.*, 1992; Kavi Kishor Ross, 1991; Voetberg and Sharp, 1991; همچنین، (Levitte, 1980; Salisbury and پرولین از تجزیه ماکرومولکول‌هایی نظیر پروتئین و غشاها محافظت می‌نماید (Kavi Kishor *et al.*, 1998; Nakashima *et al.*, 1998). تحریک بیوستز پرولین و غیرفعال شدن تجزیه پرولین و همچنین تجزیه برخی پروتئین‌ها به اسیدهای آمینه سازنده آن‌ها، افزایش و تجمع پرولین را در گیاهان تحت تنش کنترل می‌نمایند (Levitte, 1980; Nakashima *et al.*, 1998). در گیاهان عالی تحت تنش نیز تجمع پرولین از طریق سنتز خود به خود نیز انجام می‌گیرد (Roosens *et al.*, 1998). از نظر خواص شیمیایی، ترکیبات تنظیم‌کننده اسمزی (Osmolyts)، ترکیباتی سازگار، با پوسته وسیع آبدار و بسیار محلول می‌باشند که از طریق حفظ تورژسانس سلول و ثبات فعالیت آنزیم‌های سیتوپلاسمی، موجب ایجاد تحمل و مقاومت گیاهان در برابر تنش می‌شوند (حکمت شعار، ۱۳۷۲؛ Volkmar *et al.*, 1997; Nakashima *et al.*, 1998). مقدار پرولین موجود در گیاهان هالوفیت، متناسب با مقدار نمک (شوری) موجود در آن‌ها ذکر شده است، به طوری که در گیاهان هالوفیت پرورش یافته در محیط عاری از نمک، میزان پرولین کاهش نشان داده‌است (Levitte, 1980). گزارش‌های متعددی مبنی بر وجود همبستگی مثبت بین تجمع پرولین و سازش به تنش اسمزی در گیاهان، ذکر شده است (Kiyosue *et al.*, 1996).

دسی‌زیمنس بر سانتی‌متر (mscm^{-1}) می‌نمودند، خیس‌سازنده شدند. درجه حرارت محیط بر روی ۲۳ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. پس از این مدت، بذرها را با آب شسته و در گلدان‌هایی با ابعاد $28 \times 30 \times 35$ سانتی‌متر که حاوی خاک و برگ و ماسه به نسبت‌های مساوی بودند کاشته شدند. کاشت بذرها در اواسط اردیبهشت ماه انجام شد. EC و pH بسترکاشت بذرها به ترتیب ۰/۹ و دسی‌زیمنس بر سانتی‌متر (mscm^{-1}) و ۷/۹ بوده است.

در سه مرحله همزمان با کاشت بذر، در مرحله چهاربرگی و در مرحله شروع گل‌دهی تغذیه ازت با تیمارهای ۰، ۷۵، ۱۵۰، ۲۲۵ و ۳۰۰ کیلوگرم در هکتار ازت خالص که معادل ۰، ۲۵، ۵۵، ۸۵ و ۱۱۰ گرم نیترات آمونیوم به ازای هر کتون بود، مورد انجام شد. به عبارت دیگر هر یک از این مقادیر به ۳ قسمت تقسیم شد و در سه مرحله اشاره شده در بالا در اختیار هر یک از کتون‌ها، قرار داده می‌شد. به عنوان مثال تیمار ۱۱۰ گرم ازت (به صورت نیترات آمونیوم) در سه مرحله مذکور و در هر مرحله به مقدار ۳۶/۶ گرم در اختیار گیاه قرار می‌گرفت. حداقل و حداکثر درجه حرارت شب و روز به ترتیب 18 ± 1 و 30 ± 1 درجه سانتی‌گراد در نظر گرفته شد.

مرحله دوم تیمار شوری از تشکیل چهارمین برگ حقیقی به بعد آغاز و تا مرحله گلدهی ادامه یافت. همانطور که با توجه به اینکه تحمل در یک مرحله نمی‌تواند بیان‌کننده تحمل در مراحل بعدی باشد، و از طرفی چون یکی از اهداف این تحقیق بررسی تأثیر تنش شوری بر محتوای ماده مؤثره این

افزایش پرولین را نشان داده‌اند. ذخیره خارجی ازت موجب افزایش پرولین گردیده است (Kavi Kishor et al., 1995).

روزنس و همکاران (Roosens et al., 1998) گزارش نموده‌اند که تنش شوری در گیاه آرابیدوپسیس (*Arabidopsis thaliana*) موجب افزایش پرولین شده است.

با توجه به اهمیت و نقش پرولین در ایجاد مقاومت یا تحمل در گیاهان تحت تنش شوری، هدف از انجام این تحقیق، بررسی تغییرات (افزایش) پرولین و روغن به صورت کمی و برقراری ارتباط پرولین و تولید ماده مؤثره در بذرهای کدوی بذر برهنه در شرایط آب و هوایی مشابه با اقلیم نیمه خشک ایران می‌باشد. علاوه بر این، با اعمال تیمارهای مختلف تغذیه ازت (نیتروژن)، اثرات متقابل تنش شوری و میزان ازت قابل دسترس بر مقدار پرولین مورد بررسی قرار می‌گیرد.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی تأثیر تنش شوری و تغذیه ازت بر پرولین تولید شده در کدوی بذر برهنه، آزمایش‌هایی در سال‌های زراعی ۱۳۷۷ و ۱۳۷۸ در محل گلخانه تحقیقاتی و آزمایشگاه دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس تهران انجام شد. برای اجرای این آزمایش‌ها ابتدا بذرهای کدو، برای مدت ۳۶ ساعت در محلول‌های نمک حاوی غلظت‌های ۰، ۲/۵، ۵ و ۱۰ گرم در لیتر کلرید سدیم که به ترتیب ایجاد محیطی با هدایت الکتریکی (EC) برابر ۰، ۳۹۰، ۷۸۰ و ۱۵۶۰

