نشریه پژوهشهای زراعی ایران
جلد ۸، شماره ۶ ، بهمن - اسفند ۱۳۸۹، ص. ۹۸۲-۹۷۵

Iranian Journal of Field Crops Research
Vol. 8, No. 6, Jan. – Feb. 2011, p. 975-982

تأثیر کاربرد نسبت‌های مختلف نیترات به آمونیوم بر میزان فتوسنتز، تنفس و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانت کلزا (*Brassica napus* L.) در شرایط شور

احمد بای بوردی[1*] - سید جلال طباطبایی[2] - علی احمداف[3]

تاریخ دریافت: ۸۸/۱۰/۱۹
تاریخ پذیرش: ۸۹/۴/۳۰

چکیده :

به منظور بررسی تأثیر کاربرد نسبت‌های مختلف نیتروژن در سطوح مختلف شوری در محصول کلزا آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در گلخانهٔ مرکز تحقیقات کشاورزی آذربایجان‌شرقی در سال ۸۷ انجام گرفت. فاکتور اول نسبت‌های نیتروژن نیترات به آمونیوم در چهار سطح (۰: ۱۰۰ ، ۲۵ : ۷۵ ، ۵۰ : ۵۰ و ۷۵ : ۲۵) و فاکتور دوم شوری در دو سطح صفر و ۲۰۰ میلی‌مولار کلرورسدیم بود. بیشترین وزن تر و خشک ، سطح برگ و مقدار آب نسبی، میزان فتوسنتز و شدت تعرق و میزان پتاسیم در برگ در صورت کاربرد نسبت(۵۰ :۵۰) نیترات به آمونیوم در شرایط غیر شور به دست آمد. با افزایش شوری مقادیر پارامترهای وزن تر، وزن خشک، سطح برگ، مقدار نسبی آب، میزان و فتوسنتز و شدت تعرق و میزان پتاسیم برگ به طور معنی‌داری کاسته شده و به نظر می‌رسد با افزایش شوری در صورت اعمال نسبت نیتروژنی، (۵۰ :۵۰) نیترات به آمونیوم گیاه آسیب کمتری می‌بیند. همچنین فعالیت آنزیمهای آنتی اکسیدانت نظیر گلوتاتیون ردوکتاز، سوپراکسید دسیموتاز، پراکسیداز، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز در نتیجهٔ اعمال تیمارهای مختلف مورد ارزیابی قرار گرفت. فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانت در محیط شور به طور معنی‌داری بیشتر از شرایط غیر شور بود. در تیمارهایی که محصول کلزا از مقادیر بالای آمونیوم استفاده نموده بود میزان فعالیت این آنزیمها بیشتر از شرایط تغذیه با نیترات بود. بیشترین میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانت در صورت کاربرد نسبت نیترات به آمونیوم ۵۰ : ۵۰ و ۷۵: ۲۵ اندازه‌گیری شد. به نظر می‌رسد با قرار گرفتن کلزا در محیط شور و کاربرد نسبت‌های نیتروژنی فوق، گیاه بهتر خواهد توانست شرایط تنش را سپری نماید.

واژه های کلیدی : کلزا، شوری، نسبت‌های نیتروژن، آنزیم‌های آنتی اکسیدانت

مقدمه

تنش شوری یکی از مهم‌ترین و رایج‌ترین تنش‌های غیر زیستی است که تولید محصولات کشاورزی و بازده استفاده از اراضی مناطق خشک و نیمه خشک را کاهش می‌دهد (۱۳). طبق برآورد سازمان خواربار جهانی(FAO) حدود ۳۰۰میلیون هکتار از زمین‌های کشاورزی جهان تحت تنش شوری می‌باشد (۳). با توجه به توسعه کشاورزی فاریاب و اجتناب ناپذیر بودن استفاده از منابع آبی با کیفیت پائین و شور، تخریب اراضی زراعی مرغوب و گرایش به سمت شور و قلیا شدن خاک مسئله ساز خواهد بود (۲). شوری خاک دامنهٔ وسیعی از اختلالات را در سلول های گیاهی ایجاد می‌کند و باعث ایجاد سلسله‌ای از فرآیندهای معین می‌شود که منجر به تجمع املاحی نظیر سدیم و کلر شده و بر جذب عناصر غذایی از طریق اثرات متقابل رقابتی و یا نفوذپذیری انتخابی یونها در غشاها اثر می‌گذارند (۲۲) که این امر باعث کاهش رشد گیاه می‌شود. مقاومت به نمک شامل یکسری از صفات پیچیده‌ای می‌باشد، که به خصوصیات فیزیولوژیک درون سلولی در گیاه بستگی دارد (۳۳). از تغییرات بیوشیمیایی مهمی که تحت تنش شوری اتفاق می‌افتد تولید انواع اکسیژن فعال می‌باشد، که در خلال این امر الکترون‌های تراوش شده از زنجیره انتقال الکترونی می‌توانند با اکسیژن مولکولی واکنش نشان داده و تولید انواع اکسیژن فعال مانند سوپراکسید (O^{-}_{2}) و پراکسید هیدروژن (H_2O_2) و رادیکال هیدروکسیل (OH^{0}) نمایند (۳۲). این انواع اکسیژن برای سلول بسیار واکنش‌گر و سمی بوده و در غیاب یک مکانیزم حفاظتی

۱- عضو هیأت علمی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی آذربایجان شرقی و دانشجوی دکتری دانشگاه باکو
(*- نویسنده مسئول: Email:abaybordy@yahoo.com)
۲- استاد دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز
۳- استاد دانشکده بیولوژی دانشگاه باکو

قوی ایجاد می شوند و بـه متابولیسـم عـادی لیپیـدها، پـروتئین‌هـا و اسـیدهای نوکلئیـک صـدمه مـی‌زننـد (۳۴) و مخصوصـاً باعـث پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء می‌شوند (۳۲). این انواع اکسیژن فعـال در سلول های زنده طی متابولیسم نرمال تولید می‌شوند، ولی معمـولاً سطوح طبیعی آنزیم‌های آنتی اکسیدانت برای پالایش رادیکـال‌هـای آزاد کافی است و آنها را به متابولیت‌های بی‌ضرر تبدیل مـی‌کننـد. در طول دورهٔ تنش، متابولیسم فیزیولوژیکی تولید انـواع اکسـیژن فعـال، افزایش می‌یابد تا حدی که صدمات حاصل از آنها توسـط آنـزیم‌هـای آنتی اکسیدانت قابل جلوگیری نمی‌باشد که نتیجهٔ آن کاهش سـرعت رشد می‌باشد (۳۱).

