Journal of Horticultural Plants Nutrition
Vol.4, No.1, Spring & Summer 2021
Research Paper

DOI : 10.22070/hpn.2020.5352.1089

The effect of urea, nano-nitrogen fertilizer and amino acid on polyphenolic compounds of purple coneflower (*Echinaceae purpurea* L.)

***Arsalan Pirvash*[1] *, Mohammad Ali Sheikh-Mohseni*[2*] *, Fatemeh Nejad HabibVash*[3]**

1- M.Sc. Student, Department of Medicinal Plants, Shahid Bakari High Education Center of Miandoab, Urmia University, Urmia, Iran
arsalanpirvash251@gmail.com
2- Assistant Professor, Department of Medicinal Plants, Shahid Bakari High Education Center of Miandoab, Urmia University, Urmia, Iran
m.sheikhmohseni@urmia.ac.ir
3- Assistant Professor, Department of Biology, Faculty of Science, Urmia University, Urmia, Iran
f.nejadhabibvash@urmia.ac.ir

Received Date: 2020/03/24 Accepted Date: 2020/09/22

Abstract

Introduction: Purple coneflower (*Echinaceae purpurea* L.) is one of the famous and useful medicinal herbs of the Asteraceae family (Mrozikiewicz et al., 2010). Active and important components of this plant include phenols (caffeic acid, coumaric acid, rosemaric acid, chlorogenic acid and gallic acid) and essential oil (jermacheron, betacariophylene and homolene) (Thomsen et al., 2012). It is widely used for the treatment of chronic respiratory and urinary tract infections, viral infections, enhancement of the immune system, defense and burns and has a high antioxidant activity (Tsai et al., 2012). Nitrogen is one of the most important nutrients in the growth and development of medicinal plants and naturally changes the yield of the crop. Therefore, it affects the quantity and quality of the active substances of medicinal plants (El-Sayed et al., 2012). Considering the benefits and the role of purple coneflower plant in medicinal industries, and the importance of polyphenolic compounds, in this research, the application of nano-nitrogen, amino acids and urea fertilizer and their effects on polyphenolic compounds and total nitrogen content in purple coneflower were investigated.

Material and methods: In this study, in order to evaluate the effect of fertigation of urea and foliar spray of nano-nitrogen and amino acid fertilizers on polyphenol content of *Echinacea purpurea*, a factorial experiment based on a complete randomized design was held in Zaringiah greenhouse in Urmia on 2019. Experimental treatments included urea fertilizer (0, 100 and 200 kg/ha), nano-nitrogen spraying solution (0, 1 and 3 g/L) and spraying with commerical amino acid fertilizer (0, 1 and 3 g/L). To extract the polyphenols, one gram of the powdered plant sample was added to 20 ml of water-methanol solvent (25:75), the extraction process was performed by ultrasonic instrument for 40 min. The identification and quantification of the phenolic acids under study were performed using a high performance liquid chromatography 1100 Series manufactured by Agilent USA. Total nitrogen was measured by Kjeldahl method (AOAC, 2000). Data were analyzed using SPSS statistical software (ver. 24).

Results and discussion: In purple coneflower plant, gallic acid was maximized by application of 3 g/L of nanonitrogen. Cinnamic acid and apigenin compounds were obtained at highest level by application of 1 and 3 g/L of amino acid, respectively. Chlorogenic acid and quercetin compounds were maximized by simultaneous application of 1 g/L of nanonitrogen and 3 g/L of amino acid. Coumaric acid and rosemaric acid with simultaneous application of 3 g/L of amino acid and 200 kg/ha of urea and caffeic acid and rutin by applying 200 kg/ha of urea reach to their maximum value. Since the composition of coumaric acid had the highest amount among other polyphenolic compounds (about 31 mg/50 g of dried plants), it was selected as the main compound of this plant. This compound has various applications in the perfume and pharmaceutical industries. Optimal treatment for coumaric acid, namely "nanonitrogen-0, amino acid-3, urea-200", is also optimal for rosemaric acid, and also in this treatment the amount of some important polyphenolic compounds such as gallic acid, rutin and chlorogenic acid is considerable. Therefore, in order to increase the important polyphenolic compounds in purple coneflower, the optimum treatment is 3 g/l amino acid and 200 kg/har simultaneously.

Measurement of plant nitrogen content showed that nano-nitrogen, amino acid and urea fertilizer solution increased total nitrogen content in plant shoot compared to control. Also, the effect of urea, nano-nitrogen and amino acid levels on the total nitrogen concentration of shoots showed that the total nitrogen accumulation in shoots increased with increasing nitrogen level. Increasing the nitrogen supply of the plant causes better synthesis of nitrogen compounds in the plant (both primary metabolites and secondary metabolites) followed by the plant's nitrogen content. However, the application of large amounts of different nitrogen fertilizers at the same time has a negative effect on nitrogen uptake.

Conclusions: The results of polyphenolic compounds of the purple coneflower plant showed that the use of nitrogen fertilizers in different forms can increase the polyphenolic compounds by providing nitrogen. Due to the difference of biosynthetic pathway of different polyphenolic coumponds in purple coneflower, it is not easy to recommend an optimal nitrogen resource with the optimal value for all the phenolic compounds. But at all, the treatment of "nanonitrogen-0, amino acids-3, urea-200", which was optimal for coumaric acid and rosemaric acid and did not cause significant damage to the amount of gallic acid, rutin and chlorogenic acid, is introduced as a optimal treatment. Therefore, in order to increase the content of important polyphenolic compounds in purple coneflower, simultaneous foliar spray of 3 g/l amino acid and fertigation application of 200 kg/ha of urea is the best treatment. This improves the antioxidant properties of the plant extract and, consequently, its medicinal properties.

Keywords: nanotechnology, antioxidant, coumaric acid, rosemaric acid, chlorogenic acid, gallic acid.

نشریه علمی تغذیه گیاهان باغی
دوره ۴، شماره ۱، بهار و تابستان ۱۴۰۰، (ص ۷۸- ۶۱)
مقاله پژوهشی

DOI : 10.22070/hpn.2020.5352.1089

تأثیر اوره، نانوکودنیتروژن و آمینواسید بر ترکیبات پلی‌فنولی گیاه دارویی سرخارگل (*Echinaceae purpurea* L.)

ارسلان پیروش [۱]، محمدعلی شیخ محسنی [۲*]، فاطمه نژاد حبیب وش [۳]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه گیاهان دارویی، مرکز آموزش عالی شهید باکری میاندوآب، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.
arsalanpirvash251@gmail.com

۲- نویسنده مسئول و استادیار گروه گیاهان دارویی، مرکز آموزش عالی شهید باکری میاندوآب، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.
m.sheikhmohseni@urmia.ac.ir

۳- استادیار گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.
f.nejadhabibvash@urmia.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۱/۰۵ **تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۷/۰۱**

چکیده

این تحقیق به منظور ارزیابی تاثیر کود اوره و محلول‌پاشی نانونیتروژن و آمینواسید بر نوع ترکیبات پلی‌فنولی و محتوای نیتروژن کل در اندام هوایی گیاه سرخارگل *(Echinacea purpurea)*، بر پایه فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی در بهار سال ۱۳۹۸ انجام گرفت. فاکتورهای آزمایش شامل فاکتور اول کود اوره (۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ کیلوگرم در هکتار)، فاکتور دوم محلول‌پاشی با نانوکودنیتروژن (۰، ۱ و ۳ گرم در لیتر) و فاکتور سوم محلول‌پاشی با آمینواسید تجاری فرمولایف (۰، ۱ و ۳ گرم در لیتر) بودند. برداشت در زمان گلدهی گیاه انجام شد و بعد از خشک کردن گیاه در سایه، عصاره هیدروالکلی اندام هوایی به روش استخراج با امواج فراصوت تهیه گردید. تشخیص و اندازه‌گیری ترکیبات پلی‌فنولی موجود در عصاره بوسیله دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا صورت گرفت. اعمال تیمارهای نیتروژن بر ترکیبات پلی‌فنولی گیاه سرخارگل تأثیر مثبتی داشت و هر ترکیب فنولی در یک تیمار خاص به بیشترین مقدار رسید. به‌طوری‌که ترکیب اسید گالیک (Gallic acid) با اعمال ۳ گرم در لیتر از نانوکودنیتروژن و ترکیبات اسید سینامیک (cinnamic acid) و آپی‌چنین به ترتیب با اعمال ۱ و ۳ گرم در لیتر از آمینواسید به حداکثر مقدار خود رسیدند. همچنین، ترکیبات اسید کلروژنیک (chlorogenic acid) و کوئرستین (quercetin) با اعمال همزمان ۱ گرم در لیتر از نانوکودنیتروژن و ۳ گرم در لیتر از آمینواسید، ترکیبات اسید کوماریک (comaric acid) و اسید رزماریک (romaric acid) با اعمال همزمان ۳ گرم در لیتر از آمینواسید و ۲۰۰ کیلوگرم بر هکتار اوره و ترکیبات کافئیک اسید و روتین (rutin) با اعمال ۲۰۰ کیلوگرم بر هکتار اوره به بیشترین مقدار خود رسیدند. از آنجایی‌که تیمار ۳ گرم در لیتر از آمینواسید و ۲۰۰ کیلوگرم بر هکتار اوره، بیشترین مقدار ترکیبات اسید کوماریک (comaric acid) و اسید رزماریک (romaric acid) را ایجاد نمود و آسیب کمتری نیز به مقدار ترکیبات مهم اسید گالیک (Gallic acid)، اسید کلروژنیک (chlorogenic acid) و روتین (rutin) زد، لذا می‌تواند به‌عنوان تیمار بهینه جهت افزایش محتوای ترکیبات مهم پلی‌فنولی گیاه سرخارگل معرفی شود. اندازه‌گیری محتوای نیتروژن گیاه نیز نشان داد که با محلول‌پاشی نانونیتروژن و آمینواسید و کوددهی اوره، میزان نیتروژن کل در اندام هوایی گیاه نسبت به شاهد افزایش می‌یابد.

کلمات کلیدی: نانوفناوری، آنتی اکسیدان، اسید کوماریک، اسید رزماریک، اسید کلروژنیک، اسید گالیک.

مقدمه

تمایل عموم مردم نسبت به استفاده از گیاهان دارویی در سراسر جهان روز به روز بیشتر می‌شود (Ghavam and Kiani Salmi, 2018). یکی از گیاهان دارویی مورد توجه امروزی گیاه علفی و چند ساله سرخارگل (*Echinacea purpurea*) از خانواده گل ستاره (*Asteraceae*) و زیر خانواده آستروییده (*asteroideae*) می‌باشد (Mrozikiewicz et al., 2010). تولیدکنندگان عمده سرخارگل در اروپا، کشورهای آلمان، سوییس، هلند، ایتالیا و اسپانیا هستند. فروش جزیی محصولات این گیاه در امریکا سالانه بالغ بر ۱۵۸ میلیون دلار تخمین زده شده است (Zabarjadi et al., 2013).

اجزای فعال و مهم شاخساره سرخارگل شامل عصاره (مشتقات اسید کافئیک (caffeic acid) از جمله اسید شیکوریک، اسید کافتاریک و اسید کلروژنیک (chlorogenic acid) و اسانس (جرماکرن‌دی، بتاکاریوفیلن و هومولن) است (Asadi Sanam et al., 2018؛ Thomsen et al., 2012؛ Mirjalili, et al., 2006). این گیاه به طور گسترده‌ای برای درمان عفونت‌های مزمن دستگاه تنفسی و ادراری، عفونت‌های ویروسی، بهبود سیستم ایمنی، دفاعی و سوختگی به کار رفته و دارای فعالیت آنتی اکسیدانی بسیار بالایی نیز می‌باشد (Tsai et al., 2012).

