

نشریه پژوهشی:

بررسی اثرات کاربرد گاما آمینو بوتیریک اسید و لاکتات کلسیم بر فتوسنتز و تجمع نترات در کاهو رقم دیمایو

نجمه زینلی پور^{۱*} و فاطمه عاقبتی^۲

۱ و ۲. استادیار و دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران
(تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۱/۱۱ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۶/۹)

چکیده

جذب نترات در گیاهان با توجه به نگرانی‌های زیست محیطی و کیفیت محصولات کشاورزی اهمیت بسیار زیادی دارد. از طرفی فتوسنتز به عنوان اصلی‌ترین شاخص رشد و عملکرد گیاهان مطرح بوده، بنابراین توانایی حفظ آن در شرایط مختلف محیطی برای ثبات عملکرد محصول مهم می‌باشد. در این مطالعه برخی از خصوصیات فیزیولوژیکی و میزان تجمع نترات با استفاده از تیمار گاما آمینو بوتیریک اسید (گابا) و لاکتات کلسیم در کاهو رقم دیمایو مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور از محلول‌های گابا با غلظت‌های (صفر، نیم و یک و نیم میلی‌گرم بر لیتر) و لاکتات کلسیم با غلظت‌های (صفر، یک و دو درصد) و اثر متقابل آن‌ها، به صورت محلول‌پاشی برگ‌ها در طی دو مرحله پس از انتقال نشاء و دو هفته پس از آن استفاده شد. این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در گلخانه انجام شد. تیمار گابای ۱/۵ میلی‌گرم بر لیتر + لاکتات کلسیم ۲ درصد بیشترین میزان عملکرد، کلروفیل کل و محتوای آب نسبی را نشان داد، در حالی که بیشترین میزان نشت یون و تجمع نترات در برگ گیاهان شاهد به دست آمد. همچنین کمترین میزان تجمع نترات در تیمار گابا با غلظت ۱/۵ میلی‌گرم بر لیتر اندازه‌گیری شد که مقدار تجمع نترات را نسبت به گیاهان شاهد به میزان چهار برابر کاهش داد.

واژه‌های کلیدی: آیسبرگ، کلروفیل، محتوای آب نسبی، نشت یونی.

Effects of application of GABA and calcium lactate on photosynthesis and nitrate accumulation in *Lactuca sativa* 'Dimayo'

Najme Zeinali Pour^{1*} and Fatemeh Aghebati²

1, 2. Assistant Professor and M. Sc. Student, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran
(Received: Jan. 31, 2022 - Accepted: Aug. 31, 2022)

ABSTRACT

Nitrate uptake in plants is very important due to environmental concerns and the quality of agricultural products. On the other hand, photosynthetic efficiency is considered as the principal indicator of plant growth and yield, therefore the ability to sustain crop stability in different environmental conditions is crucial. In this study, some physiological characteristics and nitrate accumulation were investigated using γ -aminobutyric acid (GABA) and calcium lactate in lettuce of Dimayo cultivar. For this purpose, GABA solutions with three concentrations (0, 0.5 and 1.5 mg/l) and calcium lactate with three concentrations (0, 1 and 2 %) and their interaction were used, as foliar spraying during two times including after seedling transplant and two weeks later. This factorial experiment was performed in a completely randomized design in the greenhouse. GABA treatment of 1.5 mg/l + calcium lactate 2% showed the highest yield, total chlorophyll and relative water content. However, the highest ion leakage and nitrate accumulation were obtained in the leaves of control plants. Also, the lowest amount of nitrate accumulation was measured in GABA treatment with a concentration of 1.5 mg/l, which reduced the amount of nitrate accumulation compared to control plants by four times.

Keywords: Chlorophyll, iceberg, ion leakage, relative water content.

* Corresponding author E-mail: najme.zeinali@yahoo.com

مقدمه

کاهو (*Lactuca sativa* L.) مهم‌ترین سبزی سالادی جهان و یک سبزی یکساله است (Afsari Yeganeh *et al.*, 2022). از نظر ارزش غذایی دارای ویتامین‌های A، B، C و E، کارتنوئیدها، اسیدهای فنولیک و مواد معدنی نظیر فسفر، منیزیم و کلسیم می‌باشد (Perucka & Olszowka, 2011). استفاده از کودهای شیمیایی به جهت افزایش تولید محصولات کشاورزی به دلیل آلودگی منابع آب و خاک دارای محدودیت است که در این میان استفاده از مواد ارگانیک به منظور استفاده بهینه از نهاده‌های کشاورزی و به دست آوردن عملکردهای بالا نقش بسیار مهمی در سلامت کشاورزی دارد. در راستای نهادینه کردن کاهش مصرف کودهای شیمیایی و جایگزینی کودهای آلی و زیستی، مطالعات نشان داده که بهترین عامل برای افزایش حاصلخیزی خاک و افزایش کمی و کیفی محصولات کشاورزی، استفاده از کودهای زیستی است. کودهای زیستی به مواد حاصلخیز کننده‌ای اطلاق می‌شوند که حاوی تعداد کافی از یک یا چند گونه از باکتری‌های سودمند خاکزی هستند (Nasir Zadeh *et al.*, 2021). ترکیب گابا (گاما آمینو بوتیریک اسید) که حضور آن در سلول‌های گیاهی در سال ۱۹۹۰ به اثبات رسید، یک اسید آمینه غیرپروتئینی چهار کربنه است که بخش قابل توجهی از اسیدهای آمینه آزاد در سلول‌های گیاهی را تشکیل می‌دهد (Bouches & Fromm, 2004). گابا در گیاهان از طریق دکربوکسیلاسیون گلوتامات تولید می‌شود (Wang *et al.*, 2014). گابا در پاسخ به تنش در گیاهان تجمع می‌یابد (Shelp *et al.*, 2012). کاربرد خارجی گابا می‌تواند رشد گیاه، تحمل به تنش از طریق فعالیت آنزیم در مسیرهای متابولیسم نیتروژن، تجمع آلانین محافظ در برابر تنش و جلوگیری از تجمع گونه‌های فعال اکسیژن^۱ (ROS) و مرگ سلول و حذف ROS را بهبود بخشد (Barbosa *et al.*, 2010). مقدار گابا در گیاهان بسیار اندک است ولی در شرایط تنش، گیاهان جهت افزایش مقاومت خود، به سرعت مقدار آن را در