مکانیزم تأثیر شوری در ارتباط با فعالیت آنتی اکسیدانت‌ها به طور کامل مشخص نشده است ولی ممکن است براساس تأثیر یون کلر بر فتوسیستم II و یا اثر نسبت Na/K در پایـداری غشـاء سـلولی باشـد (۲۴). در غشاء اسیدهای چرب غیر اشباع تولید می‌شوند که به خواص و ساختمان غشاء صدمه می‌زنند و به این ترتیـب، موجـب افـزایش در نفوذپذیری و کاهش پایداری غشاء شده و خروج محلول‌ها را افـزایش می‌دهد که نتیجهٔ آن افزایش هدایت الکتریکی اسـت (۲۶). در مقابـل گیاهان تولید یکسری از آنزیم‌های آنتی اکسیدانت می‌کنند که از آنهـا در برابر صدمات ناشی از انواع اکسیژن فعال محافظت مـی‌کنـد. ایـن آنـزیم‌هـا شـامل سوپراکسـید دیسـموتاز،کاتالاز، گلوتـاتیون ردوکتـاز، اسکوربات پراکسیداز، گلوتاتیون ترانسـفرازها و پراکسـیداز مـی‌باشـند (۲۳و ۲۹) . مطالعات متعددی همبستگی مثبت بین فعالیت آنزیمهـای آنتی اکسیدانت و افزایش تنش شوری را نشان مـی‌دهنـد (۳۰ و۱۳) و مشـخص شـده کـه افـزایش فعالیـت پراکسـیدازی بـا کـاهش رشـد همبستگی مثبت دارد (۱۷). آنتی اکسیدانت براساس ژنوتیپ گیاه، نوع نمک،غلظت نمک، مرحلهٔ رشد و شرایط محیطـی تغییـر کردنـد (۱۸و ۲۸).

تحقیقاتی در خصـوص تـأثیر کـاربرد تـوأم نسـبت‌هـای مختلـف نیتروژن و شوری بر رشد، میزان فتوسنتز و متابولیسم نیتروژن صورت گرفته است (۱۷) تأثیرات کاربرد نسبت‌های مختلف نیتروژن (آمونیوم و نیترات) و سطوح مختلف شوری بر روی میزان تحمل به شـوری در گیاهان مختلف توسط دانشمندان گزارش شده است (۱۴). نتـایج ایـن مطالعات نشان می‌دهد که در صورت کاربرد فـرم آمونیـوم مسـیرهای متابولیکی که باعث تولید رادیکال اکسیژن می‌شوند محدودتر می‌گردد (۲۲). مطالعات اخیر نشان می‌دهد که با افزایش میزان شوری و نسبت بالای کاربرد آمونیوم بـه نیتـرات میـزان فعالیـت آنـزیم‌هـای آلدئیـد اکسیداز و گزانتین دهیدروژناز، که نقش مهمی در تحمـل بـه شـوری دارند، افزایش می‌یابد (۲۱ و ۱۹). در محیط شور جذب و مصرف یـون نیترات به دلیل تداخلات یونی در سراسر دیوارهٔ سلولی ریشه به کندی صورت می‌گیرد (۲۰). در این تحقیق اثرات شوری و کاربرد نسبت‌های مختلف نیتروژن بر جنبه‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی مقاومـت بـه تنش شوری در ارقام کلزای پاییزه مورد بررسی قرار می‌گیرد.

مواد و روش ها

این تحقیق در سال ۱۳۸۷ در گلخانهٔ تحقیقـاتی مرکـز تحقیقـات کشاورزی و منابع طبیعی آذربایجان‌شرقی اجراء شد. ایـن آزمـایش در قالب طرح کاملاً تصادفی به صورت فاکتوریل با ۳ تکـرار انجـام شـد. فاکتور اول سطوح شوری (صـفر و ۲۰۰ میلـی‌مـولار کلرورسـدیم) و فاکتور دوم نسبت‌های مختلف نیتروژن (نیترات / آمونیوم) به صـورت ۰: ۱۰۰، ۲۵: ۷۵، ۵۰ : ۵۰ و ۷۵ : ۲۵ را شامل می‌گردید. رقم کلـزای مورد استفاده SLM $_{046}$ بـود کـه در گلـدانهای ۵ لیتـری در مخلـوط پرلیت و ورمی کولیت به نسبت (۱ : ۱) کاشته شد. محـیط گلخانـه در شرایط نور طبیعی در بهار و تابستان قرار گرفته و دمای روز ۳ ± ۲۲ و در شب ۳ ± ۱۵ درجهٔ سانتی‌گراد تنظیم گردید. کلیهٔ گلـدان‌هـا در طول دورهٔ رشد توسط محلول هوگلند مورد تغذیه قرار گرفتنـد. تیمـار شوری (۲۰۰ میلی‌مولار کلرورسدیم) با استفاده از نمک کلرورسدیم به میزان ۱۲ گرم در لیتر به کار رفت. زیر هر گلدان یک زیر گلدان قـرار داده شد. دو هفته بعد از استقرار بوتـه‌هـا بـه ۵ بوتـه در گلـدان تنـک شدند. در مرحلهٔ ۴ برگی، با افزودن تدریجی محلول‌های شوری ناشی از غلظت مورد نظر کلرور سدیم در کنار کاربرد محلول هوگلند شـروع گردید. در تیمار با شوری ۲۰۰میلی مولار آنقدر آبیاری صورت گرفـت که شوری ورودی وخروجی گلدان‌ها بـا هـم مسـاوی گردیـد. اعمـال تیمارهای شوری تا پایان مرحلهٔ رسیدگی با غلظت‌های ذکر شده ادامه داشت. به طور متوسـط گلـدان‌هـا هـر ۳-۲ روز یکبـار محلـول‌دهـی می‌شدند. نسبت‌های مختلف نیتروژن براساس جدول ۱ تهیه گردید.

