

Maria Ogrodowczyk, Maria Wawrzyniak
Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin, Oddział w Poznaniu

Badania zawartości morfiny w makówkach z pędu głównego i pędów bocznych rośliny w różnych formach maku lekarskiego (*Papaver somniferum* L.)

Investigations of morphine content in capsules from main and lateral plant stems in different forms of opium poppy (*Papaver somniferum* L.)

Słowa kluczowe: zawartość morfiny, środowisko, zmienność, próby

Przeprowadzono badania mające na celu określenie prawidłowej metodyki pobierania prób dla badań ścisłych i hodowlanych oraz atestacyjnych do oznaczania zawartości morfiny. Materiał do badań stanowiło 8 rodów maku wysokomorfinowego oraz średniomorfinowa odmiana Opal i niskomorfinowa odmiana Michałko. Założono doświadczenia polowe w dwóch różnych środowiskach, metodą bloków kompletnie zrandomizowanych w 4 powtórzeniach. W celu oznaczenia zawartości morfiny pobierano makówki wytworzone na pędzie głównym i co najmniej dwóch pędach bocznych wraz z 5 cm odcinkiem pędu. Uzyskane wyniki pozwoliły stwierdzić, że w ścisłych pracach badawczych lub hodowlanych ocena zawartości morfiny w danej roślinie powinna być przeprowadzona na podstawie średniej próby ze wszystkich makówek. Natomiast dla określenia poziomu zawartości morfiny w roślinach na plantacji odpowiednio duża próba zbiorcza (lub próby) wystarczy do miarodajnej oceny. Warunki środowiskowe w sposób istotny wpływają na zawartość morfiny w makówkach, ale w granicach typu odmiany (nisko- i wysokomorfinowej).

Key words: morphine content, environment, variability, samples

Research reported in this paper aimed at determining proper methods of taking samples for morphine content evaluation in exact breeding and atesting investigations. Material used in research included 8 high morphine strains of opium poppy, medium morphine cultivar Opal and low morphine cultivar Michałko. Field experiments were established in two different environments in randomized blocks in 4 replications. In order to determine morphine content there were taken capsules from the main stem and from at least two lateral stems with 5 cm stem segment. Obtained results indicated that in exact and breeding investigations evaluation of morphine content in a plant should be performed on the basis of average sample from all capsules while in order to determine morphine content in plants in plantations reasonably large collective sample (or samples) is sufficient for reliable estimation. Environmental conditions significantly influence the level of morphine content in capsules but within cultivar type (low and high morphine).

Wstęp

Mak lekarski (*Papaver somniferum* L.) jest rośliną uprawną, o której znaczeniu stanowi pozyskiwany z makówek dla celów farmaceutycznych sok mleczny – opium oraz nasiona wykorzystywane w przemyśle spożywczym. Spośród około 40 alkaloidów makowych największe znaczenie dla produkcji leków przeciwbólowych, uspokajających i wykrztuśnych mają morfina, kodeina, papaweryna.

W celu zwiększenia opłacalności uprawy maku jako surowca dla przemysłu farmaceutycznego dla hodowli poszukiwane są nowe źródła o wysokiej zawartości alkaloidów, głównie morfiny. Dotychczas wyhodowane odmiany wysokomorfino-
nowe zawierają około 1% morfiny w makówkach, celem hodowlanym jest uzyskanie odmian zawierających co najmniej 2% morfiny. Dla celów selekcyjnych konieczna jest analiza zawartości alkaloidów w dużej liczbie pojedynczych roślin o zróżnicowanej zawartości tych związków. W trakcie prac badawczych i selekcyjnych obserwowana jest bardzo duża zmienność zawartości alkaloidów w makówkach zebranych z tej samej rośliny. Występująca zmienność utrudnia przeprowadzenie skutecznej selekcji z powodu błędnej oceny zawartości alkaloidów w kolejnych pokoleniach.

Ponadto dla wydania ekspertyzy dotyczącej typu uprawianej odmiany (wysoko- lub niskomorfino-
wej) konieczna jest informacja dla jednostek państwowej kontroli o sposobie prawidłowego pobierania reprezentatywnych prób z plantacji.

