تأثیر عنصر روی و زمان برداشت بر کاهش انباشت نیترات و فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز در کاهو و اسفناج در محیط آبکشت

زهرا قشلاقی[۱*]، رضا خراسانی[۱]، غلامحسین حق نیا[۱] و محمد کافی[۲]

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۳/۶؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۷/۳)

چکیده

سبزی‌های برگی به‌عنوان یکی از مهم‌ترین اجزای رژیم غذایی انسان، دارای بیشترین سهم استفاده از کودهای نیتروژن بوده و بیش از سایر فرآورده‌ها در معرض خطر انباشتگی نیترات قرار دارند. به‌منظور بررسی تأثیر تغذیه روی و زمان برداشت بر کاهش انباشت نیترات و فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز در دو گیاه کاهو و اسفناج، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در محلول‌غذایی هوگلند و آرنون با دو سطح روی (۷ و ۵۰ میکروگرم در لیتر) و دو زمان برداشت (۲۹ و ۴۶ روز) انجام شد. نتایج نشان داد با افزایش غلظت روی، غلظت نیترات در اندام هوایی کاهو در هر دو زمان برداشت و غلظت نیترات در ریشه گیاه در زمان برداشت دوم کاهش یافت، در حالی‌که کاهش غلظت نیترات در ریشه و اندام هوایی اسفناج مشاهده نشد. در هر دو گیاه کاربرد مقدار زیاد روی سبب افزایش فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز گردید. نتایج هم‌چنین نشان داد که گذشت زمان موجب کاهش فعالیت آنزیم و افزایش انباشت نیترات در هر دو گیاه شد. نتایج این پژوهش نشان داد متابولیسم نیترات در گیاهان تحت تأثیر فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز بوده و فعالیت این آنزیم نیز تحت تأثیر نوع گیاه، زمان برداشت و عناصر غذایی از جمله غلظت عنصر روی است.

واژه‌های کلیدی: روی، نیترات ردوکتاز، انباشت نیترات، سبزی‌های برگی

مقدمه

نیترات و آمونیوم از شکل‌های قابل جذب نیتروژن در گیاهان به شمار می‌روند که میزان جذب هر کدام بسته به گونه گیاهی و غلظت آنها در محیط متفاوت خواهد بود. نیترات از مهم‌ترین منابع جذب نیتروژن در سبزی‌های برگی به شمار می‌رود. براساس گزارش‌های اعلام شده کاهو و اسفناج به‌عنوان یکی از مهم‌ترین اجزای رژیم غذایی، از بیشترین انباش‌گرهای نیترات محسوب می‌شوند و تقریباً ۷۲ تا ۹٤ درصد میانگین مصرف روزانه بشر به نیترات را به خود اختصاص می‌دهند (۱۴). تاکنون پژوهش‌های زیادی روی کاهش انباشت نیترات در سبزی‌ها صورت گرفته است در اغلب این پژوهش‌ها عوامل مؤثر بر انباشت نیترات در سه گروه عوامل تغذیه‌ای، ژنتیکی و محیطی بررسی شده‌اند (٦ و ٢٦). در بیشتر مطالعات انجام شده دما و شدت نور از عامل‌های محیطی بسیار تأثیرگذار بر میزان انباشت نیترات به شمار می‌روند (٦ و ١١). لذا با توجه به این که تغییر عوامل محیطی در وضعیت طبیعی و مزرعه‌ای دشوار است عمدتاً نقش عوامل تغذیه‌ای به‌ویژه وقتی که غلظت نیترات در محیط خارجی زیاد باشد نسبت به دو عامل دیگر به مراتب از اهمیت

۱. گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
۲. گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
*مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: za.gheshlaghi@stu.um.ac.ir

مدیریتی بیشتری برخوردار است (۳٤).

مهم‌ترین عناصر تغذیه‌ای مؤثر بر انباشت نیترات، که در بیشتر پژوهش‌ها به یکی یا مجموعه‌ای از آنها اشاره شده است، شامل کلر، پتاسیم، فسفر، کلسیم، مولیبدن، بور، سولفات، و روی می‌باشد (۳، ٦، ۹ و ۱۱). در این میان عنصر روی به‌عنوان یکی از مهم‌ترین عناصر کم مصرف جایگاه ویژه‌ای در رشد گیاهان دارد. نقش این عنصر از واکنش‌های بسیار ساده تا پیچیده را در بر می‌گیرد و صرف نظر از جایگاه آن به‌عنوان یک عامل تغذیه‌ای مهم در چرخه زندگی گیاهان در بسیاری از سیستم‌های آنزیمی گیاه نقش کاتالیزوری، فعال‌کننده و یا ساختمانی دارد (۲۱ و ۲۳). پژوهش‌های رویز و رومر (۲۵) و احمد و همکاران (۳) نشان داد که افزایش کاربرد پتاسیم و روی به محیط رشد گیاه، با تسهیل در جذب نیترات و انتقال بیشتر آن به اندام‌های هوایی و افزایش سوخت و ساز گیاه و در نهایت با احیای بیشتر نیترات منجر به کاهش انباشت آن در برخی از گیاهان شده است. با این حال مطالعات درلیک و روگل (۱۵) نشان داد که بین منابع پتاسیم و روی خاک و میزان انباشت نیترات هیچ رابطه معنی‌داری وجود ندارد. مطالعات بلوم زاندسترا و لمپ (۹) نشان داد که بین غلظت نیترات با سولفات و روی در اندام‌های گیاه کاهو، همبستگی منفی (رابطه همستیزی) وجود دارد. ماینارد و همکاران (۲٤) نشان دادند که کاهش غلظت سولفات روی ممکن است به افزایش انباشت نیترات در گیاهان منجر شود. مطالعات آمبرگ (۵) نشان داد، کمبود روی در گیاهان با افزایش فعالیت آنزیم ریبونوکلئاز (Ribonuclease) موجب تشدید انباشت نیترات در آنها می‌شود، آمبرگ هم‌چنین اعلام کرد که نقش عنصر روی در انباشت نیترات مربوط به نقش این عنصر در فعالیت‌های آنزیمی مؤثر در احیاء و متابولیسم نیترات است. در همین راستا بررسی فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز، به‌عنوان اولین آنزیم مؤثر در احیا و متابولیسم نیترات دارای اهمیت بسیار است، بدین گونه که نیترات در حضور این آنزیم به آمونیوم تبدیل می‌شود و مانع انباشت نیترات در بافت‌های گیاهی می‌گردد. نتایج کمپبل (۱۰) نشان داد که میزان فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز بسته به نوع گیاه و شرایط تغذیه‌ای آن متفاوت است. نتایج سانتاماریا (۲٦) و چن و همکاران (۱۲) نشان داد که در یک شرایط محیطی و تغذیه‌ای یکسان توانایی گیاهان مختلف در جذب و احیاء نیترات متفاوت است که یکی از دلایل آن تفاوت در میزان فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز است. بیورز و هگمن (۸) اعلام کردند که افزایش فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز موجب کاهش غلظت نیترات در اندام‌های گیاهی می‌شود.

