

## بررسی اثر تنش خشکی بلندمدت بر کمیت و کیفیت اسانس گونه‌های مختلف *Thymus spp* جنس

کاظم یوسف‌زاده\*<sup>۱</sup>، سعداله هوشمند<sup>۲</sup>، بهروز شیران<sup>۳</sup>، حسین زینلی<sup>۳</sup>، جواد هادیان<sup>۴</sup>،

محمد مهدی قیصری<sup>۵</sup>

<sup>۱</sup> دانشجوی دکتری اصلاح نباتات، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

<sup>۲</sup> استاد، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

<sup>۳</sup> استادیار، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان اصفهان، اصفهان، ایران

<sup>۴</sup> استادیار، گروه مهندسی کشاورزی، پژوهشکده گیاهان و مواد اولیه دارویی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران

<sup>۵</sup> دانشیار، گروه شیمی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اصفهان، اصفهان، ایران

تاریخ دریافت: ۹۴/۸/۲۴ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۴/۱۰/۲۰

### چکیده

گونه‌های جنس آویشن (*Thymus L.*) از مهم‌ترین گیاهان دارویی هستند که به دلیل سنتز متابولیت‌های ثانوی تیمول و کارواکرول، مصارف گسترده دارویی دارند. در این تحقیق اثر تنش خشکی بر کمیت و کیفیت مواد موثره اسانس هشت گونه از آویشن مورد بررسی قرار گرفت. آزمایش به صورت فاکتوریل با سه تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی در دو سطح آبیاری ۲۵ و ۵۰ درصد به ترتیب مربوط به تنش‌های خشکی ملایم و شدید نسبت به ظرفیت زراعی، در سال ۱۳۹۳ و در دانشگاه شهرکرد انجام شد. سرشاخه‌های گلدار گیاه از فاصله پنج سانتی‌متری سطح خاک گلدان برداشت و به روش تقطیر با آب (طرح کلونجر) اسانس‌گیری و ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس توسط دستگاه GC/MS شناسایی شدند. نتایج نشان داد تنش خشکی تاثیر معنی‌داری بر میزان بازده اسانس داشته و در بین گونه‌ها، به ترتیب گونه *T. vulgaris* از بیشترین میزان اسانس (۲/۶۹ درصد) و گونه *T. migricus* با بازده (۰/۴۹ درصد) از کمترین میزان برخوردار بود. بیشترین مقدار تیمول (۴۲/۸۵ و ۴۲/۴۱ درصد) به ترتیب متعلق به گونه‌های: *T. daenensis* و *T. kotschyanus*، بیشترین مقدار کارواکرول (۲۸/۹ درصد) در گونه *T. armeniacus* و ژرانیول با مقدار (۴۱/۳۸ درصد) در گونه *T. trautvetterii* گزارش شد. درصد تیمول در شرایط تنش خشکی شدید نسبت به تنش ملایم در گونه‌های *T. kotschyanus*، *T. migricus* و *T. vulgaris* بدون تغییر و در گونه‌های *T. daenensis*، *T. armeniacus* و *T. lancifolius* کاهش نشان داد. در مجموع اعمال تنش خشکی شدید بسته به نوع گونه، موجب کاهش یا افزایش بازده اسانس گردید و در مقایسه با تیمول، کارواکرول در گونه‌های مورد بررسی تحت تاثیر تنش خشکی شدید قرار نگرفت.

واژه‌های کلیدی: آویشن (*Thymus*)، اسانس، تنش خشکی، تیمول، کارواکرول.

## مقدمه

گاما-ترپینن، پارا-سیمن و ۸ و ۱- سینئول را می‌توان نام برد (Yazdani et al., 2006). تیمول و کارواکرول به لحاظ دارویی حائز اهمیت هستند. این ترکیب‌های منوترپنی فنلی دارای طیف وسیعی از فعالیت‌های ضدباکتریایی و آنتی‌اکسیدانی هستند که به همین دلیل به‌طور وسیعی در صنایع غذایی و داروسازی استفاده می‌شوند (Aznar et al., 2013; Vaičiulytė and Ložienė, 2015).

خشکی مهم‌ترین تنش محیطی است و در ایران همواره به‌عنوان یک عامل محدود کننده تولید محصولات کشاورزی مطرح بوده است. تاثیر کمبود رطوبت بر عملکرد و تغییرات کمی و کیفی مواد موثره گیاهان دارویی دارای ویژگی‌های خاصی است که باید به‌طور کامل مورد ارزیابی قرار گیرند. به نظر می‌رسد، عملکرد و مواد موثره گیاهان دارویی واکنش‌های متفاوتی نسبت به تنش خشکی دارند (Ashiri et al., 2010) و کمبود آب به‌طور معنی‌داری بر تغییرات عملکرد و اجزای آن موثر است (Bettaieb et al., 2009; Pirbalouti et al., 2014). آویشن نیز مانند بیشتر گیاهان نسبت به تنش خشکی عکس‌العمل فیزیولوژیک و مورفولوژیک نشان می‌دهد. با وجودی که اثر تنش آبی بر رشد و عملکرد بستگی به ژنوتیپ دارد، اما در کل با افزایش تنش خشکی از ماده خشک تولیدی گیاه کاسته شده و به‌طور همزمان روی میزان اسانس و ترکیب و مقدار مواد موثره اثر می‌گذارد. البته میزان تاثیر تنش خشکی به مدت زمان و اندازه آن بستگی دارد (Babae et al., 2010). بررسی سه رژیم رطوبتی (۷۰، ۹۰ و ۵۰ درصد ظرفیت مزرعه) در گیاه آویشن باغی نشان داد بالاترین مقدار و عملکرد اسانس در شرایط ۷۰ درصد ظرفیت مزرعه به‌دست آمد و بین سطوح رطوبتی ۹۰ و ۵۰ درصد ظرفیت زراعی اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (Letchamo and Gosselin, 1996). همچنین سیمون

جنس آویشن (*Thymus*) متعلق به تیره نعناعیان (Lamiaceae)، حدوداً ۳۵۰ گونه در سطح دنیا دارد (Mahdavi et al., 2009). در ایران ۱۸ گونه از این جنس وجود دارد (Jamzad, 2009) که پنج گونه از آنها شامل *T. lancifolius*، *T. daenensis*، *T. trautvetterii* و *T. persicus*، *T. carmanicus* انحصاری هستند (Rustaiee et al., 2011). به‌طور کلی گونه‌های آویشن، همگی معطر و دارویی هستند با اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضدباکتریایی که در تولید داروهای انسان و دام (Mewes et al., 2008) و همچنین به‌عنوان نگهدارنده طبیعی مواد غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرند (NaghdiBadi and Makkizadeh, 2003). در طب سنتی گیاهان این جنس به‌طور گسترده‌ای به‌عنوان ضدنفخ، ضداسپاسم، ضدسرفه و خلط آور و نیرو بخش و در درمان سرماخوردگی استفاده می‌شوند. گیاهان این جنس دارای تنوع زیادی از لحاظ مورفولوژی و ترکیب‌های شیمیایی هستند. به‌نحوی که کموتیپ‌های بسیار متنوعی در این جنس مشاهده شده و موضوع بسیار جالب توجه، وجود کموتیپ‌های بسیار متنوع از لحاظ اجزای تشکیل‌دهنده اسانس و مقادیر آنها در جمعیت‌های مختلف یک گونه می‌باشد (Keefover-Ring et al., 2009; Kalvandi et al., 2014). این موضوع با توان انتقال خصوصیات ژنتیکی و ژنی آنها تحت تاثیر سطح بالای دگرگشتی در این جنس مرتبط است (Thompson et al., 2003; Thompson et al., 2004). از گونه‌های *Thymus* موجود در ایران، دو گونه آویشن کوهی (*T. kotschyanus*) و آویشن دنایی (*T. dnensis*) علاوه بر مصرف ادویه‌ای بیشترین مصارف درمانی را دارند (Rustaiee et al., 2011). از مهم‌ترین ترکیب‌های موجود در اسانس آویشن، ترکیب‌های منوترپنی تیمول، کارواکرول،

۰۵۰° N، ۲۱' ۰۹" ۳۲° در سال ۱۳۹۳ و به صورت گلدانی انجام شد.

