Journal of Rangeland

Print ISSN: 2008-0891

Online ISSN: 2676-5039

Characterization and Quantification of Predominant Active Substances in Different Phenological Stages of Two *Thymus daenensis* Chemotypes through LC-MS/MS and GC

Hosein Ahmadi[1], Mohammad Reza Fatahi Moghadam*[2], Zabihollah Zamani[1], Majid Shokrpour[1], Esfandiar Jahantab[3], Mohammad Reza Morshedloo[4]

1. Department of Horticulture Science, Faculty of Agriculture and Natural Sciences, University of Tehran, Karaj, Iran.
2. Corresponding author; Department of Horticulture Science, Faculty of Agriculture and Natural Sciences, University of Tehran, Karaj, Iran. E-mail: fattahi@ut.ac.ir
3. Department of Range and Watershed Management (Nature Engineering), Faculty of Agriculture, Fasa University, Fasa, Iran.
4. Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, University of Maragheh, Maragheh, Iran.

Article Info

Article type:
Research Full Paper

2024; Vol 17, Issue 4

Article history:
Received: 02.10.2023
Revised: 29.12.2023
Accepted: 28.01.2024

Keywords:
Thymus daenensis,
thymol,
carvacrol,
Rosmarinic acid,
metabolic fluctuation.

Abstract

Background and objectives: *Thymus daenensis*, a thymol-rich thyme, is one of four endemic species of this genus in Iran, known for its pharmaceutical properties such as expectorant influence, antimicrobial, antifungal, and anti-inflammatory effects, primarily attributed to its metabolically active substances. This study aims to characterize and quantify the predominant active substances in different phenological stages of two Thymus daenensis chemotypes through LC-MS/MS and GC.

Methodology: Six genotypes from two phytochemically extreme Thymus daenensis Celak ecotypes (Zagheh and Malayer) were vegetatively propagated through stem cuttings (using 1000 ppm IBA hormone) in a greenhouse. Each clone consisted of at least eight individual plants. After well-rooted cuttings were transferred to eight-liter pots for further growth until cultivation in the farm. In the field, plants were adequately watered through drip irrigation and fertilized with 20:20:20 (N:K:P) fertilizer. Essential oil (EO) content, phenols, flavonoids, percentage of EO components, and antioxidant capacity of methanolic extracts were assessed in these clones at different phenological stages (vegetative, flower budding, early flowering, and full flowering) and in two organs (leaves and flowers). The data were analyzed using a two-factor full factorial experiment based on a completely randomized design (CRD).

Results: Malayer ecotype exhibited higher fresh weight, dry weight, vertical growth form, and significantly (65%) higher EO content than Zagheh ecotype. GC-MS analysis identified 24 constituents accounting for over 95% of essential oils, with thymol, carvacrol, carvacrol methyl ether, p-cymene, and γ-terpinene as the major components. Thymol content was 33% higher in Malayer ecotype (thymol chemotype) than Zagheh ecotype (thymol/carvacrol chemotype), while carvacrol content in Zagheh ecotype (~15%) was 13 times higher than Malayer ecotype. The highest amounts of thymol-carvacrol and p-cymene-γ-terpinene were observed in early flowering and vegetative stages, respectively. EO content and antioxidant properties peaked at the full flowering stage, with higher values in flower tissues

[Downloaded from rangelandsrm.ir on 2026-11-25]

[DOR: 20.1001.1.20080891.1402.17.4.9.4]

than leaves. Regression analysis revealed negative and second-order relationships between p-cymene and thymol content, and between γ-terpinene and thymol content, as well as a significant linear relationship between p-cymene and γ-terpinene content. LC-MS/MS analysis identified 14 polyphenols and flavonoids, with rosmarinic acid and caffeic acid quantified through HPLC-PDA. Rosmarinic acid content was higher in Malayer samples, while Zagheh showed higher caffeic acid content, both peaking at early and full flowering stages.

Conclusion: Harvesting Thymus daenensis at the early flowering stage (~20% of flowers opened) is recommended for the highest biomass, EO, and thymol/carvacrol content. However, for higher antioxidant properties and phenols, harvesting at the full flowering stage (~90% of flowers opened) is advisable. Generally, the Malayer ecotype exhibited relative superiority in performance and essential oil production.

Cite this article: Ahmadi, H., M.R. Fatahi Moghadam, Z. Zamani, M. Shokrpour, E. Jahantab, M.R. Morshedloo, 2024. Characterization and Quantification of Predominant Active Substances in Different Phenological Stages of Two Thymus daenensis Chemotypes through LC-MS/MS and GC. Journal of Rangeland, 17(4): 640-664.

© The Author(s).
DOR: 20.1001.1.20080891.1402.17.4.9.4
Publisher: Iranian Society for Range Management

[Downloaded from rangelandsrm.ir on 2026-11-25]

[DOR: 20.1001.1.20080891.1402.17.4.9.4]

مـــرتـــع

شاپا چاپی: ۰۸۹۱-۲۰۰۸

شاپا الکترونیکی: ۵۰۳۹-۲۶۷۶

شناسایی و کمیت‌سنجی ترکیبات موثره غالب دو کموتایپ آویشن دنایی در مراحل مختلف فنولوژی به کمک LC-MS/MS و GC

حسین احمدی[۱]، محمدرضا فتاحی مقدم*[۲]، ذبیح اله زمانی[۱]، مجید شکرپور[۱]، اسفندیار جهانتاب[۳]، محمدرضا مرشدلو[۴]

۱. گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکدگان کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران.

۲. نویسنده مسئول، گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکدگان کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران. رایانامه: fattahi@ut.ac.ir

۳. گروه مرتع و آبخیزداری (مهندسی طبیعت)، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فسا، فسا، ایران.

۴. گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه مراغه، مراغه، ایران.

اطلاعات مقاله

نوع مقاله:
مقاله کامل – پژوهشی

۱۴۰۲؛ جلد ۱۷، شماره ۴

تاریخ دریافت ۱۴۰۲/۰۷/۱۰
تاریخ ویرایش: ۱۴۰۲/۱۰/۰۸
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۱/۰۸

واژه‌های کلیدی:
آویشن دنائی،
تیمول،
کارواکرول،
پی-سایمن،
نوسان متابولیکی.

چکیده

سابقه و هدف: آویشن دنائی یکی از چهار گونه اندمیک و ارزشمند جنس آویشن با محتوای بالای تیمول است که به علت وجود طیف وسیعی از متابولیت‌های فعال دارای خواص دارویی ویژه‌ای نظیر خلط‌آوری، ضدمیکروبی، ضدقارچی، ضدالتهاب است. هدف از تحقیق حاضر شناسایی و کمیت سنجی ترکیبات موثره غالب دو کموتایپ آویشن دنایی در مراحل مختلف فنولوژی به کمک LC-MS/MS و GC می‌باشد.

مواد و روش‌ها: شش ژنوتیپ اکستریم از دو اکوتیپ زاغه و ملایر با قلمه ساقه در گلخانه به صورت کلونی (روش رویشی) و با استفاده از ۱۰۰۰ پی. پی.ام هورمون ایندول بوتریک اسید در گلخانه تکثیر شدند. هر کلون حداقل از ۸ گیاه منفرد تشکیل شده بود. پس از ریشه‌دار شدن قلمه‌ها، آنها به گلدان‌های هشت لیتری بزرگتر جهت رشد بهتر منتقل شدند و تا زمان کشت در مزرعه در گلخانه باقی ماندند. در مزرعه، گیاهان به خوبی با آبیاری قطره‌ای و محلول کود تغذیه شدند. در نهایت محتوای اسانس، مواد فنلی و فلاونوئیدی، درصد اجزای اسانس و ظرفیت آنتی اکسیدانی عصاره متانولی کلون‌های این اکوتیپ‌ها در چهار مرحله فنولوژیک (رویشی، غنچه‌دهی، اوایل گلدهی و گلدهی کامل) و در دو بافت (برگ و گل) مورد ارزیابی قرار گرفتند. داده‌های حاصل شده بر اساس یک آزمایش فاکتوریل دو عاملی بر مبنای طرح کاملاً تصادفی آنالیز شدند.

نتایج: مقایسه میانگین اثرات اصلی نشان داد که اکوتیپ ملایر در مقایسه با اکوتیپ زاغه علاوه بر داشتن وزن تر و خشک بیشتر، به طور معنی‌داری دارای محتوای اسانس (۶۵ درصد بیشتر) و تیمول بیشتری نیز بود. آنالیز کروماتوگرافی گازی- طیف سنجی جرمی توانست در مجموع ۲۴ ترکیب را که بیش از ۹۵ درصد اسانس را پوشش می‌دادند، شناسایی کند. تیمول، کارواکرول، کارواکرول متیل اتر، پی سایمن، و گاماترپینن از اجزای اصلی اسانس‌ها بودند. نتایج نشان داد که محتوای تیمول اکوتیپ ملایر (به‌عنوان کموتیپ تیمول) حدود ۳۳ درصد بیشتر از اکوتیپ زاغه (به عنوان کموتیپ تیمول/کارواکرول) بود. با این وجود، محتوی کارواکرول اکوتیپ زاغه (۱۵٪) حدود ۱۳ برابر بیشتر از اکوتیپ ملایر بود. همچنین نتایج آنالیز کروماتوگرافی گازی نشان داد که بیشترین میزان تیمول - کارواکرول در اوایل گلدهی و بیشترین میزان گاماترپینن - پی سایمن در مرحله

[Downloaded from rangelandsrm.ir on 2026-11-25]

[DOR: 20.1001.1.20080891.1402.17.4.9.4]

رویشی یافت می‌شود. همچنین بیشترین میزان ماده خشک، درصد اسانس و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در اوج گلدهی مشاهده گردید. مقادیر شاخص‌های ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، محتوای اسانس و تیمول نیز در بافت گل بیشتر از برگ بود. بر اساس نتایج مطالعه حاضر، بهترین زمان برداشت برای حصول حداکثر مقدار بیومس، اسانس، تیمول و کارواکرول در اوایل گلدهی گیاه است. آنالیز رگرسیونی توانست روابط درجه دو منفی بین محتوای پی سایمن و تیمول و نیز بین محتوای گاماترپینن و تیمول برازش کند. همچنین یک رابطه خطی معناداری بین پی‌سایمن و گاماترپینن وجود داشت. محتوای فنل کل، فلاونوئید و آنتی‌اکسیدان کل نیز روابط معنادار مثبتی با یکدیگر داشتند. در مجموع ۱۴ ترکیب فنلی و فلاونوئیدی بوسیله دستگاه LC-MS/MS شناسایی شد و دو اسید فنلی غالب نیز توسط کروماتوگرافی مایع کمیت سنجی شدند. محتوای رزمارینیک اسید در نمونه‌های آزمایش شده ملایر نسبت به نمونه‌های زاغه بیشتر بود. بالعکس کافئیک اسید نیز در نمونه‌های زاغه بیشتر بود. این دو ترکیب عمده در مرحله گلدهی کامل به حداکثر مقدار خود رسیدند. با این حال، تفاوت معنی‌داری بین دو مرحله فنولوژیکی آخر وجود نداشت.

نتیجه‌گیری: در مجموع، نتایج مطالعه حاضر جهت اکتساب بیومس، اسانس و تیمول وکارواکرول بیشتر به برداشت محصول در اوایل گلدهی (زمانی که حدود بیش از ۲۰ درصد گل‌ها باز شدند) توصیه می‌کند. با این وجود اگر خواص آنتی‌اکسیدان و ترکیبات فنلی بیشتری برای صنایع غذایی-دارویی مورد انتظار باشد، برداشت در مرحله گلدهی کامل این نیاز را برطرف خواهد کرد. به‌طور کلی اکوتیپ ملایر از نظر عملکردی و تولید اسانس برتری نسبی به دیگر اکوتیپ مورد بررسی نشان داد.

استناد: احمدی، ح.، م.ر. فتاحی مقدم، ذ. زمانی، م. شکرپور، ا. جهانتاب، م.ر. مرشدلو، ۱۴۰۲. شناسایی و کمیت سنجی ترکیبات موثره غالب دو کموتایپ آویشن دنایی در مراحل مختلف فنولوژی به کمک LC-MS/MS و GC. مرتع، ۱۷(۴): ۶۴۰-۶۶۴.

DOR: 20.1001.1.20080891.1402.17.4.9.4

ناشر: انجمن علمی مرتعداری ایران

© نویسندگان

[Downloaded from rangelandsrm.ir on 2026-11-25]

[DOR: 20.1001.1.20080891.1402.17.4.9.4]

مقدمه

مراتع علاوه بر تولید علوفه، دارای محصولات فرعی دیگری مانند گیاهان دارویی و صنعتی هستند که بعضی از آنها مانند باریجه، آنغوزه، شیرین‌بیان وسقز جزو اقلام صادراتی کشور هستند (۱۲ و ۲۶). شناخت گیاهان دارویی در عرصه های منابع طبیعی و مرتعی هر منطقه یکی از گام‌های بنیادی و مهم در زمینه توسعه پایدار گیاهان دارویی بوده و می‌تواند اطلاعات پایه‌ای مهمی را در اختیار محققان گرایش‌های مختلف این حوضه تحقیقاتی و کاربردی قرار دهد (۶). شاخصه‌های کمی و کیفی اسانس استحصالی از گیاهان معطر، منهای ژنتیک گیاه از فاکتورهای اکولوژیکی، مرحله‌ی فنولوژیکی، زمان برداشت و نوع اندام گیاهی به‌شدت تأثیر می‌پذیرد (۱۶).

جنس آویشن بیش از ۲۵۰ گونه مختلف گیاهی را در بر می‌گیرد که از بین آنها ۱۴ گونه در ایران وجود دارد. چهار گونه از این جنس اندمیک ایران هستند. آویشن دنائی (*Thymus daenensis* Celak) یکی از این گونه‌های اندمیک و در معرض انقراض است که به طور عمده در رشته کوه‌های زاگرس رشد می‌کند (۷). به طور کلی، برداشت غیر اصولی، چرای بی رویه دام، حوادث طبیعی مانند آتش سوزی و خشکسالی و تولید بذر ضعیف، بقای کم در شرایط محیطی سخت و دستکاری‌های متعدد محیطی، جمعیت‌های مختلف این گونه با ارزش را در معرض خطر انقراض قرار داده است (۲۳).

