

***Papaver pseudo-orientale* Medw. بیوشیمیایی جمعیت های**

در شمال غرب ایران^۱

Morphological and Biochemical Diversity among Different Populations of *Papaver pseudo-orientale* Medw. in the Northwest of Iran

عبدالرضا نعمت الهی، فاطمه رؤف فرد*، محمد جمال سحرخیز*، احمدرضا خسروی، غلامرضا کاووسی،
اکبر کرمی^۲

چکیده

گونه‌ی خشخاش *Papaver pseudo-orientale* Medw. گیاهی شش‌گان، دارای ۴۲ کروموزوم و از تیره خشخاش است که در شمال غربی ایران و بخش شرقی ترکیه یافت می‌شود. در پژوهش حاضر، سه جمعیت از این گونه از سه رویشگاه (سولیک، گلشیخان و قطور) در استان آذربایجان غربی جمع‌آوری شدند و ویژگی‌های ریختی، محتوای اسیدهای آمینه، اسیدهای چرب و تبائین آن‌ها مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج نشان داد که در درون هر سه جمعیت، طول دم‌برگ دارای بیشترین تنوع بود. همچنین، ویژگی‌های فاصله میان دو لوب برگ و طول دم‌برگ دارای بیشترین ضریب گوناگونی میان جمعیت‌ها بودند. در هر سه جمعیت، کپسول در مقایسه با سایر اندام‌های مورد مطالعه، بالاترین مقدار تبائین را به خود اختصاص داد و جمعیت گلشیخان بیشترین مقدار تبائین در کپسول را داشت. همچنین، جمعیت گلشیخان از لحاظ داشتن مقدار تبائین در ریشه خود نسبت به دو جمعیت دیگر برتری داشت. بیشترین مقدار کل اسید آمینه‌های اندازه‌گیری شده در ساقه و برگ به ترتیب در جمعیت گلشیخان و جمعیت سولیک مشاهده شد. نتایج این پژوهش می‌تواند برای برنامه‌های اصلاحی این گونه ارزشمند به کار برده شده و در راستای اهلی‌سازی این گیاه آلکالوئیددار مورد استفاده قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: *Papver pseudo-orientale*، مورفولوژی، تبائین، اسیدهای آمینه، تنوع.

مقدمه

پراکنش گونه‌های مختلف تیره خشخاش (Papaveraceae) در کره زمین گسترده بوده و نیمکره شمالی محل پراکنش طبیعی گونه‌های این تیره است (۲۵). گونه‌های این تیره به احتمال زیاد بومی جنوب غرب آسیا می‌باشند، اما امروزه در مناطق گرمسیری و اروپا نیز مشاهده می‌شوند و در کشورهایمانند ایران، چین، هند، ژاپن و ترکیه به عنوان گیاه دارویی کشت می‌گردند (۵). جنس خشخاش^۳ متعلق به کلاس Angiosperms، کلاس Eudicots، راسته Rununculales و تیره Papaveraceae می‌باشد و دارای ۱۱ زیرجنس است (۱۹). این جنس در ایران حدود ۲۸ گونه گیاه علفی یکساله تا چندساله دارد (۲۸). گزارش شده است که

تاریخ: ۱۴۰۰/۱۰/۲۸

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۵/۲۹

۲- به ترتیب دانشجوی دکتری و استادیار بخش علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، استاد بخش علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز و مرکز تحقیقات فرآوری گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، استاد بخش زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شیراز، استاد پژوهشکده بیوتکنولوژی و دانشیار بخش علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران.

* نویسنده‌گان مسئول، پست الکترونیک: (froufard@shirazu.ac.ir and saharhiz@shirazu.ac.ir).

۳- *Papaver*

تلاقی میان خشخاش شرقی^۱ (خودچهارگان) و خشخاش ایرانی^۲ (دوگان)، باعث به وجود آمدن گونه‌ای سه‌گان شده است که با دو برابر شدن کروموزوم‌های آن، گونه *Papaver pseudo-orientale* Medw حاصل شده است. این گونه شش‌گان بوده و دارای ۴۲ کروموزوم ($2n=6x=42$) می‌باشد (۱۳). گونه *P. pseudo-orientale* در شمال غربی ایران و سراسر بخش شرقی ترکیه وجود دارد و بیشتر در مناطق مرطوب در ارتفاع‌های بین ۱۵۰۰ تا ۲۰۰۰ متر یافت می‌شود (۱۵). برگ‌های این گونه در بخش میانی ساقه قرار گرفته‌اند، گلبرگ‌ها به رنگ قرمز مایل به نارنجی دیده می‌شوند و گل‌ها اغلب دارای برگ‌ها هستند. آلکالوئیدهای تبائین^۳، ایزوتبائین^۴، مکرانتالین^۵، اورنیتالیدین^۶ و سلوتاریدین^۷ به عنوان آلکالوئیدهای مهم این گونه گزارش شده‌اند که ویژگی‌های درمانی متعددی از جمله تسکین درد و آرام بخشی دارند (۳۲).

آلکالوئیدها دسته‌ای از متابولیت‌های ثانویه‌اند که در گونه‌های مختلف جنس خشخاش وجود دارند؛ به طوری که در ۱۱۰ گونه این جنس بیش از ۱۷۰ نوع آلکالوئید شناخته شده است. آلکالوئیدهای مرفین^۸، کدئین^۹، نوسکاپین^{۱۰}، تبائین^{۱۱}، پاپاورین^{۱۲} و نارسئین^{۱۳} فراوان‌ترین آن‌ها هستند (۱۸). اگرچه تولید آلکالوئیدها در کنترل ژن‌ها می‌باشد، اما مقدار آن‌ها تا حد زیادی زیر تاثیر شرایط محیطی است (۲۳). ویژگی‌های اقلیمی، تغییرهای فصلی، نور، دما، رطوبت و حاصلخیزی خاک می‌توانند ترکیب‌های ثانویه گیاهان را زیر تاثیر قرار دهند (۳۸). نتایج پژوهش‌های مختلف نشان می‌دهد که شرایط رویشگاهی بر کمیت و کیفیت متابولیت‌های ثانویه گیاهان اثر می‌گذارد (۱۰). از این رو شناخت و بررسی تفاوت ترکیب‌های شیمیایی جمعیت‌های مختلف گونه‌های گیاهی که در شرایط اکولوژیکی متفاوتی رویش می‌یابند از جهت شناخت بیشتر ویژگی‌های شیمیایی گیاه، مقدار و نوع ماده موثره جهت فعالیت‌هایی مانند کشت، اهلی کردن، حفظ ژرم‌پلاسما و تولید انبوه، اهمیت به سزایی دارد (۲۳). باید در نظر داشت که اولین و مهمترین راهکار اهلی کردن شامل شناسایی جمعیت‌های مختلف و گزینش افراد برتر براساس بررسی دقیق جنبه‌های شیمیایی، ژنتیکی، اکوفیزیولوژیکی و همچنین پتانسیل تولید جمعیت‌های گیاهی گونه مورد نظر می‌باشد (۷). در فرایند اهلی‌سازی یک گیاه دارویی، بررسی و شناخت کامل شرایط اکولوژیکی گیاه و ارتباط شرایط اکولوژیکی با ویژگی‌های ریختی، بیوشیمیایی و فیتوشیمیایی به منظور مدل‌سازی نیازهای اکولوژیکی گیاه در شرایط مزرعه و نیز شناخت جمعیت‌هایی با بهترین ویژگی‌های رشدی و متابولیتی ضروری است (۸).

امروزه روش‌های مختلفی مانند استفاده از نشانگرهای ریختی، بیوشیمیایی و ژنتیکی برای برآورد گوناگونی در جمعیت‌های گیاهی استفاده می‌شود. این نشانگرها برای شناسایی گونه‌های مختلف گیاهی، تفکیک دورگه‌ها، تعیین خلوص واریته‌ها، بررسی روابط تکاملی و تعیین میزان حساسیت گیاه نسبت به تغییرات و تنش‌های محیطی استفاده می‌شود (۲۶). تاکنون نشانگرهای ریختی، شیمیایی و مولکولی در ارزیابی بسیاری از گونه‌های جنس خشخاش مورد استفاده قرار گرفته است (۱، ۱۰). با این وجود مطالعه‌های بسیار اندکی روی گونه *P. pseudo-orientale* انجام شده است. در پژوهشی، به منظور مطالعه گوناگونی ژنتیکی در بخش Oxytona، ۱۸۰ اکسشن از این بخش در برگ‌برنده اکسشن‌های *P. orientale*، *P. pseudo-orientale* و *P. bracteatum* جمع‌آوری شده از پنج منطقه ترکیه، با استفاده از نشانگر مولکولی آی اس اس آر^{۱۴} بررسی شد (۱۶). در پژوهشی دیگر، ۱۹ ویژگی ریختی مختلف و همچنین مقدار تبائین کپسول در ۸ اکسشن *P. pseudo-orientale* کاشته شده در مزرعه پژوهشی دانشگاه آنکارا، اندازه‌گیری شد (۳۰).

با توجه به اهمیت دارویی گیاه *Papver pseudo-orientale* و پراکنش این گونه در ایران، تاکنون پژوهش جامعی در خصوص ارزیابی جمعیت‌های مختلف این گونه در رویشگاه‌های طبیعی از نظر ریختی و بیوشیمیایی اعم از مقدار تبائین، اسیدهای چرب و اسیدهای آمینه انجام نشده است. هدف از پژوهش حاضر بررسی جمعیت‌های گوناگون *P. pseudo-orientale* جمع‌آوری شده از نقاط مختلف استان آذربایجان غربی به منظور ارزیابی صفات ریختی، محتوای اسیدهای آمینه، اسیدهای چرب و تبائین بود.

