

بررسی کمیّت و کیفیت اسانس اکسشن‌های آویشن کوهی (*Thymus kotschyanus* Boiss. & Hohen.) کشت شده در استان یزد

عباس زارع‌زاده^{۱*}، علی میرحسینی^۲، مهدی میرزا^۳، زیبا جم‌زاد^۳ و محمدرضا عربزاده^۴

۱- نویسنده مسئول، مربی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان یزد، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، یزد، ایران
پست الکترونیک: azrshafie@yahoo.com

۲- مربی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان یزد، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، یزد، ایران

۳- استاد، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

۴- کارشناس پژوهشی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان یزد، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، یزد، ایران

تاریخ پذیرش: خرداد ۱۳۹۵

تاریخ اصلاح نهایی: خرداد ۱۳۹۵

تاریخ دریافت: آبان ۱۳۹۱

چکیده

آویشن کوهی (*Thymus kotschyanus* Boiss. & Hohen.) گیاهی دارویی، بوته‌ای و چندساله است که در برخی مناطق ایران از جمله استان یزد به صورت خودرو رویش دارد. این تحقیق به منظور تعیین اکسشن‌های (های) برتر آویشن کوهی کشت شده از لحاظ کمیّت و کیفیت اسانس در ایستگاه تحقیقات گیاهان دارویی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان یزد به اجرا درآمد. بذرهاي ۱۹ اکسشن این گیاه جمع‌آوری شده از رویشگاه‌های طبیعی، در گلخانه کشت و نشاءهای حاصل به مزرعه منتقل شدند. در سال دوم سرشاخه‌های گیاه در مرحله ۵۰٪ گلدهی برداشت و در سایه خشک گردیدند. اسانس‌گیری به روش تقطیر با آب انجام و پس از تعیین بازده اسانس اجزاء تشکیل‌دهنده اسانس شناسایی شدند. تجزیه خوشه‌ای براساس بازده ترکیب عمده تشکیل‌دهنده اسانس اکسشن‌ها را در سه گروه غنی از تیمول-پاراسیمین (TK2، TK6، TK13، TK16، TK18، TK19)، کارواکول-تیمول (TK1، TK3، TK4، TK5، TK7، TK11، TK14، TK15، TK17) و ژرانیول-لینالول (TK8، TK9، TK10، TK12) را قرار داد. براساس نتایج این بررسی، اکسشن TK7 با منشأ استان آذربایجان غربی با ۳/۴۲٪ اسانس و میزان تولید اسانس ۳۶/۴ کیلوگرم در هر هکتار و ۶۳/۸٪ کارواکول و اکسشن TK14 با منشأ استان تهران با ۲/۲٪ اسانس و میزان تولید اسانس ۳۵/۵ کیلوگرم در هر هکتار و ۴۷/۲٪ کارواکول و تیمول و اکسشن TK5 با منشأ آذربایجان غربی با ۲/۴٪ اسانس و میزان تولید ۳۸/۳ کیلوگرم در هر هکتار اسانس و ۵۷٪ تیمول و کارواکول به‌عنوان اکسشن‌های برتر گونه *Thymus kotschyanus* معرفی شدند.

واژه‌های کلیدی: آویشن کوهی (*Thymus kotschyanus* Boiss. & Hohen.)، اکسشن، تیمول، کارواکول، یزد.

مقدمه

این جنس در ایران ۱۸ گونه معطر چند ساله دارد که از میان آنها ۴ گونه انحصاری ایران هستند (جم‌زاد، ۱۳۸۸). گونه‌های مختلف آویشن در صنایع غذایی، دارویی، بهداشتی

جنس *Thymus* متعلق به خانواده Lamiaceae و بیش از ۲۱۵ گونه مختلف از آن در سراسر جهان یافت می‌شود.

T. serpyphyllum از مناطق مختلف ایران در دو مرحله قبل و هنگام گلدهی کامل نشان دادند که میزان اسانس در زمان قبل از گلدهی به ترتیب ۰/۶۶٪، ۰/۲۸٪، ۰/۲۶٪، ۰/۵۵٪ و ۰/۵۷٪ و زمان گلدهی ۰/۸۶٪، ۰/۲۱٪، ۰/۴۲٪، ۰/۴۵٪ و ۰/۹٪ نسبت به وزن خشک بود. در مجموع مقدار اسانس در مرحله رویش کمتر از مرحله گلدهی بود و در مرحله گلدهی میزان اسانس *T. pubescens* و *T. kotschanus* بیشتر از سایر گیاهان بود. در پژوهش‌های انجام شده توسط Nickvar و همکاران (۲۰۰۴) از *T. kotschyanus* و *T. daenensis* var: *daenensis* ترکیب‌های اسانس آویشن دنیایی شامل تیمول ۷۴/۷٪، پارا-سیمن ۶/۵٪، بتا-کاریوفیلن ۳/۸٪، کارواکرول ۳/۶٪ و ترکیب‌های اسانس آویشن کوهی (*T. kotschyanus*) شامل تیمول ۳۸/۶٪، کارواکرول ۳۳/۹٪، گاما-تریپنین ۸/۲٪ و پارا-سیمن ۷/۳٪ بود.

ترکیب‌های شیمیایی اسانس گونه *T. kotschyanus* در ۸ رویشگاه واقع در ۴ استان کشور مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج نشان داد که بازده اسانس از ۰/۷۲٪ تا ۲/۶٪ متغیر بود. بیشترین اسانس متعلق به رویشگاه صاحب در استان کردستان و کمترین درصد اسانس در رویشگاه کلیبر-آینالو در استان آذربایجان شرقی مشاهده شد. ۱۲ ترکیب غالب شامل پارا-سیمن (۰/۹۲-۰/۶۶٪)، ۸،۱-سینئول (۰/۳۱-۰/۱۴٪)، گاما-تریپنین (۰/۱۷-۰/۳۱٪)، لینالول (۰/۴۶-۰/۴۱٪)، بورنتول (۰/۲۹-۰/۷۳٪)، آلفا-تریپینئول (۰/۲۳-۰/۳۸٪)، ژرانیئول (۰/۱۶-۰/۱۸٪)، کارواکرول (۰/۸-۰/۶۹٪)، تیمول (۰/۶۷-۰/۲۱٪)، ای-کاریوفیلن (۰/۸۸-۰/۶۳٪)، ژرانیل استات (۰/۳۵-۰/۷۹٪) و آلفا-تریپینیل استات (۰/۹۱-۰/۹٪) در اسانس این گونه شناسایی شدند. به طوری که بالاترین درصد ترکیب‌ها به کارواکرول، لینالول و آلفا-تریپینئول اختصاص داشت (Mirza et al., 2015).

