

مطالعه برخی عوامل بوم‌شناختی، ویژگی‌های ریختی، سطح پلوئیدی و ترکیب‌های اسانس آویشن کرک‌آلود (*Thymus pubescens* Boiss. & Kotschy ex Celak) در دو رویشگاه طبیعی استان آذربایجان شرقی

علیرضا یاوری^۱، وحیده ناظری^۲، فاطمه سفیدکن^۳ و محمداسماعیل حسنی^۴

- ۱- دانشجوی کارشناسی ارشد علوم باگبانی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج
- ۲- نویسنده مسئول، استادیار، گروه علوم باگبانی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، پست الکترونیک: nazeri@ut.ac.ir
- ۳- استاد، بخش تحقیقات گیاهان دارویی و محصولات فرعی، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراعت کشور
- ۴- استادیار، گروه علوم باگبانی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج

تاریخ پذیرش: شهریور ۱۳۸۸

تاریخ اصلاح نهایی: بهمن ۱۳۸۸

تاریخ دریافت: شهریور ۱۳۸۸

چکیده

به منظور ارزیابی برخی از خصوصیات بوم‌شناختی، ریختی و همچنین تعیین سطح پلوئیدی و شناسایی ترکیب‌های اسانس آویشن کرک‌آلود (*Thymus pubescens* Boiss. & Kotschy ex Celak) دو رویشگاه بستان‌آباد و یام در استان آذربایجان شرقی جهت انجام مطالعات مذکور انتخاب شدند. در این پژوهش در بهار سال ۱۳۸۷ در مرحله گلدهی، جهت ارزیابی ریختی از هر رویشگاه پنج نمونه کامل گیاهی و سرشاخه‌های گلدار جهت استخراج اسانس تهیی و به همراه بذر به منظور تعیین سطح پلوئیدی در فصل تولید بذر جمع‌آوری شد. اطلاعات مربوط به رویشگاه‌ها یادداشت‌برداری شد. خصوصیات رویشی و زایشی هر جمعیت مورد مطالعه قرار گرفت و بازده و ترکیب‌های اسانس گونه مورد مطالعه توسط دستگاه کروماتوگرافی گازی (GC) و دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنج جرمی (GC/MS) اندازه‌گیری و تعیین شد. به منظور تعیین سطح پلوئیدی، در هر جمعیت حداقل ۱۰ یاخته متفاوتی نوک ریشه مورد مطالعه قرار گرفت و ضمن شمارش تعداد کروموزوم، سطح پلوئیدی آنها تعیین گردید. نتایج نشان داد که میانگین طول ساقه گلدار، طول و عرض برگ، تعداد گل در گل آذین و طول گل آذین در جمعیت یام بیشتر از جمعیت دیگر بود. از نظر سطح پلوئیدی، جمعیت بستان‌آباد هگزاپلوئید ($2n=40$) و جمعیت یام تراپلوئید ($2n=40$) مشخص گردید. بازده اسانس رویشگاه بستان‌آباد و یام به ترتیب $1/3\%$ و $2/2\%$ بود. ترکیب غالب در اسانس هر دو رویشگاه تیمول می‌باشد که به ترتیب $57/6\%$ و $44/9\%$ در رویشگاه‌های بستان‌آباد و یام می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: آویشن کرک‌آلود (*Thymus pubescens* Boiss. & Kotschy ex Celak)، ویژگی‌های ریختی، سطح پلوئیدی، اسانس، تیمول.

مقدمه

به عنوان مرکز تنوع این سرده معرفی شده است سرده آویشن دارای ۲۱۵ گونه علفی پایا و

مختلف از این سرده در بخش‌های مختلف کشور درختچه‌ای کوچک در دنیا بوده و منطقه مدیترانه

یکی از گیاهانیست که در این ناحیه یافت می‌شود (مظفریان، ۱۳۸۶). از نظر دامنه پراکنش، این گونه در شمال عراق و نواحی مرکزی، غربی و شمال غرب ایران پراکش دارد (Rechinger, 1982).

مطالعات ژنتیکی و اصلاحی محدودی بر روی گیاه *Mehrpur T. pubescens* در کشور صورت گرفته است. همکاران (۲۰۰۲) با بررسی سطح پلولی و سه جمعیت آویشن کرک‌آلود جمع‌آوری شده از مناطق تسوج، نیکنامده و شمشک، دو سطح پلولی (دیپلولی و تترالپلولی) را برای آنها گزارش نمودند. در این بررسی عدد پایه کروموزومی (x) برای این گونه ۱۵ معرفی شد. عسگری و همکاران (۱۳۸۲) با مقایسه کمی و کیفی انسانس *T. pubescens* در رویشگاه‌های مختلف استان تهران دریافتند که در دوره‌های مختلف رشدی به دلیل تغییر عوامل محیطی از قبیل دما، شدت نور و طول دوره روشنایی، میزان انسانس دستخوش تغییر و بالاترین بازده انسانس در مرحله گلدهی حاصل می‌شود. همچنین کارواکرول، تیمول، پارا-سیمن و بورنئول که از اجزای اصلی انسانس آویشن هستند، در دوره‌های رشدی مورد مطالعه نوسان نشان می‌دهند. در تحقیقی میرزایی ندوشن و همکاران (۱۳۸۵) با تجزیه علیت در صفات مؤثر بر انسانس گیاه *T. pubescens* گزارش نمودند که بین صفات مورفولوژیک و انسانس، میزان همبستگی روابط قابل توجه است، به نحوی که تعداد روزنه و طول برگ بیشترین اثرهای مستقیم بر افزایش انسانس را از خود نشان دادند ولی همین صفات با اثرهای غیرمستقیم خود از طریق سایر صفات موجب کاهش انسانس گردیدند. در پژوهشی دیگر اثر ارتفاع بر روغن انسانس و ترکیب‌های گیاه دارویی آویشن کوهی