کاربرد صحیح و مناسب عناصر غذایی نه تنها نقش عمده‌ای در افزایش عملکرد گیاهان دارویی دارد، بلکه در کمیت و کیفیت مواد مؤثره آن‌ها نیز مؤثر است (Omid Beigi, 2013). نیتروژن از مهم‌ترین عناصر غذایی است که در رشد رویشی و زایشی گیاهان دارویی تأثیر گذاشته و طبعاً باعث تغییراتی در عملکرد محصول شده و در نتیجه کمیت و کیفیت مواد موثره آن‌ها را نیز تحت تأثیر قرار می‌دهد. نیتروژن با عناصری نظیر کربن، اکسیژن، هیدروژن و گوگرد ترکیب شده و در ساختمان مولکول‌های بسیار ارزشمند نظیر پروتئین‌ها، آنزیم‌ها، کوآنزیم‌ها، اسیدهای نوکلئیک و سیتوکروم‌ها نقش دارد (Ameri et al., 2007). بنابراین، یکی از راهکارهای افزایش عملکرد گیاهان و افزایش مواد مؤثره گیاهان دارویی، استفاده از کودهای شیمیایی حاوی نیتروژن است. تحقیقات انجام گرفته در زمینه اثر نیتروژن بر رشد گیاه سرخارگل نشان می‌دهند که رشد این گیاه در اثر افزودن کود نیتروژنه افزایش می‌یابد (El-Sayed et al., 2012). به طور کلی مقدار ۱۵۰ تا ۱۸۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن (بیش از ۰/۵ درصد نیتروژن در خاک)، جهت افزایش عملکرد گیاه سرخارگل نیاز می‌باشد (Berti et al., 2002 ؛ Zeinali et al., 2018).

برای فراهم کردن نیتروژن مورد نیاز گیاه، می‌توان از کودهای شیمیایی، زیستی، نانوکودها و آمینواسیدها استفاده کرد. استفاده از نانوکودها منجر به افزایش کارایی مصرف عناصر غذایی، کاهش سمیت خاک، به حداقل رساندن اثرات منفی ناشی از مصرف بیش از حد کودها و کاهش تعداد دفعات کاربرد کود می‌شود. استفاده از نانوفناوری در تولید کودها ممکن است موجب رهایش بهینه و افزایش کارایی جذب عناصر غذایی موجود در کود شود که منجر به فواید اقتصادی و زیست محیطی قابل‌توجهی می‌شود (Liu and lal., 2015). اخیراً تمایل به استفاده مستقیم از اسیدهای‌آمینه جهت بهبود رشد گیاهان رو به افزایش است. اسیدهای آمینه از ترکیبات آلی نیتروژنه و واحد سازنده پروتئین‌ها می‌باشند. همچنین آن‌ها در بیوسنتز سایر ترکیبات آلی مانند رنگیزه‌ها، ویتامین‌ها، آنزیم‌ها، آلکالوئیدها، ترپنوئیدها، کوآنزیم‌ها، بازهای پورین و پیریمیدین نقش دارند (Kamar and Omer, 1987). توجه به جذب اسیدهای‌آمینه در گیاهان به علت وجود مسائلی مانند افزایش تنش‌های محیطی در کشت محصولات کشاورزی، پایین بودن کارایی مصرف کودهای نیتروژنی و همچنین نقش مهمی که اسیدهای‌آمینه در مناطق مختلف از جمله مناطق فقیر از نیتروژن دارند، درحال افزایش است (Persson and asholm ., 2003). همچنین اسیدهای آمینه

می‌توانند باعث تحریک سوخت و ساز و فرآیندهای سوخت و سازی متابولیکی در جهت افزایش کارایی گیاهان شوند (Faten et al., 2010). اکنون مشخص شده است که گیاهان قادرند از اسیدهای آمینه به‌عنوان منبع نیتروژن استفاده کنند (Tsouvaltzis et al., 2014). نتایج تحقیق حسنی و نورزاده (Hassani and Nourzadeh, 2016) بر تربچه قرمز نشان داد که کاربرد آسیدآمینه باعث افزایش نیتروژن کل و کاهش نیترات در برگ‌ها می‌شود که دلیل این امر اثر اسیدآمینه بر روی فعالیت آنزیم‌های نیترات ردوکتاز و گلوتامین سنتاز در آسیمیلاسیون نیترات می‌باشد.

علاوه‌بر نقش مثبت نیتروژن بر رشد گیاه، فراهمی این عنصر می‌تواند روی مواد مؤثره گیاهان دارویی اثر گذار باشد. مهربانی و همکاران در سال ۲۰۱۴ نشان دادند که با افزایش سطوح کود نیتروژنی از صفر تا ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار میزان فنل تام مرزه افزایش می‌یابد ولی مصرف بیشتر آن باعث کاهش میزان فنل تام می‌شود (Mehrabani et al., 2014). در مورد گیاه سرخارگل، افزودن ۱۵۰ کیلوگرم بر هکتار نیتروژن، سبب افزایش اسید کلروژنیک (chlorogenic acid) در این گیاه شده است (Manafi et al., 2013). استفاده از آمینواسیدها هم بر ترکیبات ثانویه و محتوای فنولی گیاهان دارویی اثرگذار است. نتایج مطالعات نشان می‌دهد که کاربرد اسید آمینه، محتوای فنل در آویشن را افزایش می‌دهد (Reda et al., 2005). همچنین گزارش شده است که محلول‌پاشی آمینواسیدها سبب افزایش ترکیبات پلی‌فنولی در فلفل قرمز می‌گردد (Aly et al., 2019). با بررسی منابع، تحقیقی در مورد استفاده از نانوکودها و آمینواسیدها در گیاه دارویی سرخارگل و ترکیبات پلی‌فنولی آن پیدا نشد. اما همانطور که مطالعات در گیاهان دیگر نشان می‌دهد، حضور منابع نیتروژن می‌تواند با افزایش رشد و عملکرد گیاه در افزایش مواد مؤثره گیاه دارویی سرخار گل نقش داشته باشد.

با توجه به اهمیت و نقش گیاه سرخارگل در صنایع دارویی و اهمیت ترکیبات پلی‌فنولی موجود در آن، و با توجه به مدیریت تغذیه گیاهی در راستای افزایش و پایداری تولید، این تحقیق با هدف بررسی مقایسه نانونیتروژن، آمینواسید و اوره به‌عنوان منابع متفاوت از نیتروژن و تأثیر آن‌ها بر ترکیبات پلی‌فنولی و محتوای نیتروژن کل در گیاه دارویی سرخارگل انجام شد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی در گلخانه شرکت زرین گیاه ارومیه در بهار سال ۱۳۹۸ به‌صورت گلدانی اجرا گردید. مشخصات خاک مورد استفاده در جدول ۱ آمده است.

جدول ۱- خصوصیات فیزیکوشیمیایی خاک مورد استفاده در این مطالعه

Table 1- Physicochemical properties of soil used in this study

Soil texture	Sand (%)	Silt (%)	Clay (%)	pH	EC ($dS/m^{}$)	O.M. (%)	Fe (mg/kg)	N (%)	P (mg/kg)	K (mg/kg)
Clay, sandy, loam	48.5	27.5	24	7.89	1.53	1.3	1.5	0.1	18	287

نشاءهای سرخارگل از شرکت گیاهان دارویی زرین گیاه ارومیه تهیه و درگلدان‌های پلاستیکی دو کیلوگرمی با قطر و ارتفاع ۱۸ سانتی‌متر کاشته شدند. کشت نشاء و مراحل مختلف اعمال تیمارها در گلخانه مستقر در شرکت زرین گیاه ارومیه که دارای دمای متوسط روزانه ۲۶ درجه سانتی گراد و شبانه ۲۳ درجه سانتی گراد بود، انجام گرفت. در هر گلدان ۳ نشاء از سرخارگل کاشته و بعد از آنالیز نمونه‌ای از خاک، غلظت تیمارهای مورد نظر انتخاب

شد. طول دوره رشد از زمان کاشت تا برداشت سه ماه بود.

فاکتورهای مورد بررسی در این آزمایش شامل فاکتور اول کودآبیاری با اوره (در سه سطح ۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ کیلوگرم در هکتار معادل با ۰، ۰/۰۷۷ و ۰/۱۵۴ گرم در هر گلدان)، فاکتور دوم محلول‌پاشی با نانونیتروژن (در سه سطح ۰، ۱ و ۳ گرم در لیتر) و فاکتور سوم محلول‌پاشی با آمینواسید فرمولایف (در سه سطح ۰، ۱ و ۳ گرم در لیتر) هر کدام در ۴ تکرار انجام گرفت. آمینواسید فرمولایف از شرکت بهاران تهیه شد. نانوکودنیتروژن از شرکت صدور احرار شرق (خضرا)، که به وسیله یک روش فناوری نانو ثبت شده در اداره ثبت اختراع و نشان تجاری آمریکا (USPTO) تولید شده است، تهیه شد. این کود که به فرم کلات نیتروژن است حاوی ۱۷ درصد نیتروژن بوده و ابعاد ذرات آن کوچکتر یا برابر با ۱۰۰ نانومتر می‌باشد (Nazaran, 2012). آمینواسید فرمولایف حاوی ۳۱ درصد گلایسین، ۱۰ درصد سیستئین، ۸/۵ درصد متیونین، ۶/۵ درصد فنیل‌آلانین، ۶ درصد والین، ۵ درصد ایزولوسین، ۳ درصد آرژنین و آلانین، ۲/۵ درصد هیستیدین، ۲ درصد آسپارتیک، پرولین، لوسین، گلوتامیک و لیزین و ۱ درصد تیروزین بود.

کود اوره به‌صورت محلول فقط یک بار بعد از کشت به شیوه‌ی کودآبیاری و مطابق با منابع اعمال گردید (Sadeghipour and Monem, 2009). نانوکود نیتروژن یک بار در ابتدای کشت و یک مرتبه قبل از گلدهی به‌صورت محلول‌پاشی اعمال شد (Zare Abyaneh and Bayat Varkashi, 2015). اعمال تیمار آمینواسید یک مرتبه در ابتدای کشت و دو مرتبه تا مرحله برداشت به فاصله حدود ۳۵ روز از یکدیگر و به‌صورت محلول‌پاشی انجام گردید (Davoodifard et al., 2012). در تیمارهای ترکیبی، اعمال تیمارها با فاصله زمانی حدود یک هفته‌ای از یکدیگر انجام شد. در سطوح صفر از هر سه عامل (به عبارت دیگر تیمار شاهد)، محلول‌پاشی با آب مقطر و بدون افزودن هیچ کدام از منابع نیتروژنه انجام گرفت.

