مجله تحقیقات آب و خاک ایران (41) 2، 1389 (282-273)

تأثیر pH و نسبت نیترات به آمونیوم محلول غذایی بر ویژگیهای رشد و عملکرد اسفناج

نصرت اله نجفی[1]*، منصور پارسازاده[2]، سید جلال طباطبایی[3] و شاهین اوستان[4]

[1] استادیار، [2]دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، [3]استاد و [4]استادیار دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

(تاریخ دریافت: 1387/11/16- تاریخ تصویب:1388/6/8)

چکیده

برای بررسی تأثیر pH و نسبت نیترات به آمونیوم محلول غذایی و برهمکنش آنها بر ویژگیهای رشد و عملکرد اسفناج، آزمایشی به صورت فاکتوریل و در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با دو فاکتور شامل pH محلول غذایی در سه سطح (4/5، 6/5، 8) و نسبت نیترات به آمونیوم محلول غذایی در پنج سطح (100:0، 75:25، 50:50، 25:75، 0:100) و با چهار تکرار در بستر پرلیت و در شرایط گلخانه انجام شد. نتایج نشان داد که با کاهش نسبت نیترات به آمونیوم شاخص کلروفیل برگها افزایش یافت. با کاهش نسبت نیترات به آمونیوم از 100:0 به 75:25 شدت فتوسنتز خالص، سطح برگها، تعداد برگها، وزن تر و خشک بخش هوایی افزایش و با کاهش بیشتر نسبت نیترات به آمونیوم کاهش یافتند. با افزایش pH محلول غذایی از 4/5 به 8، سطح برگها، شاخص کلروفیل برگها، شدت فتوسنتز خالص، وزن تر و خشک بخش هوایی کاهش یافتند. تأثیر برهمکنش pH و نسبت نیترات به آمونیوم محلول غذایی بر سطح برگها، تعداد برگها، شاخص کلروفیل برگها، شدت فتوسنتز خالص، وزن تر و خشک بخش هوایی معنیدار بود؛ به طوری که pH 4/5 با نسبتهای نیترات به آمونیوم 100:0 و 75:25، pH 6/5 با نسبت نیترات به آمونیوم 75:25 و pH 8 با نسبتهای نیترات به آمونیوم 75:25 و 50:50 بیشترین وزن خشک بخش هوایی را داشتند.

واژه های کلیدی: اسفناج، pH، نیتروژن، محلول غذایی، کشت هیدروپونیک

مقدمه

اسفناج (*Spinacia oleraceae* L.) گیاهی یکساله، روز بلند و مقاوم به سرما، متعلق به خانواده غازپایان (*Chenopodiaceae*) میباشد. این گیاه از مهمترین سبزیهای برگی است که به صورت تازه و یا فرآوری شده مصرف میشود (Rubatzky and Yamaguchi, 1997). اسفناج غنی از ویتامینهای A، B1، B2، C و عناصر معدنی از قبیل آهن، کلسیم و منیزیم بوده و دارای حدود سه درصد پروتئین میباشد (Ramachandran et al. 2005). میان عناصر موجود در گیاه که به صورت کود به بستر رشد گیاه افزوده میشوند، نیتروژن بیشترین غلظت را داشته و عمدتاً به دو شکل نیترات و آمونیوم بوسیله ریشه گیاهان جذب میشود. مهمترین تفاوت میان نیترات و آمونیوم از نظر جذب بوسیله گیاهان، در حساسیت آنها به pH میباشد (Marschener, 1995). بیشتر گونههای گیاهی نیترات را به عنوان منبع نیتروژنی نسبت به آمونیوم ترجیح میدهند و این غیرمنتظره است؛ زیرا، احیای نیترات در ریشه و اندامهای هوایی نیاز به مصرف انرژی دارد و با جذب آمونیوم این انرژی در گیاه ذخیره میشود. بررسیها نشان داده است که انرژی صرف شده برای احیای نیترات، معادل 17 درصد کل ذخیره کربوهیدراتهای گیاهان است (Gutschick, 1981). وقتی که منبع نیتروژن گیاه فقط آمونیوم باشد، ممکن است گیاه دچار مسمومیت شود (Babourina et al. 2006; Zhang and Rengel, 2003). گرچه، در فرآیند همگونسازی (Assimilation) نیتروژن در گیاه، نیترات به آمونیوم احیا میشود ولی بسیاری از گیاهان که از آمونیوم به عنوان تنها منبع نیتروژن استفاده میکنند، کاهش رشد نشان میدهند (Gerendas et al. 1997). نیترات به همراه آمونیوم، از سمّیت آمونیوم میکاهد ولی سازوکار آن هنوز ناشناخته است. با این حال، چند فرضیه برای توضیح اثر سمیت آمونیوم پیشنهاد شده است: 1- اسیدی شدن خاک، 2- اسیدی شدن سیتوسول یا بخش مایع سیتوپلاسم، 3- کاهش جذب کاتیون توسط آمونیوم و به هم خوردن تعادل کاتیونها و آنیونها، 4- کاهش منابع کربن در ناحیه ریشه، 5- تحریک ظرفیت انباشتگی نیتروژن در گیاه، 6- اختلال در تولید هورمونهای گیاهی و پلیپپتیدها (Redinbaugh and Campbell, 1993; Gerendas et al. 1997; Chen et al. 1998; Zhang and Rengel, 1999). به نظر Rothstein and Cregg (2005) عملکرد ضعیف گیاه در غلظتهای بالای آمونیوم از اثر آن بر تولید ریشه یا اثر احتمالی آن بر انتقال آب ناشی میشود.

شکل نیتروژن یک عامل مهم برای رشد و عملکرد گیاه

* پست الکترونیک مکاتبه کننده: n-najafi@tabrizu.ac.ir

است (Zhang et al. 2005). نسبت نیترات به آمونیوم محلول غذایی شدیداً عملکرد گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Rothstein and Cregg, 2005). در بیشتر گونه‌های گیاهی استفاده از نیتروژن آمونیومی باعث کاهش عملکرد (Valentine et al. 2001) و کندی رشد می‌شود (Hoffman et al. 2007). با این حال، حساسیت گونه‌های مختلف گیاهی نسبت به تغذیه آمونیومی یا نیتراتی متفاوت است (Barker and Mills, 1980). بوتههای طالبی تغذیه شده با محلول غذایی حاوی 14 mg/L نیتروژن آمونیومی و 98 mg/L نیتروژن نیتراتی بهتر از گیاهانی که فقط با نیتروژن نیتراتی تغذیه شده بودند، رشد کردند (Osman and Wilcox, 1986). گونه‌های کونیفر (Cunifera) به جذب آمونیوم سازگارند (Lavoie et al. 1992). درخت خرنوب (Carob) نیز آمونیوم را به عنوان منبع نیتروژن ترجیح میدهد (Cruz et al. 1993). بیشتر گونه‌های گیاهی از جمله گندم، خیار و فلفل نیترات را به عنوان منبع نیتروژن ترجیح می‌دهند (Heuer, 1991; Osorio et al. 2003). برخی از گونه‌های گیاهی مانند گزنه (*Utrica dioica*) نیز نیترات دوستاند (Marschener, 1995) ولی اکثر گونه‌های گیاهی در ترکیبی از هر دو شکل نیتروژن بهترین رشد را دارند (Errebhi and Wilcox, 1990; Marschener, 1995).

