

## تأثیر برخی از شرایط اقلیمی و خاکی بر کمیت و کیفیت اسانس اکوتیپ‌های مختلف آویشن دنايي (*Thymus daenensis* Celak subsp. *daenensis*)

جلال خورشیدی<sup>۱</sup>، مجید شکرپور<sup>۲\*</sup> و وحیده ناظری<sup>۳</sup>

۱. دانشجوی سابق دکتری، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج و استادیار، دانشکده کشاورزی، دانشگاه کردستان  
۲ و ۳. دانشیار و استاد، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج  
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۱/۲۶ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۲/۲)

### چکیده

آویشن دنايي (*Thymus daenensis* Celak subsp. *daenensis*) گیاهی است دارویی، اندمیک ایران و متعلق به خانواده نعناع که از میزان اسانس و تیمول اسانس بالایی برخوردار است. ارزیابی اکوتیپ‌های مختلف این گیاه به منظور شناسایی برترین اکوتیپ، از لحاظ بالاترین درصد اسانس و تیمول و نیز تعیین ارتباط خصوصیات خاکی و اقلیمی با کمیت و کیفیت اسانس آن به منظور شناسایی مناسب‌ترین اقلیم جهت تعیین محیط کشت ثانویه این گیاه جهت اهلی‌سازی امری ضروری به نظر می‌رسد. در این پژوهش، هشت منطقه (ملایر ۱، ملایر ۲، جوزان، اراک، خانه میران بالا، خانه میران پایین، شازند، زاغه) از مناطق پراکنش این گیاه انتخاب و مورد مطالعه قرار گرفت. اسانس نمونه‌های گیاهی جمع‌آوری شده از هر منطقه استخراج و پس از تعیین بازده اسانس، اجزای اسانس و مقادیر آنها به کمک دستگاه‌های GC و GC/MS مشخص گردید. ارتباط بین خصوصیات اقلیمی و خاکی مناطق مورد مطالعه با میزان اسانس و اجزای آن مورد بررسی قرار گرفت. نتایج بیانگر آن بود که اکوتیپ‌ها اختلاف معنی‌داری از لحاظ درصد اسانس با یکدیگر داشتند. بیشترین و کمترین درصد اسانس به ترتیب مربوط به اکوتیپ‌های اراک (۵٪) و ملایر ۲ (۲/۵٪) بود. جزو غالب اسانس همه اکوتیپ‌ها، تیمول بود و بیشترین و کمترین درصد تیمول به ترتیب در اسانس اکوتیپ‌های جوزان (۷۸/۸۸٪) و ملایر ۱ (۶۷/۱۶٪) مشاهده گردید. بین درصد اسانس با میانگین دمای روزانه، رس، سیلت و میزان آهک خاک همبستگی مثبت بالایی وجود داشت که این همبستگی‌ها می‌توانند در تعیین محیط کشت ثانویه این گیاه جهت اهلی‌سازی مفید واقع شوند.

واژه‌های کلیدی: آویشن دنايي، اندمیک، اهلی‌سازی، تیمول و نعناعیان.

## Influence of some climatic and soil conditions on essential oil quantity and quality of different *Thymus daenensis* Celak subsp. *daenensis* ecotypes

Jalal Khorshidi<sup>1</sup>, Majid Shokrpour<sup>2\*</sup> and Vahideh Nazeri<sup>3</sup>

1. Former Ph.D. Student, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran; Assistant Professor, University of Kurdistan, Iran

2, 3. Associate Professor and Professor, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

(Received: Feb. 14, 2017 - Accepted: Apr. 22, 2017)

### ABSTRACT

*Thymus daenensis* Celak subsp. *daenensis*, an endemic medicinal plant in Iran, belongs to Lamiaceae family that has a high essential oil content and high Thymol in essential oil. Evaluations of different ecotypes of this species in order to identify the paramount ecotype with the highest essential oil percentage and Thymol content and also correlations of edaphic and climate conditions with essential oil quantity and quality in order to identify the best conditions for domestication of this species were the aims of this study. In this study, essential oils of plants referred to eight natural habitat (Malayer 1, Malayer 2, Jovzan, Arak, Khane miran e bala, Khane miran e paien, Shazand and Zaghe) of this species extracted and measured (v/w%) and then compositions of essential oils were determined by GG and GC/MS instruments. Soil and climatic characteristics were identified and their correlations to essential oil content and compositions were calculated. Results showed that the ecotypes had significant difference in essential oil percentage. The highest and the lowest essential oil percentage were obtained in Arak (5%) and Malayer 2 (2.5%) ecotypes, respectively. Thymol was dominant component of essential oils of all ecotypes. The highest (78.88%) and the lowest (67.16%) amounts of Thymol were observed in ecotypes of Jovzan and Malayer 1, respectively. Positive correlations between the essential oil percentage with mean daily temperature, clay, silt and soil lime were found. These correlations explained that edaphic and climatic conditions had a significant effect on the quantity and quality of essential oil and could help us to identify the second culture conditions for domestication of this plant.