وجود طیف وسیعی از ترکیبات دارویی فعال نظیر مونوترپن‌های فنولی (تیمول و کارواکرول)، تری ترپنیک اسیدها، اسیدهای پلی فنلی و فلاونوئیدهای مختلف، اثرات بیولوژیکی مختلفی نظیر خواص ضد قارچ، ضد انگل، ضد میکروب، آنتی‌اکسیدان، ضد التهاب، ضد دیابت و ضد مشکلات هاضمه به گونه‌های آویشن از جمله آویشن دنائی اعطا کرده است (۲۲). این گیاه سابقه‌ای طولانی در کاربرد به عنوان یک ادویه و چاشنی در صنایع غذایی دارد. روغن فرار فنلی آویشن در زمره‌ی ده اسانس محبوب و پرکاربرد جهان قرار دارد. سازمان غذا و داروی آمریکا (Food and drug administration (FDA)، تیمول و کارواکرول را در گروه مطمئن و بدون زیان برای تهیه آنتی‌اکسیدان‌ها و نگهدارنده‌های طبیعی مواد غذایی طبقه‌بندی کرده است (۱۱). تیمول و کارواکرول، منوترپن‌های فنلی و ایزومر یکدیگر هستند که موقعیت گروه هیدروکسیل آنها در حلقه بنزنی تفاوت دارد. در تیمول گروه هیدروکسیل در موقعیت ارتو و در کارواکرول در موقعیت متا حلقه بنزنی قرار دارد (۲۲). این دو ترکیب از اجزای اصلی شربت ضد سرفه و خلط آور هستند که با افزایش حرکات مژک‌های تنفسی و افزایش ترشحات مخاطی، این اثرات را ایجاد می‌کنند. علاوه بر این، با ایجاد کمپلکسی با پروتئین‌های غشای پاتوژن‌ها، فعالیت ضد میکروبی خود را اعمال می‌کند (۳۱). همچنین، در اثر استریفیکاسیون کارواکرول به عنوان دیگر متابولیت فعال این گیاه، داروهای ضدالتهاب و ضد درد نیز تولید می‌شود (۳۱).

آویشن دنایی علاوه بر سازگاری زیادی که در طی سالیان دور به اقلیم ایران پیدا کرده است، در مقایسه با سایر گونه‌های این جنس و همچنین گونه رایج و پرکشت جهانی آن یعنی آویشن باغی (*Thymus vulgaris*)، دارای تیمول بالاتر و حدودا دو برابر اسانس بیشتری است که برتری آن را آشکار می‌سازد (۷). اگر چه عملکرد دارویی نهایی ارقام اصلاح شده آویشن باغی به‌دلیل تولید بیومس بیشتر از آویشن دنایی بالاتر است، با این حال انتخاب و شناسایی اکوتیپ‌های برتر این گونه از نظر عملکرد ماده خشک و نیز کمیت و کیفیت اسانس جهت تشکیل هسته‌های اولیه اصلاحی در راستای تولید ارقام با عملکرد بالاتر امکان پذیر است (۲۷). بر اساس آخرین آمار شبکه خبری گیاهان دارویی در سال ۱۳۹۹، سهم آویشن دنایی از کل تولیدات دویست هزار تنی گیاهان دارویی ایران، ۰/۱ درصد بوده است که حدود ۲/۵ برابر کمتر از آویشن باغی می‌باشد (Medplant.ir). با توجه به کم آبی شدید و گسترده در ایران، خشک‌شدن منابع آب‌های زیرزمینی و به تبع آن فرونشست برگشت ناپذیر زمین و دشت‌ها، نیاز فوری به تغییر الگوی کشت با توسعه کشت دیم یا کشت با محدودیت آب و همچنین اهلی سازی گیاهان دارویی کم توقع (مانند آویشن) به عنوان یکی از سازوکارهای اقتصادی جایگزین در کشور احساس می‌گردد (۴).

[Downloaded from rangelandsrm.ir on 2026-11-25]

[DOR: 20.1001.1.20080891.1402.17.4.9.4]

جمعیت‌های مختلف یک گیاه دارویی ممکن است به دلایل ژنتیکی (مانند تنوع آللی و چند شکلی‌های تک نوکلئوتیدی در جایگاه‌های کد کننده آنزیم‌ها)، بیان متمایز (افتراقی) یکسری از ژن‌ها یا ایزوفرم‌های ژنی، همچنین تنش‌های محیطی و محرک‌های متابولیک، تنوع شیمیایی از خود نشان دهند (۳۰). به منظور مطالعه اثرات ژنتیکی موثر بر این تنوع لازم است که اکوتیپ‌های یک گونه در شرایط کشت یکسان مورد مطالعه قرار گیرند (۳۰).

کاربرد اسانس‌ها در صنایع مختلف به تیپ‌های شیمیایی آن بستگی دارد که این خود نیز تحت تاثیر عوامل محیطی، زمان برداشت، شرایط کشت، روش‌های زراعت، نوع اندام، روش استخراج اسانس و مراحل مختلف فنولوژیک قرار دارد (۵). از این رو، یکی از مهم‌ترین مسائل گیاهان دارویی، بررسی روند تغییرات کمی و کیفی متابولیت‌های ثانویه در اندام‌ها و مراحل مختلف رشد یک گیاه و مقایسه آنها از نظرکمیت و کیفیت با یکدیگر است. آگاهی از میزان و ارتباط کمیت و کیفیت مواد مؤثره با مراحل رشدی مختلف در مناطق کشت یک گیاه دارویی جهت دست‌یابی به حداکثر بازده مواد مؤثره مفید خواهد بود (۳). در واقع، تولید یک گیاه دارویی، زمانی از نظر اقتصادی مقرون به صرفه خواهد بود که مقدار متابولیت‌های ثانویه آن به حد مطلوب رسیده باشد، زیرا در گیاهان دارویی علاوه بر میزان تولید زیست توده، میزان تولید متابولیت‌های دارویی در واحد ماده خشک نیز از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (۵). بر همین اساس، برای دستیابی به یک عملکرد مطلوب لازم است میزان مواد مؤثره موجود در گیاه در بافت‌ها و مراحل مختلف رشدی مورد بررسی و مطالعه قرار گیرند. در همین راستا، هدف از این مطالعه بررسی تغییرات متابولوم این گیاه در مراحل مهم رشد و نمو، در دو تیپ شیمیایی متفاوت و در ژنوتیپ‌های اکستریم دو اکوتیپ آویشن دنائی (یعنی اکوتیپ‌های زاغه و ملایر) است.

مواد و روش‌ها

تکثیر و کشت قلمه های آویشن دنائی

در شهریور ماه ۱۴۰۰، در مجموع حدود ۶۰۰ عدد قلمه علفی پنج سانتی‌متری از شش ژنوتیپ (بوته‌های مادری شش ساله) در هر اکوتیپ برداشت شد. بوته‌های مادری قبلا در ایستگاه تحقیقات علوم باغبانی توسط محمدی و همکاران (۲۰۲۰) کشت شده بودند. یک سوم پایینی قلمه‌ها ابتدا به مدت چند ثانیه در الکل و بعد چند ثانیه درقارچ کش کاپتان ضدعفونی شدند. سپس برگ‌های این قسمت قلمه‌ها حذف و با استفاده از هورمون ایندول بوتریک اسید ۱۰۰۰ پی پی ام تیمار شدند و در نهایت در سینی کشت حاوی نسبت ۵۰:۵۰ حجمی کوکوپیت: پرلیت کشت شدند. قلمه ها به مدت دو ماه در گلخانه و در زیر سیستم مه پاش اتوماتیک قرار گرفتند که با فواصل زمانی ۳ ساعت یکبار و به مدت یک دقیقه کار می کرد. پس از ریشه‌دار شدن قلمه‌ها، به گلدان‌های یک لیتری کوچک حاوی خاک برگ: ماسه: خاک مزرعه با نسبت ۱:۱:۲ حجمی منتقل شدند. در نهایت برای هر اکوتیپ ۶ کلون (با هشت عضو یا بوته) ایجاد شد. گیاهان در طول رشد در گلخانه به صورت منظم و به میزان ۹۰ درصد ظرفیت زراعی بستر آبیاری می‌شدند و همچنین هر دو هفته یکبار با یک محلول چهار برابر رقیق شده هوگلند تغذیه می‌شدند (۱۵). پی اچ خاک نیز به صورت مرتب (بین ۷/۵-۶/۵) بررسی شده و در مواقع لازم با محلول اسید نیتریک تنظیم می‌شد. گیاهان پس از رشد کافی به گلدان‌های بزرگتر هشت لیتری با همان بستر منتقل شدند و تا اوایل اردیبهشت ماه در گلخانه باقی ماندند (شکل ۱).

برای سازگاری با شرایط مزرعه گیاهان به مدت دو هفته در فضای خارج از گلخانه و در سایه نسبی-آفتاب نگهداری شدند و سپس به مزرعه منتقل شدند. در اول خرداد ماه شش کلون (هر کلون شامل هشت بوته) (منشا از شش ژنوتیپ هر اکوتیپ) در مزرعه کشت شدند. گیاهان خوب رشد یافته مربوط به هر اکوتیپ هر کدام در یک ردیف با فواصل بین بوته‌ای ۳۰ سانتی‌متری و فاصله بین ردیفی

[Downloaded from rangelandsrm.ir on 2026-11-25]

[DOR: 20.1001.1.20080891.1402.17.4.9.4]

۶۰ سانتی متری کشت شدند. آبیاری گیاهان در طول رشد به صورت منظم به صورت قطره‌ای انجام شد.

گیاهان در اواخر خردادماه وارد فاز گلدهی شدند و گلدهی حدودا تا سه هفته بعد از آن ادامه داشت تا اینکه در اواخر تیرماه گلدهی پایان یافت و گیاهان وارد مرحله بذردهی شدند. برداشت سرشاخه‌ها برای مرحله رویشی در ۱۴ خرداد ماه ۱۴۰۱، برای مرحله غنچه‌دهی در ۲۵ خرداد ماه ۱۴۰۱ و برداشت برای مرحله اوایل گلدهی (زمانی که حدود ۲۰ درصد غنچه‌ها باز شده بودند) در ۳۱ خرداد ماه ۱۴۰۱ و برداشت در مرحله گلدهی کامل در ۱۸ تیر ۱۴۰۱ (زمانی که حدود ۹۰ درصد غنچه‌ها باز شده بودند) انجام شد. برای فرم رشد بوته‌ها، از حالت‌های خوابیده تا ایستاده به‌ترتیب اعداد ۱ تا ۵ اختصاص داده شد. برای بررسی وزن تر و خشک و همچنین فرم رشد بوته‌های هر اکوتیپ در مجموع ۱۰ بوته (۵ ژنوتیپ و از هر ژنوتیپ ۲ بوته) مورد ارزیابی قرار گرفت.



شکل ۱: تصاویر مربوط به تکثیر رویشی آویشن دنائی تا استقرار در مزرعه

استخراج اسانس

برای تعیین محتوای اسانس، برگ، گل یا سرشاخه گلدار (برای مراحل فنولوژیک) که در آون ۴۰ درجه سانتی گراد به مدت دو روز خشک شده بود، مورد استفاده قرار گرفت. در هر مرحله رشدی از دو بوته‌ی (عضو) کلون‌های هر اکوتیپ نمونه‌برداری صورت می‌گرفت. سپس مجموع مواد گیاهی کلون‌ها به صورت تصادفی مخلوط شد تا در مجموع برای هر تیمار آزمایشی سه تکرار (هر تکرار مواد گیاهی مخلوط شده دو کلون) ایجاد گردد. در نهایت نمونه‌های هر کدام از هشت تیمار مربوط به مراحل فنولوژیک این دو اکوتیپ (هر تیمار با سه تکرار) برای استخراج اسانس استفاده شدند.

نمونه‌های خشک شده به‌وسیله آسیاب آزمایشگاهی به قطعات ریز (جهت استخراج بهتر اسانس) خرد شدند و مقدار ۲۰ گرم از هر نمونه جهت اسانس‌گیری با استفاده از ترازوی دیجیتالی (Sartorius، آلمان) با دقت هزارم گرم وزن شدند. نمونه‌ها به داخل بالن منتقل شده و با استفاده از آب مقطر به حجم ۴۰۰ سی‌سی رسانده شدند. سپس در دستگاه کلونجر طرح آپاراتوس، قرار داده و هر نمونه به مدت سه ساعت اسانس‌گیری شد (فارماکوپه بریتانیا، ۲۰۰۰). قرائت حجمی اسانس از روی شیشه مدرج کلونجر انجام شد. سپس از بالا ۳۰۰ میکرولیتر هگزان اضافه شد و فاز بالایی (اسانس) از بالای کلونجر توسط سمپلر جدا شد. پس از جداسازی، اسانس نمونه‌ها توسط سولفات سدیم خشک آبگیری شده

[Downloaded from rangelandsrm.ir on 2026-11-25]

[DOR: 20.1001.1.20080891.1402.17.4.9.4]

و درون شیشه‌های مخصوص (ویال اسانس) تا زمان آنالیز ترکیبات در محل تاریک و دمای چهار درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

اندازه‌گیری محتوای مواد فنلی کل عصاره متانولی

عصاره‌گیری، اندازه‌گیری محتوای مواد فنلی و فلاونوئید کل و همچنین فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره به روش استانکویچ (۲۰۱۱) با اندکی تغییرات انجام شد. در فالکون‌های ۵۰ میلی‌لیتری مقدار ۲۰۰ میلی‌گرم نمونه برگ خشک در ۲۰ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد (نسبت ۱ به ۱۰۰) به مدت ۲۴ ساعت روی شیکر عصاره‌گیری شد. سپس سانتریفیوژ گردیده و در فالکون جدید ریخته شد.

با توجه به اینکه این نمونه‌ها غلیظ بودند و در واکنش با معرف‌ها رنگ سیاه ایجاد می‌کردند که قابل قرائت با دستگاه اسپکتروفوتومتر نبود، دوباره به میزان مساوی با حلال رقیق شدند تا جذب آنها به زیر ۰/۸ برسد. برای انجام واکنش ۵۰۰ میکرولیتر معرف فولین سیوکالتو ۱۰ درصد (رقیق شده در آب) و ۵۰۰ میکرولیتر بی‌کربنات سدیم ۳ درصد در یک میکروتیوب ۲ میلی‌لیتری با ۱۰۰ میکرولیتر عصاره متانولی مخلوط شد (فولین سیوکالتو در واکنش با مواد فنلی احیا شده و رنگ آبی تیره‌تر در واکنش نشان دهنده مواد فنلی کل بیشتر است). پس از آن نمونه‌ها در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه در داخل بن ماری انکوبه شدند. در نهایت جذب در طول موج ۷۶۵ نانومتر با دستگاه پلیت ریدر قرائت شد. از تمامی مواد مورد استفاده ذکر شده در بالا به جز عصاره متانولی یا در استانداردها، به جز سری محلول‌های رقیق شده گالیک اسید، به عنوان بلانک برای کم‌کردن از جذب نمونه‌ها استفاده شد. میزان مواد فنلی بر حسب میکروگرم گالیک اسید بر میلی‌لیتر از روی منحنی خطی استاندارد گالیک اسید قرائت گردید و با لحاظ مقدار ماده گیاهی استفاده شده و رقت عصاره مقادیر نهایی بر حسب معادل میلی گرم گالیک اسید در گرم وزن خشک به‌دست آمد (۳۷). برای اینها باید رفرنس اولیه و اصلی که روش را ابداع کرده است آورده شود.

اندازه‌گیری محتوای فلاونوئید کل

۱۵۰ میکرولیتر از عصاره متانولی و ۱۵۰ میکرولیتر محلول آلومینیم کلرید دو درصد (تهیه شده در متانول ۸۰ درصد) با یکدیگر مخلوط شدند. سپس نمونه‌ها به مدت یک ساعت در دمای اتاق انکوبه شدند. جذب در طول موج ۴۱۵ نانومتر توسط پلیت ریدر قرائت شد. با ساخت محلول‌های استاندارد کوئرستین در متانول و قرائت از منحنی استاندارد در نهایت غلظت به صورت میلی‌گرم کوئرستین معادل در گرم وزن خشک بیان شد. آلومینیم کلراید در این روش با گروه‌های کتو کربن شماره چهار یا گروه‌های هیدروکسیل کربن سه و پنج فلاون‌ها و فلاونول‌ها و یا با گروه‌های ارتو دی هیدروکسید حلقه A و B فلاونوئیدها کمپلکس تشکیل می‌دهد و لذا اندازه‌گیری حداکثر جذب این کمپلکس‌ها در طول موج ۴۱۵ نانومتر انجام شد (۳۷).

