



Evaluation of Changes in Alkaloid Content and some Physiological Traits of *Datura stramonium L.* under the Influence of Planting Date and Plant Density Levels

Z. Izadi¹, A. Biabani^{2*}, H. Sabouri³, B. Bahreininejad⁴, A.L. Qolizadeh⁵

Received: 05-11-2021

Revised: 04-12-2021

Accepted: 25-12-2021

Available Online: 25-11-2022

How to cite this article:

Izadi, Z., Biabani, A., Sabouri, H., Bahreininejad, B., & Qolizadeh, A.L. (2022). Evaluation of Changes in Alkaloid Content and some Physiological Traits of *Datura stramonium L.* under the Influence of Planting Date and Plant Density Levels. *Journal of Horticultural Science* 36(3): 657-669. (In Persian with English abstract)

DOI: [10.22067/jhs.2021.72958.1095](https://doi.org/10.22067/jhs.2021.72958.1095)

Introduction

Datura stramonium L. is one of the medicinal plants that have a special role in the pharmaceutical industry due to its alkaloid compounds. *Datura* is one of the most important medicinal species that is a rich source of alkaloid compounds. Important phytochemical compounds in *Datura*, especially alkaloids, have been considered by the pharmaceutical industry. *Datura (Datura stramonium L.)* is an annual plant of the Solanaceae family, which is native to North America and is found in abundance in the coastal areas of northern Iran from Astara to eastern Mazandaran. Important phytochemical compounds in tattoos, especially alkaloids, have been considered by the pharmaceutical industry. Tropine alkaloids are one of the most important compounds in plants of the Solanaceae family and the anticholinergic effects of these compounds have made their use common in medicine. Important tropine alkaloids include hyoscyamine, scopolamine, and atropine in *D. stramonium*. Plant growth is a set of specific biochemical and physiological processes that interact with each other and are affected by environmental factors such as temperature, light intensity, etc. that are affected by the date of planting. In the meantime, analyzing the amounts of photosynthetic pigments is a way to justify and interpret the plant's reactions to different environmental conditions during the growing period, through which it is possible to transfer and accumulate photosynthetic products. Due to the importance of *D. stramonium* and its widespread use in the pharmaceutical industry, Since *Datura* plant has not been adequately studied in the literature, the purpose of investigating three different planting date and planting density levels in this plant is to determine their proper values which increase the alkaloids and photosynthetic pigments, resulting in grain growth and yield increment.

Materials and Methods

This research during two consecutive years (1397-1397 and 1397-1398) in Shahid Fozveh research station affiliated to Isfahan Agricultural Research and Training Center and Natural Resources located 25 km west of Isfahan (Latitude: 32°36'37" N, Longitude: 51°26'52" E . 1612 m above sea level), which according to the Gachin division has a mild semi-desert climate. The experiment was performed as a factorial experiment in the form of randomized complete blocks with three replications. Treatments included three densities (6, 10 and 14) plants per square meter and planting date in autumn and spring. Autumn planting of *D. stramonium* for the first year of the experiment was done on 3 January and in the second year on 30 December. In the spring planting of *D. stramonium*, due to the long growing season, in order to be productive during the growing season, first the

1, 2, 3 and 5- Ph.D., Associate Professors and Assistant Professor Department of Plant Production, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Gonbad Kavous University, Gonbad Kavous, Iran, respectively.

(*- Corresponding Author Email: abbas.biabani@gonbad.ac.ir)

4- Research Division of Natural Resources, Isfahan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Isfahan, Iran

seed of the plant was planted in the planting trays and then in the 3 to 4 leaf stage the seedlings were transferred to the main land. In both years of testing, the seeds were sown on the date of spring planting in March. Field operations including plowing, disc, leveling, preparation and preparation of atmosphere and ridges were carried out in the field. According to different fertilizer levels and density levels, each replication included 9 experimental plots. The length of each plot was 5 m and its width was 3 m, which included 5 rows with a distance of 60 cm. The distances of the plants on the ridge were considered as 15, 20 and 33 cm 33, respectively, according to the densities (6, 10 and 14 plants per square meter). The distance between the replicates was 1 m and the distance between the plots from each other was considered a planting line. The data were analyzed using SAS software version 9.4. The means were compared with LSD test at 5% level and graphs were drawn using EXCEL software version 2010.

Conclusion

According to the results, the density of 6 plants per hectare on the date of autumn planting improved seed yield and increased hyoscyamine and alkaloids. In fact, the density of 6 plants per square meter in this study increased grain yield and the amount of hyoscyamine and ascopolamine. At low plant densities in this study, including densities of 6 and 10 plants per square meter, the amount of photosynthetic pigments increased. Also, maintaining the amount of chlorophyll in young leaves causes a delay in the aging process and increases the durability of the leaf surface, which will have a significant effect on the transfer of photosynthetic material to the seed. More and slower nourishing material is transferred to the grain, so the grain filling period will be longer. The results show that by selecting proper levels of plant density and planting date as two of the most important crop management practices, the number of tropane alkaloids in *Datura* as one of the important active ingredients in the pharmaceutical industry increases.

Keywords: Ascopolamine and Hyoscyamine, *Datura*, Phoattosynthetic pigments



مقاله پژوهشی

جلد ۳۶، شماره ۳، پاییز ۱۴۰۱، ص. ۶۶۹-۶۵۷

بررسی تغییرات محتوای آلکالوئیدها و برخی صفات فیزیولوژیک گیاه دارویی تاتوره تحت تاثیر تاریخ کاشت و سطوح تراکم بوته

زهرا ایزدی^۱- عباس بیابانی^{۲*}- حسین صبوری^۳- بابک بحرینی نژاد^۴- زنده یاد عبدالطیف قلیزاده^۵

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۸/۱۴

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۰/۰۴

چکیده

گیاه تاتوره (*Datura stramonium L.*) به لحاظ دارا بودن ترکیبات آلکالوئیدی جایگاه ویژه‌ای در صنایع دارویی دارد. ترکیبات فیتوشیمیایی مهم موجود در تاتوره بهویژه آسکوپولامین و هیوسیامین آن را برای صنایع دارویی مورد توجه قرار داده است. بهمنظور بررسی سه سطح تراکم کاشت (۶ و ۱۰ و ۱۴ بوته در متر مربع) در دو تاریخ (کاشت پاییزه و بهاره) بر رنگدانه‌های فتوسترنی، آلکالوئیدها و عملکرد دانه تاتوره، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در شرایط مزرعه‌ای طی سال‌های زراعی ۱۳۹۷ و ۱۳۹۸ در ایستگاه تحقیقاتی شهریار فزو، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی اصفهان به اجرا درآمد. بر اساس نتایج بدست آمده تاریخ کاشت بر میزان آسکوپولامین و هیوسیامین تاتوره و عملکرد دانه اثر معنی‌داری در سطح یک درصد داشت اما بر رنگدانه‌های فتوسترنی شامل کلروفیل a و b اثر معنی‌داری نداشت. همچنین تاریخ کاشت بهاره نیز سبب کاهش صفات مورد بررسی گردید. در واقع تراکم ۶ بوته در متر مربع سبب افزایش عملکرد دانه و مقدار هیوسیامین و آسکوپولامین گردید، این در حالی است که، بیشترین مقدار کاروتینوئیدها ۰/۴۶۲ میلی گرم بر گرم وزن تازه برگ در تیمار ۱۴ بوته در متر مربع مشاهده گردید. در تراکم‌های ۶ و ۱۰ بوته در متر مربع مقدار رنگدانه‌های فتوسترنی شامل کلروفیل a و کلروفیل b افزایش یافت. همچنین تراکم بوته در تمامی صفات فوق اثر معنی‌داری داشت، بطوری که بیشترین مقدار آسکوپولامین در تیمار ۶ بوته در متر مربع ۰/۳ میلی گرم بر گرم وزن دانه) بدست آمد. در تاریخ کاشت پاییزه عملکرد دانه در تیمار تراکم ۶ بوته با ۱۱۷۴/۷۷ کیلوگرم در هکتار بدست آمد. بر اساس نتایج بدست آمده تراکم ۶ بوته در هکتار در تاریخ کاشت پاییزه سبب بهبود عملکرد دانه و افزایش هیوسیامین و آلکالوئید گردید.

