

تأثیر سطوح مختلف نیتروژن بر عملکرد و غلظت آلكالوئیدهای وینبلاستین و وینکریستین در گیاه پروانش (*Catharanthus roseus* G. Don)

زیبا غلامحسین پور^{۱*}، خدایار همتی^۱، حمید رضا دورودیان^۲، عظیم قاسم نژاد^۱ و علی شرفی^۳

^۱ گرگان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گروه باغبانی

^۲ لاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی، گروه زراعت و اصلاح نباتات

^۳ تهران، پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری

تاریخ دریافت: ۸۹/۱۰/۶ تاریخ پذیرش: ۹۰/۵/۸

چکیده

پروانش با داشتن دو ماده ارزشمند به نامهای وینبلاستین و وینکریستین در برگها با اثر آنتی نیوپلازی (ضد تومور) از گیاهان مهم دارویی به شمار می‌رود. با توجه به ارزش بالای آلكالوئیدهای وینبلاستین و وینکریستین در صنایع دارویی، هر گونه افزایشی در مقدار این آلكالوئید در گیاه می‌تواند از جنبه اقتصادی پر ارزش باشد. این تحقیق در قالب طرح بلوکهای کامل تصادفی در چهار سطح کود نیتروژن (۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰)، در چهار تکرار در سال ۸۷ در شهر کرج انجام شد. متغیرهای اندازه‌گیری شده شامل عملکرد اندام هوایی و سرشاخه‌ها، غلظت و عملکرد آلكالوئید وینکریستین و وینبلاستین بودند. نتایج آزمایش نشان داد که عملکرد اندام هوایی با افزایش تیمار نیتروژن تا غلظت ۲۰۰ کیلوگرم در هکتار نسبت به شاهد افزایش یافته و عملکرد سرشاخه-ها در تیمارهای مختلف معنی‌دار نبود. بیشترین غلظت و عملکرد آلكالوئید وینکریستین در شاهد و بیشترین غلظت و عملکرد آلكالوئید وینبلاستین در تیمار ۲۰۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن اندازه‌گیری شدند. در تیمار ۲۰۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار وینکریستین در برگ اندازه‌گیری نشد.

واژه‌های کلیدی: پروانش، نیتروژن، عملکرد، وینبلاستین، وینکریستین

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۱۷۱-۴۴۲۰۹۸۱، پست الکترونیکی: Ziba_hossienpour@yahoo.com

مقدمه

امروزه علی‌رغم پیشرفتهای زیاد در زمینه سنتز ترکیبات دارویی، این آلكالوئیدها هنوز از طریق استخراج گیاه پروانش به دست می‌آید (۲۰).

یکی از نیازهای مهم در برنامه ریزی زراعی به منظور حصول عملکرد بالا و با کیفیت مطلوب مخصوصاً در مورد گیاهان دارویی، ارزیابی سیستمهای مختلف تغذیه گیاه است (۳، ۴ و ۹). تحقیقات گذشته نشان داده است که شرایط محیطی مناسب مانند تغذیه، آبیاری و زمان برداشت می‌تواند در میزان افزایش آلكالوئیدها مؤثر باشد (۴ و

پروانش یکی از گیاهان دارویی مهم با نام علمی (*Catharanthus roseus* G. Don) از خانواده خرزهره (Apocynaceae) می‌باشد (شکل ۱). این گیاه دارای ترکیبات آلكالوئیدی وینبلاستین و وینکریستین است، که از داروهای مهم مورد مصرف در شیمی درمانی انواع مختلف سرطان، خصوصاً بیماریهای هوچکین، لنفوم و لوسمی می‌باشد (۷ و ۱۰). وینبلاستین و وینکریستین دو آلكالوئید ایندول از نوع دیمری هستند که جزء با ارزش‌ترین آلكالوئیدهای پروانش بوده و تنها در یک گروه متیل یا فرمیل در بخشی از ویندولین باهم متفاوت هستند (۲).

