

اثر برخی مشخصات خاک بر محتوای آلکالوئید تام غدد زیرزمینی گیاه علف کبکی

حدیث روشندل* و رشید جامعی

دریافت: ۱۳۹۲/۱۱/۱۹ / پذیرش: ۱۳۹۴/۲/۲۱

دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه، ارومیه

*مسئول مکاتبات: Rhadis64@yahoo.com

چکیده. علف کبکی گیاهی است متعلق به تیره شیرینجه که غدد زیرزمینی غنی از آلکالوئید دارد. در پژوهش حاضر، محتوای آلکالوئید تام غدد زیرزمینی علف کبکی مناطق نقده، زنجان و بوکان به روش اسپکتروفوتومتری بررسی شد. اثر برخی مشخصات خاک منطقه رویش مانند نیتروژن کل، پتاسیم، اسیدیته خاک، نوع بافت خاک و محتوای نترات غدد زیرزمینی، بر روی محتوای آلکالوئید تام گیاه سنجیده شد. نتایج تحلیل داده‌ها تفاوت معنی‌داری میان محتوای آلکالوئید تام گیاه علف کبکی نقده، زنجان و بوکان نشان داد. نتایج همچنین تفاوت معنی‌داری را میان محتوای نترات علف کبکی در سه منطقه نشان داد. بیشترین و کمترین محتوای نترات به ترتیب مربوط به نقده و بوکان بود. بررسی نمونه‌های خاک مناطق مختلف نشان داد که بافت خاک نقده رسی- لومی، زنجان سیلتی- رسی- لومی و بوکان لومی- شنی است. همچنین مشخص شد که با افزایش درصد شن خاک، مقدار آلکالوئید تام گیاه افزایش می‌یابد. اثر اسیدیته خاک بر محتوای آلکالوئید تام معنی‌دار نبود.

واژه‌های کلیدی. نترات، آلکالوئید تام، بافت خاک، نیتروژن، پتاسیم

The effect of some soil parameters on the total alkaloid levels of tubers of *Bongardia chrysogonum* in three regions of Iran

Hadis Roshandel* and Rashid Jamei

Received 08.02.2014/ Accepted 11.05.2015

Faculty of Science, Urmia University, Urmia, Iran

*Correspondent author: Rhadis64@yahoo.com

Abstract. The tubers of *Bongardia chrysogonum*, belonging to Podophyllaceae, are rich in alkaloids. In this study, total alkaloid content of the tubers of this plant in Naghadeh, Zanzan and Boukan were determined by spectrophotometric method. In addition, the effects of soil characteristics such as total nitrogen, potassium, pH, soil texture and tubers nitrate levels on the plant total alkaloid content were measured. The results of the analyses indicated significant differences between the total alkaloid content of *B. chrysogonum* in these three regions. Moreover, the results showed significant differences among nitrates amounts of this plant in these habitats. The highest and lowest nitrate contents belong to Naghadeh and Boukan plants, respectively. The evaluation of soil samples of these three regions indicated that the texture of soil in Naghadeh is clay-loamy, in Zanzan it is silty- clay- loamy and in Boukan it is loamy-sandy. It was also discovered that increase in plant total alkaloid content depends on the increase of sand percentag in soil to some extent. The effect of soil pH on total alkaloid content turned out to be nonsignificant.

Keywords. nitrate, total alkaloid, soil texture, nitrogen, potassium

مقدمه

زیست‌شناسی دانشگاه ارومیه شناسایی شدند. نمونه‌ها (غدد زیرزمینی) با آب مقطر شست‌وشو داده و در دمای اتاق، دور از نور خورشید و رطوبت خشک و آسیاب شدند. همچنین خاک هر سه منطقه برای انجام بررسی‌های خاک‌شناسی جمع‌آوری و به آزمایشگاه منتقل شد.

آماده‌سازی محلول‌ها برای اندازه‌گیری محتوای آلكالوئید تام

جهت تهیه بروموکروزول سبز با غلظت 1×10^{-4} مولار، ۶۹/۸ میلی‌گرم از آن در ۳ میلی‌لیتر سود ۲ نرمال و ۵ میلی‌لیتر آب دوبار تقطیر حل شد. محلول حاصل تا انحلال کامل حرارت داده شد و با آب دوبار تقطیر به حجم یک لیتر رسانده شد. برای تهیه بافر فسفات، اسیدیته فسفات سدیم ۲ مولار (۷۱/۶ گرم از Na_2HPO_4 در یک لیتر آب دوبار تقطیر) در ۴/۷ تنظیم شد. برای تهیه محلول استاندارد مورفین، ۱۰۰ میلی‌گرم مورفین (تهیه شده از معاونت غذا و داروی تهران) در ۱۰ میلی‌لیتر آب دوبار تقطیر حل شد (Shamsa et al., 2008).

آماده‌سازی منحنی استاندارد برای اندازه‌گیری آلكالوئید تام

مقادیر متفاوت ۰/۲، ۰/۴، ۰/۶، ۰/۸، ۱ و ۱/۲ میلی‌لیتر از محلول استاندارد مورفین در قیف‌های جداکننده جداگانه قرار گرفت. در مرحله بعد ۵ میلی‌لیتر بافر فسفات و ۵ میلی‌لیتر محلول بروموکروزول سبز به هر کدام اضافه و با ۵، ۸ و ۱۰ میلی‌لیتر کلروفرم عصاره‌گیری شد. فاز کلروفرمی به بالن ۲۵ میلی‌لیتری منتقل شد و به حجم رسید. سپس جذب کمپلکس در ۴۱۵ نانومتر در مقابل محلول بدون مورفین، اندازه‌گیری شد (Shamsa et al., 2008).

تهیه عصاره تام آلكالوئیدی و سنجش میزان آن

آلكالوئیدهای غدد زیرزمینی نمونه‌ها با تلفیقی از روش‌های کرن و شمس عصاره‌گیری شد (Krenn et al., 1998; Shamsa et al., 2008). ابتدا یک گرم از نمونه‌های خشک و آسیاب-

