نشریه پژوهش‌های تولید گیاهی
جلد بیست و چهارم، شماره سوم، ۱۳۹۶
http://jopp.gau.ac.ir

بررسی تنوع ژنتیکی با استفاده از نشانگرهای ریخت‌شناسی و فیتوشیمیایی درگونه‌های مختلف خرگوشک (*Verbascum* sp.) در استان آذربایجان غربی

سونیا امینی[۱]، عباس حسنی*[۲]، ابوالفضل علیرضالو[۳] و رامین ملکی[۴]

[۱]دانشجوی کارشناسی‌ارشد، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه،

[۲]استاد گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، [۳]استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه

[۴]استادیار گروه پژوهشی کروماتوگرافی، جهاد دانشگاهی آذربایجان غربی، ارومیه

تاریخ دریافت : ۹۵/۱۰/۱۸ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۶/۲/۲۶

چکیده

سابقه و هدف: گل ماهور یا خرگوشک (*Verbascum* sp.) گیاهی علفی، دوساله، دارویی و متعلق به تیره گل میمون (Scrophulariaceae) می‌باشد. از گل‌های این گیاه به عنوان یک داروی گیاهی با ارزش برای درمان التهاب، آسم، سرفه و همچنین درمان ناراحتی‌های دستگاه تنفسی استفاده می‌شود. در این تحقیق تنوع ژنتیکی گونه‌های مختلف خرگوشک جمع‌آوری شده از مناطق مختلف استان آذربایجان غربی بر اساس برخی نشانگرهای ریخت‌شناسی و فیتوشیمیایی در راستای اهلی‌سازی این گیاه ارزشمند مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: مناطق مختلف استان آذربایجان غربی به عنوان خاستگاه بسیاری از گونه‌های دارویی خرگوشک در ایران، برای جمع‌آوری نمونه‌های گیاهی و انجام آزمایش‌ها انتخاب شد. به‌منظور ارزیابی تنوع ریخت‌شناسی گونه‌های مختلف خرگوشک در فصل گلدهی کامل گیاه، ۱۲ صفت کیفی و همچنین ۲۰ صفت کمی مورد ارزیابی قرار گرفتند. پس از شناسایی گونه‌ها، عصاره‌گیری از نمونه‌های گل و برگ به روش اولتراسونیک انجام گرفت. تنوع فیتوشیمیایی گونه‌های مختلف خرگوشک نیز بر اساس محتوای فنل کل (روش فولین سیوکالتو) و فعالیت آنتی‌اکسیدانی (روش DPPH)، به طور جداگانه در اندام‌های گل و برگ ارزیابی گردید.

یافته‌ها: بر اساس ارزیابی نمونه‌های جمع‌آوری‌شده از مناطق مختلف، ۹ گونه (*V. erianthum*، *V. songaricum*، *V. speciosum*، *V. szovitsianum*، *V. stachydiforme*، *V. sinuatum*، *V. hausknechtianum*، *V. cheirantifolium* و *V. saccatum*) شناسایی گردید. نتایج نشان داد که نوع گونه تأثیر معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد بر صفات ارتفاع گیاه، طول گل‌آذین، تعداد گل در هر دسته، تعداد ساقه گلدهنده، طول برگ‌های قاعده‌ای، طول و عرض کپسول دارد. همچنین بین گونه‌های مورد مطالعه از نظر نسبت طول به عرض برگ‌های ساقه‌ای و طول کاسه گل تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد وجود داشت. بررسی نتایج داده‌های فیتوشیمیایی نیز نشان داد که نوع گونه و اندام تأثیر معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد بر میزان فنل کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه دارویی خرگوشک داشت. بیشترین میزان فنل کل (۳۲/۸۳ میلی‌گرم اسید گالیک بر گرم وزن خشک) و فعالیت آنتی‌اکسیدانی (۸۵/۰۲ درصد) در برگ‌های گونه *V. sinuatum* مشاهده شد. همچنین بر اساس تجزیه به

*مسئول مکاتبه: horthasani@yahoo.com

مؤلفه‌های اصلی و دندروگرام صفات ریخت‌شناسی و فیتوشیمیایی برای گونه‌های خرگوشک، گونه‌های مورد مطالعه به چهار گروه اصلی تقسیم شدند. در گروه اول گونه *V. sinuatum* قرار گرفت که دارای بالاترین میزان فنل کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی برگ، ارتفاع گیاه، تعداد گل در هر دسته، تعداد انشعابات شاخه گلدهنده و عرض برگ‌های قاعده‌ای بود. سایر گونه‌ها (*V. szovitsianum* و *V. haussknechtianum*)، (*V. stachydiforme*، *V. songaricum*، *V. saccatum* و *V. speciosum*) و (*V. erianthum* و *V. cheirantifolium*) به‌ترتیب در گروه‌های دوم، سوم و چهارم قرار گرفتند.

نتیجه‌گیری: یافته‌های این تحقیق نشان داد که تنوع وسیعی از گونه‌های خرگوشک در استان آذربایجان غربی وجود دارد. گونه *V. sinuatum* دارای خصوصیات ریخت‌شناسی و فیتوشیمیایی منحصر به‌فردی است که می‌توان از آن در جهت برنامه‌های اصلاحی و تولید اقتصادی استفاده نمود.

واژه‌های کلیدی: تنوع ژنتیکی، خرگوشک، گیاهان دارویی، مواد ثانویه، ریخت‌شناسی

مقدمه

گل ماهور یا خرگوشک (*Verbascum* sp.) متعلق به تیره گل میمون (Scrophulariaceae) و بزرگترین جنس از این تیره می‌باشد که با بیش از ۲۵۰۰ گونه در سرتاسر دنیا گسترش یافته است. مهمترین مراکز تنوع خرگوشک ترکیه، ایران و پاکستان است. جنس ورباسکوم در ایران دارای ۴۳ گونه و ۳ هیبرید است که در این بین ۲۰ گونه اندمیک ایران است (۱۹ و ۳۰). خرگوشک گیاهی دوساله و به ندرت یک‌ساله می‌باشد. برگ‌ها به‌صورت بیضوی و نوک‌تیز، ریشه گیاه ضخیم و مخروطی شکل و گل‌آذین آن خوشه‌ای می‌باشد. رنگ گل‌ها زرد روشن بوده که قسمت خارجی گل کرک‌دار و لایه داخلی آن صاف است (۲۴ و ۳۴).

اندام‌های مختلف خرگوشک (گل، برگ و ریشه) دارای اثرات دارویی گسترده‌ای هستند. این گیاه از جمله گیاهان دارویی مطرح و مورد توجه عموم بوده که از گل‌های آن به‌عنوان داروی ضد سرفه و خلط‌آور و همچنین برای ناراحتی‌های ریوی مانند برونشیت و سیاه‌سرفه استفاده می‌شود. همچنین گزارش شده است که ترکیبات موجود در این گیاه می‌تواند در رشد مجدد مو تأثیرگذار باشد (۱۷ و ۱۰). امروزه به خاطر تأثیر بالایی که روی بیماری‌های مختلف دستگاه تنفسی دارد برای این گیاه در صنایع دارویی اهمیت زیادی قائل هستند (۲۶).

پایه و اساس تحقیقات به‌نژادی گیاهان بر وجود تنوع ژنتیکی استوار است. در واقع بدون دسترسی به چنین تنوعی، به‌نژادگر موفقیت چندانی برای ایجاد و ارائه ارقام جدید نخواهد داشت (۱۱). ارزیابی ویژگی‌های ریخت‌شناسی منابع ژنتیکی و جمع‌آوری صفات مطلوب در یک رقم از اهداف اصلاحی مهم در گیاهان است. در برخی موارد همبستگی بین صفات ریخت‌شناسی و برخی از صفات که برآورد آن‌ها مشکل است، می‌تواند به اصلاح کنندگان در بهره‌گیری از این صفات به‌عنوان نشانگر در برنامه‌های اصلاحی کمک زیادی نماید (۲۱). تاکنون مطالعه خاصی روی تنوع ریخت‌شناسی گونه‌های مختلف جنس خرگوشک انجام نگرفته و فقط در تعدادی پژوهش‌ها، پراکنش و تاکسونومی آن مورد بررسی قرارگرفته است (۴، ۲۰ و ۲۹). در تحقیقی شریف نیا (۲۰۰۷) مناطق انتشار و تاکسونومی جنس ورباسکوم در ایران را مورد مطالعه قرار داد. نتایج نشان داد که ۴۸ درصد گونه‌های موجود در ایران در منطقه آذربایجان قرار دارد و ۳۵ درصد از گونه‌های جنس ورباسکوم بومی ایران هستند (۲۹).

جوان و همکاران (۱۹۹۷) خصوصیات ریخت‌شناسی و اندام‌شناسی میوه‌ها و بذرهای ده گونه ورباسکوم در جنوب غربی اسپانیا را مورد مطالعه قرار دادند. بذرها تنوع زیادی در شکل و اندازه داشتند. همچنین تنوع زیادی در اندازه جام گل و تعداد پرچم در بین گونه‌ها مشاهده شد (۱۵). خیری و همکاران (۲۰۰۹) خصوصیات اندام‌شناسی برخی گونه‌های خرگوشک موجود در استان آذربایجان غربی را بر اساس ساختار تشریحی برگ، پوسته دانه، میوه و ریزساختاری مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که شکل و تراکم ایدیوبلاستهای اپی‌کارپ می‌تواند به عنوان صفات متمایز کننده گونه‌ای به شمار رود (۱۹).

