تولیدات گیاهی (مجله علمی کشاورزی)، جلد ۳۷ شماره ۱، بهار ۹۳

اثر نیتروژن بر تجمع نیترات و فعالیت نیترات ردوکتاز در برخی توده های اسفناج بومی ایران (*Spinacia oleracea* L.)

سمیه اسفندیاری بیات[۱]، سید عبدالله افتخاری[۲]* و مختار حیدری[۳]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد گروه باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید چمران اهواز

۲*- **نویسنده مسوول:** استادیار گروه باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید چمران اهواز (eftekhari_9t@yahoo.com)

۳- استادیار گروه باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین

تاریخ دریافت: ۹۰/۱۰/۲۰ تاریخ پذیرش: ۹۲/۳/۱۱

چکیده

به منظور بررسی اثر مقادیر مختلف نیتروژن بر فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز، میزان نیترات و رشد رویشی در توده های اسفناج ایرانی آزمایش در سال ۹۰-۸۹ به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک های کاملاً تصادفی در دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید چمران اهواز انجام گردید. دانهال های ده ژنوتیپ اسفناج با سه تیمار نیتروژن (محلول هوگلند تغییر یافته حاوی نیترات پتاسیم یک مولار به عنوان شاهد، محلول هوگلند تغییر یافته حاوی دو مولار نیترات پتاسیم و محلول هوگلند تغییر یافته حاوی سه مولار نیترات پتاسیم) تغذیه شدند. نتایج نشان دادند فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز در بخش هوایی توده های گرگان و کرمان بیشتر از سایر توده ها بود. در بخش هوایی توده های تنکابن، زنجان-۱، ساری-۱، ساری-۲ و خورآباد قم فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز کمتر از سایر توده ها بود. در ریشه تمام توده ها فعالیت نیترات ردوکتاز در تیمار شاهد (نیترات پتاسم یک مولار) و تیمار نیترات پتاسیم دو یا سه مولار تفاوت معنی داری داشت. تجمع نیترات در ریشه یا بخش هوایی گیاهان تمام توده ها پس از تیمار با غلظت های مختلف نیترات پتاسیم تفاوت معنی داری داشتند. در تیمار شاهد و یا تیمار ۲ مولار نیترات پتاسیم، گیاهان توده های گرگان میزان تجمع نیترات بیشتری داشتند و پس از آن گیاهان توده های ساری-۱ و ساری -۲ تیمار شده با غلظت ۳ مولار نیترات پتاسیم دارای بیشترین میزان نیترات در بخش هوایی بودند. به طور کلی می توان گفت افزایش نیتروژن به طور موثری متابولیسم نیترات در ریشه ها و بخش هوایی توده های اسفناج بومی ایران را تغییر داد. این تفاوت ها می تواند در گزینش یک توده اسفناج به عنوان یک ژنوتیپ کارآمد در متابولیسم نیترات مهم باشد.

کلید واژه ها: اسفناج،آنزیم، رشد، ژنوتیپ، نیتروژن

مقدمه

مصرف مقادیر زیاد کودهای حاوی نیتروژن در خاک سبب افزایش جذب نیترات توسط ریشه می شود در حالی که احیاء و اسیمیلاسیون آن در داخل گیاه به همان نسبت بالا نمی رود، در نتیجه مقداری نیترات در اندام‌های گیاه تجمع می‌یابد (لورنز[۱]، ۱۹۷۸). به دلیل آثار زیانباری که نیترات اضافی در اندام‌های گیاهان برای دام و انسان دارد، لازم است از تجمع نیترات در محصولات مختلف (به خصوص سبزی‌ها که مصرف روزانه دارند) جلوگیری گردد زیرا یکی از کاهش دهنده کیفیت سبزی‌ها (به خصوص سبزی های برگی)، تجمع نیترات در اندام‌های قابل مصرف آنها می‌باشد (سانتاماریا و

1- Lorenz

همکاران[1]، ۱۹۹۹). البته نیترات برای انسان سمی نیست ولی نیتریت حاصل از احیاء آن می تواند با آمین ها ترکیب شده و تشکیل نیتروزآمین را بدهد که یک ماده سرطان زا می باشد (طباطبائی، ۱۳۸۴). قسمت عمده نیترات و نیتریتی که به بدن انسان وارد می‌شود، از طریق مصرف سبزی‌ها می‌باشد، به طوریکه در حدود ۸۵ درصد نیترات و ۴۳-۱۶ درصد نیتریت موجود در رژیم غذایی از این طریق وارد سیستم گوارشی می‌گردد (امر و هدیدی[2]، ۲۰۰۱).