بر میزان عملکرد روغن کل از طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار استفاده شد. تجزیه و تحلیل نتایج به دست آمده توسط نرم افزار MSTATC و مقایسه میانگین تیمارها با استفاده از روش دانکن انجام شد. در این تحقیق، هر تکرار شامل ۱۵ بوته بود و از سه بوته جهت اندازه‌گیری صفات، نمونه‌برداری به عمل آمد. فاصله هر گروه از تیمارها ۱۵۰ سانتی‌متر و فاصله هر یک از گلدان‌ها (بوته‌ها) ۵۰ سانتی‌متر در نظر گرفته شد. برای اندازه‌گیری پرولین آزاد گیاهان در هر یک از تیمارها، از برگ‌های کاملاً توسعه یافته در مرحله آغاز گل‌دهی نمونه‌برداری شد. به جهت عدم یا حداقل تغییر کمی در میزان پرولین موجود در نمونه‌های تهیه شده، نمونه‌های مربوطه تا انتقال به آزمایشگاه و فریزر در مجاورت یخ حمل می‌گردید.

برای اندازه‌گیری پرولین، ۰/۴ گرم از نمونه برگ‌های نگهداری شده در فریزر را وزن کرده و سپس ۱۰ میلی‌لیتر محلول ۳ درصد اسیدسولفوسالسیلیک در سه مرحله به آن افزوده و در هاون چینی کاملاً سائیده شدند تا به صورت هموژنیزه در آید. محلول به دست آمده از صافی گذرانده و در لوله‌های آزمایش جمع‌آوری شدند. به ۲ میلی‌لیتر از عصاره به دست آمده، ۲ میلی‌لیتر اسید ناین‌هیدرین و اسیداستیک گلاسیال افزوده شد و برای مدت یک ساعت در حمام بن‌ماری در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. این عمل موجب فعالیت مجدد عصاره به دست آمده می‌شد. برای اتمام فعالیت، لوله‌ها در محیط آب و یخ قرار داده شدند و به هر یک از لوله‌ها،

گیاه بوده است، لذا با تداوم تیمارهای شوری در واقع عملکرد نهایی گیاه، که همانا محتوای روغن بود مورد بررسی قرار گرفت. در گیاهانی که بذر آن‌ها فقط در آب شیرین خیسانده شده بودند هیچ گونه تیماری اعمال نشد و به عنوان شاهد ثابت در نظر گرفته شدند.

میزان محلول نمک مورد استفاده (از نظر حجمی) با توجه به مرحله رشد گیاه متفاوت بود و برای این کار پس از جوانه زنی بذرها و ظهور گیاهچه‌ها، به ازای هر کلون ۵۰ میلی‌لیتر و همزمان با افزایش رشد بوته‌ها این مقدار افزایش یافت. به طوری که در مرحله گل‌دهی این مقدار به حدود ۵۰۰ تا ۶۵۰ میلی‌لیتر مخلوط نمک و محلول غذایی نیمه قوی هوگلند رسید. محلول غذایی نیمه قوی هوگلند جهت تأمین عناصر ریز مغذی مورد نیاز گیاهان همزمان با شروع مرحله دوم تیمار شوری به صورت هفتگی تا مرحله شروع گل‌دهی به گیاهان داده می‌شد. علاوه بر این، به منظور ایجاد شرایط لازم و یکنواخت برای رشد و تغذیه کامل گیاهان، ضمن رعایت کلیه عملیات داشت از قبیل دفع آفات و حذف علف‌های هرز و آبیاری، به ازای هر بوته در هر گلدان ۱۸ گرم سولفات پتاسیم و ۴۰ گرم سوپر فسفات تریپل اضافه گردید. در این تحقیق از طرح آماری کرت‌های خردشده با متن بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار استفاده شد که در آن تیمار آماده‌سازی بذر توسط کلرید سدیم (خیساندن بذر) در چهار سطح به عنوان عامل اصلی و تیمار ازت در پنج سطح به عنوان عامل فرعی در نظر گرفته شد.

جهت بررسی تأثیر تیمار نمک (تنش شوری)

مقدار روغن به دست آمده را نشان می‌داد که درصد روغن با استفاده از تناسبی بسیار ساده به دست می‌آمد.

نتایج و بحث

در جدول ۱ تجزیه مرکب اثرات تنش شوری و تغذیه ازت بر میزان پرولین آزاد برگ‌ها و در جدول‌های ۲ و ۳ و شکل‌های ۱ تا ۴ نتایج مربوط به تأثیر تنش شوری و تغذیه ازت بر عملکرد روغن و پرولین آزاد نشان داده شده است. به طور کلی نتایج نشان داد که تیمارهای به کار برده شده دارای اثرات متفاوتی می‌باشند و اختلافات معنی‌داری بین تیمارها و شاهد وجود دارد که گروه‌بندی آن‌ها نیز نشان داده شده است.