تغذیه گیاهان با نسبتهای مختلف نیترات به آمونیوم بر جنبه-های مختلف فیزیولوژی گیاهان اعم از شاخص‌های کمی و کیفی تأثیر میگذارد و یافتن ترکیب مناسب نیتروژن آمونی ومی و نیتراتی در تغذیه گیاهان مختلف ضروری است. در شرایط مزرعه‌ای و در خاکهایی که pH آنها در دامنه 5 تا 7 میباشد، اثر منفی تغذیه آمونیومی کاهش می‌یابد ولی در خاکهایی که pH آنها کمتر از پنج است، تغذیه آمونیومی می‌تواند تأثیر مخربی داشته باشد. برای هر گونه گیاهی، در دماهای پایین جذب و مصرف آمونیوم بیشتر از نیترات است (Marschener, 1995). Islam et al. (1980) برای تعیین pH مناسب رشد گیاهان، شش گونه گیاهی را در pHهای مختلف با نیترات خالص تغذیه و مشاهده کردند که با افزایش pH از 3/3 به 5/5 عملکرد نسبی در تمام گیاهان مورد مطالعه افزایش یافت و با افزایش pH از 5/5 به 8/5 رشد زنجبیل و گوجهفرنگی تغییر معنیداری نداشت ولی عملکرد گونههای دیگر به طور معنی-داری کاهش یافت. Findenegg (1987) تأثیر سطوح مختلف pH محلول غذایی حاوی آمونیوم به عنوان منبع نیتروژن را بر رشد 14 گونه گیاهی بررسی و مشاهده کرد که در میان گیاهان فقط اسفناج و هویج در pH چهار رشد نکردند که نشان دهنده حساسیت این دو گیاه به pH میباشد.

Kim et al. (2002) گزارش کردند که زیتوده، نسبت ریشه به ساقه و وزن برگهای هلو که با نسبت نیترات به آمونیوم 75:25 رشد کرده بودند، در مقایسه با نسبتهای دیگر نیترات به آمونیوم کمتر بود. Serna et al. (1992) با استفاده از پنج نسبت نیترات به آمونیوم 0:100، 25:75، 50:50، 75:25، 100:0 نشان دادند که با کاهش نسبت نیترات به آمونیوم محلول غذایی، تعداد میوهها در درختان مرکبات افزایش ولی عملکرد کل کاهش یافت. در نسبت نیترات به آمونیوم 75:25 کمترین تعداد میوه در درختان مشاهده شد، ولی بالاترین عملکرد را داشت. Termblay and Gosselin (1989) مشاهده کردند که کمترین نسبت نیترات به آمونیوم محلول غذایی، سبب تولید بیشترین ماده خشک در بخش هوایی کرفس گردید. بنابراین، کرفس شکل آمونیومی نیتروژن را ترجیح میدهد. Delshad et al. (1379) بیشترین تولید میوه در بوتههای سه رقم گوجه فرنگی را با تغذیه نیتراتی به دست آورد. در برخی گونه‌های نی (*Phragmites australis*) گیاهان تغذیه شده با نیترات و یا آمونیوم رشد مشابهی داشتند ولی در برخی گونه‌های سویا (*Glyceria maxima*) رشد گیاهان در تغذیه با نیترات بیشتر از تغذیه با آمونیوم بود (Munzarova et al. 2006). Tabatabaei et al. (2006) مشاهده کردند که پاسخ رقمهای مختلف توت فرنگی نسبت به تغذیه آمونیومی یا نیتراتی متفاوت است.

شدت فتوسنتز خالص ممکن است برحسب گونه گیاه، میزان حساسیت گیاه به pH و شکل نیتروژن کاربردی افزایش یا کاهش یابد (Raab and Terry, 1994). تغذیه آمونیومی ممکن است شدت فتوسنتز خالص گیاه را کاهش دهد (Takacs and Tecsi, 1992). این کاهش در فتوسنتز و ماده خشک گیاه ممکن است بر اثر کاهش سطح کل برگ گیاهان تغذیه شده با آمونیوم در مقایسه با نیترات باشد (Magalhaes and Wilcox, 1993). Lasa et al. (2001) گیاهان اسفناج، آفتابگردان و نخود فرنگی را با محلول غذایی حاوی نسبتهای مختلف نیترات به آمونیوم در pH 6/5 رشد دادند و مشاهده کردند که تغذیه با آمونیوم شدت فتوسنتز خالص را در گیاهان اسفناج و آفتابگردان به طور معنیداری کاهش داد ولی بر فتوسنتز خالص گیاه نخود - فرنگی تأثیر معنیدار نداشت. با توجه به مطالب در بالا ذکر شده و نقش pH و شکل نیتروژن مصرفی در رشد و عملکرد گیاه، این تحقیق برای بررسی اثر pH و نسبت نیترات به آمونیوم محلول غذایی و برهمکنش آنها بر ویژگیهای رشد و عملکرد اسفناج (*Spinacia oleracea* L.) در بستر پرلیت انجام شد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در گلخانه تحقیقاتی هایدروپونیک دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز در تابستان 1386 انجام گرفت. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با دو فاکتور شامل pH محلول غذایی در سه سطح (4/5، 6/5، 8) و نسبت نیترات به آمونیوم محلول غذایی در پنج سطح (100:0، 75:25، 50:50، 25:75، 0:100) و با چهار تکرار انجام شد. در این آزمایش از گلدانهای پلاستیکی هفت لیتری به ابعاد (ارتفاع25cm×قطر32cm) استفاده شد. جهت ایجاد تهویه و جلوگیری از خروج پرلیت در کف گلدانها یک لایه شن درشت به جرم 500 گرم ریخته شد. سپس به هر یک از گلدانها 900 گرم پرلیت دانه متوسط با قطر حدود دو میلیمتر افزوده شد. محلول غذایی پایه "هوگلند تغییر یافته" بود که غلظت عناصر در آن شامل: نیتروژن 180، فسفر 38، پتاسیم 204، کلسیم 161، منیزیم 58، بور 0/5، مس 0/02، آهن 3، منگنز 0/5، مولیبدن 0/01 و روی 0/05 میلیگرم در لیتر بود (Hoagland and Arnon, 1950). ابتدا محلولهای غذایی با پنج نسبت نیترات به آمونیوم 100:0، 75:25، 50:50، 25:75 و 0:100 در تانکهای 200 لیتری تهیه گردید. سپس محلول داخل تانکها هر کدام به سه قسمت تقسیم شدند و pH آنها با افزودن 0.1M HCl و 0.1M NaOH، در 4/5، 6/5 و 8 تنظیم شد. برای تأمین عناصر غذایی پرمصرف و کممصرف، از منابع کودی KNO_3، $Ca(NO_3)_2.4H_2O$، $MgSO_4.7H_2O$، KH_2PO_4، K_2SO_4، $Mg(NO_3)_2.6H_2O$، $(NH_4)_2SO_4$، $ZnSO_4.7H_2O$، $CaCl_2.2H_2O$، Fe-EDDHA، Mn-EDTA، H_3BO_3، $CuSO_4.5H_2O$، NH_4Cl، $(NH_4)_6Mo_7O_{24}.4H_2O$ استفاده شد (Zhang et al. 2005). در ضمن آب مصرفی در گلخانه در آزمایشگاه تجزیه شد (Gupta, 2000) و هنگام تهیه محلولهای غذایی عناصر موجود در آب گلخانه نیز در نظر گرفته شد (جدول1). گیاهان در طول دوره رشد، هر روز با محلولهای غذایی به صورت دستی آبیاری شدند.

جدول 1- نتایج تجزیه شیمیایی آب گلخانه

عناصر	K	P	Na	Ca	Mg	Fe	Mn	Zn	Cu	Cl^-	HCO^-_3	pH	EC (dS/m)
غلظت (mg/L)	4/3	0/05	35	42	11	0/1	0	1	0	20	87	7/7	0/49

کاشت و داشت گیاه: ابتدا بذور گیاه اسفناج (*Spinacia oleracea L.*) هیبرید F_1 رقم سیریوس (Sirius) در خزانه کشت و از زمان کشت بذر تا یک هفته پس از جوانهزدن رطوبت مورد نیاز از طریق آبیاری با آب معمولی (آب شهر) تأمین شد. سپس نشاها به بستر رشد (گلدانها) منتقل گردید. سه نشای گیاه اسفناج در هر گلدان کشت و به مدت دو هفته با استفاده از یک دوم غلظت محلول غذایی "هوگلند تغییر یافته" با pH 6/5 و نیترات خالص محلولدهی شدند تا گیاهان به طور کامل استقرار یابند. سپس به مدت پنج هفته گیاهان با محلول غذایی کامل هر تیمار تغذیه شدند (Zhang et al. 2005). در طول دوره رشد، دمای گلخانه در طی روز 3±24 ºC و در شب 3±17 ºC و میانگین رطوبت نسبی گلخانه 55 درصد بود.

