

## تعیین دماهای کاردینال جوانه زنی بذر مارگریت (*Chrysanthemum maximum Ramond*)

عباس هاشمی<sup>۱</sup>، شیوا باروتی<sup>۲</sup> و رضا توکل افشاری<sup>۳</sup>

۲۰۱- دانشجوی کارشناسی ارشد علوم و تکنولوژی بذر، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران

۳- استاد گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد

### چکیده

به منظور تعیین دماهای کاردینال جوانه زنی بذر مارگریت، مطالعه آزمایشگاهی در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام گرفت. ارزیابی واکنش جوانه زنی در دماهای ثابت ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵، ۳۰ و ۳۵ درجه سانتی گراد انجام شد. بذرهای جوانه زده هر روز شمارش شده و سپس سرعت جوانه زنی و درصد جوانه زنی محاسبه و نمودار دماهای کاردینال جوانه زنی بذر مارگریت بر اساس دو مدل رگرسیونی دو تکه ای و چند جمله ای درجه دو ترسیم شد. طبق نتایج بدست آمده، اثر دما بر درصد و سرعت جوانه زنی بذر مارگریت معنی دار ( $p \leq 0.01$ ) بود. بالاترین سرعت جوانه زنی در دمای ۲۰ درجه سانتی گراد به میزان  $R50=0.14$  (عکس زمان رسیدن به 50 درصد جوانه زنی یا همان D50) مشاهده شد. بر اساس دو مدل دو تکه ای و چند جمله ای درجه دو، دماهای کاردینال جوانه زنی بذر مارگریت شامل، دمای پایه (۱ تا ۳ درجه سانتی گراد)، بهینه (۱۹ تا ۲۳ درجه سانتی گراد) و بیشینه (۴۳ تا ۵۹ درجه سانتی گراد) تعیین شد. با افزایش دما، شرایط مناسب تری از لحاظ دمایی، برای جوانه زنی مارگریت ایجاد می گردد و باعث افزایش سرعت جوانه زنی می شود.

**کلمات کلیدی:** درصد جوانه زنی، سرعت جوانه زنی، مدل دو تکه ای، مدل درجه دو.

### مقدمه

داده اند که از اهمیت دارویی زیادی برخوردارند (Majd et al., 2010). اسانس مارگریت در مرحله رویشی دارای ترکیب بتا-المن<sup>۱</sup> می باشد که نوعی سزکویی ترین با ارزش است که در طب و صنایع گیاهان دارویی جهان به عنوان یک ترکیب ضد سرطانی گزارش شده است (Józefczyk et al., 1999; Duke., 1985; Majd et al., 2010). در بحث اهلی سازی و کشت گیاهان دارویی اطلاع از نحوه جوانه

گیاه مارگریت (*Chrysanthemum maximum Ramond*) از تیره مرکبان است که با نام عامیانه *maximum* Shasta daisy شناخته می شود. تیره مرکبان به دلیل تنوع و گستردگی جنس ها و گونه ها به طایفه های متعددی تقسیم می شوند که یکی از معروف ترین آنها طایفه ی بابونه است، که مارگریت نیز در این طایفه قرار می گیرد (Harling et al., 1951). مارگریت از لحاظ زینتی و دارویی اهمیت فراوانی را دارد. بخش اصلی ترکیب های اسانس گل های مارگریت را سزکویی ترین ها به خود اختصاص

<sup>۱</sup> -  $\beta$  - elemene

\*نویسنده مسئول: رضا توکل افشاری، نشانی: مشهد، دانشگاه فردوسی مشهد، دانشکده کشاورزی، گروه زراعت و اصلاح نباتات

E-mail: tavakolafshari@um.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۶/۰۶

تاریخ تصویب: ۱۳۹۴/۰۹/۲۲

گونه‌های وحشی نیاز گرمایی کمتری از گیاهان اهلی دارند. دمای مناسب جوانه زنی برای اکثر بذرها بین ۱۵ تا ۳۰ درجه سانتی گراد است. از آنجا که اهلی سازی گونه‌های گیاهی طبیعی نیازمند آگاهی از نیازهای رشدی و همچنین جوانه زنی بذر می باشد و همچنین با توجه به اینکه تاکنون گزارشی مبنی بر تعیین دماهای کاردینال گیاه مارگریت در ایران یافت نشده است، لذا هدف از این تحقیق تعیین دامنه دمایی مناسب جوانه زنی و شناسایی رابطه بین دما و سرعت جوانه زنی در بذره‌های مارگریت و در نهایت تعیین دماهای کاردینال جوانه زنی آن می باشد.

