

## بررسی تنوع ژنتیکی تعدادی از لاین‌ها و ارقام فلفل (*Capsicum annuum*) و تأثیر تنش خشکی بر میزان ماده مؤثره آن

### Evaluation of genetic variation between some variety and lines of pepper (*Capsicum annuum*) and effects of drought stress on its active ingredient

عبداله محمدی<sup>۱\*</sup>، الهه عبدی خجسته<sup>۲</sup>، غلامرضا ریاضی<sup>۳</sup>

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۲/۲۴

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۷/۱۲

#### چکیده

بررسی تنوع ژنتیکی اولین گام در برنامه‌های اصلاح گیاهان است. از طرفی مهم‌ترین متابولیت ثانویه فلفل کپسایسین (*capsaicine*) می‌باشد که به دست آوردن هرچه بیشتر این ماده برای محققین مطلوب است. هدف از این تحقیق بررسی تنوع ژنتیکی تعدادی از لاین‌ها و ارقام فلفل و بررسی روند افزایش این ماده در گیاه تحت شرایط تنش خشکی بود. شش لاین فلفل به همراه رقم ۰۰۱۳ با استفاده از آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار سطح تنش خشکی (شاهد، ۷۵٪، ۵۰٪ و ۲۵٪ ظرفیت زراعی خاک) مورد بررسی قرار گرفت. صفات مورفولوژیک میوه‌ها اندازه‌گیری و جهت سنجش غلظت کپسایسین میوه دستگاه HPLC استفاده شد. لاین‌های مختلف فلفل از نظر میزان کپسایسین با یکدیگر متفاوت بوده و تنش خشکی بر میزان آن تأثیر به‌سزایی نداشت. در آزمون کروسکال - والیس بر اساس مقدار کپسایسین مشخص شد که این مقدار در فلفل‌هایی با اشکال متفاوت با سطح احتمال پنج درصد متفاوت است. رقم ۱۵-۲ و ۳۱-۶ به ترتیب از منطقه بیارجمند روستای خانخودی شاهرود و اباتر صومعه سرای گیلان دارای بیش‌ترین میزان کپسایسین در میوه بودند. تجزیه خوشه‌ای با روش Average نیز لاین‌های فلفل را از نظر تمامی صفات مورد مطالعه به دو گروه تقسیم کرد.

کلمات کلیدی: فلفل، تنوع ژنتیکی، تنش خشکی، میزان کپسایسین، HPLC

۱ - دانشیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج، کرج، ایران.

۲ - دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج، کرج، ایران.

۳ - عضو هیأت علمی دانشگاه تهران.

\* مکاتبه کننده: a-mohamadi@kiau.ac.ir E-mail:

## مقدمه

متابولیت‌های ثانویه جزء موضوعات داغ دنیای امروزی در زمینه‌ی تحقیقات علمی محسوب می‌شوند. این ترکیبات گیاهی یک گروه اقتصادی معنی‌دار و مهم را تشکیل می‌دهند که در مصارف گوناگون مانند چاشنی‌های غذایی، رنگدانه‌ها در رنگ‌آمیزی، مصارف دارویی و آفت‌کش‌های طبیعی کاربرد دارند. مهم‌ترین ترکیب در این گروه متابولیت‌های ثانویه، از ترکیبات فعال بیولوژیکی گونه‌های فلفل مشتق می‌شود که گروه آلکالوئیدی کپسایسینوئید است که از بنزیل آمین مشتق می‌شود (Gudeva *et al.*, 2012). این ماده یک آلکالوئید منحصر به فرد است که اصولاً در میوه‌ی جنس *Capsicum* یافت می‌شود و طعم تند آن را فراهم می‌کند. اولین بار این ماده توسط Thresh جدا و به‌عنوان کپسایسین نام‌گذاری شد. ولی ایشان ساختار این ماده را روشن نکرد و حضور نیتروژن را در فرمول ماده نادیده گرفت و فرمول C9H14O2 را ارائه داد. Micko روش استخراج کپسایسین را بهبود بخشید و یک ماده‌ی متبلور شده بسیار تند به دست آورد که در دمای ۶۳/۵° ذوب می‌شود، دارای ترکیبات فنولی است و فرمول به دست آمده توسط ایشان C18H27NO3 است. ۷ نوع کپسایسین متفاوت وجود دارد و طعم تند معمولاً از حداقل ۲ یا شاید همه‌ی این ترکیبات تشکیل شده است (Collins *et al.*, 1995). به‌طور کلی این ماده مستقیماً از میوه استخراج شده و تقاضای بالا موجب به‌کارگیری روش‌های جدید به‌منظور افزایش تولید به‌واسطه‌ی عصاره‌گیری و تعیین خصوصیت شده است. طیف وسیع کاربردهای روزافزون و بالقوه در کپسایسین علاقه به کار بر روی آن را افزایش داده است. به‌خصوص نتایج امیدوار کننده زیادی در مطالعات پزشکی، اثرات مفید ممکن در بسیاری از بیماری‌ها را نشان می‌دهد (Lourdes Reyes-Escogido *et al.*, 2011; Nelson, 1919). بنابراین افزایش میزان این ماده در گیاه