به‌منظور استخراج پلی‌فنول‌ها، یک گرم از نمونه گیاه پودرشده را در ارلن ریخته و بعد از افزودن ۲۰ میلی‌لیتر حلال آب-متانول (۲۵:۷۵)، فرایند استخراج تحت امواج التراسونیک به مدت ۴۰ دقیقه انجام گرفت. سپس بوسیله پارچه ظریف و کاغذ صافی عصاره تهیه شده صاف گردید و تا زمان آنالیز ترکیبات پلی‌فنولی در یخچال نگه داری شد. شناسایی و تعیین مقدار اسیدهای فنولی موجود در عصاره با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا سری ۱۱۰۰ ساخت کمپانی Agilent آمریکا صورت گرفت. جداسازی بر روی ستون اکتادسیل‌سیلان (به طول ۲۵سانتی‌متر، قطر داخلی ۴/۶ میلی‌متر و اندازه‌ی ذرات ۵ میکرومتر ZORBAX Eclipse XDB) ساخت کمپانی Dr. Mainsch آلمان انجام شد. از نرم افزار Chemstation جهت پردازش داده‌ها استفاده گردید. به‌منظور جداسازی بهتر ترکیبات از یک برنامه شویش (Elution) مشخص استفاده شد که برای این منظور ابتدا فاز متحرک با نسبت ۱۰ درصد استونیتریل و ۹۰ درصد محلول یک درصد اسید استیک با فلوی یک میلی‌لیتر بر دقیقه شروع و در طی ۵ دقیقه به نسبت ۲۵ درصد استونیتریل و ۷۵ درصد محلول یک درصد استیک اسید با فلوی یک میلی‌لیتر بر دقیقه رسید، سپس در طی ۱۰ دقیقه به نسبت ۶۵ درصد استونیتریل و ۳۵ درصد محلول یک درصد استیک اسید با فلوی یک میلی‌لیتر بر دقیقه رسید. زمان جداسازی ۱۵ دقیقه بود (Seal, 2016). اندازه‌گیری نیتروژن کل به روش کجلدال انجام گرفت (AOAC, 2000). تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۴ و مقایسه میانگین به روش دانکن در سطح احتمال یک و پنج درصد صورت گرفت.

نتایج و بحث

ترکیبات پلی‌فنولی

ترکیبات اسید گالیک (Gallic acid)، اسید کافئیک

(caffeic acid)، اسید کلروژنیک (chlorogenic acid)، روتین (rutin)، اسید کوماریک (comaric acid)، اسید رزماریک (romaric acid)، کوئرسیتین (quercetin)، اسید سینامیک (cinnamic acid) و آپی‌ژنین (apigenin) از ترکیبات مهم پلی‌فنول‌ها در گیاه سرخارگل هستند که مقدار هر یک از آن‌ها در گیاه تحت تأثیر تیمارهای نیتروژنه مورد بررسی قرار گرفت. جدول ۱ نتایج تجزیه واریانس این ترکیبات را در تیمارهای مختلف نشان می‌دهد. تمامی ترکیبات پلی‌فنولی سرخارگل در تیمارهای مختلف نیتروژنه و همچنین اثرات متقابل آن‌ها در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار است و فقط تیمار اسید رزماریک (romaric acid) در تیمار اوره‌ی تنها اثر معنی‌داری نداشته است.

جدول ۱- تجزیه واریانس ترکیبات پلی‌فنولی گیاه سرخارگل تحت تأثیر کودهای اوره، نانونیتروژن و آمینواسید

Table 1- Analysis of variance of polyphenolic compounds of Purple coneflower under the influence of urea, nano nitrogen and amino acids

S.O.V	df	Mean squars								
		Gallic acid	Caffeic acid	Chlorogenic acid	Rutin	Comaric	Rosmaric acid	Quercetin	Cinnamic acid	Apigenin
Urea	2	0.039**	2.514**	4.547**	1.138**	74.93**	0.003^{ns}	0.752**	0.004**	0.126**
NanoNitrogen	2	2.60**	0.833**	21.66**	1.436**	283.99**	0.575**	0.409**	0.005**	0.274**
AminoAcid	2	1.454**	0.999**	18.36**	0.462**	3.597**	0.491**	0.025**	0.001**	0.002**
Urea*NanoNitrogen	4	1.914**	2.472**	7.23**	2.318**	458.02**	0.236**	2.415**	0.002**	0.126**
Urea*AminoAcid	4	1.270**	4.702**	9.551**	2.318**	111.34**	0.937**	1.964**	0.001**	0.065**
NanoNitrogen*AminoAcid	4	1.901**	4.937**	1.693**	0.863**	135.67**	0.514**	1.08**	0.001**	0.002**
Urea*NanoNitrogen*AminoAcid	8	1.319**	2.731**	15.04**	1.165**	156.03**	0.647**	0.473**	0.002**	0.065**
Error	54	0.002	0.005	0.015	0.001	0.292	0.001	0.002	1.833	7.319
C.V		11.19	6.62	6.20	9.78	6.76	6.24	5.82	7.15	7.49

ns and ** repersent non-significant, significant at 1% probality level, respectively

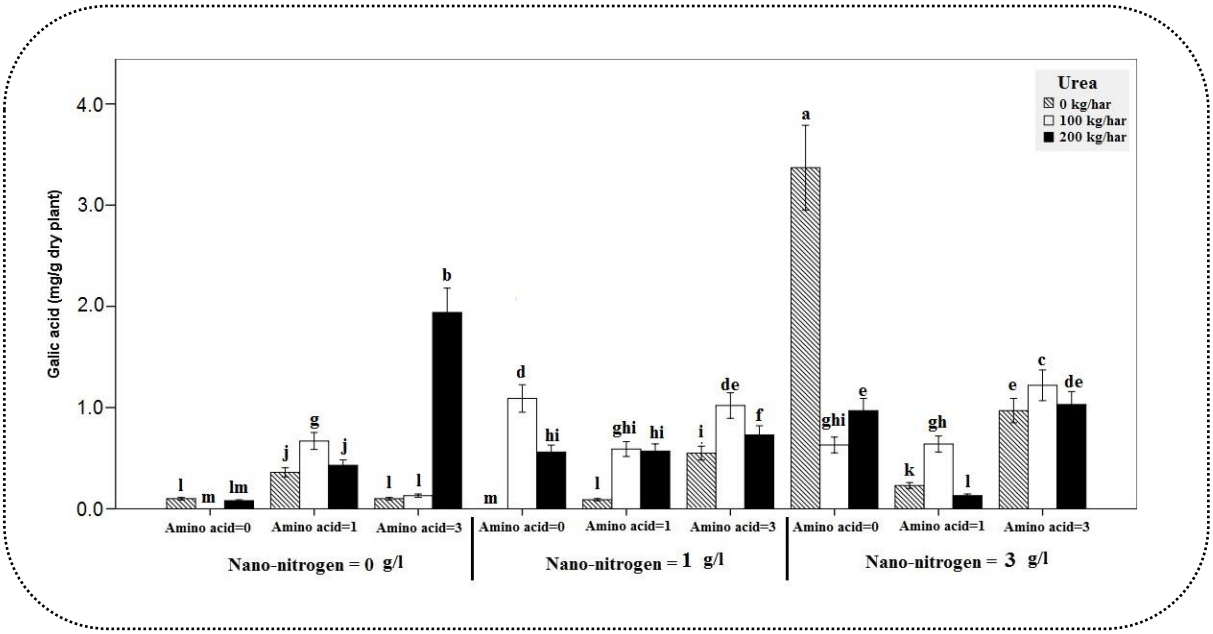
اسید گالیک

بر اساس نتایج مقایسه میانگین بیشترین میزان اسید گالیک (Gallic acid) (۳/۳۷ میلی‌گرم بر ۵۰ گرم ماده خشک) در تیمار «نانونیتروژن-۳، آمینواسید-۰، اوره-۰» مشاهده گردید که با سایر تیمارها اختلاف معنی داری دارد (شکل ۱). بنابراین، استفاده از کود نانونیتروژن با غلظت ۳ گرم در لیتر به‌صورت محلول‌پاشی و بدون نیاز به استفاده از سایر کودهای نیتروژنه می‌تواند مقدار اسید گالیک (Gallic acid) را به شدت افزایش دهد. کمترین میزان این ترکیب در تیمارهای «اوره-۱۰۰، نانونیتروژن-۰، آمینواسید-۰» و «اوره-۲۰۰، نانونیتروژن-۰، آمینواسید-۰» به دست آمد. یعنی هنگامی که از کودهای نانونیتروژن و آمینواسید استفاده نشده باشد، صرف نظر از مقدار کود اوره، مقدار ترکیب اسید گالیک (Gallic acid) به کمترین مقدار خود (یعنی صفر و پایین‌تر از حد تشخیص دستگاه) می‌رسد (شکل ۱). شکل ۱ همچنین نشان می‌دهد که استفاده ترکیبی از آمینواسید با غلظت ۳ گرم در لیتر و اوره به مقدار ۲۰۰ کیلوگرم بر هکتار نیز افزایش مقدار اسید گالیک (Gallic acid) سرخارگل را در پی دارد، اما مقدار افزایش بسیار کمتر از به کارگیری ۳ گرم در لیتر نانونیتروژن به تنهایی (در حدود نصف) است.

اسید کافئیک

مقایسه میانگین نشان داد که بیشترین میزان اسید کافئیک (caffeic acid) (۴/۰۴ میلی‌گرم بر ۵۰ گرم ماده

خشک) با استفاده از ۲۰۰ کیلوگرم بر هکتار اوره و در غیاب سایر تیمارهای نیتروژنه به دست آمد (شکل ۲). هنگامی که اوره با بالاترین سطح خود (۲۰۰ کیلوگرم بر هکتار) در کنار دیگر منابع نیتروژنی استفاده شود، مقدار اسید کافئیک (caffeic acid) به شدت کاهش می‌یابد و در برخی موارد مانند «نانونیتروژن-۰، آمینواسید-۱، اوره-۲۰۰»، « نانونیتروژن-۱، آمینواسید-۰، اوره-۲۰۰» و «نانونیتروژن-۳، آمینواسید-۱، اوره-۲۰۰» به صفر (کمتر از حد تشخیص دستگاه) می‌رسد. در صورتی که اعمال همزمان تیمار اوره در سطح کمتر در کنار سایر منابع نیتروژن می‌تواند سبب افزایش اسید کافئیک (caffeic acid) شود. برای مثال تیمار «نانونیتروژن-۱، آمینواسید-۳، اوره-۱۰۰» بیشترین مقدار اسید کافئیک (caffeic acid) را بعد از تیمار اوره-۲۰۰ نتیجه می‌دهد. اعمال تیمار «نانونیتروژن-۱، آمینواسید-۳، اوره-۰» در غیاب اوره، نیز مقدار قابل توجهی از این ترکیب را به دست می‌دهد. بنابراین اسید کافئیک (caffeic acid) در گیاه سرخارگل در حضور ۲۰۰ کیلوگرم بر هکتار از اوره و عدم حضور سایر کودهای نیتروژنی، به بیشترین مقدار خود می‌رسد ولی می‌تواند با استفاده از مقدار کمتر اوره و جایگزینی آن با محلول‌پاشی نانونیتروژن و آمینواسید به مقدار قابل قبولی نیز برسد.