### مواد و روش

به منظور تعیین دماهای کاردینال جوانه زنی بذره‌های مارگریت، آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در آزمایشگاه بذر دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران در سال ۱۳۹۳ انجام شد. در این بررسی از بذره‌های تولید شده در همان سال استفاده شد. تیمارهای آزمایشی شامل هفت سطح دمایی ثابت ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵، ۳۰ و ۳۵ درجه سانتی گراد بودند. در هر تکرار ۵۰ عدد بذر انتخاب شد و در ظرف‌های پتری به قطر ۹ سانتی متر، حاوی کاغذ صافی واتمن مرطوب شده، قرار داده شدند و به مدت ۱۴ روز در دماهای ثابت و حالت ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شدند. بررسی بذره‌های جوانه زده ۲۴ ساعت پس از شروع آزمایش و به طور روزانه انجام گرفته و بذره‌های جوانه زده پس از شمارش و ثبت، از پتری‌ها خارج می شدند. معیار جوانه زنی بذرها خروج ریشه چه از پوسته بذر و قابل رؤیت بودن آن با چشم غیر مسلح بود (Adam et al., 2007; Brändel & Jensen, 2005).

زنی بذر به منظور استقرار موفق و مطلوب گیاه ضرورت دارد. خصوصاً اینکه اکثر گیاهان دارویی که از عرصه‌های طبیعی برداشت می شوند، نسبت به گونه‌های زراعی و اصلاح شده به مدت زمان بیشتری برای جوانه زنی نیاز دارند (Saha et al., 2008). بر اساس معیارهای کنترل کیفیت، جوانه زنی، عبارت است از نمو گیاهچه به مرحله‌ای که حضور و یا فقدان ساختمان‌های ضروری آن قابل تشخیص باشد (Sohani, 1998). این فرآیند تا حدود زیادی تحت تاثیر دما و رطوبت قرار می گیرد. بعد از آبیگری بذر، دما بحرانی ترین عاملی است که موفقیت یا عدم موفقیت در استقرار گیاه را تعیین می کند. با توجه به اهمیت دما در سرعت و درصد جوانه زنی بذرها، تعیین بهترین دما برای جوانه زنی بذره‌های مختلف، از اهمیت ویژه ای برخوردار است. بطور کلی اثر دما بر جوانه زنی بر حسب دماهای کاردینال بیان می شود. دماهای کاردینال شامل سه دمای حداقل (Tb)، بهینه (To) و حداکثر یا سقف (Tc) می باشند. دمای حداقل، کمترین دمایی است که در آن سرعت جوانه زنی صفر است و در واقع جوانه زنی در آن رخ نمی دهد. دمای حداکثر، نیز بالاترین دمایی است که در آن سرعت جوانه زنی صفر است، و دمای بهینه دمایی است که در آن بالاترین سرعت جوانه زنی مشاهده می شود (Alvarado & Bradford, 2002; Koocheki et al., 1997). رابطه خطی بین دما و سرعت جوانه زنی در برخی گونه‌های گیاهی گزارش شده و عمدتاً محققین از رگرسیون خطی برای توصیف رابطه بین دما و سرعت جوانه زنی استفاده می کنند (Kocabas, 1999). بعنوان یک قاعده کلی بذره‌های مناطق معتدله در مقایسه با بذره‌های مناطق گرمسیری به دماهای کمتری نیاز داشته و

استفاده از یک معادله شرطی برآزش داده شد. در معادلات ذکر شده فوق  $T_c$ ،  $T_b$  و  $T_c$  بترتیب دمای محیط، دمای حداقل و دمای حداکثر،  $\theta T_1$  مجموع زمان حرارتی بین دمای پایه تا دمای بهینه و  $\theta T_2$  مجموع زمان حرارتی بین دمای بهینه تا دمای حداکثر می باشد.

