اثر نیتروژن بر جوانه‌زنی، رشد اولیه، پرولین و فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز در گیاه دارویی گاوزبان تحت تنش شوری

فصلنامه بوم‌شناسی گیاهان زراعی
جلد ۱۱، شماره ۴، صفحات ۷۱- ۵۵
(زمستان ۱۳۹۴)

مهدی عقیقی شاهوردی
دانشجوی دکتری فیزیولوژی گیاهان زراعی
دانشگاه شاهد
تهران، ایران
نشانی الکترونیک ✉:
aghighim@yahoo.com

حشمت امیدی* **و عبدالامیر بستانی**
استادیاران گروه زراعت و اصلاح نباتات و خاکشناسی
دانشگاه شاهد
تهران، ایران
نشانی الکترونیک ✉:
heshmatomidi@yahoo.com
bostani@shahed.ac.ir
*مسؤل مکاتبات

چکیده این آزمایش منظور ارزیابی اثر نیتروژن بر جوانه‌زنی و رشد اولیه گاوزبان در شرایط تنش شوری به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام گرفت. فاکتورهای آزمایش شامل تنش شوری صفر، ۳، ٦، ۹ و ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر و نسبت تغذیه نیتروژن (نیترات: آمونیوم) (۱۰۰:۰، ۷۵:۲۵، ۵۰:۵۰، ۲۵:۷۵ و ۰:۱۰۰) بود. اثر شوری بر شاخص‌های جوانه‌زنی و نیز اثر شوری و منبع نیتروژن بر صفات رشدی و فیزیولوژیکی (وزن خشک گیاه، میزان پرولین، میزان نیتروژن و فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز) مورد بررسی قرار گرفت. با افزایش تنش شوری از ۳ دسی‌زیمنس بر متر، میزان جوانه‌زنی و وزن خشک گیاهچه کاهش معنی‌داری نشان داد. تغذیه نیتروژن با نسبت ۵۰٪ آمونیوم ضمن افزایش میزان پرولین در شرایط شوری بالا، اثرات منفی این تنش را تعدیل کرد. هر چه میزان نیترات مورد استفاده در تغذیه نیتروژنی نسبت آمونیوم بیشتر شد، در سطوح بالاتر تنش شوری، آنزیم نیترات ردوکتاز فعالیت بیشتری داشت ولی برعکس، با افزایش میزان آمونیوم نسبت به نیترات، فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز و در کل رشد و نمو گیاهچه کاهش نشان می‌داد و شوری اثرات منفی بیشتری را نشان داد، به طوری در نسبت ۷۵ و ۱۰۰٪ آمونیوم رشد گیاهچه کاملاً متوقف شد. میزان نیتروژن گیاه در شرایط استفاده از نیترات بیشتر نسبت به آمونیوم، با شوری رابطه منفی و برعکس با افزایش میزان آمونیم نسبت به نیترات این رابطه مثبت بود. منبع نیتروژن نیتراتی با نسبت بیش از ۵۰٪ برای حصول بالاترین ویژگی‌های جوانه‌زنی و رشد گاوزبان تحت تنش شوری توصیه می‌شود.

شناسه مقاله:
نوع مقاله: **پژوهشی**
تاریخ پژوهش: **۱۳۹۰**
تاریخ دریافت: **۹۴/۰۵/۰۱**
تاریخ پذیرش: **۹۴/۱۰/۲۶**

واژه‌های کلیدی:
- **آمونیوم**
- **تغذیه گیاهی**
- **کلرید سدیم**
- **نیترات**

مقدمه گیاهان دارویی از ارزش و اهمیت خاصی در تأمین بهداشت و سلامتی جوامع هم به لحاظ درمان و هم پیشگیری از بیماری‌ها برخوردارند.[۲] گاوزبان گیاهی[1] از خانواده گاوزبانیان، یکساله و علفی می‌باشد.[۱۳] در بسیاری از مناطق دنیا، رشد و عملکرد گیاهان توسط تنش‌های محیطی زنده و غیر زنده محدود می‌گردد. شور شدن آب و خاک یکی از مهم‌ترین عوامل محیطی محدود کننده برای تولید محصول به خصوص در نواحی خشک و نیمه خشک جهان می‌باشد.[۱۷] تقریباً ۲۰٪ از مناطق کشت شده جهان و حدود نیمی از زمین‌های آبیاری شده تحت تأثیر شوری قرارگرفته[۱۶] و حدود ۱۵٪ از کل زمین‌های کشور نیز با مشکل شوری مواجه هستند.[۳۶] ایران نیز دارای مناطق وسیع با خاک‌های شور بوده و ۱۵/۲٪ از وسعت کل کشور و ۵۵٪ زمین‌های کشاورزی تحت تأثیر شوری قرار دارند.[۲۱] به طور کلی، گیاهان در محیط شور با سه مشکل عمده روبرو می‌شوند.[۲۸] اثر نخست و غالب شوری مربوط به کل املاح محلول در خاک است که کاهش پتانسیل اسمزی را به دنبال دارد.[۱۷] سلول‌ها گیاهی برای اجتناب از خشکی متابولیت‌هایی مانند گلایسین[2]، بتائین[3]، پرولین[4]، مانیتول[5] و فروکتان[6] را در سلول تجمع می‌دهند. اثر دوم مربوط به وجود یون‌هایی خاص نظیر کلر، سدیم، و بور در خاک است که به تنهایی می‌توانند موجب بروز سمیت در گیاه شده و در سازوکارهای جذب گیاه اختلال ایجاد کنند. اثر سوم در حقیقت زائیده اثر دوم است که موجب بروز عدم تعادل تغذیه‌ای[7] می‌شود.[۱۸]

نیتروژن به عنوان دومین ماده سازنده بافت گیاهی از مولکول‌هایی است که در متابولیسم گیاه نقش اصلی دارد. گیاه از طریق سیستم ریشه‌ای، نیترات و یا آمونیوم محلول در خاک را جذب می‌کند. قاعدتاً آمونیوم باید اقتصادی‌تر از نیترات باشد زیرا مستقیماً هضم می‌شود، ولی نیترات بهترین بازده رشد و تولید را می‌دهد در حالی که آمونیوم نشانه‌های سمیت را ظاهر می‌کند.[۱۹] البته این مسأله در تمام موارد صادق نیست، مثلاً در تحقیقی روی سویا نشان داده شده که رشد نسبی گیاه در حضور آمونیوم بیشتر صورت می‌گیرد،[۴۳] همچنین وزن تر و خشک گیاه برنج[۹] تغذیه شده با آمونیوم بیشتر از تغذیه با نیترات بود.[۲۰] بین عوامل مختلفی که تغذیه نیتراتی و آمونیاکی را متمایز می‌سازد، نحوه جذب دو یون و تغییرات اسیدیته فضای درون سلولی به هنگام همانندسازی آن‌ها بیشتر قابل توجه است.[۱۹] البته پاسخ‌های فیزیولوژیکی ویژه گیاهان نسبت به منبع نیتروژن نیز کاملاً متفاوت بوده و به توانایی آن‌ها در جذب و تثبیت آن بستگی دارد. علاوه بر اثر گونه گیاهی و درجه حرارت، اسیدیته و میزان نیتروژن در محیط ریشه هم در ترجیح آمونیوم یا نیترات به عنوان منبع نیتروژن توسط گیاه تأثیر زیادی دارد. اما برخی گزارش‌ها حاکی از کاهش جذب نیترات در شوری است که نشان می‌دهد کلر در جذب نیترات نقش بازدارنده دارد، ولی تأثیر چندانی روی جذب آمونیوم نمی‌گذارد.[۱]

یکی از راهکارهای کاهش اثرات شوری، استفاده از روش‌های تغذیه معدنی است که به علت صرفه اقتصادی بر برخی روش‌های دیگر برتری دارد که از آن جمله استفاده از انواع کودهای نیتروژنه می‌باشد.[۱] پژوهش‌ها نشان داده که استفاده از

[1] *Borago officinalis* L.
[2] glysine
[3] betaine
[4] proline
[5] mannitol
[6] fructan
[7] plant nutrition imbalance

