نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۰، شماره ۱، بهار ۱۳۹۵، ص. ۷۹-۶۹
شاپا: ۴۷۳۰ - ۲۰۰۸

Journal of Horticultural Science
Vol. 30, No. 1, Spring 2016, P. 69-79
ISSN: 2008 - 4730

اثر اوره و نیکل بر رشد، غلظت نیترات و عناصر معدنی کاهو رقم سیاهو در آبکشت

حسین نظری ممقانی[۱*] - سید جلال طباطبائی[۲]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۰۳/۱۰
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۰۷/۱۳

چکیده

کودهای نیتراتی معمول‌ترین منابع نیتروژن مورد استفاده در کشت‌های هیدروپونیک هستند که این کودها سبب تجمع نیترات در سبزی‌های برگی می‌شوند. بنابراین، تامین نیتروژن گیاه از منبع اوره همراه با نیکل به عنوان کوفاکتور آنزیم اوره‌آز می‌تواند نقش مهمی را در کاهش تجمع نیترات در گیاهان ایفا کند. برای این منظور آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با پنج سطح اوره (۰، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) و دو سطح نیکل (۰ و ۲ میلی‌گرم بر لیتر) از منبع $NiSO_4$ در چهار تکرار در شرایط آبکشت (Floating) در کاهوی رقم سیاهو (*Lactuca sativa* cv. Siyahoo)، اجرا شد. نتایج آزمایش نشان داد که، اثر غلظت‌های مختلف اوره، کاربرد نیکل و اثرات متقابل آن‌ها بر وزن تر و خشک اندام‌های هوایی گیاه معنی‌دار بود. بیشترین وزن تر و خشک در تیمار $U_{50}Ni_0$ بدست آمد. غلظت نیکل و پتاسیم بافت برگ توسط اوره، نیکل و اثرات متقابل آن‌ها بطور معنی‌داری ($P\leq$۰/۰۱) تحت تاثیر قرار گرفت. غلظت نیتروژن کل برگ با افزایش غلظت اوره بطور معنی‌داری ($P\leq$۰/۰۱) افزایش یافت؛ در اثرات متقابل نیز بیشترین و کمترین غلظت نیتروژن کل با ۱/۵ برابر اختلاف بترتیب در تیمارهای U_0Ni_2 و U_0Ni_0 بدست آمد. غلظت‌های مختلف اوره اثر معنی‌داری بر غلظت نیترات بافت برگ نداشتند ولی کاربرد نیکل و اثرات متقابل اوره و نیکل غلظت نیترات بافت برگ را به طور معنی‌داری ($P\leq$۰/۰۱) کاهش داده بود بطوری‌که در تیمار U_0Ni_2 ۲/۶ برابر کمتر از تیمار U_0Ni_0 نیترات ثبت شد. به‌نظر می‌رسد کاربرد نیکل بتواند نیترات برگ را کاهش دهد.

واژه‌های کلیدی: پتاسیم، تجمع نیترات، سبزی برگی، نیتروژن، هیدروپونیک

مقدمه

طبق آمار منتشر شده از سوی سازمان کشاورزی و خوار و بار جهانی (FAO)[۳] در سال ۲۰۰۵ کاهو در میان سبزی‌های برگی بیشترین سطح زیر کشت و تولید را داشت بطوریکه مقام اول را در جهان و ایران را بخود اختصاص داد. کاهو در کنار کرفس، شاهی و اسفناج جزء سبزی‌هایی است که مقادیر بسیار بالایی نیترات (بالاتر از ۲۵۰۰mg/kg) را در خود تجمع می‌کند. نیترات منبع اصلی نیتروژن برای گیاهان عالی، به ویژه سبزی‌ها می‌باشد (۱۰). میزان جذب نیترات (NO_3^-) معمولا در گیاهان، بویژه سبزی‌های برگی بالاست و زمانی که نیترات به میزان بالایی در محیط موجود است جذب آن بطور معنی‌داری افزایش می‌یابد. از طرف دیگر فعالیت‌های انسانی با هدف افزایش تولید غذا و بیمه عملکرد محصول در برابر عواقب اقتصادی ممکن است تجمع نامطلوب مواد در گیاهان را تسهیل کند که یکی از این مواد یون نیترات است که از لحاظ شیمیایی غیر فعال است اما زمانی که به یون نیتریت (NO_2^-) احیا می‌شود، فعال می‌شود (۱۸). نیترات موجود در سبزی‌ها و مواد غذایی پس از مصرف به نیتریت تبدیل شده و در ترکیب با هموگلوبین خون عارضه سندروم کودک آبی[۴] را در نوزادان بوجود می‌آورد. همچنین از ترکیب نیتریت با آمین‌ها ماده خطرناکی به نام نیتروزآمین تشکیل می‌شود که ماده سرطان‌زا بوده و سبب سرطان دستگاه گوارش در مصرف کنندگان می‌شود (۱۰). سبزی‌های برگی بطور میانگین در حدود ۵۰۰ تا ۱۰۰۰ میلی‌گرم در هر کیلوگرم وزن تر نیترات در بافت خود تجمع می‌کنند. در حالی که جهت حفظ سلامت انسان، کاهش این غلظت به ۲۵۰mg/kg توصیه می‌شود (۳). نگهداری سطح نیترات پایین تر از حد تعیین شده از سوی FAO بدون تغییر در برنامه‌های کاربرد کودها غیر ممکن به نظر می‌رسد. خان و همکاران (۱۵) گزارش کردند زمانی که اوره در محلول غذایی اسفناج ارائه نشده بود محتوای نیترات

۱ و ۲- کارشناس ارشد سبزیکاری و استاد گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شاهد
(*-نویسنده مسئول: Email: Hoseinnazari6790@gmail.com)

3- Food and Agriculture Organization (FAO)

