

تأثیر بازدارنده نیترات‌سازی ۳ و ۴ دی متیل پیرازول فسفات بر عملکرد و تجمع نیترات اسفناج در خاک‌های مختلف

محبوبه قیطاسی^۱ - شهرام کیانی^{۲*} - علیرضا حسین پور^۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۲/۰۹

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۷/۰۸

چکیده

سبزی‌های برگ‌ی مثل اسفناج حاوی مقدار زیادی نیترات هستند. یکی از راهکارهای کاهش تجمع نیترات در سبزی‌ها استفاده از بازدارنده‌های نیترات‌سازی است. این تحقیق به منظور بررسی تأثیر کاربرد بازدارنده نیترات‌سازی ۳ و ۴ دی متیل پیرازول فسفات (DMPP) بر عملکرد و تجمع نیترات در اسفناج (*Spinacia oleracea* L.) به صورت گلدانی انجام شد. بدین منظور آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه عامل نوع کود نیتروژنه، نوع خاک و نوع واریته در سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه شهرکرد انجام شد. کودهای نیتروژن شامل اوره، سولفات نیترات آمونیوم و سولفات نیترات آمونیوم با بازدارنده نیترات‌سازی DMPP بودند که به همراه تیمار شاهد (عدم کاربرد نیتروژن) مورد استفاده قرار گرفتند. عامل خاک نیز شامل ۳ نوع خاک با ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی متفاوت بود. واریته‌های مورد استفاده شامل یک واریته برگ صاف (گیانت ساتوس) و یک واریته برگ چروک (وایکینگ) بودند. نتایج نشان داد کاربرد سولفات نیترات آمونیوم به همراه بازدارنده نیترات‌سازی DMPP منجر به افزایش معنی‌دار آمونیوم و بالعکس کاهش معنی‌دار نیترات خاک در مقایسه با تیمار مشابه اما فاقد بازدارنده و کود اوره در هر سه خاک مورد مطالعه شد. کاربرد بازدارنده نیترات‌سازی DMPP در خاک شماره ۳ (رس سیلتی) منجر به افزایش معنی‌دار عملکرد اسفناج واریته وایکینگ به میزان ۲۹/۱ درصد در مقایسه با تیمار مشابه اما فاقد بازدارنده گردید. کاربرد سولفات نیترات آمونیوم به همراه بازدارنده نیترات‌سازی DMPP منجر به کاهش معنی‌دار غلظت نیترات اندام‌هوایی اسفناج در مقایسه با سولفات نیترات آمونیوم و اوره به ترتیب به مقدار ۲۵/۷ و ۳۱/۵ درصد در خاک شماره ۱، ۲۹/۱ و ۳۷/۱ درصد در خاک شماره ۲، ۳۳/۹ و ۳۴/۰ درصد در خاک شماره ۳ شد. بر اساس نتایج این پژوهش، استفاده از سولفات نیترات آمونیوم به همراه بازدارنده نیترات‌سازی DMPP در شرایط مشابه این تحقیق به منظور کاهش غلظت نیترات در اسفناج می‌تواند قابل توجه باشد.

واژه‌های کلیدی: آمونیوم، اوره، سولفات نیترات آمونیوم، نیترات‌سازی

مقدمه

تبدیل و جذب شود باعث ایجاد عارضه متهموگلوبینمی^۴ می‌شود که این امر به خصوص در نوزادان باعث ایجاد سندروم نوزاد کبود می‌شود. از طرف دیگر در معده انسان، نیتريت با ترکیبات نیتروساتابل^۵ از قبیل آمیدها و آمین‌ها واکنش داده و منجر به تولید ترکیبات آن - نیتروزو می‌شود (۲۸). برخی از ترکیبات آن - نیتروزو از قبیل نیتروزآمین سرطان‌زای قوی در گونه‌های حیوانی بوده و بنابراین می‌توانند در انسان منجر به سرطان شوند (۲۷).

بازدارنده‌های نیترات‌سازی ترکیب‌هایی هستند که اکسایش زیستی یون آمونیوم (NH_4^+) به نیتريت (NO_2^-) را به واسطه کاهش فعالیت باکتری نیتروزوموناس به تأخیر می‌اندازند (۲۲). ترکیب ۳ و ۴- دی متیل پیرازول فسفات (DMPP) یک بازدارنده جدید نیترات‌سازی است که توسط شرکت باسف آلمان تولید شده است (۳۵). کاربرد

اسفناج (*Spinacia oleracea* L.) از مهمترین سبزی‌های برگ است که حاوی مقدار بالایی نیترات می‌باشد. میزان نیترات برگ شاخصی از مصرف لوکس کودهای نیتروژن است که منجر به تجمع نیترات در واکوئل‌ها می‌شود. سازمان بهداشت جهانی مصرف روزانه ۴۰۰ گرم میوه و سبزی را برای هر فرد بالغ توصیه کرده که این امر منجر به دریافت ۶۰ تا ۸۰ درصد نیترات ورودی در رژیم غذایی روزانه افراد در کشورهای توسعه یافته می‌گردد (۳۳). نیترات به تنهایی نسبتاً غیرسمی است اما وقتی در بدن انسان به وسیله باکتری‌ها به نیتريت

۱، ۲ و ۳- به ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، دانشیار و استاد گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد

(*)- نویسنده مسئول: (Email: shkiani2002@yahoo.com)

DOI: 10.22067/jsw.v33i5.80074

4- Methemoglobinemia

5- Nitrosatable

بازدارنده‌های نیترات‌سازی زمانی بود که در خاک‌های درشت بافت مصرف شده است. آزمایش‌هایی که در جنوب شرقی ایالات متحده انجام شد، نشان داد مصرف نیتراپیرین در مزارع کشاورزی به جز در خاک‌های سبک و ماسه‌ای افزایش عملکردی به همراه نداشته است (۳۱). چن و همکاران (۵) نشان دادند بازدارنده‌های نیترات‌سازی در خاک‌های شنی و شرایط مرطوب از کارایی بالاتری برخوردار بوده‌اند. ایریگوین و همکاران (۱۴) نیز گزارش کردند تاثیر بازدارنده‌های نیترات‌سازی در کاهش تجمع نیترات در اسفناج در خاک‌های شنی بیشتر از خاک‌های رسی بوده است. تاثیرپذیری بازدارنده‌های نیترات‌سازی نسبت به عوامل مختلف، انجام تحقیقات بیشتر برای تصمیم‌گیری در مورد مصرف آنها را در خاک‌های گوناگون ضروری ساخته است (۲). بنابراین با توجه به موارد فوق تحقیق حاضر سعی دارد تاثیر استفاده از بازدارنده نیترات‌سازی DMPP را بر عملکرد و تجمع نیترات در واریته‌های اسفناج (دو واریته) در خاک‌هایی با خصوصیات فیزیکی و شیمیایی متفاوت مورد بررسی قرار دهد.

مواد و روش‌ها

این تحقیق به صورت یک آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه عامل نوع کود نیتروژنه، نوع خاک و نوع واریته در سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه شهرکرد بر روی گیاه اسفناج انجام شد. کودهای نیتروژن شامل اوره، سولفات نیترات آمونیوم (حاوی ۲۴ درصد نیتروژن: ۲۰/۸ درصد به شکل آمونیوم و ۳/۲ درصد به شکل نیترات $((\text{NH}_4)_3\text{SO}_4\text{NO}_3))$ و سولفات نیترات آمونیوم با بازدارنده نیترات‌سازی DMPP (به میزان ۰/۸ درصد) بودند که به همراه تیمار شاهد (عدم کاربرد نیتروژن) مورد استفاده قرار گرفتند. کودهای سولفات نیترات آمونیوم و سولفات نیترات آمونیوم با بازدارنده نیترات‌سازی DMPP از شرکت بازارگان کالا تهیه شدند. عامل خاک نیز شامل سه نوع خاک با ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی متفاوت شامل خاک شماره ۱ (شن لومی)، شماره ۲ (لوم) و شماره ۳ (رس سیلتی) بود. واریته‌های مورد استفاده شامل یک واریته برگ صاف (گیانت سانتوس^۱) و یک واریته برگ چروک (وایکینگ^۲) بودند. میزان نیتروژن مصرفی در تمام تیمارهای آزمایشی ثابت و برابر ۱۵۰ میلی‌گرم نیتروژن بر کیلوگرم خاک بود که در دو تقسیم مساوی قبل از کشت و یکماه پس از کشت مصرف شدند.

