تاریخ چاپ زمستان ۱۳۹۲

بررسی اثر برخی مشخصات خاک منطقهٔ رویش بر روی محتوای آلکالوئید تام غدد زیرزمینی دو گونهٔ تربشیر (غدد زیرزمینی تربشیر و تربشیر صغیر) از چهار منطقهٔ مختلف ایران

سمیرا شوکت‌یاری، رضا حیدری، رشید جامعی*، سیاوش حسینی سرقین؛
دانشگاه ارومیه، دانشکده علوم پایه

چکیده

آلکالوئیدها گروه بزرگی از ترکیبات هستند که فعالیت‌های شیمیایی، زیستی و فیزیولوژیکی دارند. تربشیر[۱] گیاهی است متعلق به تیرهٔ شیرپنجه[۲] که منبعی غنی از آلکالوئید است. در پژوهش حاضر، محتوای آلکالوئید تام غدد زیرزمینی تربشیر[۳] از مریوان و سنندج و تربشیر صغیر[٤] از سنندج و نقده به‌روش اسپکتروفتومتری، براساس واکنش آلکالوئید با محلول بروموکرزول سبز، بررسی شد. همچنین اثر برخی مشخصات خاک منطقه رویش مانند pH خاک، نیتروژن کل، پتاسیم و نوع بافت خاک، ارتفاع منطقه و نیز محتوای نیترات غدد زیرزمینی، بر روی محتوای آلکالوئید تام سنجیده شد. نتایج حاصل از آنالیز داده‌ها نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین محتوای آلکالوئید تام *تربشیر* جمعیت مریوان (۱/۱۸±۲۷/۱۲ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) و سنندج (۰/۷۷±۱۷/۴۲ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) و نیز محتوای آلکالوئید تام*تربشیر صغیر* جمعیت سنندج (۰/۶۵۵±۱۵/۳۸ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) و نقده (۰/۲۲۷±۷/۴ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) وجود دارد. همچنین بین گونه‌های مناطق مختلف به‌غیر از تربشیر جمعیت سنندج (۰/۷۷±۱۷/۴۲ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) و تربشیر صغیرجمعیت سنندج (۰/۶۵۵±۱۵/۳۸ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) تفاوت معنی‌داری مشاهده شد. نتایج نشان داد که محتوای نیترات در گونهٔ تربشیر صغیربیش‌تر از میزان آن در تربشیر است. بررسی نمونه‌های خاک مناطق نشان داد که بافت خاک در منطقهٔ سنندج (تربشیر صغیر) شنی- لومی و در سایر مناطق لومی- رسی بود. خاک همهٔ مناطق از نظر pH، قلیایی ضعیف تشخیص داده شد. نتایج حاصل از بررسی اثر مشخصات خاک منطقهٔ رویش بر روی محتوای آلکالوئید تام نشان داد که برخی عوامل بر روی محتوای آلکالوئید تام در جنس تربشیر تأثیر می‌گذارند. به این صورت که، با افزایش مقدار نیتروژن کل، پتاسیم خاک و محتوای نیترات گیاه، مقدار آلکالوئید تام کاهش می‌یابد. در حالی‌که تأثیر اسیدیته، بافت خاک و ارتفاع منطقه بر محتوای آلکالوئید تام در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار نبود.

واژه‌های کلیدی: تربشیر، نیتروژن ، پتاسیم، بافت خاک، آلکالوئید تام
دریافت ۹۱/۷/۲۹ پذیرش ۹۲/۸/٤

***نویسنده مسئول** r.jamei@urmia.ac.ir

۱. *Leontice* ۲. Podophyllaceae ۳. *L. leontopetalum L.* ٤. *L. armeniaca L.*

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-04-26]

مقدمه

جنس تربشیر گیاهی است علفی، چندساله، با غدههای زیرزمینی که متعلق به تیرهٔ شیرپنجه است. این جنس دو گونهٔ تربشیر و تربشیر صغیر در ایران دارد. دو گونه از نظر ارتفاع ساقه، شکل برگچهها و رویشگاه متفاوت هستند. تربشیر صغیر در ارتفاعات و اراضی سنگلاخی و فقیر، و گونهٔ تربشیر در اراضی زراعی حاصلخیز (بهعنوان علف هرز) یا بهندرت در اراضی مرتعی با خاك حاصلخیز یافت میشود. هردو گونه متعلق به مناطق ایرانی تورانی و زاگرسیاند [۱]. از غدد زیرزمینی این جنس برای درمان رماتیسم، درد مفاصل و التهاب [۱۰] استفاده میشود. گیاهان جنس تربشیر منبعی غنی از آلکالوئیدهای کینولیزیدین و ایزوکینولین هستند [۱۱]. آلکالوئیدها گروهی از دگرگوهرههای[۱] ثانویه هستند که اثرات فیزیولوژیکی قوی بر روی انسان و سایر حیوانات دارند. این ترکیبات خاصیت ضدمیکروبی و ضدانگلی دارند. بعضی از آنها هنوز در داروهای مدرن بهعنوان ترکیبات طبیعی یا تغییریافته کاربرد دارند. این امر مربوط به فعالیت بیولوژیك آنها در انسان یا حیوانات است. همچنین آلکالوئیدها نقش مهمی در دگرگوهرش[۲] و عملکرد گیاهان دارند [۱۲]. امروزه تحقیقات انجام شده روی بسیاری از گونههای گیاهی نشان میدهد که دگرگوهرههای ثانویهٔ گیاهی از جمله آلکالوئیدها بهعلت قدرت پاككنندگی یا مهار واکنشهای زنجیرهای رادیکالها میتوانند در آینده بهعنوان پاداکسایندههای[۳] مؤثر در درمان بسیاری از بیماریها استفاده شوند [۱۳]. تحقیقات انجام شده مقدار آلکالوئید تام اندامهای هوایی لئونتیس داروازیکا[۴] را ۱/۱ درصد تشخیص داده است [۱۴]. در این تحقیق با توجه به اهمیت دارویی آلکالوئیدهای جنس تربشیر محتوای آلکالوئید تام موجود در غدد زیرزمینی دو گونهٔ این جنس و همچنین اثر برخی عوامل محیطی بر روی مقدار آلکالوئید تام در مرحلهٔ گلدهی بررسی شده است.