غلظت نیترات در اندام رویشی گیاهان دارای میوه یا اندام ذخیره‌ای، مثل گوجه و سیب‌زمینی، هم زمان با فصل برداشت (اواخر دوره زایشی) به‌طور معنی‌داری کاهش می‌یابد. درحالی‌که غلظت نیترات در سبزی‌های برگی که فاقد اندام ذخیره‌ای هستند، در اواخر دوره رویشی که بهترین زمان (از نظر بازار پسندی) برای برداشت آنها محسوب می‌شود به‌طور قابل توجه‌ای افزایش می‌یابد (٦ و ٢٤). مطالعات انجام شده (٦ و ٢٤) نشان می‌دهد که سبزی‌های برگی، الگوهای متفاوتی از نظر ادامه انباشت نیترات با افزایش سن گیاه دارند. بدین منظور برای کاهش غلظت نیترات در سبزی‌های برگی پر مصرف، لازم است با توجه به نوع گیاه و غلظت نیترات محیط، سن فیزیولوژی مطلوب هر گیاه برای برداشت انتخاب شود. نتایج پژوهش‌های سانتاماریا (۲٦) و آنجانا و همکاران (٦) نشان داد که غلظت نیترات در بخش‌های مختلف یک گیاه و با تغییرات سن فیزیولوژیک گیاه متفاوت است. هم‌چنین آنجانا و همکاران (٦) با بررسی غلظت نیترات در ژنوتیپ‌های مختلف اسفناج در دو زمان ۳ و ٦ هفتگی بعد از کاشت، نشان دادند که میزان انباشت نیترات، ٦ هفته بعد از کاشت به‌طور معنی‌داری بیش از ۳ هفتگی بوده است. نتایج اگموند و بریتلر (۱۶) نشان داد که بیشترین فعالیت آنزیم و کمترین انباشت نیترات در گیاه، در مرحله سه برگی که انبساط برگ حداکثر است، دیده شد. سانتورو و مگالهیز (۲۷) نیز اعلام کردند که با افزایش رشد گیاه و کاهش فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز میزان انباشت نیترات در گیاه افزایش یافت.

جدول ۱. غلظت عناصر غذایی در محلول تغییر یافته هوگلند و آرنون (۱۷)

محلول پایه	فرمول شیمیایی	غلظت محلول مادر (میلی‌مولار)	میلی‌لیتر محلول مادر در ۲۵ لیتر
نیترات کلسیم	$Ca(NO_3)_2.4H_2O$	۶/۶	۱۰۰
نیترات پتاسیم	KNO_3	۸/۲	۱۰۰
پتاسیم دی هیدروژن فسفات	KH_2PO_4	۱	۵۰
سولفات منیزیم	$MgSO_4.7H_2O$	۲	۵۰
اسید بوریک	H_3BO_3	۴۶/۲	۲۵
کلرید منگنز	$MnCl_2.4H_2O$	۹/۱	۲۵
سولفات روی*	$ZnSO_4.7H_2O$	۰/۷	۲۵
سولفات روی*	$ZnSO_4.7H_2O$	۰/۱	۲۵
سولفات مس	$CuSO_4.5H_2O$	۰/۳	۲۵
اسید مولیبدیک	$H_2MoO_4.H_2O$	۰/۱	۲۵
کلات آهن	Fe-EDTA	۱۰۹/۴	۲۵

*: بسته به تیمار مورد نظر سولفات روی با غلظت تعیین شده به محلول اضافه شده است.

با توجه به این نکته که کاهش انباشت نیترات درسبزی‌های برگی می تواند ارزش تغذیه‌ای این محصولات را افزایش دهد و ضرورت اهمیت سلامت فرآورده‌های غذایی برای بشر، پژوهش حاضر به‌منظور مطالعه اثر سطوح روی و زمان برداشت بر کاهش انباشت نیترات و فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز در دو گیاه کاهو و اسفناج انجام شد.

مواد و روش‌ها

تیمارهای آزمایش و ترکیب محلول غذایی

این آزمایش در گلخانه دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد در سال ۱۳۹۱ به اجرا درآمد. آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی (۲×۲×۲) در دو سطح روی (۷ و ۵۰ میکروگرم در لیتر) و دو زمان‌برداشت (۲۹ و ٤٦ روز پس از انتقال نشاءها به محلول غذایی) با سه تکرار بر روی دو گیاه کاهو (*Lactuca sativa* L. var longifolia) و اسفناج (*Spinacia oleracea* L.var hnermis) در محلول غذایی تغییر یافته هوگلند و آرنون (۱۷) انجام گرفت. منبع نیتروژن به‌صورت نیترات (با غلظت ۲۰ میل‌مول در لیتر) از دو نمک نیترات کلسیم و نیترات پتاسیم و روی نیز در دو سطح ۷ و ۵۰ میکروگرم در لیتر از منبع سولفات روی تأمین شد.

کاشت بذر و نگه‌داری گیاهان

ابتدا بذرهای کاهو و اسفناج در گلدان‌هایی حاوی مخلوط کوکوپیت، پرلیت و ماسه به‌ترتیب با نسبت‌های حجمی ۰/۲۵، ۰/۲۵ و ۰/۵ کشت شدند. پس از ۲۳ روز، نشاءهای هر دو گیاه در مرحله دو تا سه برگی به درون ظرف‌های بیست و پنج لیتری حاوی محلول هوادهی شده هوگلند و آرنون (جدول۱) انتقال یافتند، به‌طوری‌که در هر ظرف برای برداشت اول ١٤ و برای برداشت دوم ۷ گیاه مستقر گردید. محلول‌غذایی هر هفته یکبار تعویض می‌شد و در این فاصله pH، EC و غلظت نیترات محلول غذایی نیز هر دو روز یکبار تعیین شد. به‌طوری‌که مقدار EC محلول غذایی در حدود ۲ دسی زیمنس بر متر($dS\ m^{-1}$) وpH آن حدود ۵/۸ تنظیم شد. برای تنظیم غلظت نیترات محلول حدود ۲۰

میلی‌مول در لیتر، سنجش غلظت نیترات در محلول با روش اسپکتروفتومتری و در طول موج UV (۲۲۰ و ۲۷۵ نانومتر) انجام گرفت (۳۱). سطح محلول نیز در صورت کاهش حجم، با آب مقطر به حجم رسانده می‌شد، میانگین دمای گلخانه در روز و شب به‌ترتیب حدود ۲۵ و ۱۶ درجه سلسیوس بود.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز

در این پژوهش برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز از روش ارائه شده توسط جاوورسکی (۱۸) در سال ۱۹۷۱ استفاده شد. در این روش با استفاده از پانچ نمونه‌هایی همانند از نظر اندازه، از برگ‌های بالغ و سالم (بدون نشان زردی و بافت مردگی) تهیه شد و پس از توزین به‌منظور تأمین شرایط بی‌هوازی بلافاصله به لوله‌های آزمایش دربدار حاوی ۱۰ میلی‌لیتر محلول بافر با پ- هاش ۷/۵ منتقل گردید. اندازه‌گیری فعالیت آنزیم در دو زمان صفر و یک ساعت انجام شد. توقف فعالیت آنزیم و ایجاد رنگ صورتی با کاربرد محلول سولفانیل آمید۱ درصد، و نفتیل اتیلن دی آمین هیدروکلرید((N-(1-naphthyl) Ethylenediamine Dihydrochloride NEED) ۰/۰۲ درصد انجام گرفت و میزان نیتریت تولیدشده بر اثر فعالیت آنزیم در زمان‌های گفته شده در طول موج ۵۴۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل S2000 uv/vis) برحسب میکرومول نیتریت در گرم وزن تازه گیاهی در ساعت($\mu mol\ NO_2^-$ $.g^{-1}\ f.w.\ h^{-1}$) محاسبه گردید.

اندازه‌گیری طول ریشه

از آنجایی که در این آزمایش نوع گیاه به‌عنوان یک فاکتور مطرح است طول ریشه، به‌عنوان یکی از مهم‌ترین خصوصیات مورفولوژیک ریشه و عامل مؤثر در جذب نیترات در دو گیاه کاهو و اسفناج اندازه‌گیری شد. در هر دو زمان برداشت، ریشهٔ گیاه از اندام هوایی جدا و پس از شست و شوی دقیق با آب مقطر و خشک کردن آب اضافی، سه نمونه تصادفی از هر ظرف تهیه و برای اندازه‌گیری طول ریشه توسط دستگاه اسکنر ریشه به پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد منتقل شد. نمونه‌های ریشه ابتدا با قرار گرفتن در محلول متیل بنفش رنگ‌آمیزی و سپس توسط دستگاه دلتا–ت (Delta-T SCAN image analysis)، اسکن شده و با نرم افزارRoot Edge مجموع طول ریشه برحسب متر اندازه‌گیری گردید.

اندازه‌گیری غلظت عناصر در گیاه

پس از جدا کردن اندام هوایی از ریشهٔ گیاه در زمان برداشت و شست و شوی آنها، اندام هوایی و ریشه گیاهان به‌طور جداگانه، به‌مدت ۴۸ و ۷۲ ساعت به‌ترتیب برای اسفناج و کاهو در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد در خشک‌کن قرار گرفتند و پس از ثابت شدن وزن آنها توزین شدند و از تقسیم مجموع طول ریشه به وزن خشک اندام هوایی نسبت R/S برحسب (متر بر گرم) به‌دست آمد. نمونه‌های گیاهی خشک شده به‌وسیله آسیاب کاملاً پودر شد (اندام هوایی و ریشه به‌صورت جدا) و مقدار ۰/۱ گرم از هر نمونه توزین و ۲۰ میلی‌لیتر اسید استیک ۲ درصد به آن افزوده شد و به‌مدت نیم ساعت شیک گردید و بعد از عصاره‌گیری با کاغذ صافی واتمن ۴۲، مقدار نیترات موجود در عصاره با روش دی‌آزو و دستگاه اسپکتروفتومتر (در طول موج ۵۴۰ نانومتر برحسب میل‌گرم نیترات در گرم وزن خشک گیاهی(mg NO3-. g-1 dw) اندازه‌گیری گردید (۱). با توجه به نقش عناصر غذایی کم مصرف در فعالیت‌های آنزیمی گیاه و انباشت نیترات، پس از آماده‌سازی و هضم مرطوب نمونه‌ها غلظت عناصر آهن، روی و مس در اندام هوایی دو گیاه با استفاده از دستگاه جذب اتمی مدل PG-990 برحسب میلی‌گرم در کیلوگرم وزن خشک گیاهی اندازه‌گیری و گزارش گردید.

پس از اندازه‌گیری‌ها و ثبت نتایج، داده‌های خام توسط نرم‌افزار MSTAT-C مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد استفاده شد و رسم نمودارها نیز توسط نرم‌افزار Sigma Plot 11 صورت گرفت.

نتایج و بحث

عملکرد، طول ریشه و نسبت R/S

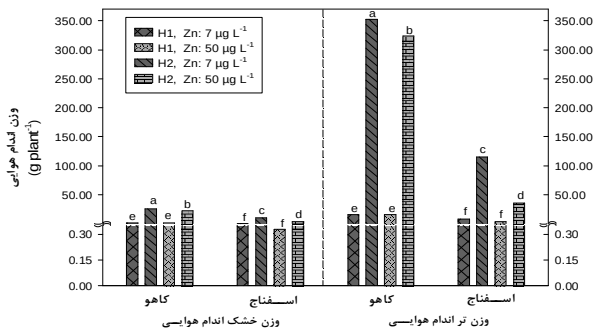
نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول۲) نشان داد که اثر سطح

جدول۲. تجزیه واریانس اثرهای اصلی و متقابل فاکتورها بر وزن خشک اندام هوایی، طول ریشه و نسبت طول ریشه به وزن خشک اندام هوایی (R/S)

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات		
		وزن خشک اندام هوایی	طول ریشه	R/S
سطح روی	۱	۳۷/۸**	۲۰۹/۴^{ns}	۳۰۹/۵**
زمان برداشت	۱	۱۲۲۸/۳**	۱۳۱۴۳/۹**	۲۱۲۷/۵**
نوع گیاه	۱	۴۸۹/۹**	۱۵۷۲۲/۸**	۱۵/۵^{ns}
سطح روی × زمان برداشت	۱	۳۲/۲**	۲۸/۱^{ns}	۵۰/۲^{ns}
سطح روی × نوع گیاه	۱	۹/۷**	۵۵/۹^{ns}	۹۴/۲*
زمان برداشت × نوع گیاه	۱	۳۸۵/۳**	۳۴۵۹/۵**	۲۰/۸^{ns}
اثرات متقابل سه گانه	۱	۶/۳**	۸۲/۳^{ns}	۱/۳^{ns}
خطا	۱۶	۰/۱۴	۱۷۷/۴۵	۱۸/۱۵

،* و **ns: به‌ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد و ۵ درصد و بدون اختلاف معنی‌دار

حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد بین تیمارها است. (برداشت اول :**H1** و برداشت دوم **H2**)،(// : شکست برای نمایش بهتر داده‌ها)



شکل ۱. اثر متقابل سطح روی، نوع گیاه و زمان برداشت بر وزن خشک و تر اندام هوایی

حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد بی‌ن تی‌مارها است.
(برداشت اول :H1 و برداشت دوم H2)،(// : شکست برای نمای‌ش بهتر داده‌ها)

روی، زمان برداشت و نوع گیاه بر وزن خشک اندام هوایی در سطح ۱ درصد معنی‌دار بود.

