اثر اوره و نیکل بر رشد، خصوصیات فیزیولوژیک و غلظت نیتروژن کل کاهو در آبکشت

حسین نظری ممقانی[۱*]، سیدجلال طباطبائی[۱] و صاحبعلی بلند نظر[۱]

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۴/۳ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۷/۲۰)

چکیده

کودهای نیتراته عمده‌ترین منابع نیتروژنه محلول‌های غذایی هستند. جایگزینی کودهای نیتراته با اوره راه‌حلی جهت کاهش این وابستگی است. همچنین، نیکل برای فعالیت آنزیم اوره‌آز گیاهان تغذیه شده با اوره ضروری می‌باشد. بنابراین، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با پنج سطح اوره (صفر، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر) و دو سطح نیکل (صفر و ۲ میلی‌گرم در لیتر) در چهار تکرار در شرایط آبکشت روی کاهوی رقم سیاهو (*Lactuca sativa* cv. Siyahoo) اجرا شد. نتایج آزمایش نشان داد که بیشترین وزن تر و خشک برگ و ساقه در غلظت ۵۰ میلی‌گرم در لیتر اوره مشاهده شد. سطح برگ در غلظت‌های بیش از ۲۵ میلی‌گرم در لیتر اوره کاهش یافت. بیشترین شاخص کلروفیل و حداکثر عملکرد فتوشیمیایی کوانتومی فتوسیستم ۲ (F_v/F_m) به‌ترتیب در تیمارهای ۱۰۰ و ۷۵ میلی‌گرم در لیتر اوره حاصل شد. غلظت نیتروژن کل برگ با افزایش غلظت اوره به‌طور معنی‌داری افزایش یافت و بیشترین غلظت نیتروژن کل در تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر اوره به‌دست آمد. کاربرد نیکل، عملکرد و خصوصیات فیزیولوژیک کاهو را کاهش داد؛ در حالی که اثر معنی‌داری بر غلظت نیتروژن کل نداشت.

واژه‌های کلیدی: کود نیتراته، کمبود نیکل، گیاهان عالی، فتوسنتز

مقدمه

اوره و نیترات از شکل‌های رایج نیتروژن مورد استفاده در کشاورزی می‌باشند. کود اوره به طور گسترده و جهانی برای تأمین نیتروژن گیاهان استفاده می‌شود و مناسب بودن آن برای کشت محصولات مزرعه‌ای به خوبی ثابت شده است. تقریباً نصف نیتروژن مورد استفاده برای تولید محصولات کشاورزی در جهان، کود اوره است. در سال ۱۳۸۶، در میان کودهای نیتروژنه مصرفی در ایران، کود اوره با ۹۰/۹ درصد رتبه اول را به خود اختصاص داد (۵). دلایل کاربرد زیاد کود اوره در کشاورزی شامل هزینه کم (ارزانی کود)، کاربرد آسان و محتوای زیاد نیتروژن آن می‌باشد (۱۹). در حال حاضر، منابع نیتراته عمده‌ترین منابع تأمین نیتروژن محلول‌های غذایی برای گیاهان عالی، به ویژه سبزی‌ها (۱۰)، در کشت‌های هیدروپونیک می‌باشند. در حالی که این ترکیبات گران‌قیمت بوده و هزینه‌های تولید در سیستم‌های کشت بدون خاک را افزایش می‌دهند.

استفاده از اوره به عنوان منبع نیتروژن برای محصولات سیستم‌های هیدروپونیک هنوز نیاز به بررسی دارد. جایگزینی اوره در کشت‌های هیدروپونیک سبزی‌ها به جای کودهای نیتراته نه تنها هزینه‌های تولید را کاهش می‌دهد بلکه قادر به جلوگیری از تجمع بیش از حد نیترات در گیاهان است (۱۷). با این وجود، در حال حاضر، به دلیل تجمع آمونیوم آزاد شده طی جذب اوره و یا سمیت ترکیب اوره (۳۰)، استفاده از کود اوره، به‌ویژه در سبزی‌های برگی، باعث بروز مشکلاتی شده است. اوره قبل از هیدرولیز شدن به آمونیوم و دی‌اکسید کربن توسط

۱. گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

*: مسول مکاتبات، پست الکترونیکی: Hoseinnazari6790@gmail.com

جدول ۱. محلول غذایی هوگلند تغییر یافته یا نصف غلظت

عنصر	نام کود	غلظت عنصر (mg/L)
N	$Ca(NO_3)_2$ KNO_3	۱۰۰
K	KH_2PO_4 KNO_3	۱۰۰
Ca	$Ca(NO_3)_2$	۵۵/۵
Mg	$MgSO_4$	۲۴
P	KH_2PO_4	۳۰
Fe	FeEDDHA	۲/۹
Mn	$MnSO_4$	۰/۳
B	H_3BO_3	۰/۳
Zn	$ZnSO_4$	۰/۰۵
Cu	$CuSO_4$	۰/۰۳
Mo	H_2MoO_4	۰/۰۱

اوره‌آز، نمی‌تواند مستقیماً در متابولیسم گیاه مورد استفاده قرار گیرد و سطوح زیاد اوره در متابولیسم گیاه باعث سمیت و سوختگی برگ می‌شود. یکی از راه‌کارهای غلبه بر سمیت اوره در گیاهان عالی، استفاده از نیکل برای افزایش فعالیت آنزیم اوره‌آز است (۸ و ۱۸). بنابراین، استفاده از اوره باید با فعالیت اوره‌آز همراه باشد. اگرچه اوره‌آز برای اولین بار توسط سامنر (۲۷) در سال ۱۹۲۶ خالص سازی شد، اما در حدود ۳۸ سال است که نقش نیکل به عنوان جزء سازنده این آنزیم به رسمیت شناخته شده است (۱۱).