4- Methemoglobinemia

ساقه‌ها به طور معنی‌داری بالا بود. همچنین محتوای نیترات با افزایش درصد اوره در محلول غذایی به طور معنی‌داری کاهش یافت. زمانی که منبع نیتروژن ترکیب نیترات آمونیوم بود نیترات بیشتری در مقایسه با زمانی که منبع نیتروژن اوره بود در شاخساره کاهو تجمع یافته بود (۱۴). جایگزینی اوره در کشت‌های هیدروپونیک سبزیجات به جای کودهای NO_3-N نه تنها قادر به جلوگیری از تجمع بیش از حد نیترات در گیاهان است بلکه هزینه‌های تولید را کاهش می‌دهد. بنابراین کاهش غلظت نیترات در کشت هیدروپونیک و کاهش هزینه‌های تولید بدون تاثیر بر عملکرد مهم است. اوره یک ترکیب آلی و ارزان قیمت با محتوای بالای نیتروژن است ولی به راحتی برای گیاه قابل استفاده نبوده و می‌بایستی به وسیله آنزیم اوره‌آز به CO_2 و NH_4^+ هیدرولیز شود. از طرف دیگر نیکل برای فعالیت آنزیم اوره‌آز ضروری است. نیکل یکی از مهم‌ترین اجزاء بسیاری از آنزیم‌هاست، در این آنزیم‌ها نیکل یا به پیوندهای N و O (مانند اوره‌آز) و یا به پیوندهای S (مانند باقیمانده سیستئین در هیدروژناز) و یا به پیوندهای N در ساختارهای تتراپیرولی وابسته است (۱۶). با این حال، اوره‌آز تنها آنزیم در گیاهان عالی است که گزارش شده که دارای نیکل به عنوان جزء جدایی ناپذیر در مقادیر استوکیومتری است (۱۲). بنابراین تجمع نیترات در گیاهان یک مشکل اساسی در تولید محصولات کشاورزی سالم شناخته شده است. همان طور که اشاره شد یکی از اثرات تغذیه نیکل افزایش فعالیت آنزیم اوره‌آز در گیاهان است، بر این اساس، می‌توان گفت که کاربرد اوره همراه نیکل می‌تواند نقش مهمی را در کاهش تجمع نیترات در گیاهان، به ویژه سبزی‌های برگی، ایفا کند. بنابراین محصول به دست آمده از لحاظ تغذیه و سلامت مصرف کننده، دارای کیفیت بهتری خواهد بود و خطر مصرف آن برای انسان، به ویژه کودکان و افراد مسن، کمتر خواهد بود. مطالعه حاضر با هدف بررسی: i) بررسی اثر تغذیه نیکل و اوره بر رشد و عملکرد کاهو و تجمع نیترات در شاخساره گیاه ii) بررسی استفاده از اوره در محلول غذایی به عنوان منبع نیتروژن ارزان قیمت iii) تعیین غلظت‌های مناسبی از ترکیب دو کود اوره و نیکل برای توصیه؛ انجام شد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در گلخانه هیدروپونیک ساختمان شماره ۲ دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز، به ارتفاع ۱۳۶۰ متر از سطح دریا و به مختصات جغرافیایی ´۲۷,°۳۸ عرض شمالی ´۲۷,°۴۶ طول شرقی انجام شد. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی، با ۲ فاکتور اوره در پنج سطح ۰، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر (U_0, U_{25}, U_{50}, U_{75}, U_{100}) و نیکل در دو سطح ۰ و ۲ میلی‌گرم در لیتر (Ni_0, Ni_2) از منبع سولفات نیکل ($NiSO_4$) در ۴ تکرار در بستر بدون خاک و به صورت آبکشت[1] اجرا شد. برای تهیه گیاهان ابتدا بذور کاهوی رقم سیاهو (*Lactuca sativa* cv. Siyahoo) در نیمه دوم شهریور در میان پارچه نخی مرطوب جوانه‌دار شده و زمانی که اندازه ریشه‌چه به ۲ میلی‌متر رسید به گلدان‌های ۱۰۰ میلی‌لیتر حاوی پرلایت دانه متوسط که در ته هرکدام سوراخ‌هایی برای خروج ریشه‌ها تعبیه شده بود، منتقل شدند. سپس گلدان‌های ۱۰۰ میلی‌لیتر درون تشت حاوی محلول غذایی کامل رقیق شده قرار گرفتند و این مرحله تا ۴ برگی شدن گیاهچه‌ها ادامه داشت. گیاهان در مرحله ۴ برگی به سیستم آبکشت منتقل شدند و همزمان با آن اعمال تیمارها انجام شد. جهت اعمال تیمارها، ابتدا محلول غلیظی از هر کدام از فاکتورهای تیماری (اوره و نیکل) تهیه شد و با توجه به غلظت تیمار مورد نظر و با استفاده از فرمول $C_1V_1=C_2V_2$ به هر گلدان اصلی (۵ لیتری) حجم مورد نظر ریخته شد و با محلول نصف هوگلند به حجم نهایی رسید. ترکیب محلول غذایی مورد استفاده در جدول ۱ آمده است. با افزودن ۰/۱ میلی‌لیتر در لیتر اسید نیتریک pH محلول غذایی در محدوده ۶/۵ تنظیم شد. در طی آزمایش نیز برای جلوگیری از تغییر غلظت عناصر غذایی درون گلدان‌های اصلی هر ۲۰ روز یکبار گلدان‌ها تخلیه و از نو پر شدند.

میانگین دمای روزانه و شبانه بترتیب ۲±۲۰ و ۲± ۱۴ درجه سانتی‌گراد بود. نور از منبع طبیعی خود یعنی خورشید تامین می‌شد و شدت نور دریافتی ۲۵ کیلولوکس بود. به منظور جلوگیری از فساد ریشه‌ها و تامین اکسیژن مورد نیاز ریشه‌ها، بین گلدان‌ها لوله کشی انجام شد و با انشعابات این لوله‌ها تهویه محلول داخل گلدان انجام شد بطوری که هر گلدان در دقیقه ۲ لیتر هوا دریافت می‌کرد. برداشت گیاهان یک ماه بعد از اعمال تیمار همزمان با بسته شدن پیچ انجام شد و روزانه یک تکرار از هر تیمار برداشت شد. در زمان برداشت 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 °C۸۰ به مدت ۷۲ ساعت اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری عناصر معدنی فقط در اندام برگ صورت گرفت. برای اندازه‌گیری نیکل و پتاسیم ابتدا نمونه خشک شده برگ (آون خشک) آسیاب شده و به صورت پودر همگن در آمد سپس نمونه‌های گیاهی همگن به روش اسید هضم شد (۲۳)، سپس از عصاره حاصل برای اندازه‌گیری عناصر مورد نظر استفاده شد. نیکل موجود در عصاره گیاهی حاصل از هضم، به روش دی متیل گلی اکسیم (۲۲) با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتری در طول موج ۵۳۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. پتاسیم نمونه‌ها نیز به روش نشراشعه‌ای با استفاده از دستگاه فلیم فتومتری (Flame Phptometric 410) اندازه‌گیری شد.

