مجله علوم و فنون باغبانی ایران جلد ۲۵ شماره ۲ صفحه‌های ۲۴۵ تا ۲۶۲ (۱۴۰۳)
مقاله پژوهشی

# بررسی برهمکنش نیکل و اوره بر ویژگی‌های مورفولوژیکی و بیوشیمیایی گل رز رقم تونایت در شرایط آبکشت

# Investigation of Nickel and Urea Interaction on Morphological and Biochemical Characteristics of Roses (*Rosa hybrida* cv. Tonight) in Hydroponic Cultivation

**صابر شکری[۱]، پرویز نوروزی[۱*] رسول راهنمایی[۲] و جواد رضاپورفرد[۱]**

۱. گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه، ارومیه

۲. گروه علوم خاکشناسی دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس، تهران

* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: (p.noruzi@urmia.ac.ir)

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۶/۴، تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۸/۲۰

## چکیده

اوره یکی از منابع کودی نیتروژن می‌باشد که با توجه به هزینه پایین، کاربرد آسان و محتوی نیتروژن بالا (۴۶ درصد)، کاربردهای زیادی در کشاورزی دارد. نقش اصلی نیکل شرکت در سوخت و ساز اوره در گیاهان با منبع نیتروژن اوره می‌باشد. این پژوهش با هدف بررسی اثر تغذیه نیکل و اوره در محیط آبکشت بر خصوصیات رشد و همچنین کاهش اثرهای منفی کاربرد آمونیوم در فصل زمستان (کاهش pH محیط ریشه و عدم جذب عناصر) در رز بریدنی رقم تونایت انجام شد. این پژوهش به صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملا تصادفی با سه سطح اوره (صفر ، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکرومولار) و سه سطح نیکل (صفر، ۲/۵ و ۵ میکرومولار) از منبع نیترات نیکل به صورت اضافه کردن مستقیم به محلول غذایی انجام شد. سه ماه بعد از اعمال تیمارها نمونه‌برداری از برگ‌های توسعه‌یافته برای آنالیز صفات مورفولوژیکی و بیوشیمیایی انجام شد. یافته‌های این پژوهش نشان داد که برهمکنش نیکل و اوره بر صفات ارتفاع شاخه، طول و قطر گل، عمر گلجای، وزن تازه، قطر شاخه، محتوی کلروفیل و کارتنوئید، پروتئین کل، آنتوسانین و فنول معنی‌دار بود. کاربرد همزمان ۱۰۰۰ میکرومولار اوره و ۲/۵ میکرومولار نیکل منجر به افزایش ۴۰ درصدی عملکرد نسبت به تیمار شاهد شد. بالاترین ارتفاع شاخه (۸۶/۹۶ سانتیمتر) در تیمار ۱۰۰۰ میکرومولار اوره و ۲/۵ میکرومولار نیکل به‌دست آمد. غلظت‌های بالای نیکل منجر به کاهش آنتوسیانین، کلروفیل و افزایش مقدار فنول کل و در نتیجه منجر به کاهش سبزینگی برگ‌ها شد. بیشترین میزان فعالیت آنزیم سوپراکسیددسموتاز (۰/۵۷۷ واحد بر گرم وزن تر) در تیمار ۵۰۰ میکرومولار اوره و ۲/۵ میکرومولار نیکل و کمترین میزان فعالیت آنزیم (۰/۳۳۷ واحد بر گرم وزن تر) در تیمار ۵۰۰ میکرومولار اوره بدون حضور نیکل به‌دست آمد. استفاده از اوره به جای آمونیوم در محلول غذایی از کاهش pH محیط ریشه جلوگیری کرد.

**واژه‌های کلیدی:** آنتوسیانین، فنول، سوپراکسیددیسموتاز، بیوشیمیایی.

## مقدمه

رز با نام علمی *Rosa hybrida* L. با اختصاص بیش از یک سوم تولید گل بریدنی در مقام اول تولید و تجارت گل‌های بریدنی در جهان قرار دارد. رضایت‌مندی خریداران گل شاخه‌بریده رز همبستگی زیادی با ویژگی‌های کیفی آن مانند جذابیت رنگ، طول و قطر شاخه، اندازه گل، شادابی و عمر گلجایی آن دارد. اغلب این ویژگی‌ها و همچنین عملکرد گیاه تحت تاثیر شرایط رشد و نمو گیاهان قرار دارد. یکی از عوامل اصلی در رشد و نمو بهینه گیاهان از جمله گل رز، تغذیه مناسب است که عامل افزایش

کمی و کیفی تولید است (Bar-Yosef *et al*., 2009).

گل رز شاخه بریده اغلب به روش کشت بی‌خاک تولید می‌شود. در این روش عناصر غذایی مورد نیاز گیاهان به شکل محلول در آب (محلول غذایی) در اختیار گیاهان قرار می‌گیرد. یکی از عناصر غذایی پرمصرف در تغذیه گل رز، نیتروژن است که بیش از ۹۰ درصد آن به شکل نیترات و باقیمانده آن به شکل آمونیوم تامین می‌شود. معمولا گیاهان تمایل بیشتری به جذب آمونیوم در مقایسه با جذب نیترات دارند زیرا انرژی لازم برای تولید یک واحد پروتئین از آمونیم (نسبت به نیترات) برای گیاهان، بسیار کمتر است (Mercurio, 2007). از سوی دیگر، کاربرد آمونیم در تغذیه گیاهان به دلیل اثر مستقیم آن در تغییر pH بستر محیط ریشه (که اثر آن به طور غیر مستقیم در pH زه‌آب دیده می‌شود) محدود است. زیرا با افزایش نسبت آمونیم به نیتروژن در محلول غذایی، pH بستر کشت کاهش پیدا می‌کند. بنابر این، نسبت این دو شکل نیتروژنی به گونه‌ای در محلول غذایی تنظیم می‌شود که pH محیط ریشه در محدوده مناسب قرار گیرد. بنابراین، در طول دو فصل پاییز و زمستان، که گیاهان به نور کمتری دسترسی دارند و در نتیجه فتوسنتز نیز کاهش پیدا می‌کند، استفاده از آمونیم می‌تواند در رشد و نمو گیاهان اثر مثبت داشته باشد ولی کاهش pH بستر موجب می‌شود که مصرف آمونیم نسبت به دو فصل بهار و تابستان به شدت کاهش پیدا کند (Marschner, 2011).

از طرف دیگر، کود اوره یکی از منابع مهم تامین نیتروژن گیاهان است که در کشت خاکی معمولا توسط میکروارگانیسم‌ها تجزیه و به آمونیوم و سپس نیترات تبدیل و سپس توسط گیاهان جذب می‌شود. گیاهان قادر هستند که اوره را به صورت مستقیم و به فرم مولکولی نیز جذب کنند و سپس در برگ، آن را به آمونیم تبدیل کنند (Witte, 2011). فرآیند هیدرولیز اوره به آمونیم در برگ به کمک آنزیم اوره آز[۱] انجام می‌شود که نیکل، عنصر کلیدی در ساختار مولکولی آن است. بنابراین، هرچند که اطلاعات ما درباره نقش نیکل در تغذیه، فیزیولوژی و متابولیسم اکثر گیاهان محدود است، ولی به نظر می‌رسد که کمبود نیکل فرآیند هیدرولیز اوره به آمونیم در برگ را به شدت کند می‌کند و بر این اساس، بسیاری از محققان نیکل را به عنوان یک عنصر ضروری در نظر می‌گیرند. چنانچه از اوره به عنوان منبع تامین نیتروژن گیاه در روش آبکشت استفاده شود، تامین نیکل مورد نیاز گیاهان نیز ضروری می‌شود (Marschner, 2023).

در پژوهش‌های پیشین، اثرات سودمند استفاده از نیکل در تغذیه گیاهان نشان داده شده است. از جمله اثر افزودن نیکل به محلول غذایی گل بریده لیزیانتوس[۲] بررسی شده و گزارش شده است که در حضور نیکل بهبود صفات کمی و کیفی مشاهده شد (Dolatkhahi *et al*., 2014). همچنین، اثر افزودن اوره و نیکل به محلول غذایی توت‌فرنگی، نشان داده است که تیمار ۱ میلی‌گرم در لیتر سولفات نیکل در ترکیب با نسبت دو قسمت نیترات، یک قسمت آمونیوم و یک قسمت اوره، بهترین نتیجه را می‌دهد (Ranjbar *et al*., 2011; Daneshmand *et al*., 2019). در گل رز، بیشترین میزان طول شاخه (۸۸/۳ سانتیمتر) در تیمار اوره ۲۵، آمونیوم ۲۵ و نیترات ۵۰ درصد به‌دست آمده است (Hosseini Farahi *et al*., 2013). در گیاه گوجه‌فرنگی نیز مشاهده شده است که استفاده از ترکیب اوره و نیترات برای رشد کافی گیاه بدون کاهش جذب کاتیون‌ها موثر است زیرا pH پایداری در محیط ریشه گیاه ایجاد می‌کند (Tan *et al*., 2000). به طور مشابه گزارش شده است که کاربرد ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر نیکل در محلول غذایی دارای اوره، منجر به افزایش معنی‌دار عملکرد و کیفیت میوه خیار می‌شود (Tabatabaei, 2009).

با توجه به ارزش اقتصادی جایگزینی بخشی از نیتروژن محلول غذایی با اوره و همچنین اثر مثبت آن در فرآیند تغذیه و رشد و نمو گیاهان به ویژه در دو فصل پاییز و زمستان، در این پژوهش، اثر سه غلظت (۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکرومولار) اوره و سه غلظت (۰، ۲/۵ و ۵ میکرومولار) نیکل روی رشد و نمو و ویژگی‌های مورفولوژیک و بیوشیمیایی گل رز در روش آبکشت، بررسی گردید.

# مواد و روش‌ها

## محل انجام آزمایش و شرایط محیطی رشد گیاهان

این پژوهش از زمستان سال ۱۴۰۰ تا اواخر بهار ۱۴۰۱ در بخشی از گلخانه تجاری گل رز شاخه‌بریده شرکت کاسپین گل پارسیان، واقع در استان قزوین شهرستان آبیک با ۱۵۲۰ متر ارتفاع از سطح دریا انجام گردید. این گلخانه با پوشش شیشه‌ای و دارای سیستم مکانیزه برای کنترل آبیاری، تغذیه و اقلیم داخلی است. در طول دوره آزمایش، میانگین دمای روزانه در روزهای

۱- Urease

۲- Lisianthus " *Eustoma grandiflorum*"

آفتابی و ابری به ترتیب ۲۱ و ۱۹ درجه سلسیوس (۲±)و دمای شبانه ۱۷ درجه سلسیوس با رطوبت نسبی بین ۷۰-۷۵ درصد و شدت نور بین ۳۰- ۳۵ کیلولوکس بود.

## تهیه مواد گیاهی کشت و آماده‌سازی قبل از تیمار

رقم مورد استفاده در این پژوهش رقم تونایت بود که به شیوه قلمه تکثیر شده بود (شکل ۱). رقم تونایت از ارقام بسیار مهم گل رز شاخه‌بریده در ایران و دیگر کشورها می‌باشد. گیاهان در گلدان‌های هشت لیتری (به ترتیب با ارتفاع و قطر ۲۵ و ۲۰ سانتی‌متر) که تا ارتفاع ۲۰ سانتی‌متری با بستر کشت پرلایت و کوکوپیت با نسبت ۲۵:۷۵ پر شده بودند، کشت شدند. قبل از اعمال تیمارها و به منظور یکنواخت‌سازی رشد و نمو بوته‌ها، گیاهان به مدت شش ماه (۴ فلش گلدهی) با برنامه غذایی مورد استفاده در کل گلخانه تغذیه شدند (جدول ۱). در این دوره، همه عملیات باغبانی همچون فرم‌دهی، خم کردن[1] شاخه‌ها و هرس به شیوه گیاهان تجاری انجام شد. این دوره آماده‌سازی، به دلیل تکثیر رویشی گیاهان (از طریق قلمه) و تفاوت رشدی بین آن‌ها کاملا ضروری بود.