جدول ۱- غلظت نمک ها برای تهیهٔ محلول غذایی با نسبت NO_3: NH_4 بر حسب میلی مولار

نمک	$NO_3 : NH_4$			
	۱۰۰ : ۰	۷۵ : ۲۵	۵۰ : ۵۰	۲۵:۷۵
KNO_3	۵/۷	۵/۴	۰	۰
$Ca(NO_3)_2$	۴/۳	۲/۷	۳/۶	۱/۸
$MgSo_4$	۲	۲	۲	۲
KH_2PO_4	۱	۰	۰	۰
$NH_4H_2PO_4$	۰	۱	۱	۱
NH_4 Cl	۰	۲/۶	۶/۲	۹/۸
KCl	۱	۲/۳	۷/۷	۷/۷
$NaCl_2$	۰	۱/۵	۰/۷	۲/۴

هدایت الکتریکی اولیه محلول هـای غـذایی حـاوی نسـبت‌هـای آمونیوم و نیترات با اضافه کردن اسید سولفوریک به حدود ۶/۸ – ۶/۵ رسید. برای اندازه‌گیری فتوسنتز و شدت تعرق از دسـتگاه فتوسـنتزمتر

مـــدل ۱۰۱۰- Da اســـتفاده شـــد. واحـــد نـــوری آن در حـــدود (۱۰۰۰میکرومول بر متر مربع برثانیه) و CO_2 ورودی نیـز بـه غلظـت ۵۰۰۰ میلی لیتر در دقیقه تنظیم شد. اندازه‌گیری بین ساعات ۱۴-۹ و با شدت نوری ثابت صورت گرفت. یکی از برگ‌های سوم یا چهـارمی که ظاهر سالمی داشت زیر اتاقک دسـتگاه قـرار داده شـده و پـس از ثابت شدن اعداد Co_2- abs مقدار فتوسنتز خالص و سرعت تعـرق در سه نوبت اندازه‌گیری شد. داده‌های به دست آمده به کامپیوتر منتقل و مـورد ارزیـابی قـرار گرفتنـد. محتـوی نسـبی آب (RWC) در بـرگ گیاهچه‌های ده روز با استفاده از معادله ۱ محاسبه شد :

$$RWC = (\frac{fw - Dw}{tw - Dw}) \times 100 \qquad (۱)$$

کـه در آن tw,dw, fw بـه ترتیـب وزن تـر، وزن خشـک و وزن تورژسانس بود (۲). برای سنجش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانت به غیر از SOD از نمونه‌های برگ که در نیتروژن مایع نگهداری شده به ترتیبی که در هر بخش ذکر خواهد شد، اندازه‌گیری شد. فعالیت آنزیم سوپراکسـید دیسـموتاز SOD (EC 1.10.1.1) مطـابق روش جیانـاپولتیس و رایـس (۱۲) و براسـاس درصـددممانعت از احیاءنیتروبلوتترازولیوم کلراید به ترکیب ارغوانی رنگ دیفورمـازان بـه وسیلهٔ رادیکال سوپراکسید (O_2^-) حاصل از فتولیز ریبوفلاوین، توسـط آنزیم موجود در عصاره مورد اندازه‌گیری قـرار گرفـت. فعالیـت آنـزیم کاتـالاز CAT (EC 1.11.1.6) و براسـاس کـاهش جـذب پراکسـید هیـدروژن (H_2O_2) در طـول مـوج ۲۴۰ نـانومتر در دسـتگاه اسـپکتروفتومتر بـر حسـب جـذب در دقیقـه در گـرم وزن تـر بـه ازاء میلی‌گرم پروتئین خوانده شد (۷). فعالیـت آنـزیم پراکسـیداز از POD (EC 1.11.1.7) و از طریق تست گایاکول و تبدیل آن به تتراگایاکول به انجام رسید. جذب نمونه‌ها در طول ۴۷۰ nm اندازه‌گیری شـد (۸). سنجش فعالیت آنزیم گلوتاتیون ردوکتاز GR (EC 1.8.1.7) براساس احیاء گلوتاتیون اکسید شده به وسـیلهٔ NADPH و کـاهش جـذب در ۳۴۰ nm مطابق روش فویر و هالی ول انجام شـد (۱۶و۲۷). فعالیـت آنـزیم اسـکوربات پراکسـیداز APX (EC1.11.1.11) و براسـاس اکسیداسـیون اسـید آسـکوربیک و کـاهش جـذب در ۲۹۰ nm مـورد اندازه‌گیری قرار گرفت (۱۶و ۲۵). همچنـین غلظـت عناصـر سـدیم و پتاسیم توسط فلیم فتومتر اندازه‌گیری شد. اطلاعات جمع‌آوری شده با استفاده از نرم افزار MSTATC و SPSS تجزیه و تحلیل و نمودارهـا با نرم افزار Excel رسم شدند. مقایسهٔ میانگین‌ها با استفاده از آزمـون دانکن انجام شد.

نتایج و بحث

کاربرد نسبت‌های مختلف نیتروژن در سطوح مختلف شوری تأثیر معنی‌داری بر وزن تر و خشک بوته کلزا داشت (جدول ۲).

