فصلنامه علمی – پژوهشی گیاه و زیست بوم
سال ۸، شماره ۳۲، پاییز ۱۳۹۱

بررسی تنوع اسید چرب گامالینولنیک (امگا۶) در اندام‌های ۱۶ اکوتیپ از گل گاو زبان ایرانی (*Echium amoenum*) با روش TLC

نورالدین حسین‌پورآزاد[۱]، قربانعلی نعمت‌زاده[۱]*، محمد آزادبخت[۲]، سیّدکمال کاظمی‌تبار[۳]، احسان شکری[۱]

چکیده

از روش کروماتوگرافی لایه نازک (TLC) جهت تعیین میزان تنوع اسید چرب گاما لینولنیک (GLA) در ۱۶ اکوتیپ از گل گاو زبان ایرانی استفاده گردید. جهت ارزیابی تنوع GLA در اندام‌ها ابتدا استخراج روغن از ریشه، برگ و بذر با استفاده از سیستم سوکسله و حلال هگزان انجام پذیرفت. جداسازی و شناسایی GLA با روش TLC در فاز ثابت سیلیکاژل ۶۰ اف ۲۵۴، فاز متحرک (هگزان- دی اتیل اتر- اسید استیک گلاسیال) و با استفاده از معرف فسفومولیبدیک اسید انجام پذیرفت. نتایج حاصله از سنجش مساحت لکه‌های حاصله از روش TLC، به منظور گروه‌بندی از نظر تنوع GLA در اکوتیپ‌های مختلف، به نرم افزار SPSS12.0 انتقال یافتند. بدین منظور از معیار مربع فاصله اقلیدسی و الگوریتم سلسله مراتبی از نوع تجمعی و روش اتصال داخل گروه‌ها استفاده گردیده و دندروگرام مربوطه رسم شد که اکوتیپ‌ها را از نظر تنوع GLA در فاصله ژنتیکی ۱۱ در ۳ گروه طبقه‌بندی نمود. یافته‌های این پروژه نه تنها می‌توانند به‌عنوان اطلاعات پایه در برنامه‌های به‌نژادی به جهت اصلاح اسیدهای چرب در گیاه گل گاو زبان ایرانی به‌کار گرفته شوند بلکه می‌توانند بعنوان داده‌های شیموتاکسنومی در طبقه‌بندی درون و بین گونه‌ای جنس *Echium* استفاده گردند.

واژه‌های کلیدی: گل گاو زبان ایرانی، کروماتوگرافی لایه نازک، گامالینولنیک اسید

۱- دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، گروه ژنتیک و زیست فناوری گیاهی، ساری، ایران
۲- دانشگاه علوم پزشکی مازندران، گروه پزشکی، ساری، ایران
۳- دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، گروه زراعت و اصلاح نباتات، ساری، ایران
* مکاتبه‌کننده: (gmplant21@gmail.com)

