نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۲۵، شماره ۴، زمستان ۱۳۹۰ ، ص. ۴۳۳-۴۲۵
شاپا: ۴۷۳۰ - ۲۰۰۸

Journal of Horticultural Science
Vol. 25, No. 4, Winter 2012, P. 425-433
ISSN: 2008 - 4730

بررسی نقش برخی عناصر غذایی مهم بر تولید بنه و میزان کلشی سین در گیاه *Colchicum kotschyi* Boiss در شرایط کشت بدون خاک

مرتضی علیرضایی نغندر[1*]- حسین آروئی[2]- شمسعلی رضازاده[3]- محمود شور[4]- حسن بیات[5]

تاریخ دریافت:۸۹/۱۲/۱۵
تاریخ پذیرش:۹۰/۷/۵

چکیده

Colchicum kotschyi Boiss (از خانواده Colchicaceae) یکی از ۱۶ گونه ی گل حسرت بومی ایران است که حاوی مقادیر قابل توجهی کلشی سین می‌باشد. به منظور بررسی تأثیر سطوح مختلف عناصر غذایی در کشت بدون خاک در فضای آزاد، بر عملکرد بنه و میزان کلشی سین گیاه دارویی *Colchicum kotschyi* Boiss آزمایشی در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تیمار محلول غذایی (I : ۱۰۰، ۶۰، ۱۵۰، ۱۰۵. II: ۱۵۰، ۶۷، ۲۰۰، ۱۵۸. III: ۲۰۰، ۷۵، ۲۶۰ و ۲۵۰ میلی گرم در لیتر به ترتیب برای عناصر نیتروژن، فسفر، پتاسیم و کلسیم) در سه تکرار (۵ مشاهده در هر تکرار) در مزرعه دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد در سال ۸۹-۱۳۸۸ انجام شد. بنه‌های یکنواخت در مرداد ماه از عرصه جمع آوری شدند و در گلدانهایی که با نسبت مساوی از کوکوپیت و پرلایت پر شده بودند، در فضای باز کشت شدند و با محلولهای غذایی I، II و III تغذیه شدند. بیشترین و کمترین عملکرد تر و خشک بنه به ترتیب در تیمار محلول غذایی III و I مشاهده شد. بیشترین و کمترین درصد وزن خشک کورم، میزان کلشی سین در یک گرم وزن خشک و عملکرد کلشی سین به ترتیب در تیمار محلول غذایی II و I به ترتیب با مقادیر ۲۸/۴ درصد، ۰/۵۵۳ mg/g وزن خشک، ۷/۰۴ mg و ۲۳ درصد، ۰/۲۶۴ mg/g ماده ی خشک و ۲/۴۰۷ mg بدست آمد. بطور کلی نتایج نشان داد که محلول غذایی II با سطوح ۱۵۰، ۶۷، ۲۰۰ و ۱۵۸ میلی گرم در لیتر به ترتیب از عناصر نیتروژن، فسفر، پتاسیم و کلسیم، بهترین عملکرد کلشی سین را نسبت به تیمارهای دیگر بدنبال داشته است.

واژه‌های کلیدی: کلشی سین، *Colchicum kotschyi* Boiss، عملکرد کورم، محلول غذایی، کشت بدون خاک

مقدمه

جنس گل حسرت[6] متعلق به خانواده کلشیکاسه[7] بوده و بالغ بر ۱۰۰ گونه از این جنس در جهان وجود دارد (۲۴). این گیاه در ایران به سورنجان یا گل حسرت شهرت یافته است و رشد بیش از ۱۶ گونه‌ی آن در ایران گزارش شده است (۲۱). سورنجان بیش از سه هزار سال است که بعنوان گیاه دارویی مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱۴). ماده مؤثره ی این جنس از نوع آلکالوئید می‌باشد و آلکالوئید اصلی آن کلشی سین[8] است که در تمام قسمتهای گیاه همچون بنه، بذر، برگ و گل وجود دارد، اما بذرها و بنه‌ها حاوی مقادیر بیشتری کلشی سین می‌باشند. کلشی سین که اولین بار در سال ۱۸۲۰ جداسازی و شناسایی شد (۲۰)، عمدتا از منابع گیاهی بدست می‌آید زیرا تولید آن به روش سنتز شیمیایی اقتصادی نمی باشد (۲۲). در پزشکی مدرن خواص شناخته شده کلشی سین، شامل اثرات متوقف کننده سرطان، ضد رماتیسم، ضد التهاب، مسهل، قی آور، درمان اختصاصی نقرس حاد (۷، ۱۱ و ۱۲) و بیماری تب مدیترانه ای خانوادگی (۸) می‌باشند. همچنین در به نژادی گیاهان به منظور القاء پلی پلوئیدی کاربرد گسترده ای دارد (۲۲).

کشت و کار و اهلی سازی گیاهان دارویی بعلت برداشت بیرویه

۱،۲،۴و۵- به ترتیب دانشجوی دکتری، استادیاران و دانشجوی دکتری گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
(*- نویسنده مسئول: Email: mortezaalirezaie@yahoo.com)
۳- استادیار گروه فارماکوگنوزی و داروسازی، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی، کرج

6- *Colchicum* L.
7- Colchicaceae
8- Colchicine

آنها از طبیعت امری ضروری می‌نماید. از طرفی بدلیل افزایش تقاضا برای کلشی سین، اقبال عمومی مردم در استفاده از گیاهان دارویی و کاهش نقش داروهای شیمیایی در درمان بیماریها، طراحی و اجرای سیستمهای کشت و کار جایگزین با کارایی بالا بیش از پیش مورد توجه است. یکی از روشهای مدرن کشت و کار گیاهان دارویی که اخیرا توجه زیادی را به خود جلب کرده است، سیستم کشت بدون خاک در فضای باز است. در این روش رقابت گیاه با علفهای هرز کاهش می‌یابد، نیاز به کنترل بیماریهای خاکزی و آفات حذف می‌شود و از طرف دیگر کارایی مصرف آب افزایش می‌یابد و همچنین از مزایای اقلیم منطقه مانند: طول روز، تشعشع خورشیدی، دما، رطوبت و دیگر عوامل محیطی استفاده مطلوب بعمل می‌آید (۹). تولید محصولی یکنواخت با بهبود در غلظت ترکیبات دارویی از دیگر امتیازات قابل ذکر این روش است (۱۰ و ۱۴). در کشت هیدروپونیک گیاه دارویی سنبل الطیب عملکرد ریشه ۱۵/۲ برابر بیشتر از شرایط مزرعه گزارش داده شد (۱۵). باباخانیان (۵) گزارش داد که در کشت هیدورپونیک گیاه پروانش[1] میزان آلکالوئیدهای ایندولی به طور قابل ملاحظه ای از گیاهان رشد یافته در شرایط مزرعه بیشتر بود.

