

## بررسی جوانه‌زنی بذر و تغییرات فیتوشیمیایی دو توده گل‌گاوزبان ایرانی (*Echium amoenum* Fisch & C.A.Mey) تحت تاثیر منطقه کشت

منیژه خورسندی آقایی<sup>۱</sup>، عظیم قاسم نژاد<sup>۱\*</sup>، سیدجواد موسوی‌زاده<sup>۱</sup>، اسماعیل باباخان‌زاده سجیرانی<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup>گروه علوم باغبانی، دانشکده تولیدات گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

<sup>۲</sup>دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، تهران، ایران

تاریخ پذیرش: ۹۷/۰۹/۱۹

تاریخ دریافت: ۹۷/۰۶/۲۵

### چکیده

گل‌گاوزبان (*Echium amoenum*) از مهمترین گیاهان تیره *Boraginaceae* است. به منظور تعیین مناسب‌ترین روش برای شکستن خواب بذر، تحقیق حاضر در قالب دو آزمایش انجام شد. آزمایش اول با بذور دو جمعیت گل‌گاوزبان جمع‌آوری شده از مشهد و جواهرده در قالب آزمایش فاکتوریل با ۳ تکرار انجام شد. تیمارهای پیش‌رویشی استفاده شده در این تحقیق عبارتند از: تیمار بذور مرطوب شده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷، ۱۴ و ۲۱ روز متوالی در دمای یخچال، تیمار بذور با اسید جیبرلیک ۵۰۰ پی‌پی‌ام به مدت ۲۴ ساعت و تیمار بذور با اسید سولفوریک ۵۰ درصد به مدت ۱۰ دقیقه. آزمایش دوم در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در مکان و زمان در دو فصل زراعی با چهار تکرار، با استفاده از دو توده به صورت همزمان در گرگان و مشهد کشت شد تا اثر اقلیم بر خصوصیات کمی و کیفی گل مورد بررسی قرار گیرد. نتایج نشان داد که خواب بذر گل‌گاوزبان ایرانی از نوع فیزیولوژیک است، زیرا بیشترین درصد جوانه‌زنی بذرها در اثر اعمال تیمار پیش‌سرمای مرطوب در ۷ روز به دست آمد. مقایسه توده‌های مذکور در دو منطقه نشان داد که عملکرد گل و میزان متابولیت‌های ثانویه (آنتوسیانین، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی) گیاهان کشت شده در مشهد نسبت به گرگان مطلوب‌تر بود. لذا با توجه به مقاومت نسبی گیاه به کم‌آب پیشنهاد می‌گردد که گسترش کشت این گیاه در خراسان رضوی مورد ارزیابی بیشتری قرار گیرد. همچنین پیش‌تیمار ۷ روز سرمادهی مرطوب برای تسهیل و یکنواختی جوانه‌زنی پیشنهاد می‌گردد.

**واژه‌های کلیدی:** آنتوسیانین، جوانه‌زنی بذر، خواب فیزیولوژیک، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، گل‌گاوزبان ایرانی، گیاهان دارویی

### مقدمه

(2010). جوانه‌زنی سریع بذرها و استقرار سریع بوته‌ها در مزرعه در راستای افزایش سرعت رشد اولیه بوته‌ها، دستیابی سریع‌تر به پوشش کامل زمین و در نتیجه افزایش بازدهی استفاده از عوامل محیطی مانند تشعشع، تقویت قدرت رقابت گیاه با علف‌های هرز و کاهش احتمال فرسایش خاک دارای نقش بسزایی است (Hall and Wiesner, 1991; Tekroni and Egly, 2002; Soltani, 2002). لذا ضرورت دارد که

گل‌گاوزبان با نام علمی *Echium amoenum* L. از خانواده *Boraginaceae* است. این گیاه بومی فلات ایران و محدود به حاشیه شمالی ایران، قفقاز و مناطق کوهستانی ایران است. نوع گیاه بوته‌ای بوده و گل‌ها در این گیاه ارزش دارویی دارند (Abed et al.,

\*نویسنده مسئول: aghasemnajad@hotmail.com

دریا و میزان آب موجود) می‌تواند متفاوت باشد. حتی فصل، برای نمونه پیش یا پس از گل‌دهی و ساعت چیدن گل‌ها بر ساختار شیمیایی متابولیت‌های ثانویه اثرگذار است. عامل مهم تأثیرگذار دیگر ساختار ژنتیکی گیاه است. از این‌رو تمام عوامل شامل ژنتیک یا محیط بر بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه در یک گیاه خاص اثر می‌گذارد. بدین‌صورت که یک گونه گیاهی در شرایط مختلف محیطی می‌تواند متابولیت‌هایی با ترکیبات مؤثره مختلف با فعالیت دارویی متفاوت را تولید کند. لذا می‌توان این‌گونه نتیجه گرفت که گوناگونی در ساختار شیمیایی منجر به ایجاد تنوع در ترکیبات شیمیایی می‌شود (Andria et al., 2011). برخلاف گیاهان زراعی و صنعتی که ارقام اصلاح شده فراوانی دارند، اغلب گیاهان دارویی که در حال حاضر تجارت می‌شوند یا مستقیم از منابع طبیعی جمع‌آوری می‌گردند و یا توده‌های وحشی جمع‌آوری شده در مزارع کشت می‌شوند. لذا تحقیق و بررسی در خصوص اهلی‌سازی این گیاهان اعم از جوانه‌زنی بذر تا پرورش گیاه به ویژه برای گیاهان ارزشمند امری ضروریست. لذا در تحقیق حاضر سعی شده است تا با بررسی جوانه‌زنی بذر و اثر منطقه بر خصوصیات کیفی و کمی گل‌گاوزبان نسبت به معرفی به مناطق جدید و تسهیل کشت این گیاه ارزشمند اقدام گردد.

#### مواد و روش‌ها

##### آزمایش اول

**مواد گیاهی:** بذور جمعیت‌های گل‌گاوزبان ایرانی (*Echium ammonium*) از ۲ منطقه کشور شامل مشهد در ارتفاع ۱۱۵۰ متری از سطح دریا با عرض جغرافیایی ۳۶/۳۷۷۰۶۷۸۴ و طول ۵۹/۶۲۸۹۸۲۵۴ و آب و هوای گرم و خشک، و جواهرده (رامسر) در ارتفاع ۲۰۰۰ متری از سطح دریا با موقعیت جغرافیایی