با توجه به ارزش بالای آلکالوئیدهای وینبلاستین و وینکریستین در درمان بیماری‌های سرطانی و اینکه تنها راه تهیه این دارو استخراج از گیاه پروانش بوده، هر گونه افزایشی در مقدار درصد این آلکالوئید در گیاه می‌تواند از جنبه اقتصادی ارزش زیادی داشته باشد (۲) به طوری که ارزش هر گرم آلکالوئید وینکریستین و وینبلاستین در سال ۲۰۰۹، توسط هیجدن و همکاران به ترتیب در حدود ۱۳۵/۵ و ۲۸/۹ یورو گزارش شده است (۱۴).

تاکنون علاقه اصلی در پرورش گیاهان دارویی همانند گیاهان دیگر به کارگیری اعمال زراعی مانند تغذیه و آبیاری جهت افزایش محصول بوده است و اطلاعات کمی در مورد تأثیر تغذیه گیاهی بر متابولیت‌های ثانویه وجود دارد (۱۷). بنابراین هدف از تحقیق حاضر بررسی تأثیر سطوح مختلف نیتروژن بر میزان عملکرد اندام هوایی و غلظت و عملکرد آلکالوئیدهای وینبلاستین و وینکریستین در گیاه پروانش در منطقه کرج می‌باشد.

مواد و روشها

این تحقیق در قالب طرح بلوکهای کامل تصادفی در چهار تکرار در مزرعه پژوهشی مؤسسه تحقیقاتی تمار در ۵ کیلومتر ۵ جاده مخصوص کرج انجام شد. بذور با کولتیوار (G. Don) در ۲ فروردین ماه به صورت نشایی و با استفاده از کیسه‌های پلاستیکی نشاء کشت شد. پس از آماده سازی اولیه مزرعه و تصادفی نمودن تیمارها، کود محاسبه شده برای هر کرت به دقت توزین و به هر کرت اضافه گردید و به خوبی با خاک مخلوط شد. در این آزمایش ۴۰ کیلوگرم در هکتار کود سوپر فسفات تریپل و ۳۰ کیلوگرم در هکتار کود سولفات پتاسیم قبل از انتقال نشاءها به زمین داده شد. کود نیتروژن در چهار سطح ۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ کیلوگرم نیتروژن خالص در هکتار از منبع اوره در چهار مرحله، مرحله اول قبل از انتقال نشاءها و ۳ مرحله بعدی، به صورت سرک بعد از انتقال نشاءها به زمین داده شد. نشاءها در زمان ۴-۶ برگی در فواصل ۵۰×۳۰ سانتیمتر در

(۱). کاربرد صحیح و مناسب عناصر و مواد غذایی در طول مراحل کاشت، داشت و برداشت گیاهان دارویی، نه تنها نقش عمده‌ای در افزایش عملکرد دارد، بلکه در کمیت و کیفیت مواد مؤثره آنها نیز تأثیر دارد. نیتروژن عنصری ضروری و اساسی برای گیاهان محسوب می‌گردد، که به نوعی باعث افزایش آلکالوئیدهای وینبلاستین و وینکریستین می‌شود.

نیتروژن به صورت اوره، نترات و آمونیوم به خاک اضافه می‌شود و با عناصری نظیر کربن، اکسیژن، هیدروژن و حتی گوگرد ترکیب شده و مواد بسیار ارزشمندی نظیر آمینواسیدها، نوکلئیک اسیدها، آلکالوئیدها و بازهای پورینی را تولید می‌نماید (۲۵). مقادیر مختلف کودهای نیتروژن در شرایط اکولوژیکی متفاوت آثار گوناگون بر عملکردهای رویشی گیاهان می‌گذارد (۹ و ۱۱). با افزایش مقدار نیتروژن در دسترس، غلظت آلکالوئید کل گیاه نیز افزایش می‌یابد (۷ و ۱۰). تمام منابع، معنی‌دار بودن اثر ذخایر نیتروژن را بر روی عملکرد وزن تر و خشک در گیاه پروانش ثابت کرده‌اند، ولی پیشنهادهای ارائه شده بسته به شرایط مختلف در دزهای متفاوت است. این مقدار در منابع مختلف از ۵۰ کیلوگرم در هکتار (۱۸) و ۱۰۰-۸۰ کیلوگرم در هکتار (۱۹) تا ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار (۲۶) گزارش شده است. بیشترین غلظت عملکرد در ۳ ژنوتیپ گیاه پروانش NEU1-7, NEU24-17, Nirmal در ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار به دست آمد (۲۷).