در مطالعات فیتوشیمیایی روی گونه‌های مختلف جنس ورباسکوم وجود ساپونین‌ها، ایروئید گلیکوزیدها، فنیل اتانوئیدها، مونوترپن‌ها، نئولیگنان گلیکوزیدها، فلاونوئیدها، استروئیدها، اسپرمین آلکالوئیدها و اسیدهای چرب غیراشباع در اندام‌های مختلف گل ماهور به اثبات رسیده است. ایروئید گلیکوزیدها، فلاونوئیدها، فنیل اتانوئیدها و ساپونین‌ها به‌ترتیب بیشترین مقدار را در این جنس دارا هستند (۳۳ و ۲۵). در یک مطالعه که روی گونه *V. phlomoides* انجام شد، ایروئید گلیکوزیدها (اکوبین و کاتالپول)، فلاونوئیدها (کوئرستین، کامفرول، دیوزمین، لوتئلین و آپی‌ژنین) و فنیل اتانوئید (ورباسکوزید) به عنوان مهمترین ترکیبات تشکیل دهنده گل شناخته شدند (۳). تورکر و گورل (۲۰۰۵) ایروئید گلیکوزیدهای بدست آمده از عصاره اتانولی ریشه‌ی گونه *V. thapsus* (آکوبین، آجوگل، هارپاگوزاید و لاتروزید) را مورد اندازه‌گیری قرار دادند (۳۴). همچنین تاتلی و همکاران (۲۰۰۴) طی یک آزمایش، ترکیبات شیمیایی برخی از گونه‌های گل ماهور از جمله ساپونین، ایروئید گلیکوزیدها، فنیل اتانوئید، مونوترپن‌ها، گلیکوزیدها، نئولیگنان فلاونوئیدها، استروئیدها، آلکالوئید اسپرمین و دیگر ترکیبات موثر را مورد مطالعه قرار دادند (۳۳).

تاکنون مطالعه خاصی روی خصوصیات ریخت‌شناسی و فیتوشیمیایی گونه‌های مختلف خرگوشک در استان آذربایجان غربی که یکی از مراکز تنوع این گیاه محسوب می‌شود، انجام نشده است. بر این اساس مطالعه تنوع ژنتیکی گونه‌های مختلف گیاه دارویی خرگوشک بر اساس نشانگرهای ریخت‌شناسی و مطالعه فیتوشیمیایی با هدف اهلی سازی این گیاه ارزشمند مورد پژوهش قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

نمونه‌های گیاهی: این تحقیق در استان آذربایجان غربی به عنوان یکی از رویشگاه‌های عمده خرگوشک در ایران انجام گرفت. برای این منظور نمونه‌های برگ و گل در زمان گلدهی کامل از اوایل تا اواخر تیرماه سال ۱۳۹۵ از مناطق مختلف آذربایجان غربی شامل مهاباد (دریاچه سد مهاباد)، پیرانشهر (کانی باغ)، ارومیه (جاده انهر) و بوکان (جاده شمس برهان) جمع‌آوری و به گروه علوم باغبانی دانشگاه ارومیه منتقل گردیدند. ارتفاع و مختصات جغرافیایی رویشگاه‌های مورد مطالعه به وسیله دستگاه GPS تعیین و ثبت گردید (جدول ۱).

شناسایی گونه‌ها: با استفاده از نمونه‌های هرباریومی تهیه شده، ۹ گونه از جنس ورباسکوم مورد شناسایی قرار گرفت. گونه‌های شناسایی شده به تفکیک محل جمع‌آوری شامل *V. erianthum*، *V. songaricum*، *V. speciosum*، *V. szovitsianum*، *V. stachydiforme*، *V. sinuatum*، *V. haussknechtianum*، *V. cheirantifolium* و *V. saccatum* بودند (جدول ۱).

ارزیابی و تعیین ویژگی‌های ریخت‌شناسی: به منظور ارزیابی برخی از صفات ریخت‌شناسی در فصل

گلدهی کامل گیاه، ۱۲ صفت کیفی شامل: گل در محور برگه، رابط بساک دو پرچم جلویی، کرک برگ‌ها، شکل ساقه، کرک ساقه، حاشیه برگ‌ها، شکل برگ‌ها، شکل بساک‌ها، شکل کپسول‌ها، رنگ کرک میله پرچم‌ها، شکل برگه و شکل دندانه‌های کاسه بررسی و یادداشت شد. همچنین ۲۰ صفت کمی شامل: ارتفاع کل ساقه، طول گل آذین، قطر ساقه گلدهنده، طول برگ‌های قاعده‌ای، عرض برگ‌های قاعده‌ای، نسبت طول به عرض برگ‌های قاعده‌ای، اندازه دمبرگ برگ‌های قاعده‌ای، طول برگ‌های ساقه‌ای، عرض برگ‌های ساقه‌ای، نسبت طول به عرض برگ‌های ساقه‌ای، اندازه دمبرگ برگ‌های ساقه‌ای، قطر جام گل، طول کاسه گل، طول کپسول، عرض کپسول و اندازه برگه توسط کولیس دیجیتالی با دقت ۰/۰۱ میلی‌متر و خط‌کش اندازه‌گیری شد (جدول ۲).

جدول ۱: مناطق جمع‌آوری گونه‌های مختلف خرگوشک (*Verbascum* sp.)

Table 1. Collection regions of the different Mullein (*Verbascum* sp.) species

گونه Species	مناطق جمع آوری Collection regions	طول جغرافیایی Longitude	عرض جغرافیایی Latitude	ارتفاع Height(m)
V. erianthum	آذربایجان غربی/ بوکان (شمس برهان) West Azerbaijan/Bukan (Shams Borhan)	36°47′42.25"	45°48′38.03 "	1590
V. songaricum	آذربایجان غربی/ بوکان (شمس برهان) West Azerbaijan/Bukan (Shams Borhan)	36°45′06.79"	45°52′22.79"	1980
V. speciosum	آذربایجان غربی/ بوکان (شمس برهان) West Azerbaijan/Bukan (Shams Borhan)	36°47′11.06"	45°49′32.18"	1650
V. szovitsianum	آذربایجان غربی/ دریاچه سد مهاباد West Azerbaijan/Mahabad Dam	36°45′39.68"	45°42′04.91"	1420
V. stachydiforme	آذربایجان غربی/ دریاچه سد مهاباد West Azerbaijan/Mahabad Dam	36°45′30.42"	45°37′44.53"	1037
V. sinuatum	آذربایجان غربی / دریاچه سد مهاباد West Azerbaijan/Mahabad Dam	36°44′16.87"	45°37′21.07"	1390
V. haussknechtianum	آذربایجان غربی/ پیرانشهر (کانی باغ) West Azerbaijan/Piranshahr (Kani Bagh)	36°46′08.35"	45°22′31.08"	1670
V. cheirantifolium	آذربایجان غربی/ انهر West Azerbaijan/Anhar	37°36′46.49"	44°55′58.49"	1490
V. saccatum	آذربایجان غربی/ انهر West Azerbaijan/Anhar	37°37′16.50"	44°56′34.19"	1470

تهیه عصاره متانولی: برای اندازه‌گیری فنل کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی، یک گرم از هر نمونه گیاهی پودر و در فالکون ۵۰ میلی‌لیتری ریخته و ۲۰ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد به آن اضافه گردید. در ادامه نمونه‌ها به مدت نیم ساعت در دستگاه اولتراسونیک با دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد جهت عصاره‌گیری قرار گرفتند.

اندازه‌گیری میزان فنل کل: میزان کل ترکیبات فنلی با روش فولین سیوکالتو اندازه‌گیری شد. در این روش ۱۰ میکرولیتر از عصاره متانولی با ۱/۶ میلی‌لیتر آب مقطر و ۲۰۰ میکرولیتر معرف فولین سیوکالتو ۱۰ درصد مخلوط شد. بعد از گذشت ۱ تا ۸ دقیقه ۲۰۰ میکرولیتر محلول کربنات سدیم ۷ درصد به آن‌ها افزوده شد و با آب دیونیزه به حجم ۵ میلی‌لیتر رسانده شد. پس از گذشت ۳۰ دقیقه میزان جذب آنها

در طول موج ۷۶۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل UV2100 PC) قرائت شد. اسید گالیک به عنوان استاندارد برای رسم منحنی کالیبراسیون به کار رفت و میزان ترکیبات فنلی گیاه معادل اسید گالیک در یک گرم نمونه خشک اندازه‌گیری گردید (۹).

اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی: توانایی هیدروژن‌دهی عصاره‌ها به واسطه بی‌رنگ نمودن محلول متانولی ارغوانی رنگ دی فنیل پیکریل هیدرازیل (DPPH) اندازه‌گیری شد. در این ارزیابی طیف‌سنجی، از رادیکال پایدار DPPH به عنوان عامل واکنش‌دهنده استفاده شد (۷). برای این منظور ۱۵ میکرولیتر از عصاره متانولی غلیظ در لوله‌های آزمایش ریخته شده و با ۲ میلی‌لیتر محلول متانولی ۰/۰۰۴ درصد DPPH مخلوط گردید. محلول شاهد شامل ۲ میلی‌لیتر DPPH و ۲ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد بود. نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی قرار داده شدند و سپس در طول‌موج ۵۱۷ نانومتر میزان جذب آن‌ها به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر (مدلUV2100 PC) قرائت شد. اعداد قرائت‌شده از جذب نمونه توسط رابطه ۱ به درصد مهار تبدیل شد:

رابطه ۱:

$$\text{درصد مهار} = (A_{control} - A_{sample}) / A_{control} \times 100$$

$A_{control}$: جذب محلول بلانک در ۵۱۷ نانومتر

A_{sampel}: جذب نمونه در ۵۱۷ نانومتر

تجزیه آماری

تجزیه و تحلیل داده‌های مربوط به صفات ریخت‌شناسی، در قالب طرح کاملاً تصادفی و داده‌های مربوط به صفات فیتوشیمیایی، به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار و با استفاده از نرم افزار SAS انجام گرفت. از آزمون حداقل معنی‌داری (LSD) برای مقایسه میانگین داده‌ها استفاده شد. محاسبه همبستگی بین صفات، کلاستربندی داده‌ها (بر اساس روش Ward و معیار مربع فواصل اقلیدسی) و تجزیه به مولفه‌های اصلی با استفاده از از نرم افزار Minitab انجام شد.