**Keywords:** Domestication, Endemic, Lamiaceae, Thymol, *Thymus daenensis* Celak.

\* Corresponding author E-mail: shokrpour@ut.ac.ir

### مقدمه

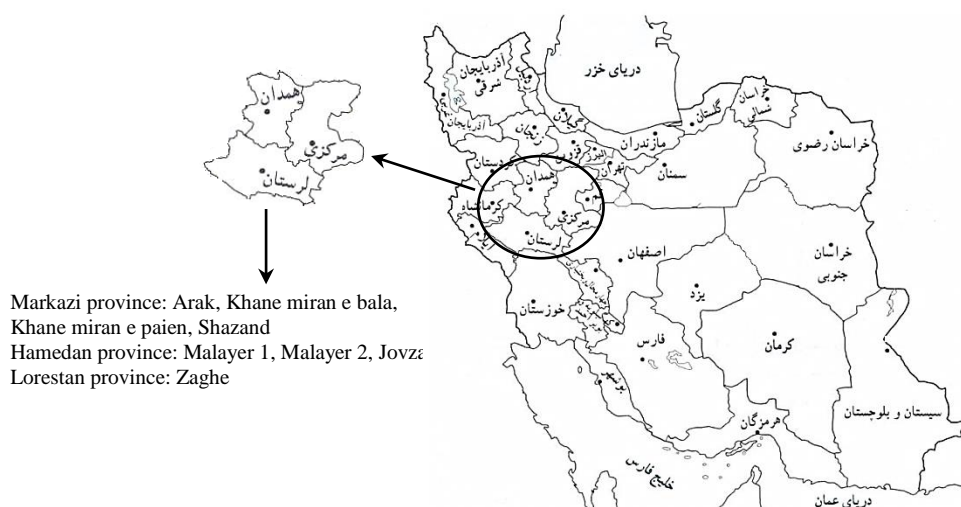
یکی از مهمترین اهداف اصلاح گیاهان دارویی بهبود و توسعه ژنوتیپ‌های برتر است. شناسایی ژنوتیپ‌های برتر بستگی به هدف اصلاحگر دارد. از جمله اهداف اصلاحی رایج در برنامه‌های گزینش می‌توان به بهبود عملکرد ماده خشک و خصوصیات مطلوب زراعی، بهبود کمی و کیفی ماده مؤثره، مقاومت به تنش‌های غیرزیستی مانند خشکی، شوری و سرما و مقاومت به تنش‌های زیستی شامل آفات و بیماری‌ها اشاره کرد. شناسایی توده‌های برتر از نظر کمیت و کیفیت ماده مؤثره از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. به این منظور لازم است که اکوتیپ‌های یک گونه هم در رویشگاه‌های طبیعی خود و هم در شرایط کشت یکسان مورد مطالعه قرار گیرند. همچنین ارزیابی تأثیر شرایط خاکی و اقلیمی به اصلاحگر کمک می‌نماید تا با فراهم‌نمودن نزدیک‌ترین شرایط به شرایط رویشگاه طبیعی گیاه، احتمال موفقیت در اهلی‌سازی آن گیاه افزایش یابد. آگاهی از میزان و چگونگی ارتباط کمیت و کیفیت ماده مؤثره با شرایط خاکی و اقلیمی در تعیین مناطق کشت گیاه جهت دستیابی به حداکثر بازده مواد مؤثره مفید واقع می‌شود (Rustaie, 2009). آویشن گیاهی اسانس‌دار از خانواده نعناع بوده که دارای خواص ضد نفخ، هضم‌کننده غذا، ضد اسپاسم، ضد سرفه، خلط‌آور، ضد قارچ، ضد باکتری و ضد انگل بوده و کاربردهای وسیعی در صنایع غذایی، دارویی و آرایشی بهداشتی دارد (Omidbaigi, 2005). آویشن دناپی (*Thymus daenensis* Celak subsp. *daenensis*) از گونه‌های اندمیک ایران است که هنوز اهلی نشده است. این گیاه در شمال غرب، مرکز و جنوب غرب ایران پراکنش دارد که بیانگر سازگاری بالای این گیاه با شرایط خاکی و اقلیمی مختلف است. آویشن دناپی علاوه بر سازگاری بالایی که دارد، در مقایسه با سایر گونه‌های آویشن، دارای اسانس و تیمول بیشتری است که برتری این گونه را در مقایسه با سایر گونه‌ها آشکار می‌سازد (Barazandeh & Bagherzadeh, 2007). برداشت بی‌رویه و غیر اصولی از جمعیت‌های عرصه طبیعی این گیاه، چراهای بی‌رویه و نیز حوادث طبیعی مثل آتش‌سوزی‌ها و

خشکسالی، روز به روز موجب کاهش جمعیت‌های این گونه باارزش می‌گردد. بنابراین ضروری به نظر می‌رسد که در جهت اهلی‌سازی این گیاه اقداماتی صورت گیرد. شناسایی اکوتیپ‌های برتر از نظر عملکرد ماده خشک و نیز کمیت و کیفیت اسانس، گام اول در اهلی‌سازی این گونه است (Rustaie, 2009). در ادامه جهت تعیین محیط کشت ثانویه این گیاه لازم است که مناسب‌ترین محیط انتخاب گردد تا فرایند اهلی‌سازی با موفقیت انجام گیرد. در ارتباط با تنوع فیتوشیمیایی و تأثیر شرایط خاکی و اقلیمی بر میزان و اجزای متابولیت‌های ثانویه گیاهان، به‌ویژه آویشن، مطالعات زیادی انجام شده است. در مطالعه Rustaie (2009) روی اکوتیپ‌های مختلف آویشن دناپی جمع‌آوری شده از رویشگاه‌های مختلف، بازده اسانس از ۱/۸ تا ۳/۸۳٪ متغیر بوده و نیز اجزای اسانس به‌شدت تحت تأثیر رویشگاه جمع‌آوری شده بود. در این بررسی بیشترین درصد اسانس و تیمول در اکوتیپ اراک و کمترین آن در اکوتیپ دنا وجود داشت. Barazandeh & Bagherzadeh (2007) اکوتیپ‌های مختلفی از آویشن دناپی را از مناطق مختلف استان اصفهان جمع‌آوری کرده و مورد ارزیابی قرار دادند. آنها اظهار داشتند که بازده اسانس از ۳/۰۵ تا ۳/۹٪ و نیز مقدار تیمول که از اجزای اصلی اسانس آویشن دناپی است از ۵۱/۳ تا ۷۸/۳٪ متغیر بود. Karimi et al. (2010) با بررسی تأثیر رویشگاه‌های مختلف اصفهان و چهارمحال بختیاری بر اجزای اسانس آویشن دناپی، به این نتیجه رسیدند که درصد تیمول همبستگی مثبت و معنی‌داری با ارتفاع از سطح دریا داشت، در حالی که کارواکرول تحت تأثیر ارتفاع از سطح دریا قرار نداشت. تنوع بالا و مشهودی در اسانس گرفته‌شده از چهار جمعیت آویشن (*Thymus caespititus*) جمع‌آوری شده از یک محدوده حدود ۲۰۰ متری با شیب یکسان از منطقه پیکو ورد کشور پرتغال مشاهده شد و بیان نمودند که علت آن ممکن است عوامل ژنتیکی و خاکی باشد (Pereira et al., 2000). Sajjadi & Khatamsaz (2003) با مطالعه روی اسانس استحصال شده از اندام‌های هوایی گونه *T. daenensis* که از همدان جمع‌آوری شده بود، اظهار

### مواد و روش‌ها

شناسایی مناطق پراکنش آویشن دناپی به کمک منابع انجام شد (Jamzad, 2010) و از بین آنها، سه استان مرکزی (اکوتیپ‌های اراک، خانه میران بالا، خانه میران پایین و شازند)، همدان (اکوتیپ‌های ملایر ۱، ملایر ۲ و جوزان) و لرستان (اکوتیپ زاغه) انتخاب شدند (شکل ۱). سپس به کمک نرم‌افزارهای Google earth، GIS و نقشه‌های Dem خصوصیات جغرافیایی هر منطقه استخراج گردید (جدول ۱). داده‌های هواشناسی نیز از نزدیکترین ایستگاه‌های هواشناسی به هر منطقه به‌دست آمد (جدول ۲). جهت جمع‌آوری نمونه‌های گیاهی (در مرحله تمام گل) و نمونه‌برداری از خاک، اوایل تیرماه به مناطق مورد نظر مراجعه کرده و نمونه‌برداری‌ها انجام گرفت. نمونه‌برداری گیاهی به‌صورت کاملاً تصادفی از جمعیت گیاهی موجود در هر منطقه انجام گرفت (Rustaie, 2009). شناسایی دقیق گونه گیاهی توسط گیاه‌شناس پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران خانم دکتر وحیده ناطری به کمک هرباریوم موجود در آن مکان انجام گرفت. از هر منطقه سه نمونه خاک از عمق ۳۰-۰ سانتی‌متر جمع‌آوری شده، سپس نمونه‌های خاک هر منطقه با هم مخلوط شده و نمونه حاصل آنالیز گردید. آنالیز نمونه‌های خاک در آزمایشگاه گروه خاک‌شناسی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران واقع در کرج انجام شد که نتایج آن در جدول ۳ آمده است.