واژه‌های کلیدی: تاتوره، رنگدانه‌های فتوسترنی، آسکوپولامین و هیوسیامین

مقدمه

تاتوره (*Datura stramonium L.*) گیاهی است یکساله از خانواده Solanaceae که بومی امریکای شمالی است (Oseni et al., 2010) و در نواحی ساحلی شمال ایران از آستانه مازندران به

وفور دیده می‌شود (Niakan et al., 2015). ترکیبات فیتوشیمیایی

مهم موجود در تاتوره بهویژه آلکالوئیدها آن را برای صنایع دارویی مورد توجه قرار داده است. تروپان آلکالوئیدها از مهمترین ترکیبات موجود در گیاهان خانواده سولاناسه بوده و اثرات آنتی‌کولینرژیکی^۵ این ترکیبات کاربرد آن‌ها را در پزشکی متداول کرده است. از جمله تروپان آلکالوئیدهای مهم می‌توان به هیوسیامین، آسکوپولامین و

۵- آنتی‌کولینرژیک به مواد یا داروهایی گفته می‌شود که با بلوك گیرنده استیل کولین (موسکارینی یا نیکوتینی) بر روی غشاء سلول هدف یا سلول پس سیناپسی مانع تأثیر استیل کولین می‌شوند. معروف‌ترین مواد آنتی‌کولینرژیک داروهای آنتی کولینرژیک مانند هیوسین، دیسیکلومین، آتروپین، تری‌هگزینیدیل، بنزتروپین، بی‌پریدن هستند.

۱، ۲، ۳ و ۵- بهترتب داش آموخته دکتری فیزیولوژی گیاهان زراعی، دانشیاران و استادیار گروه تولیدات گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس

نوبنده مسئول: (Email: abbas.biabani@gonbad.ac.ir)

۴- دانشیار، بخش تحقیقات منابع طبیعی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان اصفهان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی DOI: 10.22067/jhs.2021.72958.1095

مراحل فنولوژیکی گیاه باعث می‌شود که تاریخ کاشت در مناطق مختلف، متفاوت باشد (Hadley *et al.*, 1983). در واقع، بین تیمارهای زراعی تاریخ کاشت بیشترین تاثیر را بر ویژگی‌های فنولوژیک و فیزیولوژیک گیاهان دارد، با انتخاب تاریخ کاشت بهینه می‌توان میزان تطبیق مراحل رشد گیاه را با شرایط اقلیمی افزایش داد (Saberi and Azarmjoo, 2015). تاخیر در کاشت بهاره و افزایش دما در زمان کاشت گیاهان باعث مواجه شدن گیاه با دمای‌های بالا و افزایش سرعت رشد گیاه و کاهش طول مراحل مختلف فنولوژیکی می‌گردد. کاهش سطح برگ در اثر تاخیر در کاشت بهاره، موجب کاهش دریافت نور خورشید و افت بیشتر فتوسترات می‌شود و از طرف دیگر محدودیت رشد ریشه باعث می‌شود که میزان دسترسی گیاه به آب و مواد معدنی کاهش می‌باید و مجموع عوامل سبب کاهش شده است که مجموعه‌ای از فرآیندهای بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی خاصی است که اثرات متقابل بر یکدیگر داشته و تحت تأثیر عوامل محیطی از جمله درجه حرارت، شدت نور و غیره قرار می‌گیرند که متأثر از تاریخ کاشت می‌باشند. در این بین، تجزیه و تحلیل مقادیر رنگدانه‌های فتوستراتی، روشی برای توجیه و تفسیر واکنش‌های گیاه نسبت به شرایط مختلف محیطی در طول دوره رویش می‌باشد که از طریق آن می‌توان چگونگی انتقال و انباست فراورده‌های فتوستراتی را در اندام‌های مختلف با اندازه‌گیری ماده خشک تولید شده بدست آورد (Seyed Sharifi *et al.*, 2006). با توجه به اهمیت گیاه دارویی تاتوره و مصرف گسترده آن در صنایع داروسازی، این پژوهش با هدف بررسی اثر سطوح مختلف تراکم بوته و تاریخ کاشت بر رنگدانه‌های فتوستراتی و نیز اندازه‌گیری سطح هیوسمیامین و اسکوپولا مین با استفاده از روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) این گیاه به اجرا درآمد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش طی دو سال متوالی (۱۳۹۷-۱۳۹۸ و ۱۳۹۶-۱۳۹۷) در ایستگاه تحقیقاتی شهید فروه وابسته به مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی اصفهان واقع در ۲۵ کیلومتری غرب اصفهان (عرض جغرافیایی ۳۲ درجه و ۳۶ دقیقه شمالی و طول جغرافیایی ۵۱ درجه و ۲۶ دقیقه شرقی با ارتفاع ۱۶۱۲ متر از سطح دریا) که بر اساس تقسیم بندي گوسن دارای اقلیم نیمه بیابانی خفیف است، اجرا شد. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوك‌های کامل تصادفی در سه تکرار انجام گرفت. تیمارها شامل سه تراکم (۱۰ و ۱۴ بوته در متر مربع) و تاریخ کاشت در دو شرایط پاییزه و بهاره بودند. کاشت پاییزه تاتوره برای سال اول آزمایش در تاریخ ۳ دی ماه و در سال دوم در تاریخ ۳۰ آذر ماه انجام شد. ژنتیک پ کاشته شده

