دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارسنجان

مجله علمی پژوهشی اکوفیزیولوژی گیاهی
سال هشتم، شماره بیست و هفت، ۱۳۹۵

بررسی عملکرد گیاه کنجد و نیم رخ الکتروفورزی پروتئین‌های گلوبولین و آلبومین دانه تحت تأثیر مقادیر متفاوت نیتروژن

مینا کاظمیان[۱] ، احمد مجد[۲] ، پریسا جنوبی[۳] ، صدیقه کلیج[٤]

تاریخ دریافت:۹٤/۰۲/۱۸ تاریخ پذیرش:۹٤/۰۵/۰٤

چکیده

به‌منظور بررسی تأثیر نیتروژن از منبع اوره (در سه سطح ۰، ٤۰، ٦۰ کیلوگرم در هکتار) بر عملکرد گیاه کنجد (*Sesamum indicum* L.) و میزان پروتئین‌های آلبومین و گلوبولین دانه آن، آزمایشی در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سال ۱۳۹۳ در شهرستان بابل انجام گرفت. همچنین بررسی کمی و کیفی پروتئین به ترتیب به روش برادفورد و SDS-PAGE انجام شد. کاربرد کود نیتروژن بر صفاتی چون ارتفاع گیاه، تعداد شاخه‌های فرعی، تعداد کپسول، طول کپسول، تعداد بذر در کپسول، وزن هزار دانه، عملکرد دانه، درصد روغن و پروتئین دانه تأثیر معنی‌داری داشت. این در حالی است که تفاوت معنی‌داری در اجزای عملکرد بین تیمار ٤۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار و ٦۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار وجود نداشت. بررسی‌های کمی و کیفی همسو با یکدیگر نشان دادند که پروتئین‌های آلبومین و گلوبولین تحت تأثیر کود نیتروژن به ترتیب ۱۵ درصد کاهش و ۵۳ درصد افزایش می‌یابند. مجموع دو پروتئین تحت تیمار با کود نیتروژن نسبت به شاهد افزایش یافت. آنالیز دنسیتومتری SDS-PAGE نشان داد که پروتئین آلبومین کمتر و پروتئین گلوبولین اصلی‌ترین و بیشترین درصد ترکیب پروتئین ذخیره‌ای بذر را تشکیل می‌دهد. در کل نتایج نشان داد که کنجد رقم ناز تحت تیمار کودی ٤۰ کیلوگرم نیتروژن در صفات زراعی موردمطالعه نسبت به شاهد برتری داشت و تحت این تیمار درصد روغن و پروتئین دانه ازلحاظ کمی و کیفی افزایش یافت.

واژه‌های کلیدی: درصد روغن، صفات زراعی، دنسیتومتری، SDS-PAGE

کاظمیان، م.، ا. امجد، پ. جنوبی و ص. کلیج. ۱۳۹۵. بررسی عملکرد گیاه کنجد و نیم رخ الکتروفورزی پروتئین‌های گلوبولین و آلبومین دانه تحت تأثیر مقادیر متفاوت نیتروژن. مجله اکوفیزیولوژی گیاهی. ۲۷: ۱٤۹-۱۳۹.

۱- کارشناسی ارشد سلولی تکوین گیاهی، دانشگاه خوارزمی تهران، تهران، ایران- مسئول مکاتبات. پست الکترونیک: mina.kazemian69@gmail.com

۲- استاد علوم گیاهی، دانشگاه خوارزمی تهران، تهران، ایران

۳- استادیار علوم گیاهی، دانشگاه خوارزمی تهران، تهران، ایران

٤- استادیار علوم گیاهی، دانشگاه مازندران، ساری، ایران

مقدمه

نیتروژن یکی از عناصر مهم برای بیشتر گیاهان بشمار می‌رود. کاهش دسترسی گیاه به نیتروژن موجب تغییرات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی می‌گردد (کلارکسون و هانسون، ۱۹۸۰). ازآنجایی‌که نیتروژن بر افزایش فتوسنتز مؤثر است، به گیاه اجازه می‌دهد تا سریع‌تر رشد کرده و با بالا بردن متابولیسم پایه گیاه، موجب افزایش متابولیسم ثانویه شود (سیفولا و باربری، ۲۰۰٦). مطالعات درداس و همکاران (۲۰۰۸) نشان داد که نیتروژن با تأثیر بر تکوین برگ گیاه و به دنبال آن افزایش فتوسنتز موجب بهبود نمو آن می‌شود. سین هاروی و همکاران (۱۹۹۰) با به‌کارگیری ۳۰ و ٦۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار به دو شکل اوره و نیترات آمونیوم، افزایش ارتفاع و تعداد شاخه‌های اولیه‌ی بوته‌های کنجد را مشاهده کردند. همچنین ملاحظه کردند که با افزایش مصرف کود نیتروژن، عملکرد دانه کنجد به بیش از ۳٦ کیلوگرم در هکتار افزایش می‌یابد. از طرفی طبق مطالعات آوارد و همکاران (۱۹۹۸) تجمع روغن دانه کنجد تحت تأثیر تیمارهای کودی به‌ویژه نیتروژن قرار نگرفت.

افزایش نیتروژن در ریزوسفر موجب افزایش سرعت جذب نیتروژن و تکوین سریع دانه توسط گیاه می‌شود (شاندل و همکاران، ۲۰۱۰). به گزارش نیشی زاوا (۲۰۰۵) کود نیتروژن بر کیفیت دانه برنج، گندم و ذرت اثر مثبتی داشته است. مطالعات آل حبشا و همکاران (۲۰۰۷) نشان داد که کاربرد ۹۰ کیلوگرم نیتروژن سبب افزایش ۲۵ درصدی پروتئین دانه نسبت به شاهد شد. مشخص شده است که کود نیتروژن درنهایت موجب سنتز پروتئین دانه می‌گردد که احتمالاً افزایش سرعت نیتروژن دریافتی، سبب هدایت به سمت مسیر سنتز پروتئین می‌شود (یاساری و پاتواردهان، ۲۰۰٦). میزان سنتز پروتئین به‌طور مستقیم تحت تأثیر نیتروژن و عناصر دیگر قابل‌جذب از خاک هست (گروساک، ۲۰۰۲) و نیتروژن کل درنهایت سبب تبدیل آمینواسید به پروتئین می‌شود (بلوآ و ناشویل، ۲۰۱۰). نیتروژن سبب افزایش سهولت در سیستم انتقال یون نیترات به دانه شده و از طرفی نیترات ردوکتاز و آنزیم گلوتامات سنتتاز نقش مهمی را در جذب نیتروژن طی تبدیل آمینواسید به پروتئین ایفا می‌کنند (کای و همکاران، ۲۰۰۸).