روش دوم تعیین دماهای کاردینال بر حسب مدل چندجمله ای درجه دوم بود که در آن از معادلات ۳، ۴ و ۵ استفاده شد. که در آن‌ها،  $f$ : سرعت جوانه زنی (بر حسب روز)،  $T$ : دما (درجه سانتی گراد)،  $T_0$ ،  $T_b$ ،  $T_c$ ، به ترتیب دمای پایه، دمای بهینه و دمای سقف (حداکثر) و  $a$ ،  $b$  و  $c$  ضرایب رگرسیون را نشان می دهند. در مدل چند جمله ای درجه ۲، دمای بهینه معادله (۴) با استفاده از مشتق اول معادله ۳ محاسبه شد. ریشه‌های معادله چند جمله ای درجه ۲ (معادله ۷) با استفاده از معادله ۳ محاسبه گردید.

$$f = a + bT + cT^2 \quad \text{معادله ۳}$$

$$T_0 = b + 2cT \quad \text{معادله ۴}$$

$$T_c = \frac{-b \pm \sqrt{b^2 - 4ac}}{2a} \quad \text{معادله ۵}$$

دماهای کاردینال جوانه زنی با استفاده از تجزیه و تحلیل رگرسیونی و به کمک مدل‌های ارائه شده و با استفاده از سرعت جوانه زنی محاسبه شد. محاسبه دماهای کاردینال بر اساس رابطه سرعت جوانه زنی و دما، روشی مرسوم در مطالعات مربوط به تعیین دماهای کاردینال جوانه زنی به حساب می آید (Bradford & Haigh, 1994 Colbach et al., 2002). تجزیه واریانس و مقایسه میانگین داده ها با استفاد از نرم افزار SAS انجام شد.

زمان اتمام جوانه زنی و یا ثابت شدن آن، بطور مرتب و مداوم انجام گرفت. برای محاسبه درصد و سرعت جوانه زنی بذرها از برنامه Soltani & Germin (2010) Maddah. استفاده شد، که با استفاده از این برنامه، D10 (یعنی مدت زمانی که طول می کشد تا جوانه زنی به ۱۰ درصد حداکثر خود برسد)، D50 (یعنی مدت زمانی که طول می کشد تا جوانه زنی به ۵۰ درصد حداکثر خود برسد) و D90 (یعنی مدت زمانی که طول می کشد تا جوانه زنی به ۹۰ درصد حداکثر خود برسد) محاسبه شد. در این برنامه پارامترهای یاده شده (D10، D50 و D90) برای هر تکرار و هر تیمار بذری از طریق درون یابی منحنی افزایش جوانه زنی در مقابل زمان محاسبه می شود. سپس سرعت جوانه زنی بر اساس عکس مدت زمان رسیدن به ۵۰ درصد جوانه زنی ( $1/D50$ ) محاسبه شد و در تعیین دمای کاردینال مورد استفاده قرار گرفت. برای تعیین دماهای کاردینال (پایه، بهینه و بیشینه) از مدل‌های رگرسیونی بین سرعت جوانه زنی و دماهای مختلف و از طریق معادلات زیراستفاده شد که در آنها دما بعنوان متغیر مستقل و سرعت جوانه زنی بعنوان متغیر وابسته در نظر گرفته شدند. برای تعیین دماهای کاردینال از دو مدل دوتکه ای و چند جمله ای درجه دوم استفاده شد.

مدل دو تکه ای با استفاده از معادله ۱ و ۲ بدست آمد و با استفاده از آن دماهای کاردینال جوانه زنی مارگریت محاسبه شد.