آتروپین در تاتوره اشاره کرد (Al-Humaid, 2005). آلالکالوئیدهای تروپانی عمدها در گیاهان خانواده بدمجان Solanaceae، نظریه تاتوره، بذرالبنج و شایبیک یافت می‌شوند و هیوسیامین، آتروپین، اسکوپولا مین و کوکائین معروف ترین آلالکالوئیدهای تروپانی می‌باشند. مشخصه‌ی تروپان آلالکالوئیدها، یک گروه متیل متصل به اتم نیتروژن می‌باشد که این چنین ساختمانی در استیل کولین‌های انتقال دهنده امواج عصبی در اعصاب مغز نیز دیده می‌شود. خاصیت بیهوش کنندگی و مسكن این آلالکالوئیدها به همین دلیل می‌باشد. آلالکالوئیدهای تروپانی کاربردهای مختلفی در پزشکی دارند که می‌توان به مواردی مانند آرام نمودن عالیم بیماری پارکینسون، گشاد کردن مردمک چشم و افزایش ضربان قلب، خنثی کردن سستی ماهیچه‌های صاف ناشی از ترکیبات فسفره آلی و کاهش ترشح عرق و اسید معده اشاره نمود (He *et al.*, 2020). تاتوره اگرچه گیاهی است که کل اندام‌های آن حاوی آلالکالوئیدها می‌باشد اما به طور عمده دانه و برگ آن دارای بیشترین مقادیر آلالکالوئید می‌باشند (Berkov *et al.*, 2006). تعیین تراکم کاشت مناسب از مهم‌ترین فعالیت‌های مدیریتی کلزا نشان داد که سطوح بالای تراکم سبب افزایش چشمگیر در مقدار کلروفیل و عملکرد دانه گردید (Tian *et al.*, 2020). آتسویسانین‌ها جز متابولیت‌های ثانویه حاصل از مسیر فنیل پروپانوئید می‌باشند و آنزیم فنیل آلانین آمونیالاز آغازگر این مسیر است که L-فنیل آلانین را با دامیناسیون^۱ به ترانس سینامیک اسید تبدیل می‌کند. این مسیر، مسیر اصلی بیوسترات متابولیت‌های ثانویه در سول‌های گیاهی می‌باشد. این آنزیم نیز نقش کلیدی در تشکیل ترکیب‌های فنولی دارد و به عنوان یکی از شاخص‌های حساس به تغییرات محیطی مانند تراکم کاشت مطرح می‌باشد. بنابراین به نظر می‌رسد که کاشت گیاه در تراکم مطلوب گیاهی در سنتز قرار گرفته و در نهایت عملکرد کمی و تولید آتسویسانین‌ها تحت تأثیر قرار گرفته و در نهایت عملکرد کمی و کیفی گیاه بهبود می‌باید (Vogt, 2010). کاروتنوئیدها همچنین نور جذب شده را به کلروفیل‌ها منتقل کرده و باعث افزایش کارایی کلروفیل‌ها می‌شوند. این رنگیزه‌ها لازمه ساختار غشاء تیلاکوئیدی هستند و با بسیاری از پروتئین‌هایی که در دستگاه فتوسترات دخالت دارند، ارتباط تنگاتنگی دارند (Emadi *et al.*, 2012). به منظور تصمیم‌گیری کشت یک گیاه جدید، در منطقه جدید باید جزئیات اثر متقابل گیاه با عوامل زراعی، ژنتیکی و اقلیمی مشخص شود (Bakhshndeh *et al.*, 2011).

^۱- دامیناسیون عبارت است از جداسازی گروه آمین (NH_2)

در هر نقطه یک بوته نگهداری و مابقی در مرحله ۶ برگی تنک شد. مبارزه با علفهای هرز تا زمان استقرار گیاه به صورت مکانیکی انجام گرفت. جهت تعیین نیاز کودی و برخی از خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک، قبل از انجام آزمایش سه نمونه از هر تکرار از عمق ۰-۳۰ سانتی‌متری خاک به طور تصادفی تهیه شده و پس از اختلاط، نمونه ترکیبی یک کیلوگرمی جهت تجزیه به آزمایشگاه خاکشناسی ارسال شد. بر اساس نتایج آزمون خاک ۱۰۰ کیوگرم فسفر خالص در هکتار به صورت P_2O_5 (از منبع سوپر فسفات تریل) مورد استفاده قرار گرفت. تمام کود فسفر به صورت نواری همزنان با بذر کاری مصرف شد. همچنین صفات مختلف شامل کلروفیل *a* و *b*، کاروتونوئیدها و آنتوکارپین در مرحله گله‌ی و از بافت تازه برگی اندازه‌گیری شدند. در هر دو سال، جهت اندازه‌گیری عملکرد دانه در هکتار، گیاهان هر کرت با حذف اثرات حاشیه‌ای برداشت شدند. سپس نمونه‌هایی برای تعیین وزن خشک به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد در آون قرار گرفت و پس از توزیع، در نهایت عملکرد دانه اندازه‌گیری شدند.

نتایج حاصل از تجزیه خاک در [جدول ۱](#) ارائه شده است.

تاتوره، ژنوتیپ اصفهان بود که از مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی اصفهان تهیه گردید. در کاشت بهاره تاتوره، با توجه به طولانی بودن دوره رشد و به منظور بهره‌وری از طول فصل رشد ابتدا بذر گیاه در سینی‌های نشاء کاشته شد و سپس در مرحله ۳ تا ۴ برگی گیاهچه‌ها به زمین اصلی منتقل شد. جهت انجام نشاء در هر دو سال آزمایش، اواخر بهمن ماه اقدام گردید و سپس در اوخر فروردین ماه گیاهچه‌ها به زمین اصلی منتقل شد. عملیات زراعی شامل شخم، دیسک زنی، تسطیح، آماده سازی و تهیه جوی و پشتنه در مزرعه انجام شد. با توجه به سطوح مختلف کود و سطوح تراکم در نظر گرفته شده، هر تکرار شامل ۹ کرت آزمایشی بود. طول هر کرت ۵ متر و عرض آن ۳ متر در نظر گرفته شد که شامل ۵ ردیف با فاصله ۰-۶ سانتی‌متر بود. فواصل بوته‌ها روی پشتنه با توجه به تراکم‌ها به ترتیب ۱۰ و ۱۴ و ۱۴ بوته در تر مربع (۱۵، ۲۰ و ۲۰ سانتی متر ۳۳ در نظر گرفته شد. فاصله بین تکرارها ۱ متر و فاصله بین کرت‌ها از یکدیگر یک خط نکاشت در نظر گرفته شد. همچنین طی هر دو سال بذر با توجه به تراکم‌های مورد نظر و با توجه به نقشه کاشت در عمق ۲-۳ سانتی‌متری کشت شد، بطوری که در هر گودال ۳-۲ بذر قرار داده شد و بلا فاصله بعد از کاشت آبیاری انجام گردید. پس از سبز شدن بوته‌ها

جدول ۱- ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد مطالعه در دو سال آزمایش
Table 1- Physical and chemical properties of the studied soil in two years of experiment

سال Year	هدایت Electrical conductivity (dS.m ⁻¹)	الکتریکی Electrical conductivity (dS.m ⁻¹)	pH	اسیدیتیه Potassium (mg.kg ⁻¹)	پتاسیم Phosphorus (mg.kg ⁻¹)	فسفر Total nitrogen (%)	نیتروژن کل Sand (%)	ماسه Silt (%)	رسیلت Clay (%)
2018	2.8	7.6	252	10.8	0.03	46	25	33	
2019	3.5	6.5	275	8.5	0.06	45	28	34	

اندازه‌گیری مقدار آنتوکارپین

به منظور سنجش میزان آنتوکارپین‌ها از روش واگنر ([Wagner, 1979](#)) استفاده شد. مقدار آنتوکارپین با استفاده از فرمول $A = Ebc$ به دست آمد. در این رابطه، A : شدت جذب، b : عرض کوت برابر با ۱ سانتی‌متر، c : غلظت آنتوکارپین (میلی‌لیتر بر گرم) و E : ضریب خاموشی برابر با ۳۳۰۰۰ مول بر سانتی‌متر است.

