

(مقاله کوتاه)

مقایسه ترکیب‌های شیمیایی اسانس برگ‌های درخت *Pterocarya fraxinifolia* (Poir) Spach. در مراحل مختلف فنولوژی در منطقه گیلان

حسین بتولی^{۱*}، مریم اخباری^۲، نرگس یاسا^۳، مهناز خانوی^۴ و سعید توکلی^۵

^۱استادیار پژوهش مرکز تحقیقات آموزش و کشاورزی و منابع طبیعی اصفهان (باغ گیاهشناسی کاشان)، کاشان، ایران

^۲استادیار، پژوهشکده اسانس‌های طبیعی، دانشگاه کاشان، کاشان، ایران

^۳استاد، دانشکده داروسازی دانشگاه تهران، تهران، ایران

^۴استادیار، دانشکده داروسازی دانشگاه تهران، تهران، ایران

^۵دانش‌آموخته کارشناسی ارشد شیمی و فن‌آوری اسانس، پژوهشکده اسانس‌های طبیعی دانشگاه کاشان، کاشان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۶/۱ : تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۱۰/۱۴

چکیده

جنس "لرگ" (*Pterocarya Kunth*) متعلق به خانواده گردو (*Juglandaceae*)، دارای گونه‌های درختی متعددی است که تاکنون بالغ بر ۱۵ گونه از این جنس در جهان و تنها یک گونه از ایران گزارش شده است. در این تحقیق ترکیب‌های شیمیایی اسانس برگ‌های درخت "لرگ" (*Pterocarya fraxinifolia* (Poir) Spach) در مراحل مختلف فنولوژی مورد بررسی قرار گرفته است. برگ‌های این گیاه در سه مرحله مختلف رویشی در بهار و تابستان سال ۱۳۹۲ از گستره رویشگاه‌های طبیعی (واقع در گیلان)، جمع‌آوری و در شرایط آزمایشگاه خشک شدند و به روش تقطیر و استخراج با بخار همزمان با حلال آلی (SDE) اسانس‌گیری شدند. برای شناسایی ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس از دستگاه‌های گاز کروماتوگرافی (GC) و گاز کروماتوگرافی متصل شده به طیف‌سنج جرمی (GC/MS) استفاده شد. راندمان اسانس برگ‌ها در اردیبهشت، تیر و شهریورماه به ترتیب ۰/۲ درصد، ۰/۱۸ درصد و ۰/۲ درصد وزنی/وزنی بدست آمد. تعداد ۱۰ ترکیب شیمیایی در اسانس برگ‌های اردیبهشت‌ماه، ۳۵ ترکیب در اسانس برگ‌های تیرماه و ۲۲ ترکیب در اسانس برگ‌های شهریورماه گیاه لرگ شناسایی شدند. اجزای اصلی اسانس برگ‌های اردیبهشت‌ماه شامل: ۳، ۷-گوئیدین (۲۷/۳۲ درصد)، ویریدیفلورن (۲۱/۵۸ درصد)، آلفا-کورکومین (۸/۴۴ درصد)، ویریدیفلورول (۷/۲۲ درصد) و زینجی‌برن (۵/۳۷ درصد) بودند. بیشترین ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس برگ‌های تیرماه شامل: آلفا-کورکومین (۱۶/۴۴ درصد)، ویریدیفلورن (۱۱/۹۵ درصد)، زینجی‌برن (۹/۴۴ درصد)، فیتول (۹/۱۶ درصد)، هگزادکانوئیک اسید (۵/۹۲ درصد)، ویریدیفلورول (۵/۵۱ درصد) و ۳، ۷-گوئیدین (۴/۸۴ درصد) بودند. افزون بر این عمده ترکیب‌های شیمیایی اسانس برگ‌های شهریورماه شامل: ویریدیفلورن (۲۶/۲۹ درصد)، ترانس-کارپوفیلن (۱۲/۶۳ درصد)، ۲-نورپینین (۸/۹۷ درصد)، ویریدیفلورول (۸/۷۸ درصد)، اسپاتولونول (۷/۸۲ درصد) و زینجی‌برن (۶/۶۵ درصد) بودند. بخش عمده ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس برگ‌های اردیبهشت‌ماه، سسکوئی‌ترین‌های اکسیژن‌دار بودند. درحالی‌که بیشترین قسمت اصلی ترکیب‌های شیمیایی اسانس برگ‌های تیرماه، مربوط به سسکوئی‌ترین‌های هیدروکربنی بود.

واژه‌های کلیدی: اسانس، ترکیب‌های شیمیایی، فنولوژی، لرگ، ویریدیفلورن.

مقدمه

(2014) نشان داده که مراحل فنولوژیک بر راندمان اسانس و درصد ترکیب‌های اصلی اسانس تاثیر دارد. جنس لرگ (*Pterocarya Kunth*)، متعلق به خانواده گردو (*Juglandaceae*)، راسته سداب (*Rutales*)، زیررده بی‌گلبرگ‌ها (*Dialypetales*) و رده دولپه‌ای‌ها (*Dicotyledones*) است (Ghahraman, 1990). از این جنس بیش از ۱۵ گونه در جهان گزارش شده که از آسیای میانه تا ژاپن انتشار یافته‌اند (Usher, 1984). تنها یک گونه از این جنس در نواحی شمالی ایران انتشار دارد (Mozaffarian, 1996). میوه‌های برخی از گونه‌های این جنس ارزش خوراکی دارند. لرگ دارای چوب سبک و نرمی است که اغلب برای ساخت چوب کبریت و کفش‌های چوبی استفاده می‌شود (Gungor et al., 2007). برگ‌ها و پوست ساقه گونه *Pterocarya stenoptera* در چین برای ناراحتی‌های معده و رفع کرم‌های روده استفاده می‌شود (Usher, 1984).

"لرگ" با نام علمی *Pterocarya fraxinifolia* (Poir) Spach درختی است به ارتفاع تا ۳۵ متر، با قطر تنه ۱۳۰ سانتی‌متر و پوست تنه با شیارهایی عمیق می‌باشد. جوانه‌ها به رنگ قرمز؛ برگ‌ها مرکب، به طول ۱۰ تا ۶۰ سانتی-متر و برگچه‌ها به تعداد ۵ تا ۱۲ جفت، شانه‌ای فرد است. میوه فندقه قهوه‌ای شونده، با بال‌های تقریباً دایره‌ای به عرض ۱/۵ تا ۲ سانتی‌متر است (Mozaffarian, 1996). این گیاه در نواحی شمالی ایران به اسامی محلی گوناگونی نامیده می‌شود. در آستارا، سیاهکل، رشت و مازندران به ترتیب به نام-های موتال، کهل، کوچی و لرگ نامیده می‌شود (Ghahraman, 1990; Karimi, H. 1995; Mobayen, 1983). این درخت در شهرستان نور به نام لرگ و در مازندران و گرگان به نام کجور نامیده می‌شود (Zargari, 1990).

