

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

منصور قربانپور^{۱*}، حسین صالحی ارجمند^۲، مهرناز حاتمی^۲، ناصر حسینی^۳

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 استخراج 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 هیوسيامین 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 هیوسيامین در جمعیت زنجان از بیشترین (۱/۸۰) و جمعیت قم از کمترین (۰/۰۴۹) مقدار برخوردار بودند. همچنین، بین محتوی هیوسيامین 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 جمع‌آوری شده بذرالبنج را تأیید نمود.

کل واژگان: بذرالبنج، آلکالوئید، اسکوپولامین، تنوع، جمعیت، هیوسيامین



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 [۱، ۲].

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 درازدگی 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 می‌شود. اسکوپولامین دارای خاصیت آرام‌کننده سلسله عصبی با اثر بسیار قوی است و از آن برای تسکین ناراحتی‌های عصبی، پارکینسون و لرزش‌های زمان کھولت 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]. فعالیت‌هایی بیولوژیکی آلکالوئیدها 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 [۷، ۸]. 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 بذربالنج 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 کارایی 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 می‌گذارد [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 می‌تواند در تولید تروپان آلکالوئیدها به کار گرفته 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 فرایندهای 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.



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 [۱۳، ۱۴].

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 $\text{pH} = 10-11$ با محلول آمونیاک ۲۵ درصد تنظیم شد. آلکالوئیدها یکبار با ۲۵ میلی‌لیتر و دوبار با ۱۰ میلی‌لیتر کلروفرم استخراج شدند. حاصل با سدیم سولفات

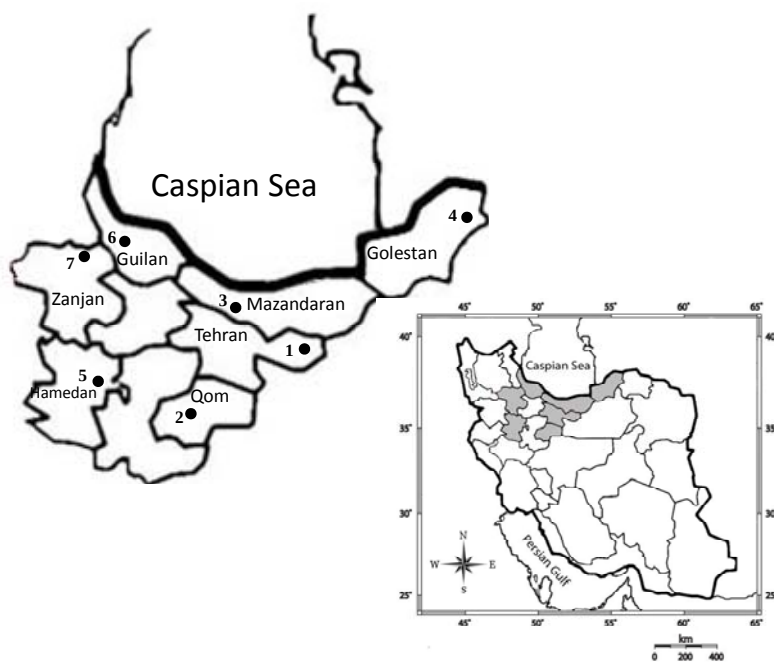
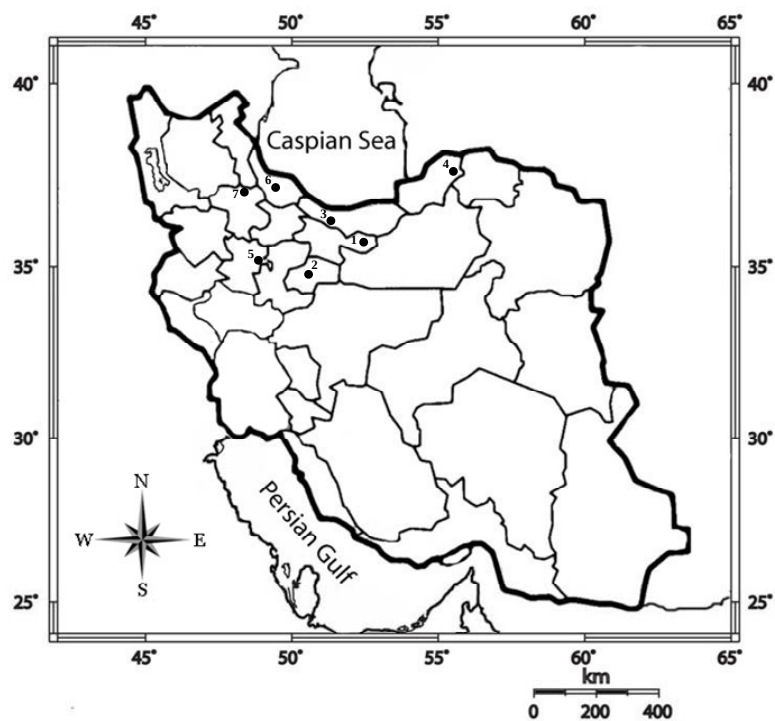
کشور پهناور ایران که دارای اقلیم‌های متنوعی می‌باشد، از لحاظ تعداد گونه‌های گیاهی بسیار غنی است و در این میان گونه‌های مختلف گیاه بنگ‌دانه (*Hyoscyamus spp.*) از گونه‌های بارز پوشش گیاهی ناحیه ایران-تورانی محسوب می‌شوند. گونه *Hyoscyamus niger* نیز با انتشار جغرافیایی نسبتاً وسیعی که دارد یکی از مهم‌ترین 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 بیسه)، 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





