مقاله پژوهشی

نشریه فیزیولوژی محیطی گیاهی، سال شانزدهم، شماره ۶۴، زمستان ۱۴۰۰ / صفحات: ۱۲۶-۱۱۱
Doi: 10.30495/iper.2022.679567 ***Dor: 20.1001.1.24237671.1400.16.64.4.8***

بررسی مقایسه‌ای اثر برخی از انواع کودهای نیتروژنه بر رشد، محتوای آلکالوئیدی و برخی صفات فیزیولوژیکی گیاه زینتی-دارویی آگاو آمریکایی (*Agave Americana cv marginata*) در شرایط کشت گلخانه‌ای

ابراهیم جوکار[۱]، آرین ساطعی[۱*]، مهدی عبادی[۲]، مازیار احمدی گل‌سفیدی[۲]

[۱]گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد گرگان، دانشگاه آزاد اسلامی، گرگان، ایران

[۲] گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، واحد گرگان، دانشگاه آزاد اسلامی، گرگان، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۸/۰۳ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۰/۱۰

چکیده

در پژوهش حا ضر اثر ۲ نوع کود نیتروژنه و کودزیستی ازتوباکتر در شرایط کشت گلدانی و گلخانه‌ای بر میزان رشد، محتوای کلی نیتروژن، پروتئین‌های کل، آمینواسیدهای آزاد و آلکالوئیدهای برگ و ریشه و همچنین میزان فعالیت نیترات ردوکتازی برگ‌ها در گیاه آگاو آمریکایی رقم مارجیناتا در مرحله رشد ۸ برگی موردبررسی قرار گرفت. کودهای نیتروژنه شامل کود اوره ٤٦ درصد با دو غلظت ۵ و۱۰ گرم بر لیتر، کود NPK با دو غلظت ٤ و٦ گرم بر لیتر و کود زیستی دکتر بایو(حاوی ازتوباکتر) با دو غلظت ۱ و ٤ میلی‌گرم بر کیلوگرم پس از مرحله ۸ برگی به صورت محلول‌پا شی به خاک گلدان ا ضافه شدند و اثرات آن‌ها با اثرات گیاه در خاک بدون کود به‌عنوان شاهد مقایسه شد. نتایج به‌دست‌آمده نشان دهنده اثرگذاری معنی‌دار تیمارهای مورداستفاده بر صفات مورد ارزیابی بود.. افزایش کود در همه موارد و به‌ویژه در مورد کود زیستی، موجب کاهش فعالیت نیترات ردوکتازی برگ‌ها شد و نیز محتوای کلی نیتروژن ریشه را به نفع افزایش آن در برگ‌ها تغییر داد.افزودن اوره ٤٦٪ با هر دو غلظت موجب افزایش وزن تر و خشک، محتوای کلی پروتئین‌ها، آمینواسیدهای آزاد و آلکالوئیدهای برگ و ریشه شد. کود زیستی با هر دو غلظت باعث افزایش معنی‌دار وزن‌تر و خشک و محتوای پروتئین برگ، وزن‌تر و محتوای آمینواسیدهای آزاد و پروتئین ریشه شد. این کود بر محتوای آلکالوئیدی برگ و ریشه اثر معنی‌داری نداشت. افزایش کود NPK با هر دو غلظت نیز موجب افزایش وزن‌تر و خشک و آمینواسیدهای آزاد برگ‌ها و محتوای پروتئین و کاهش وزن‌تر و آمینواسیدهای آزاد ریشه گردید. از نظر کاربردی، کود اوره ۵ گرم بر لیتر بر رشد و افزایش آلکالوئیدهای گیاه عملکرد بهتری داشت.

واژه‌های کلیدی: آگاو آمریکایی، آلکالوئید، آمینواسید، کشت گلخانه‌ای، گیاه دارویی، گیاه زینتی، نیترات ردوکتاز

مقدمه

کشاورزی برای افزایش عملکرد محصولات کاملاً به کودها وابسته است. کودهای مورداستفاده می‌توانند کودهای شیمیایی، آلی یا کودهای زیستی باشند و خصوصیات هر یک از کودها متفاوت بوده و توانایی خاص خود را برای رشد محصول و حاصلخیزی خاک‌دارند. از کودهای شیمیایی برای تأمین نیاز به مواد مغذی گیاه در مدت‌زمان کوتاهی استفاده می‌شود و نتایج سریع به همراه می‌آورد. کاربردهای آن‌ها تغذیه با غلظت بالا را فراهم می‌کند اما معایب زیادی ازجمله

*نویسنده مسئول: saateyi@gmail.com

آلودگی آب و محیط‌زیست دارند (Mahdi et al., 2010).

کودهای زیستی شامل میکروارگانیسم‌هایی است که باعث بهبود مواد مغذی خاک می‌شود و قابلیت دسترسی آن‌ها به محصولات را افزایش می‌دهد. این میکروب‌های تقویت‌کننده رشد گیاه با استفاده از مکانیسم‌های مختلف رشد مستقیم و غیرمستقیم گیاه، مانند تثبیت بیولوژیکی نیتروژن، تولید هورمون های مختلف رشد گیاه، سیدروفورها، HCN، آنزیم‌های هیدرولیتیک مختلف و محلول سازی پتاسیم، روی و فسفر باعث رشد گیاه می شوند(Kour et al., 2020). در تیمار کودهای نیتروژن ۲۰۰-۳۰۰ کیلوگرم در هکتار در نعنا فلفلی(*Mentha piperita* L.)، بیشترین میزان وزن‌تر و خشک اندام هوایی و عملکرد اسانس به دست آمد است (Zeinali et al., 2014).

اثر کودهای نیتروژن، موجب افزایش پنجه‌زنی و افزایش میزان ماده خشک ریشه گیاه ازگیل ژاپنی(loquat) شد (Xu et al., 2020). همچنین در گل‌ناز (*Sedum alfredii*) نشان داده شد که با افزایش مقدار کود نیتروژن به خاک، جذب روی و کادمیوم، افزایش ولی وزن خشک برگ کاهش یافت (Lin et al.,2020). در برخی پژوهش‌ها در استفاده از کود نیتروژن بر میزان پروتئین و آمینواسید در گیاه سویا (*Glycine max* L. Merr) تغییر معنی‌داری مشاهده نشد (de Borja Reis et al., 2020). همچنین کود نیتروژن بر میزان پروتئین و آمینواسید آزاد در گیاه سویا (*Glycine max*.L Merr) تغییر معنی‌داری ایجاد نکرد (de Borja Reis et al.,2020).

افزودن کود نیتروژن با مقدار زیاد ۶۰-۸۰ تن در هکتار بر روی دو رقم از گیاه خردل (*Brassica juncea* L.) منجر به کاهش فعالیت آنزیمی و رنگیزه های فتوسنتزی و درنتیجه عملکرد گیاه در مزرعه شد (Farha and Inam, 2020).

به‌طورکلی، استفاده از کود نیتروژن و گوگرد در مراحل مختلف رشد محصول می‌تواند باعث افزایش غلظت پروتئین و بهبود ترکیب پروتئین شود (Rosso et al., 2020). همچنین اثرات مثبت کود نیتروژن بر رشد و متابولیتهای ثانوی گیاه زامیفولیا پیش از این گزارش شده است (Rahmani et al., 2021).

گزارشات متعددی نیز نشانگر این واقعیت هستند که آلکالوییدها سهم مهمی از متابولیتهای ثانویه گیاهان را به خود اختصاص می‌دهند (Roy, 2017; Rupani and Chavez, 2018; Sadia et al., 2018). برخی پژوهشها نیز در مورد انواعی از آلکالوئیدها، نشانگر ارزش بالای آنها در مهار پروتئینهای ویروسی در بیماری کووید-۱۹ است (Borquaye et al., 2020).

