

اثر نسبت نیتروژن نیتراتی و آمونیومی بر میزان ماده خشک و محتوی رنگیزه های فتوستتزی و ترکیبات بیوشیمیایی قند و پرولین اندام های هوایی و ریشه گیاه دارویی بالنگو (*lallemantia royleana L.*) تحت شوری

آرزو کیایی^۱، حشمت امید^{۲*}، عبدالامیر بستانی^۳ محسن رودپیما^۳

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران

۲- استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران

۳- استادیار گروه خاکشناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۴/۲۰، تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۷/۱۷

چکیده

تنش شوری یکی از عوامل مهم کاهش رشد و عملکرد گیاهان دارویی به خصوص در مناطق خشک و نیمه خشک می باشد. به منظور ارزیابی تحمل به شوری و تأثیر منابع مختلف کودهای نیتروژنه و نحوه اعمال آن بصورت فاکتوریل در سه تکرار در گلخانه پژوهشی دانشگاه شاهد بر گیاه دارویی بالنگو مطالعه- ای صورت گرفت. عامل شوری (۰، ۴۰، ۸۰، ۱۲۰ و ۱۵۰ میلی مولار) و نسبت منبع نیتروژن (نیترات: آمونیوم) (۰ : ۱۰۰، ۲۵ : ۷۵، ۵۰ : ۵۰، ۷۵ : ۲۵ و ۱۰۰ : ۰) در نظر گرفته شدند. نتایج نشان داد محتوای پرولین، قند، رنگیزه های فتوستتزی، محتوای عناصر سدیم و پتاسیم اندام هوایی و فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز و میزان ماده خشک اندام زمینی و خشک اندام هوایی تحت تاثیر شوری و منبع تغذیه نیتروژن قرار گرفتند. مقایسه میانگین نشان داد شوری باعث افزایش ۵۵/۵ درصدی پرولین و ۲۴/۹ درصدی فندهای محلول در اندام های هوایی گردید. از طرف دیگر با افزایش شوری میزان سدیم به طور معنی داری افزایش یافته و سدیم مانع جذب پتاسیم شد. همچنین، شوری باعث کاهش فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز (۲۴ درصد) در بالنگو گردید. اما افزایش نیتروژن آمونیومی باعث افزایش فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز در برگ (۱۶/۳ درصد)، ساقه (۳/۳۵ درصد) و ریشه (۷/۱۶ درصد) گردید. از سوی دیگر افزایش نسبت نیتروژن آمونیومی باعث کاهش وزن تر و خشک اندام زمینی و اندام هوایی گیاه بالنگو شد که این نشان دهنده اثر سوء آمونیوم روی گیاه بالنگو بوده است.

کلید واژه ها: شوری، نیترات ردوکتاز، بالنگو، محتوای پرولین، قند

مقدمه

بالنگو (*lallelantia royleana* L.) گیاهی از تیره Lamiaceae است و پراکنش وسیع در ایران، ترکیه، هند و شمال اروپا دارد. دانه آن حدود ۱۸ درصد پروتئین و ۲۰ درصد وزنی چربی دارد (Naghibi *et al.*, 2005). دانه بالنگو دارای خواص دارویی متعدد نظیر مقوی قلب، مناسب برای رفع اضطراب و وحشت، خفقان، دل پیچه و اسهال خونی می باشد. همچنین، موسیلاژ این گیاه در درمان سرفه مصرف سنتی دارد (Naghibi *et al.*, 2005). تنش شوری یکی از عوامل مهم کاهش رشد و عملکرد گیاهان دارویی به خصوص در مناطق خشک و نیمه خشک می باشد (Munns, 1993). آبیاری با آب های شور و زهکشی نامناسب (Greenway & Munns, 1980) مهمترین عامل افزایش نمک و شور شدن خاک و در نتیجه ایجاد تنش شوری است (Comba *et al.*, 1998). کمبود نیتروژن در خاک های مناطق خشک و نیمه خشک نیز قابل توجه است، زیرا مقدار مواد آلی بعنوان عمده ترین منبع ذخیره نیتروژن در این مناطق خیلی کم بوده و در صورت وجود سریع تجزیه می شود (Mangal, 1986). نیتروژن در ساختمان مولکول های پروتئینی، آنزیم ها، کوآنزیم ها، اسید نوکلئیک و سیتوکروم ها نقش دارد (Hassegawa *et al.*, 2008). همچنین، نیتروژن از اجزای ساختمانی غشاهای گیاهی، بسیاری از هورمون ها و ترکیبات مهم متابولیسمی درون گیاه است. اگرچه گاز نیتروژن ۸۰ درصد اتمسفر را تشکیل می دهد ولی نیتروژن بصورت مستقیم نمی تواند مورد استفاده اغلب گیاهان قرار گیرد. نیتروژن به حالت نسبتاً اکسیده شده به صورت یون های نیترات در خاک توسط اکثر گیاهان مصرف می شود. این عنصر در گیاه توسط یکسری فعل و انفعالات متوالی احیایی وارد ترکیبات گروه های آمین احیا شده، اسیدهای آمینه و ترکیبات دیگر حاوی نیتروژن می گردد. چون یون های نیترات به سهولت از خاک شسته می شوند، فراهم ساختن املاح نیترات به صورت کود معمولاً در کشاورزی امری