مواد و روشها

گونهٔ تربشیر از دو منطقهٔ شهرستان مریوان حد فاصل روستای رشنش به نگل، در طول ′۳٤ و °٤٦ شرقی و عرض ′۱۸ و °۳٥ شمالی، ارتفاعات ۱٥۰۰ متری و سنندج، اطراف سد قشلاق در طول ′٥۷ و °٤٦ شرقی و عرض ′۲٦ و °۳٥ شمالی، ارتفاعات ۱٦۰۰متری جمعآوری گردید. گونهٔ تربشیر صغیر نیز از ارتفاعات ۲۰۰۰ متری جادهٔ قدیم ماموخ درطول ′٥۹ و °٤٦ شرقی و عرض ′۳۰ و °۳٥ شمالی در شهرستان سنندج و ارتفاعات ۱٥۰۰ متری سلطان یعقوب در طول ′۲۲ و°٤٥ شرقی و عرض ′٥٥ و °۳٥ شمالی در شهرستان نقده در اردیبهشت سال ۱۳۹۰جمعآوری شد. شناسایی گونهها در هرباریوم گروه زیستشناسی دانشگاه ارومیه انجام شد. نمونهها (غدد زیر زمینی) پس از شستشو و خشک شدن در سایه و دمای اتاق آسیاب شدند. همچنین خاک هر چهار منطقه برای انجام بررسیهای خاکشناسی جمعآوری و به آزمایشگاه منتقل گردید.

۱. metabolites ۲. metabolism ۳. antioxidants ۴. *L.darvasica* Rgl

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-04-26]

مشخصات مناطق نمونه برداری

شهرستان مریوان در ۱۳۵ کیلومتری شمال غربی سنندج، سد قشلاق در ۱۰ کیلومتری شمال سنندج و جادهٔ قدیم ماموخ در۱۵کیلومتری سنندج واقع شده است. در تقسیمات اقلیمی و بیوکلیماتیک ایران، طبق روش آمبرژه سنندج و مریوان جزو اقلیم نیمه‌مرطوب سرد هستند [۲]. درهٔ سرسبز سلطان یعقوب در ٤ کیلومتری جنوب نقده قرار دارد. بر اساس طبقه‌بندی اقلیمی دومارتن گسترش یافته، نقده دارای اقلیم خیلی مرطوب سرد است [۳].

آماده‌سازی محلول‌ها برای اندازه‌گیری محتوای آلکالوئید تام

برای تهیهٔ محلول برموکرزول سبز[۱] با غلظت ۱×۱۰^{-٤} مولار، ٦۹/۸ میلی‌گرم از آن در ۳ میلی‌لیتر سود ۲ نرمال و ٥ میلی‌لیتر آب دوبار تقطیر حل شد. محلول حاصل تا انحلال کامل حرارت داده شد و با آب دوبارتقطیر به حجم یک لیتر رسانده شد. برای تهیهٔ بافرفسفات (pH=٤/۷)، اسیدیته فسفات سدیم ۲ مولار (۷۱/٦ گرم از Na_2HPO_4 در یک لیتر آب دوبارتقطیر) در ٤/۷ تنظیم شد. برای تهیهٔ محلول ۱۰۰ میلی‌گرم مورفین (تهیه شده از معاونت مواد غذایی و داروی تهران) در ۱۰ میلی‌لیتر آب دوبار تقطیر حل شد [۱۵].

آماده‌سازی منحنی استاندارد برای اندازه‌گیری آلکالوئید تام

مقادیر متفاوت ۰/۲، ۰/٤، ۰/٦، ۰/۸، ۱ و ۱/۲ میلی‌لیتر از محلول استاندارد مورفین در قیف‌های جداکننده جداگانه قرار گرفت. سپس ٥ میلی‌لیتر بافر فسفات (pH=٤/۷) و ٥ میلی‌لیتر محلول برموکرزول سبز به هر کدام اضافه شد و با ٥ و ۸ و ۱۰ میلی‌لیتر کلروفرم عصاره‌گیری‌شد. فاز کلروفرمی به بالن ۲٥ میلی‌لیتر منتقل شد و به حجم رسید. سپس جذب کمپلکس در ٤۱٥ نانومتر در مقابل محلول شاهد که همان محلول بدون مورفین است، R^2=۰/۹۷۷۶ , Y=۰/۰۱٦٥X+۰/۰۳۳٥ است اندازه‌گیری شد [۱٥].

تهیهٔ عصارهٔ تام آلکالوئیدی و سنجش میزان آن

آلکالوئیدها در برگ و غدد زیرزمینی گیاهان نمونه با تلفیقی از روش‌های کرن[۲][۱٦] و شمسا[۳][۱٥]، عصاره‌گیری گردید. در ابتدا یك گرم از نمونه‌های خشك و آسیاب شده در ۸۰ میلی‌لیتر اسیداستیك ۰/۰٥درصد (v/v) ۱۸ ساعت خیسانده شد. ۱۰میلی‌لیتر از عصارهٔ صاف شده چندین بار با کلروفرم (هربار۱۰میلی‌لیتر) شستشو داده شد، تا آن‌جاکه همهٔ مواد رنگی حذف شده و کلروفرم حاصل از شستشو رنگی نباشد. در نهایت، اسیدیتهٔ محلول باقی‌مانده با آمونیاک به ۷ رسانده شد و به آن ٥ میلی‌لیتر معرف برموکرزول سبز ($C_{21}H_{14}Br_4O_5S$) و ٥ میلی‌لیتر بافر استات اضافه شد و سه بار با کلروفرم (٥، ۸ و ۱۰ میلی‌لیتر) عصاره‌گیری گردید و اجازه داده شد تا دوفاز از هم جدا شوند و سپس به حجم ۲٥ میلی لیتر رسانده شد. در این حالت وجود رنگ زرد در فاز پایینی نشان‌دهندهٔ حضور آلکالوئید است. این فاز جدا گردید و با اسپکتروفتومتر[۴]