اندازه‌گیری فعالیت پاکسازی رادیکال‌های آزاد DPPH ظرفیت آنتی‌اکسیدانی

مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره متانولی و ۱۰۰ میکرولیتر محلول متانولی DPPH (شرکت سیگما آلدریچ، آمریکا) با غلظت ۰/۰۵ میلی گرم در یک میلی‌لیتر متانول خالص به خوبی در داخل یک میکروتیوب به هم زده شدند. سپس ۳۰ دقیقه در دمای اتاق و در تاریکی انکوبه شد و در نهایت در طول موج ۵۱۷ نانومتر توسط پلیت ریدر قرائت گردید. از محلول متانولی DPPH نیز به‌عنوان شاهد یا کنترل استفاده شد. جذب شاهد باید بیشتر از جذب نمونه‌ها باشد. از متانول ۸۰ درصد نیز به عنوان بلانک استفاده شد و جذب آن از نمونه‌ها و شاهد نیز کم شد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی توسط رابطه (۱) به صورت درصد بازدارندگی محاسبه شد (۳۷).

رابطه (۱):

$$\%I=100\times(A_{control}-A_{sample})/A_{control}$$

شناسایی و کمیت سنجی ترکیبات اسانس

شناسایی ترکیبات موجود در اسانس به کمک دستگاه GC-MS و اندازه گیری کمی ترکیبات توسط دستگاه GC-

[Downloaded from rangelandsrm.ir on 2026-11-25]

[DOR: 20.1001.1.20080891.1402.17.4.9.4]

FID در دانشگاه مراغه صورت گرفت. دستگاه GC-MSو GC-FID مورد استفاده از نوع Agilent 7990 B متصل به اسپکترومتر جرمی A ۵۹۷۷ با ستون پنج درصد متیل پلی سیکلوزان، با طول ۳۰ متر و با قطر داخلی و ضخامت لایه ۰/۲۵ میلی‌متر بود. برنامه دمایی ستون به صورت زیر تنظیم گردید: دمای ابتدایی آون ۶۰ درجه سانتی‌گراد و توقف در این دما به مدت پنج دقیقه، گرادیان حرارتی سه درجه سانتی‌گراد در هر دقیقه و افزایش دما تا ۱۸۰ درجه سانتی‌گراد، سپس یک دقیقه توقف در این دما انجام شد. دمای اتاقک تزریق ۲۳۰ و دتکتور ۲۴۰ درجه سانتی‌گراد و از گاز هلیم به عنوان گاز حامل با سرعت جریان یک میلی‌لیتر در دقیقه استفاده گردید. دستگاه تزریق کننده در حالت اسپلیت (split) با نسبت ۱:۳۰ تنظیم شد. ولتاژ یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت، روش یونیزاسیون EI و دمای منبع یونیزاسیون ۲۷۰ درجه سانتی‌گراد بود. محدوده اسکن طیف‌ها از m/z ۵۰۰ -۵۰ تنظیم شد. شناسایی ترکیبات با تزریق استانداردهای معتبر (Sigma–Aldrich, USA) و همچنین با استفاده از کتابخانه کامپیوتری (WILEY275, NIST 05, ADAMS) صورت گرفت.

علاوه بر این شاخص بازداری حسابی ترکیبات با استفاده از تزریق نرمال آلکان‌ها (n-alkanes, $C_8 - C_{30}$) (Sigma, USA) به‌دست آمد و جهت اطمینان از شناسایی درست ترکیبات شاخص بازداری به‌دست آمده با شاخص-های بازداری موجود در کتاب آدامز (۲۰۱۷) مطابقت داده شد. کمی‌سازی ترکیبات با گرفتن مساحت زیر پیک‌ها بدون کاربرد فاکتور تصحیح با استفاده از دستگاه GC-FID و با همان برنامه دمایی یکسان صورت گرفت. مقدار ترکیبات به صورت درصد نسبی بیان شدند. جهت به‌دست آوردن شاخص بازداری از رابطه شاخص بازداری حسابی آدامز (۲۰۱۷) که برای روش گرادیان دمائی مناسب است، استفاده شد. برای این امر از پیوستگی بازداری خطی سری‌های همگن-نرمال آلکانها استفاد شد.

آنالیز کروماتوگرافی مایع-طیف سنجی جرمی دوگانه (LC-ESI-MS/MS)

ابتدا مقدار یک گرم ماده خشک گیاهی با ۱۰ میلی‌لیتر متانول ۷۰ درصد که به آن ۰/۱ درصد نیز استیک اسید اضافه شده بود به مدت ۲۴ ساعت عصاره‌گیری شد و سپس با فیلتر و کاغذ صافی صاف گردید. آنالیز عصاره شفاف به‌دست آمده توسط دستگاه HPLC شرکت Waters Alliance 2695 متصل به یک طیف‌سنج جرمی دوگانه (Micromass Quattro micro API) انجام شد. جداسازی توسط ستون Atlantis T3-C18 با ابعاد 3µ, 2.1×150 mm و با نرخ جریان (flow rate) ۰/۳ میلی‌لیتر در دقیقه صورت گرفت. دمای ستون۴۰ درجه سانتی‌گراد و حجم تزریق ۵ میکرولیتر بود. حلال اول فاز متحرک متشکل از آب + ۰/۱ درصد فرمیک اسید بود. حلال دوم نیز شامل استونیتریل با ۰/۱ درصد اسید فرمیک بود. جداسازی ترکیبات به صورت گرادیان صورت گرفت به طوری ابتدا که شستشو به مدت ۱ دقیقه با نسبت ۲۰:۸۰ (حلال A: حلال B) صورت گرفت. سپس در مدت ۹ دقیقه بعدی به تدریج نسبت حلال اول به دوم به ۶۰:۴۰ رسید و تا ده دقیقه دیگر شستشو با همین نسبت حلال‌ها ادامه یافت. سپس از دقیقه ۲۰ تا ۲۲ نسبت حلال‌ها از ۶۰:۴۰ به ۲۰:۸۰ رسید و تا سه دقیقه دیگر در همان نسبت باقی ماند. کل زمان آنالیز ۲۵ دقیقه بود. ولتاژ کاپیلاری دستگاه طیف‌سنج جرمی ۴- کیلوولت و انرژی کولیشن ۳۰ الکترون ولت بود. ولتاژ مخروط (Cone) ۲۵ ولت بود. همچنین دما و نرخ جریان گاز خشک‌کننده (N_2) به‌ترتیب ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد و ۵ لیتر در دقیقه بود. پس از انجام طیف سنجی جرمی اول، ترکیبات دلخواه بوسیله MS2 شکسته شدند. سپس از الگوی شکست و طیف جرمی این ترکیبات جهت شناسایی و تفسیر دقیق‌تر استفاده شد.

کمیت‌سنجی رزمارینیک اسید و کافئیک اسید به کمک HPLC

کمیت‌سنجی به کمک دستگاه HPLC کمپانی Waters آلمان و با ستون C18 فاز معکوس انجام گردید. حلال اول فاز متحرک متشکل از آب + ۰/۰۲ درصد تری فلورو استیک اسید بود. حلال دوم نیز شامل متانول دارای ۰/۰۲ درصد تری فلورو استیک اسید بود. جداسازی ترکیبات به صورت گرادیان صورت گرفت به طوری ابتدا که شستشو با نسبت ۲۰:۸۰ (حلال A : حلال B) آغاز شد و سپس در دقیقه ۱۰ اول به‌تدریج نسبت حلال اول به دوم به ۳۰:۷۰ رسید و بعد تا دقیقه ۳۰ (۲۰ دقیقه دیگر) نسبت

[Downloaded from rangelandsrm.ir on 2026-11-25]

[DOR: 20.1001.1.20080891.1402.17.4.9.4]

حلال‌ها به تدریج به ۶۰:۴۰ رسید. در ده دقیقه بعدی آنالیز نسبت حلال‌ها به تدریج به ۸۰:۲۰ تغییر پیدا کرد. سپس در ۵ دقیقه بعدی از نسبت ۸۰:۲۰ به نسبت ۰:۱۰۰ رسید و پنج دقیقه دیگر در همان حالت باقی ماند. سپس در عرض ۲ دقیقه نسبت قبلی به ۸۰:۲۰ تغییر پیدا کرد و ۳ دقیقه دیگر نیز شستشو در همان حالت ادامه یافت. مانیتورینگ الگوی جذب ترکیبات توسط دیتکتور آرایه فتودیودی در بازه طول موج ۴۰۰-۲۰۰ انجام گردید. از سری‌های مختلف رقیق شده استانداردهای معتبر رزمارینک اسید و کافئیک اسید برای رسم منحی کالیبراسیون و کمی‌سازی ترکیبات استفاده شد.

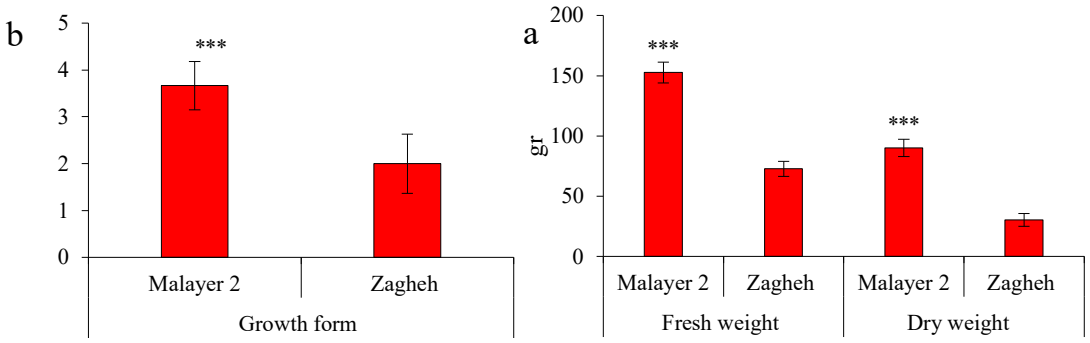
آنالیز آماری

آنالیز آماری این پژوهش به صورت آزمایش فاکتوریل دو عاملی شامل اکوتیپ در دو سطح (دو اکوتیپ) و مرحله فنولوژیک در ۴ سطح (مرحله) بر پایه طرح کاملا تصادفی با سه تکرار در نرم‌افزار SAS v 9.4 انجام گردید. مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد صورت گرفت. صفات وزن تر و خشک و ارتفاع بوته‌ها تنها در مرحله گلدهی کامل در هر دو اکوتیپ بررسی شدند و همچنین صفات اسانس و آنتی‌اکسیدان در بافت برگ و گل تنها در مرحله اوایل گلدهی (مرحله به اوج رسیدن متابولوم) مورد مطالعه گرفت، لذا آنالیز آن‌ها به صورت جداگانه انجام گردید. در واقع جهت بررسی وجود اختلاف معنادار در بین گروه‌ها (اکوتیپ‌ها و بافت‌ها) از آزمون t مستقل استفاده شد. نمودارها و تصاویر در نرم افزار اکسل ترسیم شدند. ترسیم نمودارهای رگرسیونی نیز بر اساس ۲۴ جفت داده (۴ مرحله فنولوژیک× ۲ اکوتیپ× ۳ تکرار) انجام شدند.

نتایج

وزن تر، خشک و فرم رشد بوته‌ها

وزن تر و خشک قسمت هوایی بوته‌های اکوتیپ ملایر در اوج گلدهی به‌ترتیب ۱۵۲/۷ و ۹۰ گرم بود. وزن تر و خشک اکوتیپ زاغه نیز در اوج گلدهی به‌ترتیب ۷۲/۶۱ و ۳۰/۴۰ گرم بود (شکل ۲a). میانگین وزن تر و خشک اکوتیپ ملایر به‌ترتیب ۲/۱ و ۳ برابر اکوتیپ زاغه بود. نتایج آزمون t نشان داد که وزن تر و خشک این دو اکوتیپ در سطح ۰/۰۰۱ با یکدیگر اختلاف معنی‌دار دارند. همچنین، اختلاف معنی‌داری در بین این دو اکوتیپ در سطح ۰/۰۰۱ برای فرم رشد بوته‌ها وجود داشت و اکوتیپ ملایر نسبت به اکوتیپ زاغه بوته‌هایی ایستاده‌تر داشت (شکل ۲b).



شکل ۲: a. وزن تر و خشک و b. فرم رشد دو اکوتیپ آویشن دنائی در مرحله گلدهی کامل (میانگین شش تکرار ± انحراف استاندارد). ^{ns} غیر معنادار ***معنادار در سطح ۰/۰۰۱، ** معنادار در سطح ۰/۰۱، * معنادار در سطح ۰/۰۵ در آزمون t مستقل.

[Downloaded from rangelandsrm.ir on 2026-11-25]

[DOR: 20.1001.1.20080891.1402.17.4.9.4]

درصد اسانس

بر اساس جدول تجزیه واریانس، اثرات اصلی مراحل فنولوژیک و اکوتیپ‌ها در صفت محتوای اسانس به‌ترتیب در سطح ۵ درصد و ۱ درصد معنادار بودند (جدول ۱). اثرات متقابل اکوتیپ در مراحل فنولوژیک نیز در سطح ۵ درصد معنادار بود. مقایسه میانگین اثرات اصلی نشان داد که محتوای اسانس اکوتیپ ملایر به میزان تقریبا ۱/۶۵ برابر بیشتر از محتوای اسانس اکوتیپ زاغه بود. بر اساس جدول (۲)، بیشترین میزان اسانس در مرحله اوایل گلدهی و گلدهی کامل بود که این دو مرحله اختلاف معنی‌دار با یکدیگر نداشتند. با این حال، محتوای اسانس در دو مرحله آخر به طور معنی‌داری حدود ۴۰ درصد بیشتر از مرحله رویشی و غنچه‌دهی بودند (جدول ۲).

مقایسه میانگین اثرات متقابل داد که اکوتیپ زاغه در اوایل گلدهی (۲/۹ درصد) و اکوتیپ ملایر در اوج گلدهی (۴/۵ درصد) به حداکثر اسانس خود می‌رسند (شکل ۴). حداکثر مقدار اسانس در اکوتیپ ملایر حدودا ۵۰ درصد بیشتر از حداکثر اسانس زاغه بود. شکل (۴) نشان می‌دهد که با پیشرفت مراحل رشد-نمو در اکوتیپ ملایر محتوای اسانس به تدریج افزایش می‌یابد، در اوج گلدهی به حداکثر خود می رسد و با سه مرحله قبلی خود اختلاف معنادار نشان می‌دهد (شکل ۴ و ۹).

