

## بررسی کمیت و کیفیت مواد موثره اسانس شش گونه از جنس *Thymus* در مرحله گلدهی

زهرا کریمی\*<sup>۱</sup>، سعداله هوشمند<sup>۲</sup>، عبدالرحمن محمدخانی<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup> دانشجوی کارشناسی ارشد اصلاح نباتات، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

<sup>۲</sup> استاد، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

<sup>۳</sup> دانشیار، گروه علوم باغبانی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

تاریخ دریافت: ۹۵/۴/۲۶؛ تاریخ پذیرش: ۹۵/۸/۱

### چکیده

آویشن گیاهی معطر متعلق به تیره نعنا که به دلیل سنتز متابولیت‌های ثانویه تیمول و کارواکرول مصارف گسترده دارویی دارد. این تحقیق به منظور بررسی اجزای اسانس و عملکرد اسانس شش گونه از آویشن: *T. kotschyanus*, *T. daenensis*, *T. trautvetterii* و *T. transcaucasicus*, *T. vulgaris*, *T. migricus* در دانشگاه شهرکرد انجام گرفت. سرشاخه‌های گلدار گونه‌ها در مرحله گلدهی کامل از فاصله پنج سانتی متری سطح خاک برداشت و به روش تقطیر با آب (طرح کلونجر) اسانس‌گیری و ترکیب‌های تشکیل دهنده اسانس توسط دستگاه GC/MS شناسایی گردید. نتایج تجزیه واریانس تاثیر معنی‌دار ( $p < 0.05$ ) تیمار بر روی حجم و وزن اسانس نشان داد. آویشن باغی از بیشترین مقدار حجم اسانس (۰/۲۸ میلی‌لیتر) و وزن (۰/۲۷ گرم) برخوردار است. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که گونه *T. trautvetterii* دارای بیشترین بازده اسانس (۱/۱ درصد)، بیشترین میزان درصد حجمی اسانس متعلق به گونه *T. migricus* و معادل ۱/۰۲ بود. با بررسی ترکیبات اسانس بیشترین مقدار پارا-سیمین (۱۹/۴۶ درصد) و گاما- ترپینن (۱۴/۱۷ درصد) متعلق به گونه *T. vulgaris*، بیشترین میزان تیمول (۶۰/۴۳ درصد) در گونه *T. daenensis*، کارواکرول (۶/۹۵ درصد) در گونه *T. kotschyanus* و ژرانیول (۴۱/۳۸ درصد) در گونه *T. trautvetterii* مشاهده گردید. در حالی که بیشترین بازده تولید ترکیب‌های اسانس در گونه *T. kotschyanus* (۹۸/۵۲ درصد) مشاهده شد.

واژه‌های کلیدی: آویشن (*Thymus*)، اسانس، تیمول، کارواکرول

شامل *T. carmanicus*، *T. kotschyanus* و *T. pubescens* را مورد بررسی قرار دادند و بر اساس این مطالعه ترکیبات اصلی شناخته شده در این اسانس‌ها عبارتند از تیمول (۴۰/۸ درصد)، کارواکرول (۲۴/۸ درصد)، گاما-ترپینن، پارا-سیمین و بورنتول در اسانس *T. carmanicus* تیمول (۳۸ درصد)، کارواکرول (۱۴/۲ درصد)، ۱ و ۸-سینئول (۱۳/۲)، لینالول و پارا-سیمین در اسانس *T. kotschyanus* و تیمول (۳۷/۹ درصد)، کارواکرول (۱۴/۱ درصد)، پارا-سیمین (۱۳/۱ درصد)، گاما-ترپینن و لینالول در اسانس *T. pubescens* بود. در یک بررسی دیگر، افتخار و همکاران (Eftekhar et al., 2009)، اسانس و ترکیبات اصلی آویشن کرمانی را در مرحله گلدهی کامل مورد ارزیابی قرار دادند و میزان اسانس اندام هوایی خشک گیاه را ۲/۵ درصد و ترکیبات اصلی آن را کارواکرول (۶۸/۹ درصد)، پارا-سیمین (۶ درصد)، تیمول (۵/۳ درصد)، گاما-ترپینن (۴/۶ درصد) و بورنتول (۴ درصد) گزارش نمودند.

سفیدکن و دبیری (Sefidkon and Dabiri, 1999) در طی دو مطالعه جدا گانه به بررسی اسانس گونه *T. kotschyanus* پرداختند. بر اساس این مطالعات اسانس مذکور عمدتاً حاوی کارواکرول، تیمول، گاما-ترپینن، پارا-سیمین و بورنتول بود. همچنین در مطالعه سفیدکن و همکاران (Sefidkon et al., 2002) در طی دو مطالعه به بررسی اسانس گونه‌های *T. pubescens* و *T. Persicus* پرداختند. براساس این مطالعات اسانس گونه *T. pubescens* غنی از کارواکرول (۴۸/۸ درصد) و تیمول (۱۳/۹ درصد) بود. در حالی که اسانس گونه *T. Persicus* عمدتاً حاوی تیمول (۲۷/۱ درصد) و ژرانیول (۹/۴ درصد) بود.

در مطالعه شهنازی و همکاران (Shahnazi et al., 2007) در اسانس آویشن تالشی *T. trautvetterii* تعداد ۴۹ ترکیب را شناسایی کردند که در این میان

جنس آویشن (*Thymus*) متعلق به تیره نعناعیان (Lamiaceae)، حدوداً ۳۵۵ گونه در سطح دنیا دارد (Mahdavi et al., 2009). در ایران ۱۵ گونه از این جنس وجود دارد (Jamzad, 2009). که پنج گونه از آن‌ها شامل *T. carmanicus*، *T. lancifolius*، *T. daenensis*، *T. trautvetterii* و *persicus* انحصاری هستند (Rustaiee et al., 2011).

