فهرست مطالب

عنوان | صفحه

فصل اول- مقدمه و کلیات ۸

۱-۱- مقدمه ۸

۱-۲- نیتروژن ۹

۱-۳- شکل‌های قابل جذب نیتروژن توسط گیاه ۱۰

۱-۴- تغذیه گیاهان با آمونیوم در مقایسه با نیترات ۱۱

۱-۵- مشکلات ناشی از مصرف بی‌رویه کودهای نیتروژنه ۱۱

۱-۶- تجمع نیترات در سبزی‌ها و محصولات گلخانه‌ای ۱۲

۱-۷- تأثیر نیترات و نیتریت بر سلامتی انسان ۱۲

۱-۷-۱- اثرات مضر ۱۲

۱-۷-۲- اثرات مفید ۱۴

۱-۸- حد مجاز مصرف نیترات و نیتریت در انسان ۱۴

۱-۹- حداکثر غلظت نیترات در اسفناج ۱۵

۱-۱۰- راهکارهای کاهش تجمع نیترات در اندام‌های مصرفی سبزی‌ها ۱۵

۱-۱۱- اسفناج ۱۵

۱-۱۱-۱- اصل و منشأ اسفناج ۱۵

۱-۱۱-۲- ویژگی‌های گیاه‌شناسی اسفناج ۱۶

۱-۱۱-۳- شرایط مناسب برای پرورش اسفناج ۱۶

۱-۱۱-۴- اهمیت تغذیه‌ای اسفناج ۱۷

۱-۱۱-۵- ارقام اسفناج ۱۷

۱-۱۲- اهداف تحقیق ۱۸

۱-۱۳- فرضیات تحقیق ۱۸

فصل دوم- بررسی منابع ۱۹

۲-۱- عوامل مؤثر بر تجمع نیترات در گیاهان ۱۹

۲-۱-۱- نوع گیاه ۱۹

۲-۱-۲- رقم ۲۰

۲-۱-۳- سن گیاه ۲۰

۲-۱-۴- تنش‌های محیطی ۲۰

۲-۱-۵- عناصر غذایی ۲۱

۲-۱-۶- زمان برداشت محصول ۲۱

۲-۱-۷- مدیریت مصرف کودهای نیتروژنه ۲۲

۲-۲- بازدارنده‌های نیترات‌سازی ۲۳

۲-۲-۱- سازوکار تأثیر بازدارنده‌های نیترات سازی ۲۴

۲-۲-۲- مزایای کاربرد بازدارنده‌های نیترات‌سازی ۲۵

۲-۲-۳- انواع بازدارنده‌های نیترات‌سازی ۲۵

۲-۲-۴- تأثیر بازدارنده‌های نیترات‌سازی بر عملکرد و کیفیت محصولات کشاورزی ۲۶

عنوان | صفحه

۲-۲-۵- تأثیر بازدارنده‌های نیترات‌سازی بر نیترات‌سازی و انتشار گاز N_2O ۲۸
۲-۲-۶- تأثیر بازدارنده‌های نیترات‌سازی بر کارایی مصرف نیتروژن ۲۹
۲-۲-۷- تأثیر بازدارنده‌های نیترات‌سازی بر کاهش تجمع نیترات در سبزیها ۳۰
۲-۲-۸- تأثیر شرایط خاکی و اقلیمی بر کارایی بازدارنده‌های نیترات سازی ۳۲
۲-۳- تأثیر نگهداری و فرآوری سبزی‌ها در مقدار نیترات آنها ۳۳
۲-۳-۱- نگهداری ۳۳
۲-۳-۱-۱- نگهداری در دمای محیط ۳۳
۲-۳-۱-۲- نگهداری در یخچال ۳۳
۲-۳-۱-۳- نگهداری در فریزر ۳۴
۲-۳-۲- فرآوری ۳۴
۲-۳-۲-۱- شستشو ۳۴
۲-۳-۲-۲- پوست کندن ۳۴
۲-۳-۲-۳- پختن ۳۴
فصل سوم- مواد و روش‌ها ۳۵
۳-۱- نمونه‌برداری خاک ۳۵
۳-۲- تیمارهای آزمایشی ۳۵
۳-۳- تعیین ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک قبل از کشت ۳۶
۳-۳-۱- ویژگی‌های فیزیکی ۳۶
۳-۳-۲- ویژگی‌های شیمیایی ۳۶
۳-۴- تعیین ویژگی‌های شیمیایی خاک در پایان کشت ۳۷
۳-۴-۱- نیترات محلول و تبادلی ۳۷
۳-۴-۲- آمونیوم محلول و تبادلی ۳۷
۳-۵- اندازه‌گیری شاخص‌های گیاهی ۳۷
۳-۶- اندازه‌گیری غلظت نیتروژن، نیترات و نیتریت در نمونه‌های گیاهی ۳۸
۳-۶-۱- نیتروژن ۳۸
۳-۶-۲- نیترات ۳۸
۳-۶-۳- نیتریت ۳۸
۳-۷- محاسبه میزان مجاز مصرف روزانه اسفناج ۳۹
۳-۸- محاسبه شاخص‌های کارایی مصرف نیتروژن ۳۹
۳-۹- تجزیه و تحلیل اطلاعات ۴۰
فصل چهارم - بحث و نتایج ۴۱
۴-۱- ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک‌های مورد بررسی ۴۱
۴-۲- ویژگی‌های شیمیایی خاک ۴۳
۴-۲-۱- غلظت آمونیوم خاک در فواصل ۳۰ و ۶۰ روز پس از کشت اسفناج ۴۳
۴-۲-۲- غلظت نیترات خاک در فواصل ۳۰ و ۶۰ روز پس از کشت اسفناج ۴۵
۴-۲-۳- پ.هاش و قابلیت هدایت الکتریکی خاک در انتهای دوره کشت ۴۶

عنوان | صفحه

۴-۳- شاخص‌های گیاهی ۴۸
۴-۳-۱- غلظت نیتروژن در اسفناج ۴۸
۴-۳-۲- جذب نیتروژن توسط اسفناج ۵۰
۴-۳-۳- شاخص میزان کلروفیل برگ اسفناج ۵۴
۴-۳-۴- وزن تر اسفناج ۵۵
۴-۳-۵- وزن خشک اسفناج ۵۷
۴-۳-۶- غلظت نیترات اسفناج در هنگام برداشت ۵۸
۴-۳-۷- غلظت نیتریت اسفناج در هنگام برداشت ۶۳
۴-۳-۸- مقدار مجاز مصرف روزانه اسفناج برای افراد بزرگسال ۶۶
۴-۳-۹- تأثیر مدت زمان نگهداری در یخچال بر غلظت نیترات در اسفناج ۶۹
۴-۳-۱۰- تأثیر مدت زمان نگهداری در یخچال بر غلظت نیتریت در اسفناج ۷۴
۴-۴- کارایی مصرف نیتروژن ۸۰
۴-۵- نتیجه‌گیری کلی ۸۳
۴-۶-پیشنهادها ۸۴
منابع ۸۶

