

بررسی و مقایسه فیتوشیمیایی اسانس گیاه دارویی *Thymus daenensis* Celak. در شرایط رویشگاه‌های طبیعی و مزرعه

جلال خورشیدی^۱، مجید شکرپور^{۲*}، وحیده ناظری^۳

^۱استادیار، گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه کردستان، سنندج، ایران
^۲دانشیار، گروه علوم و مهندسی باغبانی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران
^۳استاد، گروه علوم و مهندسی باغبانی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران

تاریخ دریافت: ۹۶/۱۰/۲۴ تاریخ پذیرش: ۹۶/۱۲/۱۶

چکیده

در فرایند اهلی سازی یک گیاه دارویی، ارزیابی تغییرات کمی و کیفی ماده مؤثره ضمن انتقال از رویشگاه طبیعی به مزرعه، امری ضروری است. آویشن دنايي (*Thymus daenensis* Celak.) از گیاهان دارویی با ارزش و اندمیک ایران است که به لحاظ دارا بودن اسانس بالا از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. در این مطالعه کمیت و کیفیت اسانس سه اکوتیپ از استان‌های همدان، مرکزی و لرستان در شرایط رویشگاه طبیعی و مزرعه ارزیابی شد. اندام هوایی نمونه گیاهان از رویشگاه‌های مختلف طبیعی و مزرعه در تیرماه ۱۳۹۱ و ۱۳۹۲ در مرحله تمام گل برداشت گردید. اسانس‌گیری با استفاده از روش تقطیر با آب (دستگاه کلونجر) انجام گرفت و آنالیز مواد مؤثره اسانس‌ها توسط دستگاه‌های GC و GC/MS انجام گرفت. نتایج نشان داد میزان اسانس اکوتیپ‌ها در رویشگاه طبیعی اختلاف معنی‌داری با هم داشتند ولی در شرایط کشت در مزرعه این اختلاف معنی‌دار نبود. درصد اسانس اکوتیپ استان همدان در شرایط مزرعه بیشتر از شرایط رویشگاه طبیعی بود ولی در دو اکوتیپ دیگر میزان اسانس در رویشگاه طبیعی بیشتر از مزرعه بود. مهم‌ترین ترکیبات تشکیل دهنده اسانس در همه اکوتیپ‌ها هم در شرایط رویشگاه و هم در شرایط مزرعه تقریباً مشابه بود، اما در نوع ترکیبات غالب و نیز میزان آنها در اکوتیپ‌های مختلف در شرایط رویشگاه و مزرعه تفاوت‌هایی مشاهده شد. در مجموع بیشترین میزان اسانس (۵ درصد) و تیمول (۷۵/۴۵ درصد) در اکوتیپ‌های مرکزی و لرستان تحت شرایط رویشگاه طبیعی گزارش گردید. همانطور که نتایج نشان داد درصد اسانس و تیمول آویشن دنايي به شدت تحت تأثیر شرایط رویشگاهی بود و لذا مطالعه و تعیین مناسب‌ترین محیط کشت ثانویه جهت اهلی سازی این گیاه امری ضروری است.

واژه‌های کلیدی: آویشن دنايي، اسانس، اکوتیپ ف تیمول، رویشگاه طبیعی، مزرعه

در مقایسه با سایرین عملکرد ماده خشک بیشتری داشته است (Aflakian et al., 2012). درصد و ترکیبات شیمیایی اسانس چهار اکوتیپ آویشن دنیایی جمع‌آوری شده از رویشگاه‌های مختلف استان اصفهان با هم مقایسه شده و دریافته‌اند که میزان اسانس این اکوتیپ‌ها از ۳/۰۵ درصد تا ۳/۹ درصد متفاوت بود و تیمول، پاراسیمین، گاماترپینن، کارواکرول و بتاکاریوفیلن اجزای غالب اسانس در همه اکوتیپ‌ها بودند (Barazandeh and Bagherzadeh, 2007). میزان اسانس اکوتیپ کردستان آویشن دنیایی، ۲/۵۳ درصد و اجزای غالب اسانس آن تیمول، گاماترپینن، پ‌سیمین و کارواکرول گزارش شده است (Hasani, 2013). همچنین ارزیابی میزان و ترکیبات غالب اسانس آویشن دنیایی کشت شده در شرایط آب‌وهوایی استان قزوین نشان داده که بیشترین درصد اسانس این گیاه مربوط به چین اول برداشت (۳/۰۷ درصد) و ترکیبات تیمول، گاماترپینن، متیل‌ترکارواکرول و کارواکرول از اجزای غالب اسانس در همه چین‌ها بودند (Akbarinia et al., 2010). در مطالعه صورت گرفته روی اکوتیپ‌های مختلف آویشن دنیایی جمع‌آوری شده از رویشگاه‌های مختلف، بازده اسانس از ۱/۸ درصد تا ۳/۸۳ درصد متغیر بوده و نیز اجزای اسانس به شدت تحت تأثیر رویشگاه جمع‌آوری شده بود (Rustaiee, 2009).

البته ارزیابی و مقایسه تغییرات درصد و اجزای اسانس در رویشگاه و مزرعه در مورد برخی از گیاهان دارویی انجام گرفته است. در تحقیقی ترکیبات شیمیایی اسانس ریشه، برگ و میوه علف‌کور (*Capparis spinosa*) رویش‌یافته در عرصه‌ی طبیعی با گیاه کاشته شده در مزرعه مقایسه شده و گزارش شده که میزان اسانس نمونه‌های مزرعه بیشتر از نمونه‌های رویشگاه طبیعی بود ولی درصد ترکیبات غالب اسانس در نمونه‌های رویشگاه بیشتر از نمونه‌های مزرعه بود (Sanchoi et al., 2013). مقایسه کمی و کیفی اسانس