علف کبکی گیاهی علفی، پایا، چندساله با غدد زیرزمینی عمیق، متعلق به تیره شیربنجه است. علف کبکی در ارتفاعات و در اراضی زراعی حاصل‌خیز شخم‌خورده (به‌منزله علف هرز) می‌روید (معروفی، ۱۳۸۶). غده‌های زیرزمینی این گیاه منبع غنی آلكالوئید است. این آلكالوئیدها از خانواده آلكالوئیدهای کینولیزیدین، ایزوکینولیزیدین و پیریدین هستند. آلكالوئیدهای گیاهی از بزرگ‌ترین گروه‌های تولید طبیعی به شمار می‌روند که از نظر داروشناسی ترکیبات فعال بسیاری را فراهم می‌کنند. این ترکیبات مهم‌ترین گروه دگرگوه‌های ثانویه می‌باشند که یا مشتق از آمینواسیدها یا حاصل فرایند ترانس‌آمیناسیون هستند (Aniszewski, 2007). یکی از مهم‌ترین نقش‌های آن‌ها حفاظت گیاه در مقابل رادیکال‌های تولیدشده در بافت‌های گیاهی در حضور نور است (Tadeusz, 2007). آلكالوئیدها دارای محدوده وسیعی از فعالیت زیستی و فارماکولوژیک هستند. وجود این دگرگوه‌های ثانویه در غدد زیرزمینی علف کبکی باعث شده از این گیاه در طب سنتی کشور ترکیه برای درمان بیماری‌هایی مانند هموروئید، بزرگ‌شدگی پروستات و عفونت‌های مجاری ادراری شده است (Rahman et al., 1999). ارتباط میان مواد غذایی در خاک و تغییرات در مقدار آلكالوئیدهای گیاهی یکی از موضوعات بسیار مهم در زیست‌شناسی، فیزیولوژی و بیوشیمی گیاهی است. در این تحقیق با توجه به اهمیت دارویی آلكالوئیدهای گیاه علف کبکی، محتوای آلكالوئید تام موجود در غدد زیرزمینی این گیاه و همچنین اثر برخی عوامل محیطی بر مقدار آلكالوئید تام در فصل گل‌دهی بررسی شده است.

مواد و روش‌ها

گیاه علف کبکی از سه منطقه سلطان‌یعقوب واقع در شهرستان نقده از استان آذربایجان غربی، روستای زواجر واقع در شهرستان زنجان از استان زنجان و منطقه زران دول واقع در شهرستان بوکان از استان آذربایجان غربی در اردیبهشت‌ماه (فصل گل‌دهی) سال ۱۳۹۲ جمع‌آوری شدند. گیاهان در هر بار یوم گروه

اتاق نگه‌داری شد. در این مرحله ۱۹ میلی لیتر سود ۲ نرمال به آن اضافه شد تا pH بیش از ۱۲ شود. در انتها نمونه‌ها در دمای اتاق خنک شدند و میزان جذب محلول لیمویی رنگ حاصل در ۴۱۰ نانومتر خوانده شد (Cataldo et al., 1975).

تحلیل خاک

نمونه‌های خاک پس از خشک شدن در هوا از الک ۲ میلی متری عبور داده شد. pH عصاره اشباع بافت خاک به روش هیدرومتری، پتاسیم قابل جذب با استفاده از استات آمونیوم نرمال و خشی و میزان نیتروژن خاک به روش کجدال اندازه‌گیری شد (خوش گفتار، ۱۳۸۶).

تجزیه و تحلیل آماری

نتایج آزمایش در سه تکرار به صورت مقادیر میانگین و خطای استاندارد (SE) بیان شد. اختلاف میان نمونه‌های مناطق مختلف با استفاده از تحلیل واریانس یک‌سویه (آنوا) در سطح احتمال ۵ درصد ($p < 0.05$) بررسی شد. رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار SPSS.16 و اکسل ۲۰۰۷ انجام شد.

نتایج

سنجش کمی آلکالوئید تام و میزان نیترات

میانگین محتوای آلکالوئید تام و محتوای نیترات غدد زیرزمینی علف کبکی از سه منطقه مختلف در جدول ۱ نشان داده شده است. بین محتوای آلکالوئید تام غدد زیرزمینی علف کبکی منطقه نرده با منطقه زنجان و منطقه بوکان اختلاف معنی‌داری مشاهده شد. محتوای آلکالوئیدی علف کبکی منطقه بوکان به طور معنی‌داری بیشتر از محتوای آلکالوئیدی مناطق نرده و زنجان بود و کمترین آن مربوط به منطقه نرده بود. بین محتوای نیترات علف کبکی منطقه نرده، منطقه زنجان و منطقه بوکان اختلاف معنی‌داری وجود داشت. بیشترین و کمترین مقدار نیترات به ترتیب در علف کبکی منطقه نرده و منطقه بوکان مشاهده شد.

شده در ۸۰ میلی لیتر اسیداستیک ۰/۰۵ درصد (v/v) هجده ساعت خیسانده شد. ده میلی لیتر از عصاره صاف شده چندین بار با کلروفرم (هر بار ۱۰ میلی لیتر) شست‌وشو داده شد، تا این که همه مواد رنگی حذف شود و کلروفرم حاصل از شست‌وشو رنگی نباشد. در انتها، اسیدیته محلول باقی مانده با آمونیاک به ۷ رسانده شد و به آن ۵ میلی لیتر معرف بروموکرزول سبز و ۵ میلی لیتر بافر استات اضافه شد و سه بار با سه حجم از کلروفرم (۵، ۸ و ۱۰ میلی لیتر) عصاره‌گیری شد. بعد از جداشدن دو فاز، به حجم ۲۵ میلی لیتر رسانده شد. در این مرحله وجود رنگ زرد در فاز پائینی نشان‌دهنده حضور آلکالوئید است. فاز آلکالوئیدی جدا و با دستگاه اسپکتروفتومتر میزان جذب نوری آن در ۴۱۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. در نهایت محتوای آلکالوئید تام نمونه‌ها با استفاده از منحنی استاندارد مورفین تعیین شد.

آماده‌سازی منحنی استاندارد نیترات

نیم میلی لیتر از غلظت‌های مختلف (۱، ۳، ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵، ۳۰، ۳۵ و ۴۰ میلی گرم بر لیتر) محلول استاندارد نیترات سدیم (NaNO_3) به ۰/۸ میلی لیتر اسیدسالیسیلیک ۵ درصد اضافه شد و ۲۰ دقیقه در دمای اتاق نگه داشته شد. سپس ۱۹ میلی لیتر سود ۲ نرمال به آن اضافه شد تا pH بیشتر از ۱۲ شود. نمونه‌ها در دمای اتاق خنک شدند و با استفاده از اسپکتروفتومتر میزان جذب نمونه‌ها در طول موج ۴۱۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. محتوای نیترات نمونه‌ها با استفاده از معادله منحنی استاندارد ($Y = 0.037X - 0.00275$, $R^2 = 0.998$) تعیین شد (Cataldo et al., 1975).

اندازه‌گیری میزان نیترات موجود در نمونه‌های گیاهی

به ۱ گرم از نمونه‌های گیاهی خشک و آسیاب شده ۱۰ میلی لیتر آب دوبار تقطیر اضافه شد. سپس ۳۰ دقیقه در بن ماری در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. نمونه‌ها پس از سرد شدن، در ۶۰۰۰ g به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفوژ شد. نیم میلی لیتر از محلول رویی به درون لوله آزمایش منتقل و به آن ۰/۸ میلی لیتر اسید سالیسیلیک ۵ درصد اضافه شد و به مدت ۲۰ دقیقه در دمای

جدول ۱- محتوی آلكالوئید تام (میلی گرم بر گرم وزن خشك) و محتوی نیترات (میکروگرم بر گرم) غدد زیرزمینی گیاه کبکی از سه منطقه مختلف. (داده‌ها به صورت میانگین \pm SE نشان داده شده و حروف غیرمشابه در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد است).

