بررسی تنوع مورفولوژیکی و آلکالوئیدهای تروپانی در برخی از جمعیت‌های بذرالبنج (*Hyoscyamus niger* L.)

منصور قربانپور[1]*، حسین صالحی ارجمند[2]، مهرناز حاتمی[2]، ناصر حسینی[3]

۱- دانشیار، گروه گیاهان دارویی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه اراک، اراک، ایران
۲- استادیار، گروه گیاهان دارویی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه اراک، اراک، ایران
۳- مربی، گروه گیاهان دارویی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه اراک، اراک، ایران
*آدرس مکاتبه: اراک، دانشگاه اراک، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، گروه گیاهان دارویی
کدپستی: ۳۸۱۵۶-۸-۸۳۴۹
تلفن: ۳۲۶۲۳۴۲۰ (۰۸۶)، نمابر: ۳۲۷۷۱۴۴۶ (۰۸۶)
پست الکترونیک: m-ghorbanpour@araku.ac.ir ،m_ghorbanpour@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۹۶/۹/۱۲ **تاریخ تصویب:** ۹۶/۱۲/۶

چکیده

مقدمه: گیاه بذرالبنج با نام علمی ***Hyoscyamus niger*** با انتشار جغرافیایی نسبتاً وسیعی که دارد یکی از مهم‌ترین گونه‌های حاوی آلکالوئیدهای تروپانی به شمار می‌رود.

هدف: در تحقیق حاضر تنوع مورفولوژیکی و آلکالوئیدهای تروپانی در برخی جمعیت‌های بذرالبنج در رویشگاه‌های طبیعی کشور مورد بررسی قرار گرفتند.

روش بررسی: در کل ۵۶ نمونه از ۷ جمعیت واقع در ۷ استان مختلف جمع‌آوری و بررسی‌های مورد نظر انجام گرفت. استخراج آلکالوئیدها به روش اختصاصی و بوسیله حلال‌های مختلفی انجام شد. آلکالوئیدهای اسخراج شده پس از آماده‌سازی، به دستگاه کروماتوگرافی گازی تزریق شد و نوع آلکالوئیدهای تشکیل‌دهنده آنها مشخص شد.

نتایج: نتایج نشان داد که جمعیت‌های مورد مطالعه از نظر تمامی شاخص‌های اندازه‌گیری شده، تفاوت معنی‌داری داشتند. بیشترین مقدار وزن خشک برگ، ساقه، شاخساره، کل گیاه و تعداد برگ در گیاه مربوط به جمعیت گیلان بود. در حالی که بیشترین (۶۱/۲۹ سانتی‌متر) و کمترین (۱۶/۹۶ سانتی‌متر) ارتفاع گیاه و نیز حداکثر (۱۶/۱۳) و حداقل (۵/۷۵) تعداد شاخه‌های جانبی به ترتیب در جمعیت‌های زنجان و قم مشاهده شد. محتوی هیوسیامین از ۰/۱۸۸ گرم در گیاه (در جمعیت زنجان) تا ۰/۹۱۶ گرم در گیاه (در جمعیت قم) و متوسط میزان ۰/۵ گرم در گیاه تغییر داشت. نسبت اسکوپولامین به هیوسیامین در جمعیت زنجان از بیشترین (۱/۸۰) و جمعیت قم از کمترین (۰/۰۴۹) مقدار برخوردار بودند. همچنین، بین محتوی هیوسیامین و ارتفاع گیاه همبستگی منفی و معنی‌دار (**۰/۵۰-) وجود داشت.

نتیجه‌گیری: در این مطالعه، نتایج تجزیه کلاستر و بای پلات وجود تنوع مورفولوژیکی و متابولیتی داخل و بین جمعیت‌های جمع آوری شده بذرالبنج را تأیید نمود.

گل‌واژگان: بذرالبنج، آلکالوئید، اسکوپولامین، تنوع، جمعیت، هیوسیامین

www.SID.ir

مقدمه

گیاهان دارویی منابعی غنی از متابولیت‌های ثانویه هستند. در میان متابولیت‌های ثانویه گیاهان، آلکالوئیدها گروه مهمی را تشکیل می‌دهند. گروهی از آلکالوئیدها به نام آلکالوئیدهای تروپان به طور عمده در گیاهان تیره سیب‌زمینی یافت می‌شوند. یکی از جنس‌های مهم تیره سیب‌زمینی، جنس بنگ‌دانه (هیوسیاموس) می‌باشد که ۹ گونه آن منحصراً در ایران و ۱۸ گونه در ایران و کشورهای اطراف پراکندگی دارند. شناخته شده ترین تروپان آلکالوئیدها را می‌توان هیوسیامین و اسکوپولامین (هیوسین) را نام برد [۲، ۱].

اهمیت اقتصادی هیوسیامین و اسکوپولامین به کاربردهای دارویی آنها مرتبط است. هر دو آلکالوئید به دلیل توانایی‌شان برای مهار فعالیت سیستم عصبی پاراسمپاتیک به عنوان سدکننده فعالیت رشته‌های عصبی پاراسمپاتیک استفاده می‌شوند. تا امروز، مواد گیاهی یگانه منبع این ترکیبات باقی مانده‌اند [۳]. هیوسیامین در درمان بیماری‌های اعصاب و روان و همچنین در تهیه داروهای ضد تهوع و ضد دریازدگی کاربرد فراوانی دارد. این آلکالوئید در انبساط مردمک چشم کاربرد دارد. از این آلکالوئید برای برطرف کردن حالت‌های اسپاسم و در بیماری‌های مسافرتی نیز استفاده می شود. اسکوپولامین دارای خاصیت آرام‌کننده سلسله عصبی با اثر بسیار قوی است و از آن برای تسکین ناراحتی‌های عصبی، پارکینسون و لرزش‌های زمان کهولت استفاده می‌شود. اسکوپولامین خواب‌آور است و می‌توان با به کارگیری آن اثر مورفین را تقویت کرد. این آلکالوئید دارای اثر قوی بازکننده مردمک چشم است [۴].

تشکیل این آلکالوئیدهای تروپان در سلول‌های کشت شده گیاهان تیره سیب‌زمینی گزارش شده است، اما محتویات آلکالوئیدی آنها عموماً خیلی کمتر از محتویات آلکالوئیدی گیاهی است [۵]. نسبت هر یک از آلکالوئیدهای تروپان در بین گونه‌ها، زمان‌های مختلف سال، محل رویش و بخش‌ها و اندام‌های مختلف یک گونه گیاهی متفاوت است [۶]. فعالیت فعالیت‌هایی بیولوژیکی آلکالوییدها در گیاهان به وضوح شناخته شده نیست، اما مشخص شده است که آنها برای انجام چند فعالیت مختلف در گیاهان تولید می‌شوند به صورتی که نظریه‌های زیادی در این زمینه ارایه شده است [۸، ۷]. به طور طبیعی هیوسیامین، آلکالوئید فراوان‌تری در گیاهان است در حالی که اسکوپولامین فقط در گونه‌های محدودی به مقدار بیشتر تولید می‌شود.

تاکنون مطالعه‌ای با هدف بررسی تنوع مورفولوژیکی و متابولیتی در بین جمعیت‌های مختلف گیاه دارویی بذرالبنج انجام نشده است. لیکن، اطمینان و همکاران [۹] در ارزیابی تنوع ژنتیکی (با استفاده از مارکر AFLP و retro/AFLP) در بین ۴۵ توده از جنس هیوسیاموس نشان دادند که پلی‌مورفیسم قوی بین این توده‌ها که نشان از کارآیی این مارکرها در بررسی تنوع ژنتیکی است وجود دارد. همچنین، در مطالعات صورت گرفته توسط دیلمقانی و همکاران، میزان آلکالوئیدهای تروپان هیوسیامین و اسکوپولامین در مراحل مختلف رشد رویشی، گلدهی و میوه‌دهی از دو منطقه در آذربایجان و از اندام‌های مختلف *H. pusillus* L. مورد سنجش قرار گرفته است. این محققین اعلام نموده‌اند که آلکالوئید غالب در بخش‌های گوناگون این گیاه در مراحل مختلف رشد، به استثنای بذرها، هیوسیامین است. همچنین نشان داده‌اند که برخی عوامل محیطی مانند ارتفاع منطقه، میزان نیتروژن، فسفر و پتاسیم خاک روی میزان تولید آلکالوئیدهای تروپان در این گیاه تأثیر می‌گذارند [۱۰]. تأیید تفاوت‌های کمی مشخص درون یک جنس به روشنی می‌تواند نشان دهد که خزانه اختلاف‌های ژنتیکی بزرگی در میان گونه‌های جنس هیوسیاموس وجود دارد که می تواند در تولید تروپان آلکالوئیدها به کارگرفته شود. این تفاوت تا اندازه‌ای بازتاب اثرات انتقال و ذخیره و نیز توانایی بیوسنتزی گیاهان می‌باشد. در گیاهان تیره سیب‌زمینی، تروپان آلکالوئیدها در ریشه ساخته می‌شوند و از آنجا مقادیر زیادی، گاهی با تغییر همزمان، ممکن است به بخش‌های هوایی منتقل شوند [۱۱]. از طرف دیگر اگرچه سنتز این مواد در اصل تحت کنترل فرآیندهای ژنتیکی است، ولی به طور آشکار تحت تأثیر عوامل محیطی و تغییرات آنها قرار می‌گیرند. بنابراین از آنجایی که عوامل محیطی نقش عمده‌ای در فرایند بیوسنتزی متابولیت‌های ثانویه دارند، باید به بررسی تأثیر آنها روی این فرآورده‌ها پرداخت.

Archive of SID
www.SID.ir

کشور پهناور ایران که دارای اقلیم‌های متنوعی می‌باشد، از لحاظ تعداد گونه‌های گیاهی بسیار غنی است و در این میان گونه‌های مختلف گیاه بنگ‌دانه (*Hyoscyamus* spp.) از گونه های بارز پوشش گیاهی ناحیه ایرانو-تورانی محسوب می‌شوند. گونه *Hyoscyamus niger*، نیز با انتشار جغرافیایی نسبتاً وسیعی که دارد یکی از مهم ترین گونه‌ها در استخراج آلکالوئیدها به شمار می‌رود. بنابراین پژوهش حاضر، با در نظر گرفتن اهمیت دارویی تروپان آلکالوئیدها و شناسایی و حفظ ذخایر ژنتیکی کشور از لحاظ توانایی تولید این دسته از ترکیبات دارویی، تنوع مورفولوژیکی و تغییرات تروپان آلکالوئیدهای برخی از جمعیت‌های بذرالبنج در کشور مورد بررسی قرار گرفتند.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

در این پژوهش، ۵۶ نمونه از گیاهان جمعیت‌های متعلق به مناطق تهران (فیروزکوه)، گلستان (مراوه تپه)، مازندران (سیاه بیشه)، قم (اتوبان قم-تهران)، گیلان (سیاهکل)، زنجان (طارم) و همدان (رزن) در مرحله گلدهی (از هر جمعیت ۸ نمونه) برداشت شدند. ابتدا مراکز پراکنش آنها از روی فلور ایرانیکا، گزارش مطالعات قبلی محققین [۱۲] و بازدیدهای همکاران طرح حاضر مشخص شد. نقشه پراکنش جمعیت‌های مورد مطالعه در شکل شماره ۱، و مشخصات اقلیمی، جغرافیایی و خاکی این مناطق در جدول شماره ۱ نشان داده شده است. در این تحقیق شناسایی گونه موردنظر برای مطالعه صفات، از طریق جمع‌آوری نمونه‌های هرباریومی توسط گیاه‌شناس گروه گیاهان دارویی دانشکده کشاورزی دانشگاه اراک انجام شد. بوته‌ها در مرحله گلدهی از سطح خاک برداشت و از برگ‌ها و سرشاخه‌های گلدار آنها جهت استخراج آلکالوئیدها استفاده شد. فاصله بین نمونه‌های برداشت شده در هر جمعیت حداقل ۱۰۰ متر بود. در این بررسی صفات مورفولوژیکی (ارتفاع بوته، تعداد برگ، تعداد شاخه‌های جانبی، وزن خشک ساقه، برگ، شاخساره، ریشه‌های ظریف و ضخیم، کل ریشه، و کل بوته) و صفات فیتوشیمیایی شامل آلکالوئیدهای تروپان (محتوی و عملکرد هیوسیامین، اسکوپولامین، نسبت اسکوپولامین به هیوسیامین، و عملکرد کل آلکالوئیدها) مورد ارزیابی قرار گرفت. بوته‌های برداشت شده، به بخش‌های ریشه و شاخساره (ساقه و برگ) جدا و بخش ریشه آن پس از شستشو به دو قسمت ریشه‌های ظریف (با قطر مساوی و کمتر از ۱ میلی‌متر) و ضخیم (با قطر بیشتر از ۱ میلی‌متر) تقسیم و وزن خشک آنها اندازه‌گیری شد.