اسفناج (*Spinacia oleracea* L.) از سبزی‌های برگی مهم خانواده چغندریان است که بومی مناطق مرکزی آسیا و به احتمال قوی ایران می‌باشد (عرشی، ۱۳۷۹). این سبزی بیش از ۲۰۰۰ سال سابقه کشت دارد (راباتزکی و یاماگوشی[3]،۱۹۹۷؛ سالونکه و کادام[4]، ۱۹۹۸). برگ ها و ساقه‌های ظریف آن به صورت تازه یا فرآوری شده مصرف می‌شوند. در نقاط مختلف ایران، توده های مختلف اسفناج توسط کشاورزان مورد استفاده قرار می گیرند و تنوع ژنتیکی قابل توجهی در توده های اسفناج بومی ایران وجود دارد. حد مجاز نیترات در گیاه اسفناج بین ۳۴۵ تا ۳۸۹۰ میلی گرم در هر کیلوگرم وزن تر پیشنهاد شده است (بی نام، ۱۹۷۸). اردکانی و همکاران (۱۳۸۴) میانگین تجمع نیترات در اسفناج در مناطق خوراسگان و گورت (استان اصفهان) را به ترتیب ۱۶۲۶۰ و ۴۷۲۳۵ میلی گرم در کیلوگرم وزن خشک گزارش نمودند. ملکوتی (۱۳۷۸) حد مجاز نیترات در اسفناج را ۳۴۵ تا ۳۸۹۰ میلی گرم در کیلوگرم وزن تازه گزارش داد. اسدی و حسندخت (۱۳۸۶) وجود تنوع ژنتیکی در ۲۹ توده اسفناج بومی ایران و افتخاری و همکاران (۱۳۸۹) تنوع ژنتیکی ۴۴ توده اسفناج بومی ایران را با استفاده از صفات ریخت شناسی مورد بررسی قرار داده و گزارش دادند تفاوت معنی داری در اکثر صفات رویشی اندازه گیری شده در بین توده ها وجود داشت. با توجه به اینکه پیشنهاد شده توده های بومی اسفناج ایران می توانند در برنامه های بهنژادی این گیاه مورد استفاده قرار گیرند (اسدی و حسندخت، ۱۳۸۶؛ افتخاری و همکاران، ۱۳۸۹)، هم چنین گزارش گردیده تجمع نیترات در گیاه به رقم، گونه و قسمت‌های مختلف و نیز سن گیاه بستگی دارد و گیاهان خانواده چغندریان نیز از ظرفیت تجمع نیترات بیشتری برخوردارند (براون[5]، ۱۹۶۶؛ لورنز، ۱۹۷۸)، هم چنین پیشنهاد شده از دلایل مهم در تفاوت تجمع نیترات در ارقام مختلف یک گیاه، وجود تفاوت در میزان فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز (آنزیم احیاء کننده نیترات) است (اولدی و همکاران[6]، ۱۹۷۶؛ ماینارد و بارکر[7]، ۱۹۷۹؛ کانتلیف[8]، ۱۹۹۲)، بنابراین مقایسه تجمع نیترات در ژنوتیپ های اسفناج می تواند در شناسایی ژنوتیپ هایی با توانایی تجمع کمتر نیترات موثر باشد.

با توجه به اهمیت خطر تجمع نیترات در اسفناج و عدم وجود اطلاعات کافی در مورد پاسخ توده‌های بومی مختلف اسفناج در ایران به تجمع نیترات، آزمایش حاضر به منظور بررسی تاثیر کاربرد نیتروژن بر تجمع نیترات و فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز در ۱۰ توده بومی اسفناج بومی ایران انجام گردید.

مواد و روش ها

عملیات اجرایی این تحقیق در سال زراعی ۹۰-۸۹ در مزرعه تحقیقاتی و آزمایشگاه گروه باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید چمران اهواز اجرا شد. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک های کاملا تصادفی با فاکتور توده های اسفناج بومی ایران (زنجان-۱، زنجان-۲، تنکابن، خورآباد قم، ساری-۱، ساری-۲، بجنورد-۲، کرمان، سرآسیاب کرمان،گرگان) و سطوح

1- Santamaria *et al.*
2- Amr & Hadidi
3- Rubatzky &Yamaguchi
4- Salunkhe & Kadam
5- Brown
6- Olday *et al.*
7- Maynard & Barker
8- Cantiliffe

مختلف نیتروژن (محلول غذایی پایه حاوی یک مولار نیترات پتاسیم معادل ۲۲۴ میلی گرم در لیتر نیتروژن خالص به عنوان شاهد، محلول غذایی حاوی دو مولار نیترات پتاسیم و سه مولار نیترات پتاسیم) در سه تکرار (هر تکرار شامل سه گلدان و هر گلدان یک گیاه) اجرا گردید. گیاهان با محلول غذایی اپستین (۱۹۷۲) تغذیه شدند. بذور پس از ضدعفونی سطحی با کلراکس ۳ درصد در تاریخ ۸۹/۱۱/۲۲ در سینی های کاشت حاوی پرلیت کاشته شده و در گلخانه با پوشش پلی کربنات نگهداری گردیدند. پس از کاشت بذر تا ظهور گیاهچه ها، سینی های حاوی بذور کشت شده در پرلایت، روزانه یک مرتبه با محلول اپستین ۲ درصد و یک مرتبه با آب تصفیه شده آبیاری شد. پس از ظهور گیاهچه ها، غلظت محلول اپستین تا زمان انتقال نشاء به گلدان ها بتدریج تا رسیدن به غلظت محلول غذایی نیم قدرت افزایش پیدا کرد. سه هفته پس از تولید اولین برگ های حقیقی (تاریخ۸۹/۱۲/۱۳) به کیسه های گلدانی پلاستیکی به حجم پنج لیتر حاوی شن و کوکوپیت (نسبت ۸۰: ۲۰ درصد) انتقال یافته و به مدت یک هفته با محلول غذایی اپستین نیم قدرت تغذیه شدند. گلدان ها در هوای آزاد و در معرض نور طبیعی خورشید قرار داده شدند. پس از یک هفته از انتقال نشاها به گلدان، گیاهان با محلول غذایی تمام قدرت حاوی مقادیر مورد نظر نیتروژن آبیاری شدند. یک ماه پس از انتقال نشاها به گلدان (تاریخ ۹۰/۱/۱۴)، گیاهان از گلدان های کاشت خارج گردیده و فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز بر اساس روش پیشنهادی استوارت و همکاران[1] (۱۹۷۲) در برگ و ریشه اندازه گیری شد. نمونه های ریشه و بخش هوایی در آون دمای ۷۵ درجه سانتیگراد به مدت ۴۸ ساعت قرار داده شدند تا خشک شوند. وزن خشک نمونه های ریشه و شاخساره با استفاده از ترازوی دقیق (دقت ۰/۰۰۱گرم) اندازه گیری شد. نمونه های خشک شده آسیاب گردیده و میزان نیترات بر اساس روش پیشنهادی کاتالدو و همکاران[2] (۱۹۷۵) اندازه گیری گردید. منحنی منحنی استاندارد با استفاده از نیترات پتاسیم تهیه گردید. آنالیز آماری داده ها با نرم افزار Mstat-C و مقایسه میانگین ها با آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ انجام شد.