۱- *Papaver orientale* L. ۲- *Papaver bracteatum* Lindl. ۳- Thebaine ۴- Isothebaine ۵- Macrantaline ۶- Orientalidine ۷- Salutaridine ۸- Morphine ۹- Codeine ۱۰- Noscapine ۱۱- Papaverine ۱۲- Narceine ۱۳- ISSR (Inter-simple sequence repeat)

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

پس از شناسایی رویشگاه‌های گونه‌ی *Papver pseudo-orientale* در استان آذربایجان غربی، تعداد ۵ نمونه گیاهی به‌طور کامل تصادفی با فاصله‌های مناسب از هر سه جمعیت سولیک، گلشیخان و قطور در خردادماه سال ۱۳۹۷ جمع‌آوری گردید و اطلاعات جغرافیایی رویشگاه‌ها با دستگاه جی پی اس ثبت گردید (جدول ۱). پس از اندازه‌گیری صفت‌های ریختی، اجزای مختلف گیاه مانند ریشه، برگ‌ها، ساقه‌ها و کپسول‌ها از یکدیگر تفکیک و در سایه خشک گردیدند و تا زمان انجام آنالیزهای فیتوشیمیایی در پاکت‌های کاغذی در محل خشک و خنک نگهداری شدند. تعداد سه نمونه از بخش‌های مختلف گیاه از هر کدام از جمعیت‌ها پودر شدند و سپس عصاره‌گیری برای اندازه‌گیری تبائین، اسیدهای آمینه و اسیدهای چرب انجام شد.

جدول ۱- مختصات جغرافیایی رویشگاه‌های جمعیت‌های مورد مطالعه *Papver pseudo-orientale*.

Table 1. Geographical coordinates of habitats of studied *Papver pseudo-orientale* populations.

ارتفاع	طول جغرافیایی	عرض جغرافیایی	رویشگاه	استان
Altitude	Longitude	Latitude	Habitat	Province
1950	44 ° 46' 06"	37 ° 29' 28"	سولیک	آذربایجان غربی
2150	44 ° 39' 50"	37 ° 40' 13"	گلشیخان	آذربایجان غربی
2180	44 ° 32' 00"	38 ° 23' 54"	قطور	آذربایجان غربی

بررسی گوناگونی ریختی

تعداد پنج نمونه از هر یک از جمعیت‌های گیاهی از نظر صفت‌های ریختی شامل طول و عرض برگ، نسبت طول به عرض برگ، تعداد برگ، طول دم‌برگ، طول و عرض لوب انتهایی برگ، طول و عرض لوب بزرگ برگ، نسبت طول به عرض لوب بزرگ برگ، تعداد لوب چپ برگ، تعداد لوب راست برگ، فاصله میان دو لوب برگ، تعداد لوبک راست برگ در لوب انتهایی، تعداد لوبک چپ برگ در لوب انتهایی، تعداد گلبرگ، قطر گل، تعداد برگه، قطر سرکپسول، تعداد برگه، ارتفاع گیاه، تعداد گلبرگ بیرونی، طول گلبرگ بیرونی، عرض گلبرگ بیرونی، نسبت طول به عرض گلبرگ بیرونی، تعداد گلبرگ درونی، طول گلبرگ درونی، عرض گلبرگ درونی، نسبت طول به عرض گلبرگ درونی و میانگین آن‌ها ثبت گردید (شکل ۱). اندازه‌گیری‌ها با استفاده از خط‌کش، متر و کولیس انجام شد.

اندازه‌گیری تبائین

برای اندازه‌گیری تبائین، مقدار ۲۵۰ میلی‌گرم پودر بافت خشک شده گیاهی شامل ریشه، ساقه، برگ و کپسول به فالتون ۲۵۰ میلی‌لیتری انتقال داده شد و به آن ۱۰ میلی‌لیتر محلول متانول ۶۰ درصد اضافه گردید و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۴۰ درجه سلسیوس در دستگاه اولتراسونیک (40mHz) قرار داده شد. سپس به مدت ۲ دقیقه نمونه‌ها ورتکس شده و عصاره به دست آمده به وسیله فیلتر ۰/۲۲ میکرومتر سلولز استات صاف شدند. عصاره‌ها به دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا HPLC (Knauer، آلمان) با ستون اکتادسیل سیلان (به طول ۲۵ سانتیمتر، قطر داخلی ۴/۶ میلی‌متر و اندازه ذرات ۵ میکرومتر) تزریق شد. سرعت جریان حلال یک میلی‌متر بر دقیقه بود. فاز متحرک، بافر فسفات با پی‌اچ ۳/۸۵ / متانول (۳۰/۷۰) و روش شویش ایزوکراتیک بود. حجم تزریق ۲۰ میلی‌لیتر و شناسایی در طول موج ۲۳۰ نانومتر با استفاده از آشکارگر UV انجام شد. شناسایی تبائین با مقایسه زمان بازداری نمونه با استاندارد به دست آمد. غلظت‌های مختلف استاندارد برای رسم منحنی کالیبراسیون به کار گرفته شد و بر اساس آن اندازه‌گیری کمی مربوط به تبائین انجام گردید (۲۴، ۳۳).



Fig. 1. Some morphological traits measured in *Papaver pseudo-orientale*.

شکل ۱- برخی ویژگی‌های ریختی اندازه‌گیری شده در *Papaver pseudo-orientale*

اندازه‌گیری اسیدهای آمینه

برگ‌ها و ساقه‌های پودر شده به طور جداگانه با استفاده از محلول هضم هیدروکلریک اسید: متانول: نرمال سالین (۲: ۱: ۱) در دمای ۷۰ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت هیدرولیز شدند. برای حذف اسیدهای چرب، به محلول هضم هگزان اضافه شد و یک شب در دمای اتاق انکوبه شد. اسیدهای چرب موجود در فاز رویی (فاز هگزان) محلول هضم از فراکشن اسیدهای آمینه جدا شدند. از دستگاه کروماتوگرافی مایع طیف‌سنج جرمی متوالی (LC-MS/MS) برای بررسی ترکیب شیمیایی فراکشن اسیدهای آمینه در فاز زیرین استفاده شد. کروماتوگرافی مایع- طیف‌سنج جرمی متوالی در آزمایشگاه فرزائگان (شیراز-ایران) براساس روش استاندارد و دستور کار آزمایشگاه انجام شد.

اندازه‌گیری اسیدهای چرب

پودر برگ‌ها و ساقه‌های خشک شده به طور جداگانه در محلول یک میلی لیتر متانول: اسید سولفوریک (نسبت حجمی ۸۵:۱۵) قرار گرفتند و به مدت ۲ ساعت در حمام آب گرم در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. سپس نمونه‌ها با استفاده از یک دستگاه لرزا تا رسیدن به دمای اتاق تکان داده شدند. یک میلی‌لیتر نرمال سالین به نمونه‌ها اضافه شد و به مدت پنج دقیقه ورتکس شدند. سپس یک میلی لیتر هگزان به آن‌ها افزوده شد و به مدت ۵ دقیقه ورتکس شدند و بعد از آن به مدت

۲۰ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانترفیوژ شدند. فاز روپی (فاز هگزان) جدا شد و به منظور تعیین ترکیب اسیدهای چرب توسط دستگاه کروماتوگرافی گازی-طیف‌سنج جرمی (GC/MS) مورد استفاده قرار گرفت. هگزان در دمای محیط توسط یک تبخیرکننده دوار (Rotary evaporator)، تبخیر شد. آنالیزهای GC/MS با استفاده از یک دستگاه کروماتوگراف گازی - طیف‌سنج جرمی محصول کمپانی (Agilent 7890B GC 7955A MSD) مجهز به ستون مویینه سیلیکا HP-5MS (طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی متر و ضخامت لایه فاز ساکن ۰/۲۵ میکرومتر) جفت شده به طیف‌سنج جرمی بررسی شد. دمای منبع یونی ۲۶۰ درجه سانتیگراد بود. برنامه ریزی دمایی آون عبارت بود از ۴ دقیقه دمای ۷۰ درجه سانتی گراد که با سرعت ۲۰ درجه سانتی‌گراد بر دقیقه به ۱۵۰ درجه سانتی‌گراد افزایش یافت و پس از آن با سرعت ۱۰ درجه سانتی‌گراد بر دقیقه به ۲۶۰ درجه سانتی‌گراد رسید و در نهایت به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۲۶۰ درجه سانتی‌گراد باقی ماند. شناسایی ترکیبات اسیدهای چرب با بررسی الگوی شکست پیک‌های مربوطه با آنچه در کتابخانه‌های wiley 7n و Nist08 گزارش شده است انجام گرفت.

واکاوی آماری

ضریب تنوع (CV %) به عنوان شاخصی از ضریب گوناگونی برای صفات‌های مورد بررسی در جمعیت‌ها به وسیله نرم افزار اکسل اندازه‌گیری شد. مقایسه میانگین‌ها داده‌ها در سطح ۵ درصد با آزمون آماری LSD توسط نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۱ انجام شد. همبستگی صفات‌ها با روش پیرسون و تجزیه به مولفه‌های اصلی توسط نرم افزار Minitab نسخه ۱۶ انجام شد.