تاریخ دریافت: تابستان ۱۳۹۰ تاریخ پذیرش: **پاییز ۱۳۹۰**

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

ارزش بازار گیاهان دارویی در ایران ۲۴ هزار میلیارد ریال بوده که از این مقدار ۹۵ درصد در داخل تولید و ۵ درصد وارد کشور می‌گردد. برای وارد نمودن این مقدار داروی مورد نیاز کشور ۸۰۰ میلیارد تومان پول خرج می‌شود و این در صورتی است که تنوع و کیفیت گیاهان در ایران بالاست (بی‌نام، ۱۳۸۸). از جمله این داروهای وارداتی مکمل‌های غذایی حاوی GLA (گامالینولنیک اسید یا امگا۶)، همچون اپوکپسول حاوی 250-500میلی‌گرم روغن گل مغربی[1](EPO)، افامول (مخلوط روغن گل مغربی با ویتامین e) و مخلوط EPO با روغن ماهی تحت عنوان Marin cap در بازار مصرف به فروش می‌رسند. ازجمله منابع امگا۶، گیاه دارویی گل گاو زبان ایرانی (*Echiumamoenum*) از خانواده گاو زبانان بوده که در بسیاری از مناطق حاشیهٔ شمال و شمال غرب کشور ایران به‌صورت خودرو و زراعی رویش دارد (حسین پور آزاد، ۱۳۸۸). این گیاه دارای بذور غنی از اسیدهای چرب ضروری سری امگا ۳ و امگا ۶ بوده که در محتویات مکمل‌های دارویی جهت پیشگیری از بیماری‌های عصبی همچون ام اس[2] (M.S) به‌کار می‌رود. از GLA به‌عنوان مکمل غذایی و داروی تجویزی برای درمان بیماری‌های قلبی، اگزمای موضعی، ماستالژیا، دیابت‌ها، ورم مفاصل و MS استفاده می‌شود (Chung *et al.*, 2002; Barre, 2001). در ایران ۴ گونه از جنس *Echium* به نام‌های *E.amoenum*، *E.russicum*، *E.italicum* و *E.khuzistanicum* وجود دارد (Mozaffarian, 1996). از بین این گونه‌ها تنها گیاه *E. amoenum* جهت استفاده‌های دارویی به‌کار گرفته می‌شود (آزادبخت، ۱۳۷۸؛ Amirghofran *et al.*, 2000). در سلسله گیاهی، GLA یکی از اسیدهای چرب نادر است و فقط تعداد کمی از گونه‌های گیاهی GLA را سنتز می‌کنند و در بسیاری از این‌ها، این اسید چرب منحصراً در بذر یافت می‌شود. منابع اصلی تجاری GLA، گیاه گل مغربی[3] (14-7 درصد) و گل گاو زبان اروپایی[4] (۲۲-۱۸ درصد) هستند (EL Hafid *et al.*, 2002; Ozcan,2008). آلکالوئیدهای سمی پیرولیزیدین به نام‌های اکیمیدین، آنگلویل اکیمیدین، رترونسین و ۷-تیگلویل رترونسین در برخی گونه‌های جنس *Echium* از جمله گل‌گاو زبان ایرانی نیز وجود دارد (Mehrabani *et al.*, 2005). تاکنون هیچ گزارشی مبنی بر بررسی تنوع و پروفیل اسیدهای چرب در اندام‌های مختلف این گیاه گزارش نگردیده است و پژوهش حاضر برای اولین بار با هدف شناسایی اکوتیپ مطلوب جهت کشت این گیاه به منظور تولید روغن دانه، در کشور اجرا گردید. نظر به‌اینکه رویشگاه‌های طبیعی گل گاو زبان ایرانی در ارتفاعات مناطق کوهستانی واقع می‌باشند، دسترسی به این مکان‌ها بسیار مشکل و پرهزینه بوده که این امر گستردگی مطالعات در اکوتیپ‌های بیشتر را محدود می‌سازد. در این پژوهش تنوع اسید چرب گامالینولنیک (امگا ۶) در اندام‌های ۱۶ اکوتیپ از

۱- Evening primrose oil
۲- Multiple scloresis
۳- *Evening primrose*
۴- *Borago offcinalis*

Archive of SID
www.SID.ir

گل گاو زبان ایرانی (*Echium amoenum*) با روش کروماتوگرافی لایه نازک (TLC) مورد مطالعه قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