نیتروژن عنصری ضروری و اساسی برای گیاهان محسوب می‌گردد و با عناصری نظیر کربن، هیدروژن، اکسیژن و حتی گوگرد ترکیب شده و موادی بسیار ارزشمند، نظیر اسیدهای آمینه، اسیدهای نوکلئیک کلروفیل، آلکالوئیدها و بازهای پورینی را تولید می‌نماید. وجود کلروفیل به عنوان مکانی برای جذب نور و سنتز مواد لازم برای رشد و نمو گیاهان، وابسته به نیتروژن می‌باشد. چنانچه نیتروژن در دسترس، کمتر یا بیشتر از حد نیاز گیاه باشد، اختلالاتی در فرآیندهای حیاتی گیاه از جمله فتوسنتز، ایجاد نموده که ممکن است به صورت‌های مختلفی نظیر رشد رویشی زیاد، کاهش، تعویق و یا حتی توقف رشد زایشی بروز نماید. این پدیده در بررسی اخیر دیده شد به طوری که تیمارهای ۲۲۵ و ۳۰۰ کیلوگرم

۴ میلی‌لیتر تولوئن اضافه و برای مدت ۱۵ تا ۲۰ ثانیه بر روی دستگاه ارتعاش‌دهنده (Vibrator) قرار داده شدند. پس از این مرحله، قسمت رنگی بالایی راکه حاوی تولوئن بود خارج کرده و جذب نوری آن در دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت و ثبت شد. پرولین در محلول قسمت فوقانی لوله‌ها به رنگ زرد متمایل به قرمز بود. برای ارزیابی پرولین عصاره‌های گیاهی موجود، ابتداء پرولین محلول‌های استاندارد و سپس پرولین نمونه‌های گیاهی تهیه‌شده، تعیین گردید (Bates et al., 1973).

بر اساس معادله مدل خطی $Y=a+bx$ که در آن a و b به ترتیب $۱۶/۲۴۱$ - و $۹۲/۰۳۸$ محاسبه شده و x عدد قرائت شده از اسپکتروفتومتر تنظیم شده بر روی طول موج ۵۲۰ نانومتر بود، Y (مقدار پرولین) بر حسب میکروگرم برگرم مشخص گردید (Bates et al., 1973).

برای اندازه‌گیری میزان روغن کل بذر در تیمارهای نمک، پس از رسیدن میوه‌ها آن‌ها برداشت و بذر آن‌ها از میوه جدا گردید. پس از خشک شدن بذر، ۱۰ گرم از بذر هر یک از تیمارها را به صورت جداگانه توزین و سپس با استفاده از حلال آلی n - هگزان استخراج روغن انجام شد و با استفاده از دستگاه تبخیر در خلاء (Rotary evaporator)، حلال از روغن جدا گردید. برای اندازه‌گیری روغن به دست آمده، قبل از استخراج بالن خالی توزین و بعد از انجام استخراج روغن و جدا کردن حلال از آن، مجدداً وزن بالن و روغن موجود در آن اندازه‌گیری شد. اختلاف بین وزن بالن خالی و بالن حاوی روغن

جدول ۱ - تجزیه مرکب واریانس اثرات تنش شوری و تغذیه ازت بر میزان پرولین آزاد کدوی بذر برهنه

Table 1. The combined analysis of variance of the effects of salt stress and nitrogen nutrition on free proline of *Cucurbita pepo* var. *styriaca*

| میانگین مربعات درجه آزادی | | | | |
|---------------------------|----------------------------|----|-----------|------------------------|
| S.O.V. | منبع تغییرات | df | M.S. | F |
| Year(Y) | سال | 1 | 0.274 | 0.0072 ^{ns} |
| Salt stress (S) | تنش شوری | 3 | 1867.478 | 56.1519 ^{**} |
| S×Y | سال × تنش شوری | 3 | 0.227 | 0.0068 ^{ns} |
| Error | خطا | 12 | 37.870 | |
| Nitrogen nutrition(N) | تغذیه ازت | 4 | 12965.449 | 318.6006 ^{**} |
| N×Y | سال × تغذیه ازت | 4 | 0.168 | 0.0044 ^{ns} |
| N×S | تغذیه ازت × تنش شوری | 12 | 1850.642 | 55.6457 ^{**} |
| Y×N×S | سال × تغذیه ازت × تنش شوری | 12 | 0.592 | 0.0178 ^{ns} |
| Error | خطای کل | 64 | 33.258 | |

ns: Non significant.

ns: غیر معنی دار.

*، **، ***: به ترتیب معنی دار در سطح ۱٪ و ۵٪.

* and **: Singnificant at 5% and 1% probability level respectively.

جدول ۲ - تأثیر تنش شوری بر میزان روغن کل در کدوی بذر برهنه

Table 2. Effect of salt stress on total oil content of *Cucurbita pepo* var. *styriaca*

| کلرید سدیم (گرم در لیتر) NaCl (grl ⁻¹) | درصد روغن کل Total oil (%) | |
|---|-------------------------------|---------|
| | ۱۳۷۷ | ۱۳۷۸ |
| | 1998 | 1999 |
| 0 | 38.58 c | 38.55 c |
| 2.5 | 66.64 a | 63.97 a |
| 5 | 57.33 b | 55.58 b |
| 10 | 38.68 c | 35.93 c |

میانگین‌های دارای حروف یکسان در هر ستون براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح

۵٪ تفاوت معنی داری ندارند.