ایران ازجمله کشورهایی است که قدمتی طولانی در کشت دانه‌های روغنی و به‌خصوص کنجد دارد باوجود پتانسیل فراوان درزمینه‌ی تولید دانه‌های روغنی، توجه چندانی به کشت و کار این گیاه نمی‌شود (رضوانی مقدم و همکاران، ۱۳۸۹). کنجد با نام علمی *Sesamum indicum* L. از تیره‌ی Pedaliaceae (تیره کنجدیان) می‌باشد که دارای ارقام متعددی است. تیره کنجدیان دارای ۱۷ جنس و ۸۰ گونه می‌باشد. گیاهان این تیره یک‌ساله، علفی، به‌ندرت درختچه مانند و دارای برگ‌های ساده، دندانه‌دار و گاهی لب دارند. بیشترین بخش کاربردی کنجد دانه‌های آن است که حاوی ۳۲ تا ٥٤ درصد اولئیک اسید و ۳۷ تا ۵۹ درصد لینولئیک اسید می‌باشد و همچنین از کلسترول چندانی برخوردار نیست. بنابراین روغن دانه‌های این گیاه برای تغذیه از کیفیت خوبی برخوردار است (سابناوار و لاکشمن، ۲۰۰۸). دانه‌های روغنی کنجد همچنین ازلحاظ کلسیم و فسفر غنی بوده و منبع خوبی از ویتامین‌ها می‌باشند (ویس، ۲۰۰۰). علاوه بر این‌ها دانه‌های کنجد دارای ۲۲ تا ۲۵ درصد پروتئین هستند که اکثر پروتئین‌های ذخیره‌ای دانه کنجد بر اساس حلالیتشان شامل پروتئین‌های گلوبولین (٦۷/۳ درصد)، آلبومین (۸/۹ درصد)، گلوتنین (٦/۹ درصد) و پرولامین (۱/۳ درصد) می‌باشند. پروتئین گلوبولین (نامحلول در آب) و آلبومین (محلول در آب)، بیشترین پروتئین‌های ذخیره‌ای دانه‌ی کنجد (۹۰-۸۰ درصد) را از پروتئین کل تشکیل می‌دهند (ارونو و مورگان، ۲۰۰۷). بدین ترتیب کنجد از ارزش غذایی بسیار بالایی برخوردار بوده و علاوه بر این منبع خوبی از پروتئین نیز هست. به‌گونه‌ای که اطلاعات به‌دست‌آمده در مورد پروتئین‌های دانه کنجد نشان می‌دهد که می‌توان آن را به‌عنوان منبع جدیدی از پروتئین و حتی به‌عنوان محصول جایگزین سویا معرفی کرد (آن سارد، ۲۰۱۲). فراهم نمودن مقدار کافی از عناصر مورد نیاز گیاه در خاک با مصرف کودها یکی از جنبه‌های مهم به‌منظور افزایش تولید است. درنتیجه مطالعات گسترده‌تر بر روی ارقام متفاوت این گیاه و در مناطق مختلف کشاورزی می‌تواند به افزایش محصول آن منجر شود. روش SDS-PAGE یکی از کارآمدترین روش‌ها جهت تعیین و تفکیک پروتئین‌ها بر اساس ضریب رسوب و وزن مولکولی آن‌ها می‌باشد. همچنین با توجه به ارزش این گیاه به‌عنوان منبعی از پروتئین و غنی ازنظر روغن دانه، بررسی نیم رخ الکتروفورزی پروتئین‌های ذخیره‌ای دانه آن حائز اهمیت است. ازاین‌رو هدف این پژوهش، بررسی تأثیر نیتروژن بر برخی صفات زراعی کنجد رقم ناز و تغییرات کمی و کیفی پروتئین‌های ذخیره‌ای دانه آن است.

مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی اثر کود نیتروژن (از منبع اوره) بر عملکرد گیاه کنجد، آزمایشی در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با ۳

تکرار در مزرعه‌ای (که مشخصات خاک آن در جدول ۱ آمده است) در سال ۱۳۹۳ در مرکز تحقیقات کشاورزی شهرستان بابل واقع در ۱۵ کیلومتری دریای خزر با عرض جغرافیایی ۳۶ درجه و ۳٤ دقیقه شمالی و طول جغرافیایی ۵۲ درجه و ٤٤ دقیقه شرقی و ارتفاع ۲ متری پایین‌تر از سطح دریا به اجرا درآمد. در این مطالعه بذرهای رقم کنجد ناز از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه شد. کود نیتروژن در سه میزان ۰، ٤۰ و ٦۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن خالص در دو نوبت (مرحله‌ی ٤ برگی و آغاز گلدهی) به میزان مساوی استفاده شد. ابعاد کرت‌های آزمایش برابر ۳ × ۳/۵ متر و فاصله بین کرت‌ها حدود ۱ متر تعیین گردید. در این آزمایش تراکم بوته به‌صورت یکسان در هر کرت در نظر گرفته شد. جهت حصول به تراکم ۲۵ بوته در مترمربع، کشت به‌صورت خطی و با دست انجام گرفت و بوته‌ها تنک گردیدند. اولین آبیاری همزمان با کشت و بعدازآن آبیاری‌ها به‌صورت هفتگی انجام شد. در طول دوره رویش با علف‌های هرز مبارزه به‌صورت دستی انجام گرفت. تعداد شاخه فرعی در بوته، ارتفاع بوته، تعداد کپسول، وزن هزاردانه و تعداد بذر در کپسول از نمونه‌های شاهد و تیمار هرکدام ۱۰ نمونه، اندازه‌گیری و شمارش شدند. برداشت نهایی زمانی صورت گرفت که دانه‌های درون کپسول در حال تغییر رنگ به زرد بودند (حسینی، ۱۳۷۳).

