تنش‌های محیطی در علوم زراعی
Environmental Stresses in Crop Sciences
جلد چهاردهم، شماره سوم، پائیز ۱۴۰۰
۵۹۵-۶۰۳
http://dx.doi.org/10.22077/escs.2020.2991.1773

مقاله پژوهشی

اندازه‌گیری غیرتخریبی غلظت پروتئین و آمینواسیدهای دانه ذرت و ارتباط آن با عملکرد دانه تحت تأثیر تیمارهای مختلف آبیاری، تاریخ کاشت، رقم و نیتروژن

مریم رحیمی جهانگیرلو[1]، غلامعباس اکبری[1*]، ایرج اله‌دادی[1]، سعید صوفی‌زاده[2]
۱. گروه علوم زراعی و اصلاح نباتات، پردیس ابوریحان، دانشگاه تهران، پاکدشت
۲. گروه کشاورزی بوم‌شناختی، پژوهشکده علوم محیطی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران

تاریخ دریافت: ۹۸/۰۹/۱۸؛ تاریخ پذیرش: ۹۸/۱۱/۱۹

چکیده

به‌منظور بررسی تأثیر برخی عوامل زراعی بر پروتئین، مجموع آمینواسیدهای ضروری (EAA) و غیرضروری (NAA) و ارتباط آن با عملکرد دانه ذرت، آزمایشی به‌صورت اسپلیت-اسپلیت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در مزرعه تحقیقاتی پردیس ابوریحان دانشگاه تهران انجام شد. فواصل آبیاری و تاریخ کاشت به ترتیب به‌عنوان فاکتور اصلی و فرعی و ارقام ذرت و میزان کود نیتروژن به‌عنوان تیمارهای فاکتوریل در نظر گرفته شدند. درصد پروتئین و آمینواسیدها به روش مادون‌قرمز (NIR) تعیین شد. نتایج نشان داد اثر متقابل آبیاری و نیتروژن بر میزان پروتئین معنی‌دار بود ($P \leq 0.05$) به‌طوری‌که در شرایط آبیاری بیشتر، کاربرد نیتروژن نسبت به تیمار بدون کود موجب افزایش پروتئین به میزان ۰/۷۸ درصد شد. اثر آبیاری بر کلیه آمینواسیدها جز والین، لایزین و تریپتوفان معنی‌دار بود و افزایش آبیاری موجب کاهش آن‌ها گردید. اثر نیتروژن بر کلیه آمینواسیدها جز Lys معنی‌دار بود به‌طوری‌که کاربرد کود موجب افزایش آن‌ها شد. اثر تاریخ کاشت و رقم بر برخی از آمینواسیدها معنی‌دار بود و میزان آن‌ها در تاریخ کاشت دیرهنگام و رقم ۲۶۰ بالاتر بود. آبیاری بیشتر و کاربرد نیتروژن موجب کاهش نسبت EAA به NAA به ترتیب به میزان ۰/۲۰ و ۰/۰۹ درصد شد ($P \leq 0.05$). عملکرد دانه همبستگی مثبت معنی‌داری با پروتئین، مجموع آمینواسیدها و NAA داشت (به ترتیب ۰/۳۷، ۰/۳۵ و ۰/۴۰). رابطه مستقیم و معنی‌داری میان پروتئین با EAA و NAA مشاهده شد و بالاترین رابطه پروتئین با NAA مشاهده شد ($a=0.15,\ R^2 = 0.32\%,\ P \leq 0.001$). یافته‌ها پیشنهاد نمود آبیاری بیشتر و کاربرد کود نیتروژن موجب افزایش بیشتر آمینواسیدهای غیرضروری و کاهش نسبت آمینواسیدهای ضروری به غیرضروری شد.

واژه‌های کلیدی: **آمینواسید، پروتئین، ذرت، روش مادون‌قرمز، کیفیت.**

مقدمه

امروزه، بهبود ارزش غذایی گیاهان زراعی از طریق روش‌های ژنتیکی، مدیریتی و زراعی بجای استفاده از مکمل‌های شیمیایی از اهداف اصلی مدیریت زیست‌محیطی و اقتصادی پایدار و همچنین غنی‌سازی زیستی[1] یا زیست‌غنی‌سازی[2] زیستی محصولات کشاورزی است (Govindaraj et al., 2019). ذرت (*Zea mays* L.) یکی از اجزای مهم تغذیه انسان، دام و طیور به شمار می‌رود (Zhou et al., 2019; Shiri, 2017; Dei et al., 2017) و کیفیت دانه آن موردتوجه روزافزون بازار جهانی قرار دارد (Butts-Wilmsmeyer et al., 2019). در دانه ذرت، پروتئین به‌عنوان یکی از مهم‌ترین پارامترهای کیفی به شمار می‌رود. این ماده به‌عنوان یک ترکیب با ارزش غذایی بالا و شرکت-کننده در فرآیندهای حیاتی بدن ازنظر میزان و تعادل

[1] Bio-fortification

[2] Biological Fortification

* نگارنده پاسخگو: غلامعباس اکبری. پست الکترونیک: ghakbari@ut.ac.ir

آمینواسیدها[1]ی ضروری (EAA[2]) و غیرضروری (NAA[3]) دارای اهمیت است (Stephane et al., 2014). میزان و نسبت EAA و NAA در پروتئین خام دانه ذرت بر میزان دفع نیتروژن از بدن موجودات مؤثر است (Lenis et al., 1999). رژیم‌های غذایی با EAA به‌عنوان تنها منبع نیتروژن، در مقایسه با رژیم‌های غذایی با نسبت بهینه EAA به NAA در بدن جاندار کارایی و ارزش تغذیه‌ای کمتری دارند (Stucki and Harper, 1961; Allen and Baker, 1974)، اگرچه میزان پروتئین و آمینواسیدها به مقدار زیادی تحت تأثیر ژنتیک قرار دارد اما عوامل خارجی به‌طور معنی‌داری می‌توانند بر آن تأثیرگذار باشد (Losak et al., 2010). در میان عوامل خارجی آبیاری، نیتروژن و دما مهم‌ترین عوامل هستند و بیشترین تغییرات مربوط به کیفیت دانه را به خود اختصاص می‌دهند (Struik, 1983; Stephen et al., 2002; Duarte et al., 2005; Aguirrezabal et al., 2015).