داشتند که در میان ۴۳ ترکیب شناسایی شده، ۵ ترکیب تیمول (۷۳/۹٪)، کارواکرول (۶/۷٪)، پارا-سیمن (۴/۶٪)، بتا-بیسابولن (۱/۵٪) و ترپینن-۴-ال (۱/۴٪) بیشترین سهم را در بین اجزای تشکیل‌دهنده اسانس داشتند. Boira & Blanquer (1998) با مطالعه روی گونه‌ای از آویشن (*T. piperella*) در اسپانیا دریافتند که عوامل محیطی در ایجاد کموتایپ‌های مختلف بسیار تأثیر گذارند. در این بررسی سه کموتایپ پارا-سیمن/گاماترپینن/کارواکرول، پارا-سیمن/کارواکرول و پارا-سیمن/تیمول از این گونه معرفی شد. آنها همچنین دریافتند که همبستگی بالایی بین میزان کارواکرول با شاخص خشکی و ارتفاعات بالاتر و نیز بین میزان تیمول و میانگین بارندگی سالانه و میانگین دماهای بالاتر از صفر درجه سانتی‌گراد وجود داشت. Torras *et al.* (2007) با ارزیابی جمعیت‌های گیاهی *T. vulgaris* جمع‌آوری شده از مناطق مختلف کاتالونیا در اسپانیا، تأثیر ارتفاع از سطح دریا و رطوبت نسبی محیط را در ایجاد دو کموتایپ لینالول و ۸و۱-سینئول از این گونه گزارش کردند. در تحقیق حاضر، هشت اکوتیپ آویشن دناپی از لحاظ کمیت و کیفیت اسانس و نیز همبستگی مقادیر اسانس و تیمول با خصوصیات خاکی و اقلیمی به‌منظور شناسایی برترین اکوتیپ و مناسب‌ترین شرایط خاکی و اقلیمی برای کشت این گیاه، مورد ارزیابی قرار گرفتند.



شکل ۱. مناطق جمع‌آوری اکوتیپ‌های آویشن دناپی

Figure 1. Collecting sites of *Thymus daenensis* Celak subsp. *daenensis* ecotypes

جدول ۱. خصوصیات جغرافیایی مناطق مورد مطالعه اکوتیپ‌های آویشن دنايي

Province	Sites	Slope (%)	Slope side	Altitude	Latitude	Longitude
Hamedan	Malayer 1	16-24	Northeast	1844	34° 15' 00"	48° 35' 59"
	Malayer 2	9-16	Western	1891	34° 14' 49"	48° 35' 30"
	Jowzan	16-24	Northeast	1843	34° 15' 05"	48° 58' 25"
Markazi	Arak	19-28	Northern	2032	33° 59' 35"	49° 32' 56"
	Khane mirane bala	48-61	Western	2865	33° 59' 04"	49° 34' 04"
	Khane mirane paian	38-48	Northwest	2250	34° 59' 14"	49° 34' 05"
	Shazand	11-19	Northwest	1979	33° 54' 14"	49° 23' 48"
Lorestan	Zaghe	19-28	Southeast	1825	33° 45' 03"	49° 01' 06"

جدول ۲. داده‌های اقلیمی نزدیک‌ترین ایستگاه‌های هواشناسی به مناطق جمع‌آوری اکوتیپ‌های آویشن دنايي

Table 2. Climatic data obtained from the nearest weather stations to collecting sites of *Thymus daenensis* Celak subsp. *daenensis* ecotypes

Station	Daily mean temperature in first half of the year (°C)	Annual mean temperature (°C)	Annual minimum temperature (°C)	Annual maximum temperature (°C)	Mean humidity in first half of the year (%)	Annual mean humidity (%)	Rainfall in first mid of year (mm)	Annual rainfall (mm)	Number of sunny days in first half of the year	Number of cloudy days in first half of the year	Number of sunny hours in first half of the year
Malayer	17.32	13.43	-18.17	38.47	37.03	43.67	132.17	321.17	95.50	57.50	1424.17
Khoramabad	20.87	17.33	-8.07	43.17	39.07	44.50	161.67	455.83	97.83	55.17	1361.65
Arak	19.17	14.45	-18.63	40.17	37.83	45.50	118.47	289.65	91.67	61.33	1362.83

جدول ۳. اطلاعات آنالیز خاک مناطق جمع‌آوری اکوتیپ‌های آویشن دنايي

Table 3. Soil analysis data of collecting sites of *Thymus daenensis* Celak subsp. *daenensis* ecotypes

Region	Cu (mg/kg)	Mn (mg/kg)	Zn (mg/kg)	Fe (mg/kg)	K (mg/kg)	P (mg/kg)	Soil texture	Silt (%)	Clay (%)	Sand (%)	C (%)	N (%)	Lime (%)	EC (dS/m)	pH
Malayer 1	1.69	52.1	1.31	34.3	206	7.5	Sandy loam	25	13	62	1.41	0.14	13.4	0.48	8
Malayer 2	1.54	47.2	1.22	25.6	166	6.5	Sandy loam	27	14	59	1.43	0.15	14.5	0.39	8.1
Jowzan	1.22	30.3	0.62	8.1	108	6.8	Sandy loam	24	16	60	0.52	0.09	12.5	0.86	8
Arak	1.62	30	0.81	17.5	182	11.9	Loam	39	26	35	1.35	0.15	24.6	0.34	8
Khane miran e bala	1.38	32.7	0.63	17.7	140	6.6	Loam	39	26	35	0.85	0.11	23.2	0.33	8
Khane miran e paian	1.82	35.3	1.34	23.4	242	21.1	Loam	37	26	37	1.08	0.13	48.6	0.46	8.1
Shazand	3	91.1	19.6	49.6	735	65.5	Silt clay loam	52	33	15	2.8	0.3	4.1	0.71	8
Zaghe	2.95	64.2	1.04	18.6	700	22.2	Silt clay	45	46	9	1.51	0.18	13.4	0.83	8.1

ترکیب‌های موجود در اسانس توسط دستگاه GC/MS و اندازه‌گیری کمی ترکیب‌ها توسط دستگاه GC انجام گرفت. مشخصات دستگاه‌های GC و GC/MS و شرایط انجام کار به شرح زیر بود.

#### مشخصات دستگاه GC

از دستگاه کروماتوگراف گازی مدل TRACE GC مجهز به ستون از نوع DB-5 به طول ۳۰ متر و قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه نازک ۰/۲۵ میکرومتر استفاده شد. دمای آون به مدت ۶۰ ثانیه در ۶۰ درجه سانتی‌گراد نگه داشته شد و سپس تا ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۵ درجه سانتی‌گراد بر دقیقه افزایش یافت و به مدت ۱۰ دقیقه در این دما نگه داشته شد. دمای قسمت تزریق و آشکارساز

#### استخراج و شناسایی ترکیب‌های اسانس

نمونه‌های گیاهی پس از خشک‌شدن در شرایط سایه، خرد شده و سپس ۱۰۰ گرم نمونه خرد شده توسط دستگاه کلونجر و به روش تقطیر با آب طبق فارماکوپه بریتانیا به مدت ۳ ساعت اسانس‌گیری شدند (۳ تکرار از هر اکوتیپ) (Rustaie, 2009). درصد اسانس نمونه‌ها بر اساس حجم اسانس به دست آمده از ۱۰۰ گرم نمونه گیاهی (v/w) محاسبه گردید. اسانس‌های به دست آمده توسط سولفات سدیم خشک آبیگری شده و تا زمان آنالیز در یخچال نگهداری شدند. آنالیز اسانس‌ها توسط دستگاه‌های کروماتوگراف گازی (GC) و کروماتوگراف گازی متصل به جرم‌سنج توده‌ای (GC/MS) پژوهشکده گیاهان دارویی دانشگاه شهید بهشتی انجام شد. به این صورت که شناسایی