فهرست جداول

عنوان صفحه

جدول ۱-۱- غلظت معیار نیترات و حداکثر غلظت آن در اسفناج بر حسب میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن تر در کشورهای مختلف..... ۱۵
جدول ۴-۱- ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک‌های انتخاب شده..... ۴۲
جدول ۴- ۲- نتایج تجزیه واریانس (میانگین مربعات) تأثیر تیمارهای آزمایشی بر غلظت آمونیوم و نیترات خاک در فاصله زمانی ۳۰ و ۶۰ روز پس از کشت اسفناج..... ۴۳
جدول ۴- ۳- مقایسه میانگین برهمکنش منبع نیتروژن و بافت خاک بر غلظت آمونیوم خاک در فواصل ۳۰ و ۶۰ روز پس از کشت اسفناج..... ۴۴
جدول ۴- ۴- مقایسه میانگین برهمکنش منبع نیتروژن و بافت خاک بر غلظت نیترات خاک در فواصل ۳۰ و ۶۰ روز پس از کشت اسفناج..... ۴۵
جدول ۴- ۵- نتایج تجزیه واریانس (میانگین مربعات) تأثیر تیمارهای آزمایشی بر پ.هاش، قابلیت هدایت الکتریکی و تبادلی خاک در انتهای دوره کشت..... ۴۷
جدول ۴- ۶- مقایسه میانگین برهمکنش منبع نیتروژن و بافت خاک بر پ.هاش و قابلیت هدایت الکتریکی خاک در انتهای دوره کشت..... ۴۷
جدول ۴- ۷- نتایج تجزیه واریانس (میانگین مربعات) تأثیر تیمارهای آزمایشی بر غلظت نیتروژن برگ، ساقه و کل اندام هوایی اسفناج..... ۴۹
جدول ۴- ۸- تأثیر منبع نیتروژن بر غلظت نیتروژن برگ، ساقه و کل اندام هوایی اسفناج..... ۴۹
جدول ۴- ۹- تأثیر بافت خاک بر غلظت نیتروژن برگ، ساقه و کل اندام هوایی اسفناج..... ۵۰
جدول ۴- ۱۰- تأثیر نوع رقم اسفناج بر غلظت نیتروژن برگ، ساقه و کل اندام هوایی اسفناج..... ۵۰
جدول ۴- ۱۱- نتایج تجزیه واریانس (میانگین مربعات) تأثیر تیمارهای آزمایشی بر جذب نیتروژن توسط برگ، ساقه و کل اندام هوایی اسفناج..... ۵۱
جدول ۴- ۱۲- مقایسه میانگین برهمکنش منبع نیتروژن و بافت خاک بر جذب نیتروژن توسط برگ و کل اندام هوایی اسفناج..... ۵۲
جدول ۴- ۱۳- مقایسه میانگین برهمکنش منبع نیتروژن و نوع رقم بر جذب نیتروژن توسط برگ و کل اندام هوایی اسفناج..... ۵۳
جدول ۴- ۱۴- تأثیر منبع نیتروژن بر جذب نیتروژن توسط ساقه اسفناج..... ۵۳
جدول ۴- ۱۵- تأثیر بافت خاک بر جذب نیتروژن توسط ساقه اسفناج..... ۵۳
جدول ۴- ۱۶- تأثیر نوع رقم اسفناج بر جذب نیتروژن توسط ساقه در ارقام اسفناج..... ۵۴
جدول ۴-۱۷- نتایج تجزیه واریانس (میانگین مربعات) تأثیر تیمارهای آزمایشی بر شاخص میزان کلروفیل برگ، وزن تر و وزن خشک اسفناج..... ۵۴
جدول ۴- ۱۸- مقایسه میانگین برهمکنش منبع نیتروژن و بافت خاک بر شاخص میزان کلروفیل برگ اسفناج..... ۵۵
جدول ۴- ۱۹- مقایسه میانگین برهمکنش منبع نیتروژن با خاک و رقم بر وزن تر (گرم در گلدان) اسفناج. ۵۶
جدول ۴- ۲۰- مقایسه میانگین برهمکنش منبع نیتروژن و بافت خاک بر وزن خشک اسفناج..... ۵۸
جدول ۴- ۲۱- مقایسه میانگین برهمکنش منبع نیتروژن و نوع رقم بر وزن خشک اسفناج..... ۵۸
جدول ۴- ۲۲- نتایج تجزیه واریانس (میانگین مربعات) تأثیر تیمارهای آزمایشی بر غلظت نیترات برگ، ساقه و اندام هوایی اسفناج..... ۵۹

عنوان | صفحه

جدول ۴- ۲۳- تأثیر منبع نیتروژن بر غلظت نیترات برگ و ساقه اسفناج ۶۰
جدول ۴- ۲۴- تأثیر بافت خاک بر غلظت نیترات برگ و ساقه اسفناج ۶۰
جدول ۴- ۲۵- تأثیر نوع رقم اسفناج بر غلظت نیترات برگ، ساقه و کل اندام هوایی اسفناج ۶۰
جدول ۴- ۲۶- مقایسه میانگین برهمکنش منابع نیتروژن و بافت خاک بر غلظت نیترات کل اندام هوایی ۶۱
جدول ۴- ۲۷- نتایج تجزیه واریانس (میانگین مربعات) تأثیر تیمارهای آزمایشی بر غلظت نیتریت برگ، ساقه و کل اندام هوایی ۶۴
جدول ۴- ۲۸- تأثیر منبع نیتروژن بر غلظت نیتریت برگ، ساقه و کل اندام هوایی اسفناج ۶۴
جدول ۴- ۲۹- تأثیر بافت خاک بر غلظت نیتریت برگ، ساقه و کل اندام هوایی اسفناج ۶۵
جدول ۴- ۳۰- تأثیر نوع رقم اسفناج بر غلظت نیتریت برگ، ساقه و کل اندام هوایی اسفناج ۶۵
جدول ۴- ۳۱- نتایج تجزیه واریانس (میانگین مربعات) تأثیر تیمارهای آزمایشی بر مقدار مجاز مصرف روزانه اسفناج بر اساس غلظت نیترات و نیتریت آن ۶۶
جدول ۴- ۳۲- مقایسه میانگین برهمکنش منبع نیتروژن و بافت خاک بر مقدار مجاز مصرف روزانه اسفناج بر اساس غلظت نیترات آن ۶۷
جدول ۴- ۳۳- مقایسه میانگین برهمکنش منبع نیتروژن و نوع رقم اسفناج بر مقدار مجاز مصرف روزانه اسفناج بر اساس غلظت نیترات آن ۶۸
جدول ۴- ۳۴- مقایسه میانگین برهمکنش بافت خاک و نوع رقم اسفناج بر مقدار مجاز مصرف روزانه اسفناج بر اساس غلظت نیترات آن ۶۸
جدول ۴- ۳۵- مقایسه میانگین برهمکنش منبع نیتروژن با بافت خاک و نوع رقم بر مقدار مجاز مصرف روزانه اسفناج (گرم) بر اساس غلظت نیتریت آن ۶۹
جدول ۴- ۳۶- نتایج تجزیه واریانس (میانگین مربعات) تأثیر تیمارهای آزمایشی بر غلظت نیترات اندام هوایی ارقام اسفناج تولید شده در سه بافت خاک ۷۰
جدول ۴- ۳۷- مقایسه میانگین برهمکنش منبع نیتروژن و زمان نگهداری در یخچال بر غلظت نیترات کل اندام هوایی اسفناج ارقام گیانت سانتوس و وایکینگ تولید شده در خاک شنی لومی بر حسب میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن تر ۷۱
جدول ۴- ۳۸- مقایسه میانگین برهمکنش منبع نیتروژن و زمان نگهداری در یخچال بر غلظت نیترات کل اندام هوایی اسفناج ارقام گیانت سانتوس و وایکینگ تولید شده در خاک لومی بر حسب میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن تر ۷۲
جدول ۴- ۳۹- مقایسه میانگین برهمکنش منبع نیتروژن و زمان نگهداری در یخچال بر غلظت نیترات کل اندام هوایی اسفناج ارقام گیانت سانتوس و وایکینگ تولید شده در خاک رسی سیلتی بر حسب میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن تر ۷۳
جدول ۴- ۴۰- نتایج تجزیه واریانس (میانگین مربعات) تأثیر تیمارهای آزمایشی بر غلظت نیتریت اندام هوایی ارقام اسفناج تولید شده در سه بافت خاک ۷۵
جدول ۴- ۴۱- مقایسه میانگین برهمکنش منبع نیتروژن و زمان نگهداری در یخچال بر غلظت نیتریت کل اندام هوایی اسفناج ارقام گیانت سانتوس و وایکینگ تولید شده در خاک شنی لومی بر حسب میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن تر ۷۶

عنوان | صفحه

جدول ۴- ۴۲- مقایسه میانگین برهمکنش منبع نیتروژن و زمان نگهداری در یخچال بر غلظت نیتریت کل اندام هوایی اسفناج ارقام گیانت سانتوس و وایکینگ تولید شده در خاک لومی بر حسب میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن تر ۷۷
جدول ۴- ۴۳- مقایسه میانگین برهمکنش منبع نیتروژن و زمان نگهداری در یخچال بر غلظت نیتریت کل اندام هوایی اسفناج ارقام گیانت سانتوس و وایکینگ تولید شده در خاک رسی سیلتی بر حسب میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن تر ۷۸
جدول ۴- ۴۴- نتایج تجزیه واریانس تأثیر تیمارهای آزمایشی (میانگین مربعات) بر کارایی زراعی، بازیافت و فیزیولوژیک نیتروژن ۸۰
جدول ۴- ۴۵- تأثیر منبع نیتروژن بر کارایی زراعی، بازیافت و فیزیولوژیک نیتروژن ۸۱
جدول ۴- ۴۶- تأثیر بافت خاک بر کارایی زراعی، بازیافت و فیزیولوژیک نیتروژن ۸۲
جدول ۴- ۴۷- تأثیر نوع رقم اسفناج بر کارایی زراعی، بازیافت و فیزیولوژیک نیتروژن ۸۳

فهرست شکل‌ها

عنوان صفحه

شکل ۲-۱- تأثیر بازدارنده‌های نیترات سازی بر مرحله اول (نیتریت سازی) فرایند نیترات سازی.....۲۴
شکل ۲-۲- باکتری مؤثر و آنزیم هدف بازدارنده‌های نیترات سازی در طول فرایند اکسایش آمونیوم.....۲۴
شکل۳-۱- موقعیت جغرافیایی مناطق نمونه برداری شده.....۳۵

فصل اول- مقدمه و کلیات

۱-۱- مقدمه

نیتروژن از عناصری است که در سطح گسترده‌ای از طبیعت پراکنده شده است. این عنصر پویا، بین هوای خاک و موجودات زنده در گردش است. نیتروژن به طور عمده به صورت نیترات و در شرایط احیایی نیز مقداری به شکل آمونیوم، جذب گیاه می‌شود. نقش اصلی نیتروژن در ساخت پروتئین‌های گیاهی بوده و علاوه بر آن قسمتی از کلروفیل را نیز تشکیل می‌دهد. این عنصر دوره رشد گیاه را طولانی‌تر کرده، سبب افزایش مقدار کربوهیدرات‌ها در سلول‌های گیاهی می‌شود (ملکوتی، ۱۳۷۹).

