



Evaluation of Morphological and Phytochemical Diversity of different Populations of *Phlomis olivieri* Benth. in Hamedan Province

M. Salehi^{1*}, R. Kalvandi²

Received: 28-12-2021

Revised: 08-01-2022

Accepted: 31-01-2022

Available Online: 25-11-2022

How to cite this article:Salehi, M., & Kalvandi, R. (2022). Evaluation of Morphological and Phytochemical Diversity of Different Populations of *Phlomis olivieri* Benth. in Hamedan Province. *Journal of Horticultural Science* 36(3): 721-734. (In Persian with English abstract)DOI: [10.22067/jhs.2022.74320.1117](https://doi.org/10.22067/jhs.2022.74320.1117)

Introduction

Medicinal plants have played an essential role in the development of human culture. Medicinal plants are resources of new drugs and many of the modern medicines are produced indirectly from plants. Although the production of secondary metabolites is controlled by genes, their production is considerably influenced by environmental conditions, so environmental factors cause changes in the growth of medicinal plants as well as the amount of active substances. Essential oil quantity and quality are affected by the different environmental conditions. Physiological, morphological and genetic variations were seen in populations of species that occurred in different habitats. These variations were created in response to contrasting environmental conditions. In many plant species, studies on the pattern of variation in populations have shown the localized populations are adapted to the particular environmental conditions of their habitat. The genus *Phlomis* L. (Lamiaceae) includes about 113 perennial herbs or shrubs distributed in Asia, Europe, and Africa. Some of the *Phlomis* species have been reported for their traditional uses as analgesic, diuretic, tonic, anti-diarrheic agents and to treat various conditions such as gastric ulcer, inflammation, diabetes, hemorrhoids and wounds. In Flora of Iran, this genus is represented by 20 species, including *Phlomis olivieri* Benth.

Materials and Methods

This study was conducted to evaluate the morphological and phytochemical diversity of eleven populations of *P. olivieri* Benth. from different districts of Hamedan province in 2021. Traits such as plant height, stem diameter, leaf length and width, fresh and dry weight of the flowering branch, inflorescence length, fresh and dry weight of the plant, number of inflorescence cycles, essential oil percentage were measured. In order to investigate the physical and chemical properties of soil, soil samples were collected from a depth of 30 cm. Then they were transferred to the soil laboratory. Plants samples were collected in the flowering stage and were dried at 25-30°C. They were stored in envelopes at 22±3°C away from the sun. For extracting the essential oil of the samples, 100 gr of the plant was milled and then distilled with water. Hydrodistillation lasted for 4 hours. The main components of essential oil were identified and determined by gas chromatography in the Institute of Medicinal Plants in Karaj. Gas chromatography was carried out on Agilent 6890 with capillary column 30m*0.25 mm, 0.25 µm film thickness. The grouping of populations based on morphological and phytochemical traits was done by cluster analysis in SPSS using the Ward method. Also, the traits correlation (quantitative) was done using the Pearson method.

Results and Discussion

According to the results, the highest fresh and dry weight of flowering branch (6.96 g and 3.48 g) and also

1- Assistant Professor of Horticultural Sciences and Engineering Department, Nahavand Higher Education Complex, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran

(*- Corresponding Author Email: mahtab.salehi@basu.ac.ir)

2- Assistant Professor, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Department of Natural Resources, Research and Education Center for Agricultural and Natural Resources, Hamedan, Iran

the highest fresh and dry weight of the plant (11.77 g and 5.86 g) belonged to the Koohani population. The tallest inflorescence (24.2 cm) belonged to the Jowzan population and the shortest inflorescence belonged to the Gammasiab population (8.9 cm). The highest stem diameter (4.45 mm) was observed in the Garin population. The maximum plant height (49.4 cm) was related to the Rahdarkhaneh population, which was not significantly different from the Garin population, and the minimum was related to the population of Garmak (31 cm), which was not significantly different from the population of Gammasiab (33.50 cm). Also, 31 compounds were identified in this plant essential oil that caryophyllene, germacrene D, and (E)- β -Farnesene had the highest percentage of essential oil constituents. In this study, the highest amount of essential oil (0.04%) was related to the Koohani population which had the lowest altitude among other populations. Therefore, it seems that environmental factors, as well as genetic factors, have been effective in creating diversity in morphological and phytochemical characteristics of this plant.

Conclusion

The results obtained from this study showed that *P. olivieri* Benth. populations gathered from different regions of Hamedan province, had a high diversity in terms of essential oil content. The results showed that in addition to genetic factors, environmental and climatic factors also affect phytochemical traits. In this study, the highest amount of essential oil was produced in the Koohani population (located in Nahavand city) with the lowest altitude among other populations. According to the research on the essential oil components of *P. olivieri* in different regions of Iran, the components of its essential oil and their percentages are completely different; so, some of the components that are seen in one region, are not observed in another region, and this issue emphasizes on the effect of climatic conditions. This difference is quite evident even in the studied populations in a province.

Keywords: Altitude, Essential oil, Flowering branch, Inflorescence

مقاله پژوهشی

جلد ۳۶، شماره ۳، پاییز ۱۴۰۱، ص. ۷۳۴-۷۲۱

بررسی تنوع مورفولوژیکی و فیتوشیمیایی

جمعیت‌های مختلف گوش بره (*Phlomis olivieri* Benth.) در استان همدان

مهتاب صالحی^{۱*} - رمضان کلوندی^۲

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۰/۰۷

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۱/۱۱

چکیده

جنس *Phlomis* از تیره Lamiaceae حدود ۱۱۳ گونه را در جهان شامل می‌شود. براساس آخرین گزارش، جنس *Phlomis* دارای ۲۰ گونه و ۳ هیبرید در ایران است که ۹ گونه آن، انحصاری ایران هستند. گیاه *Phlomis olivieri* Benth. از گونه‌های بومی ایران است. گونه‌های مختلف *Phlomis* در طب سنتی، برای درمان برخی بیماری‌ها از جمله زخم معده، دیابت و التهاب مورد استفاده قرار گرفته است. این پژوهش، به منظور ارزیابی تنوع مورفولوژیکی و فیتوشیمیایی ۱۱ جمعیت گیاه گوش بره، در سال ۱۴۰۰ در مناطق مختلف استان همدان به اجرا درآمد. براساس نتایج به دست آمده، بیشترین وزن تر و وزن خشک سرشاخه گل دار (۶/۹۶ و ۳/۴۸ گرم) و همچنین بیشترین وزن تر و وزن خشک گیاه (به ترتیب ۱۱/۷۷ و ۵/۸۶ گرم) به جمعیت کوهانی تعلق داشت. بلندترین طول گل‌آذین (۲۴/۲ سانتی‌متر) مربوط به جمعیت جوزان و کوتاه‌ترین طول گل‌آذین (۸/۹ سانتی‌متر) مربوط به جمعیت گاماسیاب بود. بیشترین قطر ساقه (۴/۴۵ میلی‌متر) در جمعیت گرین مشاهده شد. بیشترین ارتفاع گیاه (۴۹/۴ سانتی‌متر) مربوط به جمعیت راهدارخانه بود که با جمعیت گرین، تفاوت معنی‌داری نداشت ($p < 0.05$) و کمترین آن، مربوط به جمعیت گرمک (۳۱ سانتی‌متر) بود که با جمعیت گاماسیاب (۳۳/۵۰ سانتی‌متر) اختلاف معنی‌داری نداشت. همچنین، ۳۱ ترکیب در اسانس شناسایی شد که کاربوفیلن، ژرماکرن دی، و ای - بتا - فاریسن، بیشترین درصد اجزای تشکیل‌دهنده اسانس را به خود اختصاص دادند. در این مطالعه، بیشترین اسانس (۰/۰۴ درصد) از منطقه کوهانی به دست آمد که در بین جمعیت‌های مورد مطالعه، دارای کمترین ارتفاع از سطح دریا بود. بنابراین به نظر می‌رسد که عوامل محیطی نیز همانند عوامل ژنتیکی، در ایجاد تنوع در خصوصیات مورفولوژیکی و فیتوشیمیایی این گیاه مؤثر بوده‌اند.