نتایج

وزن خشک: بیشترین وزن خشک بخش هوایی در توده گرگان در تیمار نیترات پتاسیم ۲ مولار بود (۱۰/۵۴ گرم) که با وزن خشک بخش هوایی گیاهان توده گرگان در تیمار شاهد و یا تیمار ۳ مولار نیترات پتاسیم تفاوت معنی داری نداشت (به ترتیب ۱۰/۱۱ و ۸/۷۸ گرم) ولی به طور معنی داری بیشتر از وزن خشک بخش هوایی در سایر تیمارها بود. کمترین وزن خشک بخش هوایی در گیاهان توده خورآباد قم در تیمار ۳ مولار نیترات پتاسیم وجود داشت (۲/۸۱ گرم) که با وزن خشک بخش هوایی در توده های زنجان- ۲ در تیمار سه مولار نیترات پتاسیم (۳/۴۵ گرم)، کرمان در تیمار ۲ مولار نیترات پتاسیم (۳/۴۹ گرم) و یا سرآسیاب کرمان - ۲ در تیمار شاهد (۳/۰۵ گرم) تفاوت معنی داری نداشت ولی به طور معنی داری کمتر از وزن خشک بخش هوایی در سایر تیمارها بود.

بیشترین وزن خشک ریشه در توده گرگان در تیمار ۲ مولار نیترات پتاسیم بود (۴/۵۲ گرم) که با وزن خشک ریشه توده گرگان و یا زنجان-۱ در تیمار شاهد (به ترتیب ۳/۹ و ۴/۳ گرم) تفاوت معنی داری نداشت ولی به طور معنی داری بیشتر از وزن خشک ریشه در سایر تیمارها بود. کمترین وزن خشک ریشه (۱/۳۱ گرم) در توده ساری-۲ در تیمار شاهد (یک مولار نیترات پتاسیم) بود که با وزن خشک ریشه در توده های ساری-۱، خورآباد قم و سرآسیاب کرمان در تیمار شاهد (به ترتیب ۱/۸۹، ۱/۹۶ و ۱/۹۲گرم) و یا توده بجنورد-۲ در تیمار ۲ مولار نیترات پتاسیم (۲/۰۳ گرم) و توده زنجان- ۲،

1 - Stewart *et al.*

2- Cataldo *et al.*

بجنورد-۲ و خورآباد قم در تیمار ۳ مولار نیترات پتاسیم (به ترتیب ۱/۳۸ و ۲/۰۳، ۱/۷۹ تفاوت معنی داری نداشت ولی به طور معنی داری کمتر از وزن خشک ریشه در سایر تیمارها بود.

فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز: کمترین فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز در بخش هوایی توده تنکابن در تیمار شاهد وجود داشت (۱/۹ میکرومولار نیتریت در گرم وزن تر در ساعت) که با فعالیت آنزیم در بخش هوایی توده های خورآبادقم، ساری-۱، ساری-۲، و زنجان-۱ در تیمار شاهد تفاوت معنی داری نداشت (به ترتیب ۲/۵، ۲/۸۸، ۲/۳۵، ۳/۱۲ میکرومولار نیتریت در گرم وزن تر در ساعت). بیشترین فعالیت آنزیم در بخش هوایی توده گرگان در تیمار ۳ مولار نیترات پتاسیم وجود داشت (۱۲/۳۵ میکرومولار نیتریت در گرم وزن تر در ساعت) که با فعالیت آنزیم در بخش هوایی توده کرمان در تیمار ۳ مولار نیترات پتاسیم تفاوت معنی داری نداشت (۱۲/۲۸ میکرومولار نیتریت در گرم وزن تر در ساعت) ولی به طور معنی داری بیشتر از فعالیت آنزیم در بخش هوایی سایر توده های اسفناج بود. بیشترین فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز در ریشه توده تنکابن در تیمار ۳ مولار نیترات پتاسیم بود (۳۶/۹ میکرومولار نیتریت در گرم وزن تر در ساعت) که با فعالیت آنزیم در ریشه توده های خورآباد قم، ساری-۱ و زنجان-۲ در تیمار سه مولار نیترات پتاسیم (به ترتیب ۳۳/۸۸، ۳۱/۷۶، ۳۰/۲۴ میکرومولار نیتریت در گرم وزن تر در ساعت) و یا فعالیت آنزیم در ریشه توده های تنکابن و ساری-۲ در تیمار ۲ مولار نیترات پتاسیم (به ترتیب ۲۵/۰۱ و ۲۶/۶۹ میکرومولار نیتریت در گرم وزن تر در ساعت) تفاوت معنی داری نداشت ولی به طور معنی داری بیشتر از فعالیت آنزیم در سایر تیمارها بود.

در ریشه کمترین فعالیت آنزیم در گیاهان توده ساری-۲ در تیمار شاهد (۸/۱۲ میکرومولار نیتریت در گرم وزن تر در ساعت) وجود داشت که با فعالیت آنزیم در گیاهان توده های ساری-۱ و کرمان در تیمار شاهد (۹/۹۲ و ۱۰/۱۶ میکرومولار نیتریت در گرم وزن تر در ساعت) و یا توده های زنجان -۲ و گرگان در تیمار دو مولار نیترات پتاسیم (به ترتیب ۹/۲۵ و ۱۰/۳۸ میکرومولار نیتریت در گرم وزن تر در ساعت) تفاوت معنی داری نداشت ولی به طور معنی داری کمتر از فعالیت آنزیم در ریشه گیاهان سایر توده ها بود.