جدول ۱- نتایج آنالیز خاک مزرعه مورد پژوهش

بافت خاک	ماده آلی خاک (٪)	فسفر (mg/kg)	نیتروژن (٪)	pH
لومی رسی	۱/۵۹	٦	۰/۱٤	۷/۷

سنجش میزان روغن به روش سوکسله انجام گرفت. ابتدا بذرها را آسیاب کرده، بعد از قرار دادن به مدت ۲٤ ساعت در آون ۷۲ درجه سانتی گراد، وزن نمونه سنجش شده و داخل کارتوش سلولزی ریخته و درب آن‌ها با پنبه عاری از چربی پوشانده شد. حلال مورد استفاده متانول و کلروفورم به میزان ۱۸۰ میلی‌لیتر به نسبت ۱:۲ می‌باشد. مدت‌زمان روغن‌گیری ٤/۵ ساعت، درجه منبع حرارتی مطابق نقطه‌جوش حلال مذکور تنظیم گردید. برای تبخیر حلال از دستگاه تبخیر در خلأ استفاده شد (پترشوت، ۱۳۷٤).

سنجش میزان نیتروژن کل با روش کجلدال مدل دستگاه Gerhalt با ۸ لوله پخت صورت گرفت. هرلوله شامل ۱ گرم نمونه، ۵ گرم از مخلوط سولفات مس، سولفات پتاسیم، اکسید سلنیوم و اسید سولفوریک غلیظ بود. درنهایت میزان نیتروژن کل مطابق روش پترشوت (۱۳۷٤) تعیین شد.

جهت استخراج پروتئین‌های ذخیره‌ای، تعیین میزان حلالیت و الکتروفورز پروتئین‌ها، ابتدا بذرها به کمک نیتروژن مایع پودر شده و سپس ۱۰ میلی‌گرم از این پودر برای استخراج به روش افیفتی و قالی (۱۹۸۷) مورد استفاده قرار گرفت. استخراج پروتئین‌های آلبومین با استفاده از بافر NaN_3 ۰/۰۲ درصد انجام گرفت. بعد از اضافه کردن ۵۰۰ میکرولیتر از این بافر استخراج، نمونه‌ها به‌خوبی ورتکس (هم زده) شد. سپس در دمای چهار درجه سانتی گراد با دور ۱۵۰۰۰ در دقیقه سانتریفیوژ گردید. برای استخراج پروتئین‌های گلوبولین از باقیمانده استخراج پروتئین‌های آلبومین استفاده شد. ابتدا این باقیمانده چند مرتبه با آب مقطر شسته و سپس ۵۰۰ میکرولیتر بافر سدیم فسفات (۰/۲ مولار، pH ۹/۷) همراه با NaN_3 ۰/۰۲ درصد اضافه شد. نمونه‌ها به‌خوبی ورتکس شده سپس در دمای چهار درجه سانتی‌گراد با دور ۱۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. لازم به ذکر است که در این روش پروتئین‌ها به‌طور خالص جداسازی نمی‌شوند، بلکه عصاره‌ی حاصل غنی از پروتئین ذخیره‌ای آلبومین و گلوبولین می‌باشد. بعد از استخراج، میزان حلالیت پروتئین‌ها به روش برادفورد (۱۹۷٦) اندازه‌گیری شد. همچنین، الکترفورز پروتئین‌ها با روش لاملی (۱۹۷۰) انجام گرفت. جهت آنالیز دنسیتومتری ابتدا ژل با اسکن Bio-Rad Calibrated Densitometer GS-800 اسکن شد و سپس ژل با نرم‌افزار Melani V.6 مورد آنالیز قرار گرفت و نمونه‌ها را برحسب درصد حجم باند محاسبه شد. این میزان، درصد هر پروتئین را به‌کل پروتئین‌ها نشان می‌دهد. این معیار (درصد حجم باند) را نرم‌افزار طبق فرمول $\frac{volume}{\sum_{i=1} Volumes} \times 100$ محاسبه می‌کند (لیئو و همکاران، ۲۰۰۷).

تمامی داده‌ها در سه تکرار مستقل با نرم‌افزار SPSS، نسخه ۲۱ و آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف مورد تجزیه‌وتحلیل آماری قرار گرفتند.

نتایج و بحث

نتایج حاصل نشان داد که ارتفاع بوته تحت تأثیر کود نیتروژن قرار گرفت به‌گونه‌ای که با افزایش میزان کود نیتروژن، ارتفاع بوته از ۹۳/۷۸ به ۱۵۳/۵ سانتی‌متر تغییر یافت و درواقع به‌طور معنی‌داری (٦۳ درصد) افزایش پیدا کرد (جدول ۲). مشابه این نتایج توسط مالیک و همکاران (۲۰۰۳) و رضوانی مقدم و همکاران (۱۳۸۹) بر روی کنجد به دست آمد. نیتروژن کافی در گیاه سبب رشد و تکثیر سلول‌های گیاهی در اندام‌هایی مانند ساقه می‌شود که با افزایش طول میانگره‌ها، طول گیاه افزایش می‌یابد (تایز و زایگر، ۱۳۷۹). همچنین تحت تأثیر کود نیتروژن بر تعداد شاخه‌های فرعی نیز افزوده شد (جدول ۳). نتایج مشابه پاپری مقدم فرد (۱۳۸٤) و حق نما (۱۳۸۹) بر روی کنجد بیانگر تأثیر کاملاً مثبت کود نیتروژن بر روی تعداد شاخه فرعی به‌عنوان یکی از صفات مهم عملکرد می‌باشد، همچنین تأیید این مسئله که یکی از عوامل مؤثر بر شاخه دهی گیاهان زراعی در کنار عواملی چون گونه یا رقم و تراکم جمعیت گیاهی، مصرف کود نیتروژن است (رستگار، ۱۳۸٤).

جدول ۲- جدول تجزیه واریانس داده‌های صفات زراعی و خصوصیات دانه رقم کنجد ناز تحت تأثیر کود نیتروژن

منابع تغییرات	درجه آزادی	ارتفاع بوته (cm)	تعداد شاخه فرعی	تعداد کپسول	طول کپسول (cm)	تعداد بذر درکپسول	وزن هزار دانه (g)	روغن (٪)	پروتئین (٪)	نیتروژن (٪)	عملکرد دانه (Kg/ha)
تکرار	۲	۲/۷۵^{ns}	۰/۰۳٦ ^{ns}	۰/٤۳ ^{ns}	۰/۰۰۵^{ns}	٦/۵ ^{ns}	۰/۰۰۸ ^{ns}	۱/۵۹^{ns}	۰/۰٦۲^{ns}	۰/۰۰۳^{ns}	٦۳۷۸/٦ ^{ns}
تکرار	۲	۳/۵۳**	۰/٤۹ **	۹٦/۸۷ **	۰/۰٤^{ns}	۸۷/۲۳ **	۰/۱۷۲ **	۱/۰۳*	۱/۸۹**	۰/۰٦٤**	۱۲۸۷۹۸/٦ **
خطا	۱۸	۱/۷٦	۰/۰۷۳	۳/۲٤	۰/۰٦	٦/۰۸	۰/۰۱۵	۰/٤۹	۰/۷۳	۰/۰۰۳	۱۸۳۸۰/۵
ضریب تغییرات		٤/۵	۱۱/۸	۱۱/۱	۳/۲	٤/۷	۳/۸	۱/٦	۱/۷	۱/۳	۹/٦

