Archive of SID

"نهال و بذر"
جلد ۱۶، شماره ۳، آذر ۱۳۷۹

اثر تنش شوری و تغذیه ازت بر پرولین آزاد و روغن کدوی بذر برهنه*

Effects of Salinity and Nitrogen Nutrition on Free - Proline and Oil Content of Common Pumpkin

حسین آروئی، عبدالکریم کاشی و رضا امیدبیگی

دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس

تاریخ دریافت: ۱۳۷۸/۶/۲۴

چکیده

آروئی، ح.، کاشی، ع. و امیدبیگی، ر. ۱۳۷۹. اثر تنش شوری و تغذیه ازت بر پرولین آزاد و روغن کدوی بذر برهنه. نهال و بذر ۱۶: ۳۷۳-۳۵۹.

به منظور بررسی تأثیر تنش شوری و تغذیه ازت بر پرولین آزاد و همچنین تأثیر تنش شوری بر تولید روغن کل در کدوی بذر برهنه (*Cucurbita pepo* subsp. *pepo* var. *styriaca*)، در دو سال متوالی ۱۳۷۷ و ۱۳۷۸ آزمایش‌هائی انجام شد. با توجّه به این که در آزمایش‌های انجام شده از تیمارهای مختلف استفاده گردیده بود، برای هر گروه از آن‌ها از طرح‌های آماری مختلف استفاده شد. طرح آماری کرت‌های خرد شده برای بررسی تاثیرات تنش شوری و تغذیه ازت بر پرولین آزاد و طرح آماری بلوک‌های کامل تصادفی برای بررسی تأثیر تنش شوری بر میزان روغن کل بذرهای به دست آمده، مورد استفاده قرار گرفت. این تحقیق در محل گلخانه و مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس انجام شد. در این تحقیق تیمارهای شوری در دو زمان مختلف اعمال شدند. مرحله اوّل، قبل از کاشت بذرها انجام شد که برای این امر بذرها را در محلول‌های نمک ۰، ۲/۵، ۵ و ۱۰ گرم در لیتر NaCl دارای EC به ترتیب برابر با ۰، ۳۹۰، ۷۸۰ و ۱۵۶۰ دسی زیمنس بر سانتی‌متر ($mscm^{-1}$) برای مدت ۳۶ ساعت خیسانده و سپس کاشته شدند. مرحله دوّم تیمارها، از شروع چهار برگی آغاز و تاگل‌دهی تداوم می‌یافت. تیمارهای ازت شامل ۰، ۷۵، ۱۵۰، ۲۲۵ و ۳۰۰ کیلوگرم در هکتار بود که در سه زمان مختلف (همزمان با کاشت بذر، مرحله چهار برگی و شروع گل‌دهی) در اختیار گیاهان قرار داده شدند. نتایج به دست آمده از آزمایش‌های سال ۱۳۷۷ نشان داد که تنش شوری باعث افزایش سطح پرولین آزاد برگ‌ها در مقایسه با شاهد شده است. بالاترین میزان پرولین آزاد برگ ها در زمانی که سطح تنش شوری

* قسمتی از رساله دکتری نگارنده اول که به گروه باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس ارائه گردیده است.

www.SID.ir

Archive of SID

۲/۵گرم در لیتر NaCl ($۳۹۰ mscm^{-1}$) و سطح ازت در میزان ۲۲۵کیلوگرم در هکتار بوده مشاهده گردید. میزان روغن کل نیز زمانی در بالاترین حد خود بود که تنش شوری ۲/۵گرم در لیتر (NaCl $۳۹۰ mscm^{-1}$) اعمال گردید. نتایج فوق نیز در آزمایش‌های انجام شده در سال ۱۳۷۸ هم مشاهده شد.

واژه‌های کلیدی:کدوی بذر برهنه، تغذیه ازت، تنش شوری، روغن دانه، پرولین آزاد.

مقدمه

کدوی بذر برهنه (رقم KaKai) از جمله گیاهان حائز اهمّیت در صنعت داروسازی می‌باشد. گیاهی است یکساله که دارای ساقه‌های خزنده، کرک‌دار و توخالی با برگ‌هایی بزرگ و پنجه‌ای بوده که توسط دمبرگ نسبتاً بلندی به ساقه‌ها متصل می‌شوند. ریشهٔ این گیاه عمیق و منشعب است. این گیاه متعلق به خانواده *Cucurbitaceae*، زیرخانواده *Cucurbitoideae*، طایفه *Cucurbiteae* و زیر طایفه *Cucurbitinae* می‌باشد. وجود موادی نظیر اسیدهای چرب لینولئیک و لینولنیک، دلتا-۷- فیتوسترول و ویتامین E در بذر این گیاه موجب معرفی و توسعه این گیاه در قرن بیستم شده است (امیدبیگی، ۱۳۷۹). میزان عملکرد میوه این گیاه در شرایط مناسب ۱۵ تا ۸۰ تن در هکتار می‌باشد که از این مقدار ۰/۹ تا ۱/۵ تن دانه استحصال می‌گردد. عملکرد روغن این گیاه نیز ۳۰ تا ۴۰ درصد می‌باشد (امید بیگی، ۱۳۷۹). این گیاه در شرایطی که محیط کشت دارای pH قلیایی باشد (بین ۷/۵ تا ۸/۵) بهترین رشد را داشته که بیشترین عملکرد را تولید می‌کند.

یکی از معمولی‌ترین عکس‌العمل‌های تعداد زیادی از موجودات، از باکتری‌ها تاگیاهان عالی، در برابر تغییرات اسمزی محیط، تجمع موادآلی سازگار (Compatible solutes) مانند قندها و اسیدهای‌آمینه خنثی (برای تنظیم اسمزی) می‌باشد (Volkmar *et al.*, 1997; Roosens *et al.*, 1998; Levitt, 1980; Salisbury and Ross, 1991). خشکی و شوری از تنش‌های محیطی هستند که به طور جدی رشد و تولید محصول را در گیاهان محدود می‌کنند.(Nakashima *et al.*, 1998; *et al.*, 1995; Kiyosue *et al.*, 1996 Kavi Kishor). تجمع پرولین یکی از روش‌های متابولیکی بارز می‌باشدکه در پاسخ به تنش اسمزی و یا سایر تنش‌ها توسط گیاهان عالی (و باکتری‌ها) انجام می‌گیرد (Hua *et al.*, 1997 ;1980 Levitte,). پرولین تجمع یافته نقش‌هایی از قبیل ایجاد ترکیب اسمزی [(Osmoticum (برای جذب انرژی به سمت این ترکیبات)]، ترکیب ذخیره‌ای ازت (زیرا این مواد ترکیبات چهارتایی آمونیومی هستند). از بین برنده رادیکال های هیدروکسیل (Hydroxy-radical scavenger)، محافظ، تنظیم پتانسیل‌های اکسیداسیونی سلولی، کاهش (تنظیم) pH و حفظ تورژسانس و حجم سلول را به عهده دارد که نهایتاً همه آن‌ها موجبات سازش و یا تحمّل در برابر تنش اسمزی (شوری) را فراهم می‌نمایند (Nakashima *et al.*, 1998 ;1997 Volkmar *et al.*, 1997; Hua *et al.*,