واژه‌های کلیدی: ارتفاع از سطح دریا، اسانس، سرشاخه گل‌دار، گل‌آذین

مقدمه

جنس در ایران اضافه شده است و تعداد گونه‌ها به ۲۰ رسیده است (Vaezi et al., 2017). جنس *Phlomis* L. اغلب با گل‌های معطر درشت زرد تا بنفش یا صورتی و زیبا شناخته می‌شود. گونه *P. olivieri* به طور خودرو در نواحی غربی و شمال غربی ایران (کوه‌های زاگرس) و نیز در نواحی شمالی (کوه‌های البرز) و مرکزی ایران در مزارع، کنار باغ‌ها و نواحی دامنه‌ای کوهستانی می‌روید. دیگر گونه‌های جنس *Phlomis* علاوه بر ایران، در شرق اروپا تا اتریش، قفقاز، ترکیه، سبیری و مغولستان می‌رویند (Mozaffarian, 2015). از جمله رویشگاه‌های طبیعی گونه *P. olivieri*، کشور ایران می‌باشد. این گونه در مناطق مختلف استان همدان، پراکنش وسیعی دارد (Jamzad, 2012). آب و هوای استان همدان، به علت وجود

گیاه *Phlomis olivieri* Benth. با نام‌های فارسی چالمه و گوش بره، از گیاهان تیره نعناعیان است. ۱۹ گونه *Phlomis* در ایران می‌روید که اخیراً یک گونه جدید از خراسان به فهرست گونه‌های این

۱- استادیار گروه علوم و مهندسی باغبانی دانشگاه بوعلی سینا، مجتمع آموزش عالی نهاوند (ویژه دختران)

*- نویسنده مسئول: (Email: mahtab.salehi@basu.ac.ir)

۲- عضو هیأت علمی سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان همدان، ایران

DOI: 10.22067/jhs.2022.74320.1117

مورفولوژیکی و فیتوشیمیایی برخی جمعیت‌های گیاه گوش‌بره (P. olivieri) در مناطق مختلف استان همدان انجام شد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه، ۱۱ جمعیت گیاه *Phlomis olivieri* در مرحله گلدهی، از مناطق مختلف استان همدان در خردادماه سال ۱۴۰۰ جمع‌آوری گردید. این مناطق عبارت بودند از: کوهانی (در شهرستان نهاوند)، کوه‌های گرین (در شهرستان نهاوند)، گوراب یا جوراب (۵ کیلومتری جاده ملایر به اراک)، سراب گاماسیاب، جوزان (از توابع ملایر)، گرمک (جاده رزن به آوج)، گنجانمه (شهر همدان)، نورآباد (جاده نهاوند به نورآباد)، راهدارخانه گرین (در شهرستان نهاوند)، یلفان (از توابع همدان) و سیمین (از توابع همدان). به منظور شناسایی و تفکیک این گونه از گونه‌های مشابه، در هرباریوم مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان همدان، بررسی لازم صورت گرفت و با کد هرباریومی ۸۸۸۷ شناسایی شد. مناطق جمع‌آوری گیاه، براساس کتاب «فلور ایران: تیره نعنا» (Jamzad, 2012) در زمینه پراکنش این گونه در استان همدان، انتخاب شدند (شکل ۱). سپس صفات مورفولوژیکی شامل طول گل‌آذین، فاصله بین دو چرخه گل‌آذین، تعداد چرخه گل‌آذین، طول کاسبرگ، طول گلبرگ، طول و عرض برگ و ارتفاع گیاه با استفاده از خط‌کش، وزن تر و وزن خشک سرشاخه گلدار و وزن تر و وزن خشک گیاه با ترازوی آزمایشگاهی، و قطر ساقه با استفاده از کولیس و نیز صفات فیتوشیمیایی شامل درصد و اجزای تشکیل‌دهنده اسانس بررسی گردید. به منظور بررسی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک، نمونه خاکی تا عمق ۳۰ سانتی‌متری از هر منطقه، جمع‌آوری (Azarnivand et al., 2010) و نمونه خاک‌ها به آزمایشگاه خاک منتقل گردید (جدول ۱: نتایج آنالیز خاک). نمونه‌های گیاهی پس از جمع‌آوری در مرحله گلدهی کامل، در سایه در دمای حدود ۳۰-۲۵ درجه سانتی‌گراد خشک شدند. سپس تا زمان اندازه‌گیری صفات فیتوشیمیایی، در پاکت کاغذی در آزمایشگاه با دمای ۳±۲۲ درجه سانتی‌گراد و دور از نور خورشید به مدت یک ماه نگهداری شدند. برای اسانس‌گیری از نمونه‌ها، ابتدا مقدار ۱۰۰ گرم از گیاه مورد نظر، در بالن ۱۰۰۰ میلی‌لیتر ریخته و ۳ تا ۵ برابر آب (۳۰۰ تا ۵۰۰ میلی‌لیتر آب) به آن اضافه شد. سپس بالن در دستگاه شوف بالن قرار داده شد و دستگاه کلونجر به بالن متصل گردید و آب خنک‌کننده کلونجر باز و شوف بالن آغاز به کار کرد. پس از جوش آمدن محتوی بالن، اسانس‌گیری به مدت چهار ساعت صورت گرفت. در آخر نیز مقدار اسانس به دست آمده، جمع‌آوری شد (Ghasemi & Dehkordi, 2002). آبیگری نمونه‌ها با استفاده از سولفات سدیم خشک انجام شد. درصد اسانس، به صورت حجمی/وزنی تعیین شد. جهت تجزیه نمونه‌های اسانس و اندازه‌گیری ترکیبات موجود در آن،

کوه‌های مرتفع، رودخانه‌ها و پستی و بلندی‌های زیاد، بسیار متنوع است. این تنوع آب و هوایی به همراه نوع خاک، ارتفاع و سایر شرایط محیطی، موجب شده است تا انواع پوشش‌ها و گونه‌های متفاوت گیاهی در نقاط مختلف استان مشاهده شود (Statistical Center of Iran, 2012). انعطاف‌پذیری ژنتیکی جمعیت‌های گیاهی، سبب تنوع و تغییر تدریجی آنها در مناطق مختلف جغرافیایی شده و جمعیت‌های یک گونه را به وجود می‌آورد که از نظر صفات نمودی، فیزیولوژیکی، شیمیایی، بوتانیکی و نهایتاً ژنتیکی از یکدیگر متمایز می‌باشند (Nemeth and Bernath, 2008). از مهم‌ترین خصوصیات ویژه یک برنامه اصلاحی در درون جامعه گیاهی، وجود تنوع ژنتیکی است (Fathalipour et al., 2014). تأثیر عوامل محیطی بر تولید مواد مؤثره دارویی، مسئله بسیار پیچیده‌ای است و این عوامل از جمله نور، آب و هوا، خشکی محیط، ارتفاع از سطح دریا و عوامل خاک می‌توانند بر مقدار کل ماده مؤثره، اجزای اسانس و بیوماس تولیدی گیاه تأثیرگذار باشند (Omidbaigi, 2013).