غلظت نیترات: بیشترین غلظت نیترات در بخش هوایی در گیاهان توده گرگان در تیمار ۲ مولار نیترات پتاسیم وجود داشت (۶۹۹۶ میکروگرم نیترات در گرم وزن خشک)که با غلظت نیترات در بخش هوایی گیاهان توده گرگان در تیمار شاهد و یا غلظت نیترات در بخش هوایی توده های ساری -۱ و ساری -۲ در تیمار ۳ مولار نیترات پتاسیم (به ترتیب ۶۲۸۲، ۶۵۵۴/۵ و ۶۰۶۱/۵ میکروگرم نیترات در گرم وزن خشک) تفاوت معنی داری نداشت ولی به طور معنی داری بیشتر از نیترات در بخش هوایی سایر توده های اسفناج بود. کمترین غلظت نیترات بخش هوایی (۲۴۸۴/۵ میکروگرم نیترات در گرم وزن خشک) نیز در توده زنجان-۱ در تیمار شاهد وجود داشت که با غلظت نیترات در بخش هوایی توده های خورآبادقم و بجنورد-۲ تفاوت معنی داری نداشت (به ترتیب ۳۴۸۴/۵ و ۳۵۲۹/۵ میکروگرم نیترات در گرم وزن خشک) ولی به طور معنی داری کمتر از غلظت نیترات در بخش هوایی سایر توده های اسفناج بود. بیشترین غلظت نیترات در ریشه توده ساری-۱ در تیمار سه مولار نیترات پتاسیم وجود داشت (۳۹۷۶/۵ میکروگرم نیترات در گرم وزن خشک) که با غلظت نیترات در ریشه گیاهان توده زنجان-۱، ساری -۱ در تیمار دو مولار نیترات پتاسیم (به ترتیب ۳۴۸۹، ۳۷۹۲ میکروگرم نیترات در گرم وزن خشک) و یا نیترات در ریشه گیاهان توده خورآباد قم در تیمار شاهد (۳۶۹۱/۵ میکروگرم نیترات در گرم وزن خشک) تفاوت معنی داری نداشت ولی به طور معنی داری بیشتر از غلظت نیترات در ریشه سایر توده ها بود.

جدول ۱- اثر مقادیر مختلف نیترات پتاسیم در محلول غذایی بر وزن خشک ریشه و شاخساره توده های اسفناج بومی ایران

توده	نیترات پتاسیم (میلی مولار)		
	۱	۲	۳
	وزن خشک بخش هوایی (گرم)		
زنجان۲	۴/۶۰ ef	۶/۲۴ cd	۳/۴۵ h
تنکابن	۵/۶۲ de	۵/۹۵ de	۶/۳۸ cd
بجنورد ۲	۵/۸۸ de	۴/۶۱ ef	۶/۲۴ cd
ساری ۱	۴/۸۷ def	۵/۳۷ de	۵/۳۸ de
زنجان ۱	۶/۷۴ dc	۶/۱۵ cd	۶/۳۲ cd
سرآسیاب کرمان ۲	۳/۰۵ h	۴/۵۸ ef	۵/۷۹ de
ساری ۲	۷/۳۸ bc	۶/۳۳ cd	۷/۱۹ bc
کرمان	۴/۰۹ fg	۳/۴۹ h	۷/۸۱ bc
خورآباد قم	۴/۰۵ fg	۴/۱۳ fg	۲/۸۱h
گرگان	۱۰/۱۱ a	۱۰/۵۴ a	۸/۷۸ ab
	وزن خشک ریشه (گرم)		
زنجان۲	۲/۳۲ de	۲/۷۸ de	۱/۳۸ gh
تنکابن	۲/۳۹ de	۲/۴۶ de	۱/۹۸ h
بجنورد ۲	۲/۴۹ de	۲/۰۳ fg	۲/۰۳ fg
ساری ۱	۱/۸۹ fg	۲/۱۲ ef	۲/۴۷ de
زنجان ۱	۴/۳۰ ab	۳/۰۷ cd	۲/۴۵ de
سرآسیاب کرمان ۲	۱/۹۲ fg	۱/۷۲ g	۲/۶۳ de
ساری ۲	۱/۳۱ g	۲/۰۷ ef	۲/۰۶ ef
کرمان	۲/۲۳ de	۲/۱۶ ef	۲/۱۱ ef
خورآباد قم	۱/۹۶ fg	۲/۱۲ ef	۱/۷۹ g
گرگان	۳/۹۰ abc	۴/۵۲ a	۳/۴۰ bc

* در مورد هر شاخص، میانگین های دارای حروف مشترک در هر ردیف یا ستون، از نظر آماری در سطح احتمال ۵٪ آزمون دانکن تفاوت معنی داری ندارند.

کمترین غلظت نیترات در ریشه توده زنجان-۲ وجود داشت (۱۲۳۷/۲ میکروگرم نیترات در گرم وزن خشک) که با غلظت نیترات در ریشه توده های بجنورد-۲ و تنکابن در تیمار شاهد (به ترتیب ۱۲۵۰/۷ و ۱۶۳۹/۵ میکروگرم نیترات در گرم وزن خشک) و یا توده های تنکابن و خورآباد قم در تیمار دو مولار نیترات پتاسیم (به ترتیب ۱۷۱۱/۵ و ۱۲۷۱/۵ میکروگرم نیترات در گرم وزن خشک) و توده های تنکابن، بجنورد-۲ و گرگان در تیمار ۳ مولار نیترات پتاسیم (به ترتیب ۱۲۷۷/۷، ۱۴۵۸/۵ و ۱۰۵۸ میکروگرم نیترات در گرم وزن خشک) تفاوت معنیی داری نداشت ولی به طور معنی داری کمتر از غلظت نیترات در ریشه سایر توده های اسفناج بود.