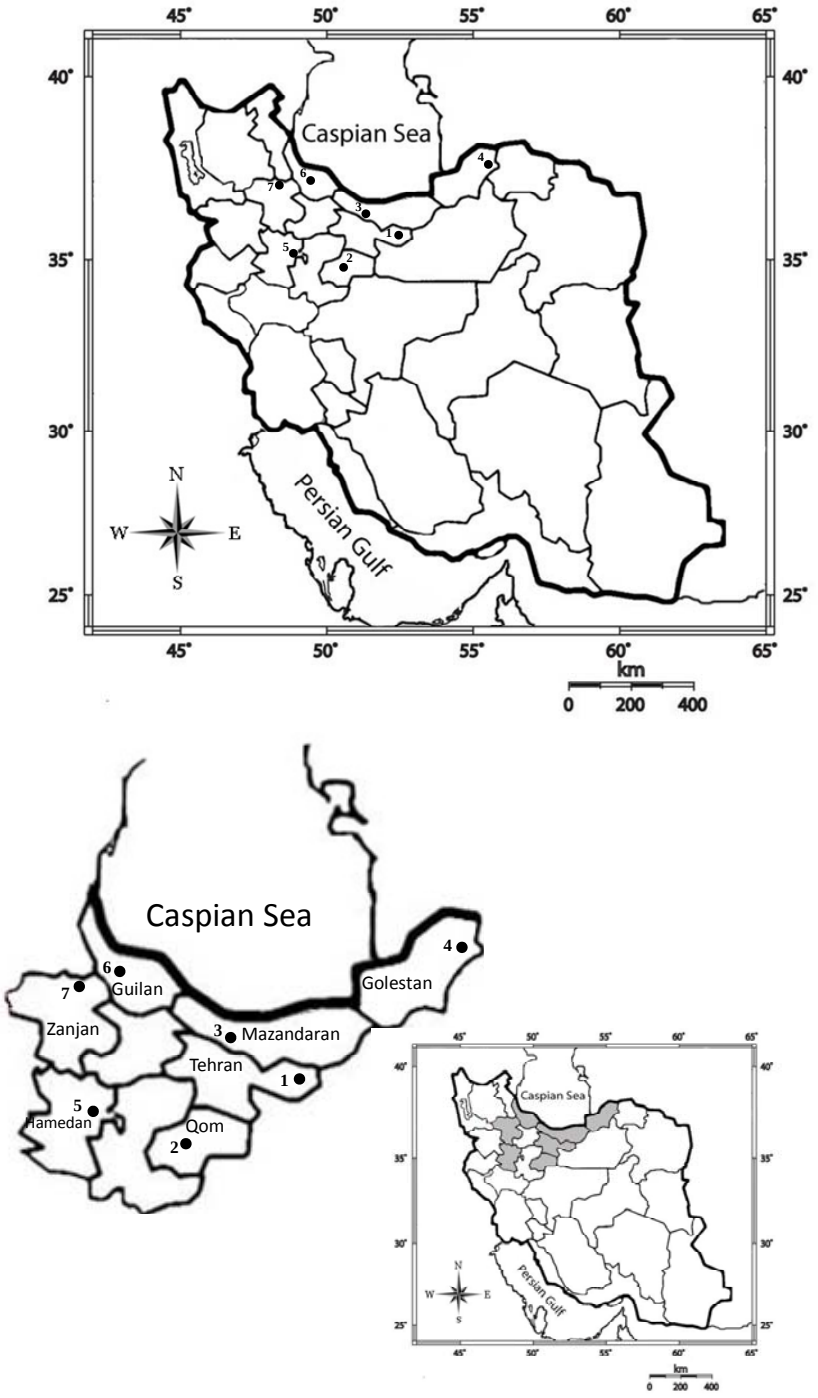
آماده‌سازی نمونه‌های گیاهی

پس از این که نمونه‌های ریشه و شاخساره برداشت شدند بلافاصله آنها در سایه در معرض خشک شدن قرار گرفتند. عمل خشک کردن آنقدر ادامه یافت تا گیاه براحتی به صورت پودر در آمد (رطوبت در حدود ۲ درصد). پس از پودر کردن مواد گیاهی با آسیاب برقی، جهت الک کردن آن از مش آزمایشگاه (اندازه ۳۰ و قطر دهانه روزنه ۵۴۵ میکرومتر)، استفاده شد [۱۴، ۱۳].

استخراج و آنالیز آلکالوئیدها

استخراج آلکالوئیدها به روش اختصاصی و بوسیله حلال‌های مختلفی انجام شد [۱۵]. در این روش ۲ گرم از ماده خشک گیاهی با ترکیب کلروفرم- متانول- آمونیاک ۲۵ درصد به نسبت ۱: ۵: ۱۵ و به مدت ۱۰ دقیقه در معرض اولتراسونیک قرار گرفت. سپس نمونه به حمام آب گرم (۴۰ درجه سانتی گراد) به مدت ۱ ساعت انتقال داده شد. عصاره حاصل، از کاغذ صافی عبور داده شد و روی صافی دو بار با ۱۰ میلی‌لیتر کلروفرم شستشو شد. فاز کلروفرمی به کمک دستگاه تبخیرکننده دوار خشک شد. سپس ۲۵ میلی‌لیتر کلروفرم و ۱۰ میلی‌لیتر اسید سولفوریک ۱ نرمال به آن اضافه و کاملاً به هم زده شد. بعد فاز کلروفرمی جدا و دور ریخته شد و فاز آبی حاوی آلکالوئیدها تا pH =۱۰-۱۱ با محلول آمونیاک ۲۵ درصد تنظیم شد. آلکالوئیدها یکبار با ۲۵ میلی‌لیتر و دوبار با ۱۰ میلی‌لیتر کلروفرم استخراج شدند. حاصل با سدیم سولفات

Archive of SID
www.SID.ir



شکل شماره ۱- نقشه مکان‌های جمع‌آوری نمونه‌های مختلف بذرالبنج (*H. niger*) در این مطالعه

www.SID.ir

جدول شماره ۱- مشخصات جغرافیایی، اقلیمی و خاکی مناطق جمع‌آوری نمونه‌های بذر البنج (*H. niger*)

خصوصیات اقلیمی	جمعیت							
	تهران (فیروزکوه)	قم (اتویان)	مازندران (سیاه بیشه)	گلستان (مراوه تپه)	همدان (رزن)	گیلان (سیاهکل)	زنجان (طارم)
عرض جغرافیایی (N)	″۲۰ ′۴۶ °۳۵	″۲۰ ′۴۰ °۳۴	″۵۶ ′۱۳ °۳۶	″۴۴ ′۵۳ °۳۷	″۰۵ ′۲۴ °۳۵	″۵۷ ′۰۹ °۳۷	″۲۰ ′۰۲ °۳۷
طول جغرافیایی (E)	″۵۶ ′۴۵ °۵۲	″۲۷ ′۵۲ °۵۰	″۲۶ ′۱۸ °۵۱	″۴۶ ′۵۷ °۵۵	″۱۹ ′۰۲ °۴۹	″۲۵ ′۵۲ °۴۹	″۵۰ ′۴۵ °۴۸
ارتفاع از سطح دریا (m)	۲۰۲۶/۴	۹۲۳/۲	۱۹۰۸	۲۳۹/۱	۱۸۵۸/۵	۳۳/۴	۴۹۱
متوسط درجه حرارت سالانه (°C)	۹/۷	۲۶/۴	۹/۰	۱۸/۱	۱۱/۴	۱۵/۸	۱۷/۶
متوسط بارندگی سالانه (mm)	۳۶۴	۱۳۸	۹۵۰	۲۵۰	۳۰۰	۱۲۲۱	۲۵۰
خصوصیات خاکی							
بافت خاک	لمون شنی	شنی	لمون رسی	لمون رسی لای	لمون شنی	رسی لای	لمون رسی شنی
درصد عصاره اشباع (٪)	۵۲	۴۶	۴۳	۳۵	۵۶	۳۱	۳۳
هدایت الکتریکی (dS/m)	۱/۲۶	۱/۱۹	۰/۸۷	۰/۶۷	۲/۱۴	۰/۶۵	۱/۸۱
اسیدیته (pH)	۷/۸	۷/۹	۷/۲	۷/۵	۷/۸	۶/۵	۸/۲
کربن آلی (٪)	۱/۲۴	۰/۱۱	۰/۱۳	۰/۶۲	۰/۵۹	۲/۱۴	۰/۵۸
نیتروژن کل (٪)	۰/۱۰۳	۰/۰۸۹	۰/۰۹۴	۰/۲۲۸	۰/۱۲۳	۰/۲۴۳	۰/۱۴۵
فسفر (ppm)	۵/۶	۵/۱	۴/۶	۴/۲	۳/۷	۶/۳	۲/۹
پتاسیم (ppm)	۱۲۰	۹۰	۱۳۰	۲۱۵	۱۲۵	۶۵	۳۵۰

www.SID.ir

انیدر آبگیری و صاف شد. روی صافی با ۱۰– ۲۰ میلی‌لیتر کلروفرم شستشو و نمونه حاصل قبل از آنالیز با دستگاه GC در ۱–۲ میلی‌لیتر متانول HPLC حل شد. آلکالوئیدهای استخراج شده پس از آماده‌سازی به مقدار ۱ میکرولیتر به دستگاه GC تزریق شدند تا نوع ترکیب‌های تشکیل‌دهنده آنها مشخص شود. دستگاه گاز کروماتوگرافی استفاده شده از نوع Acme 6000 GC با ستون به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه ۰/۲۵ میکرومتر از نوع HP-5 MS بود [۱۵، ۱۴].