گسترش تولیدات گلخانه‌ای به عنوان یکی از راهکارهای تأمین نیازهای غذایی جمعیت رو به رشد کشور در سال‌های اخیر به صورت جدی مورد توجه قرار گرفته است. توجه یک جانبه به افزایش عملکرد در واحد سطح و یا به عبارت دیگر توجه به کمیت محصول و غفلت از کیفیت محصولات غذایی به خصوص از جهت تغذیه‌ای و سلامتی افراد جامعه باعث استفاده بیشتر از کودهای شیمیایی شده است. در نشست فائو در سال ۱۹۹۶ کشورهای جهان در خصوص امنیت غذایی به تأمین غذای کافی، سالم و عاری از هر نوع آلاینده متعهد شدند (ملکوتی و همکاران، ۱۳۸۳).

گیاهان جهت ساخت ترکیبات مورد نیاز خود به ترکیب‌های ساده نیتروژن نیاز دارند و بیشتر نیتروژن مورد نیاز خود را به شکل نیترات و آمونیوم جذب می‌کنند. امروزه کودهای شیمیایی نیتروژنه به عنوان یکی از ابزارهای مورد استفاده جهت دستیابی به بیشترین تولید در واحد سطح به شمار می‌روند که کاربرد طولانی مدت و بیش از اندازه انواع نیتراته آنها پیامدهای نامطلوبی، از جمله تجمع بیش از حد مجاز نیترات به ویژه در سبزی‌ها را به دنبال دارد (ملکوتی و همکاران، ۱۳۸۷). این مسئله به دلیل بیشتر بودن میزان جذب نیترات از مقدار احیای آن در گیاه است. نیترات در معده انسان قابلیت تبدیل به نیتریت را دارد. همچنین نیترات در هنگام انبارداری و فرآوری میوه‌ها و سبزی‌ها به نیتریت احیا می‌شود (بدنر و کیز، ۱۹۹۴). بدنبال آن نیتریت با اسیدهای آمینه معده ترکیب شده و خطر تشکیل ماده سرطان‌زای نیتروزوآمین را در بدن انسان افزایش می‌دهد (افسا، ۲۰۰۸).

عمده نیترات وارد شده به سبد غذایی انسان از آب آشامیدنی، کنسرو و غذاهای گیاهی به ویژه سبزی‌ها می‌باشد. اما در این میان نقش سبزی‌ها از همه بیشتر می‌باشد. به طوری که در حدود ۹۴-۷۲ درصد کل نیترات ورودی به بدن انسان از این طریق صورت می‌گیرد (دیچ و همکاران، ۱۹۹۶).

بنابراین مشخص است که چنانچه در مواد خوراکی مصرفی مانند سبزی‌ها مقدار نیترات از حد مشخصی تجاوز کند برای سلامتی مصرف‌کنندگان در طولانی مدت تهدیدآمیز خواهد بود.

اسفناج (*Spinacia oleracea* L.) از مهمترین سبزی‌های برگی است که مصرف آن در غذاهای ایرانی زیاد است و تجمع نیترات در آن قابل ملاحظه می‌باشد. به طوری که غلظت نیترات در این گیاه تا بیش از ۲۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ماده تر گزارش شده‌است (سپه‌وند و امیدواری، ۱۳۸۹؛ راماچاندران و همکاران، ۲۰۰۵).

اوره رایج‌ترین کود نیتروژنه جامد است که برای تولید محصولات کشاورزی در جهان و ایران مصرف می‌شود. اوره بلافاصله پس از مصرف در خاک توسط آنزیم اوره‌آز هیدرولیز شده و آمونیوم تولید می‌کند. آمونیوم نیز بر اثر فعالیت باکتری‌های نیتروزوموناس و نیتروباکتر به نیترات تبدیل می‌شود. نیترات در مقایسه با آمونیوم در معرض واکنش‌های هدررفتی بیشتری از قبیل آبشویی و نیتراتزدایی قرار دارد. یکی از روش‌های کاهش نیترات در خاک و جذب آن توسط گیاه استفاده از بازدارنده‌های نیتراتسازی است. بازدارنده‌های نیتراتسازی ترکیب‌هایی هستند که اکسایش زیستی یون آمونیوم (NH_4^+) به نیتریت (NO_2^-) را به‌واسطه کاهش فعالیت باکتری نیتروزوموناس به تأخیر می‌اندازند (پاسدا و همکاران، ۲۰۰۱). آمونیوم در مقایسه با نیترات در معرض واکنش‌های هدررفتی کمتری قرار دارد. از جمله بازدارنده‌های معروف می‌توان به ترکیباتی از قبیل نیتراپیرین (N-serve)، دی سیانو دی آمید (DCD) و ۳ و ۴ دی متیل پیرازول فسفات (DMPP) اشاره کرد (ویسک و همکاران، ۲۰۰۱). مصرف بازدارنده‌های نیترات سازی می‌تواند به طور معنی‌داری آبشویی نیترات را کاهش دهد. استفاده از بازدارنده‌های نیترات سازی همراه با کودهای نیتروژنه توانسته عملکرد محصولات کشاورزی را بهبود بخشد. این تأثیرات احتمالاً در نتیجه افزایش ذخیره نیتروژن معدنی، کاهش تعداد دفعات کاربرد کود نیتروژن و نگهداری نیتروژن خاک به شکل آمونیوم است (زرولا و همکاران، ۲۰۰۱).

اگرچه هدف اصلی از تولید و مصرف بازدارنده‌های نیتراتسازی افزایش کارایی کودهای نیتروژنه بوده‌است اما کاربرد این گونه مواد به دلیل تأثیر بر نوع تغذیه نیتروژنه گیاه می‌تواند دارای اثرات غیرمستقیم دیگری نیز باشد. بر اساس پژوهش‌های انجام شده تغذیه آمونیومی می‌تواند منجر به کاهش تجمع نیترات در سبزی‌ها شود (مونتمورو و همکاران، ۱۹۹۸). از آنجایی که در نتیجه کاربرد بازدارنده‌های نیتراتسازی بخش اعظم نیتروژن کاربردی در طول دوره مؤثر بازدارندگی به شکل آمونیوم است، بنابراین می‌توان انتظار داشت که استفاده از بازدارنده‌های نیتراتسازی منجر به کاهش تجمع نیترات در سبزی‌ها شود.

با توجه به مصرف سرانه بالای سبزی‌ها در رژیم غذایی انسان و تأثیر زیاد سبزی‌های برگی در تأمین نیترات رژیم غذایی و اثرات زیان‌بار نیترات بر سلامتی انسان، امروزه توجه ویژه‌ای به کاهش تجمع نیترات به خصوص در سبزی‌های برگی می‌شود. بنابراین با توجه به موارد فوق تحقیق حاضر تاثیر استفاده از بازدارنده نیتراتسازی ۳ و ۴- دی متیل پیرازول فسفات را بر تجمع نیترات در ارقام اسفناج (دو رقم) در خاک‌هایی با خصوصیات فیزیکوشیمیایی متفاوت مورد بررسی قرار دهد.

۱-۲- نیتروژن

نیتروژن در سال ۱۷۷۲ میلادی توسط دانیل رادرفورد کشف شد (لاویزیر، ۱۹۶۵). تقریبا ۸۰٪ جو زمین شامل نیتروژن است، به طوری که این عنصر فراوان‌ترین عنصر شیمیایی می‌باشد. نیتروژن

همچنین جزء کلیدی ترکیبات زیستی ضروری مانند اسیدهای آمینه، ویتامین‌ها، هورمون‌ها، آنزیم‌ها و نوکلئوتیدها می‌باشد (مارشنر، ۱۹۹۵). در بافت‌های زنده، نیتروژن به عنوان چهارمین عنصر فراوان بعد از کربن، اکسیژن و هیدروژن می‌باشد و بخش جدایی ناپذیر از چرخه نیتروژن که به طور مداوم مبادلات نیتروژن بین موجودات زنده و محیط زیست را تشکیل می‌دهد می‌باشد (هاینز، ۱۹۸۶).

در حدود ۹۸ درصد نیتروژن موجود در لایه‌های سطحی خاک به شکل آلی است، که شامل اسید آمینه‌های آزاد، پروتئین‌ها، قندهای آمین‌دار و سایر ترکیبات کمپلکس و عموماً ناشناخته می‌باشد. اکثر نیتروژن خاک در یک متری اول آن قرار دارد که به طور معمول با افزایش عمق به طور محسوسی کاهش می‌یابد. از آنجایی که بیشتر نیتروژن موجود در خاک به شکل نیتروژن آلی است تعیین نیتروژن کل روش مناسبی برای تخمین نیتروژن آلی خاک است (حسین پور، ۱۳۸۷).