کشت و کار از مناسب‌ترین راهکارها جهت حفاظت گیاهان در معرض خطر نابودی است. در تمام دنیا جهت حفاظت گیاهان دارویی در معرض خطر انقراض، رویکرد به اهلی‌سازی و کشت و کار آنها در حال رشد و توسعه است (Chen et al., 2016). یکی از مهمترین اهداف اهلی‌کردن گیاهان دارویی، دسترسی راحت به مواد خام گیاهی و برداشتن فشار جمع‌آوری و بهره‌برداری از عرصه‌ی طبیعی است (Rao et al., 2003). اغلب گیاهان دارویی در شرایط مزرعه تولیدی متفاوت از رویشگاه طبیعی دارند و لذا ضروری به نظر می‌رسد که در راستای دستیابی به یک فرایند اهلی‌سازی موفق، مقایسات عملکرد و کیفیت ماده موثره گیاه در رویشگاه طبیعی گیاه با شرایط مزرعه انجام گیرد تا از این طریق مناسب‌ترین شرایط رویشی در مزرعه برای گیاه فراهم آید. یکی از گیاهان اندمیک ایران که به لحاظ میزان اسانس بالا و نیز محتوی بالای تیمول موجود در اسانس شایان توجه است، آویشن دنیایی (*Thymus daenensis* Celak.) است (Rustaiee et al., 2010). این گیاه بصورت خودرو در اغلب مناطق ایران از شمال‌غرب تا نواحی مرکزی و جنوب غرب پراکنش دارد. تا به حال مطالعات متعددی در ارتباط با ارزیابی میزان اسانس و ترکیبات موجود در اسانس اکوتیپ‌های مختلف برداشت شده از رویشگاه‌های طبیعی این گیاه انجام گرفته است، ولی هیچ مطالعه‌ای مبنی بر مقایسه محتوی اسانس و اجزای اسانس این اکوتیپ‌ها در رویشگاه طبیعی با شرایط مزرعه که یکی از مهمترین و ضروری‌ترین گام‌های پروسه‌ی اهلی‌سازی یک گیاه است، انجام نگرفته است. در مطالعه‌ای عملکرد و اجزای عملکرد یازده اکوتیپ آویشن دنیایی (جمع‌آوری شده از استان‌های اصفهان، مرکزی و لرستان) کشت شده در شرایط یکسان با هم مقایسه شده و گزارش کرده‌اند که اکوتیپ خرم‌آباد ۱

مواد و روش‌ها

تهیه نمونه‌های گیاهی: به منظور جمع‌آوری نمونه‌های آویشن‌دناپی در مرحله گلدهی، پس از شناسایی مناطق پراکنش این گیاه، در زمان مناسب (اوایل تیرماه سال ۱۳۹۱) به عرصه‌ی طبیعی مراجعه کرده و مواد گیاهی مورد نیاز جمع‌آوری شد. همچنین به منظور جمع‌آوری بذر جهت کشت اکوتیپ‌های مورد مطالعه در مزرعه نیز اوایل مرداد ماه به همان مناطقی که گیاهان در مرحله‌ی تمام گل برداشت شده بودند، مراجعه کرده و بذر به میزان مورد نیاز جمع‌آوری گردید. به هنگام جمع‌آوری نمونه‌های گیاهی، نمونه‌های خاک نیز از هر منطقه تهیه شد و مورد آنالیز قرار گرفت (جدول ۱). خصوصیات جغرافیایی هر منطقه به کمک Google earth و GIS و داده‌های اقلیمی هر منطقه نیز از نزدیک‌ترین ایستگاه هواشناسی به آن منطقه بدست آمد (جدول ۲).

درمنه ایرانی (*Artemisia persica* Boiss.) موجود در رویشگاه طبیعی با نمونه‌های کشت شده در دو مزرعه مختلف بیانگر آن بود که این گیاه در رویشگاه طبیعی هم از درصد اسانس بالاتری برخوردار بود و هم اجزای اصلی اسانس نیز در مقایسه با نمونه‌های کشت‌شده، درصد بالاتری از اسانس را به خود اختصاص داده بودند (Ramak and Sefidkon, 2008). مقایسه‌ی میزان و ترکیب‌های موجود در اسانس مرزه بختیاری (*Satureja bachtiarica* Bunge) کشت شده در مزرعه و برداشت شده از رویشگاه طبیعی نشان داده که نمونه‌ی کشت شده در مزرعه هم درصد اسانس بیشتری داشت و هم میزان کارواکرول که از اجزای اصلی اسانس مرزه می باشد، در مقایسه با نمونه‌ی رویشگاه، بالاتر بود (Ahmadi et al., 2009). در مطالعه حاضر میزان اسانس و اجزای اسانس سه اکوتیپ مختلف جمع‌آوری شده از سه استان همدان، لرستان و مرکزی در رویشگاه طبیعی و نیز در شرایط کشت یکسان در مزرعه (کرج) با هم مقایسه شده است.

جدول ۱: خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مناطق جمع‌آوری و مزرعه

| منطقه رشد یافته | | | | فاکتور اندازه‌گیری شده |
|-----------------|-------|-----------|----------|------------------------|
| مزرعه (کرج) | مرکزی | لرستان | همدان | |
| ۷/۷ | ۸ | ۸/۱ | ۸ | pH |
| ۱/۴۲ | ۰/۳۴ | ۰/۸۳ | ۰/۴۸ | EC (ds/m) |
| ۸/۷ | ۲۴/۶ | ۱۳/۴ | ۱۳/۴ | آهک (%) |
| ۰/۰۹ | ۰/۱۵ | ۰/۱۸ | ۰/۱۴ | نیتروژن (%) |
| ۰/۶۴ | ۱/۳۵ | ۱/۵۱ | ۱/۴۱ | کربن آلی (%) |
| ۳۶ | ۳۵ | ۹ | ۶۲ | شن (%) |
| ۳۰ | ۲۶ | ۴۶ | ۱۳ | رس (%) |
| ۳۴ | ۳۹ | ۴۵ | ۲۵ | سیلت (%) |
| رسی لومی | لومی | سیلتی رسی | شنی لومی | بافت خاک |
| ۵۳/۱ | ۱۱/۹ | ۲۲/۲ | ۷/۵ | فسفر (mg/kg) |
| ۳۹۰ | ۱۸۲ | ۷۰۰ | ۲۰۶ | پتاسیم (mg/kg) |
| ۷/۵ | ۱۷/۵ | ۱۸/۶ | ۳۴/۳ | آهن (mg/kg) |
| ۲/۳۴ | ۰/۸۱ | ۱/۰۴ | ۱/۳۱ | روی (mg/kg) |
| ۲۴/۲ | ۳۰ | ۶۴/۲ | ۵۲/۱ | منگنز (mg/kg) |
| ۲/۲۸ | ۱/۶۲ | ۲/۹۵ | ۱/۶۹ | مس (mg/kg) |