* و ** به ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال ۵ و ۱٪،ns غیر معنی‌دار را نشان می‌دهد

جدول ۳- مقایسه میانگین‌های صفات زراعی و خصوصیات دانه رقم کنجد ناز تحت تأثیر کود نیتروژن

کود نیتروژن (Kg/ha)	ارتفاع بوته (cm)	تعداد شاخه‌های فرعی	تعداد کپسول	طول کپسول (cm)	تعداد بذر در کپسول	وزن هزار دانه (g)	روغن (٪)	پروتئین (٪)	نیتروژن (٪)	عملکرد دانه (Kg/ha)
صفر	۹۳/۸۷ c	۵/٤ b	۵۷/٦ b	۲/۳۸ b	۵۹/۱ c	۳/۲٤ b	٤٦/٦ b	۱٦/۳۲ c	۳/۰۸ c	۸۹۳ c
٤۰	۱۳۰/۵ b	۸/٤ a	۷٤/٤ a	۲/٤۵ a	٦۹/۷۷ b	۳/۵۷ a	۵۲ a	۲۱/۸۳ b	b ٤/۱۲	۱۲۰۰ b
٦۰	۱۵۳/۵ a	۸/۵ a	۷۹/۵ a	۲/۵ a	۷۷/۷۵ a	۳/۵۷ a	۵۲/۲ a	۲۵/۸ a	٤/۸٦ a	۱۵۱۲ a

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون مطابق آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف

از طرفی تیمار با کود نیتروژن منجر به افزایش معنی‌دار تعداد کپسول (۳۸ درصد) و تعداد بذر در کپسول (۳۱ درصد) شد اما بر طول کپسول اثر معنی‌داری نداشت (جدول ۲). همچنین عملکرد دانه نیز در گیاهان تحت تیمار (۱۵۱۲ کیلوگرم در هکتار)، حدود ٦۹ درصد نسبت به عملکرد دانه‌ی گیاهان شاهد (۸۹۳ کیلوگرم در هکتار) افزایش یافت. به‌طور طبیعی با افزایش ارتفاع بوته و به دنبال آن تشکیل محور گل‌آذین بلندتر، تعداد گل و همچنین تعداد کپسول افزایش می‌یابد. پژوهشگران اعتقاد دارند تعداد کپسول در بوته از اجزای مهم و مؤثر در افزایش عملکرد دانه است (کاززانی و احمدی، ۱۳۸۲). سید شریفی و ضعیفی زاده (۱۳۹۲) گزارش کردند که افزایش مصرف سطوح نیتروژن بر فیلوکرون اثر منفی و بر سرعت ظهور برگ‌های ذرت

اثر مثبت دارد، از طرفی مطالعات بسیاری بیانگر افزایش بازده فتوسنتزی تحت تأثیر کود نیتروژن است. بدین‌صورت با افزایش تعداد برگ و درنتیجه آن افزایش توان فتوسنتزی، عملکرد گیاه به‌طورکلی بالا رفته و هم رشد رویشی و هم رشد زایشی را تحت تأثیر قرار می‌دهد.

مصرف کود نیتروژن به میزان ٤٠ کیلوگرم در هکتار سبب افزایش ۱۰ درصدی وزن هزار دانه نسبت به شاهد شد، اما وزن هزار دانه در نمونه‌های تیمار شده با ٦٠ کیلوگرم در هکتار افزایش معنی‌داری نسبت به تیمار ٤٠ کیلوگرم در هکتار نشان نداد (جدول ۳). این در حالی است که رضوانی مقدم و همکاران (۱۳۸۹) نشان دادند که وزن هزار دانه کنجد از اجزاء ثابت عملکرد تحت تأثیر نیتروژن بوده است. اما شاکری و همکاران (۱۳۹۱) نشان دادند که در کنجد وزن هزار دانه در اثر تغذیه با کود نیتروژن به‌طور معنی‌داری ۱۰ درصد افزایش یافت. نتایج حاصل از اندازه‌گیری درصد روغن و پروتئین کل تحت تأثیر کود نیتروژن به ترتیب افزایش ۱۲ درصدی و ۵۸ درصدی را نشان داد (جدول ۳). نتایج برخی مطالعات بر روی کنجد نشان داد که درصد روغن دانه آن از کود نیتروژن تأثیر معنی‌داری نپذیرفت (احمدی و بحرانی، ۱۳۸۸؛ بحرانی و بابایی، ۱۳۸۳). همچنین شاکری و همکاران (۱۳۹۱) نشان دادند تیمار گیاهان کنجد با کود نیتروژن بر روی درصد روغن تأثیر معنی‌داری نداشته اما درصد پروتئین کل به‌طور معنی‌داری تأثیر پذیرفت. درواقع نتایج این پژوهش نقش مثبت کود نیتروژن را در افزایش میزان نیتروژن دانه و به دنبال آن افزایش پروتئین دانه تأیید می‌کند. به‌طورکلی هر دو تیمار کودی نیتروژن اختلاف معنی‌داری را با شاهد نشان دادند.

تیمار کود نیتروژن بر روی میزان مجموع پروتئین‌های ذخیره‌ای به‌طور معنی‌داری اثر داشت. به‌طورکلی هر دو تیمار کودی نیتروژن اختلاف معنی‌داری را با شاهد نشان دادند؛ به‌گونه‌ای که میزان مجموع پروتئین‌های ذخیره‌ای آلبومین و گلوبولین دانه در شاهد از ۱۱۹/۹۱ میلی‌گرم در گرم وزن‌تر به ۱٤۹/۵۰ میلی‌گرم در گرم وزن‌تر در تیمار ٤٠ کیلوگرم در هکتار افزایش یافت (جدول ۵). اما تیمار ٦٠ کیلوگرم نیتروژن در هکتار تفاوت معنی‌داری با سطح ٤٠ کیلوگرم نیتروژن در هکتار نداشت (جدول ٤).