۱. bromocresol green ۲. Kreen ۳. Shamsa ۴. (WPA, S2100, UK) UV/VIS

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-04-26]

میزان جذب نوری آن در ۴۱۵ نانومتراندازه‌گیری شد. محتوای آلکالوئید تام نمونه‌ها با استفاده از منحنی استاندارد مورفین تعیین شد.

آماده‌سازی منحنی استاندارد نیترات

۰/۵ میلی‌لیتر از غلظت‌های مختلف (۱، ۳، ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵، ۳۰، ۳۵و ۴۰ میکروگرم بر لیتر) محلول استاندارد نیترات نیتروژن ($NaNO_3$) به ۰/۸ میلی‌لیتر اسید سالسیلیک ۵ درصد اضافه گردید و ۲۰ دقیقه در دمای اتاق نگه داشته شد. سپس ۱۹ میلی‌لیتر سود ۲ نرمال به آن اضافه شد تا pH بیش‌تر از ۱۲ شود. سپس نمونه‌ها در دمای اتاق خنک شده و با استفاده از اسپکتروفتومتر میزان جذب آن‌ها در طول موج ۴۱۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. محتوای نیترات نمونه‌ها با استفاده از منحنی استاندارد $Y=۰/۰۳۷X - ۰/۰۲۷۵, R^2=۰/۹۹۸۵$ تعیین شد [۱۷].

اندازه‌گیری میزان نیترات موجود در نمونه‌های گیاهی

در ابتدا به مقدار ۱ گرم از نمونه‌های گیاهی خشک و خردشده ۱۰ میلی‌لیتر آب دوبار تقطیر اضافه شد. سپس نیم‌ساعت در بن‌ماری در دمای ۱۰۰ درجهٔ سانتی‌گراد نگه داشته شد. در مرحلهٔ بعد نمونه‌ها پس از سرد شدن در g۶۰۰۰ به‌مدت ۲۰ دقیقه سانتریفوژ گردید. ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول رویی به داخل لولهٔ آزمایش منتقل و به آن ۰/۸ میلی‌لیتر اسید سالسیلیک ۵ درصد اضافه شد و ۲۰ دقیقه در دمای اتاق نگه داشته شد. سپس ۱۹ میلی‌لیتر سود ۲ نرمال به آن اضافه شد تا pH بیش‌تر از ۱۲ شود. سپس نمونه‌ها در دمای اتاق خنک شده و میزان جذب محلول لیمویی رنگ حاصل در ۴۱۰ نانومتر خوانده شد[۱۷].

آنالیز خاک

نمونه‌های خاک پس از خشک شدن در هوا از الک ۲ میلی‌متری عبور داده شد. pH در عصارهٔ اشباع، بافت خاک به‌روش هیدرومتری، پتاسیم قابل جذب با استفاده از استات آمونیوم نرمال و خنثی و میزان نیتروژن خاک به‌روش کجدال اندازه‌گیری شد [۴].

تجزیه و تحلیل آماری

نتایج حاصل از آزمایش‌ها در سه تکرار به‌صورت مقادیرمیانگین و خطای استاندارد (SE) بیان شد. اختلاف بین نمونه‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یک سویه (آنوا[۱]) در سطح احتمال ۵ درصد ($P <۰/۰۵$) بررسی شد. برای رسم نمودارها از نرم افزارهای SPSS۱۶/۰ و اکسل[۲] ۲۰۰۷ استفاده شد.

۱. ANOVA ۲. EXCEL

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-04-26]

نتایج

سنجش کمی آلکالوئید تام و میزان نیترات

میانگین محتوای آلکالوئید تام و محتوای نیترات غدد زیر زمینی دو گونه*ترب شیر* در جدول ۱، نشان داده شده است.

جدول۱. محتوای آلکالوئید تام (میلی‌گرم بر گرم وزن خشك) و محتوای نیترات (میکروگرم بر گرم) غدد زیرزمینی ترب‌شیر و ترب‌شیر صغیر

گونه	جمعیت	بینگین آلکالوئید تام (میلی‌گرم بر گرم وزن خشك)	محتوای نیترات (میکروگرم بر گرم)
ترب‌شیر	مریوان	۲۷/۱۲± ۱/۱۸ ^{a}	٤٢/٤٦ ± ٢/٣٩^{a}
ترب‌شیر	سنندج	۱۷/٤۲ ±۰/۷۷٦ ^{bc}	٦٣/١٣ ± ٣/٢٦^{bc}
ترب‌شیر صغیر	سنندج	۱۵/۳۸ ±۰/٦٥٥^{bc}	٨٠/٣٩ ±١/١٩^{bc}
ترب‌شیر صغیر	نقده	۷/٤ ±۰/۳۲۷^{d}	٨٦/٤٦ ±٢/٤٩^{d}

داده‌ها به‌صورت بینگین ± SE نشان داده شده‌اند وحروف غیرمشابه در هر ستون نشان‌دهندۀ تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد است