استخراج آلکالوئیدهای هیوسیامین و آسکوبولامین

به منظور استخراج آلکالوئیدها، ۵۰ میلی‌گرم از پودر خشک بذر از هر نمونه در ۸ میلی‌لیتر محلول هیدروکسید آمونیوم (NH_4OH)، متانول (CH_3OH), کلروفوم ($CHCl_3$) به ترتیب به نسبت ۱:۱:۵:۵ به مدت ۶ ساعت خیسانده شد و در فواصل زمانی یک ساعت با استفاده از ورتسک همزده شد. پس از خالی نمودن حلال، افزودن محلول استخراج به حجم ۵ میلی‌لیتر و خیساندن مجدد به مدت ۲۰

اندازه‌گیری میزان کلروفیل با استفاده از روش آرنون (۲) و کاروتونوئید با استفاده از روش لیچاندر ([Lichtenthaler, 1987](#)) در مرحله گله‌ی انجام شد در نهایت با استفاده از فرمول‌های زیر میزان کلروفیل *a* و *b* و کاروتونوئیدها بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر نمونه به دست آمد..

$$\text{Chlorophyll } a = (19.3 * A663 - 0.86 * A645) V/100W$$

$$\text{Chlorophyll } b = (19.3 * A645 - 3.6 * A663) V/100W$$

$$\text{Carotenoids} = 100(A470) - 3.27(\text{mg chl. } a) - 104(\text{mg chl. } b)/227$$

$$V = \text{حجم محلول صاف شده (محلول فوقانی حاصل از سانتریفیوژ)}$$

$$A = \text{ Gamb نور در طول موج های ۴۷۰ و ۶۴۵ نانومتر}$$

$$W = \text{ وزن تر نمونه بر حسب گرم}$$

تاثیر منفی معنی‌داری بر میزان کلروفیل a داشته‌اند (Javadi *et al.*, 2020). کاهش میزان کلروفیل a در اثر افزایش تراکم باعث کاهش جذب نور، کاهش فتوستتر، کاهش مواد پرورده و در نهایت سبب کاهش عملکرد می‌گردد. نتایج برخی تحقیقات نشان داد که با افزایش تراکم میزان کلروفیل a تا یک‌حد مطلوب افزایش یافته و سپس کاهش می‌یابد. دلیل این کاهش ممکن است، ناشی از عوامل درونی گیاه بر اثر رقابت بوته‌ها برای جذب عناصر غذایی خاک باشد. همچنین کاهش سطح برگ بر اثر افزایش تراکم ممکن است سبب کاهش میزان کلروفیل در برگ گردد (Harries and White, 2007).

کلروفیل b

نتایج تجزیه واریانس مرکب در **جدول ۲** و نتایج تجزیه واریانس دو سال زراعی بطور جداگانه در **جدول ۳** ارائه شده است. میزان کلروفیل b در هر دو سال آزمایش تحت تاثیر سطوح مختلف تراکم بوته قرار گرفتند. همچنین نتایج تجزیه واریانس مرکب نشان داد که سطوح تراکم بوته تاثیر معنی‌داری در سطح یک درصد بر میزان کلروفیل b داشته‌اند. تغییرات میزان کلروفیل b در سطوح تراکم بوته نشان داد که افزایش تراکم بوته سبب کاهش میزان کلروفیل b شده است (**شکل ۲**). یکی از عوامل مهم در هنگام بررسی میزان کلروفیل b در تراکم بالا، کاهش میزان فتوستتری ذخیره شده می‌باشد که از دو مبداء عمدی یعنی فتوستتری جاری قسمت‌های سبز غیر از برگ و انتقال مواد فتوستتری ذخیره شده در سایر اندام‌های گیاه تامین می‌شود (Javadi *et al.*, 2020).

کاروتنوئیدها

اثر تراکم بر میزان کاروتوئید برگ تاثیر معنی‌داری در سطح یک درصد داشت (**جدول ۲**). تاریخ کاشت تاثیر معنی‌داری بر میزان کاروتوئیدها نداشت. بیشترین مقدار کاروتوئیدها ۰/۴۶۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تازه برگ در تیمار ۱۴ بوته در متر مربع مشاهده گردید (**شکل ۲**). با توجه به افزایش مقدار کلروفیل a و b در تیمارهای ۶ و ۱۰ بوته در متر مربع (**شکل ۲**) می‌توان نتیجه گرفت که کاهش کاروتوئید در این تیمارها به علت حضور کلروفیل بوده است. کاروتوئیدها رنگدانه‌های غیر سبز رنگ موجود در برگ‌ها هستند که نقش مهمی در حفاظت از رنگدانه‌های سبز رنگ از جمله کلروفیل‌ها دارند. افزایش تراکم بوته سبب افزایش میزان کاروتوئیدها در برگ گردید که با نتایج عمادی و همکاران (Emadi *et al.*, 2012) مطابقت دارد. در زمان فتوستتر، کاروتوئیدها به عنوان محافظ کلروفیل گیاه عمل می‌کنند، به طوری که با رشد گیاه و ظهور رنگ نهایی همگام با کاهش کلروفیل مقدار کاروتوئید زیاد می‌شود.

دقیقه همراه با همزدن صورت گرفت. این عمل دو مرتبه تکرار گردید و مجموعه محلول استخراج حاوی عصاره گیاهی با استفاده از فیلتر پنبه‌ای صاف شد و در لوله‌های ۲۰ سانتی‌متری و در دمای ۲۷°C در شرایط تاریکی نگهداری شد. برای آسالیز ترکیبات با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارابی بالا (HPLC)، از ستون (i.d. ۶.۴ × ۲۵۰mm SDS) و از محلول ۱۰ میلی‌مولار- استونیتریل شد. تنظیم pH فاز متحرک با استفاده از (H₃PO_۳) یک درصد به میزان ۳/۳ صورت گرفت. پودر خشک استخراج شده از هر نمونه در یک میلی‌لیتر فاز متحرک با استفاده از ورتکس و سونیکاسیون حل گردید و ۲۰ میکرولیتر از هر نمونه به دستگاه تزریق گردید. از اشعه ماوراء بنفش با طول موج حدود ۲۱۵ نانومتر برای سنجش آلکالوئیدها استفاده شد. سرعت جریان فاز متحرک ۱/۱ میلی‌لیتر در دقیقه بود. دو محلول پایه استاندارد جداگانه با غلظت‌های ۱۲/۵ میلی‌گرم بر لیتر برای آسکوپولامین و ۲۵ میلی‌گرم بر لیتر برای هیوسیامین تهیه شد. دو محلول استاندارد مذکور به عنوان شاهد برای مقادیر ۰/۵ میلی‌گرم آسکوپولامین و ۱ میلی‌گرم هیوسیامین در یک گرم پودر بذر تهیه گردید و از هر محلول پایه استاندارد نیز مقدار ۲۰ میکرولیتر تزریق گردید (Hosseini *et al.*, 2011).

تجزیه و تحلیل آماری

اطلاعات به دست آمده با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۴ تجزیه و تحلیل شدند. میانگین‌ها توسط آزمون LSD در سطح پنج درصد مقایسه شدند و رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار EXCEL نسخه ۲۰۱۰ انجام شد. قبل از انجام هر گونه تجزیه و تحلیل، به دلیل اینکه طرح تجزیه مرکب است، آزمون یکنواختی واریانس‌ها انجام شد و مشاهده شد که واریانس خطابین دو سال مختلف یکسان بود.