نتایج و بحث

دامنه تغییرات صفات ریخت‌شناسی مورد بررسی خرگوشک در جدول ۲ نشان داده شده است. نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۳) نشان داد که نوع گونه تاثیر معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد بر صفات ارتفاع گیاه، طول گل‌آذین، قطر ساقه گدهنده، تعداد ساقه گلدهنده، تعداد انشعابات شاخه گلدهنده، اندازه دمگل اولین گل در هر دسته، تعداد گل در هر دسته، طول برگ‌های قاعده‌ای، عرض برگ‌های قاعده‌ای، اندازه دمبرگ برگ‌های قاعده‌ای، طول برگ‌های ساقه‌ای، عرض برگ‌های ساقه‌ای، اندازه دمبرگ برگ‌های ساقه‌ای، قطر جام گل، طول و عرض کپسول و اندازه برگه دارد. همچنین بین گونه‌های مورد مطالعه از نظر نسبت طول به عرض برگ‌های ساقه‌ای و طول کاسه گل تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد وجود داشت. از نظر تعداد پرچم‌ها و نسبت طول به عرض برگ‌های قاعده‌ای بین گونه‌ها اختلاف معنی‌دار وجود نداشت. مقایسه میانگین گونه-ها از لحاظ صفات ریخت‌شناسیک مورد مطالعه نشان داد که بیشترین ارتفاع گیاه (۲۰۰ سانتی‌متر) مربوط به گونه *V. sinuatum* و کمترین ارتفاع (۸۱/۷ سانتی‌متر) مربوط به گونه *V. szovitsianum* می‌باشد. از نظر قطر ساقه گلدهنده، بیشترین مقدار (۸ سانتی‌متر) مربوط به گونه *V. stachydiforme* و کمترین مقدار آن (۰/۸ سانتی‌متر) مربوط به گونه *V. szovitsianum* می‌باشد. از نظر صفت برگ‌های قاعده‌ای، بیشترین طول (۵۲/۲۵ سانتی‌متر) و بیشترین عرض (۱۱/۶۳ سانتی‌متر) مربوط به گونه *V. haussknechtianum* و کمترین طول (۱۲/۷۵ سانتی‌متر) و کمترین عرض (۲/۸۲ سانتی‌متر) مربوط

به گونه *V. szovitsiaum* می‌باشد. بنابراین مشخص است که گونه‌ی *V. szovitsianum* در مقایسه با سایر گونه‌ها اندازه کوچکتر، ساقه نازکتر و برگ‌های کوچکتری دارد. از نظر صفت قطر جام گل که یکی از صفات مهم در شناسایی گونه‌های خرگوشک است بیشترین قطر جام گل (۲/۸۰ سانتی‌متر) مربوط به گونه‌ی *V. speciosum* و کمترین آن (۰/۱۵ سانتی‌متر) مربوط به گونه *V. sinuatum* بود. به‌جز دو گونه *V. haussknechtianum* و *V. speciosum* که تعداد ساقه‌های گلدهنده آنها به ۲۰ عدد می‌رسید، اکثر گونه‌های مورد مطالعه در این تحقیق تنها یک ساقه گلدهنده تنومند با انشعابات فراوان داشتند. تعداد پرچم‌ها در گونه‌های مختلف ورباسکوم ۴ یا ۵ عدد است که در همه‌ی این ۹ گونه مورد مطالعه تعداد پرچم‌ها ۵ عدد بود. تعداد گل در هر دسته در گونه‌های مختلف متفاوت بود و بیشترین تعداد گل در محور برگه (۶/۵۰) مربوط به گونه *V. sinuatum* و کمترین آن (۱) مربوط به گونه *V. saccatum* بود. در بین ۹ گونه مورد مطالعه فقط برگ‌های ساقه‌ای چهار گونه *saccatum*، *szovitsianum*، *erianthum* و *songaricum* دارای دمبرگ بودند. تعداد انشعابات شاخه گلدهنده در گونه‌های مختلف متفاوت بوده و بیشترین مقدار آن (۶۰) مربوط به گونه *V. cheirantifolium* و کمترین آن (۵/۵۰) مربوط به گونه *V. szovitsianum* می‌باشد (جدول۴).

بررسی صفات ظاهری گل در گونه‌های مختلف: صفات کیفی گونه‌های مختلف خرگوشک در جدول ۵ نشان داده شده است. باتوجه به ارزیابی‌های انجام شده، مشخص شد که در بین این گونه‌ها فقط در گونه‌ی *V. saccatum* گل در محور برگه منفرد است ولی در سایر گونه‌ها گل در محور برگه مجتمع و دسته‌ای است. رنگ کرک میله پرچم‌ها یکی از صفات مهم در شناسایی گونه‌ها محسوب می‌شود که در بیشتر گونه‌های مورد بررسی اخرایی رنگ یا سفید رنگ بود ولی در گونه‌ی *V. sinuatum* کرک میله پرچم به صورت واضح ارغوانی رنگ بود. رابط بساک دو پرچم جلویی بسته به گونه‌های مختلف می‌تواند در سمت جلو پشمالو یا بدون کرک باشد که تنها در گونه *V. haussknechtianum* رابط بساک در سمت جلو بدون کرک بود. برگ‌های گونه‌های ورباسکوم معمولاً پوشیده از کرک است و این باعث می‌شود برگ‌ها خاکستری به نظر برسند، اما در گونه *V. saccatum* برگ‌ها کرک‌های بسیار کمی دارند به گونه‌ای که به رنگ سبز روشن دیده می‌شوند.

ضرایب همبستگی بین صفات

ضرایب همبستگی بین صفات اندازه‌گیری شده (جدول ۶) نشان می‌دهد که بین برخی از صفات همبستگی معنی‌دار وجود دارد. همبستگی مثبت و معنی‌دار بین تعداد ساقه گلدهنده و طول برگ‌های قاعده‌ای (۰/۷۴۳) و تعداد ساقه گلدهنده و اندازه دمبرگ برگ‌های قاعده‌ای (۰/۶۷۲) وجود دارد. خرگوشک چون در سال اول رشد خود فقط برگ‌های قاعده‌ای تولید می‌کند بنابراین بسته به گونه هر چقدر برگ‌های قاعده‌ای بزرگتری داشته باشد توان فتوسنتزی و قدرت رشدی گیاه بیشتر خواهد شد در نتیجه گیاه ساقه‌های گلدهنده بیشتری تولید خواهد کرد. همچنین همبستگی مثبت و معنی‌داری بین طول برگ‌های ساقه‌ای و طول کاسه گل (۰/۶۷) و بین نسبت طول به عرض برگ‌های ساقه‌ای و طول کاسه گل (۰/۶۸) وجود دارد و این نشان می‌دهد که هر چقدر ابعاد برگ‌های ساقه‌ای بزرگتر باشد، فعالیت فتوسنتزی بیشتر و در نتیجه ارتفاع قسمت‌های زایشی مانند طول کاسه گل هم بیشتر و ساختار گل محکم‌تر است.

جدول ۲: علائم اختصاری، میانگین و ضریب تغییرات صفات کمی

Table 2. Abbreviations, average and coefficient of variation of quantitative traits

ردیف Row	صفت Trait	علایم اختصاری Abbreviations	حداقل Min	میانگین Mean	حداکثر Max	درصد ضریب تغییرات Coefficient of variation (%)
1	ارتفاع گیاه Plant height (cm)	PH	81.7	119.86	200.25	16.06
2	قطر ساقه گلدهنده Flower stalk diameter (cm)	FSD	0.8	4.30	8	20.67
3	طول گل آذین Inflorescence length (cm)	IL	39.75	60.63	96.25	18.07
4	تعداد ساقه گلدهنده Number of flower stalk	NFS	1	4.55	17.25	27.54
5	تعداد انشعابات شاخه گلدهنده Number of flowering branches	NFB	5.50	35.38	57	29.92
6	اندازه دمگل اولین گل در هر دسته Pedicel length of first flower in each category (cm)	SFC	0.32	0.75	1.70	30.90
7	تعداد گل در هر دسته Number of flowers in each axillary clusters	NFC	1	4.25	6.50	36.71
8	طول برگ‌های قاعده‌ای Length of basal leaves (cm)	LBL	12.75	30.08	52.25	18.43
9	عرض برگ‌های قاعده‌ای Width of basal leaves (cm)	WBL	2.82	7.28	11.63	28.55
10	نسبت طول به عرض برگ‌های قاعده‌ای Length to width ratio of basal leaves	LWB	2.07	4.78	7.80	56.08
11	اندازه دمبرگ برگ‌های قاعده‌ای Petiole size of basal leaves (cm)	PSB	1.62	5.58	9.50	33.21
12	طول برگ‌های ساقه‌ای Length of cauline leaves (cm)	LCL	3.62	8.77	17	37.09
13	عرض برگ‌های ساقه‌ای Width of cauline leaves (cm)	WCL	1.50	3.53	6.10	28.77
14	نسبت طول به عرض برگ‌های ساقه‌ای Length to width ratio of cauline leaves	LWC	1.68	2.68	4.83	46.48
15	اندازه دمبرگ برگ‌های ساقه‌ای Petiole size of cauline leaves (cm)	PCL	0	0.23	0.75	88.16
16	قطر جام گل Diameter of corolla (cm)	DC	0.15	1.38	2.80	24.55
17	طول کاسه گل Length of calyx (cm)	LC	0.27	0.42	0.62	27.83
18	طول کپسول Length of capsule (cm)	LCA	0.27	0.51	0.80	17.86
19	عرض کپسول Width of capsule (cm)	WCA	0.15	0.38	0.97	19.43
20	اندازه برگه Bract size (cm)	BS	0.15	0.44	0.67	24.55

جدول ۳: تجزیه واریانس خصوصیات ریخت‌شناسی در گونه‌های مورد مطالعه خرگوشک

Table 3. Analysis of variance for morphological characteristics of the studied species of mullein

منابع تغییرات Sources of variation	درجه آزادی Degree of freedom	میانگین مربعات Mean squares																		
		PH	FSD	IL	NFS	NFB	SFC	NFC	LBL	WBL	LWB	PSB	LCL	WCL	LWC	PCL	DC	LC	LCA	WCA	BS
گونه Species	8	4948.19**	19.13**	1947.44**	191.54**	1823.31**	0.64**	9.12**	624.50**	26.24**	13.79^{ns}	29.99**	79.12**	7.08**	3.83*	5.28**	0.36**	0.12**	0.25**	0.094**	0.04*
خطا Error	27	370.76	0.79	120.10	1.57	112.14	0.09	2.43	30.76	4.32	7.86	3.44	10.60	1.03	1.55	0.08	0.11	0.014	0.00	0.00	0.01
(%) C.V		16.06	20.67	18.07	27.54	29.92	30.90	36.71	18.43	28.55	56.08	33.21	37.09	28.77	46.48	88.16	24.55	27.83	17.86	19.43	24.55