رویش طبیعی دارند که در این میان چهار گونه انحصاری ایران هستند (Rechinger, 1982). در سالهای اخیر استفاده از داروهای دارای منشأ گیاهی به دلیل هزینه پایین، در دسترس بودن و عوارض جانبی کمتر نسبت به داروهای شیمیایی مورد توجه قرار گرفته‌اند. در این راستا آویشن که از گیاهان مهم دارویی به حساب می‌آید، توانسته است جایگاه مهمی را در کشاورزی متابولیتی و صنایع دارویی پیدا کند، به‌طوری که گونه *T. vulgaris* که یک گونه اصلاح شده از این سرده است همه ساله در سطوح وسیعی در کشورهای اسپانیا، آلمان، فرانسه، پرتغال، امریکا، چک، اسلواکی، مجارستان و شمال آفریقا کشت می‌شود. در تمام فارماکوپه‌های معتبر از پیکره رویشی آویشن به عنوان دارو یاد شده است (امیدیگی، ۱۳۸۵). ماده مؤثره موجود در پیکره رویشی این گیاه انسانس است که ترکیب‌های فنلی (تیمول و کارواکرول) موجود در آن سبب ایجاد خاصیت‌های فارماکولوژیکی متعددی می‌شود. گونه‌های مختلف آویشن به عنوان مطبوع‌کننده و طعم‌دهنده، همچنین به عنوان ضدسرفه، خلط‌آور، ضدنفخ، ضدمیکروب، ضدقارچ، ضداسپاسم، دهان‌شویه و در فرآورده‌های دهانی مورد استفاده قرار می‌گیرند. در مطالعات انسانی تأثیر مثبت آن در شب ادراری کودکان گزارش شده است (فارماکوپه گیاهی ایران، ۱۳۸۱).

ناحیه رویشی زاگرس با برخورداری از پوشش گیاهی اعم از جنگل و مرتع به عنوان گنجینه‌ای از گیاهان دارویی مطرح است. آویشن کرک‌آلود با نام *Thymus pubescens* Boiss. & Kotschy ex Celak علمی که به تیره نعناعیان (Lamiaceae) تعلق دارد،

مواد و روشها

در این تحقیق، آویشن کرک‌آلود در بهار سال ۱۳۸۷ از دو رویشگاه طبیعی بستان‌آباد و یام در استان آذربایجان شرقی جمع‌آوری شد. اطلاعات مربوط به محله‌ای جمع‌آوری هر رویشگاه ثبت و در جدول ۱ آورده شده است. به منظور ارزیابی صفات ریختی از هر منطقه پنج نمونه کامل گیاهی در فصل گلدهی گیاه انتخاب و ۲۲ صفت کمی با پنج تکرار برای هر صفت بررسی شد. در مورد ویژگی تعداد بذر در هر گل آذین و تهیه نمونه‌های بذری جهت ارزیابی‌های سطح پلوئیدی، نمونه‌های بذردار هر منطقه در تابستان همان سال جمع‌آوری شد. شناسایی نمونه‌ها با استفاده از فلورا ایرانیکا در هرباریوم دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران انجام گردید (Rechinger, 1982).

(*T. kotschyanus*) منطقه طالقان مورد ارزیابی قرار گرفت. در این بررسی مشخص شد که با افزایش ارتفاع، میزان اسانس کاهش می‌یابد. همچنین همبستگی مثبت و معنی‌داری بین عناصر کلسیم، منیزیم، سدیم و درصد مواد آلی خاک با افزایش ترکیب‌های اسانس در ارتفاعات مختلف بدست آمد (حبیبی و همکاران، ۱۳۸۵). در زمینه ارتباط احتمالی بین سطح پلوئیدی و مقدار ترکیب‌های ثانوی عقیده بر این است که با افزایش سطح پلوئیدی، میزان ترکیب‌های ثانوی از نظر کمی افزایش می‌یابد (Dhawan & Lavania, 1996). هدف از تحقیق حاضر، مطالعه برخی از عوامل بوم‌شناختی، ویژگی‌های ریختی، تعیین سطح پلوئیدی و شناسایی کمیت و کیفیت اسانس این گونه می‌باشد تا گامی در جهت شروع کارهای اصلاحی بر روی این گونه برداشته شود.

جدول ۱- موقعیت جغرافیایی دو رویشگاه مورد مطالعه آویشن کرک‌آلود

استان	محل جمع‌آوری	ارتفاع از سطح دریا (m)	طول جغرافیایی	عرض جغرافیایی
بستان‌آباد	آذربایجان شرقی	۱۷۱۰	N $37^{\circ}48'$	E $46^{\circ}53'$
یام	آذربایجان شرقی	۱۵۰	N $38^{\circ}26'$	E $45^{\circ}46'$

دماهی ۲۴ درجه سانتی‌گراد در ژرمیناتور نگهداری شدند. جوانه‌زنی بذرها پس از ۳-۴ روز آغاز شد. ریشه‌های ۱-۱/۵ سانتی‌متری جهت شمارش کروموزومی مورد استفاده قرار گرفتند. بُرش ریشه‌ها در ساعت ۸ صبح صورت گرفت و ریشه‌های جدا شده به مدت ۲ ساعت در پیش‌تیمار -۸- هیدروکسی کوئینولین قرار داده شدند. پس از آن، ریشه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در محلول پتاسیم کلرید ۷۵ میلی‌مولار نگهداری شدند. این ترکیب باعث می‌شود بهترین و بزرگ‌ترین کروموزومهای متافازی بدست

نمونه‌هایی از خاک هر رویشگاه تا عمق ۳۰ سانتی‌متری جهت شناسایی بافت خاک و تعیین برخی خصوصیات آن، نمونه‌برداری و به آزمایشگاه گروه خاک‌شناسی دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران تحويل گردید. همچنین سیمای ظاهری پوشش گیاهی غالب و وضعیت بوم‌شناختی هر منطقه مورد ارزیابی قرار گرفت (جدول ۲).

تعیین سطح پلوئیدی

بذرهای آغشته به محلول قارچ‌کش بنومیل در ظروف پتري‌دیش حاوی کاغذ صافی مرتبط قرار داده شده و در

شد جهت استخراج اسانس از روشی که بالاترین بازده اسانس را دارد یعنی روش تقطیر با آب استفاده گردد (سفیدکن و رحیمی بیدگلی، ۱۳۸۱). بدین منظور ۱۰۰ گرم از سرشاخه‌های گلدار خرد شده توسط آسیاب، به روش تقطیر با آب به کمک دستگاه اسانس‌گیری تیپ کلونجر طبق فارماکوپه بریتانیا برای مدت ۴ ساعت و با سه تکرار اسانس‌گیری شد (British pharmacopoeia، ۱۹۸۸). نمونه‌ها پس از چهار ساعت اسانس‌گیری و جداسازی از ستون دستگاه، با سرنگ مخصوص جمع‌آوری و توسط سدیم سولفات بدون آب، آبگیری شدند. سپس درصد اسانس‌ها نسبت به وزن خشک محاسبه گردید.