Means followed by similar letters in each column are not significantly different at 5% probability level according to Duncan's Multiple Range Test.

جدول ۳- تأثیر تغذیه ازت بر میزان روغن کل کدوی بذر برهنه

Table 3. Effect of nitrogen nutrition on total oil content of *Cucurbita pepo* var. *styriaca*

| نیترژن (کیلوگرم در هکتار) N(Kgha ⁻¹) | درصد روغن کل (%) Total oil | |
|--|----------------------------|--------|
| | ۱۳۷۷ | ۱۳۷۸ |
| | 1998 | 1999 |
| 0 | 38.6 b | 37.0 b |
| 75 | 45.3 a | 47.5 a |
| 150 | 31.9 b | 34.4 b |
| 225 | 0.0 c | 0.0 c |
| 300 | 0.0 c | 0.0 c |

میانگین‌های دارای حروف یکسان در هر ستون براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵٪ تفاوت معنی‌داری ندارند.

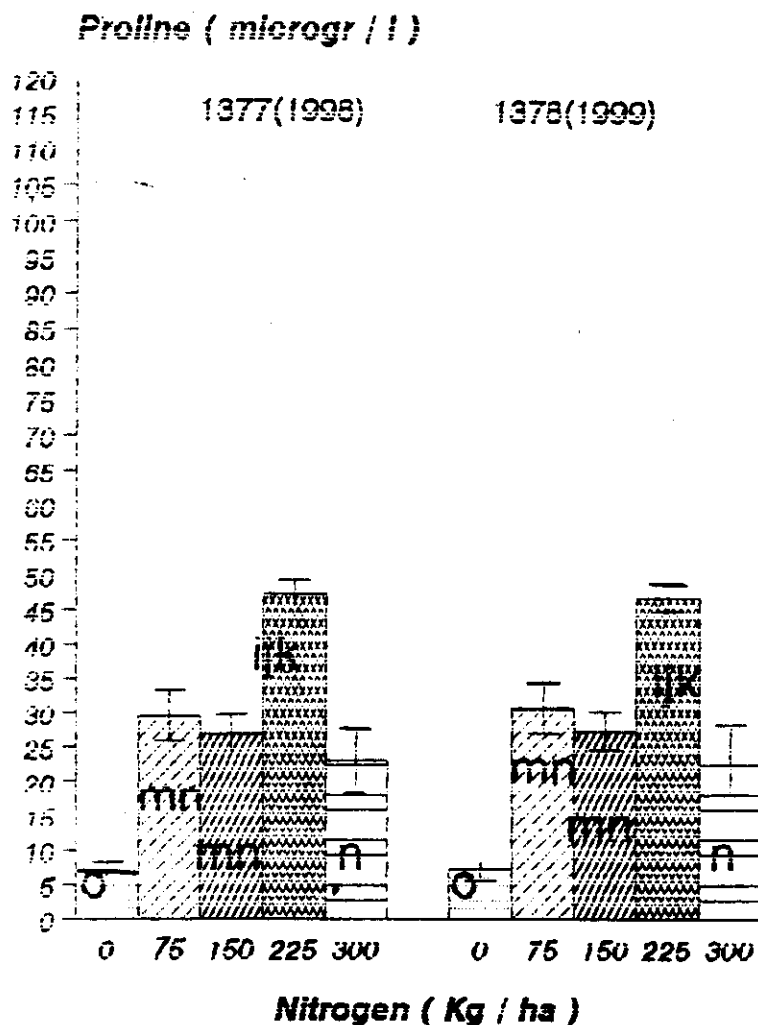
Means followed by similar letters in each column are not significantly different at 5% probability level according to Duncan's Multiple Range Test.

Somal and (Somal and نیز این موضوع را تأیید می‌نماید. کاربرد ازت باعث تغییر میزان پرولین آزاد برگ‌ها شد، به طوری‌که در گیاهان تیمار شده با ازت میزان پرولین نسبت به گیاهان شاهد افزایش نشان داد. مارتینز و همکارانش (Martinez *et al.*, 1994) گزارش نمودند که افزایش ازت در محلول غذایی مورد استفاده در محیط رشد گیاهان گوجه‌فرنگی و خیار، افزایش پرولین را در این گیاهان به دنبال داشته است. آن‌ها همچنین اعلام داشتند چنانچه منبع ازت مورد استفاده نیترات آمونیوم به (NH₄NO₃) باشد در مقایسه با زمانی که نیترات (NO₃) تنهایی به عنوان منبع نیترژن به کار برده شود موجب افزایش بیشتر پرولین شده است.

با توجه به این که در این تحقیق اثرات توأم تغذیه ازت و تنش شوری در سطوح مختلف مورد

نیترژن در هکتار از یک طرف میزان رشد رویشی گیاهان کدوی بذر برهنه را افزایش داد و از طرف دیگر در گیاهان تیمار شده با این مقادیر نیترژن هیچ میوه‌ای (کل ماده تلقیح شده) تشکیل نگردید. طبق گزارش‌های ارائه شده توسط وانگ و بیلو (Wang and Below, 1998) مصرف بیش از حد نیترژن باعث تسریع و افزایش رشد رویشی شد.