جدول ۲: تجزیه واریانس صفات فتوشیمیایی اندازه‌گیری شده در مراحل مختلف فنولوژیکی دو اکوتیپ آویشن دنایی

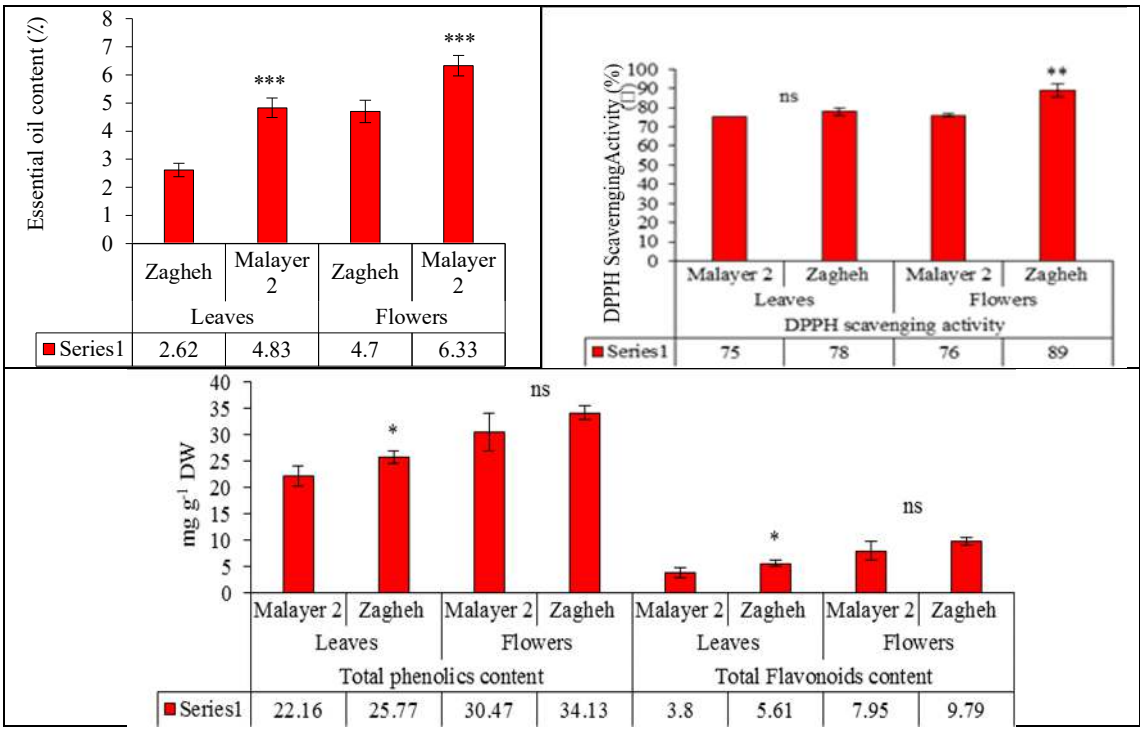
منبع تغییرات		درجه آزادی	رزمارینیک اسید	کافئیک اسید	محتوای اسانس	محتوای تیمول	محتوای کارواکرول	محتوای گاما ترپینن	محتوای پی سایمن	محتوای مواد فنلی کل	محتوای فلاونوئید کل	فعالیت پاکسازی DPPH
مرحله فنولوژیک		۳	۵۶/۴۵**	۲۳/۸۸**	۲/۱۶*	۱۰۳/۴۲**	۱۰۵/۲۷**	۱۴۱/۸۸**	۲۱/۶۱**	۷۲/۲۲**	۱۱/۰۴**	۲۷۸/۶**
اکوتیپ		۱	۳۲/۲۸**	۱۳/۶۳**	۱۲/۰۴**	۱۴۴۳/۵۸**	۱۰۴۰**	۳۴/۸۶**	۳۳/۵۳**	۱۶۰/۳۷**	۱۹/۵۳**	۱۷۶/۰۴**
اکوتیپ× فنولوژیک	مرحله	۳	۰/۶۴	۰/۲۷	۰/۴*	۵۲/۲۵**	۱۱۲/۵۸**	۲۷/۲۶**	۴/۹۵**	۲۲/۸۴*	۳/۳*	۲۲/۴۹**
خطا		۱۶	۰/۷۵	۰/۳۲	۰/۱۱	۴/۴۷	۱/۲۳	۰/۸۵	۰/۶۳	۵/۶۸	۱/۳۵	۲/۹۲
CV%			۸/۰۳	۸/۰۴	۱۱/۲۰	۳/۸۵	۱۴/۳۶	۷/۴۰	۱۵/۹۵	۱۱/۴۱	۱۷/۲۱	۲/۰۷

** معنادار در سطح ۰/۰۱، * معنادار در سطح ۰/۰۵

مقایسه میانگین اثرات متقابل نشان داد که اکوتیپ زاغه در اوایل گلدهی (۲/۹ درصد) و اکوتیپ ملایر در اوج گلدهی (۴/۵ درصد) به حداکثر اسانس خود می‌رسند (شکل ۴). حداکثر مقدار اسانس در اکوتیپ ملایر حدودا ۵۰ درصد بیشتر از حداکثر اسانس زاغه بود. شکل (۴) نشان می‌دهد که با پیشرفت مراحل رشد-نمو در اکوتیپ ملایر محتوای اسانس به تدریج افزایش می‌یابد، در اوج گلدهی به حداکثر خود می رسد و با سه مرحله قبلی خود اختلاف معنادار نشان می‌دهد (شکل ۴ و ۹). در اکوتیپ زاغه نیز چنین روندی مشاهده می‌شود، با این تفاوت که در اوایل گلدهی به حداکثر بازده رسیده و پس از آن در اوج گلدهی اندکی تنزل در مقدار اسانس را شاهد هستیم. با این حال، تفاوت معنی‌داری بین دو مرحله آخر فنولوژیک در اکوتیپ زاغه دیده نمی‌شود (شکل ۴). در اوایل گلدهی، محتوای اسانس در هر دو اکوتیپ در بافت گل بسیار بیشتر از بافت برگ بود و تفاوت معنی‌داری در سطح ۰/۰۰۱ بر اساس آزمون t بین دو اکوتیپ در هر دو بافت برگ و گل وجود داشت (شکل 4b). بیشترین محتوای اسانس از بافت گل اکوتیپ ملایر (۶/۳ درصد) به‌دست آمد (شکل 4b). همچنین، نتایج تجزیه همبستگی نشان داد که محتوای اسانس با درصد تیمول رابطه معنادار مثبتی (r = ۰/۷۵) وجود داشت. بین محتوای اسانس و درصد پی سایمن و گاماترپینن نیز به‌ترتیب ۰/۷۷- و ۰/۶۶- رابطه همبستگی معنادار منفی وجود داشت.

[Downloaded from rangelandsrm.ir on 2026-11-25]

[DOR: 20.1001.1.20080891.1402.17.4.9.4]



شکل ۳: a, c : فعالیت پاکسازی رادیکال‌های آزاد، محتوای مواد فنلی کل و محتوای فلاونوئید کل در بافت برگ و گل اکوتیپ ملایر و زاغه (میانگین سه تکرار ± انحراف استاندارد). b : محتوای اسانس استخراج شده از بافت برگ و گل اکوتیپ‌های آویشن دنائی (میانگین سه تکرار ± انحراف استاندارد). ns غیر معنادار، * معنا دار در سطح ۰/۰۰۱، ** معنادار در سطح ۰/۰۱، * معنادار در سطح ۰/۰۵ در آزمون t مستقل.**

جدول۲: مقایسه میانگین مقادیر صفات فیتوشیمیایی در مراحل مختلف فنولوژیکی به عنوان اثرات اصلی. براساس آزمون مقایسه میانگین چند دامنه‌ای دانکن، در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشترک تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

منبع تغییرات	محتوای اسانس (%)	محتوای تیمول (%)	محتوای کارواکرول (%)	محتوای گاماترپینن (%)	محتوای پی‌سایمن (%)	محتوای مواد فنلی کل (میلی گرم گالیک اسید برگرم وزن خشک)	محتوای فلاونوئید کل (میلی گرم کوئرستین برگرم وزن خشک)	فعالیت پاکسازی (%) DPPH
رویشی	۲/۲۱b	۴۸/۶۶b	۴/۰۱ d	۱۸/۳۸ a	۷/۹۳ a	۱۶/۱۴ c	۴/۷۹ b	۷۴/۵۰ c
غنچه‌دهی	۲/۶b	۵۷/۱۳a	۵/۷۴ c	۱۴/۳۰ b	۴/۹۳ b	۲۰/۳۹ b	۶/۹۸ b	۸۰/۶۶ b
اوایل گلدهی	۳/۳۵ a	۵۷/۲۷ a	۱۳/۶۲ a	۷/ ۶۸ d	۲/۷۵ c	۲۳/۴۹ a	۷/۲۷ b	۸۲/۶۶ b
گلدهی کامل	۳/۴۶a	۵۶/۴a	۷/۴۶ b	۹/۳۴ c	۴/۸۴ b	۲۳/۴۴ a	۷/۹۱ a	۹۱ a

محتوای مواد فنولی و فلاونوئید کل

جدول تجزیه واریانس نشان داد که اثرات اصلی مراحل فنولوژیک و اکوتیپ‌ها برای شاخص‌های محتوای مواد فنلی و فلاونوئید کل در سطح ۱ درصد معنادار بودند. در ضمن، اثرات متقابل اکوتیپ در مراحل فنولوژیک نیز در سطح ۵ درصد برای این دو صفت معناداری بود.

مقایسه میانگین اثرات اصلی نیز نشان داد که محتوای فلاونوئید و مواد فنلی کل اکوتیپ زاغه به‌ترتیب ۳۱ و ۲۸ درصد بیشتر از اکوتیپ ملایر بود (جدول ۱). بر اساس جدول (۲)، بیشترین مقدار مربوط به فلاونوئید کل در اوج گلدهی (۷/۹۱ میلی‌گرم کوئرستین برگرم وزن خشک) بود که تفاوت معنی‌داری با سه مرحله فنولوژیک نشان می‌دهد،

[Downloaded from rangelandsrm.ir on 2026-11-25]
[DOR: 20.1001.1.20080891.1402.17.4.9.4]

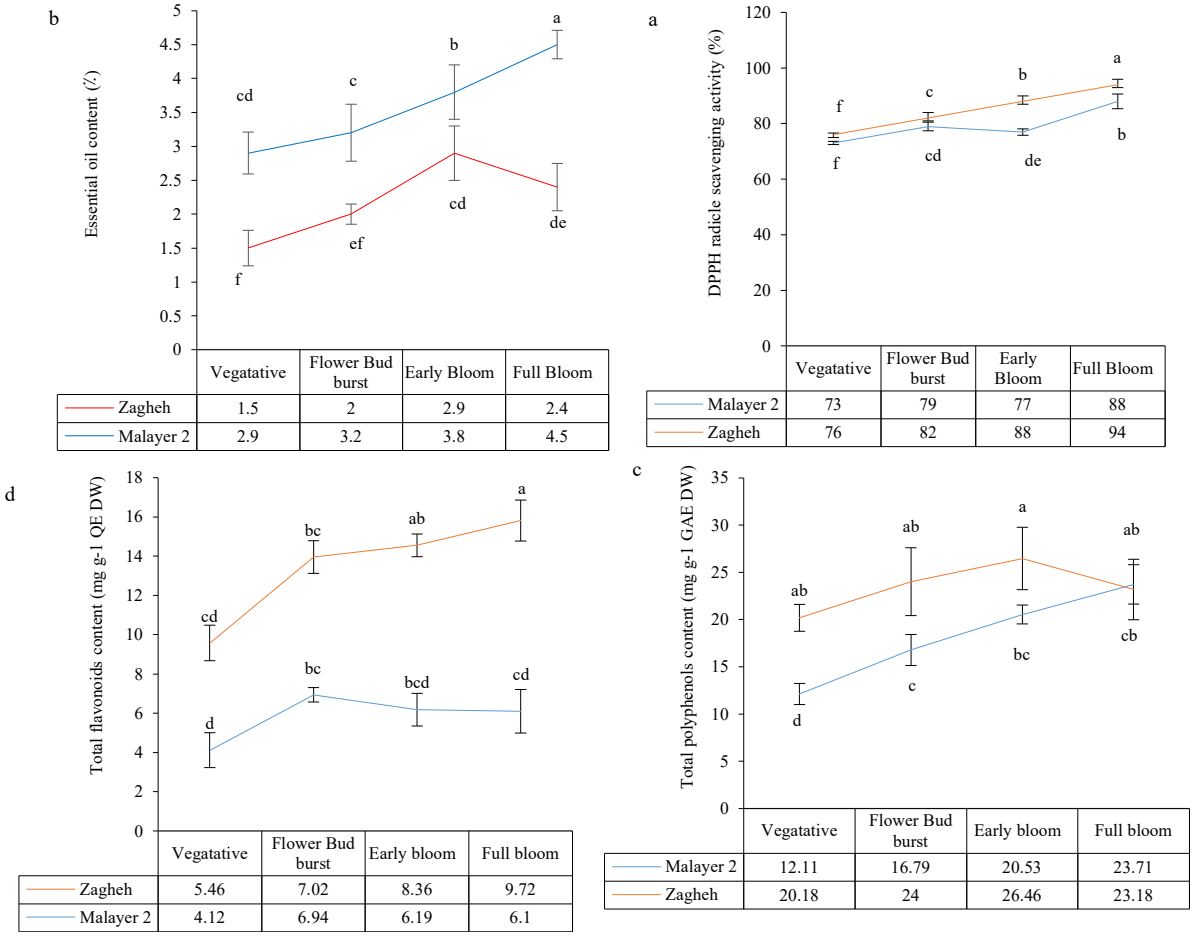
ولی این سه مرحله تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند. بیشترین مقادیر مواد فنلی کل در اوایل و اوج گلدهی (معادل ۲۳/۴ میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم وزن خشک) بود که تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند (جدول ۲). دو مرحله غنچه‌دهی و رویشی نیز به‌ترتیب در رتبه‌های بعدی محتوای مواد فنلی کل قرار داشتند که بر اساس میانگین اثر اصلی فنولوژی تفاوت معنی‌داری با دو مرحله آخر و همچنین با یکدیگر نشان دادند (جدول ۲).

مقایسه میانگین اثرات متقابل نشان داد که اکوتیپ زاغه در اوایل گلدهی (معادل ۲۶/۴۶ میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم وزن خشک) و اکوتیپ ملایر (معادل ۲۳/۱۸ میلی گرم گالیک اسید بر گرم وزن خشک) در اوج گلدهی به حداکثر محتوای فنل کل می‌رسند (شکل ۴). حداکثر محتوای فنل کل در اکوتیپ زاغه حدودا ۱۵ درصد بیشتر از حداکثر این صفت در اکوتیپ ملایر بود. شکل (۴) نشان می‌دهد که با پیشرفت مراحل فنولوژیک محتوای مواد فنلی کل در اکوتیپ ملایر به تدریج افزایش یافت و در اوج گلدهی به حداکثر خود رسید. با این حال میانگین آن تنها با فاز رویشی خود اختلاف معنی‌داری داشت (شکل ۴). در اکوتیپ زاغه نیز چنین روندی مشاهده می‌شود، با این تفاوت که در اوایل گلدهی به حداکثر بازده رسیده و پس از آن در اوج گلدهی اندکی کاهش در مقدار صفت مشاهده می‌شود. با این وجود، هیچ تفاوت معنی‌داری بین مرحله‌های فنولوژیک در اکوتیپ زاغه از نظر میانگین محتوای فنل کل دیده نمی‌شود (شکل ۴).

