تأثیر غلظت‌های مختلف نیترات و آمونیوم بر رشد وفعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز و مقدار تروپان آلکالوئیدها در گیاه بنگ‌دانه[1]

رمضانعلی خاوری نژاد، ندا محمدی: دانشگاه تربیت معلم تهران

چکیده

بنگ‌دانه[1] یکی از گیاهان دارویی غنی از آلکالوئیدهای تروپان است. در این تحقیق تأثیر نیترات و آمونیوم بر متابولیت ثانویه وسایر پارامترهای فیزیولوژیك، بررسی شد. نتایج به دست آمده نشان داد در شرایطی که هر دو یون نیترات وآمونیوم در محلول غذایی گیاه وجود داشته باشد به نحوی که غلظت آمونیوم کمتر از نیترات باشد افزایش وزن تر و خشك بخش هوایی و ریشه مشاهده می‌شود.اما با افزایش غلظت آمونیوم از رشد گیاه و پارامترهای ذکر شده کاسته می‌شود. نسبت ریشه به بخش هوایی با بالارفتن غلظت آمونیوم به طور معنی‌داری کاهش یافت. با وجود آمونیوم در غلظت‌های کم به همراه نیترات فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز افزایش یافت اما با افزایش غلظت آمونیوم فعالیت آنزیم کاهش یافت. بیش‌ترین مقدار آلکالوئیدهای تروپان در شرایطی حاصل شد که هر دو یون در محلول غذایی وجود داشت و غلظت آمونیوم کمتر از نیترات بود.

مقدمه

بنگ‌دانه گیاهی علفی، یك‌ساله و متعلق به خانواده سیب زمینی است[۲]. این گیاه به دلیل وجود تروپان آلکالوئیدها دارای خواص دارویی است. از خواص دارویی گیاه می‌توان به اثر ضد تشنج، آرام کنندگی درد، تخدیر، بازکننده مردمک چشم و خواب آور بودن اشاره کرد و در مواردی که نتوان تریاك تجویز کرد، همچنین در بیماری‌هایی با منشأ عصبی و اختلالات دماغی استفاده می‌شود. این گیاه در بیماری‌های دستگاه تنفسی مانند سرفه‌های تشنجی، سل، برونشیت مزمن، صرع، هیستری و به علت دارا بودن هیوسین زیاد در بیماری پارکینسون استفاده می‌شود [۳].

بررسی کشت بافت گیاه نشان داده است که تروپان آلکالوئیدها در ریشهٔ بنگ‌دانه سنتز می‌شوند[۴]. هیوسیامین، آتروپین، اسکوپولامین(هیوسین) سه آلکالوئید موجود در خانوادهٔ سیب زمینی محسوب می‌شوند. هیوسیامین اولین بار در سال ۱۸۳۳ از گیاه تاجریزی جدا شد و در همان سال از بذرالبنج هم به دست آمد.

واژه‌های کلیدی: آمونیوم، بنگ‌دانه، نیترات، نیترات ردوکتاز

دریافت ۸۵/۱/۱۹ پذیرش۸۷/۱/۳۱

۱-Hyoscyamus Pusillus L.

Archive of SID

www.SID.ir

اسکوپولامین یا هیوسین با فرمول($C_{17}H_{21}N_{54}$) اولین بار در سال ۱۸۸۱ از گیاه Hyoscyamus muticus و Scopolia atropides) جدا شد. هیوسین به صورت نمك کلرید و بروميد دیده شده است که هر دو حالت متبلور دارند و به خوبی در آب حل می‌شوند[۵].

از آن‌جا که بسیاری از آلکالوئیدها فرآورده‌های فرعی و بی‌اهمیت متابولیسم نیتروژن گونه‌هایی هستند که در آن‌ها یافت می‌شوند و از طرفی در مسیر بیوسنتزی آلکالوئیدهای تروپان يك پیش‌ساز پلی‌آمینی به نام پوترسین دخالت دارد،غلظت و نوع نیتروژن مصرفی و همچنین نسبت کربن/ نیتروژن در محیط تغذیهٔ گیاه تأثیر عمدهای در سنتز آلکالوئید خواهد داشت[۶].

Akao و همکارانش در سال ۱۹۹۷ با تغییر ترکیب محیط کشت میزان رشد و تولید تروپان آلکالوئیدها را در تار کشنده ریشه گیاه Atropa belladonna بررسی کردند. افزودن غلظت محیط کشت باعث کاهش میزان رشد و تولید تروپان آلکالوئیدها شد. رقت محیط کشت و کاهش غلظت نیتروژن میزان رشد و تولید آلکالوئید را افزایش داد[۷].