پژوهش های زیادی در خارج از ایران بر روی جنبه‌های مختلف گونه آگاو انجام‌شده و نتایج مثبتی نیز حاصل‌شده، امّا در داخل کشور پژوهش خاصی در مورد این‌گونه به‌خصوص ازلحاظ پارامتر های فیزیولوژیکی و ترکیبات زیست فعال آن انجام‌نشده است. همچنین، تاکنون تحقیقی در خصوص اثر افزودن کودهای نیتروژن و کود زیستی به محیط کشت این‌گونه در شرایط کشت گلدانی نیز اصورت نگرفته است. بنابراین در پژوهش حاضر تأثیر سه نوع کود بر محتوای آلکالوئیدها و برخی دیگر از صفات در گیاه زینتی آگاو آمریکایی رقم مارجیناتا (*Agave Americana cv marginata*) مورد مقایسه قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

پاجوش های ۲ تا ۳ برگی آگاو آمریکایی رقم مارجیناتا از گلخانه دانشگاه آزاد اسلامی تهیه شد و به گلدان های حاوی خاک سبک (پرلیت، کوکوپیت و پیت‌ماس) انتقال و پس‌ازآن به‌مدت ۶ ماه آبیاری شد و

پس از رسیدن گیاهان به مرحله ٦ الی ٨ برگی، در ٦ مرحله با فواصل ١٤ روزه، تیمارها به خاک گلدان‌ها به‌صورت محلول‌پاشی اضافه گردید.

تیمارها شامل کود زیستی با غلظت ۱میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن خاک گلدان با نماد(کود زیستی۱)، کود زیستی با غلظت ٤ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن خاک گلدان با نماد (کود زیستی٤) و کودهای نیتروژنه شامل NPK با غلظت ٤ گرم بر لیتر با نماد (NPK٤)، کود NPK با غلظت ٦ گرم بر لیتر با نماد(NPK٦) و کود اوره ٤٦ درصد با غلظت ٥ گرم بر لیتر با نماد (اوره ٥) و کود اوره ٤٦ درصد با غلظت ۱۰گرم بر لیتر با نماد (اوره ۱۰) می باشند. از گلدان با گیاه و خاک سبک (بدون اعمال تیمار) به‌عنوان شاهد استفاده گردید. یک ماه پس از آخرین تیمار، سنجش‌ها انجام گرفت. سنجش‌ها شامل وزن‌تر و خشک برگ، وزن‌تر و خشک‌ریشه، میزان آلکالوئیدهای برگ و ریشه، میزان پروتئین برگ و ریشه، میزان آمینواسید برگ و ریشه، میزان نیتروژن برگ و ریشه و همچنین میزان فعالیت نیترات ردوکتازی برگ گیاه بوده است.

سنجش آلکالوئید برگ و ریشه به روش اسپکتروفتومتری انجام شد. ابتدا ۰/۱گرم بافت تازه گیاهی (برگ و ریشه) را در ۱۰ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد به مدت ٢٤ ساعت خیسانده و بعد از سپری شدن زمان، عصاره به‌دست‌آمده صاف گردید. سپس ۵/۵ میلی‌لیتر از عصاره متانولی را در یک میلی لیتر اسیدهیدروکلریک غلیظ حل و پس از۳۰ دقیقه صاف شد. سپس عصاره صاف‌شده سه بار با ۱۰میلی‌لیتر کلروفرم شستشو داده‌شده و فاز آبی آن جدا گردید. فاز آبی حاصل با سود ۰/۱ نرمال خنثی شد (pH7). سپس عصاره با ۵ میلی لیتر معرّف بروموکرزول گرین و ۵ میلی‌لیتر بافر فسفات pH:٤/٧ مخلوط و فاز کلروفرمی زردرنگ حاوی آلکالوئیدها در لوله آزمایش جمع‌آوری و حجم آن با کلروفرم به ۱۰ میلی لیتر رسانده شد. مقدار جذب عصاره در طول‌موج ٤٧٠ نانومتر خوانده شده و با استفاده از منحنی استاندارد افدرین، میزان آلکالوئید عصاره‌ها به‌صورت مقدار معادل افدرین تعیین گردید (Shamsa et al., 2008).

برای سنجش مقدار کلی پروتئین‌های برگ یا ریشه از روش رنگ سنجی (Bradford, 1976) استفاده شد و مقدار پروتئین به‌صورت میلی‌گرم معادل آلبومین گاوی به‌عنوان استاندارد محاسبه گردید.

فعالیت نیترات ردوکتازی برگ‌ها به روش اسپکتروفتومتری و با سنجش مقدار نیتریت تولیدشده به ازای هر گرم برگ در مدت یک ساعت تعیین گردید (Sym, 1984).

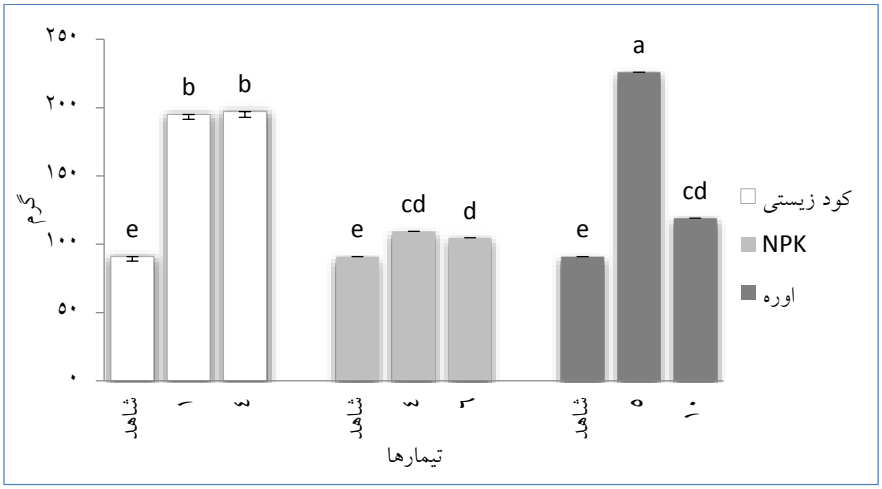
پس از استخراج آمینواسیدهای آزاد به کمک اتانول از نمونه‌های تر برگ و ریشه، مقدار آمینواسیدهای کل به کمک معرف نین‌هیدرین و تعیین جذب نوری در ٦۰۰ نانومتر به‌صورت میلی‌گرم معادل گلیسین به‌عنوان استاندارد محاسبه شد (Rivero et al., 2004).

تعیین نیتروژن کل به روش کجلدال در این روش به کمک تیتراسیون، مقدار آمونیاک تقطیر شده حاصل از مرحله هضم مقدار مشخصی از نمونه برگ گیاه تعیین و با توجه به وزن نمونه، مقدار کل نیتروژن موجود در آن محاسبه گردید (Izadi et al., 2010).

سنجش‌های آماری: کلیه نتایج حاصل از سنجش‌ها با لحاظ چهار تکرار جهت محاسبه میانگین و خطای معیار مورداستفاده قرار گرفتند. تحقیق همبستگی و آنالیز واریانس (ANOVA) و آزمون Tukey جهت بررسی اثرات تیماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS انجام گرفت و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار EXCEL استفاده شد.

نتایج

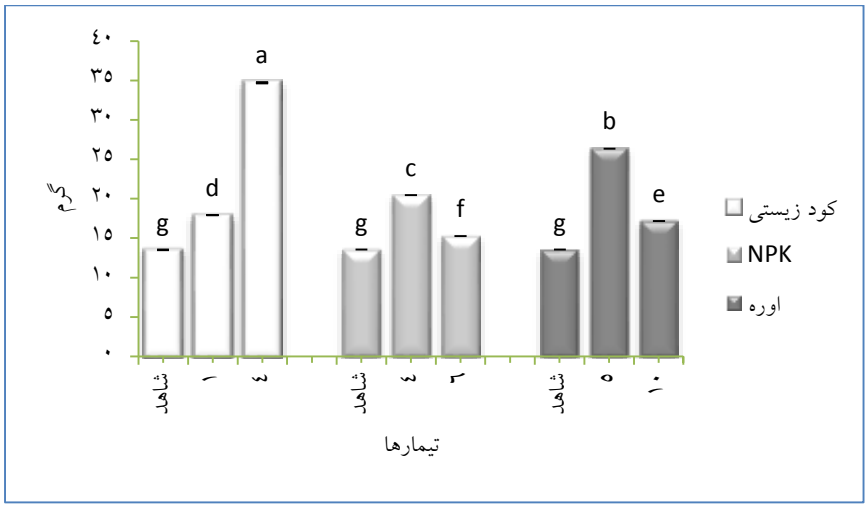
سنجش میزان وزن‌تر و خشک برگ و ریشه: انتایج سنجش وزن‌تر برگ نشان داد که همه کودهای اعمال شده به‌طور معنی‌داری بر میزان وزن‌تر برگ گیاه اثر مثبت دا شتند و بی شترین تأثیر مربوط به تیمار کود اوره ۵ و در مرتبه بعدی مربوط به کودهای زیستی ۱ و ٤ و کمترین تأثیر مربوط به NPK٦ بود (شکل ۱).