پیش تیمارهای لازم برای بهبود شرایط بذر در مرحله اول و قبل از جذب آب صورت گیرد (Maki zade tafty et al., 2006). بذورهای بسیاری از گیاهان مرتعی، دارویی و علف‌های هرز در رویشگاه طبیعی با داشتن یکی از انواع خواب از طریق گسترش زمان و مکان جوانه‌زنی، بقای خود را برای سال‌های طولانی تضمین می‌کنند (Asadi et al., 2015). جوانه‌زنی حداکثر و یکنواخت بذر در کشت گیاهان اهمیت زیادی دارد (Baskin, Koornnef et al., 2002; 2004). حال آن‌که پس از شناخت بهترین جمعیت از لحاظ جوانه‌زنی یکی دیگر از عوامل قابل توجه در گیاهان متابولیت‌های ثانویه در جمعیت‌های مختلف گل‌گاوزبان ایرانی است. متابولیت‌های ثانویه مهمترین مواد گیاهی در ساختار داروهای گیاهی به شمار رفته و تولید آن‌ها در گیاه تحت تأثیر عوامل مختلف ژنتیکی و محیطی قرار می‌گیرد. در بخش عوامل محیطی، زیست بوم نقش مهمی در بیوسنتز این مواد ایفا می‌کند. بنابراین، همواره باید به مطالعه تأثیر تغییرات زیست‌بوم بر تولیدات متابولیتی گیاهان پرداخت. از مهمترین عواملی که بر میزان عصاره و مواد مؤثره گیاهان اثر دارند، ویژگی‌های محل رویش و موقعیت گیاه در طبیعت است. محققان وجود ارتباط بین محل رویشگاه و تأثیر آن را بر میزان ترکیبات شیمیایی گیاهان بیان کرده‌اند (Omidbeigie, 2005). عوامل محیطی می‌توانند شامل عوامل مختلف بوم‌شناختی، ارتفاع از سطح دریا، جغرافیایی، اقلیمی و خاکی باشند که این عوامل در سه محور بر مواد مؤثره دارویی تأثیر می‌گذارد: ۱- تأثیر بر مقدار کلی ماده مؤثره گیاهان دارویی، ۲- تأثیر بر عناصر تشکیل دهنده مواد مؤثره، ۳- تأثیر بر مقدار تولید وزن خشک گیاه (Kazemizadeh et al., 2010). ساختار شیمیایی متابولیت‌های ثانویه با توجه به موقعیت جغرافیایی، محل رشد گیاه (نوع خاک، آب و هوا، ارتفاع از سطح

ثابت برسد، در زمان مشخص انجام شد. خروج ریشه‌چه در حد ۲ میلی‌متر به‌عنوان شاخص جوانه‌زنی در نظر گرفته شد (ISTA, 2009).

برای تعیین درصد (Sarmadnia, 1996) و سرعت (Scott et al., 1984) جوانه‌زنی، تعداد بذرهای جوانه زده در هر فویل روزانه شمارش شد و با استفاده از فرمول‌های زیر به‌ترتیب محاسبه گردید.

$$GP = S/T \times 100 \quad (1)$$

$$R = \sum N \div D \quad (2)$$

برای انجام محاسبات از نرم افزارهای آماری Excel، SAS و با تکیه بر آزمون دانکن استفاده شد.

**آزمایش دوم:** در این آزمایش خصوصیات کمی و کیفی گل دو جمعیت مشهد و جواهرده در دو فصل زراعی در منطقه مشهد (شان‌دیز) و گرگان مورد بررسی قرار گرفت.

کشت بذرها در اواخر آبان صورت گرفت. ابتدا بذرها به‌مدت ۱۰ ساعت قبل از کاشت در آب مقطر و در دمای محیط خیس‌انده شد. سپس بذرها به‌صورت حوله‌پیچ و مرطوب در یخچال با دمای چهار درجه سانتیگراد به مدت هفت روز نگهداری شد (بهترین نتایج جوانه‌زنی آزمایش اول در این تیمار بود).

عرض ۳۶/۸۵۲۰۸۳۱ و طول ۵۰/۴۵۴۶۶۵ با آب و هوای معتدل کوهستانی در سال ۱۳۹۵ جمع‌آوری شدند. **آزمایش‌های جوانه‌زنی:** آزمایش اول در قالب طرح فاکتوریل با ۳ تکرار با ۲۵ عدد بذر در هر تکرار در آزمایشگاه دانشکده تولیدات گیاهی، دانشگاه علوم منابع طبیعی و کشاورزی گرگان در سال ۱۳۹۶ اجرا و برای این منظور واکنش جوانی زنی بذور جمعیت‌های مشهد و جواهرده در شرایط آزمایشگاهی با تیمارهای مختلف شامل: اسید سولفوریک ۵۰ درصد به مدت ۱۰ دقیقه، اسید جیبرلیک ۵۰۰ ppm به‌مدت ۲۴ ساعت، سرمادهی مرطوب به مدت ۷، ۱۴ و ۲۱ روز در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و شاهد مورد بررسی قرار گرفت. برای شروع آزمایش بذرها پس از ضدعفونی به مدت ۶۰ ثانیه با هیپوکلرید سدیم ۱ درصد درون پارچه‌های نخی نازک قرار گرفته و با آب مقطر آبیاری شدند. سپس پارچه درون فویل‌های ضدعفونی شده با الکل پیچیده شد. نمونه‌ها به مدت ۲۱ روز در دمای محیط قرارگرفتند. برای حفظ رطوبت و متعادل بودن دما، پارچه‌های درون فویل‌ها مرطوب نگه داشته شدند. شمارش بذور جوانه‌زده پس از ۲۴ ساعت از شروع آزمایش به صورت روزانه تا زمانی که تعداد تجمعی بذور جوانه‌زده به مقدار

جدول ۱: ویژگی‌های خاک مزرعه مشهد و گرگان

گرگان	مشهد	ویژگی
۱۲۵	۲۱۹mg/l	پتاسیم (میلی‌گرم در کیلوگرم) p.p.m
۱۰ mg/l	۱۰mg/l	فسفر (میلی‌گرم در کیلوگرم) p.p.m
٪۳۷	۰/۰۹۲	نیترژن (٪)
۲۴/۵	۶۲/۱	هدایت الکتریکی (dS/m)
۷/۵۲	۸	pH
رسی - سنی	رسی	بافت خاک

و فاصله بین بوته‌ها روی ردیف بین ۲۰ تا ۴۰ تعیین شد. روش کاشت به‌صورت جوی و پشته بود. در این روش آبیاری تا یک ماه (زمانی که بوته‌ها به مرحله

بذرهای تیمار شده در اوایل آذر ۱۳۹۵ در زمین کشت شدند. در هر تکرار شش بوته در نظر گرفته شد. فاصله بین ردیف‌های کشت ۴۰ تا ۷۰ سانتی‌متر

آنتی‌اکسیدانی بر حسب درصد بر اساس فرمول زیر محاسبه شد.

$$\text{DPPH} = \frac{\text{درصد جذب نمونه} - \text{درصد جذب شاهد}}{\text{درصد جذب شاهد}} \times 100$$