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



جدول شماره ۱- مشخصات جغرافیایی، اقلیمی و خاکي مناطق جمع‌آوری نمونه‌های بذریلنج (*H. niger*)

جمعیت							
خصوصیات اقلیمی	تهران (فیروزکوه)	قم (اتوبان)	مازندران (سیاه پیشه)	گلستان (مراوه تپه)	همدان (رزن)	گیلان (سیاهکل)	زنجان (طارم)
عرض جغرافیایی (N)	۳۵° ۴۶' ۲۰"	۳۴° ۴۰' ۲۰"	۳۶° ۱۳' ۵۶"	۳۷° ۵۳' ۴۴"	۳۵° ۲۴' ۰۵"	۳۷° ۰۹' ۵۷"	۳۷° ۰۲' ۲۰"
طول جغرافیایی (E)	۵۴° ۴۵' ۵۶"	۵۰° ۵۲' ۳۷"	۵۱° ۱۸' ۲۶"	۵۵° ۵۷' ۴۶"	۴۹° ۰۲' ۱۹"	۴۹° ۵۲' ۲۵"	۴۸° ۴۵' ۵۰"
ارتفاع از سطح دریا (m)	۲۰۲۶/۴	۹۲۳/۲	۱۹۰۸	۳۳۹/۱	۱۸۵۸/۵	۳۳۲/۴	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	لیمون شنی	شنی	لیمون رسی	لیمون رسی لای	لیمون شنی	رسی لای	لیمون 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
نیترژن کل (%)	۰/۱۰۳	۰/۰۸۹	۰/۰۹۴	۰/۳۲۸	۰/۱۳۳	۰/۳۴۳	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



مورفولوژیکی و متابولیتی از طریق آنالیز AMOVA با استفاده از نرم افزار GenAIEx نسخه ۶/۳ انجام شد [۱۷]. ضریب تغییرات (CV/%) به عنوان شاخص پراکندگی و تنوع در نظر گرفته شد.

نتایج

پس از جمع آوری اطلاعات، با استفاده از نرم افزار آماری SAS Institute و در قالب یک طرح آماری آشیانه ای (Nested ANOVA) تجزیه و تحلیل آماری داده ها انجام شد. جمعیت های مورد مطالعه از نظر تمامی شاخص های اندازه گیری شده تفاوت معنی داری داشتند.

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

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

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

برنامه دمایی ستون به این نحو تنظیم شد: دمای ابتدایی آون ۵۰ درجه سانتی گراد و توقف در این دما به مدت ۵ دقیقه، گرادیان حرارتی ۳ درجه سانتی گراد در هر دقیقه، افزایش دما تا ۲۴۰ درجه سانتی گراد با سرعت ۱۵ درجه در هر دقیقه، افزایش دما تا ۳۰۰ درجه سانتی گراد و سه دقیقه توقف در این دما. دمای اتاق تزریق ۲۹۰ درجه سانتی گراد بود و از گاز هلیوم به عنوان گاز حامل با سرعت جریان ۰/۸ میلی لیتر در دقیقه استفاده شد. شناسایی آلکالوئیدهای هیوسیامین و اسکوپولامین بر اساس مقایسه زمان بازداری دستگاه GC با داده های 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 (میلی گرم در گیاه) = محتوی آلکالوئید (% ماده خشک) × وزن خشک (میلی گرم)

روش تجزیه و تحلیل اطلاعات و محاسبات آماری

محاسبات آماری و تجزیه واریانس تمام صفات مذکور شامل صفات مورفولوژیکی و فیتوشیمایی با نرم افزار SAS صورت گرفت. محاسبه ضرایب همبستگی صفات مورد بررسی از روش پیرسون و نرم افزار SPSS انجام گرفت. همچنین تجزیه به عامل ها (PCA) نیز با نرم افزار SPSS انجام شد. تجزیه کلاستر (UPGMA) به روش فاصله اقلیدوسی و همچنین آنالیز بای پلات با استفاده از نرم افزار PAST صورت گرفت [۱۶]. تنوع بین جمعیت ها بر اساس خصوصیات