در طب سنتی ایرانی، برگ‌های این گونه، برای تسکین دردها مفید ذکر شده است و قسمت‌های هوایی آن نیز به عنوان ضدنفخ استفاده می‌شود (Ghasemi Pirbalouti et al., 2013). گونه‌های مختلف جنس *Phlomis*، جهت درمان بیماری‌هایی مانند دیابت، زخم معده، بواسیر، تورم و زخم‌ها به کار رفته‌اند. همچنین در آنها خواص ضدسرطانی، آنتی‌باکتریال و آنتی‌اکسیدانی مشاهده شده است (Mozaffarian, 2015).

مطالعات صورت‌گرفته، بیانگر وجود تنوع درون و بین‌گونه‌ای قابل‌ملاحظه‌ای در اجزای اسانس این گیاهان است. بررسی روغن اسانسی *P. olivieri* روئیده در خرم‌آباد نشان داد که ژرماکرن دی (۲۶/۴٪)، بی‌سیکلوزرماکرن (۱۲/۷٪) و پس از آن، آلفا - پینن (۷/۷٪)، ژرماکرن بی (۵/۹٪)، ای - ۹ - اپی‌کاربوفیلن (۵/۴٪) و اسپاتولنول (۴/۷٪) ترکیبات اصلی اسانس این گیاه هستند (Khalilzadeh et al., 2005). در مطالعه‌ای دیگر، ژرماکرن دی (۶۶/۱٪)، بتا - سلینن (۵/۱٪)، آلفا - پینن (۴/۲٪) و بتا - کربوفیلن (۴/۲٪)، ترکیبات اصلی تشکیل‌دهنده اسانس گیاه *P. olivieri* روئیده در شمال ایران (مازندران) بودند (Sarkhail et al., 2006). تجزیه شیمیایی روغن اسانسی برگ و گل *P. olivieri* جمع‌آوری شده از روستای طهنه در شهرستان فیروزکوه نشان داد که ژرماکرن دی (۳۹/۶۲٪)، نرمال اکتان (۲۶/۵۴٪)، آلفا - پینن (۶/۹۲٪) و بتا - گورجونن (۴/۹۸٪)، ترکیبات اصلی اسانس برگ گیاه را تشکیل می‌دهند. نرمال اکتان (۲۸/۷۷٪)، کامفور (۱۳/۳۲٪)، ۸۱ - سینئول (۱۲/۲۴٪)، آلفا - پینن (۷/۸۰٪) و ژرماکرن دی (۶/۵۷٪) ترکیبات اصلی اسانس گل گیاه را تشکیل می‌دهند (Sadeghi et al., 2013). با توجه به تنوع ترکیبات شیمیایی موجود در اسانس گیاه *P. olivieri* در مناطق مختلف ایران، این پژوهش با هدف ارزیابی تنوع

Benth. در استان همدان نیز گزارش کردند که کمترین ارتفاع گیاه، مربوط به جمعیت گاماسیاب بود. در مطالعه حاضر، بیشترین طول کاسبرگ، ۱/۷۰ سانتی‌متر بود که به جمعیت‌های کوهانی، جوراب و یلفان تعلق داشت. بیشترین طول گلبرگ (۲ سانتی‌متر) در جمعیت‌های کوهانی و یلفان مشاهده شد. بیشترین وزن تر و وزن خشک سرشاخه گلدار (۶/۹۶ گرم و ۳/۴۸ گرم) و همچنین بیشترین وزن تر و وزن خشک گیاه (به ترتیب ۱۱/۷۷ گرم و ۵/۸۶ گرم) در جمعیت کوهانی مشاهده گردید. بیشترین میزان اسانس از جمعیت کوهانی (۰/۰۴ درصد) به دست آمد (جدول ۲). در بین جمعیت‌های مورد مطالعه، تنوع زیادی در صفات مورفولوژیکی مشاهده شد. این تنوع بالا می‌تواند ناشی از اثرات محیطی و یا ژنتیکی باشد. محققین، بخشی از تنوع صفات مورفولوژیکی در بین جمعیت‌های مختلف یک گونه گیاهی را ناشی از شرایط رویشگاه طبیعی از جمله دما، رطوبت، شدت و مدت تابش نور، وضعیت غذایی و بافت خاک دانسته و بخشی دیگر را به تنوع ژنتیکی بین جمعیت‌ها نسبت می‌دهند (Koike et al., 2003). وجود تنوع در صفات مورفولوژیکی بین جمعیت‌های مختلف، در سایر مطالعات نیز گزارش شده است. خورشیدی و همکاران (Khorshidi et al., 2020) با بررسی تنوع مورفولوژیکی آویشن دناپی گزارش کردند که در اکثر صفات مورفولوژیکی مورد مطالعه، تفاوت معنی‌داری بین جمعیت‌ها وجود داشت. همچنین در مطالعه‌ای که روی صفات مورفولوژیکی جمعیت‌های نغناص صورت گرفته، بر وجود تنوع تأکید گردیده است (Shahbazi Asl and Jafari, 2020). تحقیقات نشان داده است که شرایط اکولوژیکی، آب و هوایی، تنش‌های محیطی، زمان برداشت، ارتفاع رویشگاه یا کشتگاه و عوامل زراعی، بر عملکرد و کیفیت مواد مؤثره گیاهان خانواده نعناعیان تأثیرگذار هستند (Azizi et al., 2012; Bigdeloo, 2012). داشتن اطلاعات در زمینه میزان تفاوت در صفات آگرومورفولوژی و ویژگی‌های فیتوشیمیایی می‌تواند در مدیریت ژرم-پلاسم‌های گیاهی و طراحی برنامه‌های مناسب جهت بهره‌برداری مستقیم یا به‌نژادی گیاه سودمند باشد.

در این مطالعه، براساس نتایج GC و GC/MS، ۳۱ ترکیب در اسانس جمعیت‌های *P. olivieri* جمع‌آوری شده از استان همدان، شناسایی شد (جدول ۳) که ژرماکرن دی، کاربوفیلین و ای - بتا - فارنسن، اجزای اصلی اسانس را تشکیل می‌دهند؛ به طوری که ژرماکرن دی در جمعیت کوهانی (۲۴/۵۸٪)، گرین (۲۹/۲۶٪)، نورآباد (۳۲/۹۷٪) و راهدارخانه (۳۶/۸۹٪)، و کاربوفیلین در جمعیت جوراب (۲۵/۴۵٪)، گاماسیاب (۲۶/۱۲٪)، جوزان (۱۷/۶۶٪)، گنجنامه (۶۱/۸۶٪)، یلفان (۴۴/۰۴٪) و سمین (۲۸/۵۰٪)، و ای - بتا - فارنسن (۱۸/۴۵٪) در جمعیت گرمک، بیشترین درصد اسانس را به خود اختصاص دادند. همچنین تنوع زیادی در درصد و نوع اجزای تشکیل‌دهنده اسانس در جمعیت‌های مورد مطالعه وجود داشت، به