$$GR = \frac{1}{t} = \frac{(T - T_b)}{\theta T_1} \quad \text{معادله ۱}$$

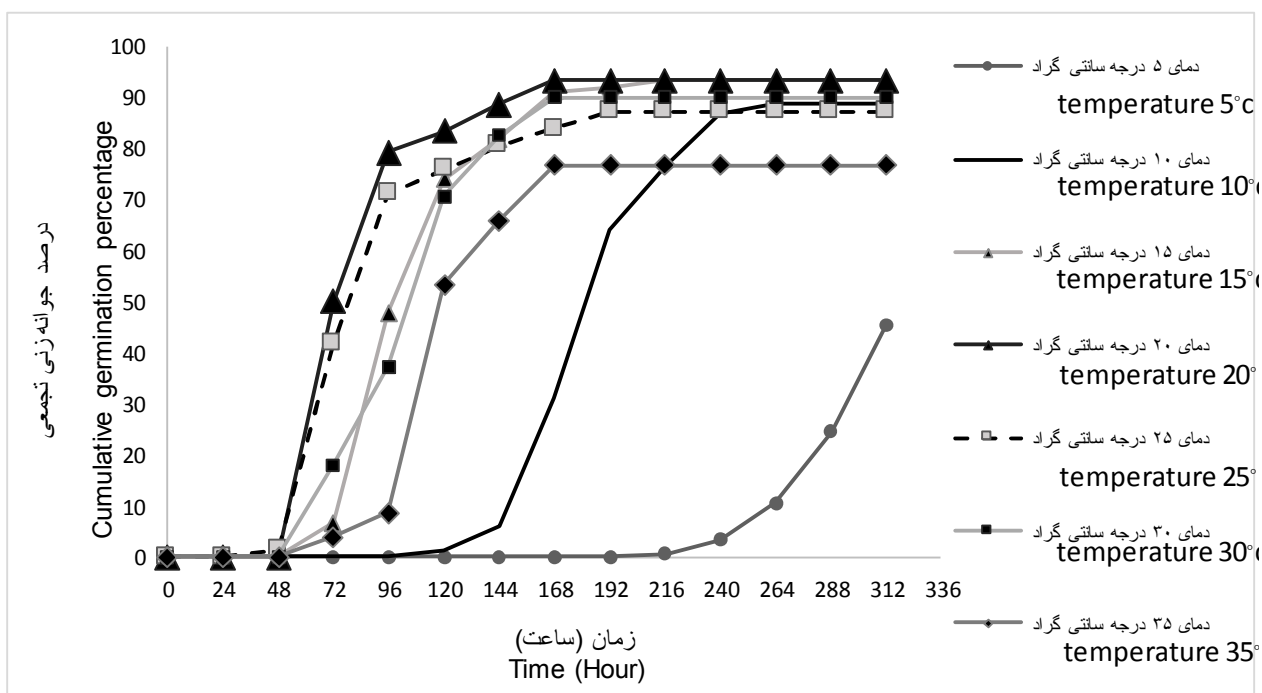
$$GR = \frac{1}{t} = \frac{(T - T_c)}{\theta T_2} \quad \text{معادله ۲}$$

معادله ۱ برای محدوده دمایی پایه تا دمای بهینه و معادله ۲ برای محدوده دمایی بهینه تا دمای بیشینه و با

## نتایج و بحث

شکل ۱ درصد جوانه زنی را به شکل تجمعی، در دماهای مختلف (۰ تا ۳۵ درجه سانتی گراد) نشان می دهد. همان گونه که مشاهده می شود درصد جوانه زنی در دمای ۵ درجه سانتی گراد در خلال ۱۴ روز تنها به ۴۵ درصد رسیده و دارای کمترین میزان جوانه زنی نسبت به سایر دماهای اعمال شده است. با افزایش دما از ۵ درجه سانتی گراد تا ۳۰ درجه سانتی گراد درصد جوانه زنی تجمعی افزایش یافت، اما در دمای ۳۵ درجه سانتی گراد مجدداً درصد جوانه زنی

کاهش پیدا کرد (۷۷ درصد). با وجود اینکه درصد جوانه زنی نهایی در بسیاری از دماها مشابه بود اما افزایش دما از ۵ تا ۲۰ درجه سانتی گراد مدت زمان رسیدن به ۵۰ درصد جوانه زنی را کاهش داد. بالاترین سرعت جوانه زنی در دمای ۲۰ درجه سانتی گراد مشاهده شد، البته از لحاظ آماری تفاوت معنی داری را نسبت به دمای ۲۵ درجه سانتی گراد نداشت. کمترین سرعت و درصد جوانه زنی در دمای ۵ درجه سانتی گراد مشاهده شد.