**اندازه‌گیری فنل کل:** به این منظور ابتدا یک گرم کربنات سدیم ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) بدون آب در ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل کرده تا محلول کربنات سدیم ۲ درصد بدست آید. سپس مقدار یک میلی‌لیتر معرف فولین-سیوکالتور در یک میلی‌لیتر آب مقطر حل کرده تا فولین-سیوکالتور ۵۰ درصد (۱/۱) حاصل گردد. در ادامه دو میلی‌گرم از اسید گالیک را توزین کرده و در دو میلی‌لیتر آب مقطر حل کرده تا محلول اسید گالیک با غلظت یک میلی‌گرم در میلی‌لیتر به دست آید. سپس برای رسم منحنی استاندارد اسید گالیک، محلول پایه آماده شده را در لوله‌های آزمایش با مقادیر ۰، ۱۰ تا ۱۰۰ میکرولیتر به فاصله ۱۰ میکرولیتر ریخته شد و با آب مقطر به حجم ۱۰۰ میکرولیتر رسانده شد. به این ترتیب، لوله‌ها حاوی ۰، ۱۰، ۲۰، ... و ۱۰۰ میکروگرم گالیک اسید شدند. سپس، به هر کدام به ترتیب مقادیر ۲/۸ میلی‌لیتر آب دیونیزه، ۲ میلی‌لیتر کربنات سدیم ۲ درصد و ۱۰۰ میکرولیتر معرف فولین اضافه شد. مخلوط حاصل ورتکس و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای محیط انکوبه شد. از لوله آزمایش فاقد اسید گالیک به عنوان شاهد استفاده شد. مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره‌های گیاهی، رقیق شده با آب در لوله‌های آزمایش ریخته شد. پس از انجام مراحل مختلف مطابق با روش استاندارد، مقدار جذب نمونه‌ها نسبت به شاهد در طول موج ۷۲۰ نانومتر قرائت شد. با قرار دادن مقدار جذب نمونه‌ها در معادله مربوط به منحنی استاندارد، فنل کل موجود در عصاره‌ها محاسبه گردید. در نهایت، داده‌ها بر اساس میلی‌گرم اسید گالیک بر گرم وزن خشک گیاه بیان شد (Chen et al., 2005).

۶-۴ برگی رسیدند) به اندازه نیاز هر بوته بود. سپس آبیاری قطع و نیاز گیاه فقط از طریق باران احتمالی تأمین گردید.

**عملیات آماده‌سازی زمین و تهیه نمونه:** آزمایش در دو شهر مشهد و گرگان به صورت همزمان انجام شد. در ابتدا زمین مورد نظر آماده شد. پس از کشت بذرهای جوانه دار شده در آذرماه، در طول دوره به صورت دستی (وجین) صورت گرفت. نمونه برداری در اواخر خرداد ماه انجام شد. گل گیاهان مورد مطالعه از نقطه نظر میزان آنتوسیانین، توانمندی آنتی‌اکسیدانی، میزان فنل، فلاونوئید و کلروفیل مورد مطالعه قرار گرفت.

#### ارزیابی خصوصیات فیتوشیمی گل‌گاوزبان ایرانی

**اندازه‌گیری آنتوسیانین:** به این منظور یک گرم از نمونه گل خشک شده در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد را (Amoo aghai et al., 2013) با ۱۰ میلی‌لیتر متانول اسیدی ساییده شده و عصاره گیاه برای ۲۴ ساعت در تاریکی در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد (دمای یخچال) قرار داده شد. پس از این به مدت ۱۰ دقیقه در ۴۰۰۰ دور در دقیقه عصاره سانتریفیوژ شده و جذب محلول رویی با استفاده از اسپکتروفتومتر، در طول موج ۵۲۰ نانومتر خوانده شد. مقدار آنتوسیانین با استفاده از فرمول  $A = \epsilon bc$  به روش Chen و همکاران (۲۰۰۵) به دست آمد. در نهایت میزان آنتوسیانین بر حسب میکرومول در گرم وزن تر بیان شد.

#### اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش به

**دام‌اندازی رادیکال DPPH:** برای اندازه‌گیری درصد جذب DPPH عصاره‌های استخراجی یک میلی‌لیتر از محلول متانولی یک میلی‌مولار DPPH با یک میلی‌لیتر محلول عصاره در متانول مخلوط شد. سپس مخلوط به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق در تاریکی انکوبه شده و در نهایت جذب آن (Chen et al., 2005) در طول موج ۵۱۷ نانومتر قرائت شد. فعالیت

## نتایج

**آزمایش اول:** جهت بررسی مکانیزم خواب بذور انتخاب شده تحت تاثیر تیمارهای اسید جیبرلیک (۵۰۰ پی پی ام)، اسید سولفوریک ۵۰ درصد و سرمادهی مرطوب قرار داده شده و در نهایت پارامترهای مرتبط به جوانه زنی مورد بررسی قرار گرفت.

بر اساس نتایج تجزیه واریانس (جدول ۲) به غیر از طول ریشه چه اختلاف معنی داری بین توده های مطالعه شده مشاهده نشد. این در حالی است که به غیر از طول ساقچه اغلب پارامترهای اندازه گیری شده تحت تاثیر تیمارهای جوانه زنی قرار داشتند. بررسی مقایسه اثر متقابل توده بذری و تیمار جوانه زنی نشان داد که طول ریشه چه، وزن تر و خشک دانهال تحت تاثیر تیمار تفاوت معنی داری داشت. در مقابل درصد جوانه زنی و سرعت جوانه زنی تحت تاثیر اثر متقابل تیمارها قرار نگرفت (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین ها نشان داد که درصد جوانه زنی و سرعت جوانه زنی بر خلاف نتایج تجزیه واریانس تفاوت معنی داری در سطوح مختلف تیماری داشتند. به طوری که بالاترین درصد جوانه زنی در بذره های تیمار شده با سرمای مرطوب ۷ روزه مشاهده شد (جدول ۳). طول ریشه چه در نمونه های تیمار شده با اسید سولفوریک و اسید جیبرلیک در کمترین مقدار بود. مدت زمان قرارگیری بذور مرطوب در دمای پایین نتایج متفاوتی را به دنبال داشت. انتظار بر این بود که روند تغییرات جوانه زنی تحت تاثیر مدت زمان افزایشی باشد. با این وجود نمونه های تیمار شده با سرمای مرطوب به مدت ۲۱ روز نسبت به ۱۴ روز روند مناسب تری داشت. طول ریشه چه گیاهچه های حاصله تحت تاثیر سرمای مرطوب روند مشخصی