Mehrpour و همکاران (۲۰۰۴) ویژگی‌های کمی و کیفی اسانس در سرشاخه گلدار چند جمعیت *T. kotschyanus* را در شرایط گلخانه و مزرعه بررسی

و آرایشی استفاده متنوعی دارند (Haam, 1991). خواص ضد باکتریایی، ضد قارچی و ضد انگلی اسانس آویشن موجب شده است که این گیاه از قرن ۱۶ رسماً به عنوان یک گیاه دارویی معرفی شود و در تمام فارماکوپه‌های معتبر از آن به عنوان گیاه دارویی مهم یاد شود (Janssen et al., 1987). خواص اسانس انواع آویشن مربوط به دو ترکیب تیمول و کارواکرول است. اسانس گل و برگ‌های آویشن دارای اثر ضد اسپاسم، ضد نفخ، ضد روماتیسم، ضد سیاتیک و ضد عفونی‌کننده قوی است (Farag et al., 1989).

آویشن کوهی (*T. kotschanus* Boiss. & Hohen.) گیاهی بوته‌ای، تقریباً راست، کوتاه، با شاخه‌های فراوان بدون شاخه‌های گسترده قاعده‌ای، ساقه‌های گلدار به طول ۹ تا ۱۳ سانتی‌متر، برگ‌های ساقه گل‌دهنده تماماً مساوی به طول ۸ تا ۱۷ و به عرض ۴/۵ تا ۷ میلی‌متر، گل‌آذین اغلب کپه‌ای متراکم، جام گل سفید یا صورتی کم‌رنگ، به طول ۶-۷ میلی‌متر، موسم گل اردیبهشت تا خردادماه است (قهرمان، ۱۳۸۶؛ مظفریان، ۱۳۷۹).

بررسی منابع نشان می‌دهد در مورد شناسایی ترکیب‌های اسانس گیاه خودرو در کشورهای مختلف کارهای زیادی انجام شده ولی روی ترکیب‌های اسانس اکسشن‌های کشت شده اطلاعاتی چندانی وجود ندارد.

ترکیب‌های عمده اسانس آویشن کوهی (*T. kotschyanus*) کشت شده در آذربایجان غربی توسط Pirigharnaei و همکاران (۲۰۱۲) شناسایی شد. میزان تیمول ۵۱/۸٪، آلفا-تریپنین ۱۲/۳٪، آلفا-تریپینئول ۶/۸٪ و کارواکرول ۶/۷٪ گزارش شده است.

در پژوهش انجام شده توسط Nazari و همکاران (۲۰۱۱) ترکیب‌های عمده اسانس آویشن کوهی کشت شده در همدان شناسایی گردید. میزان لینالول ۲۴/۸٪، کارواکرول ۲۴/۵٪ و ترانس کاریوفیلن ۸/۶٪ و میزان بازده اسانس ۰/۶٪ گزارش شده است.

Askari و Sefidkon (۲۰۰۲) در رابطه با مقایسه کمی و کیفی اسانس پنج گونه آویشن شامل *T. carosus*، *T. pubescens*، *T. persicus*، *T. kotschanus* و

مواد و روشها

وضعیت اقلیمی ایستگاه تحقیقات گیاهان دارویی استان یزد ایستگاه تحقیقات گیاهان دارویی استان یزد به مساحت ۴۰ هکتار با مختصات عرض جغرافیایی "۵۴' ۱۵" ۲۷ شرقی و طول جغرافیایی "۴۹' ۳۱" ۵۵ شمالی به ارتفاع ۱۲۰۹ متر از سطح دریا در منطقه گردفرامرز شهر شاهدیه یزد واقع شده است. متوسط بارندگی منطقه حدود ۷۰ میلی متر و میانگین درجه حرارت ۱۸/۸ درجه سانتی گراد که حداکثر آن در تیرماه می باشد. حداکثر مطلق درجه حرارت منطقه ۴۵/۵ درجه سانتی گراد و حداقل آن ۱۵- درجه سانتی گراد می باشد. براساس طبقه بندی دوماتین اقلیم فراخشک گرم است. وضعیت خاک ایستگاه از نظر بافت خاک دارای بافت متوسط شنی- لومی است، از این لحاظ محدودیت خاصی برای نفوذ آب به خاک ایجاد نکرده و آبشویی به راحتی امکان پذیر است. با توجه به اینکه شوری خاک نسبتاً مناسب بوده تجمع نمک در آن کم می باشد و این میزان با توجه به کیفیت مناسب آب آبیاری محدودیت زیادی برای رشد و نمو طبیعی گیاهان بوجود نمی آورد. خاک مزرعه قلیایی می باشد که این میزان نیز برای بیشتر گیاهان به خوبی قابل تحمل است. خاک از لحاظ حاصلخیزی با توجه به مصرف کودهای آلی و شیمیایی وضعیت مناسبی داشته، بجز در مورد عنصر پتاسیم که در حد متوسط بود، از لحاظ میزان ازت و فسفر می تواند در حداقل باشد (زارعزاده، ۱۳۸۴).