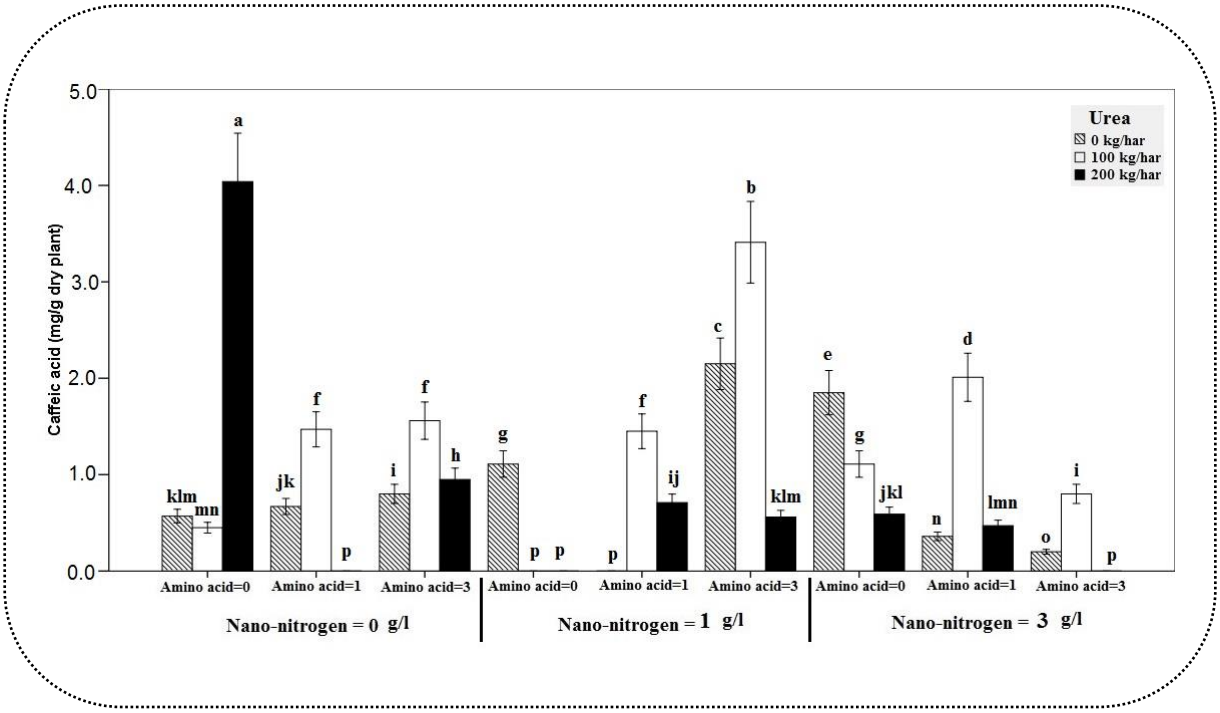


شکل ۱- تاثیر تیمارهای اوره، نانونیتروژن و آمینواسید بر مقدار اسید گالیک در گیاه سرخارگل

Effect of urea, nano-nitrogen and amino acid on galic acid in purple coneflower plant-Figure 1

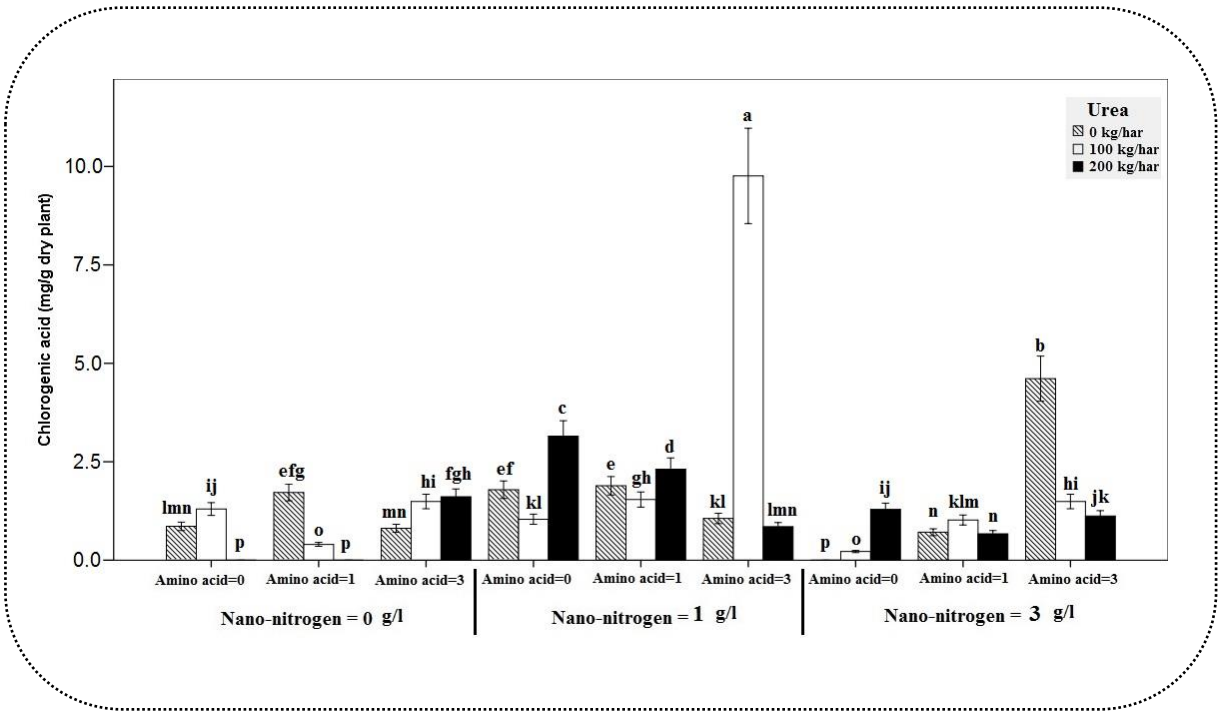
اسید کلروژنیک

مقایسه میانگین نشان داد که بیشترین میزان اسید کلروژنیک (chlorogenic acid) (حدود ۱۰ میلی‌گرم بر ۵۰ گرم ماده خشک) در تیمار «نانونیتروژن-۱، آمینواسید-۳، اوره-۱۰۰» و کمترین میزان آن در تیمارهای «نانونیتروژن-۰، آمینواسید-۰، اوره-۲۰۰»، «نانونیتروژن-۰، آمینواسید-۱، اوره-۲۰۰» و «نانونیتروژن-۳، آمینواسید-۰، اوره-۰» بدست آمد (شکل ۳). همان‌طورکه شکل ۳ نشان می‌دهد که تیمار «نانونیتروژن-۳، آمینواسید-۳، اوره-۰» در مرتبه دوم از لحاظ مقدار اسید کلروژنیک (chlorogenic acid) (البته در حدود نصف) قرار دارد. بنابراین نتایج نشان می‌دهد استفاده از سطح بالای کود اوره به طور کلی سبب کاهش اسید کلروژنیک (chlorogenic acid) در گیاه سرخارگل می‌شود.



شکل ۲- تاثیر تیمارهای اوره، نانونیتروژن و آمینواسید بر مقدار اسید کافئیک در گیاه سرخارگل

Effect of urea, nano-nitrogen and amino acid on caffeic acid (bottom) in purple coneflower plant–Figure 2

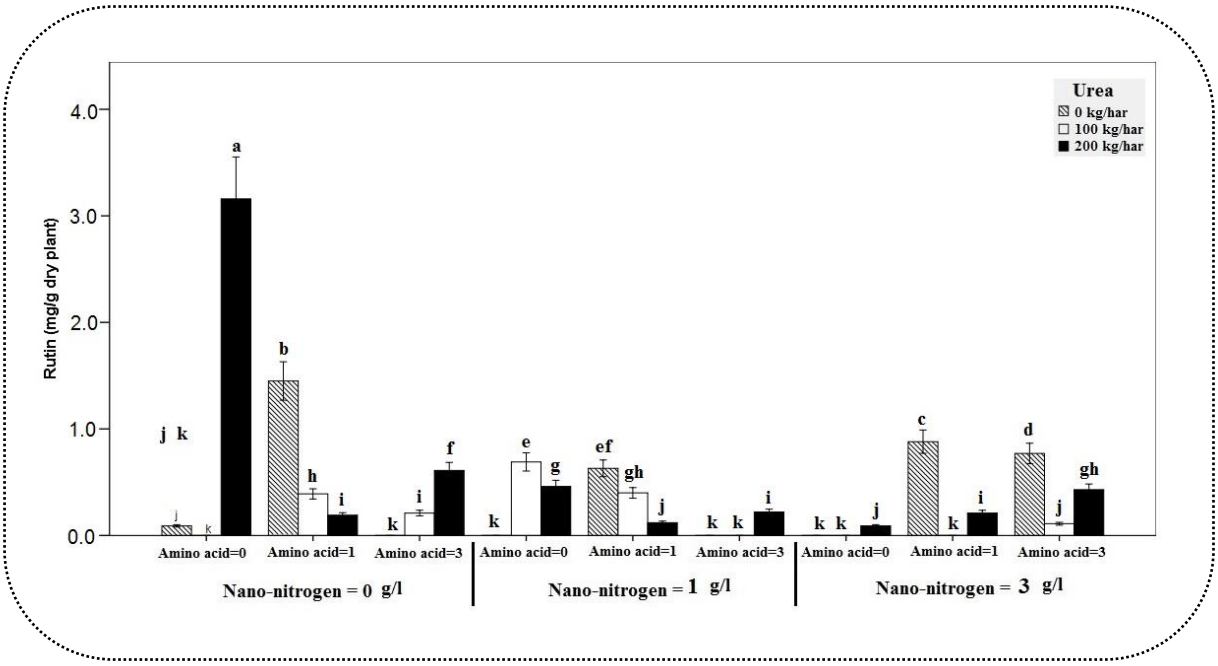


شکل ۳- تاثیر تیمارهای اوره، نانونیتروژن و آمینواسید بر مقدار اسید کلروژنیک در گیاه سرخارگل

Figure 3- Effect of urea, nano-nitrogen and amino acid on chlorogenicacid in purple coneflower plant

روتین

شکل ۴ نشان می‌دهد که بیشترین میزان روتین (rutin) (۳/۱۶ میلی‌گرم بر ۵۰ گرم ماده خشک) در تیمار «نانونیتروژن-۰، آمینواسید-۰، اوره-۲۰۰» به دست آمد. تیمار «نانونیتروژن-۰، آمینواسید-۱، اوره-۰» با مقدار ۱/۴۵ میلی‌گرم بر ۵۰ گرم ماده خشک از روتین (rutin) در مرتبه بعدی قرار دارد. اعمال سایر تیمارها به شدت مقدار ترکیب روتین (rutin) را کاهش داده و در برخی موارد حتی مقدار آن را به صفر رساند (شکل ۴).