بررسی اثر متقابل سطح روی، نوع گیاه و زمان برداشت (شکل۱) نشان داد، با افزایش سطح روی در محلول غذایی وزن خشک و تر اندام هوایی کاهو و اسفناج در زمان برداشت دوم به‌طور معنی‌داری کاهش یافت.

براساس نتایج تجزیه واریانس (جدول۲)، اثر زمان برداشت، نوع گیاه و اثر متقابل آنها بر طول ریشه در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود. مقایسه میانگین‌ها (جدول۳) نشان داد که با گذشت زمان طول ریشه به‌طور معنی‌داری افزایش یافت و بیشترین و کمترین طول ریشه به‌ترتیب مربوط به کاهو در زمان برداشت دوم و اسفناج در زمان برداشت اول است. اثر سطح روی و زمان برداشت و هم‌چنین اثر متقابل نوع گیاه و سطح روی بر نسبت طول ریشه به وزن خشک اندام هوایی (R/S) در سطح ۵ درصد معنی‌دار بود (جدول۲).

وزن خشک اندام هوایی (شکل۱) و طول ریشه (جدول۳) در هر دو گیاه با گذشت زمان افزایش یافت با این تفاوت که وزن خشک اندام هوایی نسبت به طول ریشه با گذشت زمان با شیب بیشتری افزایش یافت، به همین دلیل نسبت R/S با گذشت زمان کاهش یافت (جدول۴). باربر (۷) و وانگ و همکاران (۳۳) گزارش کردند که اولین واکنش دفاعی گیاهان به غلظت زیاد نیترات در محلول غذایی کاهش نسبت R/S با گذشت زمان است آنها این امر را بیانگر نوعی خود تنظیمی گیاه در مقابله با افزایش غلظت نیترات دانستند، به عبارتی گیاه

جدول۳. اثر نوع گیاه و زمان برداشت بر طول ریشه (متر)

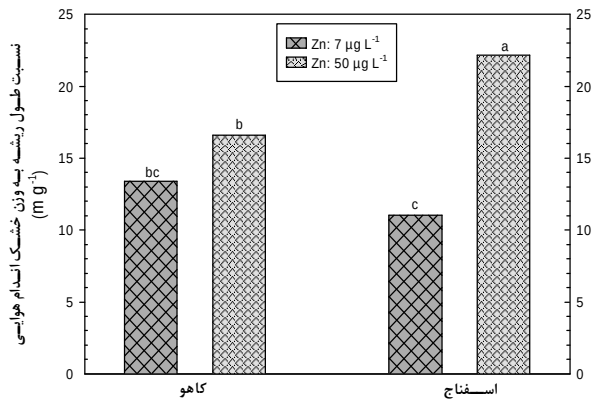
گیاه	زمان برداشت (روز بعد ازانتقال نشاءها به محلول غذایی)		میانگین
	۲۹	۴۶	
کاهو	۳۹/۴۳ b	۱۱۰/۲۴ a	۷۴/۸۳ A
اسفناج	۱۲/۲۵ c	۳۵/۰۴ b	۲۳/۶۴ B
میانگین	۲۵/۸۳ B	۷۲/۶۴ A	

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

جدول۴. اثر سطح روی و زمان برداشت بر نسبت طول ریشه به وزن خشک اندام هوایی (R/S)

پارامتر اندازه‌گیری شده	زمان برداشت (روز بعد ازانتقال نشاءها به محلول غذایی)		سطح روی (میکروگرم در لیتر)	
	۲۹	۴۶	۷	۵۰
R/S	۲۵/۲۰ a	۶/۳۷ b	۱۲/۲۰ b	۱۹/۳۸ a

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



شکل۲. اثر متقابل سطح روی و نوع گیاه بر نسبت طول ریشه به وزن خشک اندام هوایی (R/S)

حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد بی‌ن تی‌مارها است.

با عدم گسترش ریشه و در مقابل با توسعه و گسترش اندام هوایی، در مواجه با افزایش نیترات از خود واکنش دفاعی نشان می‌دهد. افزایش غلظت روی در محلول غذایی، با کاهش وزن خشک اندام هوایی در زمان برداشت دوم موجب افزایش نسبت R/S شد (جدول۴). هم‌چنین اثر متقابل سطح روی و نوع گیاه نشان داد (شکل۲)، نسبت R/S در گیاه اسفناج با افزایش غلظت روی در محلول غذایی افزایش یافت.

غلظت نیترات ریشه، اندام هوایی و فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز

اثر سطح روی، زمان برداشت، نوع گیاه و هم‌چنین اثرات متقابل آنها بر غلظت نیترات ریشه و اندام هوایی در سطح ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول۵).

نتایج مقایسه میانگین‌ها (جدول۶) نشان داد، در سطح ۵۰

جدول۵. تجزیه واریانس اثرهای اصلی و متقابل فاکتورها بر غلظت نیترات در اندام هوایی و ریشه و فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز اندام هوایی

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات		
		غلظت نیترات ریشه	غلظت نیترات اندام هوایی	فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز اندام هوایی
سطح روی	۱	۱۸۴۲/۲**	۷۸۳۴۳/۵**	۰/۰۱۶**
زمان برداشت	۱	۲۸۰۶۱/۱**	۵۱۴۹۷۰/۹**	۰/۰۰۴**
نوع گیاه	۱	۱۰۰۵/۵**	۱۳۹۸۱۵۰/۲**	۰/۱۲۶**
سطح روی × زمان برداشت	۱	۱۹۹۸/۵**	۳۷۰۴۴/۲**	۰/۰۰۰۱*
سطح روی × نوع گیاه	۱	۴۲۲۴/۳**	۲۱۸۹۷۷/۶**	۰/۰۰۴**
زمان برداشت × نوع گیاه	۱	۹۱۳/۷**	۱۱۶۹۰۱/۰**	۰/۰۰۲**
اثرات متقابل سه گانه	۱	۳۴۵۸/۶**	۱۴۹۹۱/۹**	۰/۰۰۰۹**
خطا	۱۶	۷/۱	۱۸۰۷/۶	۰/۰۰۰۳