شکل ۱: نتایج سنجش میزان وزن‌تر برگ در گیاه آگاو آمریکایی رقم مارجیناتا.

وجود حروف مشترک نشانگر نبود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها در سطح ۵ درصد است.

واحد تیمارها در مورد کود زیستی، گرم بر کیلوگرم خاک گلدان و در مورد سایرین، گرم بر لیتر می‌باشد.



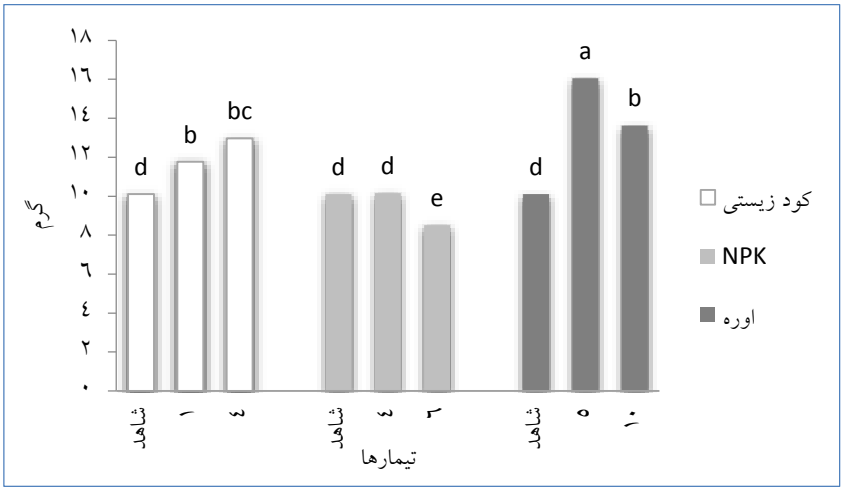
شکل ۲: نتایج سنجش میزان وزن خشک برگ در گیاه آگاو آمریکایی رقم مارجیناتا.

وجود حروف مشترک نشانگر نبود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها در سطح ۵ درصد است.

واحد تیمارها در مورد کود زیستی، گرم بر کیلوگرم خاک گلدان و در مورد سایرین، گرم بر لیتر می‌باشد.

همچنین شکل۲ نشان می‌دهد که همه کودهای اعمال‌شده به‌طور معنی‌داری بر میزان وزن خشک برگ گیاه اثر مثبت داشتند و بیشترین تأثیر مربوط به کود زیستی٤ و کمترین تأثیر مربوط به NPK٦ بود. همان‌طور که در شکل۳ دیده می شود کودهای اوره ۵ و ۱۰ و کود زیستی۱ و ٤ به‌طور معنی‌داری بر میزان وزن‌تر ریشه گیاه اثر مثبت داشتند و بیشترین تأثیر مربوط به تیماراوره۵ بود. کود NPK٦ نیز به‌طور

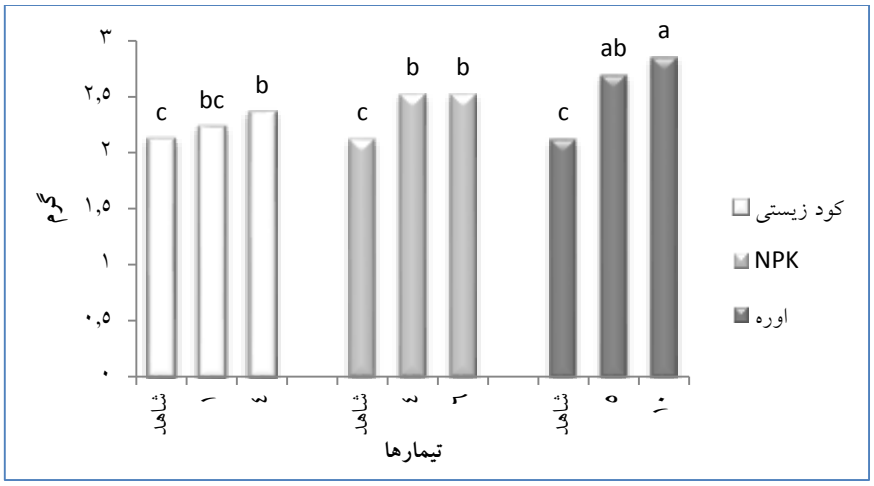
معنی‌داری تأثیر منفی نسبت به شاهد داشته است. ولی کود NPK٤ تأثیر معنی‌داری بر میزان وزن‌تر ریشـــه نداشت.



شکل ۳: نتایج سنجش میزان وزن‌تر ریشه در گیاه آگاو آمریکایی رقم مارجیناتا.

وجود حروف مشترک نشانگر نبود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها در سطح ۵ درصد است.

واحد تیمارها در مورد کود زیستی، گرم بر کیلوگرم خاک گلدان و در مورد سایرین، گرم بر لیتر می‌باشد.

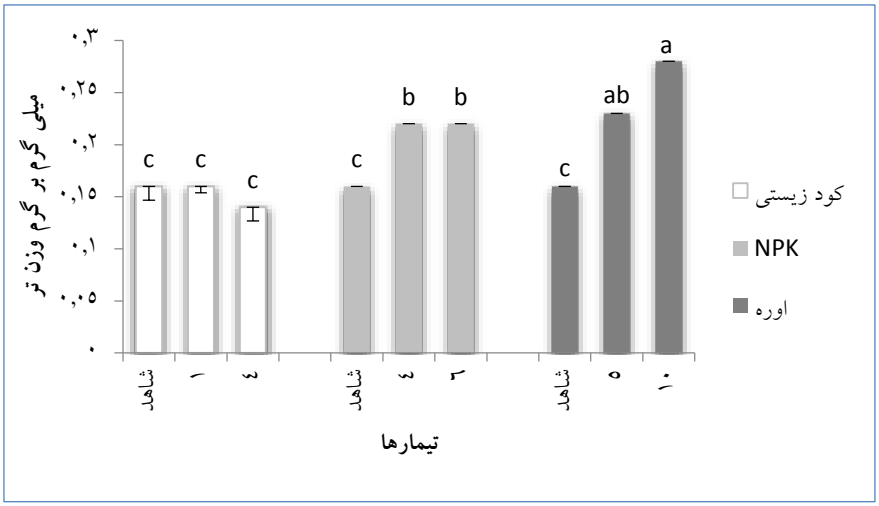


شکل ٤: نتایج سنجش میزان وزن خشک ریشه در گیاه آگاو آمریکایی رقم مارجیناتا. وجود حروف مشترک نشانگر نبود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها در سطح ۵ درصد است.

واحد تیمارها در مورد کود زیستی، گرم بر کیلوگرم خاک گلدان و در مورد سایرین، گرم بر لیتر می‌باشد.

در شـکل ٤ مشـاهده می‌شـود که همه کودها و به ویژه کودهای اوره ۵ و۱۰ به‌طور معنی داری بر میزان وزن خشک‌ریشه گیاه اثر مثبت داشتند.

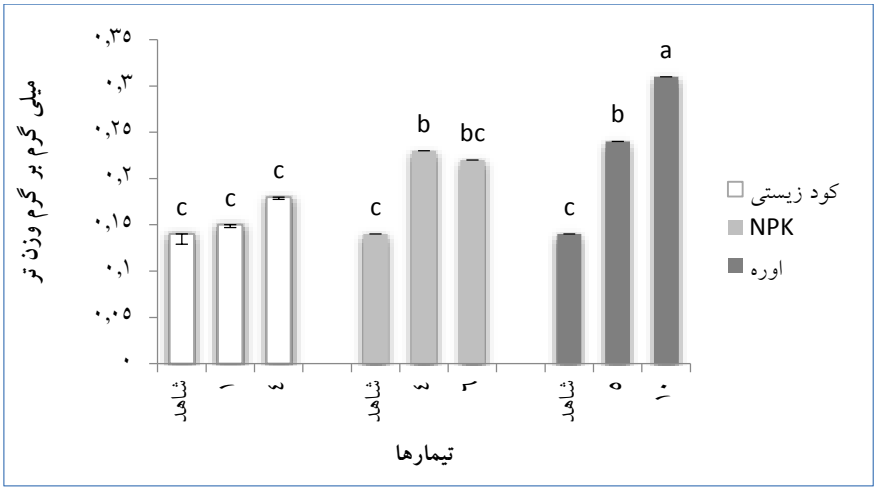
سنجش میزان آلکالوئید برگ و ریشه: کودهای اوره و NPK با هر دو غلظت به‌طور معنی‌داری موجب افزایش میزان آلکالوئیدهای برگ و ریشـه شـدند ولی کود زیستی تأثیر معنی‌داری بر میزان آلکالوئیدهای این اندام‌ها نداشـت. بیشـترین تأثیر مثبت مربوط به تیمار کود اوره ۱۰ بود (شکل‌های ۵ و ٦).



