تأثیر تغذیه نیکل بر عملکرد، انباشت اوره و فعالیت آنزیم اوره‌آز در کاهو

فاطمه حسینی*، امیرحسین خوشگفتارمنش، مجید افیونی و فرشید نوربخش[1]

(تاریخ دریافت: ۱۳۸۹/۲/۲۰ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۹/۱۰/۴)

چکیده

اگرچه نیکل به عنوان یک عنصر ضروری مورد نیاز گیاه شناخته شده است، اما دانش کافی درباره اثرهای زیستی این عنصر بر رشد و عملکرد و سوخت و ساز نیتروژن در برخی گیاهان، به ویژه سبزی‌ها، وجود ندارد. این پژوهش با هدف بررسی اثر تغذیه نیکل و اوره در محیط آبکشت بر رشد و عملکرد کاهو (*Lactuca sativa* L. Baker) و انباشت اوره در بافت‌های مختلف گیاه انجام شد. در این پژوهش، نیتروژن از منبع اوره، نیترات آمونیوم در سه سطح ۵، ۱۰ و ۲۰ میلی‌مولار و نیکل در دو سطح صفر و ۰/۰۴ میکرومولار از منبع کلرید نیکل تأمین شد. پس از شش هفته، بوته‌های کاهو برداشت شده، عملکرد وزن تر شاخساره و ریشه اندازه‌گیری شد. هم‌چنین فعالیت آنزیم اوره‌آز برگ و غلظت اوره شاخساره اندازه‌گیری شد. نتایج این پژوهش نشان داد که با افزایش غلظت اوره در محلول غذایی، وزن تر شاخساره به گونه چشم‌گیری افزایش یافت. افزودن نیکل به محلول غذایی دارای اوره، سبب افزایش وزن تر شاخساره و ریشه کاهو شد. در بوته‌های کاهوی رشد کرده در محلول غذایی دارای اوره، در تمام سطوح مصرفی نیتروژن، تغذیه با نیکل سبب افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم اوره‌آز برگ شد. به دنبال افزایش فعالیت آنزیم اوره‌آز برگ، غلظت اوره شاخساره کاهو به گونه چشم‌گیری کاهش یافت. افزودن نیکل به محلول غذایی دارای ترکیب اوره، سبب افزایش وزن تر گیاه و فعالیت آنزیم اوره‌آز برگ و در نتیجه کاهش انباشت اوره در شاخساره شد و اثرهای ناشی ازسمیت اوره را کم کرد. بنابراین به نظر می‌رسد بتوان از ترکیب اوره به همراه نیکل در کشت بدون خاک کاهو استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: نیکل، اوره، آنزیم اوره‌آز، کاهو، آبکشت

مقدمه

نیکل به عنوان جدیدترین عنصر ضروری کشف شده (۳) در بین سایر عناصر غذایی مورد نیاز گیاه منحصر به فرد می‌باشد زیرا وظایف متابولیک آن، قبل از تشخیص ضرورت آن برای رشد گیاه، شناسایی شده است. تشخیص نیکل به عنوان بخشی از آنزیم اوره‌آز (۴)، اولین مطالعات بنیادی درباره اثبات ضرورت نیکل برای گیاه را پایه‌گذاری نمود. در سال ۱۹۷۷، پولاکو نشان داد که سلول‌های کشت بافت سویا زمانی که ترکیب اوره منبع تأمین کننده نیتروژن بود، در غیاب نیکل، قادر به رشد نبودند (۲۱). به دنبال آن، محققین زیادی اثبات نمودند که اگر اوره منبع تأمین کننده نیتروژن در محیط رشد باشد، رشد گیاه تحت تأثیر کمبود نیکل قرار خواهد گرفت (۸،۱۰و۱۳). نیکل هم اکنون به عنوان یک عنصر ضروری بسیار کم‌نیاز شناخته شده است (۱۷). اما تنها نقش تعریف شده نیکل شرکت در سوخت و ساز اوره می‌باشد که این فرایند نیز تنها در گیاهانی حائز اهمیت است که از اوره به عنوان منبع نیتروژن استفاده می‌کنند. نیکل در ردیف اول فلزات واسطه با ویژگی فیزیکی و شیمیایی مناسب جهت انجام فعالیت‌های زیستی می‌باشد (۲۰). یون

۱. به ترتیب دانشجوی دکتری، دانشیار، استاد و دانشیار گروه خاک‌شناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

* : مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: f.hosseini@ag.iut.ac.ir