برنامه دمایی ستون به این نحو تنظیم شد: دمای ابتدایی آون ۵۰ درجه سانتی‌گراد و توقف در این دما به مدت ۵ دقیقه، گرادیان حرارتی ۳ درجه سانتی‌گراد در هر دقیقه، افزایش دما تا ۲۴۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۱۵ درجه در هر دقیقه، افزایش دما تا ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد و سه دقیقه توقف در این دما. دمای اتاقک تزریق ۲۹۰ درجه سانتی‌گراد بود و از گاز هلیوم به عنوان گاز حامل با سرعت جریان ۰/۸ میلی‌لیتر در دقیقه استفاده شد. شناسایی آلکالوئیدهای هیوسیامین و اسکوپولامین بر اساس مقایسه زمان بازداری دستگاه GC با داده‌های طیف جرمی و استانداردهای مربوطه آنها انجام شد. محتوی یا درصد نسبی هر کدام از این ترکیبات با توجه به سطح زیر منحنی آن در کروماتوگرام GC به دست آمد. عملکرد این آلکالوئیدها با توجه به محتوی آنها و تولید بیوماس گیاهی از رابطه زیر محاسبه شد [۱۴]:

عملکرد آلکالوئید (میلی‌گرم در گیاه) = محتوی آلکالوئید (٪ ماده خشک) × وزن خشک (میلی‌گرم)

روش تجزیه و تحلیل اطلاعات و محاسبات آماری

محاسبات آماری و تجزیه واریانس تمام صفات مذکور شامل صفات مورفولوژیکی و فیتوشیمیایی با نرم‌افزار SAS صورت گرفت. محاسبه ضرایب همبستگی صفات مورد بررسی از روش پیرسون و نرم‌افزار SPSS انجام گرفت. همچنین تجزیه به عامل‌ها (PCA) نیز با نرم‌افزار SPSS انجام شد. تجزیه کلاستر (UPGMA) به روش فاصله اقلیدوسی و همچنین آنالیز بای پلات با استفاده از نرم‌افزار PAST صورت گرفت [۱۶]. تنوع بین جمعیت‌ها بر اساس خصوصیات مورفولوژیکی و متابولیتی از طریق آنالیز AMOVA با استفاده از نرم‌افزار GenAIEx نسخه ۶/۳ انجام شد [۱۷]. ضریب تغییرات (CV٪) به عنوان شاخص پراکندگی و تنوع در نظر گرفته شد.

نتایج

پس از جمع‌آوری اطلاعات، با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS Institute و در قالب یک طرح آماری آشیانه‌ای (Nested ANOVA) تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها انجام شد. جمعیت‌های مورد مطالعه از نظر تمامی شاخص‌های اندازه‌گیری شده تفاوت معنی‌داری داشتند.

میانگین صفات مورفولوژیکی (وزن خشک ریشه‌های ظریف، ریشه‌های ضخیم، کل ریشه، برگ، ساقه، کل شاخساره، کل گیاه، تعداد شاخه‌های جانبی، تعداد برگ و ارتفاع گیاه) در بین جمعیت‌های مختلف و نیز حداقل، حداکثر، متوسط، انحراف استاندارد و ضریب تغییرات این ده متغییر مورفولوژیکی در جدول ۲ نشان داده شده است.

بیشترین (۱۷/۹۶ گرم) و کمترین (۱/۶۹ گرم) وزن خشک ریشه‌های ظریف به ترتیب در جمعیت‌های گیلان و قم مشاهده شد، در حالی که حداکثر (۲۸/۰۴ گرم) و حداقل (۹/۹۶ گرم) مقدار وزن خشک ریشه‌های ضخیم به ترتیب در جمعیت‌های قم و گیلان به دست آمد. صفاتی که دارای ضریب تغییرات بالایی هستند محدوده وسیع‌تری از کمیت صفت را دارا هستند و دامنه انتخاب وسیع‌تری برای آن صفت محسوب می شود. ارزیابی درصد ضریب تغییرات (CV٪) به طور آشکار نشان می‌دهد که مقدار وزن خشک ریشه‌های ظریف دارای بیشترین تغییرات (۶۹/۰۷ درصد) و وزن خشک کل گیاه دارای کمترین تغییرات (۲۹/۹۶ درصد) بین جمعیت‌های مورد مطالعه است (جدول شماره ۲). همچنین بیشترین (۴۵/۹۹ درصد) و کمترین (۱۵/۴۴ درصد) ضریب تغییرات مربوط به مقدار ریشه‌های ظریف به ترتیب در جمعیت‌های قم و تهران مشاهده شد (جدول شماره ۳).

Archive of SID
www.SID.ir

جدول شماره ۲- نتایج مقایسه میانگین صفات مورفولوژیک مورد مطالعه و ضریب تغییرات (CV%) افراد درون جمعیت‌های مختلف بذرالبنج (*H. niger*)

صفت	واحد	جمعیت							ضریب تغییرات (٪)
		تهران (فیروزکوه)	قم (اقویان)	مازندران (سیاه‌بیشه)	گلستان (مراوه تپه)	همدان (رزن)	گیلان (سیاهکل)	زنجان (طارم)	حداقل	حداکثر	میانگین	انحراف استاندارد	
وزن خشک ریشه‌های ظریف	گرم	۵/۷۴±۰/۲	۱/۶۹±۰/۱	۸/۲۴±۰/۳	۳/۵۱±۰/۲	۱۳/۵۶±۰/۵	۱۷/۹۶±۰/۸	۱۵/۹۰±۰/۷	۰/۸	۲۳/۲	۹/۴۱	۶/۵۰	۶۹/۰۷
وزن خشک ریشه‌های ضخیم	گرم	۱۱/۰۱±۸/۰	۸۲/۰۴±۱/۴	۱۶/۰۱±۱/۰	۱۳/۱۶±۰/۶	۲۲/۰۲±۱/۲	۹/۹۶±۰/۴	۱۸/۶۹±۱/۱	۵/۸	۳۷/۳	۱۶/۹۶	۷/۱۱	۴۱/۹۲
وزن کل ریشه	گرم	۷۵/۱۶±۳/۱	۲۹/۷۳±۱/۸	۲۴/۲۵±۱/۷	۱۶/۶۸±۱/۴	۳۵/۵۹±۳/۴	۲۷/۹۳±۲/۱	۳۴/۵۹±۲/۵	۱۳/۸	۴۳/۲	۲۶/۳۷	۸/۴۹	۳۲/۱۹
وزن خشک برگ	گرم	۴۶/۱۵±۹/۰	۱۸/۰۹±۱/۲	۲۵/۱۱±۱/۹	۲۲/۴۳±۱/۶	۳۰/۵۹±۲/۲	۴۲/۲۹±۳/۴	۳۴/۴۹±۲/۷	۱۲/۸	۴۹/۲	۲۶/۸۰	۹/۴۲	۳۵/۱۴
وزن خشک ساقه	گرم	۷۶/۱۱±۶/۰	۷/۶۱±۰/۳	۱۷/۴۱±۰/۸	۲۰/۳۰±۱/۳	۲۶/۴۸±۱/۲	۳۱/۳۰±۱/۶	۲۸/۴۰±۱/۴	۵/۳	۳۸/۵	۲۰/۳۴	۸/۷۰	۴۲/۷۷
وزن خشک کل شاخساره	گرم	۲۳/۲۷±۴/۱	۲۵/۷۰±۱/۲	۴۲/۵۳±۲/۵	۴۲/۷۳±۲/۳	۵۷/۰۶±۲/۶	۷۳/۵۹±۳/۲	۶۲/۸۹±۳/۶	۲۱/۲	۸۰/۵	۴۷/۱۴	۱۷/۳۵	۸۰/۴۶
وزن خشک کل بوته	گرم	۹۸/۴۳±۲/۲	۵۵/۴۳±۲/۴	۶۶/۷۸±۳/۲	۵۹/۴۰±۲/۶	۹۲/۶۵±۳/۶	۱۰۱/۵۲±۴/۷	۹۷/۴۸±۴/۱	۳۹/۱	۱۱۴/۵	۷۳/۵۱	۲۲/۰۳	۹۶/۲۹
تعداد شاخه‌های جانبی	تعداد	۱۰/۵۰±۰/۴	۵/۷۵±۰/۳	۷/۵۰±۰/۶	۹/۰۰±۰/۷	۱۳/۲۵±۱/۱	۱۰/۲۵±۰/۹	۱۶/۱۳±۱/۲	۴/۰	۲۱/۰	۱۰/۲۵	۳/۸۷	۳۵/۷۵
تعداد برگ	تعداد	۱۹/۷۵±۱/۱	۱۴/۳۸±۰/۸	۲۴/۷۵±۱/۶	۱۶/۷۵±۱/۶	۲۷/۰۰±۲/۱	۳۳/۶۳±۲/۸	۲۹/۲۵±۲/۷	۸/۰	۴۲	۲۳/۵۵	۸/۲۳	۳۴/۹۴
ارتفاع گیاه	سانتی متر	۲۷/۶۴±۱/۲	۱۶/۹۶±۰/۶	۳۸/۳۱±۲/۴	۳۳/۷۱±۱/۹	۴۵/۳۰±۲/۱	۵۲/۳۱±۳/۶	۶۱/۲۹±۴/۳	۱۰/۲	۶۸/۲	۳۸/۸۲	۱۴/۸۰	۳۸/۱۲

www.SID.ir

جدول شماره ۳- نتایج بررسی توصیفی (Descriptive) صفت وزن خشک ریشه‌های ضریف و ضریب تغییرات (CV%) آن در بین جمعیت‌های مختلف بذرالبنج (*H. niger*)

ردیف	جمعیت	حداقل	حداکثر	میانگین	انحراف استاندارد	ضریب تغییرات (٪)
۱	تهران (فیروزکوه)	۴/۲	۶/۷	۵/۷۳	۰/۸۸	۱۵/۴۴
۲	قم (اتوبان)	۰/۸	۲/۷	۱/۶۹	۰/۷۷	۴۵/۹۹
۳	مازندران (سیاه بیشه)	۱۳/۵	۲۳/۲	۱۷/۹۶	۳/۷۳	۲۰/۸۱
۴	گلستان (مراوه‌تپه)	۹/۶	۱۸/۸	۱۳/۵۶	۳/۴۳	۲۵/۳۲
۵	همدان (رزن)	۴/۶	۱۴/۷	۸/۲۴	۳/۷۸	۴۵/۹۸
۶	گیلان (سیاهکل)	۱۱/۴	۲۳/۱	۱۵/۹	۴/۵۶	۲۸/۷۴
۷	زنجان (طارم)	۲/۸	۴/۶	۳/۵۱	۰/۶۴	۱۸/۳۰

همچنین، نتایج نشان داد که بیشترین مقدار وزن خشک برگ، ساقه، کل شاخساره، کل گیاه و حداکثر تعداد برگ گیاه بذرالبنج مربوط به جمعیت گیلان بود. در حالی که بیشترین (۶۱/۲۹ سانتی‌متر) و کمترین (۱۶/۹۶ سانتی‌متر) ارتفاع گیاه و نیز حداکثر (۱۶/۱۳) و حداقل (۵/۷۵) تعداد شاخه‌های جانبی به ترتیب در جمعیت‌های زنجان و قم مشاهده شد (جدول شماره ۲).

میانگین صفات فیتوشیمیایی (محتوی هیوسیامین، اسکوپولامین، عملکرد هیوسیامین، اسکوپولامین، نسبت اسکوپولامین به هیوسیامین و عملکرد آلکالوئیدهای کل) در بین جمعیت‌های مختلف و نیز حداقل، حداکثر، متوسط، انحراف استاندارد و ضریب تغییرات این هشت متغییر متابولیتی در جدول شماره ۴ شماره نشان داده شده است.

محتوی هیوسیامین از ۰/۱۸۸ گرم در گیاه (در جمعیت زنجان) تا ۰/۹۱۶ گرم در گیاه (در جمعیت قم) و متوسط میزان ۰/۵۰۰ گرم در گیاه تغییر داشت. همچنین، بیشترین میزان اسکوپولامین (۰/۴۹۳ گرم در گیاه) در جمعیت گیلان مشاهده شد. علاوه بر این، بیشترین عملکرد تروپان آلکالوئیدهای هیوسیامین (۶۸/۳۷ گرم در گیاه)، اسکوپولامین (۴۹/۷۵ گرم در گیاه) و عملکرد آلکالوئیدهای کل (۱۱۸/۱ گرم در گیاه) در جمعیت گیلان به دست آمد. در مورد صفت نسبت اسکوپولامین به هیوسیامین جمعیت زنجان از بیشترین (۱/۸۰) و جمعیت قم از کمترین (۰/۰۴۹) مقدار برخوردار بودند.