**کشت گیاه و اعمال تنش خشکی:** جهت تهیه نشای گیاهان، در تیرماه سال ۱۳۹۰ بذر گونه‌ها در سینی نشاء مستقر در داخل گلخانه کشت و پس از شش هفته، نشاها به گلدان پلاستیکی منتقل شدند. جهت یکسانی ژنتیکی تکرارهای آزمایش، پس از رشد کافی گیاهان (دی ماه ۹۰)، از هر گونه یک گیاه به‌عنوان پایه مادری انتخاب و از شاخه‌های آن قلمه گرفته شد. قلمه‌ها پس از حدود یک ماه ریشه‌دار شده و از هر گونه تعداد ۱۰ نشاء ریشه‌دار انتخاب و هر نشاء به گلدان‌های پلاستیکی با ابعاد ۲۵×۳۰ سانتی‌متر حاوی ترکیب خاک- ماسه- کود حیوانی با نسبت‌های ۱-۲-۴ منتقل و تا زمان اجرای آزمایش (اواسط اردیبهشت‌ماه سال ۹۳) در فصل‌های بهار و تابستان در بیرون از گلخانه و در پاییز و زمستان سال‌های ۹۱ و ۹۲ در داخل گلخانه نگهداری شدند. سپس به‌منظور انجام رشد مجدد گیاهان در طول دوره آزمایش، اندام هوایی گیاهان به‌طور کامل از ارتفاع ۵ سانتی‌متری سطح خاک گلدان هرس (اواسط اردیبهشت سال ۹۳) و گلدان‌ها به فضای بیرون از گلخانه منتقل شدند. در این مرحله هشت گونه آویشن مستقر در گلدان‌های مورد اشاره، در آزمایشی به‌صورت فاکتوریل با سه تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی تحت دو سطح آبیاری مورد بررسی قرار گرفتند. سطوح آبیاری شامل ۲۵ درصد (تنش خشکی ملایم یا کنترل) و ۵۰ درصد (تنش خشکی شدید) تخلیه رطوبتی نسبت به ظرفیت زراعی بود و از زمان انتقال گلدان‌ها به بیرون از گلخانه تا زمان برداشت اعمال شد. در این رابطه، ظرفیت زراعی به روش وزنی تعیین (Alizadeh, 2007) و با توزین مداوم گلدان‌ها، پس از تخلیه ۲۵ و ۵۰ درصد رطوبت نسبت به ظرفیت زراعی (به‌ترتیب وجود رطوبت به میزان ۷۵ و ۵۰ درصد ظرفیت مزرعه) آبیاری انجام شد. زمان ورود گونه‌های مختلف به فاز زایشی از اواسط

و همکاران (Simon et al., 1992) گزارش نمودند که تنش خشکی به واسطه افزایش تراکم کرک‌های تولید کننده اسانس که ناشی از کاهش سطح برگ است موجب افزایش اسانس می‌شود. علوی سامانی و همکاران (Alavi-Samani et al., 2015) در بررسی دو گونه *T. vulgaris* و *T. daenensis* نشان دادند که در تنش خشکی ملایم عملکرد اسانس افزایش می‌یابد و اینکه سطوح مختلف آبیاری تاثیر زیادی بر ترکیب‌های تشکیل دهنده اسانس داشت. به نحوی که درصد کارواکرول، گاما-ترپینن، پارا-سیمن و بتا-کاریوفیلین در گیاهان تحت تنش خشکی بیشتر از گیاهان بدون تنش بود و درصد تیمول در گونه *T. vulgaris* کاهش بیشتری نسبت به گونه *T. daenensis* در شرایط تنش رطوبتی نشان داد. بنابراین با توجه به تاثیر بسیار زیاد تنش خشکی بر گیاهان (Akhzari and Pessaraki, 2015) و قرارگیری بخش زیادی از ایران در مناطق خشک و نیمه‌خشک و نقش مهم تنش رطوبتی بر سنتز متابولیت‌های ثانویه (Malekpoor et al., 2015)؛ هدف ارزیابی تاثیر میزان آبیاری بر تغییرات کمی و کیفی اسانس در هشت گونه از آویشن در مرحله گلدهی کامل انجام شد.

#### مواد و روش‌ها

در این مطالعه بذر هشت گونه از جنس آویشن شامل: *T. armeniacus*, *T. kotschyanus*, *T. daenensis*, *T. lancifolius*, *T. vulgaris*, *T. migricus* و *T. trautvetterii* و *T. transcaucasicus* از استان‌های آذربایجان غربی و شرقی، قزوین، چهارمحال و بختیاری و اصفهان جمع‌آوری (جدول ۱) و در دو سطح آبیاری مورد مطالعه قرار گرفتند. آزمایش در دانشگاه شهرکرد با ارتفاع ۲۰۶۱ متر و مختصات جغرافیایی (E ۴۹° ۳۹')

تیرماه تا اواسط مردادماه بود و در نهایت سرشاخه گیاهان از ارتفاع پنج سانتی متری سطح گلدان در مرحله ی گلدهی کامل (کل بوته دارای گل) تکرارهای هر گونه جهت استخراج اسانس و آنالیز اجزای اسانس برداشت شدند.

**استخراج و آنالیز اسانس:** از مقدار ۲۵ گرم سرشاخه خشک گیاه (برداشت شده در مرحله گل دهی کامل) که در سایه و دمای اتاق خشک شده بودند، با استفاده از روش تقطیر با آب توسط دستگاه کلونجر به مدت ۳/۵ ساعت اسانس گیاه استخراج و به وسیله سدیم سولفات بدون آب، آب گیری و تا زمان آنالیز در ظروف شیشه ای و دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند. بازده اسانس بر اساس وزن اسانس استحصالی نسبت به وزن خشک گیاه (w/w) محاسبه و به صورت درصد ارایه گردید ( Safaei-Ghomi et al., 2009).