دو ظرفیتی نیکل، تنها شکل اکسیداسیونی نیکل است که برای گیاهان عالی اهمیت دارد. روچ و بارکلی در سال ۱۹۴۶، اولین آثار کاربرد کودهای حاوی نیکل را بر سیب‌زمینی (*Solanum tuberosum* L.)، گندم (*Triticum aestivum* L.) و لوبیا (*Phaseolus vulgaris* L.) مشاهده کردند (۲۲). در این گیاهان، تغذیه برگی Ni^{2+} منجر به افزایش معنی‌دار عملکرد شد. اسکیو و ولش (۵) و اسکیو و همکاران (۶ و ۷) در سال‌های ۱۹۸۲ و ۱۹۸۳ و هم‌چنین واکر و همکاران در سال ۱۹۸۵ (۲۵)، با استفاده از فناوری کاربرد کلات‌ها (Novel chelation chromatography) و حذف نیکل از محیط غذایی به عنوان یک آلاینده، نشان دادند که در شرایط کمبود نیکل، اوره در برگ‌های سویا و نخود گاوی در سطوح سمی تجمع یافت. در گیاهان مبتلا به کمبود نیکل، انباشتگی اوره در گیاه در غلظت‌های بیشتر از ۲/۴ درصد وزن خشک، سبب نوک سوختگی برگ‌ها شد. انباشتگی اوره در این شرایط به دلیل اختلال در عملکرد آنزیم اوره‌آز در مسیر بازیافت آرژینین (Arginine) گزارش شد. برتراند و دی‌ولف (۲)، تأثیر قابل توجه کاربرد نیکل بر رشد گیاهان تثبیت کننده نیتروژن را به اثبات رساندند. مزایای افزودن نیکل به محلول غذایی توسط خان و همکاران (۱۵) نیز به اثبات رسیده است.

در کشور ما سالانه بیش از ۱۶۰۰۰۰۰ تن اوره جهت تأمین نیاز گیاهان به نیتروژن تولید می‌شود. دلایل کاربرد زیاد کود اوره در کشاورزی شامل هزینه کم، کاربرد آسان و محتوای بالای نیتروژن آن می‌باشد (۱۸). با این وجود، در حال حاضر به دلیل تجمع آمونیوم آزاد شده طی جذب اوره و یا سمیت ترکیب اوره (۲۴)، امکان استفاده از کود اوره در سیستم‌های کشت بدون خاک سبزی‌های برگی وجود ندارد. بر اساس مطالعات انجام شده، مشاهده شده که کاربرد نیکل قادر به کاهش سمیت اوره در محیط است (۲۴) .

با توجه به اثبات ضرورت نیکل در گونه‌های متنوع گیاهی (۴و۲۶) و افزایش کاربرد اوره به عنوان منبع نیتروژن، شناخت ویژگی‌های شیمیایی و زیستی نیکل و تأثیر آن بر پتانسیل تولید محصولات کشاورزی تغذیه شده با اوره اهمیت ویژه‌ای دارد. دانش ما در مورد آثار زیستی نیکل بر رشد و عملکرد گیاهان هنوز بسیار محدود است. هم‌چنین اطلاعات کمی درباره اثر تغذیه نیکل بر کیفیت محصول و محتوای اوره در کاهو وجود دارد. بر این اساس، این پژوهش با هدف بررسی اثر تغذیه نیکل و اوره بر رشد و عملکرد کاهو و انباشتگی اوره در برگ‌های این گیاه انجام شده است.

مواد و روش‌ها

تیمارهای آزمایش و ترکیب محلول غذایی

این آزمایش گلخانه‌ای، در محیط آبکشت در گلخانه مرکز پژوهشی کشت بدون خاک دانشگاه صنعتی اصفهان، اجرا شد. این آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه عامل سطوح نیتروژن، منبع نیتروژن و غلظت نیکل انجام گرفت. سطوح نیتروژن شامل ۵، ۱۰ و ۲۰ میلی‌مولار نیتروژن بود که از دو منبع اوره و نیترات آمونیوم تأمین شد. نیکل نیز در دو سطح صفر و ۰/۰۴ میکرومولار از منبع کلرید نیکل به‌کار گرفته شد. ترکیب محلول غذایی در جدول ۱ ارائه شده است. پس از تعیین ترکیبات مورد نیاز برای ساخت محلول غذایی پایه و انجام محاسبات لازم، مراحل سه‌گانه کاشت، داشت و برداشت انجام شد.

کاشت بذر و نگه‌داری گیاهان

بذر کاهوی به‌کار رفته در این پژوهش از نوع *Lactuca sativa* L. Baker بود. برای کاشت نشا از بستر ماسه‌ای بهره‌گیری شد. بذرهای کاهو در ردیف‌هایی به فاصله ۱۰ سانتی‌متر و در عمق ۲ سانتی‌متری از سطح ماسه کشت شده و هر روز با آب مقطر آبیاری شدند. گیاهچه‌های کاهو پس از سه هفته، آماده انتقال به محلول غذایی شدند. محلول غذایی گیاهان هر دو هفته یکبار تعویض شده و در این فاصله زمانی، سطح محلول هر روز کنترل شده و در صورت کاهش حجم، با کاربرد آب مقطر به حجم