اسانس‌های گیاهی از نظر کمیت و کیفیت و همچنین اجزاء و عناصر تشکیل‌دهنده آنها، از اندامی به اندام دیگر تفاوت دارند. از این رو، یکی از مهمترین مسائل گیاهان دارویی، مطالعه و تحقیق در مورد اسانس موجود در اندام‌های مختلف یک گیاه، تغییرات اجزاء تشکیل‌دهنده آن در مراحل مختلف فنولوژی و مقایسه آنها از نظر کمیت و کیفیت با یکدیگر است (Omidbaghi, 2007). کاربرد اسانس‌ها در صنایع مختلف، به ترکیب‌های شیمیایی موجود در آنها بستگی دارد که خود تحت تاثیر عوامل محیطی، زمان برداشت، شرایط کشت، روش‌های زراعت، اندام مورد اسانس‌گیری و مراحل مختلف فنولوژیک است (Amami et al., 2003). به اعتقاد پارکر (Parker, 1989) و مینزل و همکاران (Menzel, 2003) فنولوژی یا تقویم حیاتی، دانش مطالعه پدیده‌های زیستی دوره‌ای مرتبط با اقلیم (به‌ویژه تغییرات فصلی) موجودات زنده می‌باشد.

با توجه به اینکه میزان ترکیب‌های تشکیل‌دهنده موجود در اسانس‌های گیاهی در مراحل مختلف فنولوژی گیاهان یکسان نبوده، بنابراین هم نوع ترکیب‌های شیمیایی و هم میزان هر جزء اسانس در طول دوره حیاتی گیاه متغیر است. مطالعات زیادی در ارتباط با تاثیر تغییرات محیطی، به ویژه اقلیم بر اجزاء تشکیل‌دهنده اسانس‌ها انجام گرفته است که به برخی از آنها اشاره می‌گردد.

بررسی‌های انجام گرفته در خصوص تاثیر مراحل مختلف فنولوژیک بر میزان درصد اسانس و نوع ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس در گونه‌های مختلف آویشن (Sefidkon and Asgari, 2003; Safaii et al., 2013; Zarezadeh et al., 2013) و کاکوتی (Bakhshikhaniki et al., 2010; Dehghan et al.,)

(۵- هیدروکسی ۱، ۴-نفتوکوئینن)، ماده سمی گیاه لرگ است که باعث مرگ برخی از آبزیان خونسرد، نظیر ماهی‌ها می‌شود. افزون بر این، ژوگلون از جمله ترکیب‌هایی است که به گیاهان خاصیت آللوپاتی (Allelopathy) یا ممانعت در رشد برخی از گیاهان زیراشکوب این درخت را می‌دهد (Hadjmohammadi and Kamel, 2006). ژوگلون ترکیبی نفتوکینونی است که در برگ تازه و پوسته سبز میوه درخت گردو یافت می‌شود (Wichtl and Bisset, 1994). ژوگلون بارزترین ماده موجود در اندام‌های مختلف گیاه گردو است (Zargari, 1990). گیرز و همکاران (Girz, 1998) در مورد تأثیر تسکین‌دهندگی ترکیب ژوگلون تحقیقاتی انجام داده‌اند. فعالیت آنتی‌اکسیدانی برگ و پوست گیاه *P. fraxinifolia* مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این مطالعه نشان داد، میزان IC_{50} به روش DPPH برای برگ‌ها و پوست گیاه به ترتیب برابر با $3/89 \pm 0/09 \mu\text{g/mL}$ و $41/57 \pm 1/30$ بدست آمد. به واسطه ترکیب‌های فنلی و فلاونوئیدی بالای موجود در برگ‌ها، فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره برگ‌ها بیشتر از پوست گیاه گزارش شد (Ebrahimzadeh et al., 2009). فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره متانولی برگ و پوست شاخه گیاه، از منطقه دشت ناز ساری گزارش شده است. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد، عصاره این گیاه در شرایط *In vitro* دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالایی بود. افزون بر این عصاره برگ قدرت احیاء‌کنندگی بهتری نسبت به عصاره پوست شاخه از خود نشان داده است (Nabavi et al., 2009). بررسی‌ها پیرامون فعالیت آنتی‌توموری گیاه لرگ نشان داد، عصاره آبی این گیاه دارای خاصیت آنتی‌توموری بر روی لنفوئید (L-1210) و لوسمی لنفوسیک (P-388) می‌باشد. همچنین عصاره آبی آن از رشد سلول‌های سرطانی

نام مترادف این گیاه در برخی منابع گیاه-شناسی *Pterocarya caucasica* C. A. Mey., *Pterocarya pterocarpa* (Michx.) Kunth & Ilinskaya., *Juglans fraxinifolia* Poir & Lam., *Juglans pterocarpa* Michx. می‌باشد (Mozaffarian, 2004; Mozaffarian, 1996).

درخت لرگ بومی آسیای شرقی و قفقاز است و در سرتاسر جنگل‌های جلگه‌ای شمال ایران، از آستارا تا مینودشت (Mozaffarian, 1996) تا نواحی کوهستانی غرب کشور (استان ایلام-دره لارت) نیز رویش دارد (Mozaffarian, 2008). پراکنش جغرافیایی این گونه در گرگان، مازندران و گیلان می‌باشد. رویشگاه‌های طبیعی این درخت در نواحی جلگه‌ای جنوب خزر، بخش‌های جنگلی و باتلاقی و نزدیک رودخانه‌ها، در محدوده ارتفاعی ۲۰ تا ۱۳۰۰ متر از سطح دریا تمرکز یافته‌اند (Mozaffarian, 2004; Jalili and Jamzad, 1999).