برای انجام آزمایش سه نمونه خاک از مناطق اطراف شهرکرد از عمق صفر تا ۳۰ سانتی‌متری تهیه شد. سپس ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی نمونه‌های خاک از قبیل بافت به روش هیدرومتر، قابلیت هدایت الکتریکی در عصاره ۱ به ۲ خاک به آب مقطر توسط دستگاه هدایت‌سنج الکتریکی، pH در سوسپانسیون ۱ به ۲ خاک به

مقدار ۰/۵ تا ۱/۵ کیلوگرم در هکتار از این ماده برای دستیابی به بالاترین بازدارندگی نیترات‌سازی کافی است. ۳ و ۴- دی متیل پیرازول فسفات می‌تواند به طور معنی‌داری آبشویی نیترات را کاهش دهد، بدون اینکه خودش آبشویی شود. استفاده از DMPP همراه با کودهای نیتروژنه توانسته است 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 (۳۵).

از آنجایی که در نتیجه کاربرد بازدارنده‌های نیترات‌سازی بخش اعظم نیتروژن کاربردی در طول دوره موثر بازدارندگی به شکل آمونیوم است بنابراین می‌توان انتظار داشت که این امر منجر به کاهش تجمع نیترات در سبزی‌ها شود. آزمایش‌های صورت گرفته حاکی از تاثیر مثبت بازدارنده‌های نیترات‌سازی بر کاهش تجمع نیترات در سبزی‌ها بوده است. ریچاردسون و هاردگراو (۲۶) نشان دادند که بازدارنده نیترات‌سازی دی سیانو دی آمید (DCD) منجر به کاهش تجمع نیترات در کاهوی گلخانه‌ای بدون هیچ گونه تاثیر منفی بر عملکرد شده است. مونتورو و همکاران (۲۰) دریافتند که کاربرد بازدارنده نیترات‌سازی DCD تجمع نیترات را تا ۲۴ درصد در کاهو کاهش داده، بدون اینکه منجر به کاهش عملکرد آن شود. پاسدا و همکاران (۲۲) گزارش کردند کاربرد بازدارنده نیترات‌سازی DMPP منجر به کاهش غلظت نیترات در اسفناج شده و همچنین منجر به افزایش شدت رنگ آن شد، اگر چه عملکرد آن را اندکی کاهش داد. زو و همکاران (۳۴) نشان دادند استفاده از بازدارنده نیترات‌سازی DMPP تاثیر معنی‌داری بر افزایش عملکرد قسمت‌های خوراکی سبزی‌ها نداشت، اما توانست کاهش قابل توجهی در تجمع نیترات به میزان ۱۳/۸ و ۱۹/۱ درصد در آنها در طی دو سال متوالی داشته باشد. ایریگوین و همکاران (۱۴) در پژوهش‌های خود در مورد تاثیر بازدارنده‌های نیترات‌سازی بر کاهش تجمع نیترات در اسفناج در شرایط مدیریت‌های عنوان کردند کاربرد بازدارنده نیترات‌سازی DMPP توانست تجمع نیترات را در اسفناج بین ۳۳ تا ۸۴ درصد کاهش دهد. هورثافانو و همکاران (۱۳) گزارش کردند کاربرد ۷۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن به همراه بازدارنده نیترات‌سازی DMPP منجر به کاهش معنی‌دار غلظت نیترات اندام‌هوایی کاهو در مقایسه با عدم کاربرد بازدارنده شد. در این میان حتی ارقام مختلف یک گونه گیاهی در جذب و آسمیلاسیون (جذب و ساخت) نیترات با هم متفاوت هستند. اسفناج برگ چروک به طور قابل ملاحظه‌ای نیترات بیشتری از نوع برگ صاف آن دارد. چون فعالیت آنزیم کاهش دهنده نیترات در نوع برگ صاف بیشتر است (۱۸).

از طرف دیگر کارکرد بازدارنده‌های نیترات‌سازی به ویژگی‌های خاک (بافت، پ‌هاش، رطوبت و دما، پتانسیل نیترات‌سازی، سابقه کوددهی و میزان مصرف نیتروژن) و شرایط آب و هوایی ارتباط دارد (۲، ۵، ۶ و ۱۵). نتایج حاصل از بررسی مصرف دی‌سیانو دی آمید و نیتراپیرین در شمال ایالات متحده نشان داد بیشترین کارایی

1- Giant Santos

2- Viking

در دمای ۴۵ درجه سلسیوس به مدت یک ساعت خوابانیده شدند. نمونه‌ها به مدت پنج دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ شده و عصاره حاصله با استفاده از کاغذ صافی فیلتر گردید. در نهایت غلظت نیترات به روش سولفوسالیسیلیک اسید با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۱۰ نانومتر اندازه‌گیری شد (۴). برای بررسی تأثیر کاربرد بازدارنده نیترات‌سازی DMPP بر تغییرات نیترات و آمونیوم خاک در فاصله زمانی ۳۰ روز پس از کشت (قبل از کوددهی سرک نیتروژن) و در پایان کشت (۶۰ روز پس از کشت) از خاک گلدان‌ها نمونه‌برداری صورت گرفت. به منظور اندازه‌گیری میزان نیترات و آمونیوم محلول و تبادل‌ی به ۳ گرم از نمونه‌های خاک ۳۰ میلی‌لیتر محلول سولفات پتاسیم ۰/۵ مولار اضافه شده و سپس نمونه‌ها به مدت یک ساعت توسط شیکر با سرعت ۱۸۰ دور بر دقیقه تکان داده شدند. سپس نمونه‌ها با استفاده از کاغذ صافی فیلتر شده و در عصاره حاصله مقدار نیترات به روش سولفوسالیسیلیک اسید و مقدار آمونیوم به روش سالیسیلات- نیتروپروپراید با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر به ترتیب در طول موج‌های ۴۱۰ و ۶۶۷ نانومتر اندازه‌گیری شدند (۲۱). نتایج حاصله توسط نرم افزار آمار SAS (نسخه ۸/۰۲) تجزیه و تحلیل شده و برای مقایسه و کلاسه‌بندی میانگین‌ها از آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال ۵٪ استفاده شد.

نتایج و بحث

ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک‌های مورد مطالعه در جدول ۱ ارائه شده است. کلیه خاک‌های مورد بررسی مشکل شوری نداشته و به دلیل وجود کربنات کلسیم معادل pH آنها از هفت بیشتر می‌باشد. میزان ماده آلی در کلیه خاک‌های مورد مطالعه بسیار کم بوده که این مسئله احتمالاً منجر به پاسخ مثبت اسفناج به کاربرد کودهای نیتروژنه می‌شود.

آب مقطر توسط دستگاه pH متر، درصد کربنات کلسیم معادل به روش خشی کردن کربنات کلسیم با اسید کلریدریک و تیتراسیون اسید اضافی با سود و درصد کربن آلی به روش اکسایش تر اندازه‌گیری شدند (۱). میزان فسفر قابل دسترس پس از عصاره‌گیری با بی‌کربنات سدیم توسط دستگاه اسپکتروفتومتر، میزان پتاسیم قابل دسترس پس از عصاره‌گیری با استات آمونیوم توسط دستگاه فلیم فتومتر، آهن، منگنز، مس و روی قابل دسترس پس از عصاره‌گیری با DTPA-TEA با دستگاه جذب اتمی اندازه‌گیری شدند (۱). پس از تهیه خاک‌ها و الک کردن آنها با استفاده از الک شش میلی‌متری نسبت به مصرف کودهای شیمیایی مورد نیاز اسفناج اقدام شد. غلظت عناصر غذایی مورد استفاده برای هر سه نوع خاک (برحسب میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک خشک) عبارت بود از: فسفر ۱۰۰ (از منبع سوپر فسفات تریپل)، آهن ۵ (از منبع سکوسترین ۱۳۸)، روی ۱۵ (از منبع سولفات روی)، منگنز ۵ (از منبع سولفات منگنز) و مس ۲/۵ (از منبع سولفات مس). همچنین برای خاک شماره ۱ (شن لومی) ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک پتاسیم (از منبع سولفات پتاسیم) نیز استفاده شد. بدنبال آن نمونه‌های خاک به درون گلدان‌های پلاستیکی به حجم هفت لیتر ریخته شد و به داخل گلخانه منتقل شدند. سپس در هر گلدان ۱۲ عدد بذر اسفناج کاشته شد که پس از مرحله استقرار پنج بوته حذف شد. سپس مراقبت‌های زراعی معمول در حین دوره داشت (به مدت نه هفته) در گلخانه تا زمان برداشت صورت گرفت. مقدار و زمان آبیاری بر مبنای تامین رطوبت خاک در حد ظرفیت زراعی و به روش وزنی تعیین شد. در پایان آزمایش وزن تر نمونه‌ها توسط ترازوی رقومی اندازه‌گیری شده و نمونه‌ها به مدت ۷۲ ساعت در آون فن‌دار در دمای ۷۰ درجه سلسیوس قرار داده شدند. سپس وزن خشک نمونه‌ها اندازه‌گیری شده و درصد ماده خشک آنها محاسبه شد. بدنبال آن نمونه‌ها با استفاده از آسیاب برقی خرد شده و سپس غلظت نیترات در آنها اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری غلظت نیترات در اسفناج، به ۰/۱ گرم (توزین شده با ترازوی ۰/۰۰۱ گرم) از پودر خشک شده اسفناج ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شده و نمونه‌ها