جدول ٤- تجزیه واریانس اثر تیمار نیتروژن بر روی میزان پروتئین‌های محلول ذخیره‌ای دانه کنجد برحسب $mg.g^{-1}$ وزن‌تر

منابع تغییرات	درجه آزادی	آلبومین	گلوبولین	آلبومین+گلوبولین
تکرار	۲	۰/۱۳۵^{ns}	۰/۳۷۵ ^{ns}	۲/۰۰ ^{ns}
تیمار	۲	۸۲/۵۱۰**	۲۰۵۳/۵۰۰**	۸٤/۳۷۵**
خطا	۱٤	۰/۵۱۰	۰/۸۷۵	۰/۰۱
ضریب تغییرات		۳/۳۸	۲/۹۸	۱/۱۲

* و ** به ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال ۵ و ۱٪، ns غیر معنی‌دار را نشان می‌دهد

جدول ۵. مقایسه میانگین‌های تأثیر تیمار نیتروژن بر میزان پروتئین‌های محلول ذخیره‌ای دانه کنجد برحسب $mg.g^{-1}$ وزن‌تر

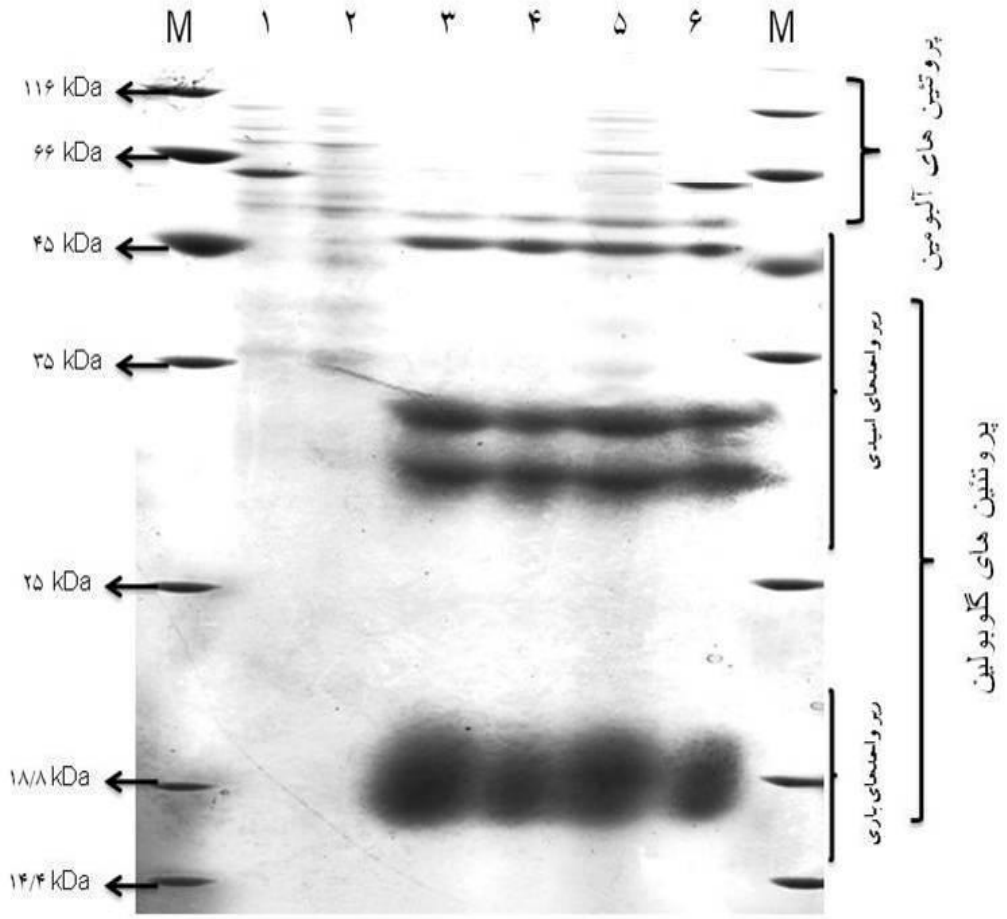
تیمار	آلبومین	گلوبولین	آلبومین+گلوبولین
سطح ۰ کیلوگرم در هکتار	٤۱/۹۱^{b}	۷۸/۰۰^{b}	۱۱۹/۹۱^{b}
سطح ٤٠ کیلوگرم در هکتار	۳٤/۵۰^{a}	۱۱۵/۰۰^{a}	۱٤۹/۵۰^{a}
سطح ٦٠ کیلوگرم در هکتار	۳۵/٤a	۱۲۰/۲a	۱۵۵/٦a

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون مطابق آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌دار ندارند

تعیین میزان حلالیت پروتئین‌ها تحت تأثیر کود نیتروژن (٤٠ کیلوگرم در هکتار) نشان داد که میزان آلبومین با دادن کود نیتروژن از ٤۱/۹٤ به ۳٤ میلی‌گرم بر لیتر کاهش یافت (۱۵ درصد) که این کاهش معنی‌دار بود. اما میزان پروتئین گلوبین از ۷۸ به ۱۱۵ میلی‌گرم بر لیتر افزایش (۵۳ درصد) یافت و این در حالی است که مجموع دو پروتئین نسبت به شاهد نیز به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (جدول ۵).

به‌طورکلی هر دو تیمار کودی نیتروژن اختلاف معنی‌داری را در میزان پروتئین با شاهد نشان دادند، اما چون تفاوت تیمار کودی ٦٠ کیلوگرم نیتروژن در هکتار با تیمار کودی ٤٠ کیلوگرم

در هکتار برای تعیین میزان پروتئین‌های محلول معنی‌دار نبود، تغییرات کیفی تنها برای نمونه‌های تحت تیمار کودی ٤٠ کیلوگرم نیتروژن در هکتار مورد بررسی قرار گرفت. هدف از انجام آنالیز دنسیتومتری، اندازه‌گیری باند و تراکم آن باند نسبت به کل باندهای تشکیل‌شده در چاهک برحسب درصد است.