جدول ۲: خصوصیات جغرافیایی و اقلیمی مناطق جمع‌آوری نمونه‌های گیاهی و مزرعه (کرج)

| طول جغرافیایی (E) | عرض جغرافیایی (N) | جهت | ارتفاع از سطح دریا (متر) | میانگین دمای روزانه ۶ ماه اول سال (°C) | میانگین رطوبت نسبی در ۶ ماه اول سال (%) | میزان بارندگی ۶ ماه اول سال (mm) | تعداد ساعات آفتابی در ۶ ماه اول سال | میانگین دمای سالیانه (°C) | میانگین رطوبت نسبی سالیانه (%) | میزان بارندگی سالیانه (mm) | استان |
|-------------------|-------------------|-----------|--------------------------|--|---|----------------------------------|-------------------------------------|---------------------------|--------------------------------|----------------------------|-------------|
| ۴۸° ۳۵' ۵۹" | ۳۴° ۱۵' ۰۰" | شمال شرقی | ۱۸۴۴ | ۱۷/۳۲ | ۳۷/۰۳ | ۱۳۲/۱۷ | ۱۴۲۴/۱۷ | ۱۳/۴۳ | ۴۳/۶۷ | ۳۲۱/۱۷ | همدان |
| ۴۹° ۰۱' ۰۶" | ۳۳° ۴۵' ۰۳" | جنوب شرقی | ۱۸۲۵ | ۲۰/۸۷ | ۳۹/۰۷ | ۱۶۱/۶۷ | ۱۳۶۱/۶۵ | ۱۷/۳۳ | ۴۴/۵ | ۴۵۵/۸۳ | لرستان |
| ۴۹° ۳۲' ۵۶" | ۳۳° ۵۹' ۳۵" | شمالی | ۲۰۳۲ | ۱۹/۱۷ | ۳۷/۸۳ | ۱۱۸/۴۷ | ۱۳۶۲/۸۳ | ۱۴/۴۵ | ۴۵/۵ | ۲۸۹/۶۵ | مرکزی |
| ۵۰° ۵۵' ۵۲" | ۳۵° ۴۶' ۲۳" | بدون شیب | ۱۲۵۵ | ۲۰/۵۰ | ۳۷/۵۰ | ۵۰/۶ | ۱۶۹۴/۳ | ۱۴/۸۰ | ۴۶/۰۰ | ۱۷۵/۲ | البرز (کرج) |

روش تقطیر با آب توسط دستگاه کلونجر به مدت دو ساعت انجام گرفت و پس از جداسازی اسانس از کلونجر و آگیری آن توسط سولفات سدیم خشک، درصد اسانس مربوط به هر اکوتیپ محاسبه گردید و نمونه‌های اسانس در شیشه‌های مخصوص و فویل پیچی شده در دمای چهار درجه سانتیگراد یخچال تا زمان آنالیز نگهداری شدند.

آنالیز اسانس‌ها: آنالیز اسانس‌ها توسط دستگاه‌های کروماتوگرافی گازی (GC) و کروماتوگرافی گازی متصل به جرم‌سنج توده‌ای (GC/MS) موجود در پژوهشکده گیاهان دارویی دانشگاه شهید بهشتی انجام گرفت. شرایط آنالیز اسانس‌ها به شرح زیر بود:

مشخصات و شرایط کاری دستگاه کروماتوگرافی گازی (GC): مدل TRACE GC مجهز به ستون از نوع DB-5 به طول ۳۰ متر و قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه نازک ۰/۲۵ میکرومتر، دمای آون ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶۰ ثانیه نگه داشته شده و در ادامه تا ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۵ درجه سانتی‌گراد بر دقیقه افزایش یافت و به مدت ۱۰ دقیقه در این دما نگه داشته شد. دمای قسمت تزریق و آشکارساز به ترتیب ۲۵۰ و ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد، گاز حامل نیتروژن با سرعت جریان ۱/۱ میلی‌متر بر دقیقه.

تولید نشاء و کشت در مزرعه: به منظور تولید نشاء جهت کشت در مزرعه، از لیوان‌های یکبار مصرف حاوی ماسه‌بادی و پیت استفاده گردید. در ابتدا در هر گلدان چند بذر از هر اکوتیپ کشت کرده و پس از اطمینان از قوی بودن و سالم بودن نشاءها، یکی از آنها را نگه داشته و مابقی حذف شدند. نشاءها در گلخانه‌ای با دمای متوسط روزانه ۲۴ و شبانه ۱۵ درجه سانتیگراد نگهداری شدند. آبیاری آنها نیز بصورت مه‌پاش و بطور اتوماتیک هر روز به مدت ۴ دقیقه انجام گرفت. نشاءها پس از گذشت حدود چهار ماه از زمان کشت (کاشت اوایل دی‌ماه)، آماده انتقال به زمین اصلی بودند. نشاءها در زمینی واقع در کرج که از قبل آماده شده بود، با فواصل ۵۰ سانتی‌متر بین ردیف و ۵۰ سانتی‌متر روی ردیف‌ها کشت شدند. عملیات‌های وجین و آبیاری به طور مرتب هر هفته یکبار انجام گرفت. گیاهان مربوط به هر اکوتیپ در زمان گلدهی کامل برداشت شده و اسانس‌گیری از آنها انجام گرفت.

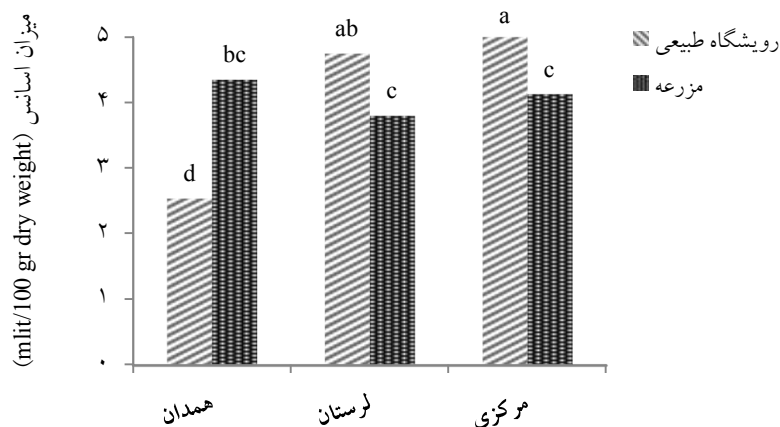
اسانس‌گیری از نمونه‌ها: اندام‌های هوایی گیاهان جمع‌آوری شده از رویشگاه طبیعی (تیرماه سال ۱۳۹۱) و برداشت‌شده از مزرعه (تیرماه سال ۱۳۹۲) در مرحله‌ی تمام گل پس از انتقال به آزمایشگاه و خشک شدن در سایه، اسانس‌گیری شدند. اسانس‌گیری به