اندازه گیری فلاونوئید کل: به این منظور ۰/۵ میلی لیتر از عصاره متانولی با ۱/۵ میلی لیتر متانول، ۰/۱ میلی لیتر آلومینیوم کلرید ۱۰ درصد در اتانول (۱۰ گرم آلومینیوم کلراید در ۱۰۰ میلی لیتر اتانول و آب مقطر)، ۰/۱ میلی لیتر پتاسیم استات ۱ یک مولار (۲/۴۱ گرم پتاسیم استات در ۱۰ میلی لیتر آب مقطر) به همراه ۲/۸ میلی لیتر آب مقطر مخلوط شده برای تهیه ی شاهد نیز به جای عصاره متانولی از متانول خالص استفاده شد. مخلوط به دست آمده پس از ۳۰ دقیقه نگه داری در دمای اتاق و در تاریکی میزان جذب نوری در طول موج ۴۱۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر (مدل UNICO 2800) قرائت گردید. و معادله خط کالیبراسیون فلاونوئید براساس غلظت های مختلف ۱۲/۵ تا ۱۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر کوئرستین به دست آمد و میزان فلاونوئید کل براساس میلی گرم معادل کوئرستین بر گرم وزن خشک گیاه بیان شد (Chen et al., 2005)

**اندازه گیری کلروفیل:** برای قرائت مقدار کلروفیل اعداد دستگاه کلروفیل متر (مدل SPAD ۵۰۲ PLUS کمپانی MINOLTA KONICA ژاپن) پس از روشن کردن در ابتدا یک بار عدد دستگاه را بدون قرار دادن برگ در محفظه برگ قرائت کرده تا دستگاه کالیبره شود. سپس با قرار دادن پهنک برگ در میان سنسور انبری شکل عدد مشاهده شده ثبت می شود. این فرآیند در سه نقطه برگ انجام شده و میانگین حاصله گزارش می شود.

برای انجام محاسبات از نرم افزارهای آماری SAS، Excel و با تکیه بر آزمون دانکن در آزمایش استفاده شد. به دلیل همگن بودن واریانس ها از آزمون دانکن برای مقایسه چندگانه استفاده شد. نمودارها با برنامه Excel ترسیم شد.

نداشت. به طوری که نمونه‌های نگه‌داری شده به مدت ۱۴ روز طول ریشه‌چه بلندتری داشتند. با وجود عدم معنی‌دار بودن نتایج تجزیه واریانس، نتایج مقایسه میانگین‌ها بیانگر برتری سرمای مرطوب ۷ روزه نسبت به سایر تیمارها است.

جدول ۲: تجزیه واریانس صفات اندازه‌گیری شده جوانه زنی بذر گل‌گاوزبان بر اساس میانگین مربعات.

منبع تغییرات	درجه آزادی	درصد جوانه‌زنی (درصد)	طول ریشه (میلی‌متر)	طول ساقه (میلی‌متر)	وزن تر گیاه-چه (گرم)	وزن خشک گیاه‌چه (گرم)	سرعت جوانه‌زنی (درصد)
جمعیت (a)	۱	۱۵۴/۰۲ <sup>ns</sup>	۲۹۰/۴۱**	۴۶/۸۵ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۱ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۰۶ <sup>ns</sup>	۰/۹۳ <sup>ns</sup>
تیمار جوانه‌زنی (b)	۵	۱۱۶۴/۳**	۱۳۵/۸۹**	۱۳۵/۳۵ <sup>ns</sup>	۰/۰۱*	۰/۰۰۴*	۶/۲۴**
a*b	۵	۶۵/۱۴ <sup>ns</sup>	۴۴۱/۲۰**	۸۰/۱۸ <sup>ns</sup>	۰/۰۳*	۰/۰۱**	۰/۵۰ <sup>ns</sup>
خطا	۲۳	۵۲/۴۰	۲۷/۴۸	۶۷/۶۱	۰/۰۰۴	۰/۰۰۱	۰/۷۶
درصد ضریب تغییرات		۲۳/۰۳	۱۵/۳۱	۲۲/۷۳	۲۳/۵۳	۲۳/۲۲	۲۹/۱۹

ns عدم معنی داری. \* معنی داری در سطح پنج درصد. \*\* معنی داری در سطح یک درصد.

بیشترین طول ریشه‌چه نیز در تیمار ۱۴ روز سرمادهی بذر گاوزبان دیده شد.

وزن تر گیاه‌چه در تیمار ۷ روز سرمادهی بذر

بیشترین مقدار را داشته در صورتی که در تیمار ۲۱ روز سرمادهی کمترین وزن تر گیاه‌چه مشاهده گردید. در میان این جمعیت بالاترین مقدار وزن خشک گیاه-چه متعلق به تیمار ۷ روز سرمادهی به بذور بود. این در حالی است که نمونه‌های نگهداری شده در مای پایین به مدت ۲۱ روز کمترین تجمع ماده خشک را نشان دادند.

با توجه به نتایج (جدول ۳) در میان جمعیت‌های جواهرده و مشهد تمامی پارامترهای اندازه‌گیری شده به غیر از طول ریشه‌چه فاقد تفاوت معنی داری بود. طول ریشه‌چه تشکیل شده در بذورهای توده مشهد نسبت به جواهرده برتری واضح داشت.

با توجه به مقایسه میانگین از بین تیمارهای اعمال شده بیشترین درصد و سرعت جوانه‌زنی نمونه‌های بذری تیمار شده با سرمای مرطوب به مدت ۷ روز مشاهده شد. در صورتی که کمترین درصد جوانه‌زنی مربوط به بذورهای تیمار شده با اسید سولفوریک بود.

جدول ۳: مقایسه میانگین صفات جوانه زنی در پاسخ به پیش تیمارهای جوانه زنی در گیاه گل‌گاوزبان.

تیمارها	درصد جوانه‌زنی (%)	طول ریشه‌چه (mm)	وزن تر گیاه‌چه (g)	وزن خشک گیاه‌چه (g)	سرعت جوانه‌زنی (%)
۷	۵۱/۳۳ <sup>a</sup>	۳۸/۹۳ <sup>ab</sup>	۰/۳۲۴ <sup>a</sup>	۰/۱۶ <sup>a</sup>	۴/۹۴ <sup>a</sup>
۲۱	۴۰ <sup>b</sup>	۳۱/۷۱ <sup>cb</sup>	۰/۲۱ <sup>b</sup>	۰/۰۹ <sup>b</sup>	۳/۰۲ <sup>b</sup>
۱۴	۳۵/۳۳ <sup>bc</sup>	۴۰/۹۶ <sup>a</sup>	۰/۲۴ <sup>ab</sup>	۰/۱۱ <sup>ab</sup>	۲/۶۲ <sup>b</sup>
GA	۲۸ <sup>cd</sup>	۲۸/۳۹ <sup>c</sup>	۰/۳۲۱ <sup>a</sup>	۰/۱۵ <sup>a</sup>	۲/۵۱ <sup>b</sup>
C	۲۱/۳۳ <sup>d</sup>	۳۲/۰۸ <sup>cab</sup>	۰/۲۸ <sup>ab</sup>	۰/۱۴ <sup>ab</sup>	۲/۵۲ <sup>b</sup>
AS	۱۲ <sup>e</sup>	۲۸/۸ <sup>c</sup>	.	.	۱/۸۵ <sup>b</sup>

۷، ۱۴ و ۲۱ روز سرمادهی مرطوب. GA جیبرلیک اسید. C تیمار شاهد. AS اسیدسولفوریک.