نتایج و بحث

بررسی صفات‌های ریختی

در پژوهش حاضر تعداد ۲۹ صفت ریختی در سه جمعیت *P. pseudo-orientale* رویش یافته در رویشگاه‌های طبیعی، اندازه‌گیری شد. مقادیر کمینه، بیشینه، میانگین و ضریب تنوع برای این صفات به تفکیک برای هر جمعیت و همچنین میان سه جمعیت، در جدول ۲ نمایش داده شده است. در مطالعه‌های بیوسیستماتیک روی گونه *P. pseudo-orientale* ارتفاع این گونه ۴۰-۶۰ سانتیمتر به ندرت ۸۰ سانتیمتر، طول برگ ۴۵ سانتیمتر، تعداد برگه‌های گل در صورت وجود ۱ تا ۴ عدد و تعداد گلبرگ‌ها ۴ یا ۶ عدد گزارش شده است (۱۵).

در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه آنکارا، با کاشت بذره‌های هشت اکسشن گونه *P. pseudo-orientale* (تهیه شده از بانک ژن دانشگاه آنکارا) ۱۹ صفت ریختی از جمله ارتفاع گیاه، اندازه برگ، تعداد گلبرگ و تعداد برچه‌های کپسول در گیاهان اندازه‌گیری شد؛ به طوری که در این گیاهان دامنه ارتفاع بین ۵۰ تا ۹۵ سانتی‌متر، اندازه برگ بین ۶۵-۲۵ سانتی‌متر، تعداد برگه بین ۴-۲، تعداد گلبرگ‌ها بین ۴-۶، عرض گلبرگ بین ۱۱-۵ سانتی‌متر، طول گلبرگ بین ۹-۵/۵ سانتی‌متر و تعداد برچه‌ها بین ۱۶-۱۱ ثبت شد (۳۰). در پژوهش حاضر، دامنه مقادیر متوسط برای صفات ذکر شده به طور کلی در هر سه جمعیت شامل ارتفاع گیاه بین ۸/۱۰۰-۶۸/۸ سانتی‌متر، طول برگ بین ۳/۴۵-۶/۲۵ سانتی‌متر، تعداد برگه بین ۲/۴-۸/۲، تعداد گلبرگ‌ها بین ۶-۴/۲، تعداد برچه‌ها بین ۲/۱۵-۴/۱۲، طول گلبرگ بیرونی بین ۵/۸-۶، طول گلبرگ درونی بین ۹/۷-۵/۶، عرض گلبرگ بیرونی بین ۹/۹-۶/۹ و عرض گلبرگ درونی بین ۹-۶/۱ بود. از ضریب تغییرات (CV%) به عنوان شاخصی برای بررسی گوناگونی ریختی میان جمعیت‌ها استفاده شد (جدول ۲).

در هر سه جمعیت مورد مطالعه، صفت طول دم‌برگ دارای بیشترین تنوع بود. بیشترین ضریب تنوع به ترتیب برای صفات‌های طول دم‌برگ (۵۹/۵٪)، طول لوب انتهایی برگ (۵۵/۲٪) و عرض لوب انتهایی برگ (۴۸/۶٪) در جمعیت سولیک بدست آمد. در این جمعیت، صفات‌های مربوط به تعداد گلبرگ و تعداد لوب راست برگ، کمترین تنوع را نشان دادند. در جمعیت گلشیخان نیز صفات‌های طول دم‌برگ (۵۰/۱٪)، عرض لوب بزرگ برگ (۲۷٪) و فاصله میان دو لوب برگ (۲۵/۹٪) دارای بیشترین ضریب تغییرات و صفات‌های تعداد گلبرگ و نسبت طول به عرض گلبرگ بیرونی دارای کمترین ضریب تغییرات بودند. در جمعیت قطور نیز صفات‌های طول دم‌برگ (۴۷/۹٪)، طول لوب انتهایی برگ (۳۵/۳٪) و عرض گلبرگ درونی (۳۲/۴٪) بیشترین تنوع و صفات‌های نسبت طول به عرض گلبرگ درونی و طول لوب بزرگ برگ، دارای کمترین تنوع بودند. صفات‌های طول دم‌برگ (۶۹/۱٪) و فاصله میان دو لوب برگ (۶۵/۳٪) دارای بیشترین ضریب گوناگونی و صفات‌های نسبت طول به عرض گلبرگ درونی (۸/۱٪)،

نسبت طول به عرض گلبرگ بیرونی (۱۰/۱) و تعداد برچه (۱۱/۷) دارای کمترین ضریب گوناگونی میان جمعیت ها بودند. صفت های تعداد گلبرگ، تعداد گلبرگ بیرونی و تعداد گلبرگ درونی برای جمعیت های سولیک و گلشیخان دارای مقادیر ثابتی بودند و در آنها تنوعی مشاهده نشد، اما در جمعیت قطور این صفت ها تنوع نشان دادند. نتایج پژوهش حاضر نشان می دهد که در جمعیت های *P. pseudo-orientale* سطوح بالایی از تنوع میان و به ویژه درون جمعیتی از نظر ویژگی های ریختی وجود دارد. گوناگونی ریختی در یک گونه ممکن است به دلیل گوناگونی ژنتیکی یا انعطاف پذیری پدیدگانی در شرایط محیطی مختلف باشد (۲۹). گزارش شده است که در گونه های نادر با پراکنش محدود، گوناگونی بیشتر درون جمعیت ها است (۲۱).

مشابه اغلب گونه های جنس *Papaver*، گل ها در گونه *P. pseudo-orientale* نیز حشرات زیادی را به خود جذب می کنند که بیشتر سوسک های گرده افشان و بسیاری از گونه های زنبورهایی که برای جمع آوری گرده ها به گل ها جذب می شوند، می باشند. آشکار است که این حشرات گرده افشان قادر به انجام دگرگرده افشانی هستند (۱۹). از این رو دگرگرده افشانی می تواند یکی از دلایل تفاوت شاخص های ریختی در این گونه باشد. بخشی از گوناگونی شاخص های ریختی در میان جمعیت های مختلف یک گونه گیاهی را می توان به گوناگونی ژنتیکی میان جمعیت ها نسبت داد. از سویی شرایط رویشگاه طبیعی از جمله دما، ارتفاع از سطح دریا، رطوبت، شدت و مدت تابش نور و عناصر غذایی نیز می توانند منجر به گوناگونی شاخص های ریختی در میان جمعیت های مختلف گردند (۲۱). لذا یکی از دلایل گوناگونی در صفات ریختی را می توان مربوط به پراکندگی جمعیت های مورد مطالعه در نقاط مختلف جغرافیایی با شرایط متفاوت محیطی دانست (۱۴). در پژوهش حاضر، جمعیت های سولیک و گلشیخان در مناطقی با ارتفاع کمتر و دمای بالاتر با میانگین دمای سالانه ۱۰-۷ درجه سانتیگراد در مقایسه با رویشگاه جمعیت قطور با میانگین دمای سالانه ۵-۲ درجه سلسیوس رشد یافته بودند. گوناگونی ریختی یک گونه، نشانه سازگاری به رویشگاه های مختلف بوده و گونه هایی که گوناگونی ریختی بیشتری دارند سازگاری قابل ملاحظه ای نیز نشان می دهند (۳۷). این ویژگی اهمیت به سزایی در برنامه های ترویجی، اصلاحی و حفاظت ژنتیکی دارد (۴).

بررسی بیوشیمیایی

مقدار تبائین

مقدار تبائین در اندام های مختلف گیاهان هر یک از جمعیت های سولیک، گلشیخان و قطور و همینطور در اندام های مختلف گیاهان هر سه جمعیت در مقایسه با یکدیگر در شکل های ۲ و ۳ نمایش داده شده است. در جمعیت های گلشیخان و سولیک، بیشترین مقدار تبائین در کپسول و پس از آن به ترتیب در ریشه، ساقه و برگ اندازه گیری شد (شکل ۲، الف و ب). در جمعیت قطور مقدار تبائین اندازه گیری شده در کپسول و ریشه از نظر آماری تفاوت معنی داری با یکدیگر نداشتند، اما به طور معنی داری از تبائین اندازه گیری شده در ساقه و برگ بیشتر بود (شکل ۲، ج). مقایسه مقدار تبائین اندازه گیری شده در اندام های مختلف گیاهان هر سه جمعیت با یکدیگر نشان داد که کپسول برداشت شده از جمعیت گلشیخان حاوی بیشترین مقدار تبائین و برگ برداشت شده از جمعیت سولیک حاوی کمترین مقدار تبائین بود (شکل ۳).

جدول ۲- دامنه تغییرها شامل ضریب گوناگونی و میانگین، کمینه و بیشینه میزان به دست آمده برای ویژگی‌های مورد مطالعه جمعیت‌ها (*Papver pseudo-orientale*).

Table 2. Range of variations including coefficient of variation and mean, minimum, and maximum values obtained for studied traits of populations (*Papver pseudo-orientale*).