نتایج به دست آمده نشان داد که در مجموع، تنش شوری در گیاه کدوی بذر برهنه باعث افزایش پرولین می‌گردد. گزارش‌های ارائه شده توسط سایر محققین (1992; Voetberg and Sharp, 1991; Soliman and Doss, 1992; Irigoyen, *et al.*, 1996; Kavi Kishor *et al.*, 1995; 1998; Martinez *et al.*, 1994; Rentsch Kurban *et al.*, 1998; Nakashima *et al.*, Yapa, 1998; Roosens *et al.*, 1998;



0 gr / l of NaCl (Control)

شکل ۱- تأثیر سطوح مختلف نیتروژن بر میزان پرولین آزاد کدوی بذر برهنه در تیمار بدون کلرید سدیم (شاهد)

Fig. 1. Effect of different levels of nitrogen on free-proline of *Cucurbita pepo* var. *styriaca* in 0 gr l⁻¹ NaCl (control) treatment

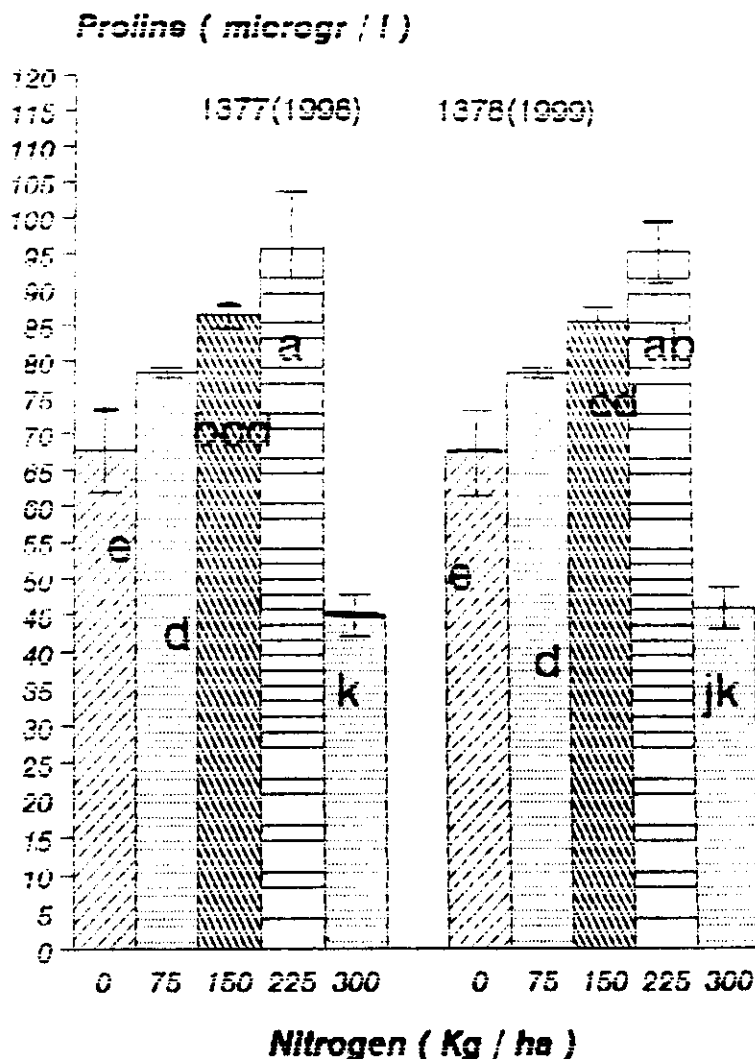
میانگین‌های دارای حروف یکسان در ستون‌ها براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵٪ تفاوت معنی‌داری ندارند

Means followed by similar letters in the bars are not significantly different

at 5% probability level according to Duncan's Multiple Range Test.

موجب افزایش پرولین در برگ‌های آن‌ها شده است. به عنوان مثال در تیمار توأم شوری در سطح ۲/۵ گرم در لیتر NaCl (۳۹۰ mscm⁻¹) و

بررسی قرار گرفته است نتایج حاصله نشان می‌دهد (شکل‌های ۱ تا ۴) که بعضی از تیمارهای توأم ازت و شوری در مقایسه با گیاهان شاهد



شکل ۲- تأثیر سطوح مختلف نیتروژن و تنش شوری بر میزان پرولین آزاد کدوی بذر
برهه (۲/۵ گرم در لیتر کلرید سدیم)

Fig. 2. Effect of different levels of nitrogen on free-proline of *Cucurbita pepo* var. *styriaca* in 5 gr⁻¹ NaCl treatment