شکل ۵: نتایج سنجش میزان آلکالوئید در برگ گیاه آگاو آمریکایی رقم مارجیناتا.

وجود حروف مشترک نشانگر نبود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها در سطح ۵ درصد است.

واحد تیمارها در مورد کود زیستی، گرم بر کیلوگرم خاک گلدان و در مورد سایرین، گرم بر لیتر می‌باشد.

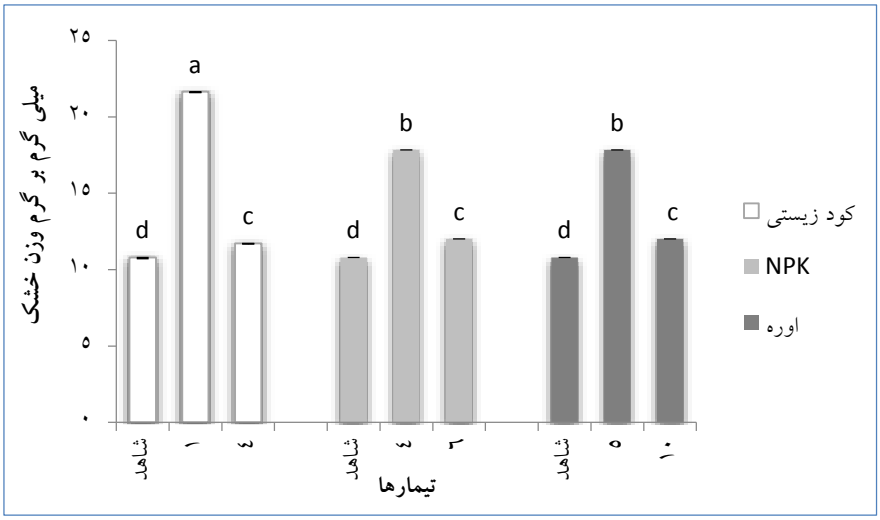


شکل ٦: نتایج سنجش میزان آلکالوئید در ریشه گیاه آگاو آمریکایی رقم مارجیناتا.

وجود حروف مشترک نشانگر نبود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها در سطح ۵ درصد است.

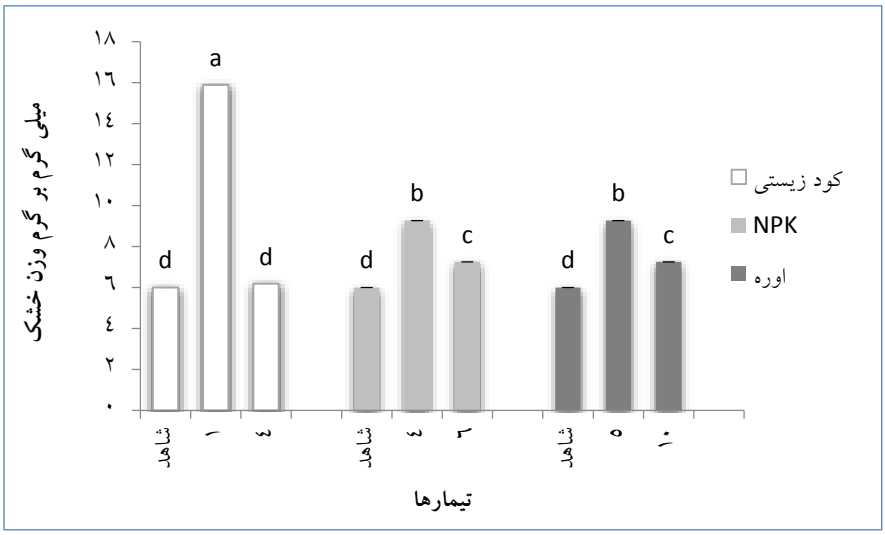
واحد تیمارها در مورد کود زیستی، گرم بر کیلوگرم خاک گلدان و در مورد سایرین، گرم بر لیتر می‌باشد.

میزان پروتئین برگ و ریشـــه: نتایج ســـنجش میزان پروتئین برگ نشـــان داد که همه کودهای اعمال‌شـــده به‌طور معنی داری بر میزان پروتئین کل برگ گیاه اثر مثبت داشـــتند و بیشـــترین تأثیر مثبت مربوط به تیمار کود زیستی۱ و کمترین تأثیر مثبت مربوط به غلظتهای بالاتر کودها بود (شکل۷).



شکل۷: نتایج سنجش میزان پروتئین کل در برگ گیاه آگاو آمریکایی رقم مارجیناتا.
وجود حروف مشترک نشانگر نبود اختلاف معنیدار بین تیمارها در سطح ۵ درصد است.
واحد تیمارها در مورد کود زیستی، گرم بر کیلوگرم خاک گلدان و در مورد سایرین، گرم بر لیتر می‌باشد.

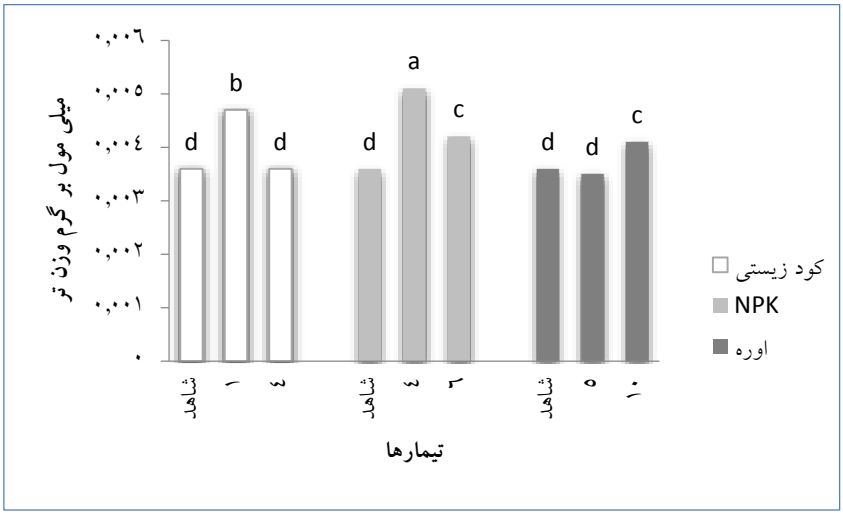
ب) در شکل ۸ نیز ملاحظه می شود که همه کودها به جز کود زیستی٤، موجب افزایش معنی‌دار میزان پروتئین ریشه گیاه شده‌اند. بیشترین تأثیر مثبت مربوط به تیمار کود کود زیستی ۱ و کمترین تأثیر مثبت مربوط به تیمار کود NPK٤ و اوره ۱۰ بود.



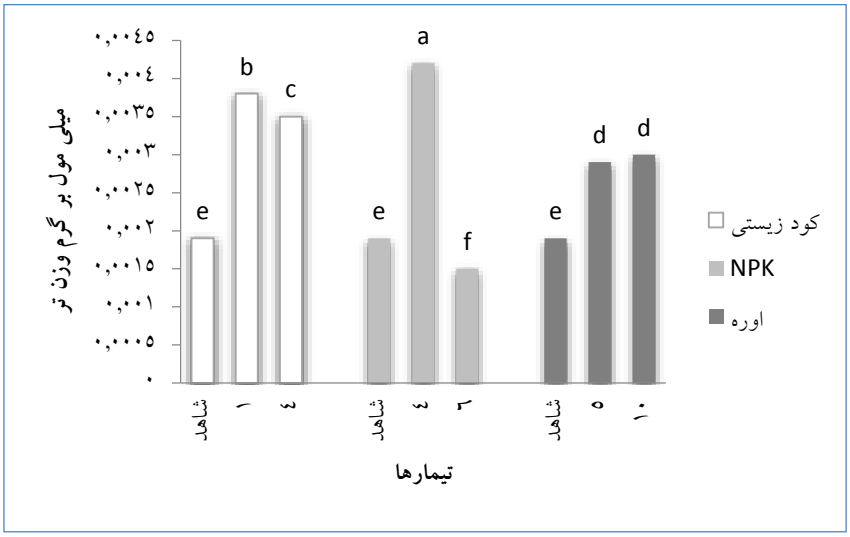
شکل۸: نتایج سنجش میزان پروتئین کل در ریشه گیاه آگاو آمریکایی رقم مارجیناتا. وجود حروف مشترک نشانگر نبود اختلاف معنیدار بین تیمارها در سطح ۵ درصد است.
واحد تیمارها در مورد کود زیستی، گرم بر کیلوگرم خاک گلدان و در مورد سایرین، گرم بر لیتر می‌باشد.