شکل ۱- تصویر اسکن شده پروفایل پروتئین ذخیره‌ای دانه کنجد نمونه شاهد و تحت تیمار ٤٠ کیلوگرم در هکتار نیتروژن. چاهک شماره ۱. پروتئین‌های آلبومین دانه گیاه شاهد. چاهک شماره ۲. پروتئین‌های آلبومین تحت تأثیر نیتروژن. چاهک شماره ۳. پروتئین‌های گلوبولین تحت تأثیر نیتروژن. چاهک شماره ٤. پروتئین‌های گلوبولین دانه گیاه شاهد. چاهک شماره ۵. کل پروتئین‌های آلبومین و گلوبولین تحت تأثیر نیتروژن. چاهک شماره ٦. کل پروتئین‌های آلبومین و گلوبولین دانه گیاه شاهد. M: مارکر پروتئینی

جدول ٦- آنالیز دنسیتومتری SDS-PAGE پروتئین‌های آلبومین و گلوبولین از کل پروتئین‌های قابل‌استخراج پروتئین‌های ذخیره‌ای دانه کنجد تحت تیمار ٤٠ کیلوگرم نیتروژن در هکتار

میزان نیتروژن	پروتئین آلبومین	زیر واحد اسیدی پروتئین گلوبولین	زیر واحد بازی پروتئین گلوبولین	کل پروتئین گلوبولین	آلبومین+ گلوبولین
نمونه شاهد	١٤/٤١	٤٣/٣٤	٣٨/٠٩	٨١/٤٣	٩٥/٨٤
٤٠ Kg/H	٧/٧٦	٤٩/٧٩	٤١/٩٨	٩١/٧٧	٩٩/٥٣

باندهای مارکر در ژل الکتروفورز از محدوده‌ی ١٤ تا ١١٦ کیلودالتونی مشخص شده است (شکل ١). این تفاوت باندها حاکی از وزن مولکولی متفاوت در پپتید پروتئین‌هاست. آنالیز SDS-PAGE نشان داده که وزن مولکولی پروتئین آلبومین حدود ٦٥ تا ٧٠ کیلو دالتونی است و پروتئین گلوبولین که در ٤ ناحیه باند پروتئینی تشکیل دادند، دارای وزن مولکولی حدود ٤٦، ٣٤، ٣٠ و ١٩ کیلودالتون هستند. با توجه به شکل (١)، باند پروتئین آلبومین تشکیل‌شده در نمونه شاهد ضخامت بیشتری نسبت به نمونه تحت تیمار دارد. با بررسی آنالیز دنسیتومتری ژل الکتروفورز (جدول ٦)، که به‌اندازه گیری تراکم باند نسبت به کل چاهک می‌پردازد، مشخص شده است که باند پروتئین آلبومین در نمونه شاهد ١٤/٤١ درصد و در نمونه تحت تیمار تراکم باند پروتئین آلبومین ٧/٧٦ درصد بوده است. بنابراین باند حاصل از محلول غنی از پروتئین آلبومین استخراج‌شده در ژل الکتروفورز، درصد کمتری را در نمونه تحت تیمار نشان داد (شکل ١). آنالیز SDS-PAGE نشان داده که آلبومین دارای وزن مولکولی ٦٥ تا ٧٠ کیلو دالتون است و از یک پلی پپتید با وزن مولکولی ١٣ کیلو دالتون تشکیل شده است که می تواند به ٢ زیر واحد کوچک و بزرگ تقسیم شود (ماکرون و همکاران ١٩٩٨؛ تانه و شیبزاکی، ١٩٧٦). یکی از زیرواحدهای پروتئین آلبومین در گیاه کنجد دارای وزن مولکولی بین ١٣ تا ١٥ کیلو دالتون تخمین زده شده که نشان می‌دهد این پروتئین از یک زنجیره‌ی پلی پپتید تشکیل شده است. اگرچه گزارش شده است که پروتئین آلبومین به زیر واحد بزرگ حدود ٩ کیلو دالتون و زیر واحد کوچک حدود ٤ کیلو دالتون در حضور عامل کاهش‌دهنده‌ی دی سولفید نیز می‌تواند شکسته شود. توالی آمینواسیدی زیر واحد پروتئین آلبومین نشان می‌دهد که همه‌ی ایزومرهای این پروتئین غنی از سولفور نیستند (هسااو همکاران، ٢٠٠٦). نتایج باند های پروتئینی گلوبولین و آلبومین همچنین با نتایج سورگان و همکاران (٢٠٠١) و نیکولیک و همکاران (٢٠١٢) نیز همخوانی دارد.

با توجه به آنالیز دنسیتومتری، باند زیر واحدهای اسیدی پروتئین گلوبولین از ٤٣/٣٤ درصد در گیاه شاهد به ٤٩/٧٩ درصد در گیاه تحت تیمار نیتروژن افزایش یافت. این در حالی است که باند زیر واحدهای بازی این پروتئین از ٣٨/٠٩ درصد در گیاه شاهد به ٤١/٩٨ درصد در گیاه تحت تیمار افزایش یافت (جدول ٦). نتایج حاصل از باندهای گلوبولین و آلبومین و محدوده‌ی زیر واحدهای اسیدی و بازی با نتایج بیکن و همکاران در سال (١٩٨٧) و احمد و همکاران (١٩٩٥) همخوانی دارد.

با توجه به گزارش پرنولت و موسا (١٩٨٣)، ازآنجایی‌که نقش گلوبولین‌ها، فراهم کردن آمینواسید و نیتروژن برای جوانه زنی دانه است، درنتیجه افزایش پروتئین گلوبولین دانه جهت فراهم کردن نیتروژن بیشتر برای مراحل بعدی قابل توجیه است. تجزیه پروتئین‌های ذخیره‌ای باید در طی تکوین دانه مهار شود، بنابراین آنزیم سیستئین پروتئاز طی بلوغ دانه غیرفعال بوده ولی در مرحله جوانه زنی دانه mRNA های کد کننده سیستئین پروتئاز افزایش یافته که به دنبال آن آنزیم فعال شده و پروتئین‌های ذخیره‌ای شروع به تجزیه شدن می‌کنند (پرنولت و موسا، ١٩٨٣).

همچنین ژل SDS-PAGE مشخص کرد که مجموع دو پروتئین آلبومین و گلوبولین در گیاه تحت تیمار نسبت به شاهد افزایش یافت. به‌طوری‌که با توجه به آنالیز دنسیتومتری، تراکم باندها در گیاه شاهد ٩٥/٨٤ درصد و در گیاه تحت تیمار ٩٩/٥٣ درصد نشان داد. در این تحقیق در هر دو نمونه شاهد و تحت تیمار، پروتئین آلبومین کمترین و پروتئین گلوبولین بیشترین و اصلی‌ترین پروتئین ذخیره‌ای بذر را تشکیل می‌دهند. آنالیز دنسیتومتری همسو با بررسی‌های کمی نشان داد که مجموع پروتئین‌های گلوبولین و آلبومین تحت تیمار افزایش یافت (جدول ٦).