رویشگاه‌های مورد مطالعه نشان داد که در مناطقی که میزان آهک خاک بیشتر بود، گیاهان از درصد اسانس بیشتری برخوردار بودند. در بین اکوتیپ‌های استان مرکزی، بیشترین درصد اسانس مربوط به اکوتیپ اراک بود (۵ درصد) که احتمالاً به دلیل جهت شیب (شمالی) منطقه رویش آن باشد، چون نتایج همبستگی‌ها نیز نشان داد که بین تعداد ساعات آفتابی با درصد اسانس همبستگی منفی وجود داشت (جدول ۵). از لحاظ سایر خصوصیات خاکی و اقلیمی تفاوت چندانی بین منطقه رویشی اراک با سایر مناطق رویشی در استان مرکزی دیده نشد. در بین اکوتیپ‌های استان همدان، جوزان بیشترین درصد اسانس را دارا بود. از آنجا که تفاوت قابل توجهی از لحاظ خصوصیات اقلیمی و خاکی بین مناطق رویشی استان همدان وجود نداشت، احتمالاً این برتری می‌تواند ناشی از تفاوت‌های ژنتیکی این اکوتیپ‌ها باشد. در مطالعه Rustaie (2009) روی اکوتیپ‌های مختلف آویشن دناپی جمع‌آوری شده از رویشگاه‌های مختلف، بازده اسانس از ۱/۸ تا ۳/۸۳٪ گزارش شده است. همچنین Barazandeh & Bagherzadeh (2007) درصد اسانس اکوتیپ‌های مختلف این گونه را بین ۳/۰۵ تا ۳/۹ درصد گزارش کرده‌اند. بنابراین درصد اسانس اکوتیپ اراک (۵٪) در مقایسه با اکوتیپ‌های دیگر مطالعه شده توسط سایر محققین بالاتر بوده و لذا این اکوتیپ می‌تواند در مطالعات بعدی بیشتر مورد توجه قرار گیرد.

#### اجزای اسانس اکوتیپ‌ها

در اسانس اکوتیپ‌های مورد مطالعه ۳۰ ترکیب مختلف شناسایی گردید که ۹۹/۹۸٪ (ملایر ۱)، ۹۹/۹۹٪ (ملایر ۲)، ۹۹/۹۶٪ (جوزان)، ۹۹/۹۸٪ (اراک)، ۹۹/۹۹٪ (خانه میران بالا)، ۱۰۰٪ (خانه میران پایین)، ۹۹/۹۹٪ (زاغه) و ۱۰۰٪ (شازند) کل اسانس را تشکیل می‌دادند. ارزیابی اجزای اسانس اکوتیپ‌های مختلف بیانگر آن بود که در همه اکوتیپ‌ها، تیمول، کارواکرول، پارا-سیمن، گاما-ترپینن، ترانس-کاریوفیلین، بتا-میرسن و کارواکرول متیل اتر اجزای غالب اسانس بودند، ولی مقدار آنها در اکوتیپ‌های مختلف، متفاوت بود (جدول ۴). بیشترین

به ترتیب ۲۵۰ و ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد بود و از گاز نیتروژن با سرعت جریان ۱/۱ میلی‌متر بر دقیقه به عنوان گاز حامل استفاده شد.

#### مشخصات دستگاه GC/MS

از دستگاه کروماتوگراف گازی کوپل شده با طیف‌سنج جرمی Quadruple مجهز به ستون DB-5 به طول ۶۰ متر و قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه نازک ۰/۲۵ میکرومتر استفاده شد. دمای آون از ۶۰ درجه سانتی‌گراد تا ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۵ درجه سانتی‌گراد بر دقیقه افزایش یافت و به مدت ۱۰ دقیقه در ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد نگه داشته شد. دمای محفظه یونش ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد بود. از گاز حامل هلیوم با سرعت جریان ۱/۱ میلی‌متر بر دقیقه استفاده شد و از انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت استفاده گردید. شناسایی ترکیبات اسانس به کمک شاخص بازداری و طیف‌های جرمی ترکیبات استاندارد و نیز استفاده از کتابخانه‌های مختلف انجام گرفت و مقادیر هر یک از آنها براساس سطح زیر منحنی ترکیب مورد نظر در طیف کروماتوگرام به دست آمد.

بررسی تغییرات داده‌ها از طریق تجزیه واریانس به روش طرح ترتیبی (آشپانه‌ای) و انجام مقایسه میانگین به روش دانکن در سطح احتمال ۱٪ و تعیین روابط بین درصد اسانس و تیمول با خصوصیات اقلیمی و خاکی با استفاده از ضرایب همبستگی پیرسون انجام شد. کلیه تجزیه و تحلیل‌های آماری به کمک نرم افزار SPSS نسخه ۲۱ انجام گرفت.

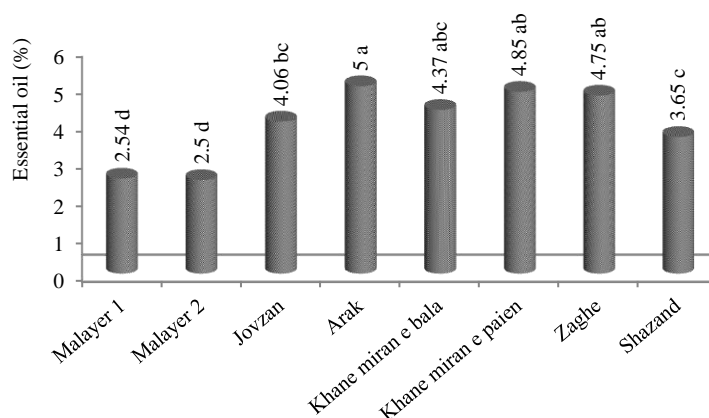
#### نتایج و بحث

##### میزان اسانس اکوتیپ‌ها

مقایسه درصد اسانس اکوتیپ‌های مختلف جمع‌آوری شده از عرصه طبیعی بیانگر تفاوت معنی‌دار میزان اسانس آنها بود (شکل ۲). بیشترین میانگین درصد اسانس مربوط به اکوتیپ‌های اراک (۵٪)، خانه میران پایین (۴/۸۵٪)، زاغه (۴/۷۵٪) و خانه میران بالا (۴/۳۷٪) بود. در حالی که کمترین میانگین درصد اسانس مربوط به اکوتیپ‌های ملایر ۱ (۲/۵۴٪) و ملایر ۲ (۲/۵٪) بود. مقایسه خصوصیات خاک