اطلاعات کمی درباره ی رفتار گیاهان دارویی تحت شرایط مختلف کشت و کار مخصوصا فاکتورهای دخیل در بیوسنتز آلکالوئیدهای شبه کلشی سینی وجود دارد. یکی از مسائل اصلی پیش رو در کشت بدون خاک گیاهان دارویی این است که عوامل مختلف چگونه در کنار هم بیایند تا عملکرد و مهمترین شاخصهای کیفی محصول به بهترین وجه ممکن افزایش یابند (۱۰). سطوح عناصر غذایی در عملیات کوددهی از عواملی است که نقش مهمی در افزایش عملکرد کمی و کیفی گیاهان دارویی در شرایط مختلف کشت و کار ایفا میکند. آل فیاد و همکاران (۳ و ۴) تأثیر سطوح مختلف ازت، فسفر و پتاس را بر عملکرد بنه و کلشی سین دو گونه گل حسرت در شرایط کشت خاکی مورد بررسی قرار دادند و گزارش دادند که بهترین عملکرد بنه و کلشی سین در نسبت ۷۵:۱۰۰:۷۵ این عناصر حاصل می‌شود. همچنین کارایی محلولهای مختلف غذایی Davtyan، Steiner ، Chesnokov-Bazirina و Knop در کشت بدون خاک *C. speciusum* مورد بررسی قرار گرفت. بهترین عملکرد بنه و کلشی سین در محلول غذایی knop بدست آمد (۲۵). هدف از این تحقیق، بررسی تأثیر سطوح مختلف عناصر غذایی نیتروژن، فسفر، پتاسیم و کلسیم بر صفات مربوط به عملکرد بنه و میزان کلشی سین در کشت بدون خاک در فضای آزاد گیاه دارویی *C.kotschyi* بود.

مواد و روش ها

بنه‌های *C.kotschyi* در اواخر مرداد سال ۱۳۸۸ در زمانی که گیاهان به فاز استراحت وارد شده بودند از ناحیه ی نغندر در حوالی شهر مشهد به تعداد مورد نیاز جمع آوری شده و توسط کارشناس گیاه شناسی پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد شناسایی شدند. مختصات جغرافیایی و ویژگیهای اقلیمی ناحیه رویشگاهی نغندر و نیز محل انجام آزمایش در دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد به ترتیب از سایت جهاد کشاورزی استان خراسان رضوی و ایستگاه هواشناسی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد استخراج شد که در جدول ۱ آمده است. به منظور کشت بنه‌ها در بستر بدون خاک، بنه‌های سالم و تقریبا یکنواخت از لحاظ اندازه و وزن انتخاب شدند و پس از ضدعفونی توسط قارچ کش در اوایل شهریور به گلدانهایی با قطر دهانه ۳۰ سانتیمتر که شامل نسبت مساوی از کوکوپیت و پرلایت بودند انتقال یافتند.

محلول غذایی بکار رفته در این پژوهش از نوع نوپ[2] (۱۶) تغییر یافته بود. مطالعات بر روی گونه‌های مختلف گل حسرت نشان داده که سطوح عناصر ماکرو در تولید بنه و ماده ی مؤثره بسیار مهم هستند (۴). بنابراین در این آزمایش سه نوع محلول غذایی I، II و III با غلظتهای مختلف نیتروژن، فسفر، پتاسیم و کلسیم بکار رفت که در جدول ۲ نشان داده شده است. غلظت عناصر دیگر در محلولها ثابت بود که شامل : ۲۰ منیزیم، ۲۶ گوگرد، ۰/۵ بور، ۰/۵ مس، ۱/۵۸ آهن، ۰/۳۵ منگنز، ۰/۰۲ مولیبدن و ۰/۳۴ روی، بر حسب میلی گرم در لیتر بودند.

به محض ظهور برگها در اواخر اسفند، تغذیه گیاهان با محلولهای غذایی هر روز دو مرتبه و هر مرتبه با ۱۰۰ سی سی محلول غذایی به صورت دستی انجام شد. به منظور جلوگیری از تجمع نمک در بسترها، هر دو هفته یکبار بسترها کاملا با آب شستشو می‌شدند. تغذیه ی گیاهان تا ۳۰ اردیبهشت ماه سال ۸۹ انجام شد و به محض ظهور علائم زوال برگ‌ها متوقف گشت. صفات مورد بررسی شامل وزن تر، خشک، درصد وزن خشک، طول و عرض بنه، عملکرد تر و خشک بنه، میزان کلشی سین در یک گرم ماده خشک بنه، میزان کلشی سین کل بنه و عملکرد کلشی سین بودند.

برداشت بنه‌ها و اندازه گیری صفات مربوط به عملکرد کورم

قطر و طول بنه‌ها پس از برداشت و شستشو با استفاده از کولیس دیجیتالی با دقت ۰/۰۱ میلی متر اندازه گیری شد. وزن تر و خشک بنه‌ها نیز با ترازوی دیجیتالی ۰/۰۰۱ اندازه گیری شد و درصد وزن خشک بنه بدست آمد. عملکرد تر و خشک بنه نیز به ترتیب از حاصلضرب تعداد بوته‌ها در هر تکرار (۵ بوته) × میانگین وزن تر و خشک بنه محاسبه شد.