سنتز پروتئین در دانه مرتبط با مراحل تکوین آن نیز می‌باشد. اصلی‌ترین فاکتور، محتوی ژنتیکی و نیتروژن است که طی بلوغ دانه، ترکیبات نیتروژنی نقش کنترلی را ایفا می‌کنند. مطالعات نشان داده که افزایش پروتئین در مراحل آخر تکوین دانه به‌طور

قابل‌ملاحظه‌ای افزایش می‌یابد. نتایج این تحقیق با گزارش گلومبک و همکاران (۲۰۰۱) همسویی دارد.

نتیجه‌گیری

به‌طورکلی این پژوهش نشان داد که کنجد رقم ناز با کاربرد کود نیتروژنی ٤٠ و ٦٠ کیلوگرم در هکتار در شرایط منطقه کشت، در بسیاری از صفات ازجمله ارتفاع گیاه، تعداد کپسول، وزن هزاردانه، عملکرد دانه، تسریع گذراندن مراحل زایشی و درصد روغن نسبت به گیاهان شاهد برتری داشته است. بررسی‌های کمی و کیفی بر میزان پروتئین‌های ذخیره‌ای دانه نشان داد که پروتئین‌های آلبومین و گلوبولین تحت تأثیر کود نیتروژن به ترتیب کاهش و افزایش می‌یابند. درواقع تیمار کودی ٤٠ و ٦٠ کیلوگرم نیتروژن سبب بهتر شدن صفات زراعی کنجد رقم ناز چند شاخه گردید و تحت این تیمار درصد روغن و میزان پروتئین کل دانه ازلحاظ کمی و کیفی افزایش یافت. با این تفاسیر با توجه به یافته‌های حاصل، اگر هدف از زراعت کنجد عملکرد و افزایش پروتئین دانه باشد، رقم ناز در این منطقه‌ی کشاورزی استان مازندران با اعمال این میزان کود نیتروژن برای افزایش محصول کنجد پیشنهاد می‌شود.

منابع

احمدی، م و م.ج. بحرانی. ۱۳۸۸. تأثیر مقادیر مختلف نیتروژن بر عملکرد و اجزای عملکرد و میزان روغن دانه ارقام کنجد در منطقه بوشهر. علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی. سال سیزدهم. شماره ٤٨. ۱۲۳-۱۳۱.

بحرانی، م. ج و غ.ح. بابایی. ۱۳۸٦. اثر سطوح مختلف تراکم بوته و کود نیتروژن بر عملکرد دانه و اجزای آن و برخی صفات کیفی در دو رقم کنجد. مجله علوم زراعی ایران. شماره ۳، ۲۳۷-۲٤٥.

پاپری مقدم فرد، ا و م. بحرانی. ۱۳۸٤. تأثیر کاربرد نیتروژن و تراکم بوته بر برخی ویژگی‌های زراعی کنجد. مجله علوم کشاورزی ایران. جلد سی و ششم، شماره ۱، ۱۲۹- ۱۳٥.

پترشوت. ۱۳۷٤. گیاهان اقتصادی جهان. ترجمه م. پور صالح. انتشارات مؤسسه اصلاح بذر و تهیه نهال کرج.

تایز، ل و ل. زایگر. ۱۳۷۹. فیزیولوژی گیاهی. ترجمه‌ی م. کافی. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد. جلد اول.

حسینی، ز. ۱۳۷۳. روش‌های متداول در تجزیه مواد غذایی. انتشارات دانشگاه شیراز.

حق نما، ک.، ا. فرجی.، ل. علیمرادی. ۱۳۸۹. بررسی اثر نیتروژن بر اجزای رویشی و عملکرد کنجد (*Sesamum indicum* L) در شرایط تداخل با گاو پنبه (*Abutilon theophrasti* L). فصلنامه بوم‌شناسی علف‌های هرز. جلد اول، شماره دوم، ۱۲۷-۱۳٤.

رستگار، م.ع. ۱۳۸٤. زراعت گیاهان صنعتی. انتشارات دانشگاه برهمند، تهران.

رضوانی مقدم، پ.، ع.ا محمد آبادی و ر.ا. مرادی. ۱۳۸۹. بررسی تأثیر کودهای شیمیایی و آلی بر عملکرد و اجزای عملکرد گیاه کنجد *Sesamum indicum* L در تراکم‌های مختلف کاشت. نشریه بوم‌شناسی کشاورزی. جلد ۲ شماره ۲. ۲٥٦-۲٦٥.

سید شریفی، ر و م. ضعیفی زاده. ۱۳۹۲. تأثیر مصرف نیتروژن بر عملکرد دانه، فیلوکرون و سرعت ظهور برگ سه رقم ذرت. مجله پژوهش‌های علوم گیاهی. جلد ۲٦. شماره ۲. ۱۹٦-۲۰٥.

شاکری، ا.، م. امینی دهقی.، س.ع. طباطبایی و س.ع.م. مدرس ثانوی. ۱۳۹۱. تأثیر کود شیمیایی و بیولوژیک بر عملکرد، اجزای عملکرد، درصد روغن و پروتئین ارقام کنجد. نشریه دانش کشاورزی، جلد ۲۲، شماره ۱. ۷۱-۸٥.

کازرانی، ن. و م. ر. احمدی. ۱۳۸۲. کشت کنجد در استان بوشه. ر انتشارات سازمان کشاورزی استان بوشهر.

Ahmed, F.A.R., E.A.M. Abdel-Rahim., O.M. Abdel-Fatah, V.A. Erdmann and C. Lippmann. 1995. The changes of protein patterns during one week of germination of some legume seeds and roots. Food Chem. 52 (4):433–437.

Award, S., G.Z. Sliman, S. A. Shalaby and A.O. Osman. 1998. Response of sesame plant (*Sesamum indicum* L.) to N, P, K fertilizers on new reclaimed sandy soils. Field Crop Abst. 51:10.

Bacon, J.R., N. Lambert., M. Phalp., G.W. Plumb and D.J. Wright. 1987. Resolution of pea legume subunits by high-performance liquid chromatography.

Toscano and T.J. Henneberry. 1993. Effects of cotton nitrogen status on sweetpotato whitefly development and honeydew production. Proceeding, Beltwide Cotton Conferences Ana. Biochem. 160: 202–210.

Blua, M.J and N.C. Nashville. 2010. National Cotton Council, Memphis, TN,1- 6-January pp. 706–709.