بافت‌های رویشی افزایش می‌دهند (Kinnersley & Turano, 2000). هم‌چنین رشد رویشی، فتوسنتز و ظرفیت تبادل گازها را افزایش می‌دهد و نیز بیوسنتز کلروفیل، پاسخ‌های آنزیمی غیر آنتی‌اکسیدانی و پایداری غشاء را تحریک می‌کند (Luo *et al.*, 2011). گابا با غلظت ۱ میلی‌گرم بر لیتر باعث افزایش رشد رویشی و اجزای عملکرد کدو شده است (Ashrafuzzaman *et al.*, 2010). بر طبق گزارشات گابای ۵ میلی‌گرم بر لیتر عملکرد کل گیاه کنگد را افزایش داد (Zubair *et al.*, 2010). یکی از مهم‌ترین اعمال کلسیم، راه‌اندازی و انتقال پیام‌های درون سلولی در برابر محرک‌های مختلف و بروز پاسخ مناسب است (Kader & Lindberg, 2010). کلسیم در تنظیم مکانیسم‌های مختلف گیاهان در شرایط محیطی نظیر؛ کم آبی، گرما، سرما و شوری نقش دارد. اثر مثبت کلسیم در بهبود تحمل به تنش‌های غیر زیستی به تنظیم روابط آبی، فعالیت سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی، انباشت اسمولیت‌ها، بهبود محتوی رنگدانه‌های فتوسنتزی و تعادل تغذیه‌ای نسبت داده شده است (Kurtyka *et al.*, 2008). کاربرد کلسیم باعث افزایش عملکرد و مقدار ویتامین ث در گوجه فرنگی، کاربرد نیترات کلسیم باعث رونق عملکرد ترخون و نیز کاربرد لاکتات کلسیم سبب حفظ کیفیت و بافت کاهو و هویج و مانع تخریب کلروفیل و افت میزان ویتامین ث و تولید مالون‌دی‌آلدئید در اسفناج شد (Dong *et al.*, 2004; Heydari *et al.*, 2014; Martin-Diana *et al.*, 2005; Wen-bin *et al.*, 2013). استفاده بیش از حد از کودهای نیتروژنه ممکن است باعث آلودگی و جذب زیاد نیترات به وسیله گیاه شود که مصرف آن باعث ورود مقادیر زیاد نیترات به بدن شده که سبب بروز بیماری‌های متعددی در انسان می‌شود (Haft Baradaran *et al.*, 2018). اگرچه نیترات در کمتر از حد استاندارد برای انسان غیر سمی است، ولی ممکن است در بدن تبدیل به نیتريت شده و با آمیدها، آمین‌ها و اسیدهای آمینه ترکیب و باعث ایجاد ترکیبات نیتروزامین شود که برای سلامت انسان خطرناک هستند (Hasani Moghadam *et al.*, 2019). حد بحرانی سمیت نیترات در کاهو ۳۸۲ تا ۳۶۲۰

احیاء کننده نیترات و میزان فتوسنتز در نور پایین و عدم تبدیل نیترات به مواد آلی سبب ذخیره بیشتر نیترات طی زمستان می‌گردد. کاهش فتوسنتز می‌تواند به دلیل هدایت روزنه‌ای پایین‌تر، کاهش فرآیندهای متابولیکی به ویژه در جذب کربن، بازدارندگی ظرفیت فتوسنتزی و یا آمیزه‌ای از موارد نامبرده باشد (Jamil *et al.*, 2007).

هدف از انجام این مطالعه بررسی تأثیر ترکیب‌های گاما آمینو بوتیریک اسید و لاکتات کلسیم بر خصوصیات مرتبط با رشد کاهو و همچنین مطالعه میزان توانایی این دو ترکیب در کاهش تمایل به انباشتگی نیترات در برگ‌های خوراکی کاهوی رقم دیمایو می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در بهار ۱۳۹۸ به صورت یک آزمایش گلدانی، در گلخانه تحقیقاتی سبزی‌کاری دانشگاه شهید باهنر کرمان اجرا گردید. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی و در سه تکرار و در مجموع نه دسته تیمار و در هر واحد آزمایشی تعداد ۲۵ بوته در نظر گرفته شد. ابتدا بذرها کاهوی زودرس بهاره رقم دیمایو در محلول یک درصد هیپوکلریت سدیم استریل سطحی و با آب مقطر شستشو داده شدند، سپس در فروردین ماه در گلخانه درون سینی‌های نشاء کشت شدند و از محلول هوگلند یک چهارم تا زمان انتقال به گلدان‌های نهایی برای تغذیه گیاهچه‌ها استفاده شد. بستر کشت قبل از انتقال نشاء ترکیبی از ماسه بادی و پیت ماس با نسبت‌های مساوی بود. بستر کشت نهایی درون گلدان شامل؛ مخلوط پیت ماس و ماسه بادی و پرلیت با نسبت‌های مساوی بود. انتقال نشاء به گلدان‌های بزرگ در مرحله شش برگگی گیاهچه‌ها انجام شد. رقم مورد استفاده در این تحقیق، از جمله ارقام دارای برگ‌های بسیار لطیف، هد سبک وزن و با فشردگی متوسط می‌باشد. در هر گلدان یک عدد گیاه قرار گرفت. با توجه به اندازه قطر گلدان حدود ۴۶ سانتی‌متر، گلدان‌ها با یک فاصله تقریبی ۴ سانتی‌متری از هم قرار گرفتند که در مراحل آخر رشد