جدول ۱- برخی از ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک‌های مورد مطالعه

Table 1- Some physical and chemical properties of studying soils

شماره خاک Soil number	پ.هاش _{۱:۲} pH _{1:2}	قابلیت هدایت	ماده آلی	کربنات کلسیم معادل	آمونیم	نیترات	بافت خاک Textural class
		الکتریکی _{۱:۲} EC _{1:2} (dS m ⁻¹)	Organic matter	Calcium carbonate equivalent (%)	Ammonium (mg kg ⁻¹)	Nitrate	
1	7.9	0.14	0.26	28.5	3.7	0.5	Loamy Sand
2	7.9	0.23	0.30	29.0	9.9	1.5	Loam
3	8.0	0.31	0.35	36.2	13.6	4.6	Silty Clay
شماره خاک Soil number	فسفر P	پتاسیم K	آهن Fe	منگنز Mn	روی Zn	مس Cu	
	Available (mg kg ⁻¹)						
1	6.3	119.5	7.0	5.0	0.17	0.36	
2	13.0	604.4	5.6	9.0	0.43	0.85	
3	14.5	776.7	5.3	10.3	0.61	0.84	

مقایسه میانگین برهمکنش نوع کود نیتروژن و نوع خاک نشان داد در تمام سه نوع خاک، منبع نیتروژن تأثیر معنی‌داری بر غلظت آمونیوم خاک داشت. به طوری که در هر دو نمونه‌برداری ۳۰ و ۶۰ روز پس از کشت، بالاترین غلظت آمونیوم در هر سه خاک با کاربرد سولفات نترات آمونیوم به همراه بازدارنده نترات‌سازی DMPP بود. در حالی که کمترین غلظت آمونیوم در خاک‌های مورد مطالعه در تیمار شاهد مشاهده شد (جدول ۲). در نمونه‌برداری ۳۰ روز پس از کشت، در هر سه خاک کاربرد سولفات نترات آمونیوم به همراه بازدارنده نترات‌سازی DMPP منجر به افزایش معنی‌دار غلظت آمونیوم در مقایسه با تیمار مشابه اما فاقد بازدارنده و تیمار اوره شد که مقدار این افزایش برای خاک شماره ۱ به ترتیب ۱۸۲ و ۷۸ درصد، برای خاک شماره ۲ به ترتیب ۱۰۵ و ۶۵ درصد و برای خاک شماره ۳ به ترتیب برابر ۸۹ و ۷۴ درصد بود.

بر اساس نتایج جدول ۱ مقادیر فسفر، پتاسیم، منگنز، روی و مس قابل استفاده و همچنین مقادیر آمونیوم و نترات محلول و تبادل‌پذیر خاک شماره ۳ (رس سیلتی) نسبت به خاک شماره ۲ (لوم) و در خاک شماره ۲ نسبت به خاک شماره ۱ (شن لومی) بیشتر می‌باشد. این مسئله نشان‌دهنده آن است که از دیدگاه حاصلخیزی، خاک شماره ۳ در جایگاه اول قرار داشته و خاک‌های شماره ۲ و ۱ در مرتبه‌های بعدی قرار می‌گیرند.

غلظت آمونیوم و نترات خاک در فواصل ۳۰ و ۶۰ روز پس از کشت اسفناج

بر اساس نتایج تجزیه واریانس تأثیر نوع کود نیتروژن، خاک و برهمکنش آنها بر غلظت نترات و آمونیوم خاک در فواصل ۳۰ و ۶۰ روز پس از کشت اسفناج در سطح یک درصد معنی‌دار شد. نتایج

جدول ۲- تأثیر نوع کود نیتروژن بر غلظت آمونیوم و نترات خاک در فواصل ۳۰ و ۶۰ روز پس از کشت اسفناج در خاک‌های مختلف

Table 2- The effects of nitrogen fertilizer types on ammonium and nitrate content after 30 and 60 days of spinach planting in different soils

شماره خاک Soil number	شاهد Control	اوره Urea	سولفات نترات آمونیوم Ammonium sulphate nitrate	سولفات نترات آمونیوم + DMPP Ammonium sulphate nitrate +DMPP	میانگین Mean
مقدار آمونیوم خاک در فاصله ۳۰ روز پس از کشت (میلی‌گرم بر کیلوگرم) Ammonium content in soil after 30 days of planting (mg kg ⁻¹)					
1	2.00 ⁱ	19.39 ^f	12.28 ^g	34.58 ^c	17.06 ^C
2	6.91 ^h	26.83 ^e	21.60 ^f	44.32 ^b	24.91 ^B
3	9.77 ^g	30.98 ^d	28.59 ^{de}	53.99 ^a	30.83 ^A
(Mean) میانگین	6.23 ^D	25.73 ^B	20.82 ^C	44.29 ^A	
مقدار آمونیوم خاک در فاصله ۶۰ روز پس از کشت (میلی‌گرم بر کیلوگرم) Ammonium content in soil after 60 days of planting (mg kg ⁻¹)					
1	0.67 ⁱ	24.51 ^f	15.85 ^g	50.45 ^c	22.87 ^C
2	2.73 ^{hi}	29.46 ^e	24.84 ^f	65.89 ^b	30.73 ^B
3	4.78 ^h	33.86 ^d	31.41 ^e	70.36 ^a	35.10 ^A
(Mean) میانگین	2.72 ^D	29.28 ^B	24.03 ^C	62.23 ^A	
مقدار نترات خاک در فاصله ۳۰ روز پس از کشت (میلی‌گرم بر کیلوگرم) Nitrate content in soil after 30 days of planting (mg kg ⁻¹)					
1	0.76 ⁱ	7.83 ^g	15.80 ^f	6.87 ^g	7.82 ^C
2	1.53 ⁱ	17.27 ^e	28.03 ^b	14.51 ^f	15.34 ^B
3	3.30 ^h	22.86 ^c	31.80 ^a	19.89 ^d	19.47 ^A
(Mean) میانگین	1.86 ^D	15.99 ^B	25.21 ^A	13.76 ^C	
مقدار نترات خاک در فاصله ۶۰ روز پس از کشت (میلی‌گرم بر کیلوگرم) Nitrate content in soil after 60 days of planting (mg kg ⁻¹)					
1	0.05 ^g	9.72 ^f	18.75 ^{ed}	8.91 ^f	9.35 ^C
2	0.13 ^g	19.75 ^d	29.24 ^b	17.40 ^e	16.63 ^B
3	0.30 ^g	24.92 ^c	33.26 ^a	24.32 ^c	20.70 ^A
(Mean) میانگین	0.16 ^D	18.13 ^B	27.08 ^A	16.87 ^C	

میانگین‌ها در هر ستون و ردیف با حروف مشابه فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد هستند. اثرات اصلی با حروف بزرگ نشان داده شده است (آزمون LSD). Means in each column and row with the same letter (small letters) are not statistically different at $\alpha=0.05$ (LSD Test). The main effects are shown by capital letters.

مشابه اما فاقد بازدارنده و تیمار اوره شد که مقدار این افزایش برای خاک شماره ۱ به ترتیب ۲/۲ و ۱/۱ برابر، برای خاک شماره ۲ به ترتیب ۱/۷ و ۱/۲ برابر و برای خاک شماره ۳ به ترتیب ۱/۲ و ۱/۱

همچنین در نمونه‌برداری ۶۰ روز پس از کشت، در هر سه نوع خاک کاربرد سولفات نترات آمونیوم به همراه بازدارنده نترات‌سازی DMPP منجر به افزایش معنی‌دار غلظت آمونیوم در مقایسه با تیمار

برابر بود (جدول ۲).