کارواکرول و تیمول از عمده‌ترین ترکیب‌های انواع گونه‌های آویشن که اکثر خواص دارویی آن به این دو ماده بر می‌گردد (Sefidkan and Asgari, 2002). این ترکیبات مونوترپنی فنلی دارای طیف وسیعی از فعالیت‌های ضدباکتریایی ضدقارچی و آنتی‌اکسیدانی هستند و به‌طور وسیعی در صنایع غذایی و داروسازی استفاده می‌شود (Vaiculytė and Loziene, 2015; Aznar et al., 2013).

از کاربردهای دارویی اسانس این گیاه می‌توان به داروهای تقویت‌کننده معده، نیرودهنده و ضدتشنج در رفع بیماری‌های مختلف دستگاه تنفسی، قاعده‌آور، رفع ضعف عمل دستگاه هضم، نفخ، ضعف عمومی، سیاه سرفه، سرفه‌های مزمن، ضد نفخ، ضداسپاسم، ضدسرفه و خلط آور و نیرو بخش و در درمان سرما خورگی اشاره نمود (Kalvandi et al., 2014; Keefover-Ring et al., 2009; Naghdibadi and Makizade, 2003; Omidbeigi, 1997; Zargari, 1984).

خواص دارویی گونه‌های جنس آویشن باعث شده است تا این گیاهان از معروفترین و متداولترین گیاهان در بین مردم سراسر دنیا باشند و به همین دلیل توجه خاص و روزافزونی به آنالیز ترکیبات فرار در اسانس آن‌ها شده است. تا کنون مطالعات متعددی در خصوص بررسی و تجزیه اسانس گونه‌های این جنس در ایران صورت گرفته است. روستایی و همکاران (Rustaiee et al., 2011) سه گونه از آویشن‌های ایران

دنایی را به ترتیب: تیمول (۷۳/۹ درصد)، کارواکرول (۶/۷ درصد)، پارا-سیمین (۴/۶ درصد)، بتا-بیزابولن (۱/۵ درصد)، ترپینن (۱/۴ درصد) و تعداد ترکیب‌های اسانس را ۴۳ ترکیب شناسایی کردند. در سال‌های اخیر به دلیل علاقه مردم به مصرف مواد طبیعی و نیز شیوع بیماری‌های گوارشی، تنفسی و انواع سرطان‌ها، تحقیقات گسترده‌ای برای استفاده از اسانس‌ها انجام گرفته است. مهمترین هدف از کشت گیاهان دارویی استفاده از مواد موثره و متابولیت‌های ثانویه آن‌ها می‌باشد. لازم است عوامل موثر در افزایش یا کاهش این مواد در گیاه مورد بررسی قرار گیرد. همچنین با توجه به عدم شفافیت در زمینه تاثیر گونه بر عملکرد و میزان مواد موثره و همچنین تفاوت مواد موثره در اسانس گونه‌های مختلف تحقیق حاضر با هدف تعیین اجزای اسانس و عملکرد اسانس در شش گونه دارویی ارزشمند آویشن—*T. daenensis*, *T. vulgaris*, *T. migricus*, *T. kotschyanus* و *T. Trautvetterii transcaucasicus* به مرحله اجرا گذاشته خواهد شد. امید آنکه این تحقیق بتواند برای پیشرفت تحقیقات بعدی مثمر ثمر باشد.

#### مواد و روش‌ها

در این آزمایش شش گونه آویشن *T. daenensis*, *T. vulgaris*, *T. migricus*, *T. kotschyanus* و *T. transcaucasicus* و *T. Trautvetterii* که بذور آن‌ها از بخش گیاهان دارویی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی اصفهان دریافت گردیده بود مورد ارزیابی قرار گرفتند. در این راستا در گلخانه دانشکده کشاورزی دانشگاه شهرکرد پس از کشت بذور در سینی کاشت و تولید گیاهچه، جهت یکنواختی ژنتیکی از هر گونه یک گیاهچه قوی به گلدان منتقل و پس از استقرار کامل در سال اول از آن قلمه‌گیری و تکثیر شد. در سال دوم بوته‌های حاصل

تیمول (۲۴/۴۳ درصد)، بورنئول (۱۱/۳۶ درصد)، پارا-سیمین (۱۰/۰۹ درصد)، گاما-ترپینن (۷/۷۸ درصد)، آلفا-پینن (۵/۲۹ درصد) و کارواکرول (۵/۰۷ درصد) بودند.

نژاد ابراهیمی و همکاران (NejadEbrahimi et al., 2008) در بررسی تاثیر مرحله رشد گیاه بر کمیّت و کیفیت اسانس آویشن کرمانی مشاهده نمودند بازده اسانس بسته به مرحله رشد گیاه بین ۱/۹ تا ۲/۵ درصد متغییر بود. ترکیب‌های اصلی در تمام نمونه‌ها، کارواکرول (۶۸/۹-۵۹/۹ درصد)، تیمول (۲/۴-۶/۰ درصد)، گاما-ترپینن (۴/۳-۸/۰ درصد)، پارا-سیمین (۳/۰-۸/۹ درصد) و بورنئول (۲/۳-۴/۰ درصد) بودند. همچنین در بررسی ترکیب شیمیایی اسانس آویشن کرمانی توسط مازندرانی و رضایی (Mazandarani and Rezaei, 2002) بازده اسانس ۰/۸۲ درصد به دست آمد و از میان ترکیبات شناسایی شده پولگون (۲۵/۳۷ درصد)، ۱، ۸-سینئول (۹/۴۷ درصد)، کاراکرول (۸/۹۴)، ترانس پارامنت (۸/۴۹ درصد)، وربنون (۸/۰۴ درصد)، بورنئول (۶/۳۷ درصد)، پارا-سیمین (۶/۱۳ درصد)، منتول (۵/۷۶ درصد) و تیمول (۳ درصد) بیشترین میزان از حجم اسانس را به خود اختصاص دادند.