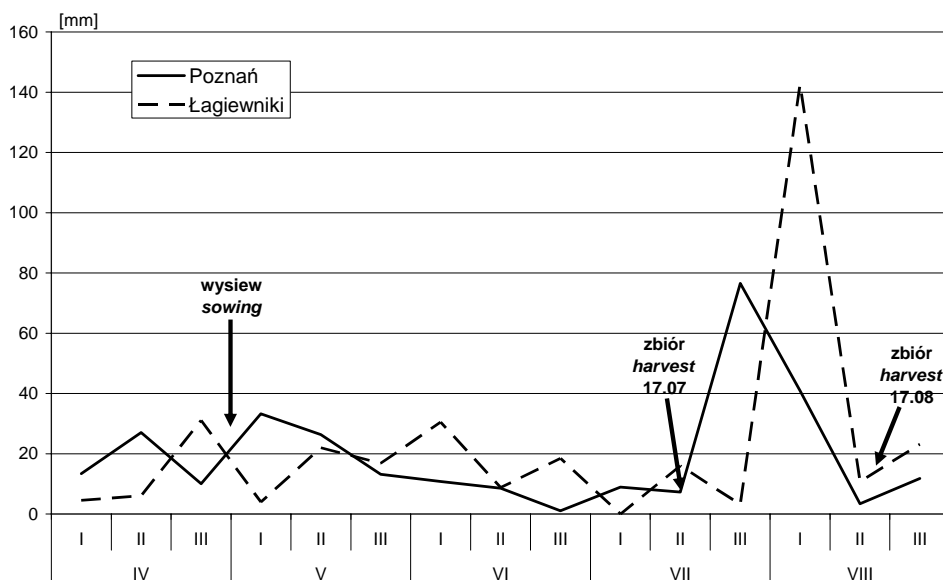
Przedstawione badania mają na celu określenie, w jaki sposób zawartość morfiny jest zależna od pędu rośliny, z którego pobrano próbę, masy makówek i środowiska, dla różnych form maku lekarskiego (*Papaver somniferum* L.)

Material i metody

Materiał do badań stanowiło 8 rodów maku wysokomorfino-
wego wyhodowanych w Instytucie Hodowli i Aklimatyzacji Roślin w Poznaniu, średniomorfino-
wa odmiana Opal pochodząca z Czech i polska niskomorfino-
wa odmiana Michałko.

W celu oceny wpływu środowiska na zawartość morfiny w makowinach pochodzących z różnych pędów rośliny założono doświadczenia polowe na poletkach doświadczalnych IHAR w Poznaniu oraz w Łagiewnikach (Spółka Hodowla Roślin Smolice). Doświadczenia założono metodą bloków kompletnie zrandomizowanych w 4 powtórzeniach. Powierzchnia poletek wynosiła 6,3 m², na których po wykonaniu przerywki rośliny były rozmieszczone co 10 cm w rzędzie. Warunki glebowe i zastosowana agrotechnika były zgodne z zaleceniami dla uprawy maku (Wałkowski 2005). W trakcie wegetacji w Poznaniu nie obserwowano anomalii pogodowych mogących mieć negatywny wpływ na rozwój,

kwitnienie i dojrzewanie roślin maku w doświadczeniu. Natomiast w Łagiewnikach w pierwszej dekadzie sierpnia wystąpiły opady deszczu znacznie przewyższające średnią z wielolecia (rys. 1).



Rys. 1. Rozkład opadów podczas wegetacji roślin maku w doświadczeniach polowych w Poznaniu i Łagiewnikach — *Distribution of rainfalls during vegetation of poppy plants in field trials in Poznań and Łagiewniki*

Z każdego z pól w obu środowiskach wybrano po 5 roślin z makówkami wytworzonymi na pędzie głównym i co najmniej dwóch pędach bocznych. Zbiór przeprowadzono po osiągnięciu pełnej dojrzałości przez makówkę najniższego poziomu. Zbierano makówki wraz z 5 cm odcinkiem pędu (makówka + 5 cm pędu = makowiny), w pełni wykształcone, bez znacznych oznak porażenia patogenami. Do oceny użyto makówek zawiązanych na trzech poziomach rośliny: A — pęd główny, B i C — kolejne pędy boczne. Dla ustalenia średniej zawartości morfiny w roślinach na polu zebrano również pozostałe rośliny.