میلی‌گرم در کیلوگرم وزن تر است. سازمان بهداشت جهانی، استاندارد مصرف روزانه نیترات برای انسان را ۳/۷ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن تعیین کرده است (WHO, 1978). تجمع نیترات در گیاهان تحت تأثیر بسیاری از عوامل محیطی و ژنتیکی قرار دارد و این مورد به گونه، رقم، اندام‌های مختلف گیاه، سن و فاکتورهای ژنتیکی بستگی دارد (Tabande & Safarzadeh Shiraze, 2018). استفاده از ارقام مناسب، کودهای پایه آمونومی، مصرف بهینه کود و افزودن کودهای ارگانیک از روش‌های کاهش تجمع نیترات در سبزیجات می‌باشد. هر عاملی که منجر به کاهش فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز در گیاه شود، به نحوی با تجمع نیترات در اندام هوایی گیاه همراه است. انتقال نیترات از ریشه به اندام هوایی گیاه کم است ولی با افزایش مقدار نیترات، انتقال به ساقه و برگ‌ها تحریک می‌شود. بنابراین تحت شرایطی که مقدار زیادی کود نیتروژنی مصرف شود، ظرفیت احیای نیترات کاهش می‌یابد و در نهایت مقادیر مازاد نیترات به برگ‌ها انتقال می‌یابد. طبق مطالعات متخصصین تغذیه گیاهی، سبزی‌های برگی نسبت به سایر محصولات گیاهی تمایل بیشتری به تجمع نیترات دارند (L'hirondel *et al.*, 2002). نور کم، دمای زیاد و تنش‌های رطوبتی منجر به کاهش فعالیت آنزیم احیاء کننده نیترات و در نتیجه افزایش تجمع نیترات می‌گردند (Alexander *et al.*, 2008). نقش فتوسنتز فقط در تجمع مواد ذخیره‌ای و ساختاری گیاه نیست، به طوری که محصولات فتوسنتز می‌توانند در تنظیم اسمزی مؤثر واقع شوند. فتوسنتز تعیین کننده اصلی رشد و عملکرد گیاهان است و توانایی حفظ آن در شرایط مختلف محیطی برای ثبات عملکرد مهم است. کاهش فتوسنتز را می‌توان به نقصان هدایت روزنه‌ای نسبت داد که تحت شرایط تنش کاهش می‌یابد. میزان تجمع نیترات با فتوسنتز رابطه عکس دارد و هر عاملی از جمله کاهش دما که سبب کاهش فتوسنتز گردد سبب افزایش تجمع نیترات در بافت‌های گیاه می‌گردد (Marschner, 1995). همچنین سوخت و ساز نیترات در گیاه تحت تأثیر شدت نور است به طوری که کاهش فعالیت آنزیم

فقط هد دارای برگ‌های سرپوشیده و متراکم در همه تیمارها وزن شدند. داده‌های حاصل با نرم‌افزار SAS (ورژن 9.3) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد صورت پذیرفت.

نتایج و بحث

کلروفیل کل

بر طبق نتایج تجزیه واریانس در صفت کلروفیل کل، اثر ساده گابا و لاکتات کلسیم در سطح یک درصد و اثر متقابل این دو ترکیب در سطح پنج درصد معنی‌دار شده است (جدول ۱). نتایج جدول مقایسه میانگین نشان داد که بیشترین مقدار سبزی‌نگی مربوط به تیمار ترکیبی کاربرد گابای ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر و لاکتات کلسیم دو درصد بود و کمترین میزان آن در تیمار شاهد مشاهده شد (جدول ۳). به نظر می‌رسد گابا به عنوان منبعی از نیتروژن با دخالت در سیستم فتوسنتزی گیاه و عملکرد رشدی باعث افزایش میزان کلروفیل می‌شود. گزارش شده است که گابا در غلظت ۱ میلی‌گرم بر لیتر بر روی گیاه نخود سیاه محتوی کلروفیل را افزایش داده است (Islam *et al.*, 2010). نقش کلسیم در افزایش میزان کلروفیل را می‌توان به تأثیر آن در تجمع مولکول‌های آپوپروتئین کلروفیل در کمپلکس کلروفیل آنتن مرتبط دانست. کاربرد کلسیم باعث افزایش میزان کلروفیل در گیاه مرزنجوش شد (Dordas, 2009). لاکتات کلسیم مانع از افزایش نفوذپذیری غشای سلولی، محتوای مالون‌دی‌آلدئید، تخریب کلروفیل و کاهش میزان ویتامین ث در اسفناج شده است (Wen-bin *et al.*, 2013).

عملکرد هد

اهمیت سرعت جذب خالص در این است که میزان فتوسنتز انجام شده توسط اندام‌های گیاهی می‌تواند سهم قابل ملاحظه‌ای در عملکرد محصول داشته باشد. نتایج تجزیه واریانس در صفت عملکرد هد نشان داد که اثر ساده گابا و لاکتات کلسیم در سطح یک درصد و اثر متقابل این دو در سطح پنج درصد معنی‌دار شده است (جدول ۱). نتایج حاصل از مقایسه میانگین