در تحقیق انجام شده توسط ازکان و چالچات (Ozcan and Chalchat, 2004) ترکیب‌های اسانس آویشن باغی (*T. vulgaris*) نشان داد که: تیمول (۴۶/۲ درصد)، گاما-ترپینن (۱۴/۱ درصد)، پارا-سیمین (۹/۹ درصد)، لینالول (۴ درصد)، میرسین (۳/۵ درصد)، آلفا-پینن (۳ درصد) و آلفا توجن (۲/۸ درصد) از ترکیب‌های اصلی اسانس گیاه را تشکیل می‌دادند و تیمول با ۴۶/۲ درصد بیشترین مقدار را به خود اختصاص داد.

سجادی و خاتم‌ساز (Sajadi and Khatamsaz, 2003)، ترکیب‌های شیمیایی عمده اسانس آویشن

از قلمه‌ها به گلدان‌هایی به ابعاد (۲۵\*۳۰ سانتی‌متر) که به نسبت ۱:۲:۳ خاک زراعی، ماسه و کود دامی پر شده بودند جهت رشد کافی منتقل شدند و این آزمایش روی بوته‌های سه ساله در سال ۱۳۹۴ انجام گردید. گلدان‌ها طی زمستان در گلخانه نگهداری و در بهار بوته‌ها کفبر شده و به فضای باز منتقل گردیدند. از هر گونه ۹ گلدان (سه تکرار برای هر گونه) لحاظ گردید. در این زمینه برداشت اندام هوایی از پنج سانتی‌متری سطح خاک انجام شد. استخراج اسانس و آنالیز اجزای اسانس روی تکرارهای هرگونه انجام شد.

**استخراج و آنالیز اسانس:** از مقدار ۲۰ گرم سرشاخه خشک گیاه که در سایه و در دمای اتاق خشک شده بودند با استفاده از روش تقطیر با آب توسط دستگاه کلونجر به مدت سه ساعت اسانس گیاه استخراج و به وسیله سدیم سولفات آب‌گیری و تا زمان آنالیز در ظروف شیشه‌ای و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند. بازده اسانس براساس وزن اسانس استحصالی به وزن خشک گیاه ( $\frac{W}{W}$ ) محاسبه و به صورت درصد ارایه گردید (Safaei-Ghomi et al., 2009). درصد حجمی اسانس نیز بر اساس حجم اسانس استحصالی به وزن خشک گیاه ( $\frac{V}{W} * 100$ ) محاسبه گردید.

**شناسایی ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس:** جهت مشخص نمودن نوع ترکیبات، اسانس گیاه پس از استخراج به دستگاه کروماتوگرافی گازی طیف سنج جرمی (GC/MS) تزریق شد. دستگاه کروماتوگرافی گازی (GC) اجیلنت ۷۸۹۰ و طیف سنج جرمی (MS) اجیلنت ۵۶۷۳ مورد استفاده قرار گرفت. ستون HP-5MS به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ متر و ضخامت لایه ۰/۲۵ میکرومتر برای جداسازی استفاده شد. دمای ابتدایی آن ۴۰ درجه سانتی‌گراد با ۳ دقیقه توقف، ۷ درجه سانتی‌گراد در دقیقه تا دمای ۷۰ درجه

سانتی‌گراد با ۵ دقیقه توقف، ۷ درجه سانتی‌گراد در دقیقه تا ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد و در نهایت ۴۰ درجه سانتی‌گراد در دقیقه تا ۲۹۰ درجه سانتی‌گراد با ده دقیقه توقف برنامه‌ریزی گردید. دمای اتاقک تزریق ۲۹۰ درجه سانتی‌گراد و از گاز هلیم با سرعت جریان ۱/۲ میلی‌لیتر بر دقیقه به عنوان گاز حامل استفاده شد. ولتاژ منبع یونیزاسیون طیف سنج جرمی ۷۰ الکترون ولت، دمای منبع یونیزاسیون ۲۳۰ درجه سانتی‌گراد، دمای چهار قطبی ۱۵۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم و روش یونیزاسیون EI انتخاب گردید. محدوده اسکن طیف‌ها از ۵۰ تا ۵۵۰ دالتون تنظیم شد. شناسایی ترکیبات اسانس با استفاده از روش شاخص بازداری (RI) با استفاده از طیف‌های جرمی مخلوط آلکان‌های نرمال محاسبه (Kovats, 1958) و شاخص‌های موجود در کتب مرجع (Adams, 2001) و اطلاعات موجود در کتابخانه NIST و Wiley مورد استفاده قرار گرفت. درصد هریک از ترکیب‌ها با توجه به سطح زیر منحنی طیف کروماتوگرام بدست آمده از دستگاه GC/MS بدست آمد.

تجزیه واریانس مرکب داده‌های حاصل از سه مرحله رشدی و دو ژنوتیپ انجام و مقایسه میانگین به روش LSD فیشر با استفاده از نرم افزار SAS انجام شد.

### نتایج

با توجه به معنی‌دار شدن ( $p < 0.05$ ) اثر تیمار بر روی حجم و وزن اسانس در تجزیه واریانس و معنی‌دار نشدن اثر تیمار بر روی بازده و درصد حجمی اسانس مقایسات میانگین برای این صفات انجام شد (جدول ۱). نتایج نشان داد که آویشن باغی (*T. vulgaris*) از بیشترین مقدار حجم اسانس (۱/۲۸ ml) و وزن اسانس (۲۷/۰ gr) برخوردار است و گونه *T. trautvetterii* نیز به ترتیب با ۰/۰۵ ml و

دارای کمترین مقدار حجم اسانس و وزن اسانس می‌باشد. مقایسات میانگین نشان داد که گونه *T. trautvetterii* دارای بیشترین بازده اسانس (۱/۱ درصد) می‌باشد و کمترین بازده اسانس در گونه *T. vulgaris* و معادل ۰/۶۸ درصد بود. نتایج نشان داد که بیشترین میزان درصد حجمی اسانس در گونه *T. migricus* و معادل ۱/۰۲ بود و کمترین مقدار درصد حجمی (۰/۷۱) در گونه *T. vulgaris* مشاهده شد (جدول ۲).