بومیان محلی از این گیاه برای صید ماهی استفاده می‌کنند. هم‌چنین از برگ له شده برای درمان کچلی، به‌عنوان رنگ‌کننده مو و سایر ناراحتی‌های پوست و مو استفاده می‌شود. بررسی‌ها نشان داد، اندام‌های مختلف گیاهان خانواده گردو، دارای خاصیت آنتی‌باکتریایی و آنتی‌قارچی می‌باشند (Oliveira et al., 2008). عصاره متانولی برگ لرگ به‌طور قابل ملاحظه-ای دارای مقادیر بالایی از ترکیب‌های فنل تام و فلاونوئید نسبت به عصاره متانولی پوست شاخه بود (Nabavi et al., 2009). در بررسی فیتوشیمیایی بر روی عصاره برگ و ساقه گیاه لرگ از جنگل‌های شمالی ایران، دو ترکیب دی (۱، ۴، ۵-تری-هیدروکسی) نفتیل-۱، ۴-تری‌پیرانو گلوکز و ژوگلون استخراج و تعیین ساختار گردیده است. ترکیب ژوگلون، به روش RP-HPLC اندازه‌گیری و گزارش شده است (Azadbakht et al., 2005; Hadjmohammadi and Kamel, 2006). ژوگلون

حنجره انسان در محیط کشت جلوگیری می‌کند (Oliveira et al., 2008).

از آنجایی که گیاه لرگ به‌عنوان تنها گونه متعلق به جنس لرگ می‌باشد و با توجه به نیازهای بوم‌شناسی این گونه و پراکنش نسبتاً محدود آن در نواحی شمالی و غربی کشور، حفاظت از این گونه و بررسی پیرامون شناسایی ترکیب‌های تشکیل‌دهنده آن، جزء اولویت‌های اجتناب‌ناپذیر محسوب می‌گردد. از طرفی به دلیل اهمیت مواد موثره این گیاه در طب سنتی و کاربردهای متعدد برگ‌های آن در درمان بیماری‌ها، می‌طلبند مواد تشکیل‌دهنده برگ‌های لرگ در مراحل مختلف رویش گیاه مورد مذاقه قرار گیرد. بنابراین پژوهش حاضر به منظور شناسایی ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس برگ‌های این گیاه در سه مرحله فنولوژیک گیاه؛ اردیبهشت‌ماه (برگ‌های نورسته)، تیرماه (برگ‌های کامل) و شهریورماه (برگ‌های اواخر دوره رویشی می‌باشد تا طی آن تأثیر زمان و مراحل مختلف فنولوژی بر میزان درصد و ترکیب‌های اسانس گیاه مشخص شود.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری، خشک کردن گیاه و استخراج اسانس: برگ‌های این گیاه در سه مرحله مختلف رویشی (اردیبهشت، تیر و شهریورماه)، در بهار سال ۱۳۹۲ از گستره رویشگاه‌های طبیعی (واقع در گیلان)، جمع‌آوری و در شرایط آزمایشگاه خشک شدند. نمونه‌های گیاهی به روش استخراج و تقطیر با بخار همزمان با حلال آلی (SDE) اسانس‌گیری شدند. بازده اسانس بر حسب درصد وزنی/وزنی برآورد شد. پس از مرحله آبگیری توسط سدیم سولفات، تا زمان تزریق به دستگاه در شیشه تیره و در یخچال نگهداری شد. مدت زمان اسانس‌گیری برای گیاه، بین ۲ تا ۲/۵ ساعت انتخاب شد.

شناسایی ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس: برای شناسایی ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس، از دستگاه‌های گاز کروماتوگرافی (GC) و گاز کروماتوگرافی متصل شده به طیف‌سنج جرمی (GC/MS) استفاده شد. شناسایی طیف‌ها به کمک محاسبه شاخص‌های بازداری کوآتس (RI) و با تزریق هیدروکربن‌های نرمال (C8-C24) تحت شرایط یکسان با تزریق اسانس‌ها انجام شد و با مقادیری که در منابع مختلف منتشر گردیده بود، مقایسه شد. بررسی طیف‌های جرمی نیز جهت شناسایی ترکیب‌ها انجام شد و شناسایی‌های صورت گرفته، با استفاده از طیف‌های جرمی ترکیب‌های استاندارد و استفاده از اطلاعات موجود در کتابخانه‌های مختلف تأیید گردید. درصد نسبی هر کدام از ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس‌ها با توجه به سطح زیر منحنی آن در طیف کروماتوگرام بدست آمد و با مقادیری که در منابع مختلف با در نظر گرفتن اندیس بازداری منتشر شده، مقایسه گردید (Davies, Shibamoto, 1987; 1990).

مشخصات دستگاه‌های مورد استفاده

گاز کروماتوگرافی (GC): برای کروماتوگرافی گازی، از دستگاه GC مدل HP-6890 مجهز به شناساگر FID و ستون کاپیلاری HP-5MS به طول ستون ۳۰ متر و قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر که ضخامت لایه فاز ساکن در آن ۰/۲۵ میکرومتر، استفاده شد. برنامه‌ریزی حرارتی ستون از ۶۰ درجه سانتی‌گراد شروع شد و پس از سه دقیقه توقف در همان دما، به تدریج با سرعت ۶ درجه در دقیقه افزایش یافته تا به دمای ۲۲۰ درجه سانتی‌گراد رسید. دمای شناساگر و محفظه تزریق ۲۹۰ درجه سانتی‌گراد بوده است. گاز حامل نیتروژن با درجه خلوص ۹۹/۹۹۹ درصد مورد استفاده قرار گرفت. سرعت جریان گاز حامل ۱ میلی‌متر بر دقیقه بود.

۱۸/۰ درصد و ۲/۰ درصد وزنی/وزنی بدست آمد. ۱۰ ترکیب شیمیایی در اسانس برگ‌های اردیبهشت‌ماه، ۳۵ ترکیب در اسانس برگ‌های تیرماه و ۲۲ ترکیب در اسانس برگ‌های شهریورماه گیاه لرگ شناسائی شدند. اجزای اصلی اسانس برگ‌های اردیبهشت‌ماه شامل: ۳۰۷-گوئیدین (۲۷/۳۲ درصد)، ویریدیفلورن (۲۱/۵۸ درصد)، آلفا-کورکومین (۸/۴۴ درصد)، ویریدیفلورول (۷/۲۲ درصد) و زینجی‌برن (۵/۳۷ درصد) بودند. بیشترین ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس برگ‌های تیرماه شامل: آلفا-کورکومین (۱۶/۴۴ درصد)، ویریدیفلورن (۱۱/۹۵ درصد)، زینجی‌برن (۹/۴۴ درصد)، فیتول (۹/۱۶ درصد)، هگزادکانوئیک اسید (۵/۹۲ درصد) و ویریدیفلورول (۵/۵۱ درصد) و ۳، ۷-گوئیدین (۴/۸۴ درصد) بودند. افزون بر این عمده ترکیب‌های شیمیائی اسانس برگ‌های شهریورماه شامل: ویریدیفلورن (۲۶/۲۹ درصد)، ترانس-کاریوفیلن (۱۲/۶۳ درصد)، ۲-نورپینین (۸/۹۷ درصد)، ویریدیفلورول (۸/۷۸ درصد)، اسپاتونول (۷/۸۲ درصد) و زینجی‌برن (۶/۶۵ درصد) بودند (جدول ۱).