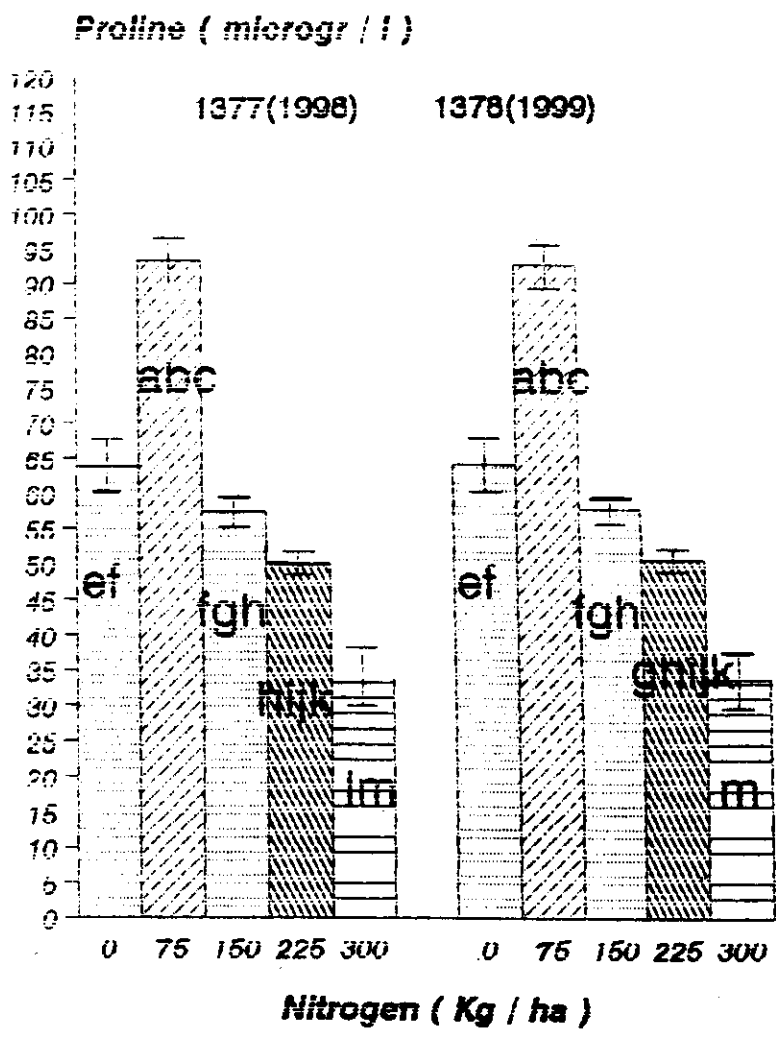
میانگین‌های دارای حروف یکسان در ستون‌ها بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵٪ تفاوت معنی‌داری ندارند.

Means followed by similar letters in the bars are not significantly different

at 5% probability level according to Duncan's Multiple Range Test.

با توجه به این‌که گیاهان مختلف عکس‌العمل‌های متفاوتی نسبت به شرایط مشابه از خود نشان می‌دهند و گیاهان مشابه در شرایط متفاوت نیز چنین می‌باشند، لذا گزارش نتایج مغایر

۲۲۵ کیلوگرم در هکتار ازت، بالاترین میزان پرولین تولید شد. نیز مارتینز و همکاران (Martinez et al., 1994) نتایج مشابه‌ای را گزارش نموده‌اند.



شکل ۳- تأثیر سطوح مختلف نیتروژن و بر میزان پرولین آزاد کدوی
بذر برهنه در تیمار ۵ گرم در لیتر کلرید سدیم

Fig. 3. Effect of different levels of nitrogen on free-proline of *Cucurbita pepo* var. *styriaca* in 5 gr l⁻¹ NaCl treatment

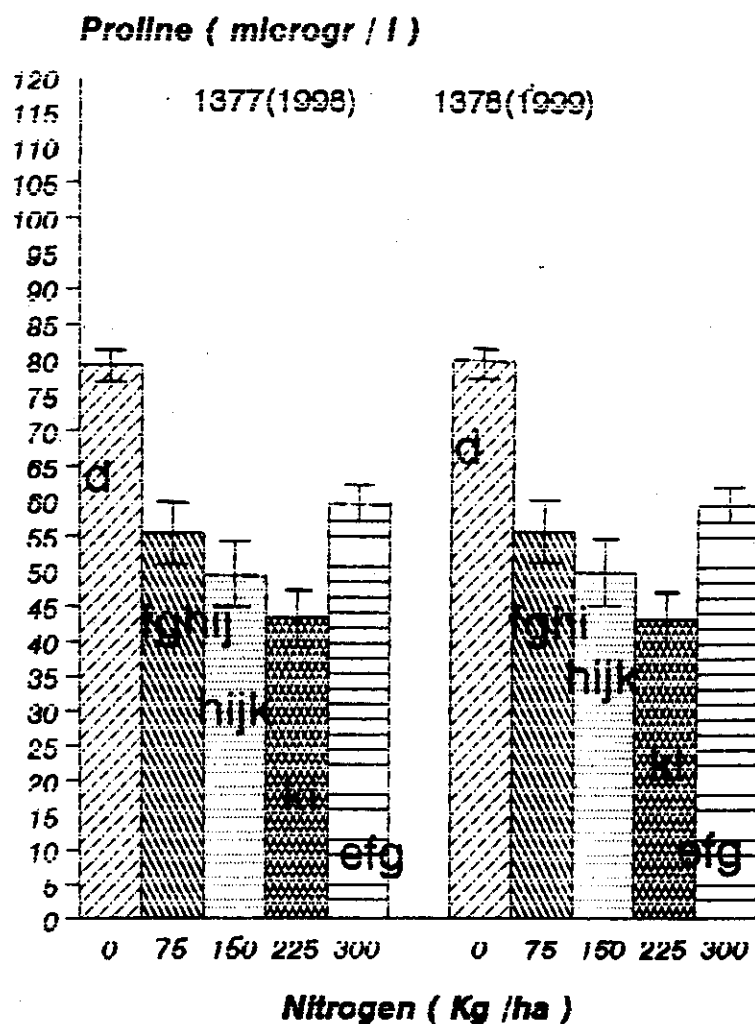
میانگین‌های دارای حروف یکسان در ستون‌ها براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵٪ تفاوت معنی‌داری ندارند

Means followed by similar letters in the bars are not significantly different at 5% probability level

according to Duncan's Multiple Range Test.