میزان آمینواسیدهای آزاد برگ و ریشه: به جز کود اوره۵ و کود زیستی کود زیستی٤ که تأثیر معنی‌داری بر میزان آمینواسید های آزاد برگ گیاه ندا شتند، بقیه کودهای اعمال شده به‌طور معنی‌داری بر میزان آمینوا سیدهای آزاد برگ گیاه اثر مثبت دا شتند و بیشترین تأثیر مثبت مربوط به تیمار کود NPK٤ بود (شکل ۹).

از سوی دیگر، شکل ۱۰ نشان می‌دهد که به‌غیر از کود NPK٦ که موجب کاهش معنی‌داری در میزان آمینواسیدهای آزاد ریشه گیاه شده است، بقیه کودهای اعمال‌شده به‌طور معنی‌داری بر میزان آمینواسیدهای آزاد ریشه گیاه اثر مثبت داشتند و بیشترین تأثیر مثبت مربوط به تیمار کود NPK٤ بود.

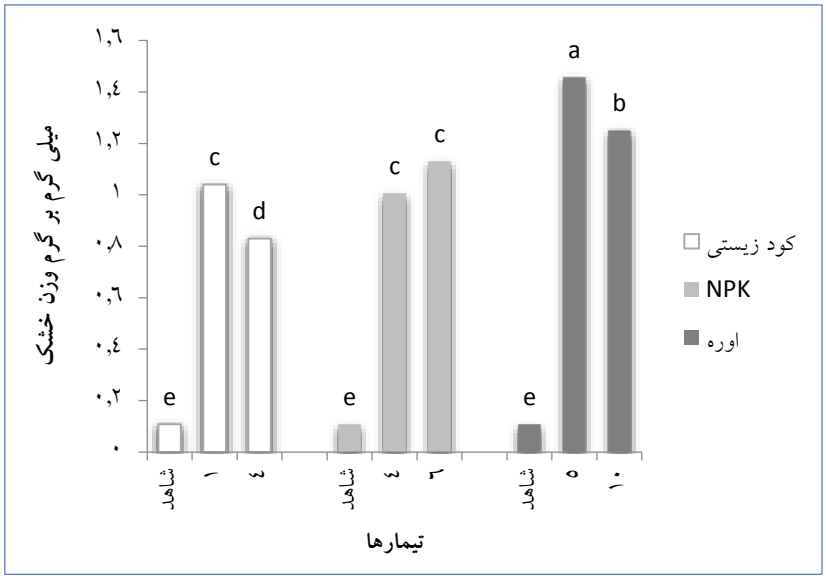


شکل ۹: نتایج سنجش میزان آمینواسید کل در برگ گیاه آگاو آمریکایی رقم مارجیناتا.
وجود حروف مشترک نشانگر نبود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها در سطح ٪۵ است.
واحد تیمارها در مورد کود زیستی، گرم بر کیلوگرم خاک گلدان و در مورد سایرین، گرم بر لیتر می‌باشد.



شکل ۱۰: سنجش میزان آمینواسیدهای آزاد در ریشه گیاه آگاو آمریکایی رقم مارجیناتا.
وجود حروف مشترک نشانگر نبود اختلاف معنیدار بین تیمارها در سطح ۵ درصد است.
واحد تیمارها در مورد کود زیستی، گرم بر کیلوگرم خاک گلدان و در مورد سایرین، گرم بر لیتر می‌باشد.

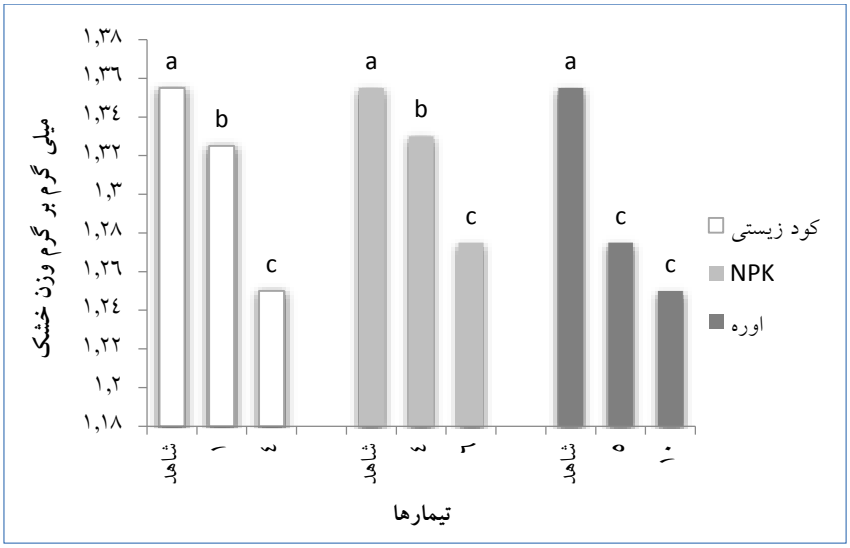
میزان نیتروژن کل در برگ و ریشه: همان‌گونه که در شکل ۱۱ ملاحظه می‌شود، همه کودهای اعمال‌شده بر محتوای نیتروژن کل برگ اثر مثبت معنی‌داری داشتند و بیشترین تأثیر مربوط به کود اوره ۵ و کمترین تأثیر مربوط به کود زیستی ٤ می‌باشد.



شکل ۱۱: نتایج سنجش میزان نیتروژن در برگ گیاه آگاو آمریکایی رقم مارجیناتا.

وجود حروف مشترک نشانگر نبود اختلاف معنیدار بین تیمارها در سطح ۵ درصد است.

واحد تیمارها در مورد کود زیستی، گرم بر کیلوگرم خاک گلدان و در مورد سایرین، گرم بر لیتر می‌باشد.



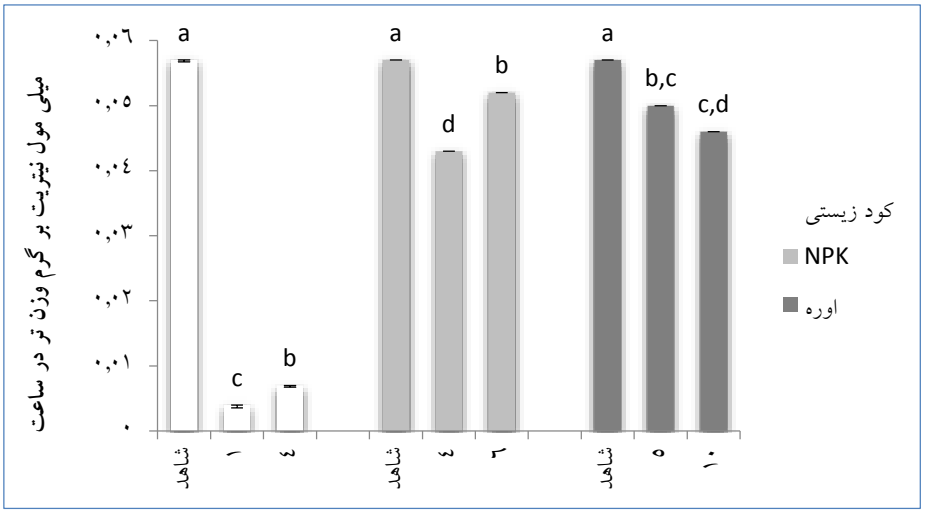
شکل۱۲: نتایج سنجش میزان نیتروژن در ریشه گیاه آگاو آمریکایی رقم مارجیناتا.

وجود حروف مشترک نشانگر نبود اختلاف معنیدار بین تیمارها در سطح ۵ درصد است.

واحد تیمارها در مورد کود زیستی، گرم بر کیلوگرم خاک گلدان و در مورد سایرین، گرم بر لیتر می‌باشد.