جدول ۱- ترکیب محلول غذایی به‌کار رفته در سطح اول نیتروژن

عناصر کم نیاز			عناصر پر نیاز		
نمک عنصر	غلظت (µM)	عنصر	نمک عنصر	غلظت عنصر (mM)	عنصر
سکوسترین آهن	۲۰	آهن	اوره یا نیترات آمونیوم	۵، ۱۰ و ۲۰*	نیتروژن
سولفات منگنز	۳	منگنز	سولفات پتاسیم	۲/۵	پتاسیم
سولفات روی	۲	روی	مونو فسفات پتاسیم	۰/۵	فسفر
سولفات مس	۱	مس	سولفات منیزیم	۰/۸	منیزیم
اسید بوریک	۲۴	بور	کلرید کلسیم	۲	کلسیم
مولیبدات سدیم	۰/۱	مولیبدن	مجموع ترکیبات سولفاته	۳/۵	سولفات

* بسته به تیمار مورد نظر، اوره با غلظت تعیین شده به محلول اضافه شده است.

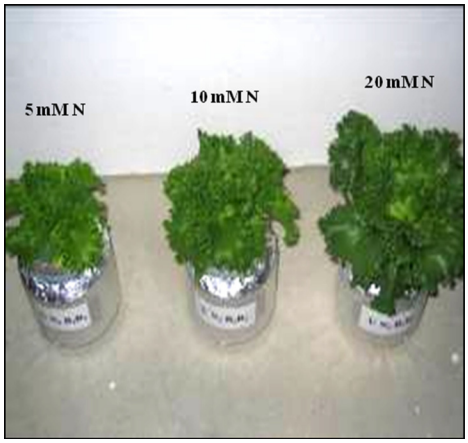
رسانده شد. پ- هاش محلول غذایی نیز هر دو روز یکبار کنترل شده و در صورت نیاز با کاربرد هیدروکسید سدیم یا اسید کلریدریک در پ- هاش حدود ۶/۰ تنظیم شد. نشانه‌های ظاهری گیاه از قبیل رنگ برگ، وضعیت عمومی شاخساره، ریشه و تعداد برگ‌ها به صورت روزانه کنترل شد. دمای گلخانه در روز، ۲۲ و در شب حدود ۱۶ درجه سلسیوس بود.

برداشت گیاهان و اندازه‌گیری وزن تر گیاه

گیاهان پس از گذشت شش هفته آماده برداشت شدند. پس از برداشت، شاخساره و ریشه گیاه از یکدیگر جدا شده و با کاربرد آب مقطر برای زدودن گرد و غبار از روی برگ‌ها به خوبی شستشو داده شدند. گیاهان، پس از شستشو و خارج شدن آب اضافی، وزن شدند.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم اوره‌آز

در این پژوهش برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم اوره‌آز از روش ارائه شده توسط فرانکن‌برگر و طباطبایی در سال ۱۹۸۲ استفاده شد (۹). در این روش از بخش هوا- خشک شده گیاه بهره‌گیری می‌شود. برای انجام آن در زمان برداشت، برگ‌هایی که به قدر کافی رشد کرده و هیچگونه نشانه‌های زردی و بافت‌مردگی در آنها نبود، انتخاب شدند. این برگ‌ها به مدت ۲۰ روز در دمای اتاق (حدود ۲۵ درجه سلسیوس) و در برابر جریان هوا قرار گرفته تا خشک شدند. برگ‌ها پس از خشک شدن، به خوبی آسیاب شده و از الک ۴۰ مش گذرانده شدند. سپس فعالیت آنزیم اوره‌آز اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم اوره-آز، ۰/۱ گرم از پودر گیاهی خشک شده، توزین گردیده و در لوله فالکون ریخته شد. سپس ۹ میلی‌لیتر بافر تریس (۰/۱ مولار، pH= ۷/۵) به آن اضافه شد. ظرف را به مدت چند ثانیه تکان داده تا محتویات آن به خوبی مخلوط شوند. بعد از آن ۱ میلی‌لیتر از محلول اوره (۰/۵ مولار) به آن اضافه شده و مجدداً مواد را به مدت چند ثانیه به هم زده تا به خوبی مخلوط شوند. سپس این مخلوط در دمای ۳۷ درجه سیلسیوس به مدت ۲ ساعت در درون گرمخانه نگه‌داری شد. بعد از سپری شدن این مدت، مخلوط را از گرمخانه خارج کرده و ۳۵ میلی‌لیتر از محلول کلرید پتاسیم (۲/۵ مولار)- سولفات نقره (۱۰۰ ppm) را به آن اضافه کرده و اجازه داده شد تا دمای آن به دمای محیط برسد. سپس حجم آن با محلول کلرید پتاسیم (۲/۵ مولار)- سولفات نقره (۱۰۰ ppm) به ۴۵ میلی‌لیتر رسانده شده و ۲۰ میلی‌لیتر از مخلوط حاصل برای تجزیه با دستگاه تقطیر برداشته شد. غلظت نیتروژن آمونیاکی با این دستگاه تعیین شد. در نهایت فعالیت آنزیم اوره‌آز با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد:



شکل ۱. افزایش شادابی گیاه (بوته سمت راست) با افزایش غلظت نیتروژن محلول غذایی از منبع اوره.