^{ns}, * and **: Not significant and significant at %5 and %1 level, respectively

^{ns} و *، **: به ترتیب غیرمعنی دار و معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد

جدول ٤: مقایسه میانگین خصوصیات مورفولوژیکی در گونه‌های مورد مطالعه خرگوشک

Table 4. Mean comparison of morphological characteristics in the studied species of mullein

گونه Species	صفت Characteristics																			
	PH	FSD	IL	NFS	NFB	SFC	NFC	LBL	WBL	LWB	PSB	LCL	WCL	LWC	PCL	DC	LC	LCA	WCA	BS
V. erianthum	125.75b	3.20c	87.7ab	1.0b	31.25b	0.60bcd	5.25ab	19.25d	8.25bc	2.80c	6.50bc	6.75bc	3.01cd	2.47b	0.37ab	2.22b	0.42bc	0.59b	0.46b	0.37cd
V. songaricum	130.50b	3.62c	42.2d	1.0b	22.00b	0.57bcd	4.25ab	28.75c	5.88cd	5.94abc	3.50de	9.62b	3.5bcd	3.05ab	0.37ab	2.72a	0.45bc	0.59b	0.97a	0.65a
V. speciosum	120.25bc	2.40c	39.75d	16.25a	57.00a	0.80bc	4.75ab	40.75b	9.00ab	4.52abc	9.50a	9.50b	6.10a	1.68b	0.0b	2.80a	0.43bc	0.51b	0.20d	0.47bc
V. szovitsianum	81.75e	0.80d	41.25d	1.50b	5.50c	1.70a	4.75ab	12.75d	2.82e	6.72ab	3.50de	3.62c	1.50e	2.81b	0.62a	1.95b	0.52ab	0.47b	0.15d	0.35cd
V. stachydiforme	126.50b	8.00a	44.75d	1.00b	53.25a	0.70bcd	4.50ab	37.75b	4.82ed	7.80a	3.65de	6.62bc	3.95bc	2.81b	0.0b	1.92b	0.36bc	0.55b	0.32c	0.67a
V. sinuatum	200.25a	5.500b	78.25bc	1.00b	52.25a	0.32d	6.50a	17.75d	8.50bc	2.07c	1.62e	4.62c	2.12de	2.29b	0.0b	0.15c	0.41bc	0.32c	0.47b	0.25de
V. haussknechtianum	85.00de	6.00b	66.75c	17.25a	6.0c	0.80bc	4.00b	52.25a	11.63a	4.50abc	8.25ab	6.75bc	3.37bcd	2.04b	0.0b	0.23c	0.35bc	0.27c	0.15d	0.47bc
V. cheirantifolium	111.2bcd	5.75b	96.25a	1.0b	60.0a	0.90b	3.25bc	33.25bc	6.87cd	3.6abc	5.25cd	17.00a	3.75bc	4.83a	0.0b	0.21c	0.27c	0.80a	0.37bc	0.15e
V. saccatum	97.50cde	3.05c	48.75d	1.0b	31.25b	0.40cd	1.00c	28.25c	7.7bcd	3.82bc	8.5ab	14.50a	4.50b	3.23ab	0.75a	0.26c	0.62a	0.52b	0.32c	0.57ab

The means in each column followed by similar letter(s) are not significantly different using LSD test.

میانگین‌های دارای حروف مشابه در هر ستون، فاقد اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون LSD هستند.

جدول ۵: صفات کیفی مورد ارزیابی در گونه‌های مختلف خرگوشک

Table 5. Evaluated qualitative characteristics in different species of mullein

گونه Species	گل در محور برگه Flower at the axil of each bract	شکل بساک‌ها Shape of the anther	کرک میله پرچم‌ها Filament wool	رابط بساک دو پرچم جلویی Filament of two anterior stamens	شکل کپسول Shape of the capsule	کرک برگ‌ها Leaves tomentose
V. erianthum	مجتمع و دسته‌ای Glomerulus and clustered	همگی کلیوی و میان‌چسپ All anthers reniform and medifixae	اخرایی رنگ Whitish yellow	تا بساک با کرکهای بلند Hairy up to anther	بیضوی تخم مرغی Eplliptic ovate	هر دو سطح پوشیده از کرک، اغلب مایل به زرد Persistently tomentose on both surfaces, often yellowish
V. songaricum	مجتمع و دسته‌ای Glomerulus and clustered	همگی کلیوی و میان‌چسپ All anthers reniform and medifixae	سفیدرنگ White	تا بساک با کرکهای بلند Hairy up to anther	تخم مرغی Ovoid	هر دو سطح پوشیده از کرک، اغلب مایل به زرد Persistently tomentose on both surfaces, often yellowish
V. speciosum	مجتمع و دسته‌ای Glomerulus and clustered	همگی کلیوی و میان‌چسپ All anthers reniform and medifixae	سفیدرنگ White	تا بساک با کرکهای بلند Hairy up to anther	مستطیلی Oblong	هر دو سطح پوشیده از کرک، مایل به خاکستری Persistently tomentose on both surfaces, grayish
V. szovitsianum	مجتمع و دسته‌ای Glomerulus and clustered	همگی کلیوی و میان‌چسپ All anthers reniform and medifixae	سفیدرنگ White	در قسمت انتهایی بدون کرک Glabrous near apex	کروی Globose	هر دو سطح پوشیده از کرک، مایل به خاکستری Persistently tomentose on both surfaces, grayish
V. stachydiforme	مجتمع و دسته‌ای Glomerulus and clustered	همگی کلیوی و میان‌چسپ All anthers reniform and medifixae	اخرایی‌رنگ Whitish yellow	در قسمت انتهایی بدون کرک Glabrous near apex	تخم‌مرغی پهن Broadly ovate	هر دو سطح پوشیده از کرک، اغلب مایل به زرد Persistently tomentose on both surfaces, often yellowish
V. sinuatum	مجتمع و دسته‌ای Glomerulus and clustered	همگی کلیوی و میان‌چسپ All anthers reniform and medifixae	ارغوانی Violet	در قسمت انتهایی بدون کرک Glabrous near apex	بیضوی پهن Broadly elliptic	هر دو سطح برگ با کرک‌های کم خاکستری Loosely tomentose on both surfaces, grayish
V. haussknechtianum	مجتمع و دسته‌ای Glomerulus and clustered	همگی کلیوی و میان‌چسپ All anthers reniform and medifixae	سفیدرنگ White	در سمت جلو بدون کرک Glabrous on the front	تخم مرغی Ovoid	هر دو سطح پوشیده از کرک، مایل به خاکستری Persistently tomentose on both surfaces, grayish
V. cheirantifolium	مجتمع و دسته‌ای Glomerulus and clustered	همگی کلیوی و میان‌چسپ All anthers reniform and medifixae	اخرایی‌رنگ Whitish yellow	در سمت جلو پشمالو Hairy on the front	بیضوی Elliptic	هر دو سطح برگ پوشیده از کرک‌های سفید Densely white-floccose on both surfaces
V. saccatum	منفرد Solitary	همگی کلیوی و میان‌چسپ All anthers reniform and medifixae	اخرایی‌رنگ Whitish yellow	بدون کرک Glabrous	تقریباً کروی Subglobose	کرک‌های کمی Sparsely tomentoses

ادامه جدول ۵: صفات کیفی مورد ارزیابی در گونه‌های مختلف خرگوشک

Table 5. Evaluated qualitative characteristics in different species of mullein

گونه Species	شکل ساقه Stem form	کرک ساقه Stem tomentose	حاشیه‌ی برگ Leaf margin	شکل برگ Leaf form	دندانه‌های کاسه Calyx lobes	برگه Bract
V. erianthum	مدور Terete	زرد Yellow	دندانه هلالی ریز Crenate-serrate	کشیده، تخم‌مرغی Broadly ovate	سرنیزه‌ای Lanceolate	برگه‌های پایینی مثلثی و برگه‌های بالایی تخم‌مرغی Bottom bracts triangular and upper bracts ovate
V. songaricum	چهارگوش Angular	زرد Yellow	دندانه هلالی و حاشیه مواج Crenate, undulate	پهنک مستطیلی، سرنیزه‌ای Blade oblong-lanceolate	سرنیزه‌ای Lanceolate	برگه‌ها همگی تخم‌مرغی، نوک‌باریک All bracts ovate, acuminate
V. speciosum	مدور، در بالا چهارگوش Terete, on top angular	زرد Yellow	برگها کامل به ندرت با دندانه ریز Entire or invisible crenulated	واژ تخم‌مرغی ، نوک‌کند Obovate, apex obtuse	سرنیزه‌ای Lanceolate	برگه‌ها تخم‌مرغی و سرنیزه‌ای Bracts ovate-lanceolate
V. szovitsianum	مدور Terete	زرد Yellow	دندانه هلالی درشت Crenate, attateenu	واژ تخم‌مرغی ، نوک‌تیز، قاعده گوه‌ای Obovate, apex acute, cuneate at base	تخم‌مرغی Ovate	برگه‌ها سرنیزه‌ای پهن Bracts broadly lanceolate
V. stachydiforme	چهارگوش Angular	زرد Yellow	دندانه هلالی ریز Crenulated	کشیده، تخم‌مرغی Broadly ovate	خطی-سرنیزه‌ای Linear-lanceolate	برگه‌های بالایی کوتاه و خطی باریک و برگه‌های پایینی بلند و سرنیزه‌ای Bottom bracts short and liner and upper bracts long and lanceolate
V. sinuatum	مدور Terete	بدون کرک Glabrous	حاشیه‌ی مواج Undulate	پهنک قاشقی Spatulate	تخم‌مرغی Ovate	برگه‌ها قلبی، مثلثی پهن Bracts cordate-deltate
V. haussknechtianum	مدور و رگه‌دار Terete and sulcate	نقره‌ای Silvern	دندانه هلالی درشت Crenate, attateenu	پهنک مستطیلی، سرنیزه‌ای Blade oblong-lanceolate	مستطیلی Oblong	برگه‌ها سرنیزه‌ای Bracts lanceolate
V. cheirantifolium	چهارگوش Angular	زرد Yellow	حاشیه‌ی کامل Margins entire	پهنک مستطیلی سرنیزه‌ای Blade oblong-lanceolate	سرنیزه‌ای Lanceolate	برگه‌ها خطی Bracts linear
V. saccatum	مدور Terete	بدون کرک Glabrous	دندانه‌ی هلالی مضاعف Doubly serrate	تخم‌مرغی نوک‌کند Ovate, obtuse	تخم‌مرغی Ovate	برگه‌ها درفشی Bracts subulate