همان‌طوری که ملاحظه می‌شود تغییرات قابل ملاحظه‌ای بین تروپان آلکالوئیدها در جمعیت‌های مورد مطالعه بذرالبنج مشاهده شد (جدول شماره ۴). در بین آلکالوئیدها، حداکثر ضریب تغییر مربوط به عملکرد اسکوپولامین (۹۰/۹۶ درصد) بود، هرچند صفت نسبت اسکوپولامین به هیوسیامین بیشترین ضریب تغییرات (۱۰۳/۸ درصد) را داشت. لازم به ذکر است که از نظر محتوی آلکالوئیدها نیز بیشترین تغییر (۷۲/۲۲ درصد) در محتوی اسکوپولامین مشاهده شد. همچنین بیشترین (۹۵/۲۸ درصد) و کمترین (۱۸/۷۴) ضریب تغییرات نسبت اسکوپولامین به هیوسیامین به ترتیب در جمعیت‌های قم و تهران مشاهده شد (جدول شماره ۵).

همبستگی بین این صفات در جدول شماره ۶ ارائه شده است. ضرایب همبستگی ساده بین صفات نشان داد که برخی از صفات همبستگی معنی‌داری با هم داشتند. در بین صفات مورفولوژیکی، بیشترین همبستگی مثبت و معنی دار به ترتیب بین وزن خشک کل شاخشساره و وزن خشک برگ (**۰/۹۶)، وزن خشک کل شاخشساره و وزن خشک ساقه (**۰/۹۵)، وزن خشک گیاه و وزن خشک کل شاخساره (**۰/۹۳)، وزن خشک گیاه و وزن خشک برگ (**۰/۹۰)، وزن خشک کل شاخساره و ارتفاع گیاه (**۰/۸۴) و وزن خشک ریشه‌های ظریف و وزن خشک گیاه (**۰/۸۴) مشاهده شد. همچنین بین وزن خشک ساقه و وزن خشک ریشه‌های ضخیم همبستگی منفی و معنی‌دار (*۰/۲۹-) وجود داشت (جدول شماره ۶).

Archive of SID
www.SID.ir

جدول شماره ۴- نتایج مقایسه میانگین صفات متابولیتی مورد مطالعه و ضریب تغییرات (CV%) افراد درون جمعیت‌های مختلف بذرالبج (*H. niger*)

صفت	واحد	جمعیت								ضریب تغییرات (٪)	انحراف استاندارد	میانگین	حداکثر	حداقل
		تهران (فیروزکوه)	قم (قویان)	مازندران (سیاه بیشه)	گلستان (مراوه تپه)	همدان (رزن)	گیلان (سیاهکل)	زنجان (طارم)						
محتوی هیوسیامین	درصد ماده خشک	۰/۴۵۵±۰/۰۵	۰/۹۱۶±۰/۰۷	۰/۵۸۲±۰/۰۳	۰/۲۸۲±۰/۰۳	۰/۳۶۲±۰/۰۴	۰/۶۷۵±۰/۵/	۰/۱۸۸±۰/۲	۰/۱۱۸	۱/۳۳۴	۰/۲۵	۰/۵۰۰	۱/۳۳۴	۰/۱۱۸
محتوی اسکوپولامین	درصد ماده خشک	۰/۱۳۳±۰/۰۲	۰/۰۴۰±۰/۰۱	۰/۲۰۴±۰/۰۳	۰/۰۷۴±۰/۰۱	۰/۲۵۷±۰/۰۳	۰/۴۹۳±۰/۵	۰/۳۰۵±۰/۲	۰/۰۱۴	۰/۵۹۷	۰/۱۵	۰/۲۱۲	۰/۵۹۷	۰/۰۱۴
عملکرد هیوسیامین	میلی گرم در گیاه	۲۰/۰۷±۰/۳	۵۱/۰۱±۰/۸	۳۸/۷۹±۰/۴	۱۶/۷۶±۰/۳	۳۳/۵۷±۰/۵	۶۸/۳۷±۰/۷	۱۸/۳۵±۰/۴	۸/۸۵۱	۸۸/۱۶	۱۹/۶	۳۵/۵۵	۸۸/۱۶	۸/۸۵۱
عملکرد اس کوپولامین	میلی گرم در گیاه	۵/۸۶۱±۰/۲	۲/۱۹۰±۰/۱	۱۳/۸۷±۰/۳	۴/۳۵۶±۰/۳	۲۴/۰۵±۰/۷	۴۸/۷۵±۰/۸	۲۹/۴۵±۰/۴	۰/۷۲۴	۶۰/۴۷	۱۶/۸	۱۸/۳۳	۶۰/۴۷	۰/۷۲۴
نسبت اسکوپولامین به هیوسیامین	-	۰/۲۹۶±۰/۰۴	۰/۰۲۹±۰/۰۱	۰/۳۷۱±۰/۰۷	۰/۲۸۰±۰/۰	۰/۷۲۷±۰/۰۸	۰/۷۶۰±۰/۶	۱/۸۰±۰/۴۱	۰/۰۱۵	۳/۰۲	۰/۴۱	۰/۵۹۳	۳/۰۲	۰/۰۱۵
عملکرد کل آلکالوئید	میلی گرم در گیاه	۲۵/۹۲±۰/۶	۵۳/۲±۰/۸	۵۲/۶۶±۰/۴	۲۱/۱۱±۱/۷	۵۷/۶۲±۲/۱	۱۱۸/۱±۳/۴	۴۷/۸±۱/۶	۱۲/۳۱	۱۳۵/۹	۳۰/۸	۵۳/۸۸	۱۳۵/۹	۱۲/۳۱

www.SID.ir

جدول شماره ۵- نتایج بررسی توصیفی (Descriptive) صفت نسبت اسکوپولامین به هیوسیامین و ضریب تغییرات (CV%) آن در بین جمعیت‌های مختلف بذرالبنج (*H. niger*)

ردیف	جمعیت	حداقل	حداکثر	میانگین	انحراف استاندارد	ضریب تغییرات (٪)
۱	تهران (فیروزکوه)	۰/۲۳۲	۰/۴۲۲	۰/۲۹۶	۰/۰۵۵	۱۸/۷۴
۲	قم (اتوبان)	۰/۰۱۵	۰/۱۳۸	۰/۰۴۹	۰/۰۴۶	۹۵/۲۸
۳	مازندران (سیاه بیشه)	۰/۴۶۲	۱/۰۲۵	۰/۷۶۰	۰/۲۲۶	۲۹/۷۳
۴	گلستان (مراوه‌تپه)	۰/۴۲۸	۱/۲۲۸	۰/۷۲۷	۰/۲۶۶	۳۶/۶۳
۵	همدان (رزن)	۰/۱۵۷	۰/۴۹۴	۰/۳۷۱	۰/۱۱۵	۳۱/۰۱
۶	گیلان (سیاهکل)	۰/۸۶۲	۳/۱۰۶	۱/۸۰۱	۰/۸۲۸	۴۶/۰۲
۷	زنجان (طارم)	۰/۱۰۱	۰/۶۱۷	۰/۲۸۰	۰/۱۵۳	۵۴/۹۱

در بین صفات متابولیتی، بیشترین همبستگی مثبت و معنی دار به ترتیب بین عملکرد آلکالوئیدهای کل و وزن خشک گیاه (۰/۹۰**)، عملکرد اسکوپولامین و وزن خشک کل شاخساره (۰/۸۷**)، عملکرد اسکوپولامین و وزن خشک برگ (۰/۸۶**)، عملکرد اسکوپولامین و وزن خشک ریشه‌های ظریف (۰/۸۴**) و محتوی اسکوپولامین و وزن خشک ریشه های ظریف (۰/۸۱**) حاصل شد. همچنین، بین محتوی هیوسیامین و ارتفاع گیاه همبستگی منفی و معنی‌دار (-۰/۵۰**) وجود داشت (جدول شماره ۶).

بررسی نتایج در غالب دندروگرام‌ها و نمودارها امکان جمع‌بندی سریع و آسان نتایج را امکان‌پذیر می‌سازد. دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای (کلاستر) صفات مورفولوژیکی و تروپان آلکالوئیدها با بهره گیری از آلگوریتم UPGMA در شکل‌های شماره ۲ و ۳ نشان داده شده است. تجزیه خوشه‌ای برای جمعیت‌های مورد بررسی بر اساس صفات رویشی انجام شد و در نهایت بر اساس دندروگرام حاصل هفت جمعیت به دو گروه تقسیم شدند. گروه یک شامل نمونه‌های سه جمعیت گیلان، مازندران و گلستان بود اما گروه دو شامل چهار جمعیت دیگر یعنی تهران، قم، زنجان و همدان بود. در این تحقیق، حداکثر تشابه میان جمعیت‌های گیلان (سیاه کل)، مازندران (سیاه بیشه) و گلستان (مراوه تپه) مشاهده شد. در سایر جمعیت‌ها بیشترین تشابه میان جمعیت‌های همدان (رزن)، تهران (فیروزکوه)، زنجان (طارم) و قم (اتوبان) مشاهده شد (شکل شماره ۲). که دلیل آن را می توان به شرایط آب و هوایی نسبتاً یکسان و شرایط آبی و خاکی نسبتاً مشابه محل جمع‌آوری نمونه‌ها دانست.

دندروگرام براساس صفات آلکالوئیدی برای جمعیت‌های مورد بررسی نشان داد که هفت جمعیت به سه گروه اصلی و هر کدام از این گروه‌ها به دو زیر گروه تقسیم شدند (شکل شماره ۳). همان‌طوری‌که مشاهده می‌شود تمامی نمونه‌های جمعیت سیاه بیشه مازندران (S1-S8) در یک گروه (کلاستر اول) قرار گرفتند، اما نمونه‌های m3 و m7 اگرچه از جمعیت مراوه تپه گلستان جمع‌آوری شده بودند (کلاستر دوم) در مقایسه با سایر نمونه‌های این جمعیت (کلاستر سوم) در گروه جداگانه قرار گرفتند.