بحث و نتایج

کلروفیل a

نتایج تجزیه واریانس صفات فیزیولوژیکی گیاه تاتوره در دو سال زراعی ۹۷ و ۹۸ نشان داد که سطوح متفاوت تراکم بوته اثر معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد بر مقدار کلروفیل a داشتند (**جدول ۳**). بر اساس نتایج تجزیه مرکب اثر سطوح مختلف تراکم و تاریخ کاشت در سطح یک درصد بر مقدار کلروفیل a و b معنی‌دار گردید (**جدول ۲**). همانگونه که در **جدول ۲** نشان داده شده است، سطوح تراکم اثر معنی‌داری بر مقدار کلروفیل a نداشتند. مقایسات میانگین نیز حاکی از آن است که افزایش سطوح تراکم بوته سبب کاهش کلروفیل a گردید (**شکل ۲**). همانگونه که مقایسات میانگین نشان داد تراکم‌های زیاد

جدول ۲- تجزیه واریانس مرکب رنگ‌دهندهای فتوسنتزی و الکالوئیدی کیاه تاتوره در دو سال زراعی

Table 2- Combined analysis of variance for photosynthetic pigments and alkaloids content of Jimsonweed plant in two cropping years.

منابع تغییر Sources Change	درجه ازادی Degrees of freedom	<i>a</i> Chlorophyll <i>a</i>	<i>b</i> Chlorophyll <i>b</i>	کاروتینید Carotenoids	آنتوکریپتین Anthocyanins	هیوسینامین Hyoscyamine	اسکوپولامین Scopolamine	اسکوپولامین yield	هیوسینامین Hyoscyamine yield	اسکوپولامین yield	عمرانکرد داده Grain yield
سال Year	1	0.004ns	0.177ns	0.359**	0.08ns	0.123ns	0.0031ns	0.007ns	0.0014ns	1059796.6**	
سال × سال Year × year	4	0.696**	0.048ns	0.006ns	0.857ns	0.0187ns	0.0036ns	0.126**	1184.96**	0.0093**	
تاریخ کاشت Planting date	2	0.151ns	0.143ns	0.0002ns	0.225ns	20.048**	0.198**	0.0044**	0.143**	2263439.34**	
밀یمتر Density	2	36.332**	16.56**	0.150**	6.478**	15.215**	0.623**	0.0156**	0.076**	7354035.54**	
تاریخ کاشت × 밀یمتر Planting date × density	4	3.261**	1.042**	0.004ns	1.151**	0.45**	0.0345**	0.003ns	0.0373*	541490.78**	
سال × سال Year × year	2	1.278**	1.822**	0.077**	0.409ns	0.007ns	0.0021ns	0.005**	0.069**	186990.51**	
تاریخ کاشت × سال Year × planting date	2	0.269ns	0.383**	0.0116ns	0.114ns	0.354ns	0.0016ns	0.0025**	0.048*	601384.03**	
سال × تاریخ کاشت Year × planting date × density	4	0.288ns	0.678**	0.009ns	0.136ns	0.78ns	0.004ns	0.006ns	0.022ns	413585.59**	
تاریخ Error	32	0.199	5.054	0.0077	0.145	0.105	0.0034	0.004	0.009	86325.7	
ضریب تغییر (درصد) Change coefficient (percent)		18.50	16.01	26.41	19.85	11.75	7.18	21.9	30.77	26.37	

* ** and ns: significant at the 5% of probability level, significant at the 1% of probability level, and non-significant.

جدول ۳- تجزیه واریانس رنگدانه‌های فتوستنتزی در گیاه تاتوره در دو سال زراعی ۹۷ و ۹۸

Table 3- ANOVA for photosynthetic pigment contents of Jimsonweed plant in two cropping years 2018 and 2019

سال Year	منابع تغییر Sources change	درجه آزادی Degrees of freedom	میانگین مربعات Mean squares				عملکرد هیوسیامین Hyoscyamine yield	عملکرد آسکوبولامین ascopolamine yield
			کاروتینوئید Carotenoids	کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll b			
۱۳۹۷ 2018	تاریخ کاشت Planting date	2	0.103ns	0.002ns	0.129ns	0.005*	0.024*	
	تکرار Repeat	1	15.56**	0.119**	15.63**	0.118**	9.866**	
	تراکم Density	2	33.37**	0.108**	6.938**	0.291**	5.473**	
	تاریخ کاشت × تراکم Planting date × density	4	0.137ns	0.04**	0.386ns	0.029**	0.289ns	
	خطا Error	16	0.478	0.006	0.188	0.004	0.105	
	ضریب تغییرات Change coefficient (%)		28.55	29.82	27.85	7.82	11.5	
۱۳۹۸ 2019	تاریخ کاشت Planting date	2	0.052ns	0.004ns	0.312ns	0.001*	0.012*	
	تکرار Repeat	1	21.04**	0.042**	19.97**	0.081**	10.189**	
	تراکم Density	2	24.39**	0.005ns	1.063**	0.33**	10.096**	
	تاریخ کاشت × تراکم Planting date × density							
	خطا Error	4	0.844**	0.008ns	0.078ns	0.0095*	0.24ns	
	ضریب تغییرات Change coefficient (%)	16	0.148	0.0053	0.089	0.002	0.107	
			15.99	18.66	18.27	6.42	12	

ns, *, **: به ترتیب معنی دار در سطح احتمال پنج درصد و عدم وجود اختلاف معنی دار

*, ** and ns: significant at the 5% of probability level, significant at the 1% of probability level, and non-significant respectively.

تولید آلکالوئیدها محسوب می‌گردد.

هیوسیامین

آسکوبولامین

نتایج تجزیه واریانس مرکب نشان داد که میزان آسکوبولامین به طور معنی داری تحت تاثیر تیمار تاریخ کاشت و تراکم بوته قرار گرفت (جدول ۲). همچنین در دو سال آزمایش سطوح تراکم بوته و تاریخ کاشت بر روی آسکوبولامین در سطح یک درصد معنی دار گردید (جدول ۳). بیشترین مقدار آسکوبولامین در تاریخ کاشت پاییز و در تیمار ۶ بوته در متر مربع (۳/۷ میلی گرم بر گرم وزن دانه) بدست آمد (شکل ۳). اختلاف در سطح آلکالوئیدها ناشی از فاکتورهای داخلی مانند سن گیاه و غیره وجود دارد که نسبت به عوامل خارجی و محیطی از اهمیت بیشتری برخوردارند. بنابراین تاریخ کاشت و تراکم به عنوان عامل مهمی در

نتایج حاصل از آنالیز عصاره‌های تهییه شده از دانه‌های تاتوره نشان داد که هیوسیامین در دانه گیاه وجود داشت. بر اساس نتایج تجزیه واریانس مرکب سطوح تراکم و تاریخ کاشت بر هیوسیامین در سطح یک درصد معنی دار گردید (جدول ۲). همچنین تجزیه واریانس در دو سال ۹۷ و ۹۸ نیز نشان داد که اثر سطوح تراکم و تاریخ کاشت بر صفت فوق در سطح یک درصد معنی دار گردید (جدول ۳). بیشترین مقدار آسکوبولامین در تاریخ کاشت پاییز و در تیمار ۶ بوته در متر مربع (۳/۷ میلی گرم بر گرم وزن دانه) بدست آمد (شکل ۳). اختلاف در سطح آلکالوئیدها ناشی از فاکتورهای داخلی مانند سن گیاه و غیره وجود دارد که نسبت به عوامل خارجی و محیطی از اهمیت بیشتری برخوردارند. بنابراین تاریخ کاشت و تراکم به عنوان عامل مهمی در