شکل ۴- تاثیر تیمارهای اوره، نانونیتروژن و آمینواسید بر مقدار روتین در گیاه سرخارگل
Figure 4- Effect of urea, nano-nitrogen and amino acid on rutin in purple coneflower plant

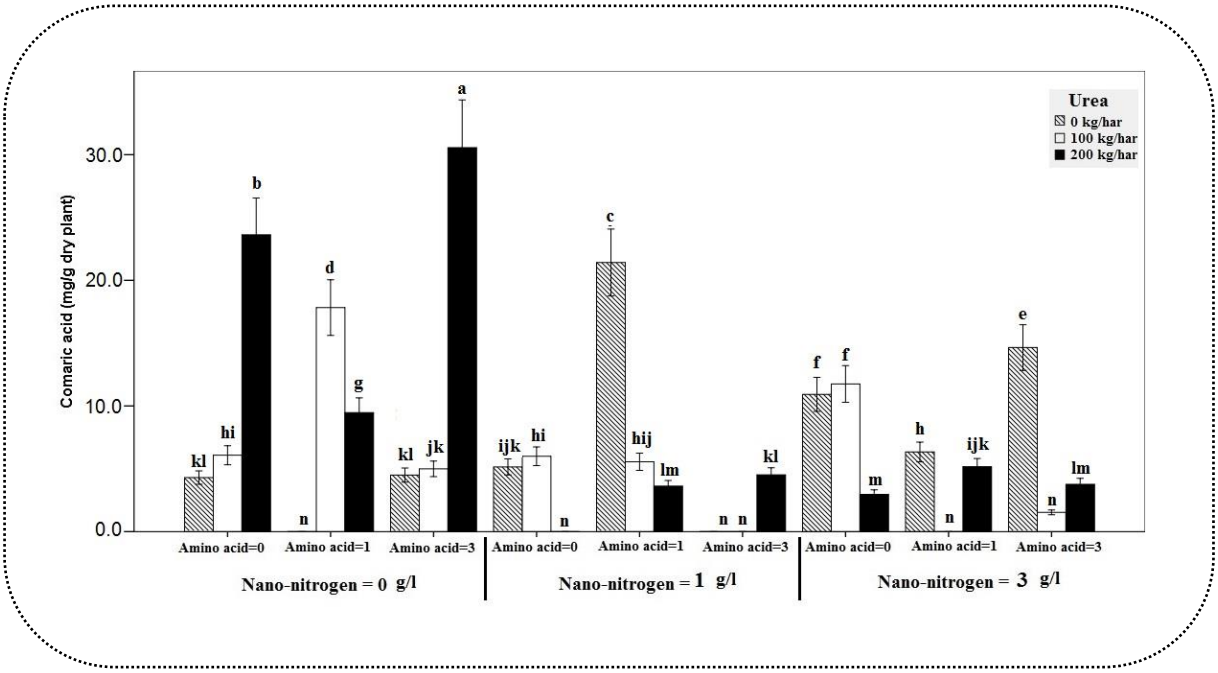
اسید کوماریک

براساس نتایج مقایسه میانگین بیشترین میزان اسید کوماریک (comaric acid) (۳۰ میلی‌گرم بر ۵۰ گرم ماده خشک) با استفاده همزمان از ۲۰۰ کیلوگرم بر هکتار اوره و ۳ گرم در لیتر آمینواسید در تیمار «نانونیتروژن-۰، آمینواسید-۳، اوره-۲۰۰» مشاهده گردید (شکل ۵). استفاده‌ی ۲۰۰ kg/ha از اوره به تنهایی از لحاظ مقدار اسید کوماریک (comaric acid) در مرتبه دوم قرار دارد. مقدار اسید کوماریک (comaric acid) در تیمارهای «نانونیتروژن-۱، آمینواسید-۱، اوره-۰» و «نانونیتروژن-۰، آمینواسید-۱، اوره-۱۰۰» به ترتیب کاهش می‌یابد و اعمال سایر تیمارها مقدار آن را به شدت کم می‌کند به طوری‌که در برخی تیمارها مانند «نانونیتروژن-۱، آمینواسید-۳، اوره-۱۰۰» مقدار آن به صفر می‌رسد.

اسید رزماریک

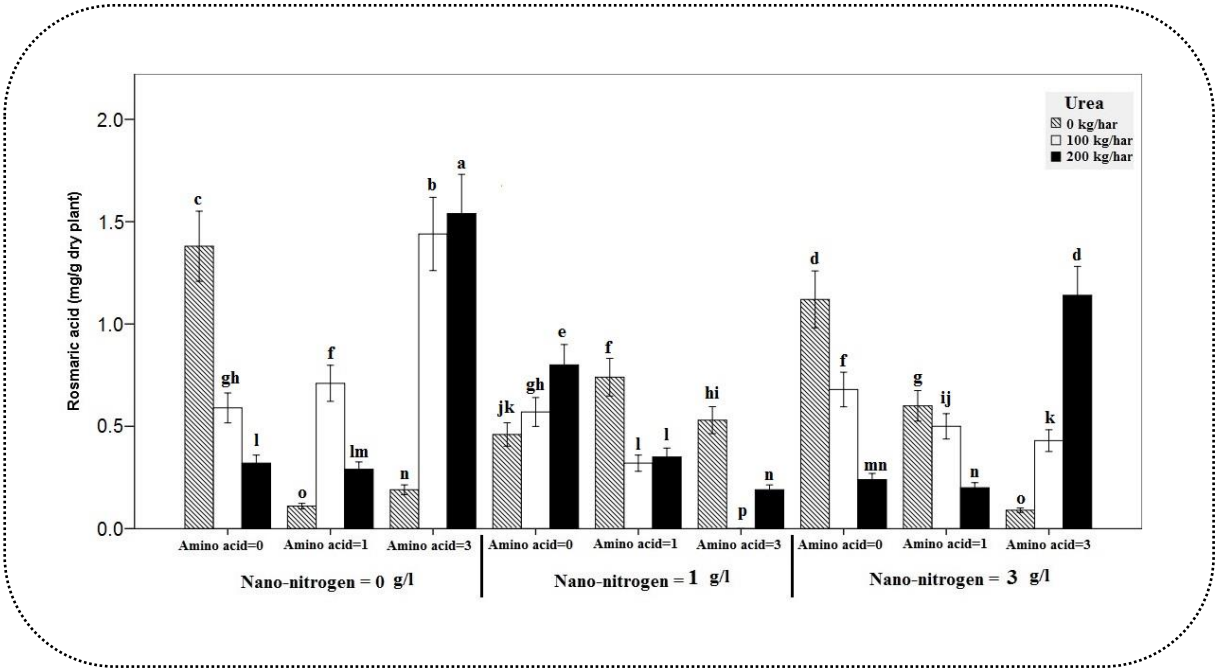
براساس نتایج مقایسه میانگین بیشترین میزان اسید روزماریک (romaric acid) دقیقا مانند اسید کوماریک (comaric acid) در تیمار «نانونیتروژن-۰، آمینواسید-۳، اوره-۲۰۰» مشاهده گردید (شکل ۶). تیمار «نانونیتروژن-۰، آمینواسید-۳، اوره-۱۰۰» در مرتبه دوم و تیمار «نانونیتروژن-۰، آمینواسید-۰، اوره-۰» یعنی تیمار شاهد (عدم استفاده از کود) در مرتبه‌ی سوم از لحاظ مقدار اسید رزماریک (romaric acid) قرار دارند.

نتایج نشان دادند که کمترین مقدار اسید رزماریک (romaric acid) مشابه با ترکیب اسید کوماریک (comaric acid) در تیمار «نانونیتروژن-۱، آمینواسید-۳، اوره-۱۰۰» به دست آمد.



شکل ۵- تاثیر تیمارهای اوره، نانونیتروژن و آمینواسید بر مقدار اسید کوماریک در گیاه سرخارگل

Figure 5- Effect of urea, nano-nitrogen and amino acid on comaric acid in purple coneflower plant



شکل ۶- تاثیر تیمارهای اوره، نانونیتروژن و آمینواسید بر مقدار رزماریک اسید در گیاه سرخارگل

Figure 6- Effect of urea, nano-nitrogen and amino acid on romaric acid in purple coneflower plant

کوئرسیتین

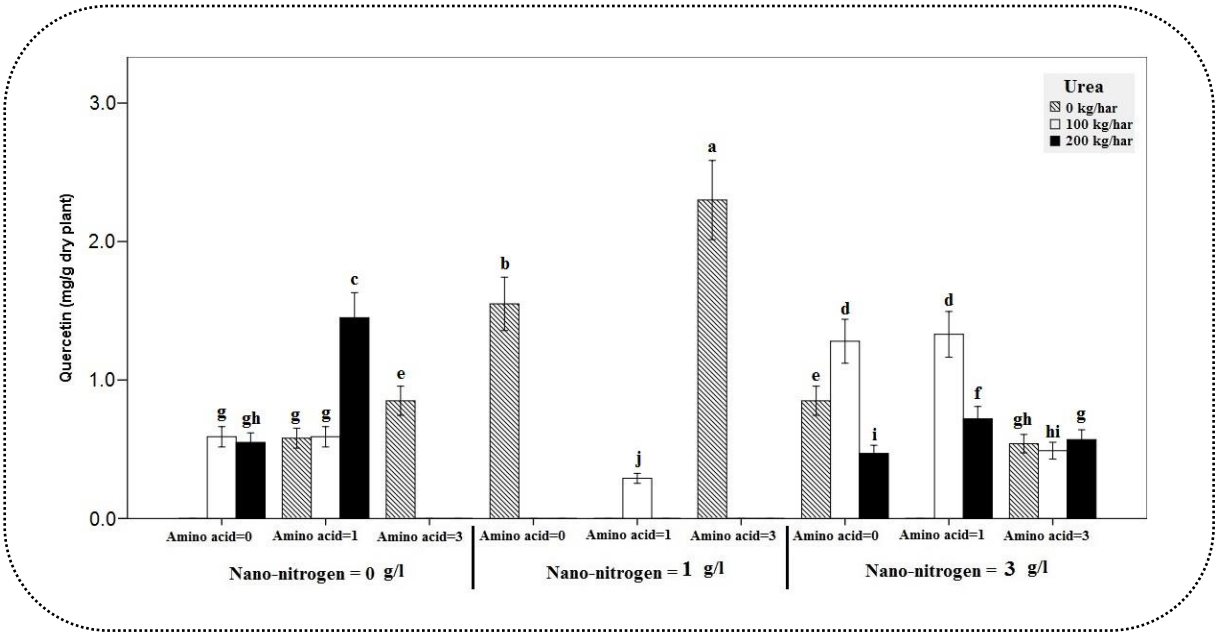
نتایج مقایسه میانگین نشان داد که بیشترین میزان کوئرستین (quercetin) (۲/۳ میلی‌گرم بر ۵۰ گرم ماده خشک) در تیمار «نانونیتروژن-۱، آمینواسید-۳، اوره-۰» و بعد از آن در تیمار «نانونیتروژن-۱، آمینواسید-۰، اوره-۰» به دست آمد (شکل ۷). یعنی عدم استفاده از کود اوره و به کارگیری روش محلول‌پاشی با کودهای نانونیتروژن و آمینواسید به ترتیب با غلظت‌های ۱ گرم در لیتر و ۳ گرم در لیتر می‌تواند مقدار کوئرستین (quercetin) در گیاه سرخارگل را افزایش دهد. تیمار شاهد (عدم استفاده از کودهای نیتروژنه) و اعمال برخی دیگر از تیمارها مقدار کوئرستین (quercetin) را کاهش داده و حتی به صفر رسانده‌اند.

اسید سینامیک

بر اساس نتایج مقایسه میانگین بیشترین میزان اسید سینامیک (cinnamic acid) (۰/۱۲ میلی‌گرم بر ۵۰ گرم ماده خشک) در تیمار «نانونیتروژن-۰، آمینواسید-۱، اوره-۰» یعنی هنگامی که فقط از محلول‌پاشی یک گرم بر لیتری آمینواسید استفاده شده باشد، مشاهده گردید (شکل ۸). در مورد تیمار نانونیتروژن می‌توان گفت که فقط با اعمال ۳ گرم بر لیتری از آن مقدار اسید سینامیک (cinnamic acid) صفر نگردید وگرنه حضور نانونیتروژن در کنار سایر تیمارها سبب صفر شدن مقدار اسید سینامیک (cinnamic acid) شد.