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

انحراف ضریب تغییرات (%)	میانگین	حد اکثر	حداقل	زیجیان (طارم)	گیلان (سیاهگل)	همدان (روزن)	گلستان (مراوه تپه)	مازندران (سیاهپشته)	قم (اتوبان)	تهران (فیروزکوه)	واحد	صفت
۶۹/۰۷	۹/۴۱	۳۳/۲	۰/۸	۱۵۹۰±۰/۷	۱۷۹۶±۰/۸	۱۲۵۶±۰/۵	۳۵۱±۰/۲	۸۲۴±۰/۳	۱/۶۹±۰/۱	۵۷۴±۰/۲	گرم	وزن ریشه‌های ظریف
۴۱/۹۳	۱۶/۹۶	۳۷/۳	۵/۸	۱۸۶۹±۱/۱	۹/۹۶±۰/۴	۲۲۰۳±۱/۲	۱۳۱۶±۰/۶	۱۶۰۱±۱/۰	۸۲۰۴±۱/۴	۱۱۰۱±۰/۰	گرم	وزن ریشه‌های ضخیم
۳۲/۱۹	۲۶/۳۷	۴۳/۲	۱۳/۸	۳۴۵۹±۲/۵	۲۷۹۳±۲/۱	۳۵۵۹±۳/۴	۱۶۶۸±۱/۴	۲۴۲۵±۱/۷	۲۹۷۳±۱/۸	۷۵۱۶±۳/۱	گرم	وزن کل ریشه
۳۵/۱۴	۹/۴۲	۴۹/۲	۱۲/۸	۳۴۴۹±۲/۷	۴۲۲۹±۳/۴	۳۰۵۹±۲/۲	۲۲۴۳±۱/۶	۲۵۱۱±۱/۹	۱۸۰۹±۱/۲	۴۶۱۵±۹/۰	گرم	وزن خشک برگ
۴۲/۸۷	۸۷/۰	۳۸/۵	۵/۳	۲۸۴۰±۱/۴	۳۱۳۰±۱/۶	۲۶۲۸±۱/۲	۲۰۳۰±۱/۳	۱۷۴۱±۰/۸	۷/۶۱±۰/۳	۷۶۱۱±۶/۰	گرم	وزن خشک ساقه
۸۰/۲۶	۴۷/۱۴	۸۰/۵	۲۱/۲	۶۲۸۹±۳/۶	۷۳۵۹±۴/۲	۵۷۰۶±۲/۶	۴۲۸۳±۲/۳	۴۲۵۳±۲/۵	۲۵۷۰±۱/۲	۳۳۲۷±۴/۱	گرم	وزن خشک کل
۹۶/۲۹	۷۳/۵۱	۱۱۴/۵	۳۹/۱	۹۷۴۸±۴/۱	۱۰۱۵±۴/۷	۹۲۶۵±۳/۶	۵۹۴۰±۲/۶	۶۶۸۸±۳/۲	۵۵۴۳±۲/۴	۹۸۴۳±۲/۲	گرم	وزن خشک کل بونه
۳۵/۷۵	۳/۸۷	۲۱/۰	۴/۰	۱۶۱۳±۱/۲	۱۰۷۵±۰/۹	۱۳۲۵±۱/۱	۹۰۰±۰/۷	۷/۵۰±۰/۶	۵/۷۵±۰/۳	۱۰۵۰±۰/۴	تعداد	تعداد شاخه‌های چاقی
۳۴/۸۴	۸/۳۳	۴۲	۸/۰	۲۹۲۵±۲/۷	۳۳۶۳±۲/۸	۲۷۰۰±۲/۱	۱۶۷۵±۱/۶	۲۴۷۵±۱/۶	۱۲۳۸±۰/۸	۱۹۷۵±۱/۱	تعداد	تعداد برگ
۳۸/۱۲	۳۸/۸۲	۶۸/۲	۱۰/۲	۶۱۲۹±۴/۳	۵۲۳۱±۳/۶	۴۵۳۰±۲/۱	۳۲۷۱±۱/۹	۳۸۳۱±۲/۴	۱۶۹۶±۰/۶	۲۷۶۴±۱/۲	سانتی متر	ارتفاع گیاه



جدول شماره ۳- نتایج بررسی توصیفی (Descriptive) صفت وزن خشک ریشه‌های ضریف و ضریف 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 (مراوه تپه)	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 متغیر 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 شاخساره و وزن خشک برگ (**۰/۹۶)، وزن خشک کل شاخساره 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 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).