همچنین آنالیز خاک مناطق رویشی بیانگر آن بود که این گیاه در خاک‌های نسبتاً قلیایی، آهک نسبتاً بالا، بافت‌های متوسط تا سنگین با سطوح مختلفی از عناصر غذایی رویش دارد (جدول ۱). اکوتیپ‌ها دارای اسانس به رنگ زرد مایل به قرمز آجری بودند. سه اکوتیپ در رویشگاه طبیعی اختلاف معنی‌داری از لحاظ درصد اسانس با یکدیگر داشتند، طوریکه بیشترین میزان اسانس (۵ درصد) مربوط به اکوتیپ استان مرکزی و کمترین (۲/۵۴ درصد) مربوط به اکوتیپ استان همدان بود. اما برخلاف رویشگاه طبیعی، میزان اسانس اکوتیپ‌ها در شرایط کشت یکسان تفاوت معنی‌داری با هم نداشتند، که نشان‌دهنده تأثیرپذیری بالای میزان اسانس از شرایط آب‌وهوایی و خاکی است. اما واکنش اکوتیپ‌ها به تغییر مکان رویشی متفاوت بود، به طوری که درصد اسانس اکوتیپ استان همدان در شرایط مزرعه بیشتر از شرایط رویشگاه طبیعی بود ولی در مورد دو اکوتیپ استان‌های لرستان و مرکزی عکس این حالت بود و این اکوتیپ‌ها در شرایط رویشگاه طبیعی از درصد اسانس بالاتری در مقایسه با شرایط مزرعه برخوردار بودند (شکل ۱).

مشخصات و شرایط کاری دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل به جرم‌سنج توده‌ای (GC/MS): ستون DB-5 به طول ۶۰ متر و قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه نازک ۰/۲۵ میکرومتر، دمای آون از ۶۰ درجه سانتی‌گراد تا ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۵ درجه سانتی‌گراد بر دقیقه افزایش یافت و به مدت ۱۰ دقیقه در ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد نگه داشته شد. دمای محفظه یونش ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد، هلیوم به عنوان گاز حامل با سرعت جریان ۱/۱ میلی‌متر بر دقیقه. شناسایی ترکیبات اسانس به کمک شاخص بازداری و طیف‌های جرمی ترکیبات استاندارد و نیز استفاده از کتابخانه‌های مختلف انجام گرفت و مقادیر هر یک از آنها بر اساس سطح زیر منحنی ترکیب مورد نظر در طیف کروماتوگرام بدست آمد.

نتایج

مطالعه داده‌های اقلیمی و جغرافیایی مناطق رویشی آویشن دنایی در سه استان مورد مطالعه نشان داد که بطور کلی این گیاه در مناطقی با ارتفاعات نسبتاً بالا با میانگین رطوبت نسبی پائین، میزان بارش و میانگین دمای متوسط رویش دارد (جدول ۲).



شکل ۱: میانگین اسانس اکوتیپ‌های مورد مطالعه در رویشگاه طبیعی و مزرعه

در شرایط رویشگاه طبیعی اجزای غالب اسانس را به ترتیب ترکیبات تیمول (۷۵/۴۵ درصد)، پ-سیمن (۵/۶۷ درصد) و گاماترپینن (۴/۴۶ درصد) تشکیل می‌دادند، در حالیکه در نمونه مزرعه، کارواکرول (۴۹/۴۷ درصد)، تیمول (۳۲/۰۱ درصد) و پ-سیمن (۵/۰۳ درصد) ترکیبات غالب اسانس بودند. در اسانس نمونه رویشگاه طبیعی اکوتیپ استان مرکزی، تیمول (۷۴/۵۱ درصد)، پ-سیمن (۵/۱۳ درصد) و ترانس کاروفیلین (۴/۷۵ درصد) و در نمونه مزرعه همین اکوتیپ، تیمول (۷۳/۵۶ درصد)، گاماترپینن (۴/۸۴ درصد) و پ-سیمن (۴/۵۱ درصد) به ترتیب اجزای غالب اسانس بودند. می‌توان گفت که در اسانس همه‌ی اکوتیپ‌ها و در هر دو شرایط رویشگاه و مزرعه، ترکیبات تیمول و پ-سیمن به عنوان اجزای غالب حضور داشتند (جدول ۳).

در مجموع ۳۰ ترکیب در همه اسانس‌ها شناسایی شدند که بخش عمده اسانس را تشکیل می‌دادند. بررسی نتایج آنالیز اسانس‌ها نشان داد که ترکیبات تشکیل دهنده‌ی اسانس و حضور یا عدم حضور یک ترکیب خاص در همه‌ی اکوتیپ‌ها هم در شرایط رویشگاه و هم در شرایط مزرعه تقریباً مشابه بود. اما در نوع ترکیبات غالب و نیز میزان آنها در اکوتیپ‌های مختلف در شرایط رویشگاه و مزرعه تفاوت‌هایی مشاهده شد. طوریکه اجزای غالب اسانس اکوتیپ همدان در رویشگاه طبیعی به ترتیب، تیمول (۶۷/۱۶ درصد)، پ-سیمن (۶/۸۶ درصد) و کارواکرول متیل اتر (۵/۹۴ درصد) بود ولی در شرایط کشت در مزرعه به ترتیب تیمول (۶۹/۸۶ درصد)، گاماترپینن (۶/۶۷ درصد) و پ-سیمن (۶/۴۲ درصد) اجزای غالب اسانس را تشکیل می‌دادند. در اکوتیپ استان لرستان و