منابع مختلف نیتروژن می‌تواند باعث تغییر در رشد، عملکرد، کیفیت و ترکیبات مواد شیمیایی گیاهان شود.[۴۱] بنابراین دانستن این که هر گیاه در شرایط شور چه نوع تغذیه نیتروژن را ترجیح می‌دهد، امری مفید می‌باشد.[۱] یون‌های نیترات و آمونیوم دو شکل اصلی نیتروژن هستند که به وسیله گیاهان جذب می‌شوند. هرچند که نیترات پس از جذب و قبل از ورود به ترکیبات نیتروژن‌دار آلی به آمونیوم احیا می‌شود اما مدت‌هاست این عقیده مطرح می‌باشد که آمونیوم و نیترات به عنوان منابع نیتروژن از نظر اثر بر رشد و ترکیب شیمیایی گیاه با هم متفاوت هستند.[۳۸] معمولاً احیای نیتروژن به نیتریت بعد از جذب نیترات درون سلول توسط آنزیم نیترات ردوکتاز[1] صورت می‌گیرد.[۱۲] این آنزیم در سیتوزول سلول‌های اپیدرمی، پوست ریشه و سلول‌های مزوفیل واقع شده است.[۲۶] بخش‌بندی آنزیم نیترات ردوکتاز بین ریشه و اندام هوایی بسته به گونه گیاه، سن و فاکتورهای محیطی متغیر است. در شرایطی که از نیترات به عنوان منبع تغذیه نیتروژن استفاده شود، فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز افزایش می‌یابد.[۳۹] در مورد آمونیوم، پژوهشگران معتقد به نقش تنظیمی برای این آنزیم هستند. اما برخی گزارش‌ها در مورد گونه‌هایی مانند عدسک آبی، جلبک سبز کلرلا[2] و نروسپورا[3] حاکی از آن است که آمونیوم فعالیت نیترات ردوکتاز را مهار می‌کند. اما در بیشتر گیاهان یا تأثیری بر فعالیت نیترات ردوکتاز نداشته یا باعث افزایش آن شده است.[۳۵] بخش عمده‌ای از مناطق کشور را خاک‌های شور و خشک تشکیل می‌دهد [۴] و مقدار و شکل جذب عنصر نیتروژن در شرایط تنش تغییر می‌نمایند.[۳۴]

هدف از این پژوهش تعیین اثر تغذیه نیتروژنی بر رفع اثرات منفی تنش شوری گاوزبان در در مرحله جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌ای بود.

مواد و روش‌ها بذور گاوزبان اروپایی از هرباریوم گیاهی پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی تهیه گردید که پس از برداشت مزرعه تحت شرایط مطلوب انبارداری نظیر رطوبت، دما و تهویه نگهداری شده بودند. بذور با هیپوکلریت سدیم ۵٪ به مدت ۳۰ ثانیه ضدعفونی و سپس چند بار با آب مقطر سترون شستشو داده شدند.[۳۲] به منظور تعیین اثر تنش شوری بر جوانه‌زنی و رشد اولیه گاوزبان، آزمایشی در آزمایشگاه علوم و تکنولوژی بذر دانشکده کشاورزی دانشگاه شاهد در سال ۹۴-۱۳۹۳ در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. فاکتورهای آزمایش شامل تنش شوری صفر، ۳، ۶، ۹ و ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر بودند. بذرها مرحله اول دو هفته در تشتک دیش تحت تنش شوری قرار گرفتند و شاخص‌های جوانه‌زنی بذر ارزیابی گردید و در ادامه گیاهچه‌های سالم به محیط کشت هوگلند انتقال یافتند.[۱۵،۵]

برای ارزیابی اثر تغذیه نیتروژن تحت شرایط شوری بر گیاهچه‌های گاوزبان آزمایش دیگری به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه‌ای کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شد که علاوه بر تیمارهای تنش شوری ذکر شده از عامل تغذیه نیتروژن (نسبت نیترات: آمونیوم) (۰:۱۰۰، ۲۵:۷۵، ۵۰:۵۰، ۷۵:۲۵ و ۱۰۰:۰) استفاده شد. تهیه محیط کشت و تنظیم نمک‌های معدنی بر اساس محیط هوگلند اعمال گردید.[۳۲] شوری با استفاده از نمک کلرید سدیم خالص[4] ایجاد شد شد و برای تغذیه نیتروژن هم از نمک‌های معدنی نیترات آمونیوم[5] و نیترات پتاسیم[6] استفاده گردید.

[1] Nitrate reductase
[2] Chlorella
[3] Neurospora

[4] NaCl (Merck, Germany)
[5] Ammonium nitrate
[6] Potassium nitrate

برای اعمال سطوح تنش شوری با توجه به فرمول تصحیح شده وانت هوف (۱۸۸۷)[1]، ($\psi = -mRiT$) محلوهای شور تهیه شد که در آن T درجه حرارت برحسب کلوین، I ضریب یونیزاسیون، R ثابت جهانی گازها، m مولاریته محلول و ψ پتانسیل محلول برحسب بار می‌باشد.[۳۲] در هر تیمار، ۲۵ بذر داخل ظروف پتری به ابعاد با قطر دهانه ۹ سانتی‌متری روی کاغذ واتمن شماره ۱ قرار داده شد. به هر ظرف پتری ۷ میلی‌لیتر آب مقطر یا محلول کلرید سدیم با سطوح پتانسیل اسمزی تهیه شده، بسته به تیمار افزوده شد و به منظور کاهش میزان تبخیر آب دور پتری‌ها با پارافیلم بسته شد. شمارش روزانه بذرهای جوانه زده از روز دوم به صورت روزانه در ساعتی معین انجام گردید. به هنگام شمارش، بذوری جوانه زده تلقی می‌شدند که طول ریشه‌چه آن‌ها ۲ میلی‌متر یا بیشتر بود. همچنین تعداد گیاهچه‌های سالم و ناسالم بر مبنای معیارهای بین‌المللی آزمون بذر[۳،۳۲] مشخص گردید. طول گیاهچه‌ها بر حسب سانتی‌متر و وزن تر گیاهچه‌ها بر حسب میلی‌گرم تعیین گردید. وزن خشک گیاهچه، پس از خشک کردن آن‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۷۵ درجه سلسیوس در درون آون، تعیین شد. با شمارش روزانه بذرهای جوانه زده، میانگین مدت زمان جوانه‌زنی[2] بر حسب روز و همچنین ضریب جوانه‌زنی[3] (رابطه ۲)، واریانس میانگین مدت زمان جوانه‌زنی[4] (رابطه ۳)، همگنی جوانه‌زنی[5] (رابطه ۴) و شاخص بنیه بذر[6] (رابطه ۵) برآورد شد.[۳۲]

(رابطه ۱)

$$MGT = \frac{\sum_{i=n}^{ni} NiDi}{\sum Ni}$$

(رابطه ۲)

$$GC = \left(\frac{1}{MGT}\right) \times 100$$

(رابطه ۳)

$$VMGT = \frac{\left[\sum_{i=1}^{n} (Di - \bar{D})\right]^2 ni}{N}$$

(رابطه ۴)

$$UG = \left(\frac{1}{VMGT}\right) * 100$$

(رابطه ۵)

$$\sigma_j^2 = \frac{\sum_i Di^2 - \frac{\left(\sum Di\right)^2}{n}}{(n_j - 1)}$$

$$SVI = Gc * \left(\frac{\sum ni}{\sum S}\right) * DW$$

Error! No text of specified style in document.

در این معادلات n تعداد بذور جوانه زده در طی d روز، d تعداد روزها از ابتدای جوانه‌زنی و $\Sigma n \sum n$ نیز کل تعداد بذور جوانه زده می‌باشد.

اندازه‌گیری پروتئین خام

اندازه‌گیری پروتئین خام به روش کجلدال براساس استاندارد آ، او، آک[7] آک[7] ۹۲۰.۸۷ (سازمان شیمیدانان کشاورزی) در سه مرحله انجام گرفت. بخش اول مرحله هضم بود که در این مرحله ۰/۵ گرم نمونه گیاهی در اسید سولفوریک غلیظ در حضور کاتالیزور جوشانده شد. مرحله دوم یا تقطیر که نیتروژن موجود در محلول حاصل به صورت گاز آمونیاک آزاد و پس از عبور از مبرد به مایع تبدیل و وارد اسید بوریک موجود در ارلن شده و تشکیل بورات آمونیوم را می‌دهد. بخش سوم یا مرحله تیتراسیون که بورات آمونیوم تشکیل شده در مرحله قبلی را با اسید هیدروکلریک ۱/ سالم تیتر نموده و پس از انجام این مراحل تعیین درصد نیتروژن با

[1] Van 't Hoff
[2] Mean Germination Time
[3] Germination Coefficient
[4] Variance of Mean Germination Time
[5] Uniformity of Germination
[6] Seed Vigour Index
[7] AOAC International

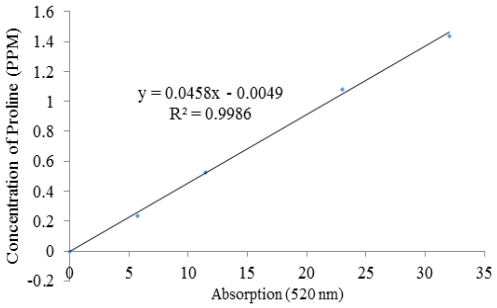
فرمول زیر صورت گرفت که با ضرب عدد به دست آمده در ضریب ثابت ۶/۲۵ میزان پروتئین نمونه‌های گیاهی محاسبه شد (رابطه ۶).

(رابطه ۶)

$$\text{(تعیین درصد نیتروژن موجود)} = \frac{\text{حجم اسید هیدورکلریک مصرفی} \times \text{سالمیته اسید} \times 14 \times 100}{\text{گرم وزن نمونه} \times 1000}$$

اندازه‌گیری میزان پرولین[1]

برای اندازه‌گیری پرولین از روش *بیتس و همکاران (۱۹۷۳)* استفاده شد.[۱۰] ابتدا ۰/۵ گرم از بافت تر با اسیدسولفوسالسیلیک[2] برای تهیه عصاره به خوبی ساییده شد، سپس ۱ میلی‌لیتر از عصاره صاف شده را با ۱ میلی‌لیتر معرف نین هیدرین[3] و ۱ میلی‌لیتر اسید گلایسیال[4] در یک لوله آزمایش ریخته و لوله‌ها به مدت ۱ ساعت در بن ماری با دمای ۱۰۰ درجه سلسیوس قرار گرفتند و پس از سرد شدن نمونه در داخل یخ، ۴ میلی‌لیتر تولوئن اضافه کرده و به مدت ۱۵ تا ۲۰ ثانیه به شدت به هم زده شد و سپس محلول رویی توسط دستگاه اسپکتوفتومتر[5] در طول موج ۵۲۰ نانومتر با استفاده از محلول بلانک پرولین[6] خوانده شد و غلظت اسید آمینه پرولین آزاد نمونه با استفاده از یک منحنی استاندارد پرولین خالص تعیین گردید (شکل ۱).



شکل ۱- منحنی استاندارد پرولین

Figure 1) Standard curve of proline

روش رسم منحنی استاندارد پرولین بدین شرح بود که غلظت‌های صفر، ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰ و ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر از پرولین خالص تهیه شد و کلیه مراحل فوق روی ۲ میلی‌لیتر از هر کدام این غلظت‌ها صورت گرفت و سپس جذب آنها در ۵۲۰ نانومتر اندازه‌گیری و منحنی استاندارد آن رسم و معادله ریاضی آن محاسبه شد.

محتوی نسبی آب[7]

به منظور محاسبه محتوی نسبی آب، ۱۰ قطعه برگ از هر تیمار انتخاب و پس از توزین به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق در آب غوطه‌ور شدند. سپس مجدداً برگ‌ها را وزن کرده و به مدت ۴۸ ساعت در آون ۷۳ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. پس از وزن برگ‌های خشک محتوی نسبی آب، با استفاده از فرمول ۷ به دست آمد، در این رابطه، FW وزن تر برگ‌ها، DW وزن خشک برگ‌ها، TW وزن آماس برگ‌ها و RWC محتوی نسبی رطوبت می‌باشد.[۴]

رابطه ۷

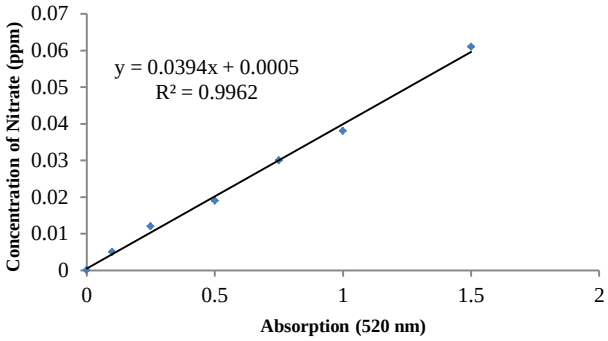
$$RWC = \left(\frac{FW - DW}{TW - DW}\right) \times 100$$

فعالیت نیترات ریدوکتاز

سنجش فعالیت نیترات ردوکتاز با استفاده از روش *سایم (۱۹۸٤)* انجام شد.[۱] برای بررسی فعالیت این آنزیم ابتدا بخش برگ نمونه‌های گیاهی (۰/۳ گرم) توسط ترازوی دیجیتال وزن شدند. سپس از محلول

[1] proline
[2] sulfosalicylic acid
[3] ninhydrin
[4] acetic acid - glacial
[5] 1050 × 725 - UV/Vis Double Beam Spectrophotometer (T80)/Germany
[6] blank solution of proline
[7] RWC (relative water content)

انکوباسیون که شامل نیترات پتاسیم، پروپانول، تامپون فسفات و گریس I و II بود استفاده گردید و نمونه‌ها در طول موج ۵۲۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتوفتومتر قرائت شدند. برای سنجش فعالیت آنزیم از منحنی استاندارد نیتریت در غلظت‌های متفاوت استفاده گردید و غلظت نیتریت حاصل از احیای نیترات تحت تأثیر نیترات ردوکتاز از منحنی استاندارد نیتریت سدیم در غلظت‌های مختلف به دست آمد و به ازای مقدار نیتریت تولید شده در گرم ماده تر در ساعت فعالیت آنزیم محاسبه شد.



شکل ۲- منحنی استاندارد نیتریت

Figure 2) Standard curve of Nitrate

آزمایش اول پنج سطح شوری در سه تکرار و در آزمایش دوم گیاهچه‌های گاوزبان به تعداد ۷۵ گلدان که شامل پنج سطح شوری، پنج نسبت منبع نیتروژن و سه تکرار بود. برای نمونه‌گیری جهت اندازه‌گیری خصوصیات فیزیولوژیکی، مورفولوژیکی و بیوشیمیایی از هر کرت نیز به طور تصادفی پنج گیاه برداشت و میانگین آن‌ها به عنوان نماینده آن تکرار در نظر گرفته شد. تجزیه آماری با استفاده از نرم‌افزار SAS و مقایسه میانگین صفات مورد ارزیابی با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ انجام گردید.

نتایج و بحث

اثر شوری بر جوانه زنی و رشد اولیه گاوزبان

اثر سطوح مختلف شوری بر درصد و تعداد گیاهچه سالم و ناسالم معنی‌دار شد (داده‌ها نشان داده نشده‌اند) (جدول ۱)، به طوری که بذور گاوزبان در محیط غیرشور بیشترین و در شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر کمترین تعداد گیاهچه‌های سالم و درصد جوانه‌زنی را دارا بودند. با افزایش تنش شوری تعداد گیاهچه‌های ناسالم افزایش معنی‌داری یافتند، به طوری که کمترین و بیشترین تعداد گیاهچه‌های ناسالم به ترتیب در سطوح ۳ و ۱۲ دسی زیمنس بر متر بود. تعداد گیاهچه‌های غیرعادی از جمله مهم‌ترین علایم خسارت ناشی از خشک کردن بذر ناشی از افزایش فشار اسمزی می‌باشد که علت آن خسارت وارده به سلول‌های جنین و به ویژه ساختار دیواره سلولی در تنش‌های محیطی از جمله شوری و خشکی است.[۲۷] طبق گزارشی با افزایش غلظت نمک، درصد جوانه‌زنی نهایی و سرعت جوانه‌زنی در گیاه بنگ دانه[1] به طور معنی‌داری کاهش یافته و تعداد گیاهچه‌های غیر طبیعی نیز افزایش نشان داده است.[۲۶]

طول گیاهچه صفت تحت تأثیر شوری معنی‌دار بود (جدول ۱). با افزایش سطوح مختلف شوری از طول گیاهچه کاسته شد، به طوری درصد کاهش در تیمار شاهد نسبت به سطح ۱۲ دسی زیمنس بر متر حدود ۶۰/۹۹٪ می‌باشد (جدول ۲). کاهش رشد ریشه‌چه و ساقه‌چهدر شرایط خشکی و شوری بر بذور عدس و نخود فرنگی گزارش شده است. [۴۲] طول گیاهچه معیاری از بنیه گیاهچه محسوب می‌شود و در بسیاری از گونه‌های گیاهان،

[1] henbane

همبستگی بین طول گیاهچه و بنیه آن مشخص شده و بنابراین از آن به عنوان معیاری برای ارزیابی رشد گیاهچه و بنیه آن استفاده می‌شود.[۲۴] طول گیاهچه همبستگی مثبت و معنی‌داری در سطح ۱٪ با تعداد گیاهچه‌های سالم و همبستگی منفی و معنی‌داری با وزن تر گیاهچه داشت (جدول ۶).