در مرحله روزت (قبل ساقه‌دهی) از دوره رشدی گیاه، به تعداد کافی از بوته‌های گیاهی به‌طور کامل از ریشه درآورده شده پس از پاکسازی مواد گیاهی، ریشه و برگ‌های هر یک از ۱۶ اکوتیپ مورد مطالعه (جدول ۱) به‌طور مجزا جدا گردیده و جهت خشک‌شدن در آون با دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۲ ساعت قرار داده شدند. مواد گیاهی پس از خشک‌شدن، با دستگاه خردکن به اندازه ۰/۸ میلی‌متر پودر گردیده در پاکت‌های مخصوص استخراج ریخته شدند. روغن اندام‌ها با استفاده از دستگاه استخراج سوکسله[1] با ظرفیت ۱۰۰ سی‌سی از حلال هگزان و تحت سیستم رفلاکس، استخراج گردیده و درصد آن به‌صورت گراویمتری محاسبه گردید (AOAC. 1990). روغن‌های استخراج شده در ظروف شیشه‌ای کدر در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان آنالیز نگهداری گردیدند. جهت جداسازی، شناسایی و تعیین میزان تنوع اسید چرب گاما لینولنیک در بین ۱۶ اکوتیپ مورد مطالعه، از روش TLC به همراه نمونه استاندارد (گامالینولنیک) در فاز ثابت سیلیکاژل ۶۰ اف ۲۵۴ و فاز متحرک هگزان-دی اتیل اتر-اسید استیک گلاسیال به نسبت حجمی (1/64-16/4-81/96) استفاده گردید (British Pharmacopoeia, 1988). جهت آشکارسازی لکه‌های حاصله از اسیدهای چرب از معرف اسید فسفومولیبدیک با توجه به کارایی بهتر این معرف در آشکارسازی لکه‌ها، استفاده شد. همچنین جهت تایید داده‌های حاصله از TLC از دستگاه کروماتوگرافی گازی (GC) با مشخصات زیر استفاده گردید: مدل ترمو تریس شرکت فینیگان، ستون کاپیلاری BPX-70 با ماهیت قطبی از جنس سلیکا (۱۲۰متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر، ضخامت فاز ساکن۰/۲۵)، دمای آون۱۹۲ درجه در کل ستون ثابت بود، دمای قسمت تزریق ۲۵۰ و قسمت آشکارساز ۲۷۰ درجه بود هم چنین گاز حامل هلیم با شدت جریان ۰/۸ میلی‌لیتر در دقیقه تنظیم گردید. شناسایی اسیدهای چرب با توجه به مقایسات زمان بازداری استاندارد متیل استرها (شرکت سیگما) و زمان بازداری متیل استر اسیدهای چرب نمونه‌ها بود. در این تحقیق مقدار hR_f برای اسید چرب گامالینولنیک محتوی روغن اندام‌های این گیاه عدد ۳۸ محاسبه گردید که برای تمامی کروماتوگرام‌های حاصله در ۱۶ اکوتیپ مورد مطالعه یکسان بود. در روغن دانه کلزا لکه‌های با hRf برابر ۲۵ برای اوریک اسید، ۵۰ برای اولئیک اسید، ۶۵ برای لینولئیک و ۷۵ برای لینولنیک اسید می‌باشد (British Pharmacopoeia, 1988). نمونه‌ای از کروماتوگرام مربوط به جداسازی و شناسایی اسید چرب گامالینولنیک در شکل (حسین پور آزاد، ۱۳۸۸) آورده شده است. ارزیابی کمی مواد جداشده در روش TLC معمولاً در صورت نیاز با دستگاه TLC اسکنر صورت می‌پذیرد ولی چون با صرف هزینه بالایی قابل انجام است به این دلیل مقرون به صرفه نمی‌باشد. اما می‌توان با روش مشابهی که این دستگاه جهت کمیت‌سنجی تقریبی انجام می‌دهد این روش را با استفاده از نرم‌افزارهای سنجش ابعاد همچون نرم‌افزار اتوکد انجام داد. بدین صورت که کروماتوگرام حاصل از جداسازی اسیدهای چرب

۱- Soxhelt extractor

Archive of SID

www.SID.ir

اسکن گردیده و فایل موردنظر به نرم‌افزار فتوشاپ انتقال می‌یابد به کمک این نرم‌افزار تمامی لکه‌های همردیف با لکه GLA با چگالی یکسان از کروماتوگرام‌ها برداشته شده، جهت سنجش مساحت به نرم‌افزار اتوکد ۲۰۰۷ انتقال می‌یابند با توجه به اینکه لکه ایجاد شده برای استاندارد دارای غلظت و مقدار مشخصی می‌باشد پس می‌توان با مقایسه نسبی مساحت لکه ایجاد شده برای GLA در نمونه‌ها با لکه استاندارد، مقدار آن را محاسبه نمود (شکل ۴). پس از انجام این عمل داده‌های حاصله جهت آنالیز آماری به نرم‌افزار SPSS15 انتقال یافتند.

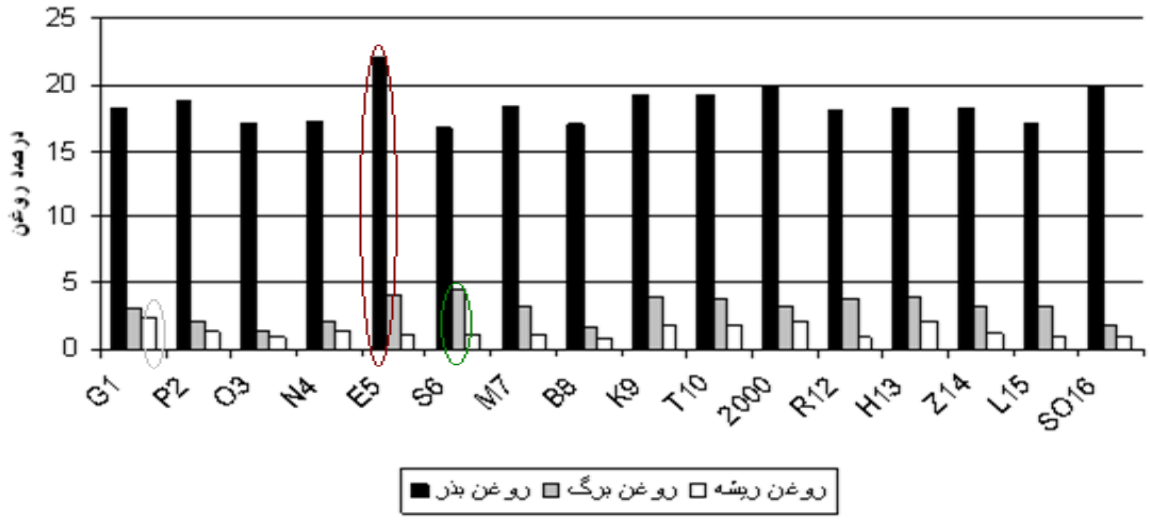
کد	استان	محل جمع آوری	ردیف
G۱	گیلان	جنت رودبار	۱
P۲	مازندران	گلوگاه	۲
O۳	گرگان	گرگان	۳
N٤	مازندران	نکا	۴
E٥	گیلان	اشگورات	۵
S٦	اصفهان	اصفهان	۶
M۷	مازندران	چالوس(کلاردشت)	۷
B۸	مازندران	بهشهر	۸
K۹	کرمانشاه	کرمانشاه	۹
T۱۰	گیلان	تالش	۱۰
۲۰۰۰	مازندران	ارتفاعات دوهزار	۱۱
R۱۲	گیلان	املش(رودسر)	۱۲
H۱۳	اردبیل	نمین(گردنه حیران)	۱۳
Z۱٤	قزوین	قزوین(الموت)	۱۴
L۱٥	لرستان	لرستان	۱۵
So۱٦	مازندران	سوچلما(ارتفاعات نکا)	۱۶