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 شد (۲۶). در بوته‌های کاهوی رشد کرده در محلول غذایی حاوی اوره، کاربرد نیکل سبب افزایش معنی‌دار وزن تر ریشه شد (۳۰). طباطبایی (۲۹)، در پژوهشی در مورد خیار گزارش کرد که با افزودن نیکل به محلول غذایی، می‌توان از اوره به عنوان منبع نیتروژن در محیط آبکشت استفاده کرد. بنابراین، کاهش هزینه‌های تولید و غلظت نیترات در کشت هیدروپونیک کاهو بدون تأثیر بر عملکرد مهم است. بر این اساس، پژوهش حاضر با هدف مطالعه: الف) اثر نیکل و اوره بر صفات فیزیولوژیک کاهو، ب) استفاده از اوره در محلول غذایی به عنوان منبع نیتروژن ارزان قیمت و ج) تعیین غلظت‌های مناسبی از ترکیب دو کود اوره و نیکل به منظور توصیه مناسب کودی انجام شد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در گلخانه تحقیقات هیدروپونیک دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز، به مختصات جغرافیایی ′۲۷ °۳۸ عرض شمالی، ′۲۷ °۴۶ طول شرقی و ارتفاع ۱۳۶۰ متر از سطح دریا انجام شد. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی، با دو فاکتور اوره در پنج سطح (صفر، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر، با علائم U_0، U_{25}، U_{50}، U_{75} وU_{100}) و نیکل در دو سطح (صفر و ۲ میلی‌گرم در لیتر، با علائم Ni_0 و Ni_2) از منبع سولفات نیکل ($NiSO_4$) در چهار تکرار و به صورت آبکشت اجرا شد. ابتدا بذرهای کاهوی رقم سیاهو (*Lactuca sativa* cv. Siyahoo) در نیمه دوم شهریور در میان پارچه نخی مرطوب جوانه‌دار شدند. زمانی که اندازه ریشه‌چه به ۲ میلی‌متر رسید به گلدان‌های ۱۰۰ میلی‌لیتری حاوی پرلایت دانه متوسط که در ته هرکدام سوراخ‌هایی برای خروج ریشه‌ها تعبیه شده بود، منتقل شده و درون تشت حاوی محلول غذایی کامل رقیق شده (حاوی تمام عناصر غذایی ضروری برای رشد گیاه که چهار برابر رقیق شده بود) قرار گرفتند. این مرحله تا ۴ برگی شدن گیاهچه‌ها ادامه داشت. گیاهان در مرحله ۴ برگی به سیستم آبکشت (گلدان‌های ۵ لیتری حاوی محلول غذایی نصف هوگلند (جدول ۱) منتقل شده و همزمان با آن تیمارها اعمال شدند.

pH محلول غذایی با افزودن ۰/۱ میلی‌لیتر در لیتر اسید نیتریک در محدوده ۶/۵ تنظیم شد. برای جلوگیری از تغییر غلظت عناصر غذایی طی آزمایش، محلول غذایی هر ۲۰ روز تعویض گردید. میانگین دمای روزانه ۲±۲۰ و میانگین دمای شبانه ۲±۱۴ درجه سلسیوس بود. به منظور تأمین اکسیژن مورد نیاز ریشه‌ها، تهویه به‌طور منظم انجام شد، به‌طوری که هر

جدول ۲. نتایج تجزیه واریانس وزن تر و خشک برگ، ساقه و ریشه کاهو

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات				
		وزن تر برگ	وزن تر ساقه	وزن تر ریشه	وزن خشک برگ	وزن خشک ساقه	وزن خشک ریشه
اوره	۴	۸۲۹۶/۸۳۸**	۴۵/۷۸۸**	۳۲/۳۰۲^{ns}	۵۹/۶۰۸**	۰/۳۱۷**	۰/۵۴۶**
نیکل	۱	۴۶۴۴/۰۲۵**	۷/۲۲۵ ^{ns}	۴۴۱/۵۶۰^{ns}	۳۷/۹۶۷**	۲/۳۰۴**	۷/۷۷۹**
اوره× نیکل	۴	۷۵۹/۹۶۲**	۳۹/۹۱۲**	۵۸/۰۳۲^{ns}	۲/۳۵۸ ^{ns}	۰/۳۷۱**	۰/۶۳۹**
خطا	۲۷	۴۸/۷۲۹	۲/۶۲۵	۱۸۲/۵۸۳	۰/۸۷۵	۰/۰۰۹	۰/۰۲۶

** و ns به‌ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ و بدون اختلاف معنی‌دار

گلدان در دقیقه ۲ لیتر هوا دریافت می‌کرد. برداشت گیاهان حدود ۵۰ روز پس از اعمال تیمارها انجام شد و روزانه یک تکرار از هر تیمار برداشت گردید. اندام‌های مختلف (برگ، ساقه و ریشه) از هم جدا شد و همزمان وزن تر هرکدام جداگانه اندازه‌گیری شد. وزن خشک هر اندام نیز پس از قرار دادن آن در آون ۸۰ درجه سلسیوس به مدت ۷۲ ساعت اندازه‌گیری شد. قبل از خشک کردن برگ‌ها در آون سطح برگ با استفاده از دستگاه سطح برگ‌سنج (Li-Cor, Model Li-300, USA) اندازه‌گیری شد. یک هفته قبل از برداشت گیاهان هم شاخص کلروفیل با استفاده از دستگاه اسپد (SAPD 502, SPAD Minolta, Osaka, Japan) اندازه‌گیری شد، به‌طوری که در هر بوته از برگ‌های توسعه یافته و در حال توسعه ۱۵ تکرار شاخص کلروفیل اندازه‌گیری شد و میانگین آنها به عنوان شاخص کلروفیل بوته مورد نظر ثبت شد. همزمان با شاخص کلروفیل، حداکثر عملکرد فتوشیمیایی کوانتومی فتوسیستم ۲ (F_v/F_m) نیز با استفاده از دستگاه کلروفیل‌متر (Chlorophyll Handy pea Fluorescence, Hansatech, UK meter) در برگ‌های توسعه یافته و در حال توسعه اندازه‌گیری شد و میانگین اعداد به‌دست آمده از کلیپس‌های تاریک کننده نصب شده در هر بوته به عنوان مقدار فلورسنس (F_v/F_m) آن بوته ثبت شد. حداکثر عملکرد فتوشیمیایی کوانتومی فتوسیستم ۲ شامل فلورسنس کمینه (F_o)، فلورسنس بیشینه (F_m) و فلورسنس متغیر (F_v) است. مقدار حداکثر عملکرد فتوشیمیایی کوانتومی فتوسیستم ۲ بر اساس فرمول $(F_m–F_o)/F_m$ توسط دستگاه محاسبه شده و به‌صورت یک عدد خالص با عنوان (F_v/F_m) نشان داده می‌شود. نیتروژن کل به روش کجلدال اندازه‌گیری شد. تجزیه آماری داده‌ها در نرم‌افزار SPSS16 در سطح احتمال ۵٪ انجام شد. مقایسه میانگین داده‌ها بر اساس آزمون چند دامنه دانکن بود و رسم نمودارها در نرم‌افزار Excel 2010 صورت گرفت.