از دستگاه کروماتوگراف گازی (GC) و کروماتوگراف گازی متصل به طیف‌سنج جرمی (GC/Mass) در پژوهشکده گیاهان دارویی کرج استفاده شد. دمای ابتدایی آون، ۵۰ درجه سانتی‌گراد و توقف در این دما، به مدت ۵ دقیقه، گردان حرارتی ۳ درجه سانتی‌گراد در هر دقیقه، افزایش دما تا ۲۴۰ درجه سانتی‌گراد و سپس با سرعت ۱۵ درجه در هر دقیقه، افزایش دما تا ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد و ۳ دقیقه توقف در این دما و زمان پاسخ ۷۵ دقیقه بود. دمای اتاقک تزریق، ۲۹۰ درجه سانتی‌گراد به صورت split ۱ به ۳۵ بود و از گاز هلیوم به عنوان حامل با سرعت جریان ۰/۵ میلی‌متر در دقیقه استفاده گردید. ورودی دستگاه به مدت ۳ دقیقه در ۳۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و سپس طی دو مرحله، با سرعت‌های ۸ و ۴۰ درجه سانتی‌گراد بر دقیقه، به ۲۰۰ و ۲۹۰ درجه سانتی‌گراد رسانده و به مدت ۳ دقیقه در این دما نگهداری شد. طیف‌نگار جرمی مورد استفاده، مدل Agilent 5973 با ولتاژ یونیزاسیون ۷۰ الکترون‌ولت، روش یونیزاسیون EI و دمای منبع یونیزاسیون، ۲۲۰ درجه سانتی‌گراد بود. گاز کروماتوگرافی استفاده‌شده از نوع Agilent 6890 با ستون به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه ۰/۲۵ میکرومتر از نوع HP-5MS بود. شناسایی طیف‌ها به کمک شاخص بازداری آنها و مقایسه آن با شاخص‌های موجود در کتب مرجع و با استفاده از طیف‌های جرمی و ترکیبات استاندارد و استفاده از اطلاعات موجود در کتابخانه دیجیتال دستگاهی صورت گرفت (Adams, 2001; McLafferty and Stauffer, 1989). داده‌های این مطالعه با استفاده از نرم‌افزار آماری (SAS(9.2) در سطح احتمال پنج و یک درصد، تجزیه آماری شدند. برای مقایسه میانگین‌ها، از آزمون چنددامنه‌ای دانکن استفاده گردید. گروه‌بندی جمعیت‌ها براساس صفات مورفولوژیکی و فیتوشیمیایی و از طریق تجزیه کلاستر به‌وسیله نرم‌افزار SPSS به روش «وارد» انجام شد. همبستگی صفات (کمی) نیز به روش «پیرسون» انجام شد.

نتایج و بحث

مقایسه میانگین‌های صفات نشان داد که بلندترین طول گل‌آذین (۲۴/۲ سانتی‌متر) مربوط به جمعیت جوزان بود که از نظر آماری با جمعیت کوهانی تفاوت معنی‌داری نداشت و کوتاه‌ترین طول گل‌آذین مربوط به جمعیت گاماسیاب (۸/۹ سانتی‌متر) بود. بیشترین قطر ساقه (۴/۴۵ میلی‌متر) در جمعیت گرین مشاهده شد. بیشترین ارتفاع گیاه (۴۹/۴ سانتی‌متر) مربوط به جمعیت راهدارخانه بود که با جمعیت گرین، تفاوت معنی‌داری نداشت و کم‌ترین آن، مربوط به جمعیت گرمک (۳۱ سانتی‌متر) بود که با جمعیت گاماسیاب (۳۳/۵۰ سانتی‌متر) اختلاف معنی‌داری نداشت. صالحی و کلوندی (Salehi and Kalvandi, 2020) در بررسی جمعیت‌های *Stachys inflata*

(۱۹/۵٪) اعلام نمودند. مروری بر سایر مطالعات در خصوص ترکیبات شیمیایی گونه *P. olivieri* از مناطق مختلف ایران، نشان داد که ژرماکرن دی با درصدهای تقریبی ۲۸/۱٪ (در گیاهان جمع‌آوری شده از دماوند) (Mirza and Nik, 2003)، ۲۶/۴٪ (در گیاهان جمع‌آوری شده از خرم‌آباد) (Khalilzadeh et al., 2005)، ۶۶/۱٪ (در گیاهان جمع‌آوری شده از چالوس) (Sarkhail et al., 2006) و ۴۸-۵۸٪ (در گیاهان جمع‌آوری شده از کُجور) (Tajbakhsh et al., 2007) به عنوان ترکیب اصلی روغن اسانس *P. olivieri* شناسایی شده‌اند.

طوری که بیشترین میزان ژرماکرن دی (۳۶/۸۹٪) در راهدارخانه و بیشترین میزان کاربوفیلین (۶۱/۸۶٪) در گنجانمه و ای - بتا - فارنسن (۱۸/۴۵٪) در جمعیت گرمک مشاهده شد (جدول ۳). موضوع وجود تنوع در درصد و نوع اجزای تشکیل‌دهنده اسانس در آزمایشاتی که در مناطق دیگر انجام شده، مورد تأیید قرار گرفته است. محمدی‌فر و همکاران (Mohammadifar et al., 2015) اجزای تشکیل‌دهنده اسانس *P. olivieri* جمع‌آوری شده از منطقه گندمان بروجن را بررسی نموده و ۴۶ ترکیب را در اسانس این گیاه شناسایی و بیشترین اجزای تشکیل‌دهنده اسانس را بتا - کاربوفیلین (۲۵/۷٪) و ژرماکرن دی



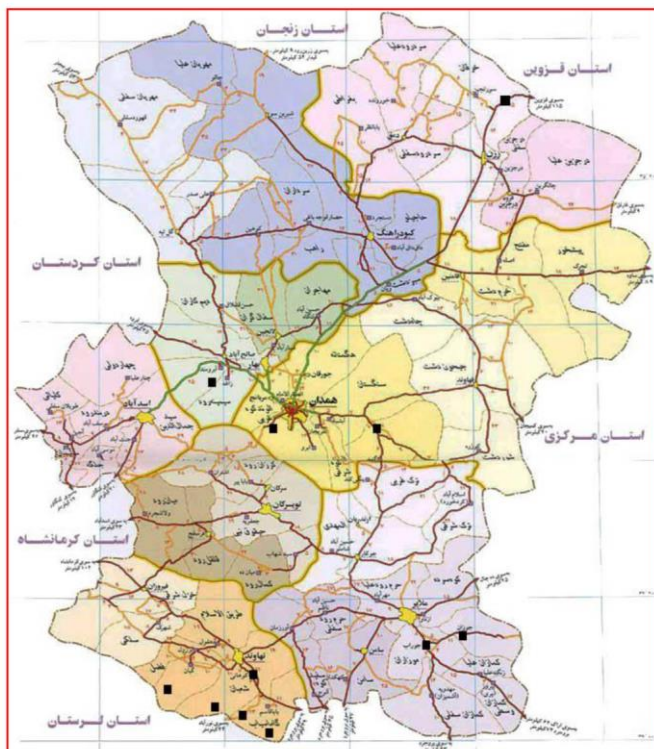
جمعیت کوهانی (Koohani population)



جمعیت جوزان (Jowzan population)



جمعیت جوراب (Joorab population)



جمعیت راهدارخانه (Rahdarkhaneh population)



جمعیت سیمین (Simin population)

شکل ۱- مناطق نمونه‌برداری و تصاویر برخی جمعیت‌های *P. olivieri* در استان همدان

(مربع‌های سیاه‌رنگ روی نقشه، نشان‌دهنده مناطق جمع‌آوری گیاه هستند)

Figure 1- Sampling regions and some photos of *P. olivieri* populations in Hamedan Province
(Black squares on the map indicate plant collection regions)

جدول ۱ - خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک و مشخصات جغرافیایی رویشگاههای مورد مطالعه گیاه گوش بره
Table 1 - Physical and chemical properties of the soil and geographical characteristics of the studied habitats of *Phlomis olivieri* Benth.