ضروری است (کافی و همکاران، ۱۳۸۰). یون های نیترات (NO_3^-) و آمونیوم (NH_4^+) دو شکل اصلی نیتروژن هستند که به وسیله گیاهان جذب می شوند. نیترات اغلب منبع برتری برای رشد گیاهان است ولی این امر عمدتاً به گونه گیاه و سایر عوامل بستگی دارد (کافی و همکاران، ۱۳۸۰). هر چند که نیترات پس از جذب و قبل از ورود به ترکیبات نیتروژن دار آلی به آمونیوم احیاء می شود اما عقیده این است که آمونیوم و نیترات به عنوان منابع نیتروژن از نظر اثر بر رشد و ترکیب شیمیایی گیاه با هم متفاوت هستند (Rios-Gonzalez *et al.*, 2002). سازگاری نسبی گیاهان برای استفاده از نیترات و آمونیوم متفاوت است. متابولیسم آمونیوم نسبت به نیترات به انرژی کمتری نیاز دارد. بنابراین، گیاهان باید آمونیوم را ترجیح دهند اما تنها برخی از گونه های گیاهی می توانند در محیطی که آمونیوم تنها منبع نیتروژن است به خوبی رشد کنند. بیشتر گونه های گیاهی زراعی وقتی در محیط دارای آمونیوم قرار می گیرند علائم مسمویت شدید به آمونیوم را نشان می دهند و محیط دارای نیترات برای رشد آنها مناسب تر است (Kronzucker *et al.*, 1999). یاماساکی و سنپو (۱۹۶۵) دریافتند که تغذیه نیترات بر رشد و بازدهی گیاه اثر مفیدی دارد و فعالیت متابولیکی و جذب کاتیون را در ریشه های برنج افزایش می دهد. یافته ها نشان می دهد که رشد و بازدهی گیاهان در محیط هایی که دارای مخلوطی از نیترات و آمونیوم هستند نسبت به محیط هایی که یکی از این دو منبع نیتروژن به تنهایی وجود دارد، بیشتر می باشد. گزارش شده که در گاوزبان کاربرد آمونیوم به عنوان منبع نیتروژنی باعث کاهش محتوی پرولین و وزن خشک اندام هوایی گردید و تغذیه نیتروژن با نسبت ۵۰٪ آمونیوم ضمن افزایش میزان پرولین در شرایط شوری بالا، اثرات منفی این تنش را تعدیل کرد (عقیقی و همکاران، ۱۳۹۴). در بررسی گیاه برنج افزایش رشد و بازدهی گیاه در تغذیه هم زمان از نیترات و آمونیوم می تواند ناشی از افزایش جذب آمونیوم و افزایش انتقال نیتروژن به اندام هوایی در نتیجه تحریک

همگون سازی آمونیوم و افزایش فعالیت چرخه GS/GOGAT در حضور نیترات باشد که به لحاظ زراعی اهمیت دارد (Kronzucker et al., 1999). بر اساس گزارش اوجی و ایزاوا (۱۹۶۸) میزان فعالیت ویژه آنزیم نیترات ردوکتاز در ساقه‌ها و برگ‌های گیاهان سه هفته‌ای برنج از فعالیت آن در سویا و گندم بیشتر است. بنابراین، عکس العمل گیاهان بویژه گیاهان دارویی در انتخاب فرم نیتروژن (نیترات یا آمونیوم) پس از جذب و قبل از ورود به ترکیبات نیتروژن دار آلی متفاوت است. لذا این امر در شرایط استرس شوری پیچیده تر می‌گردد. در این پژوهش واکنش گیاه داروی بالنگو در شرایط شوری به منبع نیتروژن ارزیابی شد.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی عکس‌العمل مورفولوژیک و بیوشیمیایی (اسمولیت‌هایی نظیر پرولین و قند) گیاه دارویی بالنگو به منبع تغذیه نیتروژن در محیط شور آزمایشی در شرایط کنترل شده انجام گرفت. این تحقیق در گلخانه پژوهشی گروه خاکشناسی دانشکده کشاورزی دانشگاه شاهد تهران در دیماه سال ۱۳۹۱ انجام گرفت. مطالعه به صورت فاکتوریل و در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی (RCBD) در ۳ تکرار و در مراحل اولیه رشد گیاهچه‌ها انجام شد. ترکیب تیماری شامل حاصلضرب سطوح عامل شوری در پنج سطح (آب مقطر، ۴۰، ۸۰، ۱۲۰ و ۱۵۰ میلی مولار) و عامل تغییر نسبت نیتروژن در پنج سطح (نیترات/آمونیوم) شامل (۰ : ۱۰۰، ۲۵ : ۷۵، ۵۰ : ۵۰، ۷۵ : ۲۵ و ۱۰۰ : ۰) بود. دمای گلخانه ۲۲-۲۵ درجه سانتی‌گراد و شدت نور با ترکیبی از لامپ‌های فلورسنت و تنگستن تامین گردید. در این آزمایش دو عامل نسبت نیتروژن و شوری اعمال شد. قبل از اعمال فاکتورها ابتدا بذور با هیپوکلریت سدیم پنج درصد به مدت ۳۰ ثانیه ضد عفونی و سپس چند بار با آب مقطر شستشو داده شدند. پس از جوانه‌زنی بذرها و رشد مناسب ریشه‌چه و ساقه‌چه،

گیاهچه‌ها به محیط کشت هیدروپونیک انتقال یافتند. جهت هوادهی محلول هیدروپونیک از پمپ آکواریوم استفاده شد. در هر تکرار از تیمار، پنج گیاهچه در هر ظرف و به هر ظرف محلول غذایی کامل هوگلند همراه با آب مقطر افزوده شد. در هنگام تهیه محلول هوگلند بر اساس نوع تیمار، نسبت‌ها و غلظت نیترات و آمونیوم (۰:۱۰۰)، (۷۵:۲۵)، (۵۰:۵۰)، (۲۵:۷۵) و (۰:۱۰۰) محلول کنترل و اعمال شد. از آنجایی که ممکن است محلول هوگلند از پتانسیل اسمزی برخوردار باشد برای کنترل این امر در محاسبات شوری این تغییرات دیده شد پس از رشد مطلوب و کافی گیاهچه‌ها، اعمال تیمار شوری بر اساس محاسبات به محیط کشت اضافه شد. پس از رشد گیاه سطوح شوری شامل: آب مقطر، ۴۰، ۸۰، ۱۲۰ و ۱۵۰ میلی مولار به تیمارهای مورد نظر اضافه شد. برای تهیه سطوح شوری از نمک کلرید سدیم استفاده گردید. خصوصیات مورد بررسی پس از مرحله رشد گیاهچه شامل وزن تر، وزن آماس و وزن خشک برگ، وزن تر و وزن خشک ریشه، تعیین مقدار کلروفیل a و b، تعیین مقدار پرولین اندام هوایی، تعیین محتوای قند اندام هوایی، تعیین مقدار سدیم و پتاسیم اندام هوایی، اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز (سیم (۱۹۸۴)) اندام هوایی و اندام زمینی بود.