جدول ۱: اعداد نشانگر ضریب همبستگی پیرسون (R) بین دو متغیر سنجش شده می‌باشند. سطوح معنی ۰/۰۵ و یا ۰/۰۱ به ترتیب با یک و یا دوستاره مشخص شده‌اند. خط تیره نشانگر عدم همبستگی معنی‌دار است.

مورد سنجش شده	نیتروژن برگ	نیتروژن ریشه	آلکالوئید برگ	آلکالوئید ریشه	پروتئین برگ	پروتئین ریشه	آمینواسید برگ	آمینواسید ریشه	نیترات ردوکتاز	وزن‌تر برگ	وزن خشک برگ	وزن‌تر ریشه	وزن خشک ریشه
نیتروژن برگ	۱	-	۰/۶۱۲**	۰/۶۵۰**	۰/۶۰۹**	۰/۴۰۸*	-	-	-	۰/۴۶۷*	-	۰/۴۷۴*	-
نیتروژن ریشه	-	۱	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
آلکالوئید برگ	۰/۶۱۲**	-	۱	۰/۸۷۱**	۰/۵۰۸**	-	-	-	۰/۵۰۳**	-	-	-	-
آلکالوئید ریشه	۰/۶۵۰**	-	۰/۸۷۱**	۱	۰/۳۷۹*	-	-	-	۰/۳۷۹*	-	-	-	-
پروتئین برگ	۰/۶۰۹**	-	۰/۵۰۸**	۰/۳۷۹*	۱	۰/۹۰۳**	۰/۴۷۰*	۰/۵۷۶**	-	-	-	۰/۴۴۰*	-
پروتئین ریشه	۰/۴۰۸**	-	-	-	۰/۹۰۳**	۱	۰/۴۷۹**	۰/۴۱۹**	-	-	-	۰/۴۴۰*	-
آمینواسید برگ	-	-	-	-	۰/۴۷۰*	۰/۴۷۹**	۱	/۵۲۸**	-	-	-	-۰/۴۳۳*	-۰/۴۷۶*
آمینواسید ریشه	-	-	-	-	۰/۵۷۶**	۰/۴۱۹*	۰/۵۲۸**	۱	-۰/۶۰۶**	۰/۴۰۷*	۰/۴۵۱*	-	-
نیترات ردوکتاز	-	-	۰/۵۰۳**	۰/۳۷۹*	-	-	-	-۰/۶۰۶**	۱	-۰/۵۹۰**	-۰/۵۱۹*	-	-۰/۴۴۶*
وزن‌تر برگ	۰/۴۶۷**	-	-	-	-	-	-	۵۰/۴۰۷*	-۰/۵۹۰**	۱	۰/۷۱۷**	۰/۷۴۸*	۰/۸۶۰**
وزن خشک برگ	-	-	-	-	-	-	-	۰/۴۵۱*	-۰/۵۱۹**	۰/۷۱۷**	۱	۰/۵۵۶*	۰/۸۵۲**
وزن‌تر ریشه	۰/۴۷۴*	-	-	-	۰/۴۴۰*	۰/۴۴۰*	-۰/۴۳۳*	-	-	۰/۷۴۸**	۰/۵۵۶**	۱	۰/۷۳۳**
وزن خشک ریشه	-	-	-	-	-	-	-۰/۴۷۶*	-	-۰/۴۴۶*	۰/۸۶۰**	۰/۸۵۲**	۰/۷۳۳**	۱



شکل ۱۳: نتایج سنجش میزان فعالیت نیترات ردوکتازی برگ در گیاه آگاو آمریکایی رقم مارجیناتا.
وجود حروف مشترک نشانگر نبود اختلاف معنیدار بین تیمارها در سطح ۵ درصد است.
واحد تیمارها در مورد کود زیستی، گرم بر کیلوگرم خاک گلدان و در مورد سایرین، گرم بر لیتر می‌باشد.

با این وجود، اثر منفی همه کودهای اعمال شده بر نیتروژن برگ معنی‌دار است و بیشترین تأثیر منفی مربوط به تیمارهای غلیظ‌ترکودها است (شکل۱۲).

فعالیت نیترات ردوکتازی برگ: نتایج آزمایش نشان داد که همه کودهای اعمال‌شده به‌طور معنی‌داری موجب کاهش فعالیت نیترات ردوکتازی برگ گیاه شده‌اند و بیشترین تأثیر منفی مربوط به کودهای زیستی بوده است (شکل ۱۳).

تحقیق همبستگی‌ها: جدول ۱ نشان می‌دهد که بین مقادیر مرتبط با رشد برگ و ریشه یعنی وزن‌تر و خشک این اندام‌ها همبستگی مثبت وجود دارد. همچنین همبستگی مثبتی بین مقدار نیتروژن برگ‌ها با مقادیر مربوط به وزن‌تر ریشه و برگ و محتوای پروتئین‌ها و آلکالوئیدهای ریشه و برگ دیده می‌شود.

همچنین بین فعالیت نیترات ردوکتازی برگ‌ها و محتوای آلکالوئیدی برگ و ریشه همبستگی مثبت و از سوی دیگر بین این فعالیت و محتوای آمینوا سیدی ریشه، وزن خشک‌ریشه و وزن‌تر و خشک برگ‌ها همبستگی منفی وجود دارد.

بحث

اثر مثبت عمال کودهای ازته در بهبود رشد و نمو و محصول دهی موضوع گزارشات متعددی بوده است (Liu et al., 2020; Stutte, 2006; Erisman et al., 2008; Karamanos and Sotiropoulou, 2013; Lubbe and Verpoorte, 2011; Nurzyńska-Wierdak, 2011; Almrani, 2019; Amissah et al., 2022). نتایج این پژوهش نشان داد که همه کودهای اعمال شده به طور معنی‌داری بر میزان وزن‌تر و خشک برگ گیاه اثر مثبت داشتند که با مجموعه نتایج تحقیقات فوق تطابقت دارد.

همچنین مطالعات Rajendran و Devaraj (۲۰۰٤) در پنبه نشان داد که کودهای زیستی منجر به توسعه سیستم ریشه‌ای می گردند که آن یافته‌ها با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد. در پژوهش حاضر، همه کودهای اعمال شده بر نیتروژن برگ اثر مثبت معنی‌داری داشته‌اند. پژوهش Iqbal و همکاران (۲۰۲۰) نشان داد که استفاده از کودهای نیتروژن موجب افزایش پروتئین محلول کل ریشه شد و رشد ریشه را برای جذب نیتروژن بهبود بخشید، با نتایج این تحقیق مطابقت دارد. همچنین اثر منفی همه

کودهای اعمال شده بر نیتروژن ریشه معنی‌دار است که با پژوهش Iqbal و همکاران (۲۰۲۰) مطابقت ندارد. همچنین این کاهش با افزایش معنی‌دار نیتروژن برگ همراه است که نشان از تقویت انتقال ترکیبات نیتروژن دار از ریشه‌ها به برگ تحت اثر کودهای نیتروژنه دارد. همچنین همه کودهای اعمال شده به‌طور معنی‌داری بر میزان پروتئین کل برگ و ریشه گیاه اثر مثبت داشتند و بیشترین تأثیر مثبت مربوط به تیمار کود زیستی و کمترین تأثیر مثبت مربوط به تیمار کود NPK_1 بود. بیشترین تأثیر مثبت بر میزان پروتئین کل ریشه گیاه مربوط به تیمار کودزیستی و کمترین تأثیر مثبت مربوط به تیمار کودNPK_1 بود. این یافته‌ها با نتایج حاصل از مطالعات Rajendran و Devaraj (۲۰۰٤) در پنبه مبنی بر اینکه کودهای زیستی منجر به افزایش میزان پر.تئین گیاه می گردند و همچنین پژوهش Almrani (۲۰۱۹) که نشان داد کود نیتروزنه NPK موجب افزایش میزان پروتئین در گیاه مرغ مصری سفید (white henbane) شده است، همخوانی دارد. در مورد کشت متناوب برنج و کلزا نیز اثر مثبت کود دهی برای افزایش محتتوای پروتئینها، آمینواسیدها و افزایش محصول گزارش شده است (Yousaf et al., 2017) که با نتایج کار حاضر در اثر مثبت کودهای نیتروژن بر افزایش محتوای پروتئینی و آمینواسیدی گیاه آگاو آمریکایی مطابقت دارد.