بر اساس مقایسه میانگین اثرات متقابل همچنین مشاهده شد که اکوتیپ ملایر در مرحله غنچه‌دهی (۶/۹۴ میلی‌گرم معادل کوئرستین بر گرم وزن خشک) و اکوتیپ زاغه در اوج گلدهی (۹/۷۲ میلی‌گرم معادل کوئرستین بر گرم وزن خشک) به حداکثر محتوای فلاونوئید کل رسیدند (شکل ۴). حداکثر محتوای فلاونوئید کل در اکوتیپ زاغه حدودا ۴۰ درصد بیشتر از حداکثر این صفت در اکوتیپ ملایر بود (شکل ۴). با پیشرفت مراحل فنولوژیک محتوای فلاونوئید کل در اکوتیپ زاغه به تدریج افزایش یافت و در اوج گلدهی به حداکثر خود رسید. با این حال بین اوایل گلدهی و اوج گلدهی و همچنین بین فاز رویشی و غنچه دهی اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (شکل ۴). در اکوتیپ ملایر در مرحله غنچه‌دهی نسبت به فاز رویشی محتوای فلاونوئید کل افزایش یافت، سپس در دو مرحله آخر مقدار آن تنزل پیدا کرد. با این وجود سه مرحله فنولوژیک آخر از نظر میانگین تفاوت معنی‌داری بایکدیگر در اکوتیپ ملایر نداشتند (شکل ۴). در اوایل گلدهی، محتوای مواد فنلی و فلاونوئید کل، در هر دو اکوتیپ در بافت گل بیشتر از بافت برگ بود. محتوای مواد فنلی کل برگ اکوتیپ زاغه نسبت به اکوتیپ ملایر بیشتر بود و در سطح احتمال ۵ درصد این اختلاف معنادار بود. با این وجود، محتوای مواد فنلی کل در بافت گل اکوتیپ زاغه تفاوت معنی‌داری با اکوتیپ ملایر نداشت (شکل ۳c). از نظر محتوای فلاونوئید کل در بافت برگ و گل، تفاوت‌ها همانند محتوای مواد فنلی کل بود (شکل ۳c).

[Downloaded from rangelandsrm.ir on 2026-11-25]

[DOR: 20.1001.1.20080891.1402.17.4.9.4]



	Vegatative	Flower Bud burst	Early Bloom	Full Bloom
Zagheh	1.5	2	2.9	2.4
Malayer 2	2.9	3.2	3.8	4.5

	Vegatative	Flower Bud burst	Early Bloom	Full Bloom
Malayer 2	73	79	77	88
Zagheh	76	82	88	94

	Vegatative	Flower Bud burst	Early bloom	Full bloom
Zagheh	5.46	7.02	8.36	9.72
Malayer 2	4.12	6.94	6.19	6.1

	Vegatative	Flower Bud burst	Early bloom	Full bloom
Malayer 2	12.11	16.79	20.53	23.71
Zagheh	20.18	24	26.46	23.18

شکل ۴: روند تغییرات و مقایسه میانگین اثرات متقابل (اکوتیپ× مرحله فنولوژیک) بر صفات آنتی‌اکسیدان و محتوای اسانس a. فعالیت پاکسازی رادیکال‌های آزاد، b. محتوای اسانس c. محتوای مواد فنلی کل d. محتوای فلاونوئید کل دو اکوتیپ آویشن دنائی در مراحل مختلف فنولوژیکی (میانگین سه تکرار ± انحراف استاندارد). بر اساس آزمون مقایسه میانگین چند دامنه ای دانکن میانگین‌های دارای حروف مشترک تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند

میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی

با رجوع به جدول تجزیه واریانس، اثرات اصلی (مراحل فنولوژیک و اکوتیپ‌ها) صفت فعالیت آنتی‌اکسیدانی در سطح ۱ درصد معنادار بودند. به علاوه، اثرات متقابل اکوتیپ در مراحل فنولوژیک نیز در سطح احتمال ۱ درصد برای این صفت معنادار بود.

مقایسه میانگین اثرات اصلی نیز نشان داد که فعالیت آنتی‌اکسیدانی اکوتیپ زاغه ۷ درصد بیشتر از اکوتیپ ملایر بود (جدول ۱). بر اساس جدول (۲)، بیشترین مقدار مربوط به فعالیت آنتی‌اکسیدانی (۹۱ درصد) در اوج گلدهی بود که تفاوت معنی‌داری با سه مرحله فنولوژیک دیگر نشان داد، ولی این دو مرحله غنچه دهی و اوایل گلدهی از نظر فعالیت آنتی‌اکسیدان تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند (جدول ۲). بعد از این دو مرحله، فاز غنچه‌دهی و اوایل گلدهی نیز به‌ترتیب در رتبه‌های بعدی فعالیت آنتی‌اکسیدانی قرار داشتند که بر اساس میانگین اثر اصلی (فنولوژی) تفاوت معنی‌داری با فاز رویشی نشان دادند (جدول ۲).

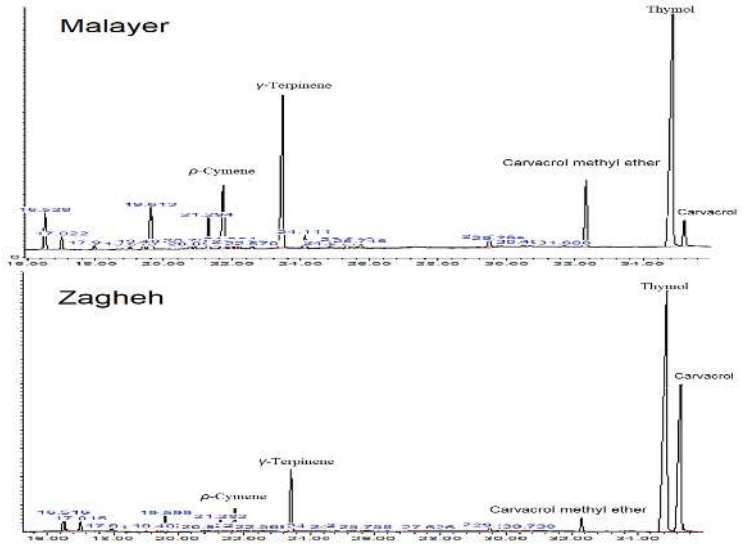
[Downloaded from rangelandsrm.ir on 2026-11-25]

[DOR: 20.1001.1.20080891.1402.17.4.9.4]

مقایسه میانگین اثرات متقابل نشان داد که در اوج گلدهی، عصاره متانولی اکوتیپ زاغه (با ۹۴ درصد فعالیت بازدارندگی DPPH) و اکوتیپ ملایر (با ۸۸ درصد فعالیت بازدارندگی DPPH) به حداکثر فعالیت بازدارندگی DPPH رسیدند (شکل ۵). همچنین شکل (۵) نشان می‌دهد که با پیشرفت مراحل فنولوژیک محتوای مواد فنلی کل در اکوتیپ زاغه به تدریج افزایش یافت و در اوج گلدهی به حداکثر خود رسید و میانگین آن با تمام مراحل فنولوژیک دیگر اختلاف معنی‌داری داشت (شکل ۵). در اکوتیپ ملایر نیز چنین روندی مشاهده می‌شود، با این تفاوت که تا اوایل مرحله غنچه‌دهی افزایش مقدار داشته و پس از آن در اوایل گلدهی اندکی تنزل (تفاوت غیرمعنی دار با مرحله قبلی خود) یافته و سپس دوباره در اوج گلدهی به حداکثر مقدار خود رسید (شکل ۵). بر اساس شکل ۸، بر اساس برازش یک مدل رگرسیونی، رابطه خطی مثبتی میان محتوای فلاونوئید کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی دیده می‌شود (۰/۷۲ = r).

مقدار ترکیبات اسانس

آنالیز کروماتوگرافی گازی- طیف سنجی جرمی حدود ۲۴ ترکیب را در اسانس‌ها شناسایی کرد و کمی‌سازی این ترکیبات توسط کروماتوگرافی گازی متصل به دیتکتور شعله یونی انجام شد (شکل ۵). این ترکیبات شناسایی شده بیش از ۹۵ درصد از کل ترکیبات را پوشش می‌دادند. مهم‌ترین ترکیبات اسانس در نمونه‌ها مختلف شامل تیمول (۶۷/۹۸-۳۸/۹۸ درصد)، کارواکرول (۲۶/۱۴-۰/۵۵ درصد)، گاماترپینن (۲۱/۰۷-۸/۸۳ درصد)، پی سایمن (۸/۷۸-۲/۶۵ درصد) و کارواکرول متیل اتر (۵/۳۶-۱ درصد) بودند که بیش از ۸۵ درصد کل ترکیبات را تشکیل می‌دادند. آلفا-توجن، آلفا-پینن، کامفن، سابینن، بتا-پینن، میرسن، آلفا-فلاندرن، دلتا-کارن، آلفا-ترپینن، ۱و ۸-سینئول، بتا-اوسیمن، سیس و ترانس سابینن هیدرات، لینالول و آلفا-ترپینولن از دیگر ترکیبات مهم اسانس بودند. در تصویر زیر، طیف حاصل از کروماتوگرافی گازی-دیتکتور شعله یونی مربوط به دو اکوتیپ زاغه و ملایر آورده شده است (شکل ۵).



شکل ۵: کروماتوگرام مربوط به کروماگرافی گازی- یونیزاسیون شعله‌ای اسانس ژنوتیپ‌های اکستریم (کرانه) اکوتیپ‌های زاغه و ملایر آویشن دنایی

[Downloaded from rangelandsrm.ir on 2026-11-25]

[DOR: 20.1001.1.20080891.1402.17.4.9.4]

به‌طورکلی محتوای تیمول و کارواکرول متیل اتر در اکوتیپ ملایر نسبت به اکوتیپ زاغه بالاتر و مقدار محتوای کارواکرول، پی سایمن و گاما ترپینن در اکوتیپ زاغه بالاتر و تیمول آن کمتر بود (شکل ۵). تجزیه واریانس آشکار کرد که اثرات اصلی و متقابل (مراحل فنولوژیک و اکوتیپ‌ها) در صفات محتوای تیمول، کارواکرول، پی سایمن و گاما ترپینن به‌عنوان ترکیبات اصلی اسانس در سطح ۱ درصد معنادار بودند (جدول ۱). مقایسه میانگین اثرات اصلی نیز نشان داد که مقدار کارواکرول، گاماترپینن و پی سایمن در اکوتیپ زاغه نسبت به اکوتیپ ملایر به‌ترتیب ۱۳ برابر، ۲۲ درصد و ۶۲ درصد بیشتر بود.

بیشترین مقدار تیمول (حدودا ۵۷ درصد) در مراحل غنچه‌دهی، اوایل گلدهی و اوج گلدهی مشاهده شد که این سه مرحله تفاوت معناداری با یکدیگر نداشتند. بیشترین مقدار کارواکرول (۱۳/۶۲ درصد) نیز در اوایل گلدهی بود (جدول ۲). در حالیکه گاماترپینن (۱۸/۳۸) و پی سایمن (۷/۹۳) در فاز رویشی بیشترین کمیت خود را داشتند. در مرحله گلدهی کامل پی‌سایمن اکوتیپ زاغه حدودا ۲/۷ برابر اکوتیپ ملایر بود (جدول۲).

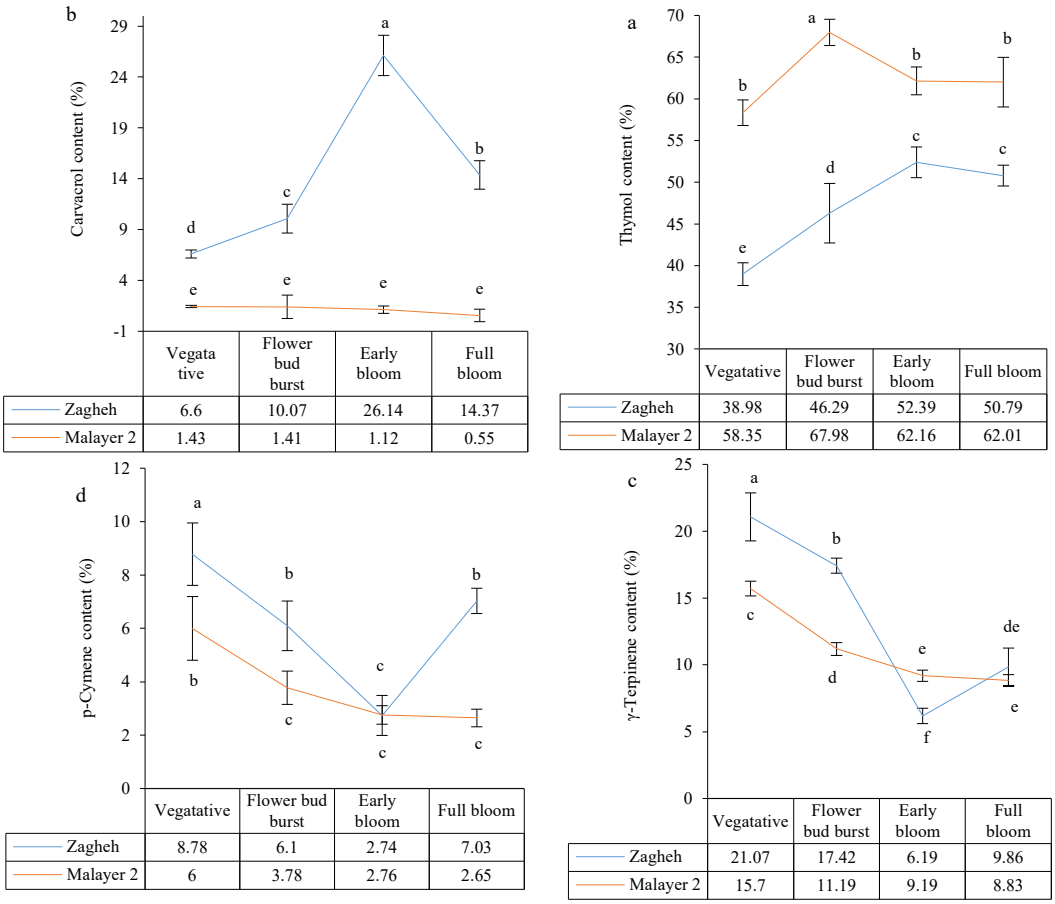
مقدار تیمول در اکوتیپ زاغه در اوایل گلدهی به حداکثر مقدار خود رسید که با اوج گلدهی تفاوتی معناداری نداشت، اما با دو مرحله قبلی خود تفاوت معناداری داشت بشکل (*6a*)، براساس نقشه حرارتی، در اکوتیپ ملایر (یعنی کموتایپ تیمول) نیز تیمول در غنچه‌دهی به اوج رسید که با سه مرحله دیگر تفاوت معناداری داشت، اما آن سه مرحله بایکدیگر از نظر میانگین تفاوت معناداری نداشتند (شکل۶ و ۹).