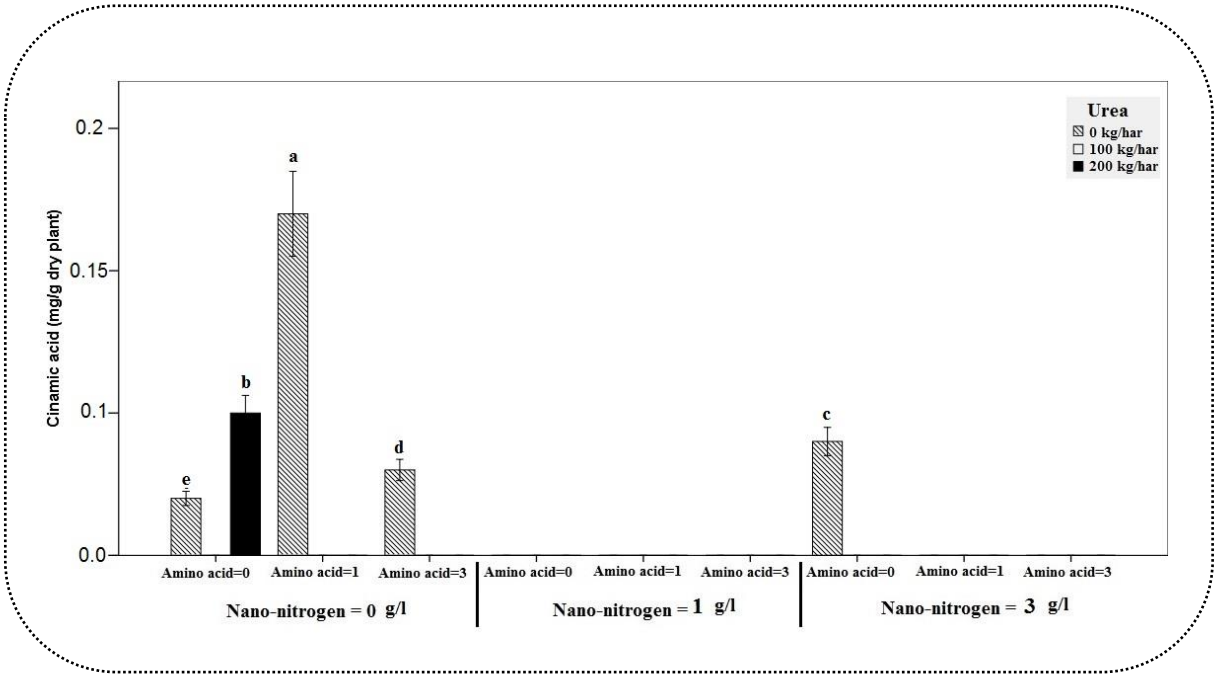
آپی‌ژنین

مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بیشترین میزان آپی‌ژنین (apigenin) (۰/۵۸ میلی‌گرم بر ۵۰ گرم ماده خشک) با اعمال تیمار آمینواسید به تنهایی با غلظت ۳ گرم در لیتر به دست آمد و با کاهش غلظت اعمالی از آمینواسید (۱ گرم در لیتر) مقدار آپی‌ژنین (apigenin) کاهش یافت (شکل ۹). اعمال تیمار اوره به تنهایی با غلظت kg/ha ۲۰۰ در مرتبه سوم و تیمار شاهد در مرتبه‌ی بعدی از لحاظ مقدار آپی‌ژنین (apigenin) قرار دارد. مانند ترکیب اسید سینامیک (cinnamic acid)، اعمال تیمار نانونیتروژن در تمامی سطوح مقدار آپی‌ژنین (apigenin) را در گیاه سرخارگل کاهش داد.



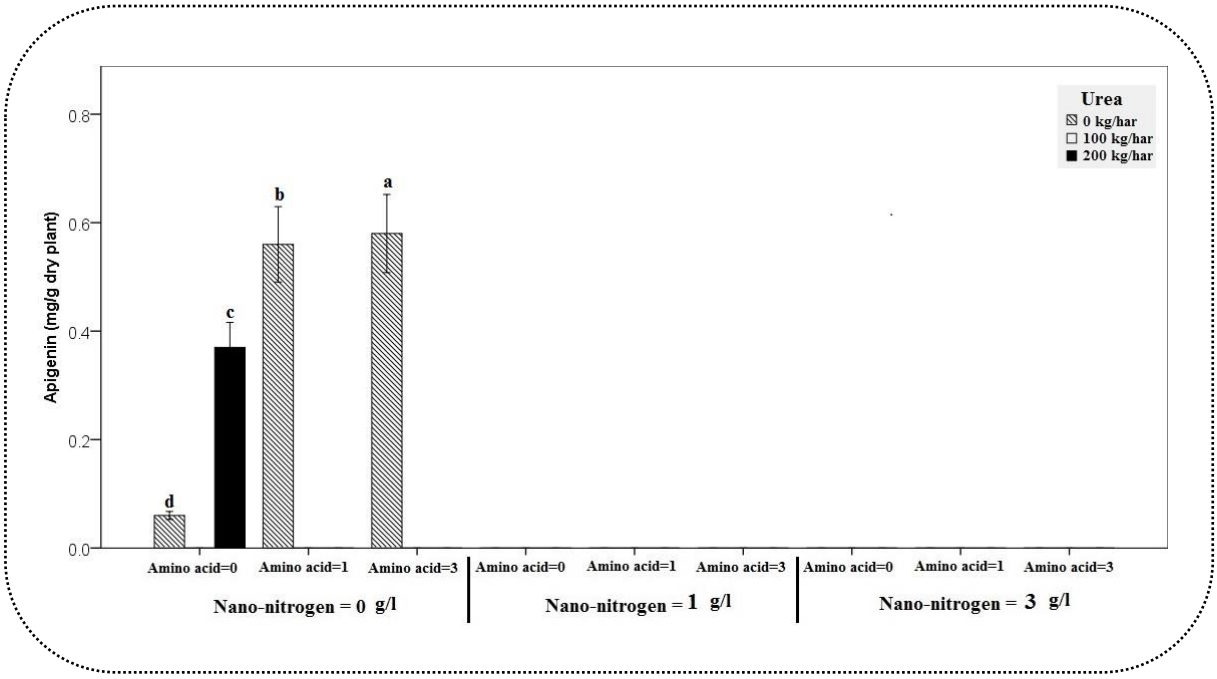
شکل ۷- تاثیر تیمارهای اوره، نانونیتروژن و آمینواسید بر مقدار کوئرستین در گیاه سرخارگل

Figure 7- Effect of urea, nano-nitrogen and amino acid on quercetin in purple coneflower plant



شکل ۸- تاثیر تیمارهای اوره، نانونیتروژن و آمینواسید بر مقدار اسید سینامیک در گیاه سرخارگل

Figure 8- Effect of urea, nano-nitrogen and amino acid on cinnamic acid in purple coneflower plant



شکل ۹- تاثیر تیمارهای اوره، نانونیتروژن و آمینواسید بر مقدار آپی‌ژنین در گیاه سرخارگل

Figure 9- Effect of urea, nano-nitrogen and amino acid on apigenin in purple coneflower plant

مطالعات نشان داده است که عوامل مختلفی بر درصد و میزان ترکیبات فنولی عصاره استخراجی از گیاهان دارویی مؤثر هستند. در این زمینه می‌توان به عوامل مختلفی مانند عوامل ژنتیکی، شرایط محیطی از جمله سیستم‌های مختلف تغذیه‌ای و شرایط نگهداری اشاره کرد. همچنین میزان رسیدن و زمان برداشت بر محتوای فنولی

موثرند (Jakopic et al., 2007). عوامل ایجاد تفاوت‌های گسترده در غلظت ترکیبات فنلی سرخارگل توسط برخی از پژوهشگران گزارش شده است (Lin et al., 2011; Thomsen et al., 2012)، آن‌ها به تفاوت در روش‌های استخراج، شیوه‌های مدیریت زراعی از جمله، زمان برداشت، سن گیاه و چگونگی زراعت آن‌ها، مکان رشد گیاه، تراکم کاشت، شرایط خشک شدن و ذخیره گیاهان به‌عنوان دلایل عمده تغییرات در غلظت این ترکیبات اشاره داشتند. همچنین گزارش شده است که حتی بین واریته‌های زراعی یک گونه سرخارگل هم، از نظر درصد و مقدار ترکیبات فنلی تفاوت وجود دارد (Millauskas et al., 2004).

نتایج در تحقیق حاضر نشان داد که به طور کلی محلول‌پاشی کودهای نیتروژن بر گیاه‌دارویی سرخارگل می‌تواند سبب افزایش مقدار ترکیبات پلی‌فنولی این گیاه شود. این نتایج با نتایج ردا و همکاران (Reda et al., 2005) و بختیاری و همکاران (Bakhtiari et al., 2017) مطابقت دارد. این گروه اعلام نمودند که کاربرد اسید آمینه مقدار محتوای فنل در آویشن را افزایش می‌دهد. در تحقیق دیگری افزایش در میزان نیتروژن و فسفر سبب افزایش ترکیبات فنولی در گیاه *Athrixia phylicoides* L. شد (Fhatuwani, 2007). همچنین در گزارش‌های دیگر، افزایش میزان نیتروژن، سبب افزایش عملکرد و ترکیبات فنولی در مقایسه با سطح صفر نیتروژن شده است (Rooster et al., 1985). همگی این نتایج با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد.

علاوه بر این موارد، نتایج تحقیق حاضر نشان داد که نوع ترکیب پلی‌فنولی غالب در گیاه سرخارگل به شدت تحت تأثیر تیمار نیتروژنی اعمالی قرار می‌گیرد. مثلا ترکیبات اسید کافئیک (caffeic acid) و روتین (rutin) با اعمال فقط ۲۰۰ کیلوگرم بر هکتار اوره و در غیاب سایر کودهای نیتروژنی به بیشترین مقدار خود می‌رسند، درحالیکه ترکیبات اسید گالیک (Gallic acid)، کوئرستین (quercetin)، اسید سینامیک (cinnamic acid) و آپی‌جنین به طور کلی در عدم حضور کود اوره به بیشترین مقدار خود می‌رسند. برخی ترکیبات با اعمال فقط یک کود به حداکثر خود می‌رسند، درصورتی که برخی ترکیبات با اعمال همزمان چند کود بیشترین مقدار را پیدا می‌کنند. برای مثال ترکیب اسید گالیک (Gallic acid) با اعمال فقط ۳ گرم در لیتر از نانونیتروژن و ترکیبات اسید سینامیک (cinnamic acid) و آپی جنین به ترتیب با اعمال فقط ۱ و ۳ گرم در لیتر از آمینواسید به بیشترین مقدار خود می‌رسند؛ در صورتی که ترکیب کوئرستین (quercetin) با اعمال همزمان ۱ گرم در لیتر نانونیتروژن و ۳ گرم در لیتر آمینواسید به حداکثر مقدار خود می‌رسد. این نتایج نشان می‌دهد، مسیر بیوسنتزی ترکیبات پلی‌فنولی موجود در سرخارگل متفاوت بوده و در نتیجه این ترکیبات وابستگی متفاوتی به غلظت‌ها و فرم‌های مختلف منابع نیتروژنی دارند.

برخی از ترکیبات هم رفتار مشابه‌ای از خود نشان می‌دهند. برای مثال، ترکیبات اسید کوماریک (comaric acid) و اسید رزماریک (romaric acid) در تیمار «نانونیتروژن-۰، آمینواسید-۳، اوره-۲۰۰» به حداکثر مقدار خود رسیده و در تیمار «نانونیتروژن-۱، آمینواسید-۳، اوره-۱۰۰» حداقل مقدار خود را دارند. احتمالا این دو ترکیب ریشه بیوسنتزی مشابه‌ای داشته و با اعمال منابع نیتروژنی مشخص می‌توان مقدار آن‌ها را افزایش داد. همچنین ترکیبات اسید سینامیک (cinnamic acid) و آپی‌جنین در حضور آمینواسید تنها، بیشترین مقدار و در حضور تیمار نانونیتروژن کمترین مقدار را نشان می‌دهند. بنابراین تولید این دو ترکیب هم احتمالا از یک مسیر بیوسنتزی مشابه در گیاه سرخارگل انجام می‌گیرد.