اندازهگیری صفات مورد بررسی

شدت فتوسنتز خالص: برای اندازهگیری شدت فتوسنتز خالص در اواخر دوره رشد بین ساعت 9 تا 13 از هر تیمار دو تکرار انتخاب شد و شدت فتوسنتز خالص با استفاده از دستگاه فتوسنتزمتر قابلحمل (HCM-100, Walls, Mess-Undergeltechnik, Germany) مورد سنجش قرار گرفت. غلظت CO_2 تعریف شده برای این دستگاه (حدود 500 پیپیام) مساوی با غلظت CO_2 محیط در نظر گرفته شد. تشعشع فعال فتوسنتزی (Photosynthetic active rate) اعمال شده بر روی برگها در زمان اندازهگیری، 800 میلیمول بر مترمربع در ثانیه بود. دمای محیط در این زمان 2±25 ºC و رطوبت نسبی گلخانه 55 درصد بود. سطح برگی که دستگاه برای اندازهگیری مورد استفاده قرار میداد، 2/5 سانتیمتر مربع بود. برای اندازهگیری شدت فتوسنتز خالص در هر گلدان شدت فتوسنتز خالص اندازهگیری شده توسط دستگاه به سطح برگ (بر حسب سانتی-متر مربع) ضرب و بر 2/5 تقسیم گردید.

شاخص کلروفیل برگها : غلظت کلروفیل برگ شاخص مستقیم سلامتی گیاه و وضعیت رشد آن است. لذا، شاخص کلروفیل برگها، پس از رشد کامل آنها، در اواسط دوره رشد با استفاده از دستگاه کلروفیلسنج (SPAD 502, Minolta, Japan) اندازهگیری شد. این دستگاه غلظت نسبی کلروفیل برگ را بر اساس مقدار نور جذب شده توسط کلروفیل، بدون تخریب برگ و سریع به صورت یک عدد نشان میدهد. بدین منظور، از هر واحد آزمایشی، شاخص کلروفیل 12 عدد از برگهای کاملاً توسعه یافته جوان توسط دستگاه کلروفیلسنج تعیین شد. سپس میانگین این 12 نمونه به عنوان شاخص کلروفیل برگ برای هر تکرار در نظر گرفته شد.

وزن تر و خشک اندامهای هوایی: پس از 7 هفته رشد، بخش هوایی گیاه از محل طوقه قطع شده و برداشت گردید و بلافاصله وزن تر آن با استفاده از ترازوی دیجیتالی تعیین شد. سپس نمونههای مذکور در درون دستگاه خشککن نمونههای گیاهی

(آون فندار) با دمای 70°C به مدت چهار روز نگهداری گردید تا خشک شدند و به کمک ترازوی دیجیتالی وزن خشک آنها نیز تعیین گردید.

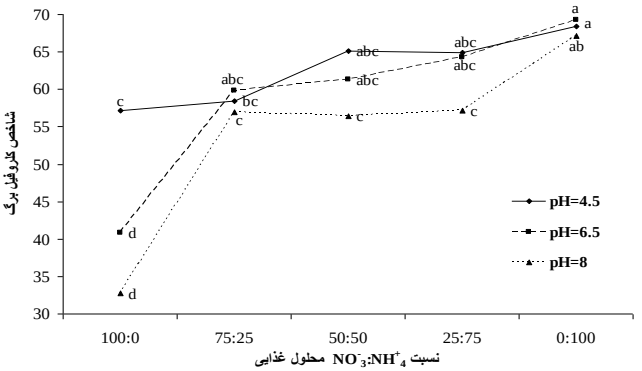
سطح برگ: پس از برداشت بخش هوایی گیاه، برگهای هر بوته جدا و شمارش شدند. سپس برگها روی تسمه دستگاه سطح برگسنج (Leaf Area Meter) مدل (Li-Cor, Model Li-1300, USA) که به طور ممتد میچرخید، قرار گرفتند. این دستگاه با اسکن کردن برگها مساحت آنها را بر حسب سانتیمتر مربع به طور دقیق محاسبه میکند. در هر تکرار سطح تمامی برگهای گیاهان تعیین شد.

تجزیه وتحلیل آماری: تجزیه و تحلیل آماری دادهها از قبیل آزمون نرمال بودن توزیع دادهها، تجزیه واریانس، مقایسه میانگینها و تجزیه رگرسیون با استفاده از نرمافزارهای MSTATC و SPSS انجام شد. مقایسه میانگینها با آزمون چند دامنهای دانکن در سطح احتمال پنج درصد انجام گردید و نمودارها با نرمافزار Excel رسم شد.

نتایج و بحث

شاخص کلروفیل برگها: تجزیه واریانس (جدول 2) نشان می-دهد که اثر اصلی pH و نسبت نیترات به آمونیوم محلول غذایی در سطح احتمال یک درصد و اثر متقابل pH و نسبت نیترات به آمونیوم محلول غذایی در سطح احتمال پنج درصد بر شاخص کلروفیل برگ معنیدار میباشند. مقایسه میانگینها نشان می دهد که با کاهش نسبت نیترات به آمونیوم محلول غذایی شاخص کلروفیل برگ به طور معنیداری افزایش میابد. با افزایش pH محلول غذایی از 4/5 به 6/5 شاخص کلروفیل برگها تغییر معنیداری نمیکند ولی با افزایش pH محلول غذایی از 6/5 به 8 شاخص کلروفیل برگها به طور معنیداری کاهش می - یابد (جدول 3).

شکل 1 نشان میدهد که اثر pH محلول غذایی فقط در نسبت نیترات به آمونیوم 100:0 بر شاخص کلروفیل برگ معنیدار است و با افزایش pH محلول غذایی از 4/5 به 6/5 شاخص کلروفیل برگ به طور معنیداری کاهش میابد و بین pH 6/5 و 8 تفاوت معنیداری وجود ندارد. به نظر میرسد که بخشی از کاهش شاخص کلروفیل در نسبت نیترات به آمونیوم 100:0 محلول غذایی ناشی از کمبود منگنز باشد، زیرا تیمارهایی که کمترین غلظت منگنز اندامهای هوایی را دارند، کمترین شاخص کلروفیل را نیز دارند (دادهها ارائه نشده است). Bottril et al. (1970) گزارش دادند که از میان عناصر غذایی پرمصرف، نیتروژن و از میان عناصر غذایی کممصرف، منگنز، بیشترین تأثیر را بر تشکیل کلروفیل در گیاه اسفناج دارد. آنان بیان داشتند که کمبود منگنز غلظت کلروفیل کل در برگهای اسفناج را 63 درصد کاهش داده است. Mercer et al. (1962) نیز گزارش کردند که کمبود منگنز غلظت کلروفیل در برگ اسفناج را کاهش داده است. آنان علت آن را تخریب ساختمان کلروپلاست و بر هم خوردن نظم طبیعی آن بر اثر کمبود منگنز بیان کردهاند. همانطور که در شکل 1 مشاهده میشود با افزایش غلظت آمونیوم محلول غذایی شاخص کلروفیل برگ افزایش میابد. Norisada and Kojima (2005) نیز گزارش دادند که شاخص کلروفیل برگ در شش گونه گیاهی مختلف، هنگام تغذیه با نیترات کمتر از تغذیه با آمونیوم بود. طبق نظر آنان، هنگام استفاده از نیترات به عنوان تنها منبع نیتروژن، احتمالاً مقدار کم نیتروژن آلی، به علت ناتوانی گیاه در همگونسازی تمام نیترات جذب شده، منجر به کاهش شاخص کلروفیل می - شود.



شکل 1- اثر برهمکنش pH و نسبت نیترات به آمونیوم محلول غذایی بر شاخص کلروفیل برگ. (میانگینهای دارای حداقل یک حرف لاتین مشترک، با آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنیدار ندارند).