جدول ٦: ضرایب همبستگی بین صفات کمی در گونه‌های مختلف خرگوشک

Table 6. Correlation coefficients among quantitative characteristics in different species of mullein

BS	WCA	LCA	LC	DC	PCL	LWC	WCL	LCL	PSB	LWB	WBL	LBL	NFC	SFC	NFB	NFS	IL	FSD	PH	صفات Characteristics
																			1	PH
																		1	0.30	FSD
																	1	0.32	0.28	IL
																1	-.18	-0.02	-0.29	NFS
															1	-0.13	0.27	-0.40	0.59	NFB
														1	-0.49	0.08	-0.24	-0.46	-0.60	SFC
													1	0.07	0.11	0.04	0.16	0.02	0.61	NFC
												1	-0.28	-0.17	0.08	0.74*	-0.10	0.50	-0.31	LBL
											1	0.57	-0.01	-0.54	0.05	0.66	0.37	0.24	0.11	WBL
										1	0.22	0.17	-0.09	0.51	-0.24	-0.03	-0.70	0.05	-0.42	LWB
									1	-0.18	0.01	0.57	0.52	-0.08	-0.06	-0.62*	-0.09	-0.20	-0.54	PSB
								1	0.41	-0.21	0.12	0.27	-0.75	-0.29	0.30	-0.10	0.23	0.11	0.22	LCL
							1	0.54	0.72	0.17	0.36	0.63	-0.41	-0.34	0.47	0.48	-0.27	0.08	-0.14	WCL
						1	-0.14	0.72	-0.11	-0.22	-0.22	-0.22	-0.40	0.11	0.09	-0.47	0.46	-0.06	-0.17	LWC
					1	0.28	0.23	0.05	0.06	0.10	-0.41	-0.55	-0.47	-0.20	-0.54	-0.43	-0.33	-0.61	-0.40	PCL
				1	0.11	-0.38	0.22	-0.29	0.00	0.48	-0.38	-0.11	-0.31	0.24	-0.04	0.04	-0.53	-0.43	-0.06	DC
			1	0.22	0.09	0.68	0.26	-0.06	-0.01	0.10	-0.42	-0.13	-0.33	0.01	0.42	-0.46	-0.55	-0.03	-0.15	LC
		1	0.30	0.28	0.10	0.24	-0.08	0.67*	-0.43	-0.04	-0.15	-0.24	-0.10	0.08	0.51	-0.47	-0.22	-0.04	0.45	LCA
	1	0.24	-0.14	0.44	0.22	-0.49	0.38	0.13	0.18	0.60	-0.10	0.34	-0.25	-0.04	-0.22	0.10	0.02	0.11	-0.20	WCA
1	0.24	0.24	-0.14	0.44	0.22	-0.49	0.38	-0.09	0.18	0.60	-0.10	0.34	-0.25	-0.22	-0.22	0.10	-0.74	0.11	-0.20	BS

*: Significant at %5 level

*: معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد

نتایج نشان داد که تنوع وسیعی بین گونه‌های مورد مطالعه از لحاظ صفات کمی و کیفی وجود دارد. مطالعات انجام گرفته روی سایر گیاهان دارویی، متفاوت بودن صفات ریخت‌شناسیک در گونه‌های مختلف یک جنس را اثبات کرده است. در تحقیقی که توسط سرچ و همکاران (۲۰۱۱) روی ۱۵ گونه زالزالک انجام شد، نتایج نشان داد که گونه‌های مختلف ولیک از نظر خصوصیات ریخت‌شناسی متفاوت می‌باشند (۲۸). همچنین در تحقیقی دیگر رضائی و همکاران (۲۰۱۱) چندین گونه زرشک بومی ایران را از لحاظ خصوصیات ریخت‌شناسی مورد بررسی قرار داده و عنوان نمودند که زرشک‌های ایران از تنوع ریخت‌شناسی وسیعی برخوردار هستند (۲۶). در برخی مطالعات از ویژگی‌های مورفولوژیکی جهت ارزیابی تنوع ژنتیکی در گونه‌های مختلف رز استفاده شده است (۳۷).

یافتن صفات مطلوب از اهداف مهم بررسی تنوع ژنتیکی بر اساس نشانگرهای ریخت‌شناسی و اهلی سازی گیاهان دارویی می‌باشد. مطالعات روی این گیاه برای یافتن صفات ارزشمند در مراحل آغازین قرار دارد، اما با توجه به اینکه مواد موثره دارویی این گیاه در اندام‌های گل و برگ موجود می‌باشد بیشترین تحقیقات باید روی صفات مرتبط با این اندام‌ها متمرکز شوند. طول گل‌آذین، تعداد ساقه گلدهنده، تعداد انشعابات شاخه گلدهنده، طول و عرض برگ‌های ساقه‌ای از مهمترین خصوصیات ریخت‌شناسیک خرگوشک برای اهلی‌سازی این گیاه ارزشمند محسوب می‌شوند. گونه‌های *V. cheirantifolium*، *V. erianthum* و *V. sinuatum*، از نظر طول گل‌آذین، گونه‌های *V. haussknechtianum* و *V. speciosum*، از نظر تعداد ساقه گلدهنده، گونه‌ها *V. cheirantifolium*، *V. stachydiforme*، *V. speciosum* و *V. sinuatum*، از نظر تعداد انشعابات شاخه گلدهنده، گونه‌های *V. cheirantifolium*، *V. saccatum* و *V. speciosum*، از نظر طول برگ‌های ساقه‌ای، و گونه‌های *V. speciosum*، *V. stachydiforme* و *V. saccatum* از نظر عرض برگ‌های ساقه‌ای، گونه‌های شاخص بودند. با توجه به اهداف اصلاحی می‌توان گونه مورد نظر را انتخاب و اقدام به اهلی سازی آن نمود. همانطور که ذکر شد مطالعات ریخت‌شناسیک برای این گیاه دارویی ارزشمند در ابتدای کار قرار دارد و باید تحقیقات چند ساله و همچنین صفات دیگری که می‌توانند مهم باشند مورد مطالعه قرار داده و نقشه اهلی سازی این گیاه را ترسیم نمود.

فنل کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی: نتایج تجزیه واریانس داده‌های فیتوشیمیایی (جدول ۷) نشان داد که نوع گونه و اندام تاثیر معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد بر میزان فنل کل گیاه دارویی خرگوشک دارد. در مورد برگ‌های گونه‌های مورد مطالعه، دامنه تغییرات فنل کل از ۴/۴۸ تا ۳۲/۸۳ میلی‌گرم اسید گالیک بر گرم وزن خشک متغیر بود. اندام برگ گونه *V. sinuatum* بیشترین و اندام برگ گونه *V. speciosum* کمترین میزان فنل کل را دارا بودند. میزان فنل کل اندام گل در گونه‌های مورد مطالعه خرگوشک از ۷/۴۴ تا ۲۱/۸۹ میلی‌گرم اسید گالیک بر گرم وزن خشک متغیر بود. بیشترین میزان فنل کل گل خرگوشک در گونه‌ی *V. saccatum* و کمترین آن در گونه‌ی *V. erianthum* مشاهده گردید. نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که در بیشتر گونه‌ها، برگ‌ها مقادیر بالاتری از ترکیبات فنلی را نسبت به اندام گل دارا هستند (شکل ۱). نتایج تجزیه واریانس (جدول ۷) نشان می‌دهد که همانند فنل کل، نوع گونه و اندام مورد مطالعه، سبب ایجاد تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد در میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی شده‌اند. براساس نتایج مقایسه میانگین‌ها (شکل ۲)

بیشترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی (۸۵/۰۲ درصد) مربوط به برگ گونه *V. sinuatum* بود که اختلاف معنی‌داری با اندام‌های سایر گونه‌ها داشت. کمترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی نیز مربوط به گل‌های گونه‌ی *V. szovitsianum*، *V. stachydiforme* و *V. sinuatum* بود. از نقطه نظر ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی اندام برگ نسبت به اندام گل بهتر بود. در کل نتایج نشان می‌دهند که گل گونه *V. saccatum* در بین گل‌های سایر گونه‌های مورد مطالعه در این تحقیق بیشترین میزان فنل کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی را دارد. همچنین برگ گونه *V. sinuatum* بیشترین فنل کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی را در مقایسه با برگ‌های سایر گونه‌ها دارد.