جدول ۱- برخی از مشخصات مربوط به مناطق جمع‌آوری گیاه دارویی گل گاو زبان ایرانی (*Echium amoenum*)

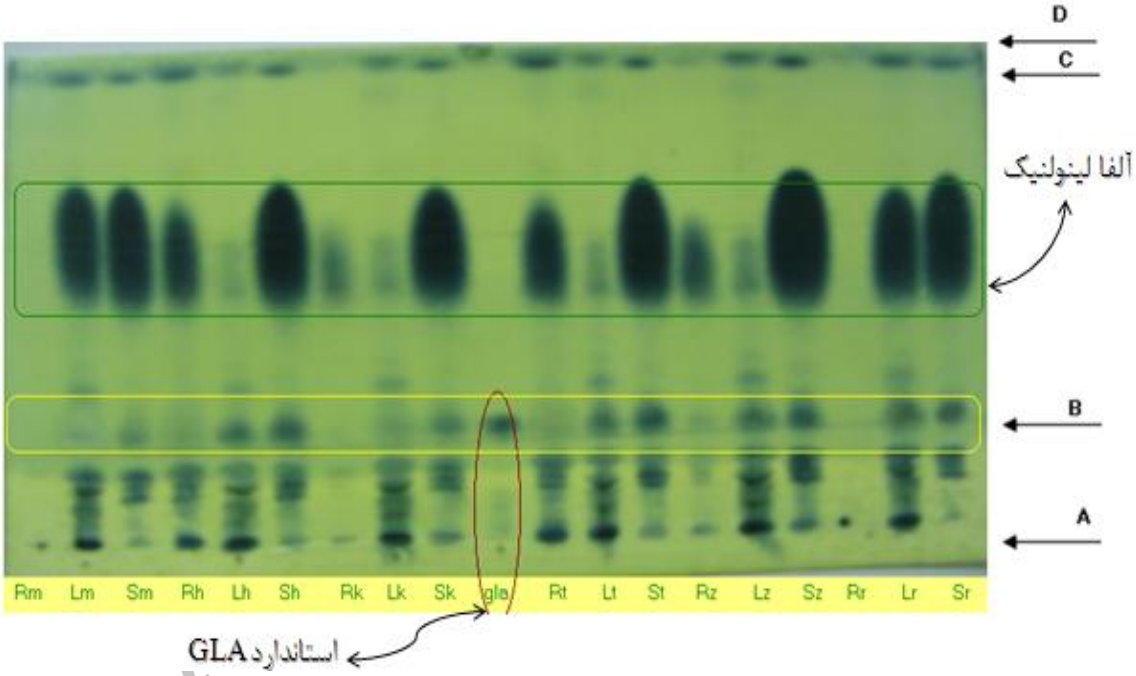
نتایج

بازده استخراج برای روغن دانه (18/44±0/40) درصد، برای برگ (3/09±0/54) درصد و برای ریشه (1/31±0/10) درصد متغیر بود. بیشترین درصد روغن دانه 22/06±0/38 درصد مربوط به اکوتیپ اشکورات و کمترین آن 16/76±0/14 درصد برای اکوتیپ اصفهان بود. روغن برگ برای اکوتیپ اصفهان 4/5±0/2 درصد بیشترین و برای اکوتیپ گرگان 1/4±0/11 درصد در کمترین مقدار بود. همچنین درصد روغن ریشه برای اکوتیپ بهشهر 0/7±0/15 در کمترین مقدار و برای اکوتیپ جنت رودبار در بیشترین مقدار 0/14 ±2/03 درصد محاسبه گردید (شکل ۱).