1- *Catharanthus roseus*

2- Knop

جدول۱- اطلاعات اقلیمی مربوط به نواحی کشت و رویشگاهی *Colchicum kotschyi* Bioss

مناطق	میانگین درجه حرارت °C	میانگین بارندگی سالانه(mm)	درصد رطوبت نسبی	ارتفاع از سطح دریا (m)	عرض جغرافیایی	طول جغرافیایی
مشهد (محل کشت)	۱۴,۲	۲۶۰,۶	۵۴,۴	۱۰۳۰	۳۶′ ۲۰ °	۵۹′ ۳۹ °
نغندر (رویشگاه)	۱۱,۵	-	۶۱	۱۴۰۰	۳۶′ ۲۲ °	۵۹′ ۱۷ °

جدول ۲ - غلظت عناصر در محلول‌های غذایی مختلف

محلول غذایی	غلظت عناصر (میلی گرم در لیتر)			
	N	P	K	Ca
I	۱۰۰	۶۰	۱۵۰	۱۰۵
II	۱۵۰	۶۷	۲۰۰	۱۵۸
III	۲۰۰	۷۵	۲۶۰	۲۰۵

عصاره گیری نمونه‌های گیاهی

نمونه‌های گیاهی بلافاصله پس از برداشت، تمیز و خرد شده سپس در دمای اتاق خشک شدند. عصاره گیری از نمونه‌ها و تعیین میزان کلشی سین در عصاره ها، در محل پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی انجام گرفت. عصاره گیری مطابق با روش توضیح داده شده الالی و همکاران (۲) انجام شد. روش کار به این صورت بود که ابتدا نمونه‌های خشک شده، آسیاب شدند و از هر نمونه پودر شده دو گرم وزن کرده و داخل ارلن ml ۲۵۰ ریخته شد. به هر ارلن ml ۱۰۰ متانول اضافه شد و به مدت ۱ ساعت در دمای ۳۵ درجه سانتیگراد درون دستگاه اولتراسونیک قرار داده شد، سپس مخلوط مورد نظر صاف شده و پودر روی صافی دوبار هر بار با ۵ میلی لیتر متانول شسته شد. پودر روی صافی دوباره به ارلن مایر منتقل گشت و این بار ml ۵۰ متانول به آن اضافه شد و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۳۵ درجه سانتیگراد مجدداً سونیکات شد و دوباره مخلوط صاف شده و سپس ۲ مرتبه هر بار با ml ۵ متانول شسته شد و به محلول متانولی به دست آمده از مرحله قبل اضافه گشت. محلول حاصل از صاف کردن به قیف دکانتور منتقل شد و به منظور چربی زدایی سه مرحله هر بار با ml ۳۰ اتر دوپترول عمل چربی زدایی صورت گرفت. برای جداسازی بهتر و ایجاد دو فاز مجزا به محلول ml ۱۰ آب مقطر و ml۱۰ محلول نمک اشباع اضافه شد. فاز متانولی حاصل به یک دکانتور خالی منتقل شد و ۳ مرتبه و هر بار با ml ۳۰ کلروفرم عمل استخراج صورت گرفت (در این مرحله نیز از محلول نمک اشباع و آب مقطر برای جداسازی و ایجاد فازهای جداگانه استفاده شد). به منظور آبگیری به محلول کلروفرمی، سدیم سولفات انیدر اضافه شد و سپس از کاغذ صافی عبور داده شد و با دستگاه روتاری، حلال (کلروفرم) کاملا جدا شد و مواد باقیمانده با ml ۵ متانول HPLC جمع آوری شد.

مراحل کار HPLC

به منظور تعیین میزان کلشی سین در عصاره ی آلکالوئیدی، روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا[1] استفاده شد. مشخصات دستگاه HPLC به کار رفته به صورت زیر است:

دستگاه HPLC مدل Knauer، دستگاه گاززدا degasser knauer، پمپ HPLC pump K-1001، دستگاه تزریق اتوماتیک Auto smaller knauer و دستگاه چمبر Dynamic. mixing chamber فاز متحرک به کار برده شده شامل بافر فسفات و استونیتریل با نسبت (۲۳:۷۷) بود. سرعت جریان حلال[2] برابر با ۲ میلی لیتر در دقیقه و حجم هر بار تزریق برابر ۵۰ میکرولیتر بود. ستون Bondapck C18 (3.9*300) و آشکارساز ماوراء بنفش با طول موج ۲۴۳ نانومتر مورد استفاده قرار گرفت.

رسم منحنی کالیبراسیون استاندارد آلکالوئید کلشی سین

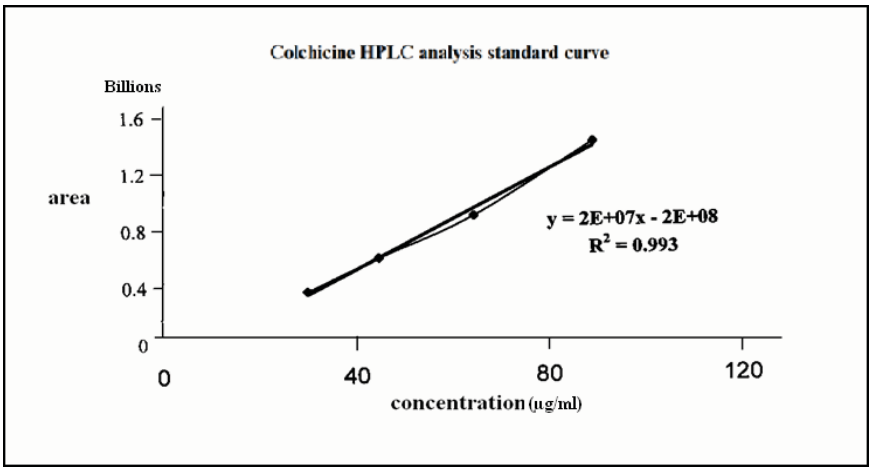
برای تهیه ی غلظت‌های استاندارد جهت رسم منحنی کالیبراسیون، ابتدا mg ۱۰ از استاندارد کلشی سین وزن کرده، سپس با متانول به حجم ml ۱۰ رسانده شد. از روی این محلول غلظتهای استاندارد ۳۰، ۵۰، ۷۵، ۹۰، ۱۰۰ و µg/ml ۱۲۰ بدست آمد. با توجه به غلظت و سطح زیر منحنی پیک های حاصل از کروماتوگرام های حاصله از HPLC، منحنی کالیبراسیون برای کلشی سین رسم شد (شکل۱). نمودار کروماتوگرام های مربوط به استاندارد کلشی سین و تیمارهای آزمایش در شکل شماره ۲ آورده شده است.