مطلوب می‌باشد. میوه‌های فلفل ۳ روز پس از گرده‌افشانی ظاهر می‌شوند و تا روز دهم به آهستگی به طول آن‌ها افزوده می‌شود. تجمع کپسایسینوئیدها درست قبل از اینکه افزایش طول متوقف شود شروع می‌شود، یعنی بین روز بیست و بیست و پنج، و تجمع مؤثر در طول دوره‌ی پانزده روزه (روز ۲۵ تا ۴۰) با میانگین افزایش ۳۳۳ میلی‌گرم در روز در هر میوه انجام می‌گیرد. بعد از روز چهارم سطح کپسایسینوئید در میوه عملاً ثابت باقی می‌ماند (Sukrasno & Yeoman, 1993; Ochaoa-Alejo & Gomez-Peralta, 1993). ۶۹٪ از کپسایسین به دست آمده متعلق به گروه کپسایسینوئید، ۲۲٪ متعلق به گروه دی‌هیدروکپسایسینوئید، ۷٪ متعلق به نور دی‌هیدروکپسایسینوئید، و هوموکپسایسین و هوموهیدروکپسایسین فقط ۱٪ از آن را شامل می‌شوند. کپسایسین و دی‌هیدروکپسایسین تقریباً دو برابر تندتر از نوردی‌هیدروکپسایسین و هوموکپسایسین و عامل تندی فلفل هستند (Gudeva *et al.*, 2012).

یکی از مهم‌ترین فاکتورهای محیطی مؤثر در زندگی گیاهان آب می‌باشد. معمولاً یک دوره‌ی کمبود آب سبب اثرات منفی در رشد و نمو گیاهان می‌گردد. این تأثیر منفی می‌تواند بر رشد رویشی، گل‌دهی، گرده‌افشانی و لقاح، تشکیل میوه و عملکرد وارد شود. امروزه مشخص گردیده است که تنش خشکی همیشه کاملاً مضر نیست و گزارش‌هایی مبنی بر تأثیر مثبت آن بر ساخت مواد مؤثره‌ی گیاهان دارویی و معطر وجود دارد. گیاهانی که تحت عنوان گیاهان دارویی مشهورند، غنی از متابولیت‌های ثانویه می‌باشند که دارای پتانسیل بالا جهت استفاده در صنایع داروسازی، آرایشی-بهداشتی و ... هستند. اگرچه بیوستز متابولیت‌های ثانویه به‌وسیله ژن‌ها کنترل می‌شود ولی تولید آن‌ها به میزان زیاد تحت تأثیر عوامل محیطی است. در نتیجه‌ی این موضوع، نوساناتی در میزان

## بررسی تنوع ژنتیکی تعدادی از لاین‌ها و ارقام فلفل ...

گیری کپسایسینوئید با ۹۵٪ اتانول اشباع شده با استات سدیم و تزریق نمونه‌ی عصاره در دستگاه HPLC است. سه پیک متناظر با رنگ دانه، کپسایسین و دی هیدروکپسایسین به دست آمده است (Collins et al., 1995).

با توجه به موارد گفته شده این پژوهش با هدف بررسی تنوع ژنتیکی ارقام و لاین‌های مختلف فلفل و بررسی روند افزایش میزان کپسایسین از طریق ایجاد تنش بر روی گیاه فلفل انجام گرفت.