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

ضرب تغییرات (%)	انحراف استاندارد	میانگین	حداکثر	حداقل	جمعیت						واحد	صفت	
					زنجار (طارم)	گیلان (سیاهکل)	همدان (روزن)	گلستان (مراوه تپه)	مازندران (سیاه پشته)	قم (اتویان)			تهران (فیروزکوه)
۵۱/۹۸	۰/۲۵	۰/۵۰۰	۱/۳۳۴	۰/۱۱۸	۰/۱۸۸±۰/۲	۰/۲۶۵±۰/۵۱	۰/۲۴۲±۰/۱۴	۰/۲۸۱±۰/۱۳	۰/۵۸۱±۰/۱۴	۰/۹۱۶±۰/۱۷	۰/۲۵۵±۰/۱۵	درصد ماده خشک	محتوی هیوسامین
۷۲/۲۲	۰/۱۵	۰/۲۱۴	۰/۵۹۷	۰/۰۱۴	۰/۳۰۵±۰/۲	۰/۴۹۲±۰/۵	۰/۲۵۷±۰/۱۳	۰/۱۷۲±۰/۱۱	۰/۲۰۹±۰/۱۳	۰/۰۴۰±۰/۱۱	۰/۱۳۳±۰/۱۲	درصد ماده خشک	محتوی اسکریولامین
۵۶/۱۷	۱۹/۶	۳۵/۵۵	۸۸/۱۶	۸/۸۵۱	۱۸۲۵۵±۰/۴	۶۸۳۷±۰/۷	۳۳۵۷±۰/۵	۱۶۲۶±۰/۳	۳۸۸۹±۰/۴	۵۱/۰۱±۰/۸	۲۰/۰۷±۰/۳	میلی گرم در گیاه	عملکرد هیوسامین
۹۰/۹۶	۱۶/۸	۱۸/۳۳	۶۰/۲۷	۰/۸۲۴	۲۹/۲۵±۰/۴	۴۹۷۵±۰/۸	۲۴/۰۵±۰/۷	۴۳۵۶±۰/۳	۱۲/۸۷±۰/۳	۲/۱۹۰±۰/۱	۵/۸۶۱±۰/۲	میلی گرم در گیاه	عملکرد اس کریولامین
۱۰۳/۸	۰/۶۱	۰/۵۹۳	۳/۰۲	۰/۰۱۵	۱/۸۰±۰/۴۱	۰/۸۶±۰/۱۶	۰/۲۲۷±۰/۱۸	۰/۲۸۰±۵/۰	۰/۳۷۱±۰/۱۷	۰/۰۴۹±۰/۱۱	۰/۱۹۶±۰/۱۴	-	نسبت اسکریولامین به هیوسامین
۵۷/۱۶	۳/۰۸	۵۲/۸۸	۱۳۵/۹	۱۲/۳۱	۴۹/۸±۰/۱۶	۱۱۸/۱±۳/۴	۵۱/۶۲±۲/۱	۲/۱۱۱±۱/۷	۵/۲۶۶±۰/۴	۵۲/۲±۰/۸	۲۵/۹۲±۰/۱۶	میلی گرم در گیاه	عملکرد کل آلکالوئید



جدول شماره ۵- نتایج بررسی توصیفی (Descriptive) صفت نسبت اسکوپولامین به هیوسامین 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 (مراوه تپه)	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 هیوسامین و ارتفاع گیاه همبستگی منفی و معنی دار (**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 الگوریتم 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.

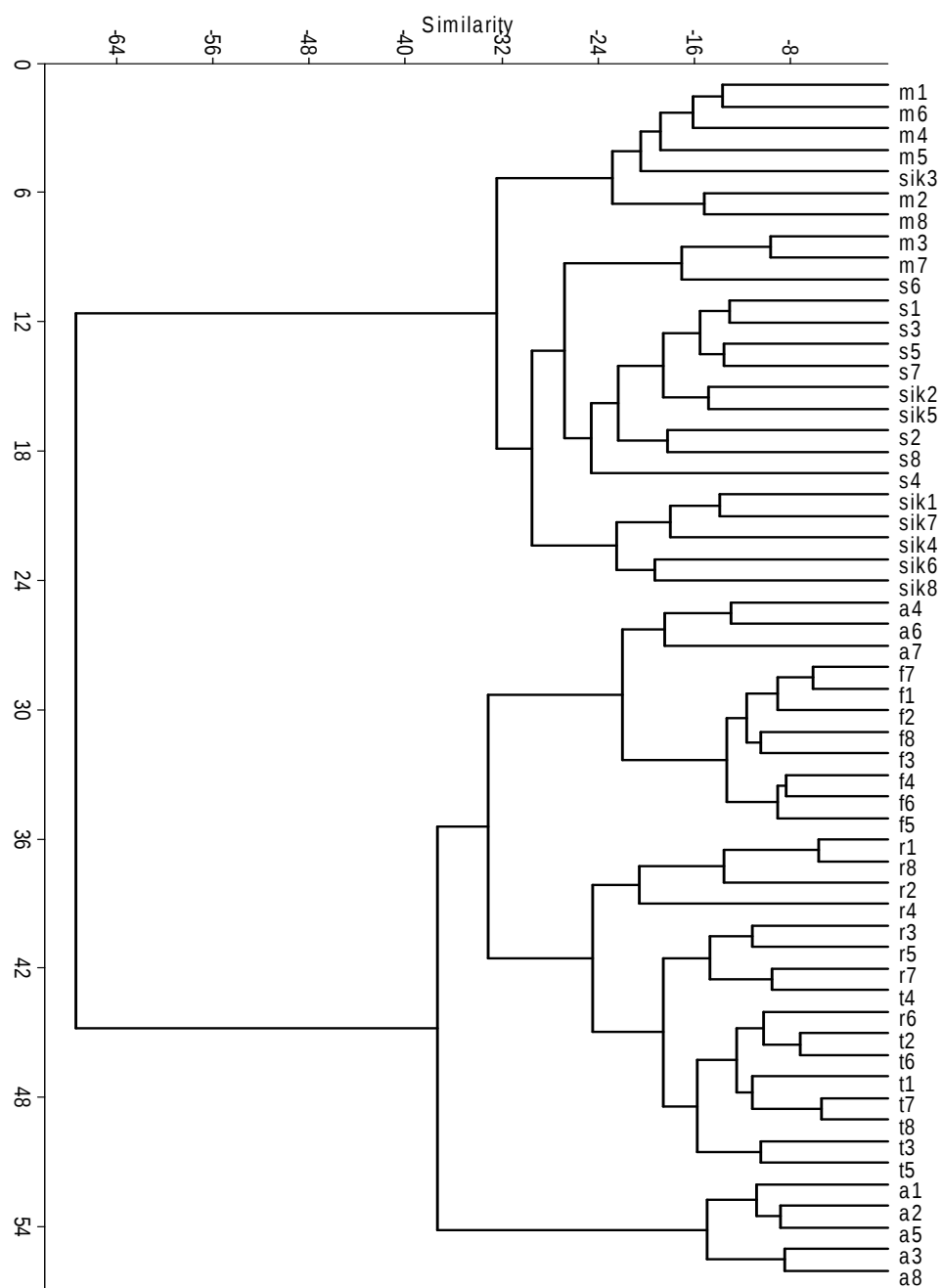
آنالیز بای پلات بر اساس مولفه های اول و دوم (PC1 و PC2) که روابط بین جمعیت‌ها را از نظر صفات مورد بررسی نشان می‌دهد، انجام شد (شکل‌های شماره ۴ و ۵). نتایج آنالیز بای پلات بر ای صفات مورفولوژیکی (شکل شماره ۴) مطابق با نتایج آنالیز کلاستر برای این صفات با توزیع جمعیت‌ها در دو گروه اصلی بود. روند و پیشرفت 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