**دستگاه کروماتوگرافی گازی (GC/MS):** به منظور آنالیز اسانس بدست آمده، دستگاه کروماتوگرافی گازی (GC) اجیلنت ۷۸۹۰ و طیف سنج جرمی (MS) اجیلنت ۵۶۷۳ مورد استفاده قرار گرفت. ستون HP-5MS (پنج درصد قطبی) به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی متر و ضخامت لایه ۰/۲۵ میکرومتر برای جداسازی استفاده شد. دمای آون با ۳ دقیقه توقف در ۴۰ درجه سانتی گراد، تا ۷۰ درجه سانتی گراد با سرعت ۷ درجه سانتی گراد در دقیقه با ۵ دقیقه توقف، تا ۲۰۰ درجه سانتی گراد با سرعت ۷ درجه سانتی گراد در دقیقه و در نهایت تا ۲۹۰ درجه سانتی گراد با سرعت ۴۰ درجه سانتی گراد در دقیقه با ده دقیقه توقف برنامه ریزی گردید. دمای اتاقک تزریق ۲۹۰ درجه سانتی گراد و از گاز هلیوم با سرعت جریان ۱/۲ میلی لیتر بر دقیقه به عنوان گاز حامل استفاده شد. ولتاژ منبع یونیزاسیون طیف سنج جرمی ۷۰ الکترون ولت، دمای منبع یونیزاسیون ۲۳۰ درجه

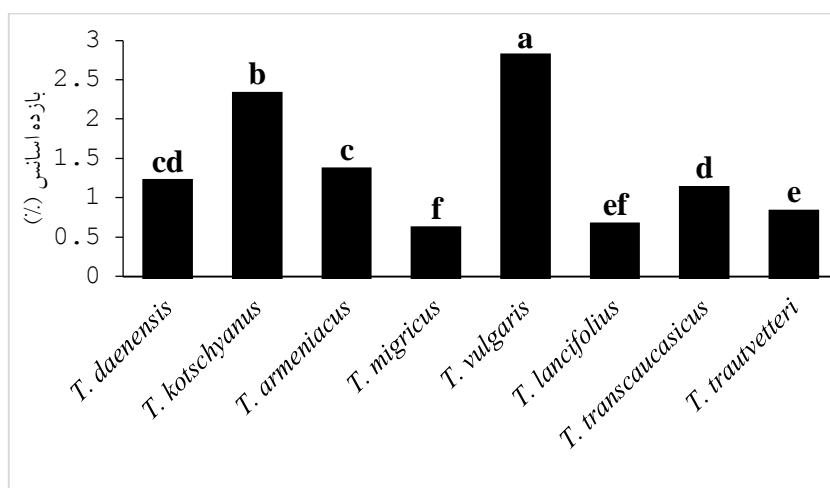
سانتی گراد و دمای چهار قطبی ۱۵۰ درجه سانتی گراد تنظیم و روش یونیزاسیون EI انتخاب شد. محدوده اسکن طیفها از ۵۰ تا ۵۵۰ دالتون تنظیم شد. جهت شناسایی و تایید طیفها، شاخص بازداری (RI) آنها با استفاده از طیفهای جرمی مخلوط آلکانهای نرمال محاسبه (Kovats, 1958) و شاخصهای موجود در کتب مرجع (Adams, 2001) و اطلاعات موجود در کتابخانههای Weilly و NIST مورد استفاده قرار گرفت. درصد هر یک از ترکیبها نیز با توجه به سطح زیر منحنی طیف کروماتوگرام بدست آمده از دستگاه GC/MS بدست آمد.

جهت تجزیه واریانس و مقایسات میانگین، نرم افزار Minitab 17 مورد استفاده قرار گرفت. مقایسه میانگین تیمارها به روش آزمون فیشر LSD و در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

#### نتایج

**بازده اسانس در گونه های مختلف آویشن تحت شرایط مختلف رطوبتی:** با توجه به معنی دار بودن اثر گونه، سطح آبیاری و اثر متقابل آنها در تجزیه واریانس، مقایسه میانگین بازده اسانس انجام شد. نتایج نشان داد آویشن باغی (*T. vulgaris*) از بیشترین بازده اسانس (۲/۶۹ درصد) و گونه های *T. migricus* و *T. lancifolius* به ترتیب با میزان اسانس: ۰/۴۹ و ۰/۵۴ درصد از کمترین بازده برخوردار بودند (شکل ۱). گونه های *T. kotschyanus*، *T. armeniacus* و *T. daenensis* نیز با بازده اسانس به ترتیب ۲/۲، ۱/۲۳ و ۱/۱ درصدی، اسانس کمتری نسبت به آویشن باغی تولید نمودند. همچنین نتایج مقایسه میانگین اثرات متقابل صفت بازده اسانس نشان داد که تنش خشکی اعمال شده به طور معنی داری موجب کاهش یا افزایش بازده اسانس گونه ها شده است. در گونه های *T. trautvetterii* (۵۷/۵ درصد) و

تحت شرایط تنش خشکی شدید مشاهده شد (جدول ۱).  
*T. daenensis* (۲۰/۵ درصد) کاهش و در گونه‌های  
*T. transcaucasicus* (۴۹/۳ درصد) و  
*T. lancifolius* (۳۱/۹ درصد) افزایش در بازده اسانس



شکل ۱: مقایسه میانگین بازده اسانس (%w/w) گونه‌های مختلف آویشن. میانگین‌های با حداقل یک حرف مشابه در آزمون فیشر LSD در سطح احتمال پنج درصد اختلاف معنی‌دار ندارند.

جدول ۱: مقایسه میانگین میزان و تغییر بازده اسانس گونه‌های مختلف آویشن در شرایط مختلف رطوبت.

ردیف	گونه	استان محل جمع آوری بذر	سطح رطوبتی	بازده اسانس (w/w; %)	درصد تغییر I
۱	<i>T. daenensis</i> Celak.	اصفهان	۷۵	۱/۲۲ de	-۲۰/۵
			۵۰	۰/۹۷ fg	
۲	<i>T. kotschyanus</i> Boiss & Hohen.	قزوین	۷۵	۲/۳۵ b	-۱۲/۷
			۵۰	۲/۰۵ c	
۳	<i>T. armeniacus</i> Klok. et Shost.	آذربایجان شرقی	۷۵	۱/۱۸ def	+۱۰/۱
			۵۰	۱/۳۰ d	
۴	<i>T. migricus</i> Klokov & Desj.	آذربایجان غربی	۷۵	۰/۵۰ i	-۴
			۵۰	۰/۴۸ i	
۵	<i>T. vulgaris</i> L.	اصفهان	۷۵	۲/۸۶ a	-۱۱/۸
			۵۰	۲/۵۲ b	
۶	<i>T. lancifolius</i> Celak.	چهار محال و بختیاری	۷۵	۰/۴۷ i	+۳۱/۹
			۵۰	۰/۶۲ hi	
۷	<i>T. transcaucasicus</i> Ronniger.	آذربایجان غربی	۷۵	۰/۸۱ gh	+۴۹/۳
			۵۰	۱/۲۱ de	
۸	<i>T. trautvetterii</i> Klokov & Desj.-Shost	آذربایجان شرقی	۷۵	۰/۹۹ efg	-۵۷/۵
			۵۰	۰/۴۲ i	

\*: تنش خشکی ملایم (FC ۷۵) و تنش خشکی شدید (FC ۵۰).  
 I: درصد تغییر در بازده اسانس در سطح رطوبتی ۵۰ درصد نسبت به سطح ۷۵ درصد.

- میانگین‌های با حداقل یک حرف مشابه در آزمون فیشر LSD در سطح احتمال پنج درصد اختلاف معنی‌دار ندارند.

جدول ۳: مقایسه مهمترین مواد موثره اسانس گونه‌های مختلف آویشن در شرایط تنش خشکی ملایم (۷۵FC درصد) و شدید (۵۰FC درصد)

ردیف	نام ترکیب	RI	<i>T. daenensis</i>		<i>T. kotschyanus</i>		<i>T. armeniacus</i>		<i>T. migricus</i>	
			٪/۷۵*	٪/۵۰	٪/۷۵	٪/۵۰	٪/۷۵	٪/۵۰	٪/۷۵	٪/۵۰
۱	p-cymene	۱۰۳۲	۹/۹۸	۱/۱۷	۱۵/۳۵	۱۰/۹۱	۱۷/۰۱	۸۷/۷۳	۶/۰۹	۱۲/۲۸
۲	1,8-cineole	۱۰۳۷	۲/۹۶	۳/۰۹	-	-	۱۰/۰۱	۳/۰۳	۶/۱۲	۵/۱۳
۳	γ-terpinene	۱۰۷۳	۴/۰	۷۹/۱	۶۰/۷	۳/۳۳	۳/۹۸	۱۸/۱	۴/۷۳	۸/۰
۴	α-terpinolene	۱۰۹۰	-	-	-	-	۷۰/۰	-	۴/۰	۵/۰
۵	borneol	۱۱۶۸	۱۸/۸	۶/۵۳	۲/۹۲	۳/۷۷	۴/۹۳	۵/۷۳	۸/۶۹	۸/۷۳
۶	nerol	۱۲۳۶	-	-	-	-	-	-	-	-
۷	thymol methyl ether	۱۲۳۶	۰/۳۰	۶۳/۰	۱۶/۰	-	-	۷۱/۰	۶/۳۱	۰/۳۳
۸	neral	۱۲۴۶	-	۷۷/۰	-	-	-	-	-	-
۹	carvacrol methyl ether	۱۲۴۸	-	-	۹۳/۰	۵/۲۵	۲/۲۸	۶/۱	۱/۰۳	۰/۲۵
۱۰	geraniol	۱۲۷۶	-	۶/۶	-	-	-	-	۳/۰	۵/۰
۱۱	thymol	۱۳۰۹	۴۲/۷۵	۳۴/۳۹	۴۲/۴۴	۴۱/۴۳	۸/۵۷	۳۲/۵	۲۶/۰	۲۶/۴۳
۱۲	carvacrol	۱۳۱۳	۴/۷۵	۴/۹۹	۵/۰	۵/۷۱	۲۸/۰۹	۲۸/۹	۴/۱۵	۵/۱
۱۳	terpinyl acetate	۱۳۵۴	-	-	-	-	-	-	۱/۰۴	۰/۲۲
۱۴	β-caryophyllene	۱۴۲۹	۶/۷	۵/۴۳	۶/۷۳	۶/۶۹	۳/۹۳	۳/۹۳	۲/۷۲	۲/۹۵
	جمع ترکیب‌ها (%)		۸۰/۰۸	۷۶	۸۱/۸۳	۷۲/۰۳	۷۲/۴۲	۶۷/۴۸	۷۲/۷۶	۶۳/۷۹

ادامه جدول ۲.

ردیف	نام ترکیب	RI	<i>T. vulgaris</i>		<i>T. lancifolius</i>		<i>T. transcaucasicus</i>		<i>T. traubvetterii</i>	
			٪/۷۵	٪/۵۰	٪/۷۵	٪/۵۰	٪/۷۵	٪/۵۰	٪/۷۵	٪/۵۰
۱	p-cymene	۱۰۳۲	۱۷/۷۸	۲۱/۷۳	۱۹/۵۱	۲۶/۳۴	-	۰/۳۶	۰/۵۹	۰/۱۸
۲	1,8-cineole	۱۰۳۷	۱/۳۴	۱/۲۸	۱/۹۹	۱/۹۹	-	-	۱/۵۷	۱/۹۵
۳	γ-terpinene	۱۰۷۳	۲۰/۷۴	۱۸/۷۲	۵/۰۶	۲/۱۸	-	-	۰/۲۶	۱/۶۳
۴	α-terpinolene	۱۰۹۰	-	-	-	-	۵/۶۵	۵/۳۶	-	-
۵	borneol	۱۱۶۸	۰/۷۳	۱/۷۰	۶/۳	۵/۹۸	-	-	۰/۴۷	۱/۱۱
۶	nerol	۱۲۳۱	-	-	-	-	-	۳/۷۰	۸/۳۷	۷/۱۴
۷	thymol methylether	۱۲۳۶	۵/۱۲	۵/۶۱	۰/۲۲	۱/۱۰	-	-	-	-
۸	neral	۱۲۴۶	-	-	-	-	-	۱/۷۰	۵/۶۲	۳/۱۱
۹	carvacrol methylether	۱۲۴۸	۳/۵۱	۳/۵۶	۷/۳	۶/۷۸	-	-	-	-
۱۰	geraniol	۱۲۷۶	-	-	-	۰/۲۸	-	۶/۳۶	۴۱/۳۸	۲۸/۶۳
۱۱	thymol	۱۳۰۹	۲۹/۱۵	۲۷/۰۳	۲۹/۳۱	۲۱/۵۹	-	۲/۶۱	۶/۹۴	۱۰/۲۹
۱۲	carvacrol	۱۳۱۳	۲/۴۸	۲/۴۸	۱/۵۳	۱/۶۱	-	-	۲/۴۱	۳/۷۹
۱۳	terpinyl acetate	۱۳۵۴	۰/۲	-	-	-	۸۶/۶۸	۵۳/۴۵	۰/۷۱	۱/۸۹
۱۴	β-caryophyllene	۱۴۲۹	۱/۷۶	۱/۷۳	۴/۷	۳/۷۸	۱/۰۶	۲/۳۲	۳/۶۹	۲/۷۷
جمع ترکیب‌ها (%)			۸۲/۷۱	۸۲/۴۳	۷۵/۹۲	۷۰/۸۱	۹۳/۴	۹۹/۲۵	۷۷/۰۱	۶۲/۵۳

این گونه را (۸۶/۶۸ درصد) ترکیب ترپینیل استات در تنش خشکی ملایم به خود اختصاص داد. البته مقدار این ترکیب در شرایط تنش خشکی شدید با کاهش قابل توجهی مواجه (۶۸/۴۵ درصد) و در عوض چند ترکیب جدید (در مقایسه با شرایط تنش ملایم) از جمله ژرانیول با مقدار ۱۱/۳۶ درصد در بین ترکیب‌های آن مشاهده شد. ترکیب گاما-ترپینن در پی تنش خشکی شدید در تمام گونه‌ها روند کاهشی نشان داد. در گونه *T. trautvetterii* که دارای درصد بالایی ژرانیول بود در شرایط تنش خشکی شدید، کاهش قابل توجهی در مقدار ژرانیول مشاهده شد و تیمول حدود ۴۰ درصد افزایش داشت.

#### بحث

نتایج این مطالعه نشان داد میزان اسانس تولیدی گیاه تحت تاثیر نوع گونه و میزان رطوبت تغییر کرده است. میزان بازده اسانس تنوع بالایی در بین گونه‌های آویشن نشان داد و عکس‌العمل‌های متفاوتی از گونه‌های مورد بررسی در مواجهه با اعمال تنش خشکی دیده شد. به‌نحوی که کاهش، افزایش و حتی عدم تغییرات معنی‌دار بازده اسانس در شرایط تنش خشکی شدید در بین گونه‌های مختلف مشاهده شد. علوی سامانی و همکاران ( Alavi-Samani et al., 2015) گزارش نمودند در تنش خشکی کوتاه مدت روی دو گونه آویشن دناایی و باغی، تنش خشکی ملایم (آبیاری در ۷۵ درصد ظرفیت زراعی) در مقایسه با آبیاری کامل (تیمار کنترل) و آبیاری در ۵۰ درصد ظرفیت زراعی، بازده اسانس بیشتری داشته است. بحرینی‌نژاد و همکاران ( Bahreininejad et al., 2014) در بررسی رژیم‌های رطوبتی ۲۰، ۵۰ و ۸۰ درصد تخلیه رطوبتی خاک بر گیاه *Thymus carmanicus* گزارش نمودند که بالاترین درصد اسانس در تنش خشکی ۸۰ درصد تخلیه رطوبتی

تجزیه اسانس: با بررسی نتایج حاصل از تجزیه اسانس توسط دستگاه GC/MS، چهارده ترکیب که بیشترین درصد را حداقل در یک گونه داشتند انتخاب شدند (جدول ۲). غالب آنها از نوع ترکیب‌های مونوترپنی بود و ترکیب‌های: پارا-سیمن، ۸ و ۱-سینئول، گاما-ترپینن، بورنئول، ژرانیول، تیمول، کارواکرول، ترپینیل استات و بتا-کاریوفیلن از مهم‌ترین اجزای تشکیل‌دهنده اسانس گونه‌های مورد بررسی بودند. بیشترین مقدار پارا-سیمن (۲۶/۳۴ درصد) متعلق به گونه *T. lancifolius*، ۸ و ۱-سینئول (۱۰/۵ درصد) در گونه *T. armeniacus*، گاما-ترپینن (۲۰/۷۴ درصد) در گونه *T. vulgaris*، بورنئول (۸/۷۳ درصد) در گونه *T. migricus*، ژرانیول (۴۱/۳۸ درصد) در گونه *T. trautvetterii*، تیمول (۴۲/۸۵ و ۴۲/۴۱ درصد) در گونه‌های *T. daenensis* و *T. kotschyanus*، کارواکرول (۲۸/۹ درصد) در گونه *T. armeniacus* و ترپینیل استات (۸۶/۶۸ درصد) در گونه *T. transcaucasicus* مشاهده شد. در بین ترکیب‌های مورد اشاره (جدول ۲)، تنها ترکیب بتا-کاریوفیلن (۶۹۷-۱/۰۶ درصد) در تمام گونه‌ها وجود داشت و سایر ترکیب‌ها ممکن است در هر دو شرایط آبیاری گیاهان در گونه‌ای موجود باشند یا فقط در یک سطح آبیاری مشاهده شوند و مقدار آنها به گونه گیاه وابسته بود. مقدار ترکیب تیمول در گونه‌های *T. vulgaris* و *T. migricus* و *T. kotschyanus* در شرایط تنش ملایم و شدید تفاوت محسوسی نشان نداد و در گونه‌های *T. daenensis* و *T. armeniacus* و در گونه‌های *T. lancifolius* در شرایط تنش خشکی شدید با کاهش نسبتاً محسوسی مواجه شد. هرچند در دو گونه *T. trautvetterii* و *T. transcaucasicus* در شرایط تنش خشکی شدید مقدار تیمول با افزایش همراه بود. نتایج حاکی از پایداری مقدار کارواکرول در دو شرایط تنش ملایم و شدید بود. هرچند این ترکیب در گونه *T. transcaucasicus* دیده نشد و بخش عمده اسانس



کربن صرف رشد می‌شود. با وقوع تنش کم آبی رشد متوقف شده و گیاه کربن را در مسیر سنتز و تشکیل مخازن متابولیت‌های ثانویه صرف می‌کند. به هر حال در پی تنش خشکی رشد گیاه کاهش می‌یابد و کربن تثبیت شده در فتوسنتز می‌تواند برای سنتز متابولیت‌های ثانویه استفاده شود ( Hale et al., 2005; Chen et al., 2011; Turtola et al., 2003).

البته اخیراً مفهوم جامع و جدیدی در این ارتباط به طور مفصل ارائه شده است. محققان با در نظر گیری چند مورد استثنا، معتقدند گیاهان به‌طور کلی زمانی که با محدودیت آب (عدم محدودیت انرژی نورانی) مواجه شوند، کاهش شدیدی در فعالیت فتوسنتزهای آنها بروز می‌کند و به دنبال این وضعیت، روزنه‌ها به جهت به حداقل رساندن هدر روی آب به واسطه تعرق، بسته می‌شوند که این فرآیند، جذب  $CO_2$  توسط برگ را مختل نموده و در نتیجه مقادیر کمتری  $CO_2$  توسط چرخه کالوین تثبیت می‌شود. به‌طور هم‌زمان مصرف کوآنزیم‌های احیاء ( $NADPH+ H^+$ ) به مقدار قابل ملاحظه‌ای کاهش یافته و حجم زیادی از این اکیوالنت‌های احیا انباشته می‌شوند. در نتیجه تنها مقدار کمی از کوآنزیم‌های کاهش یافته اکسید شده ( $NADP^+$ ) به‌عنوان گیرنده الکترون در دسترس خواهند بود. به نوبه خود، مقادیر زیادی  $NADPH+ H^+$  در سلول تجمع یافته و یک جایگاه به شدت کاهش یافته را ایجاد می‌نمایند. با توجه به روند کاهشی کوآنزیم‌ها ( $NADPH+ H^+$ )، واکنش‌هایی باید در جهت مصرف آنها نیز فعالیت کنند که در نتیجه سنتز ترکیب‌های ثانویه مثل فنل‌ها، ترپن‌ها، آلکالوئیدها، گلیکوزیدهای سیانوژنیک و گلوکوزینولات‌ها افزایش می‌یابند ( Uzilday et al., 2012; Kleinwächter et al., 2015; Kleinwächter and Selmar, 2015).

بدست آمده است ولی بالاترین عملکرد اسانس متعلق به تیمار تخلیه ۲۰ درصدی رطوبت خاک بود. امیری و همکاران (Amiri et al., 2015) در مطالعه‌ای روی گیاه شوید، نشان دادند که میزان اسانس این گیاه با افزایش تنش خشکی تا ۴۰ درصد ظرفیت زراعی در مقایسه با شاهد افزایش و در سطوح شدیدتر تنش مجدداً کاهش می‌یابد که می‌تواند ناشی از افزایش تاثیر تنش بر کاهش شدیدتر فرآیند فتوسنتز باشد. آرزمجو و همکاران (Arazmjo et al., 2010) در مطالعه تاثیر تنش خشکی بر گیاه بابونه، بیشترین درصد اسانس تولیدی را در ۷۰ درصد ظرفیت زراعی گزارش نمودند و در دو سطح ۹۰ و ۵۰ درصد ظرفیت زراعی میزان بازده اسانس کاهش یافت. در مطالعه حاضر نیز حالت‌های مختلف بازده اسانس مشاهده شد. در تنش خشکی شدید برخی گونه‌های آویشن افزایش بازده و برخی نیز کاهش را نشان دادند (جدول ۱). بنابراین بروز و مشاهده چنین عکس‌العمل متفاوتی در بین گونه‌ها بیانگر وجود اثر متقابل بین گونه‌های آویشن و میزان آب در دسترس گیاه است. در این رابطه فرضیه‌های متفاوتی مطرح شده است که می‌توان به موارد زیر اشاره نمود. براساس فرضیه اول که موازنه کربن-عناصر غذایی (CNB) نامیده می‌شود (Bryant et al., 1983)، در صورت دسترسی به عناصر غذایی، گیاه کربن را برای رشد اختصاص می‌دهد. از طرفی کمبود یا کاهش جذب مواد غذایی به واسطه خشکی خاک، تاثیر بیشتری نسبت به کاهش فتوسنتز بر محدود شدن رشد گیاه دارد و کربن موجود در گیاه جهت سنتز هیدرات‌های کربنی هدایت می‌شود که در نهایت منجر به تولید متابولیت‌های ثانویه کربن‌دار شود. فرضیه دیگر به موازنه رشد-تمایز (GDBH) اشاره دارد (Herms and Mattson, 1992) و در این فرضیه تا زمانی که امکان تقسیم و گسترش سلولی وجود داشته باشد

امامی و همکاران (Davazdahemami et al., 2014) نیز در مورد گونه مرزه، حاکی از عدم تاثیر خشکی بر میزان کارواکرول بود که در تایید یافته‌های این تحقیق قابل بحث است. هرچند بابایی و همکاران (Babae et al., 2010) نشان دادند در آویشن باغی با افزایش تنش خشکی میزان تیمول افزایش یافت و در این رابطه در گزارش عزیز و هنداوی (Aziz and Hendawy, 2008) نیز نشان داد در فواصل آبیاری ۱۰ روزه (۳ و ۵ و ۷ روزه) نسبت به سایر تیمارها میزان تیمول بیشتری در آویشن باغی تولید شد. مطالعه لچامو و گوسلین (Letchamo and Gosselin, 1995) در آویشن باغی نشان داد که محتوای تیمول در تنش خشکی شدید در مقایسه با تنش ملایم افزایش داشت و بورنئول در شرایط تنش ملایم و شدید افزایش نشان داد. در حالی که سید الاهل و همکاران (Said-Al Ahl et al., 2009) گزارش نمودند که مقدار بورنئول در گیاه مرزنجوش تحت تنش ملایم، افزایش و در تنش شدید کاهش یافت. درصد پاراسیمن در آویشن کرمانی تحت تاثیر تنش خشکی قرار نگرفت (Bahreininejad et al., 2014) در حالی که در آویشن باغی در تنش ملایم (Letchamo and Gosselin, 1995) و در مرزنجوش (Said-Al Ahl et al., 2009)، آویشن دنایی (Bahreininejad et al., 2013) و زیره سیاه (Laribi et al., 2009) تحت تاثیر تنش خشکی شدید افزایش نشان داد. هرچند تغییرات مقدار پارا-سیمن در تحقیق حاضر در شرایط تنش خشکی ملایم و شدید روند کلی نشان نداد و در برخی گونه‌ها در شرایط تنش خشکی شدید افزایش و در برخی کاهش یافت. بحرینی نژاد و همکاران (Bahreininejad et al., 2014) گزارش نمودند مقدار ۷-تریپنین در آویشن کرمانی در تنش ملایم افزایش و در تنش شدید کاهش نشان داد. باهر و همکاران (Baher et al., 2002) نیز نشان دادند در گیاه مرزه (*Satureja hortensis*) با

نتایج آنالیز اسانس هشت گونه آویشن مورد بررسی در این تحقیق در دو شرایط تنش خشکی ملایم و شدید نشان داد اجزای تشکیل دهنده اسانس نیز تا حدی به میزان آب در دسترس گیاه واکنش نشان می‌دهند. به نحوی که تغییر در مقدار و حتی وجود یا عدم وجود ترکیب‌ها در گونه‌های مختلف و در شرایط آبیاری متفاوت مشاهده شد (جدول ۲). علوی سامانی و همکاران (Alavi-Samani, et al., 2015) مشاهده نمودند که میزان تیمول در آویشن دنایی (T. *daenensis*) در شرایط تنش خشکی تا ۵۰ درصد ظرفیت زراعی، تغییرات معنی‌داری نداشته است، اما در گونه T. *vulgaris* با افزایش شدت تنش خشکی، مقدار تیمول روند کاهشی و معنی‌دار داشته است که موید نتایج مطالعه حاضر است. همچنین بحرینی‌نژاد و همکاران (Bahreininejad, et al., 2013-2014) در بررسی آویشن دنایی و کرمانی طی دو سال، افزایش تیمول و کاهش کارواکرول را در شرایط افزایش تنش خشکی مشاهده نمودند که البته در مطالعات دیگر نیز کاهش کارواکرول در آویشن باغی (Letchamo and Gosselin, 1995; Aziz and Hendawy, 2008) و T. *hyemalis* (Jordán et al., 2003) در شرایط تنش آبی گزارش شده است. در حالی که در گیاه مرزه (Baher et al., 2002) و مرزنجوش (Said-Al Ahl et al., 2009) در شرایط تنش خشکی ملایم، میزان کارواکرول افزایش و در تنش شدید کاهش نشان داده است. تفاوت روند تغییرات این دو ترکیب با مطالعه حاضر، احتمالاً ناشی از تفاوت‌های ژنتیکی و محیطی است (Figueiredo et al., 2008). هر چند بررسی پیربلوطی و همکاران (Pirbalouti et al., 2014) در آویشن دنایی (T. *daenensis*) روند کاهشی تیمول را در تیمار آبیاری ۵۰ درصد ظرفیت زراعی را نشان داد ولی کارواکرول و بتا-کاروفیلین تغییرات معنی‌داری طی شرایط کنترل و تنش نداشتند. بررسی‌های دوازده

*T. kotschyanus* دارای بالاترین میزان تیمول و گونه *T. armeniacus* دارای بالاترین میزان کارواکرول و گونه *T. trautvetterii* از بالاترین میزان ژرانیول برخوردار بود. همچنین تنش خشکی شدید تاثیری بر مقدار تیمول در سه گونه *T. kotschyanus*, *T. vulgaris* و *T. migricus* نشان نداد و مقدار کارواکرول نیز تحت تاثیر تنش شدید قرار نگرفت. بنابراین با توجه به اثرات ضدباکتری و ضدقارچی و ترکیب تیمول کارواکرول آنها در صنایع غذایی و دارویی و از طرفی کاهش نزولات جوی و کم آبی در کشور می‌توان از گونه‌های مورد اشاره جهت کشت و بهبود راندمان مصرف آب استفاده نمود.

#### References

1. Adams, R.P. 2001. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy: Carol Stream, IL.: Allured Publishing Co.
2. Akhbari, D. and Pessarakli, M. 2015. Effect of drought stress on total Protein, essential oil content, and physiological traits of *Levisticum Officinale* Koch. Journal of Plant Nutrition, (just-accepted).
3. Alavi-Samani, S.M., Kachouei, M.A. and Pirbalouti, A.G. 2015. Growth, yield, chemical composition, and antioxidant activity of essential oils from two thyme species under foliar application of jasmonic acid and water deficit conditions. Horticulture, Environment, and Biotechnology, 56(4): 411-420.
4. Alizadeh, A. 2007. Soil physics: Astan ghods publication, Imam Reza University, Mashhad. 440 p. In Persian.
5. Amiri, H., Emami, H. and Abdollahi, F. 2015. Effects of drought stress on the essential oil content and composition of Dill (*Anethum graveolens* L). Journal of plant process and function, 3(10): 143-150. (In Persian).
6. Arazmjo, A., Heidari, M., Ghanbari, A., Siahsar, B. and Ahmadian, A. 2010. Effects of three types of fertilizers on

افزایش تنش خشکی مقدار گاما-تریپین کاهش یافت که تغییرات این ترکیب در شرایط تنش خشکی شدید در بررسی‌های مورد اشاره با نتایج این تحقیق همخوانی دارد. هرچند در مطالعه مذکور، میزان بورنئول در تنش شدید افزایش یافت اما در تحقیق حاضر و تحت تنش خشکی شدید، تاثیر محسوسی بر میزان این ترکیب نداشت. در بررسی‌های فاطیما و همکاران (Fatima et al., 1999) نشان دادند، مقدار ژرانیول در ژنوتیپ‌های مختلف *Cymbopogon martinii* تحت تاثیر تنش خشکی کاهش یا افزایش داشته و یا بدون تغییر بوده است. بررسی‌های هولتزر و همکاران (Holtzer et al., 1988) نشان داد که بسته به نوع گونه گیاهی، تنش خشکی می‌تواند سبب کاهش، افزایش و یا عدم تغییر در میزان ترکیب‌های موجود در اسانس گیاهان شود. این واکنش‌های متفاوت ناشی از اثر عوامل ژنتیکی و محیطی هستند که تاثیر قابل توجهی بر سنتز این متابولیت‌ها داشته و موجب تنوع زیادی در نوع و مقدار ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس گیاهان دارویی و معطر می‌شوند (Kleinwächter et al., 2015)، اما به‌طور مسلم این تغییرات متاثر از کاهش یا افزایش بیان ژن‌های درگیر در مسیرهای بیوشیمیایی سنتز این ترکیب‌ها است (Kleinwächter and Selmar, 2015) که در واکنش به تغییرات محیطی توسط ژنوم گیاه هدایت می‌شوند. بنابراین می‌توان با در نظر گرفتن نحوه تاثیر تنش بر گیاه، ضمن کاهش میزان مصرف آب، کیفیت محصول تولیدی را نیز بهبود بخشید. هرچند در این تصمیم بایستی تغییرات عملکرد رویشی گیاه مورد توجه قرار گیرد.

#### نتیجه‌گیری نهایی

با توجه به نتایج حاصل از این مطالعه، بالاترین درصد اسانس متعلق به گونه‌های *T. vulgaris* و *T. kotschyanus* بود. دو گونه *T. daenensis*

- carmanicus*. Journal of Essential Oil Bearing Plants, 17(5): 717-725.
14. Bettaieb, I., Zakhama, N., Wannas, W.A., Kchouk, M.E. and Marzouk, B. 2009. Water deficit effects on *Salvia officinalis* fatty acids and essential oils composition. Scientia Horticulturae, 120(2): 271-275.
  15. Bryant, J.P., Chapin III, F.S. and Klein, D.R. 1983. Carbon/nutrient balance of boreal plants in relation to vertebrate herbivory. Oikos, 357-368.
  16. Chen, Y., Guo, Q., Liu, L., Liao, L. and Zhu, Z. 2011. Influence of fertilization and drought stress on the growth and production of secondary metabolites in *Prunella vulgaris* L. J Med Plant Res, 5(9): 1749.
  17. Davazdahemami, S., Sefidcon, F., Rezaei, M. and Naderi, M., 2014. The effect of drought stress on quantitative and qualitative characters of essential oil and carvacrol yield in two endemic species of savory (*satureja bachtiarica* and *S. khuzistarica*) in Iran. Technical Journal of Engineering and Applied Sciences, 4(3): 143-146.
  18. Fatima, S., Abad Farooqi, A., Ansari, S. and Sharma, S., 1999. Effect of water stress on growth and essential oil metabolism in *Cymbopogon martinii* (palmarosa) cultivars. Journal of Essential Oil Research, 11(4): 491-496.
  19. Figueiredo, A.C., Barroso, J.G., Pedro, L.G. and Scheffer, J.J. 2008. Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils. Flavour and Fragrance Journal, 23(4): 213-226.
  20. Hale, B.K., Herms, D.A., Hansen, R.C., Clausen, T.P. and Arnold, D. 2005. Effects of drought stress and nutrient availability on dry matter allocation, phenolic glycosides, and rapid induced resistance of poplar to two lymantriid defoliators. Journal of Chemical Ecology, 31(11): 2601-2620.
  21. Herms, D.A. and Mattson, W.J., 1992. The dilemma of plants: to grow or defend. Quarterly review of biology, 283-335.
  22. Holtzer, T.O., Archer, T.L. and Norman, J.M. 1988. Host plant suitability in essential oil, photosynthetic pigments, and osmoregulators in chamomile under drought stress. Environmental Stresses in Crop Sciences, 3(1): 23-33. (In Persian).
  7. Ashiri, F., Khoskhai, M., SaharKhiz, M., Firouzi, O. and Javidnia, K. 2010. Effects of water deficit stress on morphological characteristics, chlorophyll and peroline contents and antioxidant activity of garden thyme (*Thymus vulgaris* L.). Iranian Journal of Horticultural Science and Technology, 11(2): 163-174. (In Persian).
  8. Aziz, E.E. and Hendawy, S. 2008. Effect of soil type and irrigation intervals on plant growth, essential oil yield and constituents of *Thymus vulgaris* plant. American Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Sciences, 4: 443-450.
  9. Aznar, A., Fernández, P.S., Periago, P.M. and Palop, A. 2013. Antimicrobial activity of nisin, thymol, carvacrol and cymene against growth of *Candida lusitaniae*. Food Science and Technology International, 21(1): 72-79.
  10. Babae, K., AminiDehaghi, M., ModaresSanavi, S.A.M. and Jabbari, R. 2010. Water deficit effect on morphology, prolin content and thymol percentage of Thyme (*Thymus vulgaris* L.). Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 26(2): 239-251. In Persian.
  11. Baher, Z.F., Mirza, M., Ghorbanli, M. and Bagher Rezaii, M. 2002. The influence of water stress on plant height, herbal and essential oil yield and composition in *Satureja hortensis* L. Flavour and Fragrance Journal, 17(4): 275-277.
  12. Bahreininejad, B., Razmjoo, J. and Mirza, M. 2013. Influence of water stress on morpho-physiological and phytochemical traits in *Thymus daenensis*. International Journal of Plant Production, 7(1): 151-166.
  13. Bahreininejad, B., Razmjoo, J. and Mirza, M. 2014. Effect of Water Stress on Productivity and Essential Oil Content and Composition of *Thymus*