$$EA= (N_a\times(V_c-V_b)\times 14)\times(V_u/V_t)\times(S/1000)\times(1/t) \quad [1]$$

که:

N_a = نرمالیته اسید سولفوریک (۰/۰۰۵ نرمال)

V_c = حجم اسید مصرفی برای نمونه

V_b = حجم اسید مصرفی برای شاهد

V_u= حجم عصاره مصرفی

V_t= حجم عصاره نهایی

S= وزن نمونه گیاه

t= زمان خوابانیدن

لازم به ذکر است که فعالیت آنزیم (EA) بر حسب میلی‌گرم آمونیوم بر کیلوگرم وزن خشک در ساعت بیان می‌شود.

اندازه‌گیری غلظت اوره

برای عصاره‌گیری و تعیین غلظت اوره در برگ از روش عصاره‌گیری در آب داغ (۱۶) بهره‌گیری شد. به ازای هر میلی‌لیتر آب مقطر از ۲۰ میلی‌گرم ماده خشک گیاه استفاده شد. بدین ترتیب ۰/۱ گرم ماده خشک برگ گیاه توزین شده و داخل لوله‌های آزمایش شیشه‌ای قرار داده شد. سپس این لوله‌ها به مدت ۵-۲ دقیقه در درون آب در حال جوش قرار داده شده تا اوره آن خارج شود. نمونه‌ها با کاربرد سانتریفوژ مدل FALCON 6/300 با سرعت ۳۵۰۰ دور در دقیقه و به مدت ۶۰ دقیقه برای ته‌نشینی پروتئین‌ها سانتریفوژ شده و از کاغذ صافی واتمن ۴۲ عبور داده شد. عصاره به‌دست آمده به آزمایشگاه طبی مرکز بهداشتی درمانی دانشگاه صنعتی اصفهان برای تعیین غلظت اوره انتقال یافت. اساس آزمایش انجام شده برای اندازه‌گیری اوره در آزمایشگاه بدین گونه است که در اثر هیدرولیز اوره توسط آنزیم اوره‌آز، آمونیاک پدید می‌آید که در کنار نیتروپروساید سدیم، هیپوکلریت سدیم و سالیسیلات، کمپلکس رنگی قابل سنجش در طول موج‌های ۵۸۰ تا ۶۲۰ نانومتر می‌سازد.

تجزیه آماری

تجزیه‌های آماری با کاربرد نرم‌افزار SAS انجام شد. مقایسه میانگین‌ها با کاربرد آزمون LSD در سطح ۵٪ انجام گرفت. شکل‌ها با نرم‌افزار Excel 2007 ترسیم شدند.

نتایج و بحث

نشانه‌های ظاهری گیاه

بررسی نشانه‌های ظاهری گیاه نشان داد که افزایش سطح نیتروژن محلول غذایی از منبع اوره موجب شادابی و تازگی بیشتر گیاه شد (شکل ۱). بوته‌های رشد کرده در محلول غذایی دارای ۱۰ و ۲۰ میلی‌مولار نیتروژن از منبع اوره، در شرایط بدون نیکل نشانه‌های ناشی از انباشتگی اوره که به شکل سوختگی کناره برگ‌های مسن بود را نشان دادند. این نشانه‌ها با افزودن نیکل به محلول غذایی به‌طور کامل از بین رفته و یا به شدت کم شده است (شکل ۲).

وزن تر شاخساره

نتایج آماری به‌دست آمده از جدول تجزیه واریانس نشان داد که اثر سه عامل تغذیه نیکل، منبع نیتروژن و غلظت نیتروژن بر عملکرد وزن تر شاخساره معنی‌دار (در سطح ۵٪) بود (جدول ۲). بوته‌های کاهوی رشد کرده در محلول غذایی دارای

شکل ۲. نشانه‌های سوختگی به‌دست آمده از انباشتگی اوره در برگ‌های مسن گیاه

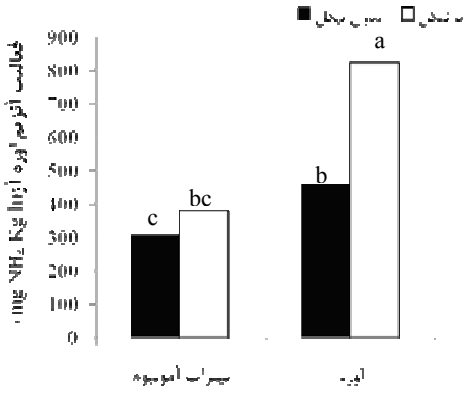
جدول ۲. تجزیه واریانس اثرهای اصلی و متقابل فاکتورها بر وزن تر و فعالیت آنزیم اوره‌آز شاخساره