جدول ۳: مقایسه کمیت و کیفیت اجزای اسانس اکوتیپ‌های آویشن دنايي در دو رویشگاه طبیعی و مزرعه

| ردیف | ترکیب | شاخص بازداری | مرکزی | | لرستان | | همدان | |
|------|------------------------|--------------|-------|---------------|--------|---------------|-------|---------------|
| | | | مزرعه | رویشگاه طبیعی | مزرعه | رویشگاه طبیعی | مزرعه | رویشگاه طبیعی |
| ۱ | α -Thujene | ۹۲۶ | ۰/۷۸ | ۰/۰۷ | ۰/۷۹ | ۰/۰۷ | ۰/۹۲ | ۰/۲ |
| ۲ | α -Pinene | ۹۳۴ | ۰/۷۷ | ۰/۵۹ | ۰/۵۸ | ۰/۴۶ | ۰/۵۶ | ۰/۶۲ |
| ۳ | Camphene | ۹۴۹ | ۰/۳۵ | ۰/۳۳ | ۰/۰۸ | ۰/۰۶ | ۰/۰۸ | ۰/۱۴ |
| ۴ | β -Pinene | ۹۷۸ | ۰/۱۹ | ۰/۰۸ | ۰/۱۹ | ۰/۰۸ | ۰/۱۹ | ۰/۱۸ |
| ۵ | β -Myrcene | ۹۹۰ | ۱/۷۳ | ۱/۱۷ | ۱/۲ | ۱/۲۹ | ۱/۵۵ | ۱/۲۵ |
| ۶ | α -Phellandrene | ۱۰۰۶ | ۰/۲۸ | ۰/۱۹ | ۰/۲۱ | ۰/۱۹ | ۰/۲۵ | ۰/۱۹ |
| ۷ | α -Terpinene | ۱۰۱۷ | ۱/۲۶ | ۰/۹۶ | ۱/۰۱ | ۱/۲۳ | ۱/۴۱ | ۱/۰ |
| ۸ | p-Cymene | ۱۰۲۶ | ۴/۵۱ | ۵/۱۳ | ۵/۰۳ | ۵/۶۷ | ۶/۴۲ | ۶/۸۶ |
| ۹ | D-Limonene | ۱۰۲۹ | ۰/۱۶ | ۰/۱۲ | ۰/۱۴ | ۰/۱۲ | ۰/۱۴ | ۰/۱۴ |
| ۱۰ | 1,8-Cineole | ۱۰۳۲ | ۰/۲۲ | ۰/۵۷ | ۰/۶۳ | ۰/۴۷ | ۰/۳۱ | ۱/۹۹ |
| ۱۱ | γ -Terpinene | ۱۰۵۹ | ۴/۸۴ | ۳/۳۶ | ۴/۰۱ | ۴/۴۶ | ۶/۶۷ | ۳/۹۷ |
| ۱۲ | cis-Sabinene hydrate | ۱۰۶۸ | ۰/۳۶ | ۰/۱۵ | ۰/۳ | ۰/۱۶ | ۰/۴۴ | tr |
| ۱۳ | α -Terpinolene | ۱۰۹۰ | ۰/۱۷ | ۰/۱۴ | ۰/۱۲ | ۰/۱۴ | ۰/۱۱ | ۰/۱۵ |
| ۱۴ | Linalool | ۱۱۰۱ | ۰/۲۶ | ۰/۳۴ | ۰/۲ | ۰/۳۴ | ۰/۲۹ | ۰/۴۱ |
| ۱۵ | Borneol | ۱۱۷۱ | tr | tr | tr | tr | tr | ۰/۰۴ |
| ۱۶ | 4-Terpineol | ۱۱۸۲ | ۱/۰۹ | ۱/۱ | ۰/۳۲ | ۰/۴۳ | ۰/۳۷ | ۱/۰۷ |
| ۱۷ | α -Terpineol | ۱۲۰۳ | tr | ۰/۰۵ | tr | tr | tr | ۰/۰۳ |

| | | | | | | | | |
|----|-----------------------------|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| ۱۸ | Carvacrol methyl ether | ۱۲۴۹ | ۰/۱۷ | ۲/۴۵ | ۰/۱۱ | ۰/۱۸ | ۰/۲۴ | ۵/۹۴ |
| ۱۹ | Thymol | ۱۳۰۹ | ۷۳/۵۶ | ۷۴/۵۱ | ۳۲/۰۱ | ۷۵/۴۵ | ۶۹/۸۶ | ۶۷/۱۶ |
| ۲۰ | Carvacrol | ۱۳۱۲ | ۴/۳۶ | ۱/۷ | ۴۹/۴۷ | ۳/۷۰ | ۴/۵۵ | ۱/۰۹ |
| ۲۱ | trans-Caryophyllene | ۱۴۲۷ | ۳/۷۵ | ۴/۷۵ | ۲/۰۹ | ۳/۱ | ۳/۸۲ | ۵/۰۲ |
| ۲۲ | Aromandendrene | ۱۴۴۴ | ۰/۱۹ | ۰/۱۸ | ۰/۱۱ | ۰/۱۲ | ۰/۱۴ | ۰/۱۲ |
| ۲۳ | α -Humulene | ۱۴۵۸ | ۰/۱۱ | ۰/۱۴ | ۰/۰۷ | ۰/۱ | ۰/۱۲ | ۰/۱۴ |
| ۲۴ | Ledene | ۱۴۹۸ | ۰/۱۷ | ۰/۱۶ | ۰/۱۱ | ۰/۱ | ۰/۱۴ | ۰/۱۱ |
| ۲۵ | β -Bisabolene | ۱۵۰۹ | tr | ۰/۱۱ | ۰/۱۷ | ۰/۳۳ | ۰/۲۵ | ۰/۰۹ |
| ۲۶ | (E)- α -Bisabolene | ۱۵۴۴ | ۰/۰۴ | ۰/۲۶ | ۰/۱۴ | ۰/۵۳ | ۰/۰۶ | ۰/۰۳ |
| ۲۷ | Spathulenol | ۱۵۸۴ | ۰/۰۲ | ۰/۰۲ | ۰/۰۲ | ۰/۰۳ | ۰/۰۲ | ۰/۰۲ |
| ۲۸ | Caryophyllene oxide | ۱۵۹۰ | ۰/۴۶ | ۰/۶۹ | ۰/۶۴ | ۰/۷۴ | ۰/۹۳ | ۱/۴۳ |
| ۲۹ | α -Cadinol | ۱۶۶۱ | tr | ۰/۰۲ | ۰/۰۲ | ۰/۰۲ | ۰/۰۱ | ۰/۱۷ |
| ۳۰ | Bis(2-ethylhexyl) phthalate | ۱۶۹۶ | ۰/۱۸ | ۰/۶۴ | ۰/۲ | ۰/۴۴ | ۰/۱۴ | ۰/۴۲ |

tr معادل trace (مقادیر کمتر از ۰/۰۵٪)