از نظر کمّی، نیتروژن دومین مادهٔ کمّی سازنده بافت گیاهی است که ۱/۵% مادهٔ خشک را بعد از کربن تشکیل می‌دهد. نیتروژن یکی از مولکول‌هایی است که در متابولیسم گیاه نقش اصلی را دارد؛ مثلاً در جوانه‌زنی بذور و در ساختار بافت‌ها(دیواره و غشا)، مولکول‌های پروتئین، اسید نوکلیك و رنگیزه‌ها دخالت مستقیم دارد [۸]. گیاه از طریق سیستم ریشه‌ای نیترات و یا آمونیوم محلول در خاك را جذب می‌کند. همانندسازی نیترات شامل يك مرحله احیاست که قبل از همانندسازی واقعی صورت می‌گیرد. بنابراین از نظر تئوری آمونیوم باید از نظر انرژیتیك بسیار اقتصادی‌تر از نیترات باشد زیرا مستقیماً قابل هضم است. ولی نیترات بهترین بازده رشد و تولید را می‌دهد در حالی‌که آمونیوم غالباً نشانه‌های سمیت را ظاهر می‌سازد. بین عوامل مختلفی که تغذیهٔ نیتراتی و آمونیاکی را متمایز می‌سازد نحوهٔ جذب دو یون و تغییرات **pH** فضای درون سلولی به هنگام همانندسازی آن‌ها بیش‌تر قابل توجه است[۸].

بعد از جذب نیترات به درون سلول باید احیای آن به نیتریت توسط آنزیم نیترات ردوکتاز صورت گیرد. این آنزیم در سیتوزول سلول‌های اپیدرمی، پوست ریشه و سلول‌های مزوفیل واقع شده است[۹]. بخش‌بندی آنزیم نیترات ردوکتاز بین ریشه و اندام هوایی بسته به گونهٔ گیاه، سن و فاکتورهای محیطی متغیر است. در بیش‌تر گیاهان علفی احیای نیترات در برگ‌ها صورت می‌گیرد؛ در حالی‌که در گونه‌های چوبی احیای نیترات غالباً در ریشه‌ها صورت می‌گیرد. سهم ریشه و اندام هوایی در احیای نیترات در يك گیاه کامل به اندازهٔ نسبی آن اندام، سن بافت و در کل توانایی ریشه در انتقال نیترات به اندام هوایی بستگی دارد[۱۰]. در شرایطی که از نیترات به عنوان منبع تغذیهٔ نیتروژنی استفاده شود؛ فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز افزایش می‌یابد. در مورد آمونیوم محققان

Archive of SID

www.SID.ir

معتقد به نقش تنظیمی برای آنزیم یاد شده‌اند. ثابت شده است که آمونیوم در تیرهٔ عدسك آبی و گونه‌های Chlorella وNeurospora فعالیت نیترات ردوکتاز را مهار می‌کند. اما در بیش‌تر گیاهان عالی یا تأثیری بر فعالیت نیترات ردوکتاز نداشته یا باعث افزایش آن شده است[۱۱].

در این پژوهش تأثیر تغذیه با نسبت‌های مختلف نیترات و آمونیوم بر تغییرات رشد، میزان فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز و مقدار کمی آلکالوئیدها بررسی شده است.

مواد و روش‌ها

بذرهای گیاه بنگ‌دانه(Hyoscyamus pusillus L) از مرکز جهاد کشاورزی استان کرمان تهیه شد. بذرها با هیپوکلریت سدیم ۰/۲ درصد به مدت ۴ دقیقه ضد عفونی گردیدند و به منظور جوانه‌زنی درون ظروف پتری محتوای کاغذ صافی مرطوب و ضد عفونی شده قرار داده شدند. دانه رست‌های یك‌نواخت انتخاب شده و به گلدان‌های حاوی ماسه منتقل شد. در هر گلدان ۴ گیاهچه قرار داده شد. گلدان‌ها تحت شرایط نوری(۱۶:۸) (تاریکی/ نور) و متوسط دمای ۲±۲۸ درجهٔ سانتی‌گراد نگه‌داری شدند. گیاهان بنگ‌دانه به مدت۲۱ روز از مرحله ۵ برگی تحت تیمار نیترات و آمونیوم قرار گرفتند. گیاهان شاهد در محلول غذایی هوگلند [۱۹] که حاوی ۱۵ میلی‌مول نیتروژن به صورت نیترات است، تغذیه شدند. در سایر تیمارها به ترتیب ۱۰میلی مول نیترات توام با ۵ میلی مول آمونیوم(تیمار۱)، ۷/۵میلی مول نیترات توام با ۷/۵ میلی‌مول آمونیوم(تیمار۲)، ۵ میلی‌مول نیترات توام با۱۰ میلی‌مول آمونیوم (تیمار۳) و۱۵ میلی‌مول آمونیوم(تیمار۴) به کار برده شد. pH محلول غذایی در حدود ۶/۵ تا ۷ تنظیم شد. تجزیه و تحلیل آماری طبق طرح کاملاً تصادفی با ۴ تکرار صورت گرفت. بررسی‌های آماری طبق آنالیز واریانس یك طرفه آزمون LSD با نرم افزار SPSS 11.5 در سطوح معنی‌داری ۰/۰۵، ۰/۰۱، ۰/۰۰۱ انجام شد و رسم نمودارها با استفاده از نرم افزار EXCEL صورت گرفت.