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

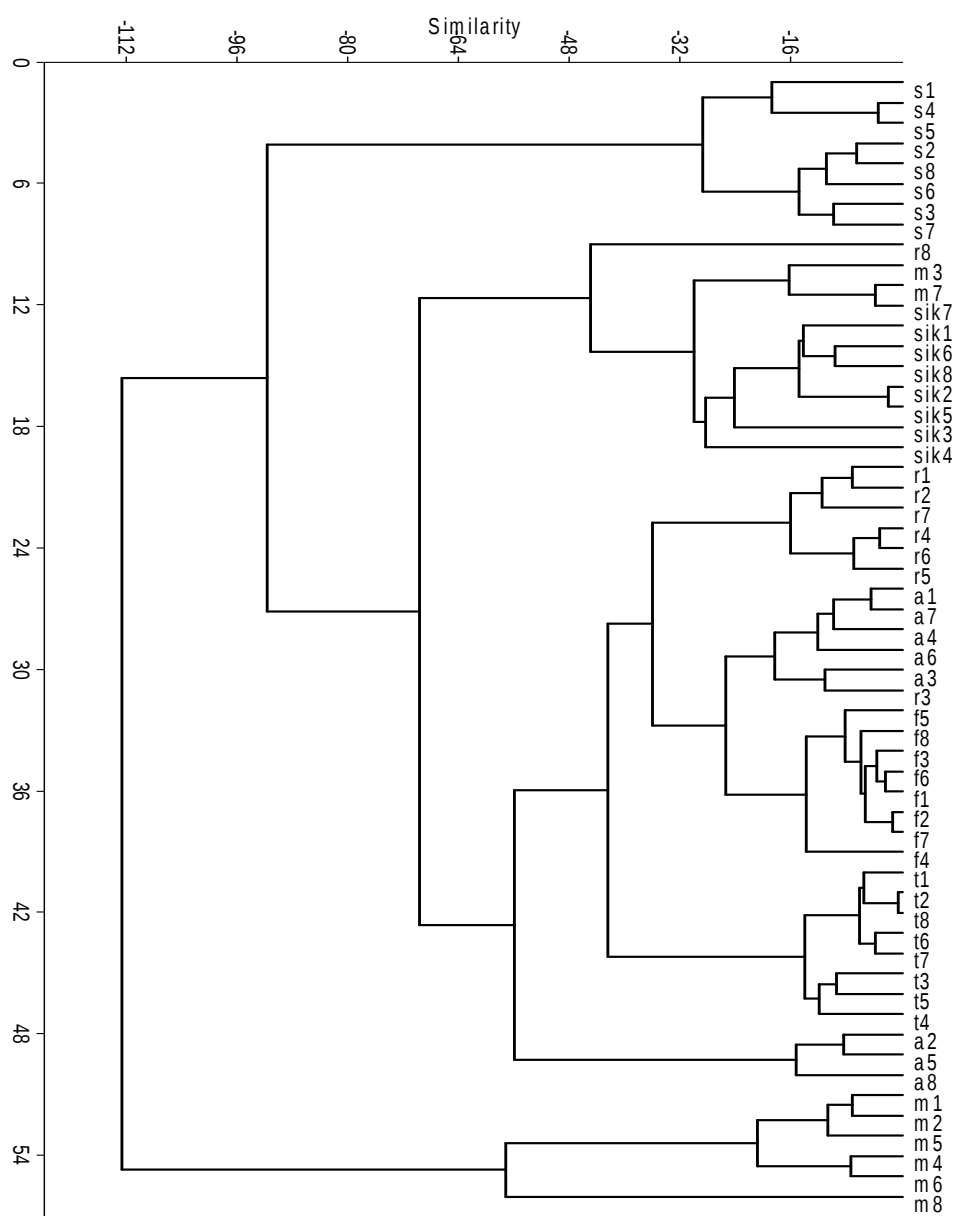
صفات	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹	۱۰	۱۱	۱۲	۱۳	۱۴	۱۵	۱۶
۱	۱															
۲	-۰/۲۱	۱														
۳	۰/۵۸**	۰/۶۷**	۱													
۴	۰/۷۴**	-۰/۲۱	۰/۳۹**	۱												
۵	۰/۷۵**	-۰/۲۹*	۰/۳۲*	۰/۸۲**	۱											
۶	۰/۷۸**	-۰/۲۶	۰/۳۸**	۰/۹۶**	۰/۹۵**	۱										
۷	۰/۸۴**	۰/۰۶	۰/۶۷**	۰/۹۰**	۰/۸۷**	۰/۹۲**	۱									
۸	۰/۵۹**	-۰/۰۵	۰/۴۰**	۰/۳۵**	۰/۵۹**	۰/۴۸**	۰/۵۲**	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	۰/۰۱	-۰/۱۲	-۰/۴۴**	-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**	۰/۳۴**	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**	۰/۸۲**	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**	-۰/۵۴**	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 طریف 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 برگ ۸) تعداد شاخه‌های جانبی ۹) تعداد برگ ۱۰) ارتفاع گیاه ۱۱) محتوی هیوسامین ۱۲) محتوی اسکوپولامین ۱۳) عملکرد هیوسامین ۱۴) نسبت اسکوپولامین به هیوسامین ۱۵) اسکوپولامین ۱۶) عملکرد کل آلکالوئید.