جدول ۱: نتایج تجزیه واریانس صفات مربوط به اسانس هشت گونه آویشن *Thymus spp* در مرحله ۱۰۰ درصد گلدهی

منابع تغییر	درجه آزادی	حجم اسانس	وزن اسانس	بازده اسانس	درصد حجمی اسانس
تیمار	۵	۰/۰۲*	۰/۰۱۸*	۰/۰۷ <sup>ns</sup>	۰/۰۵ <sup>ns</sup>
خطا	۱۲	۰/۰۰۶	۰/۰۰۴	۰/۰۰۶	۰/۰۰۷
ضریب تغییرات		۵۸/۲۷	۵۳/۶۴	۲۷/۹۴	۳۰/۹۹

ns: عدم معنی دار، \* و \*\* به ترتیب معنی دار در سطح احتمال پنج و یک درصد

جدول ۲: مقایسه میانگین صفات مربوط به هشت گونه آویشن *Thymus spp* در مرحله ۱۰۰ درصد گلدهی

تیمار	درصد حجمی (ml/gr)	بازده اسانس (درصد)	وزن اسانس (gr)	حجم اسانس (ml)
<i>T. trautvetterii</i>	۰/۹۷ <sup>a</sup>	۱/۱ <sup>a</sup>	۰/۰۶ <sup>b</sup>	۰/۰۵ <sup>c</sup>
<i>T. kotschyanus</i>	۰/۹۳ <sup>a</sup>	۰/۹۸ <sup>a</sup>	۰/۱۱ <sup>b</sup>	۰/۱۱ <sup>b</sup>
<i>T. daenensis</i>	۰/۷۲ <sup>a</sup>	۰/۷۴ <sup>a</sup>	۰/۰۷ <sup>b</sup>	۰/۰۷ <sup>c</sup>
<i>T. vulgaris</i>	۰/۷۱ <sup>a</sup>	۰/۶۸ <sup>a</sup>	۰/۲۷ <sup>a</sup>	۰/۲۸ <sup>a</sup>
<i>T. migricus</i>	۱/۰۲ <sup>a</sup>	۰/۸۷ <sup>a</sup>	۰/۱۶ <sup>b</sup>	۰/۱۹ <sup>ab</sup>
<i>T. transcaucasicus</i>	۰/۸۲ <sup>a</sup>	۰/۸۳ <sup>a</sup>	۰/۰۸ <sup>b</sup>	۰/۰۸ <sup>cb</sup>

در هر ستون و برای هر عامل میانگین‌های با حرف مشابه در آزمون LSD<sub>0.05</sub> اختلاف معنی دار ندارند.

جدول ۳: مقایسه مهمترین مواد موثره گونه‌های مختلف آویشن در مرحله ۱۰۰ درصد گلدهی

نام ترکیب	شاخص کوآتر	درصد ترکیب					
		<i>T. transcaucasicus</i>	<i>T. kotschyanus</i>	<i>T. vulgaris</i>	<i>T. daenensis</i>	<i>T. migricus</i>	<i>T. trautvetteri</i>
$\alpha$ -thujene	۹۱۸	-	۰/۵۹	۱/۱۳	۰/۵۵	۱/۸۶	-
$\alpha$ -Pinene	۹۲۲	-	۰/۵۵	۰/۷۵	۰/۶۱	۱/۲۶	۰/۱۵
camphene	۹۳۵	-	۰/۶۴	۰/۳۲	۰/۵۷	۱/۲۲	-
$\beta$ -pinene	۹۶۳	-	-	۰/۳۳	-	۰/۵۴	-
$\alpha$ -terpinene	۱۰۱۰	-	۰/۷۵	۱/۹۵	۰/۷۳	۱/۹۸	-
o-cymene	۱۰۱۸	-	۸/۷۹	-	۷/۷۲	۱۰/۷۵	-
eucalyptol	۱۰۲۶	-	-	۱/۶۷	۲/۴۹	۴/۱۶	-
$\rho$ -cymene	۱۰۳۴	-	-	۱۹/۴۶	-	-	۰/۵۹
1,8-cineole	۱۰۳۷	-	-	-	-	-	۱/۵۷
$\gamma$ -terpinene	۱۰۵۶	-	۴/۳	۱۴/۱۷	۵/۴	۳/۹۷	-
cis-sabinene hydrate	۱۰۶۶	-	۱/۰۳	-	۱/۳۹	۲/۳۳	-
Trans-sabinene-hydrate	۱۰۸۵	-	-	۲/۴۲	-	-	۱/۴۷