نتایج و بحث

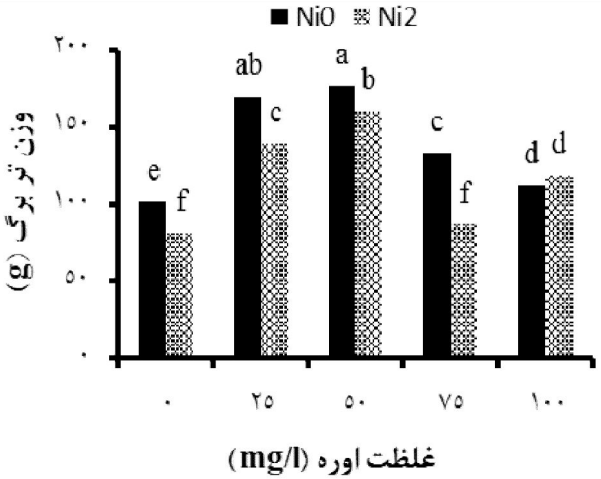
نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر غلظت‌های مختلف اوره بر وزن تر و خشک برگ و ساقه و همچنین وزن خشک ریشه کاهو معنی‌دار ($P\leq ۰/۰۱$) بود (جدول ۲). کاربرد نیکل بجز بر وزن تر ساقه و ریشه بر بقیه صفات رویشی اثر معنی‌داری ($P\leq ۰/۰۱$) داشت (جدول ۲). همچنین، اثر متقابل غلظت‌های مختلف اوره و نیکل، وزن تر برگ و ساقه و وزن خشک ساقه و ریشه را به‌طور معنی‌داری ($P\leq ۰/۰۱$) تحت تأثیر قرار داد (جدول ۲).

در بررسی اثر غلظت‌های اوره، بیشترین و کمترین عملکرد به‌ترتیب در غلظت‌های U_{50} و شاهد (U_0) مشاهده شد. روند تأثیر غلظت‌های مختلف اوره بر خصوصیات رویشی کاهو به‌گونه‌ای بود که با افزایش غلظت اوره در محلول غذایی تا سطح U_{50} عملکرد نیز افزایش معنی‌داری یافت. اما با افزایش غلظت اوره به بیش از U_{50}، عملکرد کاهش معنی‌داری نشان داد. در تیمار U_{50}، وزن تر برگ در مقایسه با شاهد و تیمار

جدول ۳. اثر غلظت‌های مختلف اوره بر وزن تر و خشک برگ و ساقه و وزن خشک ریشه کاهو

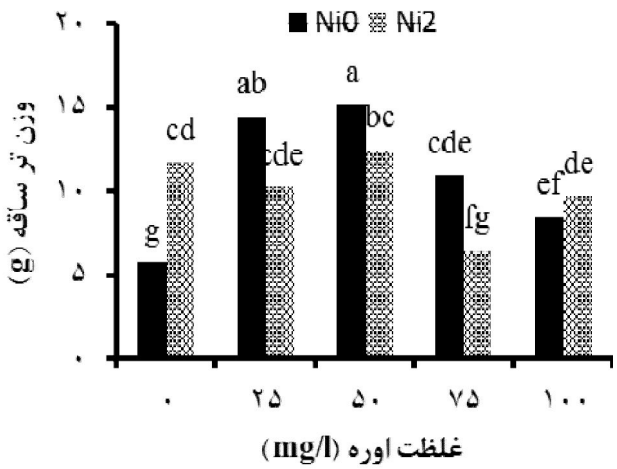
غلظت اوره (mg/L)	وزن تر برگ (g/plant)	وزن خشک برگ (g/plant)	وزن تر ساقه (g/plant)	وزن خشک ساقه (g/plant)	وزن خشک ریشه (g/plant)
U_0	۹۱/۵۰d	۸/۹۶d	۸/۷۵b	۰/۷۰d	۲/۸۳c
U_{25}	۱۵۴/۶۲b	۱۲/۹۵b	۱۲/۳۷a	۰/۹۰ c	۳/۳۷a
U_{50}	۱۶۸/۳۸a	۱۵/۵۷a	۱۳/۸۷a	۱/۲۵a	۳/۳۶a
U_{75}	۱۱۰/۰۰c	۱۰/۵۳c	۸/۷۵b	۱/۰۱b	۲/۸۹bc
U_{100}	۱۱۵/۶۲c	۹/۵۵d	۹/۱۲b	۰/۹۶ bc	۳/۰۰b

حروف غیر مشابه در هر ستون بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ با آزمون چند دامنه دانکن می‌باشند.



شکل ۱. اثر متقابل غلظت‌های مختلف اوره و کاربرد نیکل بر وزن تر برگ کاهو.

حروف غیر مشابه بین ستون‌ها بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ با آزمون چند دامنه دانکن می‌باشند.

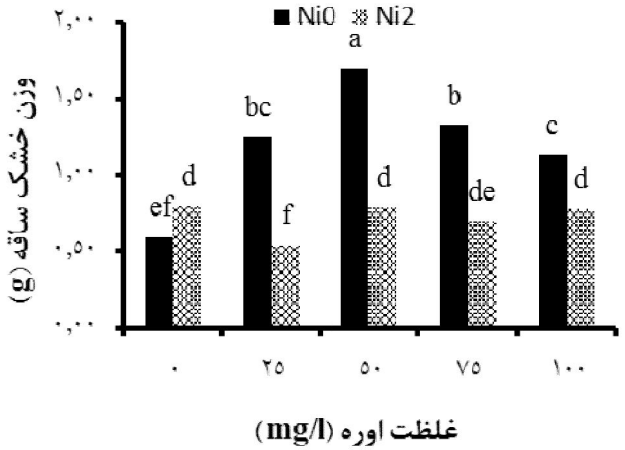


شکل ۲. اثر متقابل غلظت‌های مختلف اوره و کاربرد نیکل بر وزن تر ساقه کاهو.

حروف غیر مشابه بین ستون‌ها بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ با آزمون چند دامنه دانکن می‌باشد.