بحث

نمونه برداری تفاوت چندانی وجود نداشت. بطور کلی افزایش دما در اغلب گونه‌های گیاهی باعث افزایش بیوستز اسانس‌ها می‌شود. در چنین شرایطی گیاه تحت تنش ملایم گرمایی و خشکی قرار می‌گیرد و برای مقابله با این تنش تولید ترکیبات محافظت کننده گیاه مانند مونوترپن‌ها افزایش می‌یابد (Lusia et al., 2006). اسانس‌ها دارای ظرفیت گرمایی ویژه بالایی بوده و در شرایط تنش خشکی (تولید گرما در گیاه) در ذخیره گرما و در نتیجه جلوگیری از آسیب دمایی به گیاه کمک می‌کنند (Fasina and Colley, 2008).

در شرایط مزرعه، درصد اسانس اکوتیپ‌ها تفاوت معنی‌داری با هم نداشتند ولی میزان تیمول اسانس در سه اکوتیپ تحت این شرایط خیلی با هم متفاوت بود. در اکوتیپ‌های همدان و مرکزی تحت شرایط مزرعه، تیمول بیشترین درصد اسانس را به خود اختصاص می‌داد، در حالی که در اکوتیپ لرستان برخلاف شرایط رویشگاهی، این کاراکرول بود که بیشترین درصد اسانس را تشکیل می‌داد. بین میزان تیمول و کاراکرول اکوتیپ‌ها رابطه معکوس وجود داشت، طوریکه در اکوتیپ‌هایی که میزان تیمول بالا بود،

یکی از مهمترین اهداف اصلاح گیاهان دارویی بهبود و توسعه کموتایپ‌های برتر گیاه است، بنابراین شناسایی کموتایپ‌های برتر امری کاملاً ضروری به نظر می‌رسد. میزان تولید متابولیت ثانویه و نیز اجزای مختلف متابولیت ثانویه گیاهان دارویی در رویشگاه‌های مختلف متغیر است. بنابراین لازم است در مرحله اول کموتایپ مورد نظر شناسایی و سپس شرایط اقلیمی و خاکی مناسب با کشت و پرورش آن تعیین و فراهم گردد (Rustaiee, 2009). در مقایسه کمیت و کیفیت اسانس اکوتیپ‌ها در شرایط رویشگاه طبیعی باید گفت که هم میزان اسانس و هم جزء غالب و با ارزش اسانس آویشن دناپی که همان تیمول است، تحت تاثیر شرایط رویشگاه بود. میزان بالاتر اسانس و نیز تیمول موجود در اسانس اکوتیپ‌های لرستان و مرکزی در مقایسه با اکوتیپ همدان را تا حدودی می‌توان به میانگین دمای بالاتر شش ماهه اول سال که مصادف با دوره‌ی رشدونمو، گلدهی و تجمع اسانس آویشن دناپی است، نسبت داد. چون در سایر شرایط آب‌وهوایی و خاکی، بین سه منطقه

آویشن کرمانی (*Thymus carmanicus* Jalas.) و آویشن شیرازی (Saber Amoli et al., 2007) و *Zataria multiflora* (Gholami and Askarzadeh, 2005)، گزارش شده که این گیاهان سازگاری بالایی در مناطق با بارندگی متوسط سالیانه پایین داشته و میزان بارندگی تأثیر چندانی بر درصد اسانس آنها ندارد. گزارش شده که آویشن برای تولید کمی و کیفی مناسب نیاز به هوای ملایم و معتدل متمایل به گرم، خشک و آفتابی دارد (Yazdani and Shahnazi, 2004). در آویشن آذربایجانی (*Thymus migricus* Klokov & Desj.-Shost) میزان اسانس با غلظت کلسیم و پتاسیم، درصد شن و ماده آلی همبستگی مثبت و با درصد سیلت و رس همبستگی منفی نشان داده است (Yavari, 2009). در مطالعه‌ی حاضر مشاهده شد که آویشن‌دنیایی در خاک‌هایی با pHهای بالا رویش دارد، که البته برخی مطالعات دیگر نیز تأیید کننده این مطلب می‌باشند. در مطالعه‌ی روی خصوصیات رویشگاهی آویشن‌دنیایی، pH مناسب برای رشدونمو این گیاه را حدود ۷/۳۸-۸/۰۵ گزارش کرده‌اند (Karimi et al., 2010). خاک رویشگاه‌های مورد مطالعه دارای آهک نسبتاً بالایی بودند که در مطالعات دیگر نیز رشد آویشن در خاک‌های با ترکیبات آهکی زیاد گزارش شده است (Weeler et al., 2007). همچنین نتایج نشان داد که آویشن‌دنیایی در خاک‌هایی با بافت‌های متفاوت می‌تواند رویش داشته باشد. رشد آویشن در خاک‌های شن‌رسی (Saber, 2001) و خاک‌های لومی‌شنی (Saber Amoli et al., 2007) گزارش شده است.

پی بردن به ارتباط بین درصد ماده موثره و اجزای آن با خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک این امکان را به ما می‌دهد که برای دست‌یابی به بالاترین کمیت و کیفیت ماده موثره، مناسب‌ترین شرایط خاکی را برای گیاه فراهم کنیم (Khorshidi, 2015). در پروسه

میزان کارواکروول پایین و در اکوتیپ‌هایی که میزان تیمول پایین بود، میزان کارواکروول بالاتر بود.