نیتروژن معدنی خاک کمتر از ۲ درصد کل نیتروژن لایه‌های سطحی خاک را تشکیل می‌دهد، که شامل نیترات (NO_3^-)، نیتریت (NO_2^-)، آمونیوم (NH_4^+) به صورت قابل تبادل و تثبیت شده، گاز نیتروژن (N_2)، گاز اکسید نیتریت (NO) و گاز اکسید نیترو (N_2O) می‌باشد. نیتریت در داخل خاک متحرک بوده، معمولا غلظت آن کم است و برای پستانداران سمی است. آمونیوم تثبیت شده (گیر افتاده در بین لایه‌های رس‌ها)، ترکیب نیتروژن‌دار اصلی در خاک‌های عمقی بوده و احتمالا منبع آن مواد مادری خاک است. آمونیوم تثبیت شده به برداشت از روی لایه‌های رس مقاوم بوده و دارای اهمیت کمی در تغذیه گیاه است. گازهای حاوی نیتروژن یا از داخل اتمسفر به خاک منتشر شده و یا در اثر پدیده نیترات‌زدایی در خاک آزاد می‌شوند اگرچه هر دو نقشی در تغذیه گیاه ندارند (حسین پور، ۱۳۸۷).

۱-۳- شکل‌های قابل جذب نیتروژن توسط گیاه

نیتروژن معدنی خاک منبع اصلی تأمین نیتروژن گیاه است. نیترات و آمونیوم محلول و قابل تبادل شکل‌های قابل جذب گیاه می‌باشند و به طور معمول دیگر شکل‌ها برای گیاه قابل استفاده نیستند. جذب نیتروژن از راه ریشه بدون هیچ تقدمی در جذب یکی از این دو شکل صورت می‌گیرد. مهم‌ترین تفاوت در جذب نیترات و آمونیم در حساسیت آنها نسبت به پ.هاش می‌باشد. نیتروژن آمونیومی در پ.هاش خنثی به بهترین وجه جذب می‌شود و با کاهش پ.هاش تسریع می‌یابد. جذب غالب با توجه به پ.هاش خاک‌های آهکی ایران به صورت یون نیترات می‌باشد. کودهای نیتروژنه بعد از مصرف در خاک تحت تأثیر باکتری‌های خاک نظیر نیتروزوموناس و نیتروباکتر به نیترات تبدیل می شوند. در حالت عادی گیاه بعد از جذب نیترات آن را در ریشه احیا و به ترکیبات آمونیاکی تبدیل می‌کند. آنگاه این ترکیبات از طریق سیستم آوندی به قسمت‌های مختلف گیاه منتقل شده و در فرایندهایی که نیاز به نیتروژن دارند به کار گرفته می‌شوند. چنانچه میزان نیترات خاک به دلیل مصرف بیش از حد کودهای نیتروژنه افزایش یابد گیاه توانایی لازم برای احیای نیترات را نداشته و تجمع نیترات در گیاه رخ می‌دهد (لورنز، ۱۹۷۸).

به طور معمول مقدار نیترات در محلول خاک بیشتر خاک‌های کشاورزی (۵-۱ میلی‌مولار) از مقدار آمونیوم (۳۰-۲۰ میکرومولار) بیشتر است (آون و جونز، ۲۰۰۱). نیترات بسیار متحرک‌تر از آمونیوم در خاک بوده و قابل دسترس‌تر برای گیاهان می‌باشد (میلر و کرامر، ۲۰۰۴). نیترات در آوند چوبی متحرک بوده و در واکوئل ریشه، ساقه و قسمت‌های ذخیره‌ای ذخیره می‌شود. جذب نیترات به صورت

غیرفعال بوده، اگرچه شیب الکتروشیمیایی غشا در نفوذ یون‌های نیترات در غشا سیتوپلاسمایی مؤثر است (بارکلاو پنتوجا، ۱۹۹۶).

۱-۴- تغذیه گیاهان با آمونیوم در مقایسه با نیترات

از لحاظ تئوری، آمونیوم باید شکل ترجیحی جذب نیتروژن باشد زیرا لازم نیست قبل از اینکه جزئی از ترکیبات آلی گردد، احیاء شود. به هر حال در اغلب خاک‌های دارای زهکشی خوب و مناسب برای تولید محصول، اکسایش آمونیوم به نیترات نسبتاً سریع است. بنابراین بیشتر گیاهانی که در شرایط با زهکشی خوب رشد می‌کنند، با نیترات رشد و توسعه بهتری دارند. در سال‌های اخیر، توجه به تغذیه گیاهان با آمونیوم در مقایسه با نیترات افزایش یافته است. نتایج برخی از تحقیقات نشان-دهنده رشد بهتر گیاهان و عملکرد بیشتر آنها با مخلوطی از نیترات و آمونیوم نسبت به حالتی که فقط یکی از آنها استفاده گردد، می‌باشد. برای گندم و تعداد زیادی از محصولات، نسبت آمونیوم به نیترات ۲۵:۷۵ حالت بهینه می‌باشد. در خاک‌هایی با بافت درشت، مخصوصاً وقتی که قلیایی نیز هستند، مصرف بیشتر آمونیوم ممکن است برای رشد گیاه مفید باشد. بنابراین برای رشد محصولات در خاک-هایی با زهکشی خوب، دسترسی به مخلوطی از آمونیوم و نیترات به عنوان منبع نیتروژن، مطلوب به نظر می‌رسد. کاربرد آمونیوم به عنوان منبع نیتروژن نه تنها بر رشد گیاه اثر دارد بلکه بر جذب سایر عناصر غذایی توسط گیاه هم مؤثر است. با جذب آمونیوم، ریشه برای موازنه بار پروتون آزاد می‌کند. این کاهش پ.هاش در نهایت منجر به افزایش جذب عناصر غذایی از قبیل فسفر، گوگرد، بور و عناصر کاتیونی کم مصرف از قبیل آهن، منگنز، مس و روی می‌شود (مارشنر، ۱۹۹۵). تحقیقات انجام شده در مورد تأثیر شکل نیتروژن بر عملکرد حاکی از تأثیر گذاری مؤثر آن بر عملکرد غلات بوده است. به طوری که وانگ و بلو (۱۹۹۲) گزارش کردند جذب نیتروژن توسط گندم با کاربرد ۲۵ درصد از نیتروژن مصرفی به شکل آمونیوم در مقایسه با کاربرد نیترات به تنهایی ۳۵ درصد افزایش یافت. همچنین گزارش شده است ژنوتیپ‌های با عملکرد بالای ذرت قادر به جذب نیترات در طول دوره توسعه بلال نبوده، بنابراین کاربرد آمونیوم در آنها می تواند منجر به افزایش عملکرد شود (پان و همکاران، ۱۹۸۴).

۱-۵- مشکلات ناشی از مصرف بی‌رویه کودهای نیتروژنه

از آنجایی که بخش عمده نیتروژن در خاک به شکل ماده آلی است و از طرفی دیگر فقر ماده آلی در خاک‌های ایران به دلایلی از قبیل بارندگی کم، نبود پوشش گیاهی، عدم استفاده از کودهای آلی، آتش زدن بقایای گیاهی، کشت‌های فشرده گیاهی و عدم استفاده از آیش باعث شده که درصد ماده آلی خاک‌های زراعی کشور کاهش شدیدی پیدا کند. تحقیقات انجام شده نشان می‌دهد میزان کربن آلی ۵۵/۷ درصد خاک‌های کشور کمتر از یک درصد بوده که حکایت از ناپایداری حاصلخیزی خاک-های کشور می‌باشد. توزیع استانی خاک‌هایی با درصد مواد آلی کمتر از یک درصد هشدار دهنده بوده حتی در بعضی از استان‌ها نظیر قزوین، سمنان، مرکزی، زنجان، خوزستان، اصفهان، یزد، بوشهر و خراسان به بیش از ۸۰ درصد می‌رسد (طهرانی و همکاران، ۱۳۸۹). این امر باعث افزایش پاسخ شدید کلیه محصولات زراعی و باغی کشور نسبت به مصرف نیتروژن شده است. به طوری که تولید محصولات کشاورزی بدون استفاده از کودهای نیتروژنه تقریبا غیر ممکن است. اما سهولت دسترسی به کودهای شیمیایی نیتروژنه باعث شده که کشاورزان ایرانی در مصرف کودهای نیتروژنه زیاده‌روی

کرده به طوری که امروزه شاهد پیامدهای ناشی از مصرف بی‌رویه کودهای شیمیایی نیتروژنه از قبیل آلودگی آب‌های زیرزمینی به نیترات و تجمع بیش از حد مجاز نیترات در اندام‌های مصرفی سبزی‌ها و محصولات گلخانه‌ای هستیم (ملکوتی و همکاران، ۱۳۸۷).