جدول ۲- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) صفات مورد مطالعه

منابع تغییر	درجه آزادی	وزن تر	وزن خشک	سطح برگ	محتوی نسبی آب	میزان فتوسنتز	تنفس	پتاسیم برگ	سدیم برگ	فعالیت کاتالاز	فعالیت سوپراکسیددسیموتاز	فعالیت گلوتاتیون ردوکتاز	فعالیت پراکسیداز	فعالیت آسکوربات پراکسیداز
نسبت‌های نیتروژن	۳	۱۶/۰۶**	۱۰/۲۱**	۱۱۲۰۹۲۵/۲۸**	۲۲/۶۰*	۳۹/۸۳**	۲۸/۷۸**	۴۸/۶۱**	۱۰/۵۰**	۳۹/۲۴**	۶/۳۶**	۴/۲۶**	۹/۴۸**	۳/۸۶**
سطوح شوری	۱	۵۳**	۳۳*	۹۲۴۱۱۷۷۵/۲۸**	۴۸/۶۱**	۴۵۱/۸۰**	۴۰/۷۲**	۲۲/۴۱**	۱۸/۶**	۴۸/۶۶**	۹/۴۶**	۶/۸۱**	۱۱/۶۶**	۶/۹۱**
نیتروژن × سطوح شوری	۳	۳/۲۲*	۴/۲۶*	۶۱۸۹۷۵۶/۷۸*	۶/۹۶*	۷/۶۴**	۹/۶*	۱۱/۶*	۴/۳۶*	۱۲/۱۴*	۲/۸۸*	۱/۱۲*	۳/۶۶*	۱/۷۲*
اشتباه آزمایشی	۲۴	۰/۵۱	۰/۶۱	۱۵۲۲۵۶/۸۴	۱/۳۶	۱/۵۰	۰/۶۴	۲/۳۶	۰/۷۲	۱/۲۶	۰/۶۰	۰/۴۶	۰/۸۲	۰/۵۶

** معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد، * معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد

بیشترین مقدار وزن تر در صورت کاربرد نسبت ۵۰ : ۵۰ (NO_3 : NH_4) در سطح صفر شوری حاصل شد (جدول۳). روند کاهش وزن تر با افزایش شوری در صورتی که نسبت ۵۰ : ۵۰ فرم نیتروژن به کار برده شد کندتر بود (جدول۳). به نظر می‌رسد یون آمونیوم از یک طرف با افزایش فعالیت آنزیمهای اکسیدازی و یون نیترات با ایجاد اثرات متقابل بر برخی یونها نظیر کلر از صدمات ناشی قرار گرفتن گیاه در محیط شور کاسته‌اند (۳). محققان زیادی عنوان نمودند که در صورتی که گیاه تحت تنش شوری قرار می‌گیرد بایستی از دو فرم نیتروژن به نسبت مساوی استفاده نمود تا این امر مانع از تأثیرات شدید بر کاهش تولید مواد فتوسنتزی و کاهش تولید بیوماس در گیاه گردد (۶).

تأثیر کاربرد نسبت‌های مختلف نیتروژن در سطوح مختلف شوری بر محتوی نسبی آب و سطح برگ معنی‌دار گردید (جدول ۲). بیشترین محتوی نسبی آب در صورتی که نسبت‌های ۰ : ۱۰۰ و ۵۰ : ۵۰ (NO_3: NH_4) در شرایط غیر شور به کار رفتند به دست آمد (جدول ۳) و با افزایش شوری از محتوی نسبی آب به طور معنی‌داری کاسته شد. روند کاهش محتوی نسبی آب در صورتی که نسبت نیتروژن به صورت ۵۰ : ۵۰ بود، در محیط شور کندتر بود (جدول ۳). در شرایط شوری سرعت طویل شدن سلول ها و تورژسانس کاهش یافته، دیوارهٔ سلول ها سخت و ضخیم می‌گردند (۵). کاهش کم محتوی نسبی آب در شوریهای بالا در نسبت نیتروژن ۵۰ : ۵۰ احتمالاً ناشی از به کار گرفتن مکانیزمهای درون سلولی خاص نظیر تولید قندهای محلول، پرولین، گلیسین است که در تعدیل سازی میزان آب سلول ها و گیاه مؤثرند (۷). همچنین بیشترین سطح برگ اندازه‌گیری شده در صورت کاربرد نسبت ۵۰ : ۵۰ (NO_3: NH_4) در شرایط غیر شور اندازه‌گیری شد (جدول ۳).

با افزایش شوری و کاربرد نسبت نیتروژن ۵۰: ۵۰ روند کاهش سطح برگ کمتر از بقیه نسبت‌ها مشاهده می‌شود. برخی محققان به این نتیجه رسیدند که زمانی که از فرم نیتروژن (آمونیوم و نیترات) به طور مساوی استفاده می‌شود تولید هورمون سایتوکینین افزایش یافته و با توجه به نقش این هورمون در رشد و توسعه سلولی به نظر می‌رسد بخشی از افزایش سطح برگ در نسبت نیترات به آمونیوم ۵۰: ۵۰ مربوط به این پدیده باشد (۱۳).

کاربرد نسبت‌های مختلف نیتروژن در سطوح شوری مختلف تأثیر معنی‌داری بر میزان فتوسنتز خالص و شدت تعرق نشان داد (جدول ۲). بیشترین میزان فتوسنتز خالص اندازه‌گیری شده در صورت کاربرد نسبت ۵۰:۵۰ و کمترین آن در نسبت ۷۵ : ۲۵ (NO_3: NH_4) در شرایط شور نیتروژن اندازه‌گیری شد (جدول۳).