مقدار کارواکرول در اکوتیپ زاغه (کموتایپ تیمول/کارواکرول) در اوایل گلدهی به حداکثر مقدار خود (۲۶/۱۴ درصد) رسید و پس از آن به ترتیب اوج گلدهی، غنچه‌دهی و فاز رویشی برای مقادیر کارواکرول قرار گرفتند (شکل 6a). در این مرحله محتوای کارواکرول زاغه حدود ۲۴ برابر اکوتیپ ملایر (۱/۱۲ درصد) بود. در اکوتیپ ملایر مقدار کارواکرول در مراحل مختلف از ثبات نسبی برخوردار بود و نوسان کمی داشت که این نوسان‌ها نیز تفاوت معناداری بایکدیگر در مراحل مختلف نشان نمی‌دادند (شکل 6b). ترکیبات پی‌سایمن و گاماترپینن در مرحله رویشی و در هر دو اکوتیپ بیشترین مقدار را داشتند و پس از آن روند کاهشی این دو ترکیب مشاهده شد (شکل c , d ۶). محتوای تیمول و کارواکرول در بافت گل بیشتر از بافت برگ بود. تیمول در بافت برگ و گل اکوتیپ ملایر اختلاف معناداری در سطح ۰/۰۰۱ با بافت برگ و گل اکوتیپ زاغه داشت. کارواکرول نیز در بافت برگ و گل اکوتیپ زاغه اختلاف معنی‌داری در سطح ۰/۰۰۱ با بافت برگ و گل اکوتیپ ملایر داشت (شکل ۷).

براساس شکل (۸)، برازش مدل‌های رگرسیونی روابط پلی نومیال درجه دو و منفی را بین محتوای تیمول و گاماترپینن (r = - ۰/۷۹) و نیز بین محتوای تیمول و پی سایمن (r = - ۰/۷۵) آشکار ساخت. همچنین یک رابطه معنی‌دار خطی مثبت بین ترکیبات پی سایمن و گاما ترپینن به‌دست آمد (r = ۰/۷۸).

[Downloaded from rangelandsrm.ir on 2026-11-25]

[DOR: 20.1001.1.20080891.1402.17.4.9.4]



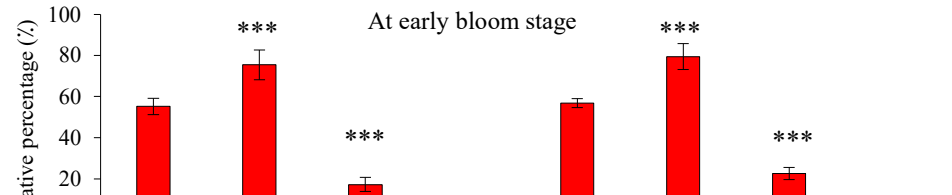
	Vegatative	Flower bud burst	Early bloom	Full bloom
Zagheh	6.6	10.07	26.14	14.37
Malayer 2	1.43	1.41	1.12	0.55

	Vegatative	Flower bud burst	Early bloom	Full bloom
Zagheh	38.98	46.29	52.39	50.79
Malayer 2	58.35	67.98	62.16	62.01

	Vegatative	Flower bud burst	Early bloom	Full bloom
Zagheh	8.78	6.1	2.74	7.03
Malayer 2	6	3.78	2.76	2.65

	Vegatative	Flower bud burst	Early bloom	Full bloom
Zagheh	21.07	17.42	6.19	9.86
Malayer 2	15.7	11.19	9.19	8.83

شکل ۶: روند تغییرات و مقایسه میانگین اثرات متقابل (اکوتیپ×مرحله فنولوژیک) بر ترکیبات اصلی اسانس آویشن دنائی a. محتوای پی-سایمن، b. محتوای گاما-ترپینن c. محتوای تیمول d. محتوای کارواکرول دو اکوتیپ آویشن دنائی در مراحل مختلف فنولوژیکی (میانگین سه تکرار ± انحراف استاندارد). براساس آزمون مقایسه میانگین چند دامنه‌ای دانکن میانگین‌های دارای حروف مشترک تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند

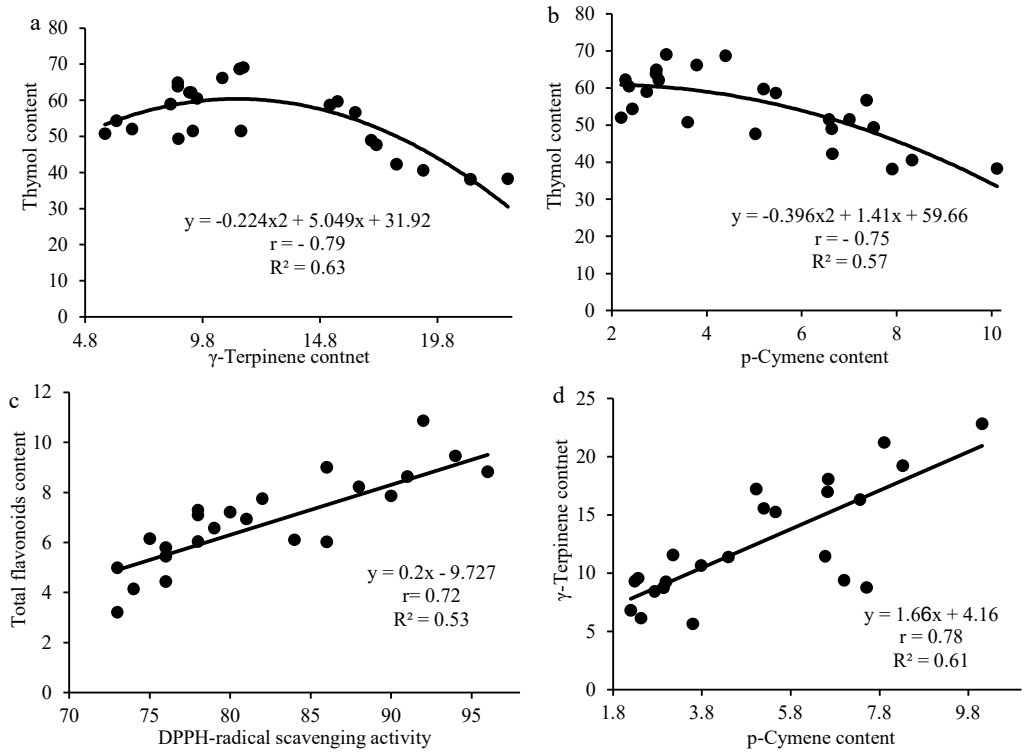


	Zagheh Thymol content (Leaves)	Malayer 2 Thymol content (Leaves)	Zagheh Carvacrol content (Leaves)	Malayer 2 Carvacrol content (Leaves)	Zagheh Thymol content (Flowers)	Malayer 2 Thymol content (Flowers)	Zagheh Carvacrol content (Flowers)	Malayer 2 Carvacrol content (Flowers)
percent	55.22	75.41	17.23	1.08	56.82	79.46	22.57	1.43

شکل ۷: محتوای تیمول و کارواکرول بافت برگ و گل دو اکوتیپ آویشن دنائی (میانگین سه تکرار ± انحراف استاندارد). ^{ns} غیر معنادار، ***معنادار در سطح ۰/۰۰۱، ** معنادار در سطح ۰/۰۱، * معنادار در سطح ۰/۰۵در آزمون t مستقل.

[Downloaded from rangelandsrm.ir on 2026-11-25]

[DOR: 20.1001.1.20080891.1402.17.4.9.4]



شکل ۸: رابطه رگرسیونی برخی از شاخص‌های اندازه گیری شده با اهمیت در آویشن دنائی

ترکیبات شناسایی شده و کمیت دو اسید فنلی غالب عصاره

در مجموع ۱۴ ترکیب فلاونوئیدی، آنتوسیانین و اسیدهای فنلی از عصاره دو کموتیپ آویشن دنائی شناسایی شدند که درصد نسبی سطح زیر پیک ترکیبات و دیگر اطلاعات مربوط به آنها در جدول (۳) آمده است. رزمارینیک اسید، رزمارینیک اسید متیل اتر، کافئیک اسید، سرینجیک اسید هگزوزاید و الاژیک اسید از اسیدهای فنلی غالب عصاره آویشن دنائی بودند (جدول ۳). همچنین فلاونوئیدهایی نظیر کوئرستین، لوتئولین، کامپفرول، و آپجنین در عصاره شناسایی شدند که عمدتا در ترکیب با قندها یافت گردید. به جز اریودیکتول، باقی فلاونوئیدها به صورت آزاد در عصاره وجود نداشتند (جدول ۳). رزمارینیک اسید و کافئیک اسید ترکیبات غالب عصاره بودند که مورد کمیت سنجی قرار گرفتند (جدول ۴ و شکل ۹). براساس تجزیه واریانس، اثرات اصلی (مراحل فنولوژیک و اکوتیپ‌ها) این ترکیبات در سطح ۱ درصد معنادار بودند. با این حال معناداری برای اثرات متقابل یافت نشد (جدول ۱).

[Downloaded from rangelandsrm.ir on 2026-11-25]

[DOR: 20.1001.1.20080891.1402.17.4.9.4]

جدول ۳: ترکیبات شناسایی شده از دو نمونه مربوط به اکوتیپ زاغه و ملایر آویشن دنائی به کمک تکنیک LC-ESI-MS/MS

شماره	ترکیب شناسایی شده	زمان بازداری	$[M-H]^-$ m/z	فرمول شیمیایی	MS^2 $[M-H]^-$	درصد نسبی (زاغه)	درصد نسبی (ملایر)	منابع
۱	Caffeic acid 4-glucoside	۲/۶۹	۳۴۱	$C_{15}H_{18}O_9$	۱۷۹ ،۱۶۱	۱۵/۷۴	۱۳/۷۸	Lin & Harnly., (2010)
۲	Catechin	۲/۹۰	۲۸۹	$C_{15}H_{14}O_6$	۱۹۹ ،۱۳۷،۱۷۷	۱۱/۹	۱۰/۲۶	Hashemi & Kharazian., (2021)
۳	Kaempferol-*O*-glycoside	۴/۸۰	۴۴۷	$C_{21}H_{19}O_{11}$	۲۸۵	۰/۸۹	۰/۹۱	Abu-Reidah et al., (2012)
۴	Ellagic acid	۷/۲۰	۳۰۰	$C_{14}H_6O_6$	۱۷۳ ،۲۴۶	۴/۹۶	۴/۷۶	Köksal et al., (2017)
۵	Apigenin 6,8-di-C-glucoside	۱۰/۶۷	۵۹۳	$C_{27}H_{30}O_{15}$	۴۷۳ ،۳۵۳ ۵۰۳	۵/۹۴	۵/۹	Khalil et al., (2018)
۶	Luteolin 7-*O*-(2-apiosyl-7acertyl)-glucoside	۱۱/۵۹	۶۲۱	$C_{28}H_{29}O_{16}$	۴۸۹ ،۲۸۵	۴/۵۷	۴/۵۰	Abu-Reidah et al., (2012)
۷	Apigenin-7-*O*-(6-*O*-rhamnosylhexoside)	۱۲/۳۵	۵۷۷	$C_{27}H_{30}O_{14}$	۲۶۹	۲/۹۹	۲/۹۵	Rahimi Khoigani et al., (2017)
۸	Quercetin-*O*-glucoside	۱۲/۴۰	۴۶۳	$C_{21}H_{20}O_{12}$	۳۰۱	۳/۳۷	۳/۰۷	Abu-Reidah et al., (2015)
۹	Methyl robustone	۱۲/۷۰	۳۷۷	$C_{22}H_{18}O_6$	۳۳۴ ،۱۲۵ ۳۶۲	۹/۱۵	۹/۴۸	Hashemi & Kharazian., (2021)
۱۰	Rosemarinic acid	۱۳/۱۰	۳۵۹	$C_{18}H_{16}O_8$	۱۷۹ ،۱۳۵	۱۸/۲۷	۲۱/۲۱	Vergara-Salinas et al., (2012); Aguilar & Hernández-Brenes, (2015)
۱۱	Rosemarinic acid methylester	۱۳/۲۰	۳۷۳	$C_{19}H_{18}O_8$	۱۹۷ ،۱۳۵	۲/۶۱	۲/۸۳	Rahimi Khoigani et al., (2017)
۱۲	Syringic acid hexoside	۱۳/۸۰	۳۵۹	$C_{15}H_{20}O_{10}$	۱۹۷	۲/۹	۳/۳۴	Abu-Reidah et al., (2015)
۱۳	Eriodictyol	۱۴/۳۲	۲۸۷	$C_{15}H_{12}O_6$	۱۵۱ ،۱۳۴	۳/۵۷	۳/۳۸	Khalil et al., (2018); Rahimi Khoigani et al., (2017)
۱۴	Pelargonidin	۱۵/۱۰	۲۷۰	$C_{15}H_{11}O_5$	۲۴۱	۸/۰۳	۷/۸۴	Rahimi Khoigani et al., (2017)

جدول ۴: مقایسه میانگین مقادیر رزمارینیک اسید و کافئیک اسید به عنوان ترکیبات فنلی غالب در برهمکنش کموتایپ در مراحل مختلف فنولوژیکی

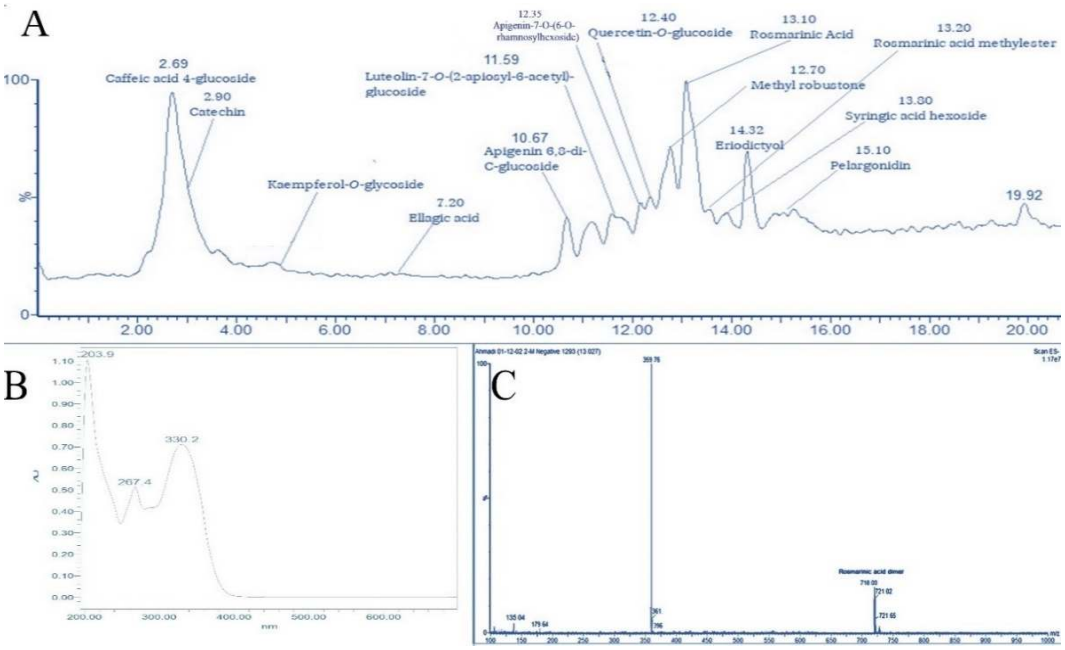
میانگین اثرات متقابل		رزمارینیک اسید (میلی‌گرم در گرم وزن خشک)	کافئیک اسید معادل (میلی‌گرم در گرم وزن خشک)
زاغه	رویشی	۷/۰۴e	۶/۰۸cd
	غنچه‌دهی	۸/۲۳e	۷/۱۱bc
	اوایل گلدهی	۱۰/۷۷bc	۹/۳۱a
	گلدهی کامل	۱۱/۱۶b	۹/۶۵a
ملایر	رویشی	۹/۳۶cd	۴/۵۸e
	غنچه‌دهی	۱۰/۹۴b	۵/۳۵de
	اوایل گلدهی	۱۴/۳۲a	۷/۰۰bc
	گلدهی کامل	۱۴/۸۵a	۷/۲۶b
میانگین اثر اکوتیپ			
	زاغه	۹/۳۰b	۸/۰۴a
	ملایر	۱۲/۳۶a	۶/۰۴b
میانگین اثر مرحله فنولوژیک			
	رویشی	۸/۲۰c	۵/۳۳c
	غنچه‌دهی	۹/۵۸b	۶/۲۳b
	اوایل گلدهی	۱۲/۵۴a	۸/۱۵a
	گلدهی کامل	۱۳/۰۰a	۸/۴۵a