۱-۶- تجمع نیترات در سبزی‌ها و محصولات گلخانه‌ای

تغذیه نیتروژنه عامل کلیدی در رشد و عملکرد گیاهان است. گیاهان نیتروژن را به صورت نیترات و آمونیوم از خاک جذب می‌کنند. مصرف بیش از حد کودهای نیتروژنه باعث افزایش غلظت نیترات در اندام‌های قابل مصرف سبزی‌ها می‌شود. بسیاری از سبزی‌ها نیتروژن نیتراته را در خود جمع می‌نمایند. با این حال استفاده بیش از حد از کودهای نیتروژنه ممکن است منجر به مصرف لوکس و تجمع نیترات در واکوئل‌های گیاه شود، بدون این که هیچ گونه اثر سمی برای گیاه داشته باشد (ملکوتی، ۱۳۷۵). این مشکل یکی از مشکلات موجود در مورد تأثیر کودهای نیتروژنه بر کیفیت محصولات کشاورزی است. تجمع نیترات درگیاهان یک پدیده طبیعی بوده و هنگامی رخ می دهد که تجمع نیترات در گیاه بیشتر از کاهش آن در اثر جذب و تحلیل (آسیمیلاسیون) باشد. گیاهان در صورت بالا بودن غلظت نیترات در خاک، قادرند بیش از نیاز متابولیکی خود، آن را جذب کنند و در سیتوپلاسم و واکوئل‌های خود تجمع دهند. تجمع نیترات در اندام‌های مصرفی سبزی‌ها (غده، ریشه، برگ و ساقه) و همچنین در سبزی‌های میوه‌ای از قبیل گوجه‌فرنگی و خیار دیده می‌شود (ملکوتی و همکاران، ۱۳۸۷).

۱-۷- تاثیر نیترات و نیتریت بر سلامتی انسان

۱-۷-۱- اثرات مضر

حضور نیترات در سبزی‌ها، آب و دیگر مواد غذایی، تهدید جدی برای سلامت انسان است. در گذشته موضوع تعداد زیادی از مطالعات و بررسی‌های مختلف، بررسی سرنوشت نیترات موجود در آب بوده است. نیترات باعث تعدادی از بیماری‌های متابولیک در انسان شده است که این امر باعث افزایش پژوهش‌های بیشتر در این زمینه شده است (گلادوین و همکاران، ۲۰۰۵).

نیترات موجود در غذا و یا آب پس از بلع و به سرعت توسط قسمت فوقانی روده کوچک انسان جذب می‌شود (اسپیگل هالدر و همکاران، ۱۹۷۶؛ تورک و همکاران، ۱۹۸۰؛ ایلن و همکاران، ۱۹۸۲؛ بارتولومیو و هیل، ۱۹۸۴). البته بخشی از نیترات نیز در بزاق به نیتریت احیا می‌شود. مقدار بسیار کمی از نیترات و نیتریت افرادی که ۲۵۰ میلی‌گرم نیترات مصرف کرده بودند در روده بزرگ مشاهده شد (ایلن و شالر، ۱۹۸۳). پژوهش‌ها حاکی از آن است که تنها ۱۰ دقیقه پس از مصرف نیترات، متوسط نیترات پلاسمای خون ۲۵ برابر افزایش یافت و ۴۰ دقیقه پس از مصرف، مقدار نیترات در خون به بیشترین مقدار خود رسید (کورتاس و واکید، ۱۹۹۱). در موش صحرایی، بیش از ۵۰ درصد از نیترات مصرف شده در مدت یک ساعت پس از مصرف تشخیص داده شد (واکر، ۱۹۹۰). در انسان در فاصله یک تا سه ساعت پس از مصرف نیترات، مقدار نیترات بزاق به اوج خود می‌رسد (بارتولومیو و هیل، ۱۹۸۴). نیترات همچنین می‌تواند از طریق تنفس ترکیباتی از قبیل دود سیگار و اگزوز خودرو جذب شود (ایلن و شالر، ۱۹۸۳؛ لاندبرگ و همکاران، ۲۰۰۴ و ۲۰۰۸). هر چند که نسبت به رژیم غذایی و

جذب از مسیر گوارش از اهمیت کمتری برخوردار است. در انسان، بخش بزرگی از نیترات مصرفی (۶۰ تا ۸۰ درصد) ناشی از مصرف سبزی‌ها و میوه‌ها است.

نیترات جذب شده به سرعت توسط خون جریان یافته و به صورت گزینشی توسط غدد بزاقی و احتمالاً سایر غدد در بدن ترشح می‌شود. تزریق وریدی نیترات نشان‌دار شده در یک داوطلب نشان داد که نیترات به سرعت در جریان خون در سراسر بدن توزیع شد (ویتر و همکاران، ۱۹۷۹). در بدن انسان، جذب نیتریت سدیم در دستگاه گوارش سریع است. حداکثر غلظت نیتریت در پلاسمای خون ۳۰-۱۵ دقیقه پس از مصرف مشاهده شد. علاوه بر این، نیتریت با متوسط نیمه عمر ۳۰ دقیقه به سرعت در حال ناپدید شدن از پلاسما است. نتایج نشان داد که در شرایط ناشتا ۹۵-۹۰ درصد نیتریت سدیم خوراکی از دستگاه گوارش جذب می شود (کورتبویر و همکاران، ۱۹۹۷). میزان نیتریت پلاسما به طور معمول بسیار پایین‌تر از سطح نیترات است. این امر به دلیل مصرف کمتر نیتریت در مقایسه با نیترات و همچنین به دلیل اکسیداسیون سریع نیتریت به نیترات بوسیله اکسیژن هموگلوبین خون است. بنابراین، مجموع نیترات و نیتریت در خون با سطوح نیترات تقریباً یکسان است (لاندبرگ و ویتزبرگ، ۲۰۰۵). در موش و خرگوش، تزریق وریدی نیتریت نشان‌دار شده منجر به به توزیع همگن نیتریت در تعدادی از اندام‌ها از جمله کبد، کلیه و مثانه شد (پارک و همکاران، ۱۹۸۱).

نیترات فی نفسه نسبتا غیرسمی است. حدود ۵ درصد از تمام نیترات خورده شده در بزاق دهان و دستگاه گوارش به ماده سمی نیتریت تبدیل می‌شود، همچنین نیترات در هنگام انبارداری و فرآوری میوه‌ها و سبزی‌ها به نیتریت احیا می‌شود (اسپیگلدر و همکاران، ۱۹۷۶؛ منسینگا و همکاران، ۲۰۰۳). نیتریت با هموگلوبین خون واکنش داده و منجر به تشکیل متهموگلوبین می‌شود که در مقایسه با هموگلوبین دارای قابلیت کمتری برای حمل اکسیژن است. هنگامی که نسبت متهموگلوبین به هموگلوبین طبیعی به ۱۰ درصد برسد علائم بالینی کبودی پوست بدلیل خفگی مشاهده می‌شود. این امر منجر به کمبود اکسیژن به خصوص در اطفال شده و در نهایت منجر به خفگی آنها می‌شود که تحت عنوان سندروم نوزاد کبود (Blue baby syndrome) شناخته می‌شود. واکنش زیر شناخته شده‌ترین اثر نیتریت در توانایی واکنش با هموگلوبین و تشکیل متهموگلوبین را نشان می‌دهد (کنوبلوچ و همکاران،۲۰۰۰؛ منسینگا و همکاران، ۲۰۰۳).

$$NO_2^- + \text{oxyHb } (Fe^{2+}) \rightarrow \text{metHb } (Fe^{3+}) + NO_3$$

از طرف دیگر نیتریت قادر است در دستگاه گوارش انسان با آمین‌ها و آمیدها واکنش داده و به شکل ترکیبات ان- نیتروزو که ترکیبات سرطان‌زایی هستند درآید. به طور عمده تشکیل نیتریت در شرایط زیر رخ می‌دهد. (۱) در زمان ذخیره‌سازی و فرآوری محصولات غذایی حاوی سبزیها و (۲) در معده از طریق آنزیم‌های کاهش‌دهنده نیترات (ویتوز، ۱۹۹۲). کشف سرطان‌زایی ان- نیتروزو دی متیل آمین در موش صحرایی در پژوهش‌های انجام شده ثابت شده است (مگی و بارنز، ۱۹۵۴). ترکیبات ان- نیتروزو در بیش از ۴۰ گونه‌ی جانوری سرطان‌زا می‌باشند که شامل پستانداران، پرندگان، خزندگان و ماهی می‌باشند. هیچ دلیلی محکمی مبنی بر مقاوم بودن منحصر به فرد انسان به این نوع ترکیب وجود ندارد (هیل، ۱۹۹۹).