www.SID.ir

Archive of SID

et al., 1995; Kiyosue *et al.*, 1996; Irigoyen *et al.*, 1992; Kavi Kishor Ross, 1991; Voetberg and Sharp, 1991; (Levitte, 1980; Salisbury and همچنین، پرولین از تجزیه ماکرومولکول‌هایی نظیر پروتئین و غشاها محافظت می‌نماید (*et al.*, 1998 (Kavi Kishor *et al.*, 1995; Nakashima). تحریک بیوسنتز پرولین و غیرفعال شدن تجزیه پرولین و همچنین تجزیه برخی پروتئین‌ها به اسیدهای آمینه سازنده آن‌ها، افزایش و تجمع پرولین را در گیاهان تحت تنش کنترل می نمایند (Levitte, 1980; Nakashima *et al.*, 1998). در گیاهان عالی تحت تنش نیز تجمع پرولین از طریق سنتز خود به خود نیز انجام می‌گیرد (Roosens *et al.*, 1998). از نظر خواص شیمیایی، ترکیبات تنظیم کننده اسمزی (Osmolyts)، ترکیباتی سازگار، با پوسته وسیع آبدار و بسیار محلول می‌باشند که از طریق حفظ تورژسانس سلول و ثبات فعالیت آنزیم‌های سیتوپلاسمی، موجب ایجاد تحمل و مقاومت گیاهان در برابر تنش می‌شوند (حکمت شعار، ۱۳۷۲؛ 1998 ;Nakashima *et al.*, 1997 ;Volkmar *et al.*). مقدار پرولین موجود در گیاهان هالوفیت، متناسب با مقدار نمک(شوری) موجود در آن‌ها ذکر شده است، به طوری که در گیاهان هالوفیت پرورش یافته در محیط عاری از نمک، میزان پرولین کاهش نشان داده‌است (Levitte, 1980). گزارش‌های متعددی مبنی بر وجود همبستگی مثبت بین تجمع پرولین و سازش به تنش اسمزی در گیاهان، ذکر شده است (Kiyosue *et al.*, 1996) .

از آنجاکه برای تولید اسمولیت‌ها، انرژی زیادی مصرف می‌شود و این انرژی از طریق مصرف مقادیر زیادی کربن حاصل می‌شود، لذا این فرآیند، کاهش رشد گیاه را بدنبال داشته (*et al.*, 1997; Nakashima *et al.*, 1998 (Volkmar). این کاهش رشد موجب عدم مصرف یون‌های جذب شده گشته و تجمع و نهایتاً مسمومیت ناشی از آن‌ها را در گیاهان موجب می‌گردد(Volkmar *et al.*, 1997).

بیتز و همکاران (Bates *et al.*, 1973) گزارش نمودند که پرولین، مؤثرترین ماده تنظیم‌کننده اسمزی در گیاهان تحت تنش شوری و خشکی است و سپس طرح استخراج مصنوعی پرولین را ارائه نمودند.

از جمله تحقیقات دیگری که در رابطه با افزایش و تجمع پرولین در گیاهان تحت تنش شوری انجام شده است می‌توان به تحقیقات استوارت و ووتبرگ در سال ۱۹۸۵ اشاره نمود (Stewart and Voetberg, 1985). آن‌ها افزایش پرولین را برای مدت ۵-۳ ساعت در برگ‌های جو مشاهده نمودند و بیان داشتند که ممکن است این افزایش پس از مدتی کاهش یابد.

در آزمایش‌هائی که بر روی ذرت انجام گرفته، نشان داده شده است که حتی تیمارهای متوسط تنش آبی موجب افزایش پرولین در گیاه شده است. در مقابل، افزایش سایر اسیدهای آمینه و گلایسین‌بتائین به طور مقایسه‌ای، کمتر بوده است (Voetberg and Sharp, 1991). گیاهان ترانس ژنیک تنباکو که در معرض تنش شوری قرار داشتند، نسبت به گیاهان شاهد، ۱۰ تا ۱۸ برابر

www.SID.ir

Archive of SID

افزایش پرولین را نشان داده‌اند. ذخیره خارجی ازت موجب افزایش پرولین گردیده است (Kavi Kishor *et al.*, 1995).

روزنس و همکاران (Roosens *et al.*, 1998) گزارش نموده‌اند که تنش شوری در گیاه آرابیدوپسیس (*Arabidopsis thaliana*) موجب افزایش پرولین شده است.

با توجّه به اهمّیت و نقش پرولین در ایجاد مقاومت یا تحمل در گیاهان تحت تنش شوری، هدف از انجام این تحقیق، بررسی تغییرات (افزایش) پرولین و روغن به صورت کمّی و برقراری ارتباط پرولین و تولید ماده مؤثره در بذرهای کدوی بذر برهنه در شرایط آب و هوایی مشابه با اقلیم نیمه خشک ایران می‌باشد. علاوه بر این، با اعمال تیمارهای مختلف تغذیه ازت (نیتروژن)، اثرات متقابل تنش شوری و میزان ازت قابل دسترس بر مقدار پرولین مورد بررسی قرار می‌گیرد.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی تأثیر تنش شوری و تغذیه ازت بر پرولین تولید شده در کدوی بذر برهنه، آزمایش‌هائی در سال‌های زراعی ۱۳۷۷ و ۱۳۷۸ در محل گلخانه تحقیقاتی و آزمایشگاه دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس تهران انجام شد. برای اجرای این آزمایش‌ها ابتدا بذرهای کدو، برای مدت ۳۶ ساعت در محلول‌های نمک حاوی غلظت‌های ۰، ۲/۵، ۵ و ۱۰ گرم در لیتر کلریدسدیم که به ترتیب ایجاد محیطی با هدایت الکتریکی (EC) برابر ۰، ۳۹۰، ۷۸۰ و ۱۵۶۰ دسی‌زیمنس بر سانتی‌متر ($mscm^{-1}$) می‌نمودند، خیسانده شدند. درجه حرارت محیط بر روی ۲۳ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. پس از این مدت، بذرها را با آب شسته و در گلدان‌هایی با ابعاد ۲۸×۳۰×۳۵ سانتی‌متر که حاوی خاک و برگ و ماسه به نسبت‌های مساوی بودند کاشته شدند. کاشت بذرها در اواسط اردیبهشت ماه انجام شد. EC و pH بستر کاشت بذرها به ترتیب ۰/۹ دسی زیمنس بر سانتی متر ($mscm^{-1}$) و ۷/۹ بوده است.