عملیات کاشت و جمع آوری نمونه

کاشت بذرها ۱۹ اکسشن آویشن کوهی جمع آوری شده از رویشگاه های مختلف استان های آذربایجان غربی، لرستان، کردستان، زنجان، قزوین، تهران و کرمان در نیمه دوم دی ماه ۱۳۸۶ در داخل جی فی پات در گلخانه مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان یزد انجام شد و بعد از حدود ۲/۵ ماه هنگامی که نشاءها ۱۲-۱۰ برگی بودند به گلدان های پلاستیکی و بعد از یک ماه به زمین اصلی در ایستگاه تحقیقات گیاهان دارویی منتقل شدند. پس از کاشت در سال دوم از سرشاخه های ۳ تا ۵ بوته گیاه هنگام ۵۰٪

کردند. بازده اسانس در نمونه های مزرعه بیشتر از نمونه های گلخانه بود ولی درصد ترکیب های تیمول و کارواکرول در نمونه های مزرعه کاهش یافت. ترکیب های عمده شناسایی شده شامل تیمول، کارواکرول و پارا-سیمن می باشند. بالاترین درصد تیمول و پارا-سیمن در جمعیت آذربایجان شرقی و بالاترین درصد کارواکرول در جمعیت سیراچال بدست آمد.

نتایج تأثیر ارتفاع بر اسانس و ترکیب های دارویی آویشن کوهی (*T. kotschyanus*) در منطقه طالقان نشان داد که اسانس بدست آمده در ارتفاعات ۱۸۰۰، ۲۰۰۰، ۲۲۰۰، ۲۴۰۰، ۲۶۰۰ و ۲۸۰۰ متر به ترتیب ۲/۵۶، ۲/۲۷، ۲/۵، ۱/۹۲، ۱/۳۹ و ۱/۳۳ درصد بود که بیشترین آن متعلق به ارتفاع ۱۸۰۰ متر (۲/۵۶٪) و کمترین آن به ۲۸۰۰ متری (۱/۳۳٪) و از نظر ترکیب های اسانس بیشترین مقدار لینالول مربوط به ارتفاع ۲۸۰۰ متری و کمترین آن به ۱۸۰۰ متری (۱/۹٪) تعلق داشت (Habibi et al., 2006).

شناسایی ترکیب های شیمیایی در اسانس ۱۰ توده از *T. eriocalyx* منجر به شناسایی ۹ کموتیپ برای گونه مورد مطالعه گردید که ۷ کموتیپ از آنها به عنوان کموتیپ های جدید برای این گونه معرفی می شوند: ۱- ژرانیول/ژرانیل استات، ۲- ژرانیول، ۳- لینالول/ژرانیول/ژرانیل استات، ۴- لینالول، ۵- آلفا-تریپنئول/۸،۱-سینئول، ۶- ژرانیل استات، ۷- ژرانیول/تیمول/بورتئول/۸،۱-سینئول، ۸- تیمول/لیمونن و ۹- تیمول/پاراسیمن/بورتئول (Kalvandi et al., 2014).

مطالعه کموتیپ های اسانس گونه *T. pubescens* از پنج منطقه استان آذربایجان شرقی در مرحله گلدهی انجام شد. نتایج نشان داد در کموتیپ اول ترکیب های پارا-سیمن (۴/۳٪)، ان نونال (۹/۸٪)، متیل اتر تیمول (۱۰/۶٪)، تیمول (۳۰/۹٪) و تیمول استات (۱۳/۵٪) و در ترکیب کموتیپ دوم پارا-سیمن (۴/۱٪)، گاما-تریپن (۶/۲٪) و کارواکرول (۸۲/۱٪) و در ترکیب کموتیپ سوم پارا-سیمن (۱/۶-۷/۲٪)، گاما-تریپن (۲/۲-۶/۵٪)، کارواکرول (۳/۷-۲۵/۴٪) و تیمول (۲۷/۶-۶۵/۰۶٪) ترکیب اصلی هستند (Imani et al., 2015).

گلدهی برداشت انجام شد و نمونه‌ها در سایه خشک گردیدند، پس از تعیین بازدهی اسانس براساس وزن خشک گیاه، اسانس‌ها به وسیله GC و GC/MS تجزیه و شناسایی ترکیب اسانس‌ها انجام شد.

جدول ۱- مشخصات اکسشن‌های مختلف آویشن کوهی کشت شده در یزد

کد	محل جمع‌آوری	شهرستان	ارتفاع	عرض جغرافیایی	طول جغرافیایی
TK1	قزوین	قزوین	۱۵۰۰	۳۶ ۲۹ ۰۰	۴۹ ۲۳ ۰۰
TK 2	قزوین	قزوین	۲۰۰۰	۳۶ ۳۴ ۰۰	۴۹ ۵۵ ۰۰
TK 3	زنجان	نامعلوم	-	-	-
TK 4	زنجان	نامعلوم	-	-	-
TK 5	آذربایجان غربی	نامعلوم	-	-	-
TK 6	زنجان	نامعلوم	-	-	-
TK 7	آذربایجان غربی	نامعلوم	-	-	-
TK 8	کردستان	سندج	۲۴۰۰	۳۵ ۲۵ ۰۰	۴۶ ۵۲ ۰۰
TK 9	قزوین	قزوین	۱۵۰۰	۳۶ ۲۶ ۰۰	۵۰ ۰۷ ۰۰
TK 10	کردستان	دیواندره	۲۴۰۰	۳۵ ۵۵ ۰۰	۴۶ ۴۰ ۰۰
TK 11	قزوین	نامعلوم	۱۸۰۰	۳۶ ۳۴ ۰۰	۴۹ ۲۰ ۰۰
TK 12	لرستان	الیگودرز	۱۷۰۰	۳۳ ۰۷ ۰۳	۴۹ ۲۴ ۴۳
TK 13	زنجان	نامعلوم	-	-	-
TK 14	تهران	نامعلوم	-	-	-
TK 15	آذربایجان غربی	نقده	۱۳۸۹	۳۶ ۵۵ ۱۲	۴۵ ۲۲ ۴۵
TK 16	کرمان	زرند	۲۴۰۰	۳۰ ۵۴ ۲۵	۵۶ ۴۷ ۳۵
TK 17	کردستان	سندج	۲۴۰۰	۳۵ ۳۱ ۰۰	۴۶ ۵۲ ۰۰
TK 18	آذربایجان غربی	ارومیه	۱۵۲۴	۳۷ ۵۷ ۳۴	۴۴ ۵۷ ۶۰
TK 19	آذربایجان غربی	ارومیه	۱۴۸۷	۳۷ ۱۷ ۸۰	۴۵ ۰۷ ۱۴

استخراج اسانس

اسانس‌گیری از ۱۰۰ گرم نمونه گیاهی خشک شده، به روش تقطیر با آب و به کمک دستگاه کلونجر انجام شد. اسانس‌ها تا زمان تزریق به دستگاه‌های آنالیز GC و GC/MS در یخچال نگهداری شدند.