که طبق (مجموع برگ‌های خوراکی) در بیشترین حد گسترش داشتند، برگ‌های جانبی گیاه روی گلدان مجاور هیچ گونه سایه‌اندازی نداشته باشند. به عبارتی از مرکز هر گلدان تا مرکز گلدان بعدی ۵۰ سانتی‌متر فاصله احتیاطی لحاظ شد. در کشت مزرعه‌ای یا جوی پشته‌ای کاهو در گلخانه، روی بستر کشت هم معمولاً فاصله بین بوته‌ها ۴۰ تا ۵۰ سانتی‌متر بر اساس خصوصیات رشد هر رقم کاهو در نظر گرفته می‌شود. در پایان رشد و کاربرد هر تیمار، فاصله بین طبق (مجموع برگ‌های خوراکی) کاهوی دیمایو از لبه گلدان بین ۳ تا ۶ سانتی‌متر بر اساس جثه هر بوته در هر تیمار بود. فاکتورهای این تحقیق شامل محلول‌های گاما آمینو بوتیریک اسید (GABA) در سه غلظت (صفر، نیم و یک و نیم میلی‌گرم بر لیتر) و لاکتات کلسیم در سه غلظت (صفر، یک و دو درصد) بودند. اولین مرحله محلول‌پاشی، دو هفته بعد از انتقال نشاها به گلدان‌های اصلی انجام شد و دومین مرحله محلول‌پاشی، دو هفته بعد از محلول‌پاشی اول صورت گرفت. صفات مورد ارزیابی در این پژوهش شامل: مقدار کلروفیل کل، عملکرد هد خوراکی یا طبق (مجموع برگ‌های خوراکی)، درصد نشت یونی، درصد محتوای آب نسبی، فتوسنتز خالص، هدایت روزنه‌ای، میزان نیترات برگ و فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز بودند. برای سنجش میزان کلروفیل از روش Lichtenthaler (1987) استفاده گردید. برای تعیین پایداری غشای سلولی در برگ و میزان نشت یونی، از روش Kumar & Dey (2011) استفاده گردید. تعیین تجمع نیترات در نمونه‌ها و نیز میزان فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز با استفاده از روش اسپکتروفوتومتری در طول موج ۵۴۰ نانومتر دستگاه اسپکتروفوتومتر یونیکو مدل UV2100 ساخت آمریکا انجام شد (Coronel *et al.*, 2008). پارامترهای هدایت روزنه‌ای و سرعت فتوسنتز خالص در برگ، با استفاده از برگ‌های کاملاً توسعه یافته هفتم و هشتم ده گیاهچه کاهو از هر تیمار با موقعیت مشابه روی بوته با دستگاه کلروفیل فلوریمتر (مدل Hansatech LID Pocket) اندازه‌گیری شدند. برای توزین، برگ‌های جانبی هد (۴ تا ۵ برگ) که فشردگی لازم را نداشتند، ابتدا حذف و

معنی دار شده است (جدول ۱). بررسی نتایج مقایسه میانگین در میزان نشت یونی نشان داد که بیشترین پایداری غشاء در کاربرد تیمار ترکیبی گابای ۱/۵ میلی گرم در لیتر با لاکتات کلسیم دو درصد، دیده شد در حالی که بالاترین میزان نشت یون‌ها و تخریب در نمونه‌های شاهد رخ داده بود (جدول ۳). اثر مثبت گابا در جلوگیری از صدمه دیدن غشاء، بهبود شرایط سلول، بهبود میزان کلروفیل و کارایی بهتر بیوشیمیایی است (Nayyar *et al.*, 2014). کلسیم در اتصال پلی‌ساکاریدها و پروتئین‌های تشکیل دهنده دیواره سلولی اثرگذار است و نیز نقش مهمی در تنظیم نفوذپذیری انتخابی غشای سلولی دارد. وقتی گیاه در محیط فاقد کلسیم رشد می‌کند غشاهای سلولی تراوا می‌شود و کارایی خود را در جلوگیری از انتشار آزاد یون‌ها از دست می‌دهد. نتایج حاکی از این است که کاربرد تیمارهای گابا و کلسیم کلرید با حفظ و نگهداری استحکام غشاء، باعث کاهش نشت یونی در گیاه برنج تحت تنش سرما شده است (Jia *et al.*, 2017). مطالعه‌ای بر روی چچم نشان داد محلول پاشی گاما آمینو بوتیریک اسید باعث حفظ ثبات غشای سلولی در شرایط تنش کم آبی گردیده است (Krishma & Laskowski, 2013).

نشان داد که تیمار اثر متقابل گابای ۱/۵ میلی گرم در لیتر و لاکتات کلسیم ۲ درصد بیشترین میزان عملکرد (۲۸/۱۱ تن در هکتار) را با توجه به نوع رقم که دارای هد سبک بوده و نیز نوع کشت داشته و در مرحله بعد با اندکی تفاوت تیمار ۱/۵ میلی گرم در لیتر گابا به همراه لاکتات کلسیم یک درصد مؤثر بوده است. کمترین عملکرد نیز مربوط به تیمار شاهد بوده است (جدول ۳). گابا و کلسیم نقش مهمی در متابولیسم نیتروژن دارند، بنابراین غلظت مناسب از آن‌ها می‌تواند فتوسنتز را افزایش داده و در نتیجه باعث افزایش ماده خشک و نیز عملکرد گیاه شود (Bouches & Fromm, 2004). مطالعات نشان داده که محلول پاشی گابای ۱ و ۵ میلی گرم بر لیتر به ترتیب باعث افزایش رشد و عملکرد کدو و کنگد شده است (Ashrafuzzaman *et al.*, 2010, Zubair *et al.*, 2010). هم‌چنین کاربرد لاکتات کلسیم به عنوان یک عامل تقویت کننده باعث حفظ بافت و کیفیت کاهو و هویج می‌شود (Martin-Diana *et al.*, 2005).

نشت یونی

بر طبق نتایج تجزیه واریانس اثر ساده گابا و لاکتات کلسیم در سطح یک درصد و اثر متقابل این دو ماده در سطح پنج درصد در صفت نشت یونی

جدول ۱. نتایج تجزیه واریانس اثر تیمارهای ارگانیک بر برخی ویژگی‌های فیزیولوژیک و عملکرد کاهو رقم دیمایو.

Table 1. Results of analysis of variance of the effect of organic treatments on some physiological characteristics and yield of lettuce 'Dimayo'.

Source of variation	df	Mean of squares			
		Total chlorophyll	Head yield	Ion leakage	Relative water content
GABA	2	98.76**	24.741**	0.075**	314.77**
Calcium Lactate	2	83.18**	13.211**	0.123**	531.44**
GABA× Calcium Lactate	4	5.82*	3.2508*	0.0045*	41.555*
Error	18	1.434	0.814	0.0011	14.22
C.V. (%)		7.565	4.831	6.4606	4.861

ns, *, **: Non-significantly difference and significantly difference at 5 and 1 % probability level, respectively.