آنالیز رشد: هنگام شروع تیمارها ۴ گیاه انتخاب و ریشهٔ آن‌ها با آب مقطر شستشو داده شد. پس از خشك کردن آب سطحی ریشه‌ها وزن تر ریشه و بخش هوایی اندازه‌گیری شد و در آون در دمای ۵۵ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت۷۲ ساعت خشك گردیدند (W۱). ۲۱ روز پس از اعمال تیمارها مجدداً وزن‌تر و خشك ریشه و بخش هوایی (W۲) و نسبت وزن خشك ریشه به بخش هوایی (R/S) اندازه‌گیری شد.

سنجش فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز: سنجش آنزیم با روش سیم(۱۹۸۴) صورت گرفت(۲۹). ۰/۲ درصد گرم مادهٔ تربخش هوایی وزن شد. نمونه‌های گیاهی در لولهٔ آزمایش حاوی ۵ میلی‌لیتر محلولی که غلظت نیترات پتانسیم درآن ۱۵۰میلی‌مولار، پروپانول ۰/۳درصد و تامپون فسفات ۱۰۰میلی‌مولار باشد، قرار داده شد. لوله‌ها در آون در دمای ۳۰ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت یك ساعت قرار گرفتند، سپس محلول صاف گردید. ۲میلی‌لیتر از

Archive of SID

www.SID.ir

محلول مذکور برداشته، ۱میلی‌لیتر گریس I (۰/۵ گرم سولفانیلیك اسید در ۵۰ میلی‌لیتر استیك اسید حل و حجم آن به ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد) و گریسII (۰/۲گرم آلفا نفتیل آمین در ۵۰ درصد میلی‌لیتر استیك اسید حل و حجم آن به ۱۰۰میلی‌لیتر رسانده شد) به آن اضافه و جذب در طول موج ۵۲۰ نانومتر خوانده شد. برای یافتن غلظت نیتریت حاصل ازاحیای نیترات تحت تأثیر آنزیم نیترات ردوکتاز(C) از غلظت‌های متفاوت نیتریت سدیم برای رسم منحنی استاندارد استفاده شد.

سنجش کمّی آلکالوئیدها: این اندازه‌گیری به روش Torssel-mulrin نقل از یعقوب آئینه‌چی(۱۳۵۸) انجام شد(۱). ۳ گرم پودر گیاهی را در ظرف در بسته‌ای حاوی ۵ml آمونیاك ۲۵ درصد خیسانده و به آن ۲۰ میلی‌لیتر اتانول افزوده شد. سپس عصارهٔ اتانولی خارج و تغلیظ شد عصارهٔ باقیمانده در HCl ۲ نرمال حل شد. عصارهٔ اسیدی با همان حجم اترنفت در قیف جداکننده شستشو داده شد(فاز زیرین حاوی آلکالوئید است). محلول اسیدی را داخل آب و یخ گذاشته و با آمونیاك ۲۵ درصد قلیایی شد. سپس به آن ۲۰ میلی‌لیتر اتانول افزوده شد. محلول قلیایی به قیف جداکننده منتقل و ۳ تا ۴ بار با هم حجم خود با کلروفرم شستشو داده شد. سپس با سدیم سولفات بی‌آب آب‌گیری و از صافی گذرانده شد. پس از تبخیر عصاره کلروفرمی ماده به‌جا مانده در بشر در سه میلی‌لیتر اتانول مطلق حل شد و با دستگاه اسپکتروفوتومتر با استفاده از منحنی استاندارد تعیین گردید. ماکزیمم طول‌موج محلول استاندارد اسکوپولامین در اتانول ۲۱۸ نانومتر و برای محلول استاندارد آتروپین(فرم racemizedاز هیوسیامین) در اتانول ۲۱۰ نانومتر بود.