اکوتیپ نوسان زیادی دارد ولی اغلب همان‌طور که در بالا اشاره شد، چند جزء خاص اسانس هستند که اجزای غالب آنرا تشکیل می‌دهند. در مطالعه‌ای که Barazandeh & Bagherzadeh (2007) برای شناسایی اجزای اسانس چهار اکوتیپ آویشن دنیایی جمع‌آوری شده از استان اصفهان انجام دادند، دریافتند که در میان ۲۷ ترکیب شناسایی شده، تیمول (۷۸/۳-۱۰/۱-۵۱/۳٪)، پارا-سیمن (۷/۶-۲/۷٪)، گاماترپینن (۱۰/۱-۲/۷٪)، کارواکرول (۹/۲-۲٪) و بتاکاریوفیلن (۴/۳-۲/۴٪) ترکیب‌های غالب اسانس بودند. Karimi *et al.* (2010) ۲۲ اکوتیپ آویشن دنیایی را از مناطق مختلف اصفهان و چهارمحال‌بختیاری جمع‌آوری کرده و اسانس آنها را مورد ارزیابی قرار دادند و گزارش کردند که بیشترین میزان تیمول (۳۵/۸۹٪) مربوط به اکوتیپ شیخ شبان و بیشترین مقدار کارواکرول (۲۳/۵۳٪) مربوط به اکوتیپ لارک بود. در مطالعه دیگری، ترکیب‌های تیمول (۷۴/۷٪)، پارا-سیمن (۶/۵٪)، بتا-کاریوفیلن (۳/۸٪) و متیل- کارواکرول (۳/۶٪) ترکیب‌های غالب اسانس آویشن دنیایی گزارش شده‌اند (Nikavar *et al.*, 2004). Rustaie (2009) اسانس ۵ اکوتیپ آویشن دنیایی (همدان، الشتر، دنا، اراک و ملایر) را مورد بررسی قرار داد و نتیجه گرفت که ترکیب‌های تیمول، کارواکرول، گاما-ترپینن و پارا-سیمن به نسبت‌های مختلف به‌عنوان ترکیب‌های اصلی در تمام اکوتیپ‌ها بودند و در بین آنها تیمول (۳۵/۵-۷۸/۱٪) بیشترین مقدار را داشت.

میزان تیمول در اکوتیپ جوزان (۷۸/۸۸٪) و کمترین مقدار آن در اکوتیپ ملایر ۱ (۶۷/۱۶٪) مشاهده شد، در حالی که بیشترین مقدار کارواکرول (۱۲/۸٪)، پارا-سیمن (۶/۸۶٪)، گاما- ترپینن (۵/۵۱٪)، ترانس-کاریوفیلن (۵/۰۲٪)، بتا- میرسن (۱/۵۴٪) و کارواکرول متیل اتر (۵/۹۴٪) به‌ترتیب در اکوتیپ‌های ملایر ۲، ملایر ۱، شازند، ملایر ۱، شازند و ملایر ۱ مشاهده گردید و کمترین مقادیر کارواکرول، پ- سیمن، گاما- ترپینن، ترانس کاریوفیلن، بتا- میرسن و کارواکرول متیل اتر به‌ترتیب در اکوتیپ‌های جوزان (۰/۶۷٪)، ملایر ۲ (۳/۹۷٪)، خانه میران پایین (۱/۳۹٪)، جوزان (۲/۷۸٪)، ملایر ۲ (۰/۸۲٪) و زاغه (۰/۱۸٪) مشاهده شد. وجود مقادیر بسیار بالاتر کارواکرول در اکوتیپ ملایر ۲ در مقایسه با سایر اکوتیپ‌ها جالب‌توجه بوده و می‌تواند در اصلاح این گیاه از نظر این متابولیت حائز اهمیت باشد. مقادیر بالای تیمول اسانس آویشن دنیایی یکی از مهمترین ویژگی‌های اسانس این گیاه است که موجب برتری این گونه در مقایسه با سایر گونه‌های آویشن می‌باشد. به‌طور کلی بین میزان تیمول و کارواکرول اکوتیپ‌ها رابطه معکوس وجود داشت؛ به‌طوری که در اکوتیپ‌هایی که میزان تیمول بالا بود، میزان کارواکرول پایین و بالعکس. که کاملاً طبیعی است چون تیمول و کارواکرول ایزومر یکدیگر بوده و از پیش ماده‌های مشابهی به‌وجود می‌آیند. Rustaie (2009) نیز با مطالعه روی این گونه به نتایج مشابهی دست یافت. درصد اجزای اسانس آویشن دنیایی بسته به



شکل ۲. درصد اسانس اکوتیپ‌های آویشن دنیایی

Figure 2. Essential oil percentage of *Thymus daenensis* Celak subspecies *daenensis* ecotypes

شرایط، تولید ترکیب‌های محافظت‌کننده گیاه مانند مونوترپین‌ها که از اجزای اصلی اکثر اسانس‌ها هستند، افزایش می‌یابد (Lusia et al., 2006). درصد اسانس در مناطق با ارتفاع و شیب زیادتر، بیشتر و در مناطقی با میزان بارندگی بیشتر در طول دوره رشد گیاه کمتر بود. گزارش‌ها نشان داده که اسانس‌ها دارای ظرفیت گرمایی ویژه بالایی هستند و به گیاه در شرایط تنش خشکی (تولید گرما در گیاه) در ذخیره گرما و در نتیجه جلوگیری از آسیب دمایی کمک می‌کنند (Fasina & Colley, 2008).

همبستگی معنی‌داری بین درصد تیمول با خصوصیات اقلیمی مشاهده نگردید (جدول ۵). هر چند که گزارش‌هایی مبنی بر وجود همبستگی بین درصد تیمول با خصوصیات اقلیمی وجود دارد. همبستگی مثبت بین درصد تیمول و ارتفاع از سطح دریا در آویشن کوهی (*T. kotschyanus*) گزارش شده است (Habibi et al., 2006). Karimi et al. (2010) در مطالعه‌ای روی اکوتیپ‌های مختلف آویشن دناپی، تأثیر شرایط اقلیمی را روی درصد تیمول مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج آنها نشان‌دهنده وجود همبستگی مثبت بین ارتفاع از سطح دریا با درصد تیمول بود. همچنین آنها گزارش کردند که بین میزان بارندگی و متوسط دما با درصد تیمول همبستگی معنی‌داری وجود نداشت. مطالعه Hasani (2001) در استان کردستان نشان‌دهنده رشد و پراکنش بیشتر آویشن در مناطق کم‌باران می‌باشد. همچنین Saber Amoli et al. (2007) در مورد آویشن کرمانی (*T. carmanicus*) و Gholami & Askarzadeh (2005) در مورد آویشن شیرازی (*Zataria multiflora*) گزارش کرده‌اند که این گیاهان سازگاری بالایی در مناطق با بارندگی متوسط سالیانه پایین داشته و تغییرات بارندگی تأثیر چندانی بر درصد اسانس آنها ندارد.