بین محتوای آلکالوئید تام غدد زیرزمینی ترب‌شیر جمعیت مریوان (۱/۱۸±۲۷/۱۲ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) با ترب‌شیر جمعیت سنندج (۰/۷۷±۱۷/۴۲ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) و بین ترب‌شیر صغیر جمعیت سنندج (۰/۶۵±۱۵/۳۸ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) و ترب‌شیر صغیر جمعیت نقده (۰/۳۲±۷/۴ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) اختلاف معنی‌داری نشان می‌دهد. بین محتوای آلکالوئید تام ترب‌شیر جمعیت مریوان (۱/۱۸±۲۷/۱۲ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) و ترب‌شیر صغیرجمعیت‌های سنندج (۰/۶۵±۱۵/۳۸ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) و نقده (۰/۳۲±۷/۴ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) و نیز بین محتوای آلکالوئید تام ترب‌شیر جمعیت سنندج (۰/۷۷±۱۷/۴۲ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) و ترب‌شیر صغیرجمعیت نقده (۰/۳۲±۷/۴ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) تفاوت معنی‌داری مشاهده شد لیکن بین ترب‌شیر جمعیت سنندج (۰/۷۷±۱۷/۴۲ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) با ترب‌شیر صغیرسنندج (۰/۶۵±۱۵/۳۸ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. بیش‌ترین محتوای آلکالوئیدی در ترب‌شیر جمعیت مریوان و کم‌ترین آن درترب‌شیر صغیرجمعیت نقده ارزیابی شد (جدول۱). محتوای آلکالوئیدی ترب‌شیر جمعیت مریوان به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از جمعیت سنندج و محتوای آلکالوئیدی ترب‌شیر صغیر جمعیت سنندج بیش‌تر از جمعیت نقده بود. بیش‌ترین مقدار نیترات مربوط به ترب‌شیر صغیر جمعیت نقده (۲/۴۹±۸۶/۴۶ میکروگرم بر گرم وزن خشک) و کم‌ترین آن مربوط به ترب‌شیر جمعیت مریوان (۲/۳۹±۴۲/۴۶ میکروگرم بر گرم وزن خشک) است.

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-04-26]

آنالیز خاك

نتایج حاصل از آنالیز خاك نشان داد که بافت خاک در مناطق مریوان، سنندج (تربشیر) و نقده، لومی- رسی و در منطقهٔ سنندج (تربشیر صغیر) شنی- لومی است. خاك هر چهار منطقه دارای pH قلیایی ضعیف است. بیشترین مقدار نیتروژن کل و پتاسیم مربوط به نقده وکمترین مقدار مربوط به مریوان است (جدول۲).

جدول۲. برخی ویژگیهای خاك مناطق نمونه برداری

منطقه	گونه	اسیدیته	نیتروژن کل (درصد)	پتاسیم قابل جذب (میلیگرم/کیلو گرم)	سیلت (درصد)	رس (درصد)	شن (درصد)	بافت خاک
مریوان	تربشیر	۷/۵	۰/۱۱	۱۸۰	۴۲	۳۵	۲۳	لومی-رسی
سنندج	تربشیر	۷/۱	۰/۱۵	۴۱۱	۳۶	۳۹	۲۵	لومی-رسی
سنندج	تربشیر صغیر	۷/۵	۰/۱۳	۳۱۲	۶	۱۲	۸۲	شنی-لومی
نقده	تربشیر صغیر	۷/۵	۰/۲۳	۶۴۷	۴۶	۳۳	۲۱	لومی-رسی

همبستگی بین مشخات خاک منطقه رویش و محتوای آلکالوئید تام

همبستگی بین محتوای آلکالوئید تام غدد زیرزمینی گیاه*تربشیر* و محتوای نیترات غدد زیرزمینی، ارتفاع محل رویش، pH خاک، نیتروژن کل، پتاسیم و بافت خاک با نرمافزار اکسل ۲۰۰۷ محاسبه شد. نتایج نشان داد بین محتوای آلکالوئید تام از سویی با نیتروژن کل و پتاسیم خاک و از سوی دیگر با محتوای نیترات غدد زیرزمینی رابطهٔ معکوس و معنیداری وجود دارد.. در سایر موارد ضریب همبستگی بسیارضعیف بهدست آمد (جدول ۳).

جدول ۳. ضریب همبستگی بین محتوای آلکالوئید تام غدد زیرزمینی تربشیر وتربشیر صغیر و محتوای نیترات غدد زیرزمینی، ارتفاع محل رویش، اسیدیته، ازت، پتاسیم و بافت خاک

همبستگی بین	معادلهٔ خط همبستگی	ضریب همبستگی
نیترات و آلکالوئید تام	Y=-۰/۳۹۱x+۴۳/۴۷	۰/۹۰۷ *
ارتفاع و آلکالوئید تام	Y=-۰/۰۰۳x+۲۳/۲۴	۰/۰۱۸
اسیدیته و آلکالوئید تام	Y=-۱/۹۶۶x+۳۱/۳۸	۰/۰۰۲
نیتروژن و آلکالوئید تام	Y=-۱۳۶/۹x+۳۸/۰۶	۰/۷۸۹ *
پتاسیم و آلکالوئید تام	Y=-۰/۰۳۸x+۳۱/۶۴	۰/۸۶۷ *
شن و آلکالوئید تام	Y=-۰/۰۲۵x+۱۷/۷۷	۰/۰۰۹
رس و آلکالوئید تام	Y=۰/۲۷۶x+۲۵/۰۹	۰/۰۳۴
سیلت وآلکالوئید تام	Y=۰/۰۱۱x+۱۶/۴۷	۰/۰/۰۰

*** تفاوت در سطح ۵ درصد معنیدار است**

بحث

اگرچه سنتز آلکالوئیدها در اصل تحت کنترل عوامل ژنتیکی است، اما آشکارا تحت تأثیر عوامل محیطی و تغییرات آنها نیز قرار میگیرد [۵]. نیترات بهعنوان منبعی نیتروژنی در محیط بر روی رشد، فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز بهعنوان یکی از عوامل کلیدی در تغذیهٔ نیتروژنی محدودکنندهٔ رشد، نمو و تولید پروتئین در گیاهان و سنتز آلکالوئیدها مؤثر است [۶]. نتایج بهدستآمده از آنالیز ضریب همبستگی نشان داد که بین نیترات با