گاز کروماتوگرافی متصل شده به طیف‌سنج جرمی (GC/MS): برای طیف GC/MS از دستگاه گاز کروماتوگراف متصل شده به طیف‌سنج جرمی مدل HP-6890 مجهز به شناساگر طیف‌سنج جرمی و ستون کاپیلاری HP-5MS به طول ستون ۳۰ متر و قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر که ضخامت لایه فاز ساکن در آن ۰/۲۵ میکرومتر بود، استفاده شد. برنامه‌ریزی حرارتی ستون از ۶۰ درجه سانتی‌گراد شروع شد و پس از سه دقیقه توقف در همان دما، به تدریج با سرعت ۶ درجه در دقیقه افزایش یافت تا به دمای ۲۲۰ درجه سانتی‌گراد رسید. دمای شناساگر و محفظه تزریق ۲۹۰ درجه سانتی‌گراد بود. گاز حامل نیتروژن با درجه خلوص ۹۹/۹۹۹ درصد مورد استفاده قرار گرفت. سرعت جریان گاز حامل ۱ میلی‌متر بر دقیقه بود. ضمن این‌که دمای خط انتقال ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد، ولتاژ یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت و جریان یونیزاسیون برابر ۱۵۰ میکروآمپر تنظیم گردید.

نتایج

راندمان اسانس برگ‌های درخت لرگ در اردیبهشت، تیر و شهریورماه به ترتیب ۰/۲ درصد،

جدول ۱: ترکیب‌های شیمیائی و مقادیر آنها در اسانس برگ‌های درخت "لرگ" (*P. fraxinifolia* (Lam.) Spach) در مراحل مختلف فنولوژی

ردیف	نام ترکیب	شاخص بازداری	میزان ترکیب (درصد وزنی/وزنی) در برگ‌های		
			نورسته (اردیبهشت)	کامل (تیر)	اواخر دوره رویش (شهریور)
۱	2-hexenal	۸۵۱	-	۰/۳۵	۱/۱۵
۲	n-hexanol	۸۶۸	-	-	۱/۷۰
۳	α-pinene	۹۳۴	۰/۸۴	-	-
۴	β-pinene	۹۸۰	۱/۰۲	-	-
۵	p-cymene	۱۰۲۵	۰/۰۸	-	-
۶	δ-limonene	۱۰۳۰	۰/۵۳	-	-
۷	benzeneethanol	۱۱۱۷	-	۰/۸۰	-
۸	terpinen-4-ol	۱۱۷۹	۰/۱۱	-	-
۹	(-)-myrtenol	۱۱۹۸	۰/۰۹	-	-

ادامه جدول ۱-

۱۰	vinylguajacol	۱۳۱۷	-	۰/۶۲	-
۱۱	1,5,5-trimethyl-6-methylene-cyclohexene	۱۳۴۰	۰/۳۱	۰/۲۵	۰/۷۷
۱۲	eugenol	۱۳۶۱	-	۰/۴۸	-
۱۳	E-caryophyllene	۱۴۲۷	۲/۱۳	۲/۹۴	۱۲/۶۳
۱۴	2-norpinene	۱۴۴۰	-	۱/۸۲	۸/۹۷
۱۵	3,7-guaidiene	۱۴۵۲	۲۷/۳۲	۴/۸۴	۲/۷۶
۱۶	viridiflorene	۱۴۹۰	۲۱/۵۸	۱۱/۹۵	۲۶/۲۹
۱۷	α -curcumene	۱۴۹۶	۸/۴۴	۱۶/۴۴	۴/۲۴
۱۸	β -selinene	۱۵۰۴	-	-	۱/۵۹
۱۹	selinene<- δ >	۱۵۰۶	۴/۳۶	-	-
۲۰	zingiberene	۱۵۰۸	۵/۳۷	۹/۴۴	۶/۶۵
۲۱	α -farnesene	۱۵۱۶	-	۲/۰۸	-
۲۲	β -bisabolene	۱۵۲۰	۳/۵۱	-	۰/۶۷
۲۳	Z- γ -bisabolene	۱۵۲۷	-	-	۰/۵۳
۲۴	β -sesquiphellandrene	۱۵۳۳	۲/۲۷	۳/۳۴	۲/۲۹
۲۵	germacrene B	۱۵۷۲	۰/۵۸	۱/۵۸	-
۲۶	palustrol	۱۵۸۲	۰/۶۴	۰/۳۹	۰/۷۸
۲۷	spathulenol	۱۵۸۹	۴/۴۱	۳/۱۳	۷/۸۲
۲۸	turmerol<-ar>	۱۵۹۲	-	۲/۲۸	-
۲۹	viridiflorol	۱۶۰۴	۷/۲۲	۵/۵۱	۸/۷۸
۳۰	ledol	۱۶۱۴	۲/۰۳	۱/۰۴	۳/۶۲
۳۱	cubenol<1-epi>	۱۶۳۴	-	۰/۶۰	-
۳۲	isopathulenol	۱۶۵۳	۰/۶۹	-	-
۳۳	τ -muurolol	۱۶۵۴	-	-	۰/۲۴
۳۴	α -cadinol	۱۶۶۸	۰/۳۹	-	۰/۷۶
۳۵	epi- β -bisabolol	۱۶۸۳	-	-	۱/۱۴
۳۶	bisabolone<6s,7R>	۱۷۵۳	-	۰/۷۵	-
۳۷	xanthorrhizol	۱۷۵۷	-	۰/۴۰	-
۳۸	tetradecanoic acid	۱۷۷۳	-	۰/۳۲	-
۳۹	hexadecanoic acid	۲۰۰۳	-	۵/۹۲	-
۴۰	phytol	۲۱۱۳	۰/۳۲	۹/۱۶	-
۴۱	(Z,Z,Z)-9,12,15-octadecatrien-1-ol	۲۱۶۶	-	۳/۳۱	-
۴۲	tricosane	۲۳۰۰	-	۰/۱۸	-
۴۳	tetracosane	۲۴۰۰	-	-	۰/۲۷
۴۴	pentacosane	۲۵۰۰	-	۰/۵۶	۰/۶۱
جمع			۹۴/۲۴	۹۰/۴۸	۹۴/۲۲