ویژگی‌ها Characteristics	جمعیت سولیک Solik population				جمعیت گلشیخان Golshikhan population			
	میانگین Mean	حداکثر Maximum	حداقل Minimum	ضریب گوناگونی Diversity coefficient	میانگین Mean	حداکثر Maximum	حداقل Minimum	ضریب گوناگونی Diversity coefficient
طول برگ (سانتی‌متر) Leaf length (cm)	45.3	67.75	21	39.1	25.6	29.2	23.1	9.5
عرض برگ (سانتی‌متر) Leaf width (cm)	13.8	17.8	8.5	28.9	11.6	15.1	9	24.3
نسبت طول به عرض برگ Leaf length to width ratio	3.2	3.7	2.4	15.1	2.3	2.6	1.5	21.5
تعداد برگ Number of leaves	7.6	9	5	22	6.8	9	5	21.8
طول دم‌برگ (سانتی‌متر) Petiole length (cm)	11.8	26	4.1	59.5	6.4	10.5	2.2	50.1
طول لوب انتهایی برگ (سانتی‌متر) Length of leaf end lobe (cm)	5.2	8	1.6	55.2	4.1	4.9	3.5	13.5
عرض لوب انتهایی برگ (سانتی‌متر) Width of leaf end lobe (cm)	2.8	4.3	0.8	48.6	2.4	2.6	2.1	8.2
طول لوب بزرگ برگ (سانتی‌متر) Length of leaf large lobe (cm)	8	10	5.8	23.9	6	7.6	5	18.1
عرض لوب بزرگ برگ (سانتی‌متر) Width of leaf large lobe (cm)	1.8	2.5	1.2	30.8	1.5	2	1.1	27
نسبت طول به عرض لوب بزرگ برگ Length to width ratio of large leaf lobe	4.5	4.9	3.8	9.7	4	4.5	3.5	10.5
تعداد لوب راست برگ Number of leaf right lobes	8.2	9	7.7	6.6	8.1	9.2	6.2	14.7
تعداد لوب چپ برگ Number of leaf left lobes	8.8	9.7	8	7.8	7.9	9	6	14.6
فاصله میان دو لوب برگ (سانتی‌متر) Distance between two leaf lobes (cm)	3.4	4.3	1.9	28	0.8	1	0.4	25.9

تعداد لوپک راست برگ در لوب انتهایی Number of right leaf lobelets in the end lobe	5.3	6.5	3.7	19.3	5.7	6.2	4.5	12
تعداد لوپک چپ برگ در لوب انتهایی Number of left leaf lobelets in the end lobe	14.4	21.7	5.6	45.9	9.8	11	8.7	8.3
تعداد گلبرگ number of petals	6	6	6	0	6	6	6	0
قطر گل (سانتی متر) Flower diameter (cm)	16.2	18.5	14.5	11.7	17.4	21	14.5	15.4
تعداد برگه number of bracts	4.2	5	3	19.9	2.8	3	2	16
قطر سر کپسول (سانتی متر) Capsule top diameter (cm)	2.2	2.5	2	11.2	2.4	3	2	15.9
تعداد برچه number of carpels	15.2	17	14	7.2	13.2	15	12	9.9
ارتفاع گیاه (سانتی متر) Plant height (cm)	100.8	113	92	9.2	68.8	79	54	14.4
تعداد گلبرگ بیرونی Number of outer petals	3	3	3	0	3	3	3	0
طول گلبرگ بیرونی (سانتی متر) Outer petal length (cm)	7.2	8.5	6.7	10	8.5	10.6	6.9	18.5
عرض گلبرگ بیرونی (سانتی متر) Outer petal width (cm)	8.7	11	6.8	17.7	9.9	12.5	8	19.1
نسبت طول به عرض گلبرگ بیرونی Length to width ratio of outer petal	0.8	1	0.7	13.7	0.9	0.9	0.8	3.9
تعداد گلبرگ درونی Number of inner petals	3	3	3	0	3	3	3	0
طول گلبرگ درونی (سانتی متر) Inner petal length (cm)	7	8.6	6.2	13.8	7.9	9.8	6.5	17.4
عرض گلبرگ درونی (سانتی متر) Inner petal width (cm)	7.9	10	6.5	17.2	9	12	7.3	21.9
نسبت طول به عرض گلبرگ درونی Length to width ratio of inner petal	0.9	1	0.8	8.9	0.9	1	0.8	8.5

Table 2. Continued.

ویژگی‌ها Characteristics	جمعیت قطور Qotur population			میان سه جمعیت Between three populations				
	میانگین Mean	حداکثر Maximum	حداقل Minimum	ضریب گوناگونی Diversity (%) coefficient	میانگین Mean	حداکثر Maximum	حداقل Minimum	ضریب گوناگونی Diversity (%) coefficient
طول برگ (سانتی‌متر) Leaf length(cm)	36.4	47.6	22	27.2	35.8	67.8	21	38.4
عرض برگ (سانتی‌متر) Leaf width (cm)	11.2	13.1	10.2	10.1	12.2	17.9	8.5	24
نسبت طول به عرض برگ Length to width ratio of leaf	3.3	4.2	2	25.1	2.9	4.2	1.5	25.1
تعداد برگ Leaf number	7.6	11	5	28.8	7.3	11	5	23.4
طول دم‌برگ (سانتی‌متر) Petiole length (cm)	14	24.1	7.8	47.9	10.7	26	2.2	69.1
طول لوب انتهایی برگ (سانتی‌متر) Length of leaf end lobe (cm)	7.2	11.5	5.2	35.3	5.5	11.6	1.6	44.7
عرض لوب انتهایی برگ (سانتی‌متر) Width of leaf end lobe (cm)	2.7	3.5	2.3	17.1	2.6	4.3	.9	29.9
طول لوب بزرگ برگ (سانتی‌متر) Length of leaf large lobe (cm)	6.5	7.1	6	6.6	6.8	10	5.3	21.8
عرض لوب بزرگ برگ (سانتی‌متر) Width of leaf large lobe (cm)	1.3	1.5	1.1	12.4	1.6	2.6	1.1	27.6
نسبت طول به عرض لوب بزرگ برگ Length to width ratio of large leaf lobe	4.9	5.9	4.4	12.3	4.5	5.9	3.5	13.2
تعداد لوب راست برگ Number of leaf right lobes	8.5	10.2	7	15.1	8.3	10.3	6.3	12.1
تعداد لوب چپ برگ Number of leaf left lobes	8.1	9.7	6.7	16	8.2	9.8	6.8	13
فاصله میان دو لوب برگ (سانتی‌متر) Distance between two leaf lobes (cm)	1.6	1.9	1.4	14.6	1.9	4	0.9	65.3

تعداد لوبک راست برگ در لوب انتهایی Number of right leaf lobelets in the end lobe	6	7	5.2	13.1	5.6	7	3.8	14.7
تعداد لوبک چپ برگ در لوب انتهایی Number of left leaf lobelets in the end lobe	13.4	17.2	10.6	21.8	12.5	21.8	5.6	35
تعداد گلبرگ Petal number	4.2	5	4	10.6	5.4	6	4	16.9
قطر گل (سانتی متر) Flower diameter (cm)	17.3	19.5	14	14	17	21	14	13.2
تعداد برگه Bract number	3.2	4	2	26.1	3.4	5	2	26.8
قطر سر کپسول (سانتی متر) Capsule top diameter (cm)	2.4	3	2	17.6	2.3	3	2	14.5
تعداد برچه Carpel number	12.4	13	11	7.2	13.6	17	11	11.7
ارتفاع گیاه (سانتی متر) Plant height (cm)	98.4	112	85	10.2	89.3	112	54	19.6
تعداد گلبرگ بیرونی Number of outer petals	2.2	3	2	20.3	2.7	3	2	16.7
طول گلبرگ بیرونی (سانتی متر) Outer petal length (cm)	6	8.5	4.6	24.8	7.2	10.7	5.3	22.2
عرض گلبرگ بیرونی (سانتی متر) Outer petal width (cm)	6.9	8.1	5.2	18.5	8.5	11	5.2	22.9
نسبت طول به عرض گلبرگ بیرونی Length to width ratio of outer petal	0.9	1	0.7	12.1	0.9	1	0.8	10.1
تعداد گلبرگ درونی Number of inner petals	2.2	3	2	20.3	2.7	3	2	16.7
طول گلبرگ درونی (سانتی متر) Inner petal length (cm)	5.6	7.6	4.5	22.1	6.8	9.8	4.5	22
عرض گلبرگ درونی (سانتی متر) Inner petal width (cm)	6.1	9.6	4.8	32.4	7.7	12	4.8	27
نسبت طول به عرض گلبرگ درونی Length to width ratio of inner petal	1	1	0.8	4.4	0.9	1	0.8	8.1