کمیت رزمارینیک اسید (۱۲/۳۶ میلی گرم در گرم وزن خشک) در نمونه های مربوط به اکوتیپ ملایر بیشتر از نمونه‌های مربوط به زاغه بود. به‌طور بالعکسی کافئیک اسید نیز در اکوتیپ زاغه (۸/۰۴ میلی گرم در گرم وزن خشک) بیشتر بود. براساس آنالیز کروماتوگرافی مایع-طیف سنجی جرمی دوگانه، درصد نسبی مساحت زیر پیک فلاونوئیدها نیز به طور کلی در اکوتیپ زاغه بالاتر بود. دو ترکیب غالب یاد شده در مرحله گلدهی کامل و اوایل

[Downloaded from rangelandsrm.ir on 2026-11-25]

[DOR: 20.1001.1.20080891.1402.17.4.9.4]

گلدهی به حداکثر مقدار خود رسیدند. با این حال، تفاوت معنی‌داری بین دو مرحله فنولوژیکی آخر وجود نداشت. تفاوت معناداری بین دو مرحله اول با یکدیگر و نیز با سایر مراحل وجود داشت.



شکل ۹: طیف کروماتوگرام LC-MS و ترکیبات شناسایی شده (a)، الگوی جذب PDA مربوط به ترکیب رزمارینیک اسید به عنوان ترکیب غالب عصاره متانولی آویشن دنائی (b)، طیف جرمی رزمارینیک اسید در طیف سنج جرمی اول (MS1)

بحث و نتیجه‌گیری

بررسی زمانی رشد و دوره‌های مختلف نموی گیاه مانند جوانه‌زنی، رشد رویشی، گلدهی، رشد زایشی، بذردهی مطالعه فنولوژی یا زیستگرد نام دارد. به عبارت دیگر فنولوژی تقویم وقایع زندگی و ظهور مراحل رشد و نموی مختلف در گیاهان است (۹). شناخت اهمیت این موضوع قدمتی طولانی به گستره هزاران سال دارد، زمانی که اجداد ما پی بردند که مستندسازی این وقایع گردشی فنولوژیک می‌تواند در تصمیم گیری‌های کشاورزی آن‌ها مفید واقع گردد (۹).

مراحل زیستی هر گیاه از عوامل محیطی و ژنتیکی ناشی می‌شود که تأثیر مستقیمی بر عملکرد فیزیولوژیک و متابولیک آن دارد. اگرچه ترکیبات بیوشیمیایی در گیاهان اساساً با سازوکارهای مولکولی-ژنتیکی هدایت می‌شوند، ولی ساخت آن‌ها به صورت بارزی تحت تأثیر عوامل محیطی و مرحله رشد و نمو قرار می‌گیرد (۲۹). مطالعات فنولوژیک گیاهان به ما کمک می‌کنند تا زمان‌های حساس حیات آن‌ها را به خوبی شناسایی کنیم تا علاوه بر استفاده بهینه از منابع طبیعی، بتوانیم در شرایط تنش و استرس‌های محیطی بحران را مدیریت و حفاظت مورد قبولی داشته باشیم (۳۳). اهمیت مطالعات فنولوژیک از بیست سال قبل با افزایش فزاینده نگرانی‌های جهانی از تغییرات اقلیمی برجسته شد (۳۳). رهگیری این رخدادهای طبیعی تاثیر قابل توجهی در سلامت، تنوع زیستی، چرخه غذایی، کشاورزی بهینه و اقتصاد آن دارد (۲۵). در حوزه گیاهان دارویی نیز تشخیص مرحله اوج تجمع متابولیت‌ها در اندام‌های مختلف از دیدگاه اقتصادی برای برداشت محصول و استخراج مواد موثره آن حائز اهمیت فراوان است.

[Downloaded from rangelandsrm.ir on 2026-11-25]

[DOR: 20.1001.1.20080891.1402.17.4.9.4]

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که اکوتیپ ملایر از نظر تولید ماده خشک و تر در مرحله اوج گلدهی نسبت به اکوتیپ زاغه برتر بود. درباره گیاهان دارویی اسانس دار که کل پیکره رویشی آنها برداشت می‌شود، آنچه که بر عملکرد نهایی متابولیت دارویی اصلی تاثیر می‌گذارد، میزان تولید ماده خشک، درصد یا بازده اسانس و درصد جزء اصلی اسانس آن است (۱۱). بهترین مرحله برای برداشت ماده گیاهی جهت استحصال بیشترین مقدار اسانس و عملکرد تیمول برای اکوتیپ‌های ملایر و زاغه به‌ترتیب گلدهی کامل و اوایل گلدهی بود. به‌نظر می‌رسد مرحله گلدهی کامل بهترین زمان برای برداشت هر دو اکوتیپ جهت اکتساب حداکثر عملکرد دارویی می‌باشد. به‌نظر می رسد با توجه به بالا بودن درصد اسانس و بیومس بیشتر اکوتیپ ملایر، کشت کلون‌های برتر آن نسبت به اکوتیپ زاغه اقتصادی‌تر خواهد بود. اکوتیپ ملایر از فرم رشد ایستاده‌تر نیز برخوردار بود. فرم رشد عمودی در گیاهان دارویی صفتی ایده آل برای برداشت مکانیزه آن‌ها است (۲۷).

در مطالعه‌ای، در چهار مرحله رویشی، گلدهی کامل، گلدهی کامل، آغاز تشکیل بذر و رسیدگی کامل بذر بازده اسانس و اجزای آن در آویشن باغی و هیمالیایی بررسی شدند. نتایج نشان داد که واریته اسپانیایی حداکثر اسانس و ترکیب غالب خود (۱ و ۸- سینئول) را در مرحله رویشی داشت. آویشن هیمالیایی بیشترین اسانس و ترکیب غالب یعنی تیمول را به‌ترتیب در مرحله آغاز تشکیل بذر و مرحله گلدهی کامل داشت (۱۸). ترکیبات دارویی و درصد اسانس آویشن کرمانی در چهار مرحله رویشی، غنچه‌دهی، گلدهی و تشکیل بذر توسط ابراهیمی و همکاران (۲۰۰۸) بررسی گردید. نتایج نشان داد که بیشترین میزان محتوای اسانس در مرحله گلدهی و غنچه‌زائی بود که به‌ترتیب ۲/۵ و ۲/۱ درصد اسانس برای این مراحل ثبت شد. همچنین بیشترین میزان کارواکرول (۶۸ درصد) در مرحله گلدهی کامل مشاهده شد. امیدبیگی و همکاران (۲۰۰۹)، میزان اسانس و ترکیبات آن را در چهار مرحله قبل از گلدهی، آغاز گلدهی، گلدهی کامل و بلوغ بذر در آویشن لیمویی (*Thymus* × *citriodorus* L.) مورد مطالعه قرار دادند. نتایج نشان داد که در آغاز گلدهی بیشترین اسانس (۲/۲ درصد) و در مرحله قبل از گلدهی بیشترین میزان ترکیب غالب اسانس یعنی ژرانیول (۷۲/۵ درصد) وجود داشت. جمالی و همکاران (۲۰۱۳)، درصد و ترکیبات اسانس را در سه مرحله رویشی، گلدهی و بعد از گلدهی و در دو مرحله آخر ذکر شده بافت برگ و گل را در آویشن مراکشی (*T. maroccanus*) گیاه اندمیک مراکش مورد بررسی قرار دادند. کارواکرول ترکیب غالب اسانس بود که در بافت گل و در مرحله گلدهی بیشترین میزان (۷۷ درصد) را داشت. بیشترین درصد اسانس نیز در همین بافت و همین مرحله به‌دست آمد. گل پرور و همکاران (۲۰۱۵)، بذور مربوط به یک جمعیت آویشن دنائی را کشت کردند و سپس عملکرد محصول، درصد و عملکرد اسانس، درصد و عملکرد تیمول را در نمونه‌های بالک (مخلوط شده) بوته‌های آویشن را در پنج مرحله قبل از گلدهی، آغاز گلدهی، ۵۰ درصد گلدهی، گلدهی کامل و تشکیل بذر مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج نشان داد که بیشترین درصد اسانس (۱/۱ درصد) در مرحله ۵۰ درصد گلدهی بود که با مراحل فنولوژیک دیگر تفاوت معنی‌داری نداشت. تیمول در مرحله قبل از گلدهی در بیشترین مقدار خود بود. با این حال بیشترین میزان عملکرد ماده خشک، عملکرد اسانس و عملکرد تیمول (۸۴ درصد) در مرحله تشکیل بذر به‌دست آمد. رادون و همکاران (۲۰۱۷)، میزان ترکیبات فنلی و تری ترپنیک اسیدهای غالب هشت گونه آویشن را در چهار مرحله غنچه‌دهی، پرگلی، بلوغ بذر و پایان رشد مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج نشان داد که بیشترین میزان رزمارینیک اسید، کافئیک اسید، آپیجنین و لوتئولین در مرحله پرگلی (گلدهی کامل) برای اکثر گونه‌ها حاصل می‌شود. با این حال نوسان تری ترپنیک اسیدها در مراحل مختلف و در گونه‌ها متفاوت بود.

در مطالعه‌ای دوساله درصد ترکیبات آویشن باغی را در دو مرحله قبل از گلدهی و بعد از گلدهی مورد ارزیابی قرار داد. نتایج نشان داد که در هر دو سال بیشترین درصد تیمول به عنوان ترکیب غالب اسانس این گونه در قبل از گلدهی است (۲۸). یکی از گونه‌های مرزه (*Satureja macrantha*) در مرحله رویشی کارواکرول بیشتری نسبت به مراحل گلدهی و بذردهی داشت. اما در مرحله گلدهی بیشترین اسانس را تولید کرد (۳).

[Downloaded from rangelandsrm.ir on 2026-11-25]

[DOR: 20.1001.1.20080891.1402.17.4.9.4]

افزایش اسانس در مرحله گلدهی می‌تواند ناشی از مکانیسم گیاه برای جلب حشرات گرده افشان باشد که نقش ویژه‌ای را در تولید مثل و بقای گونه‌های مختلف آویشن ایفا می کنند (محمدی و همکاران، ۲۰۲۰). به‌طور کلی، افزایش دما با پیشرفت مراحل و فصل رشد در اکثر گیاهان باعث افزایش بیوسنتز اسانس‌ها می شود. با توجه به گلدهی گونه‌های آویشن و سایر گیاهان دارویی در اواخر بهار و در فصل تابستان، این گیاهان معمولا در معرض تنش‌های ملایم گرمایی و خشکی قرار می‌گیرند و برای مقابله با این تنش‌ها تولید ترکیبات حافظت‌کننده مانند مونوترپن‌ها در این گیاهان به عنوان یک مکانیسم دفاعی افزایش می یابد، زیرا اسانس‌ها دارای ظرفیت گرمایی ویژه بالایی بوده و در شرایط تنش خشکی یا گرما با جلوگیری از آسیب دمایی به مقابله گیاه با شرایط تنش کمک می‌کنند (۳۸). در اوایل گلدهی، پروفایل اسانس این دو اکوتیپ اختلاف شدیدی با یکدیگر داشتند، در اوایل گلدهی مقدار اسانس و تیمول اکوتیپ ملایر به‌ترتیب حدودا ۳۳ و ۲۰ درصد بیشتر از اکوتیپ زاغه بود. کارواکرول زاغه نیز در این مرحله ۲۴ برابر ملایر بود. این سطح از اختلاف در میزان تولید مواد موثره حاکی از وجود ژنوتیپ‌های اکستریم یا دو حد نهایی از نظر تولید اسانس متابولیت‌های اصلی یعنی تیمول و کارواکرول، در این دو اکوتیپ است.

روستائی و همکاران (۲۰۱۰)، با جمع‌آوری نمونه‌هایی از رویشگاه‌های طبیعی آویشن دنائی در ملایر، چهار مرحله رشدی (رویشی، غنچه، گلدهی، بذردهی) را مورد مطالعه قرار دادند. ایشان نشان دادند که بیشترین محتوای اسانس و درصد تیمول در گلدهی کامل به‌دست آمد. با توجه به اینکه جمع آوری نمونه از طبیعت، می‌تواند متابولیت‌های گیاه را تحت تاثیر شرایط آب و هوایی آن منطقه قرار دهد، مقایسه اکوتیپ‌ها و جمعیت‌های گیاهی از نظر تولید متابولوم بهتر است در شرایط کشت یکسان انجام گردد (۱۱). با توجه به بررسی منابع در بخش پیشینه پژوهشی اکثر مطالعات مرحله گلدهی را بهترین مرحله برای برداشت گونه‌های مختلف جنس آویشن اظهار داشته‌اند (۳، ۱۰، ۱۳، ۱۷ و ۳۵).

به طور جالبی، در مطالعه حاضر گاما ترپینن و پی سایمن به عنوان پیش‌سازهای پیشنهادی مونوترپن‌های فنولی (۳۹)، رابطه منفی با محصول نهایی خود یعنی تیمول و کارواکرول و رابطه مثبتی با یکدیگر داشتند. این نتیجه می‌تواند حاکی از آن باشد که مصرف بیشتر پیش ماده‌ها در مرحله گلدهی کامل جهت تولید حداکثر مقدار محصول نهایی در یک مسیر بیوسنتزی بوده است (۴). احتمالا این رخداد ناشی از بیان متمایز ژن‌های دخیل در بیوسنتز این ترکیبات یا افزایش ساخت پروتئین‌های آنزیمی مربوطه نیز باشد، همانطور که اثبات شده است در مرحله گلدهی بیان بسیاری از پروتئین‌ها افزایش می‌یابد (۲۰).