Table 1. The total alkaloid (mg/g dw) and nitrate contents (μ g/g) of *Bongardia chrysogonum* tubers in three different regions (Data are shown as mean \pm SE and dissimilar letters in each column indicate significant difference at the 5% level).

منطقه	میانگین آلكالوئید تام (میلی گرم بر گرم وزن خشك)	محتوی نیترات (میکروگرم بر گرم)
نقده	11.67 \pm 0.2a	151.79 \pm 1.1a
زنجان	13.32 \pm 0.4b	94.64 \pm 0.4b
بوکان	18.26 \pm 0.6c	82.37 \pm 0.39c

تحلیل خاک

نتایج تحلیل خاک نشان داد که بافت خاک در منطقه نقده رسی لومی، در منطقه زنجان سیلتی رسی لومی و در منطقه بوکان لومی شنی می باشد.

خاک هر سه منطقه دارای pH قلیایی ضعیفی بود. منطقه بوکان بیشترین مقدار نیتروژن کل و پتاسیم را داشت (جدول ۲).

جدول ۲- برخی ویژگی های خاک مناطق نمونه برداری.

Table 2. Some characteristics of soil sample locations.

منطقه	اسیدیته	نیتروژن کل (درصد)	پتاسیم قابل جذب (میلی گرم/کیلوگرم)	شن (درصد)	سیلت (درصد)	رس (درصد)	بافت
نقده	۷/۲	۰/۲۳	۶۶۲	۲۱	۴۶	۳۳	رسی-لومی
زنجان	۷/۱	۰/۱۷	۶۵۳	۱۸	۴۵	۳۷	سیلتی-رسی-لومی
بوکان	۷/۱	۰/۱۳	۶۴۷	۴۹	۲۸	۲۳	لومی-شنی

همبستگی بین مشخصات خاک منطقه رویش و محتوای آلكالوئید تام

همبستگی بین محتوای آلكالوئید تام غدد زیرزمینی گیاه علف کبکی و محتوای نترات غدد زیرزمینی، pH خاک، نیتروژن کل، پتاسیم خاک و بافت خاک با نرم افزار اکسل ۲۰۰۷ محاسبه شد. نتایج نشان داد بین محتوای آلكالوئید تام با نیتروژن کل، پتاسیم خاک، محتوای سیلت و رس بافت خاک و از سوی

دیگر با محتوای نترات غدد زیرزمینی رابطه معکوس و معنی‌داری وجود دارد.

همچنین بین محتوای آلكالوئید تام و مقدار شن بافت خاک رابطه مستقیم و معنی‌داری وجود دارد، اما محتوای آلكالوئید تام و اسیدیته خاک ضریب همبستگی بسیار ضعیفی نشان دادند (جدول ۳).

جدول ۳- ضریب همبستگی بین محتوای آلكالوئید تام با محتوای نترات غدد زیرزمینی گیاه علف کبکی، اسیدیته خاک، نیتروژن کل، پتاسیم خاک و بافت خاک.

Table 3. The correlation coefficient between the total alkaloid content and tubers nitrate content of *Bongardia chrysogonum*, pH, total nitrogen, potassium and soil texture.

همبستگی	معادله خط همبستگی	ضریب همبستگی
نترات و آلكالوئید تام	$Y = -8.7971X + 236.91$	-0.667 *
اسیدیته و آلكالوئید تام	$Y = -1.966X + 31.38$	0.002
نیتروژن و آلكالوئید تام	$Y = -0.0136X + 0.3733$	-0.857*
پتاسیم و آلكالوئید تام	$Y = -2.0431X + 683.49$	-0.857*
شن و آلكالوئید تام	$Y = 4.7132X - 38.694$	0.889*

بحث

گیاهان دارویی به عنوان مخازن غنی از دگرگوهره‌های ثانویه، اساساً تحت هدایت فرایندهای ژنتیکی هستند. اما ساخت این دگرگوهره‌ها به طور بارز تحت تأثیر عوامل محیطی و تغییرات آن نیز قرار دارد. به طوری که عوامل محیطی باعث تغییراتی در رشد گیاه، مقدار و کیفیت این دگرگوهره‌ها می‌شود (دوازده امامی و مجنون حسینی، ۱۳۸۶). Kitamura و همکاران نشان داده‌اند که تأثیر عوامل آب‌وهوایی در تفاوت‌های مشاهده شده میان مقادیر آلكالوئیدها در گیاهان مناطق مختلف ناچیز است و این تفاوت‌ها اساساً به ارتفاع و عوامل خاکی بستگی دارد. مناطق مختلف از نظر ارتفاع و میزان عناصر غذایی خاک از جمله

نیتروژن، پتاسیم و فسفر تفاوت‌های معنی‌داری دارند (Kitamura *et al.*, 1992).

یکی از عناصر بسیار اساسی در گیاهان، فرم‌های نیتروژن خاک و سطوحی از نیتروژن است که بر رشد، تکامل و مسیرهای متابولیکی ویژه در گیاهان مؤثر است (Fabre & Planchon, 2000) استخراج و اندازه‌گیری محتوای آلكالوئید تام گیاه علف کبکی و بررسی تأثیر عوامل محیطی بر آن‌ها برای اولین بار در این پژوهش صورت گرفت. نتایج تحلیل ضریب همبستگی در این تحقیق نشان داد که بین نترات و محتوای آلكالوئید تام رابطه معکوس و معنی‌داری وجود دارد (جدول ۳). نترات یکی از منابع تغذیه نیتروژن گیاه است. اولین مرحله احیای نترات با نترات ردوکتاز انجام می‌شود. نیتريت حاصل از این فرایند با

آلكالوئیدها حساسیت بیشتری دارند. از طرفی تعادل عناصر تغذیه‌ای خاک بسیار اهمیت دارند. به نظر می‌رسد غلظت‌های کم یا زیاد نیتروژن در خاک با وجود طبیعت بیوسنتتیک آلكالوئیدها بر محتوای آلكالوئیدها در گیاهان تأثیر می‌گذارد. تنش مواد غذایی ممکن است دلیلی برای این موضوع باشد (Tadeusz, 2007). نتایج بررسی برخی عوامل محیطی بر میزان آلكالوئیدهای هیوسیامین و اسکوپولامین نشان داد که میزان این آلكالوئیدها تحت تأثیر غلظت نیتروژن است (دیلمقانی و همکاران، ۱۳۸۵). در تحقیق حاضر محتوای آلكالوئید تام و مقدار نیتروژن کل خاک رابطه معکوس و معنی‌داری را نشان دادند. این موضوع را می‌توان به سنتز آلكالوئید از محصولات حاصل از شکست پروتئین نسبت داد، زیرا اعتقاد بر این است که آلكالوئیدها از تولیدات پروتئینی تجزیه شده و حدواسط‌های کربوهیدراتی تولید می‌شوند. ساختار و متابولیسم پروتئین‌ها به طور گسترده با سنتز تولیدات گیاهی نیتروژن‌دار ثانویه مرتبط است. کربوهیدرات‌ها یا مشتقات دیگر آن‌ها یا در ساختمان مولکول آلكالوئید وارد می‌شوند یا اینکه صرفاً به منظور تأمین انرژی برای واکنش‌های سنتزی که منجر به تشکیل آلكالوئید می‌شوند، لازم‌اند (Cromwell, 1937).

