دوماهنامه علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران
جلد ۳۱، شماره ۳، صفحه ۴۰۵-۳۹۶ (۱۳۹۴)

بررسی کموتیپ‌های مختلف گونه *Thymus pubescens* Boiss.et Kotschy ex Celak براساس ترکیب‌های اسانس در استان آذربایجان‌شرقی

یوسف ایمانی[۱*]، احمد رزبان حقیقی[۲]، فاطمه سفیدکن[۳] و محمود نادری[۴]

۱*- نویسنده مسئول، مربی پژوهشی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان آذربایجان‌شرقی، پست الکترونیک: y_dizaj@yahoo.com

۲- مربی پژوهش، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان آذربایجان‌شرقی

۳- استاد، بخش تحقیقات گیاهان دارویی و محصولات فرعی، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور

۴- کارشناس ارشد، بخش تحقیقات گیاهان دارویی و محصولات فرعی، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور

تاریخ دریافت: مهر ۱۳۹۲ تاریخ اصلاح نهایی: دی ۱۳۹۲ تاریخ پذیرش: دی ۱۳۹۲

چکیده

به‌منظور مطالعه کموتیپ‌های اسانس گونه *Thymus pubescens* Boiss.et Kotschy ex Celak از پنج منطقه استان آذربایجان‌شرقی برداشت نمونه در مرحله گلدهی انجام گردید. اسانس‌گیری از نمونه‌ها با استفاده از روش تقطیر با آب انجام شد. آنالیز کمّی و کیفی اسانس‌ها به‌وسیله دستگاه GC و GC-MS انجام شد. ۲۶ ترکیب در اسانس مناطق مختلف شناسایی گردید. تجزیه خوشه‌ای براساس ترکیب‌های اسانس با استفاده از روش حداقل واریانس (WARD) نشان داد که پنج منطقه در سه خوشه تقسیم‌بندی گردیدند. به‌طوری‌که کموتیپ اول در خوشه اول مربوط به منطقه سهند و خوشه دوم کموتیپ دوم مربوط به منطقه میشو و خوشه سوم شامل مناطق ملکان (ایگده‌لو)، کلیبر (یوزبند) و مراغه (کرده‌ده) بودند. نتایج نشان داد که از نظر مقدار کمّی کموتیپ اول (سهند) دارای حداقل مقدار اسانس (۰/۳۱٪) و کموتیپ سوم در منطقه ایگده‌لو دارای بیشترین مقدار اسانس (۱/۳۴٪) بود. تجزیه به هماهنگ‌کننده‌های اصلی نشان داد که در کموتیپ اول ترکیب‌های پارا-سیمن (۴/۳٪)، ان-نونانال (۹/۸٪)، متیل‌اتر تیمول (۱۰/۶٪)، تیمول (۳۰/۹٪) و تیمیل استات (۱۳/۵٪) و در کموتیپ دوم ترکیب‌های پارا-سیمن (۴/۱٪)، گاما-ترپینن (۶/۲٪) و کارواکرول (۸۲/۱٪) و در کموتیپ سوم ترکیب‌های پارا-سیمن (۱/۶-۷/۲٪)، گاما-ترپینن (۲/۲-۶/۵٪)، تیمول (۲۷/۶-۶۵/۶٪) و کارواکرول (۳/۷-۲۵/۴٪) ترکیب‌های اصلی هستند.

واژه‌های کلیدی: *Thymus pubescens* Boiss.et Kotschy ex Celak، اسانس، تقطیر با آب، کموتیپ، آذربایجان‌شرقی.

مقدمه

گیاه آویشن کرک‌آلود با نام علمی *Thymus pubescence* Boiss.et Kotschy ex Celak از خانواده Lamiaceae گیاهی چندساله، نیمه‌بوته‌ای، اغلب خوابیده و تقریباً چمنی با برگ‌های تخم‌مرغی- سرنیزه‌ای با قاعده کنجی با گل‌های صورتی مایل به سفید و مجتمع در گل‌آذین است (قهرمان، ۱۳۷۲؛ مظفریان، ۱۳۷۵). اسانس گونه‌های مختلف آویشن در صنایع غذایی، دارویی، بهداشتی و آرایشی استفاده متنوعی دارد و دارای خواصی نظیر ضداسپاسم، بادشکن، ضدقارچ، ضدعفونی‌کننده و خلط‌آور

www.SID.ir

است (جهان‌آرا و حائری‌زاده، ۱۳۸۰). اسانس آویشن ازجمله ده اسانس مهم است که به‌دلیل داشتن ترکیب‌هایی همانند تیمول و کارواکرول خواص آنتی‌باکتری و ضدقارچی، آنتی‌اکسیدانی و نگهدارنده طبیعی غذا را دارد (مومنی و شاهرخی، ۱۳۷۷). بررسی و آنالیز کیفی ترکیب‌های اسانس آویشن کرک‌آلود که توسط Abousaber و همکاران (۲۰۰۲) از سه منطقه مختلف ایران جمع‌آوری شده بود نشان داد که ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اصلی اسانس حاصل از اندام هوایی شامل ترکیب‌های تیمول، آلفا–ترپینول، لیمونن، پارا–سیمن و کارواکرول است.

مقایسه کمّی و کیفی اسانس *Thymus pubescens* برداشت شده از چهار رویشگاه و منطقه واقع در استان تهران در دو مرحله رویشی و گلدهی کامل توسط میرزا و همکاران (۱۳۸۲) نشان داد که کمّیت اسانس در مرحله گلدهی بیشتر از مرحله رویشی است. ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اصلی اسانس این نمونه‌ها کارواکرول، تیمول، پارا–سیمن، بورنئول، متیل– کارواکرول، ۸،۱–سینئول، لیمونن و ژرانیول می‌باشند.

براساس مطالعه دیگری که بر روی کمّیت و کیفیت اسانس پنج گونه *Thymus* ازجمله گونه آویشن کرک‌آلود انجام شد، معلوم گردید که گونه *Thymus pubescens* دارای بازده اسانس نسبتاً بالا در مرحله گلدهی (۱/۴۵٪) بوده و از لحاظ کیفی نیز ترکیب‌های کارواکرول، تیمول، گاما–ترپینن، پارا–سیمن، بتا–کاریوفیلن و بورنئول از ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اصلی اسانس این گونه می‌باشند (سفیدکن و عسگری، ۱۳۸۱).

مطالعه کمّی و کیفی اسانس *Thymus pubescens* برداشت شده از منطقه لار نشان داد که بازده اسانس در مرحله گلدهی بالاتر از مرحله رویشی است و ترکیب‌های کارواکرول، پارا–سیمن، ۸،۱–سینئول، متیل–کارواکرول و بورنئول از اجزای اصلی اسانس این گونه در مرحله گلدهی محسوب می‌شوند (عسگری و همکاران، ۱۳۸۱).

براساس تحقیقی که بر روی اسانس این گونه در حومه بهشهر در مرحله گلدهی انجام شد، معلوم گردید که از لحاظ کیفی ترکیب‌های تیمول، آلفا–ترپینول و پارا–سیمن از ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اصلی اسانس *Thymus pubescens* در این منطقه است (Morteza-Semnani *et al*., 2006).

مطالعه اسانس گونه *Thymus pubescens* توسط Rustaiyan و همکاران (۲۰۰۰) نشان داد که اسانس این گونه غنی از منوترپن‌های فنلی تیمول و کارواکرول است.

بررسی تغییرات الگوی کموتیپ *Thymus pulegioides* L. توسط Martonfi و همکاران (۱۹۹۴) در محیط‌های مختلف در اسلوواکی نشان می‌دهد که این الگو وابسته به فاکتورهای خاک بوده و با تغییرات کمّی این فاکتورها کمّیت و کیفیت اجزاء تشکیل‌دهنده اسانس تغییر پیدا می‌کند.

مطالعه تأثیر فاکتورهای محیطی بر روی اسانس *Thymus piperella* L. و تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از روش آنالیز چند متغیره بین فاکتورهای ادافیکی و سه کموتیپ این گونه نشان می‌دهد که فاکتورهای هوایی کمتر از عوامل خاک در تغییرات کمّی و کیفی اسانس تأثیر دارند (Boira & Blanquer, 1998).

مطالعه کموتیپ‌های *Thymus algeriensis* Boiss. et Reut. در شمال آفریقا نشان می‌دهد که پنج کموتیپ در جمعیت‌های مورد مطالعه در این گونه موجود می‌باشد و این تنوع شیمیایی در اسانس این گونه بیشتر وابسته به محل استقرار این جمعیت‌ها بوده و به عوامل آب و هوایی وابستگی کمتری دارند (Zouari *et al*., 2012).

رشد و عملکرد گیاهان در اکوسیستم‌های مختلف تحت تأثیر عوامل مختلف نظیر گونه، اقلیم، خاک و مشخصات جغرافیایی قرار دارد که هریک از این عوامل می‌تواند تأثیر بسزایی بر کمّیت و کیفیت اسانس گیاهان داشته باشد (امیدبیگی، ۱۳۷۴). با توجه به تأثیر فاکتورهای محیطی بر کیفیت و کمّیت اسانس گیاهان، لازم و ضروری است که چگونگی تأثیر این عوامل را مورد مطالعه قرار داد که مطالعه حاضر نیز در این راستا اجرا شده است.

www.SID.ir

مواد و روشها

نمونه‌برداری و اسانس‌گیری

نمونه‌برداری از سرشاخه‌های گلدار (*T. pubescens*) در اوایل خرداد ماه سال ۸۸ از سطح استان (سهند، کرده‌ده، ایگده‌لو، یوزبند، میشو) انجام شد (جدول ۱). نمونه‌ها در شرایط طبیعی و در سایه خشک شدند. اسانس‌گیری به روش تقطیر با آب با استفاده از دستگاه کلونجر به مدت ۲ ساعت و نیم انجام گردید. اسانس‌ها توسط سولفات سدیم بدون آب خشک شده و برای آنالیز کیفی آماده شدند.

جدول ۱- مشخصات عرصه‌های طبیعی

ردیف	نام عرصه	طول جغرافیایی	عرض	ارتفاع	جهت شیب
۱	کوه میشو	۴۵ ۴۱ ۱۰	۳۸ ۲۳ ۶۴	۱۹۸۶	شمال‌غربی
۲	یوزبند کلیبر	۴۷ ۰۷ ۳۱/۹	۳۸ ۴۴ ۴۸/۷	۱۶۸۵	غربی
۳	ایگده لو ملکان	۴۶ ۱۸ ۵۵/۴	۳۷ ۰۹ ۰۰/۵	۱۶۲۱	غربی
۴	کرده ده مراغه	۴۶ ۲۶ ۱۸/۱	۳۷ ۳۱ ۳۰/۳	۲۰۹۸	غربی
۵	پیت اسکی سهند	۴۶ ۳۰ ۵۵	۳۷ ۴۷ ۲۵	۲۷۶۶	شمال‌غربی

مشخصات دستگاهی استفاده شده در تجزیه کیفی اسانس‌ها

دستگاه کروماتوگرافی گازی

دستگاه کروماتوگراف گازی Thermo-UFM (Ultera Fast Model) ساخت کشور ایتالیا و داده‌پرداز Chrom-Card A/D، ستون موئینه با نام تجارتی Ph-5 (غیرقطبی) ساخت شرکت Thermo به طول ۱۰ متر و قطر داخلی ۰/۱ میلی‌متر به ضخامت ۰/۴ میکرومتر است، که سطح داخلی آن با فاز ساکن از جنس Dimethyl siloxane phenyl, 5% پوشیده شده‌است. برنامه حرارتی ستون از ۶۰ درجه سانتی‌گراد شروع و تا رسیدن به دمای نهایی ۲۸۵ درجه سانتی‌گراد، در هر دقیقه ۸۰ درجه سانتی‌گراد به آن افزوده شد و بعد در این دما به مدت ۳ دقیقه متوقف شد. نوع آشکارساز از نوع FID و از گاز هلیم به‌عنوان گاز حامل که فشار ورودی آن به ستون برابر ۰/۵ کیلوگرم بر سانتی مترمربع تنظیم شده، استفاده گردید. دمای محفظه آشکارساز ۲۹۰ درجه سانتی‌گراد و درجه حرارت محفظه تزریق ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد.

دستگاه کروماتوگراف گازی متصل به طیف‌سنج جرمی

دستگاه کروماتوگراف گازی الگوی Varian 3400 متصل به طیف‌سنج جرمی Saturn II، با سیستم تله‌یونی و با انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت با ستون DB-5 که ستونی نیمه‌قطبی (به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه فاز ساکن برابر ۰/۲۵ میکرون) است. فشار گاز سر ستون ۳۵ پوند بر اینچ مربع، درجه حرارت ۴۰ تا ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت افزایش ۳ درجه سانتی‌گراد در دقیقه و درجه حرارت محفظه تزریق ۲۶۰ درجه سانتی‌گراد و دمای ترانسفر لاین ۲۷۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم گردید.

شناسایی طیف‌ها به کمک شاخص‌های بازداری آنها و همچنین مقایسه آنها با منابع مختلف و با استفاده از طیف‌های جرمی ترکیب‌های استاندارد، و اطلاعات موجود در کتابخانه دستگاه GC/MS انجام شد.

www.SID.ir

نتایج

با بررسی و تفسیر کمّی و کیفی طیف‌های اسانس مناطق مختلف بدست آمده از دستگاه GC و GC/MS، ۲۶ ترکیب شیمیایی در اسانس این گونه با استفاده از شاخص بازداری، طیف جرمی و منابع کتابخانه‌ای شناسایی شد (جدول ۲).

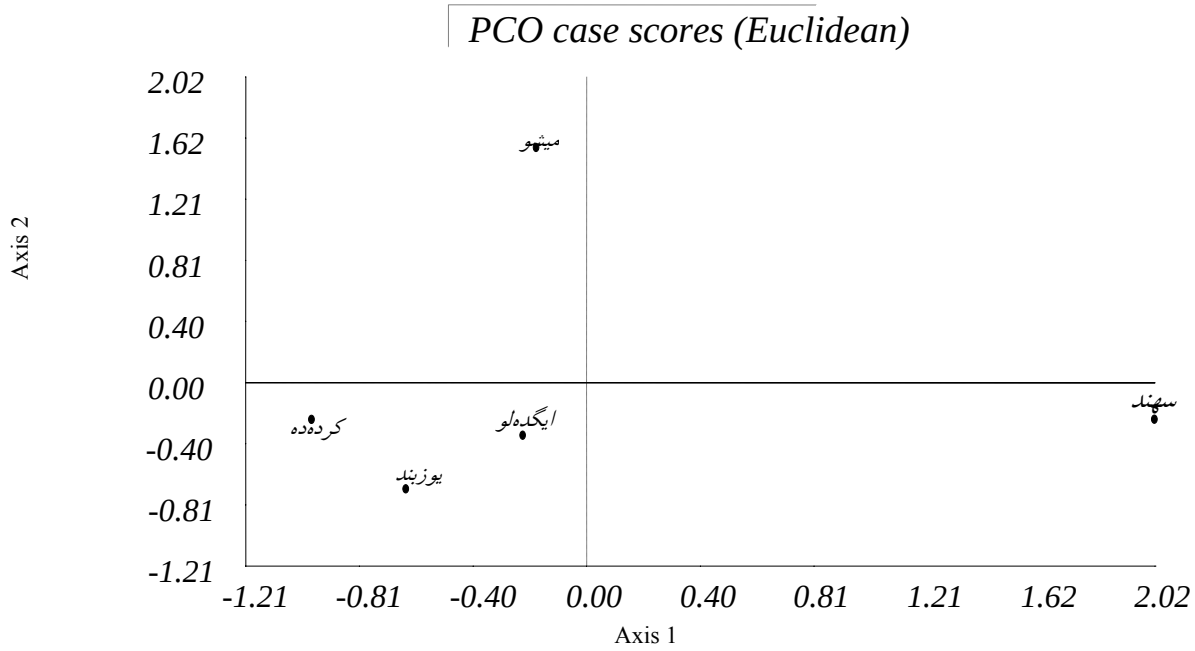
جدول ۲- ترکیب‌های شناسایی شده اسانس آویشن کرک‌آلود در مناطق مختلف

ردیف	نام ترکیب	شاخص بازداری	درصد ترکیب				
			سهند	کرده‌ده	ایگده‌لو	یوزبند	میشو
۱	α-thujene	۹۴۲	۰/۳	۰	۰/۱	۰/۱	۰/۰۵
۲	α-pinene	۹۵۴	۰/۴	۰/۲	۰/۴	۲/۲	۰/۱
۳	sabinene	۹۷۷	۱	۰/۲	۰/۵	۰/۲	۰/۱
۴	β-pinene	۹۸۵	۰	۰/۵	۰/۴	۱/۲	۰/۴
۵	α-terpinene	۱۰۴۴	۰/۴	۰/۲	۰/۵	۰/۵	۰/۵
۶	p-cymene	۱۰۵۴	۴/۳	۱/۹	۷/۲	۱/۶	۴/۱
۷	limonene	۱۰۵۹	۰	۱/۲	۰	۰	۰
۸	1,8-cineole	۱۰۶۸	۳/۸	۱/۲	۲/۳	۰/۹	۰/۳
۹	p-mentha-3,8-diene	۱۰۸۰	۱/۷	۰	۰	۰	۰
۱۰	γ-terpinene	۱۰۸۲	۳/۴	۳/۳	۲/۲	۶/۵	۶/۲
۱۱	terpinolene	۱۰۹۵	۰/۴	۰/۴	۰/۷	۰	۰/۶
۱۲	n-nonanal	۱۱۰۸	۹/۸	۰	۰	۰	۰
۱۳	linalool	۱۱۰۹	۰	۵/۶	۰	۱/۳	۰
۱۴	borneol	۱۱۷۷	۰/۲	۰	۰	۰	۰
۱۵	terpinene-4-ol	۱۲۱۷	۰	۲/۳	۶/۴	۱/۴	۱/۳
۱۶	methyl ether thymol	۱۲۲۴	۱۰/۶	۰	۰	۰	۰
۱۷	α-terpineol	۱۲۳۴	۰	۴/۸	۰/۶	۶/۸	۰/۲
۱۸	methyl ether carvacrol	۱۲۵۷	۴/۵	۰/۱	۰	۰/۷	۰
۱۹	carvone	۱۲۶۳	۳/۱	۰	۰	۰	۰
۲۰	geraniol	۱۲۷۳	۰	۱۳/۶	۳/۰	۱/۹	۰/۲
۲۱	thymol	۱۳۲۱	۳۰/۹	۲۷/۶	۶۵/۶	۵۷/۸	۱/۷
۲۲	carvacrol	۱۳۳۱	۳/۱	۲۵/۴	۳/۷	۴/۴	۸۲/۱
۲۳	thymyl acetate	۱۳۶۶	۱۳/۵	۰	۰	۰	۰
۲۴	α-terpinyl acetate	۱۳۸۶	۰	۴/۱	۰/۳	۹/۴	۰
۲۵	germacrene-D	۱۵۰۰	۰	۲/۳	۳	۱	۰/۱
۲۶	spathulenol	۱۵۶۱	۱	۰	۰	۰	۰
	درصد اسانس		۰/۳	۰/۶	۱/۳	۱/۳	۱/۲
	مجموع		۹۲/۲	۹۶	۹۵/۹	۹۸	۹۷/۹

www.SID.ir

تجزیه به هماهنگ‌کننده‌های اصلی

براساس این تجزیه دو هماهنگ‌کننده اصلی بر پایه ۲۶ ترکیب سازنده اسانس بیش از ۸۰٪ از واریانس را توجیه کردند و با توجه به مقادیر بردارهای ویژه که بیشتر از ۰/۷ بودند و معنی‌دار هستند به‌ترتیب نقش ترکیب های پارا-سیمن، گاما-ترپینن، تیمول و کارواکرول و در هماهنگ‌کننده دوم ترکیب‌های نرمال نونانال، متیل اتر تیمول و تیمیل استات نقش مهمی در گروه‌بندی مناطق از لحاظ ترکیب های سازنده داشتند. باتوجه به این کموتیپ، سهند با داشتن ترکیب های نرمال نونانال، متیل اتر تیمول و تیمیل استات و کموتیپ میشو با داشتن کارواکرول بالا و کموتیپ سوم مربوط به مناطق ایگده‌لو، یوزبند و کرده‌ده با داشتن ترکیب‌های تیمول، کارواکرول و آلفا-ترپنیل استات در گروه‌های مجزا قرار گرفتند (شکل ۱). از لحاظ بازده کمّی اسانس نیز کموتیپ سهند با ۰/۳۱٪ کمترین بازده و ایگده‌لو با ۱/۳۴٪ بیشترین بازده را داشتند و یوزبند (۱/۲۶٪)، میشو (۱/۱۶٪) و کرده‌ده (۰/۵۵٪) به‌ترتیب در رده‌های بعدی قرار داشتند.



شکل ۱- تجزیه به هماهنگ‌کننده‌های اصلی برای ترکیب‌های سازنده اسانس در مناطق مورد مطالعه

جدول ۳- ماتریس فاصله توان دوم اقلیدسی در مناطق جمع‌آوری شده

	میشو	یوزبند	سهند	ایگده‌لو	کرده‌ده
میشو	۰				
یوزبند	۱۰۷/۴۱۵	۰			
سهند	۱۲۰/۳۶۵	۷۵/۰۱۳	۰		
ایگده‌لو	۱۰۴/۹۳۹	۱۸/۶۱۱	۶۴/۲۴۶	۰	
کرده‌ده	۵۹/۱۷۱	۲۶/۵۰۵	۸۹/۶۶۹	۳۵/۲۱۳	۰

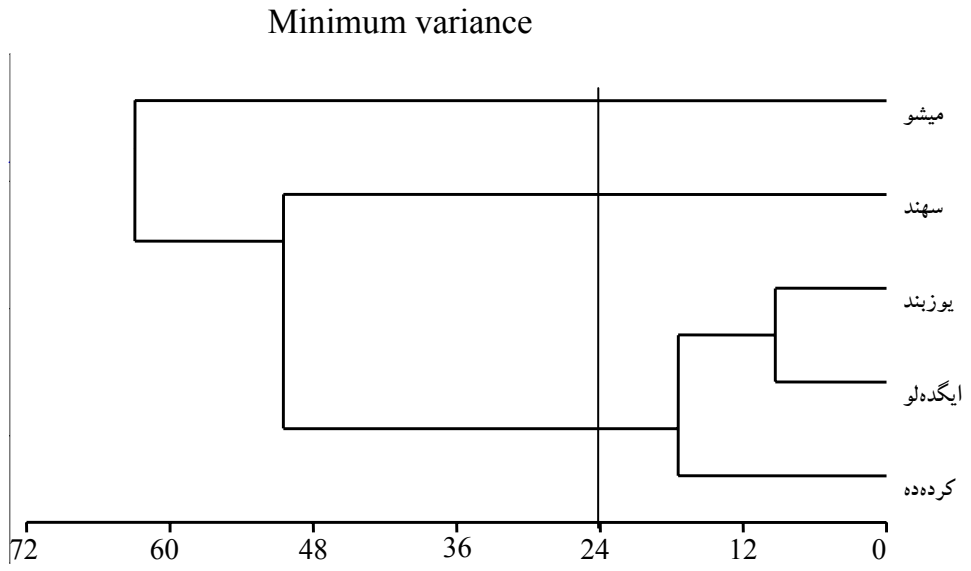
www.SID.ir

ماتریس فاصله توان دوم اقلیدسی

در این ماتریس حداقل فاصله مربوط به مناطق یوزبند و ایگده‌لو می‌باشد که در یک خوشه قرار گرفته و حداکثر فاصله بین مناطق سهند با میشو است که هر کدام در یک گروه مجزا قرار گرفته‌اند (جدول ۳).

تجزیه خوشه‌ای

براساس فاصله توان دوم اقلیدسی و روش حداقل واریانس (WARD) می‌توان مناطق را در سه خوشه اصلی قرار داد. خوشه اول مربوط به میشو، خوشه دوم مربوط به منطقه سهند و خوشه سوم مربوط به مناطق ایگده‌لو، کرده‌ده و یوزبند می‌باشد که تجزیه خوشه‌ای نیز نتایج تجزیه به هماهنگ‌کننده‌های اصلی را تأیید کرد، به‌طوری که مثل تجزیه به هماهنگ‌کننده‌های اصلی در خوشه اول ترکیب کارواکرول و در خوشه دوم ترکیب‌های نرمال نونانال، متیل اتر تیمول و تیمیل استات و در خوشه سوم ترکیب‌های پارا–سیمن، گاما–ترپینن، تیمول و کارواکرول حائز اهمیت هستند. البته قطع دندروگرام با توجه به تجزیه به هماهنگ‌کننده‌های اصلی از فاصله ۲۴ انجام گردید (شکل ۲).



شکل ۲– تجزیه خوشه‌ای براساس توان دوم فاصله اقلیدسی با روش WARD (حداقل واریانس) برای ترکیب‌های سازنده اسانس در مناطق مورد مطالعه

www.SID.ir

جدول ۴- ضرایب همبستگی فاکتورهای خاک با ترکیب‌های اصلی اسانس

	EC	pH	T.N.V	OC	P	N	K	Sand	silt	clay	p-cymene	γ-terpinene	n-nonanal	methyl ether thymol	thymol	carvacrol	thymylacetate
EC	۱																
pH	-۰/۰۷	۱															
T.N.V	-۰/۰۳۱	۰/۸۲۵	۱														
OC	۰/۵۹۵	-۰/۷۴۸	-۰/۴۳۸	۱													
P	-۰/۶۸۲	-۰/۰۵۹	-۰/۲۳۸	-۰/۲۵۵	۱												
N	۰/۶۱۰	-۰/۷۴۷	-۰/۴۴۷	۱/۰۰۰ **	-۰/۲۷۱	۱											
K	-۰/۳۰۷	-۰/۲۱۸	-۲/۲۷۹	۰/۱۶۵	۰/۸۷۹ *	۰/۱۴۹	۱										
Sand	۰/۲۲۲	۰/۲۵۳	۰/۲۰۸	-۰/۲۹۳	-۰/۷۹۲	-۰/۲۷۵	-۰/۹۸۱ **	۱									
Silt	-۰/۰۳۸	-۰/۰۹۷	-۰/۰۹۴	۰/۲۸۷	۰/۶۹۷	۰/۲۷۲	۰/۹۴۱ *	-۰/۹۶۷ **	۱								
Clay	-۰/۳۶	-۰/۳۶۶	-۰/۲۹۱	۰/۲۸۴	۰/۸۳۱	۰/۲۶۵	۰/۹۶۵ **	-۰/۹۷۸ **	۰/۸۹۲ *	۱							
p-cymene	-۰/۷۲۰	۰/۰۰۳	۰/۱۱۶	-۰/۱۶۵	۰/۸۵۲	-۰/۱۸۹	۰/۷۸۵	۰/۷۸۵	۰/۶۷۳	۰/۸۳۷	۱						
γ-terpinene	۰/۶۹۷	۰/۵۴۸	۰/۵۹۵	-۰/۰۲۸	-۰/۸۲۱	-۰/۰۱۵	-۰/۶۹۱	۰/۶۲۱	-۰/۴۱۸	-۰/۷۵۶	-۰/۶۹۳	۱					
n-nonanal	۰/۳۴۶	-۰/۸۳۵	-۰/۴۷۷	۰/۹۶۰ **	-۰/۰۶۴	۰/۹۵۳ *	۰/۲۵۹	-۰/۴۲۳	۰/۳۵۴	۰/۴۵۹	۰/۰۶۸	-۰/۲۶۴	۱				
methyl ether thymol	۰/۳۴۶	-۰/۸۳۵	-۰/۴۷۷	۰/۹۶۰ **	-۰/۰۶۴	۰/۹۵۳ *	۰/۲۹۹	-۰/۴۲۳	۰/۳۵۴	۰/۴۵۹	۰/۰۶۸	-۰/۲۶۴	۱/۰۰۰ **	۱			
thymol	۰/۰۰۴	۰/۰۴۹	-۰/۳۹۱	-۰/۰۹۷	۰/۶۴۶	-۰/۰۹۴	۰/۶۹۱	-۰/۵۷۸	۰/۶۵۰	۰/۴۹۱	۰/۲۳۱	-۰/۳۴۵	-۰/۱۲۸	-۰/۱۲۸	۱		
carvacrol	-۰/۱۶۱	۰/۴۸۳	۰/۷۸۸	-۰/۳۵۵	-۰/۴۹۱	-۰/۳۶۱	-۰/۶۴۳	۰/۵۶۷	-۰/۵۷۰	-۰/۵۳۷	-۰/۰۷۸	۰/۴۹۲	-۰/۳۴۰	-۰/۳۴۰	-۰/۸۴۱	۱	
thymyl acetate	۰/۳۴۶	-۰/۸۳۵	-۰/۴۷۷	۰/۹۶۰ **	-۰/۰۶۴	۰/۹۵۳ *	۰/۲۹۹	-۰/۴۲۳	۰/۳۵۴	۰/۴۵۹	۰/۰۶۸	-۰/۲۶۴	۱/۰۰۰ **	۱/۰۰۰ **	-۰/۱۲۸	-۰/۳۴۰	۱

*: در ۱٪؛ **: در ۵٪

www.SID.ir

جدول ضرایب همبستگی فاکتورهای خاک با ترکیب‌های اصلی سازنده اسانس (جدول ۴) نشان می‌دهد که ترکیب‌های نونانال نرمال، متیل اتر تیمول و تیمیل استات با مقدار مواد آلی خاک در سطح احتمال ۱٪ و با نیتروژن خاک در سطح احتمال ۵٪ همبستگی مثبت و معنی‌دار دارند.

بحث

در آنالیزهای انجام شده ترکیب‌های پارا-سیمن، گاما-ترپینن، تیمول و کارواکرول از ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اصلی اسانس این گونه می‌باشند. براساس تحقیقی که بر روی اسانس این گونه توسط Abousaber و همکاران (۲۰۰۲) انجام گردیده ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اصلی اسانس در آنجا نیز ترکیب‌های تیمول (۶۳/۴٪)، آلفا-ترپینئول (۱۹/۲٪)، لیمونن (۱/۲٪)، پارا-سیمن (۴٪) و کارواکرول (۳/۷٪) مشخص گردیده‌اند که مطابقت بالایی با نمونه‌های کار شده دارند.

در بررسی دیگری که در این زمینه بر روی نمونه‌های جمع‌آوری شده از استان تهران انجام شده ترکیب‌های عمده اسانس کارواکرول، تیمول، گاما-ترپینن، پارا-سیمن، بورنئول، متیل کارواکرول، بتا-کاریوفیلن، ۸،۱-سینئول و ژرانیول گزارش شدند (میرزا و همکاران، ۱۳۸۲).

Rustaiyan و همکاران (۲۰۰۰) ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اصلی این گونه را ترکیب‌های تیمول (۳۷/۹٪)، کارواکرول (۱۴/۱٪)، پارا-سیمن (۱۳/۱٪) و گاما-ترپینن (۸/۷٪) گزارش کرده‌اند.

در مطالعه دیگری که بر روی نمونه‌های جمع‌آوری شده از حومه بهشهر واقع در شمال ایران انجام شد ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اصلی اسانس تیمول (۱۹/۱٪)، کارواکرول (۳۲/۱٪)، آلفا-ترپینول (۱۴/۶٪) و پارا-سیمن (۶/۱٪) مشخص گردیده‌اند (Morteza-Semnani & Rostami, 2006).

در مطالعه دیگری که بر روی اسانس *T. pubescens* انجام شد، سازنده‌های اصلی اسانس گونه آویشن کرک‌آلود ترکیب‌های کارواکرول (۴۸/۸٪)، تیمول (۱۳/۹٪)، گاما-ترپینن (۶/۱٪)، پارا-سیمن (۱۲/۷٪)، بتا-کاریوفیلن (۱/۳٪) و بورنئول (۳/۸٪) گزارش شدند (Sefidkon *et al.*, 2002). مقایسه نمونه‌های تحقیق فوق از مناطق مختلف با نمونه‌های بررسی شده در تحقیق حاضر از لحاظ کیفی نشان می‌دهد که مطابقت نسبتاً بالایی با یکدیگر دارند.

از لحاظ تأثیر عوامل محیطی بر روی میزان کمّی اسانس باید گفت براساس مطالعه‌ای که بر روی گونه *Th. serpyllum* L. انجام شده ارتفاع در بیشتر مناطق تأثیر منفی بر روی کمّیت اسانس گذاشته است (Abu-Darvish *et al.*, 2009).

در مطالعه دیگری که حبیبی و همکاران (۱۳۸۵) بر روی اسانس آویشن وحشی (*Th. kotschyanus* Boiss. et Hohen) انجام دادند اثر ارتفاع را بر روی کمّیت و کیفیت اسانس نمونه‌های جمع‌آوری شده از منطقه طالقان ارزیابی نمودند، نتایج حاصل نشان داد که ارتفاع همبستگی منفی با کمّیت اسانس این گونه دارد.

توجه به جدول مشخصات نشان می‌دهد که مقدار کمّی اسانس گونه *Th. pubescens* در منطقه ملکان با کمترین ارتفاع دارای بیشترین مقدار (۱/۳۴٪) و سهند با بیشترین ارتفاع دارای کمترین مقدار (۰/۳۱٪) می‌باشد که با مطالعات انجام شده مطابقت دارد.

تجزیه به هماهنگ‌کننده‌های اصلی نشان داد که در مؤلفه اول (دو هماهنگ‌کننده اصلی) بیش از ۸۰٪ واریانس را توجیه می‌کنند. در هماهنگ‌کننده اصلی اول ترکیب‌هایی که نقش آنها بیش از ۰/۷ بود و معنی‌دار هستند به‌ترتیب مربوط به ترکیب‌های پارا-سیمن، گاما-ترپینن، تیمول و کارواکرول می‌باشند و در هماهنگ‌کننده اصلی دوم ترکیب‌های نرمال نونانال، متیل اتر تیمول و تیمیل استات نقش مهمی در گروه‌بندی مناطق از لحاظ کموتیپ دارند. کموتیپ سهند با داشتن ترکیب‌های نرمال نونانال، متیل اتر تیمول و تیمیل استات از دیگر مناطق مجزا و مشخص می‌گردد. کموتیپ میشو نیز با توجه به داشتن کارواکرول بالا که یکی از هماهنگ‌کننده‌های اصلی در مؤلفه اول می‌باشد این جمعیت را به‌عنوان یک کموتیپ مجزا مشخص و معلوم می‌نماید. جمعیت مربوط به مناطق ایگده‌لو، کرده‌ده و یوزبند با توجه به تجزیه خوشه‌ای و هماهنگ‌کننده‌های اصلی اول در یک گروه و کموتیپ قرار می‌گیرند. دندروگرام مربوط به تجزیه خوشه‌ای و

www.SID.ir

تجزیه به هماهنگ‌کننده‌های اصلی نتایج را نیز تأیید می‌نماید، یعنی اگر براساس توان دوم فاصله اقلیدسی ۲۴ دندروگرام را قطع کنیم باز سه کموتیپ مشخص شده در این نمودار پدیدار می‌گردند. از ترکیب‌های مهم موجود در اسانس جنس تیموس می‌توان به تیمول و کارواکرول اشاره نمود که به‌واسطه داشتن خواص آنتی‌باکتریالی و ضدقارچی مورد توجه در صنایع مختلف غذایی و دارویی- بهداشتی می‌باشند. بررسی ترکیب‌های اسانس‌ها از این دیدگاه با استفاده داده‌های کیفی نمونه‌های مربوط به منطقه میشو را به‌واسطه داشتن کارواکرول بالا (۸۲٪) مشخص و بارز می‌نماید. به‌طوری که این نتایج با کارهای انجام شده بر روی گونه آویشن کرک‌آلود برداشت شده از دماوند و فیروزکوه که در آنها نیز کارواکرول با داشتن بالاتر از ۶۴٪ مطابقت دارد (Rasooli & Mirmostafa, 2002). از لحاظ ترکیب تیمول که یکی دیگر از اجزا مهم اسانس در این گونه محسوب می‌گردد، بررسی نتایج داده‌های کیفی مناطق ایگده‌لو و یوزبند با داشتن به‌ترتیب ۶۵/۶٪ و ۵۷/۸٪ این مناطق را در رتبه‌های اول و دوم قرار می‌دهد که این نتایج نیز با تحقیقات انجام شده بر روی این گونه در دماوند که در آن نیز مقدار تیمول بالاتر از ۶۳٪ گزارش شده‌است، مطابقت دارد (Abousaber *et al*., 2002).

منابع مورد استفاده

- امیدبیگی، ر.، ۱۳۷۴. رهیافتهای تولید و فرآوری گیاهان دارویی (جلداول). انتشارات فکرافروز، تهران، ۲۸۳صفحه.
- جهان‌آرا، ف. و حائری‌زاده، ب.م.، ۱۳۸۰. اطلاعات و کاربرد داروهای گیاهی رسمی ایران. انتشارات شرکت دارو گستر رازی، تهران، ۲۰۸ صفحه.
- حبیبی، ح.، مظاهری، د.، مجنون‌حسینی، ن.، چاپچی، م. و فخرطباطبایی، م.، ۱۳۸۵. اثر ارتفاع بر روغن اسانس و ترکیبات گیاه دارویی آویشن وحشی منطقه طالقان. پژوهش و سازندگی، ۱۹(۴): ۱۰-۲.
- سفیدکن، ف. و عسگری، ف.، ۱۳۸۱. مقایسه کمّی و کیفی اسانس پنج گونه آویشن. گیاهان دارویی و معطر ایران، ۱۲: ۵۱-۲۹.
- عسگری، ف.، سفیدکن، ف. و رضایی، م.ب.، ۱۳۸۱. بررسی تغییرات کیفی و کمّی اسانس *Thymus pubescens* در چند نقطه رویشی دره لار. پژوهش و سازندگی (در منابع طبیعی)، ۱۵(۴-۳): ۲۷-۲۰.
- قهرمان، ا.، ۱۳۷۲. فلور رنگی ایران. انتشارات مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور.
- مظفریان، و.، ۱۳۷۵. فرهنگ نامهای گیاهان ایران. انتشارات فرهنگ معاصر، تهران، ۷۴۰ صفحه.
- مومنی، ت. و شاهرخی، ن.، ۱۳۷۷. اسانس‌های گیاهی و اثرات درمانی آنها. انتشارات دانشگاه تهران، تهران، ۱۲۷ صفحه.
- میرزا، م.، عسگری، ف. و سفیدکن، ف.، ۱۳۸۲. مقایسه کمّی و کیفی اسانس *Thymus pubescens* در رویشگاههای مختلف استان تهران. گیاهان دارویی و معطر ایران، ۱۹(۲): ۱۳۶-۱۲۵.
- Abu-Darwish, M.S., Abu Dieyeh, Z.H., Mufeed, B., Al-Tawaha, A.R.M. and Al-dalain, S.Y.A., 2009. Trace element contents and essential oil yields from wild thyme plant (*Thymus serpyllum* L.) grown at different natural variable environments, Jordan. Journal of Food, Agriculture and Environment, 7(3-4): 920-924.
- Abousaber, M., Hajiakhoundi, A. and Shafiei, A., 2002. Composition of the essential oil of *Thymus pubescens* Boiss. et Kotschy ex Celak and *Thymus fedtschenkoi* Ronniger from Iran. Journal of Essential Oil Research, 14(3): 154-155.
- Boira, H. and Blanquer, A., 1998. Environmental factors affecting chemical variability of essential oil in *Thymus piperella* L. Biochemical Systematics and Ecology, 26(8): 811-822.
- Martonfi, P., Grejtovsky, A. and Repcak, M., 1994. Chemotype pattern differentiation of *Thymus pulegioides* of different substrates. Biochemical Systematic and Ecology, 22(8): 819-825.
- Morteza-Semnani, K., Rostami, B. and Akbarzadeh, M., 2006. Essential oil composition of *Thymus kotschyanus* and *Thymus pubescens* from Iran. Journal of Essential Oil Research, 18(3): 272-274.
- Rasooli, I. and Mirmostafa, S.A., 2002. Antibacterial properties of *Thymus pubescens* and *Thymus serpyllum* essential oils. Fitoterapia, 73(3): 244-250.
- Rustaiyan, A., Masoudi, S., Monfared, A., Kamalinejad, M., Lajevardi, T., Sedaghat, S. and Yari, M., 2000. Volatile constituents of three *Thymus* species grown wild in Iran. Planta medica, 66(2): 197-198.
- Sefidkon, F., Askari, F. and Ghorbanli, M., 2002. Essential oil composition of *Thymus pubescens* Boiss. et Kotschy ex Celak from Iran. Journal of Essential Oil Research, 14(2): 116-117.
- Zouari, N., Ayadi, H., Fahkfahk, N., Rebah, A. and Zouari, S., 2012. Variation of chemical composition of essential oils in wild populations of *Thymus Algeriensis* Boiss. et Reut., a north African endemic species. Lipids in Health and Disease, 11: 28.

www.SID.ir

Investigation on chemotypes of *Thymus pubescens* Boiss.et Kotschy ex Celak based on essential oil compounds in E-Azerbayjan province

Y. Imani[1*], A. Razban Haghighi[2], F. Sefidkon[3] and M. Naderi[3]

1*- Corresponding author, East Azarbaijan Agriculthure and Natural Resources Research Center, Khosroshahr, Iran
E-mail: Y_dizaj@yahoo.com
2- East Azarbaijan Agriculthure and Natural Resources Research Center, Khosroshahr, Iran
3- Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran, Iran

Received: October 2013 Revised: December 2013 Accepted: December 2013

Abstract

The current study was aimed to investigate the essential oil of *Thymus pubescens* Boiss.et Kotschy ex Celak chemotypes in five regions of E-Azerbayjan province. Samples were collected at the flowering atage. Hydrodistillation method was used to obtain essential oil. Quantitative and qualitative analysis was done by GC and GC/MS methods. Twenty six compounds were determined in the essential oil of experimental sites. Cluster analysis, based on these components with WARD method, showed that five areas were divided into three clusters, so that the first cluster was related to the Sahand area chemotype, the second cluster was related to the Mishoo chemotype and the third cluster included common chemotype in Malekan (Egdelou), Kaleibar (Yuzband) and Maraghe (Kordedeh). Our results showed that the highest and lowest amount of essential oil was recorded for the first chemotype (Sahand, 0.31%) and the third chemotype (Egdelou, 1.34%), respectively. According to the Principal Coordinate Analysis the major compounds of essential oils were as follows: in the first chemotype: p-cymene (4.3%), n-nonanal (9.8%), methyl ether thymol (10.6 %), thymol (30.9 %) , thymyl acetate (13.5%); in the second chemotype: p-cymene (4.1%), γ-terpinene (6.2%), carvacrol (82.1%); in thr third chemotype p-cymene (7.2-1.6%), γ-terpinene (6.5-2.2%), thymol (65.6-27.6%), carvacrol (25.4-3.7%).

Keywords: *Thymus pubescens* Boiss.et Kotschy ex Celak, essential oil, hydrodistillation, chemotype, east Azerbayjan.

Archive of SID

www.SID.ir