### مواد و روش‌ها

در این تحقیق از ۷ لاین و رقم فلفل تند (Capsicum annuum L.) استفاده شد. این بذور در سال ۱۳۹۳ از موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج تهیه شد. بذرها در گلخانه دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی کرج در سینی کشت که با مخلوط خاک و پیت ماس پر شده بودند کشت شد. مرتباً آبیاری صورت گرفت و نور مورد نیاز توسط لامپ‌های آفتابی و مهتابی تأمین شد. پس از جوانه‌زنی، با کود NPK تغذیه شدند و پس از رسیدن به مرحله‌ی ۶-۸ برگی به گلدان‌های اصلی با ۴ تکرار و در ۳ تیمار و همچنین شاهد در مخلوط خاک و پیت ماس به ترتیب به نسبت ۶۰ به ۴۰ منتقل شدند و آبیاری آن‌ها مرتباً صورت گرفت. برای محاسبه ظرفیت زراعی خاک وزن خاک خشک شده در آون به مدت ۷۲ ساعت و دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد و وزن گلدان توأم با اندازه‌گیری شد. سپس خاک با قرار دادن گلدان در آب و همین‌طور اضافه کردن آب بر روی آن به حالت اشباع رسانده شد. روی آن با فویل پوشانده و بعد از ۲۴ ساعت قرار دادن آن در هوای آزاد مجدداً توزین شده و به‌عنوان وزن خاک مرطوب یادداشت شد. سپس با فرمول زیر درصد رطوبت خاک در نقطه‌ی ظرفیت زراعی محاسبه شد.

و کیفیت متابولیت‌های ثانویه از قبیل آلکالوئیدها، گلیکوزیدها، اسانس‌ها و استروئیدها مشاهده می‌شود. تعیین دقیق سطح کپسایسینوئیدهای مختلف هم‌چنین به علل مرتبط با مصارف روز افزون دارویی آن مهم است (Collins et al., 1995). یک روش پیشرفته کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) برای آنالیز کپسایسینوئید در پودر فلفل خشک شده، شامل تغییرات در عصاره‌گیری، فاز متحرک، سرعت (میزان) جریان و القا و طیف امواج و نتیجه‌گیری در کاهش زمان تجزیه و تحلیل، افزایش حساسیت و دقت و امنیت گزارش شده، ثابت شده است که عصاره‌گیری پودر میوه Capsicum استفاده از استونیتریل بهترین عصاره‌گیری در کوتاه‌ترین بازه‌ی زمانی است. حلال‌های استفاده شده برای جداسازی و HPLC کپسایسینوئید شامل متانول و آب در ۱ میلی‌لیتر در دقیقه سرعت جریان است. دو روش آنالیز توسعه پیدا کرده است. یک روش مقدار کل واحد حرارت در هفت دقیقه را تعیین می‌کند در حالی که دیگری مقدار کل واحدهای دمایی را مثل جداسازی همه‌ی کپسایسین‌های فرعی و اصلی (کوچک و بزرگ) حاضر در بیست دقیقه را تعیین می‌کند. این روش‌های پیشرفته روش‌هایی سریع و ارزان برای آنالیزهای اندازه‌گیری و تعیین کیفیت کپسایسین در نمونه‌های میوه‌ی کپسایسین همراه با دقت و بدون تداخل یا پیک اختلال هستند. ۷ نوع کپسایسین متفاوت وجود دارد و طعم تند معمولاً از حداقل ۲ یا شاید همه‌ی این ترکیبات تشکیل شده است (Carmichael, 1991). تکنیک‌هایی که از HPLC استفاده می‌کنند آنالیزهای دقیق و مفید از مقدار و نوع کپسایسینوئید موجود در یک نمونه چیلی را تعیین می‌کنند. رایج‌ترین روش HPLC استفاده شده برای اندازه‌گیری مقدار کپسایسینوئید در یک دستورالعمل طرح ریزی شده است (ASTA, 1985). روش ASTA شامل خشک کردن و آسیاب کردن یک نمونه‌ی چیلی، به دنبال آن عصاره

$$\text{درصد رطوبت در نقطه‌ی ظرفیت زراعی خاک} = \frac{\text{وزن خاک خشک} - \text{وزن خاک تر}}{\text{وزن خاک خشک}} \times 100$$