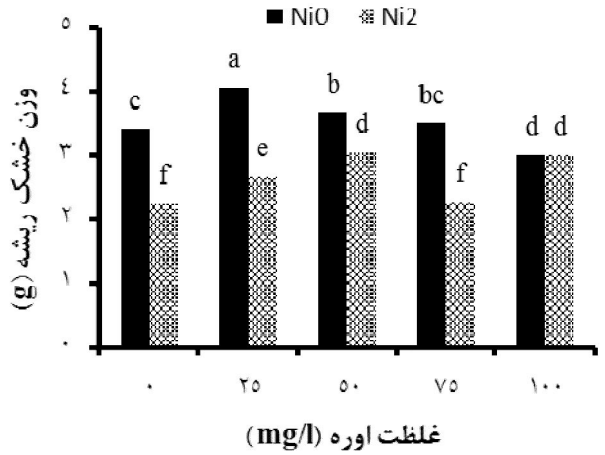
U_{100} به‌ترتیب ۱/۸ و ۱/۵ برابر بیشتر بود. تأثیر غلظت اوره بر وزن تر و خشک برگ و ساقه و وزن خشک ریشه در جدول ۳ آمده است. همچنین، در اثر متقابل غلظت‌های مختلف اوره و نیکل، بیشترین عملکرد در تیمارهای $U_{50}Ni_0$ و $U_{25}Ni_0$ مشاهده شد. اثر متقابل غلظت‌های مختلف اوره و نیکل بر وزن تر برگ، وزن تر و خشک ساقه و وزن خشک ریشه به‌ترتیب در شکل‌های ۱، ۲، ۳ و ۴ نشان داده شده است. گیاهان دریافت کننده نیکل نیز در مقایسه با گیاهان شاهد کاهش رشد معنی‌داری را نشان دادند.

افزایش رشد و عملکرد در دو سطح U_{25} و U_{50} به دلیل هیدرولیز اوره به کمک نیکل موجود در ذخیره آندوسپرمی بذر و نیز آلودگی نیکلی کودهای کاربردی در محلول غذایی و در نتیجه آزاد شدن نیتروژن اوره بود. کاهش رشد در سطوح U_{75} و U_{100} نیز به دلیل مسمومیت اوره بود، که می‌تواند به دلیل اول مسمومیت ترکیب اوره، ناشی از تجمع اوره هیدرولیز نشده در بافت‌های گیاه، و یا مسمومیت NH_4^+ ناشی از هیدرولیز اوره باشد. چون در محلول غذایی مورد استفاده نیکل وجود نداشت تا اوره هیدرولیز شده و تولید آمونیوم کند،



شکل ۳. اثر متقابل غلظت‌های مختلف اوره و کاربرد نیکل بر وزن خشک ساقه کاهو.

حروف غیر مشابه بین ستون‌ها بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ با آزمون چند دامنه دانکن می‌باشد.



شکل ۴. اثر متقابل غلظت‌های مختلف اوره و کاربرد نیکل بر وزن خشک ریشه کاهو.

حروف غیر مشابه بین ستون‌ها بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ با آزمون چند دامنه دانکن می‌باشد.

بنابراین مسمومیت مشاهده شده در سطوح U_{75} و U_{100} را می‌توان به مسمومیت اوره نسبت داد. علائم مسمومیت اوره به‌صورت ظهور نقاط قهوه‌ای در حاشیه برگ، زرد شدن برگ و کلروز غیر یکنواخت قابل رؤیت است (۲).

در مرحله بلوغ، بیش از ۷۰٪ نیکل موجود در شاخ و برگ به بذرها منتقل می‌شود (۲). کاهش رشد در کاربرد نیکل نیز به دلیل سمیت نیکل رخ داده بود. دامنه بین کمبود و سمیت عناصر کم‌مصرف بسیار باریک است. در یک مطالعه انجام شده برای بررسی اثر نیکل و سمیت آن در رابطه با تولید زیست‌توده در خردل (*Brassica juncea*) مشخص شد که غلظت ۱۰۰ میکرومولار نیکل، وزن خشک گیاه را کاهش می‌دهد (۳). همچنین، کاتالدو و همکاران (۹) گزارش کرده‌اند که بیش از ۵۰٪ نیکل جذب شده توسط گیاهان در ریشه باقی می‌ماند. این ممکن است به علت کمپلکس‌سازی محل‌های تبادل کاتیون با دیواره سلول‌های پارانشیم آوند چوبی و بی‌تحرکی در واکوئل‌های ریشه باشد (۲۵). اولین شرط لازم برای عملکرد زیاد گیاهان، افزایش در زیست‌توده تولیدی از نظر ماده خشک است و نیکل می‌تواند از سه مسیر کاهش رشد را باعث شود: ۱) جابجایی اجزای ضروری در مولکول‌های زیستی با فلز، ۲) مسدود کردن عملکرد بیولوژیک ضروری مولکول و ۳) تغییر آنزیم‌ها یا پروتئین‌ها، تغییر غشاء پلاسما و تغییر ساختار یا عملکرد ناقل‌های غشا (۲۲).

بر اساس نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۴)، اثر غلظت‌های اوره و کاربرد نیکل بر سطح برگ، شاخص کلروفیل و حداکثر عملکرد فتوشیمیایی کوانتومی فتوسیستم ۲ (F_v/F_m) معنی‌دار ($P\leq ۰/۰۱$) بود. همچنین، اثر متقابل غلظت‌های اوره و کاربرد نیکل بر صفات سطح برگ حداکثر عملکرد فتوشیمیایی کوانتومی فتوسیستم ۲ معنی‌دار ($P\leq ۰/۰۱$) بود. اما شاخص کلروفیل تحت تأثیر اثر متقابل تیمارها قرار نگرفت. غلظت نیتروژن کل نیز توسط غلظت‌های اوره به‌طور معنی‌داری ($P\leq ۰/۰۱$) تحت تأثیر قرار گرفت، به‌طوری که با افزایش غلظت اوره محلول غذایی، میزان نیتروژن کل بافت برگ نیز افزایش یافت. اما کاربرد نیکل نتوانست غلظت این عنصر را تحت تأثیر قرار دهد. اثر متقابل غلظت‌های اوره و کاربرد نیکل بر نیتروژن کل معنی‌دار ($P\leq ۰/۰۱$) بود (جدول ۴).