بر اساس نتایج حاصله در کلیه خاک‌های مورد مطالعه و در هر دو نوبت نمونه‌برداری غلظت آمونیوم خاک در تیمار سولفات نیترات آمونیوم به همراه بازدارنده نیترات‌سازی DMPP از بقیه تیمارها بیشتر بوده و بعد از آن به ترتیب تیمارهای اوره، سولفات نیترات آمونیوم و شاهد قرار گرفته‌اند (جدول ۲). بازدارنده‌های نیترات‌سازی ترکیباتی هستند که منجر به تأخیر در اکسیداسیون زیستی آمونیوم به نیتريت می‌شوند. این کار بواسطه جلوگیری و یا دخالت در سوخت و ساز باکتری‌های مؤثر در نیتريت‌سازی (از قبیل نیتروزوموناس) و بدون تأثیر بر اکسیداسیون نیتريت به نیترات صورت می‌گیرد. بنابراین کاربرد بازدارنده‌ها منجر به افزایش حضور و ماندگاری آمونیوم در خاک می‌شود (۳۲). پژوهش‌های انجام شده در مورد تأثیر بازدارنده‌های نیترات‌سازی حاکی از اثر مثبت آنها در نگهداشت آمونیوم خاک بوده است (۱۲، ۱۵، ۲۳، ۳۰، ۳۵). از آنجایی که آمونیوم در مقایسه با نیترات در معرض واکنش‌های هدررقتی کمتری قرار دارد، بنابراین نگهداری نیتروژن خاک به شکل آمونیوم از دیدگاه زیست محیطی نیز دارای اهمیت است (۳۵).

همچنین کاربرد اوره منجر به افزایش معنی‌دار غلظت آمونیوم خاک در کلیه خاک‌های مورد بررسی و در هر دو نوبت نمونه‌برداری ۳۰ و ۶۰ روز پس از کشت در مقایسه با سولفات نیترات آمونیوم (به استثنای خاک شماره ۳ در نمونه‌برداری ۳۰ روز پس از کشت) شد. بخشی از دلایل این مسئله را می‌توان به پایه آمونیاکی بودن اوره نسبت داد (۱۸). از طرف دیگر بخشی از نیتروژن موجود در کود سولفات نیترات آمونیوم به شکل نیترات بوده که این مسئله نیز در کاهش غلظت آمونیوم خاک در تیمار سولفات نیترات آمونیوم در مقایسه با اوره دخیل است.

نتایج مقایسه میانگین برهمکنش منبع نیتروژن و نوع خاک نشان داد نوع کود نیتروژنه مصرفی تأثیر معنی‌داری بر غلظت نیترات خاک در فواصل زمانی ۳۰ و ۶۰ روز پس از کشت داشت (جدول ۲). به طوری که در هر دو نمونه‌برداری ۳۰ و ۶۰ روز پس از کشت، در هر سه خاک مورد مطالعه بالاترین غلظت نیترات با کاربرد سولفات نیترات آمونیوم مشاهده شد. در حالی که کمترین غلظت نیترات در تیمارهای شاهد هر سه خاک مورد آزمایش دیده شد. در نمونه‌برداری ۶۰ روز پس از کشت، در خاک شماره ۲ کاربرد سولفات نیترات آمونیوم به همراه بازدارنده نیترات‌سازی DMPP منجر به کاهش معنی‌دار غلظت نیترات خاک در مقایسه با کاربرد سولفات نیترات آمونیوم و کاربرد کود اوره شد که مقدار این کاهش به ترتیب برابر ۴۰ و ۱۲ درصد بود. در نمونه‌برداری ۶۰ روز پس از کشت، در دو خاک دیگر یعنی خاک‌های شماره ۱ و ۳ کاربرد سولفات نیترات آمونیوم به همراه بازدارنده نیترات‌سازی DMPP منجر به کاهش معنی‌دار غلظت نیترات خاک در مقایسه با تیمار مشابه ولی فاقد بازدارنده شد که مقدار این کاهش در خاک شماره ۱ برابر ۵۲ درصد و در خاک شماره ۳ برابر ۲۷ درصد بود. با این وجود در خاک‌های شماره ۱ و ۳ تفاوت

معنی‌داری از نظر غلظت نیترات بین کود اوره و سولفات نیترات آمونیوم به همراه بازدارنده مشاهده نشد. با توجه به تأثیر بازدارنده‌های نیترات‌سازی بر تعویق اکسیداسیون آمونیوم انتظار بر این است که استفاده از این گونه مواد بتواند منجر به کاهش غلظت نیترات در خاک شود (۲۲). به طوری که این امر در تحقیقات سرنا و همکاران (۲۹) و لی و همکاران (۱۷) در مرکبات، کاراسکو و ویلار (۳) در گندم و ذرت، دیز لویز و همکاران در ذرت (۷)، لی و همکاران (۱۶) در کلزا، فانگریو و همکاران (۱۰) در چاودار، احسان‌پور و همکاران (۹) در گندم و هاتانو و همکاران (۱۲) در سویا گزارش شده است. ریباراو و همکاران (۲۴) گزارش کردند کاربرد کود نیتروژنه انسین^۱ به همراه بازدارنده نیترات‌سازی (دی سیانو دی آمید و ۱،۲ و ۴ تریازول) به طور قابل ملاحظه‌ای میزان نیترات/نیتروژن معدنی را به میزان ۳۲ درصد در عمق ۰ تا ۳۰ سانتی‌متری و ۳۶ درصد در عمق ۳۰ تا ۶۰ سانتی‌متری خاک بعد از کشت جو پاییزه کاهش داده است. کاهش معنی‌دار غلظت نیترات خاک در نتیجه کاربرد بازدارنده نیترات‌سازی DMPP از لحاظ زیست محیطی دارای اهمیت زیادی است. آبشویی نیترات از مزارع کشاورزی باعث آلودگی آب‌های زیرزمینی به یون نیترات شده و استفاده از آنها را برای مصارف شرب شهری با مشکل مواجه می‌کند. از طرف دیگر راهیابی نیترات به آب‌های سطحی نیز منجر به ایجاد پدیده آب‌تاهی^۲ و بدنبال آن ایجاد محدودیت در زندگی آبزیان و همچنین کاهش کیفیت آب‌های سطحی می‌گردد. همچنین فرآیند نیترات‌زدایی با رهاسازی گاز اکسید نیترو به اتمسفر باعث تخریب لایه ازن و گرمایش کره زمین می‌شود (۳۲).

افزایش معنی‌دار غلظت نیترات خاک با کاربرد سولفات نیترات آمونیوم در مقایسه با اوره در کلیه خاک‌های مورد بررسی و در هر دو نوبت نمونه‌برداری ۳۰ و ۶۰ روز پس از کشت (جدول ۲) را می‌توان به واکنش اوره در خاک نسبت داد. اوره پس از مصرف در اثر فعالیت آنزیم اوره‌آز هیدرولیز شده و تولید کربنات آمونیوم می‌کند. کربنات آمونیوم نیز ناپایدار بوده و به آمونیوم تفکیک می‌شود. آمونیوم حاصله نیز در اثر فعالیت باکتری‌های نیتروباکتريا به نیترات تبدیل می‌شود (۱۸). این در حالی است که کود سولفات نیترات آمونیوم به طور مستقیم به خاک نیترات اضافه کرده و از طرف دیگر آمونیوم آن نیز در مقایسه با اوره سریعتر در خاک آزاد و توسط باکتری‌های نیتروباکتريا اکسیده می‌شود. این امر احتمالاً باعث شده است که غلظت نیترات خاک در کود سولفات نیترات آمونیوم در مقایسه با اوره بیشتر باشد.