اندازه‌گیری پرولین

برای اندازه‌گیری پرولین حدود نیم گرم برگ تازه منجمد شده در ده میلی لیتر اسید سولفوسالسیلیک ۳/۳٪ سائیده تا کاملاً همگن شد. سپس مخلوط حاصله را از کاغذ صافی عبور داده و عصاره حاصله را در لوله ۱۵ سی سی نگهداشته شد. دو میلی لیتر از هر عصاره حاصله را برداشته و در لوله‌های آزمایش جداگانه ریخته، سپس به هر کدام از این لوله‌ها دو میلی لیتر معرف ناین هیدرین و دو میلی لیتر اسید استیک خالص اضافه گشت. برای تهیه معرف ناین هیدرین، ۱/۲۵ گرم پودر ناین هیدرین را با ۳۰

سنجش فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز

سنجش فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز با استفاده از روش سیم (۱۹۸۴) صورت گرفت. حدود ۰/۲ گرم ماده تر وزن شد. سپس با استفاده از نیتروژن مایع آنها را کاملاً ساییده و پودر حاصل از آنها را در محلول انکوباسیون شامل نیترات پتاسیم ۱۵۰ میلی مولار، پروپانول سه درصد حجمی و بافر فسفات ۱۰۰ میلی مولار بود به مدت یک ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد اون قرار گرفت. سپس محلول صاف گردید. دو میلی لیتر از محلول مذکور برداشته و یک میلی لیتر محلول گریس I (۰/۵ گرم اسید سولفانلیک در ۵۰ میلی لیتر استیک اسید حل و حجم آن به ۱۰۰ میلی لیتر رسانده شد) و یک میلی لیتر گریس II (۰/۲ گرم آلفا نفتیلامین در ۵۰ میلی لیتر اسید استیک حل و به حجم ۱۰۰ میلی لیتر رسانده شد) افزوده و جذب در طول موج ۵۲۰ نانومتر در مقابل شاهد با اسپکتروفتومتر خوانده شد. تعیین غلظت نیتريت حاصل از احیاء نیترات تحت تأثیر آنزیم نیترات ردوکتاز با استفاده از غلظت‌های متفاوت نیتريت سدیم انجام شد و از آن برای رسم منحنی استاندارد استفاده گردید.

داده ها با استفاده از نرم افزار رایانه‌ای SAS محاسبات آماری مورد نظر از جمله تجزیه واریانس داده‌های مربوط به صفات مختلف انجام شد. همچنین، رسم نمودارها توسط نرم افزارهای رایانه‌ای EXCEL صورت گرفت. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه ای Duncan استفاده شد.

نتایج و بحث

ویژگی‌های مورفولوژیکی و ماده خشک گیاه بالنگو

وزن خشک اندام هوایی

تجزیه واریانس نشان داد که اثر شوری و منبع تغذیه نیتروژنی (نیترات : آمونیوم)، و اثر متقابل بین آنها اثر معنی داری در سطح احتمال یک درصد ($p \leq 0.01$) بر صفت وزن خشک اندام هوایی داشت (جدول ۱). بطوریکه افزایش نسبت نیتروژن آمونیومی (NH_4^+) سبب کاهش وزن

میلی لیتر اسید استیک گلاسیال و ۲۰ میلی لیتر اسید فسفریک شش مولار مخلوط کرده و بتدریج روی یک همزن حرارت داده تا ناین هیدرین کاملاً حل شود. لوله را به مدت یک ساعت در بن ماری قرار داده و پس از بیرون آوردن به مدت چند دقیقه در حمام یخ گذاشته تا خنک بشود. به هر کدام از لوله‌ها چهار میلی لیتر تولوئن اضافه کرده و پس از بستن در لوله‌ها به مدت ۱۵ تا ۲۰ ثانیه ورتکس انجام شد. پس از تشکیل دو فاز جداگانه فاز بالایی که رنگی و دارای تولوئن حاوی اسید آمینه پرولین بود را با دقت جدا کرده و آماده قرائت در دستگاه اسپکتروفتومتر شد. غلظت پرولین نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر و به کمک غلظت‌های مشخص پرولین خالص در منحنی استاندارد به عنوان شاهد در طول موج ۵۲۰ نانومتر بر حسب میکروگرم بر میکرومول محاسبه گردید (Bates et al., 1973).

اندازه‌گیری کربوهیدرات‌های محلول

برای اندازه‌گیری کربوهیدرات‌های محلول، ۰/۱ میلی لیتر عصاره الکلی با سه میلی لیتر آنترون تازه تهیه شده (۱۵۰ میلی گرم آنترون + ۱۰۰ میلی لیتر اسید سولفوریک ۷۲ درصد) مخلوط گردید سپس این محلول به مدت ده دقیقه در حمام آب‌جوش قرار داده شد تا واکنش انجام و رنگی شود. برای تهیه عصاره الکلی نیم گرم پودر خشک گیاه را در ۵ میلی لیتر اتانل ۸۰ درصد به مدت ۴۸ ساعت خیسانده و پس از سانتریفیوژ میزان جذب آن با اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۲۵ نانومتر خوانده شد و مقدار قندهای محلول محاسبه شد. برای تهیه استانداردهای قند با استفاده از گلوکز خالص و بر اساس وزن مولکولی آن محلول مادر تهیه گشت. از این محلول غلظت‌های ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۱۵۰۰ و ۲۰۰۰ میلی گرم در لیتر گلوکز خالص تهیه کرده و مراحل آزمایش در مورد آنها انجام شد (Paquin & Lechasseur, 1979).

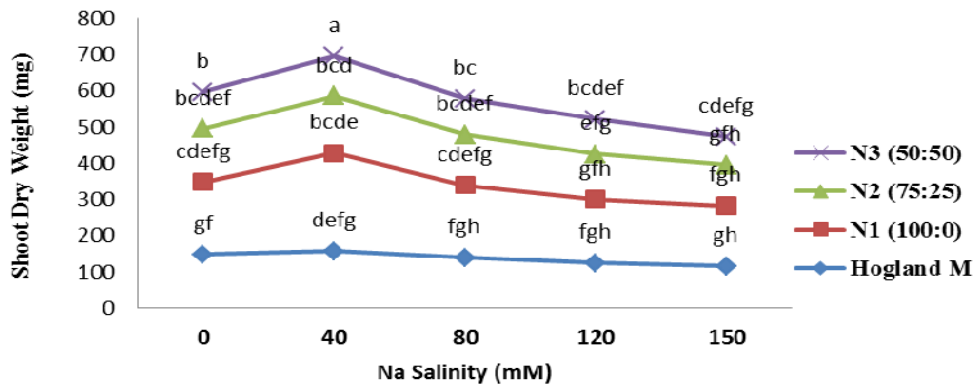
خشک اندام هوایی معادل ۵۷/۵۹ درصد گردید (شکل ۱). در تیمار عدم وجود آمونیوم دارای بیشترین میزان وزن خشک (۱۲۸/۹۰ میلی گرم) و در حداکثر آمونیوم (نسبت ۵۰:۵۰) کمترین مقدار ماده خشک در اندام هوایی (۸۲/۷۷ میلی گرم) مشاهده شد. همچنین، با افزایش سطوح شوری از ۴۰ تا ۱۵۰ میلی مولار میزان وزن خشک اندام هوایی گیاه بالنگو از کاهش معنی داری بر خوردار شد (۶۱/۰۳ درصد). در اثر متقابل منبع نیتروژن و شوری بیشترین میزان عملکرد ماده خشک در سطح شوری ۴۰ میلی مولار و در نسبت نیتروژن نیتراتی (۰:۱۰۰) و کمترین میزان عملکرد در سطح شوری ۱۵۰ میلی مولار و در نسبت (۵۰:۵۰) مشاهده شد (شکل ۱).