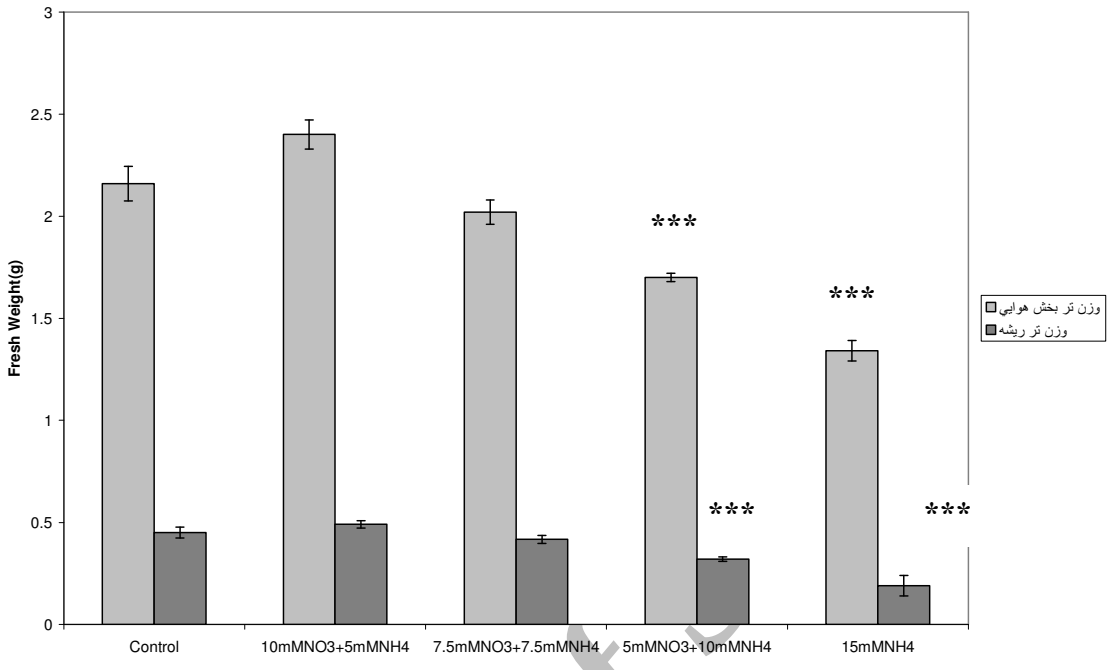
نتایج

وزن‌تر و خشك بخش‌هوایی و ریشه تحت تأثیر غلظت‌های فراوان آمونیوم کاهش یافت، که این کاهش در تیمارهای ۵ میلی‌مول نیترات توام با۱۰ میلی‌مول آمونیوم(تیمار۳) و۱۵ میلی‌مول آمونیوم(تیمار۴) در سطح ۰/۰۰۱ معنی‌داربود. در غلظت‌های اندک آمونیوم در گیاهان در تیمار۱۰میلی‌مول نیترات توام با ۵ میلی‌مول آمونیوم(تیمار۱) پارامترهای فوق افزایش یافت؛ اما این افزایش معنی‌دار نبود. نسبت وزن خشك ریشه به بخش هوایی(R/S) درغلظت‌های فراوان آمونیوم کاهش یافت که این کاهش در۷/۵ میلی‌مول نیترات توام با ۷/۵ میلی‌مول آمونیوم(تیمار۲)، ۵ میلی‌مول نیترات توام با۱۰ میلی‌مول آمونیوم(تیمار۳) و۱۵ میلی‌مول آمونیوم(تیمار ۴) در سطح ۰/۰۱ معنی‌دار بود(شکل‌های ۱، ۲، ۳).

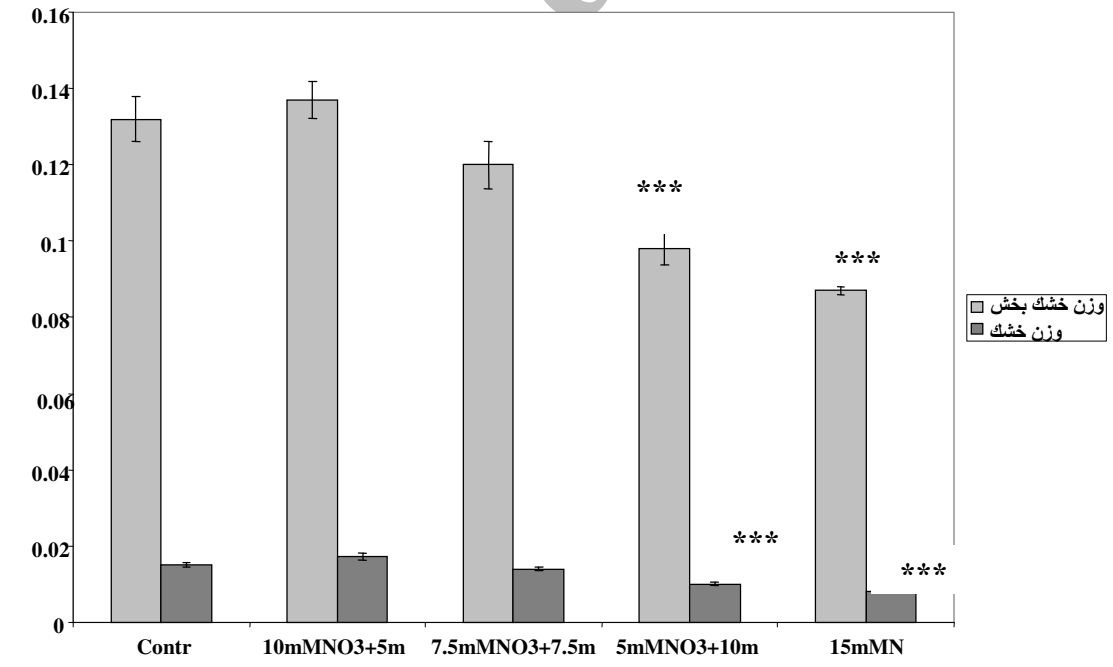
فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز در ۱۰میلی مول نیترات توام با ۵ میلی مول‌آمونیوم(تیمار ۱)، افزایش معنی‌داری در سطح ۰/۰۰۱ نسبت به شاهد نشان داد. در حالی که در سایر تیمارها فعالیت آنزیم کاهش یافت و این کاهش در ۵ میلی‌مول نیترات توام با۱۰ میلی‌مول آمونیوم(تیمار۳) و۱۵ میلی‌مول آمونیوم(تیمار۴) در سطح ۰/۰۱ معنی‌دار بود (شکل ۴).

Archive of SID

www.SID.ir

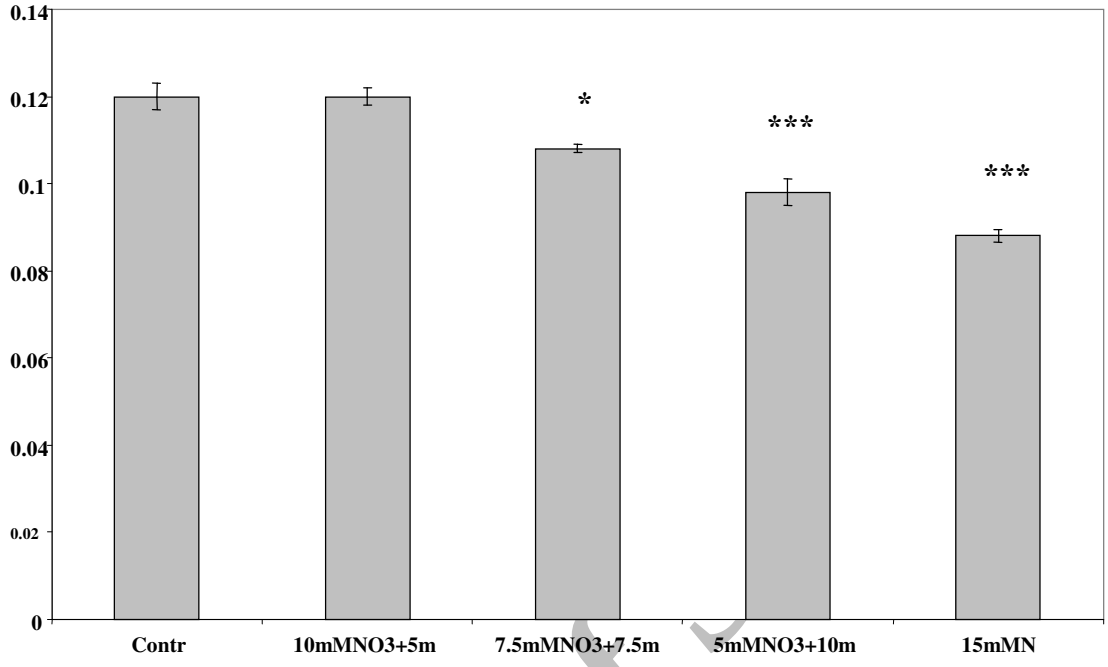


شكل۱. تأثير غلظت‌هاى مختلف نيترات و آمونيوم بر وزن تر بخش هوايى و ريشه(g)

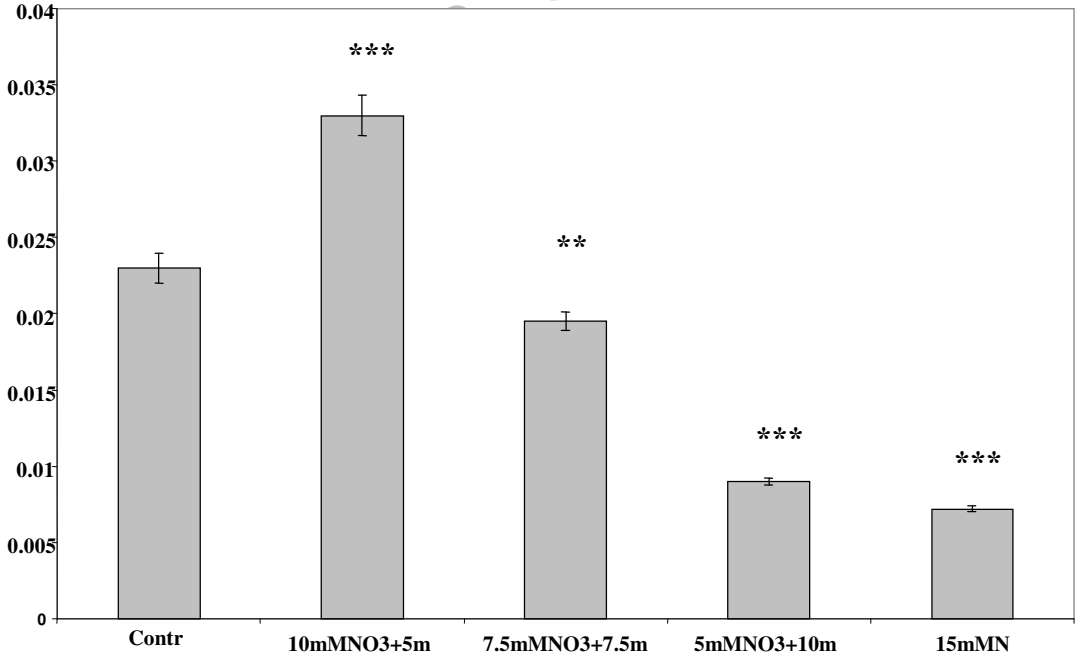


شكل۲. تأثير غلظت‌هاى مختلف نيترات و آمونيوم بر وزن خشك بخش هوايى و ريشه(g)

www.SID.ir



شکل۳. تأثیر غلظت‌های مختلف نیترات و آمونیوم بر نسبت ریشه به بخش هوایی

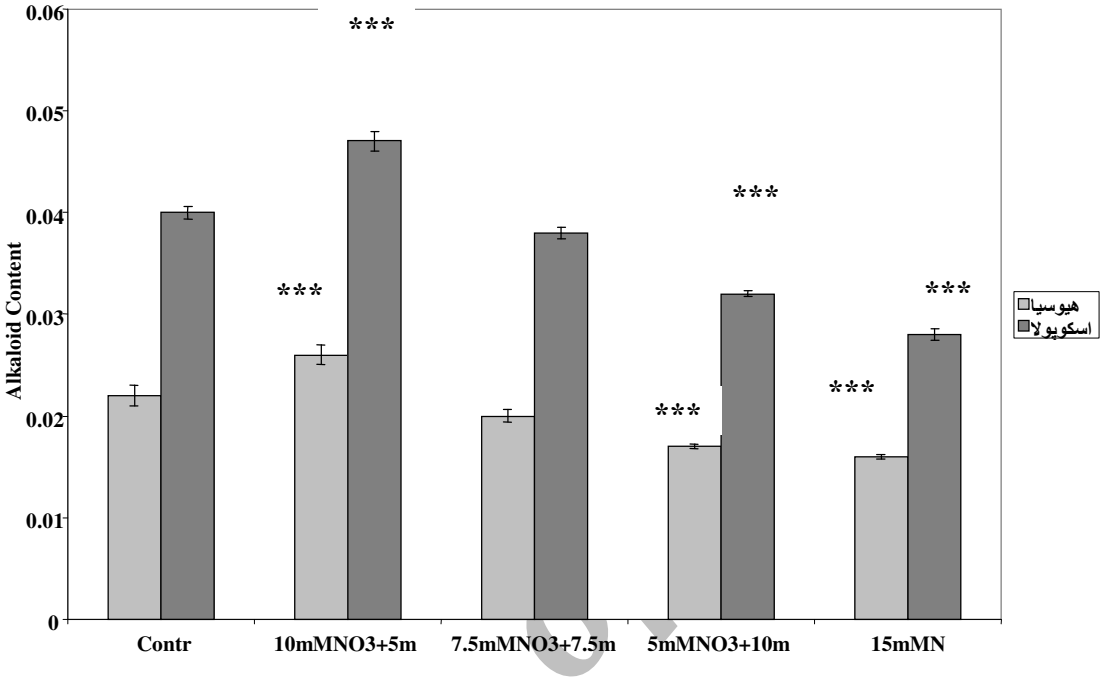


شکل۴. تأثیر غلظت‌های مختلف نیترات و آمونیوم بر میزان فعالیت نیترات ردوکتاز($mMNO_2g^{-1}fw$)

غلظت آلکالوئید هیوسیامین در ۱۰میلی‌مول نیترات توام با ۵ میلی‌مول آمونیوم(تیمار ۱) نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری در سطح۰/۰۱نشان داد؛ اما در سایر تیمارها مقدارهیوسیامین کاهش یافت و این کاهش در۵ میلی‌مول

www.SID.ir

نیترات توام با ۱۰ میلی‌مول آمونیوم (تیمار۳) و ۱۵ میلی‌مول آمونیوم (تیمار۴) در سطح۰/۰۱ معنی‌دار بود (نمودار۵).



شکل۵. تأثیر غلظت‌های مختلف نیترات و آمونیوم بر میزان آلکالوئیدهای برگ(dw%)
(ستاره‌ها معرف سطوح معنی‌داری p<۰/۰۵ (یک ستاره)، p<۰/۰۱ (دو ستاره)، p< ۰/۰۰۱ (سه ستاره) برای آزمون LSD است.)

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج اثر غلظت‌های مختلف نیترات و آمونیوم بر پارامترهای رشد نشان داد که کاربرد آمونیوم به عنوان تنها منبع تغذیهٔ نیتروژنی منجر به کاهش رشد شده و بیش‌ترین مقدار رشد مربوط به زمانی است که هر دو فرم نیتروژن در محیط تغذیه‌ای موجود باشد. در اغلب موارد بازدارندگی رشد ناشی از تغذیهٔ آمونیاکی را مربوط به افت pH خاك می‌دانند که دراثرجذب آمونیوم ایجاد می‌شود[۱۳]. بررسی‌های مختلف نشان داده است که اغلب گیاهان قادر به همانندسازی کل آمونیوم جذب شده نیستند و این امرمنجر به تجمع یون مزبور در بافت‌های گیاه می‌شود. جذب یون آمونیوم باعث شارش یون‌های هیدروژن از ریشه‌ها شده که اسیدیته ریزوسفر را می‌افزاید و همچنین آمونیوم قطع کنندهٔ مسیر فسفریلاسیون نوری محسوب می‌شود و تجمع آن می‌تواند از طریق کاهش فتوسنتز باعث کاهش رشد گردد[۱۴]. بررسی سه گیاه اسفناج، آفتابگردان و نخود این نتیجه را تائید کرد که تولید مادهٔ خشك گیاه به‌طور معنی‌دار در تغذیهٔ آمونیومی نسبت به تغذیهٔ نیتراتی کاهش می‌یابد و این کاهش به ترتیب در اسفناج، آفتابگردان و نخود ۸۶ درصد ۴۵ درصد و۱۳درصد بوده است [۱۵].

Archive of SID
www.SID.ir

از آن‌جا که در تیمار نیتراتی قندهای موجود در بخش هوایی برای تثبیت نیترات به‌کار رفته و قندهای ریشه صرف رشد ریشه می‌شوند، نسبت وزن بخش هوایی به ریشه کاهش می‌یابد؛ ولی در تغذیه با آمونیاك کربوهیدرات‌های موجود در ریشه برای تثبیت آمونیاك به‌کار می‌روند و در نتیجه رشد ریشه نسبت به بخش هوایی کاهش می‌یابد[۱۶]. Cramer در سال ۱۹۹۳ با آزمایش روی گیاه گندم و ذرت مشاهده کرد که تغذیه آمونیاکی در گیاه ذرت تفاوت معنی‌داری در نسبت وزن خشك ریشه به اندام هوایی (R/S) ایجاد نمی‌کند. زیرا ذرت یك گیاه C_4 است و با فراهم کردن اسکلت کربنی در ریشه، اثر آمونیوم را بر رشد به حداقل می‌رساند[۱۷] اما در گندم که گیاهی C_3 است، نسبت R/S درتغذیهٔ آمونیاکی بیش از تغذیهٔ نیتراتی بوده است و این نشان دهنده آن‌است که آمونیوم تأثیر سمی بیش‌تری بر ریشه اعمال کرده است[۱۸]. یکی از مراحل فیزیولوژیك که تحت تأثیر تغذیه نیتروژنی قرار می‌گیرد، مراحل جذب آب است. حضور آمونیوم در محیط تغذیهٔ گیاه به‌عنوان تنها منبع نیتروژنی از جذب آب ممانعت می‌کند و باعث برهم زدن موازنه ارتباطات آبی گیاه می‌شود که به طور مستقیم یا غیرمستقیم روی بقیه مراحل تأثیر می‌گذارد[۱۹].

Poonnachit و همکارانش در سال ۲۰۰۴ با بررسی فعالیت نیترات ردوکتاز در بافت ریشهٔ گیاه Vaccinium نشان دادند در شرایطی که از نیترات به عنوان منبع تغذیه نیتروژنی استفاده شود، فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز افزایش می‌یابد[۱۰]. نتایج Botella و همکاران در سال ۱۹۹۳ روی گیاه گندم دال بر این بود که بیش‌ترین فعالیت آنزیم مربوط به شرایطی است که محلول غذایی واجد نیترات به تنهایی و نه آمونیوم باشد. این تحقیق نشان می‌دهد که آمونیوم تأثیر بازدارنده بر فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز دارد [۲۰]. در آزمایش Lewis در سال ۱۹۸۹ روی گیاه جو، حضور آمونیوم منجر به افزایش فعالیت نیترات ردوکتاز شد. در این آزمایش میزان رشد و فعالیت نیترات ردوکتاز در گیاهان منتقل شده به محیط کشت حاوی آمونیوم و نیترات بیش‌تراز گیاهانی بود که در محیط فاقد آمونیوم رشد یافته بودند. در این بررسی نتیجه‌ای مشابه این آزمایش حاصل شد و حضور غلظت کم آمونیوم منجر به افزایش فعالیت نیترات ردوکتاز شد. تأثیر تحریکی آمونیوم بر فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز احتمالاً در نتیجهٔ افزایش سنتز آن است تا اثر بر روی خود آنزیم [۱۸]. شایان ذکر است که مکانیسم توجیه سنتز آنزیم نیترات ردوکتاز توسط آمونیوم مختص گیاهان عالی است و در مورد قارچ‌ها و جلبك‌ها صدق نمی‌کند. در آزمایش دیگری که روی تأثیر آمونیوم بر القای پروتئین نیترات ردوکتاز (NRP) انجام گرفت معلوم شد که در حضور۵ میلی‌مول آمونیوم، یك باند پروتئینی ظاهر شد، اما هیچ تغییر فعالیتی در آنزیم نیترات ردوکتاز دیده نشد. هنگامی که به محیط غذایی KNO_3 اضافه شد، پروتئین نیترات ردوکتاز فعال شد [۱۹]. نتایج حاصل از آزمایش مذکور نشان داد که اضافه کردن آمونیوم در القای و سنتز پروتئین نیترات ردوکتاز تأثیر دارد.

Archive of SID

www.SID.ir

غلظت نیتروژن و نسبت کربن به نیتروژن در محیط کشت روی سنتز آلکالوئیدها تأثیر می‌گذارد[۲۲]. نتایج Bensaddek و همکارانش در سال ۲۰۰۱ روی گیاه Atropa belladonna نشان داد که در تیمار نیتراتی ریشه و تار کشنده (محل بیوسنتز آلکالوئید) رشد بیش‌تری دارند واین مسئه روی محتوای آلکالوئید هم تأثیرگذار است[۲۳]. افزایش نیتروژن به صورت نیترات در خاك منجر به افزایش این یون در گیاه می‌شود که عامل تولید بیش‌تر تروپان آلکالوئیدها در گیاه سالم است[۲۳]. در این آزمایش افزایش غلظت آمونیوم در مقایسه با کنترل بدون این‌که روی نسبت اسکوپولامین به هیوسیامین تأثیر داشته باشد محتوای آلکالوئید را کاهش داد و بیش‌ترین مقدار آلکالوئید مربوط به زمانی بود که هر دو فرم نیتروژن در محیط وجود داشت .