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات وزن تر	میانگین مربعات فعالیت آنزیم اوره‌آز
منبع نیتروژن	۱	۶۰۵۶**	۱۰۴۶۴۸۴**
سطح نیکل	۱	۱۴۶۸/۳۲*	۵۶۲۷۷۰**
سطح نیتروژن	۲	۶۰۰۱۳**	۴۰۷۳۶۲**
منبع نیتروژن × سطح نیکل	۱	۲۷۵/۶۱^{ns}	۲۵۰۱۱۵**
منبع نیتروژن × سطح نیتروژن	۲	۴۰/۳۶^{ns}	۲۷۱۴^{ns}
سطح نیتروژن × سطح نیکل	۲	۸۸/۰۶^{ns}	۱۵۱۱۷^{ns}
اثرات متقابل سه‌گانه	۲	۴۵/۱۳^{ns}	۱۶۷۹^{ns}
ضریب تغییرات	–	۱۳/۹۶	۲۸/۱۵

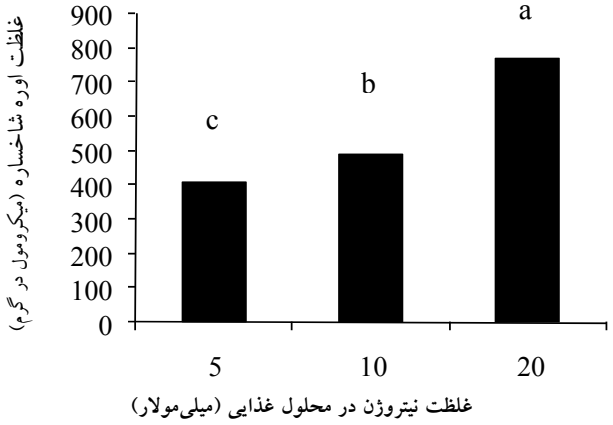
****،* و** ns به ترتیب معنی‌دار در سطوح احتمال ۱٪ و ۵٪ و بدون اختلاف معنی‌دار.

نیترات آمونیوم به عنوان منبع نیتروژن، عملکرد وزن تر شاخساره بیشتری در مقایسه با بوته‌های کاهوی تغذیه شده با اوره تولید کردند. افزایش سطح نیتروژن از هر دو منبع کودی، موجب افزایش معنی‌دار (در سطح ۵٪) عملکرد شاخساره کاهو شد. تغذیه نیکل نیز سبب افزایش معنی‌دار (در سطح ۵٪) وزن تر شاخساره شد. اثر متقابل سه عامل تغذیه نیکل، منبع نیتروژن و غلظت نیتروژن بر وزن تر شاخساره معنی‌دار نبود (جدول ۲). بیشترین وزن تر شاخساره مربوط به بوته‌های رشد کرده در محلول غذایی دارای ۲۰ میلی‌مولار نیتروژن از منبع نیترات آمونیوم و وجود نیکل در محلول دیده شد. کمترین وزن تر شاخساره کاهو نیز وابسته به تیمار ۵ میلی‌مولار نیتروژن از منبع اوره و بدون نیکل بود.

نتایج به‌دست آمده از این پژوهش با یافته‌های نیکولاد و بلوم (۱۹) همخوانی دارد. وجود نیکل در محلول غذایی گوجه‌فرنگی، سبب افزایش رشد گیاهچه‌هایی شد که تنها منبع نیتروژن آنها تغذیه برگی اوره بود. طباطبایی (۲۲) در پژوهشی در مورد خیار دریافتند که با افزودن مقدار ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر نیکل به محلول غذایی، می‌توان از اوره به عنوان منبع نیتروژن در محیط آبکشت بهره‌گیری کرد. یافته‌های این پژوهشگر نشان



شکل ۳. اثر متقابل منبع نیتروژن و تغذیه نیکل بر فعالیت آنزیم اوره‌آز برگ



شکل ۴. اثر افزایش غلظت نیتروژن در محلول غذایی بر غلظت اوره شاخساره

داد که کاربرد ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر نیکل سبب افزایش معنی‌دار سطح برگ و عملکرد خیار شد.

فعالیت آنزیم اوره‌آز

بررسی آماری نتایج به‌دست آمده از اندازه‌گیری فعالیت آنزیم اوره‌آز نشان داد که اثر سه عامل تغذیه نیکل، منبع نیتروژن و سطح نیتروژن بر فعالیت این آنزیم معنی‌دار است (جدول ۲). تغذیه نیکل سبب افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم اوره‌آز شد. هم‌چنین در مقایسه بین دو منبع نیتروژن، فعالیت آنزیم اوره‌آز در شرایط کاربرد اوره به طرز چشم‌گیری بیشتر از زمان کاربرد نیترات آمونیوم شد.