Wszystkie makowiny wysuszone, pozbawione nasion, zważono i dokładnie rozdrobniowane mechanicznie poddano analizie chemicznej. Analiza zawartości morfiny w zebranych makowinach została wykonana zmodyfikowaną metodą kolorymetryczną (Czernik-Kołodziej i in. 1999). Otrzymane wyniki opracowano za pomocą pakietu statystycznego Excel.

Wyniki

W tabeli 1 przedstawiono zawartość morfiny oznaczoną dla trzech kolejnych pędów (A, B i C) — średnią z 20 roślin (5 makówek \times 4 powtórzenia) w doświadczeniach przeprowadzonych w dwóch środowiskach — w Poznaniu i Łagiewnikach. Badane rody i odmiany różniły się wysoce istotnie pod względem zawartości morfiny w makowinach pobieranych z kolejnych pięter, średniej zawartości morfiny z rośliny oraz średniej zawartości morfiny z całego poletka, w obu środowiskach.

Wykonana analiza wariancji dla obu środowisk potwierdziła istotne różnice między rodami i odmianami. Natomiast istotne różnice zawartości morfiny w makowinach z kolejnych pędów poszczególnych roślin zaobserwowano tylko w doświadczeniu przeprowadzonym w Poznaniu.

Analizując masę makowin w obu doświadczeniach stwierdzono, że różnice pomiędzy rodami wystąpiły tylko dla makowin pochodzących z pędu C — w doświadczeniu przeprowadzonym w Poznaniu, istotne na poziomie $\alpha = 0,05$ ($F_{obl.} = 2,24$), a w Łagiewnikach istotne na poziomie $\alpha = 0,01$ ($F_{obl.} = 4,02$). Wykonana analiza wariancji wykazała istotne zróżnicowanie rodów i odmian w przypadku obu środowisk, a masa makowin pobranych z poszczególnych pięter pojedynczych roślin różniła się istotnie tylko w doświadczeniu wykonanym w Poznaniu (tab. 2).

Przedstawiona w tabeli 3 analiza wariancji potwierdza istotne zróżnicowanie rodów i odmian pod względem zawartości morfiny i masy makowin oraz wskazuje na istotne różnice kształtowania się obu tych cech w badanych środowiskach. Natomiast interakcja genotypów ze środowiskiem była istotna (na poziomie $\alpha = 0,05$) tylko dla zawartości morfiny.

Tabela 1
Zawartość morfiny w makowinach z pędu głównego i pędów bocznych rośliny w doświadczeniach polowych w Poznaniu i Łagiewnikach — *Morphine content in poppy straw from main and lateral stems of plants in field trials in Poznań and Łagiewniki*

Genotyp <i>Genotype</i>	Zawartość morfiny — <i>Morphine content</i> [%]									
	Poznań					Łagiewniki				
	A	B	C	śr. dla rośliny <i>mean for plant</i>	śr. dla poletka <i>mean for plot</i>	A	B	C	śr. dla rośliny <i>mean for plant</i>	śr. dla poletka <i>mean for plot</i>
531/1	1,239	1,188	1,090	1,172	1,279	0,993	1,113	0,964	1,023	1,079
515/1	1,445	1,221	1,061	1,242	1,237	1,096	1,002	1,056	1,051	1,004
513/2	1,271	1,195	1,008	1,158	1,034	0,799	0,815	0,860	0,825	0,888
529/1	1,781	1,361	1,312	1,485	1,420	1,166	1,114	1,052	1,110	1,187
532/1	1,894	1,518	1,373	1,595	1,502	1,167	1,084	1,011	1,088	1,063
502/3	1,421	1,316	1,354	1,364	1,367	1,030	0,942	0,917	0,963	1,036
506/04	1,593	1,329	1,394	1,439	1,427	1,122	1,071	1,027	1,073	0,957
507/04	1,775	1,583	1,392	1,583	1,469	1,049	1,065	1,065	1,060	1,128
Opal	0,606	0,682	0,697	0,661	0,729	0,433	0,440	0,462	0,445	0,558
Michałko	0,053	0,049	0,048	0,050	0,138	0,062	0,045	0,052	0,053	0,087
Średnia — <i>Mean</i>	1,308	1,144	1,073	1,175	1,160	0,892	0,869	0,847	0,869	0,899
F _{obl.}	57,2**	40,4**	27,5**	77,4**	124,3**	56,2**	60,1**	30,4**	106,9**	26,2**
Analiza wariancji — <i>Analysis of variance</i>										
Źródło zmienności <i>Source of variation</i>		stopnie swobody <i>degrees of freedom</i>	średni kwadrat <i>mean square</i>	F _{obl.}	stopnie swobody <i>degrees of freedom</i>	średni kwadrat <i>mean square</i>	F _{obl.}			
Genotyp — <i>Genotype</i>		9	0,6931	53,81**	9	0,3658	165,16**			
Pędy — <i>Stems</i>		2	0,1448	11,24**	2	0,0051	2,28			
Błąd — <i>Error</i>		18	0,0129		18	0,0022				