جدول ۳- تأثیر کاربرد نسبت‌های مختلف نیتروژن در سطوح مختلف شوری بر خواص کمی و کیفی کلزا*

تیمار NO_3: NH_4	سطوح شوری (میلی‌مولار کلرور سدیم)	وزن تر (گرم در بوته)	وزن خشک (گرم در بوته)	سطح برگ (سانتی‌متر مربع در بوته)	محتوی نسبی آب(٪)	میزان فتوسنتز (میکرومول بر مترمربع بر ثانیه)	میزان تنفس (میکرومول بر مترمربع بر ثانیه)	میزان پتاسیم برگ (میلی گرم بر گرم)	میزان سدیم برگ (میلی گرم بر گرم)
۱۰۰ : ۰	۰	۴۳/۸ b	۹/۵c	۶۶۵/۵c	۹۳a	۱۵/۵ab	۶/۸ab	۳۳ab	۷/۵c
	۲۰۰	۵۲۹ /۵	۶/۶d	۶۳۱c	۸۱b	۶/۸c	۲/۱c	۱۷c	۳۳a
۷۵ :۲۵	۰	۵۳/۴ab	۱۳/۵ab	۱۰۴۴ab	۹۱ab	۱۵/۱ab	۶/۵b	۳۲b	۸c
	۲۰۰	۴۲/۲b	۹/۲c	۷۱۰bc	۷۹c	۶/۲c	۲c	۱۶c	۳۲a
۵۰ : ۵۰	۰	۵۸/۷a	۱۴/۶a	۱۱۳۲a	۹۳a	۱۶/۸a	۶/۹a	۳۶a	۷/۸c
	۲۰۰	۴۵/۲b	۱۲/۵b	۹۷۶b	۸۲b	۷/۲c	۲/۳c	۱۹c	۲۶b
۲۵ :۷۵	۰	۴۴/۲b	۸/۶c	۶۵۵c	۹۰ab	۱۴/۸b	۶/۲b	۳۰b	۷/۷c
	۲۰۰	۳۲/۴c	۵/۲d	۵۶۱d	۷۸c	۵/۸c	۱/۸c	۱۵c	۲۸b

*در هر مقایسه حداقل یک حرف مشترک نشان دهنده ی عدم تفاوت آماری در سطح احتمال پنج درصد است.

به نظر می‌رسد با افزایش کاربرد آمونیوم از میزان تنفس و شدت تعرق کاسته می‌شود که این امر احتمالاً ابتدا ناشی از تجمع املاح آمونیوم در برگ و نقش بازدارندگی این یون بر فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز باشد (۱۵). از طرف دیگر در صورت استفاده از آمونیوم به عنوان فرم نیتروژن، مواد فتوسنتزی ساخته شده در قسمت های هوایی صرف ساختن اسیدهای آمینه با وزن مولکولی کم می‌شود و تجمع این مواد حالت بازدارندگی بر فتوسنتز برجای می‌گذارند (۱۸). همچنین وجود غلظت بالای آمونیوم در محیط رشد باعث کاهش غلظت پتاسیم، کلسیم و منیزیم می‌شود و در این میان پتاسیم و منیزیم نقش مهمی در فتوسنتز داشته و کاهش آنها باعث کاهش کارآیی میتوکندری و کلروپلاست می‌شود (۱۷). برخی محققان تفاوت بین شدت فتوسنتز گیاهان در تغذیه با آمونیوم و نیترات را ناشی از تأثیر شکل نیتروژن بر فعالیت آنزیم‌های فتوسنتزی می‌دانند (۱۴). کاربرد نسبت‌های مختلف نیتروژن در سطوح مختلف شوری بر میزان پتاسیم برگ معنی‌دار گردید (جدول۲). بیشترین مقدار پتاسیم برگ در نسبت نیتروژن ۵۰ : ۵۰(NO_3: NH_4) در شرایط غیر شور به دست آمد (جدول۳) با افزایش شوری از میزان پتاسیم برگ به طور معنی‌داری کاسته شد. همچنین با افزایش استفاده از فرم آمونیومی نیتروژن میزان پتاسیم برگ کاهش معنی‌داری را نشان داد (جدول۳). این کاهش می‌تواند به علت برهمکنش منفی بین آمونیوم و پتاسیم باشد (۲۲، ۳۶،۳۵).

کاربرد نسبت‌های مختلف نیتروژن در سطوح مختلف شوری بر میزان سدیم برگ معنی‌دار شد (جدول۲). با افزایش شوری میزان یون سدیم در برگ کلزا افزایش می یافت. کمترین افزایش غلظت سدیم در برگ با کاربرد نسبت نیتروژن ۵۰ : ۵۰(NO_3: NH_4) در شرایط شور به دست آمد (جدول۳). با افزایش یون آمونیوم از غلظت سدیم برگ کاسته می‌شود. به نظر می‌رسد این امر ناشی از برهمکنش منفی بین آمونیوم و سدیم باشد. در گیاهان مسیر اصلی جذب یون های سدیم از غشاء پلاسمایی سلول های اپیدرمی و سلوهای یونی می‌باشد. یونهای سدیم به طور غیرفعال به داخل سلول ها انتشار می‌یابند که ممکن است تحت اثر گردیان پتانسیل الکتروشیمیایی حاصل از تفاوت غلظت شدت یابد. پروتئین‌های انتقال که جریان یونی را تعدیل شامل پمپ ۱، ناقل‌ها و کانال‌ها می‌باشند تعدادی که کانالهای یونی که توسط یونهای آمونیوم فعال می‌شدند این کانال‌ها برای برخی کاتیون‌های تک ظرفیتی نظیر سدیم غیرانتخابی بوده و قادر به انتقال مقادیر بالای سدیم به برگ می‌باشند (۱).