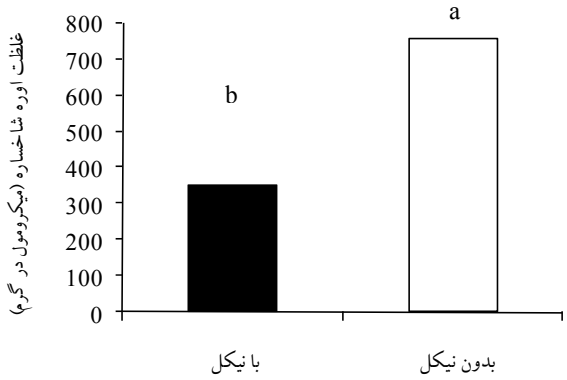
بررسی اثر متقابل منبع نیتروژن در تغذیه نیکل نشان داد که افزودن نیکل به محلول غذایی دارای اوره، سبب افزایش معنی‌دار (در سطح ۵٪) فعالیت آنزیم اوره‌آز شد. افزودن نیکل به محلول غذایی دارای اوره، فعالیت آنزیم اوره‌آز برگ کاهو را بین ۱/۵ تا ۳ برابر در مقایسه با تیمار بدون نیکل افزایش داد (شکل ۳). در حالی که در گیاهان رشد کرده در محلول غذایی دارای نیترات آمونیوم، افزودن نیکل تأثیر معنی‌داری بر فعالیت آنزیم اوره‌آز شاخساره نداشت.

علت افزایش فعالیت آنزیم اوره‌آز با افزایش سطح نیتروژن محلول غذایی از منبع اوره این است که اوره به عنوان بستره واکنش آنزیم بوده و با افزایش غلظت اوره در محیط کشت، مقدار بستره آنزیم نیز افزایش یافته و در نتیجه فعالیت آنزیم اوره‌آز زیاد شده است (۱۴). هم‌چنین بودن نیکل در محلول غذایی و جذب آن توسط گیاه، سبب فعال شدن آنزیم اوره‌آز شد. اوره‌آز یک آنزیم وابسته به نیکل بوده و در بین آنزیم‌ها و پروتئین‌های وابسته به نیکل که تاکنون در سیستم‌های زیستی شناخته شده‌اند، تنها آنزیمی است که در گیاه فعالیت می‌کند (۱).

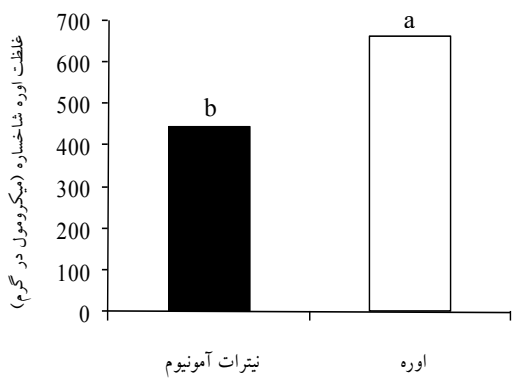
مشابه نتایج به دست آمده از این پژوهش، گرنداس و همکاران نیز در سال‌های ۱۹۹۷ تا ۱۹۹۹ اثر کمبود نیکل را بر رشد تنباکو، کدو مسمایی، برنج و کلزای تغذیه شده با اوره اثبات کردند (۱۰،۱۱،۱۲و۱۳). این پژوهندگان مشاهده کردند که افزودن نیکل به محیط رشد کلزای بهاره تغذیه شده از دو منبع نیترات آمونیوم و اوره به عنوان منبع نیتروژن، سبب افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم اوره‌آز در ریشه و برگ این گیاه شد. کاربرد نیکل، فعالیت آنزیم اوره‌آز برگ را سه تا چهار برابر افزایش داد (۱۳).

غلظت اوره

نتایج غلظت اوره شاخساره کاهو تحت تأثیر منبع نیتروژن، سطوح نیتروژن و تغذیه نیکل در شکل‌های ۴ تا ۶ نشان داده شده است. چنانچه در شکل ۴ دیده می‌شود با افزایش مقدار



شکل ۵ . اثر تغذیه نیکل بر غلظت اوره شاخساره



شکل۶ . تأثیر منبع نیتروژن بر غلظت اوره شاخساره کاهو

جدول ۳. اثر متقابل منبع نیتروژن و تغذیه نیکل بر غلظت اوره شاخساره

منبع نیتروژن	بدون نیکل	با نیکل
نیترات آمونیوم	۵۵۴/۲^{b}	۳۳۴/۷^{c}
اوره	۹۶۰/۴^{a}	۳۷۰/۰۶^{c}

نیتروژن، غلظت اوره برگ افزایش یافت، به‌طوری که انباشتگی بالای اوره در برگ مشاهده شد و همانگونه که در شکل۲ دیده می‌شود، غلظت زیاد اوره در برگ منجر به سمیت اوره و ایجاد نشانه‌های سوختگی در لبه‌های برگ‌های مسن به ویژه در دو سطح ۱۰ و ۲۰ میلی‌مولار نیتروژن شد. با افزودن نیکل به محلول غذایی، غلظت اوره شاخساره کاهو به گونه چشم‌گیری (در سطح ۵٪) کاهش یافت (شکل ۵). در نتیجه، نشانه‌های سوختگی ناشی از انباشتگی و سمیت اوره در برگ گیاهان تغذیه شده با نیکل به‌طور کامل از بین رفته و یا به شدت کاهش یافت.