1-Floating

جدول ۱- محلول غذایی هوگلند تغییر یافته (نصف غلظت)

Table 1- The modified Hoagland solution (half strength)

عنصر Element	نام کود Fertilizer Name	غلظت عنصر Element Concentration (mg L^{-1})
N	$Ca(NO_3)_2$ KNO_3	100
K	KH_2PO_4 KNO_3	100
Ca	$Ca(NO_{3)2}$	55.5
Mg	$MgSO_4$	24
P	KH_2PO_4	30
Fe	FeEDDHA	2.9
Mn	$MnSO_4$	0.3
B	H_3BO_3	0.3
Zn	$ZnSO_4$	0.05
Cu	$CuSO_4$	0.03
Mo	H_2MoO_4	0.01

نیتروژن کل با روش کجلدال اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری نیترات از ماده خشک گیاهی استفاده شد و نمونه‌ها با روش آب داغ (۲۳) عصاره‌گیری شدند و با دستگاه نیترات سنج (Horiba, Japan) نیترات آن‌ها اندازه‌گیری شد. تجزیه آماری داده‌ها در نرم افزار SPSS16 در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد. مقایسه میانگین داده‌ها بر اساس آزمون چند دامنه دانکن بود و رسم نمودارها در نرم افزار Excel 2010 انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج آزمایش نشان داد که، اثر غلظت‌های مختلف اوره، کاربرد نیکل و اثرات متقابل آن‌ها بر وزن تر و خشک اندام‌های هوایی (ساقه+برگ) معنی‌دار بود (جدول ۲). همچنین کاربرد غلظت‌های مختلف اوره، نیکل و اثرات متقابل آن‌ها بر وزن خشک ریشه و نسبت وزن خشک اندام‌های هوایی به وزن خشک ریشه معنی‌دار ($P\leq$۰/۰۱) بود (جدول ۲). وزن تر ریشه و نسبت وزن تر اندام‌های هوایی به وزن تر ریشه تحت تاثیر هیچ یک از فاکتورهای تیماری و اثرات متقابل آن‌ها قرار نگرفت (جدول ۲). در همه صفات تحت تاثیر قرار گرفته توسط غلظت‌های مختلف اوره بیشترین و کمترین عملکرد بترتیب در تیمارهای U_{50} و تیمار شاهد (U_0) مشاهده شد (جدول ۳). تیمار U_{50} با ۱/۸ برابر افزایش در رشد اندام‌های هوایی در مقایسه با شاهد بیشترین عملکرد را به خود اختصاص داد.

جدول ۲- تجزیه واریانس وزن تر و خشک اندام هوایی، ریشه و نسبت اندام هوایی به ریشه (ریشه / هوایی) کاهو رقم سیاهو

Table 2- Analysis of variance of fresh and dry weight of shoot, root and ratio of shoot/root of *Lactuca sativa* cv. Siyahoo

منابع تغییرات Sources of Variation	درجه آزادی Degrees of Freedom	میانگین مربعات Mean Square					
		وزن تر اندام هوایی Shoot fresh weight	وزن خشک اندام هوایی Shoot dry weight	وزن تر ریشه Root fresh weight	وزن خشک ریشه Root dry weight	وزن تر ریشه/هوایی Fresh shoot/root	وزن خشک ریشه/هوایی Dry shoot/root
اوره Urea	4	9536.900**	66.692**	33.302^{ns}	0.546**	6.782^{ns}	3.132**
نیکل Ni	1	5017.600**	58.976**	441.560^{ns}	7.779**	0.456^{ns}	10482**
اوره× نیکل Urea×Ni	4	982.580**	2.815**	58.032^{ns}	0.639**	1.138^{ns}	0.936**
خطا Error	27	63.54	0.851	182.583	0.026	3.170	0.139

** معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد، * معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد و ^{ns} غیر معنی‌دار

** Significant at 1% level, * significant at the 5% level and ^{ns} not significant

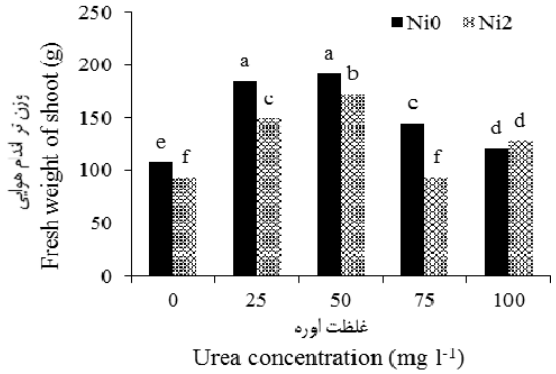
جدول ۳- تاثیر غلظت‌های مختلف اوره بر وزن تر و خشک اندام‌های هوایی، وزن خشک ریشه و وزن خشک نسبت اندام هوایی به ریشه (ریشه/ هوایی) کاهو رقم سیاهو

Table3- Effect of urea concentration on fresh and dry weight of shoot, dry root and fresh weight shoot/root ratio of *Lactuca sativa* cv. Siyahoo

غلظت اوره Urea concentration (mg l^{-1})	وزن تر اندام هوایی Shoot fresh weight	وزن خشک اندام هوایی Shoot dry weight	وزن خشک ریشه Root dry weight	وزن خشک ریشه/اندام هوایی Dry shoot/root
	(g $plant^{-1}$)			
U_0	100.25^{d}	9.66^{d}	2.83^{c}	3.49^{d}
U_{25}	167.00^{b}	16.82^{b}	3.37^{a}	4.27^{b}
U_{50}	182.25^{a}	17.85^{a}	3.36^{a}	5.00^{a}
U_{75}	118.75^{c}	11.55^{c}	2.89^{bc}	4.05^{c}
U_{100}	124.75^{c}	10.51^{d}	3.00^{b}	3.50^{d}

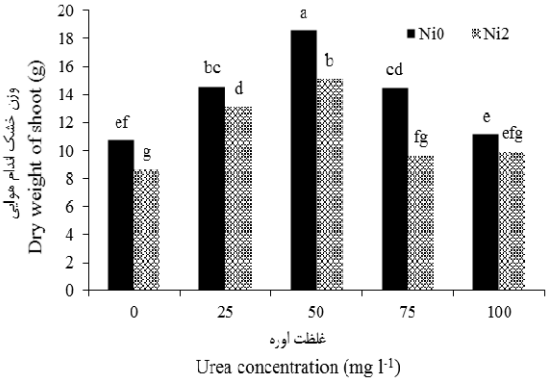
اعداد با حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار ($P<0.05$) با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن نمی‌باشند

Means followed by the same letter are not significantly different ($P<0.05$) by Duncan multiple range test.