ویژگی‌ها Properties	طول Longitude	عرض Latitude	ارتفاع از سطح دریا Altitude (m)	میانگین مجموع بارندگی ده ساله 10-year total rainfall mean (mm)	میانگین دمای ده ساله 10-year temperature mean (°C)	هدایت الکتریکی Electrical conductivity (ds.m ⁻¹)	کربن آلی Organic carbon (%)	پتاسیم قابل دسترس Available potassium (ppm)	فسفر قابل دسترس Available phosphorus (ppm)	نیترژن قابل جذب Absorbable nitrogen (%)	کربنات کلسیم Calcium carbonate (%)	اسیدیته گل اشباع Saturated soil acidity
رویشگاهها Habitats												
کوهانی Koolhami	34° 09'	48° 24'	1730	414.6	14.3	1.2	0.62	363	24	0.06	18.5	8.08
گرین Garin	34° 03'	48° 21'	1975	419.2	13.2	0.9	1.79	579	11	0.17	1	7.49
جوراب Joorab	34° 10'	48° 54'	1921	351.8	14.1	0.6	0.94	323	9	0.09	0.5	7.84
گاماسیاب Gammasiab	34° 03'	48° 22'	1855	418.7	13.2	1.05	1.29	313	6	0.12	17.5	7.81
جوژان Jowzan	34° 15'	49° 00'	1957	360.5	13.9	1.03	0.94	294	16	0.09	4	7.91
گرمک Garmak	35° 30'	49° 04'	2123	387.8	12.3	0.9	0.62	382	32	0.06	0.5	7.93
گنجانمه Ganjnameh	34° 46'	48° 27'	2030	314.9	12.5	0.87	1.25	264	27	0.12	2	7.6
نورآباد Noorabad	34° 02'	48° 16'	2212	306.8	13.3	0.93	1.44	540	17	0.14	26	8.06
راهدارخانه Rahdarkhaneh	34° 02'	48° 20'	2255	420.3	13.1	0.99	1.29	422	35	0.12	0.5	8.05
یلفان Yalfan	34° 44'	48° 36'	2024	316.9	12.4	0.97	0.78	274	9	0.07	12	8.07
سیمین Simin	34° 49'	48° 17'	2090	328.5	12.3	1.19	1.05	333	25	0.1	1.5	7.95

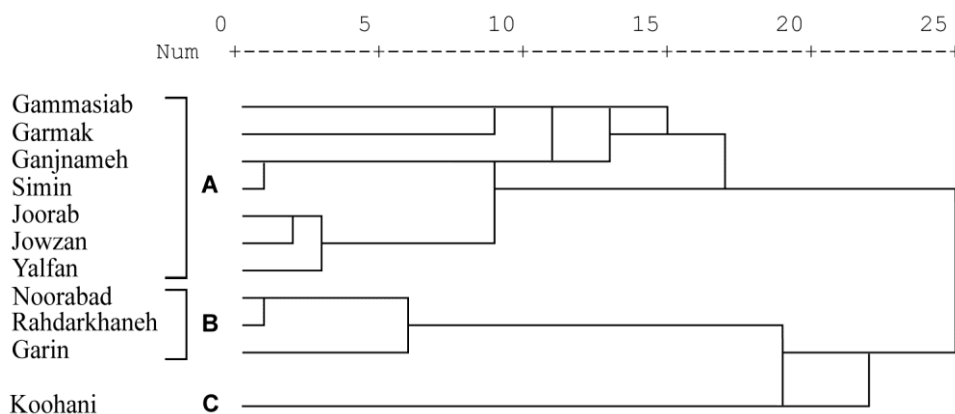
جدول ۲- صفات مورفولوژیکی و فیتوشیمیایی جمعیت‌های مورد مطالعه
Table 2- Themorphological and phytochemical traits of the studied populations of *Phlomis olivieri* Benth.

صفت Trait	جمعیت Population	کوهانی Koohani	گرین Garin	جوراب Joorab	گاماسیاب Gammasiab	جوزان Jowzan	گرمک Garmak	گنجانمه Ganjanameh	نورآباد Noorabad	راهدارخانه Rahdarkhaneh	یلفان Yalfan	سیمین Simin
طول گل آذین Inflorescence length (cm)		24.00ab	19.40bc	19.20bc	8.90f	24.20a	12.40def	19.20bc	15.40cd	10.00ef	16.20cd	14.40cde
تعداد چرخه گل آذین Number of inflorescence cycles		7.40a	4.40bcd	5.40b	3.20e	5.20bc	4.20cde	5.20bc	4.80bcd	3.80de	5.40b	4.40bcd
فاصله بین دو چرخه گل آذین Distance between 2 inflorescence cycles		5.00de	7.90a	5.80cd	4.10e	7.40ab	4.70de	6.60bc	5.40cde	4.70de	6.60bc	5.70cd
طول کاسبرگ Sepal length (cm)		1.70a	1.50ab	1.70a	1.60a	1.50ab	1.50ab	1.50ab	1.50ab	1.34b	1.70a	1.50ab
طول گلبرگ Petal length (cm)		2.00a	1.80ab	1.70bc	1.50c	1.90ab	1.80ab	1.50c	1.70bc	1.76abc	2.00a	1.50c
عرض برگ Leaf width (cm)		3.00a	2.90a	2.40ab	2.20b	2.80ab	1.50c	1.60c	2.80ab	3.00a	2.20b	1.40c
طول برگ Leaf length (cm)		5.10bc	6.20abc	5.00bc	5.20bc	6.40ab	5.10bc	4.70c	6.10abc	7.50a	4.90bc	6.10abc
وزن تر سرشاخه گلدار Fresh weight of flowering branch (g)		6.96a	4.88b	4.50b	2.44c	4.51b	3.40bc	3.58bc	4.71b	3.44bc	3.89bc	4.93b
وزن خشک سرشاخه گلدار Dry weight of flowering branch (g)		3.48a	2.42b	2.22b	1.18c	2.30b	1.70bc	1.72bc	2.34b	1.70bc	1.90bc	2.46b
وزن تر گیاه Fresh weight of plant (g)		11.77a	9.96ab	6.74de	5.14e	6.72de	4.81e	4.87e	8.97bcd	9.21bc	5.79e	7.03cde
وزن خشک گیاه Dry weight of plant (g)		5.86a	4.76b	3.22d	2.42d	3.20d	2.40d	2.44d	4.40bc	4.60b	2.80d	3.44cd
قطر ساقه Stem diameter (mm)		3.15cd	4.45a	3.35bcd	3.15cd	3.27bcd	3.15cd	2.60e	3.79b	3.43bcd	3.61bc	2.96de
ارتفاع گیاه Plant height (cm)		41.60b	49.00a	28.80c	33.50c	38.20b	31.00c	41.40b	40.60b	49.40a	40.40b	40.60b
اسانس Essential oil (%)		0.04a	0.03b	0.01de	0.01e	0.02d	0.01e	0.01e	0.01e	0.01e	0.02c	0.01e

در هر ردیف، میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، تفاوت آماری معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد ندارند (با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن).
In each row, means with at least one similar letter, are not significantly different based on Duncan's multiple range ($p < 0.05$).

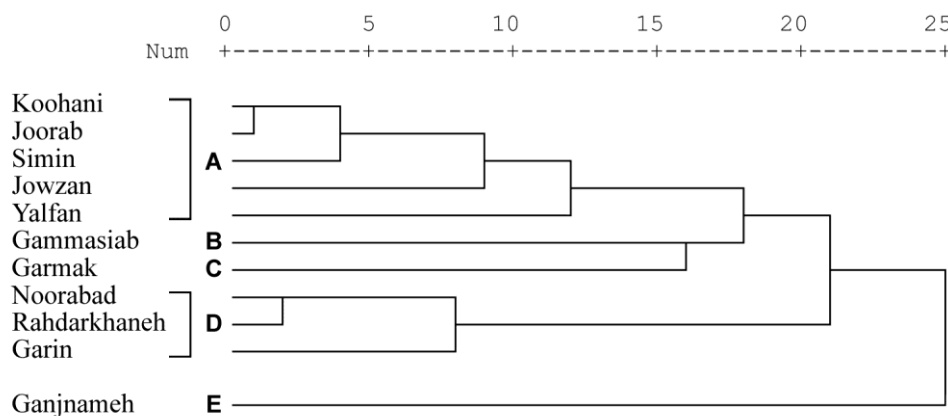
دفاعی علیه حشرات نیز استفاده شده است (Crock *et al.*, 1997; Sun *et al.*, 2011). در برخی مطالعات درون تنی و برون تنی که روی گیاه *P. olivieri* انجام شده‌اند، بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی، ضد میکروبی و ضد درد آن تأکید شده است (Sarkhail *et al.*, 2003). در مطالعه حاضر، بازده اسانس در جمعیت‌های گونه *P. olivieri* از ۰/۰۱ تا ۰/۰۴ درصد (حجمی / وزنی) در مناطق مختلف، متغیر بود. در این مطالعه، جمعیت کوهانی با ۰/۰۴ درصد اسانس در بین سایر جمعیت‌های بررسی شده، دارای بالاترین میزان اسانس بود (جدول ۲). این جمعیت در بین ۱۱ جمعیت مورد مطالعه، دارای پایین‌ترین ارتفاع از سطح دریا بود (جدول ۱). علیمحمدی و همکاران (Alimohammadi *et al.*, 2017) در مطالعه‌ای بر روی *Stachys obtusicrena*، علت بالا بودن اسانس این گونه را در مناطق با ارتفاع پایین، بیشتر بودن عمق و رطوبت خاک و عناصر غذایی در آن مناطق عنوان نمودند.