در سه مرحله همزمان با کاشت بذر، در مرحله چهاربرگی و در مرحلهٔ شروع گل‌دهی تغذیه ازت با تیمارهای ۰، ۷۵، ۱۵۰، ۲۲۵ و ۳۰۰ کیلوگرم در هکتار ازت خالص که معادل ۰، ۲۵، ۵۵، ۸۵ و ۱۱۰ گرم نیترات آمونیوم به ازای هر کلون بود، مورد انجام شد. به عبارت دیگر هر یک از این مقادیر به ۳ قسمت تقسیم شد و در سه مرحله اشاره شده در بالا در اختیار هر یک از کلون‌ها، قرار داده می‌شد. به عنوان مثال تیمار ۱۱۰ گرم ازت (به صورت نیترات آمونیوم) در سه مرحله مذکور و در هر مرحله به مقدار ۳۶/۶ گرم در اختیار گیاه قرار می‌گرفت. حداقل و حداکثر درجه حرارت شب و روز به ترتیب ۱±۱۸ و ۱±۳۰ درجه سانتی‌گراد در نظر گرفته شد.

مرحله دوّم تیمار شوری از تشکیل چهارمین برگ حقیقی به بعد آغاز و تا مرحله گلدهی ادامه یافت. همانطور که با توجّه به اینکه تحمل در یک مرحله نمی‌تواند بیان کننده تحمل در مراحل بعدی باشد، و از طرفی چون یکی از اهداف این تحقیق بررسی تأثیر تنش شوری بر محتوای ماده مؤثره این

www.SID.ir

Archive of SID

گیاه بوده است، لذا با تداوم تیمارهای شوری در واقع عملکرد نهایی گیاه، که همانا محتوای روغن بود مورد بررسی قرار گرفت. در گیاهانی که بذر آن‌ها فقط در آب شیرین خیسانده شده بودند هیچ گونه تیماری اعمال نشد و به عنوان شاهد ثابت در نظر گرفته شدند.

میزان محلول نمک مورد استفاده (از نظر حجمی) با توجّه به مرحله رشد گیاه متفاوت بود و برای این کار پس از جوانه زنی بذرها و ظهور گیاهچه‌ها، به ازای هر کلون ۵۰ میلی‌لیتر و همزمان با افزایش رشد بوته‌ها این مقدار افزایش یافت. به طوری که در مرحله گل‌دهی این مقدار به حدود ۵۰۰ تا ۶۵۰ میلی‌لیتر مخلوط نمک و محلول غذایی نیمه قوی هوگلند رسید. محلول غذایی نیمه قوی هوگلند جهت تأمین عناصر ریز مغذی مورد نیاز گیاهان همزمان با شروع مرحله دوّم تیمار شوری به صورت هفتگی تا مرحله شروع گل‌دهی به گیاهان داده می‌شد. علاوه بر این، به منظور ایجاد شرایط لازم و یکنواخت برای رشد و تغذیه کامل گیاهان، ضمن رعایت کلیه عملیات داشت از قبیل دفع آفات و حذف علف‌های هرز و آبیاری، به ازای هر بوته در هر گلدان ۱۸ گرم سولفات پتاسیم و ۴۰ گرم سوپر فسفات تریپل اضافه گردید.

در این تحقیق از طرح آماری کرت‌های خردشده با متن بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار استفاده شد که در آن تیمار آماده‌سازی بذر توسط کلریدسدیم (خیساندن بذر) در چهار سطح به عنوان عامل اصلی و تیمار ازت در پنج سطح به عنوان عامل فرعی در نظر گرفته شد.

جهت بررسی تأثیر تیمار نمک (تنش شوری) بر میزان عملکرد روغن کل از طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار استفاده شد. تجزیه و تحلیل نتایج به دست آمده توسط نرم افزار MSTATC و مقایسه میانگین تیمارها با استفاده از روش دانکن انجام شد. در این تحقیق، هر تکرار شامل ۱۵ بوته بود و از سه بوته جهت اندازه‌گیری صفات، نمونه‌برداری به عمل آمد. فاصله هر گروه از تیمارها ۱۵۰ سانتی‌متر و فاصله هر یک از گلدان‌ها (بوته‌ها) ۵۰ سانتی‌متر در نظر گرفته شد. برای اندازه‌گیری پرولین آزاد گیاهان در هر یک از تیمارها، از برگ‌های کاملاً توسعه یافته در مرحله آغاز گل‌دهی نمونه‌برداری شد. به جهت عدم یا حداقل تغییر کمّی در میزان پرولین موجود در نمونه‌های تهیه شده، نمونه‌های مربوطه تا انتقال به آزمایشگاه و فریزر در مجاورت یخ حمل می‌گردید.

برای اندازه‌گیری پرولین، ۰/۴ گرم از نمونه برگ‌های نگهداری شده در فریزر را وزن کرده وسپس ۱۰ میلی‌لیتر محلول ۳ درصد اسیدسولفوسالسیلیک در سه مرحله به آن افزوده و در هاون چینی کاملاً سائیده شدند تا به صورت هموژنیزه در آید. محلول به دست آمده از صافی گذرانده و در لوله‌های آزمایش جمع‌آوری شدند. به ۲ میلی لیتر از عصاره به دست آمده، ۲ میلی‌لیتر اسید نین‌هیدرین و اسیداستیک گلاسیال افزوده شد و برای مدت یک ساعت در حمام بن‌ماری در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. این عمل موجب فعالیت مجدد عصاره به دست آمده می‌شد. برای اتمام فعالیت، لوله‌ها در محیط آب و یخ قرار داده شدند و به هر یک از لوله‌ها،

www.SID.ir

Archive of SID

۴ میلی‌لیتر تولوئن اضافه و برای مدت ۱۵ تا ۲۰ ثانیه بر روی دستگاه ارتعاش‌دهنده (Vibrator) قرار داده شدند. پس از این مرحله، قسمت رنگی بالایی راکه حاوی تولوئن بود خارج کرده و جذب نوری آن در دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت و ثبت شد. پرولین در محلول قسمت فوقانی لوله‌ها به رنگ زرد متمایل به قرمز بود. برای ارزیابی پرولین عصاره‌های گیاهی موجود، ابتداء پرولین محلول‌های استاندارد و سپس پرولین نمونه‌های گیاهی تهیه‌شده، تعیین گردید (Bates *et al.*, 1973).