از لحاظ مقایسه نوع منبع نیتروژنی بر محتوی و پروفیل ترکیبات پلی‌فنولی موجود در سرخارگل، به دلیل متفاوت بودن مسیر بیوسنتزی ترکیبات پلی‌فنولی، انتخاب یک منبع بهینه برای همه ترکیبات مشکل بوده و برای هر نوع ترکیب

خاص پلی‌فنولی یک تیمار مشخص نیتروژنی بهینه پیشنهاد می‌شود. اما از آنجا که ترکیب اسید کوماریک (comaric acid) بیشترین مقدار را در بین سایر ترکیبات پلی‌فنولی در گیاه سرخارگل داشت (حدود ۳۱ میلی‌گرم بر ۵۰ گرم گیاه خشک) به‌عنوان ترکیب اصلی این گیاه انتخاب گردید. این ترکیب کاربردهای مختلفی در صنایع عطرسازی و دارویی دارد. تیمار بهینه برای اسید کوماریک (comaric acid)، یعنی «نانونیتروژن-۰، آمینواسید-۳، اوره-۲۰۰»، برای ترکیب مهم اسید رزماریک (romaric acid) نیز بهینه است و همچنین در این تیمار مقدار برخی از ترکیبات پلی‌فنولی مهم مانند اسید گالیک (Gallic acid)، روتین (rutin) و اسید کلروژنیک (chlorogenic acid) قابل ملاحظه است.

بنابراین می‌توان گفت که به‌طورکلی برای افزایش ترکیبات پلی‌فنولی مهم در گیاه سرخارگل و همچنین برای افزایش محتوای ترکیبات پلی‌فنولی در این گیاه، اعمال همزمان ۳ گرم بر لیتر آمینواسید به‌صورت محلول‌پاشی و ۲۰۰ کیلوگرم بر هکتار اوره، بهترین تیمار است.

محتوای نیتروژن کل در اندام هوایی سرخارگل

براساس نتایج تجزیه واریانس داده‌ها، اثر تیمارهای اوره، نانونیتروژن و آمینواسید و همچنین حالات مختلف اثر متقابل تیمارها بر غلظت نیتروژن کل اندام هوایی گیاه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. جدول ۲ این نتایج را نشان می‌دهد.

جدول ۲- تجزیه واریانس اثر تیمارهای اوره، نانونیتروژن و آمینواسید بر محتوای نیتروژن‌کل در گیاه سرخارگل

Table 3- Analysis of variance of effects of urea, nanonitrogen and aminoAcid on total nitrogen content in purple coneflower

S.O.V	df	Mean squars Total nitrogen content
Urea	2	0.22**
NanoNitrogen	2	0.11**
AminoAcid	2	0.04**
Urea*NanoNitrogen	4	0.16**
Urea*AminoAcid	4	0.05**
NanoNitrogen*AminoAcid	4	0.43**
Urea*NanoNitrogen*AminoAcid	8	0.11**
Error	54	0.005
C.V		12.96

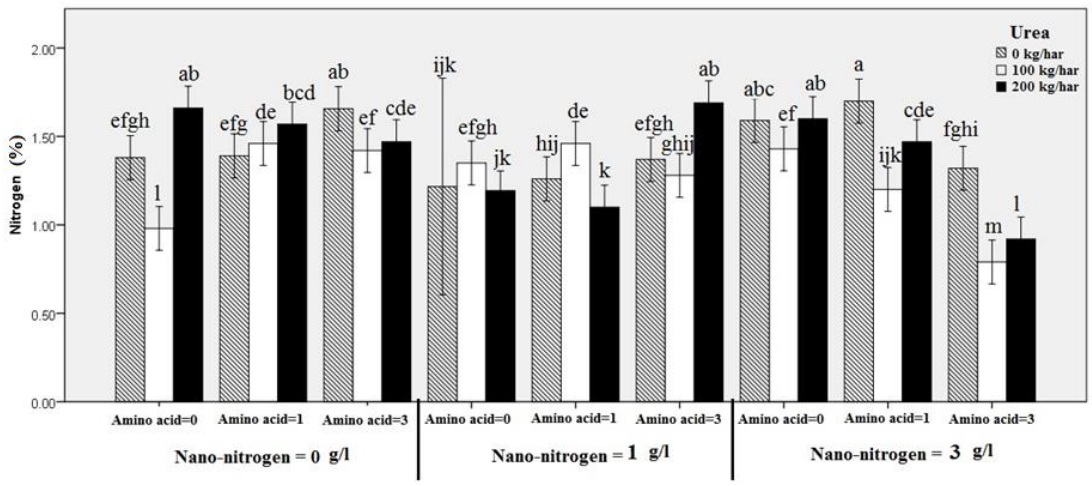
** represent significant at 1% probability level

بررسی اثر سطوح اوره، نانونیتروژن و آمینواسید بر غلظت نیتروژن‌کل اندام هوایی نشان داد که به طور کلی با افزایش سطح نیتروژن در تیمار اعمالی به گیاه، انباشت نیتروژن کل در اندام هوایی افزایش می‌یابد. مقایسه نتایج حاصل از اعمال منابع مختلف نیتروژنه وقتی به‌صورت تنها و نه همزمان به کار گرفته می‌شود، نشان می‌دهد که در سطوح بالای تیمارهای اوره، نانونیتروژن و آمینواسید، بیشترین محتوای نیتروژن در اندام هوایی گیاه وارد می‌شود (شکل ۱۰). نتایج مشابه‌ای توسط مومیوند و همکاران (Momivand et al., 2015) در مرزه تابستانی گزارش شد که بیانگر افزایش میزان نیتروژن کل در گیاه هنگام افزایش میزان مصرف نیتروژن می‌باشد. همچنین Chen و Gao (۲۰۰۲) گزارش کردند که مصرف اسیدآمینه در کلم موجب افزیش نیتروژن کل در گیاه می‌شود. هر چقدر

تغذیه نیتروژنی گیاه بهتر انجام گیرد، سنتز ترکیبات نیتروژنی در گیاه (اعم از متابولیت‌های اولیه مانند آمینواسیدها، پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک، بازهای آلی و متابولیت‌های ثانویه مانند گلیکوزیدهای نیتروژنی، آلکالوئیدها و ...) و به دنبال آن محتوای نیتروژن گیاه بیشتر می‌شود.

هنگامی که حالت ترکیبی تیمارها اعمال شود، وضعیت کمی متفاوت می‌شود. طبق شکل ۱۰، بیشترین مقدار نیتروژن گیاه در حالت ترکیبی در تیمارهای «نانونیتروژن-۱، آمینواسید-۳، اوره-۲۰۰»، «نانونیتروژن-۳، آمینواسید-۰، اوره-۲۰۰» و «نانونیتروژن-۳، آمینواسید-۱، اوره-۰» به دست آمد. در اینجا نیز سطح بالای کودهای نیتروژنه سبب افزایش مقدار ترکیبات نیتروژنی در اندام هوایی گیاه شده است. از جمله دلایل قابل ذکر در این زمینه می‌توان به افزایش میزان نیتروژن گیاه در اثر محلول‌پاشی نانونیتروژن و آمینواسید و همچنین توسعه سطح ریشه برای جذب نیتروژن از خاک اشاره نمود که موجب بالا رفتن میزان نیتروژن گیاه شده است.

شکل ۱۰ همچنین نشان می‌دهد که در تیمارهای ترکیبی دیگر و مخصوصا در تیمار «نانونیتروژن-۳، آمینواسید-۳، اوره-۱۰۰» که سطح بالای هر سه کود اعمال شده است، مقدار نیتروژن اندام هوایی گیاه دارویی سرخارگل کاهش شدیدی داشته است. با بررسی وزن خشک اندام هوایی گیاهان در تیمارهای مختلف مشخص شد که در حضور تیمارهای نیتروژنی، وزن خشک گیاه افزایش می‌یابد و تیمار ذکر شده «نانونیتروژن-۳، آمینواسید-۳، اوره-۱۰۰»، جزء تیمارهایی با وزن خشک بالا قرار دارد. بنابراین، احتمالا اثر رقت در کاهش مقدار نیتروژن اندام هوایی در این تیمار دخیل بوده است (Farzaneh et al., 2010).



شکل ۱۰- نتایج مقایسه میانگین اثر تیمارهای اوره، نانونیتروژن و آمینواسید بر محتوای نیتروژن‌کل در اندام‌هوایی گیاه سرخارگل

Figure 10 –Results of mean difference by effects of urea, nano-nitrogen and amino acid on total nitrogen content in aerial parts of purple coneflower

نتیجه‌گیری کلی و پیشنهادها

نتایج بررسی ترکیبات پلی‌فنولی گیاه دارویی سرخارگل نشان دادند که به‌طورکلی استفاده از کودهای نیتروژنه در فرم‌های مختلف، می‌تواند با تأمین نیتروژن گیاه، ترکیبات پلی‌فنولی را افزایش دهند. به دلیل متفاوت بودن مسیر بیوسنتزی ترکیبات پلی‌فنولی مختلف در گیاه سرخارگل،

نمی‌توان یک منبع نیتروژنه با مقدار بهینه را برای همه ترکیبات پلی‌فنولی توصیه کرد. اما از آنجا که ترکیب اسید کوماریک (comaric acid) بیشترین مقدار را در گیاه سرخارگل نشان داد و این ترکیب و ترکیبات اسید رزماریک (romaric acid)، اسید گالیک (Gallic acid)، روتین (rutin) و اسید کلروژنیک (chlorogenic acid) ترکیبات مهم و پرکاربردی هستند؛ تیمار «نانونیتروژن-۰، آمینواسید-۳، اوره-۲۰۰»که برای اسید کوماریک (comaric acid) و اسید رزماریک (romaric acid) بهینه بود و به مقدار اسید گالیک (Gallic acid)، روتین (rutin) و اسید کلروژنیک (chlorogenic acid) آسیب اساسی نرساند، به‌عنوان تیمار بهینه معرفی می‌شود. بنابراین، برای افزایش محتوای ترکیبات پلی‌فنولی مهم در گیاه سرخارگل، اعمال همزمان ۳ گرم بر لیتر آمینواسید به‌صورت محلول‌پاشی و ۲۰۰ کیلوگرم بر هکتار اوره به‌صورت کودآبیاری، بهترین تیمار است. با این کار خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره گیاه و به دنبال آن خواص دارویی آن بهبود می‌یابد. بررسی مقدار نیتروژن کل اندام هوایی گیاه سرخارگل، مشخص کرد که با افزایش سطوح کودهای نیتروژنه، غلظت نیتروژن در اندام هوایی گیاه افزایش می‌یابد. هر چقدر تغذیه نیتروژنی گیاه بهتر انجام گیرد، سنتز ترکیبات نیتروژنی در گیاه (اعم از متابولیت‌های اولیه و متابولیت‌های ثانویه) و به دنبال آن محتوای نیتروژن گیاه بیشتر می‌شود. البته اعمال مقادیر زیادی از کودهای نیتروژنه مختلف به‌صورت همزمان، علاوه بر اثر نامطلوب بر ترکیبات پلی‌فنولی، مقدار نیتروژن گیاه را کاهش داد.

منابع

Aly, A., Eliwa, N. And M.H. Abd El Megid. 2019. Improvement of growth, productivity and some chemical properties of hot pepper by foliar application of amino acids and yeast extract. Potravinarstvo Slovak Journal of Food Sciences, 13(1), pp.831-839.