آنالیز بای پلات بر اساس مولفه های اول و دوم (PC1 و PC2) که روابط بین جمعیت‌ها را از نظر صفات مورد بررسی نشان می‌دهد، انجام شد (شکل‌های شماره ۴ و ۵). نتایج آنالیز بای پلات بر ای صفات مورفولوژیکی (شکل شماره ۴) مطابق با نتایج آنالیز کلاستر برای این صفات با توزیع جمعیت‌ها در دو گروه اصلی بود. روند و پیشرفت مقادیر از منفی به مثبت مولفه اول (پایین به بالا) در سطح پلات حاکی از افزایش صفاتی چون وزن خشک ریشه‌های ظریف، برگ، ساقه، شاخساره، کل گیاه و تعدا برگ می‌باشد. همچنین، شروع مقادیر از منفی به مثبت مولفه دوم (چپ به راست) در سطح پلات نشان از افزایش تدریجی در میزان برخی صفات مورفولوژیکی از قبیل وزن خشک ریشه‌های ضخیم است. به طور کلی برای صفات متابولیتی نیز، با شروع از منفی به مثبت

Archive of SID

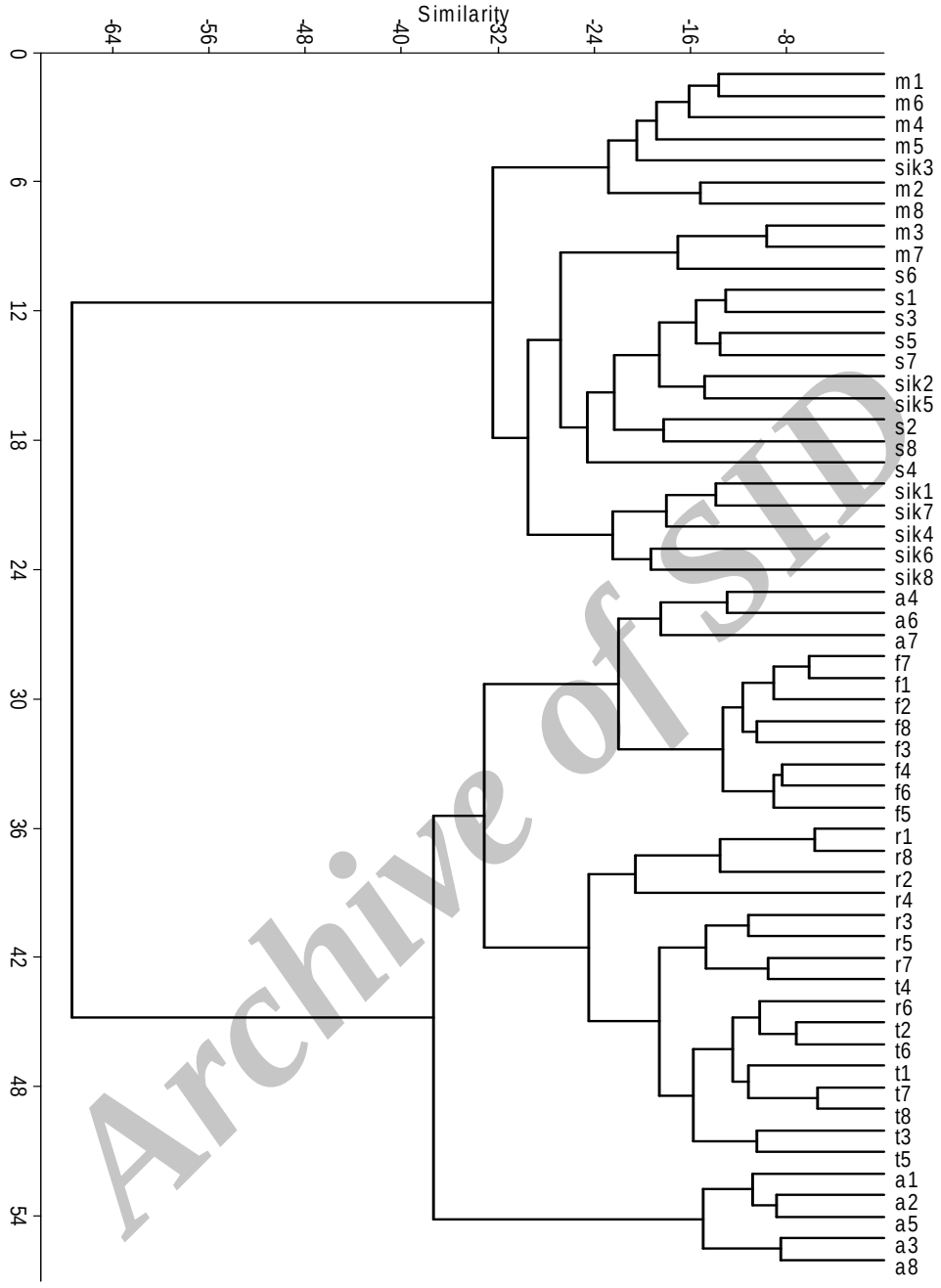
www.SID.ir

جدول شماره ۶- نتایج همبستگی بین صفات مورد مطالعه در جمعیت‌های مختلف بذرالبنج (*H. niger*)

صفات	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹	۱۰	۱۱	۱۲	۱۳	۱۴	۱۵	۱۶
۱	۱															
۲	-۰/۲۱	۱														
۳	۰/۵۸**	۰/۶۷**	۱													
۴	۰/۷۴**	-۰/۲۱	۰/۳۹**	۱												
۵	۰/۷۵**	-۰/۲۹*	۰/۳۲*	۰/۸۲**	۱											
۶	۰/۷۸**	-۰/۲۶	۰/۳۸**	۰/۹۶**	۰/۹۵**	۱										
۷	۰/۸۴**	۰/۰۶	۰/۶۷**	۰/۹۰**	۰/۸۷**	۰/۹۳**	۱									
۸	۰/۵۹**	-۰/۰۵	۰/۴۰**	۰/۳۵**	۰/۵۹**	۰/۴۸**	۰/۵۴**	۱								
۹	۰/۷۳**	-۰/۲۳	۰/۳۶**	۰/۷۰**	۰/۶۱**	۰/۶۸**	۰/۶۸**	۰/۵۴**	۱							
۱۰	۰/۷۸**	-۰/۲۵	۰/۳۸**	۰/۷۸**	۰/۸۳**	۰/۸۴**	۰/۸۱**	۰/۶۳**	۰/۶۵**	۱						
۱۱	-۰/۲۸*	۰/۲۶	۰/۱	-۰/۱۲	-۰/۲۴**	-۰/۲۹*	-۰/۲۲	۰/۵۷**	-۰/۱۷	۰/۵۰**	۱					
۱۲	۰/۸۱**	-۰/۳۸**	۰/۳۰*	۰/۷۹**	۰/۷۵**	۰/۸۱**	۰/۷۵**	۰/۳۳**	۰/۶۹**	۰/۷۳**	-۰/۱۲	۱				
۱۳	۰/۲۱	۰/۱۲	۰/۲۷	۰/۴۴**	۰/۱۱	۰/۲۸*	۰/۳۳*	-۰/۲۸*	۰/۲۴	-۰/۰۳	۰/۸۱**	۰/۳۵**	۱			
۱۴	۰/۸۴**	۰/۲۹*	۰/۴۰**	۰/۸۶**	۰/۸۰**	۰/۸۷**	۰/۸۴**	۰/۳۸**	۰/۷۰**	۰/۷۵**	-۰/۱۰	۰/۹۸**	۰/۴۱**	۱		
۱۵	۰/۶۹**	-۰/۰۵	۰/۴۸**	۰/۴۶**	۰/۵۷**	۰/۵۴**	۰/۶۱**	۰/۶۲**	۰/۴۵**	۰/۷۳**	-۰/۵۱**	۰/۶۰**	-۰/۲۵	۰/۶۱**	۱	
۱۶	۰/۷۱**	۰/۰۹	۰/۶۳**	۰/۷۹**	۰/۷۹**	۰/۸۲**	۰/۹۰**	۰/۴۶**	۰/۶۱**	۰/۶۶**	-۰/۱۳	۰/۶۸**	۰/۳۸**	۰/۷۵**	۰/۴۱**	۱

صفات: ۱) وزن خشک ریشه های ظریف ۲) وزن خشک ریشه های ضخیم ۳) وزن کل ریشه ۴) وزن خشک برگ ۵) وزن خشک ساقه ۶) وزن خشک کل شاخساره ۷) وزن خشک کل بوته ۸) تعداد شاخه‌های جانبی ۹) تعداد برگ ۱۰) ارتفاع گیاه ۱۱) محتوی هیوسیامین ۱۲) محتوی اسکوپولامین ۱۳) عملکرد هیوسیامین ۱۴) عملکرد اسکوپولامین ۱۵) نسبت اسکوپولامین به هیوسیامین ۱۶) عملکرد کل آلکالوئید.

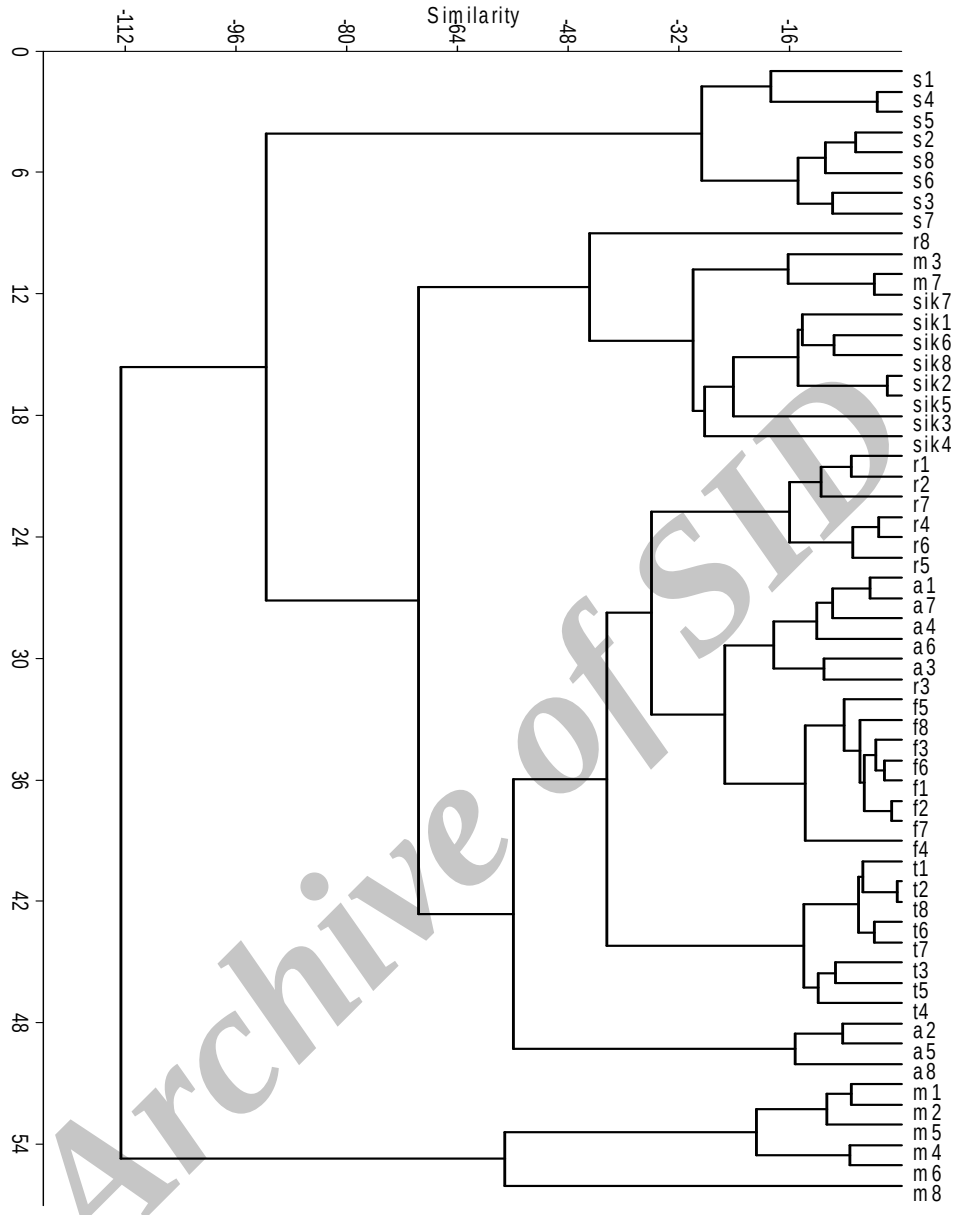
www.SID.ir



Archive of SID

شکل شماره ۲- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای نمونه‌های ۷ جمعیت مورد مطالعه بذرالبنج (*H. niger*) بر اساس صفات مورفولوژیکی با بهره‌گیری از آلگوریتم UPGMA