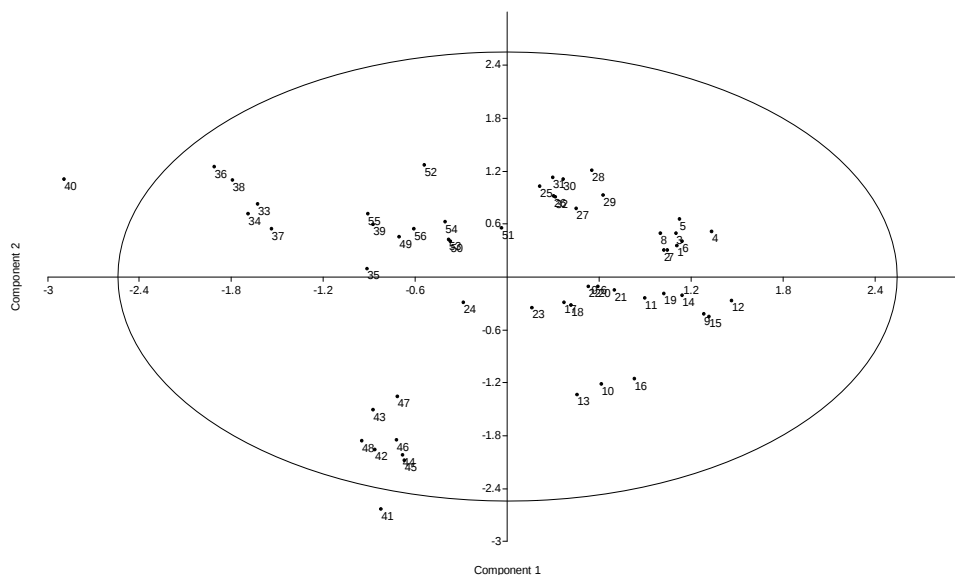
شکل شماره ۲- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای نمونه‌های ۷ جمعیت مورد مطالعه بذرالبنج (*H. niger*) بر اساس صفات مورفولوژیکی با بهره‌گیری از الگوریتم UPGMA



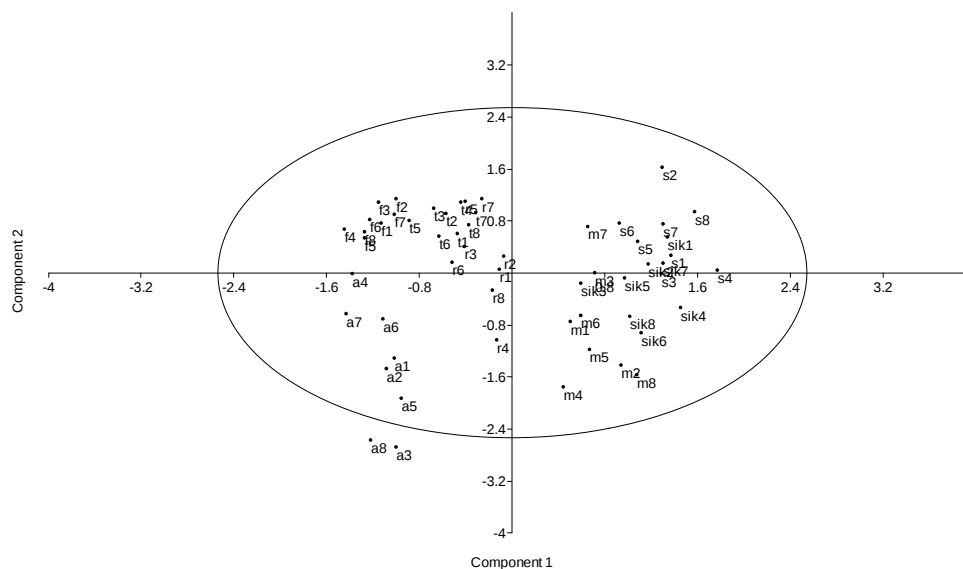


شکل شماره ۳- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای نمونه‌های ۷ جمعیت مورد مطالعه بذرالبنج (*H. niger*) بر اساس صفات متابولیتی با بهره‌گیری از الگوریتم UPGMA





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 (۱-۸) همراه حروف (a) اتوبان قم، m مراوه تپه گلستان، s سیاه بیشه مازندران، silk سیاهکل گیلان، f فیروزکوه تهران، r رزن همدان، t طارم زنجان) معرف افراد مورد مطالعه از جمعیت‌ها می‌باشند.