**،* و ns: به‌ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد و ۵ درصد و بدون اختلاف معنی‌دار

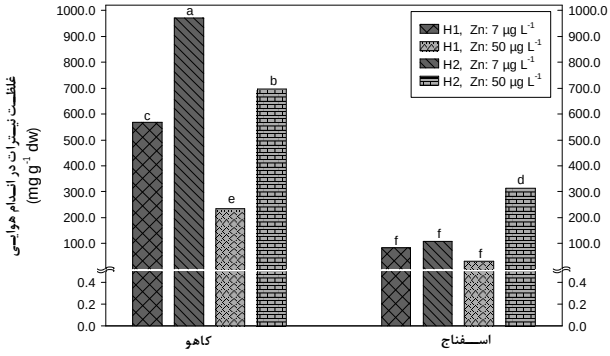
جدول۶. مقایسه میانگین‌های اثر زمان برداشت، سطح روی و نوع گیاه بر غلظت نیترات ریشه، اندام هوایی و فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز

اثر اصلی	سطوح	غلظت نیترات ریشه	غلظت نیترات اندام هوایی	فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز
		(میلی‌گرم در گرم)		($\mu mol\ NO_2^-\ .g^{-1}\ FW.\ h^{-1}$)
زمان برداشت	۲۹	۷/۱۱b	۲۳۰/۱۲b	۰/۱۵۵a
	۴۶	۷۵/۴۹a	۵۲۳/۰۹a	۰/۱۳۰b
سطح روی	۷	۵۰/۰۶a	۴۳۳/۷۴a	۰/۱۱۶b
	۵۰	۳۲/۵۴b	۳۱۹/۴۷b	۰/۱۶۸a
نوع گیاه	کاهو	۳۴/۸۳b	۶۱۷/۹۷a	۰/۰۷۰b
	اسفناج	۴۷/۷۷a	۱۳۵/۲۴b	۰/۲۱۵a

در هر ستون و در هر فاکتور، میانگین‌های دارای حداقل یک حرف لاتین مشترک، با آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌دار ندارند.

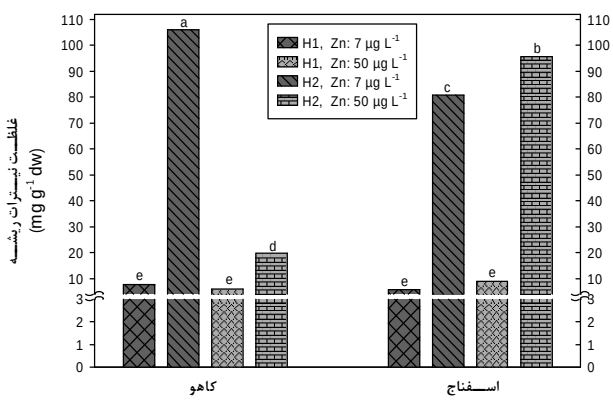
میکروگرم در لیتر روی، غلظت نیترات ریشه و اندام هوایی به‌طور معنی‌داری کمتر از سطح ۷ میکروگرم در لیتر روی است. با گذشت زمان غلظت نیترات ریشه و اندام هوایی افزایش یافت. نتایج هم‌چنین نشان داد غلظت نیترات در ریشه اسفناج بیشتر از کاهو بوده است در حالی‌که غلظت نیترات در اندام هوایی کاهو بیشتر از اسفناج بود. پژوهش‌های آنجانا و همکاران (۶) نشان داد که غلظت نیترات در اندام هوایی اسفناج با گذشت زمان افزایش یافته به‌طوری‌که میزان انباشت نیترات ۶ هفته بعد از کاشت به‌طور معنی‌داری بیش از ۳ هفتگی بوده است.

همان‌طور که نتایج در جدول ۳ نشان داد، طول ریشه در گیاه اسفناج به‌طور معنی‌داری کمتر از کاهو بوده است و براساس پژوهش‌های لیزینسکی و تانر (۲۲) و استالهام و آلن (۳۰) که گزارش کردند که بین طول ریشه و وزن خشک ریشه رابطه خطی و مستقیمی وجود دارد می‌توان بیان نمود که وزن خشک ریشه نیز در گیاه اسفناج به‌طور معنی‌داری کمتر از کاهو است به همین دلیل غلظت نیترات در ریشه اسفناج بیشتر از کاهو بوده است.



شکل۳. اثر متقابل سطح روی، نوع گیاه و زمان برداشت بر غلظت نیترات اندام هوایی

حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد بین تیمارها است. (برداشت اول :H1 و برداشت دوم H2)،(// : ایجاد شکست برای نمایش بهتر داده‌ها)



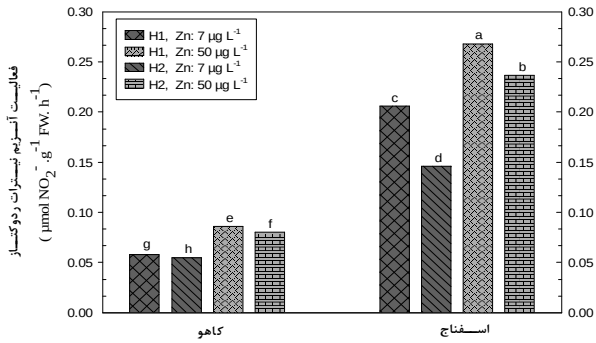
شکل۴. اثر متقابل سطح روی، نوع گیاه و زمان برداشت بر غلظت نیترات ریشه

حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد بین تیمارها است. (برداشت اول :H1 و برداشت دوم H2)،(// : ایجاد شکست برای نمایش بهتر داده‌ها)

نتایج تجزیه واریانس (جدول۵) نشان داد که اثر سطح روی، زمان برداشت و نوع گیاه و اثرات متقابل آنها بر فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز در سطح ۱ درصد معنی‌دار بود. مقایسه میانگین‌ها (جدول۶) نشان داد که با گذشت زمان فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. افزایش سطح روی در محلول غذایی موجب افزایش فعالیت آنزیم شد، هم‌چنین نتایج نشان داد که فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز در گیاه اسفناج به‌طور معنی‌داری بیشتر از کاهو بوده است. افزایش فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز، با افزایش غلظت روی در محلول غذایی موجب کاهش انباشت نیترات در ریشه و اندام هوایی شد (جدول۶). هم‌چنین با گذشت زمان و کاهش فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز غلظت نیترات ریشه و اندام هوایی افزایش یافت (جدول۶). سانتورو و مگالهیز (۲۷) با بررسی تغییرات فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز در مراحل رشد گیاه نشان دادند که با افزایش رشد گیاه و کاهش فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز میزان انباشت نیترات در گیاه افزایش یافت.