جدول ۲. نتایج تجزیه واریانس اثر تیمارهای ارگانیک بر تجمع نیترات و فتوسنتز کاهو رقم دیمایو.

Table 2. Results of analysis of variance of the effect of organic treatments on nitrate accumulation and photosynthesis of lettuce 'Dimayo'.

Source of variation	df	Mean of squares			
		Net photosynthesis rate	Stomatal conductance	Nitrate accumulation	Nitrate reductase activity
GABA	2	1643.81**	176.56**	562.64**	0.0028**
Calcium Lactate	2	141.26**	133.340**	2240.39*	0.00022*
GABA× Calcium Lactate	4	0.063*	0.2349*	30219.83**	0.00028**
Error	18	423.01	111.08	451.25	0.000004
C.V. (%)	-	18.58	13.69	3.0225	5.2186

ns, *, **: Non-significantly difference and significantly difference at 5 and 1 % probability level, respectively.

محتوای آب نسبی

محتوای آب نسبی یکی از چندین روش اندازه‌گیری وضعیت آبی بافت است که رابطه نزدیکی با پتانسیل آبی برگ دارد (Heidari *et al.*, 2014). جدول تجزیه واریانس در صفت محتوای آب نسبی بیانگر آن بود که اثر ساده گابا و لاکتات کلسیم در سطح یک درصد و اثر متقابل این دو در سطح پنج درصد معنی‌دار شده است (جدول ۱). نتایج جدول مقایسه میانگین حاکی از آن است که بیشترین درصد محتوای نسبی برگ مربوط به اثر ترکیب گابای ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر با لاکتات کلسیم دو درصد، حدود ۹۰ درصد می‌باشد و کمترین مقدار محتوای نسبی در برگ‌های تیمار شاهد مشاهده گردید (جدول ۳). کاربرد لاکتات کلسیم باعث کاهش میزان تنفس، افزایش استحکام و کاهش بروز اختلالات فیزیولوژیکی می‌شود (Lamikanra & Watson, 2004). کلسیم با استحکام سلول‌ها و اثر تورژسانس آن‌ها بر میزان محتوای آب نسبی اثر داشته و قابلیت نگهداری آب سلول‌ها را افزایش می‌دهد. استفاده از سولفات کلسیم ۵ میلی‌مول در گوجه فرنگی و گابا در گیاهان چچم منجر به افزایش محتوای نسبی آب و کیفیت بهتر گردید (Levent *et al.*, 2007, Krishma & Laskowski, 2013).

سرعت فتوسنتز خالص

بر طبق نتایج تجزیه واریانس اثر ساده گابا و لاکتات کلسیم در سطح یک درصد و اثر متقابل این دو ماده در سطح پنج درصد در صفت سرعت فتوسنتز معنی‌دار شده است (جدول ۲). بر اساس جدول مقایسه میانگین

بیشترین میزان فتوسنتز در تیمار توام محلول گابای ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر با لاکتات کلسیم یک درصد، به میزان ۱۶/۰۴ میکرومول بر ثانیه حاصل شده است (جدول ۴). بیش از ۵۰ درصد نیتروژن برگ به سیستم فتوسنتزی وابسته است و روابط نزدیکی بین ظرفیت فتوسنتزی و مقدار نیتروژن برگ وجود دارد. گابا با مشارکت در چرخه کربس و تجمع مواد فتوسنتزی در گیاه باعث افزایش درصد ماده خشک گیاه از طریق افزایش فتوسنتز می‌شود (Pour Azar *et al.*, 2014). کلسیم نیز به طور مستقیم در فرآیندهای فتوسنتز دخالت دارد و کمبود آن، کاهش کارایی کربوکسیلاسیون و فتوسنتز در گیاهان را به همراه دارد (Kokabi *et al.*, 2012). در توت فرنگی کاربرد کلرید کلسیم توانسته موجب افزایش شدت فتوسنتز شود (Zahedi Pour & Asghari, 2019).

هدایت روزنه‌ای برگ

نتایج تجزیه واریانس در صفت هدایت روزنه‌ای بیانگر آن بود که اثر ساده گابا و لاکتات کلسیم در سطح یک درصد و اثر متقابل این دو ماده در سطح پنج درصد معنی‌دار شده است (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین نشان داد که بیشترین هدایت روزنه‌ای در تیمار گابای ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر و کمترین آن در شاهد مشاهده گردید (جدول ۴). گابا زمینه را برای سنتز اسید آبسزیک فراهم کرده و این منجر به بسته شدن روزنه‌ها و افزایش آب برگ تحت اثر اسمولیتی گابا می‌شود. در واقع گابا و کلسیم با تنظیم مکانیسم باز و بسته شدن روزنه، باعث افزایش هدایت روزنه‌ای شده و نیز جذب آب در گیاه را بهبود می‌بخشد (Jakab *et al.*, 2005).

جدول ۳. مقایسه میانگین اثر گاما آمینو بوتیریک اسید و لاکتات کلسیم بر برخی خصوصیات کاهو رقم دیمایو.

Table 3. Mean comparison the effect of γ -aminobutyric acid and calcium lactate on some characteristics of lettuce 'Dimayo'.

Treatments	GABA	Total chlorophyll (mg/g FW)	Head yield (ton/ha)	Ion leakage (%)	Relative water content (%)
Calcium lactate	0	10.34 ^c	16.11 ^c	49.67 ^a	66.89 ^{de}
	0.5	12.64 ^d	17.16 ^{de}	38.92 ^b	67.31 ^{de}
	1.5	15.36 ^c	26.24 ^b	35.64 ^c	84 ^c
1	0	12.24 ^d	17.13 ^d	31.33 ^{cd}	69.89 ^d
	0.5	14.55 ^c	17.65 ^d	36.60 ^c	71 ^d
	1.5	20.2 ^b	27.63 ^{ab}	30.62 ^d	87.71 ^b
2	0	15.06 ^c	17.70 ^d	31.08 ^{cd}	85.67 ^b
	0.5	13.31 ^d	24.45 ^c	26.67 ^c	86.01 ^b
	1.5	25.01 ^a	28.11 ^a	23.50 ^f	90.01 ^a

در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارد. Means in each column followed by similar letter(s) are not significantly difference at 5% probability level using Duncan test.