Asadi Sanam, S., Mousavi, Sh., And M, Pejman Mehr. 2018. The effect of drought stress and nitric oxide treatments on the essential oil compositions of Echinacea purpurea L., 15th National Congress of Agricultural Sciences and Plant Breeding, September 13-15, pp. 1-5.

Ameri, A., Nasiri Mahallati, M., And P, Rezvani Moghadam. 2007. The effect of different amounts of nitrogen and plant density on flowers, essential oils and extracts and consumption efficiency (Calendula officinalis), Iranian Agricultural Research, No. 5, Pp. 315-325.

AOAC. 2000. Official Methods of Analysis. 17th ed. Arlington (VA): Association of official analytical chemists.

Bakhtiari, J., Maleki, M., And M, Rostami. 2017. The effect of iron, manganese and nitrogen nanofertilizers on some agronomic and physiological traits of different sesame cultivars (esamum indicum L). Plant Environmental Physiology, No. 48, pp. 24-12.

Bauer, R. 2000. Chemistry, pharmacology and clinical application of *Echinacea* products. In: G. Mazza and B.D. Oomah (eds.), *Herbs, Botanicals and Teas*. Technomic publishing Company, Inc.: Lancaster,Pennsylvania, USA. pp. 45-73.

Berti, M., Wilckens, R. and Fischer, S. 2002. Effect of harvest season, nitrogen, phosphorus and potassium on root yield, echinacoside and alkylamides in *Echinacea angustifolia* L. in Chile. Acta Horticulture. 576: 303-310.

Binns, S. E., J. Hudson., S. Merali., and J. T. Arnason. 2002. Antiviral activity of characterized extracts from *Echinacea* spp. (*Heliantheae: Asteraceae*) against herpes simplex virus (HSV-I). Planta Medica. 68: 780-783.

Chatterjee, S. K. 2002. Cultivation of Medicinal and Aromatic Plants in India a Commercial Approach. Proceeding an International Conference on MAP. Acta Horticulture (ISHS). 576: 191-202.

Chen, G. and X. Gao. 2002. Effect of partial replacement of nitrate by amino acid and urea on nitrate content of nonheading Chinese cabbage and lettuce in hydroponics (Chinese). Scientia Agricultura Sinica. 35: 187–191.

Cui, C., Q. Sun., J. Liu., Jiang., and W. Gu. 2006. Applications of Nanotechnology in Agrochemical Formulation, Perspectives, Challenges and Strategies. Institute of Environment and Sustainable Development in Agriculture. Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing, China, pp. 1-6.

Davoodifard, M., Hababi, D., And F, Davoodifard. 2012. Investigation of the effect of growth-promoting bacteria and foliar application of amino acids and silicic acid on some physiological traits of wheat Triticum aestivum under drought stress. Agriculture and Plant Breeding of Iran, No. 1, pp. 114-101.

El-Sayed, A. A., Shalaby, A. S., Hanafy, H. El. and Abd El-Razik, T. M. 2012. Effects of chemical fertilizers on growth and active constituents of *Echinacea paradoxa* L. plants. Journal of Horticultural Science and Ornamental Plants. 4.

Faten, S. A., A. M. Shaheen., A. A. Ahmed., and A. R. Mahmoud. 2010. Effect of foliar application of amino acids as antioxidant on growth, yield and characteristics of squash. Research Journal of Agriculture and Biological Science. 6(5): 583-588.

Farzaneh, N., Golchin, A., And K, Hashemi Majd. 2010. The effect of nitrogen and boron on the growth, yield and concentration of some nutrients in tomatoes, greenhouse science and technology, No. 1, pp. 19-28.

Fhatuwani, N. 2007. Mudau. Effects of Nitrogen, Phosphorus, and Potassium Nutrition on Total Polyphenol Content of Bush Tea *(Athrixia phylicoides L.)* Leaves in Shaded Nursery Environment. Hortscience. 42(2):334-338.

Ghavam, M., And P. Kiani Salmi. 2018. Ethnobotanical analysis of medicinal plants in Kashan, Natural Ecosystems of Iran, Volume 9, Number 2, pp. 125-103.

Hamzei, j., M. Babaei., S. Khorramdel. 2015. Effects of different irrigation regimes on fruit production, oil quality. water use efficiency and agronomic nitrogen use efficiency of pumpkin. Agroecology. 7 (1): 99-108.

Hassani, A., And M, Nourzadeh. 2016. The effect of ammonium nitrate and free amino acids on nitrate accumulation in red radish. Water and Soil Knowledge, No. 26, pp. 67-78.

Inala, A., and C. Tarakcioglua. 2001. Effects of nitrogen forms on growth, nitrate accumulation, membrane permeability, and nitrogen use efficiency of hydroponically grown bunch onion under Boron deficiency and toxicity. Journal of Plant Nutrial. 24: 1521-1534.

Jakopic, J., M. Colaric., R. Veberic., M. Hudina., A. Solar., and F. Stampar. 2007. How much do cultivar and preparation time influence on phenolics content in walnut liqueur?. Food Chemistry. 104(1):100-105.

Jeong, J. A., C. H. Wu., H. N. Murthy., E. J. Hahn., and K. Y. Paek. 2009. Application of an airlift bioreactor system for the production of adventitious root biomass and caffeic acid derivatives of Echinacea purpurea. Biotechnology and Bioprocess Engineering. 14: 91-98.

Kamar, M. E., and A. Omar. 1987. Effect of nitrogen levels and spraying with aminal-forte (amino acids salvation) on yield of cucumber and potatoes. The Journal Agricultural Science, Mansoura Univesity. 12(4), 900-907.

Khorramdel, S., P. Rezvani-Moghaddam., A. Amin-Ghafori. 2014. Evaluation of environmental impacts for wheat Agroecosystems of Iran by using Life Cycle Assessment methodology. Cereal Research. 4(1): 27-44 (In Persian).

Letchamo, W., L. V. Polydeonny., N. O. Gladisheva., T. J. Arnason., J. Livesey., and D. V. C. A. wang. 2002. Factor affecting *Echinaceae* quality. In: J. Janick and A.Whipkey, trends a new crops and new Uses.ASHS press, Alexandriia, VA, pp. 514-521.

Lin, S. D., J. M. Sung., and C. L. Chen. 2011. Effect of drying and storage conditions on caffeic acid derivatives and total phenolics of Echinacea Purpurea grown in Taiwan. Food Chemistry, 125:226-231.

Liu, R., and R. Lal. 2015. Potentials of engineered nanoparticles as fertilizers for increasing agronomic productions. Science of the Total Environment. 514: 131– 139.

Mehrabani, M., Z. Mahdavi Meymand., B. Khandanizadeh., and N. Hassan Abadi. 2014. Effect of different levels of nitrogen fertilizer and harvest time on the quantity and quality of essential oil and total phenol content in Satureja hortensis L. in Kerman province. Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants. 8(4): 1-11. in Persian with English abstract.

Momivand, H., Noshkam, A., Mohseni, A. and Babalar, M., 2015. The effect of nitrogen and calcium carbonate application on nitrate accumulation and yield of summer savory herb, Journal of Crop Production, No. 6, pp. 124 -109.

Millauskas, G., P. R. Venskutonis., and T. A. Van Beek. 2004. Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. Food Chemistry. 85:231-237.

Manafi, P., Zeinali, H., Sadeghi Shoaa, M., And R. Nasri. 2013. Investigation of the effect of nitrogen consumption and spacing of planting rows on morphological characteristics and medicinal composition of Echinacea purpurea L., Agricultural Research, Volume 5, pp. 310-299.

Mirjalili, M. H., P. Salehi., H. A. Naghdi Badi., and A. Sonboli. 2006. Volatile constituents of the flowerheads of three Echinacea species cultivated in Iran Flavour and Fragrance Journal. 21:355-358.

Mrozikiewicz, P. M., A. Bogacz., M. Karasiewicz., P. L. Mikolajczak., M. Ozarowski., A. Seremak-Mrozikiewicz., and E. Grzeskowiak. 2010. The effect of standardized *Echinacea purpurea* extract on rat cytochrome P450 expression level. Phytomedicine, 17(10): 830-833.

Nazaran, M. H. 2012. Chelate compounds. U.S. Patent 8, 288, 587.

Omid Beigi, R., 2013. Production and processing of medicinal plants. Astan Quds Razavi Publications, Volume 1, Page 347.

Percival, S. S. 2000. Use of *Echinacea* in medicine. Biochemical Pharmacology, 60, 155-158.

Perry, N. B., E. J. Burgess., and V. Glennie. 2001. Echinacea standardization: analytical methods for phenolic compounds and typical levels in medicinal species. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 49, 1702-1706.

Persson, J. and T. N. asholm. 2003. Regulation of amino acid uptake by carbon and nitrogen in Pinus sylvestris. Planta. 217: 309-315.

Reda, F., E. A. Abdel-Rahim., G. S. A. El-Baroty., and H. S. Ayad. 2005. Response of essential oils, phenolic components and polyphenol oxidase activity of Thyme (Thymus vulgaris, L.) to some bioregulators and vitamins. International Journal of Agriculture and Biology. 7(5): 735-739.

Rooster, D. E., Snyman, J. C., Smith, B.L., Fourie, P. F., De Villiers, A. E., Willers, P., and A. Schwarts. 1985. Tea cultivation in South Africa. Tea, 1:1-7.

Sadeghipour, A., And R, Monem. 2009. The effect of nitrogen and phosphorus deficiency stress on the percentage and yield of mung bean protein, Agricultural Research, No. 2, pp. 160-159.

Seal, T., 2016. Quantitative HPLC analysis of phenolic acids, flavonoids and ascorbic acid in four different solvent extracts of two wild edible leaves, Sonchus arvensis and Oenanthe linearis of North-Eastern region in India. Journal of Applied Pharmaceutical Science, 6(2), pp.157-166.

Thomsen, M. O., X. C. Frett., K. B. Christensen., L. P. Christensen., and K. Greven. 2012. Seasonal variations in the concentrations of lipophilic compounds and phenolic acids in the roots of Echinacea purpurea and Echinacea pallida. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 60: 12131-12141

Tsai, Y. L., S. Y. Chiou., K. C. Chan., J. M. Sung., and S. D. Lin. 2012. Caffeic acid derivatives, total phenols, antioxidant and antimutagenic activities of Echinacea purpurea flower extracts. LWT-Food Science and Technology. 46(1): 169-176.

Tsouvaltzis, P., A. Koukounaras., and A. S. Siomos. 2014. Application of amino acids improves lettuce crop uniformity and inhibits nitrate accumulation induced by the supplemental inorganic nitrogen fertilization. Int. Journal Agriculture Biology. 16: 951–955.

Wang, Z., and L. Shengxiu. 2004. Effects of Nitrogen and Phosphorus Fertilization on Plant Growth and Nitrate Accumulation in Vegetables, Journal of Plant Nutrial. 27:539-556.

Zabarjadi, A., Motamedi, M. J., Taravat, A., And A, Ismaili. 2013. Micropropagation of Echinacea using cotyledon and hypocotyl components. Journal of Plant Research, Volume 26, Number 3, pp. 311-319.

Zare Abyaneh, H., And M, Bayat Varkashi. 2015. The effect of urea and nitrogen nitrogen fertilizers on nitrate leaching and its distribution in soil and potato plant. Water and Soil Knowledge, No. 1, pp. 40-25.

Zeinali, H., Safaei, L., Manafi, P., And S, Dovazdeh Emami. 2018. Evaluation of root, shoot and chlorogenic yield of Echinacea purpurea L. under different amounts of nitrogen fertilizer and planting density. Plant production technology. No. 2, pp. 143-135.