تجزیه با دستگاه کروماتوگرافی گازی (GC)

دستگاه کروماتوگراف گازی الگوی Thermo-UFM (Ultra Fast Model) ساخت کشور ایتالیا و داده‌پرداز

Chrom-Card A/D مورد استفاده قرار گرفت. ستون موئینه با نام تجارتنی Ph-5 (غیرقطبی) ساخت شرکت Thermo به طول ۱۰ متر و قطر داخلی ۰/۱ میلی‌متر به ضخامت ۰/۴ میکرومتر بود، که سطح داخلی آن با فاز ساکن از جنس 5% Dimethyl siloxane phenyl پوشیده شده‌بود. 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.

منشأ استان زنجان بود. از نظر میزان تولید اسانس در هر هکتار به ترتیب بیشترین میزان اسانس مربوط به اکسشن‌های TK5 (۳۸/۳kg/ha) با منشأ استان آذربایجان غربی، TK7 (۳۶/۳۷kg/ha) و TK12 (۳۶/۱۰kg/ha) و کمترین مقدار آن به اکسشن TK1 (۱/۳kg/ha) با منشأ استان قزوین تعلق داشت.

حداکثر میزان ترکیب‌های عمده اسانس پارا-سیمن، ۸،۱-سینئول، گاما-ترپینن، بورنتول، تیمول، کارواکرول، لینالول و ترانس کاریوفیلین به ترتیب مربوط به اکسشن‌های TK15 (۲۸/۵٪)، TK18 (۲۵/۲٪)، TK7 (۱۱/۹٪)، TK20 (۷/۷٪)، TK14 (۴۵/۶٪) و TK20 (۲/۵٪) و بیشترین تعداد ترکیب مربوط به اکسشن TK17 با ۲۸ ترکیب بود. البته میزان پارا-سیمن از ۰/۱٪ تا ۲۸/۵٪ متغیر بود. به طوری که بیشترین درصد پارا-سیمن در اکسشن TK13 با منشأ استان زنجان و کمترین درصد پارا-سیمن در اکسشن TK8 با منشأ استان کردستان بدست آمد. اکسشن TK10 فاقد پارا-سیمن بود.

میزان ۸،۱-سینئول از ۰/۹٪ تا ۲۵/۲٪ متغیر بود. به طوری که بیشترین درصد ۸،۱-سینئول در اکسشن TK16 با منشأ استان کرمان و کمترین درصد ۸،۱-سینئول در اکسشن TK8 با منشأ استان کردستان استخراج شد. اکسشن‌های TK9 و TK13 فاقد ۸،۱-سینئول بودند.

میزان گاما-ترپینن از ۰/۹٪ تا ۱۱/۹٪ متغیر بود. به نحوی که بیشترین درصد گاما-ترپینن در اکسشن‌های TK5 و TK16 به ترتیب با منشأ استان آذربایجان غربی و زنجان و کمترین درصد گاما-ترپینن در اکسشن TK17 با منشأ استان کردستان استخراج گردید. اکسشن‌های TK8، TK10 و TK12 فاقد گاما-ترپینن بودند.

میزان بورنتول از ۰/۲٪ تا ۷/۷٪ متغیر بود. به طوری که بیشترین درصد بورنتول در اکسشن TK7 با منشأ استان آذربایجان غربی و کمترین درصد بورنتول در اکسشن TK10 با منشأ استان کردستان مشاهده گردید.

نوع آشکارساز از نوع FID و از گاز هلیوم به عنوان گاز حامل که فشار ورودی آن به ستون برابر ۰/۵ کیلوگرم بر سانتی مترمربع تنظیم شده بود، استفاده گردید. دمای محفظه آشکارساز ۲۹۰ درجه سانتی‌گراد و درجه حرارت محفظه تزریق ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد.

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

دستگاه کروماتوگراف گازی الگوی Varian 3400 متصل به طیف‌سنج جرمی Saturn II، با سیستم تله‌یونی و با انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت دارای ستون DB-5 (به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه فاز ساکن برابر ۰/۲۵ میکرون) بود. 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 ترانسفرلاین ۲۷۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد.

شناسایی طیف‌ها به کمک شاخص‌های بازداری آنها و با تزریق هیدروکربن‌های نرمال (C₇-C₂₅) در شرایط یکسان با تزریق اسانس‌ها و توسط برنامه رایانه‌ای و به زبان بیسیک محاسبه شد. همچنین مقایسه آنها با منابع مختلف از جمله Adams (۱۹۸۹)، Davis (۱۹۹۰) و Shibamoto (۱۹۸۷) با استفاده از طیف‌های جرمی ترکیب‌های استاندارد و اطلاعات موجود در کتابخانه دستگاه GC/MS انجام شد.

نتایج

بررسی بعمل آمده نشان داد که از ۱۹ اکسشن کشت شده از نظر بازده اسانس بیشترین درصد اسانس در زمان گلدهی گیاه مربوط به اکسشن‌های TK7 (۳/۴۲٪) با منشأ استان آذربایجان غربی، TK12 (۳/۲۲٪) با منشأ استان کردستان، TK17 (۲/۶۶٪) با منشأ استان کردستان و کمترین مقدار آن مربوط به اکسشن TK6 (۰/۷۹٪) با