رشد، روپرو شده است که باعث کاهش در عملکرد تاتوره شده است، لذا در تاریخ کاشت پاییز عملکرد دانه در تیمار تراکم ۶ بوته با ۱۱۷۴/۷۲ کیلوگرم در هکتار بود. این در حالی است که در همین تیمار در تاریخ کاشت بهار ۹۴۵/۳۴ کیلوگرم در هکتار بدست آمد (شکل ۷). افزایش عملکرد مشاهده شده احتمالاً به دلیل افزایش شاخص سطح برگ و استفاده بهتر از نور خورشید و سایر منابع طی فصل رشد و افزایش فتوسترنز می‌باشد، اما اصلی‌ترین دلیل افزایش عملکرد در تراکم کم، افزایش وزن بوته در واحد سطح و استفاده بهتر از نور و شرایط محیطی بوده است چون در این حالت رقابت بین بوته‌ای کاهش می‌یابد.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج بدست آمده می‌توان چنین اظهار داشت که با افزایش تراکم رقابت بین گیاهان برای تولید مواد فتوسترنز افزایش یافته است. با توجه به نقش مهم اکوفیزیولوژیک نور در تولید متabolیت‌های ثانویه در گیاهان دارویی، تنظیم فاصله یک ابزار قدرتمند در افزایش رقابت بین گیاهان محسوب شده تا تولید بیشتر مواد موثره و عملکرد گیاهان کنترل شود. در یک نتیجه‌گیری کلی، با توجه به تاریخ کاشت‌های مورد مطالعه در این بررسی، تاریخ کاشت پاییز به دلیل انطباق با شرایط آب و هوایی منطقه اجرای آزمایش و بهره‌برداری بهینه از نهاده‌های تولید و طول فصل رشد، از عملکرد دانه و مقدار هیوسیامین و آسکوپولامین بالاتری برخوردار بود. همچنین تاریخ کاشت بهار نیز سبب کاهش صفات مورد بررسی گردید. در واقع تراکم ۶ بوته در متر مربع در این بررسی سبب افزایش عملکرد دانه و مقدار هیوسیامین و آسکوپولامین گردید. در تراکم‌های کم بوته در این بررسی از جمله تراکم ۶ و ۱۰ بوته در متر مربع مقدار رنگدانه‌های فتوسترنز افزایش یافت. همچنین حفظ مقدار کلروفیل در برگ‌های جوان سبب تاخیر در روند پیری و بالا رفتن دوام سطح برگ می‌گردد که بر انتقال مواد فتوسترنز به دانه تاثیر قابل ملاحظه‌ای خواهد داشت در نتیجه هر چقدر غلظت کلروفیل در برگ بیشتر باشد، دوام سطح برگ بیشتر و مواد پرووده کند تر به دانه انتقال می‌یابد، بنابراین دوره پر شدن دانه طولانی تر خواهد شد. در نتیجه با انتخاب تاریخ کاشت مناسب مراحل مختلف رشد گیاه با شرایط مطلوب‌تر محیطی منطبق می‌شود و این امر سبب افزایش بازدهی فتوسترنز در نتیجه ذخیره مطلوب مواد فتوسترنز در دانه‌ها می‌گردد که با اظهارات رضوی مقدم و همکاران (Rezvani Moghadam et al., 2008) مطابقت دارد.

می‌گیرند. بنابراین از آنجایی که عوامل محیطی نقش عمده‌ای در فرآیند بیوسنتزی متabolیت‌های ثانویه دارند، بررسی تغییرات میزان آلkalوئیدها تحت شرایط محیطی مستلزم تحقیق گستره تر در این زمینه می‌باشد.

عملکرد هیوسیامین

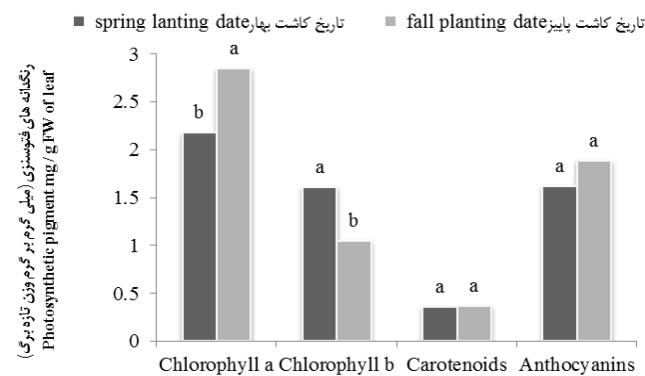
همانگونه که در جدول ۲ نشان داده شده است، اثر تاریخ کاشت و سطوح تراکم در سطح یک درصد بر عملکرد آلkalوئید هیوسیامین معنی‌دار گردید. همچنین نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر تاریخ کاشت در سال ۹۷ بر عملکرد هیوسیامین در سطح احتمال یک درصد و اثر سطوح تراکم در سطح احتمال پنج درصد بر عملکرد هیوسیامین معنی‌دار گردید (جدول ۳). در سال ۹۸ نیز اثر تاریخ کاشت در سطح احتمال یک درصد و اثر تراکم در سطح احتمال پنج درصد بر عملکرد هیوسیامین معنی‌دار گردید (جدول ۳). بررسی مقدار آلkalوئیدها در دو تاریخ کاشت پاییز و زمستان نشان داد که درصد آلkalوئید هیوسیامین در تاریخ کاشت بهار بیشتر است (شکل ۶). بیشترین درصد هیوسیامین در تیمار ۶ بوته در متر مربع و در تاریخ کاشت پاییز بدست آمد (شکل ۶). این مشاهده می‌تواند نشان دهنده ارتباط میان دمای فصل رویش با میزان آلkalوئیدها باشد.

عملکرد آسکوپولامین

نتایج تجزیه مرکب نشان داد که اثر تاریخ کاشت و تراکم در سطح یک درصد بر عملکرد آسکوپولامین داشت (جدول ۲). بر اساس نتایج تجزیه واریانس نشان داده شده در جدول ۳ اثر تراکم و تاریخ کاشت در سال ۹۷ بر عملکرد اسکوپولامین در سطح یک درصد معنی‌دار گردید. در سال ۹۸ نیز اثر تاریخ کاشت در سطح احتمال یک درصد و اثر تراکم بوته در سطح پنج درصد معنی‌دار گردید. همچنین بیشترین درصد اسکوپولامین در تاریخ کاشت پاییز و در تیمار ۱۰ و ۶ بوته در مربع (حدود ۵۵ درصد) و کمترین مقدار آن در تیمار ۱۴ بوته در متر مربع در تاریخ کاشت پاییز مشاهده گردید (شکل ۵). یکی از دلایل این مشاهدات می‌تواند ارتباط سنتز آلkalوئیدها با دما و طول فصل رشد باشد.