شکل ۱- اثر متقابل غلظت‌های مختلف اوره × کاربرد نیکل بر وزن تر اندام هوایی کاهو رقم سیاهو

Figure 1- Interaction of Urea × Ni application on fresh weight of *Lactuca sativa* cv. Siyahoo shoot



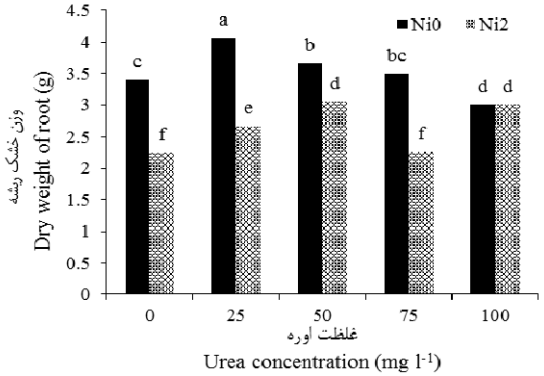
شکل ۲- اثر متقابل غلظت‌های مختلف اوره × کاربرد نیکل بر وزن خشک اندام هوایی کاهو رقم سیاهو

Figure 2- Interaction of Urea × Ni application on dry weight of *Lactuca sativa* cv. Siyahoo shoot

بطور کلی در بررسی اثرات ساده اوره و اثرات متقابل اوره و نیکل بر صفات رویشی مشاهده شد که تا تیمار U_{50} روند رشد افزایشی بود ولی با افزایش غلظت به بیش از ۵۰mg/l کاهش در رشد مشاهده شد. شکل‌های ۱، ۲، ۳ و ۴ اثرات متقابل اوره و نیکل بر صفات رویشی را نشان می‌دهند.

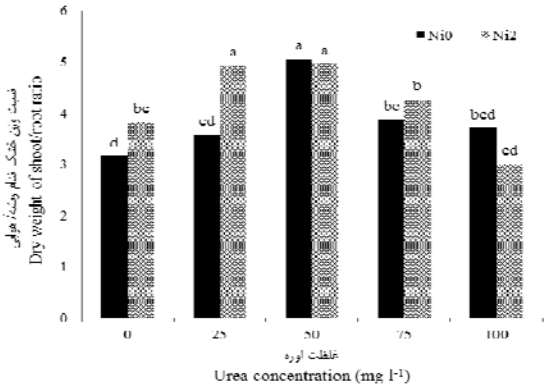
افزایش رشد و عملکرد در دو سطح U_{25} و U_{50} به دلیل هیدرولیز اوره و آزاد شدن نیتروژن اوره و کاهش رشد در سطوح U_{75} و U_{100} به دلیل مسمومیت اوره است؛ که به دو علت می‌تواند اتفاق بیافتد، اول مسمومیت ناشی از تجمع خود اوره در بافت‌های گیاه است و دومی مسمومیت NH_4^+ ناشی از هیدرولیز اوره می‌باشد.

در محلول‌های غذایی که نیکل وجود نداشت، مسمومیت مشاهده شده را به مسمومیت خود اوره نسبت می‌دهیم. علائم مسمومیت اوره بصورت ظهور نقاط قهوه‌ای در حاشیه برگ، زرد شدن برگ و کلروز غیر یکنواخت قابل رویت است (۲۳). چیلس و همکاران (۹) کاهش رشد حدود ۱۵ تا ۶۰ درصدی در اثر مسمومیت آمونیوم در لوبیای فرانسوی را گزارش کردند.



شکل ۳- اثر متقابل غلظت‌های مختلف اوره × کاربرد نیکل بر وزن خشک ریشه کاهو رقم سیاهو

Figure 3- Interaction of Urea × Ni application on dry weight of *Lactuca sativa* cv. Siyahoo root



شکل ٤- اثر متقابل غلظت‌های مختلف اوره × کاربرد نیکل بر وزن خشک ریشه/ اندام هوایی کاهو رقم سیاهو

Figure 4- Interaction of Urea × Ni application on shoot/root dry weight of *Lactuca sativa* cv. Siyahoo

نسبت ریشه به اندام هوایی در گیاهان تغذیه شده با آمونیوم در مقایسه با نیترات کاهش یافته بود (۷). پس بنابراین در گیاهان دریافت کننده نیکل نیز کاهش رشد در غلظت‌های بیشتر از U_{50} احتمالا به علت مسمومیت آمونیوم بود.

شکل ۵- علائم سمیت ناشی از تجمع اوره در بافت برگ کاهو رقم سیاهو در تیمار $U_{100}Ni_0$

Figure 5- The toxicity symptoms of urea concentration in *Lactuca sativa* cv. Siyahoo leaf tissue treated with $U_{100}Ni_0$

هیدرولیز اوره در سطح U_{25} و U_{50} بدون کاربرد نیکل هیدرولیز اوره بوسیله ذخیره آندوسپرمی نیکل را ایده می‌دهد. در مرحله بلوغ بیش از ۷۰-۵۰ درصد نیکل موجود در شاخ برگ به بذرها منتقل می‌شود (۲ و ۱۰). علاوه بر این آلودگی نیکلی کودهای شیمیایی مورد استفاده در تهیه محلول غذایی هم می‌تواند به هیدرولیز اوره کمک کند. به‌نظر می‌رسد کاهش رشد در گیاهان تیمار شده با نیکل در مقایسه با شاهد (Ni_0) نیز به دلیل سمیت نیکل رخ داده بود.

بالا بودن میزان نسبت وزن خشک اندام هوایی به ریشه در گیاهان تیمار شده با نیکل در مقایسه با گیاهان رشد یافته در محلول غذایی بدون نیکل (شکل ۴) به دلیل کاهش رشد ریشه، در نتیجه‌ی تجمع بالای نیکل در ریشه نسبت به اندام‌های هوایی بود. در مطالعه انجام شده در خردل (*Brassica juncea*) مشخص شد که ۱۰۰µM نیکل وزن خشک گیاه را کاهش می‌دهد (۱). پاندی و مارشا (۲۰) گزارش کردند، از آنجا که ریشه‌ها اولین هدف آنیون‌ها و کاتیون‌های فلزی هستند، رشد آن‌ها معمولاً خیلی بیشتر از بخش‌های هوایی تحت تاثیر قرار می‌گیرد. کاتالدو و همکاران (۸) گزارش کرده‌اند که بیش از ۵۰ درصد نیکل جذب شده توسط گیاهان در ریشه باقی می‌ماند. این ممکن است به علت کمپلکس‌سازی سایت‌های تبادلی کاتیون با دیواره سلول‌های پارانشیم آوند چوبی و بی‌تحرکی از واکوئل‌های ریشه باشد (۲۱). نیکل می‌تواند از سه مسیر کاهش رشد (تولید بیوماس) را باعث شود: ۱) جابجایی اجزای ضروری در مولکول‌های زیستی با فلز ۲) مسدود کردن عملکرد بیولوژیکی ضروری مولکول ۳) تغییر آنزیم‌ها یا پروتئین‌ها، تغییر غشاء پلاسما و تغییر ساختار یا عملکرد ناقل‌های غشا.