مقدار کلشی سین بنه از حاصلضرب میزان کلشی سین در هر گرم نمونه خشک × وزن خشک بنه در هر تیمار بدست آمد. عملکرد کلشی سین نیز از حاصلضرب عملکرد خشک بنه × میزان کلشی سین در هر گرم نمونه خشک در هر تیمار محاسبه شد.

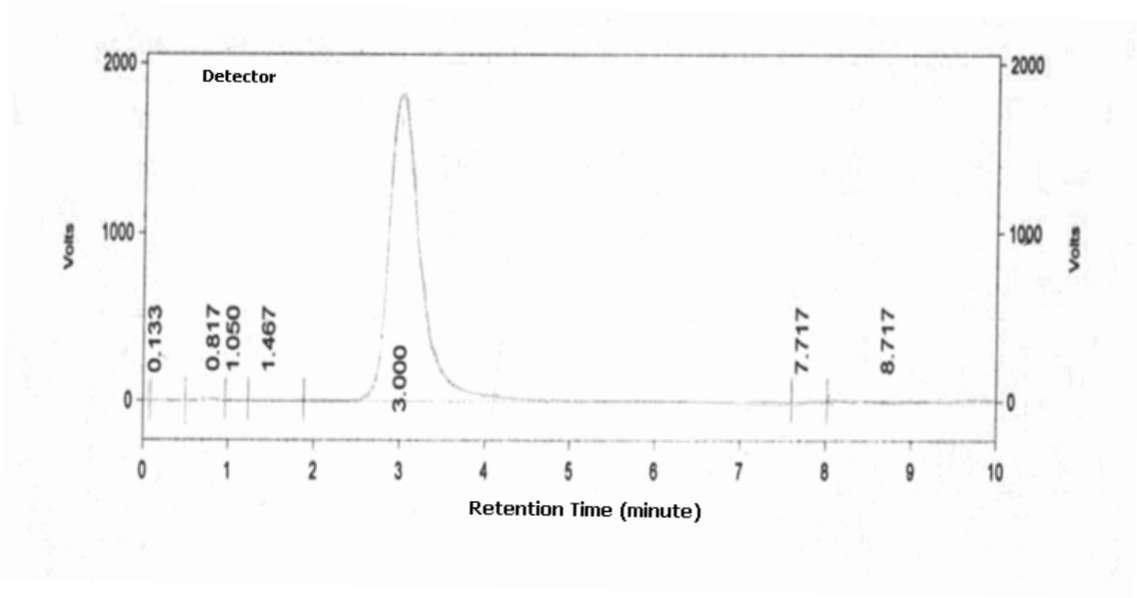
تحلیل آماری

آنالیز واریانس و مقایسه میانگین داده‌ها بر اساس آزمون چند دامنه ای دانکن با استفاده از نرم افزار MSTAT-C و ترسیم نمودارها و جداول با نرم افزار Excel انجام شد.

1- High Performance Liquid Chromatography (HPLC)
2- Flow rate



شکل۱ - منحنی کالیبراسیون غلظت در برابر سطح زیر منحنی کلشی سین



شکل۲ - کروماتوگرام کلشی سین با غلظت ۰/۵ میلی گرم در میلی لیتر

نتایج و بحث

وزن تر، خشک و درصد وزن خشک بنه

نتایج نشان از اختلاف معنادار بین سطوح مختلف کودی بر صفات وزن تر و خشک و درصد وزن خشک بنه داشت، به نحوی که بیشترین و کمترین وزن تر و خشک بنه در تیمار III (شامل سطوح ۲۰۰، ۷۵، ۲۶۰ و ۲۵۰ میلی گرم در لیتر به ترتیب برای عناصر نیتروژن، فسفر، پتاسیم و کلسیم) به ترتیب با میزان ۱۱/۶۵ و ۲/۹۵ گرم مشاهده شد در حالی که کمترین مقدار صفات ذکر شده در تیمار محلول غذایی I (شامل سطوح ۱۰۰، ۶۰، ۱۵۰، ۱۰۵ میلی گرم در لیتر به ترتیب برای عناصر نیتروژن، فسفر، پتاسیم و کلسیم) به ترتیب با میزان ۸/۵۰۶ و ۱/۹۵ گرم بدست آمد با اینحال اختلاف معناداری در وزن خشک بنه بین تیمار II (شامل سطوح ۱۵۰، ۶۷، ۲۰۰، ۱۵۸ میلی گرم در لیتر به ترتیب برای عناصر نیتروژن، فسفر، پتاسیم و کلسیم) و III مشاهده نشد (جدول ۳). بیشترین و کمترین درصد وزن خشک بنه به ترتیب در تیمارهای II و I با میزان ۲۸/۴ درصد و ۲۳ درصد درصد بود. اختلاف معناداری برای درصد وزن خشک بنه بین تیمار I و III مشاهده نشد (شکل ۳).

طول و قطر بنه

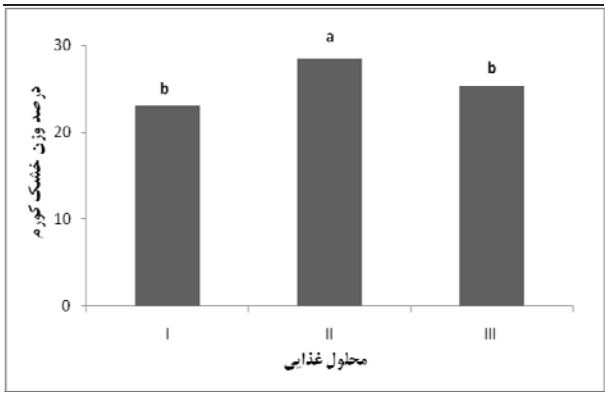
بیشترین طول و قطر بنه در تیمار III به ترتیب ۳/۸ و cm ۲/۲۵۶ بدست آمد، بااینحال اختلاف معناداری بین سطوح مختلف کودی در صفات ذکر شده وجود نداشت (جدول ۳).