واکنش اکوتیپ‌ها به تغییر شرایط رویشی از رویشگاه طبیعی به مزرعه از نظر میزان تولید اسانس متفاوت بود، طوریکه اکوتیپ همدان در شرایط کشت در مزرعه در مقایسه با شرایط رویشگاه میزان اسانس بیشتری داشت، در حالیکه در دو اکوتیپ دیگر میزان اسانس در شرایط رویشگاهی بیشتر از مزرعه بود. شاید دست‌یابی به چنین نتیجه‌ای به این علت باشد که میانگین دمای شش‌ماهه اول سال در شرایط کرج (مزرعه) در مقایسه با همدان بیشتر بوده و همین امر موجبات تولید بیشتر اسانس را فراهم کرده است. اما بین کرج با شرایط رویشگاهی استان‌های لرستان و مرکزی از نظر میانگین دمای شش‌ماهه‌ی اول تفاوت چندانی وجود نداشت. عواملی مثل نور، رطوبت، آب و ارتفاع از سطح دریا از جمله عوامل اساسی و تعیین کننده کمیت و کیفیت مواد موثره دارویی در گیاهان هستند (Koocheki and Alizadeh, 1995). شرایط اقلیمی منطقه رویش گیاه با تأثیر بر میزان فتوسنتز، تنفس و نیز خصوصیات رشدی و مورفولوژیکی گیاه می‌تواند روی محتوی اسانس و نیز اجزای آن تأثیرگذار باشد (Saharkhiz, 2002). میزان تأثیرپذیری درصد اسانس و اجزای مختلف اسانس آویشن‌ها از شرایط رویشگاهی در برخی مطالعات دیگر نیز ارزیابی و گزارش شده است. در تحقیقی تأثیر رویشگاه‌های مختلف بر اجزای اسانس آویشن‌دنیایی بررسی شده و دریافته‌اند که درصد تیمول همبستگی مثبت و معنی‌داری با ارتفاع از سطح دریا دارد، در حالیکه میزان کارواکروول تحت تأثیر ارتفاع از سطح دریا قرار نداشت (Karimi et al., 2010). همبستگی مثبت بین درصد تیمول و ارتفاع از سطح دریا در آویشن گونه *T. kotschyanus* گزارش شده است (Habibi et al., 2006). همچنین در مورد گیاهان

از درصد اسانس و نیز تیمول بالاتری برخوردار بوده و لذا ضروری به نظر می‌رسد که در راستای اهلی‌سازی و کشت و کار این گیاه با ارزش گام‌هایی برداشته شود. از آنجائی که درصد اسانس اکوتیپ‌های مورد مطالعه در شرایط کشت یکسان تفاوت معنی‌داری با هم نداشتند ولی در رویشگاه‌های طبیعی این تفاوت معنی‌دار بود، نشان‌دهنده‌ی تأثیرپذیر بودن میزان اسانس آویشن‌دنیایی از شرایط آب‌وهوایی و خاکی رویشگاه است. براساس نتایج بدست آمده، اکوتیپ استان مرکزی در مقایسه با دو اکوتیپ دیگر در رویشگاه طبیعی بیشترین میزان اسانس را داشت، لذا جهت دست‌یابی به بیشترین میزان اسانس در این گیاه، فراهم نمودن شرایطی مشابه با شرایط رویشگاه استان مرکزی ضمن اهلی‌سازی و کشت و کار این گیاه ضروری به نظر می‌رسد.

سپاسگزاری

از دانشگاه تهران بخاطر حمایت‌های مالی پروژه و از دکتر فواد فاتحی به سبب کمک‌های زیادی که ضمن انجام این تحقیق داشتند، کمال سپاس و قدردانی را داریم.

اهلی‌سازی یک گیاه دارویی علاوه بر کمیت ماده موثره، میزان جزء غالب و باارزش ماده موثره است که تعیین‌کننده محیط کشت ثانویه گیاه می‌باشد. در آویشن‌دنیایی نیز علاوه بر میزان اسانس، میزان تیمول و در وهله‌ی بعدی، میزان ترکیباتی همچون کارواکرول است که تعیین‌کننده محیط کشت ثانویه گیاه می‌باشند، لذا رصد کردن و ارزیابی تغییرات این ترکیبات یکی از مهمترین نکات قابل توجه در اهلی‌سازی این گیاه می‌باشد. از آنجائیکه براساس نتایج مطالعه حاضر و نیز نتایج سایر محققین، درصد و اجزای مهم اسانس آویشن‌دنیایی به شدت تحت تأثیر شرایط رویشگاهی هستند، لذا جهت دست‌یابی به بالاترین کمیت و کیفیت ماده موثره‌ی این گیاه، لازم است که اکوتیپ‌های بیشتری از این گیاه در شرایط آب‌وهوایی و خاکی مختلف کشت شده و مورد ارزیابی قرار گیرند تا نهایتاً به یک نتیجه جامع‌تر و مفیدتری رسید و بهترین شرایط برای کشت این گیاه شناسایی گردد.

نتیجه‌گیری نهایی

آویشن‌دنیایی در مقایسه با دیگر گونه‌های آویشن

References

1. Aflakian, S., Zeinali, H., Maddah Arefy, H., Enteshary, Sh. and Kaveh, Sh., 2012. Study of yield and yield components in 11 ecotype of *Thymus daenensis* Celak. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 28(2): 187-197. (In Persian)
2. Ahmadi, Sh., Sefidcon, F., Babakhanlo, P., Asgari, F., Khademi, K. and Karimifar, M.A., 2009. Comparing essential oil composition of *Satureja bachtiarica* Bunge before and full flowering stages in field and provenance. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 25(2): 159-169. (In Persian)
3. Akbarinia, A., Sharifi Ashoorabadi, E. and Mirza, M., 2010. Study on drug yield and essential oil content and composition of *Thymus daenensis* Celak. under cultivated condition. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 26(2): 205-212. (In Persian)
4. Barazandeh, M. and Bagherzadeh, K., 2007. Evaluation of essential oil chemical components of *Thymus daenensis* Celak. collected from four regions in Esfahan province. Journal of Medicinal Plant, 6(3): 15-19. (In Persian)
5. Chen, S.L., Hua, Y., Luo, H.M., Wu, Q., Li, Ch.F. and Steinmetz, A., 2016.