www.SID.ir

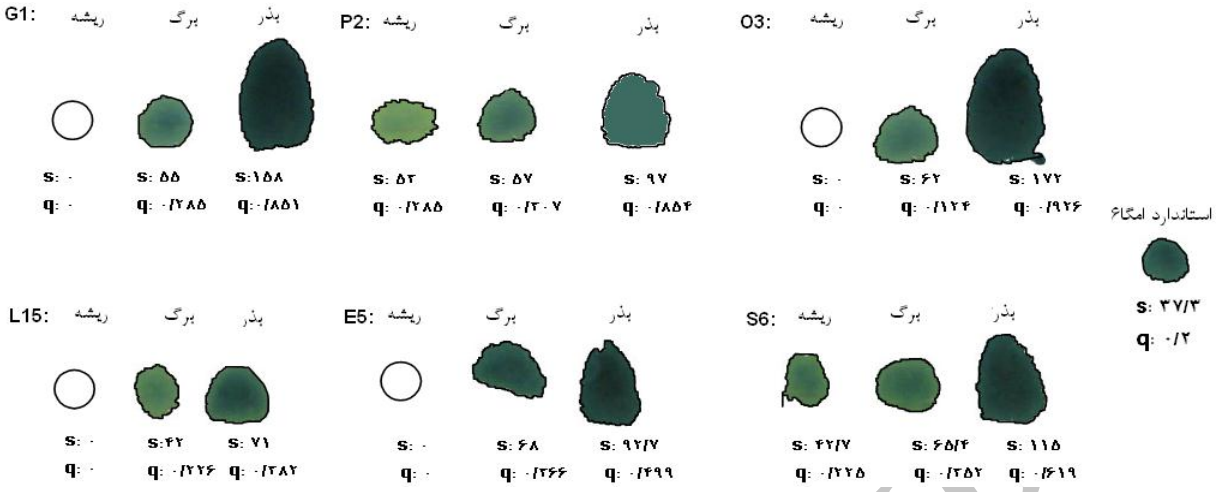


شکل ۱- نمودار مربوط به درصد روغن در اندام‌های بذر، برگ و ریشه



شکل ۲- کروماتوگرام حاصله از جداسازی اسیدهای چرب روغن اندام‌های مختلف گل گاو زبان ایرانی با روش TLC در اکوتیپ‌های مختلف. (A: نقطه کاشت نمونه (نقطه صفر)، B: اسید چرب گامالینولنیک (۹/۲cm)، C: متیل استرها (۵/۹cm)، D: نقطه ایست حلال (۱۱cm). S،L،R به ترتیب ریشه، برگ و ساقه می‌باشد. حرف دوم کد مربوط به اکوتیپ‌هاست)).

www.SID.ir



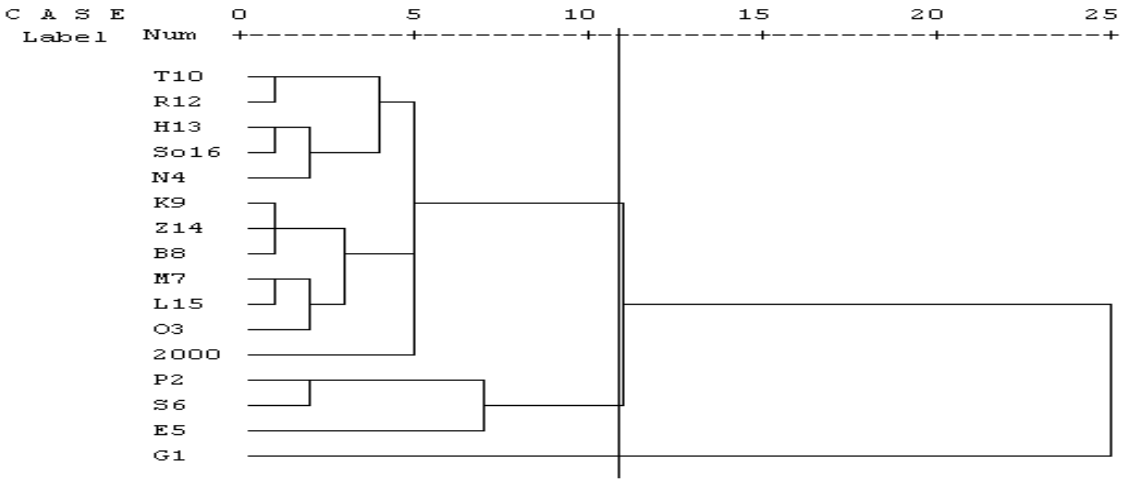
شکل ٤- نمونه‌ای از نحوه سنجش مقادیر لکه‌های GLA با به‌کارگیری نرم‌افزار اتوکد (۲۰۰۷) با توجه به مساحت لکه‌های ایجاد شده در کروماتوگرام‌ها (s: مساحت لکه GLA بر اساس میلی‌متر مربع، q: مقدار GLA بر اساس میلی‌گرم در هر میکرو لیتر از روغن)