جدول ۲: دسته‌بندی ترکیب‌های موجود در اسانس برگ گیاه *P. fraxinifolia* در طول دوره فنولوژی

ردیف	نوع ترکیب شیمیائی	میزان ترکیب (درصد وزنی /وزنی) در برگ‌های		
		نورسته (اردیبهشت)	کامل (تیر)	اواخر دوره رویش (شهریور)
۱	الکلی	۱۵/۹۰	۲۷/۷۲	۲۴/۸۰
۲	اسیدی	-	۶/۲۴	-
۳	غیرالکلی و غیراسیدی	۷۸/۳۴	۵۶/۵۲	۶۹/۴۲
۴	غیرترپنی	-	۱۲/۵۴	۳/۷۳
۵	مونوترپنی	۲/۹۸	۰/۲۵	۰/۷۷
۶	سزکوئی ترپنی	۹۰/۹۴	۶۸/۵۳	۸۹/۷۲
۷	دی ترپنی	۰/۳۲	۹/۱۶	-
۸	اشباع	۹/۸۹	۷/۶۸	۱۵/۷۲
۹	غیراشباع	۸۴/۳۵	۸۲/۸۰	۷۸/۵۰

بحث

برگ‌های اواخر فصل رویش گیاه (شهریورماه)، بیش از شش برابر فصل بهار و تابستان بود. افزون بر این، سسکوئی‌ترین‌های اسپاتونول، ویریدیفلورون و ویریدیفلورول به‌عنوان اجزاء مشترک و اصلی اسانس برگ‌های مراحل مختلف فنولوژی گیاه بود که میزان این سسکوئی‌ترین‌ها در اواخر مراحل رویشی (شهریورماه)، بیش از سایر مراحل فنولوژی گزارش شد.

ترکیب ۳، ۷-گوئیدین که به‌عنوان جزء مشترک اسانس برگ‌های مراحل مختلف فنولوژی گیاه بود، میزان آن به تدریج با تکمیل رشد و نمو گیاه در تابستان و اوائل پائیز بشدت افت کرد. مقدار این ترکیب در اسانس برگ‌های نورسته نسبت به برگ‌های بالغ و مسن، بیش از ۵ تا ۱۰ برابر بود. بنابراین می‌توان نتیجه‌گیری کرد که میزان این ترکیب با افزایش سن برگ، سیر نزولی را طی کرده است. از طرفی برای استحصال و خالص‌سازی ترکیب یاد شده، توصیه می‌گردد تا از برگ‌های نورسته گیاه استفاده شود.

به استناد جدول ۲، میزان ترکیب‌های مونوترپنی موجود در اسانس برگ‌ها، با افزایش سن برگ، روند نزولی را نشان داد. ترکیب‌های سزکوئی‌ترین موجود

مقایسه ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس برگ‌های مراحل مختلف فنولوژی گیاه لرگ نشان داد، ترکیب-هائی نظیر ۳، ۷-گوئیدین، ویریدیفلورون، آلفا-کورکومین، زینجی‌بیرین، اسپاتونول و ویریدیفلورول به‌عنوان اجزای اصلی و مشترک اسانس برگ‌های مراحل مختلف فنولوژی درخت لرگ بدست آمد.

تحقیقات ابراهیم‌زاده و همکاران (Ebrahimzadeh et al., 2009) بر روی اسانس برگ‌های درخت لرگ منطقه مازندران نشان داد، ترکیب بیسابولول‌اکساید (به میزان ۲۳/۶ درصد)، به‌عنوان بیشترین جزء اصلی اسانس این گیاه گزارش گردید. در حالی که ترکیب ترانی- بیسابولن به‌عنوان یکی از ترکیب‌های اصلی اسانس برگ‌ها (به میزان ۳/۵ درصد)، تنها در اسانس برگ‌های نورسته (اردیبهشت‌ماه) مشاهده شد. سایر اجزاء عمده اسانس برگ‌های درخت لرگ منطقه مازندران شامل: ترکیب‌های هگزادکانوئیک اسید، دی‌هیدروکسی پروپیل استر و بیسابولن‌اکساید گزارش شد (Ebrahimzadeh et al., 2009).

اگرچه ترکیب بتا-کاریوفیلن، به‌عنوان جزء مشترک اسانس برگ‌های مراحل مختلف فنولوژی گیاه وجود داشت، ولیکن میزان این ترکیب در اسانس

کیفیت اسانس گیاه کاکوتی کوهی (*Ziziphora clinopodioides* Lam.) در شمال شرق ایران اعلام داشتند که مراحل فنولوژی تأثیر معنی‌دار بر بازده اسانس در سطح یک درصد داشته است. افزون بر این، تحقیقات رزمجو و همکاران (Razmjoie et al., 2014) پیرامون تغییرات کمی و کیفی اجزاء تشکیل‌دهنده اسانس گیاه سنبل بیابانی (*Ermostachys macrophylla*) منطقه نیریز استان فارس در مراحل رویشی و زایشی نشان داد، تعداد ۱۵ ترکیب در مرحله رویشی و تعداد ۱۹ ترکیب در مرحله زایشی شناسائی شدند. بنابراین تعداد اجزاء اسانس در طول دوره فنولوژی گیاه متغیر است. دهقان و همکاران (Dehghan et al., 2014)، در پژوهش خود تحت عنوان بررسی تأثیر برخی از شرایط رویشگاهی روی کمیت و کیفیت اسانس گیاه *Ziziphora tenuior* در استان همدان بیان نمودند که بازده اسانس بین ۰/۳۷ تا یک درصد و میزان پولگون و ۱، ۸ سینئول به‌عنوان اجزای اصلی اسانس در رویشگاه‌های مختلف، متفاوت می‌باشند.

جایمند و همکاران (Jaimand et al., 2004) میزان ترکیب ژوگلون را در بر اساس نتایج حاصل از این تحقیق، راندمان اسانس برگ‌ها در مراحل مختلف فنولوژی متغیر است. مطالعات ایمانی (Imani, 2004) در بررسی تغییرات میزان اسانس بادنجه‌بویه (*Melissa officinalis* L.) نشان داد، بالاترین مقدار اسانس در مراحل اولیه دوره گل‌دهی (به میزان ۰/۱۴ درصد) بدست آمد. مقدار اسانس در اواخر دوره گل‌دهی به میزان ۰/۱ درصد کاهش یافت. بررسی‌های احمدی (Ahmadi, 1997) پیرامون تغییرات میزان اسانس گیاه مریم‌گلی دارویی (*Salvia officinalis* L.) در مراحل مختلف فنولوژی نشان داد که اسانس این گیاه در مرحله گل‌دهی بیشتر از مرحله رویشی و حتی بعد از گل‌دهی بود. پالاپاول و همکاران

در اسانس، در اوائل و اواخر مرحله رشد برگ، نسبت به برگ‌های اوائل تابستان (تیرماه) بیشتر بود. در مجموع ترکیب‌های سزکوئی‌تریپنی اسانس برگ (۶۸ تا ۹۰ درصد) در مقایسه با ترکیب‌های مونوترپنی (۰/۲ تا ۲/۹ درصد)، بیشترین میزان از اجزاء اسانس را به خود اختصاص داد. این در حالی است که مونوترپن‌ها و سسکوئی‌تریپن‌ها، مهمترین ترکیب‌های شیمیایی اسانس برگ‌های لرگ منطقه مازندران بودند (Ebrahimzadeh et al., 2009). دلیل چنین تفاوتی احتمالاً در شیوه اسانس‌گیری و تأثیر ویژگی‌های اقلیمی باشد.

تعداد ترکیب‌های شیمیایی اسانس برگ‌ها در مراحل مختلف فنولوژی متغیر بود. تعداد ترکیب‌های شناسائی شده در برگ‌های نورسته ۱۰ عدد، برگ‌های بالغ ۳۵ عدد و برگ‌های اواخر دوره رویش (مسن)، ۲۲ ترکیب گزارش شد. بنابراین تعداد اجزاء تشکیل‌دهنده اسانس در طول دوره فنولوژی متغیر است. مهدوی و همکاران (Mahdavi et al., 2015) در بررسی تأثیر مراحل مختلف فنولوژی بر کمیت و کیفیت اسانس گیاه کاکوتی کوهی (*Ziziphora clinopodioides* Lam.) منطقه قاسمو ارومیه گزارش کردند که اسانس این گیاه در مرحله قبل از گل‌دهی، ۱۳ ترکیب و در مرحله گل‌دهی ۲۶ ترکیب بودند. بازده اسانس مرحله قبل از گل‌دهی ۰/۲۷ درصد و در مرحله گل‌دهی ۰/۳۲ درصد بدست آمد. پژوهش انجام شده توسط سفیدکن و عسگری و (Sefidkon and Asgari, 2003) در رابطه با مقایسه کمی و کیفی بازده اسانس گونه‌های مختلف آویشن از مناطق مختلف ایران در دو مرحله قبل و هنگام گل‌دهی کامل نشان داد، که مقدار بازده اسانس در مرحله رویشی کمتر از مرحله گل‌دهی گزارش گردید. همچنین بخشی‌خانکی و همکاران (Akhshikhaniki et al., 2010). در بررسی تأثیر مراحل فنولوژی بر کمیت و

در برگ‌ها، مربوط به مردادماه و بیشترین میزان ژوگلون در پوسته سبز میوه، در شهریورماه بدست آمد. در مجموع پوسته سبز میوه نسبت به برگ‌ها، مقادیر ژوگلون بیشتری را تولید می‌کند. صفایی و همکاران (Safaii et al., 2013) تغییرات میزان اسانس آویشن دنیایی (*Thymus daenensis* Celak.) منطقه اصفهان را در چهار مرحله فنولوژیکی مختلف (آغاز گل‌دهی، ۵۰ درصد گل‌دهی، گل‌دهی کامل و مرحله بذردهی) را مورد مطالعه قرار دادند. بیشترین عملکرد اسانس در مرحله گل‌دهی کامل و بیشترین درصد اسانس در مرحله ۵۰ درصد گل‌دهی بدست آمد.

علی‌رغم اینکه تعداد ترکیب‌های شناسائی شده اسانس برگ‌های نورسته لرگ (۱۰ ترکیب) در مقایسه با سایر مراحل فنولوژی، پائین‌تر بود، ولیکن نزدیک به ۶۵ درصد از اجزاء اصلی اسانس را به خود اختصاص داده بود. این در حالی است که چهار جزء اصلی اسانس برگ‌های بالغ (تیرماه) و مسن (شهریورماه)، به ترتیب ۴۶ و ۵۶ درصد از کل اسانس را شامل می‌شد. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که اگرچه تعداد ترکیب‌های اسانس در اواسط و اواخر دوره رویشی بیشتر است، ولی میزان درصد ترکیب‌ها در مراحل مختلف فنولوژی با یکدیگر تفاوت دارند. شاید دلیل چنین تفاوتی را در تاثیر شرایط آب و هوایی در مراحل مختلف تقویم حیاتی گیاه دانست. که سبب تغییر در میزان درصد ترکیب‌های اسانس می‌شود. بررسی‌های تجلی و همکاران (Tajali et al., 2008) در ارتباط با شناسائی ترکیب‌های اسانس گیاه کافوری (*Camphorosma monspeliaca* L.) در سه رویشگاه مرتعی (اراک، همدان و شهرکرد) در مراحل مختلف فنولوژیک نشان داد، بازده اسانس در سه منطقه جغرافیائی بین ۰/۱ تا ۰/۲ درصد متغیر بود. بیشترین تعداد اجزاء تشکیل‌دهنده اسانس، مربوط به منطقه همدان (۱۳۰ ترکیب در مرحله زایشی) و کمترین آن

(Pala-paul et al., 2002) اثرات مراحل رشد را بر روی میزان اسانس گیاه *Santolina rosmarinifolia* بررسی نمودند. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد، مقدار اسانس در طی مراحل رویشی به سمت زایشی (گل‌دهی) سیر صعودی داشت. تحقیقات امیری و همکاران (Ameri et al., 2007) در بررسی درصد تغییرات میزان اسانس گل همیشه بهار (*Calendula officinalis* L. در مراحل مختلف گل‌دهی نشان داد، میزان اسانس در اواخر دوره گل‌دهی ۰/۲۲ درصد، اواسط گل‌دهی ۰/۱۷ درصد و در اواخر گل‌دهی ۰/۱۲ درصد بدست آمد. به عبارت دیگر حداکثر میزان تولید اسانس در اواخر دوره گل‌دهی بدست آمد و مقدار آن از اواسط تا اواخر گل‌دهی به تدریج کاهش یافت. امیری و همکاران (Ameri et al., 2005) در بررسی تغییرات کمی و کیفی اسانس گیاه *Smyrniium cordifolium* Boiss. در مراحل مختلف رشد گیاه نشان دادند، بیشترین مقدار اسانس مربوط به مرحله رسیدگی میوه‌ها و کمترین مقدار آن مربوط به مرحله قبل از گل‌دهی بود. بازده اسانس در مراحل مختلف بین ۰/۳ تا ۰/۷ درصد (درصد وزنی / وزنی) متغیر بود. ترکیب‌های شناسایی شده موجود در اسانس در مراحل مختلف رشد گیاه از نظر کمی و کیفی تفاوت‌ها و شباهت‌هایی را با هم نشان دادند. مطالعات زارع‌زاده و همکاران (Zarezadeh et al., 2013). در مقایسه ترکیب‌های اسانس چهار گونه آویشن در مرحله قبل از گل‌دهی و بعد از گل‌دهی در شرایط مزرعه‌ای نشان داد، مجموع مقدار اسانس در مرحله قبل از گل‌دهی کمتر از مرحله بعد از گل‌دهی و درصد ترکیب‌های در گونه‌های مختلف متفاوت بود.