شکل ۱- گیاه پروانش

pH آن را به ۷/۵ رسانده و سپس ۷۰۰ cc متانول به آن اضافه شد و خوب مخلوط گردیده و فاز متحرک برای سیستم HPLC آماده شد. نمونه‌ها در طول موج ۲۹۷ نانومتر قرائت شدند و نرم افزار تراسر اکسل ۱۲۰ برای مدیریت داده‌ها استفاده شد.

جهت تهیه نمونه استاندارد، ۱ گرم از سولفات وینبلاستین و ۱۰ گرم از سولفات وینکریستین در ۱۰ میلی لیتر آب حل کرده و در این مرحله نمونه استاندارد آماده تزریق به دستگاه HPLC می‌گردد. طبق نمونه‌های استاندارد، پیک وینکریستین و وینبلاستین به ترتیب در دقیقه ۱۰/۷۸۱ و ۱۴/۷۹۶ در طول موج ۲۹۷ مشاهده گردید.

عملکرد آلکالوئیدها از حاصل ضرب بین غلظت آلکالوئیدها (درصد) در وزن خشک سرشاخه‌ها (گرم در مترمربع) به دست آمده.

نتایج حاصل با استفاده از نرم افزار SAS و آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و نمودارها با نرم افزار Excel ترسیم گردید.

نتایج

الف- عملکرد اندام هوایی: نتایج آزمایش نشان داد که اثر سطوح مختلف نیتروژن بر عملکرد محصول پروانش در سطح ۵ درصد معنی دار است و کاربرد نیتروژن تأثیر مثبت بر عملکرد اندام هوایی دارد. به طوری که بیشترین و کمترین عملکرد وزن خشک اندام هوایی به ترتیب در ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار (۱۱۱ گرم در متر مربع) و شاهد (۵۸/۷۶ گرم در متر مربع) مشاهده شد، اما بین شاهد و دو سطح دیگر اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۱).

ب- عملکرد سرشاخه‌ها: اندازه‌گیری عملکرد سرشاخه‌ها نشان داد که اثر تیمار نیتروژن بر صفت یاد شده در سطح ۵ درصد معنی دار نبود (جدول ۱).

کرته‌ها کشت شدند. در هر کرت ۴ ردیف و در هر ردیف ۶ بوته قرار داشت. پس از انتقال نشاها، آبیاری در حد نیاز انجام شد. قبل از انتقال نشاها، خاک محل آزمایش تجزیه و خصیوصیات شیمیایی و فیزیکی مورد نیاز آن مورد بررسی قرار گرفت. بافت خاک از نوع لومی رسی و $pH=8/2$ ، نیتروژن کل ۰/۰۵٪ و فسفر قابل جذب ۷/۴ ppm و پتاسیم قابل جذب ۴۸۰ ppm بود. در اواخر شهریور در زمان (Full bloom) نمونه‌برداری به منظور اندازه‌گیری عملکرد آلکالوئیدهای وینبلاستین و وینکریستین از بوته‌های ردیف‌های وسط هر کرت انجام گردید و وزن نمونه‌های برداشت شده با ترازوی دیجیتال اندازه‌گیری و سپس به مدت یک هفته در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد خشک گردید و جهت آزمایش‌های بعدی آماده شدند.

جهت استخراج آلکالوئیدهای وینبلاستین و وینکریستین، دو گرم پودر خشک گیاه پروانش با متانول خالص به مدت ۶ ساعت رفلکس گردید و عصاره به دست آمده تبخیر و سپس در آب و اسیدکلریدریک و کلروفرم حل شد و سپس با استفاده از دکانتور، فاز کلروفرمی که حاوی چربیها، تریپنوئیدها و رنگیزها بود حذف گردید. پس از این مرحله با استفاده از هیدروکسید آمونیوم، pH فاز اسیدی به ۱۱ رسید و در نهایت با حلال کلروفرم آلکالوئیدهای مورد نظر جدا گردیدند. عصاره به دست آمده تبخیر شد و ته مانده این مرحله در متانول مخصوص HPLC حل شد و در نهایت نمونه آماده تزریق به دستگاه شد.

برای اندازه‌گیری غلظت آلکالوئیدهای وینبلاستین و وینکریستین با استفاده از روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) و براساس روش توصیه شده از فارماکوپه بریتیش انجام گردید (۱۲). در این تحقیق دستگاه (HPLC) از نوع واریان، مدل پرو استار مجهز به ستون C_{18} با قطر ۰/۴۶ × ۲۵ سانتیمتر بود. فاز متحرک در این آزمایش تشکیل شده از ۴/۵ cc دی اتیل آمین که توسط آب به حجم ۳۰۰ cc رسانده شد و با فسفریک اسید غلیظ،

طوری که بیشترین غلظت آلکالوئید وینبلاستین در سطوح ۱۵۰ و ۲۰۰ کیلوگرم در هکتار (۰,۰۱۸ درصد) و کمترین غلظت آلکالوئید در شاهد (۰,۰۲۴ درصد) مشاهده شد.

پ- **غلظت آلکالوئید وینبلاستین:** آنالیز نتایج به دست آمده نشان داد که سطوح مختلف کودی بر درصد وینبلاستین نمونه‌ها تأثیر معنی‌داری داشته (جدول ۱)، به

جدول ۱- تأثیر مقادیر مختلف تیمار نیتروژن بر عملکرد اندام هوایی و سرشاخه، درصد و عملکرد آلکالوئیدهای وینبلاستین و وینکریستین

تیمار	وزن خشک پیکر	وزن خشک	درصد آلکالوئید	درصد آلکالوئید	عملکرد آلکالوئید	عملکرد آلکالوئید
کودی N	رویشی	سرشاخه	وینبلاستین	وینکریستین	وینبلاستین	وینکریستین
Kg/h	g/m ²	g/m ²	%	%	Mg/m ²	Mg/m ²
۰	۵۸,۷۶B	11.37A	0.0024B	0.098A	0.02B	1.11A
۱۰۰	۱۱۱A	15.6A	0.0028B	0.05B	0.04B	0.78B
۱۵۰	۷۰.۴۳B	12.59A	0.018A	0.043B	0.22A	0.54B
۲۰۰	۷۰B	13.2A	0.018A	0C	0.23A	0C

گروه بندی میانگینها براساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد.

د- **عملکرد آلکالوئید وینکریستین:** آنالیز نتایج به دست آمده نشان داد که سطوح مختلف کودی بر عملکرد وینکریستین نمونه‌ها تأثیر معنی‌داری داشته به صورتی که کمترین عملکرد وینکریستین مربوط به تیمار ۲۰۰ کیلوگرم در هکتار و برابر ۰ و بیشترین غلظت آن برابر ۱,۱۱ میلی گرم در مترمربع مربوط به تیمار شاهد است.

ت- **غلظت آلکالوئید وینکریستین:** نتایج آزمایش نشان داد که اثر سطوح مختلف نیتروژن بر غلظت آلکالوئید وینکریستین در سطح ۵ درصد معنی دار است (جدول ۱). بیشترین و کمترین غلظت آلکالوئید وینکریستین به ترتیب در شاهد برابر ۰,۰۹۸ درصد و تیمار ۲۰۰ کیلوگرم در هکتار برابر صفر است.

نتایج همچنین نشان می‌دهد که تمام تیمارهای کودی باعث کاهش غلظت وینکریستین شده‌اند.

ج- **عملکرد آلکالوئید وینبلاستین:** بررسی عملکرد آلکالوئید وینبلاستین در سرشاخه‌های محصول برداشت شده در تیمارهای مختلف کودی نشان داد که سطوح مختلف نیتروژن بر عملکرد وینبلاستین گیاه پروانش تأثیر معنی‌داری داشت (جدول ۱). کمترین عملکرد وینبلاستین در سرشاخه‌های نمونه‌های شاهد وجود داشت (۰,۰۲ میلی گرم در مترمربع) و بیشترین عملکرد وینبلاستین برابر ۰,۲۳ میلی گرم در مترمربع و مربوط به تیمار ۲۰۰ کیلوگرم در هکتار بود. نتایج همچنین نشان می‌دهد که تمام تیمارهای کودی باعث افزایش غلظت وینبلاستین شده‌اند.

بحث

اگرچه تولید متابولیت‌های ثانویه تحت کنترل ژن‌ها هستند، ولی غلظت آنها در گیاه به طور قابل توجهی تحت تأثیر شرایط محیطی قرار می‌گیرد، که از جمله مهم ترین این عوامل خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک و عناصر غذایی کم مصرف و پرمصرف هستند (۲۴). تحقیقات قبلی نشان داده است که عملیات زراعی مانند تغذیه غالباً به طور

در سرشاخه‌ها افزایش می‌یابد، در حالی که درصد آلکالوئید وینکریستین در سرشاخه‌ها کاهش می‌یابد.

نتایج حاصل بر عملکرد آلکالوئیدهای در واحد سطح نشان داد که با مصرف کودهای نیتروژنه، عملکرد آلکالوئید وینبلاستین افزایش و آلکالوئید وینکریستین کاهش پیدا کرد، با توجه به اینکه وینکریستین در گیاه از وینبلاستین ساخته می‌شود افزایش آن همراه با کاهش وینبلاستین خواهد بود (۱۶ و ۲۳). طبق نتایج به دست آمده می‌توان بیان کرد که تیمار ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار از نظر اینکه به نسبت مناسب سبب افزایش هر دو آلکالوئید وینبلاستین و وینکریستین می‌شود، بهترین تیمار برای عملکرد این دو آلکالوئید است. بیشتر تحقیقات انجام شده بر اساس آلکالوئید کل پروانش است و گزارش در مورد تأثیر عناصر ماکرو بر آلکالوئیدهای وینبلاستین و وینکریستین بسیار کم است در نتیجه نیاز به تحقیقات جامع‌تری است. لاتا و همکاران (۲۱) و واسکی و همکاران (۲۸) گزارش کردند ترکیبات نیتروژن دار بیشترین اثر را در افزایش ماده خشک در برگها و ریشه‌ها داشته، که این روند رابطه مستقیم با فتوسنتز و غلظت جذب نیتروژن دارد که با افزایش آنها نیتروژن کل در گیاه افزایش می‌یابد و در نتیجه سنتز آلکالوئیدها بیشتر شده و در نهایت وینبلاستین و وینکریستین افزایش می‌یابد و همچنین تحقیقات انجام شده در گیاهان آلکالوئید داری چون تاتوره، بلادون و تاجریزی نیز نشان داد که مصرف کود نیتروژنه بر مقدار آلکالوئید آنها تأثیر می‌گذارد (۸، ۱۰، ۱۳ و ۱۵).

غیرمستقیم بر متابولیت‌های ثانویه مؤثر هستند (مانند تأثیر تغذیه بر اسانسها و گلیکوزیدها) و به ندرت این عوامل به طور مستقیم عمل می‌نمایند (مانند تأثیر تغذیه نیتروژن بر آلکالوئیدها) (۱۷). نتایج به دست آمده در این آزمایش، مشخص گردید که افزودن کود نیتروژن دار سبب افزایش عملکرد اندام هوایی می‌شود که این نتایج با گزارشات سریوالی و همکاران (۲۷) و حسینیان (۵) و لاتا و همکاران (۲۲) همخوانی دارد و با توجه به ساختار مولکولی آلکالوئیدها که حاوی نیتروژن است، طبق تحقیقات انجام شده به این نتیجه رسیدند نیتروژن باعث افزایش در غلظت آلکالوئیدهای تولید شده در گیاه پروانش می‌گردد (۶). نتایج این آزمایش نشان داد که با افزایش کودهای نیتروژنه عملکرد سرشاخه‌ها نسبت به شاهد افزایش ولی تأثیر معنی داری نداشته‌اند. حسینیان (۵) نیز در بررسی اثر سطوح مختلف نیتروژن در خاکهای شنی بر گیاه پروانش اختلاف معنی داری را در عملکرد وزن خشک برگ مشاهده نکردند.

با توجه به اینکه در گیاه پروانش، سرشاخه‌ها از مهم‌ترین اندامهای حاوی وینبلاستین و وینکریستین هستند، عملکرد آلکالوئیدها در این بخش از گیاه معیار بهتری نسبت به عملکرد کل گیاه می‌باشد (۱). به همین منظور در این تحقیق میزان آلکالوئیدهای وینبلاستین و وینکریستین سرشاخه‌های گیاه پروانش اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که، با افزایش سطوح نیتروژن، درصد آلکالوئید وینبلاستین

منابع

۱. امیدبگی، ر. ۱۳۸۴. تولید و فرآوری گیاهان دارویی. انتشارات آستان قدس رضوی، جلد دوم، ص ۱۴۹.
۲. سجادی، ا. ۱۳۷۹. مقایسه چهل و سه کولتوار گیاه پروانش از نظر مقدار آلکالوئید ضد سرطان وینبلاستین. پژوهش در علوم پزشکی. سال پنجم. پیوست دوم.
۳. حسن زاده قورت تپه، ع. ، قلاوند، م. ، احمدی و میرنیا. خ. ، ۱۳۸۰. بررسی تأثیر کودهای شیمیایی، آلی و تلفیقی به خصوصیات کمی و کیفی ارقام آفتابگردان در استان آذربایجان غربی. مجله علوم کشاورزی دانشگاه گرگان، ۱۰۴-۸۵.
۴. رضائی نژاد، ی. ، افیونی، م. ، ۱۳۷۹. اثر مواد آلی بر خواص شیمیایی خاک، جذب عناصر به وسیله ذرت و عملکرد آن. مجله

۵. حسینیان، ف. ، ۱۳۸۱. بررسی تاثیر تغذیه نیتروژن بر آلکالوئیدهای گیاه پروانش. پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه گرگان.
6. Abdolzadeh, A., F. Hosseinian, M. Aghdasi and H. Sadgipoor, 2006. Effect of nitrogen sources and levels on growth and alkaloid content of periwinkle. *Asian J. Plant Sci.*, 5(2): 271-276.
7. Afridi, M. M. R. K. , Afaq Wasiuddin, S. H. , Khalique, A. , 1977. Effect of different levels of nitrogen on growth and alkaloid content of *Datura innoxia* L. *Ind. J. Pharm.* 6, 165-166.
8. American Society of Health-System Pharmacists. , 2004a. Hyaluronidase injection. Retrieved March 3, 2004. <http://www.ashp.org/shortage/>
9. Balkcom, K. S. and Monks, C. D. , 2007. Nitrogen plant growth regulator rates on Cotton yield and fiber quality. *Cotton Research and Extension Report*, 32: 21-22.
10. Bernath, J. , 1986. Production ecology of secondary plant products, *Recent advances in botang, Horticulture and Pharmacology*, 1: 435-443.
11. Bowman, W. D. , Bahn, L. and Damm, M. , 2003. Alpine landscape variation in foliar nitrogen and phosphorus concentrations and the relation to soil nitrogen and phosphorus availability. *Arctic, Antarctic and Alpine Research*, 35(2): 144-149.
12. British pharmacopoeia 2008.
13. Brussaard, L. , Ferrera – Cerrato, R. , 1997. soil ecology in sustainable agricultural systems. New York : Lewis Publishers, U. S. A. , 168.
14. Company sigma. , 2009. <http://www.sigmaldrich.com>.
15. D emeryer, K. , Dejaegere, R. , 1989. Influence of the ion-balance in the growth medium on the yield and alkaloid content of *Datura stramonium* L. *Plant Soil* 114, 289-294.
16. De Luca, V. Laflamme, P. 2001. *Cun Opin Plant Biol.* 4, 225.
17. Farnaz, Ch. , 1983. Nutrient and water management for medicinal and aromatic plants. *Acta Horticulturae.* no. 132: 203-215.
18. Gupta. R. , 1977. Periwinkle-produces anticancer drug. *Indian farming.* 7: 11-13
19. Hegde. DM. ,1986. Effect of level and time of nitrogen application on growth and productivity of periwinkle, *Catharanthus roseus*. *Herba Hung* 25: 107-114.
20. Lata. B. , 2007. Cultivation, mineral nutrition and seed production of *Catharanthus roseus* (L.) G. Don in the temperate climate zone. *Phytochem Rev.* 6: 403 – 41
21. Lata. B. , Sadowska. A. , 1996a. Effect of nitrogen level in the substrate on yield and alkaloid concentration in *Catharanthus roseus* L. (G.) Don. *Folia Hort* 8(2): 59-69.
22. Lata. B. , Sadowska. A. , 1996b. Effect of N,P,K and Zn foliar fertilization on the yield of *Catharanthus roseus* L. (G.) Don. *Folia Hort* 8(2): 51-58.
23. Morgan, J.A. Shanks, J.V. , 1999. *Phytochemistry.* 51-61.
24. Palevitch, D. 1987. Nutrient and water management for medicinal and aromatic plants. *Acta Horticulturae.* No. 132: 203-215.
25. Salisbury. F. B. , and Ross. C. W. , 1991. *Plant physiology.* Fourth edition, Wadsworth Publishing Company, Belmont, California, USA, 682.
26. Shylaja. MR. , Sankar. MA. , Nair. GS. , Mercy. KA. , 1996. Response of *Catharanthus roseus* L. (G. Don) to nitrogen phosphorus and potassium fertilization *Indian Cocoa Arecanut Spices J* 20(3): 83-88.
27. Sreevalli. Y. , Kulkarni. R. N. , Baskaran. K. , and Chandrashekara. R. S. , 2003. Increasing the content of leaf and root alkaloids of high alkaloids content mutants of periwinkle through nitrogen fertilization. *Industrial Crops and products.* 19: 191-195.
28. Vasuki. KPS. , Rao. KVN. , 1980. Effect of micronutrients and their interactions on growth and alkaloid production in *Catharanthus roseus* L. (G.) Don, (*proo Indian Aead. Acad. Aci.*) *Plant Sci* 89: 197-201.

Effect of diferent levels of N fertilization on Yield and Amount of Alkaloids vincristine and vinblastine in Periwinkle (*Cataharanthus roseus* L.G.Don)

Gholamhosseinpour Z.¹, Hemati Kh.¹, Dorodian H.R.², Ghasem Nezhad A.¹ and Sharafi A.³

¹Horticulture Dept., Faculty of Agriculture, Gorgan University of Agricultural Sciences, Gorgan, I.R. of Iran

²Faculty of Agriculture, Islamic Azad University of Lahijan, Lahijan, I.R. of Iran

³National Institute of Genetic Engineering and Biotechnology, Tehran, I.R. of Iran

Abstract

Periwinkle (*Catharanthus roseus* (L.) G. Don), a medicinal plant, which economically is highly valued because of its anti-cancer lalkaloids of vincristine and vinblastine. Since the availability of nitrogen (N) is expected to play an important role in the biosynthesis and accumulation of alkaloids in plants, the effect of N fertilization on the content of alkaloids of periwinkle was studied. the four levels of 0, 100, 150, 200 kg/ha N fertilization in a bulok completely randomized design with three replications. N fertilization significantly increased the content of alkaloids in leaves. This study showed that by increasing N fertilization dry weight increased. The highest level of alkaloid vincristine was in the 0 kg/ha of N fertilization and the highest level alkaloid vinblastine was in the 200 kg/ha of N fertilization.

Keywords: vinca, nitrogen, vinblastine, vincristine, dry weight