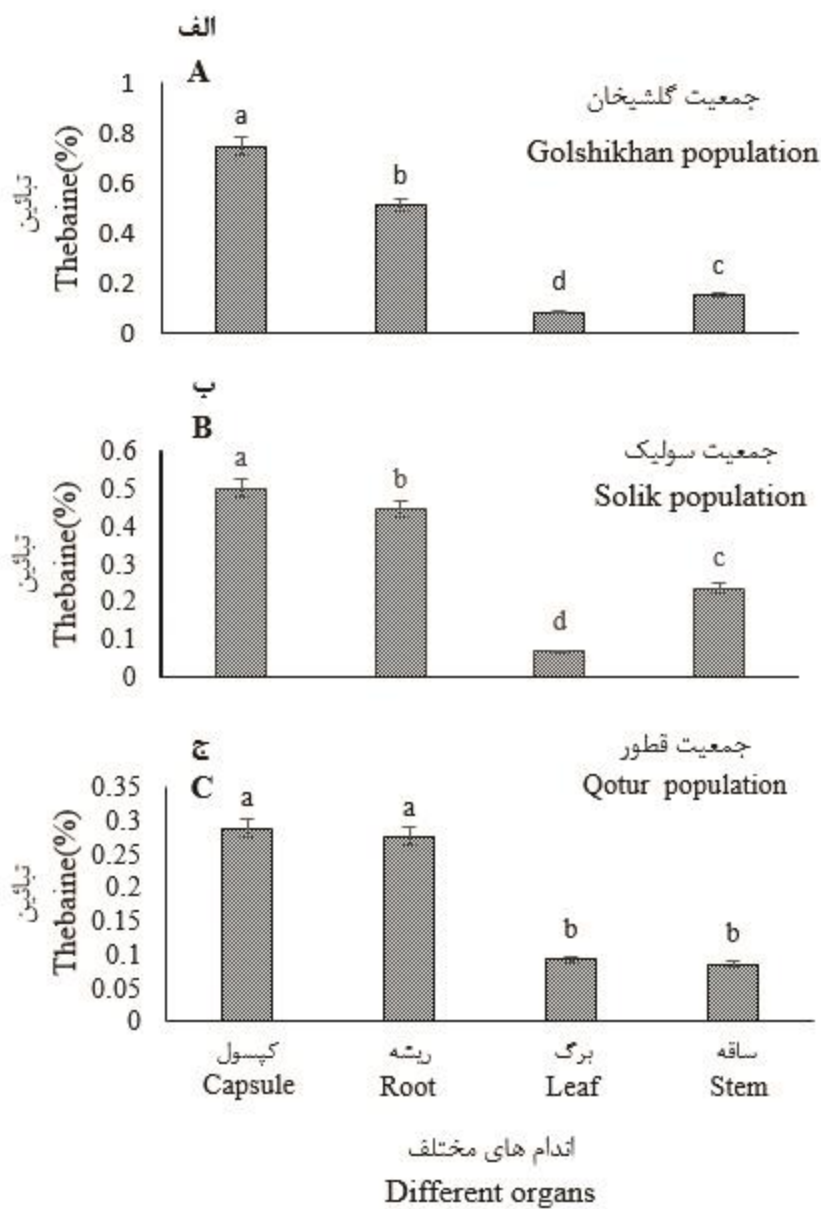


Fig. 2. Amount of thebaine in different organs of three populations (A: Golshikhan, B: Solik and C: Qotur) of *Papver pseudo-orientale*. Means followed by the same letters are not significantly different at 5% probability level using LSD test.

شکل ۲- مقدار تبااین در اندام‌های مختلف سه جمعیت (الف: گلشیخان، ب: سولیک و ج: قطور) *Papver pseudo-orientale*. میانگین‌های دارای حرف‌های مشابه براساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵٪ تفاوت معنی‌دار ندارند.

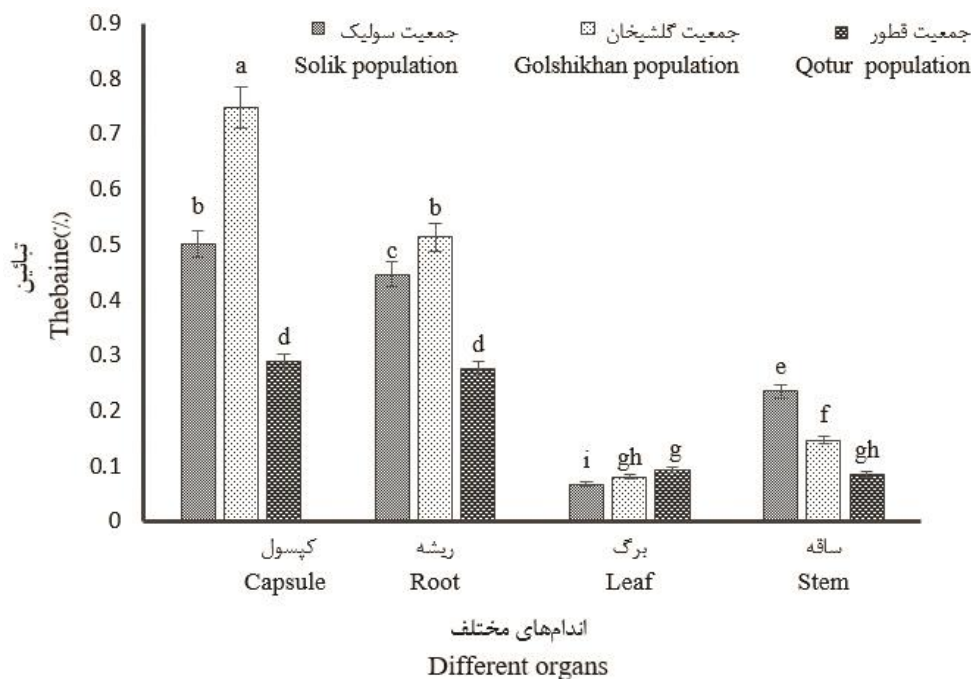


Fig. 3. Amount of thebaine in different organs of three populations (Solik, Golshikhan and Qotur) of *Papver pseudo-orientale*. Means followed by the same letters are not significantly different at 5% probability level using LSD test.

شکل ۳- مقدار تبائین در اندام‌های مختلف سه جمعیت (سولیک، گلشیخان و قطور) *Papver pseudo-orientale*. حرف‌های مشابه براساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵٪ معنی دار نیستند.

در پژوهشی، Parmaksiz و Özcan (۳۰) مقدار تبائین کپسول خشک شده را در هشت اکسشن گونه *P. pseudo-orientale* کاشته شده در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه آنکارا اندازه‌گیری نموده و گزارش کردند که پنج اکسشن بدون تبائین و سه اکسشن دیگر حاوی ۰/۰۹، ۰/۲ و ۱/۵ درصد تبائین بودند. در پژوهش حاضر مقدار تبائین کپسول در جمعیت‌های سولیک، گلشیخان و قطور به ترتیب ۰/۵۰، ۰/۷۵ و ۰/۲۸ درصد اندازه‌گیری شد.

گزارش شده است که مقدار الکالوئیدها زیر تاثیر اندام گیاهی و گونه گیاهی قرار می‌گیرند (۴۶). از سوی دیگر Rezaei و همکاران (۳۱) مقدار تبائین را در مرحله بعد از ریزش گلبرگ‌ها در ریشه، بخش پایینی ساقه، بخش بالایی ساقه، برگ و کپسول خشک‌شده ایرانی^۱ اندازه‌گیری نمودند و گزارش کردند در این مرحله از نمو، مقدار تبائین از بیشترین به کمترین به ترتیب در بخش بالایی ساقه، کپسول، ریشه، بخش پایینی ساقه و برگ مشاهده شد. گزارش شده است که انباشت الکالوئید در ریشه گونه *Berberis jaeschkeana* بیشتر از پوست ساقه می‌باشد و همچنین جمعیت‌های ساکن در رویشگاه‌های صخره‌ای، با ارتفاع کم و در فصل تابستان عملکرد الکالوئید بیشتری دارند (۲). در پژوهشی Elgorashi و همکاران (۱۲) بیان کرده‌اند که مقدار تجمع الکالوئید کل در گونه *Crinum macowanii* در اندام‌های مختلف و همچنین در فصول مختلف سال متفاوت است. در گونه *Berberis asiatica* تجمع بیشتر الکالوئید در جمعیت‌های رشد یافته در رویشگاه‌های با ارتفاع کم، دمای بالاتر و خاک‌های غنی از پتاسیم گزارش شده است (۳).

در گونه *Ephedra pachyclada* رشد یافته در رویشگاه‌هایی با ارتفاع کم نیز تجمع الکالوئید بیشتری مشاهده شده است (۲۷). در مطالعه‌ای به نقش ارتفاع رویشگاه‌ها بر تجمع الکالوئیدها در جمعیت‌های گونه *Lupinus argenteus* اشاره شده و عنوان گردیده است که تجمع الکالوئیدها در رویشگاه‌های با ارتفاع کم نسبت به ارتفاع بالا بیشتر می‌باشد (۱۱). دما از دیگر عوامل مهمی است که نقش مهمی در تجمع و ترکیب الکالوئیدهای گیاه دارد (۴۰).

ثابت شده است که دمای بالا باعث تحریک زیست‌ساخت مورفین در خشخاش (*Papaver somniferum*) می‌شود (۹). در پژوهش حاضر نیز جمعیت‌های سولیک و گلشیخان که از ارتفاع پایین‌تر و دمای بالاتری نسبت به جمعیت قطور جمع‌آوری شده بودند دارای مقدار تبائین کل بیشتری بودند. یافته‌های ما نشان می‌دهد که تبائین در هر چهار اندام مورد مطالعه در پژوهش حاضر انباشت می‌یابد، اما مقدار آن در اندام‌های مختلف ثابت نیست و می‌تواند زیر تاثیر شرایط اقلیمی تغییر کند. در واقع برهمکنش عوامل محیطی و ژنتیکی بر ساخت و انباشت آلکالوئیدها در گونه‌های خشخاش تاثیرگذار است (۲۰، ۳۴).

مقدار اسیدهای آمینه و اسیدهای چرب

در پژوهش حاضر، مقدار اسیدهای آمینه ساقه و برگ جمعیت‌های مختلف اندازه‌گیری شد. در ساقه جمعیت‌های سولیک و قطور در مجموع ۲۴ اسید آمینه و در ساقه جمعیت گلشیخان در مجموع ۲۳ اسید آمینه شناسایی گردید (جدول ۳). بیشترین مقدار کل اسید آمینه‌های اندازه‌گیری شده در ساقه به ترتیب در جمعیت‌های گلشیخان، سولیک و قطور مشاهده شد. از میان اسید آمینه‌های اندازه‌گیری شده در ساقه، گلوتامیک اسید و پس از آن آلانین بیشترین مقدار را در هر یک از جمعیت‌ها به خود اختصاص دادند (جدول ۳).