جدول ۳ - تأثیر سطوح مختلف عناصر غذایی بر صفات اندازه گیری شده در کشت بدون خاک *C. kotschyi*

تیمار	وزن تر بنه (g)	وزن خشک بنه (g)	طول بنه (cm)	قطر بنه (cm)	میزان کلشی سین (mg/g وزن خشک)	میزان کلشی سین بنه (mg)	عملکرد تر بنه (g)
I	۸/۵۰۶ b	۱/۹۵۰ b	۳/۱۵۷a	۲/۲۴۴a	۰/۲۴۶ c	۰/۴۸۱ c	۴۲/۵۳ b
II	۸/۹۳۳ b	۲/۵۳۳a	۳/۶۳۳a	۲/۰۰۰a	۰/۵۵۳a	۱/۴۰۸ b	۴۴/۹۶ b
III	۱۱/۶۵a	۲/۹۵۰a	۳/۸۰۰a	۲/۲۵۶a	۰/۳۰۴ b	۰/۸۹۹ b	۵۸/۲۳a
LSD	۲/۴۳۹	۰/۵۶۹	۰/۸۸۶	۰/۳۹۸	۰/۰۲۲۶	۰/۲۰۲۸	۸/۵۳۰

۱ - میانگین هایی که در هر ستون حداقل دارای یک حرف مشترک هستند بر اساس آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ با هم تفاوت معنی داری ندارند.

۲ - تیمارهای I ، II و III نشان دهنده ی سطوح مختلف عناصر غذایی شامل I : ۱۰۰، ۶۰، ۱۵۰، ۱۰۵، II : ۱۵۰، ۶۷، ۲۰۰، ۱۵۸ و III : ۲۰۰، ۷۵، ۲۶۰ و ۲۵۰ میلی گرم در لیتر بترتیب برای عناصر نیتروژن، فسفر، پتاسیم و کلسیم می‌باشند.



شکل ۳ - تأثیر سطوح مختلف عناصر غذایی بر میانگین درصد وزن خشک بنه

I ، II و III نشان دهنده ی سطوح مختلف عناصر غذایی شامل I : ۱۰۰، ۶۰، ۱۵۰، ۱۰۵، II : ۱۵۰، ۶۷، ۲۰۰، ۱۵۸ و III : ۲۰۰، ۷۵، ۲۶۰ و ۲۵۰ میلی گرم در لیتر به ترتیب برای عناصر نیتروژن، فسفر، پتاسیم و کلسیم می‌باشند.

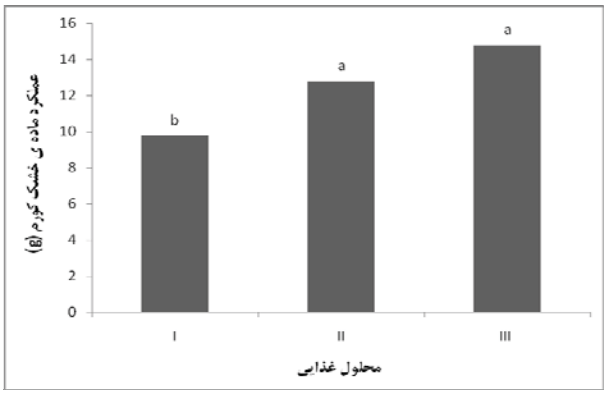
عملکرد تر و خشک بنه

بالاترین عملکرد تر و خشک بنه در تیمار III به ترتیب ۵۸/۲۳ و ۱۴/۷۷ g بدست آمد و کمترین مقدار در تیمار I به ترتیب ۴۲/۵۳ و ۹/۷۷۷ g مشاهده شد. بین تیمارهای I و II در عملکرد بنه تازه اختلاف معناداری دیده نشد. همچنین تفاوت معناداری بین تیمارهای II و III در عملکرد وزن خشک بنه مشاهده نشد (شکل ۴). همانطور که ذکر شد بیشترین عملکرد تر و خشک بنه در سطوح بالای عناصر غذایی بدست آمد و نتایج ما از این نظر با نتایج آل فیاد و همکاران (۴) که اعلام کرده بودند در شرایط مزرعه بیشترین عملکرد بنه در سطوح بالاتر نیتروژن، فسفر و پتاسیم با نسبت ۷۵: ۷۵:۱۰۰ حاصل می‌شود، مطابقت داشت. با اینحال به نظر می‌رسد کاربرد محلول غذایی II مطلوبتر باشد از آنجایی که علاوه بر تولید عملکرد مطلوب بنه، کود کمتری مصرف می‌شود. در میان عناصر شاید بتوان نقش عنصر ازت را بسیار مهم دانست. در تحقیقی کاربرد سطوح صفر، ۶۰، ۱۲۰، ۱۸۰ و ۲۴۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار بر روی سیر[1] باعث شد تا بالاترین عملکرد در سطح ۱۲۰ کیلوگرم بدست آید و با افزایش سطح کود به ۲۴۰ کیلوگرم عملکرد بشدت کاهش یافت (۱۳). در رابطه با اثرات مضر نیتروژن اضافی توسعه ضعیف ریشه و اندام زیرزمینی گزارش شده است (۲۷).

میزان کلشی سین در واحد وزن خشک و کلشی سین کل بنه

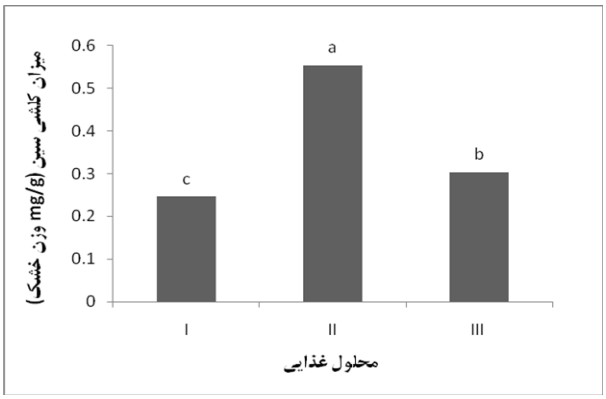
بیشترین میزان کلشی سین در واحد وزن خشک و کلشی سین کل بنه در تیمار II به ترتیب با میزان ۰/۵۵۳ mg/g وزن خشک و ۱/۴۰۸ mg بدست آمد و کمترین میزان در تیمار I به ترتیب ۰/۲۴۶ mg/g وزن خشک و ۰/۴۸۱ mg بود. بین تیمار II و III در میزان کلشی سین بنه اختلاف معناداری دیده نشد (شکل ۵ و جدول ۳). همانطور که پیداست بیشترین میزان کلشی سین در واحد وزن خشک در تیمار محلول غذایی II بدست آمد و با افزایش غلظت عناصر غذایی در تیمار III میزان کلشی سین بطور ناگهانی به نصف تقلیل می‌یابد.

1- *Allium sativum* L.



شکل ٤ – تأثیر سطوح مختلف عناصر غذایی بر عملکرد ماده خشک بنه

I ، II و III نشان دهنده ی سطوح مختلف عناصر غذایی شامل I : ۱۰۰، ۶۰، ۱۵۰، ۱۰۵، II : ۱۵۰، ۶۷، ۲۰۰، ۱۵۸ و III : ۲۰۰، ۷۵، ۲۶۰ و ۲۵۰ میلی گرم در لیتر به ترتیب برای عناصر نیتروژن، فسفر، پتاسیم و کلسیم می‌باشند.



شکل ۵ – تأثیر سطوح مختلف عناصر غذایی بر میزان کلشی سین در واحد وزن خشک

به نظر می‌رسد که افزایش سطوح عناصر غذایی بالاتر از حد مطلوب بازدارنده تولید کلشی سین است. باهاراتی و فیلومیدا (۶) در آزمایشی به منظور بررسی تأثیر فاکتورهای غذایی بر تولید کلشی سین در کشت دورن شیشه ای گلوریوزا[1] نشان دادند که بیشترین میزان کلشی سین با سطوح ۴۰ ، ۱/۵ و ۱/۵ میلی مولار به ترتیب از نیترات آمونیوم، پتاسیم هیدروژن فسفات و کلرید کلسیم، بدست می‌آید و با افزایش غلظت این عناصر به ۱۰۰، ۱/۵ و ۱۰ میلی مولار (به ترتیب نیترات آمونیوم، پتاسیم فسفات هیدروژن و کلرید کلسیم) از تولید کلشی سین جلوگیری بعمل آمد ضمن اینکه وزن خشک نیز کاهش یافت. از آنجایی که آلکالوئیدها ترکیباتی نیتروژنی هستند انتظار میرود تا دسترسی نیتروژن نقش مهمی در بیوسنتز و تجمع آلکالوئیدها در گیاهان داشته باشد. تأثیر نیتروژن بعنوان عامل افزایش دهنده ی کلشی سین در کلشیکوم گزارش شده است (۳). نیتروژن باعث افزایش آلکالوئید در برخی از گیاهان دارویی و غیر دارویی مثل تنباکو، جو، داتوره، شاهبیزک و خشخاش شده است (۳۰). گزارش شده است که کوددهی با نیتروژن، میزان آلکالوئید را در برگها و ریشه‌های ژنوتیپهای پروانش بطور معناداری افزایش می‌دهد (۲۷). در سطوح بهینه نیتروژن حداکثر تجمع آلکالوئید ایجاد می‌شود و کاربرد سطوح کمتر یا بیشتر نیتروژن می‌تواند منجر به کاهش میزان آلکالوئید گردد. لزوم کاربرد سطوح بهینه ی نیتروژن و اثرات مضر غلظتهای بیش از حد بهینه بر میزان ماده مؤثره در گونه‌های دارویی دیگری نیز گزارش شده است. در آزمایشی میزان آلکالوئید در کاربرد سطوح مختلف نیتروژن (۲/۷۵، ۵/۵، ۱۱، ۲۲ و ۳۲ میلی مولار) در کشت بدون خاک پروانش مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که بیشترین میزان آلکالوئید در غلظت ۱۱ میلی مولار مشاهده شد و افزایش نیتروژن به سطوح بالاتر از ۱۱ میلی مولار اثر آنتاگونیستی بر تولید آلکالوئید داشت (۱). همچنین در جین سنگ[2] حداکثر تولید ساپونین و پلی ساکارید در غلظت ۴۰ میلی مولار ازت حاصل می‌شود و سطوح ۲۰ و ۸۰ میلی مولار باعث تولید ساپونین و پلی ساکارید کمتر می‌شوند (۳۱).

1- *Gloriosa superba*

2- Ginseng

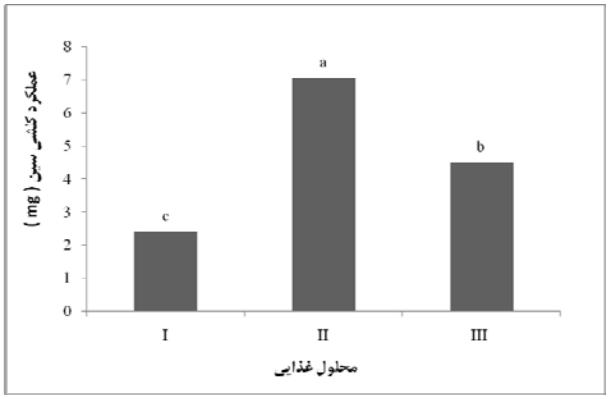
عملکرد کلشی سین

بین تیمارها در میزان عملکرد کلشی سین اختلاف معناداری دیده شد به نحوی که بیشترین و کمترین عملکرد کلشی سین در تیمارهای II و I به ترتیب با میزان ۷/۰۴ و ۲/۴۰۷ mg بدست آمد. همانطور که پیش از این گفته شد حداکثر عملکرد وزن خشک در تیمار III (غلظت بالای عناصر غذایی) بدست آمد، با اینحال بیشترین عملکرد کلشی سین (حاصلضرب عملکرد وزن خشک بنه × میزان کلشی سین در هر گرم وزن خشک) در تیمار II (غلظت متوسط عناصر غذایی) مشاهده شد (شکل ۶).