شدت فتوسنتز خالص در هر گلدان (P_n): تجزیه واریانس (جدول4) نشان میدهد که اثر اصلی pH، نسبت نیترات به آمونیوم محلول غذایی و برهمکنش آنها بر شدت فتوسنتز خالص برگ در سطح احتمال یک درصد معنیدار میباشد. مقایسه میانگینها (جدول 5) نشان میدهد که بیشترین شدت فتوسنتز خالص در نسبت نیترات به آمونیوم 75:25 و کمترین شدت فتوسنتز خالص در نسبت نیترات به آمونیوم 0:100 میباشد. با افزایش غلظت آمونیوم محلول غذایی از صفر به 25 درصد، شدت فتوسنتز خالص افزایش و با افزایش بیشتر مجدداً کاهش میابد. همچنین، با افزایش pH محلول غذایی از 4/5 به 6/5 و از 6/5 به 8، شدت فتوسنتز خالص به طور معنیداری کاهش میابد (جدول 5). همچنین شکل 2 نشان میدهد که اثر pH محلول غذایی بر شدت فتوسنتز خالص بستگی به نسبت نیترات به آمونیوم محلول غذایی دارد به طوری که: 1) در نسبتهای نیترات به آمونیوم 100:0 و 75:25 با افزایش pH از 4/5 به 6/5 و از 6/5 به 8، شدت فتوسنتز خالص به طور معنیداری

کاهش میابد؛ 2) در نسبت نیترات به آمونیوم 50:50 با افزایش pH محلول غذایی از 4/5 به 6/5، شدت فتوسنتز خالص به طور معنیداری افزایش میابد ولی با افزایش pH محلول غذایی از 6/5 به 8 تغییر معنیداری مشاهده نمیشود؛ 3) در نسبتهای نیترات به آمونیوم 25:75 و 0:100 با افزایش pH از 4/5 به 6/5 و از 6/5 به 8 تغییر معنیداری در شدت فتوسنتز خالص مشاهده نمیشود. به طور کلی، در دو pH 4/5 و 6/5 بیشترین شدت فتوسنتز خالص در نسبت نیترات به آمونیوم 75:25 و در pH 8 در دو نسبت 75:25 و 50:50 میباشد. به عبارت دیگر، زیادی آمونیوم محلول غذایی شدت فتوسنتز را کاهش میدهد (شکل 2).

تأثیر آمونیوم بر شدت فتوسنتز از چندین بعد قابل بحث است، اول اینکه، تجمع یون آمونیوم تأثیر سمّی بر گیاه دارد و در بعضی از منابع به تأثیر بازدارندگی آمونیوم بر فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز اشاره شده است (Marschener, 1995). Raab and Terry (1994) بیان کردند که شدت فتوسنتز خالص بسته به گونه گیاه، میزان حساسیت گیاه به pH و شکل نیتروژن مصرفی می‌تواند افزایش یا کاهش یابد. Lasa et al. (2001) گیاهان اسفناج، آفتابگردان و نخود فرنگی را با آمونیوم خالص و نیترات خالص در pH 6/5، تغذیه نمودند و مشاهده کردند که تغذیه با آمونیوم شدت فتوسنتز خالص را در اسفناج و آفتابگردان به طور معنیداری کاهش داد ولی بر شدت فتوسنتز خالص نخودفرنگی تأثیر معنیدار نداشت. آنان این پدیده را به اثر سمّیت آمونیوم در گیاهان غیرلگوم نسبت دادند. به نظر Golvano et al. (1982) تفاوت بین شدت فتوسنتز گیاهان، هنگام تغذیه با آمونیوم و نیترات ناشی از اثر شکل نیتروژن بر فعالیت آنزیم‌های فتوسنتزی میباشد. افزایش فعالیت آنزیم‌های فتوسنتزی در تغذیه با آمونیوم در مقابل نیترات احتمالاً نتیجه افزایش میزان پروتئین گیاهان تغذیه شده با آمونیوم می‌باشد. به نظر میرسد بیشتر بودن شدت فتوسنتز خالص در نسبت نیترات به آمونیوم 75:25 در مقایسه با نسبت نیترات به آمونیوم 100:0 مربوط به این پدیده باشد.

جدول 2- تجزیه واریانس تأثیر pH و نسبت نیترات به آمونیوم محلول غذایی بر صفات مورد بررسی

منبع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات				
		شاخص کلروفیل	سطح برگها	تعداد برگها	وزن تر بخش هوایی	وزن خشک بخش هوایی
pH	2	383/38**	2233565*	828/86^{ns}	7/686**	119/05**
نسبت نیترات به آمونیوم	4	1008/25**	47839751**	22123/08 **	267/75**	2674/60**
pH× نسبت نیترات به آمونیوم	8	99/23*	8259163**	5091/84**	68/97**	587/20**
خطای آزمایش	45	34/94	595538/81	657/77	0/71	20/18
ضریب تغییرات (٪)	--	10/08	20/46	18/26	5/29	14/64

ns، * و ** به ترتیب غیرمعنیدار و معنیدار در سطح احتمال 5٪ و 1٪

جدول 3- مقایسه میانگینهای [1] اثر اصلی سطوح pH و نسبت نیترات به آمونیوم محلول غذایی بر صفات مورد بررسی

اثرات اصلی	سطوح	شاخص کلروفیل	تعداد برگ در هر گلدان	سطح برگ (m^2 pot^{-1})	وزن تر بخش هوایی (g pot^{-1})	وزن خشک بخش هوایی (g pot^{-1})
نسبت نیترات به آمونیوم محلول غذایی	100:0	43/05 d	135/70 c	4194/00 b	294/30 c	32/31 c
	75:25	58/39 c	195/00 a	6462/00 a	476/20 a	50/52 a
	50:50	62/55 b	167/80 b	4524/00 b	360/50 b	37/42 b
	25:75	63/66 b	119/80 c	2335/00 c	189/70 d	21/65 d
	0:100	68/51 a	83/83 d	1343/00 d	93/31 e	11/49 e
pH محلول غذایی	4/5	62/79 a	147/00 a	3854/00 ab	288/40 a	33/11 a
	6/5	59/07 a	136/00 a	4063/00 a	293/90 a	30/70 ab
	8/0	54/06 b	136/00 a	3407/00 b	266/20 b	28/23 b

1. در هر ستون، میانگینهای دارای حداقل یک حرف لاتین مشترک، با آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنیدار ندارند.

جدول 4- تجزیه واریانس تأثیر pH و نسبت نیترات به آمونیوم محلول غذایی بر شدت فتوسنتز خالص گیاه اسفناج

منبع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات شدت فتوسنتز خالص
pH	2	18/26**
نسبت نیترات به آمونیوم	4	117/19**
pH× نسبت نیترات به آمونیوم	8	24/12**
خطای آزمایشی	15	324/44
ضریب تغییرات(٪)	--	11/32

** معنیدار در سطح احتمال 1٪

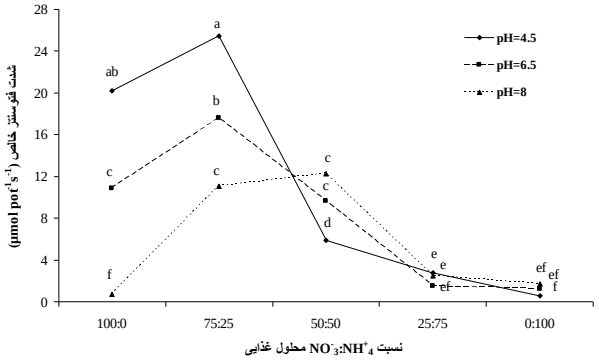
Muller et al. (1991) نشان دادند که شکل نیتروژن مصرفی بر تنفس نوری، هدایتروزنه‌ای و فعالیت آنزیم‌های فتوسنتزی تأثیر داشته و منجر به کاهش یا افزایش شدت فتوسنتز گیاه می‌شود. به نظر Rothstein and Cregg (2005) شدت فتوسنتز بیشتر در غلظت پایین آمونیوم ناشی از تغییرات در روابط آبی گیاه میباشد. آنان مشاهده کردهاند که با تغذیه آمونیومی در گونه‌های گیاهی مختلف هدایت روزنه‌ای و جذب

آب کاهش می‌یابد. طبق نظر Marschener (1995) زمانی که تنها منبع نیتروژن کاربردی به شکل آمونیوم باشد، مواد فتوسنتزی ساخته شده در قسمت هوایی صرف ساختن اسیدهای آمینه با وزن مولکولی کم می‌شود و تجمع این مواد حالت بازدارندگی بر شدت فتوسنتز ایجاد می‌کند. Kotsiras et al. (2002) دریافتند وجود غلظت بالای آمونیوم در محیط باعث کاهش غلظت پتاسیم، کلسیم و منیزیم در گیاه می‌شود که در این میان پتاسیم و منیزیم نقش مهمی در فتوسنتز دارند و کاهش آنها باعث کاهش کارایی میتوکندری و کلروپلاست می‌شود؛ در نتیجه، فتوسنتز خالص کاهش میابد.