اکسشن TK17 با منشأ استان کردستان مشاهده گردید. اکسشن TK7 فاقد ترانس کاربوفیلین بود. تیمول در ۵ اکسشن TK2 (۵۲/۶٪)، TK4 (۵۹/۳٪)، TK6 (۵۶/۱٪)، TK18 (۶۰٪) و TK19 (۵۷/۷٪) کارواکرویل در ۴ اکسشن TK1 (۵۱/۱٪)، TK2 (۶۰/۹٪)، TK7 (۶۳/۸٪) و TK17 (۵۹/۷٪) و ژرانیول در دو اکسشن TK8 و TK9 و لینالول در اکسشن TK12 به صورت ترکیب غالب مشاهده شدند (جدول‌های ۱ و ۲). نتایج تجزیه خوشه‌ای اکسشن‌ها براساس یازده ترکیب عمده تشکیل‌دهنده اسانس سه کموتیپ غنی از تیمول-پاراسیم (TK2, TK6, TK13, TK16, TK18, TK19)، کارواکرویل-تیمول (TK1, TK3, TK4, TK5, TK7, TK11, TK14, TK15, TK17) و ژرانیول-لینالول (TK8, TK9, TK10, TK12) را نشان می‌دهد. نزدیکترین خویشاوندی به ترتیب بین اکسشن TK3 از استان زنجان و اکسشن TK11 از استان قزوین، اکسشن TK2 از استان قزوین و اکسشن TK19 از استان آذربایجان غربی، اکسشن TK6 از استان زنجان و اکسشن TK18 از استان آذربایجان غربی مشاهده شد که دلیل آن می‌تواند نزدیکی رویشگاه‌ها به هم باشد. دورترین خویشاوندی بین اکسشن‌ها بین اکسشن TK1 از استان قزوین و اکسشن TK12 از استان لرستان مشاهده شد (جدول ۲ و شکل ۱). بنابراین با در نظر گرفتن بازده اسانس، میزان تولید و ترکیب شیمیایی تشکیل‌دهنده اسانس، اکسشن TK7 با منشأ استان آذربایجان غربی با ۳/۴۲٪ اسانس و میزان اسانس ۳۶/۴ کیلوگرم در هر هکتار و ۶۳/۸٪ کارواکرویل، اکسشن TK14 با منشأ استان تهران با ۲/۲٪ اسانس و میزان تولید اسانس ۳۵/۵ کیلوگرم در هر هکتار و ۴۷/۲٪ کارواکرویل و تیمول، اکسشن TK5 با منشأ آذربایجان غربی با ۲/۴٪ اسانس و میزان تولید ۳۸/۳ کیلوگرم در هر هکتار اسانس و ۵۷٪ تیمول و کارواکرویل به عنوان اکسشن‌های برتر گونه *Thymus kotschyanus* معرفی می‌شوند (جدول‌های ۱ و ۲).

میزان تیمول از ۰/۷٪ تا ۶۰٪ متغیر بود. بیشترین درصد تیمول در اکسشن TK18 و کمترین درصد تیمول در اکسشن TK7 هر دو با منشأ استان آذربایجان غربی استخراج شد.

میزان کارواکرویل از ۰/۱٪ تا ۶۳/۱٪ متغیر بود. بیشترین درصد کارواکرویل در اکسشن TK7 و کمترین درصد کارواکرویل در اکسشن TK15 هر دو با منشأ استان آذربایجان غربی مشاهده گردید. البته اکسشن TK10 فاقد کارواکرویل بود.

میزان ژرانیول از ۴٪ تا ۷۷٪ متغیر بود. بیشترین درصد ژرانیول در اکسشن TK8 با منشأ استان کردستان و کمترین درصد ژرانیول در اکسشن TK3 با منشأ استان زنجان مشاهده گردید. ژرانیول فقط در اکسشن‌های TK3, TK8, TK9, TK10, TK11, TK12 و TK17 مشاهده گردید.

میزان لیمونن از ۰/۴٪ تا ۱۱/۱٪ متغیر بود. بیشترین میزان لیمونن در اکسشن TK15 با منشأ استان آذربایجان غربی و کمترین میزان لیمونن در اکسشن TK8 با منشأ استان کردستان مشاهده گردید. البته لیمونن در ۸ اکسشن مشاهده شد.

میزان لینالول از ۰/۳٪ تا ۴۵/۶٪ متغیر بود. بیشترین درصد لینالول در اکسشن TK12 با منشأ استان لرستان و کمترین درصد لینالول در اکسشن TK5 با منشأ استان آذربایجان غربی استخراج گردید. اکسشن TK7 فاقد لینالول بود.

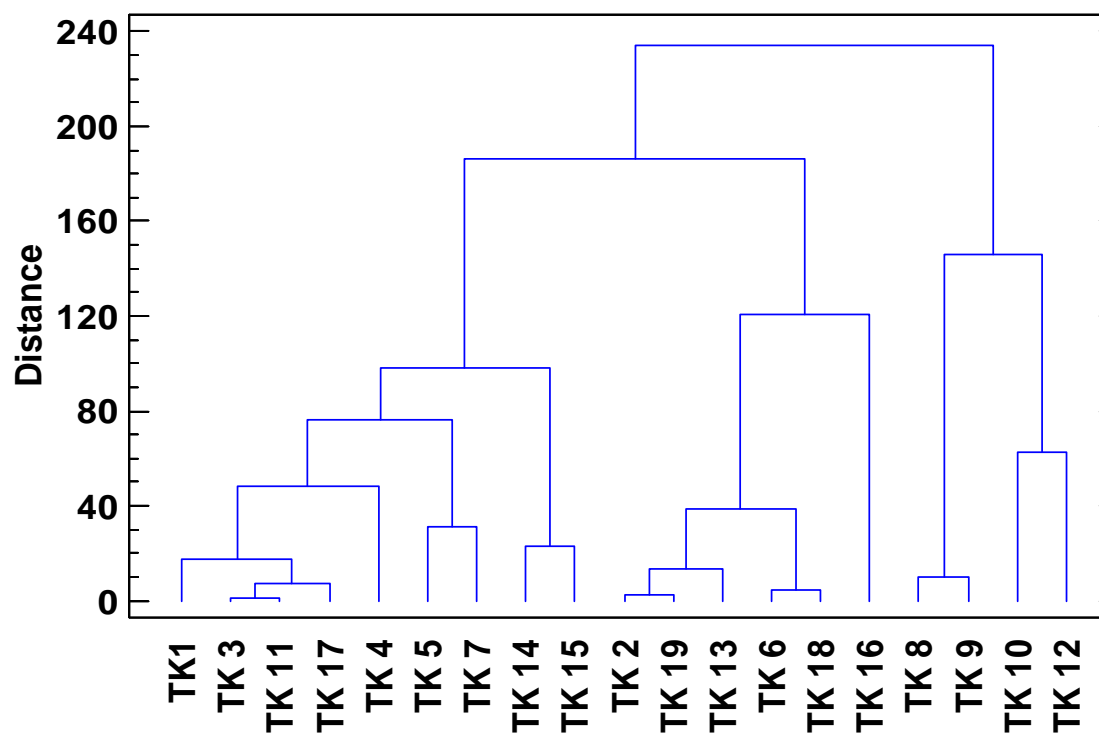
میزان ژرانیول استات از ۲/۶٪ تا ۳۸/۶٪ متغیر بود. بیشترین درصد ژرانیول استات در اکسشن TK10 و کمترین درصد ژرانیول استات در اکسشن TK8 هر دو با منشأ استان کردستان مشاهده گردید. ژرانیول استات فقط در سه اکسشن TK8, TK9 و TK10 مشاهده شد.