Cai, C., J.Y. Wang., Y.G. Zhu., Q. Shen., B. Li., Y.P. Tong and Z.S. Li. 2008. Gene structure and expression of the high-affinity nitrate transport system in rice roots. J Integr Plant Biol, 50(4): 443–451.

Chandel, G., S.B. See., R. Meena., D.J. Sharma and S.B. Verulkar. 2010. Effects of Different Nitrogen Fertilizer Levels and Native Soil Properties on Rice Grain Fe, Zn and Protein Contents. Rice Sci. 17(3): 213−227.

Clarkson, D.T and J.B. Hanson. 1980. The mineral nutrition of higher plants. Annu. Rev. Plant Physiol. 31: 239–298.

Dordas, C.A and C. Sioulas. 2008. Sanflower yield, chlorophyll content, photosynthesis,and water use efficiency response to nitrogen fertilization under rainfed conditions. Ind. Crops Pro. 27:75–85.

El- Habbasha SF, AbdEl Salam MS and Kabesh MO, 2007. Response of two sesame varieties (*Sesamum indicum* L.) to partial replacement of Chemical Fertilizer by Bio-organic Fertilizers. R. J. of Agri. and Bio. Sci. 3(6): 563-571.

Golombek S., Rolletschek H., UlrichWobus and Weber H. 2001. Control of storage protein accumulation during legume seed development. J. of Plant Physiol. 158: 457–464.

Grusak, M.A. 2002. Enhancing mineral content in plant food products. J Am Coll Nutr, 21: 178–183.

Hsiao, E.S., L.J. Lin., M.M. Wang., M.Y. Liao and J.T. Tzen. 2006. Gene families encoding isoforms of two major sesame seed storage proteins, 11S globulin and 2S albumin. J. of Agri. and Food Chem. 54(25): 9544–9550.

Laemmli, U.K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature, 227: 680-685.

Lau T-CH. And Stephenson A.G. 1993. Effects of soil nitrogen on pollen production, pollen grain size and pollen performance in Cucurbita pepo. Am. J. of bot. 80(7): 763-768.

Malik, M.A, M. Farrukh Saleem., M.A. Cheema and S. Ahmed. 2003. Influence of different nitrogen levels on productivity of sesame (*Sesamum indicum* L.) under varying planting patterns. Int. J of Agri and Bio. 4:490-492.

Marcone, M. F., Y. Kakuda and R.Y. Yada. 1998. Salt-soluble seed globulins of various dicotyledonous and monocotyledonous plants I. Isolation/purification and characterization. Food Chem.62: 27–47.

Nikolic, Z., A. Torbica., A. Mikic. 2012. Legumes seed storage proteins characterization by SDS-PAGE and Lab-on-a-Chip electrophoresis. Journal of Food Composition and Analysis 28: 75–80.

Nishizawa, N.K. 2005. The uptake and translocation of minerals in rice plants. In: Rice is Life: Scientific Perspectives for the 21st Century Proceedings. Manila, Philippens: International Rice Research Institute.

Onsaard, E. 2012. Sesame protein. Int. Food Re. J. 19(4): 1287-1295.

Orrun˜o, E., M.R.A. Morgan. 2007. Purification and characterization of the 7S globulin storage protein from sesame (Sesamum indicum L.). Food Chem. 100: 926–934.

Sabannavar, S., H.C. Lakshman. 2008. interaction between azotobacter, pesedomonas and and arbuscular mycorrhizal fungi on two varieties of *Sesamum indicum*. crop sci. 470-478.

Sifola, M.I and G. Barbieri. 2006. Growth, yield and essential oil content of three cultivars of basil grown under different level of nitrogen in the field. Sci. Hortic. 108: 408–413.

Sinharoy, A., A. Samul., M.N. Ahsam and B. Roy. 1990. Effect of different sources and levels of nitrogen on yeild attributes and seed yeild of Sesame varieties. En. and eco. 8: 211-221.

Sorgan, S.K., T.T.T.L. Tai., C.Y. Corinne., T.T.J. Yiu., T.C. Jason and Tzen. 2001. Expression pattern and deposition of three storage proteins,11S globulin, 2S albumin and 7S globulin in maturing sesame seeds. Plant Physiol. Biochem 39: 981−992.

Thanh, V.H and K. Shibasaki. 1976. Heterogeneity of beta-conglycinin. Biochimica et Biophysica Acta, 439: 326–338.

Weiss, E. 2000. Oilseed crops. blackwell science ltd., bodmin, uk.

Yasari, E. and A.M. Patwardhan. 2006. Physiological analysis of the growth and development of Canola (Brassica napus L.) under different chemical fertilizers application. Asian J. Plant Sci. 5 (5): 745–752.

Evaluating the effect of different nitrogen consumption on sesame yield, albumin and globulin proteins electrophoresis

M. kazemian Ruhi[1], A. Majd[2], P. Jonoubi[3], S.kelij[4]

Received: 2015-05-08 Accepted: 2016-07-26

Abstract

In order to study the effect of different nitrogen concentrations with urea source (0, 40 and 60 Kg/ha) on sesame (*Sesamum indicum* L.) yield and amount of albumin and globulin proteins, an experiment arranged in a randomized complete blocks design was conducted in Babol city, in 2013. In addition, quantitative and qualitative analysis of seed storage proteins were assessed by Bradford and SDS-PAGE methods. Nitrogen fertilizer rates showed a significant effect on plant height, number of branches, number of capsules per plant, capsule length, number of seeds in capsule, 1000 seed weight, seed yield, seed oil and protein percent. Quantitative and qualitative studies showed that albumin and globulin proteins 15 percent decreased and 53 percent increased under nitrogen treatment, respectively. Total of two proteins increased by 60 Kg/ha of nitrogen fertilizer consumption in comparison to the control. There is no significant difference between 40 and 60 Kg/ha of nitrogen concentrations in agronomic characteristics. Densitometry analysis showed that albumin protein and globulin protein constitute minor and the most protein of seed storage of total proteins, respectively. Generally, the results indicated that Naz variety of sesame under 40 kg/ha of nitrogen treatment was better in comparison to control. In addition, seed oil and seed storage proteins percent enhanced quantitatively and qualitatively under this treatment.

Key words: Agronomic characteristics, Densitometry, SDS-PAGE, seed oil

1- M.S.C Sudent, Kharazmi University of Tehran, Tehran, Iran
2- Professor, Kharazmi University of Tehran, Tehran, Iran
3- Assistant Professor, Kharazmi University of Tehran, Tehran, Iran
4- Assistant Professor, Mazandaran University, Sari, Iran