در ضمن، از نظر محتوای مواد فنلی و فلاونوئیدی کل و نیز ظرفیت آنتی‌اکسیدانی اکوتیپ زاغه نسبت به اکوتیپ ملایر ارجحیت نشان داد. آویشن دنائی غنی از ترکیبات فنلی آنتی‌اکسیدان و حفاظت‌کننده غذایی نظیر رزمارینیک اسید، کلروژنیک اسید، سینامیک اسید، کافئیک اسید و طیف وسیعی از ترکیبات فلاونوئیدی است (۷). ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی علاوه بر نقش‌های گسترده‌ای که در کارکردهای فیزیولوژیکی گیاهان (اعم از حفاظت در برابر نور UV، دفع آفات، حفاظت در برابر تنش‌های محیطی) دارند، به عنوان ترکیبات فراسودمند از نظر غذایی نیز به حساب می‌آیند، چراکه نقش به‌خصوص آنها در جلوگیری از بیماری‌های مختلف در انسان بوسیله دفع گونه‌های مختلف رادیکال‌های آزاد به خوبی اثبات شده است (۴). همچنین از آنجایی که پودر آویشن به‌عنوان یکی از محبوب‌ترین و پرکاربرد ترین ادویه‌جات در طعم‌دار کردن پیتزا، محصولات غذایی و فرآوری شده گوشت محسوب می‌گردد، کشت کلون‌های برتر اکوتیپ زاغه برای صنایع غذایی می‌تواند از این حیث نسبت به اکوتیپ ملایر برتری داشته باشد.

نتایج نشان داد محتوای متابولیت‌های ثانویه و بازده اسانس در مراحل مختلف فنولوژیکی این دو اکوتیپ آویشن دنایی تفاوت بایکدیگر داشتند. معنی‌داری با یکدیگر دارند. این تفاوت‌ها اثر ویژگی‌های ژنتیکی، شرایط بیولوژیک و فیزیولوژیک گیاه را بر مسیرهای بیوسنتزی متابولیت‌های ثانویه توجیه می‌کند. نتایج حاصل نشان داد که تغییرات کمی ترکیبات و نسبت اجزای اصلی تشکیل‌دهنده اسانس

[Downloaded from rangelandsrm.ir on 2026-11-25]

[DOR: 20.1001.1.20080891.1402.17.4.9.4]

به‌طور مشخصی با تفاوت ژنوتیپی و مرحله رشد و نموی گیاه ارتباط دارد. همچنین با توجه به وجود رابطه منفی بین ترکیب تیمول و پیش‌سازهای پیشنهادی آن (گاما-ترپینن و پی سایمن) در مراحل مختلف فنولوژیک، می توان استنباط کرد که فراهمی و وفور سوبسترای کافی برای آنزیم‌های دخیل در سنتز متابولیت اصلی یعنی تیمول می‌تواند در افزایش محتوای آن در یک مرحله رشد خاص اثرگذار باشد. در مجموع اگر هدف از بهره‌برداری آویشن دنائی استحصال ترکیبات فنلی و آنتی‌اکسیدان جهت استفاده در صنایع غذایی و ادویه‌ای یا دارویی باشد، بهترین زمان برداشت مرحله گلدهی کامل (زمانی که بیش از ۹۰ درصد گل‌ها باز شده باشند) است. در غیر این صورت، جهت حصول بیشترین مقدار بازده اسانس تیمول یا کارواکرول، بهترین مرحله برداشت این دو اکوتیپ اوایل گلدهی (زمانی که بیش از ۲۰ درصد گل‌ها باز شده باشند) خواهد بود. با افزایش گذشت زمان از گلدهی گیاهان، متابولیت‌های فرار آنها کاهش می‌یابند. مطالعه حاضر پیشنهاد می‌دهد که روند تغییرات دیگر متابولیت‌های با غلظت بالا در این گیاه نظیر ترکیبات فلاونوئیدی و تری‌ترپنیک اسیدها (اولئانولیک اسید، بتولینیک اسید و اروسولیک اسید) در مراحل مختلف رشدی توسط کروماتوگرافی مایع رهگیری گردد، زیرا این ترکیبات خواص دارویی ارزشمندی نظیر ضدسرطانی، آنتی‌اکسیدانی و ضد التهاب از خود نشان داده‌اند.

References

1. Abu-Reidah, I. M., M. S. Ali-Shtayeh, R. M. Jamous, D. Arráez-Román & A. Segura-Carretero, 2015. HPLC–DAD–ESI-MS/MS screening of bioactive components from *Rhus coriaria* L.(Sumac) fruits. Food chemistry, 166, 179-191.
2. Abu-Reidah, I.M., D. Arráez-Román, R. Quirantes-Piné, S. Fernández-Arroyo, A. Segura-Carretero & A. Fernández-Gutiérrez, 2012. HPLC–ESI-Q-TOF-MS for a comprehensive characterization of bioactive phenolic compounds in cucumber whole fruit extract. Food Research International, 46(1): 108-117.
3. Aghbash, B. N., M. Pouresmaeil, G. Dehghan, M. S. Nojadeh, H. Mobaiyen & F. Maggi, 2020. Chemical composition, anti-bacterial and radical scavenging activity of essential oils from *Satureja macrantha* CA Mey. at different growth stages. Foods, 9(4): 494.
4. Ahmadi, H., M. Babalar, M.A.A. Sarcheshmeh, M.R. Morshedloo & M. Shokrpour, 2020. Effects of exogenous application of citrulline on prolonged water stress damages in hyssop (*Hyssopus officinalis* L.): Antioxidant activity, biochemical indices, and essential oils profile. Food Chemistry, 333: 127433.
5. Ahmadi, H., M.R. Morshedloo, R. Emrahi, A. Javanmard, F. Rasouli, F. Maggi & J.M. Lorenzo, 2022. Introducing three new fruit-scented mints to farmlands: Insights on drug yield, essential-oil quality, and antioxidant properties. Antioxidants, 11(5): 866.
6. Armand, N. & E. Jahantab, 2019. Comparing the essential oil composition of *Smyrnium cordifolium* Boiss. in different natural habitats of Boyer Ahmad County. Journal of Rangeland, 13(1): 39-51. (In Persian)
7. Bistgani, Z.E., M. Hashemi, M. DaCosta, L. Craker, F. Maggi & M.R. Morshedloo, 2019. Effect of salinity stress on the physiological characteristics, phenolic compounds and antioxidant activity of *Thymus vulgaris* L. and *Thymus daenensis* Celak. Industrial Crops and Products, 135: 311-320.
8. British Pharmacopoeia Commission, & Great Britain. Medicines Commission. 2000. *British Pharmacopoeia 2000* (Vol. 1). Bernan Press (PA).
9. Buisson, E., S.T. Alvarado, S. Le Stradic & L.P.C. Morellato, 2017. Plant phenological research enhances ecological restoration. Restoration Ecology, 25(2): 164-171.
10. Ebrahimi, S.N., J. Hadian, M.H. Mirjalili, A. Sonboli & M. Yousefzadi, 2008. Essential oil composition and antibacterial activity of *Thymus caramanicus* at different phenological stages. Food Chemistry, 110(4): 927-931.
11. Emrahi, R., M.R. Morshedloo, H. Ahmadi, A. Javanmard & F. Maggi, 2021. Intraspecific divergence in phytochemical characteristics and drought tolerance of two carvacrol-rich *Origanum vulgare* subspecies: Subsp. *hirtum* and subsp. *gracile*. Industrial Crops and Products, 168: 113557.
12. Eslami Manoucheri, B. & H. Karimi Elyzee, 1989. Introduce of 214 types of products introduced in forest and rangeland, utilization and trade office, the byproducts of forest and rangeland. (In Persian)
13. Golparvar, A. R., A. Hadipanah & A. Mehras Mehrabi, 2015. Effect of phenological stage on yield, essential oil and thymol percentage of *Thymus daenensis* grown in Iran. Indian Journal of Fundamental and Applied Life Sciences, 5(1): 2903-2910.

[Downloaded from rangelandsrm.ir on 2026-11-25]

[DOR: 20.1001.1.20080891.1402.17.4.9.4]

14. Hashemi, M. & N. Kharazian, 2021. Identification of flavonoids from *Marrubium* and *Ballota* species (Lamiaceae) and determination of chemotaxonomic markers using High Performance Liquid Chromatography Mass Spectrometer. Journal of Sciences, Islamic Republic of Iran, 32(4): 305-320.
15. Hoagland, D. R. & D. I. Arnon, 1950. The water-culture method for growing plants without soil. Circular. California agricultural experiment station, 347(2nd edit).
16. Jahantab, E., M. Deylamsalehi, R. Karami Borzabadi, A. Motavalizadeh Kakhky, F. Ansari & S. Shakoori, 2017. Comparing quantitative and qualitative characteristics of essential oils obtained from various parts of *Echinophora cinerea* Boiss in Dena region. Journal of Rangeland, 11(3): 274-282. (In Persian)
17. Jamali, C.A., A. Kasrati, K. Bekkouche, L. Hassani, H. Wohlmuth, D. Leach & A. Abbad, 2013. Phenological changes to the chemical composition and biological activity of the essential oil from Moroccan endemic thyme (*Thymus maroccanus* Ball). Industrial Crops and Products, 49: 366-372.
18. Jordán, M.J., R.M. Martínez, K.L. Goodner, E.A. Baldwin, & J.A. Sotomayor, 2006. Seasonal variation of *Thymus hyemalis* Lange and Spanish *Thymus vulgaris* L. essential oils composition. Industrial Crops and Products, 24(3): 253-263.
19. Khalil, N., M. Fekry, M. Bishr, S. El-Zalabani, & O. Salama, 2018. Foliar spraying of salicylic acid induced accumulation of phenolics, increased radical scavenging activity and modified the composition of the essential oil of water stressed *Thymus vulgaris* L. Plant Physiology and Biochemistry, 123: 65-74.
20. Khodabande, Z., V. Jafarian & R. Sariri, 2017. Antioxidant activity of *Chelidonium majus* extract at phenological stages. Applied Biological Chemistry, 60(5): 497-503.
21. Köksal, E., E. Bursal, İ. Gülçin, M. Korkmaz, C. Çağlayan, A. C. Gören & S. H. Alwasel, 2017. Antioxidant activity and polyphenol content of Turkish thyme (*Thymus vulgaris*) monitored by liquid chromatography and tandem mass spectrometry. International Journal of Food Properties, 20(3): 514-525.
22. Leal, F., M. Taghouti, F. Nunes, A. Silva, A. C. Coelho & M. Matos, 2017. *Thymus* plants: A review on micropropagation, molecular and antifungal activity. Active Ingredients from Aromatic and Medicinal Plants, 107-126.
23. Li, X. L., J. Wang, Z. Q. Fan, J.Y. Li & H.F. Yin, 2020. Genetic diversity in the endangered *Camellia nitidissima* assessed using transcriptome-based SSR markers. Trees, 34(2): 543-552.
24. Lin, L. Z. & J. M. Harnly, 2010. Identification of the phenolic components of chrysanthemum flower (*Chrysanthemum morifolium* Ramat). Food Chemistry, 120(1): 319-326.
25. Menzel, A., 2000. Trends in phenological phases in Europe between 1951 and 1996. International Journal of Biometeorology, 44(2): 76-81
26. Mesdaghi, M., 2003. Rangeland in Iran. Imam Reza University Press, Fourth Edition. 333 p. (In Persian)
27. Mohammadi, S., L. Tabrizi, M. Shokrpour, J. Hadian, H. Schulz & D. Riewe, 2020. Morphological and phytochemical screening of some *Thymus* ecotypes (*Thymus* spp.) native to Iran in order to select elite genotypes. Journal of applied botany and food quality, 93: 186-196.
28. Moisa, C., A. Lupitu, G. Pop, D.R. Chambre, L. Copolovici, G. Cioca & D.M. Copolovici, 2019. Variation of the chemical composition of *Thymus vulgaris* essential oils by phenological stages. Revistade chimie, 70: 633-637.
29. Morshedloo, M. R., S. Fereydouni, H. Ahmadi, M. B. Hassanpouraghdam, A. Aghaee, L. V. Mehrabani & F. Maggi, 2022. Natural diversity in fatty acids profiles and antioxidant properties of sumac fruits (*Rhus coriaria* L.): Selection of preferable populations for food industries. Food Chemistry, 374: 131757.
30. Morshedloo, M. R., S. A. Salami, V. Nazeri, F. Maggi & L. Craker, 2018. Essential oil profile of oregano (*Origanum vulgare* L.) populations grown under similar soil and climate conditions. Industrial Crops and Products, 119: 183-190.
31. Nagoor Meeran, M. F., H. Javed, H. Al Taee, S. Azimullah & S. K. Ojha, 2017. Pharmacological properties and molecular mechanisms of thymol: Prospects for its therapeutic potential and pharmaceutical development. Frontiers in Pharmacology, 380: 1-34.
32. Omidbaigi, R., F. Fattahi & A. Alirezalu, 2009. Essential oil content and constituents of *Thymus* × *citriodorus* L. at different phenological stages. Journal of Essential Oil Bearing Plants, 12(3): 333-337.
33. Piao, S., Q. Liu, A. Chen, I.A. Janssens, Y. Fu, J. Dai & X. Zhu, 2019. Plant phenology and global climate change: Current progresses and challenges. Global Change Biology, 25(6): 1922-1940.
34. Rahimi Khoigani, S., A. Rajaei & S. A.H. Goli, 2017. Evaluation of antioxidant activity, total phenolics, total flavonoids and LC–MS/MS characterization of phenolic constituents in *Stachys lavandulifolia*. Natural Product Research, 31(3): 355-358.

[Downloaded from rangelandsrm.ir on 2026-11-25]

[DOR: 20.1001.1.20080891.1402.17.4.9.4]

35. Raudone, L., K. Zymone, R. Raudonis, R. Vainoriene, V. Motiekaityte & V. Janulis, 2017. Phenological changes in triterpenic and phenolic composition of *Thymus* L. species. Industrial Crops and Products, 109, 445-451.
36. Rustaiee, A. R., J. Khorshidi, M. F. Tabatabaei, R. Omidbaigi & F. Sefidkon, 2010. Essential oil composition of *Thymus daenensis* Celak. during its phenological cycle. Journal of Essential Oil Bearing Plants, 13(5): 556-560.
37. Stankovic, M. S., 2011. Total phenolic content, flavonoid concentration and antioxidant activity of *Marrubium peregrinum* L. extracts. Kragujevac Journal of Science, 33, 63-72.
38. Tasheva, S., V. Gandova, V. Prodanova-Stefanova, K. Marinova, M. Dimov, K. Dobreva & A. Stoyanova, 2021. Investigation of the thermodynamic and thermal properties of clary sage (*Salvia sclarea* L.) essential oil and its main components. In E3S Web of Conferences, 286, p. 02003.
39. Tohidi, B., M. Rahimmalek, A. Arzani & H, Trindade, 2020. Sequencing and variation of terpene synthase gene (TPS2) as the major gene in biosynthesis of thymol in different *Thymus* species. Phytochemistry, 169, 112126.

[Downloaded from rangelandsrm.ir on 2026-11-25]

[DOR: 20.1001.1.20080891.1402.17.4.9.4]