شکل ۱- درصد جوانه زنی تجمعی مارگریت در شرایط اعمال دماهای مختلف

Figure 1. Cumulative germination percentage of *Chrysanthemum maximum* under different temperatures

درجه سانتی گراد به میزان ۹۳ درصد مشاهده شد، اما درصد جوانه زنی بین دماهای ۵ تا ۳۰ درجه سانتی گراد اختلاف معنی داری را نشان نداد (جدول ۲). سرعت جوانه زنی نیز روندی مشابه با درصد جوانه زنی در واکنش به دماهای مورد مطالعه داشت و بالاترین سرعت جوانه زنی همچون بالاترین درصد جوانه زنی در دمای ۲۰ درجه سانتی گراد (به میزان

اثر دما بر درصد و سرعت جوانه زنی بذر مارگریت معنی دار ( $p \leq 0.01$ ) است (جدول ۱). مقایسه میانگین‌های درصد جوانه زنی بذرهای مارگریت تحت تیمارهای مختلف دمایی، نشان داد که با افزایش دما از ۵ به ۱۰ درجه سانتی گراد درصد جوانه زنی افزایش یافت و به ۸۷ درصد رسید. بیشترین درصد جوانه زنی مربوط به دماهای ۲۰ و ۲۵

منظور ارزیابی اثر دماهای مختلف بر درصد و سرعت جوانه زنی در چندین گونه دارویی از تیره نعناعیان صورت گرفت، ملاحظه شد افزایش دما از ۲۵ یا ۳۰ درجه سانتی گراد به ترتیب سبب کاهش معنی داری در سرعت و درصد جوانه زنی گونه‌های پونه سای بینالودی (*Nepeta binaludensis*)، پونه سای البرزی (*Nepeta glomerulosa*)، آویشن شیرازی (*Zataria multiflora*) و آویشن البرزی (*Thymus kotschyanus*) شد (Bannayan et al., 2006).

مشاهده شد اما اختلاف معنی داری را با دمای ۲۵ درجه سانتی گراد نداشت. کمترین سرعت جوانه زنی نیز همانند درصد جوانه زنی، در دمای ۵ درجه سانتی گراد (به میزان  $R50 = 0/00351$ ) بدست آمد. با وجود اینکه دمای ۱۰ درجه سانتی گراد ۸۷ درصد جوانه زنی داشت اما دارای سرعت جوانه زنی پایینی بود (جدول ۲). گزارش‌های زیادی وجود دارد که نشان دهنده اثر افزایشی دما بر درصد و سرعت جوانه زنی تا یک حد مشخص است (Bannayan et al; 2006, Najafi et al 2007; Tabriziet al 2004; Iannucci et al 2000). در مطالعه ای که به

جدول ۱- میانگین مربعات تجزیه واریانس اثر دما بر خصوصیات جوانه زنی مارگریت

Table1. Analysis of variance of the effects of temperatures on germination characteristics of *Chrysanthemum maximum*.

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	سرعت جوانه زنی Germination rate	درصد جوانه زنی Germination percentage
دما Temperature	6	0.000**	883.30**
خطا Error	14	0.000	17.71
کل Total	20	-	-

جدول ۲- مقایسه میانگین اثر دما بر درصد و سرعت جوانه زنی

Table2. Mean comparison of temperature effects on seed germination rate and percentage of *Chrysanthemum maximum*.

سرعت جوانه زنی (بذر در روز) Germination rate	جوانه زنی نهایی (درصد) Final Germination (percentage)	دما (سانتی گراد) Temperature (C°)
.0035e	45c	5
.0055d	87a	10
.0105b	93a	15
.0140a	93a	20
.0136a	87a	25
.0098cb	90a	30
.0089c	77b	35

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون، اختلاف معنی داری براساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد ندارند

Values followed by different letters are significantly different according to Duncan test, P= 0.05

است که این امر نشان دهنده حساسیت بیشتر سرعت جوانه زنی نسبت به درصد جوانه زنی در بذرهای مارگریت است. سرعت جوانه زنی در بحث استقرار اهمیت بیشتری را نسبت به درصد جوانه زنی دارد.

نتایج حاصل از بررسی حاضر، نشان می دهد که افزایش دما تا ۲۰ درجه سانتی گراد باعث افزایش درصد و سرعت جوانه زنی در بذرهای مارگریت می شود اما این تاثیر بر سرعت جوانه زنی محسوس تر