نتایج تحقیقات Saber Amoli et al. (2007) بیانگر تأثیر کم عامل درجه حرارت بر توزیع جغرافیایی و میزان اسانس گونه‌های مختلف آویشن می‌باشد. از طرفی Yazdani & Shahnazi (2004) گزارش کرده‌اند که آویشن باغی (*Thymus vulgaris* L.) برای تولید کمی و کیفی مناسب نیاز به هوای ملایم و معتدل

در مطالعه حاضر، درصد تیمول در اسانس تا ۷۸/۸ درصد (در اکوتیپ جوزان) مشاهده گردید که این مقدار تیمول، کمتر در مطالعات انجام‌شده بر روی سایر گونه‌های آویشن دیده شده است. Yavari (2009) اسانس اکوتیپ‌های مختلف آویشن آذربایجانی (*Thymus migricus*) را مورد مطالعه قرار داد و بالاترین مقدار تیمول را ۷۲/۵٪ گزارش نمود. نتایج مطالعه صورت‌گرفته توسط Sefidkon et al. (2005) روی گونه *Thymus eriocalyx* جمع‌آوری‌شده از نقاط مختلف ایران نشان داد که بالاترین مقدار تیمول در این گونه ۵۸/۴٪ بود. در مورد آویشن کرمانی (*Thymus carmanicus*) نیز بیشترین میزان تیمول در ۶۲/۸۱٪ گزارش شده است (Bigdeloo, 2011). Mondak (2014) اسانس گونه‌های *T. pubescence*، *T. kotschyanus*، *T. vulgaris* و *T. lancifolius* را مورد بررسی قرار داد و میانگین درصد تیمول در اسانس آنها را به ترتیب ۴۴، ۵۰/۳، ۳۴/۵ و ۵۸/۵٪ گزارش نمود.

#### همبستگی بین درصد اسانس و تیمول با خصوصیات اقلیمی

عواملی مانند نور، رطوبت، آب و ارتفاع از سطح دریا از جمله عوامل اساسی و تعیین‌کننده کمیت و کیفیت مواد مؤثره دارویی در گیاهان هستند (Koochaki & Alizadeh, 1995). شرایط اقلیمی منطقه رویش گیاه با تأثیر بر میزان فتوسنتز، تنفس و نیز خصوصیات رشدی و مورفولوژیکی گیاه می‌تواند روی محتوی اسانس و نیز اجزای آن تأثیرگذار باشد (Saharkhiz, 2002). آگاهی از نوع و میزان همبستگی بین ماده مؤثره و خصوصیات اقلیمی به اصلاحگر در تعیین مکان ثانویه گیاه در جهت اهلی‌سازی کمک شایانی می‌کند. نتایج همبستگی بین درصد اسانس و تیمول با خصوصیات اقلیمی نشان داد که درصد اسانس اکوتیپ‌ها رابطه مثبت و معنی‌دار با میانگین دمای روزانه و میزان تیمول و رابطه منفی با تعداد ساعات آفتابی داشت. به‌طور کلی افزایش دما در اغلب گونه‌های گیاهی باعث افزایش بیوسنتز اسانس‌ها می‌شود. در چنین شرایطی گیاه تحت تنش ملایم گرمایی و خشکی قرار می‌گیرد و برای مقابله با این

متمایل به گرم، خشک و آفتابی دارد. نتایج حاصل از این تحقیق با نتایج Saber Amoli *et al.* (2007) مغایر و با نتایج Yazdani & Shahnazi (2004) موافق بود

بیانگر واکنش‌های متفاوت گونه‌های مختلف آویشن به شرایط محیطی می‌باشد که آن‌هم می‌تواند به دلیل تنوع ژنتیکی بین گونه‌های باشد.

جدول ۴. درصد اجزای اسانس اکوتیپ‌های مختلف آویشن دنیایی

Table 4. Essential oil components of different *Thymus daenensis* Celak subsp. *daenensis* ecotypes

No	Component	RI	Shazand (%)	Zaghe (%)	Khane miran e paen (%)	Khane miran e bala (%)	Arak (%)	Jowzan (%)	Malayer 2 (%)	Malayer 1 (%)
1	$\alpha$ -Thujene	926	0.17	0.07	0.11	0.06	0.07	0.13	0.03	0.2
2	$\alpha$ -Pinene	934	0.81	0.46	0.81	0.61	0.59	0.47	0.37	0.62
3	Camphene	949	0.23	0.06	0.69	0.22	0.33	0.1	0.08	0.14
4	$\beta$ -Pinene	978	0.21	0.08	0.16	0.09	0.08	0.09	0.06	0.18
5	$\beta$ -Myrcene	990	1.54	1.29	1.05	1.28	1.17	1.29	0.82	1.25
6	$\alpha$ -Phellandrene	1006	0.22	0.19	0.19	0.19	0.19	0.18	0.11	0.19
7	$\alpha$ -Terpinene	1017	1.32	1.23	0.76	0.95	0.96	0.87	0.67	1.00
8	p-Cymene	1026	4.87	5.67	5.27	5.42	5.13	4.65	3.97	6.86
9	D-Limonene	1029	0.15	0.12	0.15	0.12	0.12	0.12	0.40	0.14
10	1,8-Cineole	1032	2.17	0.45	1.63	1.45	0.57	0.24	0.38	1.99
11	$\gamma$ -Terpinene	1059	5.51	4.46	1.39	3.32	3.36	2.83	2.43	3.97
12	cis-Sabinene hydrate	1068	0.18	0.16	0.22	0.14	0.15	0.12	0.05	tr
13	$\alpha$ -Terpinolene	1090	0.17	0.14	0.19	0.15	0.14	0.16	0.12	0.15
14	Linalool	1101	0.56	0.34	0.51	0.52	0.34	0.35	0.56	0.41
15	Borneol	1171	0.06	tr	0.05	0.02	tr	tr	tr	0.04
16	4-Terpineol	1182	0.68	0.43	2.14	0.97	1.1	0.46	0.64	1.07
17	$\alpha$ -Terpineol	1203	0.01	tr	0.02	0.04	0.05	0.03	0.01	0.03
18	Carvacrol methyl ether	1249	0.42	0.18	1.85	3.51	2.45	4.62	3.45	5.94
19	Thymol	1309	71.97	75.45	72.43	73.74	74.51	78.88	67.37	67.16
20	Carvacrol	1312	2.94	3.70	4.19	1.60	1.7	0.67	12.8	1.09
21	trans-Caryophyllene	1427	4.08	3.1	4.45	3.20	4.75	2.78	4.86	5.02
22	Aromandendrene	1444	0.13	0.12	0.2	0.12	0.18	0.08	0.05	0.12
23	$\alpha$ -Humulene	1458	0.12	0.1	0.13	0.1	0.14	0.08	0.07	0.14
24	Ledene	1498	0.12	0.1	0.17	0.12	0.16	0.08	0.04	0.11
25	$\beta$ -Bisabolene	1509	0.20	0.33	0.01	0.12	0.11	0.04	0.03	0.09
26	(E)- $\alpha$ -Bisabolene	1544	0.41	0.53	0.14	0.52	0.26	0.07	0.06	0.03
27	Spathulenol	1584	0.01	0.03	0.02	0.02	0.02	tr	0.04	0.02
28	Caryophyllene oxide	1590	0.53	0.74	0.61	0.94	0.69	0.48	0.46	1.43
29	$\alpha$ -Cadinol	1661	0.06	0.02	0.02	tr	0.02	0.01	0.01	0.17
30	Bis(2-ethylhexyl) phthalate	1696	0.16	0.44	0.45	0.45	0.64	0.08	0.05	0.42
Total			100	99.99	100	99.99	99.98	99.96	99.99	99.98

Trace tr یا ناچیز (مقادیر کمتر از ۰.۰۱٪).