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-04-26]

محتوای آلکالوئید تام رابطهٔ معکوس و معنی‌دار وجود دارد (جدول۳). با افزایش میزان نیترات، محتوای آلکالوئید تام گیاه کاهش می‌یابد. نیترات یکی از منابع تغذیهٔ نیتروژنی گیاه است. اولین مرحلهٔ احیای نیترات با آنزیم نیترات ردوکتاز انجام می‌شود. نیتریت حاصل از این فرایند با نیتریت ردوکتاز به آمونیوم تبدیل می‌شود و آمونیوم نیز برای سنتز اسیدهای آمینه (دگرگوهره‌های اولیه) مصرف می‌شود. دگرگوهره‌های اولیه مستقیماً در رشد و سوخت و ساز درگیر هستند [۷]. همهٔ آلکالوئیدها (دگرگوهره‌های ثانویه) حاوی نیتروژن هستند. این ترکیبات از اسیدهای آمینه و واکنش‌های ترانس آمیناسیون به‌وجود می‌آیند [۱۲]. با افزایش نیترات پیش‌سازهای اسیدآمینه برای دگرگوهرش اولیه و پیش‌سازهای مشترک در مسیرهای دگرگوهره اولیه و ثانویه، برای تولید زی‌توده و تداوم رشد مورد استفاده قرار می‌گیرند و در نتیجه عوامل محرک زی‌توده از جمله افزایش نیترات، محتوای آلکالوئید تام را کاهش می‌دهند [۱۸]. اسکلت کربنی دگرگوهره‌های ثانویه از کربوهیدرات‌ها تأمین شده و طی فرآیند فتوسنتز ایجاد می‌شود. دگرگوهره‌های اولیه دیگری که در تولید متابولیت‌های ثانویه نقش دارند، اسیدهای آمینه هستند [۱۲]. زیرا احیای نیترات نیاز به احیاکننده، انرژی و اسکلت کربنی دارد، این فرآیند در ارتباط تنگاتنگ با فتوسنتز و متابولیسم کربن است. تجمع نیترات منجر به کاهش سنتز و تجمع کربوهیدرات می‌شود و بخش بزرگی از کربن از طریق گلیکولیز و چرخه اسیدسیتریک به اسیدهای آلی تبدیل می‌شوند. در حضور مقادیر زیاد نیتروژن، مالات، سیترات و سوکسینات افزایش می‌یابند. این اسیدهای آلی می‌توانند به‌عنوان پیش‌سازهای کربنی برای اسیدهای آمینه عمل کنند و همچنین از قلیایی شدن[۱] جلوگیری می‌کنند [۱۹]. تا کنون روی استخراج و اندازه‌گیری محتوای آلکالوئید تام این گونه‌ها و بررسی اثر عوامل محیطی روی آن پژوهشی صورت نگرفته است. نتایج حاصل از این تحقیق با تحقیقات زیرمطابقت می‌کند. ایران‌بخش (۱۳۸۳) با تحقیق روی داتورا[۲] نشان داده است که افزایش غلظت نیترات موجب کاهش بیوسنتز آلکالوئیدهای تروپان می‌گردد [۸]. دمیر[۳] و دژاگرا[۴] (۱۹۸۸) گزارش کردند که افزایش غلظت نیترات در ریشه‌های تراریخت داتورا استرامونیوم باعث افزایش زی‌توده می‌گردد ولی بیوسنتز آلکالوئیدهای تروپانی را مهار می‌کند [۱۸].

رویز[۵] و همکاران (۲۰۰۱) گزارش کردند افزایش غلظت نیترات در تنباکو باعث افزایش فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز و احیای بیش‌تر نیترات و در نتیجه افزایش زی‌توده و همچنین افزایش تولید آلکالوئید می‌گردد [۲۰]، که این نتیجه با نتایج حاصل از تحقیق حاضر همخوانی ندارد.

نتایج حاصل از بررسی همبستگی‌ها نشان داد بین محتوای آلکالوئید تام نمونه‌های گیاهی و اسیدیته، بافت خاک و ارتفاع محل رویش ضریب همبستگی بسیار ضعیف است (جدول۳). بنا بر این شاید بتوان نتیجه گرفت که تأثیر این عوامل در تفاوت مشاهده شده بین محتوای آلکالوئیدی گیاهان ناچیز است و این تفاوت‌ها به‌طور عمده به سایر عوامل خاکی منطقه یعنی نیتروژن کل و پتاسیم خاک بستگی دارد. گونهٔ *تربشیر* از دو منطقه مریوان و سنندج جمع‌آوری شد. این دو منطقه از نظر نیتروژن کل و پتاسیم خاک تفاوت دارند. نیتروژن کل و

۱.alkalization ۲. *Datura stramonium* ۳. Demeyer ٤. Dejaegere ٥. Ruize

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-04-26]

پتاسیم خاک منطقه مریوان به‌ترتیب ۰/۱۱ درصد و ۱۸۰ میلی‌گرم در کیلوگرم، در حالی‌که در منطقهٔ سنندج ۰/۱۵ درصد و ٤۱۱ میلی‌گرم در کیلوگرم است. گونهٔ تربشیر صغیر از دو منطقه سنندج و نقده جمع‌آوری شد. نیتروژن کل و پتاسیم خاک در منطقه سنندج به‌ترتیب ۰/۱۳ درصد و ۳۱۲ میلی‌گرم در کیلوگرم و در منطقه نقده ۰/۲۳ درصد و ٦٤۷ میلی‌گرم در کیلوگرم است. با توجه به این‌که گیاهان جمع‌آوری شده از منطقهٔ مریوان نسبت به سنندج دارای محتوای آلکالوئیدی بیش‌تری هستند و از طرفی گونهٔ گیاهان جمع‌آوری شده نیز یکسان است و هم‌چنین محتوای آلکالوئیدی گونهٔ تربشیر صغیر جمعیت سنندج نسبت به نقده بیش‌تر است، به‌نظر می‌رسد که شرایط خاص منطقهٔ مریوان برای گونهٔ تربشیر و منطقهٔ سنندج برای تربشیر صغیر مانند نیتروژن کل و پتاسیم خاک موجب افزایش محتوای آلکالوئیدی این جمعیت‌ها نسبت به جمعیت‌های مریوان و نقده می‌شود.