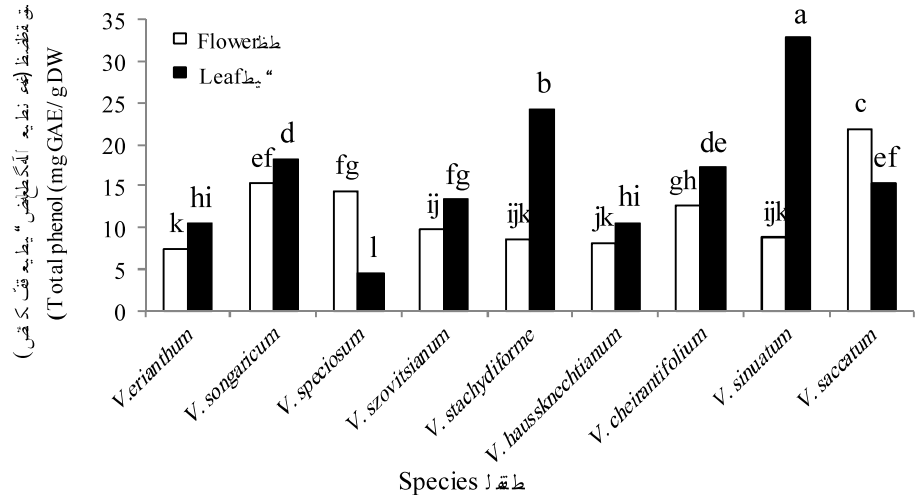
جدول ۷: تجزیه واریانس صفات فیتوشیمیایی در گونه‌های مورد مطالعه خرگوشک

Table 7. Analysis of variance for phytochemical characteristics of the studied species of Mullein

منابع تغییرات Sources of variation	درجه آزادی Degree of freedom	میانگین مربعات (MS)	
		فنل کل Total Phenol	فعالیت آنتی‌اکسیدانی (DPPH) Antioxidant activity (DPPH)
گونه Species	8	116.10**	707.99**
اندام Organ	1	262.37**	6224.90**
گونه × اندام Species× Organ	8	158.84**	438.9**
خطا Error	36	1.08	8.72
(%) CV		6.60	5.91

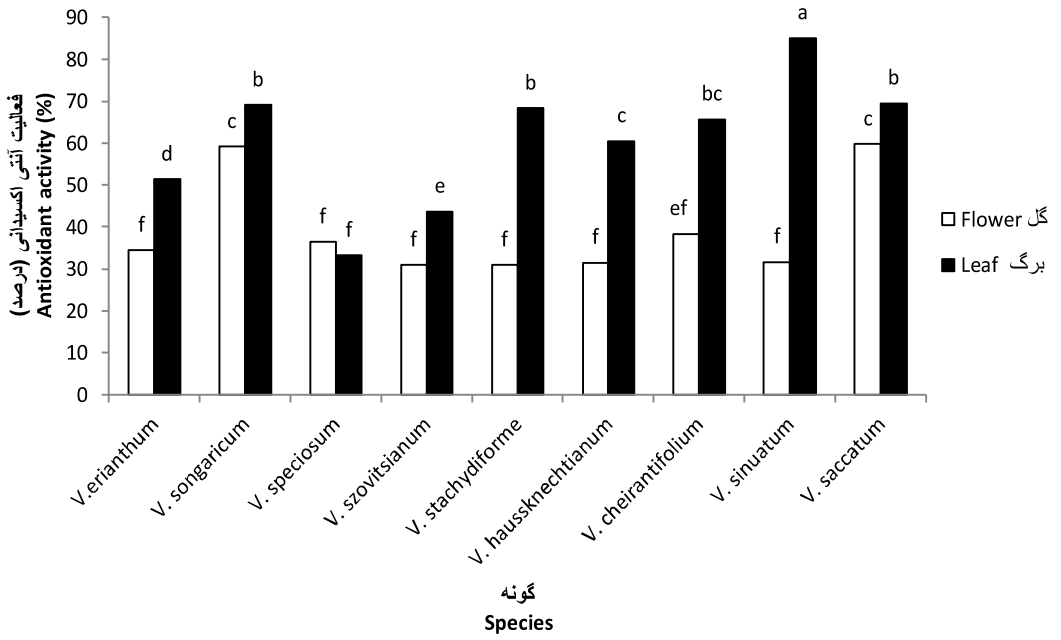
**: معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد

**: Significant at %1 level



شکل ۱: مقایسه میانگین میزان فنل کل در اندام‌های برگ و گل گونه‌های مختلف خرگوشک

Figure 1. Total phenolic content in leaves and flowers of different species of Mullein



شکل ۲: مقایسه میانگین فعالیت آنتی‌اکسیدانی در گل و برگ گونه‌های مختلف خرگوشک

Figure 2. Antioxidant activity in flowers and leaves of different species of Mullein

میزان و نوع مواد موثره گیاهان دارویی با هدایت هر دو عامل ژنتیکی و محیطی مشخص می‌شود (۳۵). نتایج این تحقیق نشان داد که میزان فنل کل و خصوصیات آنتی‌اکسیدانی به طور معنی‌داری تحت تاثیر نوع گونه و اندام قرار دارد که با نتایج پژوهشگران مختلف در سایر گیاهان دارویی مطابقت دارد. برخی مطالعات پیشنهاد کرده‌اند که ترکیبات پلی فنولیک اندام‌های گیاه تحت تاثیر ژنوتیپ و عادت رشدی می‌باشد (۲۳). اگرچه ارتفاع، نور، دما و میزان مواد غذایی قابل دسترس در خاک نیز می‌تواند متابولیسم فنیل پروپانوئیدها را تحت تاثیر قرار دهد (۸)، مرحله بلوغ گیاه در زمان برداشت نیز یکی از عوامل مهم تاثیرگذار روی میزان ترکیبات فنولیک می‌باشد. بیستریکا و همکاران (۲۰۱۰) نشان دادند که میزان و نوع ترکیبات فنلی در گیاهان دارویی به گونه، نوع اندام و مرحلهٔ رشد گیاه بستگی دارد (۶). در یک بررسی که محتوای فنل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی ساقه و برگ ۶ گونه میخک وحشی ایران مورد مطالعه قرار گرفت نتایج نشان داد که نوع گونه و اندام، تاثیر معنی‌داری بر میزان ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان دارد (۲۷).

علاوه بر ژنتیک گیاه، نوع اندام حاوی ماده موثره نیز یکی از مهمترین عوامل در تنوع و میزان ترکیبات فیتوشیمیایی و آنتی‌اکسیدانی می‌باشد. همانطور که در نتایج مشاهده شد در بیشتر گونه‌های مورد مطالعه اندام برگ مقادیر بالاتری از نظر فنل کل و ترکیبات آنتی‌اکسیدانی را دارا بود. بررسی منابع علمی حاکی از آن است که هیچ تحقیق جامعی درخصوص ارزیابی ترکیبات فنلی و میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی این ترکیبات در اندام‌های مختلف مثل گل و برگ خرگوشک انجام نشده است. سایر مطالعات انجام شده روی گیاهان دارویی نشان می‌دهد که نوع اندام روی این خصوصیات بسیار موثر می‌باشد. طباطبایی و همکاران (۲۰۰۷) با بررسی خصوصیات فیتوشیمیایی

و آنتی‌اکسیدانی اندام‌های مختلف (ساقه، برگ، گل و محور گل) گیاه دارویی مرزه سهندی بیان کردند که نوع اندام و عوامل محیطی نقش بسیار زیادی در میزان و تنوع مواد موثره این گیاه دارند (۳۱). زووکو و همکاران (۲۰۱۰) با بررسی میزان فنل و فلاونوئید کل در اندام‌های مختلف زرشک نشان دادند که بیشترین میزان این ترکیبات در برگ می‌باشد (۳۸). در یک بررسی دیگر که روی گیاه دارویی باریجه انجام شد نتایج نشان داد که بیشترین میزان فنل کل در ریشه گیاه و کمترین میزان آن در برگ گیاه موجود می‌باشد (۳۹). در یک مطالعه میزان فنل و فلاونوئید اندام‌های مختلف (برگ، ریشه، ساقه، گل و میوه) گیاه شابیزک (*Atropa belladonna*) جمع‌آوری شده از مناطق مختلف مورد پژوهش قرار گرفت و نتایج نشان داد که بیشترین میزان فنل در برگ‌ها و کمترین میزان آن در ساقه می باشد (۱۸).

الیگیانیس و همکاران (۲۰۰۳) با بررسی عصاره متانولی اندام‌های هوایی گونه *V. macrurum* با روش DPPH اثرات آنتی‌اکسیدانی بالای این گیاه را نشان دادند. در مطالعات آنها دلیل اصلی بالا بودن خصوصیات آنتی‌اکسیدانی خرگوشک وجود ماده اکتئوزید که یک ترکیب مشتق شده از گلیکوزید فنیل پروپانوئید می‌باشد گزارش شد (۱). همان‌طور که نتایج نشان می‌دهد همبستگی بالایی بین میزان ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی گل‌ها و برگ‌های گونه‌های مختلف خرگوشک وجود دارد که با نتایج سایر پژوهشگران در مورد ریحان (۱۳)، گیاهان دارویی بومی مازندران (۱۲) و ولیک (۲) مطابقت دارد.

تجزیه به عامل‌های پنهانی: میزان واریانس توجیه شده توسط هر عامل نشان‌دهنده اهمیت آن عامل در تبیین واریانس کل صفات مورد بررسی است. نتایج تجزیه به عامل‌ها (جدول‌های ۸ و ۹) نشان می‌دهد ۵ عامل پنهانی که مقادیر ویژه آن‌ها بیشتر از یک بود توانستند ۸۶ درصد از کل واریانس بین صفات را توجیه نمایند. در عامل اول ارتفاع گیاه، طول گل‌آذین، اندازه دمبرگ برگ‌های قاعده‌ای، مقدار فنل کل برگ و فعالیت آنتی‌اکسیدانی برگ بیشترین ضریب عامل را به خود اختصاص دادند و ۲۴/۲ درصد از واریانس کل را توجیه کردند (بیشترین مقدار هر صفت در هر عامل، ملاک قرار گرفتن در عامل است). در عامل دوم صفات تعداد ساقه گلدهنده، طول برگ‌های ساقه‌ای، تعداد گل در هر دسته، نسبت طول به عرض برگ‌های ساقه‌ای، میزان فنل کل گل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی گل قرار گرفته که ۱۹/۵ درصد از کل تغییرات را توجیه نمودند. در عامل سوم طول برگ‌های قاعده‌ای، عرض برگ‌های قاعده‌ای، اندازه دمبرگ برگ‌های ساقه‌ای و قطر جام گل با ۱۸/۴ درصد تغییرات قرار گرفتند و در عامل چهارم قطر ساقه گلدهنده، اندازه دمگل اولین گل در هر دسته، طول کاسه گل، عرض کپسول، طول کپسول و اندازه برگه ۱۵/۱ درصد تغییرات را به خود اختصاص دادند. عامل پنجم شامل تعداد انشعابات شاخه‌گل‌دهنده، نسبت طول به عرض برگ‌های قاعده‌ای و عرض برگ‌های ساقه‌ای با ۸/۹ درصد تغییرات بود. این تجزیه می‌تواند عوامل اصلی که منجر به تفاوت بین گونه‌ها می‌شود را توجیه کند. نمودار رسته‌بندی گونه‌های مطالعه شده خرگوشک بر اساس خصوصیات ریخت‌شناسی و فیتوشیمیایی در شکل ۳ نشان داده شده است.