جدول ۵. همبستگی درصد اسانس و تیمول با خصوصیات اقلیمی مناطق جمع‌آوری اکوتیپ‌های آویشن دنیایی

Table 5. Correlation of essential oil and Thymol percentage with climatic conditions of collecting sites of *Thymus daenensis* Celak subsp. *daenensis* ecotypes

	Essential oil (%)	Thymol (%)
Thymol	0.752*	
Altitude (m)	0.343	0.093
Slope (%)	0.522	0.217
Daily mean temperature in first half of the year (°C)	0.736*	0.378
Annual mean temperature (°C)	0.575	0.359
Annual minimum temperature (°C)	0.274	0.265
Annual maximum temperature (°C)	0.653	0.374
Mean humidity in first half of the year (%)	0.673	0.376
Annual mean humidity (%)	0.685	0.229
Rainfall in first half of year (mm)	-0.042	0.135
Annual rainfall (mm)	0.108	0.200
Number of sunny days in first half of the year	-0.340	-0.012
Number of cloudy days in first half of the year	0.340	0.012
Number of sunny hours in first half of the year	-0.777*	-0.327

\* Significant correlation at 5% of probability level.

\*: همبستگی معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد.



نتایج تحقیق حاضر و نیز سایر مطالعات انجام شده بر روی آویشن دناپی، نشان‌دهنده سازگاری بالای این گونه گیاهی با اکثر شرایط خاکی بوده و به‌خوبی می‌تواند در هر نوع خاکی رشد کرده و تولید بهینه‌ای داشته باشد. بدیهی است که فراهم‌کردن بهترین شرایط خاکی برای این گیاه، دستیابی به بالاترین کمیت و کیفیت ماده مؤثره را به دنبال خواهد داشت.

جدول ۶ همبستگی بین درصد اسانس و تیمول اکوتیپ‌های مختلف آویشن دناپی با خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک  
Table 6. Correlation between essential oil and Thymol percentage of different *Thymus daenensis* Celak subsp. *daenensis* ecotypes with physical and chemical characteristics of soil

	Essential oil (%)	Thymol (%)
Thymol (%)	0.752*	
pH	0.057	-0.196
EC (ds/m)	0.097	0.535
Lime (%)	0.511	0.045
N (%)	-0.110	-0.213
C (%)	-0.226	-0.374
Sand (%)	-0.592	-0.320
Clay (%)	0.633	0.405
Silt (%)	0.501	0.202
P (mg/kg)	0.078	0.006
K (mg/kg)	0.141	0.066
Fe (mg/kg)	-0.460	-0.613
Zn (mg/kg)	-0.146	-0.106
Mn (mg/kg)	-0.292	-0.271
Cu (mg/kg)	0.140	-0.003

\*: همبستگی معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد.

\* Significant correlation at 5% of probability level.

### نتیجه‌گیری کلی

بر اساس نتایج حاصل از این تحقیق و نیز مطالعات انجام‌شده توسط سایر محققین (Karimi *et al.*, 2010; Barazandeh & Bagherzadeh, 2007)، آویشن دناپی گیاهی متحمل به اغلب شرایط اقلیمی و خاکی بوده، به‌طوری‌که در مناطق با بارندگی کم تا زیاد (۲۸۹ تا ۴۵۵ میلی‌متر)، میانگین دمای سالیانه نسبتاً کم تا زیاد (۱۳ تا ۱۷ درجه سانتی‌گراد)، خاک‌های با pH بالا (۸/۱)، خاک‌های با بافت سبک شنی تا سنگین سیلتی رسی و نیز فقیر از لحاظ مواد غذایی رویش داشته و زمستان‌های بسیار سرد (۱۸- درجه سانتی‌گراد) و تابستان‌های بسیار گرم (۴۳ درجه سانتی‌گراد) را تحمل می‌نماید. ضمن این‌که این گیاه دارای درصد اسانس (تا ۵٪) و تیمول بسیار بالایی (تا ۷۸/۸۸٪) بوده که در بین سایر گونه‌های آویشن کمتر

### همبستگی بین درصد اسانس و تیمول با خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک

پی بردن به ارتباط بین درصد ماده مؤثره و اجزای آن با خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک این امکان را به ما می‌دهد که برای دستیابی به بالاترین کمیت و کیفیت ماده مؤثره، مناسب‌ترین شرایط خاکی را برای گیاه فراهم کنیم. نتایج همبستگی درصد اسانس و تیمول با خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک‌های مناطق رویش اکوتیپ‌ها نشان داد که بین درصد اسانس با میزان آهک، رس و سیلت ارتباط مثبت و با میزان شن ارتباط منفی وجود داشت، به‌عبارت دیگر میزان اسانس در خاک‌های سنگین با آهک بالاتر در مقایسه با خاک‌های با بافت سبک‌تر و آهک پایین‌تر، بیشتر بود (جدول ۶). نتایج تحقیق Baranauskiene *et al.* (2003) نشان داد که نیتروژن تأثیر مثبت بر روی تولید اسانس در آویشن باغی (*Thymus vulgaris*) دارد. در گزارش Yavari (2009) آمده است که در آویشن آذربایجانی میزان اسانس با غلظت کلسیم و پتاسیم، درصد شن و ماده آلی همبستگی مثبت و با درصد سیلت و رس همبستگی منفی داشت. Thompson *et al.* (2003) نیز تأثیر مثبت کلسیم را بر تولید اسانس در آویشن باغی گزارش کرده‌اند. میزان تیمول که از اجزای اصلی و مؤثر اسانس این گیاه است، همبستگی مثبتی با سنگین‌بودن بافت خاک و هدایت الکتریکی و همبستگی منفی با میزان آهن خاک نشان داد. Karimi *et al.* (2010)، pH مناسب برای آویشن دناپی را حدود ۷/۳۸-۸/۰۵ گزارش کرده و عنوان کرده‌اند که عوامل خاکی تأثیر معنی‌داری روی درصد تیمول نداشتند.

در منطقه طالقان تحقیقی روی آویشن کوهی (*T. kotschyanus*) انجام شد که نتایج آن بیانگر وجود همبستگی مثبت کلسیم، سدیم، منیزیم و پتاسیم با میزان اسانس و عدم همبستگی میزان این عناصر با درصد تیمول است (Habibi *et al.*, 2006). رشد آویشن در خاک‌های سیلیسی با ترکیب‌های آهکی زیاد (Weeler *et al.*, 2007)، خاک‌های شنی رسی سنگلاخی (Hasani, 2001) و خاک‌های لومی شنی (Saber Amoli *et al.*, 2007) گزارش شده است.

لحاظ عملکرد ماده خشک بیشتر و نیز درصد اسانس و تیمول بالاتر، لازم است که همه اکوتیپها در شرایط کشت یکسان مورد مطالعه قرار گیرند تا به نتیجه مطمئنتری دست یافت.

### سپاسگزاری

از دانشگاه تهران به خاطر حمایت‌های مالی جهت انجام این تحقیق و همچنین از آقایان دکتر فواد فاتحی و مهندس خسرو مفاخری که در انجام این تحقیق کمک‌های زیادی داشتند، تشکر و قدردانی می‌گردد.