هفت روز سرمادهی مرطوب به ثبت رسید. مقایسه وزن تر گیاهچه‌های توده بذری مشهد نشان داد که گیاهان شاهد در مقایسه با گیاهان تیمار شده بیشترین وزن تر را داشتند. این در حالی است که وزن تر گیاهچه‌های حاصل از بذرها تیمار شده با ۲۱ روز سرما مرطوب از نظر وزن تر سنگین‌تر بود. در رابطه متقابل دو جمعیت در وزن خشک گیاهچه بیشترین مقدار مربوط به تیمار هفت روز سرما در جمعیت جواهرده بود دیده شد. اگرچه کمترین وزن خشک گیاهچه در بین دو جمعیت در تیمار ۱۴ روز سرما بود. در بین جمعیت مشهد بیشترین وزن خشک گیاهچه در شاهد مشاهده گشت.

همانطور که مقایسه میانگین‌های اثر متقابل تیمارهای اعمال شده نشان می‌دهد (جدول ۴)، بلندترین طول ریشه‌چه در جمعیت مشهد تیمار شده با ۱۴ روز سرمادهی مشاهده شد. در مقابل در نمونه‌های شاهد جمعیت جواهرده کوتاهترین طول ریشه‌چه را تولید کرد. در بین جمعیت جواهرده کمترین طول ریشه‌چه در شاهد و بیشترین مقدار آن مربوط به تیمار هفت روز سرما تشکیل شد. مقایسه طول ریشه‌چه در جمعیت مشهد نشان داد که بیشترین اندازه ریشه‌چه مربوط به تیمار ۱۴ روز سرمادهی و کمترین آن مربوط به بذرها تیمار شده با اسید جیبرلیک بود. حال آنکه بیشترین وزن تر گیاهچه در بذرها تیمار شده با

جدول ۴: جدول مقایسه میانگین تغییرات صفات اندازه‌گیری شده تحت تأثیر تیمارها در بذر دو توده جواهرده و مشهد.

وزن خشک (g)	وزن تر (g)	طول ریشه (mm)	تیمار	جمعیت
۰/۰۴ <sup>a</sup>	۰/۲۰۷ <sup>c</sup>	۲۷/۲۶ <sup>cd</sup>	۱۴	جواهرده
۰/۰۹۰ <sup>de</sup>	۰/۲۲ <sup>cb</sup>	۳۳/۵۳ <sup>c</sup>	۲۱	
۰/۲۱ <sup>a</sup>	۰/۴۲ <sup>a</sup>	۴۳/۸۶ <sup>b</sup>	۷	
.	.	۲۸/۸۰ <sup>cd</sup>	AS	
۰/۱۰۱ <sup>cde</sup>	۰/۲۲ <sup>cb</sup>	۲۱/۰۶ <sup>d</sup>	C	
۰/۱۷ <sup>ab</sup>	۰/۳۶ <sup>ab</sup>	۳۰/۸۰ <sup>c</sup>	GA	
۰/۱۶ <sup>cab</sup>	۰/۲۵ <sup>cb</sup>	۵۴/۶۶ <sup>a</sup>	۱۴	مشهد
۰/۱۰۲ <sup>cde</sup>	۰/۲۱ <sup>c</sup>	۲۹/۸۸ <sup>c</sup>	۲۱	
۰/۱۱۹ <sup>cd</sup>	۰/۲۵ <sup>cb</sup>	۳۳/۹۹ <sup>c</sup>	۷	
۰/۱۸ <sup>ab</sup>	۰/۳۲ <sup>cab</sup>	۴۳/۱۰۷ <sup>b</sup>	C	
۰/۱۱۲ <sup>cde</sup>	۰/۲۹ <sup>cab</sup>	۲۵/۹۹ <sup>cd</sup>	GA	

۷، ۱۴ و ۲ روز سرمادهی مرطوب. GA جیبرلیک اسید. C شاهد. AS اسیدسولفوریک.

سطح آماری یک درصد معنی‌دار بود. همچنین اثر متقابل مکان در فصل زراعی در سطح پنج درصد معنی‌دار شد. در صورتی که اثرات متقابل عوامل بلوک (مکان × فصل زراعی)، جمعیت در مکان، جمعیت در فصل زراعی و جمعیت × مکان × فصل زراعی در مقدار آنتوسیانین از نظر

آزمایش دوم: مطالعه خصوصیات فیتوشیمیایی جمعیت‌های مختلف گل‌گاوزبان ایرانی در منطقه مشهد و گرگان  
تغییرات آنتوسیانین کل تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی: نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد اثر عوامل ساده مکان، فصل زراعی و جمعیت در

آمار بی‌معنی بودند (جدول ۵). بررسی مقایسه میانگین‌ها تحت تأثیر فصل زراعی نشان داد میزان آنتوسیانین در فصل زراعی دوم، در مشهد

و در جمعیت جواهر ده دارای بیشترین میزان آنتوسیانین بود (جدول ۶).

جدول ۵: نتایج تجزیه واریانس تأثیر فاکتورهای مورد مطالعه بر صفات فیتوشیمیایی جمعیت‌های مختلف گل‌گاوزبان ایرانی.

منبع تغییرات	درجه آزادی	آنتوسیانین	فعالیت آنتی‌اکسیدانی	فنل کل	فلاونوئید کل	کلروفیل
مکان	۱	۲۵۱۸/۹۰**	۹۸۲/۰۲**	۴۱/۹۵ <sup>ns</sup>	۱۹۰/۶۱**	۱۹۹/۱۵**
فصل زراعی	۱	۲۶۵/۰۱**	۵۰۳/۳۱**	۳۲/۸۸ <sup>ns</sup>	۹/۶۳ <sup>ns</sup>	۰/۳۱ <sup>ns</sup>
مکان × فصل زراعی	۱	۵۸/۸۸*	۵۷/۲۷*	۲/۲۲ <sup>ns</sup>	۲/۲۸ <sup>ns</sup>	۵۵/۱۵**
بلوک (مکان × فصل زراعی)	۱۲	۱۰/۵۹ <sup>ns</sup>	۸/۵۶ <sup>ns</sup>	۱۷/۳۹ <sup>ns</sup>	۴/۹۱ <sup>ns</sup>	۵/۰۵ <sup>ns</sup>
جمعیت	۱	۸۰۳/۱۰**	۲/۳۱ <sup>ns</sup>	۱۰۵/۱۲*	۳۶/۴۲**	۱۳۵/۶۷**
جمعیت × مکان	۱	۱/۳۰ <sup>ns</sup>	۱۱۷/۳۱**	۹/۴۶ <sup>ns</sup>	۱/۹۵ <sup>ns</sup>	۸۳/۸۱**
جمعیت × فصل زراعی	۱	۳۲/۲۲ <sup>ns</sup>	۱۴/۶۲ <sup>ns</sup>	۰/۰۱ <sup>ns</sup>	۸ <sup>ns</sup>	۰/۰۴ <sup>ns</sup>
جمعیت × مکان × فصل زراعی	۱	۶/۰۲ <sup>ns</sup>	۵/۶۸ <sup>ns</sup>	۳۶/۲۹ <sup>ns</sup>	۰/۶۷ <sup>ns</sup>	۹۵/۹۷ <sup>ns</sup>
خطا	۱۲	۸/۷۳	۱۰/۹۸	۱۳/۳۶	۳/۱۸	۵/۲۲
ضرب تغییرات		۵/۶۳	۹/۸۹	۱۸/۶۲	۱۰/۲۳	۱۱/۶۲

\*\*معنی‌داری در سطح یک درصد، \*معنی‌داری در سطح پنج درصد و <sup>ns</sup> عدم معنی‌داری می‌باشد.