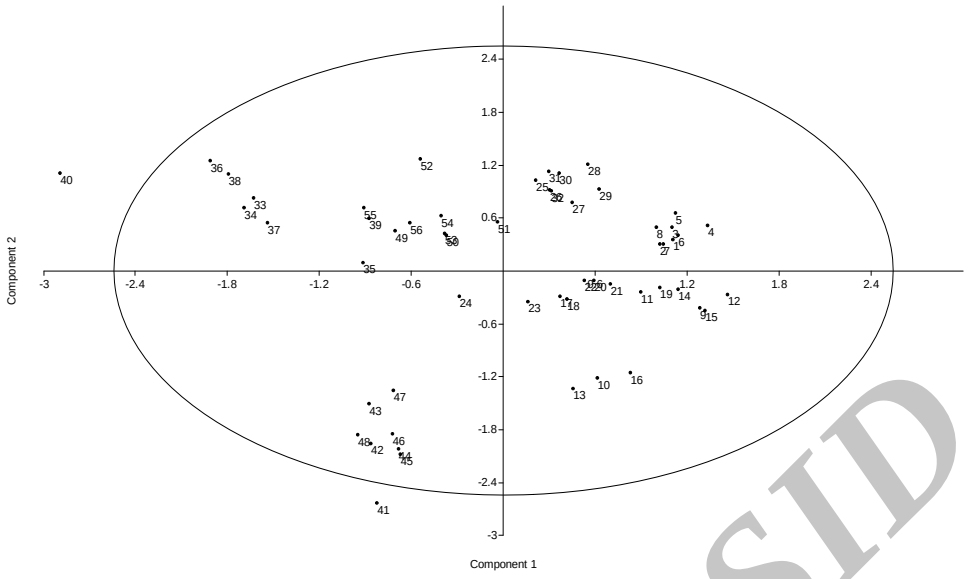
www.SID.ir



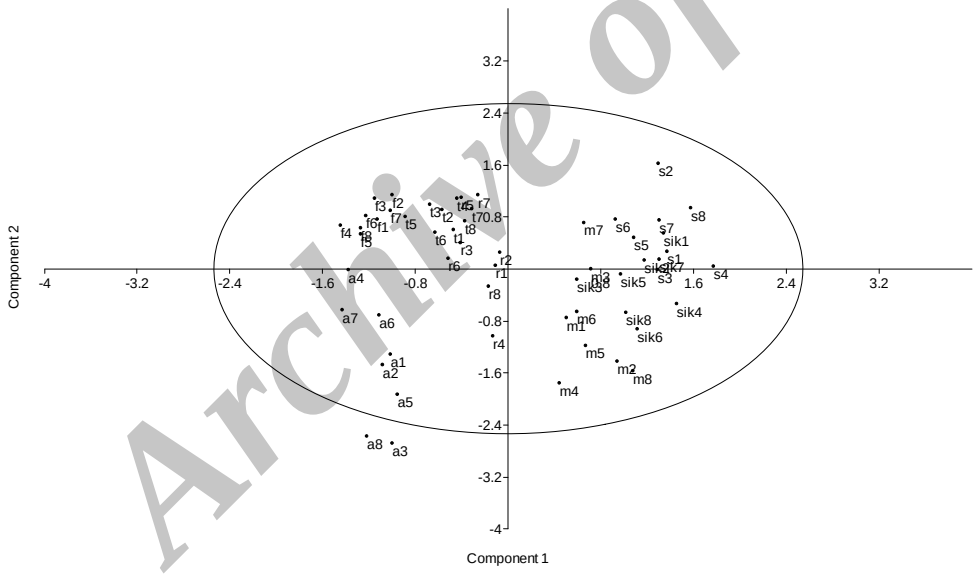
Archive of SID

شکل شماره ۳- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای نمونه‌های ۷ جمعیت مورد مطالعه بذرالبنج (*H. niger*) بر اساس صفات متابولیتی با بهره‌گیری از آلگوریتم UPGMA

www.SID.ir



شکل شماره ۴- نتایج آنالیز بای پلات حاصل از نمونه‌های (اعداد ۵۶-۱) هفت جمعیت مورد مطالعه بذرالبنج (*H. niger*) بر اساس صفات مورفولوژیکی



شکل شماره ۵- نتایج آنالیز بای پلات حاصل از نمونه‌های هفت جمعیت مورد مطالعه بذرالبنج (*H. niger*) بر اساس صفات متابولیتی. اعداد (۸-۱) همراه حروف (a: اتوبان قم، m: مراوه تپه گلستان، s: سیاه بیشه مازندران، sik: سیاهکل گیلان، f: فیروزکوه تهران،r: رزن همدان، t: طارم زنجان) معرف افراد مورد مطالعه از جمعیت‌ها می‌باشند.

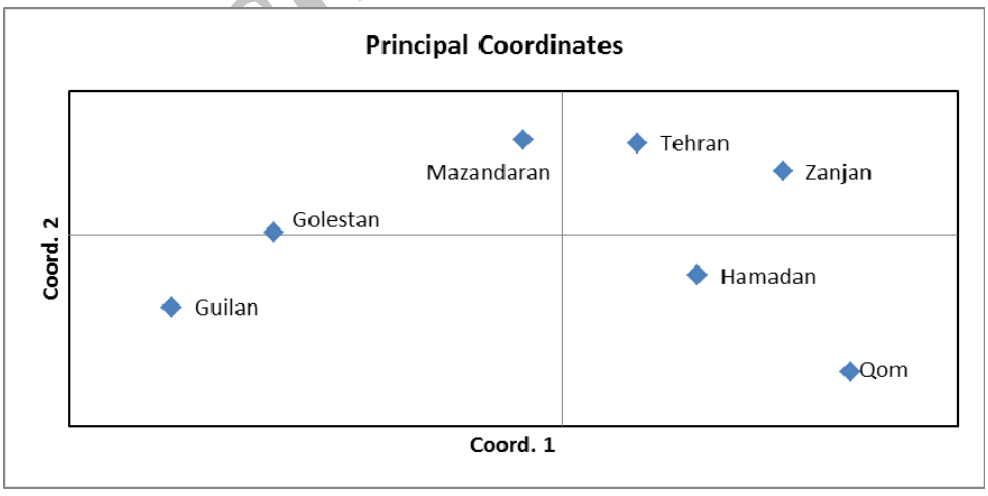
مولفه اول در سطح پلات (پایین به بالا)، افزایش محتوی اسکوپولامین، کاهش محتوی هیوسیامین، افزایش عملکرد اسکوپولامین و افزایش نسبت اسکوپولامین به هیوسیامین مشاهده شد. در حالی که افزایش مقادیر از منفی به مثبت مولفه دوم (چپ به راست) در سطح پلات نشان از افزایش محتوی اسکوپولامین، عملکرد اسکوپولامین و هیوسامین است (شکل شماره ۵). نتایج آنالیز داده‌ها بر اساس بای پلات (Biplot) و جین الکس (GenAlEx) (شکل‌های شماره ۶ و

Archive of SID
www.SID.ir

۷) تائیدی بر نتایج حاصل از آنالیز کلاستر بود، به طوری که نمونه‌ها در چهار طرف پلات توزیع شدند. اندک تفاوتی که بین نتایج آنالیز کلاستر و بای پلات وجود دارد می‌تواند به دلیل تفاوت‌هایی که برای آنالیز در نظر گرفته می‌شود، باشد، به عنوان مثال آنالیز کلاستر (UPGMA) که بر اساس تمامی داده های صفات مورفولوژیکی است به عنوان تفاوت کل در نظر می‌گیرد، در حالی که درصد (سهم) واریانس تجمعی که بر اساس دو مولفه اصلی تشریح می‌شود، پلات را ایجاد می‌کند. علاوه بر این، برخی از نمونه‌ها از قبیل نمونه شماره ۴۰ و ۴۱ از جمعیت گلستان، همچنین نمونه شماره ۳ و ۸ از جمعیت قم در خارج از گراف بیضی شکل قرار گرفتند که می‌تواند به دلیل ترکیب خاصی از صفات باشد. در این مطالعه، نتایج تجزیه کلاستر و بای پلات وجود تنوع مورفولوژ یکی و متابولیتی بین جمعیت‌های جمع‌آوری شده بذرالبنج را تأیید نمود.

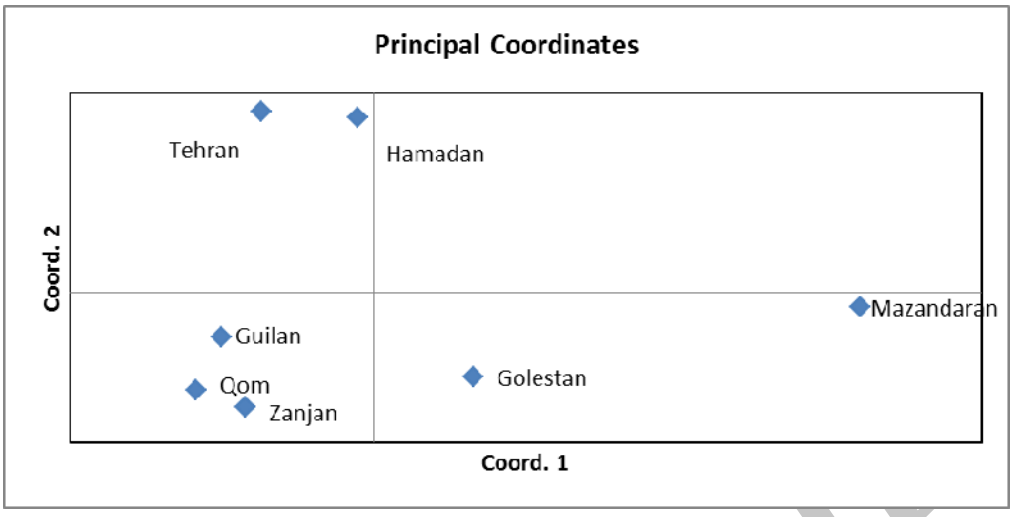
به منظور بررسی واکنش جمعیت‌ها بر اساس کل صفات مورد بررسی و گروه‌بندی آنها از روش تجزیه به مولفه‌های اصلی (PCA) (جدول شماره ۷) و اسکتر پلات استفاده شد (شکل‌های شماره ۴ و ۵). مقادیر ویژه و سهم هر مولفه، سهم (درصد) واریانس و سهم واریانس تجمعی در تجزیه به مؤلفه‌های اصلی بر اساس کل صفات مطالعه شده در جدول شماره ۷ نشان داده شده است.

نتایج آنالیز مولفه‌های اصلی نشان می‌دهد که چهار مولفه اول ۹۰/۲۰ درصد واریانس‌ها را به خود اختصاص داده‌اند (جدول شماره ۷). مولفه اول (PC1) به میزان ۵۳/۳۰ درصد از کل واریانس را که شامل ده متغییر است (وزن خشک ریشه‌های ظریف، وزن خشک برگ، وزن خشک ساقه، وزن خشک شاخساره، وزن خشک کل گیاه، تعداد برگ، ارتفاع گیاه، محتوی و عملکرد اسکوپولامین و عملکرد آلکالوئید کل) به خود اختصاص داده است. در حالی که مولفه دوم (PC2) به میزان ۱۹/۰۸ درصد از کل واریانس را که شامل دو متغییر است (محتوی و عملکرد هیوسیامین) به خود اختصاص داده است. همچنین مولفه سوم (PC3) ۱۱/۶۶ درصد از کل واریانس را که شامل دو متغییر است (تعداد شاخه‌های جانبی و نسبت اسکوپولامین به هیوسیامین) به خود اختصاص داد. در ضمن، مولفه چهارم (PC4) شامل یک متغییر (وزن خشک کل ریشه) نیز ۶/۱۶ درصد از واریانس کل را توجیه کرد (جدول شماره ۷). می‌توان گفت تجزیه فاکتور توانست ۱۸ صفت مورد ارزیابی را به صورت چهار عامل اصلی بیان کند که در بین آنها فاکتورهای اول و دوم بیشترین سهم را به خود اختصاص دادند و در ۷۲/۳۹ درصد از واریانس کل را توجیه نمودند. این تجزیه می‌تواند عوامل فرق گذار بین جمعیت‌های مورد بررسی را روشن سازد.