تحقیقات نشان داده است که تفاوت در خاستگاه ژنتیکی، فاکتورهای اکولوژیکی، تفاوت‌های ژنتیکی، تکنیک‌ها و روش‌های مورد استفاده در کشت، باعث ایجاد تفاوت‌های کمی و کیفی در ترکیبات اسانس گیاهان دارویی و معطر می‌شود (Argyropoulou *et al.*, 2007; Santos-Gomes *et al.*, 2005). همان‌طور که اشاره گردید، ژرماکرن دی، کاریوفیلین و ای - بتا - فارنسن بالاترین میزان را در اسانس جمعیت‌های مورد مطالعه به خود اختصاص دادند (جدول ۳). اسانس گیاهانی که حاوی ژرماکرن دی، کاریوفیلین و بی - سیکلوژرماکرن هستند، دارای فعالیت ضد میکروبی علیه باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس، باسیلوس سرئوس و اشرشیاکلی هستند (Montanari *et al.*, 2011). همچنین ژرماکرن دی، خاصیت ضد التهابی از خود نشان داده است (Schepetkin *et al.*, 2020). ای - بتا - فارنسن نیز دارای اثر ضدباکتریایی قوی است (Chehregani *et al.*, 2010). اخیراً از ای - بتا - فارنسن به عنوان ترکیب شیمیایی



شکل ۲- تجزیه خوشه‌ای جمعیت‌های مورد مطالعه گوش‌بره براساس صفات مورفولوژیکی

Figure 2- Cluster analysis of the studied populations of *Phlomis olivieri* Benth. according morphological traits



شکل ۳- تجزیه خوشه‌ای جمعیت‌های مورد مطالعه گوش‌بره براساس صفات فیتوشیمیایی

Figure 3- Cluster analysis of the studied populations of *Phlomis olivieri* Benth. according phytochemical traits

جدول ۴ - ضرایب همبستگی بین ارتفاع رویشگاهها از سطح دریا، خصوصیات فیزیکی - شیمیایی خاک و صفات مورفولوژیکی و فیتوشیمیایی جمعیت‌های مورد مطالعه گوش‌بره
 Table 4- Correlation coefficients of the habitats altitude, soil physical and chemical traits and phytochemical traits of studied populations of *Phlomis olivieri* Benth.

متغیرها Variables	ارتفاع Altitude	نیترژن از سطح دریا Absorbable nitrogen	فسفر قابل دسترسی Available phosphorus	پتاسیم قابل دسترسی Available potassium	کربن آلی Organic carbon	وزن تر سرشاخه گلدار Fresh weight of flowering branch	وزن خشک سرشاخه گلدار Dry weight of flowering branch	وزن تر گیاه Fresh weight of plant	وزن خشک گیاه Dry weight of plant	تعداد چرخه گل آذین Number of inflorescence cycles	طول برگ Leaf length	فاصله بین ۲ چرخه گل آذین Distance between 2 inflorescence cycles
طول کاسبرگ Sepal length	-0.74**	-0.49 ^{ns}	-0.61*	-0.37 ^{ns}	-0.48 ^{ns}	0.33 ^{ns}	0.31 ^{ns}	-0.02 ^{ns}	-0.04 ^{ns}	0.58 ^{ns}	-0.75**	0.001 ^{ns}
وزن تر گیاه Fresh weight of plant	-0.14 ^{ns}	0.21 ^{ns}	0.11 ^{ns}	0.61*	0.20 ^{ns}	0.76**	0.76**	1	0.99**	0.44 ^{ns}	0.44 ^{ns}	0.05 ^{ns}
قطر ساقه Stem diameter	0.13 ^{ns}	0.51 ^{ns}	-0.41 ^{ns}	0.78**	0.52 ^{ns}	0.16 ^{ns}	0.16 ^{ns}	0.48 ^{ns}	0.44 ^{ns}	-0.11 ^{ns}	0.37 ^{ns}	0.39 ^{ns}
اسانس Essential oil	-0.58 ^{ns}	-0.08 ^{ns}	-0.11 ^{ns}	0.27 ^{ns}	-0.08 ^{ns}	0.72*	0.71*	0.70*	0.69*	0.64*	-0.15 ^{ns}	0.20 ^{ns}
طول گل آذین Inflorescence length	-0.52 ^{ns}	-0.17 ^{ns}	-0.15 ^{ns}	-0.09 ^{ns}	-0.20 ^{ns}	0.72*	0.73*	0.35 ^{ns}	0.34 ^{ns}	0.81**	-0.19 ^{ns}	0.64*
عرض برگ Leaf width	-0.15 ^{ns}	0.27 ^{ns}	-0.20 ^{ns}	0.48 ^{ns}	0.28 ^{ns}	0.39 ^{ns}	0.40 ^{ns}	0.76**	0.74**	0.26 ^{ns}	0.48 ^{ns}	0.13 ^{ns}
نیترژن قابل جذب Absorbable nitrogen	0.29 ^{ns}	1	-0.20 ^{ns}	0.64*	0.99**	-0.18 ^{ns}	-0.19 ^{ns}	0.21 ^{ns}	0.19 ^{ns}	-0.48 ^{ns}	0.44 ^{ns}	0.30 ^{ns}
تعداد چرخه گل آذین Number of inflorescence cycles	-0.52 ^{ns}	-0.48 ^{ns}	0.006 ^{ns}	-0.18 ^{ns}	-0.50 ^{ns}	0.82**	0.81**	0.44 ^{ns}	0.45 ^{ns}	1	-0.37 ^{ns}	0.23 ^{ns}

^{ns}, *, **, *^{ns}: معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد، *^{ns}: معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد، ^{ns}: عدم معنی‌داری
^{ns}, *, **, *^{ns}: Non-significant and significant at 5 and 1% of probability levels, respectively.

معنی‌داری بین تعداد چرخه گل‌آذین و اسانس (۰/۶۴)، وزن تر و وزن خشک سرشاخه گلدار با اسانس (به ترتیب ۰/۷۲ و ۰/۷۱)، و همچنین وزن تر و وزن خشک گیاه با اسانس (به ترتیب ۰/۷۰ و ۰/۶۹) وجود دارد. همچنین همبستگی مثبت و بسیار معنی‌داری بین وزن تر و وزن خشک سرشاخه گلدار با تعداد چرخه گل‌آذین (به ترتیب ۰/۸۲ و ۰/۸۱) وجود دارد (جدول ۴). با توجه به این موضوع که جمعیت کوهانی دارای بالاترین تعداد چرخه گل‌آذین، بیشترین وزن تر و وزن خشک گیاه و بیشترین وزن تر و وزن خشک سرشاخه گلدار است (جدول ۲) و این صفات، همبستگی مثبت و معنی‌داری با اسانس دارند (جدول ۴)، بنابراین جمعیت کوهانی، دارای بالاترین میزان اسانس در بین جمعیت‌های مورد مطالعه می‌باشد.