مطالعات در باب گیاه تنباکو نشان داده است که سنتز آلكالوئید نیکوتین در گیاهان تنباکویی که در معرض نیتروژن معدنی فراوان بوده اند مهار می‌شود. همچنین مشاهده شد که وضعیت نامساعد محیطی در زمان رشد گیاه تنباکو باعث تولید مداوم نیکوتین می‌شود (Mothes et al., 1928). احتمالاً افزایش یا کاهش زیاد مقدار نیتروژن عامل نامساعد محیطی برای گیاه تلقی می‌شود و راه کار گیاه برای مقابله با این عامل نامساعد کاهش یا افزایش مقدار آلكالوئید است. این نتیجه هم‌سو با نتایجی است که بعضی محققین به دست آورده‌اند. اوکی و همکاران با تغییر ترکیب محیط کشت میزان رشد و تروپان آلكالوئیدها را در تارکشنده ریشه گیاه شاهبیزک بررسی کرده‌اند. آن‌ها مشاهده کردند که افزودن غلظت محیط کشت باعث کاهش رشد و میزان تروپان آلكالوئیدها می‌شود. همچنین رقت محیط کشت و کاهش غلظت نیتروژن میزان رشد و تولید

نیتريت ردوكتاز به آمونيووم تبديل می‌شود و آمونيووم برای سنتز اسیدهای آمینه (دگرگوره‌های اولیه) مصرف می‌شود.

دگرگوره‌های اولیه مستقیماً در رشد و سوخت‌وساز درگیر هستند (Taiz & Zeiger, 2002). افزایش غلظت نترات باعث افزایش تولید زی‌توده می‌شود ولی بیوسنتز آلكالوئیدها را مهار می‌کند. آلكالوئیدها دارای نیتروژن هستند و در تغذیه گیاه نیتروژن به‌طوراساسی به شکل نترات استفاده می‌شوند. در گیاهان آنزیم نترات‌ردوكتاز اولین آنزیم درگیر در جذب نترات است. علت افزایش زی‌توده هم‌زمان با افزایش غلظت نترات احتمالاً به این دلیل است که پیش‌سازهای اسیدآمینه برای متابولیسم اولیه به کار می‌روند و پیش‌سازهای مشترک در مسیرهای متابولیسمی اولیه و ثانویه، برای تولید زی‌توده و پی‌گیری فرایند رشد استفاده می‌شوند و عوامل محرک تولید زی‌توده از جمله افزایش نترات غلظت آلكالوئیدها را کاهش می‌دهند (Demeyer & Dejaegere, 1989). این نتیجه با نتایج چلیپان همخوان است. چلیپان با کار درباره دو گونه بنگدانه مشاهده کرد که محیط کشت دارای نترات سبب افزایش رشد و سرعت تمایز ریشه می‌شود که با کاهش تولید آلكالوئید همراه است اما کاهش نترات تولید آلكالوئید را افزایش می‌دهد (چلیپان، ۱۳۷۸). نتایج بررسی تأثیر غلظت‌های متفاوت نترات پتاسیم بر بیوسنتز آلكالوئیدهای تروپانی نشان داد که افزایش غلظت نترات موجب کاهش بیوسنتز آلكالوئیدها می‌شود و مقدار پائین نترات اثر تحریکی بر تولید آلكالوئیدهای تروپانی دارد (ایرانبخش، ۱۳۸۳). نتایج تحقیق حاضر با نتایج محققان مذکور هم‌سو است. افزایش غلظت نیتروژن باعث افزایش رشد ریشه و اندام‌های دیگر گیاهی می‌شود. فاکتورهای تغذیه‌ای مانند نیتروژن به‌عنوان پارامترهای مهمی استفاده می‌شوند که بر تولید آلكالوئیدها مؤثر می‌باشند. غلظت نیتروژن محیط کشت اغلب بر سنتز آلكالوئیدها مؤثر است. همه آلكالوئیدها حاوی نیتروژن هستند. ممکن است این ترکیبات حاصل از اسیدهای متغیر باشد به این معنی که بعضی پیش‌سازها از لحاظ مقدار نیتروژن نسبت به آلكالوئیدها غنی‌تر هستند. به همین دلیل بعضی آلكالوئیدها در مورد در دسترس بودن نیتروژن نسبت به دیگر

مواد غذایی خاک است. پتاسیم یکی از عناصر غذایی بسیار متحرک است. پتاسیم به صورت طبیعی و کودهای حاوی پتاسیم به آسانی از سطح خاک شسته شده (به ویژه خاک‌های ماسه ای در مناطق پر باران یا با باران معمولی) و باعث می‌شود که پتاسیم کمتری در اختیار گیاهان قرار بگیرد. در این شرایط غلظت آلکالوئیدها ممکن است نوسان کمتری داشته باشد (Waller & Nowacki, 1978). گیاهانی که در خاک‌هایی با کمبود پتاسیم رشد می‌کنند، بیشتر مستعد تنش‌های محیطی هستند و ممکن است گیاه با افزایش تولید آلکالوئید به این موضوع پاسخ دهد (Marschner *et al.*, 1995). با توجه به اینکه پتاسیم باعث مقاومت گیاه در مقابل کم‌آبی، خطرات سرمازدگی، آفات و بیماری‌ها می‌شود، کمبود پتاسیم برای گیاه تنش تلقی می‌شود و این موضوع باعث تولید آلکالوئید در گیاه می‌گردد، زیرا آلکالوئیدها باعث محافظت گیاه در مقابل حمله پاتوژن‌ها، بیماری‌ها و وضعیت سخت محیطی می‌شود (Cox, 1978). دیلمقانی و همکاران با مقایسه میزان آلکالوئید تروپان دو گونه بذربالنج در مراحل مختلف رشد به این نتیجه رسیده‌اند که کاهش پتاسیم خاک باعث افزایش میزان هیوسامین و اسکوپولامین می‌شود. آن‌ها دریافته‌اند که افزایش آلکالوئید تولید شده در گیاه به هنگام کمبود پتاسیم نشان می‌دهد که کمبود یون پتاسیم عرضه پیش‌ساز آلکالوئید را با افزایش فعالیت آرژنین دکربوکسیلاز که مسئول تولید پوترسین هستند، افزایش می‌دهد. یون پتاسیم به طور مستقیم فعالیت تعداد زیادی از آنزیم‌ها، از جمله آنزیم‌های مربوط به بیوسنتز آلکالوئیدها را با تأثیر بر کنفورماسیون پروتئین تنظیم می‌کند (دیلمقانی، ۱۳۸۶). چون آنزیم لیزین دکربوکسیلاز آنزیم کلیدی در بیوسنتز آلکالوئیدهای کوئینولیزیدین است، احتمالاً کمبود یون پتاسیم عرضه پیش‌ساز آلکالوئیدهای کوئینولیزیدین را با افزایش فعالیت آنزیم لیزین دکربوکسیلاز که مسئول بیوسنتز آلکالوئیدهای کوئینولیزیدین است افزایش می‌دهد.