جدول ۳- مقدار اسیدهای آمینه در ساقه جمعیت‌های مختلف *Papver pseudo-orientale*.

Table 3. Amino acids amount in the stem of different *Papaver pseudo-orientale* populations.

اسید آمینه Amino acid	مقدار اسید آمینه (گرم در ۱۰۰ گرم) Amino acid amount (g/100 g)		
	جمعیت سولیک Solik population	جمعیت گلشیخان Golshikhan population	جمعیت قطور Qotur population
آلانین Alanine	1.241	2.936	0.812
آلفا-آمینو آدیپیک اسید Alpha-amino adipic acid	0.002	0.041	0.001
آلفا-آمینو بوتیریک اسید Alpha-amino butyric acid	0.005	0.058	0.004
آرژنین Arginine	0.384	1.785	0.249
آسپاراژین Asparagine	0.003	0.107	0.002
آسپارتنیک اسید Aspartic acid	1.068	2.169	0.722
بتا - آلانین Beta-alanine	0.007	0.083	0.005
سیستاتیونین Cystathionine	-	-	-
سیستئین Cysteine	0.037	0.171	0.038
گاما - آمینو بوتیریک اسید Gamma - amino butyric acid	0.557	0.635	0.430
گلوتامیک اسید Glutamic acid	1.351	3.873	1.087
گلیسین Glycine	0.754	1.840	0.103
هیستیدین Histidine	0.348	0.667	0.358
هیدروکسی پرولین Hydroxyproline	0.169	0.363	0.139

ایزولوسین Isoleucine	0.281	0	0.222
لوسین Leucien	0.823	1.950	0.569
لیزین Lysine	1.034	2.096	0.171
متیونین Methionine	0.160	0.391	0.107
اورنیتین Ornithine	0.031	0.067	0.019
فنیل آلانین Phenylalanine	0.510	1.399	0.367
پروлін Proline	0.941	1.430	0.728
سرین Serine	0.881	1.885	0.115
تریئونین Threonine	0.624	1.915	0.420
تیروزین Tyrozin	0.242	0.981	0.179
والین Vallin	0.506	1.553	0.416
مقدار کل Total amount	11.96	28.34	7.26

در برگ جمعیت‌های سولیک، گلشیخان و قطور در مجموع به ترتیب ۲۶، ۲۴ و ۲۵ اسید آمینه شناسایی شد. بیشترین مقدار کل اسید آمینه‌های اندازه‌گیری شده در برگ به ترتیب در جمعیت‌های سولیک، قطور و گلشیخان ثبت شد (جدول ۴). در هر سه جمعیت مورد مطالعه، گلوتامیک اسید و آلانین بالاترین مقدار را در میان اسیدهای آمینه اندازه‌گیری شده در برگ به خود اختصاص دادند (جدول ۴). در بررسی سه وارسته خشخاش (*P. somniferum*) زارش شده است که پروتئین‌های بذر خشخاش غنی از اسید آمینه‌های آسپارتیک اسید، گلوتامیک اسید و آرژنین هستند (۳۵). افزون بر این، مطالعه‌ای دیگر روی پروتئین‌های با وزن مولکولی کم در کنجاله دانه خشخاش (*P. somniferum*) نشان داد که این پروتئین‌ها شامل اسید آمینه‌های سیستئین، اسید گلوتامیک، آرژنین و مقادیر کمتری اسید آسپارتیک، لوسین، ایزولوسین، والین، هیستیدین، تریپتوفان و فنیل آلانین می‌باشند (۳۶).

جدول ۴- مقادیر اسیدهای آمینه اندازه‌گیری شده در برگ جمعیت‌های مختلف *Papver pseudo-orientale*.

Table 4. Measured amino acid amounts in the leaf of different *Papaver pseudo-orientale* populations.

اسید آمینه Amino acid	مقدار اسید آمینه (گرم در ۱۰۰ گرم) Amino acid amount (g/100 g)		
	جمعیت سولیک Solik population	جمعیت گلشیخان Golshikhan population	جمعیت قطور Qotur population
آلانین Alanine	2.180	1.548	1.402
آلفا-آمینو آدیپیک اسید Alpha-amino adipic acid	0.030	0.003	0.036
آلفا-آمینو بوتیریک اسید Alpha-aminobutyric acid	0.036	0.011	0.028
آرژنین Arginine	1.395	0.459	0.739

آسپاراژین Asparagine	0.078	0.002	0.047
آسپارتریک اسید Aspartic acid	2.163	1.224	1.274
بتا - آلانین Beta-alanine	0.066	0.005	0.054
سیستاتیونین Cystathionine	-	-	0.012
سیستئین Cysteine	0.087	0.084	0.082
گاما - آمینو بوتیریک اسید Gamma - amino butyric acid	0.496	0.459	0.405
گلوتامیک اسید Glutamic acid	2.946	1.551	2.719
گلیسین Glycine	0.040	-	0.001
هیستیدین Histidine	1.598	0.227	1.011
هیدروکسی پرولین Hydroxyproline	0.580	0.088	0.369
ایزولوسین Isoleucine	0.423	0.214	0.371
لوسین Leucien	1.659	0.973	1.133
لیزین Lysine	1.777	0.330	1.196
متیونین Methionine	0.365	0.161	0.185
اورنیتین Ornithine	0.123	0.034	0.018
فنیل آلانین Phenylalanine	1.173	0.600	0.669
پرولین Proline	1.185	1.002	0.920
سرین Serine	1.826	0.230	1.349
تریئونین Threonine	1.684	0.662	1.247
تیروزین Tyrozin	0.784	0.287	0.390
والین Vallin	1.254	0.791	0.985
مقدار کل total amount	24.85	11.30	17.29

مقادیر چهار اسیدچرب متیل لینولنات، متیل پالمیتات، متیل لینولئات و متیل لوولینات اندازه‌گیری شده در برگ و ساقه سه جمعیت مورد مطالعه در جدول ۵ نمایش داده شده است. بالاترین مجموع مقدار اسیدهای چرب اندازه‌گیری شده در ساقه و برگ مربوط به جمعیت گلشیخان بود. بیشترین مقدار اسید چرب اندازه‌گیری شده در ساقه مربوط به متیل لینولنات و در برگ مربوط به متیل پالمیتات بود که برای جمعیت گلشیخان ثبت شد. در پژوهش حاضر مقدار و ترکیب اسیدهای چرب اندازه‌گیری شده در ساقه و برگ و همچنین میان جمعیت‌های مختلف تنوع نشان می‌دهد. گزارش شده است تجمع اسیدهای

چرب در اندام‌های گیاهی می‌تواند زیر تاثیر ژنتیک، دما، بارندگی و ارتفاع از سطح دریا قرار گیرد (۶). گوناگونی مشاهده شده در صفت‌های بیوشیمیایی و همچنین ریختی نتیجه برهمکنش عوامل محیطی و ژنتیکی است که البته صفت‌های بیوشیمیایی بیشتر زیر تاثیر محیط قرار می‌گیرند که برای کاهش اثر محیطی، می‌توان جمعیت‌های مختلف را در شرایط یکسان محیطی کشت کرد و پتانسیل ژنتیکی هر یک از صفات اندازه‌گیری شده را ارزیابی کرد.

همبستگی صفات و تجزیه به مولفه های اصلی

واکاوی همبستگی ساده صفت‌های مورد بررسی نشان داد که صفت تعداد برچه با عرض برگ ($r = 0.99$) و ارتفاع گیاه با تعداد برگ ($r = 0.99$) همبستگی مثبت معناداری را نشان داد. همچنین صفت مقدار اسید چرب ساقه با تعداد برگ‌ها و ارتفاع گیاه، مقدار اسید آمینه ساقه با طول دم‌برگ و صفت قطر کپسول با صفت تعداد براکته همبستگی منفی معناداری را نشان داد. همچنین همبستگی منفی معناداری میان مقدار تبائین برگ و مقدار تبائین ساقه مشاهده شد (جدول ۶).

جدول ۵- مقدار اسیدهای چرب (درصد) ساقه و برگ جمعیت‌های مختلف *Papver pseudo-orientale*.

Table 5. Amounts of stem and leaf fatty acids of different *Papaver pseudo-orientale* populations.

اسید چرب Fatty acid	مقدار اسید چرب (درصد) Fatty acid amount (%)					
	ساقه Stem			برگ Leaf		
	جمعیت سولیک Solik population	جمعیت گلشیخان Golshikhan population	جمعیت قطور Qotur population	جمعیت سولیک Solik population	جمعیت گلشیخان Golshikhan population	جمعیت قطور Qotur population
متیل لینولات Methyl linolenate	-	12.224	9.956	7.842	9.144	-
متیل پالمیتات Methyl palmitate	8.787	11.855	9.796	7.712	13.155	11.303
متیل لینولات Methyl linoleate	11.923	10.841	-	-	4.549	6.716
متیل لوولینات Methyl levolinate	2.058	3.432	2.944	1.630	0.816	1.845

در تجزیه به مولفه‌های اصلی دو مولفه اول توانستند ۱۰۰ درصد واریانس کل را توجیه کنند که این مقدار برای مولفه اول ۵۷/۲ درصد و برای مولفه دوم ۴۲/۸ درصد بود (جدول ۷). صفات قطر گل و قطر سرکپسول بیشترین سهم با ضرایب منفی را در مولفه اول (PCI) به خود اختصاص دادند و صفات تعداد برگه و عرض برگ نیز بیشترین سهم با ضرایب مثبت را در این مولفه داشتند. در مولفه دوم (PCII) صفات تبائین کپسول و تبائین ریشه دارای بیشترین سهم بودند. نمودار بای پلات جمعیت‌ها بر اساس دو مولفه اول در شکل ۴ نشان داده شده است.