نتیجه‌گیری

نتایج به‌دست آمده از این تحقیق نشان داد که جمعیت‌های گیاه دارویی گوش‌بره جمع‌آوری شده از مناطق مختلف استان همدان، از نظر میزان و ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس، دارای تنوع بالایی می‌باشند. بیشترین میزان اسانس، مربوط به رویشگاه کوهانی (واقع در شهرستان نهاوند) بود. نتایج نشان داد که علاوه بر عوامل ژنتیکی، عوامل محیطی و اقلیمی نیز بر صفات فیتوشیمیایی مؤثر هستند. در این مطالعه، بیشترین میزان اسانس در جمعیت کوهانی تولید شد که دارای کمترین ارتفاع نسبت به سایر جمعیت‌ها بود. با توجه به تحقیقات صورت‌گرفته روی اجزای اسانس *P. olivieri* Benth. در مناطق مختلف ایران، اجزای تشکیل‌دهنده اسانس و درصد‌های این اجزا، کاملاً متفاوت هستند؛ به طوری که برخی ترکیباتی که در یک منطقه دیده می‌شوند، در منطقه دیگر وجود ندارند و این موضوع، تأکید بیشتری بر تأثیر شرایط اقلیمی دارد. این تفاوت حتی در جمعیت‌های مورد مطالعه در یک استان نیز کاملاً مشهود است. علاوه بر این، ژن‌مارکون دی، کاربوفیلین و ای - بتا - فارنسن که دارای بالاترین مقدار در اسانس جمعیت‌های مورد مطالعه بودند، دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی، ضد میکروبی و ضد درد هستند. با توجه اثرات درمانی این ترکیبات، تحقیقات گسترده‌تر بر روی این گونه در مناطق مختلف ایران پیشنهاد می‌شود.

در مطالعه‌ای که توسط علی‌بخشی و همکاران (*Alibakhshi et al.*, 2014) بر روی اسانس گیاه *Stachys inflata* جمع‌آوری شده از رویشگاه‌های مختلف استان مازندران صورت گرفت، موضوع بالاتر بودن میزان اسانس در مناطقی با ارتفاع کمتر، مورد تأیید قرار گرفت. بنابراین، به دلیل تفاوت‌های اقلیمی مناطق بررسی شده در این مطالعه و دیگر مطالعات یادشده، اختلاف در میزان و عملکرد اسانس این گونه، قابل توجیه است.

گروه‌بندی ۱۱ جمعیت مورد مطالعه از گونه *P. olivieri*، براساس صفات مورفولوژیکی و فیتوشیمیایی به روش «وارد» صورت گرفت. دندروگرام‌های به‌دست آمده از تجزیه خوشه‌ای صفات مورفولوژیکی و فیتوشیمیایی در جمعیت‌های جمع‌آوری شده، در شکل‌های ۲ و ۳ آمده است. براساس آنالیز دندروگرام صفات مورفولوژیکی، جمعیت‌های مطالعه‌شده به سه گروه اصلی تقسیم‌بندی شدند. جمعیت‌های جوراب، جوزان، بلفان، سیمین، گنجانمه، گاماسیاب و گرمک در گروه A، جمعیت‌های گرین، نورآباد و راهدارخانه در گروه B و جمعیت کوهانی در گروه C قرار گرفتند.

همچنین براساس آنالیز دندروگرام صفات فیتوشیمیایی، جمعیت‌های کوهانی، جوراب، سیمین، جوزان و بلفان در گروه A، جمعیت گاماسیاب در گروه B، جمعیت گرمک در گروه C، جمعیت‌های نورآباد، راهدارخانه و گرین در گروه D و جمعیت گنجانمه در گروه E قرار گرفتند. قرار گرفتن جمعیت‌ها در یک گروه، نشان‌دهنده یکنواختی بیشتر در جمعیت‌های آن گروه نسبت به سایر جمعیت‌هاست. از طرفی، قرار گرفتن جمعیت‌ها در پنج گروه جداگانه می‌تواند به دلیل تنوع جمعیت‌ها از نظر ژنتیکی و شرایط محیطی محل جمع‌آوری آنها باشد.

در این آزمایش، گروه‌بندی جمعیت‌ها براساس ارزیابی صفات مورفولوژیکی و فیتوشیمیایی، تاحدودی با پراکنش جغرافیایی آنها مطابقت داشت. زیرا جمعیت‌های مناطق گرین، راهدارخانه و نورآباد که در شهرستان نهاوند واقع هستند، در یک گروه طبقه‌بندی شدند. اگرچه همه مناطقی که در شهرستان نهاوند قرار داشتند، در یک گروه قرار نگرفتند. عدم تطابق منشأ جغرافیایی با صفات فیتوشیمیایی، با نتایج گزارشات قبلی در خانواده نعنایان مطابقت دارد (*Azizi et al.*, 2012; *Bigdeloo et al.*, 2013).

نتایج جدول همبستگی نشان داد که همبستگی مثبت و

منابع

- Adams, R.P. (2001). *Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy*. Allured Publishing Corporation, Carol Stream, Australia.
- Alibakhshi, M., Mahdavi, S.Kh., Mahmoodi, J., & Ghelichnia, H. (2014). Phytochemical evaluation of *Stachys inflata* essential oil in different habitats of Mazandaran Province. *Eco-phytochemical Journal of Medical Plants*