Tabela 2

Masa makowin z pędu głównego i pędów bocznych rośliny w doświadczeniach polowych w Poznaniu i Łagiewnikach
Mass of poppy straw content from main and lateral stems in field trials in Poznań and Łagiewniki

Genotyp <i>Genotype</i>	Masa makowin — <i>Mass of poppy straw</i> [g]											
	Poznań						Łagiewniki					
	A	B	C	śr. dla rośliny <i>mean for plant</i>	śr. dla polećka <i>mean for plot</i>	F _{obl}	A	B	C	śr. dla rośliny <i>mean for plant</i>	śr. dla polećka <i>mean for plot</i>	F _{obl}
531/1	2,89	2,22	2,41	2,51	2,89		4,08	4,24	4,31	4,21	4,08	
515/1	2,91	2,20	2,35	2,49	2,91		4,11	4,02	3,73	3,95	4,11	
513/2	3,35	2,26	1,86	2,49	3,35		3,82	3,34	3,68	3,61	3,82	
529/1	3,44	2,49	2,12	2,68	3,44		4,78	4,57	4,35	4,57	4,78	
532/1	3,27	2,68	2,15	2,70	3,27		3,98	3,99	3,03	3,66	3,98	
502/3	2,79	2,37	1,96	2,37	2,79		4,46	4,24	4,22	4,30	4,46	
506/04	2,61	2,11	2,08	2,27	2,61		3,75	4,45	4,33	4,18	3,75	
507/04	2,79	2,49	1,87	2,38	2,79		3,74	3,96	3,60	3,77	3,74	
Opal	3,58	2,64	2,66	2,96	3,58		4,39	4,12	4,18	4,23	4,39	
Michałko	2,79	1,97	1,62	2,13	2,79		3,55	3,29	2,84	3,23	3,55	
Średnia — <i>Mean</i>	3,04	2,34	2,11	2,50	3,04		4,06	4,02	3,83	3,97	4,06	
F _{obl.}	1,27	1,08	2,24*	1,78	1,27		1,35	1,77	4,02**	3,69**	1,35	
Analiza wariancji — <i>Analysis of variance</i>												
Źródło zmienności <i>Source of variation</i>	stopnie swobody <i>degrees of freedom</i>		średni kwadrat <i>mean square</i>		F _{obl}	stopnie swobody <i>degrees of freedom</i>		średni kwadrat <i>mean square</i>		F _{obl}		
Genotyp — <i>Genotype</i>	9	0,1688	3,75**	0,4844	9	0,1629	6,82**					
Pędy — <i>Stems</i>	2	2,3630	52,55**	0,1629	2	0,0711	2,29					
Błąd — <i>Error</i>	18	0,0450		0,0711	18							

Tabela 3

Analiza wariancji dla doświadczeń polowych w dwóch środowiskach
Analysis of variance for field trials in two environments