..

جدول ۶- همبستگی میان ویژگی‌های مورد بررسی در *Papver pseudo-orientale*.

Table 6. Correlation between studied traits in *Papaver pseudo-orientale*

ویژگی‌های Characteristics	عرض برگ (سانتی‌متر) Leaf width (cm)	تعداد برگ Leaf number	طول دم‌برگ (سانتی‌متر) Petiole length (cm)	تعداد برگه Bract number	قطر سر کپسول (سانتی‌متر) Capsule top diameter (cm)	تعداد برچه Carpel number	ارتفاع گیاه (سانتی‌متر) Plant height (cm)	محتوای تبااین برگ Leaf thebaine content	محتوای تبااین ساقه Stem thebaine content	اسید آمینه ساقه Stem amino acids	اسید چرب ساقه Stem fatty acids
عرض برگ (سانتی‌متر) Leaf width (cm)	1										
تعداد برگ Leaf number	0.348	1									
طول دم‌برگ (سانتی‌متر) Petiole length (cm)	0.067	0.959	1								
تعداد برگه Bract number	0.901	0.721	0.494	1							
قطر سر کپسول (سانتی‌متر) Capsule top diameter (cm)	-0.917	-0.693	-0.460	-0.99*	1						
تعداد برچه Carpel number	0.944*†	0.240	-0.046	-0.846	-0.866	1					
ارتفاع گیاه (سانتی‌متر) Plant height (cm)	0.41	0.988*	0.937	0.766	-0.74	0.305	1				
محتوای تبااین برگ Leaf thebaine content	-0.940	-0.006	0.279	-0.697	0.725	-0.972	-0.073	1			
محتوای تبااین ساقه Stem thebaine content	0.968	0.101	-0.186	0.762	-0.787	0.99	0.167	-0.998*	1		
اسید آمینه ساقه Stem amino acids	-0.141	-0.977	-0.977*	-0.557	0.525	0.029	-0.961	-0.206	0.112	1	
اسید چرب ساقه Stem fatty acids	-0.374	-1**	-0.959	-0.72	0.69	-0.239	-0.99*	0.004	-0.099	0.978	1

†ns، * و **: به ترتیب بیانگر عدم تفاوت معنی‌دار و تفاوت معنی‌دار در سطوح احتمال پنج و یک درصد می‌باشند.

ns, * and **: non-significant, significant at 5% and 1% probability levels, respectively.

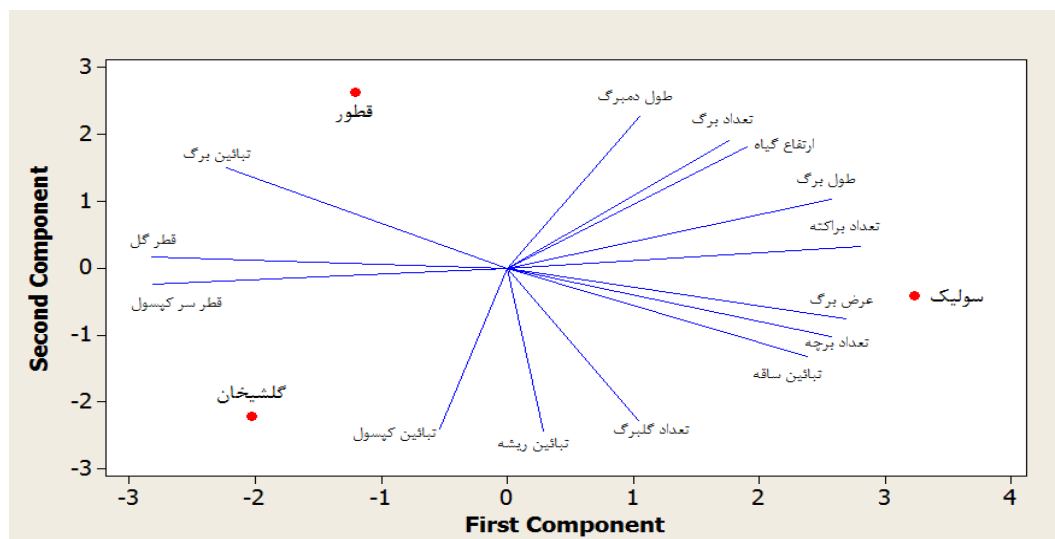


Fig. 4. Bi-plot diagram of studied populations of *Papaver pseudo-orientale* based on the first two components obtained by principal component analysis.

شکل ۴- نمودار بای پلات جمعیت‌های مورد مطالعه *Papaver pseudo-orientale* بر اساس دو مولفه اول حاصل از تجزیه به مولفه‌های اصلی

جدول ۷- مقادیر ویژه مولفه‌های اول و دوم ویژگی‌های ریختی و فیتوشیمیایی *Papaver pseudo-orientale*.

Table 7. Specific values of first and second components of morphological and phytochemical traits of *Papaver pseudo-orientale*.

ویژگی‌ها Characteristics	مولفه اول First component (PCI)	مولفه دوم Second Component (PCII)
طول برگ (سانتی‌متر) Leaf length(cm)	0.32	0.17
عرض برگ (سانتی‌متر) Leaf width (cm)	0.34	- 0.12
تعداد برگ Leaf number	0.22	0.32
طول دمبرگ (سانتی‌متر) Petiole length (cm)	0.13	0.38
تعداد گلبرگ Petal number	0.13	-0.38
قطر گل (سانتی‌متر) Flower diameter (cm)	- 0.35	0.02
تعداد برگه Bract number	0.35	0.05
قطر سر کپسول (سانتی‌متر) Capsule top diameter (cm)	- 0.35	- 0.03
تعداد برچه Carpel number	0.32	-0.17
ارتفاع گیاه (سانتی‌متر) Plant height (cm)	0.23	0.30
محتوای تبائین کپسول capsule thebaine content	- 0.06	- 0.41
محتوای تبائین ریشه Root thebaine content	0.03	-0.41
محتوای تبائین برگ Leaf thebaine content	- 0.27	0.25

محتوای تبائین ساقه	0.29	- 0.22
Stem thebaine content		
مقادیر ویژه	8.01	5.98
Special values		
درصد واریانس کل	57.2	42.8
Percent of total variance		
درصد واریانس تجمعی	57.2	100
Cumulative variance percent		

نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که گوناگونی قابل ملاحظه‌ای از لحاظ صفات ریختی و بیوشیمیایی در میان جمعیت‌های مورد مطالعه گونه *P. pseudo-orientale* وجود دارد که این نظریه را حمایت می‌کند که مقدار تبائین در این گونه می‌تواند زیر تاثیر منشا جغرافیایی و عوامل ژنتیکی قرار گیرد. در این پژوهش تفاوت معنی‌داری از نظر مقدار تبائین در اندام‌های مختلف گیاه مشاهده شد؛ به طوری که کپسول در همه جمعیت‌ها حاوی بالاترین مقدار تبائین بود. در میان جمعیت‌های مورد مطالعه، جمعیت گلشیخان حاوی مقدار تبائین کل بالاتری بود. ارزیابی گونه‌های وحشی می‌تواند بینشی جدید برای مطالعه‌های ژنتیکی جمعیت به منظور محافظت از گوناگونی موجود فراهم کند. همچنین، این اطلاعات می‌تواند برای انتخاب جمعیت با صفات مطلوب مفید باشد. معرفی جمعیت‌های مطالعه شده در این پژوهش به سیستم کشت در شرایط محیطی یکسان به منظور حذف اثر محیط پیشنهاد می‌شود. نتایج این پژوهش می‌تواند برای برنامه‌های اصلاحی این گونه گیاهی ارزشمند مفید واقع شده و در راستای پژوهش‌های بیشتر روی این گونه گیاهی جهت کشت در سیستم‌های کشاورزی مورد استفاده قرار گیرد.