تغذیه بهینه در شرایط هیدروپونیک می‌تواند بر میزان آلکالوییدها و دیگر مواد مؤثره نقش داشته باشد با اینحال گزارشاتی مبنی بر کاهش عملکرد آلکالوئیدها کاربرد در غلظتهای بالاتر از حد بهینه داده شده است. مانوکیان (۱۷) گزارش داد که بهترین عملکرد آلکالوئید در گیاه دارویی مامیران[1] تحت شرایط کشت بدون خاک زمانی حاصل می‌شود که نسبت نیتروژن، فسفر و پتاسیم به ترتیب ۷۰: ۱۵ : ۱۵ باشد و با افزایش نسبت‌های فسفر یا پتاسیم عملکرد آلکالوئید کاهش می‌یابد. سالمور و همکاران (۲۳) تأثیر سطوح مختلف کودی صفر، متوسط (۲۰۰ ppm) و زیاد (۴۰۰ ppm) از نسبتهای استاندارد محلول غذایی هوگلند (۲۰:۱۰:۲۰) را بر میزان آلکالوئیدها و وزن خشک *Sanguinaria canadensis* مورد بررسی قرار دادند و گزارش دادند که در کاربرد سطوح بالاتر کودی، آلکالوئید کمتر و وزن خشک بیشتری نسبت به زمانی که سطوح متوسط کودی بکار میرود تولید می‌شود. دلیل این موضوع شاید با نقشی که طبیعت برای آلکالوئیدها در نظر گرفته در ارتباط باشد، از اینرو که آلکالوئیدها اغلب به عنوان ابزارهای طبیعی دفاعی گیاه در برابر طیف وسیعی از باکتریها، قارچها، حشرات، نماتدها و گیاهخواران محسوب می‌شوند (۲۰ و ۲۸). به نظر می‌رسد که با افزایش سطوح کودی یک تغییر مسیر از ساخت و ذخیره ی آلکالوئیدها به سمت رشد و تولید بیشتر اتفاق می‌افتد که این امر منجر افزایش بایومس و به تبع آن کاهش آلکالوئید می‌شود (۱۸ و ۲۹).

نتیجه گیری

نتایج حاصل از مطالعه حاضر گویای این مطلب است که تولید ماده ی خشک بیشتر که در اثر افزایش سطوح مواد غذایی حاصل می‌شود لزوما به معنای حصول بهترین عملکرد ماده ی مؤثره نمی باشد. با افزایش سطوح مواد غذایی عملکرد تر و خشک بنه افزایش می‌یابد. میزان کلشی سین در واحد وزن خشک بنه در محلول غذایی II به حداکثر خود میرسد و با افزایش سطوح مواد غذایی در محلول غذایی III به شدت کاهش می‌یابد و پیرو آن عملکرد کلشی سین نیز کاهش می‌یابد. با توجه به نتایج بدست آمده می‌توان گفت که تحت شرایط کشت بدون خاک گیاه دارویی *C. kotschyi*، محلول غذایی II با نسبت ۱۵۰، ۶۷، ۲۰۰، ۱۵۸ میلی گرم در لیتر به ترتیب از عناصر نیتروژن، فسفر، پتاسیم و کلسیم، حد بهینه ای از عناصر غذایی را در جهت افزایش عملکرد کلشی سین و کاهش مصرف کود نسبت به محلولهای غذایی دیگر فراهم می‌کند. با اینحال لازم است تا در تحقیقات آینده نقش هر کدام از عناصر ماکرو بتنهایی در تولید کلشی سین مورد بررسی قرار گیرد، ضمن اینکه تأثیر عناصر میکرو و بسترهای مختلف کشت بدون خاک بر تشکیل کلشی سین، می‌تواند از دیگر زمینه‌های تحقیقاتی قابل طرح باشد.



شکل ٦ - تأثیر سطوح مختلف عناصر غذایی بر عملکرد کلشی سین

I ، II و III نشان دهنده ی سطوح مختلف عناصر غذایی شامل I : ۱۰۰، ۶۰، ۱۵۰، ۱۰۵، II : ۱۵۰، ۶۷، ۲۰۰، ۱۵۸ و III : ۲۰۰، ۷۵، ۲۶۰ و ۲۵۰ میلی گرم در لیتر به ترتیب برای عناصر نیتروژن، فسفر، پتاسیم و کلسیم می‌باشند.

1- *Chelidonium majus* L.