میزان ترانس کاربوفیلین از ۰/۳٪ تا ۲/۵٪ متغیر بود. بیشترین میزان ترانس کاربوفیلین در اکسشن TK18 با منشأ استان آذربایجان غربی و کمترین درصد آن در

جدول ۲- بازده، میزان تولید و درصد اجزای تشکیل دهنده اسانس اکسشن‌های مختلف آویشن کوهی کشت شده در یزد

میزان تولید اسانس (kg/h)	بازده اسانس	E-caryophyllene	geranyl acetat	linanlool	limonene	geraniol	carvacrol	thymol	borneol	γ -terpinene	1,8-cineole	-cymene	کد اکسشن‌ها
-	-	۱۴۹۴	۱۳۷۶	۱۱۰۸	۱۰۵۴	۱۲۷۳	۱۳۳۱	۱۳۱۵	۱۲۱۷	۱۰۸۱	۱۰۵۸	۱۰۴۴	شاخص بازداري
۱/۱۰	۲/۴۰	۰/۸	-	۱/۶	۱/۹	-	۵۱/۱	۳/۳	۶/۲	۴/۹	۷/۰	۵/۶	TK1
۱۸/۰۵	۱/۸۴	۰/۴	-	۰/۶	-	۴/۰	۶۰/۹	۴/۰	۲/۸	۴/۹	۱/۵	۸/۸	TK3
۲۳/۶۸	۱/۹۳	۰/۴	-	۰/۸	-	-	۷/۸	۵۹/۳	۷/۲	۱/۱	۱/۹	۵/۶	TK4
۳۸/۳۰	۲/۴۰	۲/۳	-	۰/۳	-	-	۳۰/۰	۲۷/۹	۴/۰	۱۱/۹	۴/۴	۱۰/۰	TK5
۳۶/۳۷	۳/۴۲	۱/۹	-	-	-	-	۶۳/۸	۰/۹	۷/۷	۲/۵	۵/۷	۵/۰	TK7
۲۴/۲۵	۱/۶۹	۰/۸	-	۱/۴	-	۱۵/۳	۴۱/۲	۶/۵	۴/۱	۶/۳	۲/۴	۸/۸	TK11
۳۵/۵۰	۲/۲۰	۲/۳	-	۰/۴	۸/۶	-	۳۹/۵	۷/۷	۳/۸	۲/۸	۶/۳	۳/۱	TK14
۱۰/۸۸	۱/۹۴	۱/۵	-	۹/۶	۱۱/۱	-	۰/۲	۰/۷	۶/۰	۳/۲	۴/۱	۱/۱	TK15
۱۹/۹۲	۲/۶۶	۰/۳	-	۰/۳	-	۴/۴	۵۹/۶	۱۱/۷	۳/۶	۰/۹	۲/۲	۶/۳	TK17
۲۳/۱۱	۲/۲۷	۰/۹۸	-	۱/۶۶	۲/۴	۲/۶	۳۹/۳۴	۱۳/۵	۵/۰۴	۴/۲۷	۳/۹۴	۶/۰۳	mean
۱۶/۳۰	۲/۶۴	۲/۵	۲/۷	۰/۶	۰/۴	۷۷/۰	۱/۴	۱/۲	۱/۶	-	۰/۹	۰/۱	TK8
۱۰/۰۰	۱/۳۲	۱/۸	۳/۰	۱/۳	۰/۶	۶۰/۱	۹/۴	۵/۴	۰/۲	۱/۵	-	۲/۸	TK9
۳۶/۰۰	۲/۳۸	۱/۲	۳۸/۶	۱۹/۶	۳/۲	۱۸/۱	-	۰/۹	۰/۲	-	۵/۳	-	TK10
۳۶/۱۰	۳/۲۲	۰/۷	-	۴۵/۶	۱/۰	۱۸.۱	۵/۳	۱/۱	۱/۱	-	۲/۵	۲/۳	TK12
۲۴/۶	۲/۳۸۵	۱/۵۵	۱۱/۱	۱۶/۸	۳/۵۵	۳۵/۳	۴/۰۲۵	۲/۱۵	۴/۰۷۵	۰/۳۷۵	۲/۱۷۵	۱/۳	mean
۱۷/۷۰	۱/۹۰	۲/۰	-	۲/۰	-	-	۶/۵	۵۲/۶	۱/۳	۸/۴	۱/۷	۱۷/۶	TK2
۵/۹۱	۰/۷۹	۱/۷	-	۰/۷	۲/۴	-	۱۰/۱	۵۶/۲	۴/۶	۳/۹	۲/۴	۶/۱	TK6
۱۴/۳۸	۱/۵۶	۱/۸	-	۱/۴	-	-	۸/۶	۴۴/۷	۱/۱	۷/۱	-	۲۸/۵	TK13
۷/۶۰	۱/۰۰	۱/۶	-	۰/۸	-	-	۹/۵	۱۵/۷	۵/۶	۱۱/۹	۲۵/۲	۱۲/۶	TK16
۳/۰۰	۱/۹۰	۲/۵	-	۱/۵	-	-	۹/۶	۶۰/۰	۱/۵	۳/۷	۱/۲	۱۳/۲	TK18
۱۱/۳۸	۲/۰۱	۱/۱	-	۰/۵	-	-	۷/۹	۵۷/۷	۲/۰	۵/۹	۱/۶	۱۳/۱	TK19
۵۹/۹۷	۱/۳۵	۱/۷۷	-	۱/۱۴	۱/۱۴	-	۸/۷	۴۷/۰۷	۲/۶۸	۶/۸۱	۵/۳۴	۱۵/۱۸	mean

Dendrogram
Ward's Method, Squared Euclidean



شکل ۱- دندروگرام تجزیه خوشه‌ای اکسشن‌های مختلف آویشن کوهی کشت شده در یزد براساس نوع و میزان ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس

بحث

مقایسه بازده اسانس بین اکسشن TK7 که دارای بیشترین درصد اسانس (۳/۴۲٪) و اکسشن TK6 که دارای کمترین میزان درصد اسانس است، حکایت از این دارد که اکسشن برتر ۴/۳ برابر اکسشن TK6 دارای اسانس می باشد. از نظر میزان تولید اسانس در هکتار، اکسشن برتر TK5 با ۳۸/۳ کیلوگرم در هکتار بیشترین میزان تولید اسانس را داشت و نسبت به اکسشن TK1 با ۱/۱۳ کیلوگرم در هکتار (با کمترین میزان تولید اسانس) ۳۳/۹ برابر تولید اسانس آن می باشد.

تمام اکسشن ها دارای ترکیب تیمول بودند. میزان تیمول از ۶۰٪ تا ۰/۷٪ متغیر بود. بیشترین تیمول در اکسشن TK18 و کمترین درصد در اکسشن TK15 بدست آمد. همه اکسشن ها بجز اکسشن TK10 دارای کارواکرول بودند، این اکسشن دارای ۳۸/۶٪ استات ژرانیل بود. در اغلب اکسشن ها بیشترین درصد مواد تشکیل دهنده اسانس را تیمول و کارواکرول تشکیل می دهند، به طوری که میانگین درصد تیمول و کارواکرول در ۱۹ اکسشن به ترتیب ۲۱/۹٪ و ۲۰/۵٪ بود. به طور کلی بین اکسشن های گونه *T. kotschyanus* از نظر بازده، میزان تولید و مواد تشکیل دهنده اسانس تغییرات و تنوع زیادی وجود دارد که به علت تنوع ژنتیکی اکسشن ها در اقلیم های متفاوت رویشگاهی آنها می باشد که با نتایج تحقیقات Marotti و همکاران (۱۹۹۳) مطابقت دارد. مقایسه ترکیب های موجود در اکسشن های مختلف بیانگر تغییرات زیادی در ترکیب شیمیایی اسانس این گیاهان می باشد که این تغییرات می تواند خواص و کاربرد آنها را تحت تأثیر قرار دهد. براساس تحقیقات انجام شده ترکیب های تیمول و کارواکرول دارای اثر ضد میکروبی قابل ملاحظه ای هستند (Farag et al., 1989). در اکسشن های TK17, TK14, TK13, TK11, TK19, TK18, TK1, TK2, TK3, TK4, TK5, TK6, TK7 و TK8 مجموع ترکیب های فنلی تیمول و کارواکرول بیشتر از

سایر اکسشن ها بود، به همین دلیل اثر ضد میکروبی آنها بیشتر از بقیه اکسشن ها می باشد. در نهایت می توان با توجه به اهمیت بازده اسانس، درصد تیمول یا کارواکرول و یا درصد دیگر ترکیب های عمده، اکسشن مورد نظر را انتخاب کرد. ترکیب ژرانیل و ژرانیل استات جزء ترکیب های عمده اسانس اکسشن های TK8, TK9, TK10, TK12 هستند که این دو ترکیب باعث بوی مطبوعی در اسانس آویشن می شوند که می توان در خوشبوکننده از آنها استفاده کرد. مقایسه ترکیب های عمده شناسایی شده توسط Pirigharnaei و همکاران (۲۰۱۲) از نظر میزان تیمول و کارواکرول با ترکیب های شناسایی شده در اکسشن TK2 با منشأ استان قزوین مشابهت دارد. البته میزان بازده اسانس استخراج شده از نمونه رویشگاهی آویشن کوهی توسط Sefidkon و Askari (۲۰۰۲) از تمام اکسشن های کشت شده کمتر بود. ترکیب های شناسایی شده توسط Nickvar و همکاران (۲۰۰۴) با ترکیب های اکسشن TK5 از استان آذربایجان غربی مطابقت دارد. ترکیب های شناسایی شده توسط Nazari (۲۰۱۱) با ترکیب های اکسشن TK12 از استان لرستان مطابقت دارد.

مقایسه ترکیب های عمده شناسایی شده اسانس گونه *T. kotschyanus* در ۸ رویشگاه واقع در ۴ استان کشور توسط Mirza و همکاران (۲۰۱۵) از نظر نوع ترکیب ها بجز آلفا-ترپینیل استات و آلفا-ترپینول با ترکیب های شناسایی شده در این تحقیق مشابه هستند ولی از نظر میزان ترکیب ها با هم تفاوت دارند. مقایسه کموتیپ های شناسایی شده در اسانس ۱۰ توده از *T. eriocalyx* توسط Kalvandi و همکاران (۲۰۱۴) و کموتیپ های اسانس گونه *T. pubescens* از پنج منطقه استان آذربایجان شرقی توسط Imani و همکاران (۲۰۱۵) با کموتیپ های شناسایی شده در این تحقیق مطابقت ندارند که دلیل آن تفاوت بین گونه ای می باشد.

Thymus pubescens Boiss. et Kotschy ex Celak based on essential oil compounds in E-Azerbaijan province. Iranian Medicinal and Aromatic Plants Research, 31(3): 396-405.

- Kalvandi, R., Mirza, M., Atri, M., Hesamzadeh Hejazi, M., Jamzad, Z. and Safikhani, K., 2014. Introduction of seven new chemotypes of *Thymus eriocalyx* (Ronniger) Jalas in Iran based upon the variation of essential oil composition in different populations. Iranian Medicinal and Aromatic Plants Research, 30(1): 101-122.
 - Marotti, M., Dellacecca, V., Piccaglia, R. and Glovanelli, E., 1993. Agronomic and chemical evaluation of three varieties of *foeniculum vulgare* mill. Acta Horticulture, 331: 63-69.
 - Mehrpour, S., Sefidkon, F., Mirzaie-Nodousham, H. and Majed, A., 2004. Comparison of essential oil of four *Thymus kotschyanus* population in greenhouse and field cultivation. Iranian Medicinal and Aromatic Plants Research, 20: 159-169.
 - Mirza, M., Najafpour Navaie, M. and Allahverdie Mamghany, B., 2015. Phytochemical investigation in different population of *Thymus kotschyanus* in Iran. Journal Eco-Phytochemical of Medicinal Plants, 4(3): 35-41.
 - Nazari, F., Shaabani, S. and Khiry, H., 2011. Analysis of essential oil of *Thymus kotschyanus* from Iran. Journal of Plant Medica, 77.
 - Nickvar, B., Farza, F. and Dolat-Abadi, R., 2004. Analysis of the essential oil of two *Thymus* species from Iran. Food chemistry, 90: 609-611.
 - Pirigharhaei, M., 2012. Determination and comparing of essential oil components in wild and cultivated population of *Thymus kotschyanus*. African Journal of Plant Science, 6(12): 89-95.
 - Sefidkon, F. and Askari, F., 2002. Essential oil composition of 5 *Thymus* species. Iranian Medicinal and Aromatic Plants Research, 12: 29-51.
 - Shibamoto, T., 1987. Retention indices in essential oil analysis: 259-274. In: Sandra, P. and Bicchi, C., (Eds.). Capillary Gas Chromatography in Essential Oil Analysis. Huethig, Verlag, New York, 435p.
- منابع مورد استفاده**
- جمزاد، ز.، ۱۳۸۸. آویشن‌ها و مرزه‌های ایران. انتشارات مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، ۱۷۱ صفحه.
 - زارع‌زاده، ع.، ۱۳۸۴. گزارش نهایی کلکسیون گیاهان دارویی استان یزد. مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان یزد، ۲۵۳ صفحه.
 - قهرمان، ا.، ۱۳۸۶. فلور رنگی ایران، جلد ۲۶۱. انتشارات مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور.
 - مظفریان، و.، ۱۳۷۹. فلور استان یزد. مؤسسه انتشارات یزد، ۴۷۳ صفحه.
 - Adams, R.P., 1989. Identification of Essential Oil by Ion Trap Mass Spectroscopy. Academic Press New York, 302p.
 - Davis, N.W., 1990. Gas chromatographic retention indices of monoterpenes and sesquiterpenes on methyl silicone and carbowax 20M phaseses. Journal of Chromatography, 503: 1-24.
 - Farag, R.S., Badei, A.Z.M.A. and Elbaroty, G.S.A., 1989. Influence of Thyme and-clove essential oil on cotton seed oil oxidation. Journal of the American Oil Chemists, Society, 66(6): 800-804.
 - Haam, A.B.D., 1991. Supercritical Fluid. Extraction of Liquid Hydrocarbon Mixtures P.H.D Dissertation, Delft University of Technology, Faculty of Cheimcal Technology and Materials Science.
 - Habibi, H., Mazaheri, D., Majnoon Hosseini, N., Chaechi, M., Bigdeli, M. and Fakhr-Tabatabaee. M., 2006. Effect of altitude on essential oil and components in wild thyme (*Thymus kotschyanus* Boiss.) Taleghan region. Pajouhesh & Sazandegi, 19(4): 2-10.
 - Janssen, A.M., Scheffer, J.J.C. and Svendsen, A.B., 1987. Antimicrobial activity of essential oils: a 1976-1986 literature review. Planta Medica, 53(5): 395-397.
 - Imani, Y., Razban Haghighi, A., Sefidkon, F. and Naderi, M., 2015. Investigation on chemotypes of

Study on essential oil quantity and quality of *Thymus kotschyanus* Boiss. & Hohen. cultivated in Yazd, Iran

A. Zarezadeh^{1*}, A. Mirhossaini², M. Mirza³, Z. Jamzad³ and M.R. Arabzadeh²

1*- Corresponding author, Yazd Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Yazd, Iran, E-mail: azrshafie@yahoo.com

2- Yazd Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Yazd, Iran

3- Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran

Received: October 2012

Revised: June 2016

Accepted: June 2016

Abstract

Thymus kotschyanus Boiss. & Hohen. is a perennial medicinal shrub growing wild in some regions of Iran including Yazd province. This research was carried out in order to analyze oil quantity and quality of cultivated *Thymus kotschyanus* in the Medicinal Plants Farm, Yazd, Iran. The seeds of 19 accessions collected from natural habitats were sown in a greenhouse and the seedlings were planted in the farm. Shoots were harvested at 50% flowering stage in the second year and dried under shadow. Essential oil was extracted with water distillation method and oil components were identified after determining oil content. The highest amounts of oil content respectively were related to accessions TK7 (3.42%), TK12 (3.22%), TK17 (2.66%) and the lowest amount was observed in accession TK6 (0.79%). The highest amounts of oil production respectively were recorded in accessions TK5 (38.3kg/ha), TK7 (36.4kg/ha) and TK12 (36.1 kg/ha) and the lowest amount was related to TK1 (1.3 kg/ha). Cluster analysis based on eleven oil components classified the accessions into three groups. The first group, (TK2, TK6, TK13, TK18, TK16, TK19), was rich for thymol-p-cymene, the second group (TK1, TK3, TK4, TK5, TK7, TK11, TK14, TK15, TK17) for carvacrol-thymol and the 3rd group (TK8, TK9, TK10, TK12) was rich for Geraniol-linalool. In general, accessions TK7, with 3.42% oil content, 36.4 kg/ha oil production and 63.8% carvacrol; TK14, with 2.2% oil content 35.5 kg/ha oil production and 47.2% carvacrol and thymol, TK5 with 2.4% oil content, 38.3 kg/ha oil production and 57% thymol and carvacrol are proposed as superior accessions.

Keywords: *Thymus kotschyanus* Boiss. & Hohen., accession, thymol, carvacrol, Yazd.