نیاز روزافزون بهبود پارامترهای کیفی همچون پروتئین، نیازمند توسعه ابزارهای سریع و دقیق اندازه‌گیری است. بخصوص این‌که اندازه‌گیری دقیق این ترکیب کیفی با استفاده از روش‌های سنتی و شیمیایی نیازمند صرف زمان و هزینه زیاد و درعین‌حال مصرف مواد شیمیایی خطرناک برای سلامت انسان و محیط‌زیست و همچنین تکنسین‌های آموزش دیده است (Ingle et al., 2016). روش مادون‌قرمز (NIR[4]) یک روش تأییدشده برای اندازه‌گیری میزان و محتوای پروتئین در جهان است که از آن به‌عنوان یک روش غیر تخریبی سریع، کم‌هزینه و سبز (بدون نیاز به مواد و معرف‌های شیمیایی) نام می‌برند (Fan et al., 2016; Ingle et al., 2016; Lin et al., 2014).

هدف تحقیق حاضر اندازه‌گیری غلظت پروتئین و آمینواسیدهای دانه ذرت به روش NIR و بررسی ارتباط آن با عملکرد دانه تحت تأثیر تیمارهای مختلف تاریخ کاشت، آبیاری، رقم و کود نیتروژن است.

مواد و روش‌ها

آزمایش‌های زراعی

آزمایش‌های مزرعه‌ای تحقیق حاضر در مزرعه تحقیقاتی مهندسی کشاورزی پردیس ابوریحان دانشگاه تهران واقع در منطقه پاکدشت‌دشت شمال ورامین (عرض جغرافیایی: ۳۵/۴۷۸۵ درجه شمالی، طول جغرافیایی: ۵۱/۶۸۳۴ درجه شرقی، ارتفاع از سطح دریا: ۱/۰۲ متر) در سال ۱۳۹۷ انجام پذیرفت. آزمایش به‌صورت اسپلیت اسپلیت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی (RCBD) با سه تکرار انجام شد و فواصل آبیاری به‌عنوان عامل اصلی (فواصل ۱۲ روزه و فواصل ۶ روزه به‌عنوان دور آبیاری متداول در منطقه)، تاریخ کاشت به‌عنوان فاکتور فرعی (۳۱ خردادماه به‌عنوان تاریخ کاشت متداول منطقه و ۳۱ تیرماه به‌عنوان تاریخ کاشت تأخیری)، ارقام ذرت (KSC704 به‌عنوان رقم دیررس و متداول مورداستفاده در ایران و KSC260 به‌عنوان رقم زودرس) و میزان کود نیتروژن (بدون کود و ۴۰۰ کیلوگرم در هکتار کود اوره به‌عنوان میزان کود در سطح بهینه با توجه به آزمون خاک) به‌عنوان تیمارهای فاکتوریل، در نظر گرفته شدند. کاربرد کود در دو نوبت (یک‌دوم قبل از کاشت و یک‌دوم در مرحله ۴ تا ۶ برگی ذرت) انجام شد. هر واحد آزمایشی به طول ۶ متر و مشتمل بر ۶ ردیف بود. داده‌برداری‌ها به‌منظور تعیین عملکرد دانه و آزمایش‌های کیفی از ردیف دوم و سوم انجام شد. به‌منظور تعیین عملکرد دانه، ۱۵ بوته از هر واحد آزمایشی پس از رسیدن به مرحله رسیدگی فیزیولوژیک برداشت شد. پس از انتقال بوته‌های برداشت‌شده به آزمایشگاه، بلال‌ها در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد تا رسیدن به وزن ثابت خشک شدند. سپس دانه‌ها جدا شده و بر اساس رطوبت صفر درصد توزین گردیدند. در مرحله بعد، پس از محاسبه ماده خشک، دانه‌ها آسیاب شده و تا شروع آزمایش‌های کیفی در یخچال با دمای ۱±۵ نگهداری شدند.

اندازه‌گیری‌های کیفی

در آزمایشگاه، با استفاده از نمونه‌های آسیاب شده، پروتئین دانه و آمینواسیدهای ضروری (شامل متیونین، ترئونین، والین، ایزولوسین، لوسین، فنیل آلانین، هیستیدین، آرژنین، لایزین و تریپتوفان) و غیرضروری (شامل سیستئین، آسپارژین، سرین، گلوتامین، پرولین، گلایسین و آلانین) با استفاده از دستگاه طیف‌سنج مادون‌قرمز (NIR) (مدل FOSS NIRS

[1] Amino acid balance
[2] Essential Amino Acid
[3] Non-essential Amino Acid
[4] near-infrared

XDS – Denmark) در محدوده طول‌موج ۱۱۰۰-۲۵۰۰ نانومتر با فواصل پنج نانومتر اندازه‌گیری شد.

تجزیه‌وتحلیل داده‌ها

داده‌های جمع‌آوری‌شده با استفاده از آزمون تجزیه واریانس (ANOVA) توسط نرم‌افزار SAS (نسخه ۹) مورد تحلیل قرار گرفتند. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD انجام شد ($p < 0.05$). برای محاسبه روابط همبستگی و رگرسیون صفات موردمطالعه از نرم‌افزار Minitab (نسخه ۱۷) استفاده شد. درنهایت رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel انجام شد.

نتایج و بحث

غلظت پروتئین

اثر آبیاری و کود نیتروژن بر میزان پروتئین دانه معنی‌دار بود (جدول ۱). بعلاوه، اثر متقابل آبیاری و نیتروژن (I ×N) بر میزان این صفت معنی‌دار بود ($P \leq 0.05$) (شکل ۱-a). در تیمار آبیاری بیشتر (I2) در مقایسه با تیمار کم‌آبیاری (I1)، میزان پروتئین، در شرایط کاربرد کود نیتروژن نسبت به تیمار بدون کود به میزان افزایش ۰/۷۸ درصد افزایش یافت درحالی‌که در تیمار کم‌آبیاری تفاوتی ازنظر صفت پروتئین میان تیمارهای با کود و بدون کود مشاهده نگردید.

گرچه میزان پروتئین دانه یکی از صفاتی است که به میزان زیادی تحت تأثیر ژنتیک قرار دارد اما در تحقیقات مختلف ارتباط مثبت و معنی‌داری میان استفاده از کود نیتروژن و پروتئین مشاهده شده است. به نظر می‌رسد کاهش فواصل آبیاری (افزایش آبیاری) همراه با عدم کاربرد کود نیتروژن با تشدید اثر رقیق‌سازی موجب کاهش مقدار پروتئین دانه ذرت در تیمار با آبیاری بدون نیتروژن (I2×N1) شده است.

گزارش شده است که کاهش میزان پروتئین در دانه گندم درنتیجه آبیاری به دلیل اثر رقیق‌سازی اتفاق افتاده است (Pleijel et al., 1999; Taub et al., 2008). اگرچه تنش ملایم آبی در طول پر شدن دانه موجب افزایش میزان پروتئین می‌گردد (Rezaei et al., 2010) کاربرد کود نیتروژن در سطح آبیاری بیشتر بر میزان پروتئین دانه اثر بیشتری دارد (Sepaskhah and Hosseini, 2008). در این زمینه در مطالعه‌ای با بررسی اثر سطوح مختلف آبیاری و کود نیتروژن بر عملکرد و میزان و محتوای پروتئین دانه گندم زمستانه گزارش شده است اعمال رژیم بهینه آبیاری و نیتروژن یک استراتژی مهم در بهبود عملکرد دانه و کیفیت پروتئین در گندم زمستانه است. لازم به ذکر است که بین سطوح مختلف تاریخ کاشت و رقم تفاوتی ازنظر میزان پروتئین دانه مشاهده نشد (Zhang et al., 2017). به‌طورکلی مدیریت آب به دلیل اثرات متقابل با نیتروژن در تعیین کیفیت پروتئین اثرگذار است (Zhang et al., 2017). چراکه جذب نیتروژن در حضور آبیاری افزایش می‌یابد (Geesing et al., 2014) و کارایی مصرف آب تحت کاربرد کود نیتروژن بهبود می‌یابد (Wang et al., 2013).

ترکیب پروتئین (آمینواسیدها)

اثر آبیاری بر کلیه آمینواسیدهای ضروری (EAA) و غیرضروری (NAA) به‌استثنای والین (Val)، لایزین (Lys) و تریپتوفان (TRP) معنی‌دار بود (جدول ۱) به‌طوری‌که در کلیه آمینواسیدها افزایش آبیاری موجب کاهش درصد آمینواسید گردید. با افزایش آبیاری میزان متیونین (Met) ۰/۰۰۲، ترئونین (Thr) ۰/۰۰۴، ایزولوسین (Ile) ۰/۰۰۲، لوسین (Leu) ۰/۰۰۴، فنیل‌آلانین (Phe) ۰/۰۰۷، هیستیدین (His) ۰/۰۰۶، آرژنین (Arg) ۰/۰۰۸، سیستئین (Cys) ۰/۲۴، آسپارژین (Asp) ۰/۰۳۴، سرین (Ser) ۰/۰۸، گلوتامین (Glu) ۰/۱۷۴، پرولین (Pro) ۰/۳۲۸، گلایسین (Gly) ۰/۰۱۴ و آلانین (Ala) ۰/۰۰۳ درصد کاهش نشان دادند. در آزمایشی مشابه تحقیق حاضر در سه سال زراعی، اگرچه آبیاری در سال اول و سوم اثر معناداری را بر میزان آمینواسیدهای ضروری (EAA)، غیرضروری (NAA) و کل (TAA) نداشت اما در سال دوم، افزایش سطوح آبیاری به‌طور معنی‌داری موجب کاهش مجموع آن‌ها گردید (Zhang et al., 2017). اثر نیتروژن بر کلیه آمینواسیدهای ضروری و غیرضروری به‌استثنای Lys معنی‌دار بود به‌طوری‌که کاربرد کود نیتروژن نسبت به شرایط عدم کاربرد کود موجب افزایش آن‌ها شد. مقادیر این افزایش در متیونین (Met) ۰/۰۸، ترئونین (Thr) ۰/۰۴، والین (Val) ۰/۰۱۲، ایزولوسین (Ile) ۰/۰۱۵، فنیل‌آلانین (Phe) ۰/۰۱۲، هیستیدین (His) ۰/۰۵، آرژنین (Arg) ۰/۰۹ و تریپتوفان (Trp) ۰/۰۲، سیستئین (Cys) ۰/۰۱۲، آسپارژین (Asp) ۰/۰۲۴، سرین (Ser) ۰/۰۲۰، گلوتامین (Glu) ۰/۱۴۷،

جدول ۱. اثر سطوح مختلف آبیاری (I)، تاریخ کاشت (PD)، رقم (C) و کود نیتروژن (N) بر میزان پروتئین و آمینواسیدهای دانه ذرت.

Table 1. Effects of irrigation (I), planting date (PD), nitrogen fertilizer (N) and cultivar (C) on protein and amino acid concentration in maize grain.

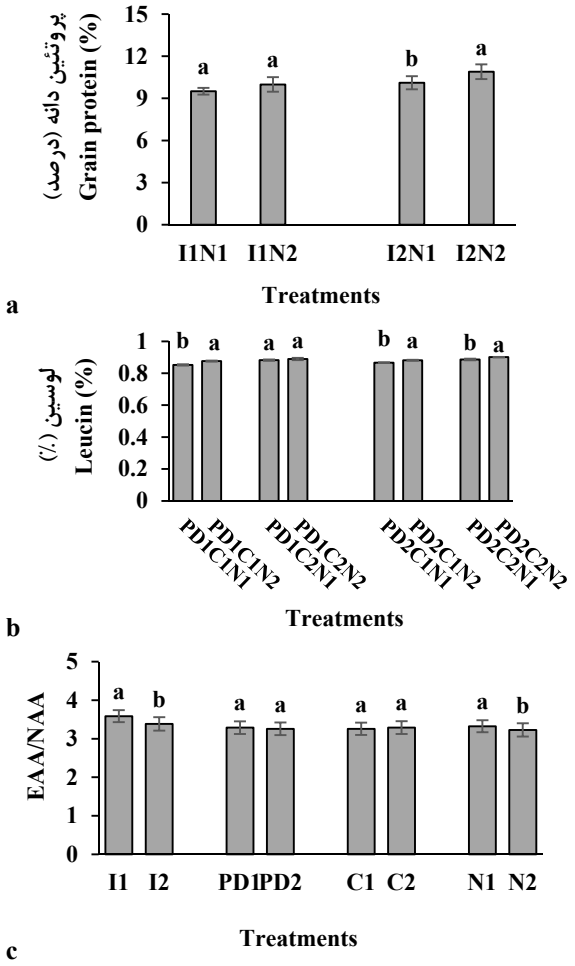
	Essential Amino Acids (EAA) (%)									آمینواسیدهای ضروری (EAA)
تیمار Treatment	متیونین Met	ترئونین Thr	والین Val	ایزولوسین Ile	لوسین Leu	فنیل آلانین Phe	هیستیدین His	آرژنین Arg	لایزین Lys	تریپتوفان Trp
Irrigation (I) آبیاری										
I1	0.161[a]	0.269[a]	0.356[a]	0.258[a]	0.882[a]	0.362[a]	0.228[a]	0.369[a]	0.231a	0.060a
I2	0.159[b]	0.265[b]	0.359[a]	0.256[b]	0.876[b]	0.355[b]	0.222[b]	0.361[b]	0.231[a]	0.060[a]
P-value	*0.0014*	*<0.0001*	*0.1998*	*0.0016*	*0.0013*	*0.0004*	*<0.0001*	*<0.0001*	*0.7006*	*0.3700*
Planting Date (PD) تاریخ کاشت										
PD1	0.159[b]	0.263[b]	0.352[b]	0.251[b]	0.874[b]	0.355[b]	0.224[a]	0.363[b]	0.230[b]	0.0601[b]
PD2	0.160[a]	0.268[a]	0.363[a]	0.262[a]	0.883[a]	0.362[a]	0.226[a]	0.367[a]	0.232[a]	0.0609[a]
P-value	*0.0167*	*0.0001*	*<0.0001*	*<0.0001*	*<0.0001*	*0.0002*	*0.0594*	*0.0022*	*0.0095*	*0.0315*
Cultivar (C) رقم										
C1	0.161[a]	0.265[b]	0.353[b]	0.253[b]	0.868[b]	0.354[b]	0.221[b]	0.358[b]	0.230[a]	0.062[a]
C2	0.163[a]	0.269[a]	0.361[a]	0.260[a]	0.889[a]	0.363[a]	0.229[a]	0.373[a]	0.234[a]	0.061[a]
P-value	*0.1032*	*<0.0001*	*<0.0001*	*<0.0001*	*<0.0001*	*<0.0001*	*<0.0001*	*<0.0001*	*0.1148*	*0.1121*
Nitrogen (N) نیتروژن										
N1	0.156[b]	0.265[b]	0.351[b]	0.248[b]	0.871[b]	0.352[b]	0.223[b]	0.361[b]	0.232[a]	0.059[b]
N2	0.164[a]	0.269[a]	0.363[a]	0.265[a]	0.886[a]	0.364[a]	0.228[a]	0.370[a]	0.230[a]	0.061[a]
P-value	*<0.0001*	*<0.0001*	*<0.0001*	*<0.0001*	*<0.0001*	*<0.0001*	*0.0002*	*<0.0001*	*0.1112*	*<0.0001*

Table 1.Continued **جدول ۱. ادامه**

	پروتئین Protein (٪)	Nonessential Amino Acids (NAA) (٪)						آمینواسیدهای غیرضروری (NAA)
تیمار Treatment		سیستئین Cys	آسپارژین Asp	سرین Ser	گلوتامین Glu	پرولین Pro	گلایسین Gly	آلانین Ala
Irrigation (I) آبیاری								
I1	10.500[a]	0.176[a]	0.552[a]	0.365[a]	1.567[a]	0.687[a]	0.315[a]	0.585[a]
I2	9.749[b]	0.152[b]	0.488[b]	0.347[b]	1.393[b]	0.359[b]	0.301[b]	0.555[b]
P-value	*0.0017*	*<0.0001*	*<0.0001*	*<0.0001*	*<0.0001*	*<0.0001*	*<0.0001*	*<0.0001*
Planting Date (PD) تاریخ کاشت								
PD1	10.145[a]	0.163[a]	0.504[a]	0.355[a]	1.476[a]	0.669[b]	0.302[b]	0.568[a]
PD2	10.104[a]	0.165[a]	0.507[a]	0.357[a]	1.485[a]	0.678[a]	0.314[a]	0.572[a]
P-value	*0.8493*	*0.2977*	*0.4590*	*0.5336*	*0.5290*	*0.0012*	*<0.0001*	*0.2412*
Cultivar (C) رقم								
C1	9.915[b]	0.161[b]	0.502[a]	0.348[b]	1.457[b]	0.667[b]	0.305[b]	0.559[b]
C2	10.335[a]	0.166[a]	0.508[a]	0.364[a]	1.503[a]	0.679[a]	0.312[a]	0.581[a]
P-value	*0.0598*	*0.0057*	*0.1059*	*<0.0001*	*0.0029*	*<0.0001*	*0.0016*	*<0.0001*
Nitrogen (N) نیتروژن								
N1	9.808[b]	0.155[b]	0.467[b]	0.346[b]	1.407[b]	0.666[b]	0.301[b]	0.546[b]
N2	10.441[a]	0.172[a]	0.543[a]	0.366[a]	1.554[a]	0.680[a]	0.315[a]	0.595[a]
P-value	*0.0065*	*<0.0001*	*<0.0001*	*<0.0001*	*<0.0001*	*<0.0001*	*<0.0001*	*<0.0001*

I1: آبیاری با فواصل ۶ روز، I2: آبیاری با فواصل ۱۲ روز؛ PD1: تاریخ کاشت ۳۱ خردادماه، PD2: تاریخ کاشت ۳۱ تیرماه؛ C1: رقم KSC704، C2: رقم KSC260؛ N1: بدون کود نیتروژن و N2: کود نیتروژن در سطح بهینه. میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک در هر ستون مطابق آزمون LSD فاقد تفاوت معنی‌دار در سطح پنج درصد می‌باشند

I1; Irrigation with 12 day intervals, I2; Irrigation with 6 day intervals, PD1; Planting Date June 21, PD2; Planting Date July 22, C1; cultivar KSC704, C2; cultivar KSC260, N1; without N fertilizer, N2; N fertilizer at optimal level. Means sharing the same case letter do not differ significantly at $P < 0.05$ based on LSD test



شکل ۱. اثر متقابل آبیاری و نیتروژن بر میزان پروتئین (a)، اثر متقابل تاریخ کاشت، رقم و نیتروژن بر میزان آمینواسید لوسین (b)، نسبت آمینواسیدهای ضروری (EAA) به غیرضروری (NAA) در سطوح مختلف آبیاری، تاریخ کاشت، رقم و کود نیتروژن (c).

(I1: آبیاری با فواصل ۶ روزه، I2: آبیاری با فواصل ۱۲ روزه؛ PD1: تاریخ کاشت ۳۱ خردادماه، PD2: تاریخ کاشت ۳۱ تیرماه؛ C1: KSC704، C2: KSC260؛ N1: بدون کود نیتروژن و N2: کود نیتروژن در سطح بهینه. میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک در هر ستون مطابق آزمون LSD فاقد تفاوت معنی‌دار در سطح پنج درصد می‌باشند)

Fig. 1. Interaction effect of irrigation and nitrogen on protein concentration (a), interaction effect of planting date, cultivar and nitrogen on amount of Leucine amino acid (b), ratio of essential amino acids (EAA) to non-essential amino acids (NAA) at different irrigation levels, planting date, cultivar and nitrogen fertilizer (d). (I1; Irrigation with 12 day intervals, I2; Irrigation with 6 day intervals, PD1; Planting Date June 21, PD2; Planting Date July 22, C1; cultivar KSC704, C2; cultivar KSC260, N1; without N fertilizer, N2; N fertilizer at optimal level. Means sharing the same case letter do not differ significantly at P < 0.05 based on LSD test).

پرولین (Pro) ۰/۰۱۴، گلایسین (Gly) ۰/۰۱۴ و آلانین (Ala) ۰/۰۴۹ درصد بود. معمولاً افزایش کاربرد نیتروژن در ذرت با افزایش پروتئین و آمینواسیدها همراه است (Sabata and Mason, 1992; Tsai et al., 1992; Oikeh et al., 1998). گزارش شده است که میزان آمینواسید لایزین بیش از سایر آمینواسیدها وابسته به ژنتیک بوده و تحت تأثیر کود نیتروژن قرار نمی‌گیرد (Losak et al., 2010).

اثر تاریخ کاشت بر برخی از آمینواسیدهای ضروری و غیرضروری معنی‌دار بود به‌طوری‌که تاریخ کاشت دیرهنگام موجب افزایش متیونین (Met) ۰/۰۰۱، ترئونین (Thr) ۰/۰۰۵، والین (Val) ۰/۰۱۱، ایزولوسین (Ile) ۰/۰۱۱، لوسین (Leu) ۰/۰۰۹، فنیل‌آلانین (Phe) ۰/۰۰۷، هیستیدین (His) ۰/۰۰۲، آرژنین (Arg) ۰/۰۰۴، لایزین (Lys) ۰/۰۰۲، تریپتوفان (Trp) ۰/۰۰۸ ، پرولین (Pro) ۰/۰۰۹ و گلایسین (Gly) ۰/۰۱۲ شد. گزارش شده است که درجه حرارت بالا در اوایل دوره پر شدن دانه می‌تواند منجر به تسریع روند پر شدن دانه، کاهش تجمع نیتروژن و محتوای و درنتیجه کاهش میزان اسیدآمینه در دانه برنج شود (Huang et al., 2019)، ازاین‌رو اظهارنظر در مورد تغییرات آمینواسیدها در سطوح مختلف تاریخ کاشت نیازمند تحلیل دقیق داده‌های آب و هوایی طی فصل کاشت است.

اثر رقم بر کلیه آمینواسیدهای موردمطالعه جز آسپارژین، لایزین و تریپتوفان معنی‌دار بود به‌طوری‌که رقم KSC260 از این نظر بر رقم KSC704 برتری داشت. آمینواسیدها به‌عنوان تحریک‌کننده‌های زیستی از طریق تقویت رشد گیاه، بهبود دسترسی مواد غذایی و درنتیجه بهبود کیفیت، نه‌تنها در کاهش صدمات ناشی از تنش‌های غیرزنده در گیاهان نقش دارند بلکه به‌عنوان سیگنال‌های هورمونی نیز در فعالیت‌های فیزیولوژیک همچون جذب نیتروژن، متابولیسم آنتی‌اکسیدان‌ها و جذب مواد مغذی نقش دارند (Rouphael et al., 2018; Rouphael and Colla, 2018; Khan et al., 2019). میزان پروتئین و آمینواسیدهای دانه تا حد زیادی تحت تأثیر رقم قرار دارد. در مقایسه خصوصیات کیفی دانه ارقام KSC260 و KSC703 به‌عنوان ارقام اصلاحی

جدید با رقم KSC704 بیان شده بیشترین مقادیر پروتئین خام، چربی خام، انرژی ناخالص و ماده خشک در رقم KSC260 یافت شد و این مسئله نشان می‌دهد ارزش تغذیه‌ای دانه در ارقام جدید بهبود یافته است (Rahimi Jahangirlou et al., 2016).

اثر متقابل تاریخ کاشت، رقم و نیتروژن بر میزان Leu معنی‌دار بود به‌طوری‌که در تاریخ کاشت اول و دوم و رقم KSC704 و در تاریخ کاشت دوم و رقم KSC260 کاربرد کود نیتروژن نسبت به شرایط بدون کود موجب افزایش این آمینواسید به ترتیب به میزان ۰٫۰۲۳، ۰٫۰۱۵ و ۰٫۰۱۴ درصد شد درحالی‌که در تیمار تاریخ کاشت دوم و رقم KSC260 تفاوت معنی‌داری بین تیمار با کود و بدون کود مشاهده نشد (شکل ۱- b).

بررسی نسبت آمینواسیدهای ضروری به غیرضروری

بررسی نسبت EAA به NAA در پاسخ به تیمارهای موردمطالعه نشان می‌دهد که آبیاری بیشتر و کاربرد کود نیتروژن موجب افزایش بیشتر NAA و کاهش نسبت EAA به NAA به ترتیب به میزان ۰٫۲۰ و ۰٫۰۹ درصد شد ($P \leq 0.05$) درحالی‌که اثر سایر تیمارها بر این نسبت معنی‌دار نبود (شکل ۲- c). در غلات، نه‌تنها میزان پروتئین، بلکه نسبت آمینواسیدهای ضروری به غیرضروری یا همان تعادل آمینواسیدها تا حد زیادی ارزش غذایی آن‌ها را تعیین می‌کند (Zhang et al., 2017). معمولاً آمینواسیدهای ضروری و غیرضروری در پروتئین با افزایش نیتروژن افزایش می‌یابد، البته افزایش بیش‌ازحد کود نیتروژن و یا آبیاری با افزایش بیشتر آمینواسیدهای غیرضروری موجب بر هم خوردن تعادل آمینواسیدی می‌شود که در این میان اثر افزایش کود نیتروژن بیشتر است (Zhang et al., 2017).

روابط میان عملکرد دانه، پروتئین و آمینواسیدها

همبستگی مثبت و معنی‌داری میان عملکرد دانه و پروتئین، مجموع آمینواسیدها (TAA) و آمینواسیدهای غیرضروری (NAA) مشاهده شد (جدول ۲) (به ترتیب ۰/۳۷، ۰/۳۵ و ۰/۴۰). همچنین همبستگی مثبت و معناداری میان پروتئین و TAA، آمینواسیدهای ضروری (EAA) و NAA مشاهده شد (به ترتیب ۰/۵۶، ۰/۴۳ و ۰/۵۶).

آنالیز رگرسیون نشان داد که میزان EAA، NAA و TAA به‌طور خطی با افزایش پروتئین افزایش می‌یابد (شکل ۲). این روند نشان می‌دهد مقادیر بالاتر آمینواسیدها با افزایش پروتئین دانه قابل‌انتظار است. بالاترین شیب‌خط و ضریب تبیین میان پروتئین و NAA مشاهده شد ($a=0.1545, R^2 = 0.32\%, P \leq 0.001$). در تأیید نتایج بدست آمده از تحقیق حاضر، گزارش‌های ارائه شده از تحقیقات مختلف نیز نشان داده است که همبستگی مثبتی میان عملکرد و محتوای پروتئین در گندم وجود دارد (Nakano and Guiducci, 2009; Tosti and Guiducci, 2010).

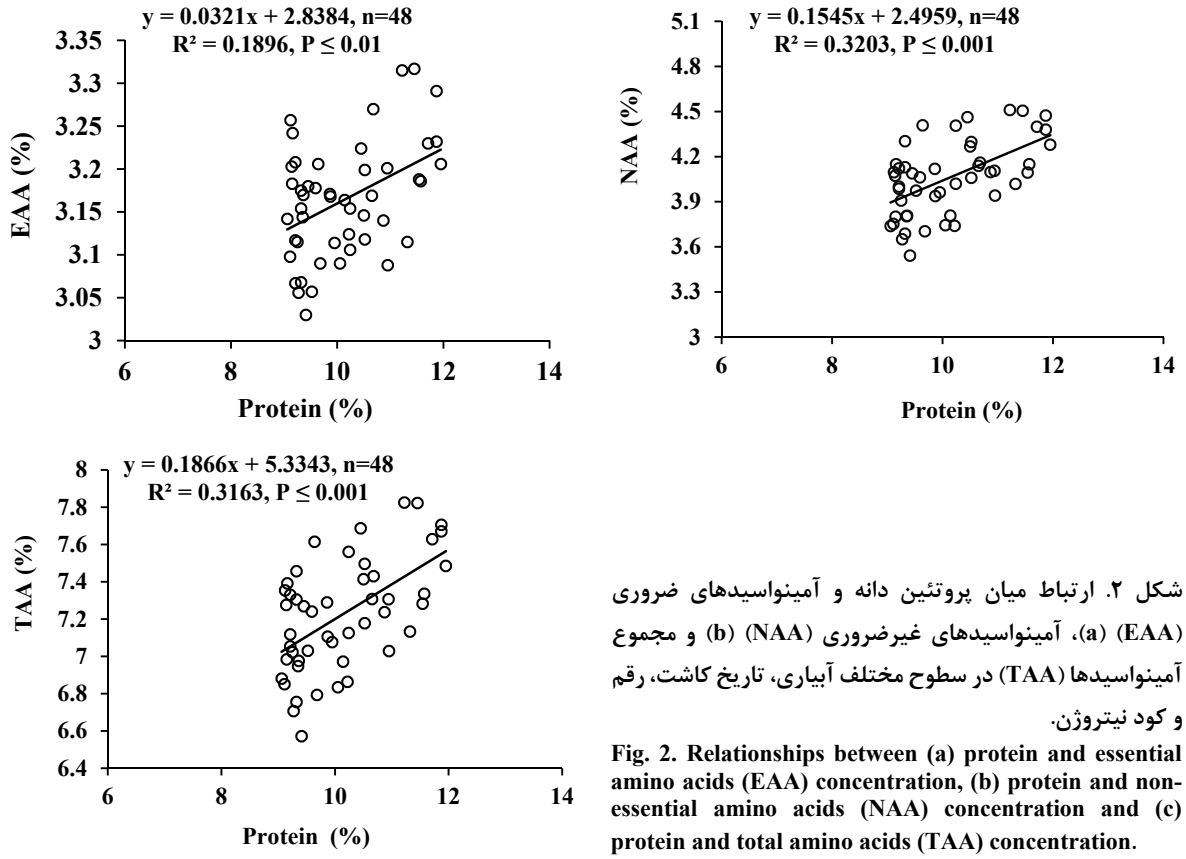
جدول ۲. همبستگی میان عملکرد دانه، میزان پروتئین، مجموع آمینواسیدها، آمینواسیدهای ضروری و آمینواسیدهای غیرضروری.

Table 2. Correlations among grain yield, concentration of protein, total amino acids, essential amino acids, and non-essential amino acids

			1	2	3	4	5
1	**Grain yield**	**عملکرد دانه**	1				
2	**Protein**	**پروتئین**	0.37**	1			
3	**Total amino acids**	**آمینواسید کل**	0.34*	0.56**	1		
4	**Essential amino acids**	**آمینواسیدهای ضروری**	0.23ns	0.43**	0.83**	1	
5	**Non-essential amino acids**	**آمینواسیدهای غیرضروری**	0.40**	0.56**	0.98**	0.74**	1

ns: غیر معنی‌دار، *: معنی‌دار در سطح ۵ درصد و **: معنی‌دار در سطح ۱ درصد

ns: non-significant, *: significant at $P < 0.05$, **: significant at $P < 0.01$



شکل ۲. ارتباط میان پروتئین دانه و آمینواسیدهای ضروری (EAA) (a)، آمینواسیدهای غیرضروری (NAA) (b) و مجموع آمینواسیدها (TAA) در سطوح مختلف آبیاری، تاریخ کاشت، رقم و کود نیتروژن.

Fig. 2. Relationships between (a) protein and essential amino acids (EAA) concentration, (b) protein and non-essential amino acids (NAA) concentration and (c) protein and total amino acids (TAA) concentration.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج نشان داد اثر متقابل آبیاری و نیتروژن بر میزان پروتئین معنی‌دار بود به‌طوری‌که در شرایط آبیاری بیشتر در مقایسه با تیمار تحت تنش، کاربرد کود موجب افزایش میزان پروتئین گردید. اثر آبیاری بر کلیه آمینواسیدهای ضروری و غیرضروری به‌استثنای والین، لایزین و تریپتوفان معنی‌دار بود به‌طوری‌که افزایش آبیاری موجب کاهش درصد آن‌ها گردید. همچنین اسیدآمینه پرولین، بعنوان یک ترکیب دارای نقش محافظتی و تجمع یافته در گیاهان تحت تنش خشکی، در شرایط آبیاری کمتر و رقم KSC260 بالاتر بود. اثر نیتروژن بر کلیه آمینواسیدهای ضروری و غیرضروری به‌استثنای لایزین معنی‌دار بود به‌طوری‌که کاربرد کود نیتروژن نسبت به شرایط عدم کاربرد کود موجب افزایش آن‌ها گردید. اثر تاریخ کاشت بر برخی از آمینواسیدهای ضروری و غیرضروری معنی‌دار بود به‌طوری‌که افزایش آن‌ها در تاریخ کاشت دیرهنگام مشاهده شد. اثر رقم بر کلیه آمینواسیدهای موردمطالعه جز آسپارژین، لایزین و تریپتوفان معنی‌دار بود به‌طوری‌که رقم KSC260 از این نظر بر رقم KSC704 برتری داشت. آبیاری بیشتر و کاربرد کود نیتروژن موجب افزایش بیشتر آمینواسیدهای غیرضروری و کاهش نسبت آمینواسیدهای ضروری به غیرضروری شد.

عملکرد دانه همبستگی مثبت و معنی‌داری با پروتئین، مجموع آمینواسیدها و آمینواسیدهای غیرضروری داشت. رابطه مستقیم و معنی‌داری میان پروتئین با مجموع آمینواسیدهای ضروری، غیرضروری و کل مشاهده شد که بیشترین میزان این رابطه با آمینواسیدهای غیرضروری مشاهده شد. درنهایت نتایج تحقیق حاضر نشان داد رژیم‌های بهینه آبیاری و نیتروژن و انتخاب رقم و تاریخ کاشت مناسب، از عوامل مهم بهبوددهنده عملکرد دانه، محتوای پروتئین و آمینواسید در دانه ذرت می‌باشند. با توجه به پیچیدگی‌ها و حساسیت بالای اندازه‌گیری صفات کیفی پیشنهاد می‌شود تحقیق‌حاضر در سال‌ها و مکان‌های مختلف با در نظر گرفتن سطوح بیشتر از عوامل تأثیرگذار انجام گیرد.

سپاسگزاری

از حمایت‌های علمی جناب آقای دکتر اکبر یعقوب فر، استاد موسسه تحقیقات علوم دامی کشور تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

Aguirrezabal, L., Martre, P., Pereyra-Irujo, G., Echarte, M.M., Izquierdo, N., 2015. Improving grain quality: ecophysiological and modeling tools to develop management and breeding strategies. In: Sadras, V.O., Calderini, D.F. (eds.), Crop Physiology (Second Edition), pp. 423-465. Academic Press, Massachusetts. Doi: https://doi.org/10.1016/ b978-0-12-374431-9.00016-5

Allen, N.K., Baker, D.H., 1974. Quantitative evaluation of nonspecific nitrogen sources for the growing chick. Poultry Science. 53, 258-264. Doi: https://doi.org/10.3382/ps.0530258

Butts-Wilmsmeyer, C., Seebauer, J., Singleton, L., Below, F., 2019. Weather during key growth stages explains grain quality and yield of maize. Agronomy. 9, 16. Doi: https://doi.org/10.3390/agronomy9010016.

Dei, H.K., 2017. Poultry Science. Continuum, IntechOpen, London, England. Doi: https://doi.org/10.5772/65363

Duarte, A.P., Mason, S.C., Jackson, D.S., de C Kiehl, J., 2005. Grain quality of Brazilian maize genotypes as influenced by nitrogen level. Crop Science. 45, 1958-1964. Doi: https://doi.org/10.2135/cropsci2004.0587

Fan, X., Tang, S., Li, G., Zhou, X., 2016. Non-invasive detection of protein content in several types of plant feed materials using a hybrid near infrared spectroscopy model. PloS one, 11, e0163145.

Geesing, D., Diacono, M., Schmidhalter, U., 2014. Site-specific effects of variable water supply and nitrogen fertilisation on winter wheat. Journal of Plant Nutrition and Soil Science. 177, 509-523. Doi: https://doi.org/10.1002/jpln.201300215

Govindaraj, M., Rai, K.N., Cherian, B., Pfeiffer, W.H., Kanatti, A., Shivade, H., 2019. Breeding biofortified pearl millet varieties and hybrids to enhance millet markets for human nutrition. Agriculture. 9, 106. Doi: https://doi.org/10.3390/ agriculture 9050106.

Ingle, P.D., Christian, R., Purohit, P., Zarraga, V., Handley, E., Freel, K., Abdo, S., 2016. Determination of protein content by NIR spectroscopy in protein powder mix products. Journal of AOAC International. 99, 360-363.

Khan, S., Yu, H., Li, Q., Gao, Y., Sallam, B. N., Wang, H., Jiang, W., 2019. Exogenous application of amino acids improves the growth and yield of lettuce by enhancing photosynthetic assimilation and nutrient availability. Agronomy. 9, 266. https://doi.org/10.3390/agronomy9050266

Lenis, N.P., van Diepen, H.T., Bikker, P., Jongbloed, A.W., van der Meulen, J., 1999. Effect of the ratio between essential and nonessential amino acids in the diet on utilization of nitrogen and amino acids by growing pigs. Journal of Animal Science. 77, 1777-1787. Doi: https://doi.org/10.2527/1999.7771777x

Lin, C., Chen, X., Jian, L., Shi, C., Jin, X., Zhang, G., 2014. Determination of grain protein content by near-infrared spectrometry and multivariate calibration in barley. Food Chemistry. 162, 10-15.

Losak, T., Hlusek, J., Filipčík, R., Pospíšilová, L., Maňásek, J., Prokeš, K., Orosz, F., 2010. Effect of nitrogen fertilization on metabolisms of essential and non-essential amino acids in field-grown grain maize (*Zea mays* L.). Plant, Soil and Environment. 56, 574-479. Doi: 10.17221/288/2010-PSE

Nakano, H., Morita, S., 2009. Effects of seeding rate and nitrogen application rate on grain yield and protein content of the bread wheat cultivar 'Minaminokaori' in Southwestern Japan. Plant Production Science. 12, 109–115. 56.

Oikeh, S.O., Kling, J.G., Okoruwa, A.E., 1998. Nitrogen fertilizer management effects on maize grain quality in the West African moist savanna. Crop Science, 38, 1056-1161. Doi: https://doi.org/10.2135/cropsci1998.0011183X003800040029x

Pleijel, H., Mortensen, L., Fuhrer, J., Ojanperä, K., Danielsson, H., 1999. Grain protein accumulation in relation to grain yield of spring wheat (*Triticum aestivum* L.) grown in open-top chambers with different concentrations of

ozone, carbon dioxide and water availability. Agriculture, Ecosystems and Environment, 72, 265-270. Doi: https://doi.org/10.1016/S0167-8809(98)00185-6.

Rahimi Jahangirlou, M., Kambouziam J., Soufizadehm S.Z.E., Rezayi, M., 2016. Determination of the nutritive value and metabolizable energy in *Zea mays* cultivars. International Journal of Plant Breeding and Crop Science. 3, 103-108.

Rezaei, M., Zehtab-Salmasi, S., Najafi, N., Ghassemi-Golezani, K., Jalalikamali, M., 2010. Effects of water deficit on nutrient content and grain protein of bread wheat genotypes. Journal of Food Agriculture and Environment, 8, 535–539.

Rouphael, Y., Colla, G., 2018. Synergistic biostimulatory action: designing the next generation of plant biostimulants for sustainable agriculture. Frontiers in Plant Science. 9, 1655.

Rouphael, Y., Spichal, L., Panzarova, K., Casa, R., Colla, G., 2018. High-throughput plant phenotyping for developing novel biostimulants: From lab to field or from field to lab? Frontiers in Plant Science. 9, 1197.

Sabata, R.J., Mason, S.C., 1992. Corn hybrid interactions with soil nitrogen level and water regime. Journal of Production Agriculture. 5, 137-142. Doi: https://doi.org/ 10.2134/ jpa1992.0137

Sepaskhah, A.R., Hosseini, S.N., 2008. Effects of alternate furrow irrigation and nitrogen application rates on yield and water-and nitrogen-use efficiency of winter wheat (*Triticum aestivum* L.). Plant Production Science, 11, 250-259. Doi:https://doi.org/ 10.1626/pps.11.250

Shiri, M., 2017. Genetic diversity analysis of maize hybrids through morphological traits and simple sequence repeat markers. Journal of Plant Molecular Breeding. 5, 49-60. Doi: https://doi.org/ 10.22058/JPMB.2017.31701. 1081.

Stephane, M., Ben-Ari, T., Dumas, P., 2014. Feeding proteins to livestock: global land use and food vs. feed competition. OCL. Oilseeds and Fats, Crops and Lipids, 21, D408, 10 p. Doi: http://dx.doi.org/ 10.1051/ocl/2014020.

Stephen, C.M., Nora, E.D.M., 2002 Agronomic practices influence maize grain quality. Journal of Crop Production, 5, 75-91, Doi: https://doi.org/10.1300/ J144v05n01_04.

Struik, P.C., 1983. Effect of temperature on development, dry matter production, dry matter distribution and quality of forage maize (*Zea mays* L.). An analysis, Meded. Landbouwhoge-school Wageningen 83±3, 41p.

Stucki, W.P., Harper, A.E., 1961. Importance of dispensable amino acids for normal growth of chicks. The Journal of Nutrition, 74, 377-383. Doi: https://doi.org/ 10.1093/jn/74.4.377

Taub, D.R., Miller, B., Allen, H., 2008. Effects of elevated CO2 on the protein concentration of food crops: a meta-analysis. Global Change Biology. 14, 565-575. Doi: https://doi.org/ 10.1111/j.1365-2486.2007. 01511.x

Tosti, G., Guiducci, M., 2010. Durum wheat-faba bean temporary intercropping: Effects on nitrogen supply and wheat quality. European Journal of Agronomy. 33, 157–165.

Tsai, C.Y., Dweikat, I., Huber, D.M., Warren, H.L., 1992. Interrelationship of nitrogen nutrition with maize (*Zea mays*) grain yield, nitrogen use efficiency and grain quality. Journal of the Science of Food and Agriculture. 58, 1-8. Doi: https://doi.org/ 10.1002/jsfa.2740580102

Wang, Y., Zhang, X., Liu, X., Zhang, X., Shao, L., Sun, H., Chen, S., 2013. The effects of nitrogen supply and water regime on instantaneous WUE, time-integrated WUE and carbon isotope discrimination in winter wheat. Field Crops Research. 144, 236-244. Doi: https://doi.org/10.1016/j.fcr.2013.01.021

Zhang, P., Ma, G., Wang, C., Lu, H., Li, S., Xie, Y., Guo, T., 2017. Effect of irrigation and nitrogen application on grain amino acid composition and protein quality in winter wheat. PloS one, 12, e0178494. Doi: https://doi.org/10.1371/journal.pone.0178494.

Zhou, B., Sun, X., Wang, D., Ding, Z., Li, C., Ma, W., Zhao, M. 2019. Integrated agronomic practice increases maize grain yield and nitrogen use efficiency under various soil fertility conditions. The Crop Journal. 7, 527-538. Doi: https://doi.org/10.1016/j.cj.2018. 12.005.