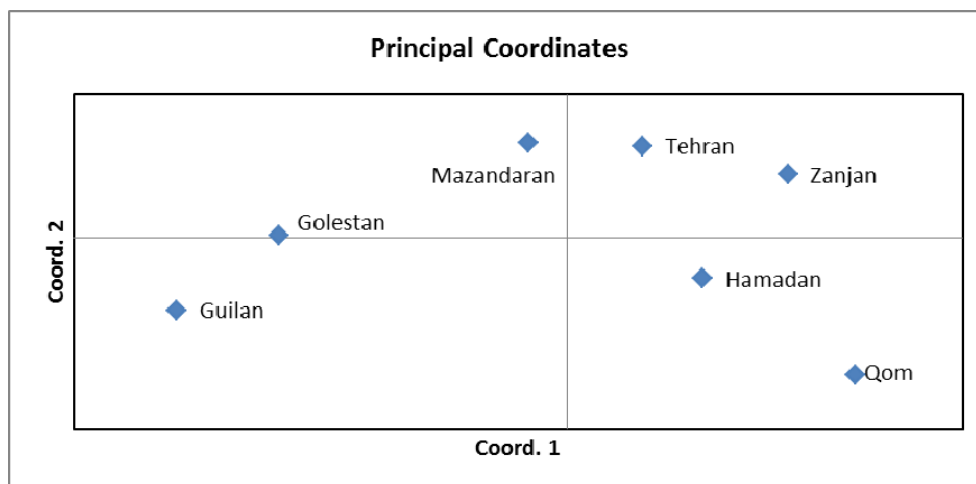
مولفه دوم (چپ به راست) در سطح پلات نشان از افزایش محتوی اسکوپولامین، عملکرد اسکوپولامین و هیوسامین است (شکل شماره ۵). نتایج آنالیز داده‌ها بر اساس بای پلات (Biplot) و جین اکس (GenAlEx) (شکل‌های شماره ۶ و

مولفه اول در سطح پلات (پایین به بالا)، افزایش محتوی اسکوپولامین، کاهش محتوی هیوسامین، افزایش عملکرد اسکوپولامین و افزایش نسبت اسکوپولامین به هیوسامین مشاهده شد. در حالی که افزایش مقادیر از منفی به مثبت



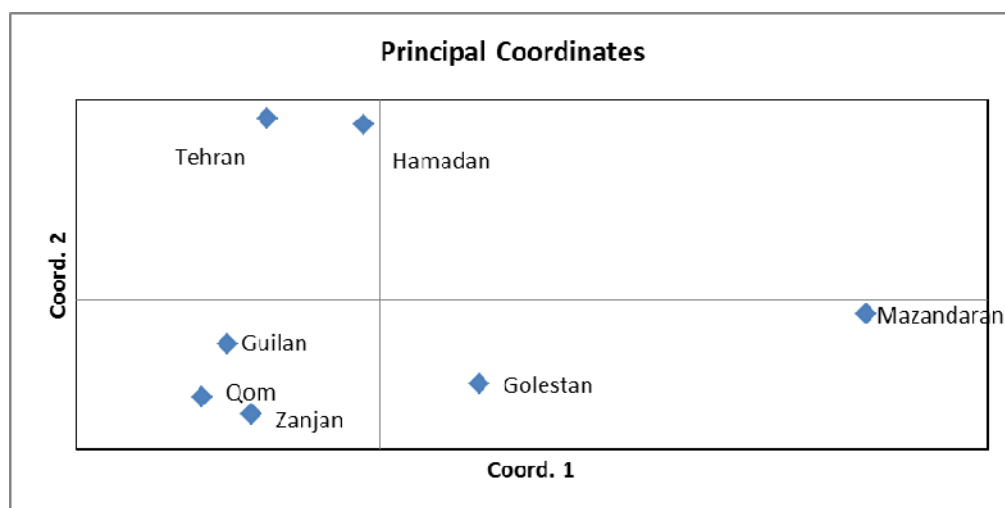
نتایج آنالیز مولفه‌های اصلی نشان می‌دهد که چهار مولفه اول ۹۰/۲۰ درصد واریانس‌ها را به خود اختصاص داده‌اند (جدول شماره ۷). مولفه اول (PC1) به میزان ۵۳/۳۰ درصد از کل واریانس را که شامل ده متغیر است (وزن خشک ریشه‌های ظریف، وزن خشک برگ، وزن خشک ساقه، وزن خشک شاخساره، وزن خشک کل گیاه، تعداد برگ، ارتفاع گیاه، 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 متغیر است (محتوی و عملکرد هیوسیامین) به خود اختصاص داده است. همچنین مولفه سوم (PC3) ۱۱/۶۶ درصد از کل واریانس را که شامل دو متغیر است (تعداد شاخه‌های جانبی و نسبت اسکوپولامین به هیوسیامین) به خود اختصاص داد. در ضمن، مولفه چهارم (PC4) شامل یک متغیر (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.