۱-۷-۲- اثرات مفید

امروزه طیف وسیعی از مواد با عنوان افزودنی‌ها به مقدار کم در تهیه مواد غذایی استفاده می‌شوند. افزودنی‌ها ترکیباتی هستند که برای جلوگیری از فساد و حفظ طعم موادغذایی در مدت نگهداری، جلوگیری از رشد و نمو میکروبی، تشدید رنگ مخصوص، پایداری و اصلاح ساختمان فیزیکی محصول و اصلاح ظاهر محصول غذایی استفاده می‌شوند. یکی از این افزودنی‌ها نگهدارنده‌ها هستند. نگهدارنده-های ضد میکروبی، علاوه بر تأمین سلامت مواد غذایی، باعث طولانی‌تر شدن عمر این مواد و کاهش ضایعات، هزینه فرآوری و مشکلات فروش می‌شوند. نیترات و نیتریت به عنوان افزودنی‌های مواد غذایی به ویژه برای خواص ضد باکتریایی خود علیه کلستریدیوم بوتولینوم و گاستروانتریت باکتریایی به کار برده می‌شوند. یکی از این نگهدارنده‌ها ترکیبات نیترین است که به صورت نیتریت سدیم (E۲۵۰)، نیتریت پتاسیم (E۲۴۹)، نیترات سدیم (E۲۵۲) و نیترات پتاسیم (E۲۵۱) استفاده می‌شود. نیتریت سدیم، افزودنی چند منظوره‌ای است که در گوشت‌های عمل آوری شده کاربرد دارد. این ترکیب علاوه بر خاصیت ضدمیکروبی در مقادیر کم، برای ایجاد رنگ، عطر و طعم نیز استفاده می‌شود. در حقیقت ترکیبات نیتریتی و نیتراتی برای جلوگیری از رشد میکروارگانیسم‌ها، به خصوص کلستریدیوم بوتولینوم و ایجاد رنگی صورتی و طعم مناسب در گوشت‌های عمل‌آوری شده، استفاده می‌شوند. سم بوتولینوم خطرناک‌ترین ترکیب سمی شناخته شده است که ۱۵ هزار بار خطرناک‌تر از گاز اعصاب است. نیتریت و نیترات در محصولات گوشتی، مرغ (ماکیان)، پنیر و همچنین غذاهای تهیه شده از ماهی به عنوان نگهدارنده استفاده می‌شوند. نیتریت به تنهائی ولی نیترات زمانی که در اثر احیا به نیتریت تبدیل می-شود اثر ضد میکروبی دارد. چگونگی مکانیسم اثر نیتریت روی باکتری‌ها هنوز کاملاً روشن نیست، ولی تصور می‌شود که نیتریت با تأثیر بر روی ترکیبات سولفیدریل موجود در میکروارگانیسم ها تغییراتی در آن‌ها ایجاد می‌کند که سبب اختلال در متابولیسم و در نهایت رشد و تکثیر آنها می‌شود (دانکن و همکاران، ۱۹۹۵؛ دایخوزین و همکاران،۱۹۹۶؛ والنس، ۱۹۹۷؛ مک نایت و همکاران، ۱۹۹۷ و ۱۹۹۹).

تحقیقات اخیر نشان داده که نیترات و نیتریت موجود در مواد غذایی نقش ضد میکروبی در معده دارد. ترکیبات حاصل از متابولیسم نیتریت نقش‌های متعدد فیزیولوژیکی- فارماکولوژیکی در بدن بازی می‌کنند. اکسید نیتریک تولید شده در معده خاصیت ضد بیماری در روده دارد (لاندبرگ و همکاران، ۲۰۰۸). سایر اثرات مفید نیترات جلوگیری از افزایش فشار خون و بیماری‌های قلبی- عروقی است. نیترات میوه‌ها و سبزی‌ها در کاهش فشار خون نیز مؤثر است (سانتاماریا، ۲۰۰۱).

۱-۸- حد مجاز مصرف نیترات و نیتریت در انسان

اولین ارزیابی بین‌المللی در رابطه با خطرات مرتبط با مصرف نیترات و نیتریت موجود در مواد غذایی برای انسان توسط کمیته مشترک متخصصین افزودنی‌های غذا سازمان خوار و بار جهانی و سازمان بهداشت جهانی (The Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, JECFA) در سال ۱۹۶۱ انجام شد. این کمیته میزان مصرف روزانه قابل قبول (Acceptable Daily Intake, ADI) نیترات را ۳/۷ – ۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن و نیتریت را ۰/۰۶–۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن اعلام کرد. در جدیدترین بررسی کمیته مذکور، در سال ۲۰۰۲ حد مجاز نیترات ۳/۷–۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن و حد مجاز نیتریت ۰/۰۷-۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن اعلام شده است (افسا، ۲۰۰۸).

۱-۹- حداکثر غلظت نیترات در اسفناج

استانداردهای مختلفی برای غلظت مطلوب و همچنین حداکثر غلظت نیترات در اسفناج وجود دارد (جدول ۱-۱). با این وجود حداکثر غلظت نیترات برای اسفناج در ایران مشخص نشده است. در تحقیق حاضر از استانداردهای کمسیون اروپا برای حداکثر غلظت نیترات در اسفناج (۲۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن تر) استفاده شده است. همان‌طور که در جدول ۱-۱ مشخص است حداکثر غلظت مجاز نیترات در اسفناج بسته به فصل متفاوت بوده و در پاییز و زمستان بیشتر از بهار و تابستان است که دلیل آن متفاوت بودن شرایط آب و هوایی و میزان تابش نور خورشید در فصول مختلف سال و تأثیر آن بر تجمع نیترات می‌باشد (سان و آنیاما، ۱۹۹۸؛ ماف، ۱۹۹۹).

جدول ۱-۱- غلظت معیار نیترات و حداکثر غلظت آن در اسفناج بر حسب میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن تر در کشورهای مختلف

آلمان (معیار)	هلند (حداکثر)	سوئیس (معیار)	اتریش (حداکثر)	روسیه (حداکثر)	کمسیون اروپا (حداکثر)
۲۰۰۰	(ت) ۳۵۰۰ (ز) ۴۵۰۰	۳۵۰۰	(برداشت تا آخر ماه ژوئن) ۲۰۰۰ (برداشت از ماه جولای) ۳۰۰۰	(ب) ۲۰۰۰ (گ) ۳۰۰۰	(برداشت از ماه آوریل تا آخر اکتبر) ۲۵۰۰ (برداشت از اول نوامبر تا آخر مارس) ۳۰۰۰ (ف) ۲۰۰۰

ت: تابستان، ز: زمستان، ب: تولید در هوای آزاد، گ: تولید در گلخانه، ف: محصول فرآوری شده (انبارداری، منجمد کردن).

۱-۱۰- راهکارهای کاهش تجمع نیترات در اندام‌های مصرفی سبزی‌ها

از آنجایی که سبزی‌ها و میوه‌ها در رژیم غذایی انسان دارای جایگاه ویژه‌ای هستند، بنابراین کاهش تجمع نیترات در آنها دارای اهمیت زیادی است. به طور کلی راهکارهای مختلفی برای کاهش تجمع نیترات در اندام‌های مصرفی سبزی‌ها وجود دارد که در زیر به آن‌ها اشاره می‌شود (ملکوتی و همکاران، ۱۳۸۷). این راهکارها عبارتند از: استفاده از ارقامی که نیترات کمتری در اندام‌های خود ذخیره می‌کنند، توجه به تغذیه متعادل، مصرف کودهای نیتروژنه بر مبنای آزمون خاک، استفاده از کودهای نیتروژنه با پوشش گوگردی، تقسیط کودهای نیتروژنه، استفاده از کودهای زیستی نیتروژنه، استفاده از کودهای آلی، برداشت محصول در عصر، استفاده از سیستم‌های آبیاری نوین جهت افزایش راندمان کودهای شیمیایی نیتروژنه، جلوگیری از بروز تنش‌های رطوبتی در گیاه، جلوگیری از عواملی که مانع نوررسانی به گیاه در روز می‌شود، حفظ فاصله ردیف‌ها جهت پراکنش نور به تمام قسمت‌های گیاه، عدم برداشت در روزهای ابری، رعایت تاریخ کشت، استفاده از بذرهای استاندارد و مرغوب، استفاده از بازدارنده‌های اوره‌آز و نیترات‌سازی.

۱-۱۱- اسفناج

۱-۱۱-۱- اصل و منشأ اسفناج

اسفناج خوراکی (*Spinacia oleracea* L.) بومی مناطق مرکزی آسیا و به احتمال قوی ایران است (نونک، ۱۹۸۹؛ هاچمات و همکاران، ۲۰۰۳). شواهد نشان می‌دهد که این سبزی از ۲۰۰۰ سال قبل در ایران کشت شده و ایرانیان باستان از خواص آن آگاهی داشته‌اند. اسفناج در حدود قرن هفتم

میلادی به چین راه یافته و مردم چین در سال ۶۷۴ میلادی آن را به عنوان سبزی استفاده می‌نمودند (دانشور، ۱۳۷۹).

اسفناج اگرچه از زمان‌های بسیار قدیم کشت می‌شده است، اما اهمیت تجاری خود را هنوز پیدا نکرده است. این سبزی از نظر سطح زیر کشت در بین سایر سبزی‌ها در رتبه بیستم قرار دارد. این در حالی است که اسفناج از نظر مواد معدنی و ارزش غذایی پس از کلم بروکلی در جایگاه دوم قرار دارد (اسپلیتوسر، ۱۹۹۰). طبق آمار سازمان خوار و بار و کشاورزی جهان (FAO) سطح زیر کشت اسفناج در دنیا در سال ۲۰۰۴ میلادی بالغ بر ۸۱۰۱۹۹ هکتار و تولید جهانی آن نیز معادل ۱۲۶۸۸۳۷۴ تن گزارش شده است. سطح زیر کشت این سبزی در ایران حدود ۷۰۰ هکتار و میزان تولید آن ۱۰۰۰۰ تن گزارش شده است. همچنین متوسط عملکرد این سبزی در ایران و جهان به ترتیب ۱۴/۲۸ و ۱۵/۶۶ تن در هکتار برآورد شده است. ایران از نظر سطح زیر کشت و تولید در جایگاه بیست و دوم جهان قرار دارد. در حال حاضر کشورهای چین، آمریکا، ژاپن، ترکیه، کره جنوبی و فرانسه مهمترین کشورهای تولید کننده‌ی اسفناج در جهان هستند (اسدی قارنه، ۱۳۸۷).