محتوای آلکالوئید گیاه معمولاً به سطح نیتروژن قابل دسترس بستگی دارد. در طی مسیر بیوسنتز آلکالوئیدها نیتروژن موجود در پیش‌سازمی‌تواند آزاد شود و یا نیتروژن اضافه به مولکول پیوند شود. بعضی پیش‌سازهای آلکالوئیدی از نظر نیتروژن نسبت به خود آلکالوئید غنی‌تر هستند و در بعضی موارد آلکالوئیدها غنی‌تر از پیش‌سازهایشان هستند. این می‌تواند دلیلی بر این موضوع باشد که بعضی آلکالوئیدها نسبت به‌مقدار نیتروژن قابل دسترس برای گیاه حساس‌تر از بقیهٔ هستند [۱۲]. غلظت آلکالوئیدها باید با افزایش سطح نیتروژن قابل دسترس افزایش یابد به‌دلیل این‌که این ترکیبات برای بیوسنتز نیاز به نیتروژن دارند [۱۸]. در این تحقیق بین محتوای آلکالوئید تام و مقدار نیتروژن کل خاك رابطهٔ معکوس معنی‌داری وجود دارد (جدول۳) و با افزایش میزان نیتروژن محتوای آلکالوئید تام کاهش می‌یابد. این نشان می‌دهد که بیوسنتز آلکالوئیدهای این گیاه احتمالاً به‌ندرت نسبت به نیتروژن محدود هستند و غلظت آن‌ها ممکن است بیش‌تر به میزان کربن قابل دسترس وابسته باشند [۱۸].

نتایج حاصل از این تحقیق با برخی پژوهش‌ها سازگار نیست که از جملهٔ این موارد عبارتند از:

دیلمقانی و همکاران (۱۳۸۶) اعلام کردند که با افزایش مقدار ازت خاک میزان هیوسیامین و اسکوپولامین در دو گونه از جنس بذرالبنج[۱] افزایش می‌یابد [۵]. خوش لهجه و ارادتمند (۲۰۱۳) گزارش کردند که با افزایش مقدار ازت، میزان آلکالوئید فیزالین[۲] در گیاه عروسک پشت پرده[۳] افزایش می‌یابد [۲۱].

آنالیزهای آماری مشخص کرد که بین محتوای آلکالوئید تام نمونه‌های گیاهی و مقدار پتاسیم موجود در خاك رابطهٔ معکوس و معنی‌داری وجود دارد (جدول۳). این یون به‌طور مستقیم فعالیت بسیاری از آنزیم‌ها، از جمله آنزیم‌های مربوط به بیوسنتز آلکالوئیدها را با تأثیر بر روی پیکربندی پروتئین تنظیم می‌کند [۵]. با توجه به این که آلکالوئیدهای جنس *تربشیر* از آمینواسیدهای تیروزین و لیزین سنتز می‌شوند و از طرفی لیزین تحت تأثیر لیزین دکربوکسیلاز به پیش‌ساز آلکالوئیدی کاداورین (آمین) تبدیل می‌شود و نیز تیروزین تحت تأثیر تیروزین دکربوکسیلاز به تیرامین تبدیل می‌شود [۱۲]. این احتمال وجود دارد که کاهش پتاسیم عرضهٔ این پیش‌سازهای آلکالوئیدی رابا افزایش فعالیت آنزیم‌های لیزین دکربوکسیلاز و تیروزین دکربوکسیلاز افزایش دهد.

۱. *Hyosyamus L.* ۲.physaline ۳. *Physalis alkekeng L.*

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-04-26]

دیلمقانی و همکاران (۱۳۸۶) با کار بر روی دو گونه بذرالبنج بیان کردند که تراز پایین‌تر پتاسیم به افزایش میزان تروپان آلکالوئیدها منجر می‌شود. این مسئله نشان می‌دهد که کاهش یون پتاسیم عرضهٔ پیش‌ساز آلکالوئید را با افزایش فعالیت آنزیم‌های آرژنین‌دکربوکسیلاز و اورنیتین دکربوکسیلاز که مسئول سنتز پیش‌ساز پلی‌آمینی پوترسین هستند، افزایش می‌دهد اگرچه این امر به بررسی‌های بیش‌تر نیازدارد، زیرا اطلاعات محدودی در بارهٔ تأثیر مواد معدنی بر بیوسنتز دگرگوهره‌های ثانویه وجود دارد [۵].