کمبود پتاسیم سنتز آلکالوئیدها را در گیاه شاهبیزک افزایش می‌دهد، درحالی‌که کاهش آن به افزایش درصد آلکالوئیدها منجر می‌شود (Bashir Khan & Harbone, 1991). از-

آلکالوئید را افزایش می‌دهد (Aoki *et al.*, 1997). Dupraz و همکاران نشان داده‌اند که رشد گیاه داتورا و محتوای آلکالوئیدهای آن با افزایش غلظت نیتروژن کاهش می‌یابد (Dupraz *et al.*, 1993). Payne و همکاران دریافته‌اند که رقیق‌شدن محیط کشت و کاهش غلظت نیتروژن باعث افزایش رشد و محتوای آلکالوئید در گیاهان تیره سولاناسه می‌شود (Payne *et al.*, 1987). Sugimoto و همکاران نشان داده‌اند که غلظت نیتروژن و نسبت کربن به نیتروژن در محیط کشت اغلب بر سنتز آلکالوئیدها مؤثرند (Sugimoto *et al.*, 1988). نتایج بررسی حاضر با نتایج بعضی از محققان مغایرت دارد. با افزایش مقدار ازت، میزان آلکالوئید فیزالین در گیاه عروسک پشت پرده افزایش می‌یابد (Khoshlahjeh *et al.*, 2013).

Dejaegere و Demeyer با بررسی میزان آلکالوئیدهای گیاه داتورا، گزارش کرده‌اند که با افزایش میزان نیتروژن میزان آلکالوئیدها نیز افزایش می‌یابد (Demeyer & Dejaegere, 1992). همچنین آن‌ها گزارش کرده‌اند که تیمار نیتروژنی باعث افزایش میزان هیوسامین در کشت ریشه داتورا می‌شود (Demeyer & Dejaegere, 1989). Franz نیز با بررسی تعدادی از گیاهان دارویی به این نتیجه رسید که نیتروژن به‌عنوان یک عنصر غذایی به‌طور مستقیم بر بیوسنتز دگرگوره‌های ثانویه مانند آلکالوئید مؤثر می‌باشد (Franz, 1983). البته اختلاف در سطوح آلکالوئید ناشی از فاکتورهای داخلی مانند سن گیاه و غیره هم هست که این فاکتورهای داخلی نسبت به فاکتورهای محیطی از اهمیت بیشتری برخوردارند (Hoft *et al.*, 1998).

در تحقیق حاضر، رابطه معکوس و معنی‌داری میان مقدار پتاسیم خاک و مقدار آلکالوئید تام گیاه مشاهده شد. پتاسیم بیشتر محرک بیوسنتز پروتئین است. پتاسیم یکی از عناصر غذایی اصلی برای گیاهان است که در بسیاری از فرایندهای گیاهی مانند فتوسنتز، انتقال قند، فعال‌سازی آنزیم، نگهداری فشار تورگر گیاهی و تنظیم روزنه نقش دارد. یکی از فاکتورهایی که ممکن است بر غلظت آلکالوئید تأثیرگذار باشد، کمبود

طرفی، کمبود پتاسیم باعث انباشتگی نشاسته، کم شدن محتوای آب سلول و ممانعت از فعالیت‌های هیدرولیتیک می‌شود، که در نتیجه آن غلظت کربوهیدرات‌های سلول کاهش می‌یابد. همان‌طور که قبلاً گفته شد حدواسط‌های کربوهیدراتی نقش اساسی در بیوسنتز آلكالوئیدها دارند. کربوهیدرات‌ها یا در ساختمان مولکول آلكالوئید داخل می‌شوند یا این که برای تأمین انرژی در واکنش‌های سنتزی که منجر به تشکیل آلكالوئیدها می‌شوند، لازم می‌باشند. در نتیجه، کمبود پتاسیم با کاهش غلظت کربوهیدرات‌ها باعث کاهش غلظت آلكالوئیدهای گیاه می‌شود (Cromwell, 1937). نتیجه این تحقیق با نتایج مطالعات دیگر سازگاری دارد. Gremigni دریافت که غلظت آلكالوئیدهای دانه باقلای مصری (آبی) تحت کمبود پتاسیم افزایش می‌یابد (Gremigni et al., 2001) و همچنین Scibor و Marchocka مشاهده کرده‌اند که کمبود پتاسیم موجب افزایش غلظت آلكالوئیدها در دانه باقلای مصری (سفید) می‌شود (Scibor-Marchocka, 1970).

Gremigni و همکاران دریافته‌اند که کمبود پتاسیم القاکننده افزایش غلظت آلكالوئیدها در گیاه باقلای مصری است (Gremigni et al., 1997; Gremigni et al., 1998). نتایج کار Waller و Nowacki نیز با نتایج او همسو است. Waller و Nowacki دریافته‌اند که باقلای مصری که محتوای پتاسیم کمتری نسبت به گیاهانی که به مقدار کافی پتاسیم داشته‌اند، محتوای آلكالوئیدی بالاتری دارند (Waller & Nowacki, 1978).

اندازه ذرات خاک از بسیار درشت تا بسیار ریز متغیر است. بافت خاک نه تنها بر قدرت نفوذ ریشه‌ها، هوادهی و شست‌وشوی خاک، بلکه بر مقدار عناصر غذایی و درجه حرارت خاک نیز تأثیر می‌گذارد (باقریه، ۱۳۸۷)، اسیدیته خاک و تنش خشکی موقتی نیتروفیکاسیون را بلوکه می‌کند (Arechavaleta et al., 1992). تنش خشکی باعث افزایش میزان آلكالوئید نیز می‌شود (Hoft et al., 1998). از آنجائی که نیتروفیکاسیون بخش مهمی از چرخه نیتروژن در طبیعت است که طی آن عمل اکسیداسیون آمونیاک به واسطه باکتری‌ها