هستند، پس فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز افزایش و بهبود می‌یابد و دلیل اثرگذاری لاکتات کلسیم از جنبه‌ای شاید این چنین باشد. هم‌چنین کرینات کلسیم در گیاه مرزه، تجمع نیترات را کاهش داده است (Mumivand *et al.*, 2013).

فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز

از عوامل دیگری که میزان نیترات اندام‌های گیاهی را تحت تأثیر قرار می‌دهد، فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز است. از آنجایی که نیترات ردوکتاز در آسیمیلایون نیترات مهم است و آنزیم نیترات ردوکتاز یک آنزیم تحریک‌کننده است، بنابراین ارتباط نزدیکی بین فعالیت این آنزیم و مقدار نیترات در گیاهان وجود دارد و با افزایش میزان فعالیت آن از تجمع نیترات کاسته خواهد شد (Pour Azar *et al.*, 2014). براساس جدول تجزیه واریانس اثر گابا هم به‌صورت ساده و هم در تقابل با لاکتات کلسیم در سطح یک درصد معنی‌دار شده است و اثر ساده لاکتات کلسیم در سطح پنج درصد معنی‌دار شده است (جدول ۲). نتایج جدول مقایسه میانگین حاکی از آن بود که بیشترین فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز مربوط به تیمار گابای ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر بوده که متعاقباً همین تیمار کمترین میزان تجمع نیترات در برگ محصول را داشته است (جدول ۴). گابا با تنظیم بیان ژن آنزیم نیترات ردوکتاز در کاهو باعث افزایش فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز و کاهش میزان نیترات شده است (Tian *et al.*, 2015). اسپیری گابا روی گیاهان تره فرنگی منجر به کاهش نیترات از طریق افزایش فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز شده است (Li *et al.*, 2015).

در شرایط این تحقیق احتمالاً غلظت‌های به کار رفته از لاکتات کلسیم ناکافی بوده و در صفت هدایت روزنه‌ای تغییر چندانی ایجاد نکرده و اثر تیمار گابا بارزتر بوده و شاید استفاده از غلظت‌های بالاتر لاکتات کلسیم می‌توانسته اثر متفاوت و معنی‌داری نسبت به شاهد داشته باشد.

میزان نیترات برگ

بررسی نتایج تجزیه واریانس در صفت میزان نیترات برگ حاکی از آن بود که اثر ساده گابا و ترکیب توأم گابا با لاکتات کلسیم در سطح یک درصد معنی‌دار شده است. این در حالی است که اثر لاکتات کلسیم به تنهایی در سطح پنج درصد معنی‌دار شده بود (جدول ۲). بر اساس جدول مقایسه میانگین، بالاترین میزان تجمع نیترات در تیمار شاهد بوده، در حالی که تیمار گابای ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر به طور قابل توجهی میزان تجمع نیترات در محصول را حدود چهار برابر تیمار شاهد کاهش داد (جدول ۴). غلظت‌های ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر گابا و ۲ درصد لاکتات کلسیم بیانگر این است که کمترین تجمع نیترات رخ داده، پس اثر بزرگ و اصلی اگرچه شاید مربوط به گابا است ولی نقش لاکتات کلسیم هم بی‌تأثیر نبوده و از طریق بهبود فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز در کاهش تجمع نیترات اهمیت دارد. گزارش شده که کاربرد گابا بر روی کاهو باعث افزایش فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز و کاهش نیترات برگ شده است (Gong *et al.*, 2012). یکی از اجزای ساختار آنزیم نیترات ردوکتاز مولیبیدن است که در زمان بهبود وضعیت کلسیم به دلیل این که دو عنصر کلسیم و مولیبیدن هم‌نیروزاد

جدول ۴. مقایسه میانگین اثر گاما آمینو بوتیریک اسید و لاکتات کلسیم بر برخی خصوصیات کاهو رقم دیمایو.

Table 4. Mean comparison the effect of γ -aminobutyric acid and calcium lactate on some characteristics of lettuce 'Dimayo'.

Treatments		Net photosynthesis rate ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)	Stomatal conductance ($\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)	Nitrate accumulation (mg/kg FW)	Nitrate reductase activity ($\text{mM NO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ FW}$)
Calcium lactate	GABA				
0	0	10.03 ^d	0.14 ^f	1348 ^a	0.02 ^g
	0.5	11.47 ^{cd}	0.17 ^c	645.90 ^d	0.06 ^c
	1.5	15.45 ^b	0.28 ^a	339.4 ^f	0.09 ^a
1	0	10.96 ^d	0.17 ^{dc}	1246 ^b	0.03 ^f
	0.5	11.31 ^c	0.18 ^d	512.09 ^c	0.04 ^c
	1.5	16.04 ^a	0.27 ^{ab}	389.52 ^f	0.08 ^b
2	0	11.01 ^c	0.15 ^{ct}	1125 ^c	0.03 ^f
	0.5	11.98 ^{cd}	0.21 ^c	528.25 ^c	0.05 ^d
	1.5	15.25 ^b	0.25 ^b	376.4 ^f	0.09 ^a

در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارد.

Means in each column followed by similar letter(s) are not significantly difference at 5% probability level using Duncan test.

نتیجه‌گیری کلی

و کاهش تجمع نیتрат گردیده است. پس می‌توان اظهار داشت که کاربرد گابا و لاکتات کلسیم باعث تأثیر مثبت در اکثر صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی شده است. بنابراین با توجه به مقرون به صرفه بودن، این دو ترکیب می‌توانند برای افزایش عملکرد و تولید محصولات سالم و با کیفیت، جایگزین کودها و مواد شیمیایی به خصوص از نظر تولید محصولات با قدرت انباشتگی نیترات کمتر که موجب سلامت بیشتر سبزی می‌گردد، شوند.

از داده‌های پژوهش فوق می‌توان نتیجه گرفت که کاربرد تیمار توأم گابای ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر با لاکتات کلسیم دو درصد باعث افزایش سبزی‌نگی، عملکرد هد خوراکی، رطوبت برگ و کاهش نشت یونی شده است. ترکیب گابای ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر با لاکتات کلسیم یک درصد نیز شدت فتوسنتز خالص را افزایش داده است و تیمار ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر گابا به تنهایی نیز سبب افزایش فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز

REFERENCES

1. Afsari Yeganeh, S., Golchin, A., Delshad, M. & Abdossi, V. (2022). Effect of zinc enrichment of agricultural waste compost on yield and some qualitative characteristics of lettuce in greenhouse cultivation (*Lactuca sativa* L.). *Iranian Journal of Horticultural Science*, 53(3), 707-720. (In Farsi).
2. Alexander, J., Benford, D., Cockburn, A., Cravedi, P., Dogliotti, E. & Domenico, A. (2008). Nitrate in vegetables, scientific opinion of the panel on contaminants the food chain. *European Food Safety Authority Journal*, 9(1), 68-79.
3. Ashrafuzzaman, M., Ismail, M.R., Fazal, K.M.A.I., Uddin, M.K. & Prodhan, A.K.M.A. (2010). Effect of GABA application on the growth and yield of bitter gourd (*Momordica charantia*). *International Journal of Agriculture and Biology*, 12(1), 129-132.
4. Barbarosa, J.M., Singh, N.K., Cherry, J.H. & Locy, R.D. (2010). Nitrate uptake and utilization is modulated by exogenous γ -aminobutyric acid in *Arabidopsis thaliana* seedlings. *Journal of Plant Physiology and Biochemistry*, 48(2), 443-450.
5. Bouche, N. & Fromm, H. (2004). GABA in plants: Just a metabolite. *Trends in Plant Science*, 9(3) 110-115.
6. Coronel, G., Chang, M. & Rodríguez-Delfin, A. (2008). Nitrate reductase activity and chlorophyll content in lettuce plants grown hydroponically and organically. In: *Proceedings of 3th International Symposium on Soilless Culture and Hydroponics*, 19-22 Mar., Cyprus, Lemesos, pp. 137-144.
7. Dong, C.X., Zhou, J.M., Fan, X.H. & Wang, H.Y. (2004). Application methods of calcium supplements affect nutrient levels and calcium forms in mature tomato fruits. *Journal of Plant Nutrition*, 27(5), 1443-1455.
8. Dordas, C. (2009). Foliar application of calcium and magnesium improves growth, yield, and essential oil yield of oregano (*Origanum vulgare* ssp. *hirtum*). *Industrial Crops and Products*, 29(2), 599-608.
9. Gong, R. J., Lu, F. G., Xia, Q. P., Zhang, G. H., Yang, L. W. & Gao, H. B. (2012). Effects of exogenous γ -aminobutyric acid on nitrate content and quality in lettuce. *Journal of Agricultural University of Hebei*, 3(7), 142-153.
10. Haft Baradaran, Sh., Malakouti, M.J. & Khoshgoftarmanesh, A.H. (2018). Investigation of nitrate risk assessment in edible parts of some crops grown in Isfahan province. *Applied Soil Research*, 6(1), 1-12. (In Farsi).
11. Hasani Moghadam, E., Bazdar, A. & Shaban, M. (2019). Study of nitrate rate in some vegetables cultivated in Poldokhtar and Khorramabad, Lorestan province. *Iranian Journal of Health and Environment*, 12(1), 101-112. (In Farsi).
12. Heidari, N., Pouryusef, M. & Tavakoli, A. (2015). Effects of drought stress on photosynthesis, its parameters and relative water content of anise (*Pimpinella anisum* L.). *Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology)*, 27(5), 829-839. (In Farsi).
13. Heydari, S., Soltani, F., Azizi, M. & Hadian, J. (2014). Foliar application of Ca and K improves growth, yield, essential oil yield and nutrient uptake of tarragon (*Artemisia dracunculoides* L.) grown in Iran. *International Journal of Biosciences*, 4(12), 323-338. (In Farsi).
14. Islam, M.R., Prodhan, A.K.M.A., Islam, M.O. & Uddin, M.K. (2010). Effect of plant growth regulator (GABA) on morphological characters and yield of black gram (*Vigna mungo* L.). *Journal Agriculture Research*, 48(1), 73-80.