بر اساس معادلهٔ مدل خطی $Y=a+bx$ که در آن a و b به ترتیب ۱۶/۲۴۱- و ۹۲/۰۳۸ محاسبه شده و x عدد قرائت شده از اسپکتروفتومتر تنظیم شده بر روی طول موج ۵۲۰ نانومتر بود، Y (مقدار پرولین) بر حسب میکروگرم برگرم مشخص گردید (Bates *et al.*, 1973).

برای اندازه‌گیری میزان روغن کل بذر در تیمارهای نمک، پس از رسیدن میوه‌ها آن‌ها برداشت و بذر آن‌ها از میوه جداگردید. پس از خشک شدن بذر، ۱۰ گرم از بذر هر یک از تیمارها را به صورت جداگانه توزین و سپس با استفاده از حلال آلی n- هگزان استخراج روغن انجام شد و با استفاده از دستگاه تبخیر در خلاء (Rotary evaporator) ، حلال از روغن جدا گردید. برای اندازه‌گیری روغن به دست آمده، قبل از استخراج بالن خالی توزین و بعد از انجام استخراج روغن و جداکردن حلال از آن، مجدداً وزن بالن و روغن موجود در آن اندازه‌گیری شد. اختلاف بین وزن بالن‌خالی و بالن‌حاوی روغن مقدار روغن به دست آمده را نشان می‌داد که درصد روغن با استفاده از تناسبی بسیار ساده به دست می‌آمد.

نتایج و بحث

در جدول ۱ تجزیه مرکب اثرات تنش شوری و تغذیه ازت بر میزان پرولین آزاد برگ‌ها و در جدول‌های ۲ و ۳ و شکل‌های ۱ تا ۴ نتایج مربوط به تأثیر تنش شوری و تغذیه ازت بر عملکرد روغن و پرولین آزاد نشان داده شده است. به طور کلی نتایج نشان داد که تیمارهای به کار برده شده دارای اثرات متفاوتی می‌باشند و اختلافات معنی‌داری بین تیمارها و شاهد وجود دارد که گروه‌بندی آن‌ها نیز نشان داده شده است.

نیتروژن عنصری ضروری و اساسی برای گیاهان محسوب می‌گردد و با عناصری نظیر کربن، هیدروژن، اکسیژن و حتی گوگرد ترکیب شده و موادی بسیار ارزشمند، نظیر اسیدهای آمینه، اسیدهای نوکلئیک کلروفیل، آلکالوئیدها و بازهای پورینی را تولید می‌نماید. وجود کلروفیل به عنوان مکانی برای جذب نور و سنتز مواد لازم برای رشد و نموگیاهان، وابسته به نیتروژن می‌باشد. چنانچه نیتروژن در دسترس، کمتر یا بیشتر از حد نیاز گیاه باشد، اختلالاتی در فرآیندهای حیاتی گیاه از جمله فتوسنتز، ایجاد نموده که ممکن است به صورت‌های مختلفی نظیر رشد رویشی زیاد، کاهش، تعویق و یا حتی توقف رشد زایشی بروز نماید. این پدیده در بررسی اخیر دیده شد به طوری که تیمارهای ۲۲۵ و ۳۰۰ کیلوگرم

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱ - تجزیه مرکب واریانس اثرات تنش شوری و تغذیه ازت بر میزان پرولین آزاد کدوی بذر برهنه

Table 1. The combined analysis of variance of the effects of salt stress and nitrogen nutrition on free proline of *Cucurbita pepo* var. *styriaca*

		درجه آزادی	میانگین مربعات	
S.O.V.	منبع تغییرات	df	M.S.	F
Year(Y)	سال	1	0.274	0.0072^{ns}
Salt stress (S)	تنش شوری	3	1867.478	56.1519^{**}
S x Y	سال x تنش شوری	3	0.227	0.0068^{ns}
Erorr	خطا	12	37.870	
Nitrogen nutrition(N)	تغذیه ازت	4	12965.449	318.6006^{**}
N x Y	سال x تغذیه ازت	4	0.168	0.0044^{ns}
N x S	تغذیه ازت x تنش‌شوری	12	1850.642	55.6457^{**}
Y x N x S	سال x تغذیه‌ازت x تنش‌شوری	12	0.592	0.0178^{ns}
Erorr	خطای کل	64	33.258	

ns: Non significant. ns: غیر معنی‌دار.

*, **: به ترتیب معنی‌دار در سطح ۱٪ و ۵٪.

* and **: Singnificant at 5% and 1% probability level respectively.

جدول ۲ - تأثیر تنش شوری بر میزان روغن کل در کدوی بذر برهنه

Table 2. Effect of salt stress on total oil content of *Cucurbita pepo* var. *styriaca*

	درصد روغن کل Total oil (%)	
کلرید سدیم (گرم در لیتر)	۱۳۷۷	۱۳۷۸
NaCl (grl^{-1})	1998	1999
0	38.58 c	38.55 c
2.5	66.64 a	63.97 a
5	57.33 b	55.58 b
10	38.68 c	35.93 c

میانگین‌های دارای حروف یکسان در هر ستون براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵٪ تفاوت معنی‌داری ندارند.

Means followed by similar letters in each column are not significantly different at 5% probability level according to Duncan's Multiple Range Test.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۳ـ تأثیر تغذیه ازت بر میزان روغن کل کدوی بذر برهنه

Toble 3. Effect of nitrogen nutrition on total oil content of *Cucurbita pepo* var. *styriaca*

نیتروژن	درصد روغن کل Total oil (%)	
(کیلوگرم در هکتار)	۱۳۷۷	۱۳۷۸
$N(Kgha^{-1})$	1998	1999
0	38.6 b	37.0 b
75	45.3 a	47.5 a
150	31.9 b	34.4 b
225	0.0 c	0.0 c
300	0.0 c	0.0 c

میانگین‌های دارای حروف یکسان در هر ستون براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵٪ تفاوت معنی‌داری ندارند.