وزن خشک اندام زمینی

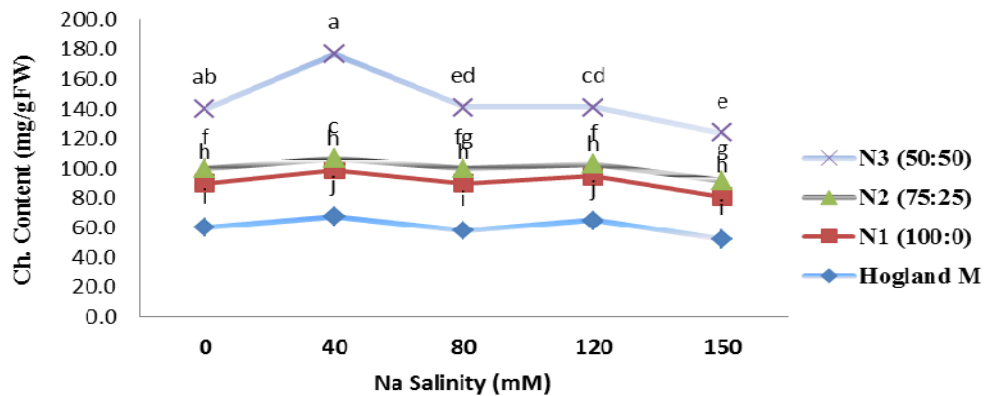
تجزیه واریانس نشان داد که شوری و منبع تغذیه نیتروژنی (نیترات: آمونیوم)، و اثر متقابل بین آنها اثر معنی داری در سطح احتمال یک درصد ($p \leq 0.01$) بر صفت وزن خشک اندام زمینی داشت (جدول ۱). نتایج مقایسه میانگین نشان داد که با افزایش منبع نیتروژن آمونیومی و سطوح شوری به ترتیب معادل ۳۸/۳۷ درصد و ۶۴/۹۲ درصد از عملکرد وزن خشک اندام زمینی کاسته شد. در اثر متقابل شوری و منبع نیتروژن بیشترین میزان عملکرد در سطح عدم شوری و نسبت (۰:۱۰۰) نیتروژن و کمترین میزان عملکرد در سطح شوری ۱۵۰ میلی مولار و نسبت نیتروژن (۵۰:۵۰) مشاهده شد (شکل ۳). پاسخ به نوع منبع نیتروژنی به گونه گیاه بستگی دارد. به طور نمونه نتایج نشان داد که گیاه طالبی فرم نیتراتی را ترجیح می دهد ولی افزودن مقدار کمی آمونیوم به محلول های غذایی بهتر از محلول بدون آمونیوم است (Santamario and Elia 1997)؛ و یا گیاه کرفس فرم آمونیومی را ترجیح می دهد (Tremblay and Gosselin., 1989). همچنین دلشاد و همکاران (۱۳۷۹) نشان دادند که گوجه فرنگی فرم نیتراتی را ترجیح می دهد و نتایج این تحقیق نیز بیانگر این واقعیت است که گیاه بالنگو

فرم نیتراتی را بر فرم آمونیومی ترجیح می دهد اما در صورتی که آمونیوم در سطوح بسیار کم استفاده شود می تواند اثرات مثبتی بر وزن تر و خشک گیاه داشته باشد ولی در سطوح بالاتر این اثر غیر محسوس یا منفی است. در اکثر مطالعاتی که در مورد تأثیر شکل نیتروژن بر رشد گیاهان انجام شده، کاربرد آمونیوم به همراه نیترات نسبت به کاربرد مجزای هر یک از آنها منجر به افزایش رشد گیاه شده است (Hohjo *et al.*, 1995)، اما با افزایش سهم آمونیوم در نیتروژن مصرفی به دلیل کاهش pH محلول غذایی در ناحیه ریشه ناشی از جذب آمونیوم رشد ریشه کاهش و نهایتاً رشد رویشی گیاه نیز متأثر گردیده است (Errebhi & Wilcox, 1990). بنابراین در صورت کنترل pH محلول غذایی می توان این اثر را به نحو قابل ملاحظه ای کاهش داد (Findenegg, 1987; Cabrera, 2001). نتایج اثر غلظت های مختلف نیترات و آمونیوم بر پارامترهای رشد نشان داد که کاربرد آمونیوم به تنهایی به عنوان منبع نیتروژنی منجر به کاهش رشد شده و بیشترین مقدار رشد مربوط به زمانی است که هر دو فرم نیتروژن در محیط غذایی موجود باشد (خاوری نژاد و محمدی، ۱۳۸۶). در این مطالعه افزایش نسبت آمونیوم به نیترات محلول های غذایی وزن تر و خشک ساقه، برگ و ریشه همچنین، درصد ماده خشک آنها را تحت تاثیر قرار داد، به طوری که با افزایش میزان آمونیوم در محلول غذایی به علت ایجاد سمیت در نسبت های (۷۵:۲۵) و (۱۰۰:۰) نیترات به آمونیوم رشد رویشی گیاه متوقف گردید و در تیمارهای دیگر، وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه تحت تاثیر غلظت های فراوان آمونیوم کاهش یافت. نتایج این آزمایش با نتایج خاوری نژاد و همکاران (۱۳۸۶) بر روی بنگدانه، امیدی و همکاران (۱۳۹۴) بر روی گل گاوزبان و عبدل زاده و همکاران (۱۳۸۴) بر روی کلزا مطابقت داشت. بررسی سه گیاه اسفناج، آفتابگردان و نخود این نتیجه را تاکید کرد که تولید ماده خشک به طور معنی داری در تغذیه آمونیومی نسبت به نیتراتی کاهش می یابد (Lassa *et al.*, 2001).