میانگین تقریبی GLA در روغن ریشه (0/0016 میلی گرم در میکرولیتر)، در روغن برگها (mg/µl 0/0058) و در روغن بذر (0/0096 mg/µl) تخمین زده شد. این درصورتی بود که برای اندام‌های ریشه، برگ و بذر بیشترین مقدار GLA به ترتیب در اکوتیپ‌های گلوگاه (0/007mg/µl)، اشکورات (0/0091 mg/µl) و جنت رودبار (0/0212 mg/µl) محاسبه گردید. از نتایج GC نیز برای گروه‌بندی اکوتیپ‌ها از نظر تنوع GLA در اندام‌های ریشه، برگ و ساقه استفاده گردید (شکل ۵) و درنهایت با نتایج حاصله از روش TLC مقایسه گردیدند که تطابق قابل قبولی را ارائه نمودند. به‌منظور تجزیه کلاستر از نظر تنوع GLA در اکوتیپ‌های مختلف، داده‌های حاصله به نرم‌افزار SPSS ۱۵ انتقال یافتند. بدین منظور از معیار مربع فاصله اقلیدسی و الگوریتم سلسله مراتبی از نوع تجمعی و روش اتصال داخل گروه‌ها استفاده گردیده و دندروگرام مربوطه رسم شد که اکوتیپ‌ها را از نظر تنوع GLA در فاصله ژنتیکی 11 در ۳ گروه طبقه‌بندی نمود (شکل ۴).

Archive of SID
www.SID.ir

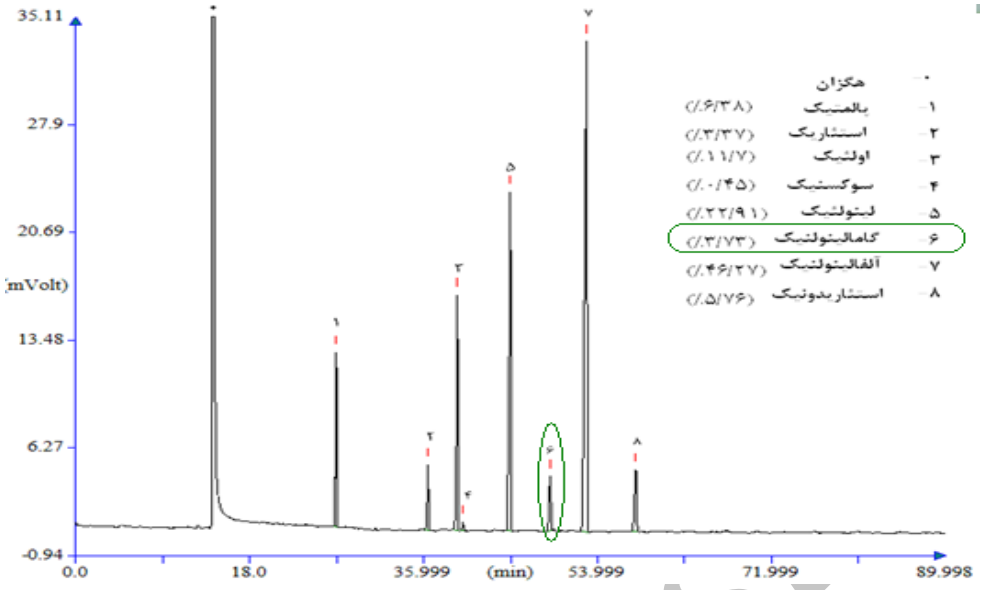
جدول ۷-۲- نتایج حاصله از مقادیر امگا ٦ محاسبه‌شده با نرم‌افزار اتوکد ۲۰۰۷ در اندام‌ها (مقادیر برحسب میلی‌گرم در میکرولیتر می‌باشند)