علاوه بر این، گزارش شده است که استفاده از کودها، به ویژه کودهایی که نیتروژن و فسفر را فراهم می کنند، زیست توده قسمت‌های رویشی تولید کننده متابولیت‌های ثانویه را در گیاهان دارویی معطر، بهبود می بخشد. به عنوان مثال می‌توان به پژوهش Kapoor و همکاران (۲۰۰٤) بر روی گیاه *Foeniculum vulgare* اشاره کرد. نمونه دیگر پژوهش Rao (۲۰۰۱) بر روی گیاه *Cymbopogon martinii* و پژوهش Sifola و Barbieri (۲۰۰٦) بر روی سه رقم از ارقام گیاه ریحان است. اثر مثبت اعمال کود حاوی فسفر در افزایش محصول بابونه آلمانی و متابولیت‌های ثانویه آن نیز مورد تایید برخی دیگر از پژوهش ها است (Jeshni et al., 2017).

در مطالعه Amissah و همکاران (۲۰۲۲)، تأثیر کاربرد نیتروژن (به شکل اوره یا NPK) بر گیاه دارویی *Cryptolepis sanguinolenta* مورد بررسی قرار گرفت و افزایش عملکرد زیست توده ریشه و محتوا و عملکرد آلکالوئیدهای دارویی در مقایسه با گیاهان شاهد گزارش شد. همچنین در آن پژوهش، کشت تجاری *C. sanguinolenta* همراه با کاربرد نیتروژن به‌عنوان راه حلی امیدوارکننده برای استفاده پایدار از این گونه دارویی در معرض تهدید معرفی شد.

مطالعات بر روی گیاه پروانش (Gholamhosseinpour et al., 2011) و بر روی گیاه داتوره (Ruminska and El Gamal, 1978) نیز افزایش محتوای آلکالوئید را به دنبال استفاده از کود نیتروژن دار گزارش کردند.

نتایج آزمایش سنجش میزان آلکالوئید برگ و ریشه در آگاو آمریکایی رقم مارجیناتا نشان داد که کود های $Urea_{1,2}$ و کود $NPK_{1,2}$ به‌طور معنی‌داری موجب افزایش میزان آلکالوئیدهای برگ و ریشه شدند.که با پژوهش *Almrani* (۲۰۱۹) مبنی بر اینکه کود نیتروزنه NPK موجب افزایش میزان الکالوئیدها در گیاه مرغ مصری سفید(*white henbane*) شد، مطابقت دارد.

همچنین نتایج کار حاضر از نظر اثر مثبت کود ازته بر محتوای آلکالوئیدی اندام های آگاو آمریکایی، هم‌جهت با نتایج پژوهشگرانی است که موافق کشت گیاهان دارویی و صنعتی و کود دهی به آنها در جهت افزایش متابولیتهای ثانوی آنها هستند (Stutte, 2006; Karamanos and Sotiropoulou, 2013; Lubbe and Verpoorte, 2011; Nurzyńska-Wierdak, 2011; Almrani, 2019; Amissah et al., 2022).

قابل توجه است که در این پژوهش، هرچند مقدار کلی اسید آمینه‌های برگ و ریشه نیز کم و بیش تحت تاثیر تیمارهای کود قرار گرفته است ولی آلکالوئیدها هم از نظر مقدار و هم از نظر میزان افزایش تحت تاثیر کود های نیتروژ نه، ذ خائر ازتی مهمتری در برگ و ریشه آگاو آمریکایی در مقایسه با اسید آمینه‌های آزاد به نظر می رسند.

در یک نگاه کلی و از منظر فیزیولوژیکی، نتایج حاصل از این پژوهش نشان می دهد که اعمال کودهای نیتروژنه باعث کاهش محتوای نیتروژن ریشه و در عوض افزایش نیتروژن برگها شده که نشان می‌دهد اعمال کود، سیستم انتقال مواد نیتروژنه از ریشه به برگها را تقویت کرده است.

کاهش نیتروژن ریشه، هم سو با افزایش پروتئین‌ها، اسید آمینه‌های آزاد و آلکالوئیدهای آن نشان دهنده تغییر الگوی حضور نیتروژن در مواد نیتروژن دار به هنگام به کار گیری کود است.

همچنین در کار حاضر، کاهش فعالیت نیترات ردوکتازی برگها هنگام استفاده از کودهای نیتروژنه و به ویژه کود زیستی ممکن است شاخصی برای افزایش انتقال اشکال احیاء شده نیتروژن از ریشه به برگها باشد. کاهش نیتروژن ریشه و در عوض افزایش آن در برگها نیز ممکن است شاهدی بر این امر باشد. همبستگی منفی فعالیت نیترات ردوکتازی برگها با شاخصهای رشد گیاه نیز نشانگر نقش پر رنگ این انتقال در تقویت رشد برگها و عدم وابستگی این رشد به احیای نیترات در خود برگ‌ها است.

بر اساس تحقیقات Lee و همکاران (۲۰۲۱)، به نظر می‌رسد که افزایش فعالیت‌های NR و نیز افزایش شدت رونویسی از ژن‌های آن در گیاه آرابیدوپسیس نتیجه ای از افزایش غلظت کود نیتراته است که به افزایش رشد نیز منجر می‌شود. افزایش سنتز پروتئین‌ها و آمینواسیدهای آزاد نیز نتیجه دیگر اعمال کودهای نیتراته بوده است. این نتایج با نتایج کار حاضر در مورد فعالیت نیترات ردوکتازی برگ و کاهش آن همراه با افزایش کود ازته همخوانی ندارد.

Han و همکاران (۲۰۲۲) نیز گزارش کردند که در گیاه برنج، هنگامی که نیترات پتاسیم به عنوان منبع نیتروژن به کار گرفته شود، سرعت جذب نیترات، نیتریت و نیز آمونیوم در ارقامی که دچار جهش در محل فسفوریلاسیون نیترات ردوکتاز هستند تسریع می‌شود.که می تواند تغذیه نیتروژن بیشتری را فراهم کند و تحمل برنج را در برابر کمبود نیتروژن آمونیوم بهبود بخشد. در واقع فسفریلاسیون نیترات ردوکتاز روشی تنظیمی در جهت کاهش فعالیت آن است که در این موتانها دچار نقص و کاهش است. با این وجود Ronga و همکاران (۲۰۲۰) در مورد گیاه گوجه فرنگی دریافتند که غلظتهای زیاد از حد کود نیتروژن میتواند اثر کاهنده بر رشد آن داشته باشد. به نظر نمیرسد که در پژوهش حاضر میزان کودهای اعمال شده بیش از اندازه باشد زیرا افزایش آنها با کاهش رشد همراه نبوده است.

نتیجه‌گیری نهایی

از جنبه کاربردی و اقتصادی، از بین کودهای به کار رفته در این پژوهش برای کشت گیاه زینتی-دارویی آگاو آمریکایی، کود اوره تاثیرات فراگیر تری را هم بر روی رشد ریشه و برگها و هم محتوای آلکالوئیدی آنها که ممکن است اهمیت دارویی داشته باشند اعمال می‌کند.

از جنبه فیزیولوژیکی، اعمال کودهای نیتروژنه از سویی باعث تغییر در الگوی توزیع نیتروژن بین ریشه و برگها و افزایش انتقال آن به اندامهای هوایی در مقابل کاهش آن در ریشه شده و از سوی دیگر الگوی حضور نیتروژن در ترکیبات نیتروژن دار مورد سنجش در این پژوهش را نیز از نظر نوع و مقدار تغییر داده

که از این نظر افزایش حضـــور نیتروژن در ســـاختار آلکالوئیدها در مقایسه با آمینواسیدهای آزاد تحت تاثیر کودهای اعمال شده حائز اهمیت است.

References

Almrani, H.A. (2019). Effect of Chemical Fertilizers (N P K) in the Growth Two Species of Henbane and Total Alkaloids Content. Iraq Journal of Agriculture. 24(1): 52-61.

Amissah, J.N., Alorvor, F.E., Okorley, B.A., Asare, C.M., Osei-Safo, D., Appiah-Opong, R. and Addae-Mensah, I. (2022). Mineral Fertilization Influences the Growth, Cryptolepine Yield, and Bioefficacy of *Cryptolepis sanguinolenta* (Lindl.) Schlt. Plants. 11(1): 122.

Borja Reis, A.F., Tamagno, S., Moro Rosso, L.H., Ortez, O.L., Naeve, S. and Ciampitti, I.A. (2020). Historical trend on seed amino acid concentration does not follow protein changes in soybeans. Scientific Reports. 10: 17707.