Źródło zmienności <i>Source of variation</i>	Suma kwadratów <i>Sum of square</i>	Stopnie swobody <i>Degrees of freedom</i>	Średni kwadrat <i>Mean square</i>	F _{obl.}
<i>Zawartość morfiny — Morphine content [%]</i>				
Genotyp — <i>Genotype</i>	9,1589	9	1,0177	71,24**
Środowisko — <i>Environment</i>	1,4026	1	1,4026	98,18**
Interakcja genotyp × środowisko <i>Interaction genotype × environment</i>	0,3712	9	0,0412	2,89*
Błąd — <i>Error</i>	0,5714	40	0,0143	
<i>Masa makowin — Mass of poppy straw [g]</i>				
Genotypy — <i>Genotypes</i>	4,0891	9	0,4543	2,55*
Środowiska — <i>Environments</i>	32,6086	1	32,6086	182,66**
Interakcja genotyp × środowisko <i>interaction genotype × environment</i>	1,7896	9	0,1988	1,11
Błąd — <i>Error</i>	7,1407	40	0,1785	

Obliczone współczynniki korelacji dla zawartości morfiny w makowinach z kolejnych pędów roślin są wysoce istotne (od 0,91 do 0,93). Korelacja występuje zarówno pomiędzy piętami tej samej rośliny, jak i pomiędzy piętrem i średnią zawartością morfiny w roślinie (tab. 4). Udowodniono także istotną korelację pomiędzy średnią zawartością morfiny w makowinach zebranych z całego poletka z zawartością morfiny w makowinach z kolejnych pędów i całych roślin. Potwierdzają to również wysokie współczynniki determinacji (od 0,79 do 0,95). Doświadczenia wykonano w środowiskach o zróżnicowanych warunkach przyrodniczych i pomimo zastosowania podobnej agrotechniki, w Łagiewnikach rozwój roślin był lepszy niż w Poznaniu. Świadczy o tym znacznie wyższa średnia masa makówek — 3,97 g — uzyskana w doświadczeniu w Łagiewnikach, podczas gdy w Poznaniu wynosiła tylko 2,5 g (tab. 2).

Zawartość morfiny w roślinach jest też zależna od zaopatrzenia w makro- i mikroelementy. Istotnie dodatni wpływ na syntezę morfiny wywiera azot i potas, znacząca jest też rola miedzi, boru i manganu (Blaim 1965, Lośák i Richter 2004, Lośák i in. 2006). W przeprowadzonych doświadczeniach także stwierdzono interakcję zawartości morfiny dla badanych genotypów ze środowiskiem (tab. 3). Należy przypuszczać, że na zawartość morfiny w badanym materiale decydujący wpływ miał termin zbioru i warunki pogodowe. Mak zakwita najpierw na pędzie głównym, kolejne kwiaty pojawiają się na pędach bocznych i w takim samym porządku wykształcają się i dojrzewają makówki (Muśnicki 1999). W obu badanych środowiskach makowiny zbierano po osiągnięciu dojrzałości pełnej

przez makówki z ostatniego pędu. W trakcie dojrzewania następuje fizjologiczny spadek zawartości morfiny. Należy przypuszczać, że proces ten był jednakowy w obu środowiskach. W Łagiewnikach na skutek bardzo obfitych opadów, jakie wystąpiły na 5 dni przed zbiorem makowin (rys. 1), zawartość morfiny mogła ulec dodatkowo znacznemu obniżeniu. Straty te zostały spowodowane prawdopodobnie wypłukiwaniem alkaloidów z dojrzałych makówek przez wodę oraz intensywnym rozkładem morfiny. Hofman i Menary (1984) donoszą, że wypłukanie alkaloidów z makówek przez deszcze może stanowić 60–80% ogólnych strat występujących w trakcie dojrzewania. Skutkiem dużych opadów w trakcie dojrzewania roślin maku i wypłukania morfiny może być brak istotnych różnic w zawartości morfiny pomiędzy makówkami pochodzącymi z kolejnych pięter w doświadczeniu w Łagiewnikach.