روشهای تجزیه دستگاهی دستگاه کروماتوگرافی گازی (GC)

کروماتوگراف گازی شیمادزو سری ۹A ساخت کشور ژاپن، دارای ستون موئینه به طول ۳۰ متر و قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه فاز ساکن برابر ۰/۲۵ میکرون و با نام تجاری DB-5 بود. برنامه‌ریزی دمایی ستون از دمای اولیه ۶۰ درجه سانتی‌گراد شروع شده و در هر دقیقه ۳ درجه سانتی‌گراد به آن افزوده می‌شد تا به دمای ۲۱۰ درجه سانتی‌گراد می‌رسید. سپس دما با سرعت ۲۰ درجه سانتی‌گراد در دقیقه افزایش یافته و در دمای ۲۴۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۸/۵ دقیقه متوقف می‌گردید. دمای محفظه تزریق ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد و دمای آشکارساز ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. آشکارساز مورد استفاده در دستگاه کروماتوگراف گازی از نوع FID (آشکارساز

آید. پس از شستشو با آب مقطر، نمونه‌ها در تثبیت‌کننده حاوی سه حجم اتانول و یک حجم استیک اسید گلاسیال به مدت ۲۴ ساعت نگهداری شده و به دنبال آن، پس از شستشو با آب مقطر تا زمان انجام مطالعات میکروسکوپی، نمونه‌ها در الکل ۷۰٪ نگهداری شدند. در هنگام انجام مطالعات میکروسکوپی، جهت هیدرولیز و نرم شدن ریشه‌ها، نمونه‌ها به مدت ۱۳ دقیقه در کلریدریک اسید ۱ نرمال در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد در حمام بخارآب قرار گرفته و بعد نمونه‌ها شسته شده و خشک شده و در ظروف کوچک پلاستیکی که حاوی ۱-۲ میلی‌لیتر از رنگ هماتوکسیلین بودند، به مدت ۴۵ دقیقه در حمام بخارآب در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد جهت رنگ‌آمیزی قرار داده شدند. پس از رنگ‌آمیزی، منطقه مریستمی انتهای ریشه جدا و به همراه یک قطره استیک اسید ۴۵٪ روی لام گذاشته و پس از قرار دادن لام و لهکردن نمونه‌ها، یاخته‌های در حال تقسیم میتوزی در زیر میکروسکوپ مطالعه شدند. در هر جمعیت حداقل ۱۰ یاخته متابازی مورد بررسی قرار گرفت و ضمن شمارش تعداد کروموزومها، سطح پلوئیدی آنها به همراه تهیه عکس از آنها مشخص گردید.

استخراج اسانس

به منظور جمع‌آوری نمونه‌های گیاهی جهت استخراج اسانس، سرشاخه‌های گلدار گیاه در زمان گلدهی کامل از هر دو منطقه جمع‌آوری و در سایه و در دمای اتاق خشک گردیدند. نمونه‌ها پس از خشک شدن در پاکت‌های کاغذی نگهداری شدند. برای تعیین درصد روغن اسانس، با توجه به تنوع روش‌های اسانس‌گیری گزارش شده، سعی

در طیف کروماتوگرام بدست آمد و با مقادیری که در منابع مختلف با در نظر گرفتن اندیس کواتس منتشر شده، مقایسه گردید (Shibamoto, 1987; Davies, 1998).

نتایج

نتایج حاصل از عملیات صحرایی نشان داد که گونه *T. pubescens* در مناطق پُرشیب و به‌ویژه شیب‌های رو به جنوب از تراکم بیشتری برخوردار می‌باشد. این گونه اغلب در مناطق باز دامنه کوهها و در خاکهای با بافت متوسط تا نیمه‌سنگین غیر شور و اسیدیته (pH) قلیایی مخصوصاً در نقاطی که درصد کربن متوسط تا سنگین است و نیز میزان پتاسیم قابل جذب متوسط به بالاست، رویش دارد (جدول ۲). آویشن کرک‌آلود در هر دو رویشگاه بستان‌آباد و یام به همراه گونه‌ای خاردار می‌روید. در منطقه یام در سال نمونه‌برداری به دلیل خشکسالی و کمبود علوفه مورد نیاز برای چرای دام، گیاهان آویشن بشدت مورد چرای دام قرار گرفته بودند (جدول ۲).

براساس آمار ۱۰ ساله هواشناسی دریافتی از سازمان هواشناسی مربوط به استان آذربایجان شرقی، میانگین دمای سالیانه شهرستان بستان‌آباد ۸/۴ درجه سانتی‌گراد و منطقه یام شهرستان مرند ۱۱/۸ درجه سانتی‌گراد تعیین شده است. در این دو ایستگاه میانگین بارش سالیانه به ترتیب برای بستان‌آباد ۳۱۹ میلی‌متر و برای یام ۳۶۱ میلی‌متر ثبت شده است (جدول ۲).

يونیزاسیون شعله‌ای) بود که از گاز هلیم به عنوان گاز حامل استفاده گردید و فشار ورودی آن به ستون برابر ۳ کیلوگرم بر سانتی‌متر مربع تنظیم شد.

دستگاه کروماتوگراف گازی متصل به طیفسنج جرمی (GC/MS)

از کروماتوگراف گازی واریان ۳۴۰۰ متصل شده به طیفسنج جرمی (Saturn II, GC/MS) استفاده شد. ستون مورد استفاده از نوع DB-5 به طول ۳۰ متر و قطر ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه فاز ساکن ۰/۲۵ میکرون بود. برنامه‌ریزی حرارتی از ۵۰ تا ۲۴۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۳ درجه در دقیقه، درجه حرارت محفظه تزریق ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد و درجه حرارت ترانسفرلاین ۲۶۰ درجه سانتی‌گراد با استفاده از گاز هلیم به عنوان گاز حامل مورد استفاده قرار گرفته است. سرعت گاز هلیم ۳۱/۵ سانتی‌متر بر ثانیه، دتکتور تله یونی (Ion trap)، انرژی یونی (Ion trap) ۷۰ الکترون ولت، زمان اسکن برابر یک ثانیه و ناحیه جرمی از ۴۰ تا ۳۰۰ بوده است.