بیشترین و کمترین سطح برگ با افزایش ۱/۵ برابری به‌ترتیب در گیاهان تیمارهای U_{25} و شاهد مشاهده شد (جدول ۵). کاربرد Ni_2 نیز به‌ترتیب باعث کاهش ۱/۲، ۳/۶ و ۱/۲

جدول ۴. نتایج تجزیه واریانس سطح برگ، شاخص کلروفیل، حداکثر عملکرد فتوشیمیایی کوانتومی فتوسیستم ۲ (F_v/F_m) و غلظت نیتروژن کل برگ کاهو

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات			
		سطح برگ	شاخص کلروفیل	حداکثر عملکرد فتوشیمیایی کوانتومی فتوسیستم ۲ (F_v/F_m)	نیتروژن کل
اوره	۴	۱۴۲۱۹۰۲/۹۱۵**	۲۳/۶۹۸**	۰/۰۰۱**	۱۷/۱۲۳**
نیکل	۱	۲۰۳۱۸۵۹/۲۹۹**	۳۲/۷۶۱**	۰/۰۰۱**	۳/۰۷۴^{ns}
اوره× نیکل	۴	۱۷۱۳۳۰/۳۲۹**	۱۰/۷۰۸^{ns}	۰/۰۰۱**	۲۸/۳۲۸**
خطا	۲۷	۲۲۷۳۱/۵۲	۴/۲۹۴	۰/۰۰۰۰۸۲۰۶	۲/۸۰۷

** و ns به‌ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ و بدون اختلاف معنی‌دار

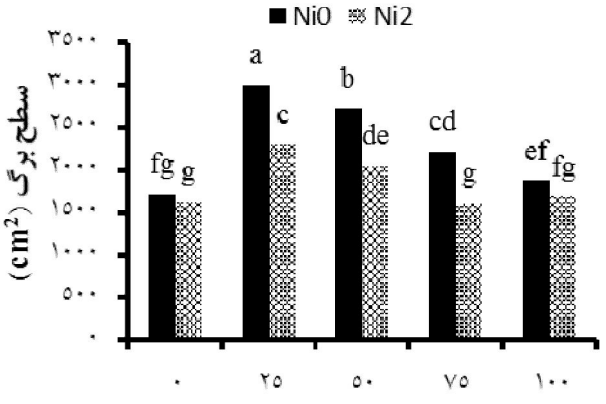
جدول ۵. تأثیر غلظت‌های مختلف اوره بر سطح برگ، شاخص کلروفیل، حداکثر عملکرد فتوشیمیایی کوانتومی فتوسیستم ۲ (F_v/F_m) و نیتروژن کل بافت برگ کاهو

غلظت اوره (mg/L)	سطح برگ (cm^2)	شاخص کلروفیل	حداکثر عملکرد فتوشیمیایی کوانتومی فتوسیستم ۲ (F_v/F_m)	نیتروژن کل (mg/g)
U_0	۱۶۷۶/۳d	۴۶/۳۹b	۰/۷۹۶۳c	۳۲/۲۱bc
U_{25}	۲۶۵۸/۴a	۴۶/۷۹b	۰/۸۱۵۶b	۳۰/۶۹c
U_{50}	۲۳۹۰/۶b	۴۷/۸۰b	۰/۸۲۳۶ab	۳۳/۸۲ab
U_{75}	۱۹۱۲/۶c	۴۸/۴۲b	۰/۸۲۶۷a	۳۳/۸۳ab
U_{100}	۱۷۸۱/۷cd	۵۰/۷۵a	۰/۸۱۶۰b	۳۴/۱۲a

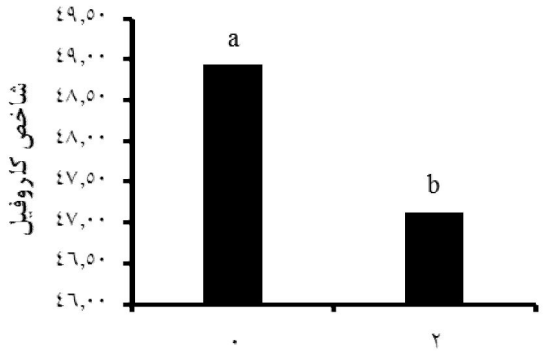
حروف غیر مشابه در هر ستون بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ با آزمون چند دامنه دانکن می‌باشند.

شکل ۵. سمیت ناشی از تجمع اوره در بافت برگ کاهو

برابری سطح برگ، شاخص کلروفیل و حداکثر عملکرد فتوشیمیایی کوانتومی فتوسیستم ۲ در مقایسه با تیمار بدون نیکل شد. در اثر متقابل غلظت‌های مختلف اوره و نیکل نیز بیشترین و کمترین سطح برگ با افزایش ۱/۸ برابری به‌ترتیب در تیمارهای $U_{25}Ni_0$ و $U_{75}Ni_2$ مشاهده شد (شکل ۶). به‌نظر می‌رسد گیاهان تغذیه شده با اوره، بخصوص غلظت U_{25}، به دلیل افزایش نیتروژن در دسترس و در نتیجه سنتز پروتئین‌ها و ترکیبات ساختمانی، حداکثر سطح برگ را تولید نمودند. در غلظت‌های بیشتر نیز کاهش سطح برگ به دلیل مسمومیت اوره اتفاق افتاد. از طرف دیگر، میزان نیتروژن کاربردی هم بر سطح برگ مؤثر بود و در همه گیاهان تیمار شده با اوره، سطح برگ بیشتر از گیاهان شاهد بود. نتایج با گزارش مارشنر (۱۸) مبنی بر افزایش میزان سطح برگ با افزایش میزان نیتروژن مطابقت دارد.



شکل ٦. اثر متقابل غلظت‌های مختلف اوره و کاربرد نیکل بر سطح برگ کاهو.
حروف غیر مشابه بین ستون‌ها بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ با آزمون چند دامنه دانکن می‌باشند.



شکل ۷. تأثیر نیکل بر شاخص کلروفیل (SPAD) برگ کاهو.
حروف غیر مشابه بین ستون‌ها بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ با آزمون چند دامنه دانکن می‌باشند.

همچنین، کاهش سطح برگ در گیاهان دریافت کننده نیکل با گزارش گابریلی و همکاران (۱۳) مبنی بر ممانعت غلظت‌های سمی نیکل از تقسیم سلولی در گیاه *Silene italica* مطابقت دارد.