۱-۱۱-۲- ویژگی‌های گیاه‌شناسی اسفناج

اسفناج گیاهی علفی و یک ساله از تیره غازپایان (*Chenopodiaceae*) است که برگ‌ها، دمبرگ‌ها و ساقه‌های ظریف آن به صورت تازه و یا فرآوری شده مصرف می‌شود (روباتزکی و یاماگوچی، ۱۹۹۷). اسفناج پس از سبز شدن تولید برگ‌های طوقه‌ای (Rosette) می‌کند، به این ترتیب که برگ‌ها پیرامون ساقه کوتاهی به طول چند میلی‌متر نزدیک سطح خاک قرار می‌گیرند. طی رشد بعدی این ساقه طویل شده و از شاخه‌های جانبی دیگری از محل اتصال برگ‌ها به ساقه‌ی اصلی منشعب می‌شوند و ممکن است از ساقه اصلی ساقه‌های فرعی درجه ۱ و ۲ نیز به وجود آیند (پیوست، ۱۳۷۷).

ارتفاع بوته اسفناج به ۳۰ تا ۶۰ سانتی متر می‌رسد. برگ‌ها که به شکل متفاوت هستند، به طور متناوب روی ساقه قرار می‌گیرند. برگ‌های یک بوته دارای اندازه‌ی یکسان نبوده، ولی شبیه به یکدیگر هستند (کاشی، ۱۳۷۶). حاشیه برگ‌های اسفناج از کاملاً صاف تا دندانه‌دار متغیر می‌باشد. پهنک برگ نیز صاف و یا دارای چروکیدگی است. چین خوردگی برگ در ارقام برگ چروکیده به دلیل رشد متفاوت بافت‌های پارانشیمی بین رگبرگ‌ها می‌باشد (روباتزکی و یاماگوچی، ۱۹۹۷). دمبرگ‌ها معمولاً از نظر طول، هم اندازه‌ی پهنک برگ هستند و اغلب زمانی که برگ‌ها کاملاً رشد یافتند، توخالی می‌شوند. عادت رشد برگ‌های اسفناج از خوابیده تا کاملاً ایستاده متفاوت است و تا حدودی تحت تأثیر فاصله کشت قرار می‌گیرد. هر چه بوته‌ها متراکم‌تر کشت شوند، به علت رقابتی که بین بوته‌ها ایجاد می‌شود، امکان رشد بیشتر دمبرگ‌ها و حالت ایستاده برای بوته فراهم می‌شود (اسدی قارنه و حسندخت، ۱۳۸۶).

۱-۱۱-۳- شرایط مناسب برای پرورش اسفناج

اسفناج محصول فصل خنک است که سرمای زیر صفر را بهتر از دیگر سبزی‌های فصل سرد تحمل می‌کند. اسفناج می‌تواند تا ۷- درجه سانتیگراد سرما را تحمل کند، ولی در دمای بین ۲۰-۱۸ درجه سانتیگراد و روزهای کوتاه بهترین رشد را دارد. دما همچنین می‌تواند روی کیفیت برگ تأثیر داشته

باشد. دماهای پایین باعث افزایش ضخامت برگ شده، ولی اندازه و نرمی برگ کاهش می‌یابد (اسپلیتوسر، ۱۹۹۰).

به طور کلی اسفناج در مجاورت تابش زیاد نور خورشید، دمای متوسط و هوای مرطوب بهترین نتیجه را می‌دهد. بادهای شدید و خشک به گیاه خسارت وارد می‌کند. اسفناج دارای دوره رشد نسبتاً کوتاهی بوده و در نقاطی که دارای آب و هوای معتدل هستند، می‌تواند چندین بار در سال نسبت به کاشت آن اقدام نمود (پیوست، ۱۳۷۷). اسفناج را می‌توان در هر خاکی که از نظر مواد غذایی غنی باشد و زهکش مناسب نیز داشته باشد، کشت کرده و محصول خوبی برداشت نمود. زمین‌های کم عمق و یا غیر قابل نفوذ برای کاشت اسفناج مناسب نیستند. خاک بایستی دارای زهکشی خوب بوده و در صورت امکان مواد آلی آن به خوبی تأمین شده باشد (کاشی، ۱۳۷۶).

۱-۱۱-۴- اهمیت تغذیه‌ای اسفناج

اسفناج دارای مواد مختلفی از قبیل کلسیم، آهن، فسفر، گوگرد، پتاسیم، سدیم و منیزیم می‌باشد. اسفناج از نظر ویتامین‌های A و C غنی است. این دو ریزمغذی آنتی اکسیدان‌های مهمی هستند که به کاهش تعداد رادیکال‌های آزاد در بدن کمک می‌کنند. همچنین اسفناج به مقدار کم، دارای اسیدهای آمینه تیامین، ریبوفلاوین و نیاسین می‌باشد (دانشور، ۱۳۷۹). اسفناج دارای ارزش غذایی بالایی می‌باشد، به طوری که در بین ۴۲ نوع میوه و سبزی رایج، از نظر مقدار نسبی تامین ۱۰ نوع ویتامین و ماده معدنی مورد نیاز بدن در جایگاه دوم اهمیت قرار دارد (سالونخه و همکاران، ۱۹۹۱).

ویژگی مهم خون‌سازی که به اسفناج نسبت داده می‌شود مربوط به مواد موجود در آن مثل مس، ید، ویتامین ث،کلروفیل و آهن می‌باشد. به همین دلیل اسفناج ماده اولیه و با ارزش برای تهیه غذای کودکان به شمار می‌آید. از اسفناج به عنوان بهترین منبع آهن برای تغذیه کودکان استفاده می‌شود. اسفناج به علت داشتن مقدار قابل توجهی کلسیم، باعث جذب آب در بدن شده و اثرات مثبتی روی گردش خون و قلب دارد (کاشی، ۱۳۷۶). تحقیقات علمی جدید حاکی از خاصیت ضدسرطانی بسیار بالای اسفناج است و از نظر پیشگیری به ابتلای سرطان به سلطان گیاهان معروف است. دانشمندان ژاپنی معتقدند که اسفناج در کاهش میزان کلسترول خون نیز مؤثر است (قاسمی، ۱۳۸۲).

۱-۱۱-۵- ارقام اسفناج

در مطالعات قدیمی که اساس طبقه‌بندی اسفناج بر مبنای شکل برگ و نوع بذر قرار داشت، اسفناج‌ها به چهار گروه اسفناج برگ خیلی ناصاف، برگ گرد، برگ ضخیم و بذر خاردار تقسیم می‌شدند. امروزه ارقام اسفناج را بر اساس نوع بذر (خاردار یا بدون خار)، بافت برگ (صاف یا چروکیده) و طول دوره رشد گیاه (دیررس یا زودرس) تقسیم بندی می‌کنند (روباتزکی و یاماگوچی، ۱۹۹۷). انواع تجاری اسفناج دارای برگ‌های صاف هستند. بذر اسفناج گرد خاکستری رنگ و نسبتاً کوچک است و در بعضی از انواع آن دارای ۳ یا ۴ برآمدگی شبیه به خار است به همین دلیل آنها را خاردار می‌گویند. ارقام بذر خاردار قدمت بیشتری دارند. بذرهای صاف از نظر کاشت مخصوصاً بوسیله ماشین بذرکار بر انواع بذر خاردار برتری دارند (شیبانی، ۱۳۶۹).

اسفناج‌های برگ چروکیده که در سال ۱۸۲۸ معرفی شدند (نونک، ۱۹۸۹)، از نظر نگهداری در انبار مناسب‌ترند. زیرا در آنها تهویه بهتر صورت گرفته، ولی در عوض به سختی قابل شستشو هستند.

انواع برگ صاف به دلیل رشد سریع‌تر، عملکرد بیشتر و شستشوی راحت‌تر برای فرآوری و انـواع بـرگ چروکیده برای تازه‌خوری مناسب‌ترند (دجروکا و همکاران، ۱۹۸۸). امروزه مؤسسات اصلاح بذر کوشش می‌کنند تا ارقامی را که دارای رشد سریع، مقاوم به سفیدک دروغین (*Peronospora farinose*)، رنگ سبز تیره و نیز ارقامی را که دارای شکل ایستاده باشند تهیه و در اختیار کشاورزان قرار دهند (پیوست، ۱۳۷۷). در این تحقیق سعی شد که از دو رقم متفاوت اسفناج از نظر برگ استفاده شود. به این منظـور از یک رقم اسفناج برگ صـاف (رقم گیانت سانتوس، Giant Santos) و یک رقم اسفناج برگ چروک (رقم وایکینگ، Viking) استفاده شد.