انجام می‌شود، در مرحله اول نیتروفیکاسیون، میکروارگانیسم‌های شیمولیتوتروف آمونیاک را اکسید و به نیتريت تبدیل می‌کند و در مرحله دوم نیتريت از طریق باکتری‌های اکسیدکننده نیتريت به نیترات تبدیل می‌شود (ببنا و همکاران، ۱۳۸۴). پس با بلوکه شدن نیتروفیکاسیون غلظت نیترات در گیاه کاهش یافته و همان‌طور که در بحث نیترات بیان شد، کاهش غلظت نیترات باعث افزایش تولید آلكالوئید در گیاهان می‌شود. پس تنش خشکی موقتی باعث کاهش غلظت نیترات گیاه و افزایش تولید آلكالوئید در گیاه می‌شود. Demyer و همکاران گزارش کرده‌اند که افزایش غلظت نیترات در کشت ریشه‌ای دگرریخت داتوره باعث افزایش زی‌توده می‌شود، ولی بیوسنتز آلكالوئیدهای تروپانی را مهار می‌کند (Demeyer & Dejaegere, 1992). احتمالاً علت افزایش زی‌توده به این دلیل است که زی‌توده در پیش‌سازهای اسیدآمینة برای متابولیسم اولیه مورد استفاده قرار می‌گیرد و پیش‌سازهای مشترک مسیرهای متابولیسمی اولیه و ثانویه، برای تولید زی‌توده و پی‌گیری فرایند رشد استفاده می‌شوند و عوامل محرک تولید زی‌توده از جمله افزایش نیترات غلظت آلكالوئید را کاهش می‌دهد. Flores و Galston دریافته‌اند که تنش اسموتیک در سلول‌های گیاهی می‌تواند سنتز پوترسین را، که پیش‌ساز آلكالوئیدهای تروپان است، فعال کند و باعث افزایش میزان آلكالوئید گیاه شود. Szabo و همکاران ثابت کرده‌اند که شقایق تحت تأثیر تنش خشکی سطوح بالاتری از آلكالوئید تولید می‌کند (Flores & Galston, 1982; Arechavaleta et al., 1992; Szabo et al., 2005). نتایج تحقیق حاضر حاکی از رابطه مستقیم میان درصد شن خاک و مقدار آلكالوئید تام و رابطه منفی میان درصد سیلت و رس خاک با مقدار آلكالوئید تام بوده است. چنان‌که در بخش نتایج ذکر شد، بیشترین مقدار آلكالوئید مربوط به خاک منطقه‌ای بود که بیشترین درصد شن را داشت و همبستگی میان درصد شن خاک و مقدار آلكالوئید تام ۰/۸۸ بود. باتوجه به اینکه در خاک‌های شنی تخلخل خاک زیاد و ظرفیت نگهداری آب کم است، خاک‌های شنی بیشتر مستعد تنش خشکی هستند. احتمالاً یکی از دلایلی که باعث بیشتر شدن تولید آلكالوئید در منطقه بوکان شده است، وجود درصد بیشتر

کیفی بسیار متفاوت هستند (Barclay & Perdue, 1976; Ayres & Loike, 1990).

Zunnunzhanov و همکاران با جست‌وجو در آلکالوئیدهای اندام هوایی گیاه لئونیتس داروآسیا نشان دادند که ترکیبات آلکالوئیدی از لحاظ کمی و کیفی براساس محل رویش گیاه تغییر می‌کند (Zunnunzhanov *et al.*, 1974). بررسی‌های انجام‌شده به کوشش محقق‌زاده و همکاران درباره ترکیبات میوه زینان نشان داد که اختلافات شیمیایی ترکیبات موجود در این گیاه در مناطق مختلف تحت تأثیر کم‌دیوم‌ها قرار دارد (Mohagheghzadeh *et al.*, 2007). Van و Verdoon با مطالعه بر روی آلکالوئیدهای گیاه ترب‌شیر اختلافاتی را در میان آلکالوئیدهای برگ، غده‌های زیرزمینی و دانه‌های مناطق مختلف مشاهده کرده‌اند. آن‌ها دریافته‌اند که علت این اختلاف‌ها ممکن است به دلیل وجود چندین ترکیب کم‌دیوم در این گیاه باشد. آن‌ها با مطالعات بعدی بر روی جنس *Pearsonia* از تیره پروانه‌آسا متوجه شده‌اند که ترکیبات آلکالوئیدی حتی در میان جمعیت‌های متعلق به یک گونه از مناطق مختلف نیز اختلاف دارند (Van & Verdoon, 1991). کم‌دیوم‌ها مولکول‌هایی هستند که هر گیاه آن‌ها را با ژن‌ها و آنزیم‌ها تعیین می‌کند. مشخصات شیمیایی کم‌دیوم‌ها وراثتی است. این ترکیبات تحت تأثیر خاک، ارتفاع از سطح دریا، بارندگی، دما، تابش نور خورشید و طول موج‌های تابشی قرار دارند. گیاهان متعلق به یک گونه ممکن است از لحاظ مورفولوژیکی و تاکسونومیکی باهم اختلاف نداشته باشند، اما اختلافات شیمیایی ایجادشده به وسیلهٔ پروفایل‌های شیمیایی باعث تفاوت ژنتیکی این گیاهان می‌شود. بنابراین ترکیبات شیمیایی تولیدشده در گیاه از لحاظ کمی و کیفی می‌توانند با هم متفاوت باشند که این تفاوت‌ها ممکن است ناشی از وضعیت محیطی گیاه باشد (Lavrieux *et al.*, 2011). اختلافات ایجاد شده در میان اعضای یک گونه برای استفادهٔ دارویی و غذایی مهم است (Mohagheghzadeh *et al.*, 2007).