جدول ۸: مقادیر ویژه واریانس و درصد تجمعی واریانس عامل‌ها در گونه‌های مختلف خرگوشک

Table 8. Specific values and the percentages of factors cumulative variances in different species of mullein

عامل Factors	مقادیر ویژه Eigen values	میزان واریانس توجیه شده (درصد) Amount of variance explained (%)	درصد تجمعی واریانس توجیه شده Cumulative percentage of variance explained
1	5.80	24.2	24.2
2	4.67	19.5	43.6
3	4.40	18.4	62
4	3.62	15.1	77.1
5	2.12	8.9	86

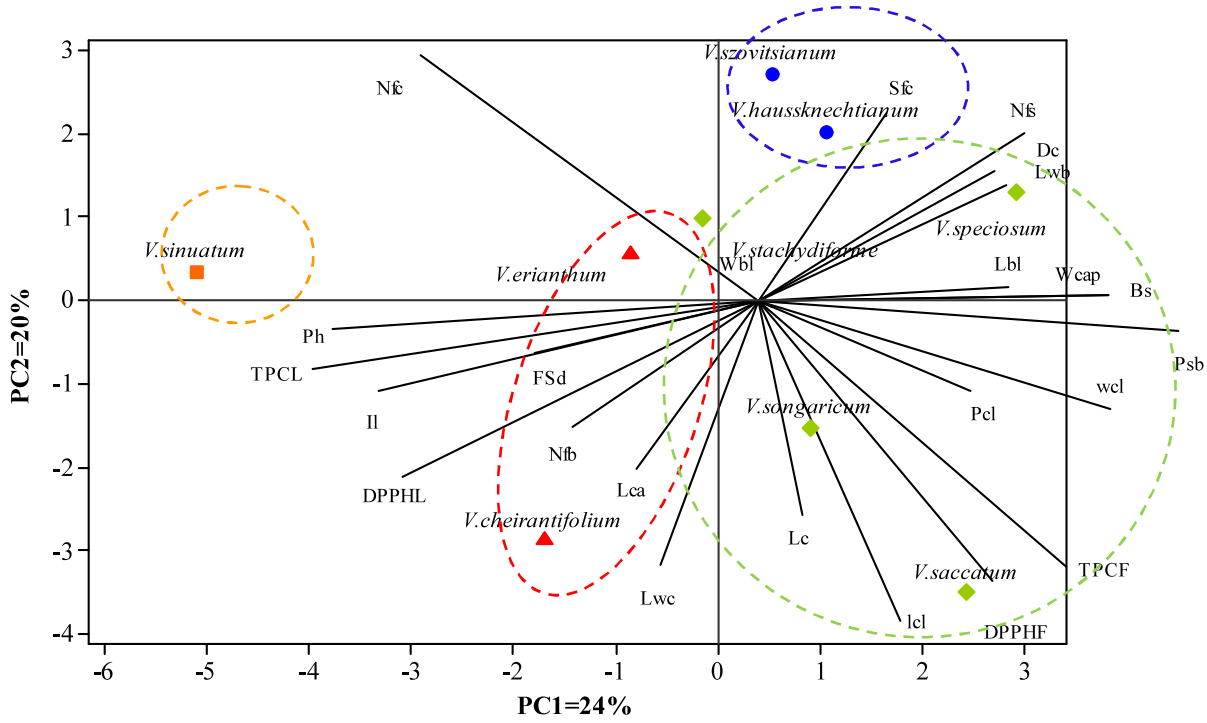
جدول ۹: مقادیر بار عامل ها برای صفات مورد مطالعه در گونه‌های مختلف خرگوشک

Table 9. Factor loading values for studied characteristics in different species of mullein

عامل ۵ PC5	عامل ۴ PC4	عامل ۳ PC3	عامل ۲ PC2	عامل ۱ PC1	صفات Trait
-0.059	0.236	0.043	-0.037	**-0.308**	PH
-0.122	**0.259**	0.216	-0.067	-0.162	FSD
0.00	-0.227	0.187	-0.115	**-0.275**	IL
0.057	-0.015	**0.331**	0.208	0.193	NFS
-0.451	0.079	0175	-0.159	-0.134	NFB
-0.130	**-0.309**	-0.198	0.235	0.093	SFC
-0.135	0.135	-0.011	**0.307**	-0.244	NFC
-0.083	0.024	**0.346**	0.018	0.182	LBL
0.255	0.159	0.420	-0.009	0.010	WBL
-0.241	-0.124	-0.229	0.145	0.188	LWB
0.077	-0.125	0.274	-0.039	**0.305**	PSB
-0.148	-0.125	0120	**-0.402**	0.103	LCL
-0.259	0.111	0.250	-0.137	0.256	WCL
-0.061	-0.290	-0.088	**-0.332**	-0.070	LWC
0.314	-0.116	**-0.325**	-0.114	0.154	PCL
-0.335	0.114	-0.192	0.160	0.171	DC
-0.463	-0.158	-0.109	-0.270	0.032	LC
-0.044	**0.238**	-0.175	-0.211	-0.088	LCA
0.034	**0.392**	-0.088	0.007	0.254	WCA
0.034	**0.392**	-0.088	0.007	0.254	BS
0.160	0.121	-0.128	**-0.353**	0.171	DPPHF
0.103	0.025	-0.046	**-0.335**	0.233	TPCF
0.046	0.242	-0.095	-0.086	**-0.323**	TPCL
0.207	0.241	-0.002	-0.222	**-0.257**	DPPHL

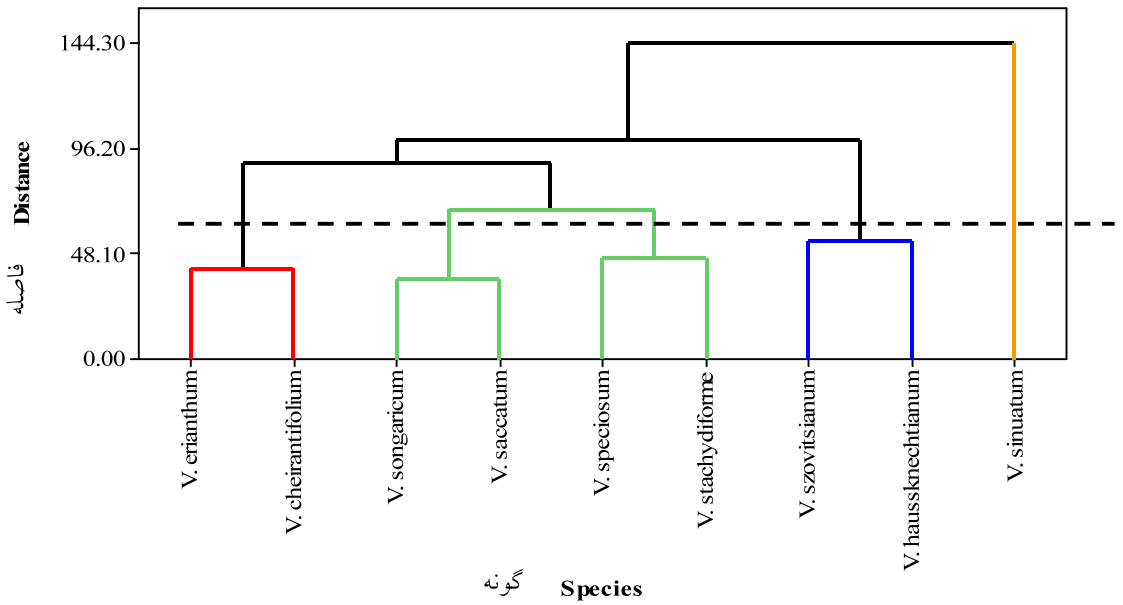
همچنین از روش Ward برای ترسیم کلاسترهای صفات ریخت‌شناسی و فیتوشیمیایی استفاده شد. در کلاستر حاصل از داده‌های ریخت‌شناسی و فیتوشیمیایی (بر اساس ۲۴ صفت)، گونه‌های خرگوشک به چهار گروه اصلی تقسیم شدند. در گروه اول گونه *V. sinuatum* قرار گرفت که از لحاظ فنل کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی برگ، ارتفاع گیاه، تعداد گل در هر دسته، تعداد انشعابات شاخه گلدهنده و عرض برگ‌های قاعده‌ای مقادیر بالاتری نسبت به بقیه گونه‌ها داشت. گونه‌های *V. szovitsianum* و *V. haussknechtianum* که در گروه دوم قرار داشتند دارای مقادیر بالای تعداد گل در هر دسته و اندازه دمگل اولین گل در هر دسته و همچنین مقادیر پایین و متوسط فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات فنلی در اندام‌های خود بودند. در گروه سوم گونه‌های *V. stachydiforme*، *V. songaricum*، *V. saccatum* و *V. speciosum* جای گرفتند که این گونه‌های دارای مقادیر متوسط و بالا از فعالیت آنتی‌اکسیدانی و

ترکیبات فنلی بودند. گونه‌های *V. erianthum* و *V. cheirantifolium* که در گروه چهارم قرار گرفتند دارای مقادیر بالای طول گل‌آذین، اندازه دمگل اولین گل در هر دسته، طول کپسول و عرض کپسول و همچنین متوسط ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی اکسیدانی بودند (شکل ۴).



شکل ۳: رسته‌بندی گونه‌های خرگوشک بر اساس خصوصیات ریخت‌شناسی و فیتوشیمیایی

Figure 3. Multivariate analyses of mullien species based on morphological and phytochemical data



شکل ٤: خوشه‌بندی گونه‌های خرگوشک بر اساس داده‌های ریخت‌شناسیک و فیتوشیمیایی

Figure 4. Clustering of mullien species based on morphological and phytochemical data

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این پژوهش نشان داد که گونه‌های خرگوشک موجود در استان آذربایجان غربی از تنوع ژنتیکی قابل‌ملاحظه‌ای از لحاظ ویژگی‌های ریخت‌شناسی و فیتوشیمیایی برخوردار بوده که می‌تواند در برنامه‌های بهنژادی این جنس مورد توجه قرار گیرد. هر یک از ۹ گونه مورد مطالعه دارای صفات ویژه‌ای بودند که می‌توانند با توجه به اهداف برنامه‌های اصلاحی مورد استفاده قرار گیرند. اما از نقطه نظر برخی خصوصیات ریخت‌شناسی و صفات فیتوشیمیایی گونه *V. sinuatum* دارای خصوصیات قابل توجهی بوده که با مطالعات تکمیلی می‌توان در برنامه‌های اهلی‌سازی از این گونه ارزشمند استفاده کرده و گامی مهم در جهت بهره‌برداری از مواد موثره این گیاه در صنایع داروسازی کشور برداشت.