جدول ۶: مقایسه میانگین اثرات اصلی زمان-مکان بر خصوصیات فیتوشیمیایی در جمعیت‌های مختلف گل‌گاوزبان ایرانی (منطقه کشت مشهد-گرگان).

متغیر	آنتوسیانین (mg/g)	فعالیت آنتی‌اکسیدانی (%)	فنل (mg/g)	فلاونوئید (mg/g)	کلروفیل
فصل زراعی	۴۹/۵۴ <sup>b</sup>	۲۹/۵۴ <sup>b</sup>	۱۸/۶۱ <sup>a</sup>	۱۶/۸۸ <sup>a</sup>	۱۹/۵۶ <sup>a</sup>
مکان	۶۱/۲۹ <sup>a</sup>	۳۷/۴۷ <sup>a</sup>	۲۰/۶۴ <sup>a</sup>	۱۷/۹۷ <sup>a</sup>	۱۹/۷۶ <sup>a</sup>
جرم	۴۳/۵۴ <sup>b</sup>	۲۷/۹۶ <sup>b</sup>	۱۸/۴۸ <sup>a</sup>	۱۹/۸۷ <sup>a</sup>	۲۲/۱۵ <sup>a</sup>
جواهرده	۵۷/۴۳ <sup>a</sup>	۳۳/۷۷ <sup>a</sup>	۲۱/۴۴ <sup>a</sup>	۱۸/۴۹ <sup>a</sup>	۲۱/۷۲ <sup>a</sup>
مشهد	۴۷/۴۱ <sup>b</sup>	۳۳/۲۳ <sup>a</sup>	۱۷/۸۱ <sup>b</sup>	۱۶/۳۶ <sup>b</sup>	۱۷/۶۰ <sup>b</sup>

حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی دار با استفاده از آزمون دانکن است.

آنتی‌اکسیدانی معنی‌دار شد. اما اثر عوامل ساده و متقابل بلوک (مکان × فصل زراعی)، جمعیت، جمعیت × فصل زراعی و جمعیت × مکان × فصل زراعی در میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی معنی‌دار نبود (جدول ۵). نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌ها نشان داد در فصل زراعی دوم کشت در منطقه مشهد میزان

تغییرات فعالیت آنتی‌اکسیدانی تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی: اثر مستقل مکان، فصل زراعی و اثر متقابل جمعیت × مکان بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی در نتایج تجزیه واریانس در سطح خطای آزمایش یک درصد معنی‌دار شدند. حال آنکه اثر متقابل مکان در فصل زراعی در سطح آماری پنج درصد در میزان



مشهد و جمعیت جواهرده بیشترین مقدار کلروفیل رویت گردید (جدول ۶).

#### بحث

همان‌طور که مشاهده می‌گردد در هر دو جمعیت گل‌گاوزبان ایرانی بیشترین مقدار متابولیت‌های ثانویه مربوط به منطقه مشهد بود. عمده‌ترین عامل اختلاف اکولوژیکی دو منطقه در کنار شدت نور آفتاب و رطوبت نسبی محیط، ارتفاع از سطح دریا است. آنتوسیانین‌ها در ردیف ترکیبات فلاونوئیدی مسئول حفاظت اندام‌های حساس گیاهی در مقابل تشعشعات نوری به ویژه طول موج‌های پایین‌تر از ۴۰۰ نانومتر هستند. لذا به نظر می‌رسد که ارتفاع از سطح دریا عامل مهم ایجاد تفاوت بیوشیمیایی در این توده‌ها است. به طوری که در منطقه مشهد با ارتفاع بیشتری نسبت به گرگان تجمع ترکیبات بیوشیمیایی به صورت معنی‌داری افزایش یافت. مطالعات متعدد انجام شده نشان می‌دهد که ویژگی‌های مورفولوژی و فیتوشیمیایی گیاه تحت تأثیر شرایط اقلیمی محل رویش قرار می‌گیرد (Omidbaigi, 2000).

بررسی خصوصیات اقلیمی نشان داد که روند تولید متابولیت‌های ثانویه در این گیاه در دو رویشگاه از روند مشابهی تبعیت نمی‌کند. به گونه‌ای که در مناطقی با اقلیم کوهستانی که اختلاف دمای روز و شب بیشتر از مناطق شمالی ایران است، عوامل استرس‌زای محیطی بیشتر بوده و گیاه برای مقابله با آنها ملزم به افزایش بیوسنتز متابولیت‌های محافظتی با تمام ظرفیت است. نتایج حاضر با یافته‌های Habibi و همکاران (۲۰۰۷) که به‌طور ویژه اثر ارتفاع از سطح دریا را بر روی ترکیبات اسانس گیاه آویشن وحشی در منطقه طالقان بررسی کردند، همخوانی دارد. نتایج پژوهش حاضر از نظر نقش عوامل محیطی بررسی شده بر روی تولید مواد مؤثره گل‌گاوزبان با

فعالیت آنتی‌اکسیدانی در گیاهان بیشتر از فصل زراعی اول بود. این در حالی‌ست که در نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌های جمعیت‌های کشت شده اختلاف معنی‌داری بین این مقادیر وجود نداشت و هر دو جمعیت مشهد و جواهرده از نظر آماری در یک گروه مشترک قرار گرفتند (جدول ۶).

**تغییرات فنل کل گلبرگ گل‌گاوزبان تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی:** در مطالعه نتایج تجزیه واریانس اثر ساده جمعیت در سطح پنج درصد معنی‌دار بود. درحالی‌که تأثیر بقیه عوامل بر میزان فنل کل فاقد معنی بودند (جدول ۵). همچنین در بررسی مقایسه میانگین‌ها جمعیت جواهرده دارای بیشترین میزان فنل کل بود. در صورتی‌که در فصل‌های زراعی و مکان کشت اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (جدول ۶).