15. Jakab, G., Ton, J., Flors, V., Mettraux, J.P. & Mauch-Mani, B. (2005). Enhancing *Arabidopsis* salt and drought stress tolerance by chemical priming for its abscisic acid responses. *Journal of Plant Physiology*, 139(1), 267-274.
16. Jia, Y., Zou, D., Wang, J., Sha, H., Liu, H., Inayat, M. A. & Zhao, H. (2017). Effects of γ -aminobutyric acid, glutamic acid, and calcium chloride on rice (*Oryza sativa* L.) under cold stress during the early vegetative stage. *Journal of Plant Growth Regulation*, 36(1), 240-253.
17. Kader, A. & Lindberg, S. (2010). Cytosolic calcium and pH signaling in plants under salinity stress. *Journal of Plant Signaling and Behavior*, 5(3), 233-238.
18. Kinnersley, A.M. & Turano, F.J. (2000). γ -aminobutyric acid (GABA) and plant responses to stress. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 19(6), 479-509.
19. Kokabi, S., Tabatabaei, S.J. & Naghshband Hassani, R. (2012). Effects of different K/Ca ratios on the growth, yield and physiological characteristics of Galia (*Cucumis melo* var. *reticulatus*). *Iranian Journal of Horticultural Science*, 42(3), 227-236. (In Farsi).
20. Krishna, S. & Laskowski, K. (2013). Mitigation of drought stress damage by exogenous application of a non-protein amino acid γ -aminobutyric acid on perennial ryegrass. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 138(5), 358-366.
21. Kumar, S., & Dey, P. (2011). Effects of different mulches and irrigation methods on root growth, nutrient uptake, water-use efficiency and yield of strawberry. *Scientia Horticulturae*, 127(3), 318-324.
22. Kurtyka, R., Malkowski, E., Kita, A. & Karcz, W. (2008). Effect of calcium and cadmium on growth and accumulation of cadmium, calcium, potassium and sodium in maize seedlings. *Polish Journal of Environmental Studies*, 17(1), 51-56.
23. Lamikanra, O. & Watson, M.A. (2004). Effect of calcium treatment temperature on fresh cut cantaloupe melon during storage. *Journal of Food Science*, 69(6), 468-472.
24. L'hirondel, J. (2002). *Nitrate and Man Toxic, Harmless or Beneficial Walling ford*. Commonwealth Agricultural Bureaux International Publishing.
25. Levent Tun, A., Kayab, M., Ashraf, H., Altunlu, I., Yokas, C. & Yagmur, B. (2007). The effects of calcium sulphate on growth, membrane stability and nutrient uptake of tomato plants grown under salt stress. *Environmental and Experimental Botany*, 59(6), 173-178.
26. Li, J. R., Wang, X., Tian, Z., Gao, H. B. & Wu, X. L. (2015). Effect of spraying different concentrations of exogenous GABA on growth and nitrogen metabolism of leek. *Acta Agriculturae Zhejiangensis*, 13(4), 113-119.
27. Lichtenthaler, H.K. (1987). Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology*, 148(34), 350-382.
28. Luo, H.Y., Gao, H.B., Xia, Q.P., Gong, B.B. & Xiao-Lei, W.U. (2011). Effects of exogenous GABA on reactive oxygen species metabolism and chlorophyll fluorescence parameters in tomato under NaCl stress. *Scientia Agricultura Sinica*, 34(2), 37-54.
29. Marschner, H. (2011). *Marschner's mineral nutrition of higher plants* (3rd ed.). Edited by P. Marschner. Amsterdam, Netherlands: Elsevier/Academic Press.
30. Martin Diana, A., Rico, D., Barry-Ryan, C., Jesu, M.F., Mulcahy, J. & Gary, T.M. (2005). Comparison of calcium lactate with chlorine as a washing treatment for fresh-cut lettuce and carrots: quality and nutritional parameters. *Journal of Food and Agriculture*, 85(3), 2260-2268.
31. Mumivand, H., Nushkam, A., Mohseni, A. & Babalar, M. (2013). Effect of nitrogen and calcium carbonate application rate on nitrate accumulation and yield of summer savory (*Satureja hortensis* L.). *Journal of Crop Production*, 6(3), 109-124. (In Farsi).
32. Nasir Zadeh, F., Eigharlou, M., Khelghatibana, F. & Sadeghi, A. (2021). Nitrate and Nitrite: Sources, Impact on Human Health and Reduction of Nitrate Accumulation in Agricultural Products Using Bio fertilizers. *Journal of Bio Safety*, 14(2), 16-28. (In Farsi).
33. Nayyar, H., Kaur, R., Kaur, S. & Singh, R. (2014). γ -Aminobutyric acid (GABA) imparts partial protection from heat stress injury to rice seedlings by improving leaf turgor and upregulating osmoprotectants and antioxidants. *Journal of Plant Growth Regulators*, 33(2), 408-419.
34. Perucka, I. & Olszowka, K. (2011). Accumulation of potassium, magnesium, calcium in fresh and cold stored leaves of lettuce (*Lactuca sativa* L.) after CaCl_2 foliar treatment before harvest. *The Journal of Elementology*, 16(3), 445-454.
35. Pour Azar, M. R., Tabatabaei, J. & Boland Nazar, S. (2014). The effect of injection of carbon dioxide to root environment on growth and accumulation of nitrate in two lettuce varieties of screw and oven (*Lactuca sativa* L. cv. Capitata and sativa). *Journal of Horticultural Science*, 28(3), 295-302. (In Farsi).

36. Shelp, B. J., Bozzo, G.G., Trobacher, C.P., Chiu, G. & Bajwa, V.S. (2012). Strategies and tools for studying the metabolism and function of γ -aminobutyrate in plants. *International Pathway Structure Botany*, 90(4), 651-668.
37. Tabande, L. & Safarzadeh Shiraze, S. (2018). Investigation of nitrate accumulation and its effective factors in some leafy vegetables in Zanjan region. *Journal of Soil Research, Soil and Water Sciences*, 32(2), 189-202. (In Farsi).
38. Tian, Z., Li, J., Wang, X., Wu, X., Gong, B. & Gao, H. (2015). Cloning of nitrate reductase gene of lettuce and effect of exogenous γ -aminobutyric acid on gene expression and nitrate content in leaves under high nitrogen level. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 14(6), 126-135.
39. Wang, C.Y., Fan, L.Q., Gao, H.B., Wu, X.L., Li, J.R. & Gong, B.B. (2014). Polyamine biosynthesis and degradation are modulated by exogenous γ -aminobutyric acid in root-zone hypoxia-stressed melon roots. *Journal of Plant Physiology and Biochemistry*, 82(1), 17-26.
40. Wen-bin, J., Yin-ran, D., Xi, Y. & Xiang-ning, C.H. (2013). Effect of calcium lactate treatments on physiological and biochemical changes of fresh-cut spinach. *Science and Technology of Food Industry*, 5(2), 2013-2019.
41. Zahedi Pour, P. & Asghari, M.R. (2019). The effect of calcium chloride foliar application on photosynthesis and carbohydrate metabolism in strawberry seedlings. In: *Proceeding of 11th Iranian Congress of Horticultural Sciences*, 26-29 Aug., Urmia University, Urmia, Iran, pp. 1187-1195. (In Farsi).
42. Zubair, H.M., Islam, M., Rahman, S., Islam, M.M., Islam, S. & Rahman, M.M. (2010). Role of GABA on growth, yield contributing characters and yield of sesame. *International Journal of Bio-resource and Stress Management*, 12(3), 184-188.