نتایج بررسی همبستگی صفات مورد بررسی (جدول ۴) نتایج نشان داد غلظت نیترات ریشه با نسبت نیترات ریشه به بخش هوایی در سطح یک درصد همبستگی مثبت و معنی داری داشت ولی غلظت نیترات ریشه با نیترات برگ، وزن خشک برگ، وزن خشک ریشه،

جدول ۲- اثر مقادیر مختلف نیتروژن در محلول غذایی بر فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز (میکرومولار نیتریت سدیم /گرم وزن تازه/ ساعت) در ریشه و شاخساره توده های اسفناج بومی ایران

توده	نیترات پتاسیم (میلی مولار)		
	۱	۲	۳
	شاخساره		
زنجان۱	۳/۱۲ ij	۶/۸۲ d	۹/۵۵ c
زنجان ۲	۴/۵۵ gh	۴/۶۲ gh	۵/۰۸ efgh
تنکابن	۱/۹۰ j	۵/۶۸ defg	۱۱/۰۷ b
خورآباد قم	۲/۵۰j	۳/۸۷ hi	۶/۲۱ def
ساری ۱	۲/۸۸ ij	۸/۴۹ c	۹/۰۲ c
ساری۲	۲/۳۵ j	۵/۲۳ efg	۸/۶۴ c
بجنورد ۲	۶/۲۹ de	۵/۰۷ efgh	۵/۶۸ defg
کرمان	۴/۷۷ gh	۶/۲۹ de	۱۲/۲۸ a
سرآسیاب کرمان ۲	۵/۶۱ defg	۶/۶۷ d	۶/۶۴ d
گرگان	۴/۸۵ fgh	۵/۶۱ defg	۱۲/۳۵ a
	ریشه		
زنجان۱	۱۰/۹۱ de	۱۴/۷۸ d	۱۴/۰۲ de
زنجان ۲	۱۲/۵۸ de	۹/۲۵ f	۳۰/۲۴ abc
تنکابن	۱۵/۰۸ d	۲۵/۰۱ abc	۳۶/۹۰ a
خورآباد قم	۱۵/۵۴ cd	۱۶/۵۲ d	۳۳/۸۸ a
ساری ۱	۹/۹۲ ef	۱۸/۱۱ cd	۳۱/۷۶ ab
ساری ۲	۸/۱۲ f	۲۶/۶۹ abc	۲۰/۰۰ bcd
بجنورد ۲	۱۲/۸۰ de	۱۶/۶۷ cd	۱۷/۰۵ cd
کرمان	۱۰/۱۶ ef	۱۶/۳۷ cd	۱۶/۲۲ cd
سرآسیاب کرمان ۲	۱۴/۳۲ cd	۱۷/۱۳ de	۲۴/۱۰ bc
گرگان	۱۸/۱۱ cd	۱۰/۳۸ ef	۱۴/۴۸ de

* در مورد هر شاخص، میانگین های دارای حروف مشترک در هر ردیف یا ستون، از نظر آماری در سطح احتمال ۵٪ آزمون دانکن تفاوت معنی داری ندارند.

فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز در ریشه و یا برگ همبستگی معنی‌داری نداشت. غلظت نیترات برگ با نسبت نیترات ریشه به بخش هوایی در سطح ۱ درصد و با وزن خشک برگ وزن خشک ریشه به بخش هوایی و فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز ریشه در سطح آماری ۵ درصد همبستگی معنی‌داری داشت.

غلظت نیترات برگ با نسبت نیترات ریشه به شاخساره رابطه معکوس داشته که به دلیل افزایش مخرج کسر می باشد. وزن خشک برگ‌ها با وزن خشک ریشه-ها در سطح یک درصد همبستگی معنی‌دار مثبت نشان داد ولی با نسبت وزن خشک ریشه به شاخساره همبستگی منفی داشت. وزن خشک ریشه‌ها با وزن خشک برگ رابطه معنی داری نداشت.

بحث

نتایج آزمایش حاضر نشان داد افزایش نیتروژن در محیط رشد ریشه اثر معنی داری بر تجمع نیترات در بخش هوایی و ریشه توده های اسفناج بومی ایران داشت

(جدول ۳). اگرچه در مورد اثر افزایش نیتروژن بر میزان نیترات در ریشه یا بخش هوایی ارقام یا ژنوتیپ های مختلف اسفناج رشد یافته در شرایط بدون خاک مطالعه ای انجام نگردیده است ولی در مورد اثر افزایش نیتروژن در محیط رشد بر تغییر غلظت نیترات در گیاه اسفناج گزارشاتی منتشر شده است. نجفی و پارسازاده (۱۳۸۹) گزارش دادند نسبت های مختلف نیترات به آمونیم در محلول غذایی بر غلظت نیترات بخش هوایی گیاه اسفناج اثر معنی داری داشت. در مورد تاثیر مصرف کودهای حاوی نیتروژن بر گیاهان اسفناج رشدیافته در بستر خاک

جدول ۳- اثر مقادیر مختلف نیتروژن در محلول غذایی بر میزان نیترات ریشه و شاخساره (میکروگرم در گرم وزن خشک) توده های اسفناج بومی ایران

توده	نیترات پتاسیم (میلی مولار)		
	۱	۲	۳
	نیترات بخش هوایی		
زنجان۱	۲۸۸۴/۵ g	۴۸۶۱/۵ cde	۳۸۲۸ cdef
زنجان ۲	۴۴۷۷/۵ cde	۵۰۵۰/۵ cd	۴۸۹۷/۵ cde
تنکابن	۳۷۰۵ def	۴۱۲۰/۵ cdef	۵۹۰۲/۵ bcd
خورآباد قم	۳۴۴۸/۵ fg	۴۹۸۷/۵ cd	۵۱۳۱/۵ cd
ساری ۱	۴۲۶۴/۵ cde	۵۸۳۰/۵ cd	۶۵۵۴/۵ ab
ساری ۲	۳۹۹۰ cdef	۳۸۱۰ cdef	۶۰۶۱/۵ ab
بجنورد ۲	۳۵۲۹/۵ fg	۴۷۹۲/۵ cde	۵۳۰۲/۵ cd
کرمان	۴۹۳۳/۵ cde	۳۶۰۱/۵ ef	۵۰۱۰ cd
سرآسیاب کرمان ۲	۳۵۷۹ ef	۵۵۴۷ cd	۴۲۹۱/۵ cde
گرگان	۶۲۸۲ ab	۶۹۹۶ a	۵۲۴۴ cd
	نیترات ریشه		
زنجان۱	۲۷۹۴/۵ cd	۳۸۴۹ ab	۳۲۷۷/۵ c
زنجان ۲	۲۱۲۱ d	۱۲۳۷/۲ f	۳۴۸۰ bc
تنکابن	۱۶۳۹/۵ ef	۱۷۱۱/۵ ef	۱۲۷۷/۷ f
خورآباد قم	۳۶۹۱/۵ ab	۱۲۷۱/۵ f	۱۸۲۴ e
ساری ۱	۳۳۴۹/۵ c	۳۷۹۲ ab	۳۹۷۶/۵ a
ساری ۲	۲۸۲۴/۵ cd	۲۷۴۹/۵ cd	۲۷۱۳/۵ cd
بجنورد ۲	۱۲۵۰/۷ f	۲۷۳۸/ cd	۱۴۵۸/۵ ef
کرمان	۲۶۲۶/۵ cd	۱۸۷۳/۵ e	۲۰۸۰/۳ de
سرآسیاب کرمان ۲	۲۷۴۵ cd	۳۲۲۶/۵ c	۲۸۲۴ cd
گرگان	۲۰۲۶/۵ de	۲۵۰۹/۵ cd	۱۰۵۸ f