۷) تأییدی 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 داده‌های 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 مورفولوژیکی 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 مولفه‌های اصلی بر اساس کل صفات مطالعه شده در جدول شماره ۷ نشان داده شده است.



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





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



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 گونه‌های بذربالنج (*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 می‌رسد که بافت‌های مسن‌تر، قدرت سنتز دو آلکالوئید هیوسامین و اسکوپولامین را به تدریج از دست می‌دهند. همچنین با افزایش سن گیاه، میزان هیوسامین افزایش و مقدار اسکوپولامین کاهش می‌یابد [۱۸] نسبت هیوسامین 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 بذربالنج نشان داده است که در شرایط روز بلندی، میزان قابل توجهی هیوسامین تولید می‌شود [۲۰] دماهای بهینه برای کشت و افزایش مقدار آلکالوئید در گیاه بذربالنج به ترتیب ۱۶ و ۲۷ درجه سانتی‌گراد می‌باشند [۲۱] آلکالوئیدها در بافت‌های بالغ گیاهان نیز در پاسخ به آلودگی‌های میکروبی و حمله حشرات تولید می‌شوند.

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 شایبک [۱۸] نشان داد که کمبود پتاسیم سنتز آلکالوئیدها را افزایش می‌دهد، بنحوی که کاهش آن به افزایش درصد آلکالوئیدها منجر می‌شود. 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 واکنش‌ها 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]. همان‌طور که گفته شد متابولیت‌های ثانویه، هم به اقتضای ساختار طبیعی (وراثی) 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 ۵-۵۰۰ 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



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 فیتوشیمیایی درون و بین جمعیت‌های بذرالبنج در مناطق مختلف مورد مطالعه وجود دارد. بنابراین، جمعیت‌های یک

آب، سطوح آمینواسیدها و آمیدهای 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 اسپاراژین 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 فرایندهای 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 هیوسیمین و اسکوپولامین ارتباطی را کشف کردند. نتایج آنها نشان داد که با افزایش میزان آلکالوئیدهای کل و میزان هیوسیمین، میزان اسکوپولامین نیز افزایش می‌یابد. اخیراً گزارش شده است که تغییر در میکروکلیم (اقلیم خرد) به طور قابل ملاحظه‌ای با تولید آلکالوئیدهای تروپان مرتبط است، و این تغییر بیشتر تولید هیوسیمین 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



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 تأیید 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 می‌گردد.

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

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 Wiley 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 Tindall, 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, Omid M, Majidi Herve 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.



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. GenAIEx 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 comparison of the effect of mechanical and insect damage on alkaloid levels in *Atropa acuminata*. *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 vulgare*) 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.



Assessment of Morphological and Tropane Alkaloids Diversity among some Henbane (*Hyoscyamus niger* L.) Populations

Ghorbanpour M (Ph.D.)^{1*}, Salehi-arjmand H (Ph.D.)², Hatami M (Ph.D.)², Hosseini N (M.Sc.)³

1- Department of Medicinal Plants, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Arak University, Arak, Iran

2- Department of Medicinal Plants, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Arak University, Arak, Iran

3- Department of Medicinal Plants, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Arak University, Arak, Iran

*Corresponding author: Department of Medicinal Plants, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Arak University, Arak, 38156-8-8349, Iran

Tel: +98-86-32623420, Fax: +98-86-32771446

Email: m-ghorbanpour@araku.ac.ir

Abstract

Background: Black henbane with the scientific name of *Hyoscyamus niger* which has a wide geographic distribution, is considered as one the most important species for tropane alkaloids extraction.

Objective: In this research, morphological and tropane alkaloids variations were assessed within different population of *H. niger* in their natural habitats.

Methods: Totally, 56 individuals were collected from 7 populations of 7 different provinces in Iran, and subsequently morphological and metabolic variations were performed. Alkaloid extraction was carried out using various solvent based on specific procedure. The isolated alkaloids were further characterized using gas chromatography apparatus to detect the type of alkaloids.

Results: Results showed that the studied populations were significantly varied according to the all measured traits. The highest leaf dry weight, stem, shoot, whole plant and the number of leaf per plant was related to Guilan population. However, the highest (61.29 cm) and the lowest (16.96 cm) plant height, and maximum (16.13) and minimum (5.75) number of lateral branches were observed in Zanjan and Qom populations, respectively. The hyoscyamine content was varied ranging from 0.1888 g/plant (in Zanjan population) to 0.916 g/plant (in Qom population) with average of 0.5 g/plant. The maximum and minimum ratio of scopolamine to hyoscyamine was obtained in Zanjan (1.80) and Qom (0.049) populations, respectively. Moreover, there was a significant and negative correlation (-0.50**) between hyoscyamine content and plant height.

Conclusion: In this research, results of cluster and biplot analyses confirmed a wide variability in morphological and metabolites traits between and within *H. niger* populations of different studied regions.

Keywords: *Hyoscyamus niger* L., Alkaloid, Diversity, Hyoscyamine, Population, Scopolamine