میزان اوره انباشته شده در بوته‌های کاهوی رشد کرده در محلول غذایی دارای اوره به گونه چشم‌گیری بیشتر از غلظت اوره شاخساره گیاهان رشد کرده در محلول غذایی دارای نیترات آمونیوم بود (شکل ۶).

کاهش غلظت اوره برگ کاهو در بوته‌های رشد کرده در محلول غذایی دارای نیکل به دلیل افزایش فعالیت آنزیم اوره‌آز می‌باشد. اوره در اثر فعالیت آنزیم اوره‌آز هیدرولیز شده و به آمونیوم و دی‌اکسید کربن تبدیل می‌گردد. آمونیوم آزادشده در فرایند پروتئین‌سازی در گیاه ایفای نقش کرده و وارد ساختارهای آلی گیاه می‌شود (۱).

بررسی اثر متقابل تغذیه نیکل و منبع نیتروژن بر غلظت اوره شاخساره نشان داد که در هر دو منبع اوره و نیترات آمونیوم، کاربرد نیکل در محلول غذایی سبب کاهش معنی‌دار غلظت اوره شاخساره شد (جدول ۳). این پدیده به دلیل افزایش فعالیت آنزیم اوره‌آز در اثر افزودن نیکل و هیدرولیز بیشتر اوره در گیاه می‌باشد. تغذیه نیکل در بوته‌های کاهوی رشد کرده در محلول غذایی دارای اوره، با افزایش فعالیت آنزیم اوره‌آز سبب افزایش کارایی مصرف کود اوره شده و توانایی گیاه را در جذب و ذخیره‌سازی آمونیوم به‌دست آمده از فرایند هیدرولیز اوره افزایش داده است.

اسکیو و همکاران (۷ و ۸) در دو مطالعه جداگانه در سال‌های ۱۹۸۳ و ۱۹۸۴ نشان دادند که در گیاهان تثبیت‌کننده نیتروژن یا در گیاهانی که از نیترات و آمونیوم به عنوان منبع نیتروژن استفاده می‌کنند، کمبود نیکل به کاهش عمومی رشد گیاه همراه با توسعه لکه‌های بافت‌مردگی در برگ‌های جوان گیاه می‌انجامد. این نشانه‌ها می‌تواند به دلیل غلظت زیاد اوره و در نتیجه، سمیت ناشی از آن باشد. واکر و همکاران (۲۵) دیدند

که در بقولات، کمبود نیکل منجر به کاهش فعالیت آنزیم اوره‌آز و به دنبال آن سمیت اوره و آشکار شدن نشانه‌های بافت‌مردگی و نوک‌سوختگی در برگ می‌شود.

نتیجه‌گیری

کاربرد نیکل در محلول‌های غذایی که در آنها از اوره به عنوان تنها منبع نیتروژن بهره‌گیری می‌شود، می‌تواند عملکرد گیاه را افزایش داده و از انباشتگی اوره و ایجاد سمیت ناشی از آن در گیاه جلوگیری به عمل آورد. بنابراین کاربرد نیکل به عنوان یک عنصر ضروری کم‌نیاز، به ویژه در گلخانه‌های تجاری آبکشت، باعث افزایش عملکرد محصول و بهبود بهره‌وری اقتصادی تولید می‌شود.

از سوی دیگر، یکی از دشواری‌هایی که در حال حاضر در کشت‌های بدون خاک (هیدروپونیک) مطرح است این است که در محلول‌های غذایی برای تأمین نیتروژن از منابعی به غیر از منابع نیتراته نمی‌توان استفاده کرد. در حالی‌که این ترکیبات، گران‌قیمت بوده و هزینه‌های اقتصادی در سیستم‌های کشت بدون خاک را بالا می‌برند. بنابراین می‌توان گفت که یافتن یک جانشین مناسب برای این ترکیبات در این سیستم‌ها می‌تواند هزینه‌های اقتصادی مدیریت سیستم‌های کشت بدون خاک را کاهش دهد. از بین کودهای مختلف نیتروژن‌دار، اوره به دلیل ارزان بودن، گزینه مناسبی می‌باشد. بر اساس یافته‌های این پژوهش، افزودن نیکل به محلول غذایی دارای اوره، امکان کاربرد این کود در سیستم‌های آبکشت به عنوان منبع تأمین‌کننده نیتروژن را فراهم می‌سازد.