پس از رسیدن به مرحله‌ی گل‌دهی تیمارهای خشکی که شامل مقدار آبیاری ۲۵٪ ظرفیت زراعی، ۵۰٪ ظرفیت زراعی، ۷۵٪ ظرفیت زراعی اعمال شد و هم‌چنین آبیاری شاهد با مقدار آبیاری ۱۰۰٪ ظرفیت زراعی انجام شد. برای تعیین غلظت ماده کپسایسین در نمونه‌های فلفل، ۱ گرم از پودر آسیاب شده میوه خشک شده فلفل در ۵ میلی‌لیتر استونیتریل به مدت ۳ روز قرار داده شد. ۴ ساعت در حمام آب گرم با سرعت ۵۰ دور در دقیقه شیک شد. پس از سانتریفیوژ در 4000\*g سوپرناتانت فیلتر شد. ۱۰۰ میکرولیتر از محلول صاف شده به دستگاه HPLC تزریق شد. flow rate دستگاه ۱ ml/min قرار داده شد. دیتکتور دستگاه UV و طول موج 280 نانومتر قرار داده شد. با توجه به پیک استاندارد در دقیقه ۵، تمامی پیک‌های دقیقه ۵ برای سنجش میزان کپسایسین مورد بررسی قرار گرفت. در ادامه ضمن اندازه‌گیری صفات میوه، روند افزایش تولید کپسایسین تحت تنش خشکی بر روی لاین‌های فلفل بومی نواحی بیارجمند شاهرود، فرومد شاهرود، صومعه سرای استان گیلان، همدان در ایران و رقم ۰۰۱۳ با استفاده از آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با فاکتورهای ژنوتیپ در ۷ سطح و تنش در ۴ سطح (شاهد، ۷۵٪، ۵۰٪ و ۲۵٪ ظرفیت زراعی خاک) انجام شد.

## نتایج و بحث

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار Minitab نرمال شدند و به کمک نرم‌افزار SPSS آنالیزها و مقایسات میانگین انجام شد. فلفل‌های مورد استفاده در آزمایش اول از ۶ لاین برتر گزینش شده از مناطق مختلف ایران و هم‌چنین رقم ۰۰۱۳ و دارای صفات کیفی به شرح جدول (۱) بودند. با توجه به مشاهدات تجربی و نتایج به دست آمده، لاین‌های فلفل مختلف از نظر طول میوه، قطر میوه و نسبت طول به قطر در

آنالیزهای انجام شده اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد داشتند که دلیل آن استفاده از لاین‌های گوناگون و با شکل و اندازه‌های کاملاً متفاوت بود (جدول ۲). هم‌چنین فاکتور تنش خشکی بر روی قطر میوه‌ها در سطح احتمال یک درصد تأثیرگذار بود ولی در مورد صفات طول و نسبت طول به قطر تأثیر معنی‌داری دیده نشد (جدول ۲). اثر متقابل لاین‌های فلفل و فاکتور تنش بر روی صفات مورد مطالعه تأثیرگذار نبود و بی‌معنی بودن تنش و همین‌طور اثر متقابل تنش و لاین روی صفات مورفولوژیکی میوه‌ها به این دلیل بود که این صفات تحت کنترل اطلاعات ژنتیکی گیاه می‌باشند و محیط تأثیر کمی روی آن‌ها دارد (جدول ۲).

در ادامه مقایسه میانگین لاین‌های فلفل برای طول میوه، قطر میوه و نسبت طول به قطر میوه انجام شد. نتایج حاصل از مقایسه میانگین لاین‌های فلفل بر اساس طول میوه اختلاف معنی‌داری را بین لاین‌های مختلف فلفل در سطح احتمال پنج درصد نشان داد، لاین فلفل ۳۱-۶ با میانگین طول ۹/۰۶ سانتی‌متر بلندترین میوه و لاین فلفل ۲-۳ با میانگین طول ۵/۲ سانتی‌متر کوتاه‌ترین میوه شناخته شده و باقی ارقام در سه گروه دیگر، بین این دو گروه قرار گرفتند. نتایج حاصل از مقایسه میانگین لاین‌های فلفل بر اساس قطر میوه، اختلاف معنی‌داری را بین لاین‌های مختلف فلفل در سطح احتمال پنج درصد نشان می‌دهد، لاین فلفل ۱۶-۸ با میانگین قطر ۲/۲۵ سانتی‌متر قطورترین میوه و لاین فلفل ۳۱-۶ با میانگین قطر ۰/۴۵ سانتی‌متر باریک‌ترین میوه شناخته شده و باقی ارقام در پنج گروه دیگر، بین این دو گروه قرار گرفتند. نتایج حاصل از مقایسه میانگین لاین‌های فلفل بر اساس نسبت طول به قطر میوه، اختلاف معنی‌داری را بین لاین‌های مختلف فلفل در سطح احتمال پنج درصد نشان می‌دهد و لاین‌های فلفل در سه گروه مختلف از نظر نسبت طول به قطر قرار داده شدند. نتایج حاصل از ضرایب همبستگی پیرسون صفات

## بررسی تنوع ژنتیکی تعدادی از لاین‌ها و ارقام فلفل ...

همبستگی معنی‌دار و منفی در سطح احتمال یک درصد مشاهده و مقدار کپسایسین با قطر میوه در سطح احتمال پنج درصد همبستگی معنی‌دار داشتند. نسبت طول میوه به قطر میوه و همین‌طور طول میوه رابطه معنی‌داری با میزان کپسایسین نداشتند.