جدول 5- مقایسه میانگینهای * اثر اصلی سطوح pH و نسبت نیترات به آمونیوم محلول غذایی بر شدت فتوسنتز خالص گیاه اسفناج

اثر اصلی	سطوح	شدت فتوسنتز خالص ($\mu mol\ pot^{-1}\ s^{-1}$)
نسبت نیترات به آمونیوم محلول غذایی	100:0	10/59 b
	75:25	18/03 a
	50:50	9/26 b
	25:75	2/24 c
	0:100	1/15 d
pH محلول غذایی	4/5	10/97 a
	6/5	8/15 b
	8/0	5/64 c

*میانگینهای دارای حداقل یک حرف لاتین مشترک، با آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنیدار ندارند.



شکل 2- اثر برهمکنش pH و نسبت نیترات به آمونیوم محلول غذایی بر فتوسنتز خالص در هر گلدان. میانگینهای دارای حداقل یک حرف لاتین مشترک، با آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنیدار ندارند.

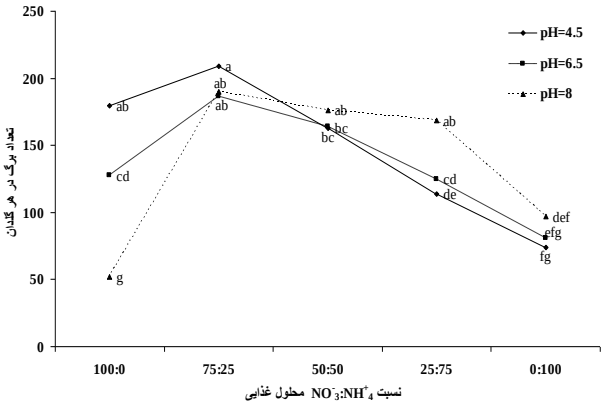
تعداد برگ در هر گلدان: با توجه به نتایج تجزیه واریانس (جدول2) اثر اصلی نسبت نیترات به آمونیوم محلول غذایی و اثر برهمکنش pH و نسبت نیترات به آمونیوم بر تعداد برگ در هر گلدان در سطح احتمال یک درصد معنیدار میباشد ولی اثر اصلی pH بر تعداد برگ در هر گلدان معنیدار نمیباشد. مقایسه میانگینها نشان میدهد که بیشترین تعداد برگ در هر گلدان در نسبت نیترات به آمونیوم 75:25 و کمترین تعداد برگ در نسبت نیترات به آمونیوم 0:100 میباشد. همچنین با افزایش غلظت آمونیوم محلول غذایی از صفر به 25 درصد، تعداد برگ در هر گلدان افزایش و با افزایش بیشتر مجدداً کاهش میابد (جدول3).

شکل3 نشان میدهد که تأثیر pH محلول غذایی بر تعداد برگ در هر گلدان به نسبت نیترات به آمونیوم محلول غذایی بستگی دارد به طوری که: 1) در نسبت نیترات به آمونیوم 100:0 با افزایش pH از 4/5 به 6/5 و از 6/5 به 8، تعداد برگ در هر گلدان به طور معنیداری کاهش میابد؛ 2) در نسبت نیترات به آمونیوم 25:75 تعداد برگ در هر گلدان در دو pH 4/5 و 6/5 تفاوت معنیداری ندارد ولی در pH 8 به طور معنی-داری با دو pH 4/5 و 6/5 متفاوت است؛ 3) در نسبتهای نیترات به آمونیوم 75:25، 50:50 و 0:100 تعداد برگ در هر گلدان در هر سه pH مورد مطالعه تفاوت معنیداری ندارد. بین شدت فتوسنتز خالص (P_n) و تعداد برگ در هر گلدان (LN) رابطه $LN = 34.043\ Ln(P_n) + 89.22$ با $r^2=0.80^{**}$ مشاهده گردید. این رابطه نشان میدهد که با افزایش شدت فتوسنتز خالص در هر گلدان تعداد برگ در هر گلدان نیز افزایش میابد. Strojny (1999) نیز مشاهده کرد که کاهش نسبت نیترات به آمونیوم محلول غذایی تعداد برگ رقم کرچوویناى (Kerchoveana) گل مارانتا را کاهش داد ولی بر رقم فاسیناتور (Fascinator) تأثیر معنیدار نداشت.

سطح برگ در هر گلدان: با توجه به نتایج تجزیه واریانس (جدول2) اثر اصلی pH، نسبت نیترات به آمونیوم محلول غذایی و برهمکنش آنها بر سطح برگ در هر گلدان در سطح احتمال یک درصد معنیدار میباشند. مقایسه میانگینها نشان میدهد که سطح برگ در هر گلدان در دو pH 4/5 و 6/5 تفاوت معنی-دار ندارد ولی با افزایش pH از 6/5 به 8 سطح برگ به طور معنیداری کاهش میابد و با افزایش غلظت آمونیوم محلول غذایی از صفر به 25 درصد، سطح برگ افزایش و با افزایش بیشتر غلظت آمونیوم محلول غذایی سطح برگ به طور معنی-داری کاهش میابد. به عبارت دیگر، بیشترین سطح برگ در هر گلدان در نسبت نیترات به آمونیوم 75:25 مشاهده میشود. کمترین سطح برگ در هر گلدان در نسبت نیترات به آمونیوم 0:100 میباشد (جدول 3).

شکل4 نشان میدهد که تأثیر pH بر سطح برگ در هر گلدان به نسبت نیترات به آمونیوم محلول غذایی بستگی دارد به طوری که: 1) در نسبت نیترات به آمونیوم 100:0، با افزایش pH از 4/5 به 6/5 و از 6/5 به 8، سطح برگ در هر گلدان به طور معنیداری کاهش میابد؛ 2) در نسبت نیترات به آمونیوم 75:25، سطح برگ در هر گلدان در pH 6/5 به طور معنیداری

بیشتر از pH 4/5 و 8 است و بین pH 4/5 و 8 تفاوت معنی - داری وجود ندارد؛ 3) در نسبت نیترات به آمونیوم 50:50، سطح برگ در هر گلدان در pH 6/5 به طور معنیداری کمتر از pH 4/5 و 8 است و بین pH 4/5 و 8 تفاوت معنیداری وجود ندارد؛ 4) در نسبت نیترات به آمونیوم 25:75 با افزایش pH از 4/5 به 6/5 و از 6/5 به 8، سطح برگ در هر گلدان به طور معنیداری افزایش میابد. روند مشابهی در نسبت نیترات به آمونیوم 0:100 نیز مشاهده میشود؛ با این تفاوت که سطح برگ در هر گلدان در pH 4/5 تفاوت معنیداری با pH 6/5 ندارد. برخی بررسیها نشان داده است که با تغذیه همزمان گیاه از هر دو شکل نیتروژن (آمونیوم و نیترات)، میزان تولید هورمون سایتوکینین حداکثر میشود (Smiciklas and Below, 1992; Chen et al. 1998). با توجه به نقش این هورمون در رشد و توسعه سلولی به نظر می‌رسد بخشی از افزایش سطح برگ در نسبت نیترات به آمونیوم 75:25 مربوط به این پدیده باشد (شکل5).