Means followed by similar letters in each column are not significantly different at 5% probability level according to Duncan's Multiple Range Test.

نیتروژن در هکتار از یک طرف میزان رشد رویشی گیاهان کدوی بذر برهنه را افزایش داد و از طرف دیگر در گیاهان تیمار شده با این مقادیر نیتروژن هیچ میوه‌ای (گل ماده تلقیح شده) تشکیل نگردید. طبق‌گزارش‌های ارائه شده توسط وانگ و بیلو (Wang and Below, 1998) مصرف بیش از حد نیتروژن باعث تسریع و افزایش رشد رویشی شد.

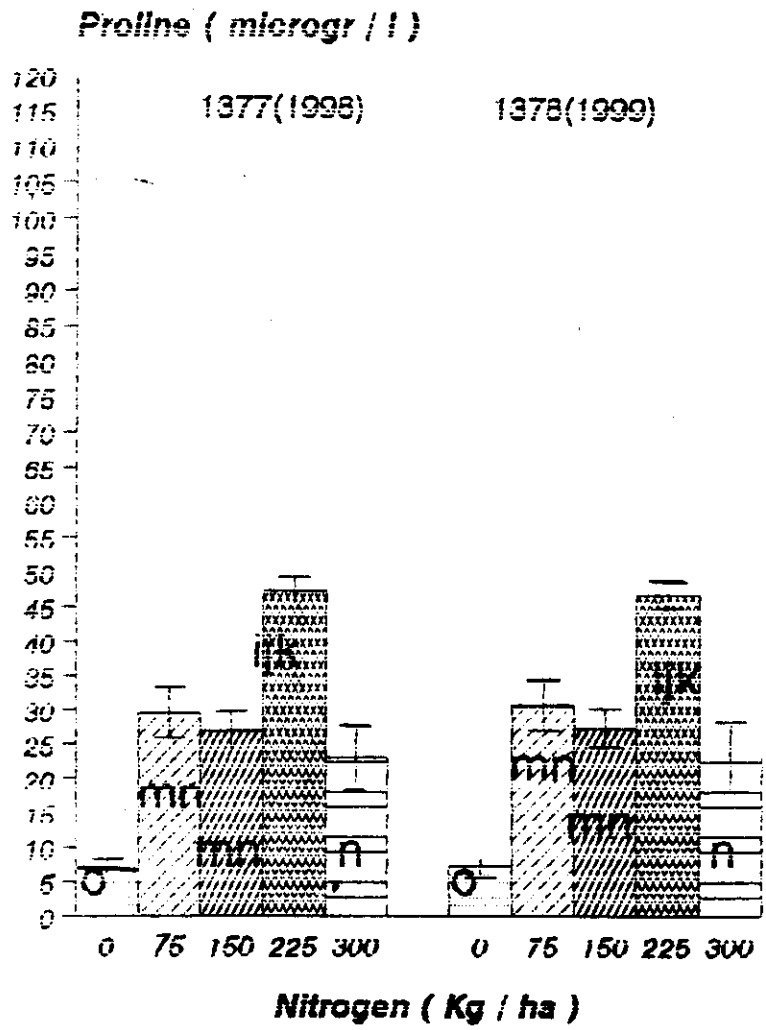
نتایج به دست آمده نشان داد که در مجموع، تنش شوری در گیاه کدوی بذر برهنه باعث افزایش پرولین می‌گردد. گزارش‌های ارائه شده توسط سایر محققین (Soliman and Doss, 1992; Irigoyen , *et al.*, 1992; Voetberg and Sharp, 1991 *et al.*, 1996; Kavi Kishor *et al.*, 1995; 1998; Martinez *et al.*, 1994; Rentsch Kurban *et al.*, 1998; Nakashima *et al.*, Yapa, 1998; Roosens *et al.*, 1998; Somal and) نیز این موضوع را تأیید می‌نماید.

کاربرد ازت باعث تغییر میزان پرولین آزاد برگ‌ها شد، به طوریکه در گیاهان تیمار شده با ازت میزان پرولین نسبت به گیاهان شاهد افزایش نشان داد. مارتینز وهمکارانش (Martinez *et al.*, 1994) گزارش نمودند که افزایش ازت در محلول غذایی مورد استفاده در محیط رشد گیاهان گوجه‌فرنگی و خیار، افزایش پرولین را در این گیاهان به دنبال داشته است. آن‌ها همچنین اعلام داشتند چنانچه منبع ازت مورد استفاده نیترات آمونیوم به (NH_4NO_3) باشد در مقایسه با زمانی که نیترات (NO_3) تنهایی به عنوان منبع نیتروژن به‌کار برده شود موجب افزایش بیشتر پرولین شده است.

با توجّه به این که در این تحقیق اثرات توأم تغذیه ازت و تنش شوری در سطوح مختلف مورد

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۱ ـ تأثیر سطوح مختلف نیتروژن بر میزان پرولین آزادکدوی بذر برهنه در تیمار بدون کلریدسدیم (شاهد)

Fig. 1. Effect of different levels of nitrogen on free-proline of *Cucurbita pepo* var. *styriaca* in 0 $gr1^{-1}$ NaCl (control) treatment