- 2(2): 56-68. (In Persian) [dor: 20.1001.1.23223235.1393.2.2.7.7](https://doi.org/10.23223235.1393.2.2.7.7).
3. Alimohammadi, M., Yadegari, M., & Shirmardi, H.A. (2017). Effect of elevation and phonological stages on essential oil composition of *Stachys*. *Turkish Journal of Biochemistry (Turk Biokimya Dergisi)* 42(6): 647-656. <https://doi.org/10.1515/tjb-2016-0267>.
 4. Argyropoulou, C., Daferera, D., Tarantilis, P.A., Fasseas, C., & Polissiou, M. (2007). Chemical composition of the essential oil from leaves of *Lippia citriodora* H.B.K. (Verbenaceae) at two developmental stages. *Biochemical Systematics and Ecology* 35(12): 831-837. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2007.07.001>.
 5. Azarnivand, H., Ghavam Arabani, M., Sefidkon, F., & Tavili, A. (2010). The effect of ecological characteristics on quality and quantity of the essential oils of *Achillea millefolium* L. subsp. *millefolium*. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants* 25(4): 556-571. (In Persian with English abstract). <https://doi.org/10.22092/ijmapr.2010.7141>.
 6. Azizi, A., Hadian, J., Gholami, M., Friedt, W., & Honermeier, B. (2012). Correlations between genetic, morphological, and chemical diversities in a germplasm collection of the medicinal plant *Origanum vulgare* L. *Chemistry and Biodiversity* 9(12): 2784-2801. <https://doi.org/10.1002/cbdv.201200125>.
 7. Bigdeloo, M. (2012). Evaluation of morphological, genetic and phytochemical diversity of *Thymus carmanicus*. MSc. Thesis. Tehran University, 114p. (In Persian with English abstract)
 8. Bigdeloo, M., Nazeri, V., & Hadian, J. (2013). Study on effect of some environmental factors on morphological traits and essential oil productivity of *Thymus caramanicus* Jalas. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants* 28(4): 756-766. (In Persian with English abstract). <https://doi.org/10.22092/ijmapr.2013.2930>.
 9. Chehregani, A., Mohsenzadeh, F., Mirazi, N., Hajisadeghian, S., & Baghali, Z. (2010). Chemical composition and antibacterial activity of essential oils of *Tripleurospermum disciforme* in three developmental stages. *Pharmaceutical Biology* 48(11): 1280-1284. <https://doi.org/10.3109/13880201003770143>.
 10. Crock, J., Wildung, M., & Croteau, R. (1997). Isolation and bacterial expression of a sesquiterpene synthase cDNA clone from peppermint (*Mentha x piperita*, L.) that produces the aphid alarm pheromone (*E*)- β -farnesene. *PNAS (Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America)* 94(24): 12833-12838. <https://doi.org/10.1073/pnas.94.24.12833>.
 11. Fathalipoor, Z., Nabati Ahmadi, D., Rajabi Memari, H., Siyahpoosh, A., & Seddighi Dehkordi, F. (2014). Determination of plant variation using morphological properties and cluster analysis in *Anethum* germplasms. *Journal of Plant Productions (Agronomy, Breeding and Horticulture)* 37(4): 57-67. (In Persian)
 12. Ghasemi Dehkordi, N. (2002). *Iranian herbal pharmacopoeia*. Vol. 1, p18-21.
 13. Ghasemi Pirbalouti, A., Momeni, M., & Bahmani, M. (2013). Ethnobotanical study of medicinal plants used by Kurd tribe in Dehloran and Abdanan districts, Ilam province, Iran. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines* 10(2): 368-385. <https://doi.org/10.4314/ajtcam.v10i2.24>.
 14. Jamzad, Z. (2012). *Flora of Iran: Lamiaceae*. Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran, p. 263-264. (In Persian)
 15. Khalilzadeh, M.A., Rustaiyan, A., Masoudi, Sh., & Tajbakhsh, M. (2005). Essential oils of *Phlomis persica* Boiss. and *Phlomis olivieri* Benth. from Iran. *Journal of Essential Oil Research* 17(6): 624-625. <https://doi.org/10.1080/10412905.2005.9699014>.
 16. Khorshidi, J., Shokrpour, M., & Nazeri, V. (2020). Assessment of morphological diversity among different populations of *Thymus daenensis* Celak. *Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology)* 33(3): 593-606. (In Persian with English abstract). [dor: 20.1001.1.23832592.1399.33.3.8.2](https://doi.org/10.23832592.1399.33.3.8.2).
 17. Koike, T., Kitao, M., Quoreshi, A.M., & Matsuura, Y. (2003). Growth characteristics of root-shoot relations of three birch seedlings raised under different water regimes. *Plant and Soil* 255: 303-310. <https://doi.org/10.1023/a:1026199402085>.
 18. McLafferty, F.W., & Stauffer, D.B. (1989). *Wiley / NBS Registry of Mass Spectral Data*. 7 Volume Set. Wiley, New York.
 19. Mirza, M., & Nik, Z.B. (2003). Volatile constituents of *Phlomis olivieri* Benth. from Iran. *Flavour and Fragrance Journal* 18(2): 131-132. <https://doi.org/10.1002/ffj.1156>.
 20. Mohammadifar, F., Delnavazi, M.R., & Yassa, N. (2015). Chemical analysis and toxicity screening of *Phlomis olivieri* Benth. and *Phlomis persica* Boiss. essential oils. *Pharmaceutical Sciences* 21(1): 12-17. <https://doi.org/10.15171/PS.2015.11>.
 21. Montanari, R.M., Barbosa, L.C.A., Demuner, A.J., Silva, C.J., Carvalho, L.S., & Andrade, N.J. (2011). Chemical composition and antibacterial activity of essential oils from verbenaceae species: alternative sources of (*E*)-caryophyllene and germacrene-D. *Química Nova* 34(9): 1550-1555. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422011000900013>.
 22. Mozaffarian, V. (2015). *Identification of medicinal and aromatic plants of Iran*. 2nd edition, Farhang Moaser Publishers, Tehran, Iran, p. 540-543.

23. Nemeth, E., & Bernath, J. (2008). Biological activities of yarrow species (*Achillea* spp.). *Current Pharmaceutical Design* 14(29): 3151-3167. <https://doi.org/10.2174/138161208786404281>.
24. Omidbaigi, R. (2013). *Approaches of production and products of medicinal plants*. Vol. 1, 7th edition, Tehran, Tarrahan-e-Nashr, p. 154. (In Persian)
25. Sadeghi, F., Aboli, J., & Ali-Asgari, S. (2013). Chemical decomposition of essential oil of *Phlomis olivieri* Benth. by gas chromatography - mass spectrometry. *Journal of Quantum Chemistry and Spectroscopy (JQCS)* 3(8): 45-51. (In Persian)
26. Salehi, M., & Kalvandi, R. (2020). Evaluation of morphological and phytochemical characteristics changes in different populations of *Stachys inflata* Benth. in Hamedan province. *Journal of Horticultural Science* 34(2): 247-260. (In Persian with English abstract). <https://doi.org/10.22067/jhorts4.v34i2.79307>.
27. Santos-Gomes, P.C., Fernandes-Ferreira, M., & Vicente, A.M.S. (2005). Composition of the essential oils from flowers and leaves of Vervain [*Aloysia triphylla* (L'Herit.) Britton] grown in Portugal. *Journal of Essential Oil Research* 17(1): 73-78. <https://doi.org/10.1080/10412905.2005.9698835>.
28. Sarkhail, P., Abdollahi, M., & Shafiee, A. (2003). Antinociceptive effect of *Phlomis olivieri* Benth., *Phlomis anisodonta* Boiss. and *Phlomis persica* Boiss. total extracts. *Pharmacological Research* 48(3): 263-266. [https://doi.org/10.1016/S1043-6618\(03\)00151-8](https://doi.org/10.1016/S1043-6618(03)00151-8).
29. Sarkhail, P., Amin, G., & Shafiee, A. (2006). Composition of the essential oil of *Phlomis olivieri* Benth. from north of Iran. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences* 14(2): 71-74.
30. Schepetkin, I.A., Özek, G., Özek, T., Kirpotina, L.N., Khlebnikov, A.I., & Quinn, M.T. (2020). Chemical composition and immunomodulatory activity of *Hypericum perforatum* essential oils. *Biomolecules* 10(6): 916. <https://doi.org/10.3390/biom10060916>.
31. Shahbazi Asl, F., & Jafari, A.A. (2020). Investigation of aerial part yield and morphological traits in populations of *Mentha pulegium*. *Iranian Medicinal Plants Technology* 3(1): 29-39. (In Persian with English abstract). <https://doi.org/10.22092/mpt.2020.342777.1062>.
32. Statistical Center of Iran. (2012). *Statistical yearbook of Hamedan province*, Chapter 1. (In Persian)
33. Sun, Y., Qiao, H., Ling, Y., Yang, S., Rui, C., Pelosi, P., & Yang, X. 2011. New analogues of (*E*)- β -farnesene with insecticidal activity and binding affinity to aphid odorant-binding proteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59(6): 2456-2461. <https://doi.org/10.1021/jf104712c>.
34. Tajbakhsh, M., Rineh, A., & Khalilzadeh, M.A. (2007). Chemical composition of the essential oils from leaves, flowers, stem and root of *Phlomis olivieri* Benth. *Journal of Essential Oil Research* 19: 501-503. <https://doi.org/10.1080/10412905.2007.9699315>.
35. Vaezi, J., Behroozian, M., Joharchi, M.R., & Memariani, F. (2017). *Phlomis iranica* (Lamiaceae: Lamioideae), a new species from Khorassan-Kopet Dagh floristic province, NE Iran. *Turkish Journal of Botany* 41: 392-403. <https://doi.org/10.3906/bot-1608-38>.