وزن تر اسفناج

بر اساس نتایج تجزیه واریانس، تأثیر نوع کود نیتروژن، نوع خاک،

1- ENSIN

2- Eutrophication

مربوط به کاربرد سولفات نیترات آمونیوم در واریته گیانت سانتوس در خاک شماره ۳ (رس سیلتی) به مقدار ۲۲۹ گرم بر گلدان بود. در حالی که تیمار شاهد در خاک شماره ۱ (شن لومی) با واریته گیانت سانتوس منجر به کمترین وزن تر به مقدار ۱۶/۲ گرم بر گلدان شد. کاهش معنی‌دار وزن تر اسفناج در خاک‌های شماره ۱ (شن لوم) و ۲ (لوم) در اثر کاربرد بازدارنده نیترات‌سازی DMPP می‌تواند به دلیل اثرات منفی سطوح بالای آمونیوم بر رشد گیاه در نتیجه عدم تبدیل آمونیوم به نیترات باشد. نتایج جدول ۲ نیز حاکی از آنست که کاربرد بازدارنده نیترات‌سازی DMPP منجر به افزایش معنی‌دار آمونیوم خاک در مقایسه با دیگر منابع نیتروژن در هر دو زمان نمونه‌برداری ۳۰ و ۶۰ روز پس از کشت شده است. زمانی که جذب آمونیوم توسط گیاه از میزان آسیمیلایون آن تجاوز کند، تجمع آمونیوم آزاد در بافت گیاهی رخ می‌دهد. تجمع آمونیوم آزاد و انتقال آن به برگ‌ها می‌تواند بسیاری از فرایندهای سوخت و ساز از قبیل فتوسنتز را مختل کرده و در نهایت منجر به کاهش عملکرد شود (۱۹). در این زمینه پاسدا و همکاران (۲۲) در آزمایش‌های خود گزارش کردند کاربرد بازدارنده نیترات‌سازی DMPP منجر به کاهش عملکرد اسفناج شد. با این وجود ایریگوین و همکاران (۱۴) در پژوهش‌های خود در مورد تأثیر بازدارنده‌های DCD و DMPP گزارش کردند که کاربرد هر دو بازدارنده هیچ گونه تأثیر منفی بر عملکرد اسفناج نداشت. به طور مشابه هوترفانو و همکاران (۱۳) گزارش کردند کاربرد بازدارنده نیترات سازی DMPP تأثیر معنی‌داری بر عملکرد کاهو نداشت.

نوع واریته، برهمکنش نوع کود نیتروژن و خاک و همچنین برهمکنش نوع کود نیتروژن با واریته بر وزن تر اسفناج در سطح یک درصد آماری معنی‌دار بود. در حالی که برهمکنش نوع کود نیتروژن با خاک و واریته در سطح پنج درصد آماری معنی‌دار شد (جدول ۳). بر این اساس در خاک شماره ۱ (شن لومی) کاربرد کودهای مختلف نیتروژن تأثیر معنی‌داری بر وزن تر در هر دو واریته اسفناج داشت. به طوری که کاربرد سولفات نیترات آمونیوم به همراه بازدارنده نیترات‌سازی DMPP باعث کاهش معنی‌دار وزن تر اسفناج نسبت به دو تیمار اوره و سولفات نیترات آمونیوم در واریته گیانت سانتوس شد. با این وجود تفاوت معنی‌داری بین دو منبع سولفات نیترات آمونیوم و اوره وجود نداشت. اما در واریته وایکینگ کاربرد سولفات نیترات آمونیوم به همراه بازدارنده نیترات‌سازی DMPP باعث کاهش معنی‌دار وزن تر نسبت به تیمار مشابه اما فاقد بازدارنده شد. در خاک شماره ۲ (لوم) کاربرد سولفات نیترات آمونیوم به همراه بازدارنده نیترات‌سازی DMPP در مقایسه با اوره تأثیر معنی‌داری بر وزن تر اسفناج در هر دو واریته نداشت. اما در مقایسه با تیمار مشابه اما فاقد بازدارنده باعث کاهش معنی‌دار وزن تر در هر دو واریته اسفناج شده است. در خاک شماره ۳ (رس سیلتی) در واریته گیانت سانتوس منابع مختلف نیتروژن تأثیر معنی‌داری بر وزن تر اسفناج نداشتند. اما در واریته وایکینگ کاربرد سولفات نیترات آمونیوم به همراه بازدارنده نیترات‌سازی DMPP منجر به افزایش معنی‌دار وزن تر اسفناج در مقایسه با تیمار مشابه اما فاقد بازدارنده به میزان ۲۹ درصد شد، در حالی که تفاوت معنی‌داری با اوره نداشت. بیشترین وزن تر اسفناج

جدول ۳- تأثیر نوع کود نیتروژن بر وزن تر اندام‌هوایی واریته‌های اسفناج (گرم بر گلدان) در خاک‌های مختلف

Table 3- The effects of nitrogen fertilizer types on shoot fresh weight of spinach varieties (g pot⁻¹) in different soils

شماره خاک Soil number	شاهد Control	اوره Urea	سولفات نیترات آمونیوم Ammonium sulphate nitrate	سولفات نیترات آمونیوم + DMPP Ammonium sulphate nitrate + DMPP	میانگین Mean				
واریته اسفناج (Spinach variety)									
	گیانت سانتوس Giant Santos	وایکینگ Viking	گیانت سانتوس Giant Santos	وایکینگ Viking	گیانت سانتوس Giant Santos	وایکینگ Viking			
1	16.2 ^h	18.2 ^h	175.5 ^{cde}	125.9 ^f	178.9 ^{cde}	159.8 ^e	128.9 ^f	127.3 ^f	116.3 ^C
2	24.5 ^h	23.4 ^h	219.2 ^{ab}	183.9 ^{cd}	225.7 ^a	196.2 ^{bc}	196.3 ^{bc}	165.6 ^{de}	154.4 ^B
3	50.0 ^g	59.1 ^g	216.1 ^{ab}	221.2 ^a	229.3 ^a	175.1 ^{cde}	220.2 ^a	226.1 ^a	174.6 ^A
(Mean)	31.9 ^C		190.3 ^A		194.2 ^A		177.4 ^B		

میانگین‌ها در هر ستون و ردیف با حروف مشابه فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد هستند. اثرات اصلی با حروف بزرگ نشان داده شده است (آزمون LSD).

Means in each column and row with the same letter (small letters) are not statistically different at $\alpha=0.05$ (LSD Test). The main effects are shown by capital letters.

داد (۱۱). بررسی‌های انجام شده نشان می‌دهد کاربرد آمونیوم در مقایسه با نیترات، نیازمند انرژی کمتری برای جذب و ساخت بوده است و از طرف دیگر با اسیدی کردن محیط ریشه جذب نیترات را از طریق انتقال هم‌زمان پروتون/نیترات تسهیل می‌کند که این امر در

افزایش معنی‌دار وزن تر اسفناج در واریته وایکینگ در اثر کاربرد سولفات نیترات آمونیوم به همراه بازدارنده نیترات‌سازی DMPP در خاک شماره ۳ (رس سیلتی) در مقایسه با تیمار مشابه اما فاقد بازدارنده را می‌توان احتمالاً به تغذیه آمونیومی ریشه (جدول ۲) نسبت

بود. همچنین تفاوت معنی‌داری بین دو کود اوره و سولفات نیترات آمونیوم از نظر غلظت نیترات اندام‌هوایی در خاک‌های شماره ۱ و ۲ وجود داشت. به طوری که کاربرد اوره به طور معنی‌داری باعث افزایش غلظت نیترات اندام‌هوایی در مقایسه با سولفات نیترات آمونیوم شد. مقدار افزایش غلظت نیترات اندام‌هوایی اسفناج با کاربرد اوره نسبت به سولفات نیترات آمونیوم در خاک‌های شماره ۱ و ۲ به ترتیب برابر ۸/۵ و ۱۲/۸ درصد بود. در این میان تفاوت معنی‌داری بین دو کود اوره و سولفات نیترات آمونیوم از نظر غلظت نیترات اندام‌هوایی در خاک شماره ۳ وجود نداشت (جدول ۴).

کاهش معنی‌دار غلظت نیترات اندام‌هوایی اسفناج در تمامی خاک‌های مورد مطالعه (جدول ۴) در نتیجه کاربرد بازدارنده نیترات‌سازی DMPP را می‌توان به تغذیه آمونیومی ریشه نسبت داد. در نتیجه کاربرد بازدارنده نیترات‌سازی DMPP روند اکسایش آمونیوم به نیترات در خاک کند شده و بخشی از نیتروژن عرضه شده به ریشه به صورت آمونیوم می‌باشد (۳۵). بر اساس نتایج حاصله کاربرد سولفات نیترات آمونیوم به همراه بازدارنده نیترات‌سازی DMPP منجر به افزایش معنی‌دار غلظت آمونیوم خاک و بالعکس کاهش نیترات خاک (جدول ۲) در هر دو نوبت نمونه‌برداری ۳۰ و ۶۰ روز پس از کشت شد که این امر باعث کاهش غلظت نیترات در اندام‌هوایی اسفناج شد. وجود همبستگی منفی و معنی‌دار ($P < 0.05$) بین غلظت نیترات اندام‌هوایی با نسبت غلظت آمونیوم به نیترات خاک در فواصل ۳۰ ($r = -0.69$) و ۶۰ ($r = -0.49$) روز پس از کشت به خوبی نقش تغذیه آمونیومی در کاهش غلظت نیترات در اسفناج را نشان می‌دهد. همبستگی منفی بین مقدار آمونیوم خاک و تجمع نیترات در کاهو در زمان‌های مختلف نمونه‌برداری در طول فصل رشد در تحقیقات مونتوررو و همکاران (۲۰) نیز گزارش شده که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد.