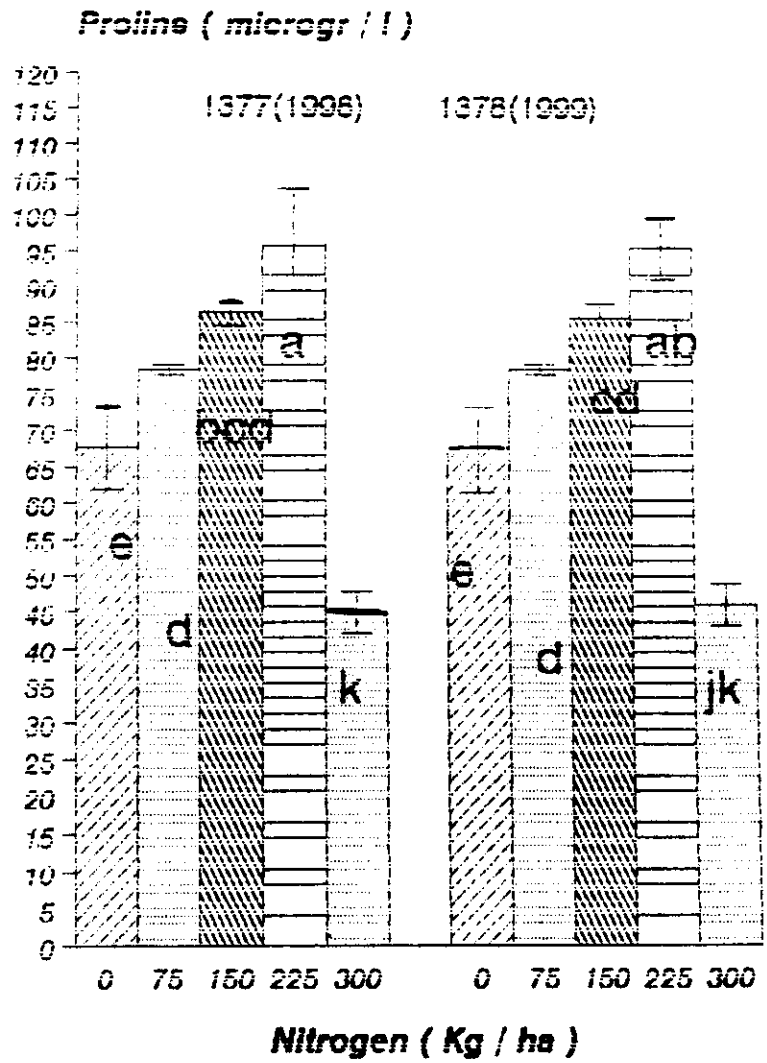
میانگین‌های دارای حروف یکسان در ستون‌ها براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵٪ تفاوت معنی‌داری ندارند

Means followed by similar letters in the bars are not significantly different at 5% probability level according to Duncan's Multiple Range Test.

بررسی قرار گرفته است نتایج حاصله نشان می‌دهد(شکل‌های ۱ تا ۴)که بعضی از تیمارهای توأم ازت و شوری در مقایسه با گیاهان شاهد موجب افزایش پرولین در برگ‌های آن‌ها شده است. به عنوان مثال در تیمار توأم شوری در سطح ۲/۵ گرم در لیتر NaCl ($۳۹۰ mscm^{-1}$) و

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۲ ـ تأثیر سطوح مختلف نیتروژن و تنش شوری بر میزان پرولین آزادکدوی بذر برهنه (۵/۲ گرم درلیتر کلرید سدیم)

Fig. 2. Effect of different levels of nitrogen on free-proline of *Cucurbita pepo* var. *styriaca* in 5 grl^{-1} NaCl treatment

میانگین‌های دارای حروف یکسان در ستون‌ها بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵٪ تفاوت معنی‌داری ندارند

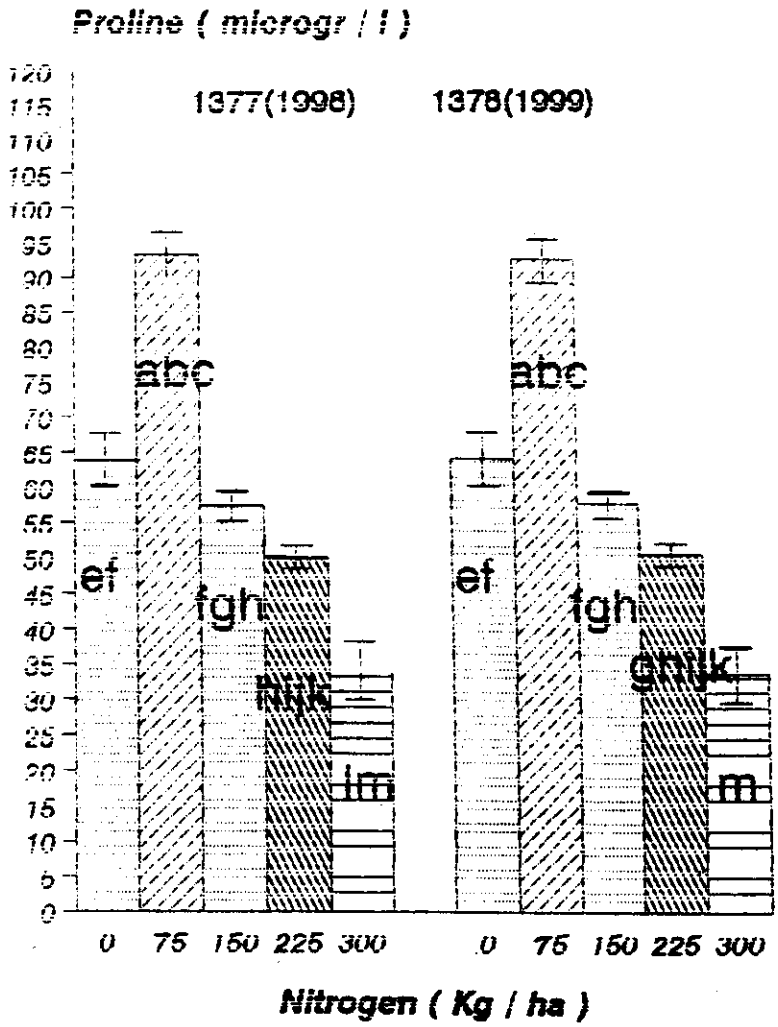
Means followed by similar letters in the bars are not significantly different at 5% probability level according to Duncan's Multiple Range Test.

۲۲۵ کیلوگرم در هکتار ازت، بالاترین میزان پرولین تولید شد. نیز مارتینز و همکاران (Martinez *et al.*, 1994) نتایج مشابه‌ای را گزارش نموده‌اند.

با توجّه به این که گیاهان مختلف عکس‌العمل‌های متفاوتی نسبت به شرایط مشابه از خود نشان می‌دهند و گیاهان مشابه در شرایط متفاوت نیز چنین می‌باشند، لذاگزارش نتایج مغایر

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۳ـ تأثیر سطوح مختلف نیتروژن و بر میزان پرولین آزادکدوی
بذر برهنه در تیمار ۵ گرم در لیترکلرید سدیم

Fig. 3. Effect of different levels of nitrogen on free-proline of *Cucurbita pepo* var. *styriaca* in 5 grl^{-1} NacL treatment