برگ و میوه سبز درخت گردو (*Juglans regia* L.) در مراحل مختلف فنولوژی مورد بررسی قرار دادند. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد، مقادیر این ترکیب در ماه‌های مختلف سال متغیر بوده و بیشترین مقدار آن

اسانس برگ‌های اردیبهشت‌ماه، سسکوئی‌ترین‌های اکسیژن‌دار بودند. در حالی که بیشترین قسمت اصلی ترکیب‌های شیمیائی اسانس برگ‌های تیرماه، مربوط به سسکوئی‌ترین‌های هیدروکربنی بود. بنابراین میزان و نوع ترکیب‌های اصلی اسانس در مراحل مختلف رشد و نمو، متغیر بوده و بسته به شرایط فیزیولوژی و فنولوژی گیاه، مسیر سنتز مواد تغییر می‌یابد.

References

1. Ahmadi, L. 1997. Investigate the effect different growth stages *Salvia officinalis* L. in production of essential oils and its chemical compounds. Iranian Journal of Medical and Aromatic Plants, 4: 33-47. (In Persian).
2. Amami, A., Shamsardakani, M.R., Nekoi, N. 2003. Guidance of treatment plant. Rahe Kamal press. (In Persian).
3. Ameri, A.A., Nassiri, M., Rezvani, P. 2007. Effects of different nitrogen levels and plant density on flower, essential oils and extract production and nitrogen use efficiency of Marigold (*Calendula officinalis*). Iran J. Field Crops Res. 5(2): 315-325.
4. Amiri, H., Khavari-Nejad, R.A., Rustaiyan, A., Meshkatsadat, M.H. 2005. The study of quantitative and qualitative changes of essential oil from *Smyrniium cordifolium* Boiss. in different growth stages. Pajouhesh and Sazandegi, 73: 195-199.
5. Azadbakht, M., Marston, A., Hostettmann, K., Ebrahimi, S. 2005. Isolation of two Naphthalene derivatives from *Pterocarya Fraxinifolia* leaf and evaluation of their biological activities, Chemistry an Indian Journal, 1(12): 780-783.
6. Bakhshikhaniki, A., Sefidkon, F., Dehghan, Z. 2010. Examination of effect some hanitet condition on quantity and quality *Ziziphora Clinopodioides* essential oil. Journal of plant drogs. 1:11-20. (In Persian).
7. Davies, N.W. 1990. Gas chromatographic retention index of monoterpenes and sesquiterpenes on methyl silicone and

مربوط به منطقه اراک (۵۵ ترکیب در مرحله زایشی) بود. ده ترکیب بطور مشترک در مرحله زایشی در هر سه منطقه، به‌عنوان اجزاء اصلی و مشترک اسانس این گیاه گزارش شد.

زمان برداشت گیاه یکی از عوامل مهم و تاثیرگذار بر روی نوع و درصد ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس دارد. تفاوت در نوع ترکیب‌های اصلی اسانس طی مراحل مختلف فنولوژی، می‌تواند به علت تاثیر شرایط آب و هوایی متفاوت بین فصول جمع‌آوری، عوامل بوم‌شناختی و شرایط فنولوژی گیاه باشد. درصد و تعداد برخی از ترکیب‌ها در مراحل مختلف فنولوژی با یکدیگر متفاوت است. میزان برخی ترکیب‌ها در اسانس برگ‌های بالغ و مسن نسبت به برگ‌های نورسته، بیشتر است. این اختلافات تاثیر شرایط فیزیولوژی و فنولوژی گیاه را بر روی مسیرهای بیوسنتزی ترکیب‌ها توجیه می‌کنند. نتیجه حاصل از این تحقیق، با یافته‌های ارائه شده توسط ماروتی و پیکاجلیا و (Marotti and Piccaglia, 1994) که بیان داشتند کمیت ترکیب‌ها و نسبت‌های مربوط به اجزای تشکیل‌دهنده اسانس به طور گسترده تحت تاثیر مراحل فنولوژی و مرحله تکوینی - تکاملی و رشد و نمو گیاه می‌باشد، مطابقت دارد. بنابراین تغییرات کمی و کیفی اسانس گیاه در طی مراحل مختلف رشد نیز از این قاعده تبعیت می‌کند. این بررسی نشان داد که اگر هدف از بهره‌برداری از گیاه لرگ جهت استحصال ترکیب ۳، ۷-گوئیدین باشد، بهترین زمان برای جمع‌آوری گیاه، اوائل دوره رشد گیاه (برگ‌های نورسته) آن می‌باشد.

نتیجه‌گیری نهایی

نتایج حاصل از بررسی ترکیب‌های اصلی اسانس برگ‌های گیاه لرگ در مراحل مختلف تقویم حیاتی گیاه نشان داد، بخش عمده ترکیب‌های تشکیل‌دهنده