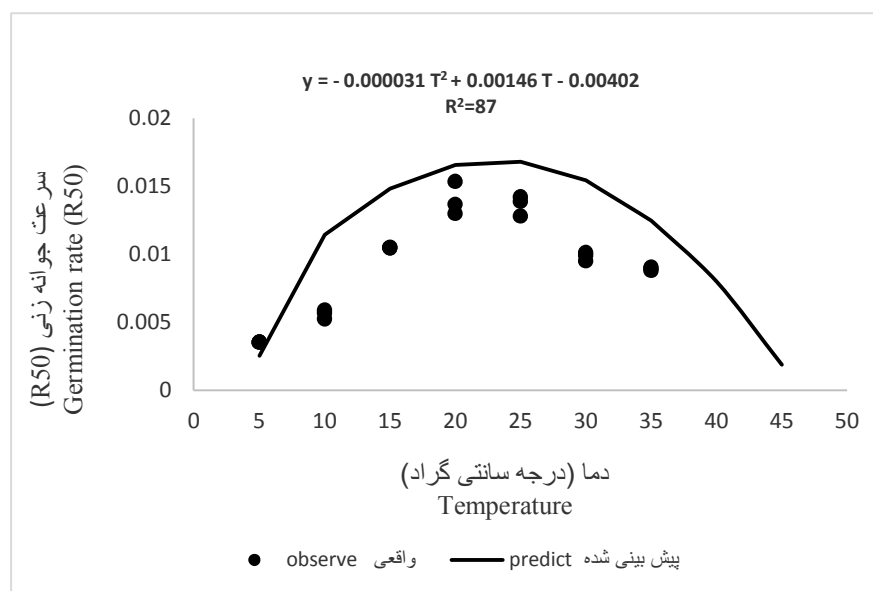
این دو مدل، دمای پایه، بهینه و بیشینه مارگریت به ترتیب (۱ تا ۳ درجه سانتی گراد)، (۱۹ تا ۲۳ درجه سانتی گراد) و (۴۳ تا ۵۹ درجه سانتی گراد) است. بر اساس ضرایب رگرسیونی، ضریب تبیین و میزان انحراف مدل دو تکه ای نسبت به مدل چند جمله ای درجه بهتر بود و پیش بینی مناسب تری را نسبت به مدل درجه دو دارد (جدول ۳).

بر اساس گزارش اورس، هر چه جوانه زنی سریعتر باشد، احتمال خروج به موقع ریشه چه از بذر و استفاده از رطوبت خاک و همچنین استقرار بهتر گیاهچه را افزایش می دهد (Evers et al., 1991). بمنظور تعیین دماهای کاردینال جوانه زنی بذر مارگریت از دو مدل دو تکه ای و چند جمله ای درجه دو، استفاده شد که با توجه به نتایج حاصل از

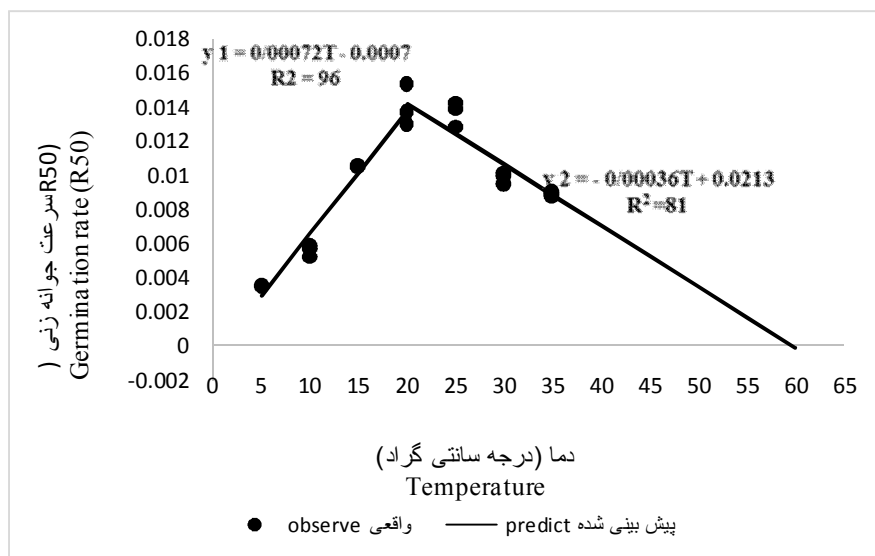
جدول ۳- مقادیر دماهای کاردینال جوانه زنی بذر مارگریت بر اساس دو مدل برازش شده

Table3. Estimated parameters of cardinal temperatures of *Chrysanthemum maximum* using the segmented and beta models