در بررسی جدول تجزیه واریانس غلظت عناصر نیکل، پتاسیم، نیتروژن کل و نیترات در بافت برگ کاهو نیز مشاهده شد که اثر غلظت‌های مختلف اوره، کاربرد نیکل و اثر متقابل آن‌ها بر غلظت نیکل و پتاسیم معنی‌دار ($P\leq$۰/۰۱) بود (جدول ۴). اثر غلظت‌های مختلف اوره و اثرات متقابل آن با نیکل بر غلظت نیتروژن کل معنی‌دار بود ($P\leq$۰/۰۱) در حالی که نیکل اثر معنی‌داری بر غلظت نیتروژن کل نداشت (جدول ۴). با وجود این‌که غلظت‌های مختلف اوره بر غلظت نیترات اثر معنی‌داری نداشت اما کاربرد نیکل و اثر متقابل آن با اوره غلظت نیترات را به‌طور معنی‌داری ($P\leq$۰/۰۱) تحت تاثیر قرار داد (جدول ۴).

اثر غلظت‌های مختلف اوره بر غلظت نیکل به گونه‌ای بود که در تیمار U_{100} غلظت نیکل در بافت برگ ۱۱ برابر تیمار U_{50} بود (جدول ۵). روند افزایش غلظت نیکل بافت برگ بنحوی بود که با افزایش غلظت اوره به بیش از U50 غلظت نیکل بافت به گونه معنی‌داری افزایش یافته بود. این روند برعکس وزن خشک گیاه است که با افزایش غلظت اوره به بیش از U_{50} وزن خشک گیاه کاهش یافته بود. این مشاهده با پدیده رقت قابل توجیه است؛ بر اساس پدیده رقت پایین بودن غلظت نیکل در گیاهان U_{50} به دلیل رشد بیشتر گیاهان این تیمار بود. به عبارت دیگر غلظت U_{50} اوره باعث رشد بیشتر گیاهان در مقایسه با تیمارهای دیگر شده که نتیجه آن پایین آمدن غلظت نیکل بافت بود. در گیاهان تیمارهای بدون نیکل نیز میزان نیکل درون بافت تقریبا صفر بود. کل جذب نیکل در گیاه به غلظت Ni^{2+}، متابولیسم گیاه، اسیدیته محلول غذایی، وجود سایر عناصر و ترکیبات آلی وابسته است (۱۱). علاوه بر این، یون Ni^{2+} ممکن است با یون‌های عناصر ضروری دیگر زمانی که توسط ریشه جذب می‌شود ترکیب شود (۲۶). محتوای نیکل ساقه‌ها و ریشه‌های گیاهان تغذیه شده با هر دو منبع اوره و نیترات آمونیوم با افزایش در غلظت نیکل محلول غذایی به طور معنی‌داری افزایش یافت (۶).

جدول ٤- جدول تجزیه واریانس غلظت عناصر نیکل، پتاسیم، نیتروژن کل و نیترات در بافت برگ کاهو رقم سیاهو

Table 4- Analysis of variance of concentrations of Ni, K, Total N and Nitrate in *Lactuca sativa* cv. Siyahoo leaf

منابع تغییرات Sources of Variation	درجه آزادی Degrees of Freedom	میانگین مربعات Mean Square			
		نیکل Ni	پتاسیم K	نیتروژن کل Total N	نیترات Nitrate
اوره Urea	4	14.473**	702.147**	17.123**	8.231^{ns}
نیکل Ni	1	204.149**	144.485**	3.074^{ns}	128.881**
اوره× نیکل Urea×Ni	4	14.473**	340.416**	28.328**	13.231**
خطا Error	27	0.009	7.028	2.807	9.730

** معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد، * معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد و ^{ns} غیر معنی‌دار

** Significant at 1% level, * significant at the 5% level and ^{ns} not significant

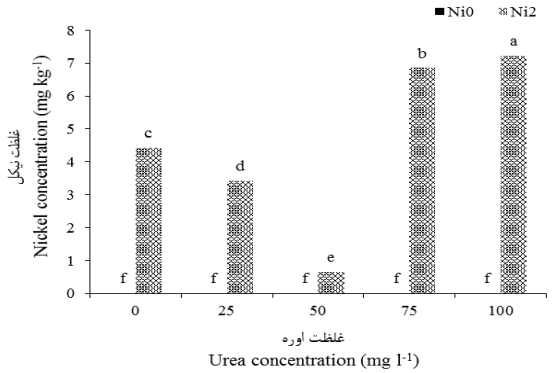
جدول ۵- اثر غلظت‌های مختلف اوره بر غلظت نیکل، پتاسیم، نیتروژن کل و نیترات در بافت برگ کاهو رقم سیاهو

Table 5- Effect of urea concentration on Ni, K, Total N and Nitrate in *Lactuca sativa* cv. Siyahoo leaf

غلظت اوره Urea concentration ($mg\ l^{-1}$)	نیکل Ni ($mg\ kg^{-1}$)	پتاسیم K	نیتروژن کل Total N
		($mg\ g^{-1}$)	
U_0	2.21^{c}	36.13^{d}	32.21^{bc}
U_{25}	1.72^{d}	58.20^{a}	30.69^{c}
U_{50}	0.33^{e}	51.77^{b}	33.82^{ab}
U_{75}	3.43^{b}	44.74^{c}	33.83^{ab}
U_{100}	3.62^{a}	37.62^{d}	34.12^{a}

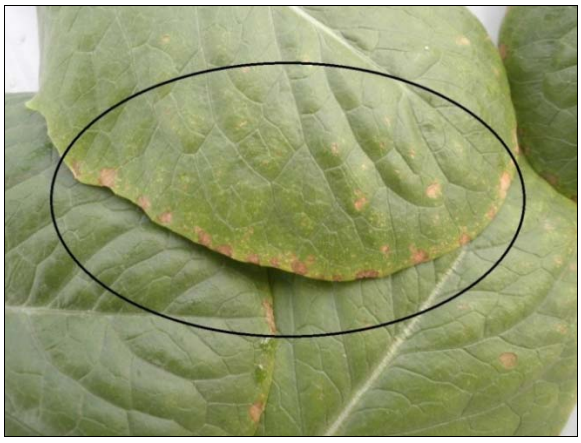
اعداد با حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار ($P<0.05$) با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن نمی‌باشند

Means followed by the same letter are not significantly different ($P<0.05$) by Duncan multiple range test.