شناسایی طیف‌ها به کمک محاسبه شاخص‌های بازداری کواتس که با تزریق هیدروکربن‌های نرمال (C₇-C₂₅) تحت شرایط یکسان با تزریق انسان‌ها انجام شد و با مقادیری که در منابع مختلف منتشر گردیده بود، مقایسه شد. بررسی طیف‌های جرمی نیز جهت شناسایی ترکیب‌ها انجام گردید و شناسایی‌های انجام شده با استفاده از طیف‌های جرمی ترکیب‌های استاندارد و استفاده از کتابخانه‌های مختلف تأیید گردید. درصد نسبی هر کدام از ترکیب‌های تشکیل‌دهنده انسان‌ها با توجه به سطح زیر منحنی آن

جدول ۲- خصوصیات بوم‌شناختی، خاکی و گیاهان همراه آویشن کرک‌آلود در رویشگاه‌های مختلف

ردیف	صفت	واحد	بستان‌آباد	یام
۱	شیب	-	جنوبی	جنوبی
۲	بافت خاک	-	لومی رسی	لومی شنی
۳	شن	درصد	۴۱	۶۱
۴	رس	درصد	۳۱	۱۷
۵	سیلت	درصد	۲۸	۲۲
۶	CEC	cmolc/kg	۱۸/۸۲	۱۲/۰۹
۷	(pH)	-	۸	۸
۸	Ec	(dS/m)	۰/۴۳	۰/۵۷
۹	کربن آلی	درصد	۰/۴۶	۰/۹۶
۱۰	کلسیم محلول	ppm	۸۰	۱۱۴
۱۱	نیتروژن کل	درصد	۰/۰۶	۰/۰۹
۱۲	فسفر قابل جذب	ppm	۱۱/۰۴	۹/۳۶
۱۳	پتاسیم قابل جذب	ppm	۱۳۰	۱۷۵
۱۴	کاربری زمین	-	مرتع	چراگاه
۱۵	گیاهان غالب	-	گون و آویشن	علفی‌های چندساله، گون و آویشن
۱۶	میانگین دمای سالیانه	°C	۸/۴	۱۱/۸
۱۷	میانگین بارش سالیانه	mm	۳۱۹	۳۶۱

ساقه، تعداد گل در گل‌آذین، طول گل‌آذین، طول کاسه و جام گل نسبت به رویشگاه بستان‌آباد می‌باشند که از نظر برداشت گیاهان دارویی ارزش بالایی دارند.

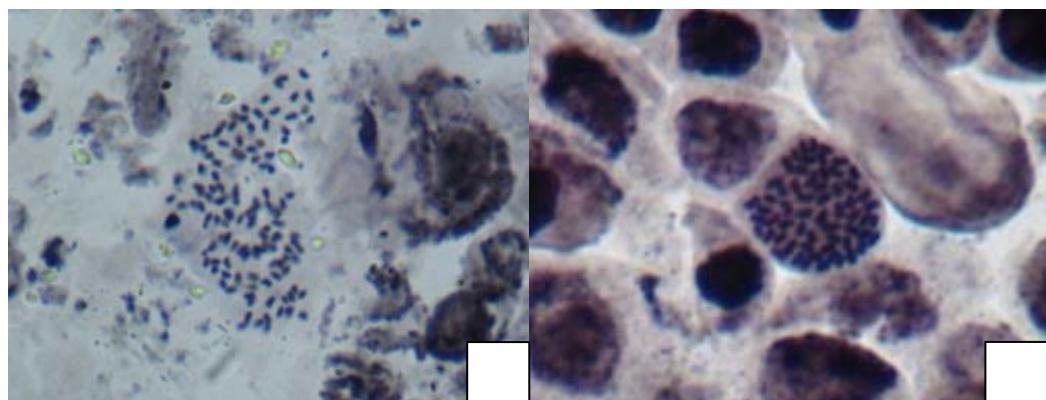
به‌طور کلی در بررسی‌های سیتوژنتیکی انجام شده مشخص شد که جمعیت بستان‌آباد دارای 90 کروموزوم ($2n=90$) و جمعیت یام دارای 60 کروموزوم ($2n=60$) می‌باشد. از نظر سطح پلولئیدی با توجه به اینکه نمونه دیپلولئید آن ($2n=30$) پیش از این توسط Mehrpur و همکاران (2002) گزارش شده است، هر دو جمعیت پلی‌پلولئید بوده و نمونه بستان‌آباد هگزاپلولئید ($2n=60$) و نمونه یام به عنوان تترابلولئید ($2n=4x=60$) مشخص گردیدند (شکل ۱).

مطالعات رخدادشناسی (phenological) نشان داد که شروع مرحله رویشی گیاه در این دو منطقه به‌طور همزمان آغاز نمی‌گردد؛ به نحوی که مرحله رویشی گیاه از نیمه دوم فروردین‌ماه در منطقه یام آغاز می‌شود در حالی که این مرحله از اوایل اردیبهشت‌ماه در منطقه بستان‌آباد شروع می‌شود. گلدهی از اوخر اردیبهشت‌ماه آغاز و تا اوخر خرداد‌ماه ادامه می‌یابد. رسیدن بذرها از اوخر تیر‌ماه شروع و تا اوایل شهریور‌ماه ادامه دارد.

در جدول ۳ میانگین خصوصیات کمی رویشی و زایشی مربوط به دو جمعیت مورد مطالعه *T. pubescens* آورده شده است. نتایج نشان می‌دهد که گیاهان رویشگاه یام دارای بیشترین میانگین طول ساقه گلدار، طول دومین میانگره، طول و عرض برگ، قطر یقه، تعداد انشعبات