**تغییرات فلاونوئید کل تحت تاثیر تیمارهای استفاده شده:** اثرات ساده مکان و جمعیت در سطح احتمال یک درصد بر میزان محتوای فلاونوئید بر اساس نتایج تجزیه واریانس معنی‌دار بود (جدول ۵). این در حالی است که تأثیر بقیه عوامل بر میزان محتوای فلاونوئیدی فاقد معنی بود. مقایسه میانگین‌های فصل‌های زراعی کشت بر مقدار فلاونوئید نشان داد که بین مقادیر فلاونوئید در فصل‌های زراعی اول و دوم کشت اختلاف معنی‌داری وجود ندارد. حال آن‌که مقایسه میانگین‌ها در مشهد و در جمعیت جواهرده بیشترین میزان فلاونوئید را دارا بود (جدول ۶).

**محتوای کلروفیل:** نتایج تجزیه واریانس اثر ساده مکان، رقم و اثرات متقابل مکان×فصل زراعی و جمعیت×مکان در سطح آماری یک درصد معنی‌دار شدند (جدول ۵). حال آن‌که تأثیر بقیه عوامل بر محتوای کلروفیل معنی‌دار نبودند. همچنین نتایج مقایسه میانگین مقدار کلروفیل تحت تأثیر فصل زراعی، نشان داد بین فصل‌های زراعی اختلاف معنی‌داری از نظر آماری وجود ندارد. اما در مکان

گیاهان را در برابر اشعه ماوراءبنفش، عوامل بیماری‌زا و گیاه‌خواران محافظت می‌کند. فلاونوئیدها به طور کلی ترکیبات فنیل پروپانئیدی به علت توانمندی آنتی‌اکسیدانی در تنظیم فعالیت‌های آنزیمی و تولید متابولیت‌های اولیه و ثانویه نقش دارند. میزان آن‌ها در گونه‌های مختلف گیاهی با مرحله رشد، بافت گیاهی، وارپته، تنش‌های محیطی مانند اشعه ماوراءبنفش، شرایط اقلیمی، شرایط خاک، شخم، آفات و بیماری‌ها متغیر است (Kalinova and Vrchotiva, 2011). در مطالعه حاضر به نظر می‌رسد که افزایش متابولیت‌های ثانویه در منطقه مشهد و در جمعیت جواهرده به دلیل افزایش ارتفاع از سطح دریا و بالا بودن اشعه ماوراءبنفش می‌باشد. بررسی نتایج این تحقیق و پژوهش‌های دیگران مؤید این مطلب است که صفات کمی و کیفی گیاهان در اکوسیستم‌ها، تحت تأثیر عوامل مختلفی نظیر اقلیم منطقه، ارتفاع از سطح دریا و موقعیت جغرافیایی قرار دارند. اما ذکر این نکته ضروری است که علاوه بر عوامل محیطی، عوامل ژنتیکی به‌عنوان یک فاکتور مهم و تأثیرگذار بر صفات کمی و کیفی گیاهان نقش مهمی دارند (Wichti, 1989). همچنین در تحقیقی ثابت شد که تغییرات میزان ترکیبات ثانویه گل‌گاوزبان ایرانی در ارتفاعات بالاتر از سطح دریا بیشتر است (Babakhanzade, 2015). حال آنکه نتایج به‌دست آمده در تحقیق ما نیز با نتایج این تحقیقات مطابقت داشت. لذا مشهد با ۱۴۰۰ متر ارتفاع از سطح دریا نسبت به گرگان (۱۶۵ متر ارتفاع از سطح دریا) دارای شب‌های خنک بوده، در روز شدت نور بالایی را دریافت می‌کند و در نتیجه میزان تجمع متابولیت‌های ثانویه در مشهد نسبت به گرگان افزایش بیشتری داشت. بررسی‌های تحقیق حاضر نشان داد که جوانه‌زنی بذر گل‌گاوزبان تحت تأثیر شرایط اقلیمی و تفاوت ژنتیکی رشد گیاه قرار دارد. در این خصوص عنوان

مطالعه Soleimani و همکاران (۲۰۱۱) که رابطه تغییرات فیتوشیمیایی گیاه چای کوهی با عوامل محیطی در غرب اصفهان را مورد بررسی قرار دادند، همسو است. اثر بسیاری از عوامل محیطی بر تولید مواد مؤثره در مطالعات زیادی به اثبات رسیده است. نشان داده شد که میزان متابولیت‌های ثانویه همچون میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی گیاه *Cerateagus microphylla* در ارتفاعات بالا دارای بیشترین سطح و در ارتفاعات پایین دارای کمترین مقدار بود (Tajali and Khazaeipoor, 2012) که مؤید نتایج پژوهش حاضر است. در اغلب مطالعات بر نقش رویشگاه به‌عنوان عامل مؤثر در میزان تجمع متابولیت‌های ثانویه تأکید شده است. مکان رشد گیاه می‌تواند از طریق تغییرات دمایی و رطوبتی بر فرآیند تشکیل مواد مؤثره تأثیر گذار باشد. مکانیسم تأثیرات محیط بر تجمع متابولیت‌های ثانویه به‌درستی روشن نیست، ولی این مطلب تأیید شده است که محیط از طریق تأثیری که در فرآیند تولید متابولیت‌ها و نیز آنزیم‌های مرتبط به آن دارد، در نوع و شدت واکنش‌های شیمیایی مؤثر است (Hemati et al., 2002). محققین بیان داشتند که در ارتفاعات بالاتر از ۱۵۰۰ متر، مقادیر بالاتری از ترکیبات فنلی وجود دارد (Jaakola et al., 2004). شدت نور، دوره‌های نوری و دما بر روی سنتز بسیاری از متابولیت‌های ثانویه تأثیر می‌گذارند (Hohtola, 2007). در مطالعات Nikkhah و همکاران (۲۰۱۷) بر روی گیاه *Ferulago angulate* مشخص شد فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه تحت تأثیر مراحل مختلف فنولوژیکی و ارتفاع از سطح دریا قرار داشت. به طوری که افزایش ارتفاع، افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی را در پی داشت. نتیجه‌ای که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد. همانگونه که قبلاً نیز اشاره شده است، فلاونوئیدها، فنل کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه به‌دلیل ایجاد مکانیسم دفاعی

پتانسیل تولید متابولیت های ثانویه ژنتیکی است، اما میزان تولید آن ها به صورت قابل توجهی تحت تاثیر شرایط محیطی قرار می گیرد نکته ای که به وضوح در نتایج تحقیق حاضر مشاهده شد. در این پژوهش صفات اندازه گیری شده از جمله آنتوسیانین ها، فلاونوئید ها، فنل کل و فعالیت آنتی اکسیدانی گیاهان حاصل از بذور جمعیت جواهرده کشت شده در مشهد شرایط بهتری نسبت به توده بذری مشهد داشت. با توجه به نتایج مورفولوژی بذر و فیتوشیمی گل برای کشت گل گاوزبان، پیشنهاد می شود که به منظور افزایش جوانه زنی بذر در مزرعه، و افزایش کیفی گل جمع آوری بذر برای کشت و کار از مناطق مرتفع و کوهستانی با شب های خنک صورت گیرد.