فعالیت آنزیم‌های اکسیدانت

کاربرد نسبت‌های مختلف نیتروژن در سطوح مختلف شوری بر میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دسیموتاز (SOD) معنی‌دار گردید (جدول۲). با افزایش شوری بر میزان فعالیت این آنزیم در برگ افزوده شد. همچنین بیشترین مقدار آن در صورت کاربرد نسبت ۵۰:۵۰ (NO_3: NH_4) به دست آمد (جدول۴). در این سطح نیتروژن ۵۰ : ۵۰ فعالیت این آنزیم در شرایط شور بیشتر شود (جدول۴). به نظر می‌رسد تولید رادیکال‌های واکنش‌گر اکسیژن و فعالیت آنها در گیاه عامل ایجاد قسمتی از آسیب‌های ناشی از تنش شوری می‌باشد. پاکسازی سیتوسل از رادیکال‌های مخرب اکسیژن با افزایش سنتز و فعالیت آنزیمهای آنتی اکسیدانت انجام می‌شود. با افزایش عرضه یون آمونیوم میزان سنتز SOD در شرایط شور افزایش می‌یابد (۲۰و ۱۱). آنزیم SOD نقش کلیدی را در تجزیه مولکول‌های پراکسید هیدروژن در گیاه برعهده دارد و به نظر می‌رسد با تغذیهٔ آمونیومی گیاه این آنزیم نقش کلیدی خود را در حذف این رادیکال اکسیژن در داخل سلول‌های گیاه به خوبی ایفا نمی‌کند. همچنین کاربرد نسبت‌های مختلف نیتروژن در سطوح شوری تأثیر معنی‌داری بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) در گیاه کلزا داشت (جدول۲). با افزایش شوری در نسبت‌های نیتروژن ۵۰:۵۰ و ۷۵: ۲۵(NO_3: NH_4) فعالیت این آنزیم ها افزوده شد (جدول۴). بین فرمهای مورد استفاده به نظر می‌رسد یون آمونیوم میزان فعالیت این آنزیم را در مقابل تغذیه نیتراتی بیشتر افزایش می‌دهد. یون آمونیوم درمحیط رشد گیاه به عنوان نشانهٔ تنش عمل کرده و در کنار این یون فعالیت آنزیمهای مسئول سازگاری گیاه به تنش افزایش می‌یابد (۲۲). فعالیت سایر آنزیم‌های آنتی اکسیدانت شامل پراکسیداز (POD)، گلوتاتیون ردوکتاز (GR) و آسکوربات پراکسیداز (APX) در صورت کاربرد نسبت‌های مختلف نیتروژن در سطوح مختلف شوری معنی‌دار شد (جدول۲). با افزایش شوری و عرضهٔ یون آمونیوم بر فعالیت این آنزیم‌ها در نسبت‌های ۵۰ : ۵۰ و ۷۵ : ۲۵ نیترات به آمونیوم اندازه‌گیری شد (جدول۴). در گیاهانی که در شرایط شور از فرم نیترات تغذیه می‌شوند تنش‌های اکسیداتیو در برگ های آنها به شدت و وضوح مشاهده می‌شود و این امر باعث کاهش معنی‌دار کلروفیل گردیده و از فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانت به طور معنی‌داری می‌کاهد (۴)؛ دلیل تأثیر نیتراتی بر سنتز این آنزیم‌ها به تفاوت آنها در فرآیندهای متابولیکی اختصاص این فرم‌های نیتروژن دارد (۲۶).

میزان رنگدانه‌ها و فعالیت های فتوسنتزی در گیاه در صورت تغذیه با آمونیوم درمقایسه با نیترات بیشتر است و این امر باعث تولید بیشتر آنزیم‌های آنتی اکسیدانت در صورت تغذیه بیشتر با یون آمونیوم می‌باشد (۱۴). بیشتر محققان افزایش تحمل به شوری و کمترین کاهش میزان کلروفیل برگ را در گیاهان مختلفی را که تحت تنش شوری قرار گرفته‌اند در نسبت‌های مساوی آمونیوم به نیترات و نسبت بالای آمونیوم به نیترات گزارش نموده‌اند (۱۵و ۹). پولسکایا و همکاران (۲۴) در مطالعات خود در زمینهٔ کاربرد فرمهای مختلف نیتروژن در محصول گندم به این نتیجه رسیدند که در گیاهانی که آمونیوم بیشتری دریافت می‌کنند، میزان پروتئین در برگ‌ها و ریشه‌ها حدود ۴۰-۲۰ درصد بیشتر از موقعی است که توسط نیترات تغذیه می‌شوند.

جدول۵ - ضرایب همبستگی بین صفات مختلف

	وزن تر	وزن خشک	سطح برگ	RW_2	فتوسنتز	تنفس	پتاسیم	سدیم	CAT	SOD	GR	POD	APX
وزن تر	۱	–											
وزن خشک	۰/۸۱**	۱	–										
سطح برگ	۰/۸۲ **	۰/۸۸ **	۱	–									
RW_2	۰/۸۱**	۰/۸۶ **	۰/۸۶ **	۱	–								
فتوسنتز	۰/۷۶ **	۰/۸۶ **	۰/۸۲ **	۰/۷۹ **	۱	–							
تنفس	۰/۶۴ **	۰/۸۷ **	۰/۸۲ **	۰/۸۱**	۰/۷۶ **	۱	–						
پتاسیم	۰/۸۲ **	۰/۸۴ **	۰/۸۶ **	۰/۸۲ **	۰/۷۹ **	۰/۸۲ **	۱	–					
سدیم	-۰/۷۶**	-۰/۸۲ **	-۰/۷۶ **	-۰/۸۶ **	-۰/۸۲ **	-۰/۸۶ **	-۰/۸۶ **	۱	–				
CAT	۰/۸۱**	۰/۸۹ **	۰/۷۱ **	۰/۸۱**	۰/۸۶ **	۰/۸۷ **	۰/۸۲ **	۰/۷۶ **	۱	–			
SOD	۰/۸۶ **	۰/۷۶ **	۰/۷۶ **	۰/۸۲ **	۰/۸۸ **	۰/۸۸ **	۰/۸۶ **	۰/۷۲ **	۰/۷۶ **	۱	–		
GR	۰/۸۸ **	۰/۸۲ **	۰/۷۵ **	۰/۸۶ **	۰/۸۶ **	۰/۸۲ **	۰/۸۷ **	۰/۷۷ **	۰/۷۷ **	۰/۷۹ **	۱	–	
POD	۰/۷۹ **	۰/۸۶ **	۰/۷۸ **	۰/۸۸ **	۰/۸۲ **	۰/۸۶ **	۰/۸۴ **	۰/۷۹ **	۰/۷۴ **	۰/۸۰**	۰/۸۲ **	۱	–
APX	۰/۸۱ **	۰/۷۹ **	۰/۷۹ **	۰/۷۹ **	۰/۸۸ **	۰/۸۷ **	۰/۸۶ **	۰/۸۱**	۰/۷۱ **	۰/۸۲ **	۰/۸۱**	۰/۸۲ **	۱

** معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد

جدول ٤- تأثیر کاربرد نسبت‌های مختلف نیتروژن در سطوح مختلف شوری بر فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانت*