ردیف	اکوتیپ	ریشه	برگ	بذور
۱	G1	۰	۰.۰۰۷۱	۰.۰۲۱۲
۲	P2	۰.۰۰۷	۰.۰۰۷۶	۰.۰۱۳۱
۳	O3	۰	۰.۰۰۸۳	۰.۰۰۷۵
۴	N4	۰.۰۰۳۶	۰.۰۰۴۶	۰.۰۰۵۴
۵	E5	۰	۰.۰۰۹۱	۰.۰۱۲۴
۶	S6	۰.۰۰۵۸	۰.۰۰۸۸	۰.۰۱۵۴
۷	M7	۰	۰.۰۰۶	۰.۰۰۷۷
۸	B8	۰	۰.۰۰۲۹	۰.۰۰۴۴
۹	K9	۰	۰.۰۰۵۴	۰.۰۰۵۹
۱۰	T10	۰.۰۰۳۶	۰.۰۰۵۲	۰.۰۱۱۵
۱۱	2000	۰	۰.۰۰۰۸	۰.۰۰۷۸
۱۲	R12	۰.۰۰۳۶	۰.۰۰۵۲	۰.۰۱۱۵
۱۳	H13	۰.۰۰۵۲	۰.۰۰۶۱	۰.۰۰۷۸
۱۴	Z14	۰	۰.۰۰۴۸	۰.۰۰۴۸
۱۵	L15	۰	۰.۰۰۵۶	۰.۰۰۹۵
۱۶	So16	۰.۰۰۴۱	۰.۰۰۵۲	۰.۰۰۸۲
میانگین	-	۰.۰۰۱۶	۰.۰۰۵۸	۰.۰۰۹۶



شکل ٤- دندروگرام مربوط به داده‌های حاصل از TLC بر اساس الگوریتم سلسله مراتبی از نوع تجمعی و از روش اتصال متوسط داخل گروه‌ها

www.SID.ir



شکل ۵- نمونه کروماتوگرام حاصل از متیل استر اسیدهای چرب در روغن دانه اکوتیپ نکا با روش GC

بحث و نتیجه‌گیری

برای موفقیت در برنامه‌های اصلاحی تجزیه کلاستر و ترسیم دندروگرام بر اساس داده‌های کمی ما را یاری خواهد نمود تا به جای صرف وقت و هزینه زیاد، برای رسیدن به ژنوتیپ‌های مطلوب به جای انجام تلاقی‌های تصادفی از تلاقی کلاسترهای دور استفاده کنیم. با توجه به اینکه میانگین GLA در روغن دانه اکوتیپ جنت رودبار (0/0212 mg/µl) دارای مقدار حداکثر و اکوتیپ بهشهر با مقدار حداقل GLA (0/0044 mg/µl) در روغن دانه می‌باشد و با توجه به فاصله ژنتیکی نسبتا دور این اکوتیپ‌ها احتمال یافتن تک بوته‌هایی که بتوان در تلاقی‌های متقابل از آن‌ها دورگ‌هایی بوجود آورد که دارای حداکثر مقدار از GLA در بذورشان باشد بیشتر می‌گردد. در یک مطالعه که به جهت تهیه پروفیل اسیدهای چرب محتوی روغن دانه در سه گیاه مطرح دنیا از لحاظ تولید GLA صورت پذیرفت بذور گل گاو زبان اروپایی (Ozcan, 2008) (% 20-25)، گل مغربی (Hudson, 1984) (%9-12) و بذور انگور فرنگی (Lercker *et al.*, 1988) (%10-15) دارای بیشترین میزان GLA (18:3n6) می‌باشند. در بررسی پروفیل اسیدهای چرب که در ۱۶ گونه از خانواده گل گاو زبان جمع‌آوری شده از مناطق مختلف ترکیه صورت پذیرفت بیشترین مقدار GLA در گیاه *Symphytum tuberosum* spp. *Nodosum* (24/03) و بیشترین میزان ALA در گیاه *Echium italicum* (%43) تخمین زده شد (Ozcan, 2008). تاکنون روغن حاصل از بذور تعداد زیادی از گونه‌های مختلف اکیوم بررسی شده است در تمام آن‌ها به حضور اسید گاما - لینولنیک اشاره شده است (Guil-Guerrero *et al.*, 2006; Guil-Guerrero *et al.*, 2000). به‌عنوان مثال مقدار آن در گونه‌های اکیوم از جمله *Echium humile* ssp. *Pycnanthum* به حدود تقریبی ۱۲ درصد می‌رسد که با یافته‌های