شکل ٦- اثر متقابل غلظت‌های مختلف اوره × کاربرد نیکل بر غلظت نیکل بافت برگ کاهو رقم سیاهو

Figure 6- Interaction of Urea × Ni application on Ni concentration of *Lactuca sativa* cv. Siyahoo leaf



شکل ۷- علائم سمیت ناشی نیکل در برگ کاهو رقم سیاهو در تیمار U_0Ni_2

Figure 7- The toxicity symptoms of Ni in the leaf tissues of *Lactuca sativa* cv. Siyahoo treated with U_0Ni_2

نیکل تحرک بالایی دارد و فلزی است که تمایل به تجمع در قسمت‌های تازه شکل گرفته گیاه مانند برگ‌ها و دانه‌ها دارد (۸). میزان جذب نیکل تا یک غلظت خاصی با غلظت نیکل بیرونی همبستگی مثبت دارد (۱۹). شکل (۶) اثر متقابل غلظت‌های مختلف اوره و کاربرد نیکل بر غلظت نیکل بافت برگ کاهو را نشان می‌دهد. همچنین مقایسه میانگین نیکل موجود در گیاهان این آزمایش ($mg\ kg^{-1}$ ۲/۲۶) با مقادیر استاندارد تعیین شده از سوی سازمان‌های بین المللی (FAO/WHO[1]) نشان داد که گیاهان تولید شده ۳ برابر کمتر از حداکثر استاندارد تعیین شده برای غلظت نیکل در کاهو ($mg\ kg^{-1}$ ۶۷/۹۰) از طرف FAO/WHO (۴) نیکل داشت. همچنین اگر ما بیشترین غلظت نیکل موجود در گیاهان را در نظر بگیریم (تیمار $U_{100}Ni_2$) که $mg\ kg^{-1}$ ۳/۶۲ نیکل داشت باز هم اختلاف ۱/۸۷ برابر

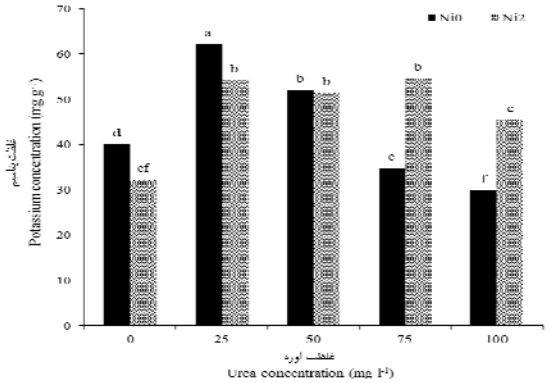
1-World Health Organization (WHO)

با مقدار استاندارد جهانی وجود دارد. البته باید توجه کرد که مقدار استاندارد تعیین شده از سوی FAO/WHO که در ارتباط با سلامت و بهداشت غذایی هست با مقادیر عنوان شده در منابع کشاورزی برای سمیت نیکل برای گیاهان متفاوت هست.

در تیمار U_{25} غلظت پتاسیم برگ به میزان ۱/۶ برابر نسبت به شاهد افزایش یافته بود (جدول ۵). روند تاثیر غلظت‌های مختلف اوره بر غلظت پتاسیم بافت برگ به گونه‌ای بود که که با افزایش غلظت اوره محلول غذایی به بیش از U_{25} غلظت پتاسیم بافت برگ کاهش یافته بود. اثر کاربرد نیکل بر غلظت پتاسیم بافت برگ نیز بنحوی بود که کاربرد Ni_2 در محلول غذایی باعث افزایش ۸ درصدی در غلظت پتاسیم بافت برگ شد. در بررسی اثر متقابل غلظت‌های مختلف اوره و کاربرد نیکل بر غلظت پتاسیم بافت برگ نیز تیمار $U_{25}Ni_0$، ۲ برابر پتاسیم بیشتری نسبت به تیمار $U_{100}Ni_0$ داشت (شکل ۸).

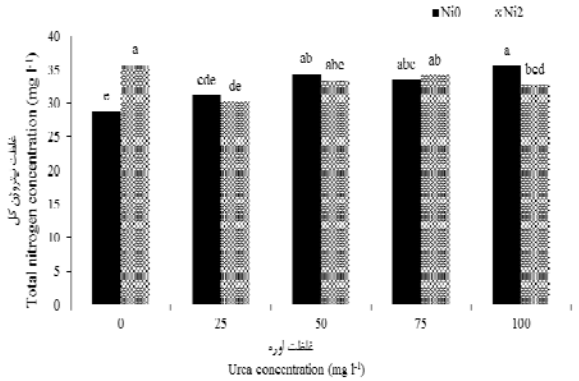
گیاهان رشد کرده در نیتروژن مخلوط حاوی اوره غلظت پتاسیم، فسفر و آهن بیشتری در مقایسه با گیاهان در یافت کننده نیترات داشتند (۱۳). این گزارش با نتایج ما در غلظت‌های کم و متوسط اوره مطابقت دارد ولی کاهش غلظت پتاسیم بافت برگ با افزایش غلظت اوره محلول غذایی احتمالا به دلیل تولید NH_4^+ در نتیجه هیدرولیز اوره می‌باشد که در جذب با پتاسیم به دلیل بار یکسان رقابت می‌کند و در این رقابت آمونیوم برنده بوده بنابراین غلظت پتاسیم بافت کاهش پیدا می‌کند. محتوای K, Mg و Zn در ساقه‌های گیاهان تغذیه شده با محلول اوره نسبت به محلول شاهد کم بود (۱۱). با توجه به پدیده رقت کاهش در رشد به دلیل مسمویت نیکل علت افزایش غلظت پتاسیم بافت برگ گیاهان تغذیه شده با نیکل در مقایسه با گیاهان شاهد بود.

غلظت‌های مختلف اوره بگونه‌ای بر غلظت نیتروژن کل بافت برگ کاهو تاثیر داشتند که بیشترین و کمترین نیتروژن کل بترتیب در تیمارهای U_{100} و U_{25} مشاهده شد. گیاهان U_{100}، ۱/۲ برابر نیتروژن بیشتری را در بافت‌های برگ خود در مقایسه با گیاهان U_{25} داشتند (جدول ۵).