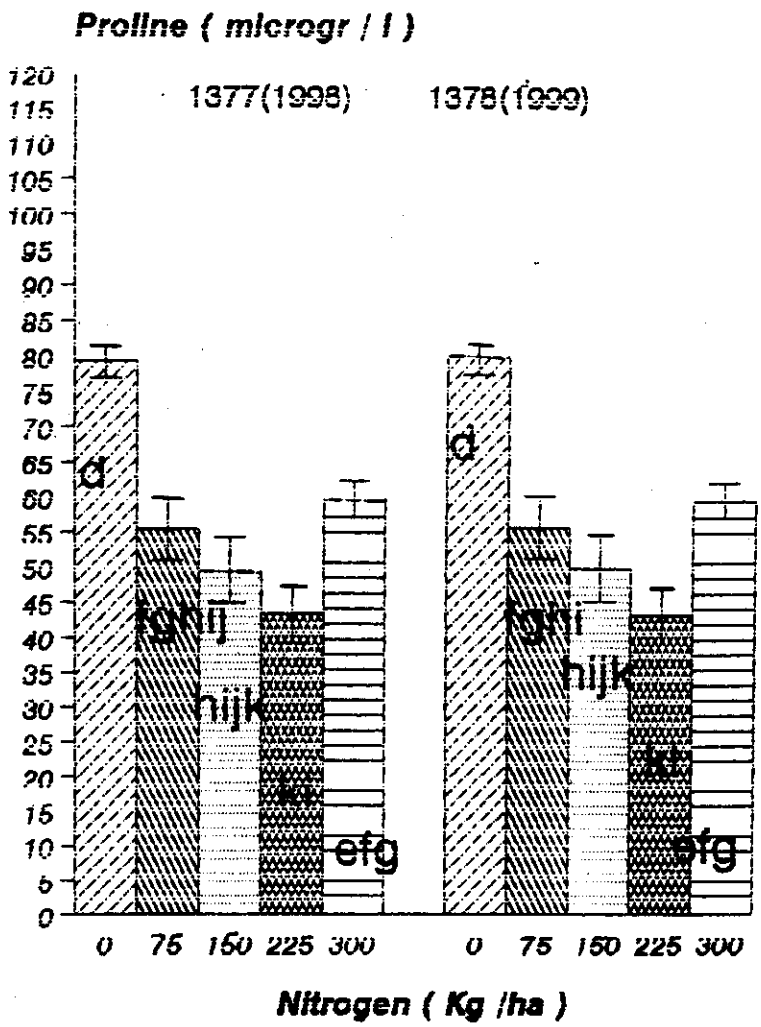
میانگین‌های دارای حروف یکسان در ستون‌ها براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵٪ تفاوت معنی‌داری ندارند

Means followed by similar letters in the bars are not significantly different at 5% probability level according to Duncan's Multiple Range Test.

با این تحقیق نیز غیرممکن نمی‌باشد. به طوری که سومال و یاپا (Somal and Yapa, 1998) بیان داشتند که کمبود عناصر غذایی مختلف از جمله ازت، فسفر و یا کلسیم، تا اندازه‌ای محتوای پرولین *Vigna sinensis* که گیاهی از خانواده بقولات

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۴- تأثیر سطوح مختلف نیتروژن و بر میزان پرولین آزاد کدوی بذر برهنه در تیمار ۱۰ گرم در لیتر کلرید سدیم

Fig. 4. Effect of different levels of nitrogen on free - proline of *Cucurbita pepo* var. *styriaca* in 10 grl^{-1} NaCl treatment

میانگین‌های دارای حروف یکسان در ستون‌ها براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵٪ تفاوت معنی‌داری ندارند.

Means followed by similar letters in the bars are not significantly different at 5% probability level according to Duncan's Multiple Range Test.

مـی‌باشد را افـزایش داده است. آن‌هـا هـمچنین گزارش نموده‌اند کـه تـنش خشکـی و یـا شـوری موجب افزایش پرولین آزاد این گیاه شده است، که این قسمت از نتایج این محققین با نتایج این مقاله مطابقت نشان می‌دهد.

طـــــبق گـــزارش‌هـــای ســـلیمان و دوس

www.SID.ir

Archive of SID

(Soliman and Doss, 1992) می‌توان بیان داشت، کاربرد نیتروژن کافی در مرحله مناسبی از رشد می‌تواند از طریق افزایش و تثبیت نواحی سبز (نواحی فتوسنتزکننده) گیاه، عملکرد محصول را به سمت تولید بهینه هدایت نماید. ماسون و برنان (Masson and Brennan, 1998) و سوگی‌موتو و همکاران (Sugimoto *et al.*, 1998) در گزارش‌های خود بیان داشته‌اند که، کاربرد نیتروژن، در زمان گل‌دهی چنانچه در مقدار متناسبی باشد، می‌تواند ترکیبات ذخیره‌ای و روغن دانه‌ها را افزایش دهد. نتایج به دست آمده در جدول ۳ نشان می‌دهد که گیاهان تیمار شده با ۷۵ کیلوگرم نیتروژن در هکتار بالاترین درصد روغن را تولید نمودند که این مطلب نتایج ارائه شده توسط محققین مذکور را تایید می‌نماید. همانطور که در این جدول مشاهده می‌شود، با افزایش سطح نیتروژن عملکرد روغن کاهش یافت که این مطلب نشان می‌دهد مواد غذایی جذب شده به جای این که به مصرف ذخیره‌سازی و تقویت دانه‌ها برسد، به مصرف نقاط رویشی دارای قدرت جذب بالای مواد غذایی، رسیده است (Salisbury and Ross, 1991; Tancogne *et al.*, 1991; Wang and Below, 1998).

از آنجاکه در گیاهان دارویی، مهّم‌ترین مسئله، طبیعی بودن مواد استحصال شده از آن‌ها می‌باشد، لذا می‌بایست در کاربرد مواد شیمیایی حتی کودهای شیمیایی برای این گیاهان با دقت نظر بیشتری اقدام نمود. با توجّه به این که نوع زمین مورد استفاده برای کاشت چنین گیاهانی کاربرد کودهای تقویت کننده را تحت الشعاع قرار می‌دهد بایستی با انجام تحقیقاتی مشابه بهترین نوع و مقدار کود مناسب را تعیین نمود. با توجّه به نتایج به دست آمده از این تحقیق می‌توان در شرایط مشابه تحقیق، برای به دست آوردن عملکرد بهینه، مقدار ۷۵ کیلوگرم نیتروژن در هکتار را توصیه نمود. در این سطح کودی رشد و نمو گیاه به طور مناسبی صورت گرفته و تناسب اندام هوایی و زیرزمینی بهترین شرایط را برای تشکیل میوه و دانه‌های درون آن و ترکیبات دانه فراهم نمود.