$\alpha$ -Terpinolene	۱۰۹۰	۵/۶۶					-
Borneol	۱۱۶۲	-	۴/۴۵	۱/۴	۳/۶۸	۴/۵۴	۰/۴۷
$\alpha$ -Terpineol	۱۱۹۲	-		۰/۳۵		۰/۴۹	۱/۰۳
thymylmethylether	۱۲۳۴			۷/۰۷	۲/۷۴		
Nerol	۱۲۳۶	-					۸/۳۷
Neral	۱۲۴۶	-					۵/۶۲
Carvacrol methylether	۱۲۴۸	-		۴/۲۹	۱/۱۵		-
Geraniol	۱۲۷۶	-	۵/۲۱				۴۱/۳۸
Thymol	۱۳۰۹	-	۵۹/۸۹	۳۲/۹۱	۶۰/۴۳	۴۷/۷۴	۶/۹۴
Carvacrol	۱۳۱۳	-	۶/۹۵	۲/۶	۰/۵۵	۶/۰۳	۲/۴۱
Terpinyl acetate	۱۳۵۴	۸۶/۶۸				۶/۸۴	۰/۷۱
$\beta$ -Caryophyllene	۱۴۲۹	۱/۰۶	۳/۶۵	۱/۴۳	۴/۲۶	۱/۸۳	۳/۶۹
Caryophyllene oxide	۱۵۸۹	-	۱/۷۲	۰/۸۱	۲/۰۴	۰/۶۱	۱/۷۶
جمع ترکیبها (درصد)		۹۳/۴	۹۸/۵۲	۹۳/۰۶	۹۴/۳۱	۹۶/۱۵	۷۶/۱۶

### تجزیه اسانس

با بررسی نتایج حاصل از تجزیه اسانس توسط دستگاه GC/MS، ترکیب‌هایی که بیشترین درصد را حداقل در یک گونه داشتند انتخاب شدند (جدول ۳). غالب آن‌ها از نوع ترکیب‌های مونوترپنی بود و ترکیب‌های: او-سیمین، پارا-سیمین، گاما-تریپنین، بورنئول، thymylmethylether، ترپینل استات، تیمول، کارواکرول، ژرانیول و بتا-کاریوفیلین از مهمترین اجزای تشکیل دهنده اسانس گونه‌های مورد بررسی بودند. بیشترین مقدار او-سیمین (۱۰/۷۵ درصد) در گونه *T. migricus*، پارا-سیمین (۱۹/۴۶ درصد) در گونه *T. vulgaris*، گاما-تریپنین (۱۴/۱۷ درصد) در گونه *T. vulgaris*، بورنئول (۴/۵۴ درصد) در گونه *T. migricus*، thymylmethylether (۷/۰۷ درصد) در گونه *T. vulgaris*، ترپینل استات (۸۶/۶۸ درصد) در گونه *T. transcaucasicus*، تیمول (۶۰/۴۳ درصد) در گونه *T. daenensis*، کارواکرول (۶/۹۵ درصد) در گونه *T. kotschyanus* و ژرانیول (۴۱/۳۸ درصد) و در گونه *T. trautvetterii* مشاهده شد. در بین ترکیب‌های مورد اشاره (جدول ۳) تنها ترکیب بتا-

کاریوفیلین (۱/۰۶-۴/۲۴ درصد) در تمام گونه‌ها وجود داشت و سایر ترکیبات ممکن است تنها در یک گونه مشاهده شود و مقدار آن‌ها به گونه گیاه وابسته است.

### بحث

نتایج این مطالعه نشان داد که میزان اسانس تولیدی و نوع ترکیبات موجود در اسانس تحت تاثیر نوع گونه تغییر کرده است. بررسی‌های هولتزرو همکاران (Holtzer et al., 1988) نشان داد که نوع گونه گیاهی می‌تواند سبب کاهش، افزایش و یا عدم تغییر در میزان ترکیب‌های موجود در اسانس گیاهان شود. این واکنش‌های متفاوت ناشی از تاثیر عوامل ژنتیکی و محیطی هستند که تاثیر قابل توجهی بر سنتز این متابولیت‌ها داشته و موجب تنوع زیادی در نوع و مقدار ترکیب‌های تشکیل دهنده اسانس گیاهان دارویی و معطر می‌شوند (Kleinwachter and Selmar, 2015). نتایج مقایسه میانگین ترکیبات اسانس در جمعیت‌های آویشن نشان داد که گونه‌های مختلف، در کمیت و کیفیت اسانس تفاوت معنی‌داری داشتند. این موضوع بیانگر تأثیر ژنتیک بر کمیت و

کارواکرول را ۰/۲۱ درصد گزارش کردند. در مطالعه هادی پناه و همکاران (Hadypanah et al., 2011) بیشترین درصد تیمول (۷۴/۸ درصد) در مرحله گلدهی کامل و کمترین درصد تیمول (۳۱ درصد) در مرحله آغاز گلدهی حاصل شد. همچنین بیشترین عملکرد تیمول (۲۴/۱۵ کیلوگرم در هکتار) مربوط به مرحله ۵۰ درصد گلدهی و کمترین عملکرد تیمول (۱۰/۱۲ کیلوگرم در هکتار) مربوط به مرحله رویشی گزارش داده‌اند. پورامینی و همکاران (PourAmini et al., 2014) با استخراج اسانس آویشن باغی ترکیب‌ها شناسایی و جداسازی شدند که در مجموع ۹۶/۶۷ درصد اسانس را تشکیل می‌دادند و عمده‌ترین ترکیبات شناسایی شده شامل تیمول (۳۱/۵ درصد)، پارا-سیمین (۲۳/۴ درصد)، گاما-تریپین (۹۴/۱۳ درصد)، لینالول (۳/۳۸ درصد) و کارواکرول (۲/۶۶ درصد) بود و در استخراج اسانس آویشن دنیایی ۳۳ ترکیب شناسایی و جداسازی شدند که در مجموع ۹۶/۱۹ درصد اسانس را تشکیل می‌دادند و عمده‌ترین ترکیب‌های شناسایی شده شامل تیمول (۵۱/۱۸ درصد)، او-سیمین (۱۲/۸۷ درصد)، گاما-تریپین (۸/۴۸ درصد)، لینالول (۱/۶۸ درصد) و بورنئول (۳/۰۹ درصد) بود.

نتایج بررسی گیروانی و همکاران (Garyvani et al., 2014) در مقایسه ترکیبات دو گونه *T. vulgaris* و *T. transcaspicus* در دو سال متوالی نشان داد که ترکیب‌های اصلی گونه *T. transcaspicus* شامل تیمول (۷۷/۱-۷۵/۸ درصد)، کارواکرول (۱۰-۹/۷ درصد)، بورنئول (۲/۸-۵/۳ درصد)، پارا-سیمین (۲/۵۱-۲/۱۴ درصد) و گاما-تریپین (۱/۳۹-۰/۷۳ درصد) و اصلی‌ترین ترکیب‌ها در گونه *T. vulgaris* شامل تیمول (۷۳/۶-۷۲/۳۳ درصد)، پارا-سیمین (۶/۹۳-۶/۷۸ درصد)، کارواکرول (۶/۴۸-۵/۸ درصد)، گاما-تریپین (۴/۶۸-۴/۶۴ درصد) و بورنئول (۱/۷-۱/۳۷ درصد) بودند.

کیفیت اسانس می‌باشد. بنابراین ژنوتیپ بر تنوع ترکیبات شیمیایی گیاهان دارویی اثر معنی‌داری دارد و تغییرات زیادی در جمعیت‌ها با توجه به فاصله کم قرابتی از یکدیگر اتفاق می‌افتد (Blandeland Arosan, 1995).

با توجه به نتایج این بررسی ترکیبات غالب در آویشن کوهی شامل: تیمول (۵۹/۸۹ درصد)، کارواکرول (۱۹/۴۶ درصد) و اوسیمین (۸/۷۹ درصد) بوده به طوری که در تحقیقات مزوجی و همکاران (Mazooji et al., 2012) با مقایسه ترکیبات شیمیایی اسانس آویشن کوهی دریافتند که ۱۰ ترکیب در اسانس وجود دارد عمده ترکیبات جمعیت‌ها شامل تیمول (۸۹/۰۸ درصد) و گاما-تریپین (۴/۶۲ درصد) بودند. در پژوهش دیگری توسط روستایان و همکاران (Rustaiyan et al., 1999) ترکیبات غالب اسانس در آویشن کوهی را تیمول، کارواکرول و ۱، ۸-سینئول اعلام کردند. یافته‌های رسولی و میرمصطفی (Rasooli and Mirmostafa, 2003) نشان داد که ترکیبات غالب اسانس آویشن کوهی را کارواکرول، تیمول و گاما-تریپین بودند. در تحقیقات نیکور و همکاران (Nikvar et al., 2005) ترکیبات غالب اسانس در آویشن کوهی شامل تیمول، کارواکرول، پارا-سیمین و گاما-تریپین بود و یافته‌های حبیبی و همکاران (Habibi et al., 2006) ترکیب غالب در آویشن کوهی را لینالول و آلفا-تریپین بیان نمودند. مهرپور و همکاران (Mehrpur et al., 2004)، بیشترین میزان ترکیب تیمول در آویشن کوهی را برابر با ۶۵/۹۹ درصد و بالاترین درصد کارواکرول را ۵۷/۹۹ درصد گزارش نمودند.

میزان تیمول و کارواکرول به‌عنوان دو جزء اصلی اسانس آویشن در این بررسی به ترتیب برابر ۳۲/۹۱ درصد و ۲/۶ درصد مشاهده شد. در حالی که درصد تیمول آویشن باغی در مطالعه نقدی بادی و همکاران (Naghdiabadi et al., 2002) ۵۰/۵۰ و درصد

همکاران (Safai et al., 2009) این صفت را ۱/۳۳ درصد گزارش نموده‌اند که با نتایج حاصل از این تحقیق اندکی تفاوت دارد.

### نتیجه‌گیری نهایی

با توجه به نتایج حاصل از این مطالعه، بالاترین درصد اسانس متعلق به گونه‌های *T. kotschyanus* و *T. migricus* بود. دو گونه *T. daenensis* و *T. kotschyanus* دارای بالاترین میزان تیمول و گونه *T. kotschyanus* دارای بالاترین میزان کارواکرول و گونه *T. trautvetteri* از بالاترین میزان ژرانیون برخوردار بود. بنابراین با توجه به راندمان تولید اسانس و ترکیبات موثر در گونه‌های ذکر شده می‌توان از گونه‌های مورد اشاره جهت کشت و افزایش راندمان کیفیت و کمیت استفاده کرد.

### پیشنهادها

با توجه به این پژوهش موارد ذیل جهت اصلاح و تولید موفق این گیاه دارویی پیشنهاد می‌گردد:

۱. با توجه به تاثیر زمان برداشت و گونه بر عملکرد، محتوای اسانس و ترکیب‌های تشکیل‌دهنده آن در گونه‌های مورد بررسی پیشنهاد می‌شود به‌طور همزمان تاثیر مراحل گلدهی و گونه را بر تمام ویژگی‌های مورد اشاره در تمام گونه‌ها مورد بررسی قرار گیرد.
۲. پیشنهاد می‌شود در گونه‌های حاوی مقادیر بالای تیمول و کارواکرول شامل گونه‌های *T. daenensis* و *T. kotschyanus* مراحل فنولوژیکی آغاز گلدهی، ۵۰ و ۱۰۰ درصد گلدهی از نظر اسانس و اجزای اسانس بررسی بیشتری انجام شود.
۳. با توجه به واکنش متفاوت گونه‌ها در شرایط گلدان و گلخانه گونه‌های مورد بررسی در شرایط مزرعه مورد بررسی قرار گیرند.