اثر شوری بر صفات وزن تر گیاهچه، ساقه‌چه و ریشه‌چه در سطح ۱٪ معنی‌دار بود (جدول ۱) و شوری ۹ دسی زیمنس بر متر و تیمار شاهد (صفر دسی‌زیمنس بر متر) به ترتیب بیشترین و کمترین میزان مشاهده شد و با افزایش شوری از ۳ دسی-زیمنس بر متر به بالا به ترتیب افزایش و سپس کاهش معنی‌داری یافتند، به طوری که در شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر کمترین میزان داشتند (جدول ۲). بیشترین وزن تر ساقه‌چه و ریشه‌چه مربوط به شوری ۹ دسی زیمنس بر متر بود (جدول ۲). کاهش وزن تر گیاهچه می‌تواند به واسطه کاهش میزان آب بافت گیاهچه باشد که با نتایج *شارما و همکاران (۲۰۰٤)* در مورد کاهش وزن تر گیاهچه به واسطه کاهش میزان آب بافت گیاهچه تحت تأثیر افزایش شوری از صفر به ۲۰ میلی موس بر سانتی‌متر، مطابقت داشت.[٤٠] کاهش وزن ریشه‌چه و ساقه‌چه در اثر افزایش غلظت شوری، امری طبیعی بوده و نتایج پژوهشگران دیگر نیز این امر را ثابت کرده است.[١٤] شوری باعث کاهش وزن تر ساقه و ریشه و تعداد برگ‌های کلزا می‌شود.[۲۲] شوری علاوه بر اینکه میزان رشد گیاه را در اثر کاهش فتوسنتز به تعویق می‌اندازد، باعث بسته شدن روزنه‌ها و کاهش ورود آب به داخل گیاه می‌شود[۳۳] و بدین ترتیب کاهش مضاعفی در وزن‌تر گیاه ایجاد می‌نماید. وزن ساقه‌چه همبستگی مثبت و معنی‌داری در سطح احتمال ۱٪ با بنیه بذر، مثبت و غیرمعنی‌دار با طول ساقه‌چه و مثبت و معنی‌داری با وزن ریشه‌چه داشت، وزن ریشه‌چه نیز همبستگی مثبت و معنی‌داری در سطح احتمال ۱٪ با طول ریشه‌چه و طول ساقه‌چه داشت (جدول ٦). همبستگی موجود بین وزن ریشه‌چه و طول ساقه‌چه می‌تواند مؤید این موضوع باشد که با تجمع ماده خشک بیشتر در ریشه‌چه و افزایش وزن آن که در این مورد ایجاد گره‌های شبیه ریشه به این منظور نیز می‌تواند علت تشدید این افزایش وزن ریشه تلقی گردد، باعث افزایش جذب آب و املاح مفید موجود در آب گشته و رشد طولی ساقه‌چه را افزایش می‌دهد.[٤٥]

وزن خشک گیاهچه تحت تأثیر شوری قرار گرفت و بیشترین و کمترین میزان ماده خشک از محیط غیرشور و شوری ۱۲ دسی زیمنس بر متر حاصل شد. با افزایش سطوح شوری، وزن خشک ساقه‌چه از کاهش معنی‌داری برخوردار شد. بیشترین وزن خشک ساقه‌چه و ریشه‌چه به ترتیب در تیمار بدون تنش مربوط به محیط غیرشور و سطح شوری ۳ دسی زیمنس بر متر رویت شد (جدول ۲). کاهش وزن خشک و تر ریشه و ساقه بذر جوهای کشت شده در شرایط شوری گزارش شده است.[۳۱] پژوهش‌های نسبتاً زیادی که در زمینه جوانه‌زنی گیاهان مختلف انجام شده بیانگر این واقعیت است که با افزایش شوری و خشکی، طول ریشه‌چه، ساقه‌چه و همچنین وزن خشک گیاهچه به طور معنی-داری در مقایسه با شاهد کاهش می یابد.[۲۵] این فرآیند رشد و توسعه اندام‌های گیاهچه را تحت تأثیر قرار می‌دهد و وزن خشک گیاهچه نماینده توان رشد گیاهچه در این شرایط می‌باشد. وزن خشک ساقه‌چه همبستگی مثبت و معنی‌داری در سطح احتمال ۱٪ با طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه و وزن تر ساقه‌چه داشت. همین طور همبستگی مثبت و معنی‌داری هم در سطح احتمال ۵٪ با وزن تر ریشه‌چه دارد. وزن خشک ریشه‌چه نیز همبستگی مثبت و معنی‌داری در سطح احتمال ۱٪ با طول ساقه‌چه و با نسبت وزن خشک ریشه‌چه به ساقه‌چه دارد (جدول ۶).

صفات طول ساقه‌چه و ریشه‌چه از نظر شوری تفاوت معنی‌داری نشان دادند و شوری ۳ و ۱۲ دسی زیمنس بر متر دارای بیشترین و کمترین مقدار طول ساقه‌چه بود (جدول ۱ و ۲). در بیشترین تنش شوری، کاهش طول ساقه‌چه بیشتر بود (جدول ۳). بیشترین طول ریشه‌چه در شوری ۶ و ۹ دسی زیمنس بر متر و کمترین آن مربوط به سطوح تنش شوری ۱۲ دسی زیمنس بر متر بود (جدول ۲). با توجه به پژوهش‌هایی که روی گونه‌های مختلف گیاهی انجام شده، مشخص گردید با افزایش شوری، درصد جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و طول ساقه‌چه کاهش یافته است.[۱۶] از علل بازدارندگی رشد در سطوح مختلف شوری، کاهش فتوسنتز،[۴۵] افزایش غلظت سدیم و کلر در گیاه و عدم تولید بعضی از پروتئین‌ها و آنزیم‌ها می باشد. طول ریشه‌چه و ساقه‌چه مهم‌ترین عوامل مؤثر در مرحله جوانه‌زنی در شرایط تنش شوری بوده است زیرا ریشه در تماس مستقیم با خاک است و آب را از خاک جذب کرده و ساقه نیز آب و مواد محلول را از ریشه به سایر نقاط منتقل می‌کند و شوری زیاد به علت کاهش جذب آب از طویل شدن ریشه و ساقه جلوگیری می‌نماید.[۱۱] با افزایش پتانسیل اسمزی، پتانسیل آب کاهش یافته و آب کمتری در اختیار بذر قرار می‌گیرد. جذب کمتر آب نیز کاهش آماس سلول‌های جنینی بذر را به دنبال داشته و با توجه به این که یکی از فاکتورهای تقسیم سلولی، آماس سلول است در نتیجه با کاهش آب قابل دسترس بذر و در نتیجه آماس، در نهایت رشد ریشه‌چه کاهش می‌یابد.[۴۴] تحقیقات مشابه دیگری نیز که روی گیاه گاو زبان و سیاهدانه انجام شده، کاهش طول ریشه را با افزایش غلظت نمک نشان داده است.[۳۶،۲۲] طول ساقه‌چه همبستگی مثبت و معنی‌داری در سطح احتمال ۱٪ با طول ریشه‌چه داشت. همچنین طول گیاهچه همبستگی مثبت و معنی‌داری در سطح ۱٪ با طول ریشه‌چه و طول ساقه‌چه داشت (جدول ۶). تعداد گیاهچه‌های سالم نیز همبستگی مثبت و معنی‌داری در سطح ۱٪ با طول ریشه‌چه و طول ساقه‌چه داشتند. اثر شوری بر این صفت در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار است (جدول۱). به طوری که بیشترین و کمترین نسبت، به ترتیب در محیط غیرشور و شوری بالای ۱۲ دسی زیمنس بر متر مشاهده شد (جدول ۲). همچنین با افزایش سطوح تنش شوری تا ۳ دسی زیمنس بر متر بر میزان این نسبت اضافه گشت (۲۶/۵۸٪ نسبت به شاهد) ولی از شوری بیشتر از ۶ دسی زیمنس بر متر به بالا از کاهش بیشتری برخوردار بود (جدول ۲). نسبت وزن خشک ریشه‌چه به ساقه‌چه همبستگی مثبت و معنی‌داری در سطح احتمال ۱٪ با وزن خشک ریشه‌چه داشت (جدول ۶).

اثر شوری بر این صفت در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار است (جدول۱). به طوری که بیشترین و کمترین نسبت، به ترتیب در محیط شور ۹ و ۳ دسی زیمنس بر متر مشاهده شد (جدول ۲). همچنین با افزایش سطوح تنش شوری تا ۹ دسی زیمنس بر متر بر میزان این نسبت اضافه شد ولی از شوری بیشتر از ۹ دسی زیمنس بر متر به بالا از کاهش بیشتری برخوردار بود (جدول ۲). پژوهش‌ها نشان می‌دهد رشد اندام‌های هوایی بیشتر از ریشه تحت شوری قرار می‌گیرد و شوری باعث کاهش نسبت ریشه به شاخ و برگ می‌گردد. [۲۹] تنش شوری روی این صفت در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار است (جدول ۳). به طوری که در بین تیمارها، محیط غیرشور و شوری ۹ دسی زیمنس بر متر به ترتیب دارای کمترین و بیشترین مدت زمان جوانه‌زنی بودند (جدول ۴). میانگین مدت زمان جوانه‌زنی، در سطح شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر

متر نسبت به شاهد ۳۵/۰۹٪ افزایش تأخیری نشان داد. بذور برای انجام فعالیت‌های حیاتی و شروع به جوانه‌زنی احتیاج به آب کافی دارند. چنان چه جذب آب دچار اختلال شود و یا به کندی صورت گیرد، فعالیت‌های داخل بذر به کندی صورت می‌گیرد و مدت زمان لازم برای خروج ریشه از بذر افزایش می‌یابد، به عبارتی سرعت جوانه‌زنی کاهش می‌یابد. به نظر می‌رسد در جوانه‌زنی تحت تنش شوری و خشکی به دلیل افت پتانسیل اسمزی، فرآیند جذب آب مختل شده و در ادامه نیز از فعالیت آنزیم آلفا–آمیلاز بازداری می‌شود. تنش شوری باعث می‌شود که بذر نتواند رطوبت مورد نیاز خود را به میزان کافی جذب نماید و با ایجاد نوعی خشکی فیزیولوژیکی، میزان جوانه‌زنی و سرعت آنرا کاهش می‌دهد. در تنش شوری به علت کاهش پتانسیل آب محیط اطراف بذر، مدت زمان بیشتری طول می‌کشد تا بذر بتواند آب مورد نیاز خود را به مقدار کافی به دست آورد. میانگین مدت زمان جوانه‌زنی همبستگی منفی و معنی‌داری در سطح ۱٪ با طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه، وزن تر ساقه‌چه، وزن تر ریشه‌چه و همین طور با ضریب جوانه‌زنی داشت (جدول ۶). اثر تنش شوری روی این صفت معنی‌دار بود (جدول ۳). بیشترین ضریب جوانه‌زنی مربوط به محیط غیرشور بود (جدول ۴). اثر تنش شوری نشان داد که سطح میانی شوری ضریب جوانه‌زنی مختلفی نداشتند، اما از سطح ۶ دسی‌زیمنس بر متر به بالا کاهش معنی‌داری یافت، به طوری که در سطح شوری ۹ دسی زیمنس بر متر به کمترین میزان رسید (جدول ۴). یکی از آنزیم‌های موثر بر درصد و سرعت جوانه‌زنی، آنزیم آلفا–آمیلاز می‌باشد. فعالیت این آنزیم، با افزایش غلظت شوری، کاهش می‌یابد، که در نتیجه‌ی کاهش فعالیت این آنزیم، نشاسته کمتر تجزیه شده و قندها برای تنفس و متابولیسم کمتر فراهم می‌شوند و این می‌تواند یکی از دلایل کاهش درصد جوانه‌زنی باشد.[۴۵] ضریب جوانه‌زنی همبستگی مثبت و معنی‌داری در سطح احتمال ۱٪ با طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه، وزن تر ساقه‌چه و وزن تر ریشه‌چه داشت (جدول ۶).

اثر نیتروژن بر اثرات تنش شوری

اثر منبع تغذیه نیتروژن، شوری و برهمکنش آنها بر میزان ماده خشک گیاه گاوزبان معنی‌دار بود (جدول ۵). اثر متقابل تغذیه نیتروژن و شوری نیز نشان داد که بیشترین میزان ماده خشک به ترتیب در تغذیه نیتروژن با نسبت نیترات:آمونیوم (۰:۱۰۰) با سطح شوری ۳ دسی‌زیمنس بر متر بود و در ترکیب تغذیه‌ای ۷۵:۲۵ و ۱۰۰:۰ در تمامی سطوح شوری عملاً گیاه هیچ رشدی نداشته و کمترین میزان صفات اندازه‌گیری شده را داشتند (جدول ۷). به غیر از این تیمارهای شرد نکرده تغذیه نیتروژن با نسبت نیترات:آمونیوم (۵۰:۵۰) با سطوح تنش شوری ۹ و ۶ دسی زیمنس بر متر کمترین میزان ماده خشک گیاه را داشته است. با افزایش سطوح تنش شوری میزان ماده خشک گیاه افزایش معنی‌داری یافتند، به طوری که کمترین و بیشترین ماده خشک گیاه به ترتیب در سطوح ۳ و ۱۲ دسی زیمنس بر متر بود. اثر منبع تغذیه نیتروژن، شوری و برهمکنش آنها بر میزان پرولین گیاه گاوزبان معنی‌دار بود (جدول ۵). اثر متقابل تغذیه نیتروژن و شوری نیز نشان داد که بیشترین میزان اسمولیت پرولین به ترتیب در تغذیه نیتروژن با نسبت نیترات:آمونیوم (۵۰:۵۰) با سطح شوری ۹ دسی زیمنس بر متر بود که با بقیه تیمارها اختلاف معنی‌داری داشت (جدول ۷). با افزایش سطوح پتانسیل (تنش شوری) میزان پرولین گیاه افزایش معنی‌داری یافتند، به طوری که کمترین و بیشترین پرولین گیاه به ترتیب در سطوح ۳ و۱۲

دسی زیمنس بر متر بود. اثر منبع تغذیه نیتروژن، شوری و برهمکنش آنها بر میزان نیتروژن گیاه گاوزبان معنی‌دار بود (جدول ۵). اثر متقابل تغذیه نیتروژن و شوری نیز نشـــان

جدول ۱) تجزیه واریانس صفات مختلف گاوزبان تحت تأثیر سطوح مختلف تنش شوری

Table 1) ANOVA of Borage's traits affected by salt stress different levels

Source of variation	df	Mean of squares									
		germination percentage	seedling length	seedling fresh weight	seedling dry weight	radical dry weight	plumule dry weight	radical length	plumule length	radical /plumule weight ratio	radical/ plumule length ratio
Salt	4	228.17**	35983**	2385**	8.13**	3.19**	2.00**	133.87**	1743**	0.0319**	4.43**
Experimental error	10	9.61	29153	54.64	0.48	0.16	0.12	3.36	100	0.0013	0.98
CV (%)	-	4.43	14.97	4.24	4.3	5.54	4.08	4.57	18.14	4.35	15.06

ns: non-significant ; **, significant at 1% level

ns، غیرمعنی‌دار، ** معنی دار در سطح احتمال ۱٪

جدول ۲) مقایسه میانگین پارامترهای جوانه‌زنی گاوزبان تحت تأثیر شوری

Table 2) Mean comparison of Borage's germination parameter affected by salt stress

Salinity Levels ($dS.m^{-1}$)	germination percentage (%)	seedling length (mm)	seedling fresh weight (mg)	seedling dry weight (mg)	radical dry weight (mg)	plumule dry weight (mg)	radical length (ml)	plumule length (ml)	radical to plumule weight ratio	radical to plumule length ratio
0	80.00 a	88.87 b	153.12 c	17.94 a	7.94 a	9.92 a	39.55 c	37.14 b	0.79 c	1.08 bc
3	73.33 b	111.33 a	165.68 c	16.54 b	8.27 a	8.87 bc	41.37 c	71.89 a	1.00 a	0.59 c
6	69.33 b	86.29 b	196.13 b	16.55 b	7.68 a	8.86 c	44.61 a	41.22 b	0.87 b	1.15 bc
9	70.67 b	59.77 c	211.03 a	14.80 c	6.61 b	8.16 c	46.09 a	16.55 c	0.81 bc	3.37 a
12	56.13 c	43.42 c	145.00 d	13.75 c	5.78 c	7.97 c	29.11 d	10.88 c	0.72 d	2.82 ab

میانگین‌هایی که دارای حرف یا حروف مشترک هستند، اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵٪ ندارند.

Means with at least one common letter in each column, have no signification difference at 5% of probability level

جدول ۳) تجزیه واریانس صفات مختلف گاوزبان تحت تأثیر سطوح مختلف تنش شوری

Table 3) ANOVA of Borage's traits affected by salt stress different levels

Source of variation	df	Mean of squares					
		mean time germination	germination coefficient	seed vigor weight index	variance of mean time germination	uniformity of mean time germination	relative water content
Salt	4	3.72**	15.06**	10249.20**	6.52 ns	189159.90 ns	179153.9*
Experimental error	10	0.60	1.86	297.09	2.25	192268.09	82497.09
CV (%)	-	10.69	9.71	10.64	12.15	12.84	11.15

ns: non-significan ; **, significant at 1% levels

ns، غیرمعنی‌دار، ** معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪

جدول ٤) مقایسه میانگین پارامترهای جوانه‌زنی گاوزبان تحت تأثیر شوری

Table 4) Mean comparison of Borage's germination parameter affected by salt stress

Salinity levels ($ds.m^{-1}$)	mean time germination (day)	germination coefficient	seed vigor weight index	relative water content (%)
0	5.67 a	17.67 a	253.53 a	88.28 d
3	7.27 b	13.67 bc	167.97 b	90.01 c
6	6.99 ab	14.33 b	164.13 b	91.55 b
9	8.74 c	11.67 c	131.73 c	92.98 a
12	7.66 bc	13.00 bc	101.78 c	90.50 bc

میانگین‌هایی که دارای حرف یا حروف مشترک هستند، اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵٪ ندارند.

Means with at least one common letter in each column, have no signification difference at 5% of probability level

که بیشترین نیتروژن در تغذیه نیتروژن با نسبت نیترات:آمونیوم (۲:۷۵) در شوری ۳ دسی زیمنس بر متر (نسبت ۷۵٪ نیترات با سطح شوری ۳ دسی زیمنس بر متر) و کمترین میزان نیتروژن گیاه گاوزبان در سطح نیترات:آمونیوم (۱۰۰:۰) و ۷۵٪ آمونیوم بود (جدول ۷). در صورتی که تغذیه نیتروژن با نسبت نیترات:آمونیوم (۵۰:۵۰) با سطوح تنش شوری ۹ و ٦ دسی‌زیمنس بر متر کمترین میزان نیتروژن اندام هوایی گیاه را داشته است (داده‌ها نشان داده نشده‌اند). با افزایش سطوح پتانسیل (تنش شوری) میزان نیتروژن گیاه افزایش معنی‌داری یافتند، به طوری که کمترین و بیشترین نیتروژن گیاه به ترتیب در سطوح ۳ و ۱۲ دسی زیمنس بر متر بود.

اثر منبع تغذیه نیتروژن، شوری و برهمکنش آنها بر میزان میزان فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز گیاه گاوزبان معنی‌دار بود. اثر متقابل تغذیه نیتروژن و شوری نیز نشان داد که بیشترین میزان فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز در تغذیه نیتروژن با نسبت نیترات:آمونیوم (۲۵:۷۵) در سطح شوری صفر دسی زیمنس بر متر و نسبت ۵۰:۵۰ در سطح شوری ۹ سی زیمنس بر متر بود که با تیمارهای ۰:۱۰۰ در سطح شوری ۱۲ دسی زیمنس بر متر، تیمار ۲۵:۷۵ در شوری ۹ دسی زیمنس بر متر و نسبت ۵۰:۵۰ در سطوح شوری صفر، ٦ و ۱۲ دسی زیمنس بر متر در گروه مشترکی قرار داشتند ولی با بقیه اختلاف معنی‌داری را نشان دادند (جدول ٦).

در کل، ویژگی‌های جوانه‌زنی تحت تأثیر شوری و منبع نیتروژن قرار گرفته است.

جدول ۵) تجزیه واریانس صفات گاوزبان تحت تأثیر سطوح مختلف شوری و نیتروژن

Table 5) ANOVA of borage's traits affected by salt and nitrogen

Source of variation	df	Mean of squares			
		plant dry weight	proline content	nitrogen content	nitrate reductase activity
Nitrogen source	4	30191.9**	3.50**	1.64**	11.12**
Salt	4	245721.5**	3.78**	1.20**	372572.6**
N×S	16	8520.9**	0.95**	0.85**	5.36 ns
Experimental error	50	475.0	0.02	0.002	3.21
CV (%)	-	14.63	14.06	12.84	1.37

ns، غیرمعنی‌دار، ** معنی دار در سطح احتمال ۱٪

ns: non-significant and **: significant at 1% probability level

از نظر کمی، نیتروژن دومین ماده کمی سازنده بافت گیاهی است که ۱/۵٪ ماده خشک را بعد از کربن تشکیل می‌دهد و یکی از عناصری است که در متابولیسم گیاه نقش اصلی دارد. گیاه از طریق سیستم ریشه‌ای، نیترات و یا آمونیوم محلول در خاک را جذب می‌کند. از نظر تئوری آمونیوم باید اقتصادی‌تر از نیترات باشد زیرا مستقیماً هضم می‌شود، ولی نیترات بهترین بازده رشد و تولید را می‌دهد در حالیکه آمونیوم نشانه‌های سمیت را ظاهر می‌کند،[۱۹] البته این مسئله در تمام موارد صادق نیست، مثلاً در پژوهشی روی سویا، رشد نسبی گیاه در حضور آمونیوم بیشتر صورت می‌گیرد،[٤۳] همچنین وزن تر و خشک گیاه برنج تغذیه شده با آمونیوم بیشتر از تغذیه با نیترات بود.[۲۰] بین عوامل مختلفی که تغذیه نیتراتی و آمونیاکی را متمایز می‌سازد، نحوه جذب دو یون و تغییرات اسیدیته فضای درون سلولی به هنگام همانندسازی آنها بیشتر قابل توجه است.[۱۹]

جدول۶) ضرایب همبستگی ساده بین صفات مورد مطالعه در گاوزبان تحت تنش شوری

Table6) Simple correlation coefficient between traits in borage

1. Number of normal seedling	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
2. Number of abnormal seedling	-0.40**										
3. Seedling length	0.56**	-0.14 ns									
4. Radical length	0.61**	-0.17 ns	0.96**								
5. Plumule length	0.52**	-0.12 ns	0.98**	0.95**							
6. Plumule fresh weight	0.31*	0.04 ns	0.64**	0.63**	0.64**						
7. Radical fresh weight	0.49**	-0.05ns	0.88**	0.86**	0.89**	0.84**					
8. Plumule dry weight (S)	0.04ns	0.15 ns	0.62**	0.58**	0.64**	0.90**	0.84**				
9. Radical dry weight(R)	0.76**	-0.32*	0.39**	0.55**	0.38**	0.32*	0.47**	0.12 ns			
10. R to S	0.75**	-0.37*	0.20ns	0.32*	0.18 ns	-0.05 ns	0.17ns	-0.23 ns	0.85**		
11. mean germination time	-0.68**	0.05ns	-0.76**	-0.72**	-0.71**	-0.54**	-0.69**	-0.41**	-0.38**	0.24 ns	
12. Germination cofficient	0.61**	-0.12ns	0.75**	0.69**	0.69**	0.48**	0.62**	0.36*	-0.25ns	0.11ns	0.55**

ns:non-significan ; *, **, significant at 5 and 1% level respectively ns، غیرمعنی‌دار، * و** به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱٪

جدول ۷) مقایسه میانگین صفات گاوزبان تحت تأثیر سطوح مختلف اثرات متقابل شوری و تغذیه نیتروژن

Table 7) Mean comparison of Borage's traits affected by salt stress and Nitrogen nutrition interaction

Nitrogen nutrition (Nitraete:Ammonium)	Salinity ($dS.m^{-1}$)	Plant dry weight (gr)	Proline content ($mg.g^{-1}$ FW)	Nitrogen content (%)	NiR activity ($\mu Mol\ No2\text{-}.g^{-1}Fw.1h^{-1}$)
N1 (0:100)	0	350.97 b	0.3313 h	2.71 ab	114.87 c..f
	3	484.49 a	0.4183 gh	2.58 c	114.59 ef
	6	295.77 c	0.4170 gh	1.66 g	113.87 f
	9	199.10 de	1.02 f	2.07 f	114.76 def
	12	168.35 ef	0.627 g	2.18 ef	115.78 a..d
N2 (25:75)	0	228.00 d	0.308 h	2.59 c	116.26 a
	3	270.80 c	0.445 gh	3.39 a	114.93 c..f
	6	189.03 e	1.25 e	2.55 cd	114.45 ef
	9	127.81 gh	2.66 b	2.16 ef	115.45 a..e
	12	116.07 ghi	2.13 c	2.43 cde	115.05 b..e
N3 (50:50)	0	143.29 fg	0.269 h	3.01 b	115.95 abc
	3	169.18 ef	0.498 gh	1.62 g	113.87 f
	6	126.27 gh	1.62 d	2.68 c	115.28 a..e
	9	101.01 hi	3.02 a	2.25 cde	116.16 a
	12	56.00 i	2.08 c	1.66 g	115.45 a..e
N4 (75:25) N5 (100:0)	0	0.00 i	0.00 h	0.00 e	0.00 g
	3	0.00 i	0.00 h	0.00 e	0.00 g
	6	0.00 i	0.00 h	0.00 e	0.00 g
	9	0.00 i	0.00 h	0.00 e	0.00 g
	12	0.00 i	0.00 h	0.00 e	0.00 g

میانگین‌هایی که دارای حرف یا حروف مشترک هستند، اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵٪ ندارند.

Means with at least one common letter in each column have no signification difference at 5% of probability level.

بیوسنتز آن اثر می‌گذارند.[۲۳] همچنین فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز نیز تحت تأثیر منبع نیتروژن قرار گرفت، به این معنا که آنزیم نیترات ردوکتاز اندام هوایی تحت تأثیر منبع نیتروژن پاسخ‌های متفاوتی را نشان داد. پژوهش‌ها نشان داده است که آللوکمیکال‌های مختلف، اثرات متفاوتی بر فعالیت نیترات ردوکتاز می‌گذارند تحت شرایط تنش نیز فعالیت نیترات ریدکتاز پاسخ‌های متفاوتی را نشان می‌دهد. به عنوان سطح فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز به وسیله افزایش نیترات افزایش و با افزایش آمونیوم کاهش می‌یابد به طوری که مقدار آن بین ۳۵ تا ۱۵۰ میکروگرم نیتریت در گرم وزن تر

بافت در ساعت متغیر بود. در گیاهان شاهد تمام اجزا دانه‌رست فعالیت نیترات ردوکتازی نشان دادند. گزارش شده که بیشترین فعالیت به ترتیب مربوط به برگ‌ها، لپه‌ها، ریشه، محور زیرلپه و محور روی لپه بوده است.[۱] همچنین، سهم هر اندام در فعالیت نیترات ردوکتازی کل نیز به ترتیب برگ‌ها، لپه‌ها ریشه، محور روی لپه و محور زیرلپه است. با این حال به جز برگ‌ها و نیز سهم لپه‌ها و محور زیر لپه، از فعالیت کل، اختلاف سایر اندام‌ها با یکدیگر، معنی‌دار نیست [۳۹] با مقایسه تیمارها و شاهد، ملاحظه می‌شود که با اعمال شوری، فعالیت نیترات ردوکتازی برگ‌ها، به طرز معنی‌داری کاهش می‌یابد ولی با افزایش شوری، از ۱۰۰ تا ۲۰۰ میلی‌مولار، از شدت کاهش به وضوح کم می‌شود. همچنین، ملاحظه می‌شود که در شرایط شور، شدت فعالیت لپه‌ها کاهش، ولی شدت فعالیت ریشه‌چه افزایش معنی‌داری می‌یابد که با افزایش شوری از ۱۵۰ تا ۲۰۰ میلی‌مولار این تغییرات معنی‌دار نبود.

در مورد فعالیت نیترات ردوکتازی، بر اساس پژوهش‌های مختلف پس از یک آستانه مشخص از نظر غلظت نیترات در محیط، برگ‌ها این فعالیت را در خود نشان می‌دهند [۸] اعلام شد که غلظت به کار رفته در مورد نیترات از آستانه مزبور بیش‌تر بوده است. علاوه بر این، حدود ۱۴٪ مربوط به محور زیر لپه، ۸٪ فعالیت نیترات ردوکتازی، مربوط به محور روی لپه و ۹ لپه و محور روی لپه است. در مورد سویا، لوبیا و نخود حدود ۲۰٪ فعالیت نیترات ردوکتازی را در بخش‌های هوایی گزارش کرده‌اند.[۷] از سوی دیگر بیشترین فعالیت در بخش‌های مختلف گیاه جو، مربوط به برگ‌ها بوده است.[۷] در پژوهش حاضر نیز این مسئله هم از نظر سهم برگ‌ها در فعالیت نیترات ردوکتازی کل و هم مقدار مطلق فعالیت آن‌ها قابل پذیرش است. شرایط حاکم بر پژوهش حاضر، شوری تأثیرات شدید خود بر کاهش فعالیت نیترات ردوکتازی برگ‌ها را نشان داده و از این نظر با نتایج دیگر پژوهش‌ها [۳۷] سازگاری وجود دارد. در آن پژوهش کاهش شدیدی در فعالیت نیترات ردوکتازی دانه‌رست-های سورگوم در شرایط شور مشاهده شد. با این حال در پژوهش حاضر این کاهش در مورد ریشه‌ها معنی‌دار نیست و حتی روند افزایشی را در مقایسه تیمارهای شور و شاهد، نشان می‌دهد. محتوای سدیم و کلر دانه رست‌ها همراه با غلظت‌های مختلف شوری افزایش می‌یابد ولی کاهش یا افزایش فعالیت نیترات ردوکتازی در غلظت‌های بالاتر شوری معنی‌دار نیست. [۲۷] علاوه بر این، نیترات ردوکتاز یک آنزیم سیتوپلاسمی است. بنابراین شاید بتوان پذیرفت که انباشتگی این یون‌ها در واکوئل راهی برای کاهش غلظت آن‌ها در سیتوسل و حفظ فعالیت نیترات ردوکتازی در شوری‌های شدیدتر بوده است. چنین انباشتگی می‌تواند به عنوان سازوکاری برای کمک به تحمل شرایط شوری تلقی شود.[۲۷]

از سوی دیگر ممکن است رقابت بین آنیون‌های کلر و نیترات باعث کمک به انباشتگی نیترات در ریشه و کاهش انتقال آن به اندام‌های هوایی شده باشد و در نتیجه فعالیت آنزیمی در ریشه، دچار کاهش نشده ولی در اندام‌های هوایی، این کاهش به دلیل عدم دسترسی به سوبسترا شدید بوده است. احتمالاً این رقابت در محل اتصال ساقه به بخش‌های پایینی صورت گرفته است، به ویژه که درصد مهاجرت کلر به اندام‌های هوایی، همراه با افزایش شوری افزایش می‌یابد. از سوی دیگر، ثبات مقدار پتاسیم که محل تجمع آن نیز سیتوپلاسم است، ممکن است در شوری‌های شدید نقشی را در ثبات فعالیت نیترات ردوکتاز بازی کند. بنابراین، افزایش درصد انتقال پتاسیم، فسفر و کلسیم به اندام‌های هوایی ممکن است مکانیسمی برای کمک به حفظ نسبی ثبات فعالیت آنزیم باشد، هر چند به واسطه کاهش پتانسیل آب

دلیل مهمی برای کاهش فعالیت نیترات ردوکتازی در شرایط شور قلمداد شده است. همچنین با افزایش شوری، سهم ریشه و لپه‌ها از فعالیت نیترات ردوکتازی کل، به دلیل کاهش شدید فعالیت برگ‌ها، در مقایسه با شاهد افزایش می‌یابد و به این ترتیب نقش مهمی را می‌توان برای آن‌ها در مراحل اولیه زندگی گیاه جستجو کرد. یادآور می‌شود که این فعالیت آنزیمی در لپه‌ها اصولاً می‌تواند به دلیل کمک به آسیمیلاسیون نیترات، سمیت این یون را در اولین مراحل زندگی گیاه کاهش داده و از سوی دیگر به تغذیه گیاه کمک مؤثری کند. در واقع در برخی پژوهش‌ها آثار سمی و بازدارنده نیترات پتاسیم در کاهش جوانه‌زنی گاوزبان حتی از نمک‌های دیگر نیز بیشتر بوده است. [۳۶]

نتیجه‌گیری کلی تأمین ۱۰۰ و یا ۷۵٪ نیاز نیتروژن گیاه گاوزبان از منبع آمونیوم، اثرات بسیار منفی شدیدی بر شاخص‌های رشدی گیاه داشت، به طوری که عملاً در این دو ترکیب تیماری (نیترات به آمونیوم ۰:۱۰۰ و ۲۵:۷۵) هیچ گیاهچه در هیچ یک از سطوح شوری رشدی نداشت. این تحقیق نشان داد با هدف افزایش درصد استقرار گیاهچه گونه دارویی گاوزبان در مناطق شور می‌توان از اتخاذ شیوه صحیح بهره برد. جهت حصول ویژگی‌های مطلوب جوانه‌زنی و حداکثر عملکرد ماده خشک گیاهچه در شرایط شوری، کاربرد ترکیب مطلوب نیترات مؤثر است. بنابراین اعمال تغذیه نیتروژن نیترات به آمونیوم به نسبت ۷۵ به ۲۵ یا نسبت برابر جهت حصول بالاترین ویژگی‌های کمی و کیفی جوانه‌زنی توصیه می‌شود.

References

1. Abdolzadeh A, Malekjani Z, Galeshi S, Yaghmaei F (2006) Effect of salinity and nitrogen nutrition on rape (*Brassica napus* L.). Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources 13 (3):1-16.
2. Abdullaev FI, Espinosa-Aguirre JJ (2004) Biomedical properties of saffron and its potential use in cancer therapy and chemoprevention trials. Cancer Detection and Prevention 28: 426-432.
3. Abdulrahmani B, Ghassemi-Golezani K, Valizadeh M, Feiziasl V (2007) Seed priming and seedling establishment of barley (*Hordeum vulgare* L.). Journal of Food Agriculture & Environment 5:179-184.
4. Afzali F, Shariatmadari H, Hajabasi MA, Moattar F (2007) Effects of salinity and drought stress on flower yield and O- flavonol glycosides in Chamomile (*Matricaria chamomilla*). Journal of Medicinal and Aromatic Plants of Iran 23 (3): 382-390. [in Persian with English abstract].
5. Alian A, Altan A, Heuer B (2000) Genotypic difference in salinity and water stress tolerance of fresh market tomato cultivars. Plant Science 152: 59-65.
6. Almodares A, Hadi R, Dosti B (2007) Effects of salt stress on germination percentage and seedling growth in sweet sorghum cultivars. Journal of Biological Science 7(8): 1492- 1495.
7. Andrews M (1992) Nitrate uptake in seedlings of *Sorghum vulgare* L. Plant Cell Environment 9 (511): 246.246.
8. Aquila D, Spada A (1993) Morphological and anatomical variations in vascular tissues of *Phaseolus vulgaris* in relation with salt stress in saline soils. Annul Botany 72 -97.
9. Basra SM, Farooge M, Tabassum R, Ahmed N (2005) Physiological and biochemical aspects of seed vigor enhancement treatments in fine rice (*Oryza sativa* L.). Seed Science and Technology 33 (3): 255-259.
10. Bates LE, Waldren RP, Teare ID (1973) Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant and Soil 39: 205–207.
11. Bhatt A, Rawal RS, Dhar U (2005) Germination improvement in *Swertia angustifolia*: a high value medicinal plant of Himalaya. Current Science 89(6): 1008-1012.
12. Carelli MLC, Fahl JI (2005) Partitioning of nitrate reductase activity and its relation carbon assimilation under different irradiance regimes. Environment Experimental Botany 120: 65-72.

13. Darzi MT, Ghalavand A, Sefidkon F, Rejali F (2008) The effect of mycorriza, vermicompost and phosphatic biofertilizer application on quantity and quality of essential oil in Fennel (*Foeniculum vulgar* Mill.). Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants 24 (4): 396 - 413.
14. Ehsanfar S, Modarres-sanavy SA, Tavvakoli-Afshari R (2006) Effects of osmopriming on seed germination of canola (*Brassica oleracea* L.) under salinity stress. Applied Biological Science 71:155-159.
15. Ellis RH, Roberts EH (1981) The quantification of ageing and survival in orthodox seeds. Seed Science and Technology 9: 377-409.
16. El-Melegy El-Sayed A, Mahdia FH, Mohamed M, Ismail A (2004) Responses to NaCl salinity of tomato cultivated and breeding lines differing in salt tolerance in callus cultures. International Journal of Agriculture Biology 6(1): 19-26.
17. Forment J, Naranjo MA, Roldan M, Serrano R, Vicente O (2002) Expression of Arabidipsis SR-like splicing proteins confers salt tolerance to yeast and transgenic plants. The Plant Journal 30:511-519.
18. Heidarishariabad H (2001) Plant and salinity. Publishing Research Institute of Forests and Rangelands: Tehran.
19. Hopkins WG, Norman PA (2004) Introduction to plant physiology, 3rd edition, The University of Western Ontario, John Wiley Incorporation: Ontario.
20. Hosseni M, Haddadchi GH, Sadeghipour H, Yaghmaei F (2009) Effect of nitrogen nutrition on leaf senescence of rice (Tarom). Journal of Plant Production. 16(2): 173-194. [in Persian with English abstract].
21. Jafarzadeh AA, Aliasgharzad N (2007) Salinity and salt composition effects on seed germination and root length of four sugar beet cultivars. Proceeding of "Bioclimatology and Natural Hazards" International Scientific Conference. Pol'ana and Detvou, Slovakia 17 - 20.
22. Jamil M, Lee DB, Jung KY, Ashraf M, Lee SC, Rha ES (2006) Effect of salt (NaCl) stress on germination and early seedling growth of four vegetables. Journal of Central European Agriculture 7(2): 273-282.
23. Katalin NR, Omarov T, Evdei L, Herman S (2000) Distribution of the Mo–enzymes. Aldehydeoxidase, xanthine dehydrogenase and nitrate reductase in maize (*Zea mays* L.) nodol roots as affected by nitrogen and salinity. Plant Science 155: 45-58.
24. Kaur S, Gupta AK, Kaur N (2006) Effect of hydro and osmo priming of chickpea (*Cicer arientinum* L.) seeds on anzymes of sucrose and nitrogen metabolism in nodules. Plant Growth Regulation 49: 177-182.
25. Kaydan D, Yagmur M (2008) Germination, seedling growth and relative water content of shoot in different seed sizes of triticale under osmotic stress of water and NaCl. African Journal of Biotechnology 7: 2862- 2868.
26. Khavarneghad R, Mohammadi N (2007) Effect of different concentrations of nitrate and ammonium nitrate reductase activity and the amount of growth and tropane alkaloid henbane. Journal of Teacher Education 17(4): 963-972.
27. Meloni DA, Gulotta MR, Martinez CA (2008) Salinity tolerance in Schinopsis quebracho colorado: Seed germination, growth, ion relations and metabolic responses. Journal of Arid Environments 72: 1785-1792.
28. Mohammaddost-Shiri A, Safarzadeh A, Hamidi H (2009) Morphological and biochemical characterization of plant asafoetida (*Ferula assfoetida*) to salinity stress. Iranian Journal of Rangeland Forest Plant Breed Genetic Research, 17 (1): 38 – 49.
29. Moradi A, Sharifzadeh F, Tavakol Afshari R, Maali Amiri R (2010) Praymyng effect on seed germination and seedling growth of wheat grass (*Agropyron elongatum)* in optimal conditions of water and drought stress. Journal Psture 4(3): 462-473.
30. Naghdibadi H, Soroushzadeh A, Rezazadeh SH, Sharifi M, Ghalavand A, Omidi H (2007) Reviwe on Borage (Valuable Medicinal Plant and the Plant Source of Gamma Linolenic Acid). Journal of Medicinal Plant 24: 1 - 13.
31. Naseer SH (2001) Response of barley *(Hordeum vulgar* L.) at various growth stages to salt stress. Journal of Biological Science 1: 326-329.
32. Omidi H, Soroushzadeh A, Salehi A, Ghezeli FD (2005) Rapeseed seed germination as affected by osmopriming pretreatment. Agricultural Science and Technology 19(2): 125-136.
33. Pandya DH, Mer RK, Prajith PK, Pandy AN (2004) Effect of salt stress and manganese supply on growth of barely seeding. Journal of Plant Nutrition 27(8): 1361-1379.
34. Parida AK, Das AB (2005) Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. Ecotoxicology and Environmental Safety 60: 324-349.
35. Poonacchita U, Darnell R (2004) Effect of ammonium and nitrate of chelate reductase and nitrate reductase in Vaccinium species. Annals of Botany 93.399-405.
36. Ramazani A, Ghajaresepanlo M, Naghdibadi H (2011) Assess the potential of borage seed germination (*Echium amoenum* Fisch & Mey) in saline conditions. Watershed Management Research 91:80-87.

37. Rao KP, Gnanam A (1990) Inhibition of nitrate and nitrite reductase activity by salinity stress in *Sorghum vulgare*. Phytochemistry 29:1047.
38. Rios-Gonzalez K, Erdei L, Lips SH (2002) The activity of antioxidant enzymes in maize and sunflower seedlings as affected by salinity and different nitrogen sources. Plant Science 162: 923-930.
39. Sfandiyarie Bayat S, Eftekhari S, Heidari M (2014) Effect of nitrogen on accumulation Nitrate and Nitrate Reductase activity in populations some spinach (*Spinacia oleacea* L.) native to Iran. Herbal products (Journal of Agriculture) 37(1):107-118. [in Persian with English abstract].
40. Sharma AD, Thakur M, Rana M, Singh K (2004) Effect of plant growth hormones and abiotic stresses on germination, growth and phosphates activities in *sorghum bicolor* L. Moench seeds. African Journal of Biology 3: 308-312.
41. Tabatabaei SJ, Fatemi L, Fallahi E (2006) Effect of ammonium: nitrate ratio on yield, calcium concentration, and photosynthesis rate in strawberry. Journal of Plant Nutrition 29: 1273–1285.
42. Turk MA, Tahawa ARM, Lee KD (2004) Seed germination and seedling growth of three lentil cultivars under moisture stress. Asian Journal of Plant Sciences 3: 394-397.
43. Tylova-Munzarov E, Lorenzen B, Brix H, Votrubova O (2005) the effects of NH_4 and NO_3 on growth, resource allocation and nitrogen uptake kinetics of *Phragmites australis* and *Glyceria maxima*. Aquatic Botany 81: 326–342.
44. Xirong O, Voorthuysen TV, Toorop PE, Henkw MH (2002) Seed vigor, aging and osmopriming affect anion and sugar leakage during imbibitions of maize (*Zea mays* L.) caryopses. International Journal of Plant Science 163(1): 107-112.
45. Zhu JK (2007) Plant Salt Stress. Encyclopedia of life sciences. John Wiley and Suns Ltd: Chichester.

Effect of nitrogen on germination, initial growth, proline and nitrate reductase activity of Borage under salinity stress

Agroecology Journal

Volume 11, Issue 4, 55-71
winter, 2016

Mehdi Aghighi Shahverdi

Ph.D Student of Crop Physiology
Faculty of Agriculture
Shahed University
Tehran, Iran

Email ✉: aghighim@yahoo.com

Heshmat Omidi* and Abdolamir Bostani

Assistant Professors
Faculty of Agricultural Sciences
Shahed University
Tehran, Iran

Emails ✉: heshmatomidi@yahoo.com
bostani@shahed.ac.ir
(corresponding author)

Received: 22 July 2015 **Accepted:** 5 January 2016

ABSTRACT The current study was conducted to evaluate the effects of the nitrogen on borage seed germination under saline stress. The experiment was in a factorial based on completely randomized design with three replications. The experimental factors were salinity stress including 0, 3, 6, 9 and 12 $ds.m^{-1}$ and five ratio of nitrogen source nutrition, NO_3^-:NH_4^+ (100:0, 75:25, 50:50, 25:75 and 0:100). The effect of salinity and also effect of salinity and nitrogen source on growth and physiological traits including dry weight, proline content, nitrogen and nitrate reductase activity was investigated. Increasing salinity levels caused a significant decrease of seed germination and seedling dry weight. Nitrogen nutrition with ratio 50% of ammonium with increasing proline in high salinity conditions, to moderate the negative effects of stress, in contrast, by increasing the amount of ammonium than nitrate, nitrate reductase activity and total seedling growth decreased and salinity showed more negative effects, so that the seedling growth of 75 and 100% ammonium was stopped. Amount of nitrogen in terms of more nitrate than ammonium negative correlation with salinity, and conversely by increasing the amount of ammonium than nitrate showed a positive relationship. Applications of nitrogen source with NO^{3-} by rate of more 50% is suggesting for obtaining uppermost germination indices.

Keywords:

- ammonium
- plant nutrition
- NaCl
- nitrate