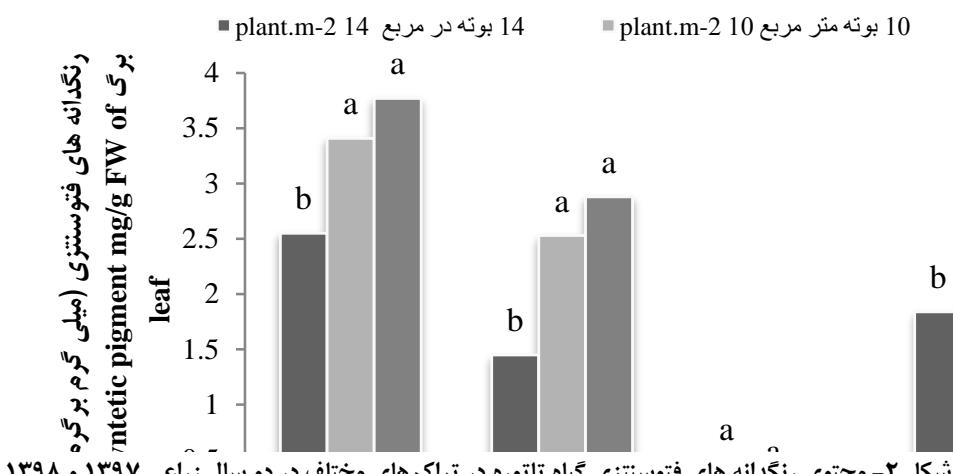
عملکرد دانه

نتایج تجزیه واریانس مرکب داده‌ها نشان داد که تراکم‌های مختلف و تاریخ کاشت تاثیر معنی‌داری در سطح یک درصد بر عملکرد دانه داشتند (جدول ۲). با توجه به افزایش طول دوره‌ی رشد در اثر کاشت زود هنگام، گیاه فرصت کافی برای تکمیل فاز رویشی و زایشی خود را دارد ولی در کاشت دیر هنگام گیاه با گرمای آخر فصل



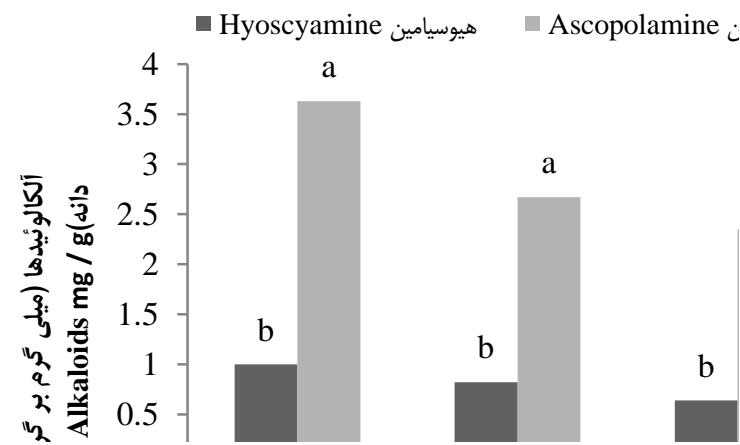
شکل ۱ - محتوی رنگدانه‌های فتوستتری گیاه تاتوره در تاریخ کاشت‌های مختلف در دو سال زراعی ۱۳۹۷ و ۱۳۹۸

Figure 1- The content of photosynthetic pigments of Jimsonweed plant in the different planting dates in the two cropping years 2018 and 2019 (LSD, $p \leq 0.05$)



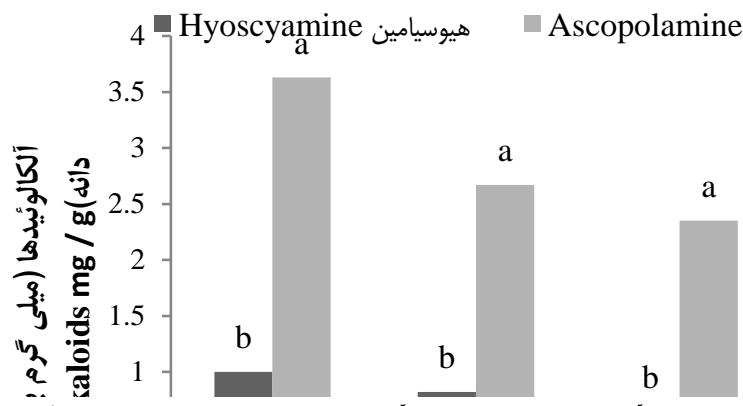
شکل ۲ - محتوی رنگدانه‌های فتوستتری گیاه تاتوره در تراکم‌های مختلف در دو سال زراعی ۱۳۹۷ و ۱۳۹۸

Figure 2 - The content of photosynthetic pigments of Jimsonweed plant in different plant densities in the two cropping years 2018 and 2019 (LSD, $p \leq 0.05$)



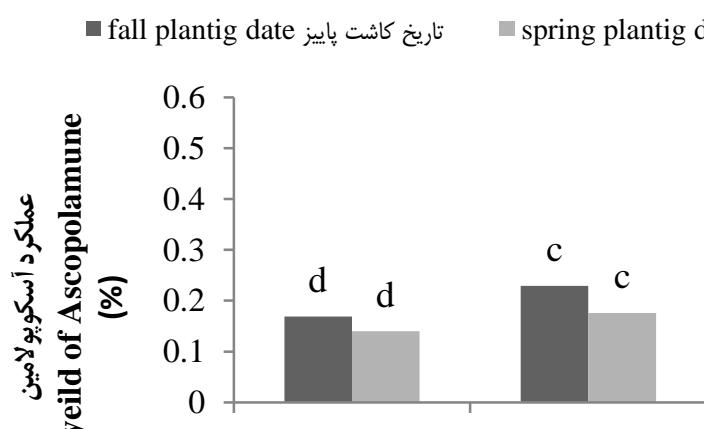
شکل ۳ - محتوی آلالکالوئیدهای هیوسیامین و اسکوپولامین گیاه تاتوره در سطوح متفاوت تراکم بوته

Figure 3- The content of hyoscyamine and ascopolamine alkaloids of Jimsonweed plant at different levels of plant density (LSD, $p \leq 0.05$)



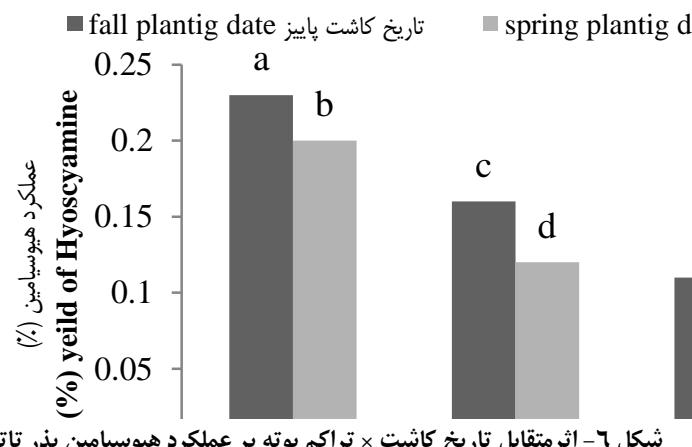
شکل ۴- محتوی آلkalوئیدهای هیوسیامین و اسکوپولامین در گیاه تاتوره در تاریخ کاشت‌های مختلف