عناصر غذایی مختلف از جمله ازت، فسفر و یا
کلسیم، تا اندازه‌ای محتوای پرولین
Vigna sinensis که گیاهی از خانواده بقولات

با این تحقیق نیز غیرممکن نمی‌باشد.
به طوری که سومال و یاپا
(Somal and Yapa, 1998) بیان داشتند که کمبود



شکل ۴- تأثیر سطوح مختلف نیتروژن و بر میزان پرولین آزاد کدوی
بذر برهنه در تیمار ۱۰ گرم در لیتر کلرید سدیم

Fig. 4. Effect of different levels of nitrogen on free - proline of
Cucurbita pepo var. *styriaca* in 10 grl⁻¹ NaCl treatment

میانگین‌های دارای حروف یکسان در ستون‌ها براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵٪ تفاوت معنی‌داری ندارند.

Means followed by similar letters in the bars are not significantly different at 5% probability level according to Duncan's Multiple Range Test.

این قسمت از نتایج این محققین با نتایج این مقاله
مطابقت نشان می‌دهد.
طبق گزارش‌های سلیمان و دوس

می‌باشد را افزایش داده است. آن‌ها همچنین
گزارش نموده‌اند که تنش خشکی و یا شوری
موجب افزایش پرولین آزاد این گیاه شده است، که

که نوع زمین مورد استفاده برای کاشت چنین گیاهانی کاربرد کودهای تقویت کننده را تحت الشعاع قرار می دهد بایستی با انجام تحقیقاتی مشابه بهترین نوع و مقدار کود مناسب را تعیین نمود. با توجه به نتایج به دست آمده از این تحقیق می توان در شرایط مشابه تحقیق، برای به دست آوردن عملکرد بهینه، مقدار ۷۵ کیلوگرم نیتروژن در هکتار را توصیه نمود. در این سطح کودی رشد و نمو گیاه به طور مناسبی صورت گرفته و تناسب اندام هوایی و زیرزمینی بهترین شرایط را برای تشکیل میوه و دانه های درون آن و ترکیبات دانه فراهم نمود.

با توجه به این که این گیاه جزو فلور ایران نمی باشد و به تازگی در شرایط آب و هوایی کشور ایران مورد کشت و بررسی قرار گرفته است، لذا نمی توان به طور قطعی با انجام تحقیقات مشابه در طی دو سال متوالی توصیه هایی کاربردی ارائه نمود، ولی با توجه به نتایج به دست آمده می توان بیان داشت که پیش تیمار بذرهاى این گونه کدوى خاص توسط NaCl در غلظت های ۲/۵ و ۵ گرم در لیتر و خصوصاً در ۲/۵ گرم در لیتر کلرید سدیم و تداوم آن تا زمان گل دهی بر میزان عملکرد روغن محصول به دست آمده اثرات مثبتی داشته باشد (جدول ۲) و همچنین تا حدی می توان آن را برای مناطق حاشیه کویری که تا اندازه ای شور می باشند، مقاوم نمود که تا بتوان از این مناطق استفاده بهینه کرد. تیمار ازت نیز در سطح ۷۵ کیلوگرم در هکتار نیز در افزایش عملکرد روغن این گیاه اثری مثبت داشت (جدول ۳).

(Soliman and Doss, 1992) می توان بیان داشت، کاربرد نیتروژن کافی در مرحله مناسبی از رشد می تواند از طریق افزایش و تثبیت نواحی سبز (نواحی فتوسنتز کننده) گیاه، عملکرد محصول را به سمت تولید بهینه هدایت نماید ماسون و برنان (Masson and Brennan, 1998) و سوگی موتو و همکاران (Sugimoto *et al.*, 1998) در گزارش های خود بیان داشته اند که، کاربرد نیتروژن، در زمان گل دهی چنانچه در مقدار متناسبی باشد، می تواند ترکیبات ذخیره ای و روغن دانه ها را افزایش دهد. نتایج به دست آمده در جدول ۳ نشان می دهد که گیاهان تیمار شده با ۷۵ کیلوگرم نیتروژن در هکتار بالاترین درصد روغن را تولید نمودند که این مطلب نتایج ارائه شده توسط محققین مذکور را تایید می نماید. همانطور که در این جدول مشاهده می شود، با افزایش سطح نیتروژن عملکرد روغن کاهش یافت که این مطلب نشان می دهد مواد غذایی جذب شده به جای این که به مصرف ذخیره سازی و تقویت دانه ها برسد، به مصرف نقاط رویشی دارای قدرت جذب بالای مواد غذایی، رسیده است (Salisbury and Ross, 1991; Tancogne *et al.*, 1991; Wang and Below, 1998).