شده است مدت زمان سرمادهی لازم برای افزایش قوه نامیه در بذرهای گیاهان مختلف به ویژگی های ژنتیکی بذر، شرایط محیطی و اقلیمی نمو بذر بستگی دارد (Esmaili et al., 2017; Benech-Arnold et al., 2000). نکته ای که در تحقیق حاضر در خصوص گل گاوزبان به اثبات رسید.

### نتیجه گیری نهایی

تکامل گیاهان در طبیعت وابسته به عوامل متفاوتی همچون اقلیم، گونه، نوع خاک، ژنتیک گیاه، ارتفاع از سطح دریا و موقعیت جغرافیایی است. هر کدام از این عوامل به تنهایی نقش مؤثری در خصوصیات مورفولوژی و فیتوشیمیایی گیاهان دارند. اگرچه

### References

- Abed, A., Minaiyan, M., Ghannadi, A., Mahzouni, P. and Babavalian, MR. (2012). Effect of *Echium amoenum* Fisch. et Mey a traditional Iranian herbal remedy in an experimental model of acute pancreatitis. International Scholarly Research Notice Gastroenterology. 14(1): 48- 54.
- Amoo Aghai, R. and Vali Vand, M. (2014). Effect of cold time, concentration, type and time of nitrogen treatments on germination and growth of *Rosus celery* (*Kelussia odoratissima Mozaff*). Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology). 27 (3): 462-468.
- Andrade, E.H.A., Alves, C.N., Guimarães, E.F., Carreira, L.M.M. and Maia, J.G.S. (2011). Variability in essential oil composition of *Piper dilatatum* LC Rich. Biochemical Systematics and Ecology, 39(4):669-75.
- Asadi, E.M. and Heshmati, Gh.E. (2015). The effect of different treatments on breaking the sleep and stimulating germination of (*Thymus transcaucasicus Ronn*) and (*Zataria multiflora Boiss*) seedlings. Journal of Plant Research (Iranian Biology Journal), 28 (1): 12-24. (In Persian)
- Babakhanzade Sajirani, E. (2015). Persian blooming flower. Negin Eshvakat Gilan. First Printing, Exquisite Exhibitions. 93 p.
- Baskin, C.C., Meyer., S.E. and J.M. Baskin. (2004). Two type morphophysiological dormancy in seeds of two genera *Osmorhiza* and *Erythronium* with an Arcto- Tertiary distribution pattern. American Journal of Botany. 82: 293-298
- Benech-Arnold, R.L., Sanchez, R.A., Forcella, F., Kruk, B.C. and Ghersa, C.M. (2000). Environmental control of dormancy in weed seed banks in soil. Field Crops Research. 67: 105-122.
- Chen, X-Q. and Xiao, J. (2005). HPLC-DAD determination of flavonoids: separation of quercetin, luteolin and apigenin in *Marchantia Convoluta*. Iranian Journal of Pharmaceutical Research, 3:175-181.
- Esmaili, A., Hosseini Moghadam, H. and Mostafa Loo, H. (2017). Investigating the effect of different treatments on breaking of sleep and stimulating seed germination (*Astragalus podolobus*). New Findings in Biotechnology, 4(2): 147-154. (In Persian)
- Habibi, H., Mazaheri., D., Majnoun Hosseini., N., Chaiechi., M.R., Fakhr Tabatabaei, M. and Bigdeli, M. ( 2007). Effect of altitude on essential oil and components in wild thyme (*Thymus kotschyanus* Boiss) Taleghan region. Pajouhesh Va Sazandegi, 19(4):2-10. (In Persian)
- Hall, R.D. and Wiesner, L.E. (1990). Relationship between seed vigor tests and field performance of Regar meadow bromegrass. Crop Scientific. 30: 967-970.
- Hasanvand, H., Siadat, S.E., Bakhshande, E., Moradi Talavat, M.R. and Posht Dar, E. (2018). Performance evaluation and some

- physiological characteristics of *Borago officinalis* L. under plant density and different planting dates in Ahvaz region. Iranian Journal of Medicinal Plants and Herbs Research, 34 (1): 1-16.
- Hooshidari, F., Sefid Can, F, Tabai Aghdai, S.R. and Yosefi, B. (2018).** Investigation of quantitative and qualitative changes of (*Satureja mutica Fisch. & C. A. Mey*) in Cultural Conditions of Kurdistan. Journal of Horticultural Science, 10: 2-49.
- Kazemizadeh, Z., Habibi, Z. and Moradi A. (2010).** Investigation of the essential oil composition of Caspian *Teucrium* species (*Teucrium hyrcanicum L.*) in two different localities. Iranian Journal of Medicinal and Arom Plant, 9:73-67.
- Khalasi Ahvazi, L., Heshmati, Gh. E. and Zofen, P., M. (2015).** Effect of environmental factors on the antioxidant activity of (*Gundelia tournefortii L.*) in different vegetative stages. Scientific Journal of Rangeland, 10(2):237-246.
- Koornneff, M., Bentsink, L. and Hilhors, H.(2002).** Seed dormancy and germination. Plant Growth and Development, 5:33-36.
- Maki Zade Tafty, M., Tavakol Afshari, R., Majnoon Hosseini, N., Naghdi Badi, H.E. and Mehdi Zade, E. (2006).** The effect of osmotic preparation on seedling germination of *Boragolicinalis L.* in order to optimize production. Journal of Research in Iranian Herbs and Medicinal Herbs, 22(3): 216-222.
- Mir Jalili, M.H., Fakhr atabai, M. and Omidbeigi, R. (2005).** Study of the adaptation and evaluation of lemon grass essential oil. Iranian Journal of Agricultural Science, 36: 33-41.
- Omidbeigi, R. (2005).** Production and processing of medicinal plants. BehNashr. Mashhad. 1:1- 347.
- Sarmadnia, GH. (1996).** Seed technology. Publications University of Mashhad.288 p. (In Persian)
- Scott, S.J., Jones, R.A. and Williams, W.A. (1984).** Review of data analysis methods for seed germination. Crop Science, 24: 1192-1199.
- Soleimani maymand, F. (2011).** The investigation of phytochemical of *Stachys lavandulifolia* Vahl and its relation with ecological condition in the west area of Isfahan province. MSc thesis in Isfahan University of Technology, 95p. (In Persian)
- Soltani, A. (2007).** Application of SAS in statistical analysis. Jihad Daneshgahi Mashhad Press, 20. Mashhad, Iran. 180-188.
- Tekroni, D.M. and Egli, D.B. (1991).** Relationship of seed vigor to crop yield. A Review Crop Science. 31: 816-822.