منابع

1- Abdolzadeh A., Hosseinian F., Aghdasi M. and Sadgipoor H. 2006. Effects of nitrogen sources and levels on growth and alkaloid content of Perivinkle. Asian Journal of Plant Science, 5: 271 - 276.
2- Alali F., El-Alali A., Tawaha K.H. and Al Elimat T. 2006. Seasonal variation of colchicine content in *Colchicum brachyphyllum* and *Colchicum tunicatum* (Colchicaceae). Natural Product Research, 20:1121-1128.
3- Al-Fayyad M., Alali F., Alkofahi A. and Tell A. 2002. Determination of colchicine content in *Colchicum hierosolymitanum* and *Colchicum tunicatum* under cultivation. Natural Product Letters, 16: 395–400.
4- Al-Fayyad M., Alali F. and Al-Tell A. 2003. Effect of NPK fertilizer levels on morphological characteristics and productivity of *Colchicum hierosolymitanum* and *Colchicum tunicatum*, Journal of herbs, spices & medicinal plants, 4: 11-17.
5- Babakhanyan M.A. 1991. Introduction of *Catharanthus roseus* G. Don in open-air hydroponics in the Ararat Valley in Armenia. Herba Hungarica, 30: 76–81.
6- Bharathi P. and Philomina D. 2010. Effect of nutritional factors and precursors on formation of colchicine in *Gloriosa superba* in vitro. Research in Biotechnology, 1: 29-37.
7- Boye O. and Brossi A. 1992. Tropolonic *colchicum* alkaloids and allo congeners. The Alkaloids. Academic Press Inc, New York.
8- Cerquaglia C., Diaco M., Nucera G., La Regina M., Montalto M. and Manna R. 2005. Pharmacological and clinical basis of treatment of Familial Mediterranean Fever (FMF) with colchicine or analogues. Current Drug Targets - Inflammation & Allergy, 4: 117-124.
9- Dorais M., Papadopoulos A.P., Luo X., Leonhart S., Gosselin A., Pedneault K., Angers P. and Gaudreau L. 2001. Soilless greenhouse production of medicinal plants in north eastern Canada. Acta Horticulture, 554: 297-304.
10- Hayden A.L. 2006. Aeroponic and Hydroponic Systems for Medicinal Herb, Rhizome, and Root Crops. Horticultural Science, 4:536-538.
11- Kaplan M.M., Schmid C., Provenzale D., Sharma A., Dickstein G. and Mckusik A. 1999. A prospective trial of colchicine and methotrexate in the treatment of primary biliary cirrhosis. Gastroenterology, 117: 1173-1180.
12- Katzung G.B. 2004. Basic and Clinical Pharmacology, 9th edi. The McGraw- Hill companies Inc USA, 133:627-631.
13- Kilgori M.J., Magagi M.D. and Yakubu A.I. 2007. Productivity of two Garlic (*Allium sativum* L.) cultivars as affected different levels of nitrogen and phosphorous fertilizers in Sokoto, Nigeria. American-Eurasian Journal of. Agricultural & Environmental Sciences, 2: 158 – 162.
14- Komjatayova H., Frankova L., Boka K. and Psenak M. 2000. Botanical and developmental aspects of *Colchicum autumnale* L. (autumn crocus) (in Slovak). Acta Facultatis Pharmaceuticae Universitatis Comenianae, 40: 67-80.
15- Limon J.N. 1996. Valerian (*Valeriana officinalis* L.) in soilless culture. Acta Horticulture, 132: 352-363.
16- Manukyan A.E. 2001. The development of biotechnologies of celandine and catmint in outside hydroponics conditions, PhD diss. summary, 21. National Academy of Sciences of the Republic of Armenia (in Armenian).
17- Manukyan A.E. 2005. Optimum nutrition for biosynthesis of pharmaceutical compounds in Celandine and Catmint under outside hydroponic conditions', Journal of Plant Nutrition, 28: 5, 751-76.
18- Marino P.C., Eisenberg R.M. and Cornell H.V. 1997. Influence of sunlight and soil nutrients on clonal growth and sexual reproduction of the understory perennial herb *Sanguinaria Canadensis* L. Bull. Torrey Botanical Society, 124:219–227.
19- Miller J.S. and Feeny P. 1983. Effects of benzylisoquinoline alkaloids on the larvae of polyphagous Lepidoptera. Oecologia, 58:332–339.
20- Pelletier P.J. et Caventou J.B. 1820. Examen chimique de plusieurs vegetaux de la famille des colchicees, et du principe actif qu'ils renferment [Cevadille (*Veratrum sabadilla*)]; hellebor blanc (*Veratrum album*); colchique commun (*Colchicum autumnale*). Annal Review of Physical Chemistry, 14: 69-83.
21- Persson K. 1992. Liliaceae III. Subfam. I. Wurmbaeoideae. In: Rechinger K. H. (ed.), Flora Iranica. Akademische Druck- u. Verlagsanstalt, Graz, 170: 1-40.
22- Poutaraud A. and Champay N. 1995. Meadow saffron (*Colchicum autumnale* L.) a medical plant to domesticate. Revue Suisse- Agriculture, 27: 93-100.
23- Salmore A.K. and Hunter M.D. 2001. Environmental and genotypic influences on isoquinoline alkaloid content in *Sanguinaria Canadensis.* Journal of Chemical Ecology, 27: 1729-1748.
24- Santavy F., Dvorackova S., Simanek V. and Potesilova H. 1982. Isolation and identification of alkaloids of the subfamily Wurmbaeiodeae. Medical Faculty of the University Palacky, Olomouc, Czech Republic, 105–163.
25- Sargsyan K.H.L. 2008. Alternative approach to colchicines production applying open air hydroponics cultivation. p89-92. International Conference & Daad Alumni Seminar"Biotechnolog y and Health, 21– 2 5 Apr. 2008.Yerevan, Armenia.
26- Schmeller T., Latz-Bruning B. and Wink M. 1997. Biochemical activites of berberine, palmatine, and sanguinarine

mediating chemical defense against microorganisms and herbivores. Phytochemistry, 44:257–266.
27- Sreevalli Y., Kulkarni R.N., Baskaran K. and Chandrashekara R.S. 2004. Increasing the content of leaf and root alkaloids of high alkaloid content mutants of periwinkle through nitrogen fertilization. Industrial Crops and Products, 19: 191 - 195.
28- Tran T.L.M., Bui C.T., Bourgaurd F. and Gontier E. 2005. Production of the secondary metabolite with hydroponic culture. Journal of Agricultural Science and Technology, 2:145-151.
29- Tuomi J., Niemela P. and Haukioja E. 1984. Nutrient stress: An explanation for plant anti-herbivore responses to defoliation. Oecologia, 61:208–210.
30- Waller G.R. and Nowacki E.K. 1987. Alkaloid Biology and Metabolism in Plants, Plenum Press, New York. USA, pp: 294 - 30.
31- Zhong J. and Wang S. 1998. Effects of nitrogen sources on the production of ginseng and polysaccharide by cell cultures of *panax quinuefolium*. Process Biochemistry, 33: 71 - 675.