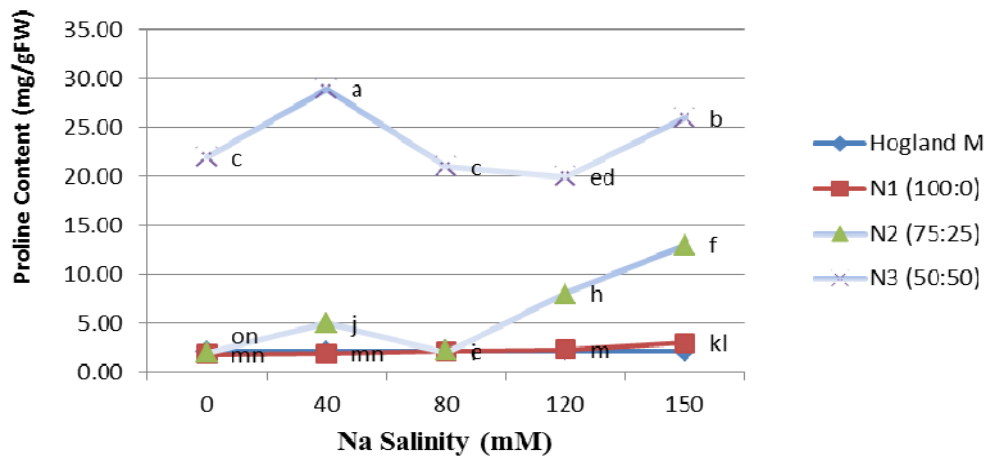
تأثیر سطوح شوری نمک طعام بر میزان ماده خشک اندام هوایی



تأثیر سطوح شوری نمک طعام بر میزان ماده خشک اندام هوایی



تأثیر سطوح شوری نمک طعام بر محتوی پرولین اندام هوایی



آرزو کیایی و همکاران: اثر نسبت نیتروژن نیتراتی و آمونیومی بر میزان ماده خشک ...

جدول ۱. تجزیه واریانس صفات بالنگو تحت تاثیر سطوح مختلف تنش شوری و منبع نیتروژن

Table 1. Mean-square analysis of variance for balango parameters under different levels of salinity stress and nitrogen source.

S.O. V	محتوی پرولین Proline content	محتوی کلروفیل Chlorophyll content			Chl.a	محتوی نسبی آب Relative water content	
		ab	کل Total				Chl. b
Nitrogen Source(NS)	804.43**	20071.58**	2296.27**	4633.34**	5910.101**	391.52*	
Salinity(S)	44.04**	98.87**	13.11 ^{ns}	24.67*	29.55**	252.63**	
S × NS	43.06**	163.04**	35.73**	59.30**	31.24**	133.68**	
Error	0.08	12.03	7.18	9.13	2.84	122.08	
CV%	4.16	7.62	17.61	13.74	7.18	15.57	

^{ns} عدم معنی دار در سطح ۰/۰۵، * معنی دار در سطح ۰/۰۵ و ** معنی دار در سطح ۰/۰۱

Numbers represent *F*-values at 5 and 1 % level. * and **, significant at $P \leq 0.05$ and $P \leq 0.01$.

ادامه جدول ۱.

Continue Table 1.

S.O. V	درجه آزادی df	محتوی آنزیم نیترات ردوکتاز* The content of the nitrate reductase enzyme			محتوی قند محلول Soluble sugar content
		ساقه Stem	ریشه Root	برگ Leaf	
Nitrogen Source(NS)	5	28202.74**	27335.43**	31308.21**	** 1258604.56
Salinity(S)	4	3.77**	37.70**	40.45**	14289.96 ^{ns}
S × NS	20	1.51**	19.34**	449.48**	9703.26 ^{ns}
Error	30	0.008	0.002	0.001	22280.75
CV%		0.13	0.07	0.05	16.59

^{ns} عدم معنی دار در سطح ۰/۰۵، * معنی دار در سطح ۰/۰۵ و ** معنی دار در سطح ۰/۰۱

Numbers represent *F*-values at 5 and 1 % level. * and **, significant at $P \leq 0.05$ and $P \leq 0.01$.

ادامه جدول ۱.

Continue Table 1.

منابع تغییرات S.O.V	درصد سدیم Na percent	محتوی سدیم Na content	درصد پتاسیم K percent	محتوی پتاسیم K content
Nitrogen Source (NS)	203.30**	20328312223**	12.18**	128287366**
Salinity (S)	21.28**	2128483515.5**	0.16**	16296559**
S × NS	2.38**	238356600.28**	0.06**	6326319**
Error	0.06	6955639.69	0.01	1060139
%CV	4.92	4.29	8.39	8.45

^{ns} عدم معنی دار در سطح ۰/۰۵، * معنی دار در سطح ۰/۰۵ و ** معنی دار در سطح ۰/۰۱

Numbers represent *F*-values at 5 and 1 % level. * and **, significant at $P \leq 0.05$ and $P \leq 0.01$.

ادامه جدول ۱.

Continue Table 1.

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	وزن خشک کل Total dry weight	R/A	وزن خشک اندام زمینی (R) Root dry weight	وزن خشک اندام هوایی (A) Shoot dry weight
Nitrogen Source(NS)	5	135697.27**	0.39**	7506.79**	81152.25**
Salinity(S)	4	28888.84**	0.02**	2392.51**	15276.40**
S × NS	20	5260.6*	0.005 ^{ns}	306.92*	3692.54**
Error	30	2647.13	0.005	157.76	1935.5
%CV		19.24	19.91	11.17	15.53

ns عدم معنی دار در سطح ۰/۰۵، * معنی دار در سطح ۰/۰۵ و ** معنی دار در سطح ۰/۰۱

Numbers represent *F*-values at 5 and 1 % level. * and **, significant at $P \leq 0.05$ and $P \leq 0.01$.

محتوای رنگیزه‌های کلروفیلی

تجزیه واریانس نشان داد که اثر شوری و منبع تغذیه نیتروژنی (نیترات : آمونیوم)، و اثر متقابل بین آنها اثر معنی داری در سطح احتمال یک درصد ($P \leq 0/01$) بر محتوای رنگیزه‌های کلروفیلی داشت (جدول ۱). مقایسه میانگین‌ها بین سطوح مختلف نیتروژن نشان داد که بیشترین محتوی کلروفیل *a* و *b* در محیط کشت هوگلند و کمترین آن در سهم نیتروژن به آمونیوم (۰:۱۰۰) مشاهده شد. با افزایش میزان آمونیوم در محلول غذایی بر محتوی کلروفیل *a* و *b* افزوده شد. همچنین، با افزایش شوری از سطح ۴۰ میلی مولار به بالا از میزان رنگیزه کلروفیل *a* و *b* به طور معنی داری کاسته شد. که این کاهش به ترتیب معادل ۱۵/۵ درصد در کلروفیل *a* و ۱۴/۸۲ درصد در کلروفیل *b* بود. همچنین بین تیمار ۴۰ و ۸۰ میلی مولار شوری تفاوت معنی داری دیده نشد (جدول ۱). در اثر متقابل شوری و منبع نیتروژن بیشترین میزان رنگیزه کلروفیل *a* و کلروفیل *b* در شوری ۴۰ میلی مولار و در تیمار هوگلند مشاهده شد (جدول ۱). در آزمایش کیانی و همکاران (۱۳۸۸) بر روی گل رز شاخص میزان کلروفیل برگ با افزایش نسبت آمونیوم به نیترات در محلول غذایی به طور معنی داری در سطح یک درصد آماری افزایش یافت. افزایش میزان نیتروژن برگ و به تبع آن میزان کلروفیل برگ به دلیل جذب و ساخت سریع آمونیوم در مقایسه با