شکل شماره ۶- گروه‌بندی جمعیت‌های مورد مطالعه بذرالبنج (*H. niger*) بر اساس تغییرات صفات مورفولوژیک با استفاده از نرم‌افزار GenAIEx

www.SID.ir



شکل شماره ۷- گروه‌بندی جمعیت‌های مورد مطالعه بذرالبنج (*H. niger*) بر اساس تغییرات صفات متابولیتی با استفاده از نرم‌افزار GenAIEx

جدول شماره ۷- نتایج تجزیه به مولفه‌های اصلی (PCA) صفات مورد مطالعه در جمعیت‌های مختلف بذرالبنج (*H. niger*)

صفات	مولفه‌های اصلی			
	۱	۲	۳	۴
وزن خشک ریشه‌های ظریف	۰/۸۴**	-۰/۰۱	۰/۳۸	۰/۱۴
وزن خشک ریشه‌های ضخیم	-۰/۲۸	۰/۰۶	-۰/۱۱	۰/۹۳**
وزن کل ریشه	۰/۴۰	۰/۰۴	۰/۲۰	۰/۸۸**
وزن خشک برگ	۰/۹۵**	۰/۰۳	-۰/۰۴	۰/۰۲
وزن خشک ساقه	۰/۸۸**	۰/۳۳	۰/۱۴	-۰/۰۷
وزن خشک کل شاخساره	۰/۹۶**	۰/۱۸	۰/۰۵	-۰/۰۳
وزن خشک کل بوته	۰/۹۱**	۰/۱۶	۰/۱۲	۰/۳۲
تعداد شاخه‌های جانبی	۰/۴۲	۰/۴۰	۰/۵۸**	۰/۱۵
تعداد برگ	۰/۷۶**	-۰/۰۱	۰/۲۱	۰/۰۲
ارتفاع گیاه	۰/۸۰**	۰/۲۳	۰/۴۱	-۰/۰۳
محتوی هیوسیامین	-۰/۱۱	-۰/۶۹**	-۰/۴۳	۰/۲۵
محتوی اسکوپولامین	۰/۹۰**	-۰/۱۸	۰/۲۰	-۰/۱۰
عملکرد هیوسیامین	۰/۴۶	-۰/۵۶**	-۰/۶۱	۰/۲۶
عملکرد اسکوپولامین	۰/۹۴**	-۰/۱۵	۰/۱۶	-۰/۰۱
نسبت اسکوپولامین به هیوسیامین	۰/۵۰	۰/۰۷	۰/۷۸**	۰/۱۶
عملکرد کل آلکالوئید	۰/۸۴**	۰/۳۴	-۰/۱۴	۰/۳۵
مقادیر ویژه	۹/۶۰	۳/۴۴	۲/۱۰	۱/۱۱
سهم واریانس (٪)	۵۳/۳۰	۱۹/۰۸	۱۱/۶۶	۶/۱۶
سهم واریانس تجمعی (٪)	۵۳/۳۰	۷۲/۳۹	۵۸/۰۵	۹۲/۲۰

Archive of SID

www.SID.ir

بحث

تولید و تجمع آلکالوئیدها در گیاهان تحت تأثیر عوامل مختلفی قرار می‌گیرد. به عنوان مثال میزان تروپان آلکالوئیدها با پیری گیاه کاهش می‌یابد، به طوری که بالاترین میزان این ترکیبات در زمان گلدهی کامل به دست می‌آید. نتایجی که از تأثیر فصل کشت بر مقدار آلکالوئیدها در یکی دیگر از گونه های بذرالبنج (*H. muticus*) به دست آمده، دارای تناقض است ولی به طور کلی گونه‌های دوساله در مقایسه با انواع یکساله سطوح بیشتری از آلکالوئیدها را دارا هستند. به نظر می رسد که بافت‌های مسن‌تر، قدرت سنتز دو آلکالوئید هیوسیامین و اسکوپولامین را به تدریج از دست می‌دهند. همچنین با افزایش سن گیاه، میزان هیوسیامین افزایش و مقدار اسکوپولامین کاهش می یابد [۱۸] نسبت هیوسیامین به اسکوپولامین در یک گونه خاص نه تنها با سن گیاه بلکه به عوامل دیگری از جمله طول روز، شدت نور، شرایط کلی آب و هوایی، عوامل شیمیایی و هورمون‌ها متفاوت است [۱۹]. به طور کلی، هم کیفیت و هم شدت نور بر میزان تولید آلکالوئیدها نقش دارد. مطالعات بر روی گیاه بذرالبنج نشان داده است که در شرایط روز بلندی، میزان قابل توجهی هیوسیامین تولید می‌شود [۲۰] دماهای بهینه برای کشت و افزایش مقدار آلکالوئید در گیاه بذرالبنج به ترتیب ۱۶ و ۲۷ درجه سانتی‌گراد می باشند [۲۱] آلکالوئیدها در بافت‌های بالغ گیاهان نیز در پاسخ به آلودگی‌های میکروبی و حمله حشرات تولید می شوند.

با توجه به اینکه گیاهان جمع‌آوری شده از منطقه سیاهکل گیلان نسبت به سایر مناطق مورد مطالعه دارای آلکالوئیدهای بیشتری می‌باشند، به نظر می‌رسد که بعضی از شرایط محیطی خاص منطقه مانند ارتفاع، نیتروژن کل، فسفر و پتاسیم خاک موجب افزایش بیوسنتز این متابولیت‌ها شده‌اند. غلظت آلکالوئیدهای تروپان در گیاهان، با کاهش میزان پتاسیم افزایش می‌یابد. برای مثال نتایج تحقیقات بر روی گیاه شابیزک [۱۸] نشان داد که کمبود پتاسیم سنتز آلکالوئیدها را افزایش می‌دهد، بنحوی که کاهش آن به افزایش درصد آلکالوئیدها منجر می شود. افزایش آلکالوئید تولید شده در گیاه در هنگام کمبود پتاسیم نشان می‌دهد که کمبود یون پتاسیم عرضه پیش‌ساز آلکالوئید را با افزایش فعالیت آنزیم‌های آرژنین دکربوکسیلاز و اورنیتین دکربوکسیلاز که مسئول تولید پوترسین هستند، افزایش می‌دهد. یون پتاسیم به طور مستقیم فعالیت تعداد زیادی از آنزیم‌ها، از جمله آنزیم‌های مربوط به بیوسنتز آلکالوئیدها را تنظیم می‌کند.

گزارش شده است که اگر کربن تثبیت شده، کاملاً در فعالیت‌های متابولیک اولیه رشد و تمایز سلولی استفاده نشود تولید فرآورده‌های ثانویه تحریک می‌شود. کربن استفاده نشده در ساختار دیواره‌های سلولی و پروتئین‌ها به متابولیت‌های ثانویه تبدیل شده و در واکوئل‌ها ذخیره می‌شود. در مواردی که گیاه رشد سریع دارد، این متابولیت‌ها تجزیه شده و کربن ذخیره شده آزاد می‌شود. فعالیت‌های متابولیسم اولیه و ثانویه به یکدیگر وابسته بوده و از طریق آنزیم‌های کلیدی در تعادل دینامیکی قرار می‌گیرند [۲۲].

به طور کلی می‌توان گفت که تولید متابولیت‌های ثانویه گیاهان دارویی تحت تأثیر سه عامل اصلی قرار می‌گیرد که عبارتند از: مراحل مختلف رشد، شرایط محیطی و عوامل ژنتیکی [۲۰]. همان طور که گفته شد متابولیت‌های ثانویه، هم به اقتضای ساختار طبیعی (وراثتی) و هم تحت تأثیر تهییج‌های غیرطبیعی (تنشی) در گیاهان سنتز می‌شوند [۲۳] برخی از این مواد حتی به عنوان نشانه (مارکر) مشخصی از فعالیت برخی ژن‌های خاص در جهت مقاومت و سازگاری به تنش‌های محیطی تلقی می‌شوند و حتی می‌توانند به عنوان شاخص نیچ اکولوژیکی، برای زیر گونه‌ها و گونه‌های نزدیک به هم در طبیعت باشند [۲۴].

از مهم‌ترین عوامل محیطی مؤثر بر رشد و نمو و تولید گیاهان دارویی و معطر می‌توان نور، دما، آبیاری، ارتفاع محل رویش، خاک و موجودات زنده و غیرزنده پیرامون گیاه را برشمرد. گزارش شده که تنش خشکی باعث افزایش ۵۰۰-۵ درصدی محتوی آلکالوئیدها در انواعی از گیاهان مثل توتون، داتوره و گوجه‌فرنگی شده است. مکانیسمی که توسط آن کمبود آب سطوح آلکالوئیدها را افزایش می‌دهد بسیار قابل توجه می‌باشد، یکی ممکن است به این دلیل باشد که کمبود

Archive of SID
www.SID.ir

آب، سطوح آمینواسیدها و آمیدهایی را که می‌توانند به عنوان پیش ماده‌های بیوسنتز آلکالوئیدها به کار روند افزایش دهد. افزایش تجمع سطوح آمینواسیدهای آزاد، مخصوصاً پرولین و آمیدهای گلوتامین یا آسپاراژین در گیاهان تحت تنش خشکی کاملاً ثابت شده است. تجمع این مواد به تجزیه پروتئین‌ها نسبت داده می‌شود. اما تجمع آمینواسیدها تنها عامل مؤثر در تولید آلکالوئیدها نمی‌باشد. بسیاری از فرآیندهای مرتبط با رشد مثل توسعه سلول، سنتز پروتئین و دیواره سلولی به شدت به کمبود آب حساس هستند. اگر تنش خشکی باعث ممانعت از رشد گیاه شود، حتی اگر تأثیر نسبتاً کمی روی تولید آلکالوئیدها داشته باشد، این هم می‌تواند دلیل دیگری برای افزایش غلظت این ترکیبات در گیاهان تحت تنش باشد. برای دانستن اینکه کدامیک از این دو دلیل ممکن است تأثیرگذار باشد، ضروری است که عملکرد کل آلکالوئیدها در گیاهان تحت تنش با شاهد مقایسه شوند. اگر کمبود آب از طریق افزایش فراهمی پیش ماده‌های آلکالوئیدی عمل کند، در این صورت افزایش آلکالوئیدهای کل قابل انتظار خواهد بود. در حالی که اگر افزایش محتوی آلکالوئید نتیجه کاهش رشد گیاه باشد (یا به عبارتی عدم سنتز آلکالوئید)، مقدار کل آلکالوئیدها کاهش و یا ثابت خواهد ماند [۲۵].