منابع مورد استفاده

1. Agnieszka S. and R. Brodzik. 2000. Plant ureases: Roles and regulation. Acta. Biochim. Pol. 4: 1189-1195.
2. Bertrand, D. and A. de Wolf. 1967. Nickel, a dynamic trace element for higher plants. C. R. Academic Sci. 265: 1053-1055.
3. Brown, P.H., R.M. Welch and E.E. Cary. 1987. Nickel: A micronutrient essential for higher plants. Plant Physiol. 85: 801-803.
4. Dixon, N.E., C. Gazzola, R.L. Blakeley and B. Zerner. 1975. Jack bean urease (EC 3.5.1.5). A metalloenzyme. A simple biological role for nickel. J. Amer. Chem. Soc. 97: 4131-4133.
5. Eskew, D.L. and R.M. Welch. 1982. Nickel supplementation 1 $\mu g\ L^{-1}$ prevents leaflet tip necrosis in soybeans grown in nutrient solutions purified using 8-hydroxy quinoline-controlled pore glass chromatography. Plant Physiol. 76: 103-105.
6. Eskew, D.L., R.M. Welch and E.E. Cary. 1982. A simple plant nutrient solution purification method for effective removal of trace metals using controlled pore glass 8-hydroxyquinoline chelation column chromatography. Plant Physiol. 76: 113–115.
7. Eskew, D.L., R.M. Welch and W.A. Norvell. 1983. Nickel: an essential micronutrient for legumes and possibly all higher plants. Science 222: 621-623.
8. Eskew D.L., R.M. Welch and W.A. Norvell. 1984. Nickel in higher plants: Further evidence for an essential role. Plant Physiol. 76: 691-693.
9. Frankenberger, W.T. and M.A. Tabatabai. 1982. Amidase & urease activity in plants. Plant Soil 64: 153-166.
10. Gerendas, J. and S.B. Sattelmacher. 1997. Significance of N source (urea vs. NH_4NO_3) and Ni supply for growth, urease activity and nitrogen metabolism of zucchini (*Cucurbita pepo* convar. *giromontiina*). Plant Soil 196: 217-222.
11. Gerendas, J., S.B. Sattelmacher. 1997. Significance of Ni supply for growth, urease activity and the contents of urea, amino acids and mineral nutrients of urea-grown plants. Plant Soil 190: 153-162.
12. Gerendas, J., Z. Zhu and B. Sattelmacher. 1998. Influence of N and Ni supply on nitrogen metabolism and urease activity in rice (*Oryza sativa* L.). J. Exp. Bot. 49: 1545-1554.
13. Gerendas, J. and S.B. Sattelmacher. 1999. Influence of Ni supply on growth, urease activity and nitrogen metabolites of *Brassica napus* grown with NH_4NO_3 or urea as nitrogen source. Ann. Bot. 83: 65-71.
14. Hine, J. C. and J. I. Sprent. 1988. Growth of *Phaseolus vulgaris* on various nitrogen sources: The importance of urease. J. Exp. Bot. 39: 1504-1512.
15. Khan, N.K., M. Wantanabe and Y. Wantanabe. 1997. Effect of different concentrations of urea with or without

nickel on spinach (*Spinacia oleraceae* L.) under hydroponic culture. PP. 85–86. *In*: Ando, T., K. Fujita, T. Mae, S. Matsumoto, S. Mori and J. Sekiya (Eds.), Plant Nutrition for Sustainable Food Production and Environment, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.

16. Lang, B. and W.M. Kaiser. 1994. Solute and energy status of roots of barley plants cultivated at different pH on nitrate- or ammonium nitrogen. New Phytol. 128: 451-459.
17. Marschner, H. 1995. Mineral Nutrition of Higher Plants. 2nd ed., Academic Press, London.
18. Mobley, H.L. and R.P. Hausinger. 1989. Microbial ureases: Significance, regulation, and molecular characterization. Microbiol. Rev. 53: 85-108.
19. Nicoulad, B.A.L. and A.J. Bloom. 1998. Nickel supplements improve growth when foliar urea is the sole nitrogen source for tomato. J. Amer. Soc. Hortic. Sci. 123: 556-559.
20. Phipps, D.A. 1976. Metals and Metabolism. Clarendon Press, Oxford, pp. 28-56.
21. Polacco, J.C. 1977. Nitrogen metabolism in soybean tissue culture. II. Urea utilization and urease synthesis requires Ni^{2+}. Plant Physiol. 59: 827-830.
22. Roach, W.A. and C. Barclay. 1946. Nickel and multiple trace deficiencies in agricultural crops. Nature 157: 696.
23. Tabatabaei, S.J. 2009. A supplement of nickel affect yield, quality, and nitrogen metabolism when urea or nitrate is the sole nitrogen source for cucumber. Plant Nutr. 32: 713-724.
24. Tan, X.W., H. Ikeda and M. Oda. 2000. Effects of Ni concentration in the nutrient solution on the nitrogen assimilation and growth of tomato seedling in hydroponic culture supplied with urea or nitrate as the sole nitrogen source. Sci. Hort. 84: 265-273.
25. Walker, C.D., R.D. Graham, J.T. Madison, E.E. Cary and R.M. Welch. 1985. Effects of nickel deficiency on some nitrogen metabolites in cow peas (*Vigna unguiculata)*. Plant Physiol. 79: 474-479.
26. Wood, B.W., C.C. Reilly and A.P. Nyczepir. 2004. Mouse-ear of pecan: A nickel deficiency. HortSci. 39: 1238-1242.