نیترات (Rothstein & Cregg, 2005) می تواند دلیلی برای این افزایش معنی دار باشد که با نتایج تحقیقات انجام شده در این زمینه مطابقت دارد. همچنین نتایج حاصل از این تحقیق نشان می دهد که اعمال تیمار شوری سبب کاهش معنی دار مقدار کلروفیل *a* و *b* نسبت به شاهد می شود. کاهش میزان کلروفیل در سطوح بالای شوری را می توان بدلیل تخریب کلروپلاست دانست (Zhao et al., 2007).

محتوای اسمولیت پرولین

تجزیه واریانس نشان داد تغییر منبع نیتروژن، تنش شوری و اثر متقابل بین آنها اثر معنی داری ($P \leq 0/01$)، روی میزان پرولین برگ‌ها داشته است (جدول ۱). با افزایش غلظت نمک در آب آبیاری، میزان انباشت پرولین در برگ‌ها تا سطح شوری ۸۰ میلی مولار افزایش یافت. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که میانگین عملکرد پرولین در محیط کشت هوگلند و نسبت‌های نیتروژنی (۰ : ۱۰۰)، (۷۵ : ۲۵) و (۵۰ : ۵۰)، به ترتیب ۵/۳۸، ۴/۶۹، ۶/۸۹ و ۲۴/۲۱ میلی گرم بر گرم ماده تر بافت گیاهی می باشد که این خود بیانگر افزایش میزان پرولین تحت شرایط تنش است (جدول ۱). در اثر متقابل شوری و منبع نیتروژن بیشترین میزان پرولین در سطح شوری ۱۵۰ میلی مولار و نسبت نیتروژن آمونیومی (۵۰ : ۵۰) به میزان ۲۴ ۲۷/۶ میلی گرم بر گرم ماده تر بافت مشاهده شد. در محلول

مبنی بر وجود همبستگی مثبت بین انباشت پرولین و سازش به شرایط تنش اسمزی در گیاهان وجود دارد (Heidari & Omid, 2010; Bohner & Shen, 1999). همچنین، تنش شوری باعث تجمع پرولین در چغندر قند شد (Gzik, 1996). دولت آبادیان و همکاران (۱۳۸۸) نیز افزایش میزان پرولین در برگ‌های کلزا تحت تنش شوری را مورد بررسی قرار دادند و به نتایج مشابه دست یافتند. بنابراین نتایج تحقیق حاضر، گزارشات محققین مذکور را مورد تأیید قرار می‌دهد.

طی بروز تنش شوری و خشکی حفظ و نگهداری پتانسیل تورگر جهت فعال نگهداشتن فتوستز و ادامه رشد از طریق افزایش غلظت املاح در سلول به وجود می‌آیند که قندهای محلول و پرولین مهمترین ترکیبات سازگار به تنش‌های محیطی هستند (Fendina et al, 1994). استفاده از ترکیبات آلی همانند کربوهیدرات و پرولین برای تنظیم اسمزی جهت ادامه جذب آب از محیط شور می‌تواند برای گیاه هزینه بر نیز باشد و این هزینه را از طریق کاهش وزن خشک اعمال می‌کند (Munns, 2002). در این آزمایش نیز با افزایش شوری از میزان ماده خشک بالنگو کاسته شد که می‌توان یکی از دلایل این کاهش را بر اساس نظر این محقق مرتبط با سنتز ترکیبات آلی برای تنظیم اسمزی و یا سیستم محافظتی گیاه برای مقابله با تنش دانست.

نیتروژن جذب شده توسط ریشه گیاه از طریق آوند چوبی به قسمت‌های بالایی گیاه انتقال می‌یابد. طبق بررسی‌ها تقریباً همه نیتروژن آمونیومی جذب شده در بافت ریشه تحلیل و مجدداً به صورت اسید آمینه توزیع می‌شود (Martin, 1970). نیتروژن نیتراتی بدون تغییر به شاخه‌ها و برگ‌ها انتقال می‌یابد ولی این امر به پتانسیل کاهش نیترات در ریشه بستگی دارد. بنابراین، نیترات و اسیدهای آمینه حالت‌های عمده ای هستند که انتقال می‌یابند (سالاردینی و مجتهدی، ۱۳۶۷). مشخص‌ترین علامت کمبود این عنصر، کاهش محسوس میزان رشد و بروز کلروز است. که این حالت در اثر کم ساخته شدن کلروفیل و ظاهر شدن رنگیزه کاروتنوئید می‌باشد. افزایش

هوگلدن و سطح عدم شوری، کمترین میزان پرولین حاصل شد (جدول ۱). شوری باعث افزایش میزان پرولین معادل ۵۳/۵ درصد گردید. نظر به اینکه پرولین از متابولیت‌های ثانوی گیاه می‌باشد و در تنش شوری بیشتر انرژی گیاه صرف مقابله با تنش شوری و سمیت آن می‌گردد لذا این روند افزایش مشاهده شده در مقایسه میانگین‌ها منطقی به نظر می‌رسد.

محتوای قندهای محلول

اثر منبع نیتروژن بر روی این صفت ($p \leq 0.01$) معنی‌دار بود، ولی اثر شوری و اثر متقابل بین آن‌ها معنی‌دار نبود (جدول ۱). بیشترین میزان قندهای محلول مربوط به نسبت برابر نیتروژن به آمونیوم (۵۰ : ۵۰) معادل (۹۷۱/۱۷ میلی گرم بر گرم) و کمترین میزان مربوط به محیط کشت هوگلدن بود. جدول مقایسه میانگین نشان داد با افزایش سطوح شوری بر میزان کربوهیدرات‌های محلول افزوده شد (۲۴/۹ درصد) اگرچه تفاوت معنی‌داری در سطوح مختلف شوری مشاهده نشد (جدول ۱). در اثر متقابل شوری و منبع نیتروژن مشاهده شد که بیشترین میزان کربوهیدرات محلول مربوط به سطح شوری ۱۵۰ میلی مولار و نسبت نیتروژن آمونیومی (۵۰ : ۵۰) معادل با (۱۱۷۷/۶ میلی گرم بر گرم وزن خشک) و کمترین میزان متعلق به محیط کشت هوگلدن و تیمار عدم شوری معادل (۲۰۷/۶ میلی گرم بر گرم وزن خشک) بود (جدول ۱). همانطور که مشاهده می‌شود شوری تأثیر معنی‌داری بر میزان تجمع قندهای محلول بخش هوایی بالنگو دارد، بطوریکه با بالا رفتن میزان شوری تا ۱۵۰ میلی مولار بر غلظت این ماده افزوده شد. نتایج این آزمایش با نتایج حیدری و همکاران (۱۳۸۸) بر روی کلزا نیز مطابقت داشت.

تجمع پرولین یکی از روش‌های قابل توجه متابولیکی است که به عنوان ماده تنظیم‌کننده اسمزی در گیاهان، تحت شرایطی که باعث کاهش پتانسیل آب سلول می‌شوند (نظیر خشکی و شوری) تولید می‌گردد. گزارش‌های متعددی

انجام نگرفته است از نتایج حاصل از این آزمایش به نظر می‌رسد که بالنگو یکی از انواع گیاهان دارویی بوده که در برابر شوری از خود مقاومت نسبی نشان می‌دهد و قادر به جذب مقادیر نسبتاً زیادی سدیم از خاک می‌باشد بنابراین، کشت این گیاه در مناطق نیمه شور می‌تواند صورت پذیرد. از سوی دیگر مشاهدات نشان داد که گیاه بالنگو فرم نیتراتی را بر فرم آمونیومی ترجیح می‌دهد و در صورتی که آمونیم در سطوح بسیار کم استفاده شود می‌تواند اثرات مثبتی بر وزن تر و خشک گیاه داشته باشد ولی در سطوح بالاتر اثر منفی دارد. از سوی دیگر افزایش شوری باعث کاهش فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز در اندام هوایی و زمینی گیاه بالنگو شد. همچنین، با حضور غلظت کم آمونیوم در محلول غذایی بر فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز افزوده شد. بنابراین، محیط‌هایی که در آنها میزان آمونیوم کمتر از ۵۰ درصد نیتروژن در دسترس برای گیاه را تشکیل می‌دهد برای رشد بهینه این گیاه مناسب است. بطور کلی کاربرد کودهای نیتراتی برای رشد گیاه بالنگو مناسب می‌باشد.

نیتروژن سبب بالا رفتن نسبت وزن خشک اندام هوایی به ریشه می‌شود. این امر سبب کاهش جذب آب و عناصر غذایی از خاک در مراحل رشد گیاه می‌شود (ملکوتی و همکاران، ۱۳۸۴). چنانچه نیتروژن در دسترس کمتر یا بیشتر از حد نیاز گیاه باشد، اختلالاتی را در فرآیندهای حیاتی گیاه موجب می‌شود که ممکن است به صورت‌های مختلفی نظیر رشد و نمو زیاد، کاهش تعرق و یا حتی توقف رشد زایشی بروز نماید (کافی و همکاران، ۱۳۸۰). تأثیر نیتروژن بر ترکیب شیمیایی گیاه، نشان دهنده قابلیت متابولیسی برای مواد فتوسنتزی است. در صورت کمبود این عنصر، تثبیت آمونیوم، مقدار پروتئین، رشد برگ و در پی آن شاخص سطح برگ (Leaf Area Index) کاهش می‌یابد. با کاهش شاخص سطح برگ فتوسنتز خالص نیز کاهش می‌یابد (Shangguan et al., 2004).

نتیجه گیری کلی

با توجه به این نکته که تاکنون تحقیقی در زمینه شوری و منابع مختلف نیتروژن روی این گیاه در سطح کشور

منابع

- آرویی، ح.، (۱۳۷۹). تأثیر آماده‌سازی بذر، تنش شوری و تغذیه ازت بر برخی صفات کمی و کیفی کدوی تخمه کاغذی، پایان نامه‌ی دکتری. دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس.
- شاهرودی م ع ، ح امیدوی و ع بستانی. ۱۳۹۴ اثر نیتروژن بر جوانه‌زنی، رشد اولیه، پرولین و فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز در گیاه دارویی گاوزبان تحت تنش شوری. فصلنامه بوم شناسی گیاهان زراعی. ۶ (۱۱)، شماره ۴، صفحه ۷۳-۵۷.
- کافی، م.، برزویی، ا.، صالحی، م.، کمندی، ع.، معصومی، ع. و نباتی، ج. ۱۳۸۰. فیزیولوژی تنش‌های محیطی در گیاهان. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد.
- دلشاد، م.، بابالار، م.، و کاشی، ع.، ۱۳۷۹. اثر شاخص نیتروژن محلولهای غذایی در تغذیه معدنی ارقام گوجه فرنگی گلخانه. ای در کشت هایدروپونیک. مجله علوم کشاورزی ایران. ۳۱ (۳): ۶۱۳-۶۲۵.
- خاوری نژاد، ر. و محمدی، ن.، ۱۳۸۶. تاثیر غلظت‌های مختلف نیترات و آمونیوم بر رشد و فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز و مقدار تروپان آلکالوئیدها در گیاه بنگدانه. نشریه علوم دانشگاه تربیت معلم. ۱۷ (۴): ۹۶۳-۹۷۲.
- عبدل زاده، ا.، ملک جانی، ز.، گالشی، س.، و فرهاد یغمایی. ۱۳۸۵. بررسی اثر توام شوری و تغذیه نیتروژن بر رشد گیاه کلزا، مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی. ۱۳ (۳).

- عقیقی م. ش.، امیددی، ح.، و بستانی، ع.، ۱۳۹۴. اثر نیتروژن بر جوانه‌زنی، رشد اولیه، پرولین و فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز در گیاه دارویی گاوزبان تحت تنش شوری، بوم‌شناسی گیاهان زراعی. ۱۱، ۴، ۹۴، صفحه ۷۳-۷۵
- Naghibi, F., Mosaddegh, M., Mohammadi Motamed, S. & Gorbani, A. 2005. Labiatae family in folk medicine in Iran: from ethnobotany to pharmacology, Iranian Journal of Phamaceutical Research, 2:63-79.
 - Munns, R. 1993. Physiological process limiting plant growth in saline soil: some dogmass andhypotheses. Plant Cell and Environment, 16:15-24.
 - Greenway, H., Munns, R. 1980. Mechanisms of salt tolerance in nonhalophytes. Annu. Rev. Plant-Physiology, 31:149-190.
 - Comba, M. E. Benavides, M. P. and Tomaro, M. L. 1998. Effect of salt stress on antioxidant defence system in soybean. Enviroment, 23: 609-618.
 - Mangal, J. L., Yadava, A. and Singh, G. P. 1986. Effects of different levels of soil salinity on germination, growth, yield and quality of coriander and fennel. South Indian Horticulture, 34: 26-31.
 - Hasegawa, R. H., Fonseca, H., Fancell, A. L. and Silva, D. 2008. Fertilization on fungal contamination and fumonision production in corn grahns. Food control, 19:36-43.
 - Rios-Gonzalez, K., Erdei, L., and Lips, S.H. 2002. The activity of antioxidant enzymes in maize and sunflower seedlings as affected by salinity and different nitrogen sources. Plant Sci. 162:923-930.
 - Kronzucker, H.J., Siddiqi, M.Y., Glass, A.D.M., and Kirk, G.J.D. 1999. Nitrate ammonium synergism in rice: A subcellular analysis. Plant Physiology. 119: 1041-1046.
 - Oji, Y., and Izawa, G. 1968. Utilization of nitrate nitrogen in higher plants (part7). The inducibility of NADH: nitrate oxidoreductase and the enzyme activity affected by leaf position in rice plants Journal of the science of soil and manure, Japan Japanese.
 - Omid, H. 2010. Changes of proline content and activity of antioxidative enzymes in two canola genotype under drought stress. Am. J. Plant Physio. 5. 6, 338-349
 - Sym, G. D (1984). Optimisation of the in vivo assay condition for nitrate reductase in barley (*Hordeum vulgare* L.), Journal of Science Food Agriculture, 35: 725-730.
 - Bates, I.S., Waldern, R.P. and Teare, I.D. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant and Soil.39: 205-207.
 - Chapman, H.D., and Pratt, A. 1961. Methods of analysis for Soil, Plant and water. University of California. Division of agricultural Science, 309 p.
 - Santamario, P. and Elia, A.1997. Effect of nitrogen form on growth, yield and ion composition of endive. J. Amer. Soc. Horticulture Science, 122(1): 140-145.
 - Tremblay, N. and Gosselin, A.1989. Growth and nutrient status of celery seedling in response to nitrogen fertilization and NO₃:NH₄ ratio. Horticulture Science, 24(2): 284-288.
 - Hohjo, M., C. Kuwata, K. Yoshikawa and T. Ito. 1995. Effects of nitrogen form, nutrient concentration and Ca concentration on the growth, yield and fruit quality in NFT-tomato plants. Acta Hort. 396: 145-152
 - Errebhi, M. and G.E. Wilcox. 1990. Plant species response to ammonium-nitrate concentration ratios. J. Plant Nutr. 13: 1017-1029.
 - Findeneg G.R. 1987. A comparative study of ammonium toxicity at different constant pH of the nutrient solution. Plant and Soil. 103, 2, pp. 239-243
 - Cabrera, R. I. 2001. Effects of NaCl salinity and nitrogen fertilizer formulation on yield.
 - Martin, D. O. 1970. The effect of ammonia on germination and development of seedlings in soil. Ph.D Thesis, Iowa State University

Effect of nitrate and ammonium nitrogen ratio on dry matter content and content of photosynthetic pigments and biochemical components of sugar and proline of aerial parts and root of *lallelantia royleana* L. under salinity

H. Omid^{1*}, Arezoo Kiaee², Amir Bostani¹, Mohsen Roodpayma¹

1-Assistant Professor, College of Agriculture, Shahed University, Tehran, Iran

2-MSc student of College of Agriculture, Shahed University, Tehran, Iran

*Corresponding Author: Heshmat Omid

Email: omidi@shahed.ac.ir

ABSTRACT

Introduction: *Lallemantia royleana* L. is a plant of the Lamiaceae family. Its grain has about 18% protein and 20% fat content. Salinity stress is one of the important factors in reducing the growth and yield of medicinal plants, especially in arid and semi-arid regions. Nitrogen deficiency in arid and semi-arid soils is also significant. The relative adaptation of plants for the use of nitrate and ammonium is different. Therefore, the reaction of plants, especially medicinal plants, is different in the choice of the form of nitrogen (nitrate or ammonium) after absorption and prior to entering the organic nitrogenous compounds, thus, it becomes more complicated in terms of salinity stress. This study aimed to evaluate the effect of different sources of nitrogen fertilizers and salt tolerance on balango herbs. In this study, the response of the herbal medicine to the nitrogen source is evaluated under salinity conditions.

Material and Methods: This research was carried out in the research greenhouse of the Soil Department of Faculty of Agriculture, Shahed University of Tehran. The study was factorial based on randomized complete block design (RCBD) in three replications and in early stages of seedlings growth. The treatment composition included the product of salinity factor levels and the ratio of nitrogen change. Factor of salinity (control, 40, 80, 120 and 150 mM) and nitrogen source levels (Hoagland, 0:100, 25:75, 50:50, 75:25 and 0:100 ammonium: nitrate) and were done in a greenhouse. The greenhouse temperature is 22-25 ° C and the intensity of light is provided by a combination of fluorescent lamps and tungsten lamps. Before applying the factors, seeds were first disinfected 30% with sodium hypochlorite 5% and then washed with distilled water several times. After germination of the seeds and proper growth of root and stem, seedlings were transferred to the hydroponic culture medium. The data were analyzed using SAS software, including statistical analysis of variance of data related to different traits. Charts were also drawn by EXCEL software. Duncan test was used to compare the means.

Results and Discussion: The experiment result showed that content of proline, glucose, pigments photosynthesis, and shoot elements content of sodium and potassium and nitrate reductase enzyme activity and morphological dry ground and shoot dry weight were significant, respectively. Comparison of the means was showed that salinity content of proline (55.5 %), glucose (24.9 %) increased in the shoot. In the other hand, with increasing salinity, sodium rate (18 %) increased significantly, potassium uptake (12 %) was prevented by sodium. Also, salinity reduced the nitrate reductase activity (24%) in balango. However, the increase of ammonium nitrogen increased nitrate reductase activity in leaf (16.3%), stem (35.3%) and root (16.6%). While, an increase in the ratio of ammonium nitrogen resulted in a decrease in fresh and dry weight of the balango and airspace of the plant, it represents the destructive effect of ammonium on the plant.

Keywords: Salinity, nitratereductase, Balngo, content of proline, glucose