نهایت منجر به افزایش عملکرد گیاه می‌شود (۱۹). با این وجود برخی از محققان بر این باورند که افزایش عملکرد در نتیجه کاربرد بازدارنده‌های نیترات‌سازی، بیشتر به دلیل نگهداشت نیتروژن در درون سامانه خاک است تا به دلیل تغذیه آمونیومی ریشه (۲۲). در همین زمینه هاتانو و همکاران (۱۲) گزارش کردند مصرف عمقی کود اوره به همراه بازدارنده نیترات‌سازی DMPP بر رشد و عملکرد سویا در مقایسه با اوره پوشش‌دار موثرتر بوده است. لی و همکاران (۱۷) گزارش کردند کاربرد بازدارنده‌های نیترات‌سازی (نیتراپیرین، دی سیانو دی آمید و ۳ و ۴ دی متیل پیرازول فسفات) در مقایسه با شاهد تجمع ماده خشک را در نهال‌های مرکبات به میزان ۱ تا ۳/۸ درصد افزایش داده است.

غلظت نیترات اندام‌هوایی

بر اساس نتایج تجزیه واریانس تأثیر نوع کود نیتروژن و خاک در سطح یک درصد آماری و برهمکنش آنها در سطح پنج درصد آماری بر غلظت نیترات اندام‌هوایی اسفناج معنی‌دار شد. نتایج مقایسه میانگین برهمکنش نوع کود نیتروژن و نوع خاک نشان داد کودهای مختلف نیتروژن تأثیر معنی‌داری بر غلظت نیترات اندام‌هوایی در سه خاک مورد مطالعه داشتند. به طوری که کاربرد سولفات نیترات آمونیوم به همراه بازدارنده نیترات‌سازی DMPP به طور معنی‌داری باعث کاهش غلظت نیترات اندام‌هوایی اسفناج در مقایسه با دو کود اوره و سولفات نیترات آمونیوم در هر سه نوع خاک شد (جدول ۴). مقدار کاهش غلظت نیترات با کاربرد سولفات نیترات آمونیوم به همراه بازدارنده نیترات‌سازی DMPP نسبت به سولفات نیترات آمونیوم و اوره در خاک شماره ۱ (شن لومی) به ترتیب برابر ۲۵/۷ و ۳۱/۵ درصد، در خاک شماره ۲ (لوم) به ترتیب برابر ۲۹/۱ و ۳۷/۱ درصد و در خاک شماره ۳ (رس سیلتی) به ترتیب برابر ۳۳/۹ و ۳۴/۰ درصد

جدول ۴- تأثیر نوع کود نیتروژن بر غلظت نیترات اندام‌هوایی اسفناج (میلی گرم بر کیلوگرم وزن تر) در خاک‌های مختلف

Table 4- The effects of nitrogen fertilizer types on shoot nitrate concentration of spinach (mg kg^{-1} fresh weight) in different soils

شماره خاک Soil number	شاهد Control	اوره Urea	سولفات نیترات آمونیوم Ammonium sulphate nitrate	سولفات نیترات آمونیوم + DMPP Ammonium sulphate nitrate + DMPP	میانگین Mean
1	1763 ^t	3335 ^{bc}	3073 ^d	2284 ^e	2614 ^B
2	1678 ^f	3538 ^a	3138 ^{cd}	2227 ^e	2645 ^B
3	1870 ^f	3516 ^{ab}	3513 ^{ab}	2320 ^e	2805 ^A
(Mean)	1770 ^D	3463 ^A	3241 ^B	2277 ^C	

میانگین‌ها در هر ستون و ردیف با حروف مشابه فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد هستند. اثرات اصلی با حروف بزرگ نشان داده شده است (آزمون LSD).

Means in each column and row with the same letter (small letters) are not statistically different at $\alpha = 0.05$ (LSD Test). The main effects are shown by capital letters.

تغذیه نیتراتی در افزایش تجمع نیترات در اسفناج است. تحقیقات انجام شده نشان می‌دهند تغذیه با آمونیوم می‌تواند منجر به کاهش تجمع نیترات در گیاه شود. به طوری که تغذیه

از طرف دیگر وجود همبستگی مثبت و معنی‌دار ($P < 0.05$) بین غلظت نیترات اندام‌هوایی اسفناج و غلظت نیترات در خاک در فاصله زمانی ۳۰ ($r = 0.72$) و ۶۰ ($r = 0.72$) روز پس از کشت مبین نقش

کشت (جدول ۲) حاکی از بیشتر بودن غلظت آمونیوم و بالعکس کمتر بودن غلظت نیترات خاک در تیمار اوره نسبت به سولفات نیترات آمونیوم است. در حالی که نتایج غلظت نیترات در اندام هوایی اسفناج با مقادیر آمونیوم و نیترات خاک در این دو تیمار همراهی نمی‌کند. بهرحال رایان و همکاران (۲۵) نیز نشان دادند تجمع نیترات در کاهو با کاربرد سولفات آمونیوم به طور معنی‌داری کمتر از اوره بود که با نتایج پژوهش حاضر همسو است.

در مورد غلظت استاندارد نیترات در اسفناج اتحادیه اروپا مقدار ۲۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن تر را به عنوان حد مجاز معرفی کرده است (۸). بر اساس نتایج جدول ۴ تنها کاربرد سولفات نیترات آمونیوم به همراه بازدارنده نیترات‌سازی DMPP منجر به کاهش غلظت نیترات در اسفناج به زیر ۲۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن تر شده و کاربرد هر دو کود اوره و سولفات نیترات آمونیوم منجر به افزایش غلظت نیترات اسفناج از حد استاندارد اتحادیه اروپا شده است. این کاهش از لحاظ تغذیه‌ای دارای اهمیت زیادی بوده و مصرف این نوع اسفناج خطری را برای سلامتی انسان به لحاظ غلظت نیترات ایجاد نمی‌کند.

بر اساس نتایج این پژوهش کاربرد بازدارنده نیترات‌سازی DMPP با تعویق روند اکسایش آمونیوم به نیتريت در افزایش معنی‌دار آمونیوم و بالعکس کاهش معنی‌دار نیترات در خاک‌های مورد مطالعه مؤثر بود. از طرف دیگر اگر چه کاربرد بازدارنده نیترات‌سازی منجر به کاهش عملکرد اسفناج در خاک‌های شماره ۱ و ۲ گردید اما در خاک شماره ۳ باعث افزایش معنی‌دار عملکرد اسفناج شد. این مسئله نشان‌دهنده آنست که تأثیر بازدارنده‌های نیترات‌سازی بسته به خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک متفاوت است. کاهش معنی‌دار تجمع نیترات اسفناج در هر سه خاک مورد مطالعه با کاربرد کود سولفات نیترات آمونیوم به همراه بازدارنده نیترات‌سازی DMPP مقایسه با عدم کاربرد بازدارنده از دیگر نکات مثبت این پژوهش بود. بنابراین در تمامی خاک‌های مورد پژوهش به منظور کاهش تجمع نیترات اسفناج در هر دو رقم گیانت ساتتوس و وایکینگ استفاده از سولفات نیترات آمونیوم به همراه بازدارنده نیترات‌سازی DMPP توصیه می‌شود.