تیمار NO_3: NH_4	سطوح شوری (میلی‌مولار کلرور سدیم)	فعالیت سوپراکسیددسیموتاز (SOD) (جذب در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین)	فعالیت کاتالاز (CAT) (جذب در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین)	فعالیت پراکسیداز (POD) (جذب در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین)	فعالیت گلوتاتیون ردوکتاز (GR) (جذب در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین)	فعالیت آسکوربات پراکسیداز (APX) (جذب در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین)
۱۰۰ : ۰	۰	۲/۲c	۲۸bc	۱۰cd	۰/۷b	۱/۱c
	۲۰۰	۲/۸ab	۳۵ab	۲۵ab	۱/۸c	۲/۸b
۷۵ :۲۵	۰	۲/۱c	۲۶c	۸d	۰/۶c	۱c
	۲۰۰	۲/۶b	۳۰b	۲۳b	۱/۵b	۲/۷b
۵۰ : ۵۰	۰	۲/۵b	۲۸c	۱۲c	۰/۹ab	۱/۳c
	۲۰۰	۳a	۳۷a	۲۷a	۲/۹a	۳/۹a
۲۵ :۷۵	۰	۲/۵b	۲۷c	۱۱c	۰/۸c	۱/۲c
	۲۰۰	۳/۱a	۳۶a	۲۷a	۲/۹a	۳/۹a

*در هر مقایسه حداقل یک حرف مشترک نشان دهنده ی عدم تفاوت آماری در سطح احتمال پنج درصد است.

بنابراین میزان فعالیت آنزیمهای آنتی اکسیدانت که ساختار اولیه آنها پروتئین می‌باشد در برگها در صورت تغذیه با یونهای آمونیوم نسبت به تغذیه با نیترات به طور محسوس بیشتر است (۱۰، ۳۷، ۳۸). انواع اکسیژن فعال تولید شده در تنشهای اسمزی و یونی موجب اختلال در عمل غشا شده و باعث مرگ سلول می شوند. گیاهان بوسیله القاء فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیداتیو خاصی همچون کاتالاز، پراکسیداز، گلوتاتیون رداکتاز و سوپراکسیددیسموتاز که پالاینده انواع اکسیژن فعال می‌باشند با چنین اکسیژنهای فعالی مقابله می‌نمایند. گزارشات متعددی در مورد افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیداتیو در شرایط تنش شوری وجود دارد.

همبستگی بین صفات مورد ارزیابی

به منظور بررسی و مقایسهٔ روابط همبستگی بین صفات مورد ارزیابی در تیمارهای کاربردی و صفات مرتبط با وزن تر و خشک کلیهٔ ضرایب همبستگی بین صفات مورد ارزیابی قرار گرفت (جدول۵). کلیهٔ صفات به غیر از سدیم برگ همبستگی مثبت و معنی‌داری با وزن تر و خشک کلزا نشان دادند. بدیهی است افزایش یا کاهش صفات فوق تأثیر مستقیمی بر خواص کمی کلزا بجای خواهد گذاشت.

با توجه به اینکه کلزا از دانه‌های روغنی متحمل به شوری می‌باشد و توسعهٔ کشت آن در اراضی شور از اهمیت خاصی برخوردار می‌باشد، منابع کود نیتروژنه مصرفی تأثیر زیادی بر عملکرد و کارآیی و تحمل این گیاه در شرایط شور دارد. به نظر می‌رسد در شرایط شور بایستی کمتر از فرمهای نیتراته نیتروژن استفاده نمود. چون علاوه بر تأثیر منفی بر عملکرد و کیفیت محصول، بر مقاومت گیاه به تنش شوری نیز تأثیر منفی دارد. لذا در این شرایط کاربرد فرمهای آمونیومی و یا کاربرد نسبت مساوی از یون های آمونیوم و نیترات نظیر کود نیترات آمونیوم برای افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانت و مهیا نمودن شرایط مطلوب برای شکل گیری فرآیندهای تحمل به تنش شوری پیشنهاد می‌شود.

منابع

۱- حسنی شاهسوند، م. ۱۳۷۵. ارزیابی ارقام گندم ایرانی از نظر تحمل به شوری. پایان نامهٔ کارشناسی ارشد. دانشگاه تهران. دانشکدهٔ کشاورزی.

۲- کافی، م.، ب. کامکار و ع.م. مهدوی دامغانی.۱۳۸۲.واکنشهای گیاهان زراعی به محیط رشد. انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد

۳- رحمانی، م.، وا. مجیدی هروان. ۱۳۸۱. تأثیر نقش شوری ناشی از کلرورسدیم بر آنزیمهای گندم. مجلهٔ نهال و بذر. جلد ۱۸ (۲) : ۲۵۱ : ۲۴۱.

۴- رضایی، م.ع.،ر. خاوری نژاد، و ح، فهیمی. ۱۳۸۵. اثر شوریهای خاک بر فعالیت پراکسیدازی دو رقم پنبه. مجلهٔ علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی. جلد ۶۲ (۱) : ۸۹ – ۷۹.

5- Asada, K. 1992. Ascorbate peroxidase-a hydrogen peroxida scavenging enzyme in plant. Plant Physiol. 85 :235-241.

6- Barabas, N.K., R.T. Omarov, L. Erdei, and S.H. Lips. 2000. Distribution of Mo-enzymes aldehyde oxidase, xanthinedehydrogenase and nitrate reductase in maize (*Zea mays* L.) nodal roots as affected by nitrogen and salinity. Plant Sci. 155:49-58.

7- Bendixen, R.,J. Gerendas.,K. Schinner, and B. Hansen. 2001. Difference in zeaxanthin formation in nitrate and ammonium grown phaseolus vulgaris. Plant Physiol. 111:155-261.

8- Borsani, O.,V. Valpuesta, and M.A. Botella. 2001. Evidence for a role of salicylic acid in the oxidative damage generated by NaCl and osmotic stress in Arabidopsis seedling. Plant Physio;. 126:1024-1030.