* در مورد هر شاخص، میانگین های دارای حروف مشترک در هر ردیف یا ستون، از نظر آماری در سطح ۵٪ آزمون دانکن تفاوت معنی داری ندارند.

جدول٤- همبستگی صفات مورد مطالعه در توده‌های اسفناج

	نیترات ریشه	نیترات بخش هوایی	نیترات ریشه به بخش هوایی	وزن خشک بخش هوایی	وزن خشک ریشه	وزن خشک ریشه به بخش هوایی	آنزیم نیترات ردوکتاز ریشه	نیترات ردوکتاز بخش هوایی
نیترات ریشه	۱							
نیترات بخش هوایی	۰/۰۴۵	۱						
نیترات ریشه به بخش هوایی	۰/۷۲۸**	−۰/۵۵۷**	۱					
وزن خشک بخش هوایی	−۰/۱	۰/۲۶۹*	−۰/۲۲۲*	۱				
وزن خشک ریشه	−۰/۱۰۴	۰/۰۸۳	−۰/۱۰۱	۰/۶۳۹**	۱			
وزن خشک ریشه به بخش هوایی	−۰/۰۴۳	−۰/۲۴۷*	۰/۱۳۲	−۰/۵۰۳**	۰/۲۹۸**	۱		
آنزیم نیترات ردوکتاز ریشه	−۰/۰۱۵	۰/۲۶۱*	−۰/۱۷۷	−۰/۰۴۹	−۰/۱۶	−۰/۱۲۵	۱	
نیترات ردوکتاز بخش هوایی	−۰/۰۶۴	۰/۰۷	−۰/۱۱۷	۰/۰۸۹	−۰/۰۲۷	−۰/۱۷	۰/۱۱۶	۱

نیز گزارشاتی منتشر شده است.گالسر[1] (۲۰۰۵) گزارش داد مصرف کودهای حاوی نیتروژن (اوره یا سولفات آمونیم) بر افزایش میزان نیترات و نیتریت در گیاه اسفناج اثر معنی داری داشت. صادقی پور مروی (۱۳۸۹) و همتی و همکاران[2] (۲۰۱۰) نیز گزارش دادند مصرف کود اوره موجب افزایش نیترات بخش قابل مصرف اسفناج گردید. در مطالعات انجام شده توسط اسدی و حسندخت (۱۳۸۶) و افتخاری و همکاران (۱۳۸۹) خصوصیات رویشی و زایشی توده های اسفناج ایران مورد بررسی قرار گرفته ولی در مورد تجمع نیترات در این توده ها گزارشی منتشر نشده است، ولی نتایج این آزمایش نشان داد تجمع نیترات در بخش هوایی برخی توده های اسفناج مانند توده های گرگان و ساری-۱ و ساری-۲ و یا ریشه توده های ساری-۱، زنجان-۱، بجنورد-۲ و خورآباد قم بیشتر از سایر توده ها بود. نتایج این آزمایش می تواند اطلاعات اولیه مهمی در مورد تفاوت در جذب نیتروژن توسط ریشه و برگ توده های اسفناج بومی ایران در اختیار قرار دهد. هم چنین با توجه به اینکه افزایش نیتروژن (به صورت نیترات پتاسیم) در محلول غذایی تاثیرات متفاوتی بر افزایش تجمع نیترات در بخش هوایی و برگ توده های اسفناج ایران داشت، به نظر می رسد لازم است پاسخ توده های اسفناج به مصرف کودهای حاوی نیتروژن در شرایط مزرعه نیز ارزیابی شود.

احتمالا یکی از دلایل مهم تفاوت در تجمع نیترات در ریشه و بخش هوایی توده های اسفناج تفاوت در فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز می باشد، زیرا نتایج پژوهش حاضر نشان داد فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز در ریشه و بخش هوایی توده های اسفناج در تیمار شاهد (غلظت یک مولار نیترات پتاسیم) و یا در تیمارهای افزایش نیتروژن در محیط رشد (غلظت های دو و مولار نیترات پتاسیم تفاوت معنی داری داشت (جدول ۲). در رابطه با بررسی همزمان فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز در برگ و ریشه در اسفناج تا کنون گزارشی منتشر نگردیده است ولی وجود ارتباط بین فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز در ریشه و برگ در گونه های *Populus tremuloides* و *Pinus contorta* (مین و همکاران[3]، ۱۹۹۸) و گونه های صنوبر (دیکسترا[4]، ۱۹۷۴) گزارش گردیده است. احتمالا فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز در ریشه و در نتیجه توانایی تجمع نیترات در

1 - Gulser
2- Hemati *et al.*
3- Min *et al.*
4- Dykstra

ریشه با میزان ارسال نیترات مازاد از ریشه به بخش هوایی در ارتباط است.