دیده می‌شود. نتایج همچنین نشان داد که درصد اسانس این گیاه تحت تأثیر شرایط اقلیمی و خاکی بوده و در مناطقی با میانگین دمای روزانه بیشتر و خاک‌های آهکی با بافت به نسبت سنگین، میزان اسانس بالاتر بود که این مهم می‌تواند در اهلی‌سازی و تعیین محیط کشت ثانویه این گونه گیاهی حائز اهمیت باشد. جزو غالب اسانس همه اکوتیپها تیمول بود، ولی این جزو مهم اسانس تحت تأثیر معنی‌دار شرایط اقلیمی و خاکی قرار نداشت. اکوتیپ اراک و جوزان به ترتیب بیشترین درصد اسانس و تیمول را دارا بودند؛ ولی برای شناسایی اکوتیپ برتر از

### REFERENCES

1. Baranauskienė, R., Venskutonis, P. R., Viskelis, P. & Dambrauskienė, E. (2003). Influence of nitrogen fertilizers on the yield and composition of thyme (*Thymus vulgaris*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 7751-7758.
2. Barazandeh, M. & Bagherzadeh, K. (2007). Evaluation of essential oil chemical components of *Thymus daenensis* Celak. collected from four regions in Esfahan province. *Journal of Medicinal Plant*, 6 (3), 15-19. (in Farsi)
3. Bigdeloo, M. (2011). *Evaluation of morphological, genetically and phytochemical variation of Thymus carmanicus*. M.Sc. Thesis. Horticultural Department, Faculty of Agricultural Science and Engineering. University of Tehran. (in Farsi)
4. Boira, H. & Blanquer, A. (1998). Environmental factors affecting chemical variability of essential oils in *Thymus piperella* L. *Biochemical Systematics and Ecology*, 26, 811-822.
5. British pharmacopoeia. (1988). *British pharmacopoeia*. Vol. 2, London: HMSO, 137-138.
6. Fasina, O. O. & Colley, Z. (2008). Viscosity and specific heat of vegetable oils as a function of temperature: 35°C to 180°C. *International Journal of Food Properties*, 11, 738-746.
7. Gholami, B. & Askarzadeh, M. (2005). Study of some ecological characteristics of four medicinal plant species in dry and desert regions of Khorasan. National Congress on Sustainable Development, 27-29 July, Mashhad, Iran, pp. 117-118. (in Farsi)
8. Habibi, H., Mazaheri, D., Majnoon Hosseini, N., Chaichi, M. & Fakhr Tabatabaiee, M. (2006). Effect of altitude on essential oil and components of wild thyme (*Thymus kotschyanus* Boiss.) in Taleghan region. *Pajouhesh va Sazandegi*, 70, 1-10. (in Farsi)
9. Hasani, J. (2001). Ecological study of two genres *Thymus* and *Ziziphora* in Kurdistan province. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 20 (1), 1-17. (in Farsi)
10. Jamzad, Z. (2010). *Thymes and savories of Iran*. Research Institute of Forests and Rangelands. 171 pp. (in Farsi)
11. Karimi, A., Ghasemi Pirbalouti, A., Malekpour, F., Yousefi, M. & Golparvar, A. R. (2010). Study of ecotypic and chemotypic of *Thymus daenensis* Celak. in Esfahan and Chaharmahal bakhtiari provinces. *Journal of Herbal Drugs*, 3, 1-10. (in Farsi)
12. Koochaki, A. & Alizadeh, M. (1995). *Principle of agronomy in dry regions*. Astan Quds Razavi. 260 pp.
13. Lusía, J., Uelas, J. P., Alessio, G. A. & Estiarte, M. (2006). Seasonal contrasting changes of foliar concentrations of terpenes and other volatile organic compounds in four dominant species of a mediterranean shrubland submitted to a field experimental drought and warming. *Physiologia Plantarum*, 127, 632-649.
14. Mondak, B. (2014). *Study of hybridization, genetic and phytochemical variation of indigenous Thyme in Iran*. M.Sc. Thesis. Agronomy and Breeding Department, Faculty of Agricultural Science and Engineering. University of Tehran. (in Farsi)
15. Nikavar, B., Mojab, F. & Dovlatabadi, R. (2004). Study of essential oil components of *Thymus daenensis* Celak. *Journal of Medicinal Plants*, 4(13), 45-50. (in Farsi)
16. Omidbaigi, R. (2005). *Production and processing of medicinal plants*. Astane ghodse Razavi. 395 pp. (in Farsi)
17. Pereira, S. I., Santos, P. A. G., Barroso, J. G., Figueiredo, A. C., Pedro, L. G., Salgueiro, L. R., Deans, S. G. & Scheffer, J. J. C. (2000). Chemical polymorphism of the essential oils from populations of *Thymus caespitosus* grown on the island S. Jorge (Azores). *Phytochemistry*, 55, 241-246.

18. Rustaie, A. (2009). *The effect of ecological conditions on morphologic and phytochemical properties in Thymus daenensis Celak*. M.Sc. Thesis. Tehran University, Iran. (in Farsi)
19. Saber Amoli, S., Nowroozi, Sh., Shekarchian, A., Akbarzadeh, M. & Kodoori, M. (2007). Identification and study of ecological characteristics of Lamiaceae species in Kerman province. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 23(4), 532-543. (in Farsi)
20. Saharkhiz, M. J. (2002). *Effect of harvesting time on Pimpinella anisum essential oil and components*. M.Sc. thesis. Faculty of Agriculture, University of Tarbiat Modarres, Iran. (in Farsi)
21. Sajjadi, S. E. & Khatamsaz, M. (2003). Composition of the essential oil of *Thymus daenensis* Celak subsp. *lancifolius* (Celak) Jalas. *Journal of Essential Oil Research*, 15, 34-35.
22. Sefidkon, F., Kalvandi, R., Atri, M. & Barazandeh, M. M. (2005). Essential oil variability of *Thymus eriocalyx* (Ronniger) Jalas. *Flavour and Fragrance Journal*, 20, 521-524.
23. Thompson, J. D., Chalchat, J. C., Michet, A., Linhart, Y. B. & Ehlers, B. (2003). Qualitative and quantitative variation in monoterpene co-occurrence and composition in the essential oil of *Thymus vulgaris* chemotypes. *Journal of Chemical Ecology*, 29, 859-880.
24. Torras, J., Grau, M. D., Lopez, J. F. & Heras, F. X. C. (2007). Analysis of essential oils from chemotypes of *Thymus vulgaris* in Catalonia. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87, 2327-2333.
25. Weeler, G. S., Pratt, P. D., Giblin-Davis, R. M. & Ordnung, K. M. (2007). Intra specific variation of *Melaleuca quinquenervia* leaf oils in its naturalized range in Florida, the Caribbean, and Hawaii. *Biochemical Systematics and Ecology*, 35, 489-500.
26. Yavari, A. (2009). *Evaluation of morphological, molecular, ploidy level and phytochemical variation of Thymus migricus Klokov & Des-Shost in Iran*. M.Sc. Thesis. Horticultural Department, Faculty of Agricultural Science and Engineering. University of Tehran. (in Farsi)
27. Yazdani, D., Shahnazi, S. & Seifi, H. (2004). *Planting, cultivation and harvesting of medicinal plants*. Shahid Beheshti University. Jahad Daneshgahi. 178 pp.