آمونیومی منجر به کاهش تجمع نیترات در برگ‌های کاهو (۲۰، ۲۶) شد. رایان و همکاران (۲۵) نیز اعلام کردند سولفات آمونیوم در مقایسه با نیترات کلسیم باعث کاهش معنی‌دار غلظت نیترات در کاهو شد. بر اساس پژوهش‌های انجام شده کاربرد بازدارنده‌های نیترات‌سازی با تعویق روند اکسایش آمونیوم به نیترات در کاهش تجمع نیترات در سبزی‌ها مؤثر بوده است. در همین زمینه ریچاردسون و هاردگراو (۲۶) و موتتمورو و همکاران (۲۰) گزارش دادند کاربرد بازدارنده نیترات‌سازی DCD منجر به کاهش تجمع نیترات در کاهو شد. پاسدا و همکاران (۲۲) با کاربرد بازدارنده نیترات‌سازی DMPP، کاهش غلظت نیترات در اسفناج را گزارش کردند. زو و همکاران (۳۴) کاهش قابل توجهی در تجمع نیترات سبزی‌های خوراکی به میزان ۱۳/۸ و ۱۹/۱ درصد را در نتیجه مصرف بازدارنده نیترات‌سازی DMPP را گزارش کردند. ایریگوین و همکاران (۱۴) عنوان کردند کاربرد بازدارنده نیترات‌سازی DCD توانست تجمع نیترات را در اسفناج بین ۱۸ تا ۶۱ درصد کاهش دهد. در حالی که این میزان برای بازدارنده نیترات‌سازی DMPP بین ۳۳ تا ۸۴ درصد بود. هوترفانو و همکاران (۱۳) عنوان کردند کاربرد بازدارنده نیترات‌سازی DMPP منجر به کاهش معنی‌دار غلظت نیترات اندام هوایی کاهو در مقایسه با عدم کاربرد این بازدارنده شد.

بر اساس نتایج این پژوهش (جدول ۴) کاهش غلظت نیترات اندام هوایی اسفناج در نتیجه کاربرد سولفات نیترات آمونیوم به همراه بازدارنده نیترات‌سازی DMPP نسبت به تیمار مشابه اما فاقد بازدارنده در خاک شماره ۳ (رس سیلتی) بیشتر از خاک شماره ۲ (لوم) و در خاک شماره ۲ بیشتر از خاک شماره ۱ (شن لومی) بوده است. این امر نشان می‌دهد که کارایی بازدارنده نیترات‌سازی DMPP به ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک‌ها مرتبط است. در همین زمینه ایریگوین و همکاران (۱۵) گزارش کردند تأثیر بازدارنده‌های نیترات‌سازی در خاک‌های شنی در مقایسه با خاک‌های رسی بیشتر است. از نکات قابل توجه دیگر این تحقیق کاهش معنی‌دار غلظت نیترات اندام هوایی (جدول ۴) اسفناج در تیمار سولفات نیترات آمونیوم در مقایسه با اوره در خاک شنی لومی و لومی است. لازم به ذکر است نتایج غلظت آمونیوم و نیترات خاک در فواصل ۳۰ و ۶۰ روز پس از

منابع

- 1- Ali Ehyayi M., and Behbehani-zadeh A.A. 1993. Methods of Soil Analysis. Soil and Water Research Institute Press, Tehran.
- 2- Barth G., Tucher S.V., and Schmidhalter U. 2001. Influence of soil parameters on the effect of 3,4-dimethylpyrazole-phosphate as a nitrification inhibitor. Biology and Fertility of Soils 34: 98–102.
- 3- Carrasco I., and Villar J.M. 2001. Field evaluation of DMPP as a nitrification inhibitor in the area irrigated by the Canal d'Urgell (Northeast Spain). P. 764–765. In W.J. Horst et al (ed.) Plant Nutrition- Food security and sustainability of agro-ecosystems through basic and applied research. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
- 4- Cataldo D.A., Haroon M., Schrader L.E., and Youngs V.L. 1975. Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid. Communications in Soil Science and Plant Analysis 6: 71–80.
- 5- Chen D., Suter H.C., Islam A., Edis R., and Freney J.R. 2008. Prospects of improving efficiency of fertilizer nitrogen in Australian agriculture; a review of enhanced efficiency fertilizers. Australian Journal of Soil Research

- 46: 289–301.
- 6- Di H.J., and Cameron K.C. 2004. Effects of temperature and application rate of a nitrification inhibitor, dicyandiamide (DCD), on nitrification rate and microbial biomass in a grazed pasture system. *Australian Journal of Soil Research* 42: 927–932.
 - 7- Díez-López J.A., Hernaiz-Algarra P., Arauzo-Sánchez M., and Carrasco-Martín I. 2008. Effect of a nitrification inhibitor (DMPP) on nitrate leaching and maize yield during two growing seasons. *Spanish Journal of Agricultural Research* 6: 294–303.
 - 8- EFSA. 2008. Nitrate in vegetables: scientific opinion of the panel on contaminants in the food chain. *European Food Safety Authority Journal* 689: 1–79.
 - 9- Ehsanpour F., Kiani S., and Hosseinpur A. 2012. Effects of nitrification inhibitor 3,4-dimethylpyrazole phosphate (DMPP) and phosphorus (P) on the yield and P use efficiency of wheat. *Iranian Journal of Water and Soil* 26: 1473–1482. (In Persian with English abstract)
 - 10- Fangueiro D., Fernandes A., Coutinho J., Moreira N., and Trindade H. 2009. Influence of two nitrification inhibitors (DCD and DMPP) on annual ryegrass yield and soil mineral N dynamics after incorporation with cattle slurry. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 40: 3387–3398.
 - 11- Guillaumes E., and Villar J.M. 2004. Effects of DMPP on the growth and chemical composition of ryegrass (*Lolium perenne* L.) raised on calcareous soil. *Spanish Journal of Agricultural Research* 2: 588–596.
 - 12- Hatano S., Fujita Y., Nagumo Y., Ohtake N., Sueyoshi K., Takahashi Y., Sato T., Tanabata S., Higuchi K., Saito A., and Ohyama T. 2019. Effect of the nitrification inhibitor 3,4-dimethylpyrazole phosphate on the deep placement of nitrogen fertilizers for soybean cultivation. *International Journal of Agronomy* 1–11.
 - 13- Huérfano X., Menéndez S., Bolaños-Benavides M.M., González-Moro M.B., Estavillo J.M., and González-Murua C. 2016. The nitrification inhibitor 3,4-dimethylpyrazole phosphate decreases leaf nitrate content in lettuce while maintaining yield and N₂O emissions in the Savanna of Bogotá. *Plant and Soil Environment* 62: 533–539.
 - 14- Irigoyen I., Lamsfus C., Aparicio-Tejo P., and Muro J. 2006. The influence of 3,4 dimethylpyrazole phosphate and dicyandiamide on reducing nitrate accumulation in spinach under Mediterranean conditions. *Journal of Agricultural Science* 144: 555–562.
 - 15- Irigoyen I., Muro J., Azpilicueta M., Aparicio-Tejo P.M., and Lamsfus C. 2003. Ammonium oxidation kinetics in the presence of nitrification inhibitors DCD and DMPP at various temperatures. *Australian Journal of Soil Research* 41: 1177–1183.
 - 16- Li H., Liang X., Chen Y., Lian Y., Tian G., and Ni W. 2008. Effect of nitrification inhibitor DMPP on nitrogen leaching, nitrifying organisms, and enzyme activities in a rice-oilseed rape cropping system. *Journal of Environmental Sciences* 20: 149–155.
 - 17- Li W.L., Zhang Z.Z., Li D.P., Guo C.Y., Li Y.J., Yang M., Shi X.J., and Zhang Y.Q. 2018. Effects of three nitrification inhibitors on the nitrogen conversion in purple soil and its effect on the nitrogen uptake of citrus seedlings. *Agricultural Sciences* 9: 655–669.
 - 18- Malakouti M.J., Keshavarz P., and Karimian N. 2008. A Comprehensive Approach towards Identification of Nutrients Deficiencies and Optimal Fertilization for Sustainable Agriculture. Tarbiat Modares University Press, Tehran.
 - 19- Marschner P. 2012. Mineral Nutrition of Higher Plants. Academic Press, London.
 - 20- Montemurro F., Capotorti G., Lacertosa G., and Palazzo D. 1998. Effect of urease and nitrification inhibitors application on urea fate in soil and nitrate accumulation in lettuce. *Journal of Plant Nutrition* 21: 242–245.
 - 21- Mulvaney R.L. 1996. Nitrogen-inorganic forms. p. 1123–1184. In: D.L. Sparks (ed.) *Methods of Soil Analysis*. Part 3. SSSA and ASA, Madison, WI.
 - 22- Pasda G., Hahndel R., and Zerulla W. 2001. Effect of fertilizers with the new nitrification inhibitor DMPP (3,4-dimethylpyrazole phosphate) on yield and quality of agricultural and horticultural crops. *Biology and Fertility of Soils* 34: 85–97.
 - 23- Quiñones A., Martínez-Alcántara B., Chi-Bacab U., and Legaz F. 2009. Improvement of the N fertilization by using the nitrification inhibitor (DMPP) in drip-irrigated citrus trees. *Spanish Journal of Agricultural Research* 7: 190–199.
 - 24- Rybarova Z., Slamka P., Lozek O., and Kovacik P. 2018. Effectiveness of the application of nitrification inhibitors on the content of available nitrogen forms in the soil after winter barley cultivation. *Agriculture*, 64:95–105.
 - 25- Rayyan A.A., Kharawish B.H., and Al-Ismael K. 2004. Nitrate content in lettuce (*Lactuca sativa* L.) heads in relation to plant spacing, nitrogen from and irrigation level. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 84: 931–936.
 - 26- Richadsons J., and Hardgrave M. 1992. Effect of temperature, carbon dioxide enrichment, nitrogen fertilizer on the yield and nitrate content of two varieties of glasshouse lettuce. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 59: 345–349.
 - 27- Risch H.A., Jain M., Choi N.W., Fodor J.G., Pfeiffer C.J., Howe G.R., Harrison L.W., Craib K.J.P., and Miller A.B. 1985. Dietary factors and the incidence of cancer of the stomach. *American Journal of Epidemiology* 122: 947–949.
 - 28- Santamaria P. 2006. Review – nitrate in vegetables: toxicity content, intake and EC regulation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86:10–17.