- Forest and Rangelands (RIFR). Tehran. 748 pp.
17. Karimi, H. 1995. Names of Iran plants. Nashre-Daneshgahi press. Tehran, pp: 412. (In Persian).
 18. Mahdavi, S.K., Valizadeh, S. and Mahmoudi, J. 2015. The study phonological effects on the quantity of oil quality essential oil of *Ziziphora Clinopodioides* L. A case study Urmia Ghasemloo valley. Rangeland management, 1(4): 70-83. (In Persian).
 19. Marotti, M., Piccaglia, R. 1994. Effects of variety and ontogenic stage on the essential oil composition and biological activity of Fennel. Journal of Essential Oil Research, 6: 57-62.
 20. Menzel, A., Jakobi, G., Ahas, R., Scheifinger, H., Estrella, N. 2003. Variations of the climatological growing (season) 1951-2000 in Germany Compared with other countries. International Journal of climatology, 23:793-812.
 21. Mobayen, S. 1983. Plants of Iran. Vol. 2. University of Tehran Press, 525p.
 22. Mozafarian, V. 1994. Plant classification. Vol. 2. Danesh emroz press. Tehran. 610p. (In Persian).
 23. Mozaffarian, V. 1996. A Dictionary of Iranian Plant Names, Farhang Moaser, Tehran, 750p.
 24. Mozaffarian, V. 2004. Trees and shrubs of Iran, Farhange Moaser Publication, Tehran, 1058p. (In Persian).
 25. Mozaffarian, V. 2008. Flora of Ilam. Farhange Moaser Publication, Tehran, 936p. (In Persian)
 26. Nabavi, S.M., Ebrahimzadeh, M.A., Nabavi, S.F. 2009. Antioxidant and free radical scavenging activity of methanolic extract of *Pterocarya fraxinifolia* (Lam.) Spach leaves and bark. Iranian Journal of Medical and Aromatic Plants, 24(3): 374-384.
 27. Oliveira I., Sousa A., Ferreira I., Bento A., Stevinho L., J.A. 2008. Total phenols, antioxidant potential and antimicrobial activity of walnut (*Juglans regia* L.) green husks. Food and Chemistry Toxicology, 46(7):2326-2331.
 - carbowax 20M phases. Journal of Chromatogr. 503: 1-24.
 8. Dehghan, Z., Sefidkon, F., Emami S.M., Kalvandi, R. 2014. The effects of ecological factors on essential oil yield and composition of *Ziziphora clinopodioides* lam. subsp. *rigida* (Boiss.) Rech.f. Journal of plant research (Iranian Biology Journal), 27(1): 49-63. (In Persian).
 9. Ebrahimzadeh, M.A., Nabavi, S.F., Nabavi, S.M. 2009. Essential oil composition and antioxidant activity of *Pterocarya fraxinifolia*. Pakistan Journal of Biological Sciences, 12(13): 957-963.
 10. Ghahraman, A. 1990. Plant Systematic, Cormophytes of Iran. Vol. 1: Tehran University Press, 350p.
 11. Girzu, M., Carnat, A., Privat, A.M., Fialip, J., Carnat, A.P., Lamaison, J.L. 1998. Sedative effect of Walnut leaf extract and Juglone, An isolated constituent. Pharmaceutical biology, 36(4): 281-286.
 12. Gungor, N.M., Kartal, S.N., Kantay, R. 2007. Technological properties of wingnut (*Pterocarya fraxinifolia* (LAM.) Spach.) Wood and characteristics of polywood from wingnut wood. Building and Environment, 42(8): 3108-3111.
 13. Hadjmohammadi, M.R., Kamel, K. 2006. Determination of Juglone (5-hydroxy 1, 4-naphthoquinone) in *Pterocarya fraxinifolia* by RP-HPLC. Iranian Journal of Chemical Engineering . 25(4). 73-76.
 14. Imani, Y. 2004. The study of the essential oils *Melissa officinalis* L. In growth period in two areas Arasbaran and Malekan. Iranian Journal of Medical and Aromatic Plants, 21: 267-279. (In Persian).
 15. Jaimand, K., Baghai, P., Rezaee, M.B., Sajadipoor, S.A., Nasrabadi, M. 2004. Determination of Juglone from Leaves and fresh peels of *juglans regia* L. by High Performance Liquid Chromatography. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research. 20(3): 323-331. (In Persian).
 16. Jalili, A., Jamzad, Z. 1999. Red data book of Iran. Research Institute of

35. Shafei, M., Sharifan, A., Aghazadehmeshki, M. 2010. Identification of chemical composition *Ziziphora* and examination of effect of anti-bacterial on yeast *Koloyoromayses* Marksianous. *Journal of food science and Nutrition*, 9(1):1010-107. (In Persian).
36. Shibamoto, T. 1987. Retention indices in essential oil analysis: 259-274. In: Sndra, P. and 37-Bicchi, C., (Eds.). *Capillary Gas Chromatography in Essential Oil Analysis*. Verlagsgruppe Huthig Jehle Rehm GmbH, New York, 435p.
38. Tajali, A.A., Amin, G.R. and Ghandomkar Ghalehari, A. 2008. The study and identify the essential oil components *Camphorosma monspeliaca* L. In various phonological stages in the natural habitates sites in Arak, Hamedan, Shahrekord. *Rangeland management*, 2(3): 302-316. (In Persian).
39. Usher, G. 1984. *Adictionary of plants*. CBS publishers and distributours. India, 619 p.
40. Wichtl, M., Bisset, N.G. 1994. Editor. *Herbal Drugs and phytopharmaceuticals*. Medpharm. Stuttgart, pp. 281-282.
41. Zarezadeh, A., Mirhosayni, A., Arabadeh, M.R. 2013. Comparison of quality and quantity effective substance essential oil f six species *Thymus* L. in farming condition in two Vegetative and reproductive in Yazd province. *Second proceeding plant physiology* 235. (In Persian).
42. Zargari, A. 1990. *Medicinal plants*. Vol 4. Tehran university publication, 924p. (In Persian).
28. Omidbaigi, R. 1997. *Approaches Processing Medicinal Plants*. Vol. 2, Trahan Nashr publisher, P. 196.
29. Omidbaigi, R. 2007. *Production and processing of medicinal plants*, 2^{ed} Edition. Astan Ghods Publication, Vol. 1. 347p. (In Persian).
30. Pala-paul J., Perez-Alonso, M.J. Velasco-Negueruela, A. 2002. Seasonal variation in chemical constituents of *Santolina rosmarinifolia* L. ssp. *rosmarinifolia*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 29: 663-672.
31. Parker, S.P. (Ed). 1989. *McGraw-Hill dictionary of scientific and technical terms* (Vol. 2). McGraw-Hill Book Co. USA.
32. Razmjoei, D., Kasemi, S.R., Zaraie, Z. 2014. The study quantitative and qualitative chemical composition of essential oils *Ermostachys macrophylla* in two vegetative and reproductive stages. *The 1th international conference new findings in agricultural sciences, natural resources and of environmental*. (In Persian).
33. Safaii, L., Sharifiashorabadi, A., Zeynali, H., Afyoni, D., Mirza, M. 2013. Examination of yield, amount and main components *Thymus caramanicus* Jalas essential oil in different removing stage. *Journal of medicinal and aromatic plant research*. 29(2):313-324. (In Persian).
34. Sefidkon, F., Asgari, F. 2003. Quantity and quality of *Thymus sp.* essential oil. *Journal of Pajouhesh and Sazandegi*. 59: 2-7. (In Persian).