غلظت نیترات در اندام هوایی کاهو به‌طور معنی‌داری بیشتر از اسفناج بود (جدول۶) که دلیل آن به تفاوت در نوع گیاه، طویل‌تر بودن طول ریشهٔ کاهو نسبت به اسفناج (جدول۳) و میزان کم فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز در کاهو (جدول۶) مربوط می‌شود. نتایج این پژوهش با نتایج کمپل (۱۰) که اعلام کرد میزان فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز بسته به نوع و سن گیاه و شرایط تغذیه‌ای آن متفاوت است مطابقت دارد. نتایج سانتاماریا (۲۶) و چن و همکاران (۱۲) نشان داد که در یک شرایط محیطی و تغذیه‌ای یکسان توانایی گیاهان مختلف در جذب و احیاء نیترات متفاوت است که یکی از دلایل آن تفاوت در میزان فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز است. بیورز و هگمن (۸) اعلام کردند که افزایش فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز موجب کاهش غلظت نیترات در اندام‌های گیاهی می‌شود.

اثر متقابل سطح روی، نوع گیاه و زمان برداشت بر غلظت نیترات اندام هوایی (شکل۳) نشان داد، با افزایش غلظت روی در محلول غذایی غلظت نیترات در اندام هوایی کاهو در هر دو زمان برداشت کاهش یافت. در حالی‌که غلظت نیترات در اندام هوایی اسفناج در زمان برداشت دوم، به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. کیتاگیشی و اوباتا (۲۰) با بررسی تأثیر کمبود عنصر روی در متابولیسم نیتروژن در گیاه نشان دادند که کمبود روی موجب کاهش غلظت نیتروژن کل و نیتروژن آلی و افزایش غلظت نیترات در گیاه گردید. شرما و همکاران (۲۹) در پژوهشی با



شکل۵. اثر متقابل سطح روی، نوع گیاه و زمان برداشت بر فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز

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

بررسی نقش عنصر روی در فیزیولوژی گیاه، به نقش این عنصر در متابولیسم نیترات اشاره کردند. پژوهش‌های آمبرگ (۵) نشان داد، نقش عنصر روی در انباشت نیترات مربوط به نقش این عنصر در فعالیت‌های آنزیمی مؤثر در احیاء و متابولیسم نیترات بود و کمبود روی در گیاهان موجب تشدید انباشت نیترات در آنها شد.

براساس نتایج شکل ۴، افزایش غلظت روی در محلول غذایی، موجب کاهش غلظت نیترات در ریشه گیاه کاهو در زمان برداشت دوم شد در حالی‌که غلظت نیترات در ریشه اسفناج در زمان برداشت دوم افزایش یافت. با افزایش غلظت روی در محلول غذایی، انباشت نیترات در ریشه اسفناج افزایش یافت که علت آن به ویژگی‌های مورفولوژیک ریشهٔ گیاه شامل طول ریشه و وزن خشک ریشه مربوط می‌شود. همان‌طورکه اشاره شد (جدول۳)، طول ریشه در گیاه اسفناج به‌طور معنی‌داری کمتر از کاهو بوده است بر همین اساس به‌دلیل اثر رقت، افزایش غلظت روی در محلول غذایی با کاهش طول ریشه و در نتیجه وزن خشک ریشه موجب افزایش غلظت نیترات در ریشه اسفناج گردید.

اثر متقابل سطح روی، نوع گیاه و زمان برداشت بر فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز (شکل۵) نشان داد که با افزایش غلظت روی در محلول غذایی، میزان فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز در اندام هوایی کاهو و اسفناج در هر دو زمان برداشت به‌طور معنی‌داری افزایش یافت.

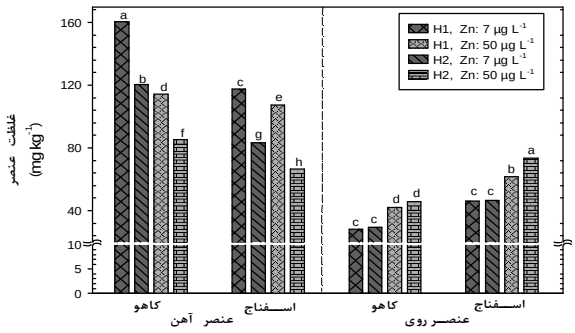
میزان فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز برحسب میکرومول نیتریت تولید شده در یک گرم وزن تازه گیاهی (اندام هوایی) در ساعت گزارش شد. افزایش غلظت روی در محلول غذایی اگرچه موجب افزایش فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز (در یک گرم وزن تر اندام هوایی) در اسفناج گردید (شکل۵) اما به‌دلیل کاهش شدید وزن تر و خشک اندام هوایی اسفناج در زمان برداشت دوم (شکل۱)، میزان فعالیت آنزیم در کل اندام هوایی اسفناج به اندازه‌ای نبوده است که بتواند با انباشت نیترات در گیاه مقابله کند، به عبارتی میزان ورودی نیترات به گیاه اسفناج بیشتر از سرعت احیاء و جذب خالص آن بوده است؛ به همین دلیل غلظت نیترات در اندام هوایی اسفناج (شکل۳) با افزایش غلظت روی در محلول غذایی افزایش یافت. علاوه بر این با افزایش غلظت روی و افزایش فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز در گیاه اسفناج، میزان ورودی نیترات به داخل گیاه (اینفلاکس(Influx)) نیز افزایش یافت و از آنجا که میزان اینفلاکس نیترات به درون گیاه از مقدار کاهش نیترات در اثر فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز بیشتر بود، لذا برآیند غلظت نیترات در گیاه افزایشی بوده است. میزان اینفلاکس نیترات به درون گیاهان کاهو و اسفناج و مکانیسم‌های مربوط به آن در مقاله‌ای دیگر به‌صورت کامل ارائه و بررسی خواهند شد.

افزایش غلظت روی در محلول غذایی، موجب کاهش انباشت نیترات در گیاه کاهو (شکل۳) شد. علت کاهش انباشت نیترات در اندام هوایی کاهو را می‌توان به چند عامل نسبت داد، ۱- افزایش فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز در اندام هوایی کاهو (شکل۵)، با افزایش غلظت روی در محلول غذایی ۲- نقش یون سولفات در کاهش انباشت نیترات (چون در این آزمایش برای تأمین عنصر روی از نمک سولفات روی استفاده شد، بخشی از اثر روی بر انباشت نیترات را می‌توان به عنصر سولفات نسبت داد). بلوم زاندسترا و لمپ (۹) در مطالعات

جدول۷. مقایسه میانگین‌های اثر زمان برداشت، سطح روی و نوع گیاه بر غلظت آهن، روی و مس در اندام هوایی

اثر اصلی	سطوح	غلظت آهن	غلظت روی (میلی‌گرم بر کیلوگرم)	غلظت مس
زمان برداشت	۲۹	۱۲۴/۹^{a}	۴۴/۵۰^{b}	۱۲/۷۷^{a}
	۴۶	۸۸/۸۲^{b}	۴۸/۶۹^{a}	۱۰/۷۹^{b}
سطح روی	۷	۱۲۰/۳۲^{a}	۳۷/۵۰^{b}	۱۲/۴۸^{a}
	۵۰	۹۳/۳۷^{b}	۵۵/۶۹^{a}	۱۱/۰۸^{b}
نوع گیاه	کاهو	۱۲۰/۰۱^{a}	۳۶/۳۲^{b}	۱۱/۹۴^{a}
	اسفناج	۹۳/۶۱^{b}	۵۶/۸۸^{a}	۱۱/۶۱^{b}

در هر ستون و در هر فاکتور، میانگین‌های دارای حداقل یک حرف لاتین مشترک، با آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌دار ندارند.



شکل۶. اثر متقابل سطح روی، نوع گیاه و زمان برداشت بر غلظت آهن و روی

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

خود نشان دادند که بین غلظت نیترات با سولفات و روی در اندام‌های گیاه کاهو، رابطه همستیزی وجود دارد. ماینارد و همکاران (۲٤) نشان دادند که کاهش غلظت سولفات روی ممکن است به افزایش انباشتگی نیترات در گیاهان منجر شود. ۳- وجود رابطه هم ستیزی بین یون روی و نیترات در اندام هوایی گیاه (در ادامه مقاله بررسی شده است).

غلظت عناصر آهن، روی و مس

نتایج مقایسه میانگین های اثر زمان برداشت، سطح روی و نوع گیاه بر غلظت عناصر (جدول۷) نشان داد، با گذشت زمان و هم‌چنین افزایش غلظت روی در محلول غذایی، غلظت آهن و مس در اندام هوایی کاهش و غلظت روی در اندام هوایی افزایش یافت. نتایج هم‌چنین نشان داد که غلظت آهن و مس در کاهو بیشتر از اسفناج بود درصورتی‌که غلظت روی در اندام هوایی اسفناج بیشتر از کاهو بوده است.

اثر متقابل سطح روی، نوع گیاه و زمان برداشت بر غلظت عناصر آهن و روی (شکل۶) نشان داد، با افزایش غلظت روی در محلول غذایی، غلظت آهن در اندام هوایی کاهو و اسفناج در هر دو زمان برداشت کاهش یافت. غلظت روی نیز در اندام هوایی کاهو و اسفناج در هر دو زمان برداشت افزایش یافت. با گذشت زمان غلظت آهن در اندام هوایی کاهو و اسفناج کاهش یافت. نتایج نشان داد که گذشت زمان موجب افزایش غلظت روی در اندام هوایی اسفناج در سطح ۵۰ میکروگرم در لیتر روی گردید.

آدیلوگلو (۲) در پژوهشی با بررسی اثر مقادیر روی و نیتروژن بر غلظت عناصر کم‌نیاز نشان داد که با کاربرد غلظت زیاد روی در یک خاک آهکی، مقدار آهن، منگنز و مس در گیاه به‌طور معنی‌داری کاهش پیدا کرد که این امر می‌تواند به‌دلیل رقابت بین روی و عناصر آهن، منگنز و مس در جذب توسط ریشه گیاه باشد. کامباس و همکاران (۱۳) نیز بیان کردند که

روی از انتقال آهن در گیاه شاهی آبی جلوگیری کرده و به نظر می‌رسد که روی به‌عنوان کاتیون رقیب از انتقال متابولیک فعال آهن در مکان‌های جذب در ساقه جلوگیری می‌کند. آلپسلان و تابان (٤) نیز در بررسی ارتباط بین عنصر روی و آهن در گیاه برنج نشان دادند که علت کاهش عملکرد برنج با افزایش فراهمی روی، مربوط به کاهش میزان جذب آهن در آن بوده است. شرما و همکاران (۲۸) در مطالعات خود بر روی کلم نشان دادند که کمبود روی در گیاه منجر به افزایش انباشت نیترات و کاهش غلظت عناصر کم نیاز (آهن, مس و منگنز) در گیاه شد که دلیل آن را رابطه همستیزی بین روی و نیترات و نیترات با عناصر آهن, مس و منگنز دانستند.

افزایش غلظت روی در محلول غذایی، موجب کاهش غلظت آهن در اندام هوایی اسفناج (شکل۶) و هم‌چنین افزایش غلظت نیترات در اندام هوایی گیاه در زمان برداشت دوم (شکل۳) گردید. کاهش غلظت آهن و افزایش انباشت نیترات در اندام‌های گیاهی و هم‌چنین افزایش غلظت نیترات در محلول می‌تواند به‌عنوان یک تنش تغذیه‌ای برای گیاه مطرح باشد که باعث افزایش نسبت R/S در گیاه اسفناج شد (شکل۲). جانجک و کلاسن (۱۹) نسبت R/S را بیان‌گر توانایی گیاه در جذب عناصر غذایی در شرایط محدودیت و یا تنش عناصر غذایی در محیط رشد دانستند و افزایش این نسبت را به‌عنوان یکی از سازوکارهای مورد استفاده گیاهان برای جذب مقدار کافی عناصر غذایی در شرایط کمبود مطرح نمودند.

غلظت آهن و مس در اندام هوایی با گذشت زمان کاهش یافت (جدول۷)، که می‌تواند دلیلی برای کاهش فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز با گذشت زمان باشد (شکل۵). مطالعات تری (۳۲) نشان داد میزان فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز در گیاهانی که کمبود آهن و مس دارند کاهش یافت و علت آن را به نقش این دو عنصر به‌عنوان اجزای فلزی در ساختار آنزیم نیترات ردوکتاز مربوط دانست.

نتیجه‌گیری

با گذشت زمان و کاهش فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز غلظت نیترات در ریشه و اندام هوایی افزایش یافت. افزایش غلظت روی در محلول غذایی با افزایش فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز موجب کاهش غلظت نیترات در ریشه و اندام هوایی گردید. هم‌چنین با افزایش غلظت روی در گیاه، غلظت آهن و مس در اندام هوایی کاهش یافت. افزایش سطح روی در محلول غذایی با کاهش وزن خشک اندام هوایی کاهو و اسفناج در زمان برداشت دوم موجب افزایش نسبت R/S شد. با افزایش غلظت روی اگرچه فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز در هر دو گیاه افزایش یافت، لیکن تنها کاهش غلظت نیترات در اندام هوایی کاهو مشاهده گردید. علت افزایش غلظت نیترات در اندام هوایی اسفناج، با افزایش غلظت روی در محلول، می‌تواند به کاهش شدید وزن تر اندام هوایی اسفناج و هم‌چنین میزان ورودی نیترات به داخل گیاه (اینفلاکس) مربوط باشد. نتایج این پژوهش نشان داد متابولیسم نیترات در گیاهان تحت تأثیر فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز بوده و فعالیت این آنزیم نیز تحت تأثیر نوع گیاه, زمان برداشت و شرایط تغذیه‌ای گیاه از جمله غلظت عنصر روی است.