نتایج این آزمایش برای اولین بار وجود تفاوت در فعالیت آنزیم نیترات دوکتاز را در برگ و ریشه برخی توده های اسفناج ایرانی در پاسخ به تیمار نیتروژن نشان می دهد. این موضوع می تواند از نظر تعیین پتانسیل تجمع نیترات و روند تغییرات تجمع نیترات در ریشه و بخش هوایی اسفناج مهم باشد زیرا به خوبی نشان می دهد دریافت نیترات و فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز در ریشه و برگ فرآیندهای مرتبط با هم هستند. پیشنهاد گردیده است با افزایش تجمع نیترات در واکوئل سلول های ریشه، ورود نیترات به واکوئل سلول های ریشه کاهش یافته و به موازات آن نیترات بیشتری برای انتقال به بخش هوایی فراهم می گردد (سیدیکی و همکاران[1]، ۱۹۹۰). نتایج آزمایش حاضر نشان داد فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز در برخی توده ها مانند زنجان-۱، ساری-۱ و ساری-۲ در پاسخ به افزایش نیتروژن در محیط رشد تغییرات معنی داری نشان داد. در زمینه تاثیر نیتروژن محیط بر فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز پیشنهادگردیده است گیاهان رشد یافته در شرایط بدون نیترات، میزان دریافت نیترات کم و فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز پایین دارند ولی پس از قرار گیری در معرض نیترات، سرعت فعالیت این فرآیندها افزایش یافته تا به یک نقطه حداکثر رسیده و سپس به تدریج کاهش می یابد تا اینکه به یک میزان ثابت می رسد. اگرچه این الگو در میان بیشتر گیاهان عمومی است، ولی بسته به گونه تفاوت هایی در زمان وقوع هر یک از مراحل فوق وجود دارد و پیشنهاد گردیده است این تفاوت ها ژنتیکی است (کامپبل[2]، ۱۹۹۹). با توجه به اینکه پیشنهاد گردیده است توانایی دریافت نیترات توسط سلول های ریشه با میزان نیترات موجود در محیط ارتباط دارد (سیدیکی و همکاران، ۱۹۹۰؛ مین و همکاران، ۱۹۹۸)، به نظر می رسد لازم است پتانسیل جذب نیترات در ریشه و شاخساره در توده های اسفناج ایرانی در پاسخ به تیمارهای مختلف نیتروژن یا ترکیبات حاوی نیترات مورد بررسی قرار گیرد. زیرا گزارش گردیده است پتانسیل فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز به مواردی مانند در دسترس بودن سوبسترا مانند نیترات و ناقلین الکترون NAD(P)H در سیتوپلاسم، میزان نیترات ردوکتاز فعال (میزان پلی پپتید نیترات دوکتاز و در دسترس بودن کوفاکتورها مانند FAD و پروتئین هم و یون های فلزی شامل آهن و مولیبدن) و میزان فعالیت نیترات ردوکتاز فعال بستگی دارد (کامپبل، ۱۹۹۹). تظاهر ژنهای ناقل نیترات نیز توسط نیترات القا می شود (کمپبل، ۱۹۹۹؛ کونیکی و همکاران[3]، ۲۰۱۰). پیشنهاد شده نیترات مشابه یک هورمون در گیاهان عمل می نماید زیرا علاوه بر تحریک فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز و سایر آنزیم ها و پروتیئن ها، احتمالا در القا پروتئین های تنظیم شونده توسط دی.ان. آ، در پاسخ های متابولیکی مربوط به در دسترس بودن عناصر غذایی و تغییر نسبت رشد ریشه به شاخساره و تغییرات ریخت شناسی مانند نمو ریشه های مویین دخالت دارد. پاسخ گیاه به نیترات به سایر عوامل محیطی و ژنتیکی مانند نور و ژنوتیپ بستگی دارد که فعالیت آنزیم فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز و سایر واکنش های متابولیکی مربوط به نیترات را تحت تاثیر قرار می دهد. پاسخ نیترات ردوکتاز به نیترات به میزان تولید پروتئین حسگر نیترات بستگی دارد. پیشنهاد شده است احتمالا این پروتئین به ناحیه تنظیم شونده ژن نیترات ردوکتاز متصل شده و بیان mRNA آنزیم نیترات ردوکتاز شروع می شود.

احتمالا میزان آب و کربوهیدرات و فتوسنتز نیز در بیان ژن آنزیم نیترات ردوکتاز نقش دارند(کمپبل و همکاران، ۱۹۹۹). هم چنین گزارش شده نسبت رشد ریشه به شاخساره و یا نوع بافت (مین و همکاران، ۱۹۹۸) بر فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز تاثیر دارد. با توجه به

1- Siddiqi *et al*.
2- Campbell
3 - Kunicki *et al.*

نتایج پژوهش حاضر در مورد وجود تفاوت معنی دار در وزن خشک ریشه و بخش هوایی توده های اسفناج (جدول ۱)، به نظر می رسد لازم است تجمع نیترات و فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز در رابطه با شاخص های رشد رویشی (مانند وزن خشک) مورد توجه بیشتری قرار گیرد.

در مجموع نتایج آزمایش حاضر نشان داد توده های اسفناج بومی ایران از نظر وزن خشک، تجمع نیترات و فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز در ریشه و بخش هوایی در پاسخ به افزایش نیتروژن در محلول غذایی تفاوت معنی داری داشتند. این ویژگی ها می تواند در کسب اطلاعات بیشتر در مورد نحوه تجمع نیترات در اسفناج و یا روشن شدن عوامل ژنتیکی کنترل کننده تجمع نیترات و فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز در توده های اسفناج ایران مفید باشد. هم چنین توده های دارای پتانسیل کم برای تجمع نیترات را می توان در برنامه های بهنژادی مربوط به تجمع نیترات در اسفناج استفاده نمود. به همین دلیل پیشنهاد می گردد تاثیر افزایش نیتروژن بر تجمع نیترات و فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز در توده های اسفناج بومی ایران در شرایط مزرعه نیز مورد بررسی قرار گیرد.

منابع

۱. اردکانی، س. س.، شایسته، ک.، افیونی، م. و محبوبی صوفیانی، ن. ۱۳۸۴. غلظت نیترات در برخی فرآورده های گیاهی اصفهان. مجله محیط شناسی T ۳۷: ۶۹-۷۶.