کمی اندازه‌گیری شده در آزمایش تنش خشکی فلفل حاکی از وجود همبستگی معنی‌دار و منفی طول و قطر میوه در سطح احتمال یک درصد بود (جدول ۳). همچنین بین طول میوه و نسبت طول به قطر همبستگی مثبت معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد وجود داشت (جدول ۳). بین قطر میوه و نسبت طول میوه به قطر میوه

جدول ۱- مشخصات کیفی و مناطق لاین‌های برتر گزینش شده و ارقام مختلف فلفل

Table 1. Qualitative characteristics and region of selected lines and cultivars

وضعیت براق بودن میوه (Fruit gloss)	وضعیت نوک میوه (Fruit tip)	وضعیت موج روی میوه (Fruit lumpy)	رنگ میوه (Fruit color)	شکل میوه (fruit shape)	منطقه (zone)	گونه (species)	شماره لاین (Line No.)
هست (yes)	مدور (circular)	ندارد یا بسیار کم (no or few)	تیره (dingy)	نسبتاً مثلثی- (triangular- approximately)	همدان (Hamedan)	<i>C. annuum</i>	10-8
هست (yes)	نسبتاً تیز (apiculate)	کم (few)	تیره (dingy)	نسبتاً مثلثی- (triangular- approximately)	بیارجمند، روستای خانخودی، شاهرود (Shahrood)	<i>C. annuum</i>	15-2
هست (yes)	بسیار فرو رفته (abroach)	کم (few)	سبز روشن (mignonette)	دو زنگه ای (trapezoidal)	بیارجمند، روستای برم، بخش زمان آباد، شاهرود (Shahrood)	<i>C. annuum</i>	13-4
هست (yes)	بسیار فرو رفته (abroach)	متوسط (medium)	متوسط (green)	مستطیلی (rectangular)	همدان (Hamedan)	<i>C. annuum</i>	16-8
هست (yes)	بسیار تیز (Sharp)	کم (few)	متوسط (green)	کمی مثلثی- (triangular- approximately)	آباتر، صومعه سرا، گیلان (Gilan)	<i>C. annuum</i>	31-6
نیست (no)	نسبتاً تیز (sharp)	کم (few)	متوسط (green)	مثلثی کشیده (triangular)	فرومد، شاهرود (Shahrood)	<i>C. annuum</i>	2-3
هست (yes)	بسیار تیز (sharp)	متوسط (medium)	سبز روشن (mignonette)	کمی مثلثی- (triangular- approximately)	رقم شرق آسیا (East of Asia)	<i>C. annuum</i>	0013

جدول ۲- تجزیه واریانس برای طول میوه، قطر میوه و نسبت طول به قطر میوه برای ۷ لاین فلفل

Table 2. Analysis of variation for fruits length and diagonal and fruits length to diagonal ratio for 7 lines

S.O.V	میانگین مربعات (MS)			
	df	نسبت طول به قطر (fruits length to diagonal ratio)	قطر میوه (fruits diagonal)	طول میوه (fruits length)
لاین (Line)	6	806.98**	7.16**	36.41**
تنش (Stress)	3	0.54 <sup>ns</sup>	0.02**	2.19 <sup>ns</sup>
لاین × تنش (Line x Stress)	18	3.42 <sup>ns</sup>	0.0021 <sup>ns</sup>	2.24 <sup>ns</sup>
خطا (Error)	84	2.92	0.003	1.44

\*, \*\*, و <sup>ns</sup> به ترتیب نشان دهنده معنی دار بودن در سطح احتمال ۵ درصد، ۱ درصد و عدم وجود اختلاف معنی دار می باشد.