منابع

1. Aligiannis, N., Mitaku, S., Tsardis, E., Harval, C., Tsaknis, I., Lala, S. and Haroutounian, S. 2003. Methanolic extract of *Verbascum macrurum* as a source of natural preservatives against oxidative rancidity. J. Agric. Food Chem. 51: 7308-7312.
2. Alirezalu, A., Ahmadi, N., Salehi, P., Sonboli, A., Ayyari, M. and Hatami Maleki, H. 2015. Antioxidant capacity in different organs of Hawthorn various species (*Crataegus* spp.). J. Food Res. 25(2): 325-338. (In Persian)
3. Aramatu, A., Bodirlau, R., Nechita, C.B., Niculaua, M., Teaca, C.A., Icheim, M. and Spiridon, I. 2011. Characterization of biological active compounds from *Verbascum phlomoides* by chromatography techniques. I. Gas chromatography. Rom. Biotechnol. Lett. 16: 6297-6304.
4. Attar, F., Keshvari, F., Ghahreman, A. and Zarre, S.H. 2006. Micromorphological studies on *Verbascum* (Scrophulariaceae) in Iran with emphasis on seed surface, capsule ornamentation and trichomes. Flora. 202: 169-175.
5. Babaie Zarch, M.J., Fotokian, M.H. and Mahmoodi, S. 2013. Evaluation of genetic diversity of wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes for morphological traits using multivar analysis methods. J. Crop Breed. 5(12): 85-98. (In Persian)
6. Bystrická, J., Vollmannová, A., Margitanová, E. and Čičová, I. 2010. Dynamics of polyphenolics formation in different plant parts and different growth phases of selected buckwheat cultivars. Acta Agric. Slov. 95: 225-229.
7. Burits, M. and Bucar, F. 2000. Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. Phytocther. Res. 14(5): 323-328.
8. Dixon, R.A. and Paiva, N.L. 1995. Stress-induced phenylpropanoid metabolism. Plant Cell. 7(7): 1085-1097.
9. Ebrahimzadeh, M.A., Hosseinimehr, S.J., Hamidian, A. and Jafari, M. 2008. Antioxidant and free radical scavenging activity of *Feijoa sallowiana* fruits peel and leaves. Pharmacol. 1: 7-14.
10. Gorouhi, F., Farnaghi, F., Seriafi, H. and Nassiri-Kashani, M. 2007. Efficacy of *Verbascum songaricum* Schrenk hair tonic in androgenetic alopecia: A randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. J. Am. Acad. Dermatol. 56(2):1503- 1506.
11. He, S., Ohm, S. and Mackenzie, S. 1992. Detection of DNA sequence polymorphisms among wheat varieties. Theo. Appl. Genet. 84: 573-578
12. Jamshidi, M., Ahmadi Ashtiyani, H.R., Reza Zade, Sh., Fathi Azad, F., and Mazandarani, M. 2009. Study on phenolics and antioxidant activity of some selected plant of Mazandaran province. J. Med. Plant. 2(34): 177-183. (In Persian)
13. Javanmardi, J., Stushnoff, C. and Locke, E. 2003. Antioxidant activity and total phenolic content of Iranian *Ocimum* accessions. Food Chem. 83: 547-550.

14.Joshi, K., Chavan, P., Warude, D. and Patwardhan, B. 2004. Molecular markers in herbal drug technology. Curr. Sci. 87(2): 159-165.
15.Juan, R., Fernandez, I. and Pastor, J. 1997. Systematic consideration of microcharacters of fruits and seeds in the genus *Verbascum* (Scrophulariaceae). Ann. Bot. 80: 591-598.
16.Kahraman, A., Celep, F. and Dogan, M. 2009. Comparative morphology, anatomy and palynology of two *Salvia* species (Lamiaceae) in Turkey. Inter. J. Bot. 35(2): 219-236.
17.Karimian, V., Vahabi, M.R., Fazilati, M. and Soleimani, F. 2013. Chemical composition in two species of *Verbascum* collected from natural habitats, southern Iran. J. Herb. Drugs. 4(3): 127-132.
18.Khatir Nameni, M. and Mazandarani, M. 2011. Of total flavonoids and phenolic different organs of medicinal plant Deadly nights hade (*Atropa belladonna* L.) in the jungle province Tvskstan. National Conference on Medicinal Plants. 2: 2-7.
19.Kheiri, S., Khayami, M. and Mahmoudzadeh, A. 2009. Miromorphological and anatomical studies of certain species of *Verbascum* (Scrophulariaceae) in west Azarbaijan. Iran. J. Bot. 15:1. 105-113.
20.Kheiri, S. 2009. Identification of breeding system of some species of *Verbascum* (Scrophulariaceae) in north- west of Iran on the basis of the ratio of pollen to ovule number. J. Biol. Islamic Azad University, 4(2): 67-74. (In Persian)
21.Li, P., Wang, Y., Sun, X. and Han, J. 2009. Using microsatellite (SSR) and morphological markers to asses the genetic diversity 12 Alfalfa (*Medicago sativa* spp. Falcate) population from Eurasiia. Afr. J. Biotechnol. 8(10): 2102-2108.
22.Mashayekhi, K. and Atashi, S. 2014. The analyzing metods in plant physiology (surveys before and after harvest). Sirang Words. Gorgan. Press, 310p. (In Persian)
23.Orhan, I., Ozcelik, B., Kartal, M., Ozdeveci, B. and Duman, H. 2007. HPLC quantification of vitexine-2-O-rhamnoside and hyperoside in three *Crataegus* species and their antimicrobial and antiviral activities. Chromatographia. 66: S153–S157.
24.Panchal, M., Murti, K. and Lambole, V. 2010. Pharmacological properties of *Verbascum thapsus*- A review. Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res. 5(2): 73-77.
25.Petrichenko, V.M. and Razumovskaya, T.A. 2004. Composition of fatty acids from seeds of three *Verbascum* L. species grown in the Perm region. Rastitel'nye Resursy. 40: 72-77.
26.Rezaei, M., Ebadi, A., Reim, S., Fatahi, R., Balandary, A., Farrokhi, N., and Magda-Viola, H. 2011. Molecular analysis of Iranian seedless barberries via SSR. Sci. Hortic. 129: 702–709.
27.Saboora, A., Dadmehr, Kh. and Ranjbar, M. 2013. Total phenolic and flavonoid contents and investigation on antioxidant properties of stem and leaf extracts in six Iranian species of wild *Dianthus* L. Iran. J. Med. Aromat. Plants. 29: 281-295. (in Persian)
28.Serçe, S., Şimşek, Ö., Toplu, C., Kamiloğlu, Ö., Çalışkan, O., Gündüz, K., Özgen, M. and Kaçar, Y.A. 2011. Relationships among *Crataegus* accessions sampled from Hatay, Turkey as assessed by fruit characteristics and RAPD. Genet. Resour. Crop Evol. 58: 933-942.
29.Sharifnia, F. 2007. Notes on the distribution and taxonomy of *Verbascum* in Iran. Iran. J. Bot. 13(1): 30-32.
30.Sotoodeh A., Attar F. and Civeyrel, L. 2016. A new species of *Verbascum* L. (Scrophulariaceae) from the Gilan province (Iran), based on morphological and molecular evidences. Adansonia. 38(1): 127-132.
31.Tabatabaei Raisi, A., Khaligi, A., Kashi, A., Asnaashari, S., Moghadam, B. and Delazar, A. 2007. Antioxidant activity and chemical compositions of essential oil of aerial parts of *Satureja sahendica* Bornm. Pharm. Sci. 3: 1-6.
32.R., Akdemir, S.Z., Bedr, E. and Khan, A.I. 2003 Search for antifungal compounds from some Verbascum species growing in Turkey. J. Pharm. Sci. 38: 137-140.
33.Tatli, R. and Akdemir, S.Z. 2004. Chemical constituents of *Verbascum* L. species. J. Pharm. Sci. 29: 93-107.
34.Turker, A.U. and Gurel, E. 2005. Common mullein (*Verbascum thapsus* L.): recent advances in research. Phytother. Res. 19: 733-739.

35. Urbonaviciute, A., Jakstas, V., Kornysova, O., Janulis, V. and Maruska, A. 2006. Capillary electrophoretic analysis of flavonoids in single-styled hawthorn (*Crataegus monogyna* Jacq.) ethanolic extracts. J. Chromatograph. A. 1112: 339–344.
36. Veronica, V., Carolina, C., Carlos, T., Liliana, S. and Susana, R. 2010. *Verbascum thapsus*: Antifungal and phytotoxic properties. Mol. Med. Chem. 20: 105-108.
37. Werlemark Tatli, G. and Nybom, H. 2001. Skewed distribution of morphological character scores and molecular markers in three interspecific crosses in *Rosa* section Caninae. Hereditas. 134: 1-13.
38. Zovko Koncic, M., Kremer, D. and Karlovic, K. 2010 Evaluation of antioxidant activities and phenolic content of *Berberis vulgaris* L. and *Berberis croatica* Horvat. Food Chem. Toxicol. 48: 2176-21.
39. Zeinali, Z., Hemmati, Kh. and Mazandarani, M. 2014. Aut ecology, ethnopharmacology, phytochemistry and antioxidant activity of *Ferula gummosa* Boiss. in different regions of Razavi Khorasan province. Ecophytochem. J. Med. Plants. 1: 11-22.

This document was created with Win2PDF available at http://www.daneprairie.com.
The unregistered version of Win2PDF is for evaluation or non-commercial use only.