نتایج حاصل از آنالیز داده‌ها نشان داد که بین محتوای آلکالوئید تام گونهٔ ترب‌شیر جمعیت‌های مریوان و سنندج و همچنین بین محتوای آلکالوئیدی گونهٔ ترب‌شیر صغیرجمعیت‌های سنندج و نقده اختلاف معنی‌داری وجود دارد (جدول۱). علاوه بر اثر مشخصات خاک منطقه که در بالا ذکر شد، این تفاوت می‌تواند مطابق با سایر مشخصات گونه‌ها باشد: حضور چندین کمدیوم[۱] در داخل هر دو گونهٔ کمدیوم‌ها به یک گروه از گیاهان درون یک گونه مربوط می شود که خصوصیات مورفولوژیکی یک‌سان دارند ولی از نظر شیمیایی متفاوتند. حضور این ترکیبات می‌تواند منجر به ایجاد تنوع در نوع و محتوای ترکیبات معینی از جمله دگرگوهره‌های ثانویه شود.این ترکیبات می‌توانند نیمرخ‌های شیمیایی بسیار متفاوت تولید کنند. جمعیت‌های مختلف در خیلی از گونه‌های گیاهی از نظر شیمیایی تنوع زیادی از خود نشان می‌دهند [۲۲] .

گابریل[۲] و همکاران (۱۹۹۳) با کار بر روی گونهٔ ترب‌شیر جمع‌آوری شده از دو منطقهٔ فلسطین اشغالی گزارش کردند که تفاوت‌های کمّی بین محتوای آلکالوئیدی نمونه‌های دو منطقه به‌علت حضور چندین کمودیوم در داخل ترب‌شیر وجود دارد [۱۱].

در پژوهش کمالیدینو[۳] و همکاران (۱۹۶۹)، مقایسه‌ای بر روی اندام‌های هوایی لئونتیس آلبرتی[۴] از مناطق مختلف محتوای آلکالوئید تفاوت کمّی نشان داد [۲۳].

بین محتوای آلکالوئید تام ترب‌شیر جمعیت مریوان و ترب‌شیر صغیرجمعیت‌های سنندج و نقده و محتوای آلکالوئید ترب‌شیر جمعیت سنندج و ترب‌شیر صغیرجمعیت نقده تفاوت معنی‌دار مشاهده شد، ولی بین ترب‌شیر جمعیت سنندج و ترب‌شیر صغیرسنندج، تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (جدول۱). از آن‌جا که سنتز ترکیبات آلکالوئیدی تحت کنترل فرایندهای ژنتیکی است، این تفاوت‌ها ناشی از تفاوت‌های ژنتیکی و نیز تفاوت در محل انتشار گونه‌ها است. عدد کروموزومی *ترب‌شیر* ۲n= ۱۲ (n=۸+۱B) و ترب‌شیر صغیر ۲n=۱٤ است [۲۴]. *ترب‌شیر* به‌صورت علف هرز در اراضی زراعی و به‌ندرت در مراتع با خاك عمیق می‌روید و ترب‌شیر صغیردر ارتفاعات و اراضی سنگلاخی و فقیر می‌روید [۱]. در این زمینه تحقیقات زیادی صورت گرفته است از آن جمله می‌توان به این موارد اشاره کرد:

گابریل وهمکاران (۱۹۹۳) نیمرخ آلکالوئیدی اندام‌های مختلف ترب‌شیر و *لئونتیس اورسمانیی*[۵] بررسی و بیان کردند که تفاوت چشمگیر بین نیمرخ آلکالوئیدی دو تاکسون با سایر ویژگی‌های آن‌ها مانند انتشار(جغرافیای زیستی)

۱. Chemodemes ۲. Gabriele ۳. Kamalitdinov ۴. *L. albertii* Rgl ۵. *L. ewersmannii*Bge

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-04-26]

و سطح پلوئیدی مطابقت دارد [۱۱]. دیلمقانی و همکاران (۱۳۸۶) در بررسی میزان آلکالوئیدهای تروپان هیوسیامین و اسکوپولامین در دو گونهٔ بذرالبنج اعلام کردند که گونهٔ آراکنوئیدس[۱] از نظر تراز آلکالوئیدی غنی‌تر از گونهٔ رتیکولاتوس[۲] است و از نظر ژنتیکی توان بیوسنتزی بالاتری دارند. تأیید تفاوت‌های کمی مشخص درون یك جنس به‌روشنی می‌تواند نشان دهد که خزانهٔ اختلافات ژنتیکی بزرگی در بین گونه‌های جنس هیوسیاموس[۳] وجود دارد که در تولید تروپان آلکالوئیدها به‌کار گرفته می‌شود. عوامل اکولوژیکی تولید این آلکالوئیدها را تحت تأثیر قرار می‌دهد [۵]. عواملی که رشد و نمو و بیوسنتز ترکیبات ثانویه را در گیاهان تحت تأثیر قرار می‌دهند، عوامل اکولوژیکی، ژنتیکی، محل انتشار ومیزان مواد مغذی خاک هستند [۹].

نتیجه‌گیری

اگرچه سنتز آلکالوئیدها تحت کنترل ژنتیك است، ولی با توجه به هم‌بستگی‌های حاصل و نیز تفاوت معنی‌دار محتوای آلکالوئید تام گونه‌های یك‌سان از مناطق مختلف با یك‌دیگر می‌توان نتیجه گرفت که محتوای آلکالوئید تام تحت اثر عوامل محیطی و تغییرات آن‌ها قرار می‌گیرد. در تحقیق‌های بعدی می‌توان گونه‌های مناطق بیش‌تری را بررسی کرد و نقش تغییرات غلظت عناصر بر محتوای آلکالوئیدی این گیاه نیز در شرایط کنترل شده آزمایشگاهی به‌صورت دقیق‌تر بررسی کرد.

قدردانی

از همکاری خانم‌ها فضه محمدی، مهندس ندا فرناد و جناب آقای دکتر احمد پورستار سپاس‌گزاری می شود.

منابع

۱. حسین معروفی، *فلورایران*، شمارهٔ۵۶، تیرهٔ شیرپنجه، انتشارات مؤسسهٔ تحقیقات جنگل‌ها ومراتع کشور (۱۳۸۶).

۲. یدالله نجفی، *جغرافیای عمومی استان کردستان*، انتشارات امیرکبیر (۱۳۶۹).