\*, \*\*, and <sup>ns</sup>: Significant ( $\alpha=5\%$ ), highly significant ( $\alpha=1\%$ ) and non-significant, respectively

جدول ۳- ضرایب همبستگی پیرسون صفات کمی اندازه گیری شده

Table 3. Correlation analysis for studied traits

طول میوه/قطر میوه (fruits length to diagonal ratio)	قطر میوه (fruits diagonal)	طول میوه (fruits length)	
			قطر میوه (fruits diagonal)
		-0.622**	
	-0.906**	0.834**	طول میوه/قطر میوه (fruits length to diagonal ratio)
	0.195 <sup>ns</sup>	-0.068 <sup>ns</sup>	مقدار کپسایسین (%) (Capsaicin %)
-0.170 <sup>ns</sup>			

\*, \*\*, و <sup>ns</sup> به ترتیب نشان دهنده معنی دار بودن در سطح احتمال ۵ درصد، ۱ درصد و عدم وجود اختلاف معنی دار می باشد.

\*, \*\*, and <sup>ns</sup>: Significant ( $\alpha=5\%$ ), highly significant ( $\alpha=1\%$ ) and non-significant, respectively

حاصل از تجزیه همبستگی ساده متفاوت است. با توجه به اینکه در تجزیه همبستگی معنی داری می تواند تحت تأثیر عوامل مختلف قرار گیرد می توان این تناقض را توجیه کرد و نتیجه حاصل از این آزمون را قبول نمود. همچنین مقدار کپسایسین در فلفل هایی با نسبت طول به

با توجه به اینکه امکان نرمال کردن داده های میزان کپسایسین وجود نداشت از آزمون کروسکال-والیس استفاده شد و بر اساس آن مشخص شد که مقدار کپسایسین در فلفل هایی با طول متفاوت در سطح احتمال پنج درصد متفاوت است (جدول ۴) که این نتیجه با نتیجه

### بررسی تنوع ژنتیکی تعدادی از لاین‌ها و ارقام فلفل ...

(نمودار ۴-۴). گروه اول شامل لاین‌های ۱۰-۸، ۲-۳، ۴-۱۳، ۸-۱۶ و ۱۵-۲ دارای خصوصیات زیر بودند:

- دارای بلندترین طول میوه
- دارای کم‌ترین قطر میوه
- دارای بیشترین نسبت طول به قطر میوه
- دارای بیشترین میانگین میزان کپسایسین
- و گروه دوم شامل لاین‌های ۳۱-۶ و ۱۳-۰
- دارای خصوصیات زیر بودند:
- دارای کمترین طول میوه
- دارای کمترین قطر میوه
- دارای کمترین نسبت طول به قطر میوه
- دارای کمترین میانگین میزان کپسایسین

قطر متفاوت با سطح احتمال پنج درصد، متفاوت و معنی‌دار است (جدول ۴).

رقم ۱۵-۲ از منطقه بیارجمند روستای خانخودی شاهرود، دارای بیشترین میزان کپسایسین موجود در میوه بود. پس از آن رقم ۳۱-۶ از منطقه اباتر صومعه سرای گیلان در رده‌ی دوم و دارای میزان کپسایسین بیشتری نسبت به باقی لاین‌ها شناخته شد. در سایر لاین‌های فلفل مورد آزمایش مقدار قابل توجهی از این ماده یافت نشد.

نتایج آزمایش Sharma و Sanatombik (۲۰۰۸) روی ۶ رقم مختلف فلفل از ۳ گونه، نشان داد که مقدار کپسایسین و تندی فلفل به ژنوتیپ آن‌ها بستگی داشت. تجزیه خوشه‌ای با روش Average لاین‌های فلفل را از نظر تمامی صفات مورد مطالعه به دو گروه تقسیم کرد

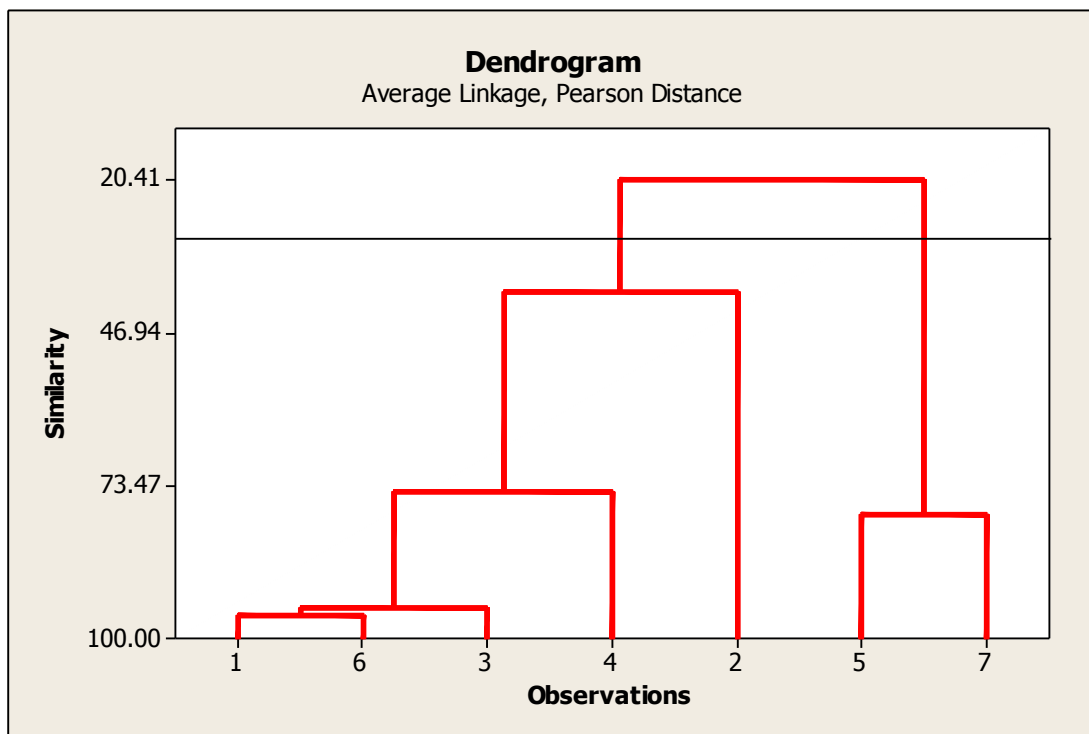
جدول ۴- نتایج آزمون کروسکال-والیس بر اساس مقدار کپسایسین

Table 4. Kruskal-wallis test for capsaicin

نسبت طول به قطر (fruits length to diagonal ratio)	قطر میوه (fruit diagonal)	طول میوه (fruit length)	تنش (Stress)	لاین‌های فلفل (line)	
3.897*	0.033	3.993*	0.000	0.000	کای اسکور ( $\chi^2$ )
1	1	1	1	1	درجه آزادی (df)

\*, \*\* و ns به ترتیب نشان دهنده معنی‌دار بودن در سطح احتمال ۵ درصد، ۱ درصد و عدم وجود اختلاف معنی‌دار می‌باشد.

\*, \*\* and ns: Significant ( $\alpha=5\%$ ), highly significant ( $\alpha=1\%$ ) and non-significant, respectively



نمودار ۱- نمودار تجزیه خوشه‌ای بین صفات مختلف لاین های مختلف

Fig 1. Cluster analysis based on all traits

متوسط، از نظر قطر در جایگاه f و از نظر نسبت طول به قطر در جایگاه a یعنی بسیار کم، قرار گرفت. پس از آن رقم ۶-۳۱ مربوط به روستای آباتر منطقه صومعه سرای گیلان در جایگاه بعدی بود. این لاین از نظر طول میوه در جایگاه d به عبارتی بلندترین طول میوه قرار گرفت، از نظر قطر در جایگاه a یعنی کمترین قطر میوه و از نظر نسبت طول به قطر در جایگاه c یعنی کمترین نسبت طول به قطر قرار گرفته بود. در سایر لاین ها میزان کپسایسین بسیار ناچیز یا صفر گزارش شد.

#### سپاسگزاری

این مقاله حاصل بخشی از طرح پژوهشی به شماره ۱/۲۱۶۸۸۷ مورخ ۱۳۹۰/۱۱/۰۵ است. نویسندگان از دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج به خاطر حمایت مالی از این طرح پژوهشی تشکر می‌نمایند.

به‌طور کلی این آزمایش نشان داد که صفات فیزیولوژیکی مورد بررسی کم‌تر تحت تأثیر محیط قرار گرفته و کنترل آن‌ها ژنتیکی می‌باشد و تنها صفتی که با اعمال تنش خشکی اختلاف معنی‌داری را نشان داد قطر میوه بود که کاهش آن در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. لاین های فلفل مختلف نیز از نظر سطح کپسایسین با یکدیگر در سطح احتمال یک درصد متفاوت بوده و تنش خشکی بر میزان آن تأثیر به‌سزایی نداشت. بنابراین میزان کپسایسین هم بیشتر تحت کنترل عوامل ژنتیکی بوده و محیط روی آن تأثیر کمی دارد و برای افزایش آن باید از ژن‌های درگیر در تولید و افزایش این ماده بهره برد. لاین های فلفل ۱۵-۲ مربوط به روستای خانخودی ناحیه بیارجمند شاهرود دارای بالاترین میزان کپسایسین بود که از نظر طول در رتبه ی ab، به عبارتی



## References

## منابع

عبادی، م.ت.، م. عزیزی، و ا. فرزانه. ۱۳۹۰. بررسی اثر تنش خشکی ناشی از پلی اتیلن گلیکول بر مولفه های جوانه زنی چهار رقم اصلاح شده بابونه آلمانی (*Matricaria recutita*)، مجله پژوهش های تولید گیاهی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، جلد هجدهم، شماره دوم.