9- Bray, E.A.,J. Bailey-Serres, and E.weretilnyk. 2000. Responses to abiotic stress. In : 13 uchanan, B.B, W. Gruissem. And R.L. Jones editors. Biochemistry and molecular biology of plants. Rockville: Amer. Soc of Plant Physiol: 1158-1203.

10- Bybordi, A, Tabatabaei, and S.J, Ahmadev, A .2010a. Effect of salinity on the growth and peroxidase and IAA oxidase activities in Canola, J. Food. Agric. Environ., 8(1): 109-112.

11- Bybordi A, and Tabatabaei, S.J .2009. Effect of Salinity Stress on Germination and Seedling Properties in Canola Cultivas (*Brassica napus*). Not. Bot. Hort. Agrobot. Cluj-Napoca, 37(1): 71-76.

12- Bybordi A, Tabatabaei S.J, and Ahmadev A .2010b. The influence of salainity stress on antioxidant activity in Canola Cultivas (*Brassica napus* L). J. Food. Agric. Environ., 8(1): 122-127.

13- Bybordi A, Tabatabaei, and S.J, Ahmadev, A .2010c. Effect of salinity on fatty acid composition of Canola (*Brassica napus* L). J. Food. Agric.Environ., 8(1): 113-115.

14- Hawkins, H.J. and O.A.M. Lewis. 1993. Effect of NaCl Salinity, nitrogen form, calcium and potassium concentration on nitrogen uptake and kinetics in Triticum aestivum. L. CV. Gamtoos. New Phytol. 124:171-177.

15- Jalloh, M. A., J. Chen., F. Zhen, and G. Zhang. 2009. Effect of different N fertilizer forms on antioxidant capacity and grain yield of rice growing under cd stress. J. Hazad. Material. 162: 1081-1085.

16- Lewis, O.A.M., E.O. Leidi. and S.H. Lips. 1989.Effect of nitrogen source on growth response to salinity stress in maize and wheat. New Phytol. 111:155-160.

17- Mannervik, B. and C.Gutenberg. 1981. Glutathione transferase. Methods Enzymol. 77:231-235.
18- Misra, N. and A.K. Gupta. 2006. Effect of salinity and different nitrogen sources on the activity of antioxidant enzymes and indole alkaloid content in catharantus roseus seedlings. J. Plant Physiol. 163:11-18.
19- Meloni, D.A., M.A. Oliva., C.A. Martinez, and J. Cambraia. 2003. Photosynthesis and activity of superoxide dismutase, peroxidase and gluthation reductase in cotton under salt stress. Environ Exp Bot. 49:69-76.
20- Meneguzzo, S., F. Navari- Izzo, and R. Izzo. 1999. Antioxidative responses of shoots and roots of wheat to increasing NaCl concentration. J. Plant Physiol. 155:274-280.
21- Milla, M.A.R., A. Mauurer., A.R. Huete, and J.P. Gustafson. 2003. Glutathione peroxidase genes in Arabdopsis are ubiquitous and regulated by abiotic stresses through diverse signaling pathways. Plant. J. 36:602-610.
22- Noctor, G. and C.N. Foyer. 1998. Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control. Ann. Rev Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 49:249-279.
23- Olmos, E.,J. A. Hernandez., F. Sevilla, and E. Hellin. 1994. Induction of several antioxidant enzymes in the selection of a salt tolerant cell line of pisum sativum. J. Plant Physiol. 244: 594-598.
24- Omarov, R.T., M. Sagi. and S.H. Lips. 1998. Regulation of aldehyde oxidase and nitrate reductase in roots of barley by nitrogen source and salinity. J. Exp Bot. 49:897-902.
25- Polesskaya, O. G., E.L. Kashirina, and N.D. Alekhina. 2006. Plants as related to nitrogen nutrition. Russian. J. Plant Physiol. 53(2): 186-192.
26- Putter. J. 1974. Peroxidase. Bergmeyer. H.U, editor. Methods of enzymatic analysis. Weinbeim New York :Verlag Chemie. Academic press: 685 p.
27- Rios- Gonzalez, K., L. Erdei, and S.H. Lips. 2002. The activity of antioxidant enzymes in maize and sunflower seedlings as affected by salinity and different nitrogen sources. Plant Sci. 162:923-930.
28- Rout, N.P. and B.P. Shaw. 2001. Salt tolerance in aquatic macrophytes: Possible involvement of the antioxidative enzymes. Plant Sci. 160:415-423.
29- Sairam, R.K., R.K. Verrabhadra and G.C. Srivastava. 2002. Differential response of wheat genotypes to long term salinity stress in relation to oxidative stress. Plant Sci. 163:1037-1046.
30- Shan, W.X. and H.J. Guo. 2009. Changes of proline content, activity and active isoforms of antioxidative enzymes in two alfalfa under salt stress. Agri. Sci. 8(4):431-440.
31- Sharata, A. and M.Tal. 1998. The effect of salt stress on lipid peroxidation and antioxidants in the leaf of the cultivated tomato and its wild salt-tolerant relative lyeopersicon penelli. Physiol Plant. 104:169-174.
32- Smiroff, N. 1993. The role of active oxygen in the response of plant to water deficit and desiccation. New Phytol. 125: 27-58.
33- Upadhyaya, A., D. Sankhla, D. Davis., T.D. Sankhla., and B.N. Smith. 1985. Effect of paclobutrazol on the activated oxygen metabolism and lipid peroxidation in senescing soybean leaves. J. Plant Physiol. 121:453-461.
34- Wang, L.J., Y.L.Liu.,K. Ma., J.Z. Wang, and X.N. Liu. 1998. Effect of NaCl treatment on free radical metabolism of fig. (*Ficus carica* L.) Calli. Adv. Horticult. 2:235-241.
35- Willekens, H., S. Chamnongpol., M. Schraudner., C. Langebartles., M .Van Motage., M. Inze, and W. Van Camp. 1997. Catalase is a sink for H_2O_2 and is indispensable for stress defense in C_3 plants. EMBO.J. 16: 4806-4816.