۳. *خلاصه سیمای آب و هوا، اقلیم و منابع آب استان آذربایجان غربی*، ادارهٔ کل مطالعات و بررسی‌های اقتصادی، (۱۳۸۸) ۳-۶.

۴. امیرحسین خوش‌گفتارمنش، *ارزیابی وضعیت تغذیه ای گیاه و مدیریت بهینه کودی (تالیف)*، انتشارات دانشگاه صنعتی اصفهان (۱۳۸۶۳).

۵. کمال الدین دیلمقانی، حمید فهیمی، رمضانعلی خاوری‌نژاد، حسن حکمت‌شعار، *مقایسه میزان آلکالوئیدهای تروپان گونه‌های Hyoscyamus reticulates* L. *و Hyoscyamus arachnoideus* Pojark *در مراحل مختلف رشد*، مجله علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی (۱۳۸۶) ۵۰، ۶۶-۶۱.

---

۱. *H. arachnoideos* Pojark ۲. *H. reticulates* L. ۳. *Hyoscyamus*

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-04-26]

۶. رمضانعلی خاوری‌نژاد، ندا محمدی، *تأثیر غلظت‌های مختلف نیترات و آمونیوم بر رشد و فعالیت آنزیم نیترات‌ردوکتاز و مقدار ترویپان آلکالوئیدها در گیاه بنگدانه*، نشریهٔ علوم دانشگاه تربیت معلم (۱۳۸۶) جلد۷، شمارهٔ ۴، ۹۶۳- ۹۷۲.

۷. لینکولن تایز، ادواردو زایگر، *فیزیولوژی گیاهی*، ویرایش سوم، انتشارات خانه زیست شناسی (۲۰۰۲)، ۳۲۹-۳۴۳.

۸. علیرضا ایران‌بخش، *بهینه‌سازی رشد و تولید آلکالوئیدهای تروپانی در کشت سوسپانسیون سلولی گیاه تاتوره*، پژوهش و سازندگی (۱۳۸۳) شماره۶۲.

۹. محمدجمال سحرخیز، *تأثیر زمان برداشت میوه گیاه دارویی آنیسون بر اسانس و مواد متشکله آن*، پایان‌نامهٔ کارشناسی ارشد باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس (۱۳۸۱).

10. S. Sahranavard, F. Naghibi, M. Mosaddegh, S. Esmaeili, P. Sarkhail and S .Ghafari, "Cytotoxic activities of selected medicinal plants from Iran and phytochemical evaluation of the most potent extract", Research in Pharmaceutical Sciences, 4 (2009) 133-137.

11. G. Gabriele, P. Bachman, L. Wittet and E. C. Czygan, "Distribution and taxonomic significance of Quinolizidine alkaloids in *L. leontopetalum* and *L. ewersmannii* (Berberidaceae)", Biochemical Systematics and Ecology, 21 (1993) 679-685.

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

13. B. Nickavar, A. Alinaghi, M. Kamalinegad, "Evaluation of the antioxidant properties of five *Mentha* species", Phytochemistry, 7 (2006) 203-209.

14. S. Iskandarov, S. Y. U. Yunusov, "Alkaloids of *darvasica"*, 5 (1969) 132.

15. F. Shamsa, H. Monsef, R. Ghamoshi, M. Verdian-rizi, "Spectrophotometer determination total alkaloid in some Iranian medicinal plant", Pharmaceutical Science, 32 (2008) 17-20.

16. L. Krenn, S. Glantschig and U. Sorgner, "Determination of five major opium alkaloids by Reversed-phase high-Performance liquid chromatography on a base-Deactivated Stationary Phase", Chromatographia, 47 (1998) 21-24

17. D. A. Cataldo, M. Haroon, L. E. Schrader, V. L. Youngs, "Rapid colorimetric determination nitrate in plant tissues by nitration of salicylic acid", Common in Soil Science and Plant Analysis, 6 (1975) 71-80.

18. K. Demeyer, R. Dejaegere, "Influence of the mineral nutrition on yield and alkaloid content in *Darura stramonium*", Medelingen Van de Facultei, 53 (1988) 1723-1725.

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-04-26]

19. S. Rasmussen, A. J. Parsons, K. Fraser, H. Xue, J. A. Newman, "Metabolic profiles of *Lolium perenne* are differentially affected by nitrogen supply", carbohydrate content, and fungal endophyte Infection, Plant Physiology, 146 (2008) 1440-1453.
20. J. M. Ruiz, L. R. Lopez-Lefebre, E. Sanchez, R. M. Rivero Pablo, C. Garcia, L. Romero, "Preliminary studies on the influence of boron on the foliar biomass and quality of tobacco leaves subjected to NO^{-3} fertilization", Science of Food and Agriculture, 81(2001) 739-744.
21. A. Khoshlahjeh, D. Eradatmand Asli, Z. Lotfi, Z. Fakharian Kashani, M. Shirmard, "Effects of pyridoxine and different levels of nitrogen on qualitative and quantitative yield of *Physalis* alkekengi", 3, 6 (2013) 204-211.
22. M. Lavrieux, J. Jacob, C. Lemilbeau, R. Zocatelli, K. Masuda, J. Breheret, J. Disnar, "Occurrence of triterpenyl actates in soil and their potential as chemotaxonomical markers of Asteraceae", Organic Geochemistry, 42 (2011) 1315-1323.
23. D. D. Kamalitdinov, S. Iskandarov, S. Y. Yunusov, "A study of the alkaloids of *albertii"*, Khimiya Prirodnykh Soedinenii, 5 (1969) 409-412.
24. J. W. Nowicke, J. J. Skvarla, "Pollen Morphology and Phylogenetic Relationships of the Berberidaceae", Smithsonian Institution Press, 50 (1981).

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-04-26]