شکل ۸- اثر متقابل غلظت‌های مختلف اوره×کاربرد نیکل بر غلظت پتاسیم بافت برگ کاهو رقم سیاهو

Figure 8- Interaction of Urea × Ni application on K concentration of *Lactuca sativa* cv. Siyahoo leaf



شکل ۹- اثر متقابل غلظت‌های مختلف اوره × کاربرد نیکل بر غلظت نیتروژن کل بافت برگ کاهو رقم سیاهو

Figure 9- Interaction of Urea ×Ni application on Total N concentration of *Lactuca sativa* cv. Siyahoo leaf

با وجود اینکه کاربرد نیکل اثر معنی‌داری بر غلظت نیتروژن کل نداشت اما اثر متقابل آن با اوره معنی‌دار بود؛ و وقتی که Ni_2 به

محلول غذایی گیاهان اضافه شد، غلظت نیتروژن کل بافت برگ گیاهان تیمار U_0Ni_2 در مقایسه با شاهد (U_0Ni_0) ۱/۵ برابر افزایش یافت (شکل ۹).

نیتروژن کل در واقع شامل تمام فرم‌های نیتروژن (نیترات و آمونیوم) را شامل می‌شود. بالا بودن نیتروژن کل در تیمار U_0Ni_2 به دلیل رشد کم و بیوماس تولیدی کم گیاهان این تیمار می‌باشد. پدیده رقت این نتیجه را بدست می‌دهد. نتایج آزمایش ما با نتایج آزمایشات زیر مطابقت دارد؛ با جایگزینی جزئی NO_3-N با اوره در محلول غذایی، محتوای نیتروژن کل مقدار کمی افزایش یافت (۱۵). گیاهان گوجه فرنگی تیمار شده با ۵۰ درصد اوره و ۵۰ درصد نیترات بالاترین غلظت نیتروژن کل را داشتند (۲). بارکر و ماینارد (۵)، گزارش کردند که حداکثر نیتروژن جذب شده در گیاهان زمانی حاصل شد NO_3 و NH_4^+ با هم عرضه شدند.

کاربرد اوره اثر معنی‌داری بر غلظت نیترات نداشت، با این حال کاربرد نیکل (Ni_2) باعث کاهش ۱/۲ برابر غلظت نیترات در بافت‌های گیاهان گیاهان دریافت کننده نیکل در مقایسه با گیاهان بدون نیکل شد. در بررسی اثر متقابل غلظت‌های مختلف اوره و کاربرد نیکل بر غلظت نیترات بافت برگ، گیاهان تیمار U_0Ni_0 ۲/۶ برابر بیشتر از گیاهان U_0Ni_2 در بافت‌های برگ خود نیترات داشتند (شکل ۱۰). حسینی و همکاران (۱۴) گزارش کردند که تغذیه نیکل باعث کاهش معنی‌دار در غلظت نیترات شاخساره کاهو شد. نظریات مختلفی در مورد طریقه اثر کاربرد نیکل بر کاهش نیترات وجود دارد؛ بطوری که واتانب و شیمادا (۲۵) گزارش کردند نیکل از طریق تحریک سوخت وساز نیتروژن و فرآیند ساخت پروتئین در گیاهان از تجمع نیترات در گیاهان جلوگیری می‌کند. مس کلور و همکاران (۱۷) نیز گزارش کردند که جذب و انتقال نیترات به داخل سلول‌ها به در دسترس بودن انرژی متابولیکی قابل استفاده برای قطبش (دو قطبی شدن) غشاء سلول وابسته است. نقش اصلی در این پروسه را پمپ پروتونی H^+-ATPase بازی می‌کند. ممانعت از جذب NO_3^- ممکن است نتیجه فعالیت نیکل بر روی پمپ H^+-ATPase باشد، هر چند آن می‌تواند بر حامل سیمپورت H^+/NO_3^- نیز تاثیر گذار باشد (۲۶). علاوه بر این، پروتئین‌های سیستم جذب NO_3^- دارای گروه‌های SH– هستند و به همین دلیل آن‌ها به فلزات سنگین از جمله نیکل حساس هستند (۲۴).

نتیجه‌گیری کلی

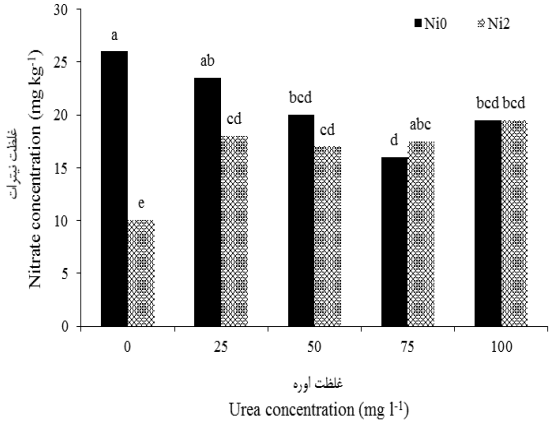
اوره به عنوان منبع نیتروژن در غلظت‌های کم و متوسط با هیدرولیز شدن و افزایش نیتروژن در دسترس باعث افزایش رشد شد و متعاقب آن بر اساس پدیده رقت غلظت عناصر بافت برگ را در جهت کاهش تحت تاثیر قرار داد. غلظت نیترات فقط با نیکل و اثرات متقابل آن با اوره متاثر شد. نیکل غلظت نیترات بافت برگ را بطور معنی‌داری کاهش داد که به‌نظر می‌رسد ناشی کاهش جذب نیترات با تاثیر بر حامل‌های آن باشد. بنابراین می‌توان با تغییر در مدیریت برنامه تغذیه، گیاهان سالم بر اساس استانداردهای تعریف شده توسط سازمان‌های جهانی (FAO) را تولید کرد.