آمونیوم و نیترات به عنوان منابع نیتروژنی محیطی تأثیر متفاوتی روی رشد، آنزیم نیترات ردوکتاز به عنوان یکی از عوامل کلیدی در تغذیه نیتروژنی و یك عامل محدود کنندهٔ رشد، نمو و تولید پروتئین در گیاهان و سنتز آلکالوئیدها داشت و بهترین تأثیر مربوط به شرایطی بود که نیترات به عنوان منبع اصلی برای تغذیه گیاهان به همراه آمونیوم در غلظت اندک در نظر گرفته شود.

منابع

۱-آئینه چی یعقوب،"روش‌های نوین تجزیه شیمیایی گیاهان".انتشارات دانشگاه تهران (۱۳۵۸)۲۴۵-۲۳۵

۲-خاتم ساز محبوبه فلور ایران شماره۲۴ تیره سیب زمینی. موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع،(۱۳۷۲)

۳-زرگری علی، گیاهان دارویی. جلدسوم. انتشارات دانشگاه تهران(۱۳۶۶)۵۸۰-۵۴۶

4. A. Strauss, Hyoscyamus spp:In vitro culture and the production of tropane alkaloids, Biotechnology in Agriculature and Forestry 7(1989) 289-314.
5. T. Hashimoto, D. Youn, Production of tropane alkaloid in genetically engineered root culture, Phytochemistry 32 (1993) 713-718.
6. W. Evans, J. Lampard, Alkaloids of Datura suaveolens, Phytochemistery11(1972)3293-3298.
7. T. Aoki, H. Matsumoto,Variation of alkaloid productivity among several clones of hairy roots and regenerated plants of Atrop belladonna transformed with Agrobacterium rhizogenes, Plant Cell Rep 16 (1997) 282-286.
8. W.G. Hopkins, P.A. Norman, Introduction to plant physiology,Third edition chapter 8(2004), The university of Western Ontario, John Wiley
9. E. Fedorova, J.S. Greenwood, A. Oaks, In-situ localization of nitrate reductase in maiz roots, Planta 194(1994)279-286.

Archive of SID

www.SID.ir

10. M.L.C. Carelli, J.I. Fahl, Partitioning of nitrate reductase activity and its relation to carbon assimilation under different irradiance regimes, Environ. Exp. Bot. 120(2005) 65-72.
11. U. Poonacchita, R. Darnell, Effect of ammonium and nitrate of chelate reductase and nitrate reductase in Vaccinium species, Annals of Botany 93(2004) 399-405.
12. G.D. Sym, Optimisation of the in vivo assay condition for nitrate reductase in barley (Hordeum vulgar L.), J.Sci Food Agric 35(1984) 725-730.
13. R. Alan, The effect of nitrogen nutrition on growth chemical composition and response of cucumbers (Cucumber sativus L.) to nitrogen forms in solution culture, J Hort Sci 64 (1989) 467-474.
14. N.M. Crawford, Nitrate:nutrient and signal for plant growth, .Plant cell 7 (1995) 859-868.
15. B. Lasa, S. Frechilla, C. Lamsfus, P.M. Aparcio-TegoThe sensivity of ammonium nutrition is related to nitrogen accumulation, Scientia Horticulturae 91(2001) 143-152.
16. M. Aslam, Effect of ammonium on the regulation of nitrate and nitrite transport system in roots of intact barley seedlings, Planta 200 (1996) 58-63.
17. M.D. Cramer, O.A.M. Lewis, Influence of nitrate and ammonium nutrition on growth of wheat and maise plant, Annal of Botany 72(1993) 359-365.
18. O.A.M. Lewis, E.O. Leidi, S.H. Lips, Effect of nitrogen source on growth response to salinity stress in maise and wheat, New Phytologist 11(1989) 115-160.
19. F.M. Thomas, C. Hilker, Nitrate reduction in leaves and roots of young pedunculate oakes growing on different nitrate concentrations, Environ Exp Bot 43(2000)19-32.
20. M. Botella, C. cruze, M. Martins, A. Cerda, Nitrate reductase activity in wheat seedlings of affected by No_3/NH_4 ratio and salinity,. J plant phys 142(1993) 531-536.
21. A Oak, M Valerie, The role of nitrate and ammonium ions and light on the induction of nitrate reductase in maise leaves, Plant Physiol 88(1982) 1067-1072.
22. J. Payne, J.D. Hamill, J.C. Rodes, Production of hyoscyamin by hairy root culture of Datura stramonium, Planta Medica 53(1984) 474-478.
23. L. Benshaddac, F. Gillet, J. Saucedo, M. Fliniaux, The effect of nitrate and ammonium concentration on growth and alkaloid accumulationof Atropa belladonna hairy roots,. Journal of Biotechnology 85 (2001) 35-40.

Archive of SID
www.SID.ir