مدل چند جمله ای درجه ۲ Beta model	مدل دو تکه ای Segmented model	دمای کاردینال (درجه سانتی گراد) Cardinal temperatures
3	1	دمای پایه $T_b$ Base temperature
23	19	دمای اپتیمم $T_o$ Optimum temperature
43	59	دمای حداکثر (سقف) $T_c$ ceiling temperature
0.87	0.96 Below optimum temperature 0.86 high optimum temperature	ضریب تبیین $R^2$



شکل ۲- رابطه بین سرعت جوانه زنی (R50) مارگریت و دما (درجه سانتی گراد) بر اساس مدل چند جمله ای درجه دو  
Figure2. Relation between germination rate (GR), and temperature of (*Chrysanthemum maximum* Ramond) using Beta model



شکل ۳- رابطه بین سرعت جوانه زنی (R50) و دما (درجه سانتی گراد) در مارگریت بر اساس مدل دو تکه ای  
Figure3. Relation between germination rate (GR), and temperature of (*Chrysanthemum maximum* Ramond) using Segment model

واقعی و نقاط پیش بینی شده براساس مدل وجود دارد و با استفاده از معادلات می توان سرعت جوانه زنی را در دماهای مختلف پیش بینی کرد (شکل ۱ و ۲).

### نتیجه گیری کلی

نتایج نشان می دهد که جوانه زنی بذر مارگریت در دامنه دمایی وسیعی انجام می شود، به گونه ای که در دماهای خیلی پایین و بالا جوانه زنی مناسبی دارد. بهترین دما برای جوانه زنی مارگریت دمای ۲۰ درجه سانتی گراد می باشد به طوری که بالاترین درصد جوانه زنی و همچنین بالاترین سرعت جوانه زنی در این دما مشاهده شد. سرعت جوانه زنی مارگریت شاخص حساس تری از درصد جوانه زنی نسبت به دما است، به نحوی که تغییرات دمایی تاثیر بارزتری بر این شاخص دارد. اگرچه نتایج نشان می دهد بذر مارگریت دارای پنجره دمایی گسترده ای است اما با توجه به اینکه سرعت جوانه زنی معیار مهمی در استقرار گیاه می باشد بهتر است که زمان کاشت این

گزارش های متعددی از تعیین دماهای کاردینال گیاهان مختلف وجود دارد، دمای پایه، بهینه و حداکثر را برای کاکوتی<sup>۱</sup> چند ساله به ترتیب ۵، ۲۲ و ۳۹ درجه سانتی گراد (Kheirkhah et al., 2014)، برای کرامب<sup>۲</sup> به ترتیب ۱/۷، ۱۸ و ۴۳ درجه سانتی-گراد (Naghedi et al., 2009) و برای اسفرزه ۴/۴، ۱۹ و ۲۵ /۵ درجه سانتی گراد (Tabrizi et al., 2004) تعیین کردند. در مطالعه ای دیگر مشخص گردید که دو گونه اکوتیپ آویشن در ایران دارای دماهای کاردینال متفاوتی برای جوانه زنی هستند (Tolyat et al., 2014). این تفاوت در پاسخ جوانه زنی به دماهای کاردینال متفاوت نقش مهمی در سازگاری گیاهان به شرایط متفاوت محیطی دارد. معادله های حاصل از مدل های رگرسیونی محاسبه شده، نیز برآورد و نمودار مربوط به آن رسم شد. در این نمودارها نقاط

1. *Ziziphora clinopodioides* L

2. *Crambe kotschyana*

گیاه طوری انتخاب شود که دما در محدوده دمای بهینه جوانه زنی باشد.