References

منابع

- Acharya, H.S. and V. Sharma. 2009. Molecular characterization of opium poppy (*Papaver somniferum*) germplasm. Am. J. Infect. Dis. 5(2): 148-153.
- Andola, H.C., K.S., Gaira, A., Pandey, I.D., Bhatt and R.S. Rawal. 2019. Influence of habitat characteristics and altitude on berberine content in *Berberis jaeschkeana* CK Schneid. Proc. Natl. Acad. Sci. India Sect B Biol. Sci. 89(3):967-972.
- Andola, H.C., K.S., Gaira, R.S., Rawal, M.S.M. Rawat and I.D., Bhatt. 2010. Habitat-Dependent Variations in Berberine Content of *Berberis asiatica* Roxb. Ex. DC. In Kumaon, Western Himalaya. Chem. Biodivers. 7(2): 415-420.
- Baker, H.G. 1974. The evolution of weeds. Annu Rev Ecol Evol Syst . 5(1): 1-24 .
- Bara, I., C.I., Bara, G. Capraru and E., Truta, 2008. The possible ways of speciation in Papaveraceae family. Analele Stiintifice ale Universitatii "Alexandru Ioan Cuza" din Iasi Sec. II a. Genet Mol. Bio. 8(1).
- Bellaloui, N., A. Mengistu and M.A., Kassem. 2013. Effects of genetics and environment on fatty acid stability in soybean seed. Food Nutr. Sci. 4:165-175
- Bernath, J. 2002. Strategies and Recent Achievements in Selection of medicinal and Aromatic Plants. Acta Hort. PP: 576.
- Bernath, J. 2001. Strategies and recent achievements in selection of medicinal and aromatic plants. In International Conference on Medicinal and Aromatic Plants. J. Appl. Res. Med. Aroma. 576: 115-128.
- Bernáth, J. and P. Tétényi, 1979. The Effect of environmental factors on growth. Development and alkaloid production of Poppy (*Papaver somniferum* L.): I. Responses to day-length and light intensity. Biochem. Physiol. Plant. 174: 468-478.
- Brezinova, B., M. Macak and J., Eftimova. 2009. The morphological diversity of selected traits of world collection of poppy genotypes (genus *Papaver*). J. Cent. Eur. Agr. 10(2): 183-192.
- Carey, D.B. and M., Wink. 1994. Elevational variation of quinolizidine alkaloid contents in a lupine (*Lupinus argenteus*) of the Rocky Mountains. J. Chem. Ecol. 20(4): 849-857.
- Elgorashi, E.E., S.E. Drewes and J. Van Staden. 2002. Organ-to-organ and seasonal variation in alkaloids from *Crinum macowanii*. Fitoterapia. 73(6): 490-495.
- Farjami Nezhad, R., R. Asghari Zakaria, N. Zare and M. Farjami Nezhad. 2012. Study of karyological characteristics in several accessions of *Papaver bracteatum* Lindl. J. Agric. Biotechnol. 3(2): 47-58.
- Giorgi, A., M. Bononi, F. Tateo and M. Cocucci. 2005. Yarrow (*Achillea millefolium* L.) growth at different altitudes in Central Italian alps: biomass yield, oil content and quality. J. Herbs Spices Med. Plants. 11(3): 47-58 .
- Goldblatt, P. 1974. Biosystematic studies in *Papaver* section *Oxytona*. DOI:10.2307/2395056.

16. Gurkok, T., E. Kaymak, G. Boztepe, M. Koyuncu and I. Parmaksiz, 2013. Molecular characterisation of the genus *Papaver* section *Oxytona* using ISSR markers. *Turk. J. Bot.* 37(4): 644-650.
17. Hadian, J., M., Hossein Mirjalili, M. Reza Kanani, A. Salehnia and P. Ganjipoor. 2011. Phytochemical and morphological characterization of *Satureja khuzistanica* Jamzad populations from Iran. *Chem. Biodivers.* 8(5): 902-915.
18. Hosokawa, K., T. Shibata, I. Nakamura and A. Hishida. 2004. Discrimination among species of *Papaver* based on the plastid rpl16 gene and the rpl16-rpl14 spacer sequence. *Forensic Sci. Int.* 139 (2-3): 195-199.
19. Kadereit, J.W. 1993. *Papaveraceae*. In *Flowering Plants: Dicotyledons*: 494-506. Springer, Berlin, Heidelberg.
20. Kambhampati, S., J. Li, B.S. Evans and D.K. Allen. 2019. Accurate and efficient amino acid analysis for protein quantification using hydrophilic interaction chromatography coupled tandem mass spectrometry. *Plant Methods.* 15(1): 46.
21. Koike, T., M. Kitao. A.M. Quoreshi and Y. Matsuura. 2003. Growth characteristics of root-shoot relations of three birch seedlings raised under different water regimes. In *Roots: The Dynamic Interface between Plants and the Earth* (pp. 303-310). Springer, Dordrecht.
22. Le, A., A. Ng, T. Kwan, K. Cusmano-Ozog and T.M. Cowan. 2014. A rapid, sensitive method for quantitative analysis of underivatized amino acids by liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). *J. Chromat. B Biomed. Appl.* 944:166-74.
23. Levy, A., Palevitch, D. and Lavie, D., 1981. Genetic improvement of *Papaver bracteatum*: heritability and selection response of thebaine and seed yields. *Planta Medica.* 43 (09):71-76.
24. Middelthon-Bruer, T.M., A. Gjellstad, K.E. Rasmussen and S. Pedersen- Bjergaard. 2008. Parameters affecting electro membrane extraction of basic drugs. *J. Sep. Sci.* 31(4):753-759.
25. Mihalik, E. 1998. Harwood Academic Publishers. Australia. 7-47.
26. Mohammadi, S.A. and B.M. Prasanna. 2003. Analysis of genetic diversity in crop plants salient statistical tools and considerations. *Crop Scie.* 43(4):1235-1248.
27. Motomura, H., S. Noshiro and M., Mikage. 2007. Variable wood formation and adaptation to the alpine environment of *Ephedra pachyclada* (*Gnetales: Ephedraceae*) in the Mustang District, western Nepal. *Ann. Bot.* 100(2): 315-324.
28. Mozaffarian, V. 1996. A dictionary of Iranin plant, First Edition. Farhang-Moaser Publishing. 393 pages. (In Persian).
29. Németh, E. 2000, May. Needs, problems and achievements of introduction of wild growing medicinal plants into the agriculture. In *Proceedings of the First Conference on Medicinal and Aromatic Plants of Southeast European Countries*. 29: 1-10.
30. Parmaksiz, I. and S. Özcan. 2011. Morphological, chemical, and molecular analyses of Turkish *Papaver* accessions (Sect. *Oxytona*). *Turk. J. Bot.* 35(1): 1-16.
31. Rezaei, M., M.R. Naghavi, A.H. Hoseinzade and A. Abbasi. 2016. Developmental accumulation of thebaine and some gene transcripts in different organs of *Papaver bracteatum*. *Ind. Crop Prod.* 80:262-268.
32. Saniyari, G. 2002. Biodiversity in the alkaloids of Turkish *Papaver* species. *Pure Appl. Chem.* 74: 557-574.
33. Seidi, S., Y. Yamini, A. Heydari, M. Moradi, A., Esrafil and M. Rezazadeh. 2011. Determination of thebaine in water samples, biological fluids, poppy capsule, and narcotic drugs, using electromembrane extraction followed by high-performance liquid chromatography analysis. *Anal. Chim. Acta.* 701(2): 181-188.
34. Shaghghi, A., A. Alirezalu, E. Nazarianpour, A. Sonboli and S. Nejad-Ebrahimi. 2019. Opioid alkaloids profiling and antioxidant capacity of *Papaver* species from Iran. *Ind Crops Prod.* 142:111870.
35. Srinivas, H. and M.N. Rao. 1981. Studies on the proteins of poppy seed (*Papaver somniferum* L.). *J. Agric. Food Chem.* 29(6):1232-1235 .
36. Srinivas, H. and M.N. Rao. 1987. Studies on the low molecular weight proteins of poppy seed (*Papaver somniferum* L.). *J. Agric. Food Chem.* 35(1):12-14.
37. Sultan, S.E. 2001. Phenotypic plasticity for fitness components in *Polygonum* species of contrasting ecological breadth. *Ecology*, 82(2): 328-343 .
38. Szakiel, A., C. Pączkowski and M. Henry. 2011. Influence of environmental abiotic factors on the content of saponins in plants. *Phytochem Rev.* 10(4): 471-491.
39. Woldegiorgis, A. Z., D. Abate, G.D. Haki, G.R. Ziegler and K.J. Harvatine. 2015. Fatty acid profile of wild and cultivated edible mushrooms collected from Ethiopia. *J. Nutr. Food Sci.* 5(3): 1-5.
40. Yang, L., K.S. Wen, X. Ruan, Y.X. Zhao, F. Wei, and Q. Wang. 2018. Response of plant secondary metabolites to environmental factors. *Molecules*, 23 (4): 762.

Morphological and Biochemical Diversity among Different Populations of *Papaver pseudo-orientale* Medw. in the Northwest of Iran

A. Nematolahi, F. Raouf Fard*, M. J. Saharkhiz*, A. R. Khosravi, G. Kavooosi and A. Karami¹

Papaver pseudo-orientale Medw is a hexaploid plant with 42 chromosomes found in the northwest of Iran and throughout eastern Turkey. In this study, three populations of *P. pseudo-orientale* species were collected from three habitats (Solik, Golshikhan, and Qotur) in West Azerbaijan province, and their morphological characteristics as well as amino acids, fatty acids, and thebaine contents were measured. The results showed that within all three populations, petiole length had the highest variability. The distance between two lobes of leaf and petiole length as two important features had the highest coefficient of variation among examined populations. In the studied populations, the highest amount of thebaine was found in the plant capsules. In this regard, Golshikhan population showed the highest amount of thebaine concentration in capsule. Also, this population was superior to other studied populations in term of thebaine amount in roots. The highest total amount of amino acids in stems and leaves were observed in Golshikhan and Solik populations, respectively. The results of this study might be applied for breeding programs of this species and could be used for domestication of this valuable alkaloid containing plant.

Keywords: *Papver pseudo-orientale*, Morphology, Thebaine, Amino acids, Diversity

1. Ph.D. Student and Assistant Professor, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Shiraz University, Professor, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Shiraz University, and Medicinal Plants Processing Research Center, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran, Professor, Department of Biology, Faculty of Sciences, Shiraz University, Professor, Institute of Biotechnology and Associate Professor, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran, respectively.

*Corresponding authors, Email: (fraouffard@shirazu.ac.ir and saharkhiz@shirazu.ac.ir).