30. Laribi, B., Bettaieb, I., Kouki, K., Sahli, A., Mougou, A. and Marzouk, B., 2009. Water deficit effects on caraway (*Carum carvi* L.) growth, essential oil and fatty acid composition. *Industrial Crops and Products*, 30(3): 372-379.
31. Letchamo, W. and Gosselin, A., 1995. Effects of HPS supplemental lighting and soil water levels on growth, essential oil content and composition of two thyme (*Thymus vulgaris* L.) clonal selections. *Canadian Journal of Plant Science*, 75(1): 231-238.
32. Letchamo, W. and Gosselin, A. 1996. Transpiration, essential oil glands, epicuticular wax and morphology of *Thymus vulgaris* are influenced by light intensity and water supply. *Journal of Horticultural Science*. 71: 123-134.
33. Mahdavi, S., Karimzadeh, G. and arefi, H.M., 2009. Chromosomal variation studies in some *Thymus* medicinal plant species. *Iranian Journal of Horticulture science*, 40(1): 29-36. In persian.
34. Malekpoor, F., Salimi, A. and Ghasemi Pirbalouti, A. 2015. Effects of Jasmonic acid on essential oil yield and chemical compositions of two Iranian landraces of basil (*Ocimum basilicum*) under reduced irrigation. *Journal of Herbal Drugs (An International Journal on Medicinal Herbs)*, 6(1): 13-21.
35. Mewes, S., Krüger, H. and Pank, F. 2008. Physiological, morphological, chemical and genomic diversities of different origins of thyme (*Thymus vulgaris* L.). *Genetic Resources and Crop Evolution*, 55(8): 1303.
36. NaghdiBadi, H. and Makkizadeh, M. 2003. Review of common thyme (*Thymus Vulgaris* L.). *Journal of medicinal plants*, 3(7): 1-12. (In Persian).
37. Pirbalouti, A.G., Samani, M.R., Hashemi, M. and Zeinali, H. 2014. Salicylic acid affects growth, essential oil and chemical compositions of thyme (*Thymus daenensis* Celak.) under reduced irrigation. *Plant growth regulation*, 72(3): 289-301.
38. Rustaiee, A., Sefidkon, F., Tabatabaei, S.M.F., Omidbaigi, R. and Mirahmadi, S.F. 2011. Chemical Polymorphism of Essential Oils from Five Populations of relation to water stress. In *Plant Stress Interactions*. E.A. Heinrichs, editor. Willey-Inter Science., New York, USA, 111-137 pp.
23. Jamzad, Z., 2009. *Thymus* and *Satureja* species of Iran. Tehran: Research institute of Forest and Rangelands. 171 p. (In Persian).
24. Jordán, M.J., Martínez, R.M., Cases, M.A. and Sotomayor, J.A. 2003. Watering level effect on *Thymus hyemalis* Lange essential oil yield and composition. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(18): 5420-5427.
25. Kalvandi, R., Mirza, M., Atri, M., HesamzadehHejazi, M., Jamzad, Z. and Safikhani, K., 2014. Introduction of seven new chemotypes of *Thymus eriocalyx* (Ronniger) Jalas. in Iran based upon the variation of essential oil composition in different populations Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 30(1): 101-122. (In Persian).
26. Keefover-Ring, K., Thompson, J.D. and Linhart, Y.B., 2009. Beyond six scents: defining a seventh *Thymus vulgaris* chemotype new to southern France by ethanol extraction. *Flavour and Fragrance Journal*, 24(3): 117-122.
27. Kleinwächter, M. and Selmar, D. 2015. New insights explain that drought stress enhances the quality of spice and medicinal plants: potential applications. *Agronomy for Sustainable Development*, 35(1): 121-131.
28. Kleinwächter, M., Paulsen, J., Bloem, E., Schnug, E. and Selmar, D. 2015. Moderate drought and signal transducer induced biosynthesis of relevant secondary metabolites in thyme (*Thymus vulgaris*), greater celandine (*Chelidonium majus*) and parsley (*Petroselinum crispum*). *Industrial Crops and Products*, 64:158-166.
29. Kovats, V.E., 1958. gas-chromatographische charakterisierung organischer verbindungen. teil 1: retentionsindices aliphatischer halogenide, alkohole, aldehyde und ketone. *helvetica chimica acta*, 41(7): 1915-1932.

44. Thompson, J.D., Tarayre, M., Gauthier, P., Litrico, I. and Linhart, Y.B. 2004. Multiple genetic contributions to plant performance in *Thymus vulgaris*. *Journal of Ecology*, 92(1): 45-56.
45. Turtola, S., Manninen, A.-M., Rikala, R. and Kainulainen, P. 2003. Drought stress alters the concentration of wood terpenoids in Scots pine and Norway spruce seedlings. *Journal of Chemical Ecology*, 29(9): 1981-1995.
46. Uzilday, B., Turkan, I., Sekmen, A., Ozgur, R. and Karakaya, H. 2012. Comparison of ROS formation and antioxidant enzymes in *Cleome gynandra* (C<sub>4</sub>) and *Cleome spinosa* (C<sub>3</sub>) under drought stress. *Plant Science*, 18:259-70.
47. Vaičiulytė, V. and Ložienė, K. 2015. Metabolomic analysis and effects of meteorological factors on phenolic and non-phenolic chemotypes of *Thymus pulegioides* L. cultured in the same locality. *Industrial Crops and Products*, 77:491-498.
48. Yazdani, D., Shahnazi, S., Jamshidi, A., Rezazadeh, S. and mojab, F. 2006. Assessment of essential oils of qualitative and quantitative changes of thyme and tarragon in the fresh and dry parts of the plant. *Medicinal Plant Journal*, 17(4): 7-15.
- Thymus daenensis* Celak. subsp. *daenensis* Endemic to Iran. *Journal of Essential Oil Research*, 23(3): 6-11.
39. Safaei-Ghomi, J., Ebrahimabadi, A.H., Djafari-Bidgoli, Z. and Batooli, H. 2009. GC/MS analysis and in vitro antioxidant activity of essential oil and methanol extracts of *Thymus caramanicus* Jalas. and its main constituent carvacrol. *Food Chemistry*, 115(4): 1524-1528.
40. Said-Al Ahl, H., Omer, E. and Naguib, N. 2009. Effect of water stress and nitrogen fertilizer on herb and essential oil of oregano. *Int. Agrophysics*, 23:269-275.
41. Selmar, D. and Kleinwächter, M. 2013. Influencing the product quality by deliberately applying drought stress during the cultivation of medicinal plants. *Industrial Crops and Products*, 42:558-566.
42. Simon, J.E., Reiss-Bubenheim, D., Joly, R.J. and Charles, D.J., 1992. Water stress-induced alterations in essential oil content and composition of sweet basil. *Journal of Essential Oil Research*, 4(1): 71-75.
43. Thompson, J.D., Chalchat, J.-C., Michet, A., Linhart, Y.B. and 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(4): 859-880.