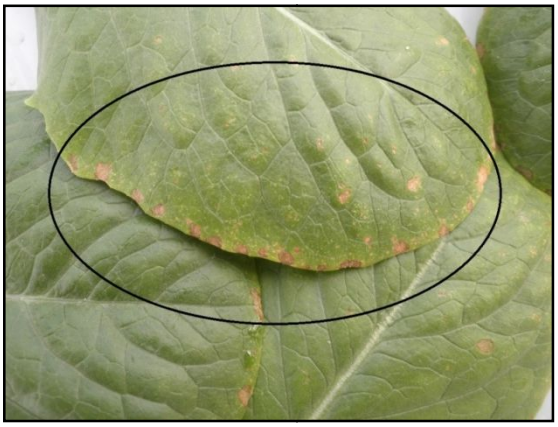
با افزایش غلظت اوره، شاخص کلروفیل نیز افزایش یافت. اما تنها اختلاف معنی‌دار بین تیمارها در غلظت U_{100} مشاهده شد که در مقایسه با شاهد افزایش ۸/۵ درصدی شاخص کلروفیل را سبب شد (جدول ۵). اثر نیکل بر شاخص کلروفیل در شکل ۷ نشان داده شده است. بارکر (۶) گزارش کرد که افزایش شاخص کلروفیل در گیاهان تغذیه شده با اوره ناشی از آسمیلاسیون اوره می‌باشد. زیرا کلروفیل یکی از مهمترین ترکیبات محتوی نیتروژن در گیاه است. در کلم، نیکل در غلظت ۰/۵ میلی‌مولار، نقاط نکروزه قهوه‌ای تیره را در طول حاشیه برگ تولید کرد (۲۳). این گزارش با مشاهدات ظاهری این آزمایش مطابقت دارد (شکل ۸). اولین مکانیسم عملکردی سمیت عناصر سنگین، جابجایی با یون‌های ضروری، به عنوان مثال، جایگزینی نیکل با یون منیزیم، است (۳۱). بنابراین، تغییر ساختار و یا فعالیت مولکول کلروفیل را باعث خواهد شد (۱۵ و ۱۶). علاوه بر این، غلظت سمی نیکل با اثر بازدارندگی از شرکت منیزیم در مولکول پروتوپورفرین به عنوان پیش‌ماده کلروفیل، باعث کاهش غلظت کلروفیل می‌شود و بروز علائمی مانند کلروز در برگ‌های پیر و جوان و به‌دنبال آن تیره شدن برگ را که احتمالاً ناشی از تجمع ترکیبات فنولیک است باعث می‌شود (۲).

یکی از مکانیسم‌های احتمالی برای کاهش کلروفیل، کاهش جذب عناصر غذایی در اثر رقابت جهت اتصال به سایت‌های مشترک به دلیل شعاع یونی قابل مقایسه یون Ni^{2+} با سایر کاتیون‌ها (Mg^{2+}, Fe^{2+}) است. محققین زیادی کاهش محتوای کلروفیل برگ مانند کلروز تحت تیمار نیکل را ناشی از کمبود آهن و منیزیم و مهار سنتز کلروفیل می‌دانند (۱۲ و ۲۰). در بررسی اثر غلظت‌های اوره بر حداکثر عملکرد فتوشیمیایی کوانتومی فتوسیستم ۲، بیشترین و کمترین حداکثر عملکرد فتوشیمیایی کوانتومی فتوسیستم ۲ به‌ترتیب در تیمارهای U_{75} و شاهد مشاهده شد که اختلاف ۴ درصدی با هم داشتند (جدول ۵). در اثر متقابل فاکتورهای تیماری هم بیشترین و کمترین حداکثر عملکرد فتوشیمیایی کوانتومی فتوسیستم ۲ به‌ترتیب در تیمارهای $U_{75}Ni_0$ و U_0Ni_2 به‌دست آمد (شکل ۹). در تیمار $U_{75}Ni_0$، میزان حداکثر محصول کوانتومی در مقایسه با تیمار

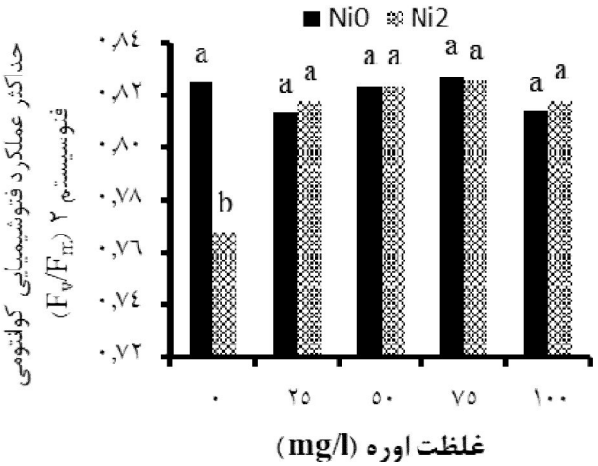
جدول ۵. تأثیر غلظت‌های مختلف اوره بر سطح برگ، شاخص کلروفیل، حداکثر عملکرد فتوشیمیایی کوانتومی فتوسیستم ۲ (F_v/F_m) و نیتروژن کل بافت برگ کاهو

غلظت اوره (mg/L)	سطح برگ (cm^2)	شاخص کلروفیل	حداکثر عملکرد فتوشیمیایی کوانتومی فتوسیستم ۲ (F_v/F_m)	نیتروژن کل (mg/g)
U_0	۱۶۷۶/۳d	۴۶/۳۹b	۰/۷۹۶۳c	۳۲/۲۱bc
U_{25}	۲۶۵۸/۴a	۴۶/۷۹b	۰/۸۱۵۶b	۳۰/۶۹c
U_{50}	۲۳۹۰/۶b	۴۷/۸۰b	۰/۸۲۳۶ab	۳۳/۸۲ab
U_{75}	۱۹۱۲/۶c	۴۸/۴۲b	۰/۸۲۶۷a	۳۳/۸۳ab
U_{100}	۱۷۸۱/۷cd	۵۰/۷۵a	۰/۸۱۶۰b	۳۴/۱۲a

حروف غیر مشابه در هر ستون بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ با آزمون چند دامنه دانکن می‌باشند.