۲. اسدی، ح. ع. و حسندخت، م. ر. ۱۳۸۶. بررسی تنوع ژنتیکی توده های بومی اسفناج ایرانی. مجله علوم کشاورزی ایران. ۳۸. (۳): ۲۵۷-۲۶۵.

۳. افتخاری، س. ع.، حسندخت، م. ر.، فتاحی مقدم، م. ر. و کاشی، ع. ک. ۱۳۸۹. تنوع ژنتیکی توده های اسفناج بومی ایران (*Spinacia oleracea* L.) با استفاده از صفات مورفولوژیک. مجله علوم باغبانی ایران. ۴۱ (۱): ۸۳-۹۳.

۴. صادقی پور مروی، م. ۱۳۸۹. بررسی کارایی استفاده از کود نیتروژن در گیاه اسفناج. نشریه آب و خاک. جلد (۲)۲۴: ۲۴۴- ۲۵۳.

۵. طباطبایی، س. و ملکوتی، م. ج. ۱۳۷۶. اثر مقادیر مختلف اوره و تاثیر متقابل آن با فسفر و پتاسیم بر عملکرد و تجمع نیترات در سیب زمینی. مجله علوم خاک و آب. ۱۱ (۱).

۶. عرشی، ی. ۱۳۷۹. اصلاح ژنتیکی سبزی های زراعی. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد. ۷۲۵ ص.

۷. ملکوتی، م. ج. ۱۳۸۷. بررسی وضعیت تعادل عناصر غذایی در خاک های ایران. مجله آب، خاک، ماشین. ۱۰: ۱۷-۲۱.

۸. ملکوتی، م. ج. و بای بوردی، ا. ۱۳۸۳. مصرف بهینه کود گامی موثر در افزایش عملکرد، بهبود و کاهش آلاینده‌ها در محصولات سبزی و صیفی و ارتقای سطح سلامت جامعه. چاپ اول. نشر علوم کشاورزی کاربردی. ۳۳۸ ص.

9. Ahmadi, H., Akbarpour, V., Dashti, F., and Shojaeian, A. 2010. Effect of different levels of nitrogen fertilizer on yield, nitrate accumulation and several quantitative attributes of five Iranian spinach accessions. American-Eurasian Journal of Agriculture and Environmental Science, 8 (4): 468- 473.

10. Amr, A., and Hadidi, N. 2001. Effect of cultivar and harvest date on nitrate and nitrite content of selected vegetable grow under open field and greenhouse conditions in Jordan. Journal of Food Composition and Analysis, 14: 59-67.

11. Anonymous. 1978. Nitrates, Nitrites and N-Nitrozo Compounds. Environmental Health Criteria 5. International Program on Chemical Safety (IPCS). Geneva, Italy. 92 P.

12. Brown, J.R. 1966. Soil fertilization and nitrate accumulation in vegetables. Agronomy Journal, 58: 209- 212.

13. Campbell, W.H. 1999. Nitrate reductase structure, function and regulation: Bridging the Gap between Biochemistry and Physiology. Annual Review Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 50: 277–303.

14. Cantiliffe, D.J. 1992. Nitrate accumulation in vegetable crops as affected by photoperiod and light duration. Journal of American Society for Horticultural Science, 97: 414- 418.

15. Cataldo, B.A., Haroon, M., Schrader, L.E., and Youngs, V.L. 1975. Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid. Communications in Soil Science and Plant Analysis, 6(1): 71–80.

16. Dykstra, G.F. 1974. Nitrate reductase activity and protein concentration of two populus clones. Plant Physiology, 53: 632- 634.

17. Epstein, E. 1972. Mineral Nutrient of Plants: Principles and Perspectives. Wiley, NewYork., 421 P.

18. Gulser, F. 2005. Effect of ammonium sulphate and urea on NO_3^- and NO_2^- accumulation nutrient content and yield criteria in spinach. Scientia Horticulturae. 106 (3): 330- 340.

19. Kunicki, E., Grabowska1, A., Sękar, A., and, Wojciechowska, R. 2010. The effect of cultivar type, time of cultivation, and bio-stimulant treatment on the yield of spinach *(Spinacia oleracea L.).* Folia Horticulture, 22/2: 9-13.

20. Lorenz, O.A. 1978. Potential nitrate levels in edible plant parts. In: nitrogen in the environment. In: Nitrogen in environment. Eds. Nielsen, D.R., and J.G. Mac Donald. Academic Press, 201-219.

21. Maynard, D.N., Barker, A.V. 1979. Regulation of Nitrate accumulation in vegetable. Acta Horticulture, 93: 123- 129.

22. Min, X., Siddigi, M.Y., Guy, R.D., Glass, A.D.M., and Kronzucker, H.J. 1998. Induction on nitrate uptake and nitrate reductase activity in tremblong aspen and lodgepole pine. Plant, Cell and Environment, 21: 1039-1046.

23. Olday, F.C., Barker, A.V., and Maynard, D.N. 1976. A physiological basis for different patterns of nitrate accumulation in two spinach cultivars. Journal of American Society for Horticultural Science, 101(3): 217-219.

24. Rubatzky, V.E., and Yamaguchi, M. 1997. World Vegetables, Principles, Production and Nutritive Values. Chapman and Hall Pub., 843 p.

25. Salunkhe, D.K., and Kadam, S.S. 1998. Handbook of Vegetable Science and Technology: Production, Composition, Storage and Processing. Marcel Dekker, INC, 721 pp.

26. Santamaria, P., Elia, A., Francesco S., and Tadaro, E. 1999. A survey of nitrate and oxalate content in fresh vegetable. Journal of the Science of Food and Agriculture. 79: 1882-1888.

27. Siddiqi, M.Y., Glass, A.D.M., and Ruth, T.J. 1990. Studies of the uptake of nitrate in barley. I. Kinetics of 13NO3- influx. Plant Physiology, 93: 1426-1432.

28. Stewart, G.R., Lee, J.A., and Orebamjo, T.O. 1972. Nitrogen metabolism of halophyte: Nitrate reductase activity and utilization. New Phytlogist, 72: 539- 546.