Borquaye, L.S., Gasu, E.N., Ampomah, G.B., Kyei, L.K., Amarh, M.A., Mensah, C.N., Nartey, D., Commodore, M., Adomako, A.K. and Acheampong, P. (2020). Alkaloids from Cryptolepis sanguinolenta as potential inhibitors of SARS-CoV-2 viral proteins: An in silico study. BioMedical Researches. Int. 2020: 1–14.

Bradford, M.M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anals of Biochemistry. 72:248-250.

Erisman, J.W., Sutton, M.A., Galloway, J., Klimont, Z. and Winiwarter, W. (2008). How a century of ammonia synthesis changed the world. National Geoscience. 1: 636–639.

Farha, A. and Inam, A. (2020). Accumulation of metals, antioxidant activity, growth and yield attributes of mustard (Brassica juncea L.) grown on soil amendments with fly ash together with inorganic nitrogen fertilizer. Acta Physiologiae Plantarum. 42: 150.

Gholamhosseinpour, Z., Hemati, K., Dorodian, H. and Bashiri-Sadr, Z. (2011). Effect of nitrogen fertilizer on yield and amount of alkaloids in periwinkle and determination of vinblastine and vincristine by HPLC and TLC. Plant Science Research. 3: 4–9.

HAN, R.C., XU, Z.R., LI, C.Y., RASHEED, A., PAN, X.H., SHI, Q.H. and WU, Z.M. (2022). The removal of nitrate reductase phosphorylation enhances tolerance to ammonium nitrogen deficiency in rice. Journal of Integrative Agriculture. 21(3): 631-643.

Iqbal, A., Dong, Q., Wang, X., Gui, H., Zhang, H., Zhang, X. and Song, M. (2020). Variations in Nitrogen Metabolism are Closely Linked with Nitrogen Uptake and Utilization Efficiency in Cotton Genotypes under Various Nitrogen Supplies. Plants. 9(2): 250-258.

Izadi, Z., Ahmadvand, G., Asna-Ashri, M. and Piri, J. (2010). Effect of nitrogen and plant density on some growth characteristic, yield and essence in peppermint. Iranian Journal of Field Crops Research. 8(5): 24-36.

Jeshni, M.G., Mousavinik, M., Khammari, I. and Rahimi, M. (2017). The changes of yield and essential oil components of German Chamomile (Matricaria recutita L.) under application of phosphorus and zinc fertilizers and drought stress conditions. Journal of Saudi Society of Agricultural Sciences 16: 60–65.

Kapoor, R., Giri, B. and Mukerji, K.G. (2004). Improved growth and essential oil yield and quality in Foeniculum vulgare mill on mycorrhizal inoculation supplemented with P-fertilizer. Bioresource and Technology 93: 307–311.

Karamanos, A.J. and Sotiropoulou, D.E. (2013). Field studies of nitrogen application on Greek oregano (Origanum

vulgare ssp. hirtum (Link) Ietswaart) essential oil during two cultivation seasons. Indian Crop Production. 46: 246–252.

Kour, D., Rana, K.L., Yadav, A.N., Yadav, N., Kumar, M., Kumar, V., Vyas, P., Dhaliwal, H.S. and Saxena, A.K. (2020). Microbial biofertilizers: Bioresources and eco-friendly technologies for agricultural and environmental sustainability. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology. 23: 101487.

Lee, Y.J., Lee W.J., Le, Q.T., Hong, S.W. and Lee, H. (2021). Growth Performance Can Be Increased Under High Nitrate and High Salt Stress Through Enhanced Nitrate Reductase Activity in Arabidopsis Anthocyanin Over-Producing Mutant Plants. Frontiers in Plant Science. DOI: 10.3389 /fpls.2021.644455.

Lin,D.C., Li, Y., Wang, H., Niazi, N. K., Zhang, S., Liu, D., Zhao, K., Fu, W., Li, Y., and Ye, Z. (2020). Nitrogen fertilizer enhances zinc and cadmium uptake by hyperaccumulator Sedum alfredii Hance. Journal of Soils and Sediments, 20(1): 320–329.

Liu, R. Zhu, P.F., Wang, Y.S., Chen, Z., Zhu, J.R., Shu, L.Z. and Zhang, W.J. (2020). Alternate partial root-zone drip irrigation with nitrogen fertigationpromoted tomato growth, water and fertilizer-nitrogen use efficiency. Agricultural Water Management . 233(30): 106049.

Lubbe, A. and Verpoorte, R. (2011). Cultivation of medicinal and aromatic plants for specialty industrial materials. Indian Crop Production. 34: 785–801.

Nurzyńska-Wierdak, R. (2013). Does mineral fertilization modify essential oil content and chemical composition in medicinal plants. Acta Science. Poland-Hortorum Cultus. 12: 3–16.

Rahmani, A., Sateei, A., Ebadi, M. and Ahmadi Golsefidi, M. (2021). Investigation of growth, nitrate reductase activity, total content of flavonoids, anthocyanins and some elements in Zamioculcas zamiifolia Engl. under the influence of three types of nitrogen fertilizers in greenhouse conditions, Journal of Iranian Plant Ecophysiological Research. Doi: 10.30495 /iper.2021.679564.

Rao, B.R. (2001). Biomass and essential oil yields of rainfed palmarosa (Cymbopogon martinii (Roxb.) Wats. var. motia Burk.) supplied with different levels of organic manure and fertilizer nitrogen in semi-arid tropical climate. Indian Crop Production 14: 171–178.

Rivero, R.M., Ruiz, J.M. and Romero, L.M. (2004). Importance of N source on heat stress tolerance due to the accumulation of proline and quaternary ammonium compounds in tomato plants. Plant Biology (Stuttg) 6: 702-707.

Ronga, D., Pentangelo, A., and Parisi, M. (2020). Optimizing N fertilization to improve yield, technological and nutritional quality of tomato grown in high fertility soil conditions. Plants. 9:575. DOI: 10.3390/plants9050575.

Rosso, L.H., Moro, W.D., Carciochi, S.L., Naeve, P., Kovács, S.N., Casteel, S.N. and I.A. Ciampitti, I.A. (2020). Nitrogen and Sulfur Fertilization in Soybean: Impact on Seed Yield and Quality. Kansas Agricultural Experiment Station Research Reports. 6(5): 27.

Roy, A. (2017). A review on the alkaloids an important therapeutic compound from plants. Int. Journal of Plant Biotechnology, 3: 1–9.

Rupani, R. and Chavez, A. (2018). Medicinal plants with traditional use: ethnobotany in the Indian subcontinent. Clinical Dermatology. 36: 306–309.

Ruminska, A. and El Gamal, E.S. (1978). Effect of nitrogen fertilization on growth, yield and alkaloid content in Datura innoxia mill. Acta Horticulture. 73: 173–180.

Sadia, S., Tariq, A., Shaheen, S., Malik, K., Khan, F., Ahmad, M., Qureshi, H. and Nayyar, B.G. (2018). Ethnopharmacological profile of anti-arthritic plants of Asia—a systematic review. Journal of Herbal Medicine. 1–68.

Shamsa, F., Monsef, H., Ghamooshi, R. and Verdian -rizi, M. (2008).Spectrophotometric determination of total alkaloids in some Iranian

medicinal plants. The Thai Journal of Pharmaceutical Sciences. 32: 17-20.

Sifola, M.I. and Barbieri, G. (2006). Growth, yield and essential oil content of three cultivars of basil grown under different levels of nitrogen in the field. Scientific Horticulture. 108: 408–413.

Stutte, G.W. (2006). Process and product: Recirculating hydroponics and bioactive compounds in a controlled environment. Horticultural Sciences. 41: 526–530.

Sym,G.L. (1984). Optimisation of the invivo assay conditions for nitrate reductase in barly. Journal of Science, Food and Agriculture. 35: 725-730.

Uniyal, S.K., Singh, K.N., Jamwal, P., Lal, B. (2006). Traditional use of medicinal plants among the tribal communities of Chhota Bhangal, Western Himalaya. Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine. 2: 1–8.

Xu., F. Chu, C. and Xu., Z. (2020). Effects of different fertilizer formulas on the growth of loquat root stocks and stem lignification. Scientific Reports. 10: 1033.

Yousaf, M., Li, J., Lu, J., Ren, T., Cong, R., Fahad, S. and Li, X. (2017). Effects of fertilization on crop production and nutrient-supplying capacity under rice-oilseed rape rotation system. Scientific Reports. 7: 1–9.