- Conservation and sustainable use of medicinal plants: problems, progress, and prospects. *Chinese Medicine*, 11(37): 1-10.
6. Fasina, O.O. and Colley, Z., 2008. Viscosity and specific heat of vegetable oils as a function of temperature: 35°C to 180°C. *International Journal of Food Properties*, 11: 738-746.
 7. Gholami, B. and Askarzadeh, M., 2005. Study of some ecological characteristics of four medicinal plant species in dry and desert regions of Khorasan. *National Congress on Sustainable Development*, 27-29 July, Mashhad, Iran, pp. 117-118. (In Persian)
 8. Habibi, H., Mazaheri, D., Majnoon Hosseini, N., Chaichi, M. and Fakhr Tabatabaiee, M., 2006. Effect of altitude on oil, essential oil and compounds of *Thymus kotschyanus* in Taleghan region. *Research and Extension in Agronomy and Horticulture*, 70: 1-10. (In Persian)
 9. Hasani, J., 2001. Ecological study of two geniuses *Thymus* and *Ziziphora* in Kurdistan province. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 20 (1): 1-17. (In Persian)
 10. Hasani, J., 2013. Essential oil comparison in *Thymus daenensis* Celak. and *Thymus fedtschenkoi* Ronniger. in natural Kurdistan habitats. *Eco-phytochemical Journal of Medical Plants*, 1(1): 1-12. (In Persian)
 11. Karimi, A., Ghasemi Pirbalouti, A., Malekpour, F., Yousefi, M. and Golparvar, A. R. 2010., Study of ecotypic and chemotypic of *Thymus daenensis* Celak. in Esfahan and Chaharmahal bakhtiari provinces. *Journal of Herbal Drugs*, 3: 1-10. (In Persian)
 12. Koochaki, A. and Alizadeh, M., 1995. Principle of agronomy in dry regions. *Astan Quds Razavi, Mashhad*, 260 p. (In Persian)
 13. Lusía, J., Uelas, J. P., Alessio, G. A. and Estiarte, M., 2006. Seasonal contrasting changes of foliar concentrations of terpenes and other volatile organic compounds in four dominant species of a mediterranean shrubland submitted to a field experimental drought and warming. *Physiologia Plantarum*, 127: 632-649.
 14. Ramak, P. and Sefidkon, F., 2008. Investigating the quality and quantity of essential oil of *Artemisia persica* Boiss. in field and provenance. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 24(2): 189-197. (In Persian)
 15. Rao, K.S., Semwal, R.L., Maikhuri, R.K., Nautiyal, S., Sen, K.K. and Singh, K., 2003. Indigenous ecological knowledge, biodiversity and sustainable development in the central Himalayas. *Tropical Ecology*, 44: 93-111.
 16. Rustaiee, A., 2009. The effect of ecological conditions on morphologic and phytochemical properties in *Thymus daenensis* Celak. M.Sc. Thesis, Tehran University, Iran. (In Persian)
 17. Rustaiee, A.R., Khorshidi, J., Tabatabaiee, M.F., Omidbaigi, R. and Sefidkon, F., 2010. Essential oil composition of *Thymus daenensis* Celak. during its phenological cycle. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 13(5): 556-560.
 18. Saber Amoli, S., Nowroozi, Sh., Shekarchian, A., Akbarzadeh, M. and Kodoori, M., 2007. Identification and study of ecological characteristics of Lamiaceae species in Kerman province. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 23(4): 532-543. (In Persian)
 19. Saharkhiz, M. J., 2002. Effect of harvesting time on *Pimpinella anisum* essential oil and components. M.Sc. Thesis. Faculty of Agriculture, University of Tarbiat Modarres, Iran. (In Persian)
 20. Sancholi, M., Bagheri, R., Zabiri Ansari, S., Mohammadi, S. and Khadangi Barani, Z., 2013. A comparison of the chemical compounds in the root, leaf, and fruit essences of the *Capparis sponisa* in the farm and its natural habitat. *Plant and Ecosystem*, 8(1): 27-40. (In Persian)
 21. Weeler, G. S., Pratt, P.D., Giblin-Davis, R.M. and Ordnung, K.M., 2007. Intra specific variation of *Melaleuca quinquenervia* leaf oils in its naturalized range in Florida, the Caribbean, and

- Hawaii. Biochemical Systematics and Ecology, 35: 489-500.
22. Yavari, A., 2009. Evaluation of morphological, molecular, ploidy level and phytochemical variation of *Thymus migricus* Klokov & Des -Shost in Iran. M.Sc. Thesis. Horticultural department, Faculty of agricultural science and engineering. University of Tehran. (In Persian)
23. Yazdani, D. and Shahnazi, S., 2004. Planting, cultivation and harvesting of medicinal plants. Shahid Beheshti University. (In Persian)

Phytochemical comparison in three ecotype of *Thymus daenensis* Celak. essential oil in natural habitats and field conditions

Khorshidi, J.¹, Shokrpour, M.^{2*} and Nazeri, V.³

¹Assistant Professor, Department of Horticultural Science and Engineering, Faculty of Agriculture, University of Kurdistan, Sanandaj, Iran

²Associate Professor, Department of Horticultural Science and Engineering, Campus of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

³Professor, Department of Horticultural Science and Engineering, Campus of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

Received: 14-1-2018 ; Accepted: 7-3-2018

Abstract

In the domestication process of medicinal plants, evaluation of qualitative and quantitative changes of active ingredients is necessary after transfer from natural habitat to field conditions. *Thymus daenensis* Celak. is an endemic vulnerable medicinal plants of Iran, which become especially important due to high essential oil content. In this study, essential oil quantity and quality of three ecotypes from Hamedan, Markazi and Lorestan provinces were evaluated under natural habitat and field conditions. Aerial parts of plants in natural habitat (in June 2012) and field (in June 2013) were harvested in full bloom stage and their essential oils were obtained by water distillation method by using Clevenger apparatus and were analyzed by GC and GC/MS. Results were indicated that the essential oil content of the ecotypes was significantly different in natural habitat, but this difference was not significant in field. Essential oil of Hamedan ecotype in field condition was more than natural habitat, but in two others ecotypes, essential oil content in natural habitat was greater than field conditions. Essential oil components in all ecotypes were almost same in both natural habitat and field, but there were differences in dominant components and their amount in natural habitat and field conditions. Finally, the highest content of essential oil (5 %) and thymol (75.45 %) were observed in Markazi and Lorestan ecotypes under natural habitat, respectively. As the results indicated, essential oil content and thymol of *Thymus daenensis* Celak was strongly influenced by habitat conditions and therefore study and determine the most appropriate secondary culture medium is necessary for domestication of this plant.

Keywords: Essential oil, Field, Natural habitat, *Thymus daenensis* Celak.

*Corresponding author: shokrpour@ut.ac.ir