جدول ۳- میانگین خصوصیات کمی رویشی و زایشی در جمعیت آویشن کرک‌آسود

ردیف	صفت	واحد	بستان‌آباد	یام
۱	طول ساقه گلدار	میلی‌متر	۶۲/۸۸	۷۰/۹۲
۲	طول دومین میانگره	میلی‌متر	۱۲/۱۲	۱۳/۵۸
۳	طول برگ	میلی‌متر	۷/۱۶	۱۰/۸۲
۴	عرض برگ	میلی‌متر	۳/۷۰	۵/۵۰
۵	طول به عرض برگ	نسبت	۱/۹۶	۲/۰۱
۶	تعداد شیار ساقه یک ساله	-	۱۲/۴۸	۹/۴۰
۷	قطر یقه	میلی‌متر	۲۲/۵۸	۲۷/۸۸
۸	ارتفاع گیاه	سانتی‌متر	۱۹/۲۶	۱۷/۷۶
۹	تعداد انشعاب از قاعده	-	۴۲/۸۰	۵۶/۰۰
۱۰	تعداد گل در گل‌آذین	-	۲۷/۰۸	۳۹/۶۴
۱۱	تعداد گل‌آذین در بوته	-	۱۷۶/۲۰	۱۷۲/۲۰
۱۲	طول گل‌آذین	میلی‌متر	۸/۳۶	۱۳/۴۴
۱۳	تعداد برگه	-	۸/۲۸	۹/۷۲
۱۴	طول برگه	میلی‌متر	۶/۲۶	۷/۹۸
۱۵	عرض برگه	میلی‌متر	۳/۶۸	۳/۵۶
۱۶	طول به عرض برگه	نسبت	۱/۷۲	۱/۹۹
۱۷	طول برگک	میلی‌متر	۱/۵۰	۱/۷۹
۱۸	عرض برگک	میلی‌متر	۰/۴۶	۰/۴۸
۱۹	طول کاسه گل	میلی‌متر	۳/۵۸	۴/۲۰
۲۰	تعداد رگه کاسه	-	۹/۷۶	۱۰/۲۸
۲۱	طول جام گل	میلی‌متر	۵/۳۲	۷/۱۶
۲۲	تعداد بذر گل‌آذین	-	۲۰/۱۶	۲۹/۲۴

شکل ۱- نمایی از کروموزومهای متافازی *Thymus pubescens*

(۲n=۶x=۹۰)، ۲- بستان‌آباد (۲n=۴x=۶۰)- یام

جدول ۴- ترکیب‌های شناسایی شده در اسانس آویشن کرک‌الود

ردیف	نام ترکیب	بستان‌آباد (%)	یام (%)	شاخص بازداری
۱	α -thujene	۰/۸	۰/۵	۹۴۲
۲	α -pinene	۲/۴	۱/۲	۹۵۴
۳	camphene	۰/۹	۰/۵	۹۷۳
۴	sabinene	۱/۶	۱/۲	۹۸۴
۵	α -terpinene	۱/۴	۱/۳	۱۰۳۹
۶	p - cymene	۷/۸	۷/۲	۱۰۴۴
۷	1,8- cineole	۲/۲	۰/۶	۱۰۶۳
۸	γ -terpinene	۱۲/۹	۱۰/۳	۱۰۷۷
۹	linalool	—	۰/۳	۱۱۰۴
۱۰	camphor	—	۰/۸	۱۱۴۳
۱۱	borneol	۰/۵	۰/۶	۱۱۷۶
۱۲	terpinen-4-ol	۱/۸	۰/۹	۱۲۰۵
۱۳	citronellol	—	۸/۵	۱۲۳۱
۱۴	carvacrol methyl ether	—	۰/۴	۱۲۴۴
۱۵	geraniol	۲/۸	۱۰/۸	۱۲۶۲
۱۶	thymol	۵۷/۶	۴۴/۹	۱۳۰۵
۱۷	carvacrol	۲/۰	۲/۶	۱۳۱۵
۱۸	geranyl acetate	—	۳/۳	۱۳۷۲
۱۹	E-caryophyllene	۱/۰	۱/۲	۱۴۸۲
۲۰	β -bisabolene	۰/۳	۰/۵	۱۵۰۹
۲۱	spathulenol	۰/۶	—	۱۵۵۵
۲۲	germacrone	۰/۶	—	۱۶۹۳
۲۳	n-hexadecanol	۰/۶	۱/۵	۱۸۸۶
۲۴	benzyl cinnamate	۰/۳	۰/۸	۲۱۰۰
	هیدروکربن‌های مونوترپنی	۲۶/۸	۲۲/۵	
	مونوترپن‌های اکسیژن‌دار	۶۹/۵	۷۳/۴	
	هیدروکربن‌های سسکوئی‌ترپنی	۱/۳	۱/۷	
	سایر گروه‌ها	۱/۵	۲/۳	
	مجموع	۹۹/۱	۹۹/۹	
	میانگین میزان اسانس (%)	۱/۳	۲/۲	

همچون گون تیپ غالب را تشکیل می‌دهند. حضور این گونه در دامنه‌های پرشیب ارتفاعات بستان‌آباد نشان می‌دهد که این گونه نسبت به سرما و شرایط سخت (حاکمی قلیابی و دارای بافت متوسط تا نیمه سنگین) بردار است. این گونه در سایر مناطق کشور نیز از جمله نواحی مرکزی و غربی از پراکنش قابل توجهی برخوردار است. به طوری که پیش از این در استان تهران در دامنه ارتفاعی ۱۸۰۰ تا ۲۶۰۰ متر از سطح دریا جمع‌آوری و گزارش شده است (سفیدکن و عسگری، ۱۳۸۲؛ عسگری و همکاران، ۱۳۸۲؛ میرزاگی ندوشن و همکاران، ۱۳۸۵). زمان ظهور برگها و گلهای کامل این گونه در منطقه یام به دلیل میانگین دمای سالیانه بیشتر (۱۱/۸ درجه سانتی‌گراد) نسبت به منطقه بستان‌آباد (۸/۴ درجه سانتی‌گراد) زودتر آغاز می‌گردد که این موضوع می‌تواند ناشی از تأمین دمای لازم جهت تکمیل این مراحل رخدادشناسی باشد. پدیدار شدن زودتر برگها و اندام‌های زایشی یک گونه به دلیل فراهم آوردن تعداد دفعات بیشتر برداشت اندام‌های هوایی از مزایای رویشگاه طبیعی آن گونه جهت گزینش برای اصلاح آن می‌باشد. گردهافشانی در این گیاه مشابه سایر گیاهان متعلق به تیره نعناعیان توسط حشرات انجام می‌گیرد و رویشگاه یام که در نزدیکی آن کندوی زنبور عسل وجود داشت، تعداد بذر تشکیل شده در هر بوته نسبت به رویشگاه بستان‌آباد بیشتر بود.

اگرچه سایر گونه‌های سرد *Thymus* در ایران براساس تحقیقات انجام شده در شیب‌های شمالی پراکنش وسیعتری دارند (حسنی، ۱۳۸۳؛ حبیبی و همکاران، ۱۳۸۵)؛ اما گونه *T. pubescens* فراوانی بیشتری را در شیب‌های رو به جنوب نشان می‌دهد که می‌تواند به دلیل اختلاف در دمای مطلوب برای گونه مورد نظر و یا

بازده متوسط تولید اسانس توسط سرشاره‌های گلدار گیاه *Thymus pubescens* در سه بار تکرار بر حسب وزن اسانس در ۱۰۰ گرم سرشاره خشک در هر تکرار، ۱/۳٪ (رویشگاه بستان‌آباد) و ۲/۲٪ (رویشگاه یام) تعیین گردید. در مجموع در اسانس بستان‌آباد و یام به ترتیب ۱۹ و ۲۲ ترکیب شناسایی شدند که در جدول ۴ آورده شده‌اند. ترکیب‌های شناسایی شده از رویشگاه بستان‌آباد ۹۹/۱٪ و از رویشگاه یام ۹۹/۹٪ از اجزای اسانس را به خود اختصاص دادند. عمده‌ترین ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس *T. pubescens* عبارتند از: پنج ترکیب؛ تیمول (۰/۵۷/۶٪)، گاما-ترپین (۱۲/۹٪)، پارا-سیمن (۰/۶/۸٪)، ژرانیول (۰/۳/۸٪) و کارواکرول (۰/۳/۰٪) از رویشگاه بستان‌آباد و شش ترکیب؛ تیمول (۰/۴۴/۹٪)، ژرانیول (۰/۱۰/۸٪)، گاما-ترپین (۰/۱۰/۳٪)، سیترونلول (۰/۸/۵٪)، پارا-سیمن (۰/۷/۲٪) و ژرانیل استات (۰/۳/۳٪) از رویشگاه یام و سایر ترکیب‌ها کمتر از سه درصد اجزای اسانس را تشکیل می‌دهند. با توجه به ترکیب‌های مختلف شناسایی شده در اسانس این دو منطقه، مشخص گردید که مونوترپین‌های اکسیژن‌دار اصلی‌ترین گروه اجزای اسانس بستان‌آباد (۶۹/۵ درصد) و یام (۷۳/۴ درصد) را تشکیل می‌دهند و پس از آن به ترتیب هیدروکربن‌های مونوترپینی و هیدروکربن‌های سیکلوبی‌ترپنی و سایر گروه‌ها سهم کمتری را دارا می‌باشند (جدول ۴).

بحث

نتایج این تحقیق نشان داد که گونه *T. pubescens* در رویشگاه‌های خود از تراکم و فراوانی نسبتاً بالایی برخوردار است. در هر دو رویشگاه بستان‌آباد و یام به عنوان گیاه غالب ظاهر شده و همراه گیاهان دیگر

می‌آید، استفاده کرد. در گیاهان دارویی و معطری همچون آویشن کرک آلود که کیفیت و کمیت اسانس آن مورد توجه است، از مزیت دارا بودن جمعیت‌های پلی‌پلولئید می‌توان در راستای بهبود کیفیت اسانس بهره جست (مهرپور و همکاران، ۱۳۸۰). Mehrpur و همکاران (۲۰۰۲) پیش از این دو سطح پلولئیدی دیپلولئید از منطقه تسوج آذربایجان شرقی و تترالولئید از مناطق نیکنامده و شمشک در استان تهران را برای این گونه گزارش کرده بودند. اما بازده اسانس گیاهان آویشن کرک آلود جمع آوری شده از منطقه تسوج که دیپلولئید ($2x=30$) هستند، تترالولئید ($4x=60$) هستند، به ترتیب 54% و 54% گزارش شد (میرزایی ندوشن و همکاران، ۱۳۸۵). در حالی که در این پژوهش بازده اسانس جمعیت تترالولئید یام 22% و جمعیت هگزاپلولئید بستان آباد 13% بدست آمد. بازده اسانس گیاه آویشن کرک آلود جمع آوری شده از منطقه یام تقریباً $3-7$ برابر بازده اسانس جمعیت دیپلولئید تسوج و تترالولئید نیکنامده و شمشک است (میرزایی ندوشن و همکاران، ۱۳۸۵). در مقایسه بازده اسانس گیاهان منطقه یام با گیاهان تترالولئید مناطق نیکنامده و شمشک مشخص می‌شود که جمعیت یام با ظرفیت شیمیایی معین در میدان بوم‌شناختی سازگار با تولید متابولیت مزبور قرار گرفته است. به نحوی که با تولید آن متابولیت دارویی، خود را از جمعیت نیکنامده و شمشک تمایز کرده است. همچنین با مقایسه این سه جمعیت تترالولئید (یام با نیکنامده و شمشک) مشخص می‌شود که اگرچه تولید اسانس با هدایت فرایندهای ژنتیکی ساخته می‌شود ولی ساخت آنها در گیاه به طور بارزی تحت عوامل محیطی قرار می‌گیرد که نتیجه آن نوسان در

اختلاف در طول و عرض جغرافیایی مناطق مورد بررسی باشد.

از دیدگاه خصوصیات ریختی، جمعیت یام به دلیل برخورداری از میانگین طول ساقه گلدار، طول گل آذین، قطعات گل و ابعاد برگ بیشتر نسبت به جمعیت بستان آباد می‌تواند یکی از رویشگاه‌های هدف به منظور شروع کارهای اصلاحی جهت اهلی نمودن این گونه باشد. زیرا از آنجایی که سرشاخه‌های گلداری که روی ساقه سال جاری قرار دارند جهت استحصال اسانس و یا مصارف سنتی گونه‌های مختلف سرده آویشن برداشت می‌شوند، به‌طوری که منطقه یام از این نظر و هم از حیث بزرگ بودن برگ، به منظور شروع کارهای اصلاحی جهت اهلی نمودن و در کنار آن حفاظت از رویشگاه‌های طبیعی این گونه مطلوب به نظر می‌رسد؛ زیرا ساقه گلدار بلند به همراه برگ بیشتری که سطح بزرگتری را دارند، می‌تواند مخزن بزرگتری جهت تولید و ذخیره اسانس ایجاد نماید. از آنجایی که پلی‌پلولئیدی یک عامل مهم در تکامل گیاهان عالی به‌شمار می‌آید و تخمین زده می‌شود که در حدود 70% از گیاهان عالی پلی‌پلولئیدی هستند، بنابراین *Thymus pubescens* می‌تواند یک گونه پلی‌پلولئیدی متعلق به گروه ناهمگن آلوپلی‌پلولئیدی باشد. دلایل متعددی در خصوص اهمیت پلی‌پلولئیدها نسبت به دیپلولئیدها وجود دارد؛ از جمله اینکه آنها می‌توانند بیش از دیپلولئیدها، هتروزیگوت باشند. بنابراین درجه بالای هتروزیگوتی یک عامل اساسی در رشد عملکرد و سازگاری بهتر یک پلی‌پلولئید می‌باشد. گیاهان آلوپلی‌پلولئیدی همچون سرده آویشن دارای هتروزیگوتی بالایی هستند که از این صفت می‌توان جهت به‌نژادی و اهلی‌سازی آویشن کرک آلود که یک گونه وحشی به‌شمار

نمونه اسانس یام (۵/۸٪) وجود دارد. این تفاوت به احتمال زیاد ناشی از تفاوت‌های کمتوابی است که خود حاصل از شرایط محیطی و اقلیم حاکم بر رویشگاه‌های مورد مطالعه می‌باشد. عسگری و همکاران (۱۳۸۲) با مقایسه کمی و کیفی اسانس *Thymus pubescens* در رویشگاه‌های مختلف استان تهران در دو مرحله قبل از گلدهی و گلدهی کامل دریافتند که مرحله تمام گل دارای بازده اسانس بیشتری در تمام رویشگاه‌ها می‌باشد. ترکیب غالب اسانس در همه رویشگاه‌ها ترکیب فنلی کارواکرول بود، در حالی که ترکیب غالب اسانس در این پژوهش تیمول بود. در تحقیقی دیگر برای شناسایی اجزای اسانس این گونه مشخص شد که ترکیب غالب در نمونه اسانس دو رویشگاه نیکنامده و شمشک (تتراپلوفئید) تیمول و در نمونه اسانس چالوس (دیپلوفئید) تقریباً هر دو ترکیب کارواکرول (۴/۳۴٪) و تیمول (۶/۳۱٪) بود (میرزاوی ۱۳۸۲؛ ندوشن و همکاران، ۱۳۸۵). سفیدکن و عسگری (۱۳۸۲) با بررسی اسانس گیاه *Thymus pubescens* جمع‌آوری شده از منطقه فیروزکوه تهران ترکیب کارواکرول را به عنوان جزء اصلی اسانس معرفی کردند.

بنابراین با توجه به وجود سه سطح پلوئیدی مختلف (دیپلوفئید، تترافلوفئید و هگزاپلوفئید) از این گونه در رویشگاه‌های طبیعی آن در ایران، از جمعیت‌های دارای عدد کروموزومی مشابه می‌توان برای ایجاد نمونه‌های دو رگه به منظور القای تنوع ژنتیکی بیشتر جهت اصلاح آن استفاده کرد. از طرف دیگر به دلیل دارا بودن ریشه‌های عمیق و بردبار بودن این گیاه در برابر سرما و شرایط دشوار محیطی از قبیل رشد در مناطق پرشیب، خاکهای مختلف و ارتفاع بالا از سطح دریا، از گونه *T. pubescens* می‌توان در مناطق سرد دارای خاکهای

غلظت و نوع ترکیب‌های اسانس موجود در گیاه است (امیدیگی، ۱۳۸۵).

از دیگر عوامل تأثیرگذار بر بازده بالای نمونه اسانس منطقه یام در مقایسه با نمونه اسانس منطقه بستان‌آباد می‌توان به میانگین بالای دمای سالیانه یام (۸/۱۱ درجه سانتی‌گراد) و ارتفاع از سطح دریای آن (۱۵۵۰ متر) را اشاره کرد. همبستگی منفی بین ارتفاع از سطح دریا و بازده اسانس پیش از این در مورد آویشن کوهی (*Thymus kotschyanus*) گزارش شده است که نتایج حاصل از این تحقیق با آنها مطابقت می‌نماید (حبیبی و همکاران، ۱۳۸۵؛ جمشیدی و همکاران، ۱۳۸۵). دمای پایین عاملی تأثیرگذار در کاهش تولید اسانس در مورد گونه *T. vulgaris* گزارش شده است که یافته‌های این تحقیق در مورد منطقه بستان‌آباد (۸/۴°C) با آن مطابقت می‌کند (Cristina Figueiredo *et al.*, 2008). با در نظر گرفتن این مطلب که آویشن در خاکهای سبک و دارای کلسیم بالا از عملکرد کمی بالای اسانس برخوردار می‌باشد، پایین بودن بازده اسانس نمونه گیاهی بستان‌آباد را می‌توان به سنگین بودن بافت خاک و پایین بودن میزان کلسیم خاک منطقه در مقایسه با نمونه منطقه یام نسبت داد (امیدیگی، ۱۳۸۵؛ Stahl-Biskup & Saez, 2002).

از لحاظ اجزای تشکیل‌دهنده اسانس، اگرچه اجزای اسانس این دو رویشگاه تقریباً مشابه هستند ولی با این حال تفاوت‌هایی هم از نظر کمی و هم از نظر کیفی با یکدیگر دارند؛ به طوری که در نمونه اسانس بستان‌آباد میزان تیمول که یکی از اجزای تعیین‌کننده خواص اصلی اسانس سرده آویشن می‌باشد، بیشتر از منطقه یام است (بستان‌آباد ۹/۴۴٪ و یام ۶/۵۷٪). همچنین میزان سیترونول که یک مونوتربن اکسیژن‌دار است فقط در

- فارماکوپه گیاهی ایران. ۱۳۸۱. انتشارات وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی، معاونت غذا و دارو.
- عسگری، ف.، سفیدکن، ف. و میرزا، م. ۱۳۸۲. مقایسه کمی و *Thymus pubescens* Biss. et kotschy ex Celak کیفی انسانس در رویشگاه‌های مختلف استان تهران. تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، ۱۹(۲): ۱۲۵-۱۳۶.
- مظفریان، و. ۱۳۸۶. فرهنگ نامهای گیاهان ایران. انتشارات فرهنگ معاصر، ۷۴۰ صفحه.
- مهرپور، ش.، میرزا زاده، ح.، مجده، ا. و سفیدکن، ف. ۱۳۸۰. *(Thymus kotschyanus)* نوع پلولئیدی در گونه‌ای از آویشن تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران، ۶: ۵۷-۷۷.
- میرزا زاده، ح.، مهرپور، ش. و سفیدکن، ف. ۱۳۸۵. تجزیه علیت در صفات مؤثر بر انسانس در سه گونه از آویشن. پژوهش و سازندگی در زراعت و باگبانی، ۷۰: ۸۸-۹۴.
- British pharmacopoeia, 1988. British pharmacopoeia. Volume 2, London, HMSO, 137-138.
- Cristina Figueiredo, A., Barroso, J.G., Pedro, L.G. and Scheffer, J.J.C., 2008. Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils. Flavour and Fragrance Journal, 23: 213-226.
- Davies, N.W., 1998. Gas chromatographic retention indices of monoterpenes and sesquiterpenes on methyl silicon and Carbowax 20M phases. Journal of Chromatography, 503: 1-24.
- Dhawan, O.P. and Lavania, U.C., 1996. Enhancing the productivity of secondary metabolites via induced polyploidy: a review. Euphytica, 87: 81-89.
- Mehrpur, Sh., Mirzaie-Nodoushan, H., Majd, A. and Sefidkon, F., 2002. Karyotypic studies of two *Thymus* species. Cytologia, 67(4): 343-346.
- Rechinger, K.H., 1982. Flora Iranica. Volume 152, Graz: Akademische Druck- und Verlagsanstalt.
- Shibamoto, T., 1987. Retention indices in essential oil analysis. 259-274, In: Sandra, P. and Bichi, C., (eds). Capillary Gas Chromatography in Essential Oil Analysis. Alfred Heuthig, New York, 730p.
- Stahl-Biskup, E. and Saez, F., 2002. Thyme, The genus *Thymus*. Taylor & Francis, New York, 330p.

کم‌بهره و شیب‌دار به منظور حفاظت خاک و جلوگیری از فرسایش آن استفاده نمود. همچنین با در نظر گرفتن بازده انسانس مطلوب جمعیت تتراپلولئید یام، پیشنهاد می‌شود تا رویشگاه‌های بیشتری از این گونه مورد مطالعه و ارزیابی قرار گیرد تا با بررسی‌های فیتوشیمیایی، ریختی و سیتوژنتیکی دقیق‌تر، رویشگاه‌های با ژنتیک‌های برتر از نظر خصوصیات اصلاحی در بخش گیاهان دارویی گزینش شود تا سنگ بنای اصلاح این گونه در کشور گذاشته شود و در کنار اصلاح آن، رویشگاه‌های طبیعی آن کمتر دستخوش تخریب و برداشت بی‌رویه شده و گنجینه ارزشمند ژرم‌پلاسم وحشی آن حفظ گردد.

منابع مورد استفاده

- امیدیگی، ر. ۱۳۸۵. تولید و فرآوری گیاهان دارویی. جلد سوم، انتشارات آستان قدس رضوی، ۳۹۷ صفحه.
- جمشیدی، ا.، امین‌زاده، م.، آذرنیوند، ح. و عابدی، م. ۱۳۸۵. تأثیر ارتفاع بر کمیت و کیفیت انسانس آویشن کوهی. فصلنامه گیاهان دارویی، ۱۸: ۱۷-۲۲.
- حبیبی، ح.، مظاہری، د.، مجnoon حسینی، ن.، چایی‌چی، م.، فخر طباطبایی، م. و بیگدلی، م. ۱۳۸۵. اثر ارتفاع بر روغن انسانس و ترکیبات گیاه دارویی آویشن وحشی (*Thymus kotschyanus* Boiss.) منطقه طالقان. پژوهش و سازندگی در زراعت و باگبانی، ۷۳: ۷۳-۱۰.
- حسنی، ج. ۱۳۸۳. شناسایی و بررسی اکولوژیکی دو جنس از گیاهان معطر *Thymus* و *Ziziphora* در استان کردستان. تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، ۲۰(۱): ۱-۱۷.
- سفیدکن، ف. و رحیمی بیدگلی، ع. ۱۳۸۱. بررسی تغییرات کمی و کیفی انسانس آویشن کوهی (*Thymus kotschyanus*) در دوره رشد گیاه و با روش‌های مختلف تقطیر. تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، ۱۵(۴): ۱-۲۱.
- سفیدکن، ف. و عسگری، ف. ۱۳۸۲. مقایسه کمی و کیفی انسانس پنج گونه آویشن *L. Thymus*. پژوهش و سازندگی، ۵۹: ۵۹-۷۲.

Study on some ecological factors, morphological traits, ploidy levels and essential oil composition of *Thymus pubescens* Boiss. & Kotschy ex Celak in two natural regions of East Azerbaijan province

A.R. Yavari¹, V. Nazeri^{2*}, F. Sefidkon³ and M.E. Hassani⁴

1- MSc Student, University College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

2*- Corresponding author, Horticultural Department, University College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran, E-mail: nazeri@ut.ac.ir

3- Medicinal Plants Research Division, Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran, Iran

4- Horticultural Department, University College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

Received: September 2009

Revised: January 2010

Accepted: March 2010

Abstract

In order to evaluate *ثُمَسْ* ecological factors and morphological traits and also to determine ploidy levels and chemical composition of essential oil of *Thymus pubescens* Boiss. & Kotschy ex Celak two natural habitats, Bostan-Abad and Yam habitats, were chosen in East Azerbaijan province. To study and evaluate quantitative morphological characters, five complete plants and flowering branches were collected from each locality at flowering stage for essential oil extraction. Seeds also were collected in seed production season to study seed characters and chromosome counting. Ecological data of both localities also were recorded. Vegetative and reproductive traits of each population were studied and essential oil of each locality was analyzed by combination of GC-FID and GC-MS. At least 10 mitotic cells of each population were studied to determine chromosome number and ploidy levels. Results revealed that specimens from "Yam" had the longest flowering stems, the largest leaves and flowers, and also the highest number of flowers per inflorescence. Chromosome count results showed that specimens from Bostan-Abad were hexaploid ($2n = 6x = 90$) and those of Yam were tetraploid ($2n = 4x = 60$). The total yield of oils based on dry weight was 1.3% and 2.2% (w/w) from Bostan-Abad and Yam, respectively. Thymol was the main valuable phenolic compound similar to most of the species of genus *Thymus* (Bostan-Abad: 57.6% and Yam: 44.9%).

Key words: *Thymus pubescens* Boiss. & Kotschy ex Celak, morphological traits, ploidy levels, essential oil, thymol.