مطالعه امیری (Amiri, 2012) ترکیب‌های عمده جمع‌آوری شده گونه *T. daenensis*subsp. کارواکرول (۵۲/۳ درصد)، تیمول (۱۶/۴ درصد)، گاما-تریپنین (۱۰/۸ درصد) و پارا-اسیمین (۳/۳ درصد) گزارش نمودند. همچنین در بررسی نظری و همکاران (Nazari, et al., 2011) ترکیب‌های عمده گونه *Thymus kotschyanus* کشت شده در همدان را لینالول (۲۴/۸ درصد)، کارواکرول (۲۴/۵ درصد) و ترانس کاریوفیلین (۸/۶ درصد) و میزان بازده اسانس ۰/۶ درصد گزارش شده است. در مطالعه‌ای مشابه ترکیب‌های عمده آویشن کوهی کشت شده در آذربایجان غربی تیمول (۵۱/۷۹ درصد)، آلفا-تریپنین (۱۲/۳۱ درصد)، آلفا-تریپینئول (۶/۸۳ درصد) و کارواکرول (۶/۶۹ درصد) مشاهده شد (Pirigharnaei et al., 2012).

تفاوت‌ها برای حجم و وزن اسانس معنی‌دار و برای بازده اسانس و درصد حجمی اسانس غیرمعنی‌دار مشاهده شد. میزان بازده اسانس برای گونه *T. kotschyanus* با توجه به نتایج این تحقیق معادل ۰/۹۸ درصد مشاهده شد که با نتایج تحقیق (Jamshidi et al., 2006) که میزان اسانس آویشن کوهی را معادل ۰/۹۵ تا ۱/۸ درصد می‌داند مطابقت دارد. همچنین بر اساس گزارش‌های موجود آویشن باغی کشت شده در مناطق مختلف ایران محتوی ۰/۰۸ درصد تا ۲/۶ درصد اسانس است که قسمت زیادی از آن را فنل‌ها، هیدروکربن‌های مونوترپنی و الکل‌ها تشکیل می‌دهند (Nikvar et al., 2005; Akbarinia, 2007) که با نتایج این تحقیق که بازده اسانس باغی معادل ۰/۶۸ درصد بود مطابقت دارد. نقدی بادی و همکاران (Naghdibadi et al., 2002) درصد اسانس آویشن باغی ۱/۸۶ درصد و صفایی و



## References

- Adams, R.P. 2001. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy: Carol Stream, IL Allured Publishing Co. 8(16): 76-81.
- Akbarinia, A. 2007. Aromatic compounds in *Thymus daenensis* habitat conditions and cultures. Abstract Mqala the Conference. Persian date phytochemistry, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran, 112 p.
- Amiri, H. 2012. Essential oil composition and antioxidant properties of three *Thymus* species. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. pp. 1-8.
- Aznar, A., Fernández, P.S., Periago, P.M., and Palop, A. 2013. Antimicrobial activity of nisin, thymol, carvacrol and cymene against growth of *Candida lusitanae*. Food Science and Technology International, 21(1): 72-79.
- Blandel, J. and Arosón, J. 1995. Biodiversity and ecosystem function of the Mediterranean basin, human and non-human determinates in davis. Mediterranean types Ecosystems. Springer, Berlin 43-1190.
- Eftekhari, F., Nariman, F., Yousefzadi, M., Hadian, J., and Ebrahimi, S.N., 2009. Anti-Helicobacter pylori activity and essential oil composition of *Thymus caramanicus* from Iran. Natural Product Communications, 4(8): 1139-42.
- Garyvani, G., SharifiAshurabadi, A., Safari, S., Mirza, M. 2014. Evaluate the effects of domestication cultivation and harvest stages on the growth and effective material of two species of thyme (*Thymus* L.) in North Khorasan. Scientific-Research Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 3:445-452.
- Habibi, H., Chi-Chee, M.R., Bigdeli, M., AminiDehaghi, M., and Habibi, R., 2006. Effects of environmental factors on essential oils and medicinal plant secondary metabolites on the south side of Alborz mountain thyme Taleghan Region. Journal Pajouhesh and Sazandegi, 73: 2-10.
- Hadypanah, A., Golparvar, A., GhasemiPirbaloti, A., and Zeynali, H. 2011. Determine the best harvesting time to achieve the highest yields and thymol in *Thymus vulgaris* L. in Isfahan. Quarterly herbal medicines, 2: 23-32.
- Holtzer, T.O., Archer, T.L. and Norman, J.M. 1988. Host plant suitability in relation to water stress. In Plant Stress Interactions. E.A. Heinrichs, editor. Willey-Inter Science, New York, USA, 111-137 pp.
- Jamshidi, A.M., Aminzadeh, M., Azarnivand H. and Abedi, M. 2006. Study of height effect on quantity and quality of extract *Thymus kotschyanus*. (Damavand - Tar). Journal of Medicinal Plants, 5(18), 17-22.
- Jamzad, Z. 2009. Savory *Thymus* and *Satureja* species of Iran, publication of Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran. 171p.
- Kalvandi, R., Mirza, M., Atri, M., HesamzadehHejazi, 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 Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 30(1): 101-122.
- Keefover-Ring, K., Thompson, J.D. and Linhart, Y.B. 2009. Beyond six scents: defining a seventh *Thymus vulgaris* chemotype new to southern France by ethanol extraction. Flavour and Fragrance Journal, 24(3): 117-122.
- Kleinwachter, M. and Selmar, D. 2015. New insights explain that drought stress enhances the quality of spice and medicinal plants: potential applications. Agronomy for Sustainable Development, 35(1): 121-131.
- Kovats, V.E. 1958. Gas-chromatographische charakterisierung organischer verbindungen. teil 1: retentionsindices aliphatischer halogenide, alkohole, aldehyde und ketone. helvetica chimica acta, 41(7): 1915-1932.
- Mahdavi, S., Karimzadeh, G. and arefi, H.M. 2009. Chromosomal variation studies in some *Thymus* medicinal plant species. Iranian Journal of Horticulture science, 40(1): 29-36.