Figure 4- The content of hyoscyamine and ascopolamine alkaloids of Jimsonweed plant in different planting dates (LSD, $p \leq 0.05$)



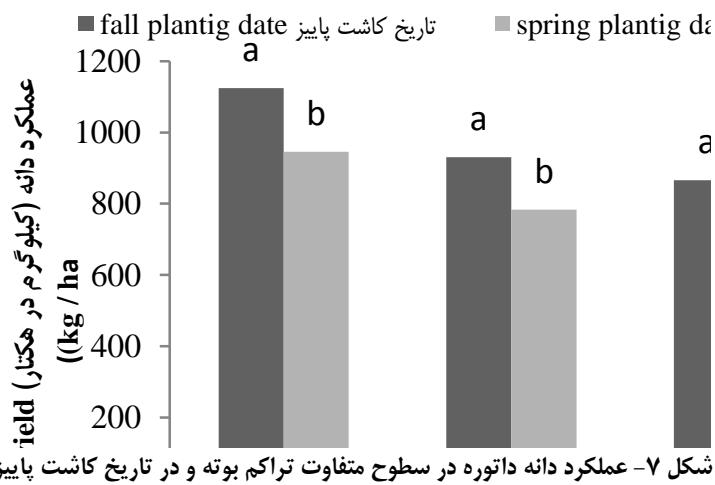
شکل ۵- اثر متقابل تراکم بوته × تاریخ کاشت برای عملکرد اسکوپولامین بذر تاتوره

Figure 5- The interaction effect of plant density \times planting date for the scopolamine yield of Jimsonweed seed (LSD, $p \leq 0.05$)



شکل ۶- اثر متقابل تاریخ کاشت × تراکم بوته بر عملکرد هیوسیامین بذر تاتوره

Figure 6- The interaction effect of planting date \times plant density for the hyoscyamine yield of Jimsonweed seed (LSD, $p \leq 0.05$)



شکل ۷- عملکرد دانه داتوره در سطوح متفاوت تراکم بوته و در تاریخ کاشت پاییز و بهار

Figure 7- The grain yield of Jimsonweed at different levels of plant density in autumn and spring planting dates (LSD, $p \leq 0.05$)

منابع

- 1- Al-Humaid, A.I. (2005). Effects of compound fertilization on growth and alkaloids of datura plants. *Journal of Plant Nutrition* 27(12): 2203-2219.
- 2- Arnon, A.N. (1967). Method of extraction of chlorophyll in the plants. *Agronomy Journal* 23(1): 112-121.
- 3- Berkov, S., Zayed, R., & Doncheva, T. (2006). Alkaloid patterns in some varieties of *Datura stramonium*. *Fitoterapia* 77(3): 179-182.
- 4- Bakhshandeh, A., Soltani, A., Zeinali, A., Kalateh, M., & Ghadirian, R. (2011). Evaluation of allometric relationships of leaf area and vegetative traits in Durum cultivars. *Iranian Journal of Crop Sciences* 13(3): 657-642. (In Persian)
- 5- Emadi, N., Jahanbakhsh, Sh., & Baluchi, H. (2012). Effect of drought stress and plant density on yield and some physiological characteristics of *Phaseolous vulgaris* L. in Yasuj region. *Journal of Production and Processing of Crops and Horticultural Products* 8: 35-25. (In Persian)
- 6- Hadley, P., Summerfield, R.J., & Roberts, E.H. (1983). Effects of temperature and photoperiod on reproductive development of selected grain legume crops [Breeding].
- 7- Harries, M., & White, P. (2007, November). *Integrated weed management in Western Australia, a fight against herbicide resistant weed*. In 6th European Conference on Grain Legumes. Lisbon Congress Center, Portugal.
- 8- He, W., Wang, P., Chen, J., & Xie, W. (2020). Recent progress in the total synthesis of Strychnos alkaloids. *Organic & Biomolecular Chemistry* 18(6): 1046-1056.
- 9- Hosseini, N., Ebrahimi, S.N., Salehi, P., Asghari, B., & Ahmadi, M. (2011). Simultaneous determination of atropine and scopolamine in different parts of *Hyoscyamus arachnoideus* Pojark plants by high-performance liquid chromatography (HPLC). *Journal of Medicinal Plants Research* 5(15): 3552-3557.
- 10- Javadi, H., Moosavi, G.R., Seghatoleslami, M.J., & Shahbeygi, H. (2020). The effect of planting date, nitrogen and phosphorus on yield and yield components of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.). *Applied Field Crops Research* 33(3): 54-72.
- 11- Lichtenthaler, H.K. (1987). *Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes*. In Methods in enzymology (Vol. 148, pp. 350-382). Academic Press.
- 12- Koyro, H.W. (2006). Effect of salinity on growth, photosynthesis, water relations and solute composition of the potential cash crop halophyte *Plantago coronopus* (L.). *Environmental and Experimental Botany* 56(2): 136-146.
- 13- Niakan, M., Rezapour Mahjoob, S., & Ghorbanli, M. (2015). Effect of exogenous putrescine on growth, photosynthesis and alkaloid compounds of *Datura* (*Datura stramonium* L.) in response to salinity stress under hydroponic conditions. *Journal of Soil and Plant Interactions-Isfahan University of Technology* 6(1): 111-123.
- 14- Saberi, M.H., & Azarmjoo, A. (2015). Effect of planting date on yield of some agronomic traits in five rapeseed cultivars in Birjand. 7(1): 9-1. (In Persian)
- 15- Seyed Sharifi, R., Javanshir, A., Shakiba, M.R., Golazani, K., Mohammadi, A., & Seyed Sharifi, R. (2006). Maize analysis affected by density levels and different periods of interference Sorghum. *Desert Magazine* 11(1): 143-157. (In Persian)
- 16- Shiferaw, M., Tamado, T., & Asnake, F. (2018). Effect of plant density on yield components and yield of kabuli

- chickpea (*Cicer arietinum* L.) varieties at Debre Zeit, Central Ethiopia. *International Journal of Plant & Soil Science* 1-6.
- 17- Oseni, O.A., Olarinoye, C.O., & Amoo, I.A. (2011). Studies on chemical compositions and functional properties of thorn apple (*Datura stramonium* L.) Solanaceae. *African Journal of Food Science* 5(2): 40-44.
- 18- Rezvani Moghadam, P., Boromand Reza Zade, Z.I.N.A.T., Mohamad Abadi, A.A., & Sharif, A. (2008). Effects of sowing dates and different fertilizers on yield, yield components, and oil percentage of castor bean (*Ricinus communis* L.). *Iranian Journal of Field Crops Research* 6(2): 303-314.
- 19- Tian, C., Zhou, X., Fahmy, A. E., Ding, Z., Zhran, M.A., Liu, Q., & Eissa, M.A. (2020). Balanced fertilization under different plant densities for winter oilseed rape (*Brassica napus* L.) grown on paddy soils in Southern China. *Industrial Crops and Products* 151: 112413.
- 20- Vogt, T. (2010). Phenylpropanoid biosynthesis. *Molecular Plant* 3(1): 2-20.
- 21- Wagner, G.J. (1979). Content and vacuole/extravacuole distribution of neutral sugars, free amino acids, and anthocyanin in protoplasts. *Plant Physiology* 64(1): 88-93.