## References

## منابع مورد استفاده

- Adam, N.R., D.A. Dierig., T.A. Coffelt., M.J. Wintermeyer., B.E. Mackey., and G.W. Wall, 2007. Cardinal temperatures for germination and early growth of two *Lesquerella* species. *Ind Crops and Products*, 25(1), 24-33.
- Alvarado, V., and K. Bradford, 2002. A hydrothermal time model explains the cardinal temperatures for seed germination. *Plant Cell Environ* , 25(8): 1061-1069.
- Bannayan, M., F. Nadjafi., M. Rastgoo., and L. Tabrizi, 2006. Germination Properties of Some Wild Medicinal Plants from Iran. *Seed Technol*, 28(1), 80-86.
- Bradford, K.J., and A.M. Haigh, 1994. Relationship between accumulated hydrothermal time during seed priming and subsequent seed germination rates. *Seed Sci. Research*, 4(02), 63-69.
- Brändel, M., and K. Jensen, 2005. Effect of temperature on dormancy and germination of *Eupatorium cannabinum* L. achenes. *Seed Sci. Research*, 15(02), 143-151.
- Colbach, N., B. Chauvel., C. Dürr., and G. Richard, 2002. Effect of environmental conditions on *Alopecurus myosuroides* germination. I. Effect of temperature and light. *Weed Res* , 42(3), 210-221.
- Duke, J.A., Handbook of Medicinal Herbs., CTC Press, Boca Raton (1985).
- Evers, G. W. 1991. Germination response of subterranean, berseem, and rose clovers to alternating temperatures. *Agron. J* 83:1000-1004.
- . Harling, G, 1951, Embryological studies in the compisitae, Anthemideae- Chrysantheminae. *Acta Horti Bergiani* 16:1-56.
- Iannucci, A., N. Di Fonzo., and P. Martiniello. 2000. Temperature requirements for seed germination in four annual clovers grown under two irrigation treatments. *Seed Sci. Technol* . 28: 59-66.
- Józefczyk, A., W. Markowski., M. Mardarowicz., and K. Glowniak, 1999. Preliminary GC/MS Study of the Essential Oil Isolated from *Chrysanthemum Maximum*. *Pharmaceutical Biol*, 37(1), 8-12.
- Kocabas, Z., J. Craigon and S. N. Azam-Ali. 1999. The germination response of Bambara groundnut (*Vigna subterranean (L) Verdo*) to temperature. *Seed Sci. Technol* . 27:303-313.
- Koocheki, A., M. Nassiri Mahallati., and P. Rezvani Moghaddam, 2006. Cardinal temperatures for Germination in Three Millet Species (*Panicum miliaceum*, *Pennisetum glaucum* and *Setaria italica*). *Asian. J of Plant Sci*.
- Kheirkhah, m., a. koochaki, p. rezvani moghadam., and m. nasiri mahalati, 2013. Determine the cardinal temperatures germination of medicinal of (*Ziziphora clinopodioides L*). *Iranian. J of A R*. 4: 385-392. (In Persian).
- Majd, A., Shoostari, M., Porpak, Z., and Moein, M. 2010. Evaluation of chemical combination essence in "Ramond *Chrysanthemum maximum*" Marguerite studied the chemical composition of essence of the plant of black composite various stages of development and compare Flower essence combinations and dairy pollen grains before and after the flowering season. *Journal of the of the Basic Knowledge Azad Islamic University* . 78/1:15-26. (In Persian) .
- Nia, n., and P. Rezvani Moghadam, 2009. Evaluation of temperatures minimum, optimum and The maximum germination *Kramb*. *Iranian Field Research. J.7: 451-456. (in farsi)*.
- Najafi, F., A. Koochaki., P. Rezvani Moghadam., and M. Rastgoo, 2007. Characterization of native and endangered medicinal plant germination of (*Nepeta binaludensis Jamza*). *J of AR*. 4:385-392. (In Persian) .
- Ramin, A. A. 1997. The influence of temperature on germination of taree Irani (*Allium ampeloprasum L. spp. Iranicum W*). *Seed Sci. Technol* . 25: 419-426.
- Tabrizi, L., M. Nasiri Mahalati, and A. Koochaki, 2004. Evaluation of temperatures minimum, optimum and The maximum germination *Plantago ovata* and *psyllium*. *Iranian Journal of Field Research Journal*. 2: 143-150. (In Persian) .
- Saha, P., S. Raychaudhuri., D. Mishra., A. Chakraborty., M. Sudarshan, 2008. Role of trace elements in somatic embryogenesis – A PIXE study. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*, 266(6), 918-920.
- Soltani, A., and V. Maddah, 2010. Simple, applied programs for education and research in agronomy. Shahid Beheshti University Press. (In Persian).
- Sohani, M. 1998. Seed Control and Certification. University Press Guilan.
- M.A. Tolyat, R. Tavakkol Afshari, M.R. Jahansoz, F. Nadjafi, H.A. Naghdibadi. 2014. Determination of cardinal germination temperatures of two ecotypes of *Thymus daenensis*. *Seed Sci. Technol*. 42:28-35.