با توجّه به این که این گیاه جزو فلور ایران نمی‌باشد و به تازگی در شرایط آب و هوایی کشور ایران مورد کشت و بررسی قرار گرفته است، لذا نمی‌توان به طور قطعی با انجام تحقیقات مشابه در طی دو سال متوالی توصیه‌هایی کاربردی ارائه نمود، ولی با توجّه به نتایج به دست آمده می‌توان بیان داشت که پیش تیمار بذرهای این گونه کدوی خاص توسط NaCl در غلظت های ۲/۵ و ۵ گرم در لیتر و خصوصا در ۲/۵ گرم در لیتر کلرید سدیم و تداوم آن تا زمان گل‌دهی بر میزان عملکرد روغن محصول به دست آمده اثرات مثبتی داشته باشد (جدول ۲) و همچنین تا حدی می‌توان آن را برای مناطق حاشیه کویری که تا اندازه‌ای شور می‌باشند، مقاوم نمود که تا بتوان از این مناطق استفاده بهینه کرد. تیمار ازت نیز در سطح ۷۵ کیلوگرم در هکتار نیز در افزایش عملکرد روغن این گیاه اثری مثبت داشت (جدول ۳).

www.SID.ir

Archive of SID

References

منابع مورد استفاده

امیدبیگی، ر. ۱۳۷۹. رهیافت‌های تولید و فرآوری گیاهان دارویی. انتشارات آستان قدس رضوی، جلد سوّم، ۳۹۷ صفحه.

حکمت شعار، ح. ۱۳۷۲. فیزیولوژی گیاهان در شرایط دشوار. انتشارات نیکنام، چاپ اوّل، ۲۵۱ صفحه.

Bates, L.S. ; Waldern, R.P., and Teave, I.D., 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant and Soil 39: 205-107.

Hua, X.J., Van de Cotte, B., Montagu, M.V., and Verbruggen, N. 1997. Developmental regulation of pyroline-5-carboxylate reductase gene expression in arabidopsis. Plant Physiology 114: 1215-1224.

Irigoyen, J.J., Emerich, D.W., and Sanchez-diaz, M. 1992. Water stress induced changes in concentration of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa *(Medicago sativa)*, plants. Physiologia Plantarum 84: 55-60.

Kavi kishor, P.B., Hong, Z. Miae, G.H., Hu, C.A. A., and Verma, D.P.A. 1995. Over expression of Δ-pyrroline-5-carboxylate increases proline production and confers osmotolerance in transgenic plants. Plant Physiology 108: 1387-1394.

Kiyosue, T., Yoshiba, Y., Yamagucji-shinozaki, K., and Shinozaki, K. 1996. A nuclear gene encoding mitochonal proline metabolism, is upregulated by proline but down regulated by dehydration in arabidopsis. The Plant Cell 8: 1323-1335.

Kurban H., Saneoka, H., Nehira, K., Adilla, R., and Fujita, K. 1998. Effect of salinity on growth and accumulation of organic and inorganic solutes in the leguminosae plants *Alhagi pseudoalhagi* and *Vigna radiata*. Soil Science and Plant Nutrition 44: 589-597.

Levitte, J. 1980. Responses of Plants to Environmental Stresses. 2nd edition. Academic Press. New York. USA.

Martines. V., Nunez, J.M., Orriz I., and Cerda, A. 1994. Changes in amino acid and organic acid composition in tomato and cucumber plants in relation to salinity and nitrogen nutrition.

Masson, M.G., and Brennan, R.F. 1998. Comparison of growth response and nitrogen uptake by canola and wheat following application of nitrogen fertilizer. Journal of Plant Nutrition 21: 1483-1499.

Nakashima, K., Satoh, R., Kiyousue, T., Yamaguchi-shinozaki, K., and Shinozak, K. 1998. A genc encoding proline dehydrogenase is not only induced by proline and hypoosmolanty, but is also developmentally regulated in the reproductive organs of

www.SID.ir

Archive of SID

arabidopsis. Plant Physiology 118: 1233-1241.

Rentsch, D., Hirner, B. Schemlzer, E., and Wolf, B.F. 1996. Salt stress-induced proline transporters and salt stress-repressed broad specificity amino acid permaeses identified by suppression of a yeast amino acid permease-targeting mutant. The Plant Cell 8: 1437-1446.

Roosens, N.H.C.G., Thu, T.T., Hayati, M.I., and Jacobs, M. 1998. Isolation of the ornithine 8-aminotransferase cDNA and effect of salt stress on its expression in *Arabidopsis thaliana*. Plant Physiology 117: 263-271.

Salisbury, F.B., and Ross, C.W. 1991. Plant Physiology. Fourth edition. Wadsworth Publishing Company. Belmont California page: 682

Soliman, M.S., and Doss, M. 1992. Salinity and mineral nutrition effects on growth and accumulation of organic and inorganic ions in two cultivated tomato varieties. Journal of Plant Nutrition 15: 2789-2799.

Somal, T.L.C., and Yapa, P.A.J. 1998. Accumulation of proline in cowpea under nutrient, drought and saline stresses. Journal of Plant Nutrition 21: 2465-2473.

Stewart, C.R., and Voetberg, G. 1985. Relationship between stress-induced ABA and ABA induced proline accumulation in excised barley leaves. Plant Physiology 70:24-27.

Sugimoto, T., Nomura, K., Masuda, R., Sueyoshi, K., and Oji, Y. 1998. Effect of nitrogen application at the flowering stage on the quality of soybean seeds. Journal of Plant Nutrition 21: 2065-2075.

Tancogne, M., Bouniols, A., Wallace, S.U., and Blanchet, R. 1991. Effect of nitrogen fertilization on yield component distribution and assimilate translocation of determinate and indeterminate soybean lines. Journal of Plant Nutrition 14: 963-373.

Voetberg, G.S., and Sharp, R.E. 1991. Growth of the maize primary root at low water potentials. III.Role of increased proline deposition in osmotic adjustment. Plant Physiology 96: 1125-1130.

Volkmar, K.M, Hu, Y., and Steppuhu, H. 1997. Physiological responses of plants to salinity; a review. Canadian Journal of Plant Science 78: 19-27.

Wang, X., and Below, F.E. 1998. Accumulation and partitioning of mineral nutrients in wheat as influenced by nitrogen form. Journal of Plant Nutrition 21: 49-61.

آدرس نگارندگان:
حسین آروئی و رضا امیدبیگی - گروه باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس، تهران.
عبدالکریم کاشی - گروه باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران، کرج.

www.SID.ir