شکل ۸. علائم ناشی از سمیت نیکل در بافت برگ کاهو

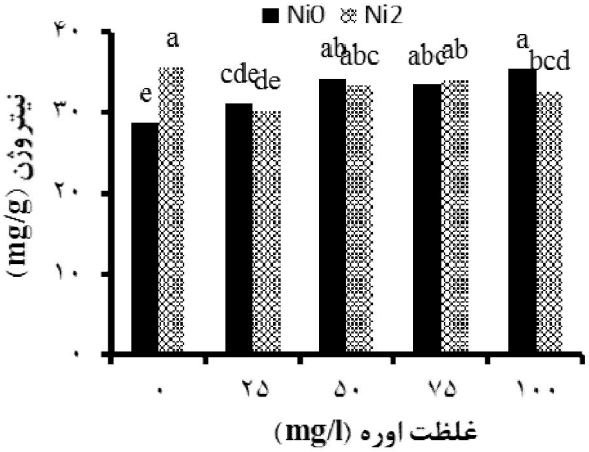


شکل ۹. اثر متقابل غلظت‌های مختلف اوره و کاربرد نیکل بر حداکثر عملکرد فتوشیمیایی کوانتومی فتوسیستم ۲ (F_v/F_m). حروف غیر مشابه بین ستون‌ها بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ با آزمون چند دامنه دانکن می‌باشند.

U_0Ni_2، ۷/۲ درصد افزایش نشان می‌دهد.

کاربرد غلظت‌های مختلف اوره اثر افزایشی یا کاهشی بر حداکثر عملکرد فتوشیمیایی کوانتومی فتوسیستم ۲ نداشت. بلکه کاربرد اوره در مقایسه با کاربرد نیترات، با مهار اثرهای سمی نیکل، مانع از کاهش حداکثر عملکرد فتوشیمیایی کوانتومی فتوسیستم ۲ شد. تأثیر شکل نیتروژن بر میزان فتوسنتز خالص می‌تواند به دلیل تأثیر آن بر فعالیت آنزیم‌های فتوسنتزی تنفس نوری، هدایت روزنه‌ای و یا دیگر جنبه‌های متابولیسمی فتوسنتز باشد (۲). از طرف دیگر، افزایش میزان فتوسنتز خالص در ارتباط با میزان کلروفیل می‌باشد که در گیاهان تغذیه شده با اوره زیاد بود و منجر به افزایش میزان حداکثر عملکرد فتوشیمیایی کوانتومی فتوسیستم ۲ شد. اعلم و همکاران (۳)، کاهش محتوای کلروفیل و نرخ فتوسنتز خالص در غلظت ۱۰۰

میکرومولار نیکل در خردل (*Brassica juncea*) را گزارش کردند. برای فلزات سنگین چندین مسیر مستقیم و غیر مستقیم شناخته شده که منجر به مهار غیر اختصاصی فتوسنتز می‌شوند. کاهش نرخ فتوسنتز مربوط به تخریب ساختار کلروپلاست، مسدود شدن سنتز کلروفیل، اختلال در انتقال الکترون و فعالیت آنزیم‌های چرخه کلوین و کمبود CO_2 ناشی از بسته شدن روزنه‌ها است (۲۴). همچنین، گزارش شده که آسیب نیکل شامل ساختار غشای تیلاکوئید و ساختار گرانا (۲۱ و ۲۸)،



شکل ۱۰. اثر متقابل غلظت‌های مختلف اوره و کاربرد نیکل بر غلظت نیتروژن کل بافت برگ کاهو.
حروف غیر مشابه بین ستون‌ها بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ با آزمون چند دامنه دانکن می‌باشند.

کاهش اندازه گرانا و افزایش تعداد تیغه‌های غیر فشرده (۲۰) و تغییر در ترکیب لیپید غشاها است. به‌نظر می‌رسد چنین تغییراتی ناشی از کاهش رطوبت سلول یا تنش‌های اکسیداتیو باشد که منجر به پراکسیداسیون چربی‌های غشا و فرایندهای غشایی می‌شود. همچنین، آزمایش‌ها نشان داده‌اند که یون Ni^{2+} در درجه اول فتوسیستم II (PSII) را تحت تأثیر قرار می‌دهد (۲۴).

با افزایش غلظت اوره محلول غذایی، غلظت نیتروژن کل بافت برگ نیز افزایش یافت، به‌طوری که گیاهان U_{100}، ۱/۱ برابر نیتروژن کل بیشتری در مقایسه با گیاهان U_{25} داشتند (جدول ۵). در اثر متقابل نیز گیاهان تیمار U_0Ni_2 در مقایسه با شاهد (U_0Ni_0) ۱/۲ برابر نیتروژن کل بیشتری داشتند (شکل ۱۰). کاربرد نیکل اثر معنی‌داری بر غلظت نیتروژن کل بافت برگ نداشت. نیتروژن کل در واقع شامل تمام فرم‌های نیتروژن (نیترات و آمونیوم) را شامل می‌شود. زیاد بودن نیتروژن کل در تیمار U_0Ni_2 به دلیل رشد کم و زیست‌توده تولیدی کم گیاهان این تیمار می‌باشد. پدیده غلظت این نتیجه را به‌دست می‌دهد. نتایج این آزمایش با نتایج تعدادی از آزمایش‌ها مطابقت دارد. آمونیوم در مقایسه با نیترات موجب افزایش غلظت نیتروژن بخش هوایی کاهو گردید (۱). همچنین، گزارش شده که با جایگزینی بخشی از نیترات با اوره در محلول غذایی، محتوای نیتروژن کل مقدار کمی افزایش یافت (۱۴). گیاهان گوجه‌فرنگی تیمار شده با ۵۰٪ اوره و ۵۰٪ نیترات، بیشترین غلظت نیتروژن کل را داشتند (۴). بارکر و مایnارد (۷)، گزارش کردند که حداکثر نیتروژن جذب شده در گیاهان زمانی حاصل شد که نیترات و آمونیوم با هم عرضه شدند.

نتیجه‌گیری

نتایج این آزمایش نشان داد که بیشترین میزان عملکرد و عوامل فیزیولوژیک وابسته به آن را می‌توان با جایگزینی نیترات با اوره در غلظت‌های کم و متوسط اوره (۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم) بدون کاربرد نیکل به‌دست آورد. بنابراین، با توجه به سیاست‌گذاری‌های جدید در بخش کشاورزی در جهت افزایش تولید در واحد سطح و کاهش هزینه‌های تولید، می‌توان انتظار داشت که با جایگزینی اوره با نیترات به عنوان منبع نیتروژن در کشت‌های هیدروپونیک، علاوه بر افزایش تولید، به کاهش هزینه‌های تولید و در نتیجه افزایش بهره‌وری کشاورزی، بخصوص در گلخانه‌های تجاری و مدرن، کمک کرد.