در یک تحقیق Klan و همکاران [۲۶] با مطالعه محتوای آلکالوئیدی ریشه‌ها و برگ‌های گیاهان *H. niger* بین میزان هیوسیامین و اسکوپولامین ارتباطی را کشف کردند. نتایج آنها نشان داد که با افزایش میزان آلکالوئیدهای کل و میزان هیوسیامین، میزان اسکوپولامین نیز افزایش می‌یابد. اخیراً گزارش شده است که تغییر در میکروکلیما (اقلیم خرد) به طور قابل ملاحظه‌ای با تولید آلکالوئیدهای تروپان مرتبط است، و این تغییر بیشتر تولید هیوسیامین را افزایش می‌دهد تا اسکوپولامین [۲۷]. همین محققین گزارش کردند که میزان اسکوپولامین با افزایش ارتفاع از سطح دریا کاهش می‌یابد، این نتایج با یافته‌های مطالعه ما در مورد افزایش اسکوپولامین در منطقه سیاهکل (با کمترین ارتفاع از سطح دریا نسبت به سایر مناطق) مطابقت دارد [۲۷]. افزایش ارتفاع از سطح دریا با کاهش بیوماس تولیدی گیاه (به دلیل کاهش دما و افزایش شدت تشعشع) نیز مرتبط می‌باشد.

نتایج مطالعه حاضر (بر اساس نتایج حاصل از تجزیه خوشه ای) تا حدی مطابقت تنوع جغرافیایی با تنوع مورفولوژیکی را نشان داد (گروه‌بندی جمعیت‌های قم، همدان، زنجان و تهران در کنار هم گواه این موضوع است). که ممکن است بیانگر قرابت‌های ژنتیکی و خویشاوندی احتمالی موجود بین برخی از جمعیت‌های مورد مطالعه باشد. در مواردی هم بخش‌هایی از دندروگرام عدم مطابقت تنوع جغرافیایی با تنوع مورفولوژیکی و فیتوشیمیایی را نشان می‌دهد، به طوری که نمونه‌های جمع‌آوری شده از قم (اتوبان) در دو زیرگروه کاملاً متفاوت و دور از هم قرار داشتند و بالعکس نمونه‌هایی که از نظر جغرافیایی نسبتاً دور از هم بودند مثل تهران (فیروزکوه) و همدان (رزن) در یک زیرگروه و در کنار هم دسته‌بندی شده اند. همچنین قرار گرفتن برخی از نمونه‌های جمع‌آوری شده از رویشگاه‌های یک جمعیت در گروه و زیرگروه‌های مجزا و همچنین گروه‌بندی نمونه‌های برخی جمعیت‌ها در مجاورت هم ممکن است ناشی از جابجایی ژرم پلاسم و یا احتمالاً به خاطر پراکنش وسیع این گیاه در کشور باشد. همین‌طور عدم تطابق تطابق کامل تنوع مورفولوژیکی با تنوع جغرافیایی جمعیت‌های مختلف بذرالبنج می‌تواند به دلیل جابجایی ژرم پلاسم باشد. به عبارت دیگر احتمال مهاجرت توسط عوامل محیطی مثل باد، پرندگان، آب و ... باعث جابجایی گیاه از یک محل به محل‌های دیگر شده باشد که پس از استقرار در محیط جدید، بعضی از خصوصیات ژنتیکی خود را حفظ کرده و یا قسمتی از ژرم پلاسم آن در اثر تلاقی در ژرم پلاسم گیاهان محل جدید نفوذ یابد و باعث ایجاد نوترکیبی ژنتیکی و در نهایت تنوع جدید شود.

نتیجه‌گیری

نتایج نشان داد که سطح بالایی از تنوع مورفولوژیکی و فیتوشیمایی درون و بین جمعیت‌های بذرالبنج در مناطق مختلف مورد مطالعه وجود دارد. بنابراین، جمعیت‌های یک

Archive of SID
www.SID.ir

گونه دارویی که در اوضاع اکولوژیکی مختلف رویش یافته‌اند از نظر کمیت و کیفیت مواد مؤثره، تیپ (مونه)های متفاوت و متنوعی را تشکیل می‌دهد که البته انتظار می‌رود این تنوع منجر به تفاوت در دامنه ترکیبات دارویی و بیولوژیک نیز شود. بر اساس نتایج حاصل از تجزیه خوشه‌ای، جمعیت‌های مختلف بذرالبنج از مناطق مختلف داخل یک گروه قرار گرفتند که این بیانگر آنست که تنوع جغرافیایی از تنوع مورفولوژیکی تبعیت نمی‌کند که می‌تواند به دلیل انتقال یا معاوضه مواد اصلاحی از یک منطقه به منطقه دیگر باشد. از طرفی با توجه به اینکه برای تشکیل بای پلات تنها به دو مولفه نیاز است و تنها دو مولفه اول درصد بیشتری از تغییرات را نسبت به سایر مولفه‌ها توجیه می‌نمایند، بنابراین بر اساس دو مولفه اول که جمعاً ۷۲/۳۹ درصد از تغییرات کل را بیان می‌نمایند، بای پلات تشکیل شد. لذا این دو مولفه اول قادر به توجیه تنوع موجود در جمعیت‌های مورد بررسی می‌باشند، ب طوری که در محیط بای پلات توده‌ها در چهار ناحیه با خصوصیات متفاوت قرار گرفته‌اند. نتایج تجزیه کلاستر و بای پلات وجود تنوع مورفولوژیک و تروپان آلکالوئیدها را بین جمعیت‌های مورد مطالعه تائید نمود. تنوع قابل توجه صفات مهم تولیدی شامل وزن اندام‌های حاوی آلکالوئید، عملکرد آلکالوئید، محتوی آلکالوئیدها و نسبت اسکوپولامین به هیوسیامین فرصت مناسب را برای ایجاد ارقام مطلوب صنایع وابسته (دارویی، غذایی، بهداشتی و آرایشی) فراهم می‌آورد.

تشکر و قدردانی

از معاونت محترم پژوهش و فناوری دانشگاه اراک به خاطر حمایت در اجرای این تحقیق (به شماره قرارداد ۹۴/۱۱۹۹۳) تقدیر و تشکر می گردد.

منابع

1. Mozaffarian V. A dictionary of Iranian plant names: Latin, English, Persian, Farhang Mo'aser, 1998, 739 p.

2. Cordell G.A. Introduction to alkaloids. John Willey and Sons, New York. 1981, 567 p.

3. Sikuli N.N. and Demeyer K. Plant cell, tissue and organ culture, 1997; 47: 261.

4. Trease G.E. and Evans W.C. Pharmacognosy, 13th Ed. Bailliere and T indall, London, 1989, pp: 548- 564.

5. Hashimoto T and Yamada Y. Scopolamine Production in Suspension Cultures and Redifferentiated Roots of *Hyoscyamus niger*. *Planta Medica* 1983; 47: 195.

6. Samsam Shariat H. Extraction of secondary metabolites of medicinal plants and methods of determination and quantification. Mani Publication, Esfahan 1992, 258 p.

7. Hashimoto T, Yun D and Yamada Y. Production of tropane alkaloids in genetically engineered root cultures. *Phytochem*. 1993; 42: 713 - 8.

8. Hashimoto T, Yamada Y. Alkaloid biogenesis: molecular aspects. *Annu. Rev. Plant Phys*. 1994; 45: 257 - 85.

9. Etminan A.R, Omidi M, Majidi Hervan E, Naghavi M.R, Rezazadeh S and Pirseyedi M. The study of genetic diversity in some Iranian accessions of *Hyoscyamus* sp. using amplified fragment length polymorphism (AFLP) and retrotransposon/AFLP markers. *African Journal of Biotechnol*. 2012; 11 (43): 10070-10078.

10. Dialmaghani R., Kharvari-Nejad H., Fahimi and Hekmat-shoa, H. Extraction and Determination of Tropan Alkaloids, Hyoscyamine and Scopolamine, from Different Parts of *Hyoscyamus pusillus* L. in Different Stages of Plant Growth. *Iranian Journal of Medical and* Aromatic *Plants* 2006; 22: 1-10.

Archive of SID
www.SID.ir

11. Ghorbanpour M, Hatami M and Khavazi K. Role of plant growth promoting rhizobacteria on antioxidant enzyme activities and tropane alkaloids production of *Hyoscyamus niger* under water deficit stress. *Turkish Journal of Biol*. 2013; 37: 350-360.

12. Nejadhabibvash F, Rahmani F, Heidari R and Jamei R. Assessment of genetic diversity among Hyoscyamus genotypes based on ISSR markers. *Intl. J. Agri. Crop. Sci*. 2012; 4 (17): 1300-1306.

13. Ghorbanpour M, Ghafarzadegan R, Khavazi K and Hatami M. Two Main Tropane Alkaloids Variations of Black Henbane (*Hyoscyamus niger*) Under PGPRs Inoculation and Water Deficit Stress Induction at Flowering Stage. *J. Med. Plants* 2013; 12: 29-42.

14. Ghorbanpour M, Hatami M and Khavazi K. Role of plant growth promoting rhizobacteria on antioxidant enzyme activities and tropane alkaloid production of *Hyoscyamus niger* under water deficit stress. *Turk. J. Biol.* 2013; 37: 350-360.

15. Kamada H, Okamura N, Satake M, Harada H and Shimomura K. Alkaloid production by hairy root cultures in *Atropa belladonna*. *Plant Cell Rep*. 1986; 5: 239- 242.

16. Hammer Ø, Harper DAT, Ryan PD. PAST: paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica* 2001; 4 (1): 9.

17. Peakall R, Smouse PE. GenAlEx 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Mol. Ecol. Notes* 2006; 6: 288 - 295.

18. Niamh A.O.D., Patrick G.M.C., David H.S.R. and Graha M. W. Callus production, suspension culture and in vitro alkaloid yields of Ephedra. *Plant Cell Tissue Organ Cult*. 1993; 34: 149 - 155.

19. Shepherd L.V.T., Hackett C.A., Alexander C.J., McNicol J.W., Sungurtas J.A., McRae D. and Davies H.V. Impact of light-exposure on the metabolite balance of transgenic potato tubers with modified glycoalkaloid biosynthesis. *Food Chem*. 2016; 200: 263-273.

20. Omidbaigi R. Approaches to production and processing of medicinal plants. Tarrahne Nashr Press. Iran. 1995, Volum 1, 397 p.

21. Bashir-Khan M. and Harborne J.B. A comparision of the effect of mechanical and insect damage on alkaloid levels in *Atropa acuminate*. *Biochem. Syst. Ecol.* 1991; 9: 529-434.

22. Xu Z, Jiang Y and Zhou G. Response and adaptation of photosynthesis, respiration, and antioxidant systems to elevated CO2 with environmental stress in plants. *Front. Plant Sci.* 2015; 6: 701.

23. Ghorbanpour M, Hatami M, Kariman K, Abbaszadeh Dahaji P. Phytochemical Variations and Enhanced Efficiency of Antioxidant and Antimicrobial Ingredients in Salvia officinalis as Inoculated with Different Rhizobacteria. *Chem. Biodiversity* 2016; 13: 319 – 330.

24. Etminan A, Shooshtari L, Ghorbanpour M, Mehrafarin A and Qaderi A. The Improvement of RAPD-PCR Molecular Marker Efficiency in Detection of Polymorphism in Fennel (*Foeniculum vulgar*) Using Restriction Enzymes. *J. Med. Plants* 2013; 48: 40-54.

25. Barabara N.T., Cornelius S., Loewus F.A. Phytochemical adaptation to stress. 1983, Vol. 18. 334 p.

26. Klan Z.F. Influence of period of vegetation and development of plant on the alkaloidal content of *Hyoscyamus niger* L. *Amer. Pharm. Assoc*. 1931; (11): 1163- 1174.

27. Jan S, Kamili AN, Parray JA, Bedi YS and Ahmad P. Microclimatic variation in UV perception and related disparity in tropane and quinolizidine alkaloid composition of *Atropa acuminata*, *Lupinus polyphyllus* and *Hyoscyamus niger*. *J. Photochem. Photobiol. B.* 2016; 161: 230-235.

Archive of SID
www.SID.ir