از آنجا که در گیاهان دارویی، مهم ترین مسئله، طبیعی بودن مواد استحصال شده از آنها می باشد، لذا می بایست در کاربرد مواد شیمیایی حتی کودهای شیمیایی برای این گیاهان با دقت نظر بیشتری اقدام نمود. با توجه به این

References

منابع مورد استفاده

- امیدبگی، ر. ۱۳۷۹. رهیافت‌های تولید و فرآوری گیاهان دارویی. انتشارات آستان قدس رضوی، جلد سوم، ۳۹۷ صفحه.
- حکمت شعار، ح. ۱۳۷۲. فیزیولوژی گیاهان در شرایط دشوار. انتشارات نیکنام، چاپ اول، ۲۵۱ صفحه.
- Bates, L.S.; Waldern, R.P., and Teave, I.D., 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil* 39: 205-107.
- Hua, X.J., Van de Cotte, B., Montagu, M.V., and Verbruggen, N. 1997. Developmental regulation of pyrroline-5-carboxylate reductase gene expression in arabidopsis. *Plant Physiology* 114: 1215-1224.
- Irigoyen, J.J., Emerich, D.W., and Sanchez-diaz, M. 1992. Water stress induced changes in concentration of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*), plants. *Physiologia Plantarum* 84: 55-60.
- Kavi kishor, P.B., Hong, Z. Miae, G.H., Iiu, C.A. A., and Verma, D.P.A. 1995. Over expression of Δ -pyrroline-5-carboxylate increases proline production and confers osmotolerance in transgenic plants. *Plant Physiology* 108: 1387-1394.
- Kiyosue, T., Yoshiba, Y., Yamaguchi-shinozaki, K., and Shinozaki, K. 1996. A nuclear gene encoding mitochonal proline metabolism, is upregulated by proline but down regulated by dehydration in arabidopsis. *The Plant Cell* 8: 1323-1335.
- Kurban H., Saneoka, H., Nehira, K., Adilla, R., and Fujita, K. 1998. Effect of salinity on growth and accumulation of organic and inorganic solutes in the leguminosae plants *Alhagi pseudoalhagi* and *Vigna radiata*. *Soil Science and Plant Nutrition* 44: 589-597.
- Levitte, J. 1980. Responses of Plants to Environmental Stresses. 2nd edition. Academic Press. New York. USA.
- Martines. V., Nunez, J.M., Orriz I., and Cerda, A. 1994. Changes in amino acid and organic acid composition in tomato and cucumber plants in relation to salinity and nitrogen nutrition.
- Masson, M.G., and Brennan, R.F. 1998. Comparison of growth response and nitrogen uptake by canola and wheat following application of nitrogen fertilizer. *Journal of Plant Nutrition* 21: 1483-1499.
- Nakashima, K., Satoh, R., Kiyosue, T., Yamaguchi-shinozaki, K., and Shinozak, K. 1998. A gene encoding proline dehydrogenase is not only induced by proline and hypoosmolanty, but is also developmentally regulated in the reproductive organs of

- arabidopsis. *Plant Physiology* 118: 1233-1241.
- Rentsch, D., Hirner, B. Schemlzer, E., and Wolf, B.F. 1996.** Salt stress-induced proline transporters and salt stress-repressed broad specificity amino acid permeases identified by suppression of a yeast amino acid permease-targeting mutant. *The Plant Cell* 8: 1437-1446.
- Roosens, N.H.C.G., Thu, T.T., Hayati, M.I., and Jacobs, M. 1998.** Isolation of the ornithine 8-aminotransferase cDNA and effect of salt stress on its expression in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiology* 117: 263-271.
- Salisbury, F.B., and Ross, C.W. 1991.** *Plant Physiology*. Fourth edition. Wadsworth Publishing Company. Belmont California page: 682
- Soliman, M.S., and Doss, M. 1992.** Salinity and mineral nutrition effects on growth and accumulation of organic and inorganic ions in two cultivated tomato varieties. *Journal of Plant Nutrition* 15: 2789-2799.
- Somal, T.L.C., and Yapa, P.A.J. 1998.** Accumulation of proline in cowpea under nutrient, drought and saline stresses. *Journal of Plant Nutrition* 21: 2465-2473.
- Stewart, C.R., and Voetberg, G. 1985.** Relationship between stress-induced ABA and ABA induced proline accumulation in excised barley leaves. *Plant Physiology* 70:24-27.
- Sugimoto, T., Nomura, K., Masuda, R., Sueyoshi, K., and Oji, Y. 1998.** Effect of nitrogen application at the flowering stage on the quality of soybean seeds. *Journal of Plant Nutrition* 21: 2065-2075.
- Tancogne, M., Bouniols, A., Wallace, S.U., and Blanchet, R. 1991.** Effect of nitrogen fertilization on yield component distribution and assimilate translocation of determinate and indeterminate soybean lines. *Journal of Plant Nutrition* 14: 963-373.
- Voetberg, G.S., and Sharp, R.E. 1991.** Growth of the maize primary root at low water potentials. III. Role of increased proline deposition in osmotic adjustment. *Plant Physiology* 96: 1125-1130.
- Volkmar, K.M, Iiu, Y., and Steppuhu, II. 1997.** Physiological responses of plants to salinity; a review. *Canadian Journal of Plant Science* 78: 19-27.
- Wang, X., and Below, F.E. 1998.** Accumulation and partitioning of mineral nutrients in wheat as influenced by nitrogen form. *Journal of Plant Nutrition* 21: 49-61.