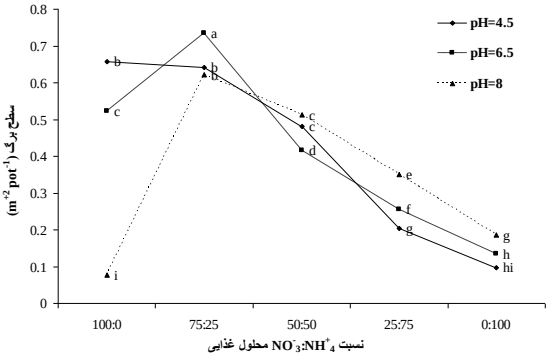
شکل 3- اثر برهمکنش pH و نسبت نیترات به آمونیوم محلول غذایی بر تعداد برگ در هر گلدان. میانگینهای دارای حداقل یک حرف لاتین مشترک، با آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنیدار ندارند.

وزن تر و خشک بخش هوایی: تجزیه واریانس (جدول 2) نشان میدهد که اثر اصلی pH، نسبت نیترات به آمونیوم محلول غذایی و برهمکنش آنها بر وزن تر بخش هوایی در سطح احتمال یک درصد معنیدار میباشد. مقایسه میانگینها نشان میدهد که بیشترین میانگین وزن تر اندامهای هوایی در نسبت نیترات به آمونیوم 75:25 و کمترین میانگین وزن تر اندامهای هوایی در نسبت نیترات به آمونیوم 0:100 میباشد. در pH هشت، کمترین میانگین وزن تر اندامهای هوایی مشاهده میشود و بین دو pH 4/5 و 6/5 تفاوت معنیدار وجود ندارد. با افزایش غلظت آمونیوم محلول غذایی از صفر به 25 درصد، میانگین وزن تر اندامهای هوایی افزایش و با افزایش بیشتر مجدداً کاهش میابد (جدول 3). شکل5 نشان میدهد که تأثیر pH محلول غذایی بر میانگین وزن تر اندامهای هوایی به نسبت نیترات به آمونیوم محلول غذایی بستگی دارد، به طوری که در pH برابر 4/5 با کاهش نسبت نیترات به آمونیوم محلول غذایی از 100:0 به 75:25 میانگین وزن تر اندامهای هوایی تغییر معنیداری نمی - یابد ولی در نسبتهای نیترات به آمونیوم 50:50، 25:75 و 0:100 به طور معنیداری کاهش مییابد و در pH، 6/5 و 8 با افزایش غلظت آمونیوم محلول غذایی از صفر به 25 درصد، وزن تر اندامهای هوایی اسفناج افزایش و با افزایش بیشتر مجدداً کاهش مییابد. همچنین شکل 5 نشان میدهد که وقتی از نیترات به عنوان تنها منبع نیتروژن استفاده میشود، با افزایش pH محلول غذایی از 4/5 به 6/5 و از 6/5 به 8 وزن تر اندام - های هوایی به طور معنیداری کاهش مییابد. نتایج تقریباً مشابهی بوسیله Islam et al. (1980) در گونههای مختلف گیاهی گزارش شده است.

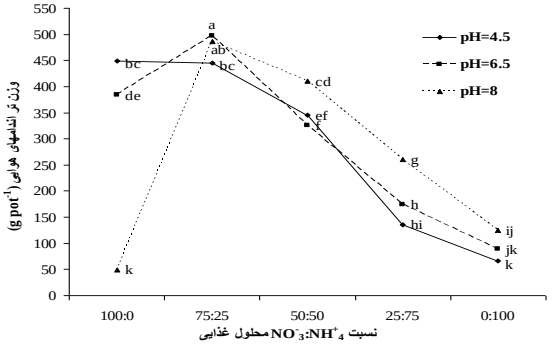
همانطور که در شکل 5 مشاهده میشود در نسبتهای مختلف نیترات به آمونیوم، تأثیر pH محلول غذایی بر میانگین وزن تر اندامهای هوایی متفاوت است؛ به طوری که، در نسبت نیترات به آمونیوم 75:25، با افزایش pH از 4/5 به 6/5 میانگین وزن تر اندامهای هوایی به طور معنیداری افزایش می - یابد ولی از pH 6/5 به 8 تغییر معنیداری نمییابد؛ همچنین، در نسبت نیترات به آمونیوم 75:25، بین دو pH 4/5 و 8، از نظر میانگین وزن تر اندامهای هوایی تفاوت معنیداری وجود ندارد. در دو نسبت نیترات به آمونیوم 50:50 و 25:75، میانگین وزن تر اندامهای هوایی در دو pH 4/5 و 6/5 تفاوت معنیدار ندارد؛ ولی با افزایش pH به هشت به طور معنیدار افزایش میابد. روند مشابهی در نسبت نیترات به آمونیوم 0:100 نیز مشاهده میشود؛ با این تفاوت که میانگین وزن تر اندامهای هوایی در pH 8 تفاوت معنیداری با pH 6/5 ندارد.

شکل 5 نشان میدهد که کمترین رشد گیاه اسفناج در pH 8، در نسبت نیترات به آمونیوم 100:0 (تغذیه با نیترات خالص) و در pH 4/5، در نسبت نیترات به آمونیوم 0:100 (تغذیه با آمونیوم خالص) مشاهده میشود. Findenegg (1987) گزارش داده است که گیاه اسفناج هنگام تغذیه با محلول غذایی با آمونیوم خالص در pH چهار رشد نکرده است. شکل6 نشان میدهد که روند تغییرات شدت فتوسنتز خالص و وزن تر اندامهای هوایی بسیار مشابه است و با افزایش شدت فتوسنتز خالص در هر گلدان وزن تر اندامهای هوایی نیز افزایش میابد. همچنین، 91/33 درصد از تغییرات وزن تر اندامهای هوایی به تغییرات شدت فتوسنتز خالص مربوط است که با توجه به نقش فتوسنتز در ساخت ترکیبات آلی مختلف وجود چنین

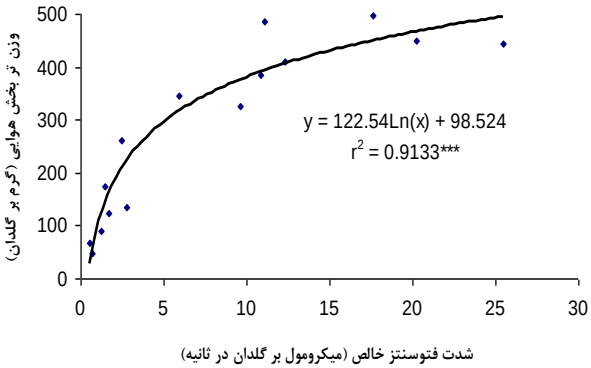
رابطهای دور از انتظار نیست.



شکل 4- اثر برهمکنش pH و نسبت نیترات به آمونیوم محلول غذایی بر سطح برگ در هر گلدان. میانگینهای دارای حداقل یک حرف لاتین مشترک، با آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنیدار ندارند.



شکل 5- اثر برهمکنش pH و نسبت نیترات به آمونیوم محلول غذایی بر وزن تر بخش هوایی. میانگینهای دارای حداقل یک حرف لاتین مشترک، با آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنیدار ندارند.



شکل 6- رابطه بین شدت فتوسنتز خالص و وزن تر بخش هوایی.

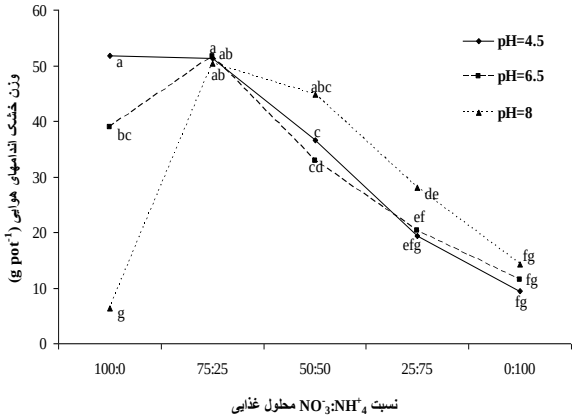
تجزیه واریانس (جدول 2) نشان میدهد که اثر اصلی pH، نسبت نیترات به آمونیوم محلول غذایی و برهمکنش آنها بر وزن خشک اندامهای هوایی در سطح احتمال یک درصد معنیدار میباشد. مقایسه میانگینها نشان میدهد که بیشترین میانگین وزن خشک اندامهای هوایی مربوط به نسبت نیترات به آمونیوم 75:25 و کمترین میانگین وزن خشک اندامهای هوایی در نسبت نیترات به آمونیوم 0:100 میباشد. کمترین میانگین وزن خشک اندامهای هوایی در pH هشت مشاهده میشود و بین pH 4/5 و 6/5 و همچنین بین pH 6/5 و 8 نیز تفاوت معنیداری وجود ندارد در حالی که بین pH 4/5 و 8 تفاوت معنیدار میباشد. با افزایش غلظت آمونیوم محلول غذایی از صفر به 25 درصد، میانگین وزن خشک اندامهای هوایی افزایش و با افزایش بیشتر مجدداً کاهش میبابد (جدول 3).

شکل 7 همچنین نشان میدهد که تأثیر pH محلول غذایی بر وزن خشک اندامهای هوایی به نسبت نیترات به آمونیوم محلول غذایی بستگی دارد؛ به طوری که، در pH 4/5 با کاهش نسبت نیترات به آمونیوم محلول غذایی از 100:0 به 75:25، وزن خشک اندامهای هوایی تغییر معنیداری نمییابد؛ ولی در نسبتهای نیترات به آمونیوم 50:50، 25:75 و 0:100 به طور معنیداری کاهش میبابد؛ در pH برابر 6/5 با افزایش غلظت آمونیوم محلول غذایی از صفر به 25 درصد، میانگین وزن خشک اندامهای هوایی افزایش و با افزایش بیشتر مجدداً کاهش میبابد؛ در pH هشت با کاهش نسبت نیترات به آمونیوم محلول غذایی از 100:0 به 75:25 میانگین وزن خشک اندامهای هوایی به طور معنیداری افزایش میبابد؛ با کاهش نسبت نیترات به آمونیوم محلول غذایی از 75:25 به 50:50 میانگین وزن خشک اندامهای هوایی تغییر معنیداری نمییابد ولی در نسبت نیترات به آمونیوم 25:75 و 0:100 به طور معنیداری کاهش میبابد (شکل 7). بین شدت فتوسنتز خالص و وزن خشک اندامهای هوایی رابطه $DW=12.692Ln(Pn) + 12.085$ با $r^2=0.93^{**}$ مشاهده گردید. این رابطه نشان میدهد که با افزایش شدت فتوسنتز خالص در هر گلدان وزن خشک اندمهای هوایی نیز افزایش میبابد. همچنین بخش عمده (93 درصد) تغییرات ماده خشک اندامهای هوایی ناشی از تغییرات شدت فتوسنتز خالص میباشد. بیشترین وزن خشک اندامهای هوایی، در pH 4/5 در نسبتهای نیترات به آمونیوم 100:0 و 75:25، در pH 6/5 در نسبت نیترات به آمونیوم 75:25 و در pH هشت در نسبتهای نیترات به آمونیوم 75:25 و 50:50 مشاهده می - شود (شکل 3). Elia et al. (1999) و Zhang et al. (2005) تأثیر شکلهای مختلف نیتروژن بر کیفیت و عملکرد گیاه اسفناج را مطالعه و مشاهده کردند که در کشت هیدروپونیک این گیاه نیترات را به آمونیوم ترجیح میدهد. ترجیح نیترات به آمونیوم در سایر گیاهان نیز بوسیله محققان مختلف گزارش شده است (Serna et al. 1992; Rothstein and Cregg, 2005; Kane et al. 2006; Tabatabaei et al. 2006). لازم به ذکر است که این اثر آمونیوم بسته به نوع گیاه متفاوت است؛ به طوری که گزارش شده است که گیاه کرفس شکل آمونیومی نیتروژن را ترجیح میدهد (Termblay and Gosselin, 1989). همانطور که در شکلهای 5 و 7 مشاهده میشود با افزایش غلظت آمونیوم

محلول غذایی از 25درصد به 100 درصد وزن تر و خشک اندامهای هوایی گیاه اسفناج به طور خطی کاهش مییابد. به نظر میرسد این کاهش ناشی از اثر سمیت آمونیوم بر رشد گیاه میباشد که در بخش مقدمه ذکر شده است. از طرف دیگر، با افزایش غلظت آمونیوم محلول غذایی، غلظت برخی عناصر غذایی مثل منگنز، کلسیم، پتاسیم و منیزیم در اندامهای هوایی کاهش مییابد که ممکن است باعث کاهش وزن تر و خشک اندامهای هوایی گیاه اسفناج گردد (Rothstein and Cregg, 2002; Kim et al. 2005; Kotsiras et al 2005; Magalhaes and Wilcox, 1986; Osman and Marschener, 1995; Wilcox, 1993;).

نتیجهگیری کلی

به طور کلی، بیشترین رشد گیاه اسفناج در pH 4/5 با نسبتهای نیترات به آمونیوم 100:0 و 75:25، در pH 6/5 با نسبت نیترات به آمونیوم 75:25 و در pH 8 با نسبتهای نیترات به آمونیوم 75:25 و 50:50 مشاهده گردید. به عبارت دیگر، نسبت نیترات به آمونیوم مناسب برای رشد گیاه اسفناج بسته به pH محلول غذایی متفاوت بود. با توجه به اینکه مصرف اسفناج در غذاهای ایرانی زیاد است و به صورت تازه مصرف میشود، برای دستیابی به حداکثر عملکرد تر این گیاه در کشت هیدروپونیک، نسبت نیترات به آمونیوم 75:25 و pH 6/5 در محلول غذایی مورد استفاده توصیه میشود.



شکل 7- اثر برهمکنش pH و نسبت نیترات به آمونیوم محلول غذایی بر وزن خشک بخش هوایی. میانگینهای دارای حداقل یک حرف لاتین مشترک، با آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنیدار ندارند.

REFERENCES

Babourina, O., Voltchanskii, K., Bart McGann, B., Newman, I. and Rengel, Z. (2006). Nitrate supply affects ammonium transport in canola roots. *Journal of Experimental Botany*, 58(3), 651-658.

Barker, A. V. and Mills, H. A. (1980). Ammonium and nitrate nutrition of horticultural crops. *Horticultural Reviews*, 2, 395-423.

Bottril, D. E., Possigham, J. V., and P. E. Kriedemann, P. E. (1970). The effect of nutrient deficiencies on photosynthesis and respiration on spinach. *Plant and Soil*, 33, 424-438.

Britto, D. T. and Kronzucker, H. J. (2002). NH_4^+ toxicity in higher plants, a critical review. *Journal of Plant Physiology*, 159, 567-584.

Chen, J. G., Cheng, S. H., Cao, W. X., and Zhou, X. (1998). Involvement of endogenous plant hormones in the effect of mixed nitrogen source on growth and tillering of wheat. *Journal of Plant Nutrition*, 21, 87-97.

Cruz, C., Lips, S. H., and Martins-Loucao, M. A. (1993). Nitrogen assimilation and transport in carob plants. *Physiologia Plantarum*, 89 (3), 524-531.

Delshad, M., Babalar, M. and Kashi, A.K. (2000). Effect of NH_4^+/NO_3^- ratio of nutrient solution greenhouse tomato cultivars in hydroponic culture. *Iranian Journal of Agricultural Science*, 31 (3), 613-625.

Elia, A., Santamaria, P. and Serio, F. (1999). Nitrogen nutrition, yield and quality of spinach. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 76(3), 341-346.

Errebhi, M. and Wilcox, G. E. (1990). Plant species response to ammonium-nitrate concentration ratios. *Journal of Plant Nutrition*, 13 (8), 1017-1029.

Findenegg, G. R. (1987). A comparative study of ammonium toxicity at different constant pH of the nutrient solution. *Plant and Soil*, 103, 239-243.

Gerendas, J., Zhu, Z., Bendixen, R., and Sattelmacher, B. (1997). Physiological and biochemical processes related to ammonium toxicity in higher plants. *Zeitschrift für Pflanzenernährung und Bodenkunde*, 160, 239-251.

Golvano, M. P., Felipe, M. R., and Cintas, A. M. (1982). Influence of N source on chloroplast development in wheat seedlings. *Physiologia Plantarum*, 56: 353-360.

Gupta, P.K. (2000). *Soil, plant, water, and fertilizer analysis*. Agrobios, New Delhi, India.

Gutschick, V. P. (1981). Evolved strategies in nitrogen acquisition by plants. *The American Naturalis*, 118 (5), 607-637.

Heuer, B. (1991). Growth, photosynthesis and protein content in cucumber plants as affected by supplied nitrogen form. *Journal of Plant Nutrition*, 14 (4), 363-373.

Hoagland, D. R. and Arnon, D. S. (1950). The water culture method for growing plants without soil. *California Agricultural Experiment Station Circular No.* 347, (pp.1-32). California University, Berkeley, USA.

Hoffman, A., Milde, S., Desel, C., Humpel, A., Kaiser, H., Hammes, E., Piippo, M., Soitamo, A., Aro, E. M., Gerendas, J., Sattelmacher, B., and Hansen, U. P. (2007). N form-dependent growth retardation of *Arabidopsis thaliana* seedlings as revealed from physiological and microarray studies. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 170 (1), 87-97.

Islam, A. K. M. S., Edwards, D. G., and Asher, C. J. (1980). pH optima for crop growth. Results of a

flowing solution culture experiment with six species. *Plant and Soil*, 54, 339-357.

Kane, C. D., Jasoni, R. L., Peffley, E. P., Thompson, L. D., Green, C. J., Pare, P. and Tissue, D. (2006). Nutrient solution and solution pH influences on onion growth and mineral content. *Journal of Plant Nutrition*, 29 (2), 375-390.

Kim, T., Mills, H. A., and Wetzstein, H. Y. (2002). Studies on effects of nitrogen form on growth, development, and nutrient uptake in pecan. *Journal of Plant Nutrition*, 25(3): 497-506.

Kotsiras, A., Olympios, C.M., Drosopoulos, J., and Pasma, H.C. (2002). Effect of nitrogen form and concentration on the distribution of ions within cucumber fruit. *Scientia Horticulturae*, 95 (3), 175-183.

Lasa, B., Frechilla, S., Lamsfus, C., and Tejo, P. M. A. (2001). The sensitivity to ammonium nutrition is related to nitrogen accumulation. *Scientia Horticulturae*, 91 (1-2), 143-152.

Lavoie, N., Venzina, L. P., and Margolis, H. (1992). Absorption and assimilation of nitrate and ammonium ions by jack pine seedlings. *Tree Physiology*, 11, 171-183.

Magalhaes, J. R. and Wilcox, G. F. (1983). Tomato growth and nutrient uptake patterns as influenced by nitrogen form and light intensity. *Journal of Plant Nutrition*, 6 (11), 941-956.

Marschener, H. (1995). *Mineral nutrition of higher plants*. 2nd edition, Academic Press, London.

Mercer, F. V., Nittin, M., and Possingham, J. V. (1962). The effect of manganese deficiency on the structure of spinach chloroplasts. *The Journal of Cell Biology*, 15, 379-381.

Muller, R., Baier, M. and Kasier, W. M. (1991). Differential stimulation of PEP carboxylation in guard cells and mesophyll cells by ammonium or fusicoccin. *Journal of Experimental Botany*, 42, 215-220.

Munzarova, E.T., Lorenzen, B., Brix, H., Vojtiskova, L. and Votrubova, O. (2006). Effect of NO_3^-/NH_4^+ availability on nitrate reductase activity and nitrogen accumulation in wetland halophytes *Phragmites australis* and *Glyceria maxima*. *Environmental and Experimental Botany*, 55 (1-2), 49-60.

Norisada, M. and Kojima, K. (2005). Nitrogen form preference of six dipterocarp species. *Forest Ecology and Management*, 216, 175-186.

Osman, M. E. and Wilcox, G. E. (1986). Nitrogen form ratio influence on muskmelon growth, composition, and manganese toxicity. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 111(3), 320-322.

Osorio, N. W., Shuai, X., Miyasaka, S., Wang, B., Shirey, R. L., and Wigmore, W. J. (2003). Nitrogen level and form affect taro growth and nutrition. *HortScience*, 38 (1), 36-40.

Raab, T. K. and Terry, N. (1994). Nitrogen source regulation of growth and photosynthesis in *Beta vulgaris* L. *Journal of Plant Physiology*, 105 (4), 1159-1166.

Ramachandran, A., Hrycan, W., Bantle, J. and Waterer, D. (2005). Seasonal Changes in tissue nitrate levels in fall-planted spinach (*Spinacia oleracea* L.). University of Saskatchewan, Canada, Retrieved May 9, 2008, from *http:/ /www. usask. ca/ agriculture /plantsci /vegetable /resources/ student/ spinachsap_2005.pdf*

Redinbaugh, M.G. and Campbell, W. H. (1993). Glutamine-synthetase and ferredoxin-dependent glutamate synthase expression in the maize (*Zea mays*) root primary response to nitrate. Evidence for an organ-specific response. *Plant Physiology*, 101, 1249-1255.

Rothstein, D. E. and Cregg, B. M. (2005). Effects of nitrogen form on nutrient uptake and physiology of Fraser fir (*Abies fraseri*). *Forest Ecology and Management*, 219, 69-80.

Rubatzky, E. and Yamaguchi, M. (1997). *World vegetables, principles, production and nutritive values*. Chapman and Hall, 843 pages. USA.

Serna, M. D., Borras, R., Legaz, F., and Millo, E. P. (1992). The influence of nitrogen concentration and ammonium/nitrate ratio on N-uptake, mineral composition and yield of citrus. *Plant and Soil*, 147, 13-23.

Smiciklas, K. D. and Below, F. E. (1992). Role of cytokinin in enhanced productivity of maize supplied with NH^+_4 and NO^-_3. *Plant and Soil*, 142, 307-313.

Strojny, Z. 1999. Effect of nutrient solution concentration and NH^+_4: NO^-_3 ratio on Maranta growth. *Scientia Horticulturae*, 80 (1-2), 105-112.

Tabatabaei, S. J., 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.

Takacs, E. and Tecsi, L. (1992). Effect of NO_3^-/NH_4^+ ratios on photosynthetic rates, nitrate reductase activity and chloroplast ultrastructure in three cultivars of red pepper (*Capsicum annuum* L.). *Journal of Plant Physiology*, 140, 228-305.

Termblay, N. and Gosselin, A. (1989). Growth and nutrient status of celery seedling in response to nitrogen fertilization and NO_3^-:NH_4^+ ratio. *HortScience*, 24(2), 284-288.

Valentine, A. J., Osborne, B. A., and Mitchell, D. T. (2001). Interactions between phosphorous supply and total nutrient availability on mycorrhizal colonization, growth and photosynthesis of cucumber. *Scientia Horticulturae*, 88, 177-187.

Zhang, X. K. and Rengel, Z. (1999). Gradients of pH and ammonium and phosphorus concentration between the banded fertilizer and wheat roots. *Australian Journal of Agricultural Research*, 50: 365-373.

Zhang, X. K. and Rengel, Z. (2003). Soil solution composition in association with the toxicity of banded di-ammonium phosphate to wheat and amelioration by $CaCO_3$. *Australian Journal of Agricultural Research*, 54, 183-191.

Zhang, Y., Lin, X., Zhang, Y., Zhang, S. J., and Du. S. (2005). Effects of nitrogen levels and nitrate/ammonium ratio on oxalate concentration of

different forms in edible parts of spinach (*Spinacia oleracea* L.). *Journal of Plant Nutrition*, 28 (11), 2011-2025.