شن و احتمال بیشتر ایجاد تنش خشکی است که در نتیجه آن غلظت نیترات گیاه کاهش می‌یابد و طبق نتایج تولید آلکالوئید در گیاهان این منطقه افزایش می‌یابد. Abdul-Jaleel و همکاران با تحقیق دربارهٔ پروانش بیان کرده‌اند که تنش خشکی القا کنندهٔ تنش اسموتیک، متابولیسم پروتئین، فعالیت‌های آنزیم‌های پاداکساینده و انباشته‌کنندهٔ آلکالوئید ایندول است. یافته‌های آن‌ها نشان داد که تحت تنش خشکی محتوای اسیدهای آمینه در این گیاه به‌طور معنی‌داری افزایش می‌یابد. احتمالاً انباشتگی اسید آمینه ناشی از هیدرولیز پروتئین می‌باشد که این مسئله نیز ممکن است در پاسخ به تغییر در تنظیم اسموتیک محتوای سلول ایجاد شود. تنظیم اسموتیک سازوکاری مهم است که بعضی آثار تنش آبی را کم می‌کند (Abdul-Jaleel *et al.*, 2007). از این جهت بررسی اسیدهای آمینه آزاد انباشته‌شده برای مشاهدهٔ اثر آن‌ها در تغییرات مقادیر آلکالوئیدها اهمیت بسزایی دارد (Demeyer & Dejaegere, 1988). پتاسیم عنصر غذایی بسیار متحرکی است و به آسانی در خاک‌های ماسه‌ای از طریق باران شسته‌شده و از دسترس گیاه خارج می‌شود (Gremigni *et al.*, 2001). بیشترین مقدار آلکالوئید در منطقهٔ بوکان دیده شد که خاک آن بیشترین درصد شن را نسبت به مناطق دیگر دارد. احتمالاً یکی از دلایل بیشتر بودن مقدار آلکالوئید در این منطقه شست‌وشوی بیشتر پتاسیم از خاک آن باشد. اثر غلظت پتاسیم خاک بر مقدار آلکالوئیدها در بحث پتاسیم بررسی شد. از آنجائی که خاک هر سه منطقه pH قلیایی ضعیفی داشت، نتیجه گرفته شد اسیدیتهٔ خاک تأثیری بر مقدار آلکالوئیدهای گیاه تحت مطالعه ندارد. اما عملکرد آلکالوئیدها اساساً در ارتباط با ژن‌ها، آنزیم‌ها و پروتئین‌های درون ارگانسیم می‌باشد. آلکالوئیدها یک عملکرد و پس زمینه ژنتیکی-فیزیولوژیکی قوی در ارگانسیم‌های تولید کنندهٔ آن‌ها دارند. بر این اساس محتوای آلکالوئیدها در درون گونه‌ها و بین گونه‌ها متنوع است (Waller & Nowacki, 1978). Ayres و همکاران و نیز Barclay و Perdue دریافته‌اند که دگرگونه‌های ثانویه در میان گونه‌های نزدیک، در یک گونه یا در میان اعضای یک جمعیت از لحاظ کمی و

نتیجه گیری

تغییرات غلظت عناصر مختلف، عوامل آب و هوایی و غیره را بر محتوای آکالوئیدی گیاه علف کبکی در شرایط کنترل شده آزمایشگاهی به صورت دقیق تر بررسی کرد.

تشکر و قدردانی

از همکاری آقایان مهندس مهدی گلایی منش و دکتر احمد پورستار صمیمانه قدردانی می شود.

در این تحقیق با توجه به همبستگی های مشاهده شده و نیز تفاوت معنی دار محتوای آکالوئید تام گیاه علف کبکی از مناطق مختلف بایکدیگر می توان نتیجه گرفت که محتوای آکالوئید تام علاوه بر وراثت تحت تأثیر عوامل محیطی و تغییرات آن ها نیز قرار دارد. در مطالعات بعدی می توان نقش

References/ منابع

خوش گفتارمنش، ا.ح. ۱۳۸۶. ارزیابی وضعیت تغذیه ای گیاه و مدیریت بهینه کودی. - انتشارات دانشگاه صنعتی اصفهان. ۹۷۸-۹۶۴.

دوازده امامی، س. و مجنون حسینی، ن. ۱۳۸۶. زراعت و تولید برخی گیاهان دارویی و ادویه ای. - انتشارات دانشگاه تهران.

دیلمقانی، ک.، خاوری نژاد، ر.ع.، فهیمی، ح. و حکمت شعار، ح. ۱۳۸۵. استخراج و اندازه گیری آکالوئیدهای تروپانی هیوسامین و اسکوپولامین از اندام های مختلف *Hyoscyamus pustillus* L. در مراحل مختلف رشد. - فصلنامه علمی پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران ۲۲: ۲۰-۱.

دیلمقانی، ک.، فهیمی، ح.، خاوری نژاد، ر.ع. و حکمت شعار، ح. ۱۳۸۶. مقایسه میزان آکالوئید تروپان گونه های *Hyoscyamus reticulatus* L. و *Hyoscyamus arachnoideus* Pojark در مراحل مختلف رشد. - مجله علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی ۶۶: ۶۱-۵۲.

معروفی، ح. ۱۳۸۶. فلورایران. - انتشارات موسسه تحقیقات جنگل ها و مراتع کشور. ۱۳-۷.

ایرانبخش، ع. ۱۳۸۳. بهینه سازی رشد و تولید آکالوئیدهای تروپانی در کشت سوسپانسیون سلولی گیاه تاتوره *Datura stramonium*. - مجله پژوهش و سازندگی ۶۲: ۳۳-۲۵.

باقریه نجار، م. ب. ۱۳۸۷. مقدمه ای بر اکولوژی. - انتشارات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان. فصل ششم: ۱۸۵-۱۸۲.

بینا، ب.، موحدیان، ح. و پورزمانی، ح. ۱۳۸۴. رساله دکتری. بررسی تأثیر نسبت COD/N ورودی بر سرعت نیتریفیکاسیون در تصفیه فاضلاب با استفاده از یک راکتور پایلوت در مقیاس آزمایشگاهی. - دانشگاه علوم پزشکی اصفهان.

تایز، ل. و زایگر، ا. ۲۰۰۲. فیزیولوژی گیاهی. گروه مترجمین انجمن زیست شناسی ایران. - انتشارات خانه زیست شناسی. ۳۴۳-۳۲۹.

چلییان، ف. ۱۳۷۸. رساله دکتری. بررسی جایگاه، زمان بیوستنز و خواص ضد میکروبی آکالوئیدهای تروپان در گیاهان طبیعی و نمونه های حاصل از کشت در شیشه دو گونه از سرده بنگدانه (*Hyoscyamus*) و برخی عوامل مؤثر در افزایش میزان آکالوئیدها. - دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات.

Abdul-Jaleel, C., Manivannan, P., Kishorekumar, A., Sankar, B., Gopi, R., Somasundram, R. and Panneerselva, R. 2007. Alternation in osmoregulation, antioxidant enzymes and indole alkaloid levels in *Catharanthus roseus* exposed to water deficit. – *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 59: 150-157.

Aniszewski, T. 2007. Alkaloids-secret of life alkaloid chemistry, biological, significance, applications and ecological roles. 1nd Ed. – Elsevier, 140-190.

Aoki, T., Matsumoto, H., Asako, Y., Matsunaga, Y. and Shimomura, K. 1997. Variation of alkaloid productivity among several clones of hairy roots and regenerated plants of *Atropa belladonna* transformed with *Agrobacterium rhizogenes*. – *Plant Cell Reports* 16: 282-286.

Arechavaleta, M., Bacon, C.W., Plattner, R.D., Hoveland, C.S. and Radcliffe, D.E. 1992. Accumulation of ergopeptide alkaloids in symbiotic tall fescue grown under deficits of soil-water and nitrogen-fertilizer. – *Applied and Environmental Microbiology* 58: 857-861.

Ayres, D.C. and Loike, J.D. 1990. Lignans: chemical, biological and clinical properties. – *Chemistry and Pharmacology of Natural Products* 49: 1009-1017.

Barclay, A.S. and Perdue, R.E. 1976. Distribution of anti cancer activity in higher plants. – *Cancer Treatment Reports* 60: 1018-1113

Bashir Khan, M. and Harborne, J.B. 1991. Potassium deficiency increases tropan alkaloid synthesis in *Atropa acuminata* via argenine and ornithine decarboxylase levels. – *Phytochemistry* 30: 3559-3561.