پیشنهادات

بر اساس نتایج بدست آمده در این تحقیق و برای تکمیل شدن و توسعه تحقیقات در این زمینه پیشنهاد می‌شود در مطالعات آینده:

I) غلظت اوره و آنزیم‌های موثر در هیدرولیز اوره (اوره‌آز) و آسمیلاسیون نیترات (نیترات ردوکتاز) اندازه‌گیری شود

II) غلظت سایر عناصر غذایی مانند کلسیم، فسفر و آهن نیز در بافت اندازه‌گیری شود



شکل ۱۰- اثر متقابل غلظت‌های مختلف اوره ×کاربرد نیکل بر غلظت نیترات بافت برگ کاهو رقم سیاهو

Figure 10- Interaction of Urea × Ni application on Nitrate concentration of *Lactuca sativa* cv. Siyahoo leaf tissue

III) غلظت نیکل موجود در بافت با سایر اسـتانداردها و همچنـین محصولات دیگر مقایسه شود

IV) در شرایط تنش مانند تنش‌شوری هم این آزمایش انجام شود

V) این آزمایش بر روی سایر سبزیجات نیترات دوست انجام شود

VI) جهت بررسی پیشنهاد ارائه شده در این تحقیق مبنی بـر اثـر نیکل تجمع یافته در بذر بر هیـدرولیز اوره، ایـن آزمـایش در گیاهـان درشت بذر و تجمع کننده نیکل انجام شود.

منابع

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

2- Aminuddin H., Khalip R., Norayah K., and Alas H. 1993. Urea as the Nitrogen Source in NIT Hydroponic System. PertanikaJ. Trap. Agricultural Science, 16(2):87-94.

3- Anke M., Losch E., Muller M., Groppel B; and Hubschman J. 1991. Nickel supply and nickel load of man in central Europe. Mengen und Spurenelemente, 11, Arbeitstangung, Leipzig, 12-13 Dec., pp. 609-626. Germany.

4- Anonymous. 2001. Codex Alimentarius Commission (FAO/WHO). Food additives and contaminants-Joint FAO/WHO Food Standards Programme. 2001, ALINORM 01/12A, pp. 1-289.

5- Barker A.V., and Maynard D. 1972. Cation and nitrate accumulation in pea and cucumber plants as influenced by nitrogen nutrition. Journal of the American Society for Horticultural Science, 97,1:27-30.

6- Bybordi A., and Gheibi M.N. 2009. Growth and Chlorophyll Content of Canola Plants Supplied with Urea and Ammonium Nitrate in Response to Various Nickel Levels. Notulae Scientia Biologicae, 1(1),53-58.

7- Cao H., Ge Y., Liu D., Cao Q., Chang S.X., Chang J., Song X., and Lin X. 2011. Nitrate/Ammonium ratios affect ryegrass growth and nitrogen accumulation in a hydroponic system. Journal of Plant Nutrition, 34:206–216.

8- Cataldo D.A., Garland T.R., and Wildung R.E. 1978. Nickel in plants I. Uptake kinetics using intact soybean seedlings. Plant Physiology Biochemistry, 62:563-565.

9- Chaillou S., Morot-Gaudry J.F., Salsac L., Lesaint C., and Jolivet E. 1986. Compared effects of NO_3^- or NH_4^+ on growth and metabolism of French bean. Physiologie Vegetal, 24:679–687.

10- Chen B.M., Wang Z.H., Li S.X., Wang G.X., Song H.X., and Wang X.N. 2004. Effects of nitrate supply on plant growth, nitrate accumulation, metabolic nitrate concentration and nitrate reductase activity in three leafy vegetables. Plant Science, 167:635- 643.

11- Chen C., Huang D., and Liu J. 2009. Functions and toxicity of nickel in plants: recent advances and future prospects. Clean- Soil, Air, Water, 37:304-313.

12- Dixon N.E., Hinds J.A., Fihelly A.K., Gozala C., Winzor D.J., Blakeley R.L., and Zerner B. 1980. Jack bean urease (EC 3.5.1.5). IV. The molecular size and mechanism of inhibition by hydroxamic acids. Spectrophotometric fixation of enzymes with reversible inhibitors. Canadian Journal Biochemistry, 58:1323-1334.

13- Fabrice H., Maria G., and Jose Maria G.M. 2007. Nitrogen fertilizer source effects on the growth and mineral nutrition of pepper (*Capsicum annuum* L.) and wheat (*Triticum aestivum* L.). Journal of the Science Food and Agricultures, 87:2099-2105.

14- Hoseini F., Khoshgoftarmanesh A.H., and Afyuni M. 2012. Influence of nickel nutrition and nitrogen source on growth and yield of lettuce in hydroponic culture**.** Journal of Science and Technology Greenhouse Culture**,** 3 (9):53-62. (in Persian)

15- Khan K.N., Watanabe M., and Watanabe Y. 1999. Effect of Different Concentrations of Urea with or without Nickel Addition on Spinach (*Spinacia oleracea* L.) Growth under Hydroponic Culture. Soil Science and Plant Nutrition, 45(3),569-575.

16- Marschner H. 2002. Mineral nutrition of higher plants, 3rd ed. Academic Press, London, pp 364-369.

17- McClure P.R., Kochian L.V., Spanswick R.M., and Shaff J.E. 1990. Evidence for cotransport of nitrate and protons in maize roots. I. Effect of nitrate on the membrane potential. Plant Physiology, 93:281–289.

18- Mensinga T.T., Speijers G.J.A., and Meulenbelt J. 2003. Health implications of exposure to environmental nitrogenous compounds. Toxicological Reviews, 22:41-51.

19- Morrison R., Brooks R., and Reeves R. 1980. Nickel uptake by Allysum species. Plant Science Letters, 17:451-460.

20- Panda, N., and Sharma C.P. 2002. Effect of heavy metals CO^{2+}, Ni^{2+}, and Cd^{2+} on growth and metabolism of cabbage. Plant Science, 163:753-758.

21- Seregin I.V., and Kozhevnikova A.D. 2006. Physiological role of nickel and its toxic effects on higher plants. Russian Journal of Plant Physiology, 53:257-277.

22- Sykula-Zajac A., Turek M., Mathew M.P., Patai F., Horvat M., and Jablonska J. 2010. Determination of Nickel in Tea by Using Dimethylglyoxime Method. Food Chemistry and Biotechnology, Vol. 74:1-11.

23- Tabatabaei S.J. 2013. Principles of Mineral Nutrition of Plants. University of Tabriz. Iran. (in Persian)

24- Tan X.W., Ikeda H., and Oda, M. 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. Scientia Horticulturae, 84:265-273.
25- Watanabe Y., and Shimada N. 1990. Effect of nickel on the plant growth and urea assimilation in higher plants. Trans. 14th Intl. Congress of Soil Sciences, August 1990, 4: 146-151. Kyoto, Japan.
26- Yusuf M., fariduddin Q., Hayat S., and Ahmad A. 2011. Nickel: An Overview of Uptake, Essentiality and Toxicity in Plants. Bull Environ Contam Toxicol, 86:1–17.