- 29- Serna M., Balnus J., and Quinones A. 2000. Evaluation of 3,4-dimethylpyrazole phosphate as a nitrification inhibitor in citrus-cultivated soil. *Biology and Fertility of Soils* 32: 41–46.
- 30- Serna M.D., Legaz F., and Primo-Millo E. 1996. Improvement of the N fertilizer efficiency with dicyandiamide (DCD) in citrus trees. *Fertilizer Research* 43: 137–142.
- 31- Singh S.N., and Verma A. 2007. The potential of nitrification inhibitors to manage the pollution effect of nitrogen fertilizers in agricultural and other soils: a review. *Environmental Practice* 9: 266–279.
- 32- Weiske A., Benckiser G., and Ottow J.C.G. 2001. Effect of the new nitrification inhibitor DMPP in comparison to DCD on nitrous oxide (N₂O) emissions and methane (CH₄) oxidation during 3 years of repeated applications in field experiments. *Nutrient Cycling in Agroecosystems* 60: 57–64.
- 33- Weitzberg E., and Lundberg J.O. 2013. Novel aspects of dietary nitrate and human health. *Annual Review of Nutrition* 33: 129–159.
- 34- Xu C., Wu L.H., Ju X.T., and Zhang F.S. 2005. Role of nitrification inhibitor DMPP (3, 4-dimethylpyrazole phosphate) in nitrate accumulation in greengrocery (*Brassica campestris* L. ssp. *Chinensis*) and vegetable soil. *Journal of Environmental Sciences* 17: 81–83.
- 35- Zerulla W., Barth T., Dressel J., Von Locquenghien K.E.K.H., Pasda G., Radle M., and Wissemeyer A.H. 2001. 3,4-Dimethylpyrazole phosphate (DMPP) –a new nitrification inhibitor for agriculture and horticulture. *Biology and Fertility of Soils* 34: 79–84.



Effect of Nitrification Inhibitor 3,4-Dimethylpyrazole Phosphate (DMPP) on the Yield and Nitrate Accumulation of Spinach in Different Soils

M. Gheitasi¹ - Sh. Kiani^{2*} - A.R. Hosseinpour³

Received: 29-04-2019

Accepted: 30-09-2019

Introduction: Leafy vegetables such as spinach (*Spinaciaoleracea* L.) contain high levels of nitrate. Using nitrification inhibitors (NIs) such as 3,4-dimethylpyrazole phosphate (DMPP) is one of the strategies for reducing nitrate accumulation. Nitrification inhibitors are compounds that delay the biological oxidation of ammonium to nitrite by depressing the activity of *Nitrosomonas* bacteria in soil. Soil properties such as texture, pH, organic matter, moisture, temperature and mineral nitrogen have important effects on the efficiency of NIs to delay nitrification. A pot experiment was conducted to investigate the effects of NI 3,4-dimethylpyrazole phosphate (DMPP) on soil mineral nitrogen (ammonium and nitrate) content, yield and nitrate concentration of spinach.

Materials and Methods: A completely randomized factorial design was carried out employing three factors consisted of nitrogen fertilizer type, soil type and spinach variety with three replications at Shahrekord University. Nitrogen fertilizers included urea, ammonium sulfate nitrate (ASN) and ASN plus DMPP (0.8 %). A no N fertilizer application was considered as control treatment. The soil factor contained 3 different soils with different physical and chemical characteristics. Two spinach varieties were smooth-leaf (Giant Santos) and wrinkled-leaf (Viking). The dose of applied nitrogen in all experimental treatments was 150 mg kg⁻¹ soil that was applied in two split doses before sowing and after one month. The textures of three selected soils were loamy sand, loam and silty clay for the soils number 1, 2 and 3, respectively. Three selected soils were non-saline (EC_{1:2}=0.14-0.31 dS m⁻¹) and alkaline (pH_{1:2}=7.9-8.0). Organic carbon and calcium carbonate equivalent (CCE) ranged from 0.26% to 0.35% and 28.5% to 36.2%, respectively. At 30 and 60 days after sowing, soil subsamples were taken to determine ammonium and nitrate content. The ammonium and nitrate concentrations (extracted with 0.5 M K₂SO₄) were determined calorimetrically using a spectrophotometer at a wavelength of 667 and 410 nm, respectively. At the end of the experiment, shoot fresh weight was determined and plants was mixed and dried to measure nitrate accumulation.

Results and Discussion: The results indicated that the application of ASN with DMPP led to significant increase of ammonium compared with ASN and urea fertilizers in three soils. At 30 days after sowing, the amount of this increase for ASN plus DMPP in comparison of ASN and urea were 182% and 78% for the soil number 1 (loamy sand), 105% and 65% for the soil number 2 (loam) and 89% and 74% for the soil number 3 (silty clay), respectively. By contrast, the application of ASN with DMPP led to significant decrease of soil nitrate in comparison of ASN and urea fertilizers in three soils. At 60 days after sowing, the amount of this decrease for ASN plus DMPP in comparison of ASN was 52%, 40% and 27% for the soils number of 1, 2 and 3, respectively. It means that the application of DMPP has slowed down the process of ammonium oxidation to nitrite. In fact, the addition of DMPP retained soil nitrogen as ammonium form for longer time. The application of NI DMPP also had positive effect on decrease of nitrate concentration in the soil. Unlike nitrate, ammonium is less susceptible to leaching and thus the application of DMPP can reduces nitrogen loss from the soil. However, the application of ASN with nitrification inhibitor DMPP in soils No. 2 (loamy sand) and No. 3 (loamy) significantly reduced shoot fresh weight of both spinach varieties compared with the similar treatment but without NI. This decrease was due to the toxic effects of high level of soil ammonium on the plant growth. While, in the soil No. 3 (silty clay) in Viking variety, the use of ASN plus DMPP resulted in significant increase of spinach shoot fresh weight to 29% in comparison with the same treatment but without NI. The highest and lowest values of shoot fresh weight (229 and 16.2 g pot⁻¹, respectively) were obtained by Giant Santos variety in soil No. 3 (silty clay) with ASN plus DMPP and soil No. 1 (sandy loam) with no added N fertilizer. The application of ASN with nitrification inhibitor DMPP induced significant decrease of shoot nitrate concentration in spinach in comparison of ASN and urea. The amounts of this decrease for ASN plus DMPP in comparison with ASN and urea were 25.7% and 31.5% for the soil number 1 (loamy sand), 29.1% and 37.1% for the soil number 2 (loam) and 33.9% and 34.0% for the soil number 3 (silty clay), respectively. This decrease was due to ammonium nutrition of spinach plants.

1, 2 and 3- Former M.Sc. Student, Associate Professor and Professor of Soil Science and Engineering, College of Agriculture, ShahreKord University, respectively.

(* - Corresponding Author Email: shkiani2002@yahoo.com)

Conclusion: In all studied soils, application of ASN with nitrification inhibitor DMPP is recommended for diminishing nitrate content in both spinach varieties (Giant Santos and Viking).

Keywords: Ammonium, Ammonium sulfate nitrate, Nitrification inhibitor, Urea