**American Spice Trade Association.** 1985. Official analytical methods of the American Spice Trade Association. 3rd ed, Amer, Spice Trade Assn., Englewood Cliffs, N.J.

**Carmichael, J.K.** 1991. Treatment of herpes zoster and post herpetic neuralgia. Amer, Family Physician 44:203–210.

**Collins, M., L. Wasmund, & P. Bosland.** 1995. Improved method for quantifying Capsaicinoids in Capsicum using High Performance Liquid Chromatography. Hortscience, 30(1):137–139.

**Gudeva, L., S. Mitrev, V. Maksimova, & D. Spasov.** 2012. Content of capsaicin extracted from hot pepper (*Capsicum annuum* ssp. *Microcarpum* L.) and its use as an ecopesticide. Hemijska industrija.

**Lourdes, R. E., E. Maria, M. Gonzalez & E. Vazquez-Tzompantzi.** 2011. Chemical and pharmacological Aspects of Capsaicin. Molecules, 16, 1253-1270; doi:10.3390.

**Nelson, E.K.** 1919. The constitution of capsaicin, the pungent principle of capsicum. Contribution from the Essential. Oils Laboratory, Drug Division, Bureau of Chemistry, new york.

**Ochaoa-Alejo, N. & J. E. Gomez-Peralta.** 1993. Activity of enzymes involved in capsaicin biosynthesis in callus tissue and fruits of Chili Pepper (*Capsicum annuum* L.). J. Plant Physiol. Vol. 141. pp. 147-152.

**Sanatombik, G. & J. Sharma.** 2008. Capsaicin Content and Pungency of Different Capsicum spp. Cultivars, Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca, 36 (2), 89-90.

**Sukrasno, N. & M. M. Yeoman.** 1993. phenylpropanoid metabolism during growth and development of Capsicum Frutescence fruits. Phytochemistry, Vol. 32, No. 4, pp. 839 844.

**Ramos, P.J.** 1979. Further study of the spectrophotometric determination of capsaicin. J. Assn. Office. Annal. Chem., 66:1304-1306.

## Evaluation of genetic variation between some variety and lines of pepper (*Capsicum annuum*) and effects of drought stress on its active ingredient.

A. mohammadi\*<sup>1</sup>, E. abdi-khojaste<sup>1</sup>, and G. riazzi<sup>2</sup>

Received date: 13 May 2016

Accepted date: 2 Oct 2016

### Abstract

Analysis of genetic variation is the first step in plant breeding programs. The most important secondary metabolites of capsicum are capsaicin that increasing of this material is favorable for researchers. The aim of this study was Evaluation of genetic variation between some variety and lines of pepper and effects of drought stress on its active ingredient. Irrigation of six native lines of capsicum and the cultivar 0013 were conducted at 25%, 50%, 75% and 100% of field capacity. Morphological traits of fruit were noted and HPLC were used for measurement of fruits capsaicin concentrations. The results of morphological measurements were analyzed by factorial experiment in a completely randomized design with the factors of genotypes at seven levels and stress at four levels (control, 75%, 50% and 25% field capacity). Between capsicum lines in term of the amount of capsaicin there were significant differences but drought stress couldn't significant effect on them. In Kruskal-Wallis assay based on capsaicin amount, we found that levels of fruits capsicum were different between studied lines at 5 percent levels of probability. The cultivars 2-15 and 6-31 from Biarjomand region kxanlhodi village of Shahrood and Abater Gilan had the highest amount of capsaicin in fruits, respectively. Cluster analysis with average method for all entered traits divide lines in 2 groups.

**Keywords:** Capsaicin, Genetic variation, HPLC, Pepper, Drought stress

---

1. Department of Plant Breeding, Karaj Branch, Islamic Azad University, Mehrshahr, Karaj, Iran.

2. Department of Biochemistry, Tehran University, Tehran, Iran.

\*Corresponding author: [a-mohamadi@kiaau.ac.ir](mailto:a-mohamadi@kiaau.ac.ir)