Cataldo, D.A., Haroon, M., Schrader, L.E. and Youngs, V.L. 1975. Rapid colorimetric determination nitrate in plant tissues by nitration of salicylic acid, common in soil. – *Science and Plant Analysis* 6: 71-80.

Cox, W.J. 1978. Potassium deficiency in lupins, identification, rates, times and method of

application. – *Journal of Agriculture Western Australia* 19: 27-31.

Cromwell, B.T. 1937. Experiments on the synthesis of hyoscyamine in *Atropa belladonna*. – *Biochemistry* 31: 551-559.

Demeyer, K. and Dejaegere, R. 1988. Influence of the mineral nutrition on yield and alkaloid content in *Datura stramonium*. – *Medelingen van de Faculteit* 53: 1723-1725.

Demeyer, K. and Dejaegere, R. 1989. Influence of the ion balance in the growth medium in the yield and alkaloid content of *Datura stramonium*. – *Plant and Soil* 114: 289-294.

Demeyer, K. and Dejaegere, R. 1992. Effect of the nitrogen form used in the growth medium (NO_3^- , NH_4^+) on alkaloid production in *Datura stramonium* L. – *Plant and Soil* 147: 79-86.

Dupraz, J.M., Christen P. and Kapetanidis, I. 1993. Tropane alkaloids in transformed roots of *Datura quercifolia*. – *Planta Media* 60: 158-162.

Fabre F. and Planchon, C. 2000. Nitrogen nutrition, yield and protein content in soybean. – *Plant Science* 152: 51-58.

Flores, H.E. and Galston, A.W. 1982. Polyamines and plant stress: activation of putrescine biosynthesis by osmotic shock. – *Science* 217: 1259-1261.

Franz, C. 1983. Nutrient and water management for medicinal and aromatic plants. – *Acta Horticulture* 132: 215-203.

Gremigni, P., Gazey, C., Hamblin, J. and Harris, D. 1998. Soil nutritional status affects alkaloid levels in Australian sweet lupin. – *Proceedings of the 3rd European Conference on Grain Legumes*. Paris, 179-181.

Gremigni, P., Hamblin, J. and Harris, D. 1997. Alkaloid level in lupin seed is affected by nutritional stresses. – *Proceedings of the International Food Legume Research Conference III*. Adelaide, 143-148.

Gremigni, P., Wong, M.T.F., Edwards, N.K., Harris, D. and Hamblin, J. 2001. Potassium nutrition effects on seed alkaloid concentrations, yield and mineral content of lupins. (*Lupinus angustifolius*). – *Plant Soil* 234: 131-142.

Hoft, M., Verpoorte, R. and Beck, E. 1998. Leaf alkaloid contents of *Tabernaemontana pachysiphon* as influenced by endogenous and environmental factors in the natural habitat. – *Planta Medica* 64: 148-152.

Khoshlahjeh, A., Eradatm and Asli, D., Lotfi, Z., Fakharian Kashani, Z. and Shirmard, M. 2013. Effects of pyridoxine and different levels of nitrogen on qualitative and quantitative yield of *Physalis alkekengi*. – *International Journal of Biosciences* 3: 204-211.

Kitamura, Y., Sato, M. and Miura, H. 1992. Differences of total alkaloid, atropine and scopolamine contents in leaves of *Atropa belladonna* in relation to some environmental and phonological factors. – *Phytochemistry* 31: 1191-1194.

Krenn, L., Glantschig, S. and Sorgner, U. 1998. Determination of five major opium alkaloids by Reversed-phase high-Performance liquid chromatography on a base-deactivated stationary phase. – *Chromatographia* 47: 21-24.

Lavrieux, M., Jacob, J., Lemilbeau, C., Zocatelli, R., Masuda, K., Breheret, J. and Disnar, J. 2011. Occurrence of triterpenyl actates in soil and their potential as chemotaxonomical markers of Asteraceae. – *Organic Geochemistry* 42: 1315-1323.

Marschner, H. 1995. Functions of Mineral Nutrients: macronutrients. In *Mineral Nutrition of Higher Plants*. – Academic Press. 299-312.

Mohagheghzadeh, A., Faridi, P. and Ghasemi, Y. 2007. *Carum copticum* Benth. & Hook., essential oil chemotypes. – *Food Chemistry* 100: 1217-1219.

Payne, J., Hamill, J.D., Robins, R.J. and Rhodes, J.C. 1987. Production of hyoscyamine

by hairy root cultures' of *Datura stramonium*. – *Planta Medica* 53: 474-478.

Rahman, A.U., Shahwar, D., Choudhary, M.I., Sener, B., Toker, G. and Baser, K.H. 1999. Alkaloids of *Bongardia chrysogonum*. – *Phytochemistry* 50: 333-336.

Scibor-Marchocka, A. 1970. Comparative studies on the homologous types of bitter and fodder white lupine. – *Acta Agrobot* 23: 23-38.

Shamsa, F., Monsef, H., Ghamoshi, R. and Verdian-rizi, M. 2008. Spectrophotometer determinati- on total alkaloid in some Iranian medicinal plants. – *Pharmaceutical Science* 32: 17-20.

Sugimoto, Y., Sugimura, Y. and Yamada, Y. 1988. Effects of culture conditions on bisbenzylisoquinoline alkaloid production in cultured roots of *Stephania cepharantha*. – *Agricultural and Biological Chemistry* 52: 1495-1498.

Szabo, B., Tyihok, E., Szabo, G.Y. and Botz, L. 2005. Mycotoxine and drought stress induce change of alkaloid content of *Papaver somniferum* plantlets. – *Acta Botanica Hungarica* 45: 409-417.

Tadeusz, A. 2007. Alkaloids, secrets of life. – Elsevier Publications, Chapter 1-4.

Van, W. and Verdoorn, G.H. 1991. Alkaloid variation in the genus *Pearsonia*. – *Biochemical Systematics and Ecology* 19: 685-695.

Waller, G.R. and Nowacki, E.K. 1978. Alkaloid biology and metabolism in plants. – Plenum Press, New York. 22: 294-297.

Zunnunzhanov, A., Iskandarov S. and Yunusov, S. 1974. Alkaloids of *Leontice darvasica*. – Translated from *Khimiya Prirodnykh Soedinenii*, 373-377.

Roshandel, H. and Jamei, R. 2015. The effect of some soil parameters on the total alkaloid levels of tubers of *Bongardia chrysogonum* in three regions of Iran. – *Nova Biologica Reperta* 2: 36-47.

روشندل، ح. و جامعی، ر. ۱۳۹۴. اثر برخی مشخصات خاک بر محتوای آکالوئید تام غدد زیرزمینی گیاه علف کبکی. – یافته‌های نوین در علوم زیستی ۲: ۳۶-۴۷.