Archive of SID
www.SID.ir

نمونه‌های اکیوم اروپایی مطابق است (Guil-Guerrero *et al.*, 2006). داده‌های حاصله از این پژوهش در مقایسه با منابع ذکر شده حاکی از آن هستند که روغن موجود در روغن دانه گل گاو زبان ایرانی پتانسیل بالقوه و قابل رقابت با سایر گیاهان جهت تولید مکمل‌های غذایی غنی از اسیدهای چرب ضروری همچون امگا ۳ (آلفالینولنیک) و امگا ۶ (گامالینولنیک) را دارد. علاوه آن داده‌های حاصله می‌توانند به‌عنوان مرجعی در انتخاب روش‌های مناسب اصلاحی جهت بهبود کیفیت و کمیت روغن دانه این گیاه و افزایش میزان اسیدهای چرب ضروری در روغن دانه به‌کار گرفته شوند.

سپاسگزاری

این پروژه با حمایت‌های مادی و معنوی پژوهشکده ژنتیک و زیست فناوری گیاهی طبرستان (دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری) و با همکاری پرسنل محترم آزمایشگاه فارماکوگنوزی دانشگاه علوم پزشکی مازندران انجام پذیرفت بدین جهت نهایت تشکر را داریم.

منابع

آزاد بخت،م. ۱۳۷۸. رده بندی گیاهان دارویی. تهران: موسسه فرهنگی انتشاراتی تیمورزاده. ۴۰۴ صفحه.ص۲۵۵-۲۵۳.

حسین پورآزاد،ن. ۱۳۸۸. بررسی تنوع ژنتیکی گل گاو زبان ایرانی (*Echium amoenum* Fisch.&Mey.) با نشانگر مولکولی RAPD و تنوع اسید چرب گامالینولنیک (GLA) با روش TLC. پایان نامه کارشناسی ارشد اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه مازندران.

سایت معاونت غذا و درمان (www.fdo.org) – مشاور وزیر بهداشت در امر گیاهان دارویی مرداد ۱۳۸۸.

Amirghofran.Z., M.Azadbakt, and F.Keshavarzi. 2000. Echium amoenum stimulate of lymphocyte proliferation and inhibit of humeral antibody synthesis. Irn. J. Med. Sci. 25: 119-24.

AOAC. 1990. Offcial methods of analysis association of official analytical chemists, 15 th Edn., edited by K. Helrich, AOAC, Inc., Arlington.

Barre,DE. 2001. Potential of evening primrose,borage, black current, and fungal oils in human health. Ann. Nutr. Metab. 45: 47-57.

British Pharmacopoeia. 1988. International Edition Volume 2. A132-A135 Apendix XL-N.

Chung,S., S.Kong, and K.Y.Seogn. 2002. Gamma Linolenic Acids in B.O reverse epidermal Hyperproliferation in Guinea Pigs. J Natr Oct; 132 (10): 3090-3094.

EL Hafid,R.E., S.F.Blade, and Y.Hoyano. 2002. Seeding date and nitrogen fertilization effects on the performance of borage (Borago officinalis L.). Industrial Crops and Products. 16:193-199.

Archive of SID

www.SID.ir

Guil-Guerrero,JL., F.Gomez-Mercado, F.Garcia- Maroto, and P.Campra-Madrid. 2000. Occurrence and characterization of oils rich in γ-linolenic acid part I: Echium seeds from Macaronesia. Phytochem. 53: 451 - 6.

Guil-Guerrero,J.L., J.C.Lopez-Martinez, F.Gomez-Mercado, and P.Campra-Madrid. 2006. Gammalinolenic and stearidonic acids from Moroccan Boraginaceae. Eur. J. Lipid Sci. Tech. 108.

Hudson,J.F. 1984. Evening primrose (*Oenothera* spp.) oil and seed. J Amer Oil Chem Soc 61:540-543.

Lercker,G., M.Cocchi, and E.Turchetto. 1988. Ribes nigrum seed oil. Riv Ital Sost Grasse 65:1-6.

Mehrabani,M., N.Ghassemi, E.Sajjadi, A.Ghannadi, and M.Shams-Ardakani. 2005. Main phenolic compound of petals of Echium amoenum Fisch. And C.A Mey., Famous Medicinal Plant of Iran. DARU Volume 13, No. 2.

Mozaffarian,V. 1996. A Dictionary of Iranian Plant Names. Farhang Moaser, Tehran, p 198.

Ozcan,T. 2008. Analysis of the total oil and fatty acid composition of seeds of some Boraginaceae taxa from Turkey. Plant Syst Evol 247:143-153.

Archive of SID

www.SID.ir