جدول ۱- برنامه غذایی رشد گیاهان در ۶ ماه اولیه قبل از اعمال تیمار.

Table 1. Fertilizer formula for plant growth in the first 6 months before applying the treatment.

| عناصر Elements | بیکربنات ($H_3CO_3$) | کلسیم (Ca) | منیزیم (Mg) | نیترات ($NO_3^-$) | فسفات ($H_2PO_4$) | سولفات ($SO4^{2-}$) | آهن (Fe) | منگنز (Mn) | پتاسیم (K) | بر (B) | آمونیوم ($NH_4^+$) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| میلی مولار (Mmol) | 0.7 | 2.71 | 1.29 | 9.97 | 0/99 | 1.52 | 0.03 | 0.001 | 3.59 | 0.023 | 0.360 |

## آماده‌سازی گیاهان جهت اعمال تیمارها

پس از کاشت قلمه‌های ریشه‌دار شده (در تاریخ ۱۵ تیر ۱۴۰۰)، شاخه‌ها غنچه‌گیری شدند تا جوانه‌های جانبی فعال شوند و شاخه‌ها برای مرحله خم کردن جارویی شوند. یک ماه بعد از کاشت قلمه‌های ریشه‌دار شده در گلدان‌ها، مرحله اول خم کردن شاخه‌ها انجام شد. حدود ۴۰ روز پس از خم کردن شاخه‌ها، اولین فلش گل‌ها رخ داد و فلش دوم و سوم با فواصل تقریبا ۴۵ روز انجام شد. پس از اطمینان از رشد به نسبت یکسان گیاهان، تیمارهای آزمایشی (از تاریخ ۱ دی ماه ۱۴۰۰) اعمال شدند (شکل ۲).

شکل ۱- قلمه‌های ریشه‌دار شده جهت کشت در گلدان.

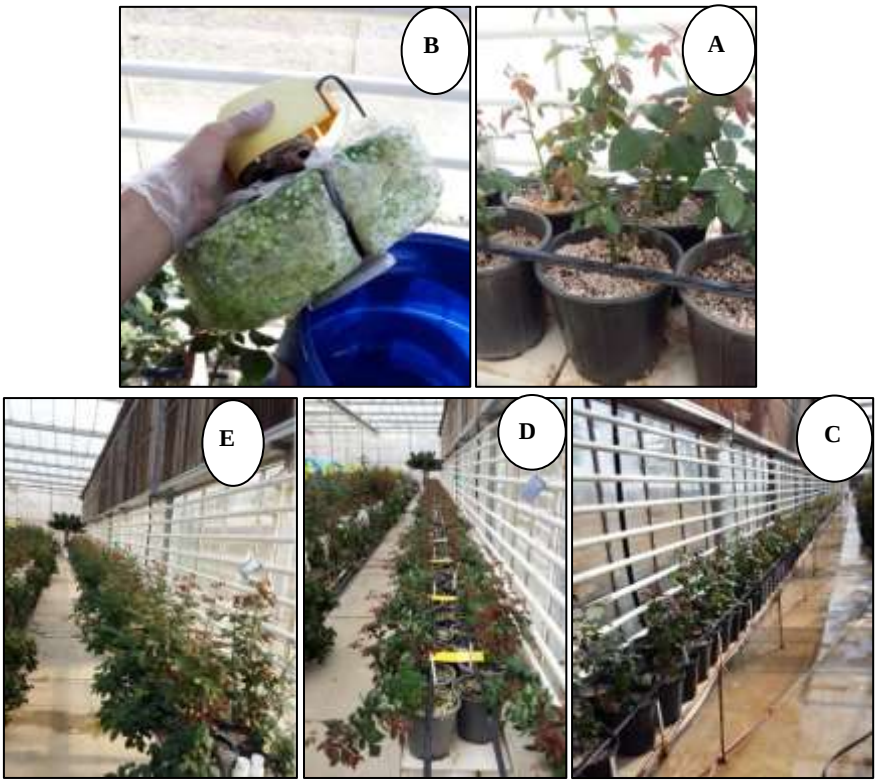
Fig. 1. Rooted stems for planting in pots.

## سیستم آبیاری و تغذیه

برای کودآبیاری گیاهان، از روش آبیاری قطره‌ای (لوله آبیاری و قطره چکان با دبی ۲ لیتر در ساعت) با پمپ تزریق مستقل برای هر تیمار استفاده شد. برای ساخت محلول غذایی، کودهای مورد نیاز در دو مخزن مجزا الف و ب در غلظت ۵ برابر حل

۱- Bending

شدند (جدول ۲) و سپس با مخلوط کردن یک حجم مساوی از دو مخزن، محلول غذایی با غلظت (هدایت الکتریکی ۱/۶ دسی زیمنس بر متر) و pH (۵/۸) مناسب ساخته شد. گیاهان به صورت مکانیزه، ۷ نوبت در روز، با فاصله زمانی یک ساعت، و هر نوبت ۷۵ میلی‌لیتر به ازای هر گلدان، آبیاری شدند.




شکل۲- A) سیستم آبیاری قطره‌ای B) پمپ مورد استفاده جهت تغذیه گیاهان C) آماده شدن گیاهان برای کمان‌سازی مرحله اول D) خم کردن شاخه‌ها (بندینگ) E) آماده کردن گیاهان جهت تیمار.

Fig. 2. A: Drip irrigation system B: Pump used to feed plants C: Preparing the plants for the first bending. D: Shoots bending E: Preparing plants for treatment

جدول ۲- مقدار کود مصرف شده برای ساخت ۱۰۰ لیتر محلول غذایی در ۶ ماه اول.

Table 2. The amount of fertilizer used to make 100 liters of nutrient solutionin the first 6 months (g).

| A استوک | A Stock | |
|---|---|---|
| نیترات کلسیم | Calcium Nitrate | 56.85 |
| نیترات پتاسیم | Potassium Nitrate | 26.86 |
| آهن | Iron-EDDHA 6% | 2.78 |
| B استوک | B Stock | |
| سولفات پتاسیم | Potassium Sulfate | 5.05 |
| مونوپتاسیم فسفات | Mono Potassium Phosphate | 15.53 |
| سولفات منیزیم | Magnesium Sulfate | 18.29 |
| نیترات آمونیوم | Ammonium Nitrate | 3.13 |
| سولفات منگنز | Manganese Sulfate | 0.17 |
| سولفات روی | Zinc Sulfate | 0.17 |
| سولفات مس | Copper Sulfate | 0.09 |
| براکس (برات سدیم) | Sodium Borate (Borax) | 0.06 |
| مولیبدات سدیم | Sodium Molybdate | 0.01 |

## طرح آزمایشی

آزمایش به صورت فاکتوریل (دو فاکتوره) بر پایه طرح کاملا تصادفی چند مشاهده‌ای طراحی و اجرا شد. تعداد نُه تیمار، سه تکرار و هر تکرار شش مشاهده (گلدان) در هر واحد آزمایشی در نظر گرفته شد. یادآوری می‌شود که تیمار اول به عنوان فرمول شاهد در نظر گرفته شد. ترکیب یونی این تیمار به تقریب مشابه با ترکیب یونی محلول غذایی مورد استفاده در کل گلخانه بود.

## انتخاب، ساخت و اعمال تیمارهای تغذیه‌ای

تیمارها شامل سه سطح اوره (صفر، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکرومولار) و سه سطح نیترات نیکل (صفر، ۲/۵ و ۵ میکرومولار) بود که به محلول غذایی شاهد اضافه شدند. در تیمار اول (غلظت صفر اوره و نیکل)، غلظت کل نیتروژن محلول غذایی ۱۱۳۸۷ میکرومولار بود که از این مقدار، ۳۸۰ میکرومولار آن به صورت آمونیم و باقیمانده آن به شکل نیترات بود. در تیمار دوم اوره، ۵۰۰ و در تیمار سوم اوره، ۱۰۰۰ میکرومولار اوره به محلول شاهد اضافه شد و در نتیجه معادل آن، یعنی ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میکرومولار از غلظت نیترات کاسته شد. برای این که غلظت دیگر یون‌ها تقریبا ثبات باقی بماند معادل با کاهش غلظت نیترات، به غلظت سولفات اضافه شد. نام همه تیمارها و غلظت اوره و نیکل آن‌ها در ادامه ذکر می‌شود. دو ماه بعد از اعمال تیمارها، از برگ‌های توسعه‌یافته جهت اندازه‌گیری‌های ویژگی های مورفولوژیک و فیزیولوژیک نمونه‌برداری انجام گرفت.

جدول ۳- تیمارهای مورد استفاده در این آزمایش.

Table 3. Treatments used in this experiment.

| کد تیمار<br>Treatment code | مقدار اوره (میکرومولار)<br>Urea concentration<br>(µmol $L^{-1}$) | مقدار نیکل (میکرومولار)<br>Nickel concentration<br>(µmol $L^{-1}$) |
|---|---|---|
| U1N1 | 0 | 0 |
| U1N2 | 0 | 2.5 |
| U1N3 | 0 | 5 |
| U2N1 | 500 | 0 |
| U2N2 | 500 | 2.5 |
| U2N3 | 500 | 5 |
| U3N1 | 1000 | 0 |
| U3N2 | 1000 | 2.5 |
| U3N3 | 1000 | 5 |

## صفت‌های مورفولوژیک بررسی شده

در طول دوره چهار ماهه آزمایش، صفت‌های مورفولوژیک اندام‌های هوایی بوته‌ها اندازه‌گیری شد. صفات مورفولوژیک اندازه‌گیری شده عبارتند از: عملکرد (تعداد شاخه گل برداشت شده)، ارتفاع هر شاخه، طول گل، قطر ساقه و قطر گل (اندازه‌گیری شده با دستگاه کولیس[۱])، وزن تازه شاخه، عمر گلجایی (با شمارش تعداد روزهای دوام شاخه های گل در دمای معمولی اتاق).

## اندازه‌گیری pH زه‌آب

اندازه‌گیری pH زه‌آب گلدان‌ها، به عنوان شاخصی از pH محیط ریشه بوته‌ها، در طول دوره آزمایش با فاصله زمانی چهار روز یکبار انجام شد. بدین منظور، زه‌آب همه گلدان‌ها جمع‌آوری و پس از مخلوط کردن زه‌آب هر تیمار، pH نمونه مخلوط اندازه‌گیری شد.

## صفت‌های بیوشیمیایی بررسی شده

### استخراج عصاره متانولی

۰/۰۵ گرم برگ پودر شده به میکروتیوب اضافه و ۲ میلی‌لیتر متانول ۹۵ درصد سرد به آن اضافه شد. جهت ممانعت از ورود نور اطراف میکروتیوب‌ها با فویل آلومینوم پوشانده شد و به مدت ۴۸ ساعت در دمای اتاق نگه‌داری شد. سپس میکروتیوب‌ها به

۱- Colis

مدت پنج دقیقه در دمای اتاق و با سرعت ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه (rpm) سانتریفیوژ شدند. محلول رویی به میکروتیوب‌های جدید منتقل و در دمای زیر ۲۰ درجه سلسیوس جهت اندازه‌گیری صفات مورد نظر نگه‌داری شدند.

**استخراج عصاره اتانولی**

به ۰/۰۵ گرم از برگ پودر شده مقدار ۵۰۰ میکرولیتر اتانول ۸۰ درصد اضافه و به مدت ۲۰ دقیقه در حمام آب ۸۰ درجه سلسیوس قرار داده شد. محلول رویی به میکروتیوب ۲ میلی‌لیتری جدید انتقال داده شد. تمام این مراحل سه بار تکرار شدند. عصاره اتانول به دست آمده از نمونه‌های مورد بررسی برای نگه‌داری و انجام بررسی‌های بعد به فریزر منفی ۲۰ درجه سلسیوس انتقال داده شدند.

**ارزیابی میزان کلروفیل a، b، کاروتنوئید**

مقدار ۲۰۰ میکرولیتر از عصاره متانولی درون پلیت‌های پلی‌استرن ریخته و مقدار جذب نور آن‌ها در طول موج‌های ۶۶۵، ۶۵۲ و ۴۷۰ نانومتر به ترتیب برای اندازه‌گیری کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئید قرائت گردید (شاهد= متانول ۹۵٪). جذب ۲۰۰ میکرولیتر نمونه (A652، A665) توسط طول مسیر اندازه‌گیری شده به یک جذب اصلاح شده با طول مسیر یک سانتی‌متر تبدیل شد. مقدار غلظت رنگیزه‌های فتوسنتزی بر حسب میکروگرم بر میلی‌لیتر ($\mu g\ mL^{-1}$) با استفاده از فرمول‌های زیر محاسبه گردید (Warren, 2008).

$A_{652} = (A_{652} - blank)$
$A_{665} = (A_{665} - blank)$
$A_{470} = (A_{470} - blank)$
$Chl\ a\ (\mu g/mL) = 16.72 \times A_{665} - 9.16 \times A_{652,}$
$Chl\ b\ (\mu g/mL) = 34/09 \times A_{652,} - 15.28 \times A_{665}$
$Caretnoid = (1000\ A_{470} - 1.63\ Chla - 104.96\ /Chlb)/221$

**اندازه‌گیری میزان فنول کل در عصاره**

اندازه‌گیری میزان فنول کل با روش Ainsworth و Gillespie (2007) انجام شد. به ۰/۰۵ گرم از نمونه‌های پودر شده ۲ میلی‌لیتر متانول ۹۵ درصد افزوده شد و نمونه‌ها در دمای معمولی اتاق به مدت ۴۸ ساعت نگه‌داری شدند. در مرحله بعد مایع رویی در میکروتیوپ‌های جدید جمع‌آوری شدند. سپس ۵۰ میکرولیتر از عصاره متانولی با ۲۰۰ میکرولیتر از معرف فولین سیوکالتیو (۱ به ۱۰ رقیق شده با آب مقطر) ترکیب شده سپس ۸۰۰ میکرولیتر کربنات‌سدیم ۷۰۰ میلی‌مولار اضافه شد و به مدت ۲ ساعت در دمای اتاق نگه‌داری شد. در مرحله بعد جذب نمونه‌ها در طول موج ۷۶۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. در نهایت مقدار فنول کل عصاره با استفاده از منحنی استاندارد براساس میلی‌گرم گالیک اسید در گرم عصاره برگ اندازه‌گیری شد (Ainsworth & Gillespie, 2007).

**اندازه‌گیری میزان فلاونوئید کل**

محتوای فلاونوئید کل با روش ترکیب رنگ سنجی آلومینیوم کلرید مشخص شد.۵۰ میکرولیتر از محلول عصاره به ۱۰ میکرولیتر محلول آلومینیوم کلرید ۱۰ درصد اضافه شد. پس از گذشت ۵ دقیقه نگهداری در دمای معمولی اتاق، ۱۵۰ میکرولیتر اتانول ۹۶ درصد به آن اضافه شد. پس از آن، ۱۰ میکرولیتر استات‌سدیم ۱ مولار آهسته به آن اضافه شد. نمونه‌ها مخلوط شده و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق و دور از نور نگه‌داری شدند. مقدار جذب در طول موج ۴۱۵ نانومتر با میکروپلیت ریدر خوانده شد. در نهایت محتویات کل فلاونوئیدها با استفاده از منحنی استاندارد برحسب میلی‌گرم کوئرستین در گرم عصاره اندازه‌گیری شد (Chatatikun & Chiabchalard. 2013).

**اندازه‌گیری میزان کربوهیدرات**

برای اندازه‌گیری میزان کربوهیدارت نیز از عصاره اتانولی استفاده شد. برای این منظور، مقدار ۵۰ میکرولیتر از عصاره اتانولی به چاهک‌های میکروپلیت انتقال داده و ۱۵۰ میکرولیتر اسید سولفوریک غلیظ (۹۸ درصد) به آن اضافه شد. سپس ۳۰ میکرولیتر فنول ۵ درصد اضافه و به مدت پنج دقیقه در بن‌ماری ۹۰ درجه سلسیوس قرار داده و سپس جهت خنک شدن در یخ قرار داده شد. برای رسم منحنی استاندارد از قند D- مانوز در غلظت‌های ۱۰۰۰، ۵۰۰، ۳۰۰، ۱۰۰، ۲۰ و ۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر

(µg/mL) حل شده در اتانول ۸۰ درصد به جای عصاره اتانولی استفاده شد. میزان جذب نور در طول موج ۴۹۰ نانومتر قرائت گردید (Blank= اتانول ۸۰ درصد) (Masuko *et al*., 2005).

**اندازه‌گیری آنتوسیانین**

برای ساخت عصاره متانولی، محلول متانول، آب و اسید کلریدریک غلیظ به نسبت۸۰ : ۱۹ :۱ تهیه شد. سپس نمونه‌های پودر شده برگ، به مدت ۴۸ ساعت در این عصاره و در دمای ۴ درجه سلسیوس در محیط بدون نور نگهداری شدند. پس از آن، نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند و در نهایت از عصاره آماده شده برای سنجش میزان آنتوسیانین استفاده گردید. جهت اندازه‌گیری آنتوسیانین از روش Alexieva و همکاران (۲۰۰۱) استفاده شد و عصاره به دست آمده در طول موج‌های ۵۳۰ و ۶۵۷ نانومتر توسط دستگاه میکروپلیت ریدر خوانده شدند. در مرحله آخر میزان آنتوسیانین از معادله زیر محاسبه گردید (Alexieva, 2001).

$A= A_{530} – 1/3A_{657}$

که در آن A غلظت آنتوسیانین، $A_{530}$ و $A_{657}$ به ترتیب جذب خوانده شده در طول موج های ۵۳۰ و ۶۵۷ می‌باشد.

**اندازه‌گیری میزان پروتئین**

برای اندازه‌گیری میزان پروتئین، ابتدا مقدار نیتروژن با روش کجلدال اندازه‌گیری شد.

بدین منظور، نمونه‌ها در اسید ابتدا در دمای ۱۵۰ درجه سلسیوس و سپس در دمای ۳۶۰ درجه سلسیوس هضم شدند سپس میزان ازت هر کدام اندازه‌گیری شد. میزان پروتئین نمونه‌های برگ توسط ضریب تبدیل نیتروژن به پروتئین (حاصل ضرب درصد نیتروژن در عدد ۶/۲۵) محاسبه شد.

**اندازه‌گیری فعالیت آنزیم سوپراکسید دسموتاز (SOD)**

جهت اندازه‌گیری فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز مقدار سه میلی‌لیتر محلول واکنش، ۱۰۰ میکرولیتر بافر استخراج و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیم با هم ترکیب شده و مورد استفاده قرار گرفت. نمونه فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز به روش اسپکتروفتومتری و براساس قابلیت بازدارندگی آن از احیای فتوشیمیایی نیتروبلوتترازولیوم در طول موج ۵۶۰ نانومتر اندازه‌گیری شد و در نهایت میزان آنزیم بر حسب واحد بر گرم وزن تر محاسبه شد (Beauchamp & Fridovich, 1971).

**واکاوی آماری**

واکاوی آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار آماری SAS و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون کمینه تفاوت معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد. نمودارها با استفاده از نرم افزار اکسل رسم گردید.

# نتایج

**اثر ترکیب اوره و نیکل بر عملکرد شاخه**

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثرات اصلی و همچنین برهمکنش نیکل و اوره روی عملکرد شاخه در سطح یک درصد معنی‌دار می‌باشد. مقایسه میانگین داده‌ها نیز نشان داد که اثر ترکیب اوره و نیکل روی عملکرد شاخه باعث تفاوت معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد می‌شود. به طوری که بیشترین عملکرد شاخه (۹/۹۷ شاخه) مربوط به تیمار (U3N2) می‌باشد. کمترین عملکرد شاخه (۶/۷۷ شاخه) نیز در تیمار (U3N1) به‌دست آمد که اختلاف تفاوت با سایر تیمارها داشت (جدول ۴).

جدول ۴ - اثر برهمکنش اوره و نیکل بر روی صفت‌های مورفولوژیک گل رز شاخه بریده رقم تونایت

Table 4. The effect of urea and nickel interaction on morphological growth indices of *Rosa hybrida* L. cv. Tonight.

| تیمارها Treatment | عملکرد (تعداد) | ارتفاع شاخه (سانتی‌متر) | وزن تر (گرم) | قطرشاخه (میلی‌متر) | عمرگلجای (روز) |
|---|---|---|---|---|---|
| | Flower Number | Stem length (cm) | Shoot fresh wt. (g) | Stem diameter (mm) | Vase Life (Day) |
| U1N1 | 7.09 bc | 67.32 d | 48.65 c | 5.5 d | 14.54 ab |
| U1N2 | 6.92 bc | 69.35 cd | 50.16 c | 5.77 cd | 13.83 abc |
| U1N3 | 7.32 bc | 67.53 d | 47.65 c | 5.70 cd | 13.50 bc |
| U2N1 | 7.26 bc | 66.12 d | 47.62 c | 5.48 d | 13.25 c |
| U2N2 | 9.73 a | 75.00 bc | 60.35 b | 6.50 ab | 14.22 abc |
| U2N3 | 7.53 bc | 77.93 b | 60.05 b | 6.30 bc | 15.05 a |
| U3N1 | 6.77 c | 65.43 d | 47.20 c | 5.58 d | 14.77 a |
| U3N2 | 9.97 a | 84.38 a | 68.13 a | 7.09 a | 14.63 ab |
| U3N3 | 7.71 b | 86.96 a | 67.66 a | 6.98 a | 14.40 abc |

حروف مشابه در هر ستون و در هر تیمار بیانگر عدم تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ می‌باشد.

In each column, means followed by different letters are statistically different using LSD test ($p < 0.05$)

**اثر ترکیب اوره و نیکل بر ارتفاع شاخه**

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثرات اصلی و همچنین برهمکنش نیکل و اوره روی ارتفاع شاخه در سطح یک درصد معنی‌دار می‌باشد. با افزایش سطوح اوره و نیکل ارتفاع شاخه نیز افزایش می‌یابد و بالاترین ارتفاع شاخه (۸۶/۹۶ سانتی‌متر) در تیمار (U3N3) به‌دست آمد. پایین‌ترین ارتفاع شاخه (۶۵/۴۵ سانتی‌متر) مربوط به تیمارهای اوره بدون کاربرد نیکل بود (جدول ۴). این نتیجه بیانگر اهمیت حضور نیکل در هنگام کاربرد اوره به دلیل نقش آن در هیدرولیز اوره و در نتیجه افزایش بهره‌وری نیتروژن در شرایط آبکشت دارد.

**اثر ترکیب اوره و نیکل بر طول و قطر گل**

نتایج جدول ۲ نشان داد که در صفات طول و قطر غنچه، تنها اثرات اصلی اوره و نیکل معنی‌دار شده و برهمکنش اوره و نیکل معنی‌دار نمی‌باشد. با توجه به مقایسه میانگین داده‌ها، بیشترین طول غنچه (۶۲/۴۳ میلی‌متر) مربوط به تیمار ۲/۵ میکرمول بر لیتر نیکل و در تیمار اوره بیشترین طول غنچه (۶۲/۱۷ میلی‌متر) مربوط به ۱۰۰۰ میکرومولار اوره می‌باشد. در تیمار نیکل کمترین طول غنچه (۵۷/۲۱ میلی‌متر) و در تیمار اوره کمترین طول غنچه (۵۸/۵۳ میلی‌متر) مربوط به شاهد می‌باشد. بیشترین قطر غنچه (۴۸/۸ میلی‌متر) مربوط به تیمار ۲/۵ میکرمول بر لیتر نیکل و در تیمار اوره بیشترین قطر غنچه (۴۸/۹ میلی‌متر) مربوط به ۵۰۰ میکرمول بر لیتر اوره می‌باشد. در تیمار نیکل کمترین قطر غنچه (۴۵/۶۸ میلی‌متر) و در تیمار اوره کمترین قطر غنچه ( ۴۶/۳ میلی‌متر) مربوط به شاهد می‌باشد (شکل ۳).

**اثر ترکیب اوره و نیکل بر وزن تر شاخه**

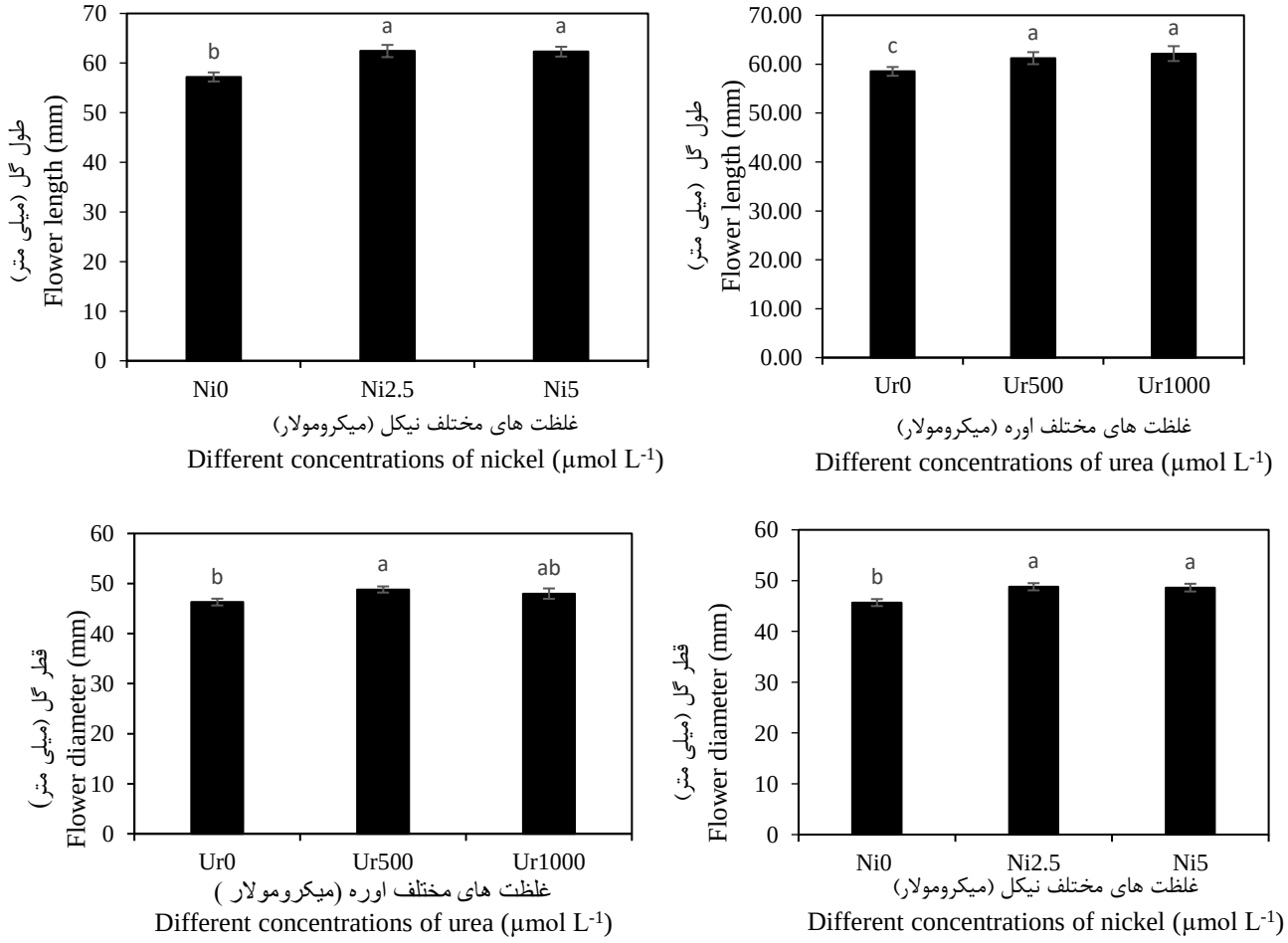
جدول تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثرات اصلی و همچنین برهمکنش نیکل و اوره بر روی صفت وزن تر شاخه در سطح یک درصد معنی‌دار می‌باشد. با افزایش سطوح اوره و نیکل وزن تر شاخه نیز افزایش می‌یابد. بیشترین وزن تر شاخه (۶۸/۱۳ گرم) مربوط به تیمار ترکیب اوره و نیکل (U3N2) می‌باشد. کمترین وزن شاخه مربوط به تیمار (U3N1) با ثبت مقدار ۴۷/۲ گرم، به دست آمد (جدول ۴).

**اثر ترکیب اوره و نیکل بر قطر شاخه**

بر اساس داده‌های این پژوهش اثرات اصلی نیکل و اوره بر روی صفت قطر شاخه در سطح یک درصد معنی‌دار می‌باشد، اما برهمکنش اوره و نیکل در سطح ۵ درصد معنی‌دار می‌باشد. نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیشترین قطر شاخه (۷/۰۹ میلی‌متر) در تیمار (U3N2) به‌دست آمد و همچنین کمترین قطر شاخه (۵/۵۵ میلی‌متر) مربوط به تیمار شاهد (U1N1) می‌باشد (جدول۴).

**اثر ترکیب اوره و نیکل بر عمر گلجای**

نتایج نشان داد اثر کاربرد جداگانه اوره و نیکل بر روی عمر گلجایی شاخه‌ها معنی دار نمی‌باشد و تنها برهمکنش اوره و نیکل در سطح ۱ درصد معنی‌دار می‌باشد. مقایسه میانگین داده‌ها نیز نشان داد که بیشترین عمر گلجای (۱۵/۰۵ روز) با استفاده از تیمار (U2N3) و کمترین عمر گلجای با استفاده از تیمار (U2N1) به‌دست آمد، اما تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای مختلف وجود ندارد (جدول ۴).

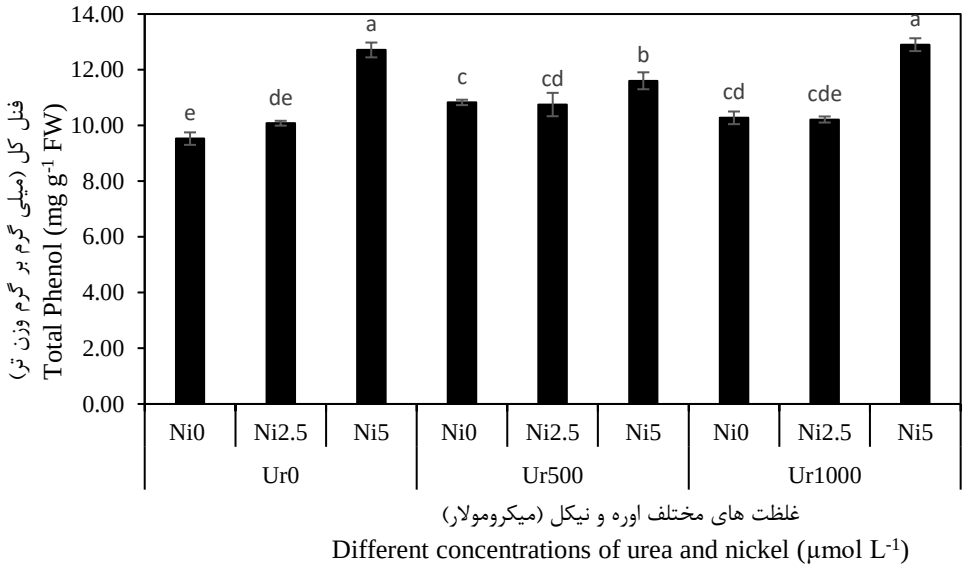



شکل ۳- اثر غلظت نیکل (۰، ۲/۵ و ۵ میکرومولار) و غلظت اوره ( ۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکرومولار) بر طول و قطر گل. حروف مشابه نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار در بین میانگین‌ها در سطح احتمال ۵ درصد با آزمون LSD می‌باشد. میله‌های عمودی نشان دهنده خطای معیار هستند.

Fig. 3. Effect of Nickel (0, 2.5, and 5 µmol $L^{-1}$) and Urea (0, 500, and 1000 µmol $L^{-1}$) on the Flower Length and Diameter. Means with the same letter are not significantly different, as indicated by the LSD test ($p \leq 0.05$). Vertical bars indicate standard errors.

## اثر ترکیب اوره و نیکل بر میزان فنول کل

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر ترکیب اوره و نیکل و همچنین اثر نیکل به تنهایی بر روی فنول کل در سطح یک درصد معنی‌دار می‌باشد. اما کاربرد اوره تاثیر معنی‌دار بر روی میزان فنول کل نداشت. با افزایش غلظت نیکل مقدار فنول کل نیز افزایش پیدا کرد. نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها نشان می‌دهد که بیشترین میزان فنول کل (۱۲/۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در تیمار (U3N3) به‌دست آمد. کمترین میزان فنول کل (۹/۵۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در تیمار شاهد (U13N1) به‌دست آمد (شکل ۴).




شکل ۴- برهمکنش غلظت‌های نیکل (۰ ، ۲/۵ و ۵ میکرومولار) و غلظت‌های اوره (۵۰۰،۰ و ۱۰۰۰ میکرومولار) بر مقدار فنول کل. حروف مشابه نشان دهنده عدم وجود تفاوت معنی‌دار در بین میانگین‌ها در سطح احتمال ۵ درصد با آزمون LSD می‌باشد. میله‌های عمودی نشان‌دهنده خطای معیار هستند.

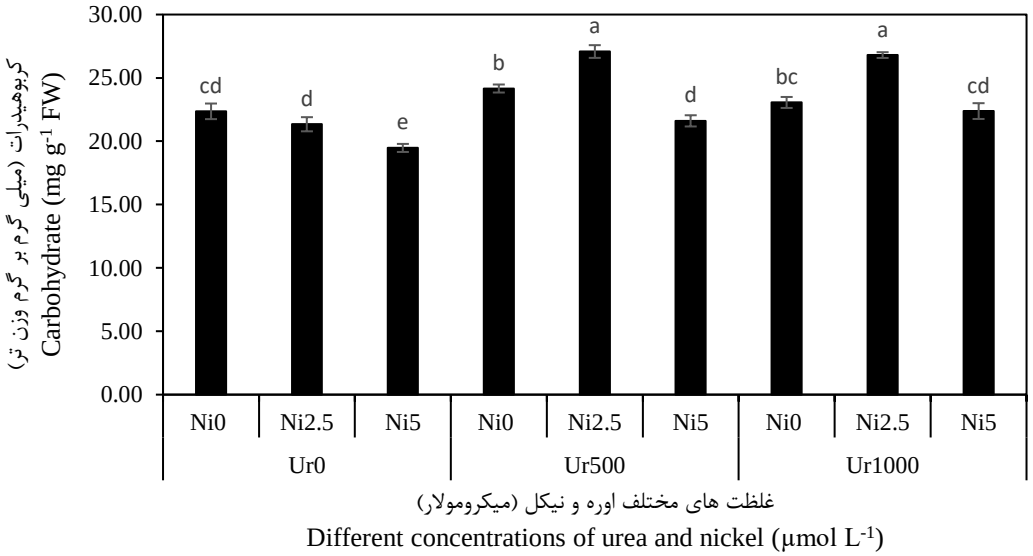
Fig. 4. The interaction between Nickel (0, 2.5, and 5 µmol $L^{-1}$) and Urea (0, 500, and 1000 µmol $L^{-1}$) on the contents of total phenol. Means with the same letter are not significantly different, as indicated by the LSD test ($p \leq 0.05$). Vertical bars indicate standard errors.

## اثر ترکیب اوره و نیکل بر کربوهیدرات

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر ترکیب اوره و نیکل و همچنین اثرات جداگانه اوره و نیکل بر روی کربوهیدرات در سطح یک درصد معنی‌دار می‌باشد. نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها نشان می‌دهد که بیشترین میزان کربوهیدرات (۲۷/۰۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در تیمار (U2N2) به‌دست آمد. کمترین میزان کربوهیدرات (۹/۵۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) نیز در تیمار (U1N3) به‌دست آمد (شکل ۵).

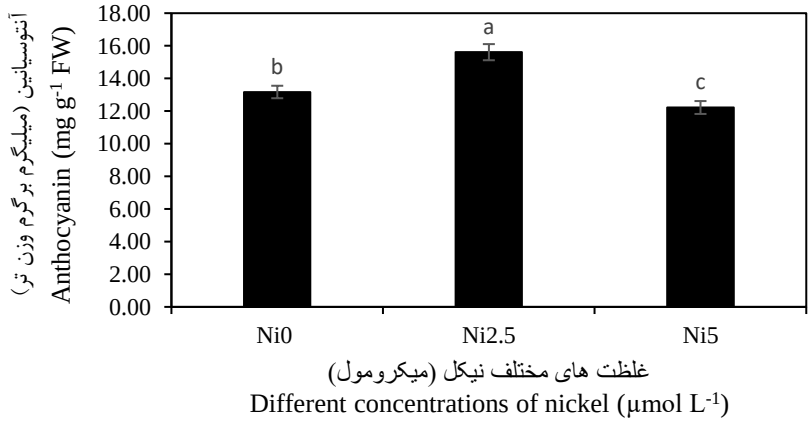
## اثر ترکیب اوره و نیکل بر آنتوسیانین

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر کاربرد ترکیبی اوره و نیکل و همچنین کاربرد اوره به صورت جداگانه بر روی میزان آنتوسیانین معنی‌دار نمی‌باشد. اما کاربرد نیکل بر روی میزان آنتوسیانین معنی‌دار می‌باشد. مقایسه میانگین داده‌ها نشان می‌دهد که در بین غلظت‌های نیکل بیشترین میزان آنتوسیانین (۱۵/۶۱ میلیگرم بر گرم وزن تر) مربوط به غلظت ۲/۵ میکرمول بر لیتر نیکل و کمترین میزان آنتوسیانین با کاربرد غلظت ۵ میکرومولار نیکل به‌دست آمد (شکل ۶).




شکل ۵- برهمکنش غلظت‌های نیکل (۰، ۲/۵ و ۵ میکرومولار) و غلظت‌های اوره (۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکرومولار) بر مقدار کربوهیدرات. حروف مشابه نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار در بین میانگین‌ها در سطح احتمال ۵ درصد با آزمون LSD می‌باشد. میله‌های عمودی نشان‌دهنده خطای معیارهستند.

Fig. 5. The interaction between Nickel (0, 2.5, and 5 µmol $L^{-1}$) and Urea (0, 500, and 1000 µmol $L^{-1}$) on the contents of sugar. Means with the same letter are not significantly different, as indicated by the LSD test ($P \leq 0.05$). Vertical bars indicate standard errors

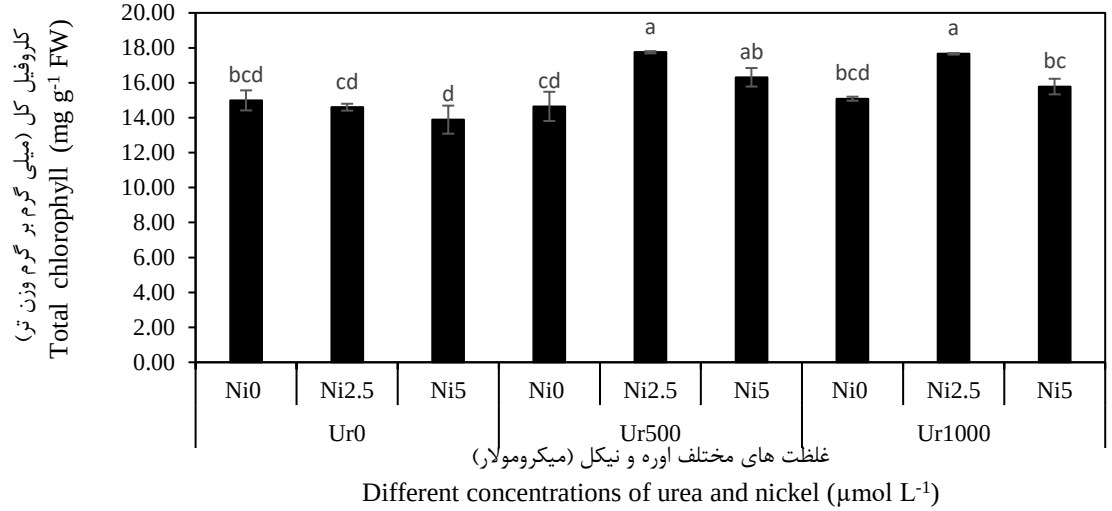



شکل ۶ - اثر غلظت‌های نیکل (۰، ۲/۵ و ۵ میکرومولار) بر مقدار آنتوسیانین. حروف مشابه نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار در بین میانگین‌ها در سطح احتمال ۵ درصد با آزمون LSD می‌باشد. میله‌های عمودی نشان دهنده خطای معیار هستند.

Fig. 6. The effect Nickel (0, 2.5, and 5 µmol $L^{-1}$) on the contect of anthocyanin. Means with the same letter are not significantly different, as indicated by the LSD test ($P \leq 0.05$). Vertical bars indicate standard errors

## اثر ترکیب اوره و نیکل بر کلروفیل کل

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر ترکیب اوره و نیکل بر روی ویژگی کلروفیل کل در سطح ۵ درصد معنی‌دار می‌باشد. اثر اوره و نیکل به صورت جداگانه در سطح یک درصد معنی‌دار می‌باشد. مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیشترین میزان کلروفیل کل (۱۷/۷۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در تیمار (U2N2) به‌دست آمد و همچنین کمترین میزان کلروفیل کل (۱۳/۸۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در تیمار (U1N3) به‌دست آمد (شکل ۷).

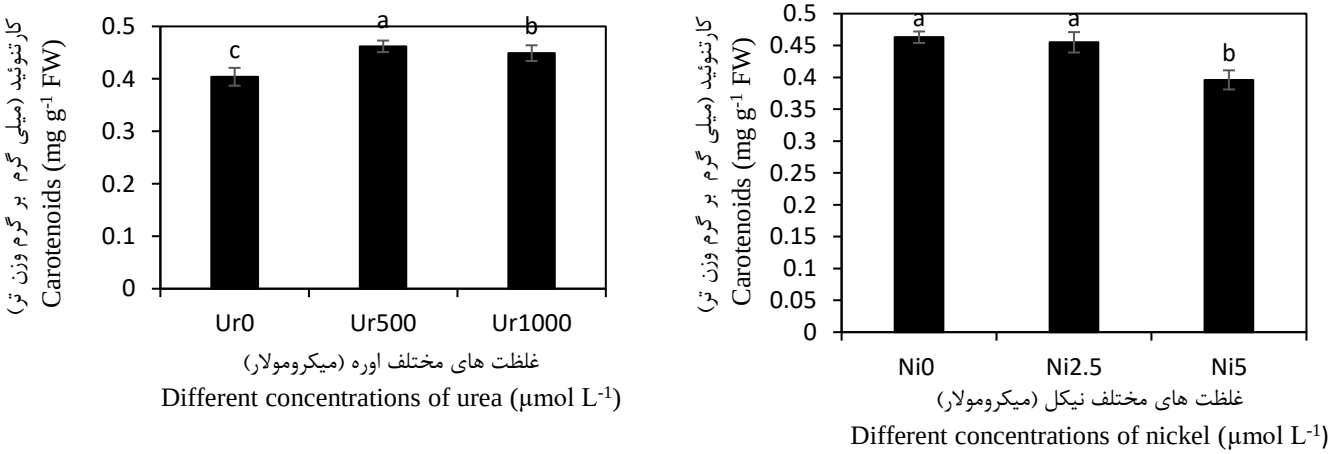



شکل۷- برهمکنش غلظت‌های نیکل (۰، ۲/۵ و ۵ میکرومولار) و غلظت‌های اوره (۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکرومولار) بر مقدار کلروفیل کل. حروف مشابه نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار در بین میانگین‌ها در سطح احتمال ۵ درصد با آزمون LSD می‌باشد. میله‌های عمودی نشان‌دهنده خطای معیارهستند.

Fig. 7. The interaction between Nickel (0, 2.5, and 5 µmol $L^{-1}$) and Urea (0, 500, and 1000 µmol $L^{-1}$) on the contents of total chlorophyl. Means with the same letter are not significantly different, as indicated by the LSD test ($P \leq 0.05$). Vertical bars indicate standard errors.

## اثر ترکیب اوره و نیکل بر محتوای کارتنوئید

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر ترکیب اوره و نیکل بر روی میزان کارتنوئید معنی‌دار نمی‌باشد اما کاربرد جداگانه نیکل تاثیر معنی‌داری در سطح یک درصد بر روی صفت کارتنوئید داشت. نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که با افزایش غلظت نیکل میزان کارتنوئید کاهش پیدا می‌کند به طوریکه در تیمارهای نیکل، بیشترین میزان کارتنوئید برگ (۰/۴۶۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در تیمار صفر میکرومولار نیکل و کمترین میزان کارتنوئید برگ (۰/۳۹۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در غلظت ۵ میکرومولار نیترات نیکل مشاهده شد (شکل ۸).

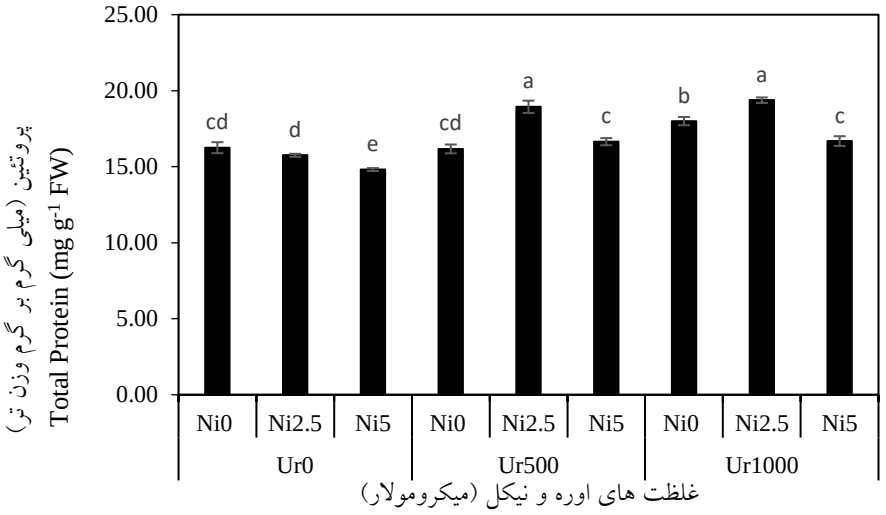



شکل ۸-اثر غلظت‌های نیکل (۰، ۲/۵ و ۵ میکرومولار) و غلظت‌های اوره (۰،۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکرومولار) بر مقدار کارتنوئید. حروف مشابه نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار در بین میانگین‌ها در سطح احتمال ۵ درصد با آزمون LSD می‌باشد. میله‌های عمودی نشان‌دهنده خطای معیار هستند.

Fig. 8. Effect of Nickel (0, 2.5, and 5 µmol $L^{-1}$) and Urea (0, 500, and 1000 µmol $L^{-1}$) on the contents of carotenoid. Means with the same letter are not significantly different, as indicated by the LSD test ($P \leq 0.05$). Vertical bars indicate standard errors.

## اثر ترکیب اوره و نیکل بر پروتئین کل

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر ترکیب اوره و نیکل و همچنین اثرات جداگانه اوره و نیکل بر روی پروتئین کل در سطح یک درصد معنی‌دار می‌باشد. نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها نشان می‌دهد که بیشترین مقدار پروتئین (۱۹/۳۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در تیمار (U3N2) به‌دست آمد. کمترین مقدار پروتئین (۱۴/۸۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) نیز در تیمار (U1N3) به‌دست آمد (شکل ۹).




شکل ۹- برهمکنش غلظت‌های نیکل (۰، ۲/۵ و ۵ میکرومولار) و غلظت‌های اوره (۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکرومولار) بر مقدار پروتئین. حروف مشابه نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار در بین میانگین‌ها در سطح احتمال ۵ درصد با آزمون LSD می‌باشد. میله‌های عمودی نشان‌دهنده خطای معیار هستند.

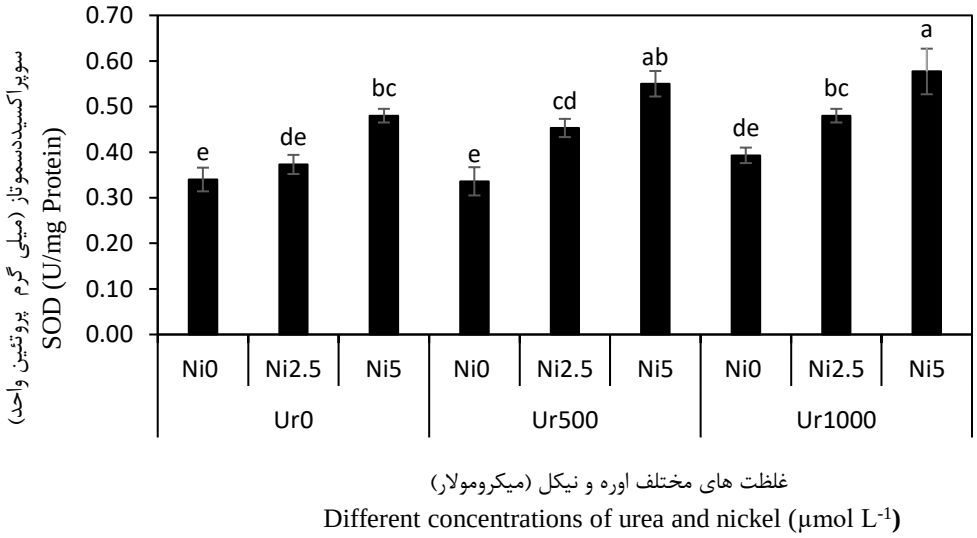
Fig. 9. The interaction between Nickel (0, 2.5, and 5 µmol $L^{-1}$) and Urea (0, 500, and 1000 µmol $L^{-1}$) on the contents of protein. Means with the same letter are not significantly different, as indicated by the LSD test ($P \leq 0.05$). Vertical bars indicate standard errors

## اثر ترکیب اوره و نیکل بر فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر ترکیب اوره و نیکل بر روی آنزیم سوپراکسیددیسموتاز در سطح ۵ درصد معنی‌دار می‌باشد اما اثرات جداگانه اوره و نیکل در سطح یک درصد معنی‌دار می‌باشد. نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیشترین میزان فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز (۰/۵۷۷واحد در میلی‌گرم برگ) در تیمار (U3N3) و کمترین میزان فعالیت آنزیم (۰/۳۳۷ واحد در میلی‌گرم برگ) در تیمار (U2N1) مشاهده شد (شکل ۱۰).

## تاثیر اوره و نیکل بر pH زه آب

بررسی نمودار روند تغییر pH نشان می‌دهد تیمارهای حاوی کود اوره (U3N1، U3N2، U3N3، U2N2، U2N1) مانع از کاهش pH در طول دوره کشت شده و روند pH در این تیمارها افزایشی می‌باشد اما در سایر تیمارها (بدون حضور اوره) روند pH در طول دوره کشت کاهشی بوده و بر روی جذب عناصر ماکرو تاثیرگذار بوده است (شکل ۱۱). نیتروژن آمونیومی یکی از عناصر موثر در رشد گل رز گلخانه‌ای می‌باشد اما در فصول زمستان به دلیل تاثیر آمونیوم در کاهش pH و اخلال در جذب سایر عناصر، مقدار کاربرد این عنصر به حداقل رسیده و در نتیجه رشد و نمو گل گیاهان نیز کاهش می‌یابد. در این پژوهش، با جایگزین کردن نیتروژن آمونیومی با کود اوره و هیدرولیز آن توسط آنزیم اوره‌آز در داخل گیاه (آنزیم وابسته به نیکل)، آمونیوم مورد نیاز گیاه بدون تغییر در کاهش pH، تامین شد.




شکل ۱۰- برهمکنش غلظت‌های نیکل (۰، ۲/۵ و ۵ میکرومولار) و غلظت‌های اوره ( ۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکرومولار) بر فعالیت آنزیم سوپر اکسیدیسموتاز (SOD). حروف مشابه نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار در بین میانگین‌ها در سطح احتمال ۵ درصد با آزمون LSD می‌باشد. میله‌های عمودی نشان‌دهنده خطای معیار هستند.

Fig. 10. The interaction between Nickel (0, 2.5, and 5 µmol $L^{-1}$) and Urea (0, 500, and 1000 µmol $L^{-1}$) on the activity of SOD. Means with the same letter are not significantly different, as indicated by the LSD test ($p \leq 0.05$). Vertical bars indicate standard errors

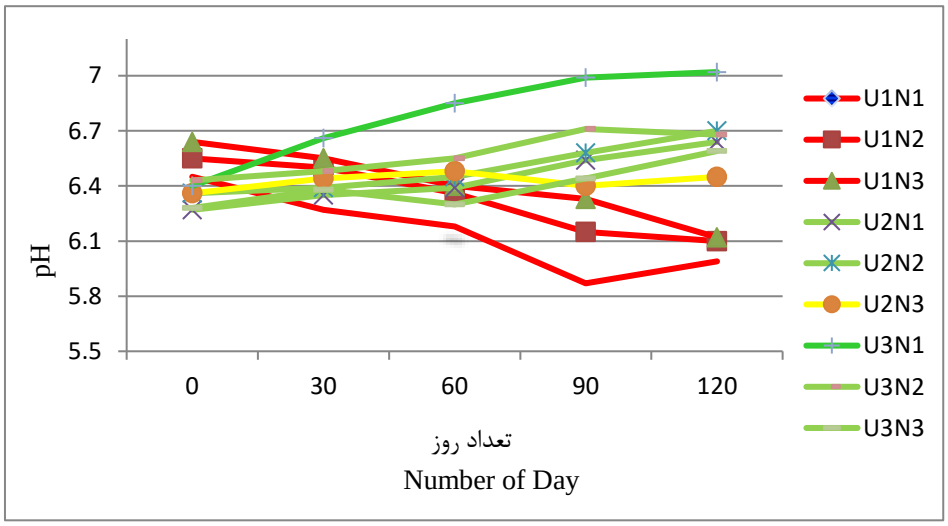



Fig. 11. Changes in pH in different treatments.

شکل ۱۱- تغییرات pH در تیمارهای مختلف.

## بحث

در کشت بدون خاک گل رز در فصول پاییز و زمستان، استفاده از غلظت‌های بالای آمونیوم به دلیل کاهش pH محیط ریشه و اختلال در جذب سایر عناصر (موثر بر سایز غنچه)، ممکن نمی باشد. در مقابل، با کاربرد اوره به دلیل هیدرولیز اوره توسط نیکل و تبدیل شدن آن به آمونیوم در داخل گیاه، استفاده از آن تاثیری بر روی میزان pH محیط ریشه ندارد و در نتیجه عناصر موثر بر کیفیت شاخه و برگ و همچنین سایز غنچه به راحتی جذب و حتی امکان استفاده از اوره در غلظت‌های مناسب نیز وجود خواهد داشت.

اوره از محلول غذایی بدون تغییر و به صورت مولکول جذب شده و عمل هیدرولیز آن در داخل گیاه انجام می‌شود و زمانی که هدف ثابت نگه‌داشتن pH باشد، مورد استفاده قرار می‌گیرد (Bar-Yosef *et al*., 2009). در گل رز شاخه‌بریده، فرمولاسیون کودی باید به گونه‌ای مدیریت شود که pH بستر بین ۶/۲ تا ۷ باشد (Mercurio, 2007). در کشت بدون خاک گوجه‌فرنگی نتایج نشان داد pH زه‌آب گیاهان تغذیه شده با اوره کمی افزیش یافت و استفاده ترکیبی از اوره و نیترات برای رشد بهینه گیاه بدون کاهش جذب کاتیون‌ها مفید است به دلیل اینکه یک pH پایدار را حفظ می‌کند (Tan *et al*., 2000).

تاثیر مفید اوره در محلول غذایی از طریق جایگزین کردن منبع آمونیوم با اوره، به غلظت نسبتا پایین آمونیوم در محلول و در نتیجه عدم کاهش pH محلول و کاهش رقابت بین آمونیوم و کلسیم نسبت داده می‌شود (Bar-Yosef *et al*., 2009). در گل رز شاخه‌بریده، کاربرد نیتروژن و افزایش محتوی آن در برگ منجر به افزایش قطر گل می‌شود (Sanchez, 2009). با افزایش کارایی مصرف اوره و بهبود سوخت و ساز نیتروژن از طریق هیدرولیز توسط نیکل (فعال کردن آنزیم اوره‌آز) آمونیوم و اسیدهای آمینه به راحتی در اختیار گیاه قرار گرفته باعث افزایش بیوماس خواهد شد (Feigin *et al*., 2004). در تایید نتایج آزمایشات این تحقیق، در کاهو (Khoshgoftarmanesh *et al*., 2001) و لیزیانتوس (Dolatkhahi *et al*., 2014) نیز افزایش وزن تر با کاربرد اوره و نیکل گزارش شده است. از آنجایی که نیتروژن رشد رویشی را افزایش می‌دهد، منطقی است که بر روی میزان ارتفاع شاخه و در نهایت وزن تر گیاهان اثر داشته و مقدار آن را افزایش دهد. کود نیروژن تأثیر زیادی در شاخه‌زایی، برگزایی و جوانه‌زنی گیاهان دارد و به طور کلی رشد رویشی گیاهان را افزایش می‌دهد. در نتیجه تسریع رشد بوته، وزن تر بوته نیز افزایش می‌یابد (Humphrise *et al*., 2006). در گل رز استفاده از آمونیوم و اوره بدون نیکل، در مقایسه با نیترات باعث رشد علفی، افزایش ارتفاع ساقه و در نتیجه کاهش قطر شاخه‌های تولید شده می‌شود (Sanchez *et al*., 2009).

نیکل به عنوان یکی از ریزمغذی‌های ضروری کم مصرف در اغلب فرایندهای فیزیولوژیکی گیاه همچون فعال کردن آنزیم‌ها و ساخت پروتئین‌ها نقش دارد. بنابراین یکی از دلایل افزایش عملکرد گیاهان تیمار شده با نیترات نیکل، به دلیل نقش مستقیم آن در تحریک رشد گیاهان می‌باشد (Singh *et al*., 2009). این عنصر جزو ساختار آنزیم اوره‌آز بوده و از طریق افزایش فعالیت این آنزیم و هیدرولیز اوره مصرفی، منجر به بهبود متابولیسم نیتروژن و نهایتا افزایش عملکرد گیاهان می‌شود (Dixon *et al*., 1975). در ارتباط با تاثیر اوره و نیکل بر روی عملکرد گیاهان، اثرات مشابهی در گل رز (Bar-Yosef *et al*., 2009) و توت فرنگی (Daneshmand *et al*., 2019; Ranjbar *et al*., 2011) به‌دست آمد. دسترسی بهینه گیاهان به نیتروژن از طریق تأثیر بر روی میزان پروتیئن، تقسیم و بزرگ شدن سلول‌ها و طول میانگره‌ها در افزایش ارتفاع بوته بسیار مؤثر می‌باشد به همین دلیل ارتفاع گیاه با کاربرد کود نیتروژن افزایش می‌یابد (Palma *et al*., 2002). در گل رز (Hosseini Farahi *et al*., 2013)، پسته (Rosta *et al*., 2016) و ذرت (Pannu *et al*., 2018) برهمکنش اوره و نیکل منجر به افزایش ارتفاع گیاهان می‌شود.

در این آزمایش تأثیر کاربرد نیکل در محلول غذایی حاوی اوره بر روی عمر گلجای، به احتمال به دلیل تاثیر نیکل بر بهبود متابولیسم اوره و افزایش غلظت محتوی کلروفیل برگ و همچنین جلوگیری از کاهش pH محیط ریشه، به دلیل جایگزینی آمونیوم با کود اوره می‌باشد که در چنین شرایطی تمامی عناصر غذایی در محدوده مناسب، جذب گیاه شده و منجر به افزایش عمر پس از برداشت گل‌های شاخه‌بریده گل رز می‌شود. در فرایند پس از برداشت گل‌های شاخه‌بریده، داشتن برگ‌هایی با سبزینه و محتوی کلروفیل و کربوهیدرات مناسب ضروری می‌باشد (Sanchez *et al*., 2009). در تایید نتایج این آزمایش، گزارش شده که عمر گلجای گل رز با کاربرد آمونیوم به عنوان کود نیتروژن بیشتر از تیمار نیترات می‌باشد (Bar-Yosef *et al*., 2009). در این آزمایش برهمکنش اوره و نیکل منجر به افزایش محتوی کلروفیل کل می‌شود و با نتایج مطالعات برهمکنش اوره و نیکل در کاهو (Khoshgoftarmanesh *et al*., 2001)، لیزیانتوس (Dolatkhahi *et al*., 2014)، گندم (Parlak *et al*., 2016) و گوجه‌فرنگی (Tan *et al*., 2000) که گزارش دادند، افزایش محتوی کلروفیل در گیاهان تغذیه شده با اوره به دلیل آسمیلاسیون کود اوره توسط نیکل می‌باشد، مطابقت دارد زیرا کلروفیل از مهمترین ترکیبات دارای نیتروژن در گیاهان است (Barker & Bryson, 2007). با افزایش غلظت نیکل محتوی کلروفیل کاهش خواهد یافت (Tabatabaei, 2009). کاهش میزان کلروفیل در غلظت‌های بالای نیکل به دلیل جایگزینی این عنصر با عناصر منیزیم، منگنز و آهن در ساختمان کلروفیل می‌باشد (Gajewska *et al*., 2006). مهار فعالیت آنزیم‌های درگیر در ساخت کلروفیل (پروتوکلروفیل ردوکتاز و آلفا آمینو لوالونیک‌اسید دهیدروژناز) توسط نیکل

منجر به محدود کردن بیوسنتز کلروفیل می‌شود. برهمکنش میان گروه سولفیدریل آنزیم‌ها و عناصر سنگینی همچون نیکل، اصلی‌ترین مکانیسم محدود کردن فتوسنتز محسوب می‌شود (Soltani *et al*., 2006).

در این آزمایش با افزایش غلظت نیکل، میزان فنول کل افزایش یافت. افزایش میزان فنول با کاربرد نیکل در غلظت‌های بالا همچنین در آویشن کوهی (Kulbat & Leszczyńska, 2016) نیز گزارش شده است. تولید ترکیبات فنولی در پاسخ به تنش‌های مختلف (تنش نیکل) از روش‌های اکثر گیاهان برای مقابله با تنش‌ها می‌باشد (Michalak, 2006). نیکل در غلظت‌های بالا می‌تواند از طریق تولید و تحریک گونه‌های اکسیژن فعال درگیاهان ایجاد سمیت کند. همچنین گیاهان می‌توانند از طریق تولید آنتی‌اکسیدان‌ها به گونه‌های اکسیژن فعال پاسخ دهند و از این طریق مولکول‌های گونه‌های اکسیژن فعال را نابود کنند ( Kulbat & Leszczyńska, 2016). در این تحقیق، برهمکنش اوره و نیکل در غلظت‌های بهینه منجر به افزایش میزان پروتئین، کربوهیدارت و کلروفیل کل شد. نیتروژن حاصل از آبکافت اوره توسط نیکل، در ساختار نوکلئوپروتئین‌ها، اسیدآمینه‌ها، آمین‌ها و قندهای آمینه (گالاکتوز آمین و گلوکز آمین)، پلیپپتیدها و تعدادی دیگر از ترکیبات آلی وجود دارد. از این رو تأمین مقدار نیتروژن بهینه، برای انجام وظایف هر سلول گیاهی ضروری می‌باشد (Feigin *et al*., 2004). کمبود نیکل باعث کاهش فعالیت آنزیم اوره‌آز و همچنین برخی از آنزیم‌های دیگر که مسئول احیای نیترات هستند، می‌شود. بنابراین، میزان نیتروژن کل در گیاهان کاهش پیدا کرده و در نهایت منجر به کاهش سنتز پروتئین‌ها می‌شود (Atta-Aly, 1999).

غلظت بالای عناصر سنگین منجر به کاهش زیست‌توده گیاهان می‌شوند و این کاهش می‌تواند ناشی از اختلال در سوخت و ساز نیتروژن و محتوی کلروفیل و در نتیجه کاهش در سنتز پروتئین باشد (Kulbat & Leszczyńska, 2016). در این تحقیق با افزایش غلظت نیکل میزان کربوهیدارت‌ها به ویژه در تیمارهای بدون اوره کاهش یافت. افزایش غلظت نیکل منجر به افزایش سوخت و ساز قندها (افزایش قندهای محلول) و در نتیجه کاهش مقدار کربوهیدرات‌ها می‌شود. از جمله عوامل افزایش قندهای محلول در غلظت‌های بالای نیکل، افزایش آنزیم‌های تجزیه‌کننده‌ی قندهای غیرمحلول همچون اینورتاز و سوکروز سنتتاز و همچنین کاهش مصرف این نوع قندها می‌باشد (Verma & Dubey 2003).

در این آزمایش با افزایش غلظت نیکل، میزان فنول کل و فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز افزایش و مقدار کربوهیدرات‌ها و رنگیزه‌های برگ به ویژه کلروفیل کل کاهش یافته و تاثیر منفی بر عملکرد شاخه و صفاتی همچون عمر گلجای، قطر و طول گل و شاخه می‌شود. همچنین نیکل در غلظت‌های بهینه منجر به افزایش و در غلظت‌های بالا منجر به کاهش میزان آنتوسیانین و کارتنوئید برگ می‌شود. در راستای تایید این نتایج، گزارش شده است که در لیزیانتوس (Dolatkhahi *et al*., 2014) با افزایش غلظت نیکل میزان آنتویسانین و کارتنوئیدها کاهش پیدا می‌کند. آنتوسیانین‌ها و کارتنوئیدها جزو مهم‌ترین ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در گیاهان هستند که نقش مهمی در برابر رادیکال‌های آزاد در تنش‌های مرتبط با عناصر سنگین دارند. این ترکیبات رادیکال‌های آزاد را از بین برده و از تولید بیشتر آن‌ها در گیاهان جلوگیری می‌کنند. آنتوسیانین‌ها به احتمال منجر به تسهیل ورود عناصر سنگین همچون نیکل به داخل واکوئل سلول‌ها و در نهایت جمع‌آوری آن‌ها از سایر قسمت‌های سلولی می‌شوند و این ترکیب به عنوان ناقل نیکل به داخل واکوئل عمل می‌کند (Tripathi *et al*., 2021).

کاهش کاروتنوئیدها به دلیل جلوگیری از مکانیسم غیرفتوشیمیایی کلروفیل‌های برانگیخته می‌باشد که توسط کاروتنوئیدها انجام و در نتیجه منجر به برهم زدن ساختمان آن‌ها می‌گردد (Michalak, 2006). در این پژوهش با افزایش غلظت نیکل، میزان فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز افزایش یافت که با مطالعات پیشین در توت‌فرنگی (Daneshmand *et al*., 2019)، گندم (Parlak *et al*., 2016) و سویا (Barcelos *et al*., 2018) که گزارش شده است با افزایش میزان غلظت نیکل، میزان آنزیم سوپراکسیددیسموتاز افزایش می‌یابد، همخوانی دارد. غلظت‌های بالای نیکل از طریق فعال‌سازی اکسیدوردوکتازها[1] منجر به واکنش‌های آنتی‌اکسیدانی در گیاهان می‌شود. تنش اکسیداتیو ناشی از نیکل در غلظت‌های بالا رخ می‌دهد که نقش خود را به عنوان یک پرواکسیدان نشان می‌دهد (Parlak, 2016). فعال شدن سیستم آنتی‌اکسیدان آنزیمی در گیاه برای جلوگیری از تجمع رادیکال‌های آزاد اکسیژن در شرایط تنش فلزات سنگین می‌باشد که به نظر می‌رسد فعالیت این آنزیم‌ها احتمالا به واسطهٔ ساخت مجدد پروتئین آنزیمی، تجمع رادیکال سوپراکسید و نهایتا القاء بیان ژن‌های کدکنندهٔ آنزیم‌ها باشد (Verma & Dubey, 2003).

---

۱- Oxidoreductase

## نتیجه‌گیری

در پژوهش حاضر، برهمکنش اوره و نیکل در محلول غذایی روی صفات مرفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمایی گل رز تاثیر معنی‌داری نشان داد. به طوری که در اغلب صفات اندازه‌گیری شده (صفات مورفولوژیک و بیوشیمیایی)، تیمارهای حاوی ۵۰۰ میکرومولار اوره و ۲/۵ میکرومولار نیکل (U2N2) و تیمار حاوی ۱۰۰۰ میکرومولار اوره و ۲/۵ میکرومولار نیکل (U3N2)، عملکرد مطلوب‌تری نسبت به سایر تیمارها داشتند. به واسطه تاثیر مستقیم نیکل در عمل هیدرولیز اوره و همچنین تاثیر ناچیز آن در رشد و نمو گل رز، کاربرد جداگانه هر کدام از آن‌ها در محلول‌های غذایی تاثیری روی کیفیت و کمیت رشد و نمو گل رز ندارند. در این مطالعه سوخت و ساز اوره و محتوی کلروفیل با کاربرد نیکل بهبود پیدا کرد و به دلیل اینکه کلروفیل یکی از مهم ترین ترکیبات حاوی نیتروژن است، بهبود آسیمیلاسیون اوره توسط نیکل ارتباط مستقیمی با محتوی کلروفیل کل دارد. با افزایش محتوی کلروفیل و کیفیت برگ گیاهان، عمر گلجای، عملکرد و ارتفاع شاخه، قطر شاخه و وزن تر نیز افزایش پیدا خواهد کرد. با توجه به اینکه عمل هیدرولیز اوره توسط نیکل در داخل گیاه اتفاق می‌افتد، بنابراین pH محیط ریشه کاهش پیدا نمی‌کند. با جایگزین کردن آمونیوم با کود اوره در فصل زمستان، pH محیط ریشه ثابت بوده و از کاهش pH و در نتیجه کاهش جذب عناصر (رقابت با سایر کاتیون‌هایی همچون کلسیم، منیزیم و پتاسیم) جلوگیری خواهد شد. در نتیجه با جذب بهینه عناصر توسط ریشه همه صفات کیفی و کمی گیاهان رز بهبود می‌یابد. نیکل در غلظت‌های بالا (۵ میکرومولار و بالاتر) سمیت ایجاد کرده و موجب کاهش رشد و نمو از راه اخلال در سنتز کلروفیل، کارتنوئید، آنتوسیانین، پروتئین و کربوهیدرات‌ها می‌شود. کاربرد ترکیبی اوره و نیکل در غلظت‌های مناسب می‌تواند تیمار موثری برای تولید مطلوب گل شاخه بریده رز از لحاظ کیفی و کمی باشد.

## منابع References


Ainsworth, E.A. & Gillespie, K.M. (2007). Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using Folin–Ciocalteu reagent. *Nature Protocol*, *2*(4), 875-877.

Alexieva, V., I. Sergiev, S. Mapelli & E. Karanov. (2001). 'The effects of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat'. *Plant, Cell & Environment*, *24*, 1337-1344.

Atta-Aly, M.A. (1999). Effect of nickel addition on the yield and quality of parsley leaves. *Scientia Horticulturae, 82*, 9-24.

Barcelos, J., Reis, H., Godoy, C., Gratão, P., Furlani Junior, E., Putti, F., Campos, M. & Reis, A. (2018). Impact of foliar nickel application on urease activity, antioxidant metabolism and control of powdery mildew (*Microsphaera diffusa*) in soybean plants. *Plant Pathology Journal, 67*, 1502-1513.

Barker, A. & Bryson, G. (2007). Nitrogen. 21-50. Handbook of Plant Nutrition. CRC Press, 773pp.

Bar-Yosef, B., Mattson, N. & Lieth, H. 2009. Effects of NH4: NO3: urea ratio on cut roses yield, leaf nutrients content and proton efflux by roots in closed hydroponic system. *Scientia Horticulturae, 122*, 610-619.

Beauchamp, C. & Fridovich, I. (1971). Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Analytical Biochemistry Journal, 44*, 276-287.

Chatatikun, M. & A. Chiabchalard. (2013). Phytochemical screening and free radical scavenging activities of orange baby carrot and carrot (*Daucus carota* Linn.) root crude extracts. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research, 5(4)*, 97-102.

Daneshmand, B., Eshghi, S., Gharaghani, A. & Eshghi, H. (2019). Growth, mineral nutrient composition, and enzyme activity of strawberry as influenced by adding urea and nickel to the nutrient solution. *Journal of Berry Research, 9*, 27-37.

Dixon, N.E., Gazzola, C., Blakeley, R.L. & Zerner, B. (1975). Jack bean urease (EC 3.5. 1.5). Metalloenzyme. Simple biological role for nickel. *Journal of the American Chemical Society, 97*, 4131-4133.

Dolatkhahi, A., shor.M, Vahdati Mashhadian, N & Golestani, M.A. (2014). The effect of nitrogen source and nickel nutrition on photosynthetic pigments and nitrogen metabolism of Lisianthus (*Eustoma grandiflorum* cv. 'Mariachi') cut flowers. *1st. National Congress of Ornamental Plants of Iran*.(In Persian)

Feigin, A., Ginzborg, C., Gilead, S., & Ackerman, A. (2004). Effect of NH4/NO3 ratio in nutrient solution on growth and yield of greenhouse roses. *Acta horticulturae, 189*, 127-135.

Gajewska, E., Skłodowska, M., Słaba, M. & Mazur, J. (2006). Effect of Nickel on antioxidative enzyme activities and chlorophyll contents in Wheat shoots. *Biologia Plantarum, 50*, 653–659.

Hosseini Farahi, M., Kholdbarin, B., Khalighi, A., Mashhadi Akbar Boojar, M., Eshghi, S. & Kavoosi, B. (2013). Effect of urea: ammonium: nitrate ratios in nutrient solution on photosynthesis and quantitative properties of rose cut flower in soilless culture. *Journal of Soil and Plant Interaction, 4*, 27-39. (In Persian).

Humphrise, J. (2006). Handbook of Plant Nutrition. Edited by Allen V. Barker and David J. Pilbeam. *CRC Press, New York*.

Khoshgoftarmanesh, A.H., Hosseini, F. & Afyuni, M. (2011). Nickel supplementation effect on the growth, urease activity and urea and nitrate concentrations in lettuce supplied with different nitrogen sources. *Scientia Horticulturae, 130*, 381-385.

Kulbat, K. & Leszczyńska, J. (2016). Antioxidants as a defensive shield in thyme (*Thymus vulgaris* L.) grown on the soil contaminated with heavy metals. *Food Science Biotechnology, 75 (2)*, 109-117.

Marschner, H. (2011). Marschner's mineral nutrition of higher plants, *Academic press.*

Marschner, H. (2023). Marschner's mineral nutrition of higher plants, *Academic press.* Book • Fourth Edition.

Masuko, T., Minami, A., Iwasaki, N., Majima, T., Nishimura, S.-I. & Lee, Y.C. (2005). Carbohydrate analysis by a phenol–sulfuric acid method in microplate format. *Analytical Biochemistry Journal, 339(1)*, 69-72.

Mercurio, G. (2007). Cut Rose Cultivation around the World (1th Eds.). Schreurs, the Netherlands. (pp. 260).

Michalak, A. (2006) Phenolic compounds and their antioxidant activity in plants growing under heavy metal Stress. *Polish Journal of Environmental Studies, 15(4)*, 523-530.

Palma, J.M., Sandalio, L.M., Corpas, F.J., Romero-Puertas, M.C., McCarthy, I., del Río. L.A. (2002). Plant proteases protein degradation and oxidative stress: Role of peroxisomes. *Plant Physiology and Biochemistry, 40*, 521- 530

Pannu, P., Patel, H. & Mehta, P. (2018). Effect of Ni and N sources (urea and ammonium sulphate) on growth and urease enzyme activities in maize plant (*Zea mays*). *Bioscience Trends, 10*, 5703-5710.

Parlak, K. U. (2016). "Effect of nickel on growth and biochemical characteristics of wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings." NJAS - Wagening. *Life Sciences Journal, 76*, 1-5.

Ranjbar, R., Eshghi, S. & Rostami, M. (2011). Effect of foliar application of nickel sulfate and urea on reproductive growth and quantitative and qualitative characteristics of strawberry fruit (*Fragaria ananassa* Duch. cv. Pajaro). *Journal of Soil and Plant Interactions, 2*, 41-49. (In Persian).

Rosta, H. V, bagheri & F, Mohsenzadeh. (2016). Comparison of nutrition of cut rose (*Rosa hybrida* L. cv. Grain Bdprex) with ammonium fertilizer by coltan and nitrate method in soil culture. *Journal of Plant Production*, Volume 23, Number 3. (In Persian)

Sánchez, E.G. (2009). Study of nutrient solution management in soilless rose cultivation, through the analysis of physiological parameters and nutrient absorption. Departamento de Producción Vegetal, *Universidad Politécnica de Valencia. Doctoral*, 174.

Singh, R., Chandel, S., Yadav, P. & Singh, S. (2011). Effect of Ni on nitrogen uptake and yield of wheat (*Triticum aestivum*). *Indian Journal of Scientific Research, 2*, 61-63.

Soltani, N., Khavari-Nejad, R.A., Yazdi, M.T., Shokravi, S. & Fernández-Valiente, E. (2006). Variation of nitrogenase activity, photosynthesis and pigmentation of the cyanobacterium Fischerella ambigua strain FS18 under different irradiance and pH values. *World Journal of Microbiology & Biotechnology, 22*, 571-576.

Tabatabaei, S. (2009). "Supplements of nickel affect yield, quality, and nitrogen metabolism when urea or nitrate is the sole nitrogen source for cucumber." *Journal Plant Nutrition, 32(5)*, 713-724.

Tan, X.W., Ikeda, H. & Oda, M. (2000). Effects of nickel concentration in the nutrient solution on the nitrogen assimilation and growth of tomato seedlings in hydroponic culture supplied with urea or nitrate as the sole nitrogen source. *Scientia Horticulturae, 84*, 265-273.

Tripathi, S., Sharma, P., Singh, K., Purchase, D. and Chandra, R. (2021). Translocation of heavy metals in medicinally important herbal plants growing on complex organometallic sludge of sugarcane molasses-based distillery waste. Environ. *Technology Innovation, 22*, 101434.

Verma, S. & Dubey, R. S. (2003). Lead toxicity induces lipid peroxidation and alters the activities of antioxidant enzymes in growing rice plants. *Plant Science, 164(4)*, 645-655.

Warren, C. (2008). Rapid measurement of chlorophylls with a microplate reader. *Plant Nutrition Journal, 31(7)*, 1321-1332.

Witte, C. P. (2011). "Urea metabolism in plants." *Plant Science, 180(3)*, 431-438.

Iranian Journal of Horticultural Science and Technology 25 (2):245-262 (2024)
Research article

# Investigation of Nickel and Urea Interaction on morphological and biochemical characteristics of Roses (*Rosa hybrida* cv. Tonight) in Hydroponic cultivation

**Saber Shokri[1], Parviz Noruzi[1]*, Rasoul Rahnemaie[2] and Javad Rezapourfard[1]**
1. Horticulture Science Department Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia
2. Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran
* Correspondence, Email: (p.noruzi@urmia.ac.ir)

Urea is one of the sources of nitrogen fertilizer, which has many applications in agriculture due to its low cost, easy application and high nitrogen content (46%). The main role of nickel is to participate in urea metabolism in plants with urea nitrogen source. This research was conducted with the aim of investigating the effect of nickel and urea nutrition in the hydroponic cultivation conditions on the growth characteristics and also reducing the negative effects of ammonium application in the winter season (decreasing the pH of the root environment and disrupting the absorption of elements) of cut roses of (*Rosa hybrida* cv. Tonight). A factorial experiment was performed based on completely randomized design with three levels of urea (0, 500 and 1000 µmol) and three levels of nickel (0, 2.5 and 5 µmol) from the source of nickel nitrate by directly adding it to the fertilizer solution. 3 months after applying the treatments, sampling of the developed leaves was done to analyze the morphological and biochemical traits. The results of this experiment showed that the interaction of nickel and urea was significant on the traits of steem height, flower length and flower diameter, fresh weight, steem diameter, chlorophyll and carotenoid content, total protein, anthocyanin and phenol. The application of 1000 (µmol $L^{-1}$) of urea and 2.5 (µmol $L^{-1}$) of nickel led to a 40% increase in yield compared to the control treatment. The highest stem height (86.96 cm) was obtained in the treatment of 1000 (µmol $L^{-1}$) of urea and 2.5 (µmol $L^{-1}$) of nickel. High concentrations of nickel led to leaf toxicity, reduction of anthocyanin, chlorophyll, and increase of total phenol, and as a result, reduced the green color of leaves. The highest amount of superoxide desmutase enzyme (0.577 U/mg Protein) was obtained in the treatment of 500 micromoles of urea and 2.5 micromoles of nickel, and the lowest amount of the enzyme (0.337 U/mg Protein) was gained in the treatment of 500 micromoles of urea without the presence of nickel. Application of urea alone had no significant effect on the above traits. By replacing ammonium with urea in the nutrient solution, it prevented the decrease in the pH of the environment.

**Keywords**: Anthocyanin, Phenol, Superoxide Dismutase, Biochemical.