منابع مورد استفاده

۱. امامی ع. ۱۳۷۵. شرح روش‌های تجزیه گیاه، جلد اول، نشریه فنی شماره ۹۸۲، مؤسسه تحقیقات خاک و آب تهران.

2. Adiloglu, S. 2006. The effect of increasing nitrogen and zinc doses on the iron, copper and manganese contents of maize plant in calcareous and zinc deficient soils. Asian J. Plant Sci. 5: 504-507.
3. Ahmed, A.H.H., M.K. Khalil and A.M. Farrag. 2000. Nitrate accumulation, growth, yield and chemical composition of Rocket plant as affected by NPK fertilization, kinetin and salicylic acid, in: Proceedings of ICEHM 2000, Cairo University, Egypt, pp. 495–508.
4. Alpaslan, M. and S. Taban. 1996. Zinc-iron relationship in rice (Oryza sativa L.). Ankara Univ., J. Agric. Fac. Ankara, Turkey. 2: 45-49.
5. Amberger, A. 1974. Micronutrients, dynamics in the soil and function in plant metabolism. II- Manganese. Proc.

Egypt. Bot. Soc. Workshop 1:91-101.
6. Anjana., S. Umar and M. Iqbal. 2006. Nitrate accumulation in plants, factors affecting the process,and human health implications. A review, Industry and Agriculture, New Delhi, India, pp.45-57.
7. Barber, S. A. 1984. Soil nutrient bioavailability. A mechanistic approach. John Wiley and Sons, New York, NY. 398 p.
8. Beevers, L. and R. H. Hageman.1983. Uptake and reduction of nitrate: Bacteria and higher plants. In "Encyclopedia of Plant Physiology, New series" 154: 351-375.
9. Blom-Zandstra, M. and J.E.M. Lampe. 1983. The effect of chloride and sulphate salts on the nitrate content in lettuce plants, J. Plant Nutr. 6: 611–628.
10. Campbeel, W. h. 1999. Nitrate reductase, structure, function and regulation: bridging the gap between biochemistry and physiology. Annu Rev Plant Physiol Plant Mol BIOL 50: 277-303.
11. Cantliffe, D.J. 1973. Nitrate accumulation in table beets and spinach as affected by nitrogen, phosphorus, and potassium nutrition and light intensity, Agron. J. 65: 563–565.
12. 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.
13. Cumbus, I. P., D. J. Hornsey and L. W. Robinson. 1977. The influence of phosphorus, zinc and manganese on absorption and translocation of iron in watercress. J. Plant and Soil 78: 651-660.
14. Dejon, C. W. And W. Stekbaut. 1995. Nitrate in food commodities vegetable origin and the total diet in belgium, ghent university., Faculties Bio-Ingenious Wetenschappen (FLTBW) 15: 625-631.
15. Drlik, J. and J. Rogl. 1992. The effect of graduated rates of nitrogen fertilization on yield and nitrate accumulation in carrots, Zahradnictvi 19:39–46.
16. Egmond, F. and H. Breteler. 1972. Nitrate reductase activity and oxalate content of sugar-beet leaves. Neth. J. Agric. Sci. 20: 193-198.
17. Hoagland, D. R. and D. I. Arnon. 1950. The water-culture method for growing plants without soil. Calif. Agric. Exp. St., USA, Circ. 347 (Revised by D.I. Arnon).
18. Jaworski, E. G. 1971. Nitrate reductase assay in intact plant tissues. Biochemical and Biophysical Research Communications 43: 1274-1279.
19. Jungk, A. and N. Claassen. 1997. Ion diffusion in the soil-root system. Adv. Agron. 61: 53-110.
20. Kitagishi, K. and H. Obata. 1986. Effects of zinc deficiency on the nitrogen metabolism of meristematic tissues of rice plants with reference to protein synthesis. Soil Sci. Plant Nutr. 32: 397–405.
21. Klein, R. M., E.M. Captuto and B.A. Witterhole. 1962. The role of zinc in the growth of plant tissue culture. Am. J. Bot. 49: 323–327.
22. Lesczynski, D.B. and C.B. Tanner. 1976. Seasonal variation in root distribution of irrigated field-grown 'Russet Burbank' potatoes. Am. Potato. J. 53: 69-78.
23. Lindsay, W.L. 1972. Zinc in soils and plant nutrition. Adv. Agron. 24: 147–186.
24. Maynard, D.N., A.V. Barker, P.L. Minotti and H.H. Peck. 1976. Nitrate accumulation in vegetables. Adv. Agron. 28: 71–118.
25. Ruiz, J.M. and L. Romero. 2002. Relationship between potassium fertilization and nitrate assimilation in leaves and fruits of cucumber (Cucumis sativa) plants, Ann. Appl. Biol. 140: 241–245.
26. Santamaria, P. 2006. Nitrate in vegetables: toxicity, content, intake and EC regulation, J. Sci. Food Agr. 86: 10–17.
27. Santoro, L.G. and A. C. N. Magalhaes. 1983. Changes in nitrate reductase activity during development of soybean leaf. J. Plant Physiol. 112: 113-121.
28. Sharma, C P., P.N. Sharma, S.S. Bisht and B.D. Nautical. 1982. Zinc deficiency induced changes in cabbage [Brassica oleracea var. Capitata]. In Plant Nutrition 1982: Proceedings of the Ninth international Plant Nutrition Colloquium, Warwick University, England, August 22-27, 1982. Ed. A Scaife. pp 601–606.
29. Sharma, P.N., C. Chatterjee, C.P. Sharma, N. Nautiya and S.C. Agarwala. 1979. Effect of zinc deficiency on development and physiology of wheat pollen. J. India Bot. Soc 58:330–334.
30. Stalham, M. A. and E. J. Allen. 2001. Effect of variety, irrigation regime and planting date on depth, rate, duratioand density of root growth in the potato (Solanum tuberosum L.) crop. J. Agric. Sci. Comb. 137: 251-270.
31. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater 20th Edition 1998.
32. Terry, N. 1980. Limiting factors in photosynthesis. I. Journal of Plant Physiology. 65: 114-120.
33. Wang, Y., G. Mi, F. Chen, J. Zhang and F. Zhang. 2004. Response of root morphology to nitrate supply and its contribution to nitrogen accumulation in maize. J. Plant Nutr, 27: 2189-220.
34. Zhou, Z.Y., M.J. Wang and J.S. Wang. 2000. Nitrate and nitrite contamination in vegetables in China, Food Rev. Int. 16: 61–76.