18. Mazandarani, M., Rezaei, M.B. 2002. Chemical constituents of essential oil from *Thymus caramanicus* JALAS. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 18: 111-22.
19. Mazooji, A., Salimpur, F., Danaei, M., Akhoondi Darzikolaie, S. and Shirmohammadi, K. 2012. Comparative study of the essential oil chemical composition of *Thymus Kotschyanus* Boiss. and Hohen. Var *kotschyanus* from Iranain .Annals of Biological Research, 3 (3): 1443 - 51.
20. Mehrpur, Sh., Sefidkon, F., Mirzaie-Nodoushan, H. and Majd, A. 2004. Comparison of essential oils of four *Thymus kotschyanus* populations in green house and field cultivation. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research, 20 (2): 159-169.
21. Naghdibadi, H.A., Yazdani, D., Nazari, F. and Mohammad Ali, S. 2002. Seasonal variations in performance and composition of essential oil of thyme (*Thymus vulgaris* L.) In different densities. Medicinal Plants, 2(5): 57-51.
22. NaghdiBadi, H. and Makizade, M., 2003. Review of Thyme. (*Thymus vulgaris* L.). Journal of Medicinal Plants, 2 (7): 1-12.
23. Nejad Ebrahimi, S., Hadian, J., Mirjalili, M.H., Sonboli, A. and Yousefzadi, M. 2008. Essential oil composition and antibacterial activity of *Thymus caramanicus* at different phenological stages. Food Chemical, 110: 927-31.
24. Nikvar, B., Mojab, F. and Dolat- Abadi, R. 2005. Analysis of the essential oils of *Thymus* species from Iran. Food Chemical, 90: 609-11.
25. Nazari, F., Shaabani, S. and Khiry, H. 2011. Analysis of the essential oil of *Thymus kotschyanus* from Iran. Journal of Planta Medica, 77-22.
26. Omidbaigi, R. 1997. Investigate aspects of production and processing of its constituents. Research and reconstruction, 36: 67-71.
27. Ozcan, M. and Chalchat, J.C. 2004. Aroma profile of *Thymus vulgaris* L. growing wild Turkey. Bulgarian Journal of Plant Physiology, 30(3-4): 68-73.
28. Pirigharnej, M., Zare, S., Heidary, R., Khara, J. and Emamali Sabzi, R. 2012. Determination and comparing of essential oil components in wild and cultivated population of *Thymus kotschyanus* Boiss. And Hohen. African Journal of Plant Science, 6: 89-95.
29. PourAmini, Z., Moalemi, N. and Sadati, S. 2014. Comparison of the effects of drought stress on proline and antioxidant enzyme activities in three varieties of olives. Iranian Journal of Biology, 27: 156-167.
30. Rasooli, I., and Mirmostafa, S. 2003. Bacterial susceptibility to and chemical composition of essential oil from *Thymus kotschyanus* and *Thymus persicus*. Food Chemical, 51: 2200 - 5.
31. Rustaiee, A., Sefidkon, F., Tabatabaei, S.M.F., Omidbaigi, R. and Mirahmadi, S.F. 2011. Chemical polymorphism of essential oils from five populations of *Thymus daenensis* Celak. subsp. digenesis endemic to Iran. Journal of Essential Oil Research, 23(3): 6-11.
32. Rustaiyan, A., Lajvardi, T., Rabbani, M., Yari, M. and Masoudi, S.H. 1999. Chemical constitution of the essential oil of *Thymus kotschyanus* from Iran. Trends in Pharmaceutical Sciences, 7 (4): 27-8.
33. Safai, L., SharifiAshurabad, A., Mirza, m., Zainal, H., Bagherzadeh, K. and Asgharzadeh, M. 2009. The effects of cultivation and domestication on growth and the main active ingredients of thyme species in different climatic zones of the country. Design Research Institute of Forests and Rangelands, no series 89/1372/38.
34. Safaei-Ghomi, J., Ebrahimabadi, A.H., Djafari-Bidgoli, Z. and Batooli, H. 2009. GC/MS analysis and in vitro antioxidant activity of essential oil and methanol extracts of *Thymus caramanicus* Jalas. and its main constituent carvacrol. Food Chemistry, 115(4): 1524-1528.
35. Sajjadi, S.E. and Khatamsaz, M. 2003. Composition of the essential oil of *Thymus daenensis* Celak ssp. *Lancifolius* (Celak) Jalas. Journal of Essential Oil Research, 15: 34-35.
36. Sefidkon, F. and Dabiri, M. 1999. The effect of distillation methods and stage of plant growth on the essential oil

- content and composition of *Thymus kotschyanus* Boiss. Et Hohen. Flavour and Fragrance Journal, 14: 405-408.
37. Sefidkon, F., Asgari, F. and Ghorbanli, M. 2002. Essential oil composition of *Thymus pubescens* Boiss. Et Kotschy ex Celak from Iran. Journal Essential Oil Research, 14: 116-117.
38. Sefidkon, F. and Askari, F. 2002. Essential oil composition of 5 *Thymus* species. Iranian Medicinal and Aromatic Plants Research, 12: 29-51.
39. Shahnazi, S., Khalighi Sigaroudi, F., Ajani, Y., Yazdani, D., Ahvazi, M. and Taghizad Farid, R. 2007. Study on chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Thymus trautvetteri* Klokov and Desj-Shost. Journal of Medicinal Plants, 6(23): 80-88.
40. Vaiciulytė, V., and Lozienė, K. 2015. Metabolomic analysis and effects of meteorological factors on phenolic and non-phenolic chemotypes of *Thymus pulegioides* L. cultured in the same locality. Industrial Crops and Products, 77:491-498.
41. Zargari, A. 1984. Medicinal Plants, Volume II. Tehran University Press.