منابع مورد استفاده

۱. باقری، م. ح. و ح. ر. روستا. ۱۳۹۲. اثر نوع نیتروژن و سطوح اکسیژن در محلول غذایی بر رشد و برخی عناصر پرمصرف کاهو (*Lactuca sativa* cv. Great leak) در کشت هیدروپونیک. نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی) ۲۷(۲): ۱۴۸-۱۵۷.

۲. طباطبائی، س. ج. ۱۳۹۲. اصول تغذیه معدنی گیاهان (تألیف). انتشارات دانشگاه تبریز.

3. Alam, M.M., S. Hayat, B. Ali and A. Ahmad. 2007. Effect of 28-homobrassinolide treatment on nickel toxicity in *Brassica juncea*. Photosynth. 45: 139-142.

4. Aminuddin, H., R. Khalip, K. Norayah and H. Alias. 1993. Urea as the nitrogen source in NIT hydroponic system. Pertanika J. Trop. Agric. Sci. 16(2): 87-94.
5. Anonymous. 2008. Current World Fertilizer Trends and Outlook to 2011/12. Food and Agriculture Organization, Rome, Italy, 44 p.
6. Barker, A.V. 1989. Genotypic response of vegetable crops to nitrogen nutrition. HortSci. 24(4): 584-591.
7. Barker, A.V. and D. Maynard. 1972. Cation and nitrate accumulation in pea and cucumber plants as influenced by nitrogen nutrition. J. Am. Soc. Hort. Sci. 97(1): 27-30.
8. Benchemsi Bekkari, N. and G. Pizelle. 1992. *In vivo* urease activity in *Robinia Pseudoacacia*. Plant Physiol. Biochem. 30(2): 187-192.
9. Cataldo, D.A., T.R. Garland and R.E. Wildung. 1978. Nickel in plants. I. Uptake kinetics using intact soybean seedlings. Plant Physiol. Biochem. 62: 563-565.
10. 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. Plant Sci. 167: 635-643.
11. 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. Am. Chem. Soc. 97(14): 4131-4133.
12. Ewais, E.A. 1997. Effects of cadmium, nickel and lead on growth, chlorophyll content and proteins of weeds. Biol. Plant. 39: 403-410.
13. Gabbrielli, R., T. Pandolfini, O. Vergnano and M.R. Palandri. 1990. Comparison of two serpentine with different nickel tolerance strategies. Plant Soil 122(2): 271-277.
14. Khan, K.N., M. Watanabe and Y. Watanabe. 1999. Effect of different concentrations of urea with or without nickel addition on spinach (*Spinacia oleracea* L.) growth under hydroponic culture. Soil Sci. Plant Nutr. 45(3): 569-575.
15. Kupper, H., F. Kupper and M. Spiller. 1996. Environmental relevance of heavy metal substituted chlorophylls using the example of water plants. J. Exp. Bot. 47: 259-266.
16. Kupper, H., F. Kupper and M. Spiller. 1998. *In situ* detection of heavy metal substituted chlorophylls in water plants. Photosynth. Res. 58: 123-133.
17. Luo, J., Z.H. Lian and X.L. Yan. 1993. Urea transformation and the adaptability of three leafy vegetables to urea as a source of nitrogen in hydroponic culture. J. Plant Nutr. 16: 797-812.
18. Marschner, H. 1995. Mineral Nutrition of Higher Plants. 2nd ed., Academic Press, London.
19. Mobley, H.L. and R.P. Hausinger. 1989. Microbial ureases: Significance, regulation, and molecular characterization. Microbiol. Rev. 53: 85-108.
20. Molas, J. 1997. Changes in morphological and anatomical structure of cabbage (*Brassica oleracera* L.) outer leaves and in ultrastructure of their chloroplasts caused by an *in vitro* excess of nickel. Photosynth. 34: 513-522.
21. Molas, J. 2002. Changes of chloroplast ultrastructure and total chlorophyll concentration in cabbage leaves caused by excess of organic Ni II complexes. Environ. Exp. Bot. 47: 115-126.
22. Ochiai, E.I. 1977. Bioinorganic Chemistry: An Introduction. Allyn and Bacon, Boston.
23. Panday, N. and C.P. Sharma. 2002. Effect of heavy metals Co^{2+}, Ni^{2+}, and Cd^{2+} on growth and metabolism of cabbage. Plant Sci. 163: 753-758.
24. Seregin, I.V. and V.B. Ivanov. 2001. Physiological aspects of cadmium and lead toxic effects on higher plants. Fiziol. Rast. (Moscow) 48: 606-630 (Russ. J. Plant Physiol., Engl. Transl., pp. 523-544.
25. Seregin, I.V. and A.D. Kozhevnikova. 2006. Physiological role of nickel and its toxic effects on higher plants. Russ. J. Plant Physiol. 53: 257-277.
26. Sheoran, I.S., H.R. Singal and R. Singh. 1990. Effect of cadmium and nickel on photosynthesis and enzymes of the photosynthetic carbon reduction cycle in pigeonepa (*Cajanus cajan* L.). Photosynth. Res. 23: 345-351.
27. Sumner, J.B. 1926. The isolation and crystallization of the enzyme urease. J. Biol. Chem. 69: 435-441.
28. Szalontai, B. 1999. Molecular rearrangements of thylakoids after heavy metal poisoning, as seen by Fourier transform infrared (FTIR) and electron spin resonance (ESR) spectroscopy. Photosynth. Res. 61: 241-252.
29. Tabatabaei, S.J. 2009. Supplements of nickel affect yield, quality and nitrogen metabolism when urea or nitrate is the sole N source for cucumber. J. Plant Nutr. 32(5): 713-724.
30. Tan, X.W., H. Ikeda and M. Oda. 2000. Effect of nickel concentration in the nutrient solution on the nitrogen assimilation and growth of tomato seedling in hydroponic culture supplied with urea or nitrate as the sole nitrogen source. Sci. Hort. 84: 265-273.
31. Van Assche, F. and H. Clijsters. 1986. Inhibition of photosynthesis in Phaseolus valgaris by treatment with toxic concentration of Zinc: Effects on electron transport and photophosphorylation. Physiol. Plant. 66: 717-721.