۱-۱۲- اهداف تحقیق

با توجه به اهمیت اسفناج در تغذیه انسان و از طرف دیگر ضرورت کاهش غلظـت نیتـرات آن، ایـن پژوهش برای دستیابی به اهداف زیر طراحی و اجرا شد.

۱- مطالعه کاربرد بازدارنده نیترات‌سازی ۳ و ۴ دی متیل پیرازول فسفات بر تجمع نیترات و عملکرد دو رقم اسفناج

۲- ارزیابی تأثیر بافت خاک (سبک، متوسط و سنگین) بر تجمع نیترات در اسفناج در شرایط کاربرد بازدارنده نیترات‌سازی ۳ و ۴ دی متیل پیرازول فسفات

۱-۱۳- فرضیات تحقیق

در این تحقیق فرضیات صفر زیر مورد آزمون قرار گرفتند.

H_0. کاربرد بازدارنده نیترات‌سازی ۳ و ۴ دی متیل پیرازول فسفات تاثیری بر تجمع نیترات و عملکرد دو رقم اسفناج ندارد.

H_0. بافت خاک تأثیری بر تجمع نیترات در اسفناج در شرایط کاربرد بازدارنده نیترات‌سازی ۳ و ۴ دی متیل پیرازول ندارد.

فصل دوم- بررسی منابع

۲-۱- عوامل مؤثر بر تجمع نیترات در گیاهان

جذب و ساخت نیترات به نیتروژن آلی نیاز به شرکت چندین آنزیم دارد. نیترات بوسیله آنزیم‌های نیترات ریداکتاز و نیتریت ریداکتاز به آمونیوم تبدیل می‌شود. سپس آمونیوم توسط آنزیم‌های گلوتامین سینتتاز و گلوتامات سینتاز به اسید گلوتامیک تبدیل می‌شود (کافی و همکاران، ۱۳۷۹). به طور کلی عوامل مختلفی بر تجمع نیترات در گیاهان و به خصوص سبزی‌ها تأثیر می‌گذارد. برخی از این عوامل عبارتند از تنش‌های محیطی از قبیل خشکی، دمای بالا یا پایین و شدت نور کم (براون و اسمیت، ۱۹۶۶)، تیپ خاک (پوماراس گارسیا و پرات، ۱۹۷۸)، نوع گیاه و رقم آن (نلسون، ۱۹۸۲)، مدیریت مصرف کودهای نیتروژنه از نظر میزان، نوع و زمان مصرف (بریمنر و یومانس، ۱۹۸۷)، کاربرد سایر عناصر غذایی از قبیل پتاسیم و مولیبدن (ران و جانسون، ۱۹۹۹ و بیگی و همکاران، ۱۳۹۰)، علف-کش‌ها (کانتلیف، ۱۹۷۳)، طول روز، زمان برداشت و سن گیاه (خوشگفتار منش، ۱۳۸۶) و کاربرد کودهای کندرها و بازدارنده‌های نیترات‌سازی (اسکرینسن و همکاران، ۱۹۹۴؛ مونتمورو و همکاران، ۱۹۹۸؛ پاسدا و همکاران، ۲۰۰۱؛ چاو و همکاران، ۲۰۰۵ و ایریگوین و همکاران، ۲۰۰۶). در ادامه سعی می‌شود تأثیر برخی از این عوامل بر تجمع نیترات در گیاه توضیح داده شود.

۲-۱-۱- نوع گیاه

مشکل تجمع نیترات در تمامی گیاهان دیده نشده است و برخی از گیاهان از قبیل نخودفرنگی دارای این مشکل نیستند. به عنوان مثال در مقایسه بین خیار و نخودفرنگی اعلام شد که اختلاف بین این دو گیاه در تجمع نیترات به تفاوت ریشه آنها در احیای نیترات برمی‌گردد. در حالی که فقط دو درصد کل فعالیت نیترات ریداکتاز در خیار در ریشه صورت می‌گیرد در نخودفرنگی فعالیت این آنزیم در کل پیکره گیاه متمرکز است. در کوددهی زیاد نیتروژن در خیار بیش از ۸۵ درصد نیتروژن موجود در شیره خام به شکل نیترات بود در حالی که تنها ۳۰ درصد نیتروژن موجود در شیره خام نخودفرنگی به شکل نیترات بوده و مابقی به صورت آمینواسید و ترکیبات آمید بود (اولدی و همکاران، ۱۹۷۶). نیترات عمدتاً در واکوئل‌های گیاهی نگهداری و ذخیره شده و از طریق آوند چوب انتقال داده می‌شود.

این نشان می‌دهد که چرا سبزی‌های برگی از قبیل کلم، کاهو و اسفناج غلظت‌های نسبتاً زیادی از نیترات دارند در حالی که اندام‌های ذخیره‌ای از قبیل سیب زمینی، هویج، نخود و لوبیا غلظت‌های نسبتا کمی از نیترات دارند. کاربرد کودهای نیتروژنه غلظت نیترات را در آوند چوب افزایش داده، اما واقعاً تأثیری بر غلظت نیترات در آوند آبکش ندارد. بنابراین در سبزی‌های برگی از قبیل کاهو یا کلم افزایش غلظت نیترات در پاسخ به کاربرد کود نیتروژن دیده می‌شود در حالی که اندام‌های ذخیره‌ای نظیر لوبیا و نخود که از طریق آوند آبکش تغذیه می‌شوند غلظت پایینی از نیترات را نشان می‌دهند.

۲-۱-۲- رقم

بسته به گونه و رقم مقدار نیترات موجود در سبزی‌ها متفاوت می‌باشد. به عنوان مثال خانواده‌های Brassicaceae، Solanaceae، Poaceae، Chenopodiaceae و Asteraceae استعداد تجمع نیترات بیشتری دارند (ملکوتی، ۱۳۷۵). در اسفناج برگ چروکیده، تجمع نیترات به‌دلیل فعالیت کم آنزیم کاهنده نیترات، نسبت به برگ صاف بیشتر است. همچنین سبزی‌های زودرس نسبت به دیررس‌ها مقدار نیترات بیشتری دارند. آزمایش‌های انجام شده نشان داده‌اند که در بین سبزی‌های برگی شاهی به دلیل کوتاهتر بودن طول دوره رشد دارای بیشترین مقدار نیترات بود (ملکوتی و همکاران، ۱۳۸۷). طی تحقیقات براون و اسمیت (۱۹۹۶) سبزی‌های زودرس به طور قابل ملاحظه‌ای نیترات بیشتری نسبت به سبزی‌های دیررس همان نوع دارند. شائوتینگ و یانگ سونگ (۲۰۱۰) تفاوت بین ارقام کلم پیچ چینی را در غلظت نیترات گزارش کردند. به طوری که ژنوتیپ Dongfei دارای تجمع نیترات پایین و بالعکس ژنوتیپ Gaoxiongtiancui دارای تجمع نیترات بالا بود. نتایج تحقیقاتی لورنز (۱۹۷۸) نشان داد که مقدار نیترات در گونه‌های مختلف سبزی‌ها با هم فرق کرده و اندام‌های مختلف یک سبزی از نظر تجمع نیترات با هم اختلاف نشان می‌دهند. برای مثال در اسفناج بیشترین مقدار نیترات در دمبرگ تجمع یافته و در پهنک مقدار کمتری نیترات نسبت به دمبرگ تجمع می‌یابد (بهتاش و همکاران، ۱۳۸۰).

۲-۱-۳- سن گیاه

نیترات اغلب در قسمت‌های مسن گیاه تجمع می‌یابد. زیرا در این بخش‌ها فعالیت آنزیم‌های کاهش دهنده نیترات کم است. به طور مثال در برگ‌های کاملاً بالغ، میزان فعالیت نیترات ریداکتاز پایین بوده و در نتیجه میزان نیترات آن‌ها افزایش می‌یابد. در حالی که میزان فعالیت این آنزیم در سلول‌های در حال رشد در نواحی انتهایی ریشه زیاد است (خوشگفتار منش، ۱۳۸۶). گرین وود و هانت (۱۹۸۶) نشان دادند که غلظت نیترات در برگ‌های بیرونی کلم که در مقایسه با برگ‌های درونی سن بیشتری دارند بالاتر است.

۲-۱-۴- تنش‌های محیطی

کاهش میزان فتوسنتز گیاه منجر به افزایش غلظت نیترات در گیاه می‌شود. با توجه به اینکه فرایند احیای نیترات نیازمند انرژی است بنابراین عواملی نظیر تنش‌های محیطی (تنش خشکی، دمای بالا و پایین، شدت نور کم) با کاهش فعالیت آنزیم نیترات ریداکتاز و نیتریت ریداکتاز منجر به تجمع نیترات در گیاهان می‌شوند. تنش رطوبتی باعث کاهش فعالیت آنزیم کاهش دهنده نیترات و متابولیسم آن