Tabela 4

Współczynniki korelacji i determinacji między pędami i średnią z rośliny dla zawartości morfiny — *Correlation and determination coefficient between main and lateral stems, and mean of plant*

Cecha <i>Trait</i>	Współczynnik korelacji <i>Correlation coefficient</i>				Współczynnik determinacji <i>Determination coefficient</i>			
	pęd — <i>stem</i>			średnia z poletka <i>mean from plot</i>	pęd — <i>stem</i>			średnia z poletka <i>mean from plot</i>
	A	B	C		A	B	C	
Pęd — <i>Stem A</i>	1				1			
Pęd — <i>Stem B</i>	0,93**	1			0,86	1		
Pęd — <i>Stem C</i>	0,91**	0,93**	1		0,82	0,86	1	
Średnia z rośliny <i>Mean from plant</i>	0,97**	0,98**	0,97**	1	0,95	0,95	0,93	1
Średnia z poletka <i>Mean from plot</i>	0,90**	0,89**	0,90**	0,92**	0,81	0,79	0,81	0,85

** — istotne na poziomie $\alpha = 0,01$ — *significant at $\alpha = 0.01$*

W próbach pobieranych z roślin pochodzących nawet z ustabilizowanych odmian maku obserwowano bardzo dużą zmienność zawartości morfiny. Znaczna część tej zmienności nie ma charakteru dziedzicznego i zależy od bardzo wielu czynników środowiskowych (Krzymański i Przyłuska 1967). We wcześniejszej pracy (Ogrodowczyk i Wawrzyniak 2005) udowodniono, że zawartość morfiny w makowinach zawiązywanych na kolejnych pędach rośliny jest istotnie zróżnicowana i stwierdzono korelacje pomiędzy zawartością morfiny w makówkach z poszczególnych pięter.

Na podstawie uzyskanych wyników można stwierdzić, że dla celów badawczych i hodowlanych zawartość morfiny w danej roślinie najdokładniej można określić na podstawie analizy średniej próby z wszystkich makówek danej rośliny. Analiza pojedynczych makówek nie jest w pełni miarodajna. Natomiast jeżeli celem analizy jest kwalifikacja plantacji maku jako nisko- czy wysokomorfino-wego, powinna być pobrana odpowiednio duża próba zbiorcza, lub w przypadku dużych plantacji próby zbiorcze. Makówki mogą być pobrane z różnych pięter rośliny.

Wnioski

- W ścisłych pracach badawczych lub hodowlanych ocena zawartości morfiny w danej roślinie powinna być przeprowadzona na podstawie średniej próby ze wszystkich makówek.
- Dla określenia poziomu zawartości morfiny w roślinach na plantacji konieczna jest odpowiednio duża próba zbiorcza (lub próby).
- Warunki środowiskowe w sposób istotny wpływają na zawartość morfiny w makówkach, ale w granicach typu odmiany (nisko- i wysokomorfino-wej).

Literatura

- Blaim K. 1965. Swoiste substancje roślin uprawnych. PWRiL, Warszawa, 211-223.
- Czernik-Kołodziej K., Krzymański J., Michalski K. 1999. Modyfikacja oznaczania morfiny w makowinach metodą kolorymetryczną w postaci związku dwuazowego. *Rośliny Oleiste – Oilseed Crops*, XX (2): 591-598.
- Hofman P.J., Menary R.C. 1984. Losses, by leaching, of alkaloids from the capsule of the poppy (*Papaver somniferum* L.) during maturation. *Australian Journal of Agricultural Research*, 35: 253-261.
- Krzymański J., Przyłuska F. 1967. Wstępne badania nad wpływem stopnia dojrzałości maku niebieskiego KM na zawartość morfiny, *Biuletyn IHAR* 6: 119-222.
- Lośák T., Richter R. 2004. Split application of nitrogen in the poppy (*Papaver somniferum* L.) nutrition. *Rośliny Oleiste – Oilseed Crops*, XXV (1): 145-150.
- Lośák T., Richter R., Škarpa P. 2006. Foliar application of elementary sulphur in the nutrition of poppy (*Papaver somniferum* L.). *Rośliny Oleiste – Oilseed Crops*, XXVII (1): 71-76.
- Muśnicki Cz. 1999. Mak siewny. W: *Szczegółowa Uprawa Roślin*, pod redakcją Z. Jasińskiej i A. Kotecznego, Wydawnictwo Akademii Rolniczej we Wrocławiu, t. 2: 455-464.
- Ogrodowczyk M., Wawrzyniak M. 2005. Zawartość morfiny w makówkach z pędu głównego i pędów bocznych rośliny maku lekarskiego. *Rośliny Oleiste – Oilseed Crops*, XXVI (2): 603-610.
- Wałkowski T. 2005. Mak oleisty. Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin.