# بررسی فیتوشیمیایی اسانس در اکسشن‌های مختلف گیاه دارویی *Thymus daenensis* Celak. کاشته شده در اراضی مختلف کم ارتفاع در استان گلستان

**محمدعلی درّی[1*]، مهدی میرزا[2]، ابراهیم شریفی عاشورآبادی[3]**

[1]استادیار، بخش تحقیقات جنگل و مرتع، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی، سازمان تحقیقات و آموزش و ترویج کشاورزی، گرگان

[2]استاد، موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

[3]دانشیار، موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

**تاریخ دریافت: ۹۶/۳/۲۸ تاریخ پذیرش: ۹۶/۷/۲۳**

**چکیده**

ارزیابی و مقایسه تغییرات فیتوشیمیایی گونه‌های دارویی در رویشگاه‌های مختلف به منظور شناسایی، اهلی سازی و انتخاب کموتایپ برتر در هر رویشگاه ضروری است. گیاه آویشن (*Thymus daenensis* Celak.) از گونه‌های دارویی ارزشمند متعلق به تیره نعنا با کاربردهای متعدد دارویی، بهداشتی و آرایشی می‌باشد، بنابراین شناخت تغییرات فیتوشیمیایی در اکسشن‌های مختلف آن از اهمیت ویژه در بهبود و اهلی‌سازی کموتایپ‌های مختلف آن دارد. اکسشن‌های گونه آویشن‌دنایی (*Thymus daenensis* Celak.) در مزرعه تحقیقاتی مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی گلستان در گرگان کاشته و در طی دو سال ۱۳۸۹ و ۱۳۹۰ مطالعه شدند. بدین منظور سرشاخه گلدار گیاه در زمان ۵۰ درصد گلدهی از رویشگاه‌های مختلف برداشت، در سایه خشک و آسیاب شدند. استخراج اسانس از تمامی اکسشن‌ها به روش تقطیر با آب انجام گرفت و با استفاده از دستگاه‌های گاز کروماتوگرافی متصل به طیف سنجی جرمی GC/MS آنالیز و مهمترین ترکیب‌های شیمیایی آنها شناسایی و مقایسه شدند. نتایج نشان داد درصد اسانس این اکسشن‌ها در دامنه ۰/۲۲ تا ۳/۶ درصد بود که بالاترین میزان آن در اکسشن ۶۰ با منشا استان مرکزی۱ (۳/۶ درصد) اندازه‌گیری شد. در این مطالعه، چندین کموتایپ مهم با بیشترین میزان: لینالول، پارا سیمن، تیمول، کارواکرول و ۱،۸ سینئول شناسایی شدند. بالاترین میزان درصد ترکیب‌های : تیمول (۷۲ درصد) و کارواکرول (۴۳/۹ درصد) به ترتیب مربوط به اکسشن ۶۰ با منشا استان مرکزی۱ و اکسشن ۴۹ با منشا استان اصفهان۲ بودند. یافته‌ها حاکی از آن است که درصد اسانس و میزان تیمول و کارواکرول آویشن دنایی متاثر از تغییرات رویشگاهی بوده بنابراین تعیین مناسبترین رویشگاه به منظور دستیابی به کموتایپ برتر و بهبود یافته الزامی بنظر می رسد و برای تولید بیشتر تیمول و کارواکرول این دو اکسشن را می‌توان توصیه نمود.

***واژه‌های کلیدی***: آویشن‌دنایی، اسانس، اکوتیپ، تیمول، کارواکرول، رویشگاه‌های طبیعی گلستان

*نویسنده مسئول: mohamaddori@yahoo.com

**مقدمه**

کشت گیاهان دارویی بومی در مزرعه به منظور اهلی‌سازی، حفاظت و جلوگیری از انقراض گونه‌های دارویی الزامی بوده و از مهمترین اهداف اهلی سازی و بهبود کموتایپ‌ها دسترسی و شناسایی مهمترین ترکیبات دارویی گونه‌ها در رویشگاههای طبیعی و مقایسه آن با شرایط کشت می‌باشد (Chen et al., 2016). لذا ضروریست حتما در راستای دست یابی به بهبود کیفیت فیتوشیمیایی گونه‌ها ، ارزیابی و مقایسه کمی و کیفی ترکیبات شیمیایی گونه‌ها در شرایط طبیعی و مزرعه یا کاشت مورد بررسی قرار گیرد

جنس آویشن از تیره نعنا می‌باشد. در این میان یکی از گونه‌های این جنس، تحت نام آویشن‌دنایی (*Thymus daenensis* Celak)، یکی از ۱۸ گونه بومی آویشن شناسایی شده و اندمیک در ایران است که انحصاری ایران با عملکرد اسانسی بالا و محتوای بالای تیمول و کارواکرول نیز می‌باشد (Jamzad, 2009; Rustaee et al., 2010). پراکنش این گیاه در ارتفاعات ۳۲۰۰-۱۴۵۰ استان‌های کردستان، زنجان، لرستان، اصفهان، یزد، چهارمحال و بختیاری، همدان، کهکیلویه و بویراحمد، فارس و قزوین گزارش شده است (Jamzad, 2009).

گیاه آویشن به‌دلیل داشتن اسانسی با خواص ضدباکتریایی، ضد قارچی و ضدانگلی، آن را در تمام فارماکوپه‌های معتبر به عنوان یک گیاه دارویی مهم معرفی نموده است (Janssen et al., 1987). عصاره الکلی گیاه آویشن‌دنایی دارای اثرات ضد درد می‌باشد که اثرات مثبت آن در مرحله مزمن درد مشخص‌تر است (Zandi Esfahan et al., 2015). بررسی خصوصیات ظاهری (مورفولوژی) و شیمیایی موثر بر عملکرد گیاه و اسانس آویشن به دلیل وجود تنوع در میان گونه‌های آن، ضرورت دارد.، مطالعه این صفات از جمله روش‌های مناسب برای دست‌یابی به معیارهای انتخاب در جهت بهبود عملکرد واصلاح و معرفی ارقام تجاری می‌باشد.

تحقیقات در خصوص شناخت مناطق رویشگاهی، مواد مؤثره گونه‌های آویشن از جمله آویشن‌دنایی در عرصه‌های طبیعی ایران انجام شده است (Barazandeh and Bagherzadeh, 2007; Nikavar et al., 2005) در تحقیقی تعداد ترکیب‌های اسانس آویشن‌دنایی جمع‌آوری شده از استان همدان، ۲۶ ترکیب گزارش شد (Nikavar et al., 2005). عملکرد سرشاخه آویشن‌دنایی با افزایش سن گیاه روند افزایشی داشت اما میزان اسانس آن تحت تاثیر سال تغییرات معنی‌دار نداشت (Akbarinia et al., 2010). مطالعات انجام شده در زمینه بررسی کمّی و کیفی گونه‌های آویشن نشان داده است که مونوترپن‌های دارای حلقه فنل تیمول و کارواکرول از ترکیب‌های اصلی اسانس در گونه‌های مختلف آویشن می‌باشند (Mirza et al., 2015).

البته ارزیابی و مقایسه تغییرات کمی و کیفی ترکیبات شیمیایی گیاهان در رویشگاههای طبیعی و مزرع بسیار انجام گرفته است (Sanchuli et al., 2013). در بررسی‌ها و مطالعات انجام شده ترکیب اصلی اسانس آویشن دنایی توسط محققان متعدد، گزارش شده است. در تحقیقی ترکیبات عمده اسانس گونه آویشن دنایی تیمول، کاریوفیلن، گاما-ترپینن، پارا -سیمن و کارواکرول معرفی شدند (Khorshidi and Rustaiee, 2011). ترکیب‌های مهم تیمول، پارا-سیمن، گاما-ترپینن، کارواکرول متیل اتر، ۸،۱-سینئول، بورنئول و کارواکرول در اسانس آویشن دنایی، کاشته شده در استان قزوین گزارش شد (Akbarinia and Mirza, 2008). در بررسی‌های دیگری ترکیبات اصلی بدست آمده از اسانس آویشن دنایی تیمول، پارا -سیمن، بتا -کاریوفیلن، متیل

کارواکرول (نیک آور و همکاران، ۲۰۰۵) و تیمول، گاما -ترپینن، پارا-سیمن، متیل کارواکرول و توژن (روستایی و همکاران، ۲۰۱۰) گزارش شد. در تحقیقی بر روی اسانس اندام‌هوایی آویشن ولگار جمع‌آوری شده از طبیعت اردن، در مقایسه با گیاهان کاشته شده مشخص شد که میزان بازده اسانس در گیاهان جمع‌آوری شده از طبیعت نزدیک به سه برابر گیاهان کاشته شده بود (Hudaib and Aburaji, 2003).

بررسی‌های اندکی بر روی گیاهان اسانس‌دار تیره نعنا در اراضی کم ارتفاع کشور انجام شده است. بنابراین، بررسی حاضر با هدف تعیین تغییرات کمّی و کیفی اسانس اکسشن‌های گیاه آویشن‌دنایی به عنوان یک گونه بومی کشور، در اراضی با ارتفاع کمتر از ۲۰۰ متر از سطح دریا انجام شد. این مطالعه بر روی گیاه اسانس‌دار و مهم آویشن در اراضی کم ارتفاع در کشور بی‌نظیر و یا حداقل کم‌نظیر می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

در این تحقیق تعداد هشت اکسشن از گونه آویشن‌دنایی (*Thymus daenensis* Celak.) که نمونه‌های بذری آن توسط بانک ژن موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور تهیه و تایید شده است، استفاده شد. بدین ترتیب که اکسشن‌ها شامل اکسشن ۳۸ با منشا استان قزوین، اکسشن ۴۰ با منشا استان لرستان ۱، اکسشن ۴۲ با منشاء استان اصفهان ۱، اکسشن ۴۹ با منشاء استان اصفهان ۲، اکسشن ۶۰ با منشا استان مرکزی ۱، اکسشن ۶۲ با منشاء استان لرستان ۲، اکسشن‌های ۶۸ و ۷۲ به‌ترتیب با منشا استان اصفهان۳ و مرکزی۲ بودند.

شرایط و ویژگی‌های محل رشد اکسشن‌های مورد مطالعه یعنی مزرعه تحقیقاتی مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی گلستان واقع در گرگان، با بارندگی بلندمدت ۵۵۰-۴۵۰ میلی‌متر، بافت خاک لومی و ارتفاع از سطح دریا ۱۶۰ متر و بارش‌ها عمدتاً به صورت باران و در طول ماه‌های اواخر پاییز تا اوایل بهار می‌باشد. سرشاخه‌های گلدار اکسشن‌های آویشن دنایی، در زمان ۵۰ درصد گلدهی جمع‌آوری و در شرایط سایه خشک و بعد آسیاب شدند .از روش تقطیر با آب و توسط دستگاه طرح کلونجر برای مدت سه ساعت برای استخراج اسانس استفاده شد.

### شرایط دستگاهی

**دستگاه کروماتوگرافی گازی (GC):** این دستگاه الگوی Termo-UFM (Ultra-Fast Model) ساخت کشور ایتالیا و داده‌پرداز Chrom-Card pbt ستون موئینه با نام تجارتی Ph- 5 (غیرقطبی) ساخت شرکت Termo به طول ۱۰ متر و قطر داخلی ۰/۱ میکرومتر و به ضخامت ۰/۴ میلی‌متر است، که سطح داخلی آن با فاز ساکن از جنس phenyl dimethyl پنج درصد polysiloxan پوشیده شده است. 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 سه دقیقه متوقف شد. نوع آشکارساز از گاز FID و از نوع هلیم به‌عنوان گاز حامل که فشار ورود ی آن به ستون برابر با ۰/۵ کیلوگرم بر سانتی‌مترمربع تنظیم شده، استفاده گردید دمای محفظه آشکارساز ۲۹۰ درجه سانتی‌گراد و درجه حرارت محفظه تزریق ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد.

**دستگاه کروماتوگرافی 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 با ستون DB- 5 که ستونی نیمه قطبی (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 اینچ‌مربع، درجه حرارت ۴۰ تا ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت افزایش سه درجه سانتی‌گراد در دقیقه و درجه حرارت محفظه تزریق ۲۶۰ درجه سانتی‌گراد و دمای ترانسفر لاین ۲۷۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. شناسایی طیف‌ها به کمک شاخص‌های بازداری آن‌ها، با تزریق با هیدروکربن‌های نرمال (C7-C25) در شرایط یکسان با تزریق اسانس‌ها و محاسبه توسط برنامه رایانه ای و به زبان بیسیک و با استفاده از طیف‌های جرمی ترکیب‌های استاندارد و اطلاعات موجود در کتابخانه دستگاه GC/MS انجام شد.

**نتایج**

درصد اسانس در کد نمونه‌های اکسشن‌های آویشن دنایی، نوسانی از ۰/۲۲ تا ۳/۶ را در دو سال آزمایش نشان داد (جدول ۱). بر طبق نتایج اکسشن ۶۰ با منشاء استان مرکزی۱ بیشترین درصد اسانس (۳/۶) در سال دوم و اکسشن ۴۲ با منشاء استان اصفهان۱ کمترین درصد اسانس (۰/۲۲) در سال اول را داشتند. همچنین نتایج نشان داد که تعداد پنج اکسشن از هشت تا، در سال دوم اندازه‌گیری میزان اسانس قابل توجهی (بالای ۳ درصد) تولید نمودند. در این میان تنها اکسشن۴۲ بود که در هر دوسال اندازه‌گیری میزان اسانس کمتر از یک درصد تولید نمود (جدول ۱).

**جدول ۱:** میزان درصد اسانس اندازه‌گیری شده در اکسشن‌های *T.daenensis*

| سال اول | | سال دوم |
|---|---|---|
| کد اکسشن | درصد اسانس | |
| ۳۸ | ۰/۵ | ۲/۴۵ |
| ۴۰ | ۱/۵۵ | ۳/۰۲ |
| ۴۲ | ۰/۲۲ | ۰/۶۵ |
| ۴۹ | ۰/۸۵ | ۳/۰۷ |
| ۶۰ | ۱/۱۵ | ۳/۶ |
| ۶۲ | ۰/۹۲ | ۳/۲۵ |
| ۶۸ | – | ۳/۰۷ |
| ۷۲ | – | ۲/۸۵ |

ترکیب‌های شیمیایی شناسایی شده در اکسشن‌های مورد مطالعه، حاکی از وجود تعداد نه ترکیب عمده و اصلی می‌باشد که به همراه اندیس بازداری برای دو سال متوالی ۸۹ و ۹۰ ارائه شده است (جدول ۲). کموتیپ‌های کارواکرول، تیمول، آلفا – ترپینئول، ژرانیول، بورنئول، لینالول، ۸،۱- سینئول، ای- کاریوفیلن و **پاراسیمن** به عنوان ترکیب اصلی اکسشن‌های مورد مطالعه شناسایی شدند (جدول ۲).

میزان تیمول از ۵/۷۳ درصد تا ۷۲/۸۵ متغیر بود که بیشترین درصد تیمول در اکسشن ۴۲ با منشا استان اصفهان۱ در سال اول و بعد از آن در اکسشن ۷۲ با منشا استان مرکزی۲ مشاهده شد. تغییرات میزان کارواکرول شناسایی شده در اسانس اکسشن‌های این مطالعه از ۳/۵۵ درصد تا ۴۳/۹ بود که بیشترین درصد کارواکرول در اکسشن ۶۲ با منشا استان لرستان۲، در سال دوم مشاهده شد. در اسانس اکسشن ۶۰ با منشا استان مرکزی۱ در سال دوم، کارواکرول مشاهده نشد (جدول ۲).

**جدول ۲:** درصد ترکیب‌های عمده در اسانس اکسشن‌های مختلف آویشن دنایی کاشته شده در اراضی کم ارتفاع گرگان

| ترکیبات عمده | شاخص بازداری[1] | کد نمونه‌ها در سال اول | | | | | | کد نمونه‌ها در سال دوم | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | ۳۸ | ۴۰ | ۴۲ | ۴۹ | ۶۰ | ۶۲ | ۳۸ | ۴۰ | ۴۲ | ۴۹ | ۶۰ | ۶۲ |
| | | % | | | | | | % | | | | | |
| ای- کاریوفیلن | ۱۴۸۸ | - | ۶/۴۷ | ۲/۴۵ | ۴/۱۶ | ۶/۲۲ | ۳/۵۸ | ۱/۳۲ | ۴/۵۷ | ۳/۶۶ | ۴/۲۲ | ۶/۴۱ | ۲/۵۹ |
| کارواکرول | ۱۳۲۶ | ۴/۲۱ | ۳/۵۵ | ۵/۹ | ۷/۶۱ | ۶/۰۲ | ۲۳/۱۱ | ۷/۳۴ | ۱۰/۶۹ | ۱۰/۶۹ | ۱۱/۱۱ | – | ۴۳/۹ |
| تیمول | ۱۳۱۵ | ۴۰/۱۱ | ۶۱/۱۱ | ۷۲/۸۵ | ۵۳/۴۵ | ۷۲/۲۹ | ۵/۷۳ | ۴/۶۱ | ۷۲/۰۱ | ۶۱/۲۷ | ۶۲/۹ | ۶۸/۱ | ۷/۹۵ |
| ژرانیول | ۱۲۷۴ | - | - | - | - | - | ۳۲/۴۵ | - | - | - | - | ۲/۶۴ | - |
| آلفا – ترپینئول | ۱۲۲۷ | - | - | - | ۱/۲۱ | - | - | - | - | - | - | - | - |
| برنئول | ۱۲۱۱ | ۱/۵۳ | ۱/۱۱ | ۱/۶۹ | ۷/۵۱ | ۲/۵۸ | ۴/۱۱ | ۴/۹ | ۱/۱۹ | ۲/۴۶ | ۱/۴۴ | ۲/۱۵ | ۳/۱۳ |
| لینالول | ۱۱۱۳ | ۲/۶۷ | ۰/۹۲ | ۱/۰۹ | ۱/۰۴ | ۰/۸۵ | ۰/۶ | ۴/۱۲ | ۰/۸۳ | ۰/۷۷ | ۰/۷۷ | - | ۰/۷۵ |
| ۱، ۸- سینئول | ۱۰۶۶ | - | ۲/۲۷ | ۲/۴۶ | ۳/۰۴ | ۱/۶۴ | ۳/۵۷ | - | ۱/۰۶ | ۲/۹۵ | ۱/۲۳ | ۴/۰۲ | ۲/۶۵ |
| **پاراسیمن** | ۱۰۵۱ | ۲۲/۹۹ | ۱۱/۴۱ | ۳/۵۳ | ۸/۷۴ | ۴/۰۳ | ۵/۸۳ | ۲۳/۵۶ | ۴/۲۸ | ۲/۹۵ | ۶/۳۷ | ۰/۴۶ | ۱۹/۳۶ |

| ترکیبات عمده | شاخص بازداری[1] | کد نمونه‌ها در سال دوم | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | ۶۰ | ۶۲ | ۶۸ | ۷۲ | | |
| | | % | | | | | |
| ای- کاریوفیلن | ۱۴۸۸ | ۶/۴۱ | ۲/۵۹ | ۴/۶۳ | ۳/۹۱ | | |
| کارواکرول | ۱۳۲۶ | – | ۴۳/۹ | ۱۱/۶۴ | ۸/۰۵ | | |
| تیمول | ۱۳۱۵ | ۶۸/۱ | ۷/۹۵ | ۶۲/۴۱ | ۷۱/۶۴ | | |
| ژرانیول | ۱۲۷۴ | ۲/۶۴ | - | - | - | | |
| آلفا – ترپینئول | ۱۲۲۷ | - | - | - | - | | |
| برنئول | ۱۲۱۱ | ۲/۱۵ | ۳/۱۳ | ۱/۲۸ | ۱/۳۲ | | |
| لینالول | ۱۱۱۳ | - | ۰/۷۵ | ۰/۳۹ | ۰/۶۹ | | |
| ۱، ۸- سینئول | ۱۰۶۶ | ۴/۰۲ | ۲/۶۵ | ۱/۴۲ | ۱/۰۴ | | |
| **پاراسیمن** | ۱۰۵۱ | ۰/۴۶ | ۱۹/۳۶ | ۵/۶ | ۴/۹۷ | | |

* مقادیر بر حسب درصد می‌باشد.

[1] Retention index

کمترین میزان ۱، ۸-سینئول بدست آمده از اکسشن‌های مورد مطالعه ۱/۰۴ درصد و بیشترین آن ۴/۰۲ درصد بود. اکسشن ۶۰ با منشا استان مرکزی۱ در سال دوم بیشترین میزان ۱، ۸-سینئول را نشان داد. در بین این اکسشن‌ها، این

ترکیب در اکسشن ۳۸ با منشاء استان قزوین در هر دو سال مشاهده نشد. ترکیب بورنئول در همه اکسشن‌ها یافت شد. دامنه تغییرات آن از ۱/۱ تا ۷/۵ درصد بود که بیشترین آن در اکسشن ۴۹ با منشاء استان اصفهان۲ شناسایی شد. میزان لینالول از ۰/۳۹ درصد تا ۴/۱۲ درصد متغیر بود و بیشترین درصد لینالول در اکسشن ۳۸ با منشا استان قزوین در سال دوم و کمترین درصد لینالول در اکسشن ۶۸ با منشا استان اصفهان۳ بدست آمد. لینالول در اسانس اکسشن ۶۰ با منشاء استان مرکزی۱ در سال دوم پیدا نشد (جدول ۲)

تغییرات میزان درصد پاراسیمن از ۰/۴۶ تا ۲۳/۵۶ درصد اندازه‌گیری شد (جدول ۲). بیشترین درصد پاراسیمن در اکسشن ۳۸ با منشا استان قزوین در سال دوم و کمترین درصد پاراسیمن در اکسشن ۶۰ با منشا استان مرکزی۱ در سال دوم دست آمد. از اختلاف مشاهده شده در شناسایی ترکیبات اسانس اکسشن‌های مورد مطالعه بدست آمد که کموتیپ آلفا-ترپینئول (۱/۲۱ درصد) در اکسشن ۴۹ با منشاء استان اصفهان۲ وجود داشت در حالی‌که این ترکیب در طول دو سال در اکسشن‌های دیگر مشاهده نشد (جدول ۲). همچنین کموتیپ ژرانیول در اسانس دو اکسشن ۶۰ (۲/۶۴ درصد) با منشاء استان مرکزی۱ و ۶۲ (۳۲/۴۵ درصد) با منشاء استان لرستان۲ شناسایی شد که در اسانس سایر اکسشن‌ها یافت نشد (جدول ۲).

**بحث**

یکی از مهمترین راههای اصلاح گیاهان دارویی شناسایی، بهبود و توسعه کموتایپ‌های برتر و طبیعی گونه‌ها در رویشگاههای طبیعی است و با تاثیر عوامل اقلیمی رویشگاهها در تغییرات کمی. کیفی ترکیبات شیمیایی می‌توان به شناسایی کموتایپ‌های برتر طبیعی دست یافت. شرایط اقلیمی منطقه رویشگاهی با تاثیر بر میزان فتوسنتز و تنفس و متابولیسم گیاه می‌تواند بر کیفیت و کمیت ترکیبات شیمیایی اسانس تاثیرگذار باشد و میزان این تاثیرپذیری در تغییرات مواد موثره و عملکرد دارویی گونه‌های مختلف آویشن و اکوتیپ‌های مختلف آن نیز در رویشگاههای مختلف بررسی شده است و یافته‌ها حاکی از تغییرات میزان تیمول و کارواکرول اسانس اکوتیپی گیاه در ارتفاعات مختلف گزارش شده است (Karimi et al., 2010) همچنین در بررسی مشابه اجزای غالب اسانس اکوتیپ‌های مختلف آویشن دنایی در کردستان شامل: تیمول، گاما- ترپینن ، پ سیمن و کارواکرول بوده که میزان کمیت این ترکیبات در ارتفاعات و رویشگاههای مختلف متفاوت گزارش شده است (Hasani et al., 2013) و در همین رابطه بررسی‌های مشابه در قزوین و خرم آباد نیز به ترتیب ترکیبات تیمول، کارواکرول و گاما ترپینن از مهمترین ترکیبات غالب اسانس گیاه در رویشگاه‌های مختلف بوده که با افزایش ارتفاع بر میزان آنها افزوده شده است (Akbarinia et al., 2010).

نتیجه مطالعه حاضر از لحاظ درصد اسانس، در مقایسه با برخی نتایج محققین در این زمینه اختلاف دارد، به طوری‌که اکسشن ۴۲ در هر دو سال کمترین درصد اسانس و اکسشن ۶۲ در سال اول درصد اسانس کمتر و در سال دوم درصد بیشتری را تولید کرد (جدول ۱)، در حالی‌که از لحاظ برتری اکسشن ۴۰ از لحاظ میزان اسانس نسبت به سایر اکسشن‌های این مطالعه در سال اول و دوم، با نتیجه میرزا و همکاران (۲۰۱۵) تشابه زیادی دارد (جدول ۱). در

تحقیقی در استان یزد، بر روی اکسشن‌های آویشن‌دنایی مشابه با اکسشن‌های مطالعه حاضر، اکسشن ۶۲ با منشاء استان لرستان با ۱/۹۶ درصد و اکسشن ۴۲ با منشاء استان اصفهان ۱ با ۱/۸۴ درصد اسانس در سال اول و با یک درصد در سال دوم از نظر درصد اسانس، در رتبه بالاتر گزارش شدند (Zare et al., 2013). در تحقیقی مشابه در باغ گیاهشناسی ملی موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع درصد اسانس اکسشن ۴۰ با منشاء استان لرستان در دو سال آزمایش با ۱/۹۸ و ۱/۲۸ درصد بیشترین درصد اسانس را بین اکسشن‌های آویشن دنایی مورد مطالعه نشان داد (Mirza et al., 2015). استنباط می‌شود که اکسشن‌های یک گونه در مکان‌های مختلف از لحاظ درصد اسانس قابل استخراج اختلافاتی را با یکدیگر نشان می‌دهند که می‌تواند به دلایل دمایی، شرایط خاک و شرایط مراقبت در دوره‌های مختلف رشد گیاه باشد.

میزان اسانس سرشاخه‌های‌گل‌دار آویشن‌دنایی در شرایط کاشته شده در استان قزوین ۲/۸ درصد و تعداد ترکیب‌های شناسایی شده آن، ۲۴ ترکیب گزارش شد (Akbarnia et al., 2010). آنها در ترکیب اسانس آویشن‌دنایی ۷۴/۶ درصد تیمول، ۴/۴ درصد گاما-ترپینن، ۴/۶ درصد پاراسیمن، ۱/۶درصد ۱،۸ سینئول، ۴/۲ درصد کارواکرول متیل‌اتر، ۱/۴ درصد کارواکرول و ۱/۶ درصد بورنئول گزارش کردند. مقایسه میزان سهم هر یک از ترکیب‌های اصلی در اسانس آویشن دنایی کاشته شده در ارتفاع ۱۳۰۰ متر از سطح دریا در قزوین (Akbarnia et al., 2010)، با نتایج کاشت اکسشن ۳۸ با منشا استان قزوین درمطالعه حاضر نشان داد که، از لحاظ میزان درصد تیمول نسبت به مطالعه حاضر برتری وجود دارد، در حالی‌که ترکیب‌های پاراسیمن و کارواکرول در گرگان به عنوان یک منطقه کم ارتفاع، میزان بیشتری داشتند. نکته دیگر این‌که ترکیب ۱،۸ سینئول در ارتفاع کم در این اکسشن ( منشا استان قزوین) تشکیل نشد.

بر طبق نتایج بدست آمده در مطالعه حاضر آشکار شد که، نه تنها امکان کشت آویشن در ارتفاع پایین (۱۶۰ متر از سطح دریا) وجود دارد بلکه ترکیبات شناسایی شده اسانس در این مطالعه نیز، هم از لحاظ کمّی و هم از لحاظ کیفی با ترکیبات بدست آمده از آزمایشات انجام شده در ارتفاعات نواحی مختلف قابل مقایسه می‌باشد. برخی از تفاوت‌های کمی و کیفی بین اکسشن‌های مورد بررسی وجود دارد که ممکن است تفاوت‌های ژنتیکی و عوامل محیطی مختلف باعث آن باشند (Ghasemi et al., 2011 Pirbalouti). آنها بیان نمودند که بهترین محل جغرافیایی برای تولید در سطح وسیع ارتفاع ۲۸۰۰-۲۴۰۰ متر بالاتر از سطح دریا است. نتیجه تحقیقی در منطقه طالقان نشان داد بین درصد اسانس *T. kotschyanus* و ارتفاع از سطح دریا رابطه خطی منفی و معنی‌دار وجود دارد (Habibi et al., 2006). در گزارش آنها اسانس در ارتفاع ۱۸۰۰ متر از سطح دریا ۲/۵۶ درصد و در ارتفاع ۲۸۰۰ متر ۱/۳ درصد گزارش شد.

نتایج مطالعه حاضر با نتایج ارائه شده در بررسی‌های انجام شده بر روی ترکیب‌های موجود در اسانس، به عنوان ترکیب‌های اصلی اسانس گونه آویشن‌دنایی، در یک راستا است. در تحقیق حاضر ترکیب تیمول در همه اکسشن‌ها شناسایی شد و طبق نتیجه، بالاترین مقدار بدست آمده (جدول ۲) با مقادیر گزارش شده (Mirza et al., 2015) بسیار نزدیک است. ترکیب‌های پارا-سیمن، ۸،۱- سینئول، لینالول، تیمول و کارواکرول توسط میرزا و همکاران (۲۰۱۵) در مطالعه اکسشن‌های مختلف آویشن دنایی در باغ گیاهشناسی ملی موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع شناسایی و گزارش شدند. ترکیب‌های پاراسیمن،

تیمول و کارواکرول از جمله ترکیب‌های اصلی بودند که در نتایج تحقیقات دیگری بر روی گونه *T. daenensis* گزارش شدند (Akbarinia and Mirza 2008; Nikavar et al., 2005). در تحقیق میرزا و همکاران حضور کموتیپ تیمول در اسانس بسیاری از اکسشن‌های گونه *T. daenensis* گزارش شد، به طوری‌که بالاترین درصد ترکیب تیمول از اکسشن استان مرکزی با ۷۶/۵ درصد تعیین شد. گیاهان بومی به شرایط محیطی از محصولات زراعی تجاری سازگارتر هستند و تغییر از محصولات زراعی تجاری فعلی به زراعت گیاهان بومی که به شرایط محیطی بیشتر سازگار هستند می‌تواند راه عاقلانه‌ای برای تولید کشاورزی پایدار باشد (Bahreininejad et al., 2013).

کارواکرول و تیمول به‌عنوان دو ترکیب مهم در اسانس اکسشنهای آویشن با اثر ضدباکتریایی، ضدعفونی و ضد التهاب و آنتی اکسیدان (Khanabac et al., 2020; Nunes et al., 2020) شناخته می‌شود. در طول مطالعه حاضر در میان اکسشن‌های مورد بررسی، در ترکیب اسانس اکسشن ۶۲ با منشاء لرستان ۲، درصد کارواکرول بیشتری شناسایی شد. در حالی‌که در گزارش میرزا و همکاران (۲۰۱۵)، که در آن اکسشن‌های آویشن‌دنایی با منشاء مشابه مورد بررسی قرار داشت، در هیچیک از آنها درصد کارواکرول بالاتری نسبت به مطالعه حاضر مشاهده نشد. گرچه در مطالعه آنها، بالاترین میزان کارواکرول (۸۲/۸ درصد) در اکسشنی با منشاء سمنان گزارش شد. این مقایسه ضمن تاکید بر تنوع تولید کمّی و کیفی در ترکیبات اسانس اکسشن‌های مختلف آویشن‌دنایی، پتانسیل تولید برخی از ترکیبات مورد نیاز صنایع دارویی در اراضی کم ارتفاع گرگان را نیز نشان می‌دهد.

در اسانس همه اکسشن‌های مطالعه حاضر، یکی از ترکیب‌های شناسایی شده، برنئول می‌باشد. وجود برنئول در اسانس *T. vulgaris* (Lee et al., 2005; Goodner et al., 2006) و همچنین آویشن‌دنایی کاشته شده در قزوین (Akbarinia and Mirza, 2008) گزارش شده است. این درحالی است که این ماده در نتایج ارائه شده میرزا و همکاران (۲۰۱۵)، در مورد اکسشن‌های آویشن‌دنایی کاشته شده در باغ گیاهشناسی ملی موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع مشاهده نشد. تنوع مشاهده شده بین اکسشن‌های مختلف، از جنبه درصد اسانس و همچنین ترکیب‌های شناسایی شده در اسانس آنها را می‌توان به تنوع ژنتیکی اکسشن‌ها در محیط‌های متفاوت رویشگاه یا منشاء آنها مرتبط دانست.

## نتیجه‌گیری نهایی

نتیجه این مطالعه نشان داد که اراضی کم ارتفاع گرگان هم می‌تواند به‌عنوان مناطقی که دارای پتانسیل مناسبی برای تولید کمّی و کیفی اسانس آویشن دنایی است مورد توجه قرار گیرد. از نتایج استنباط می‌شود که برخی اکسشن‌های یک گونه در شرایط مشابه کشت دارای درصد زیادی از اسانس هستند اما احتمال دارد که از لحاظ برخی ترکیب‌های اصلی ضعیف یا فاقد آن باشند و بر عکس دارای درصد کمی اسانس بوده اما نوعی از ترکیب که در اکسشن‌های دیگر ممکن است یافت نشود را داشته باشند. بدین ترتیب اکسشن‌های مورد بررسی را با توجه به نوع کموتیپ تولیدی و یا میزان آن می‌توان انتخاب و در برنامه‌های تولید گنجاند. اکسشن‌های ۴۲ و ۶۲ با منشاهای اصفهان۱ و لرستان۲ به‌ترتیب برای تولید تیمول و کارواکرول بیشتر، نسبت به سایر اکسشن‌های این بررسی، در اولویت قرار داشتند. لذا

ارزیابی تغییرات کمی و کیفی ترکیبات شیمیایی اکوتیپهای مختلف طبیعی در ایران یکی از نکات مهم در شناسایی ، بهبود و اهلی سازی گونه‌ها به جهت دست یابی به بالاترین کیفیت و کمیت ماده موثره دارویی در گونه‌های دارویی است.

**سپاسگزاری**

بدینوسیله مراتب تشکر و قدردانی خود را از مرکز تحقیقات و آموزش و ترویج کشاورزی و منابع طبیعی گلستان و همچنین موسسه تحقیقات چنگل‌ها ومراتع کشور به دلیل امکاناتی که در اجرای این تحقیق دراختیار قرار دادند، اعلام می‌داریم.

**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.Akbarinia, A. and Mirza, M. 2008. Identification of essential oil components of *Thymus daenesis* Celak. in field condition in Qazvin. Journal of Qazvin University of Medical Sciences, 12 (3): 58-62.

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.Bahreininejad, B., Razmjoo, J. and Mirza, M. 2013. Influence of water stress on morpho-physiological and phytochemical traits in *Thymus daenensis*. International Journal of Plant Production, 7(1): 151-166.

5.Barazandeh, M.M. and Bagherzadeh, K. 2007. Investigation on the chemical composition of the essential of *Thymus daenensis* Celak. from four different region of Isfahan Province. Journal of Medicinal Plants, 6 (23): 15-19.

6.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.

7.Ghasemi Pirbalouti, A., Rahimmalek, M., Malekpoor, F. and Karimi, A. 2011. Variation in antibacterial activity, thymol and carvacrol contents of wild populations of *Thymus daenensis* subsp. *daenensis* Celak. Plant Omics Journal, 4 (4): 209-214.

8.Goodner, K.L., Mahattanatawee, K., Plotto, A., Sotomayor, J.A. and Jordán, M.J. 2006. Aromatic profiles of *Thymus hyemalis* and Spanish *T. vulgaris*essential oils by GC-MS/GC-O. Industrial Crops and Products, 24: 264-268.

9.Habibi, H., Mazaheri, D., Majnoon Hosseini, N., Chaeechi, M.R., Fakhr-Tabatabaee, M., Bigdeli, M. 2006. Effect of altitude on essential oil and components in wild thyme (*Thymus kotschyanus* Boiss) Taleghan region. Pajouhesh and Sazandegi, 73: 2-10.

10.Hasani, J. 2013. Essential oil comparison in *Thymus daenensis* Celak. And *Thymus fedtschenkoi* ronniger. in natural Kurdistan habitats. Ecophytochemical Journal of Medical Plants, 1(1): 1-12. (In Persian).

11.Hudaib, M. and Aburjai, T. 2003. Volatile components of *Thymus vulgaris* L. from wild growing and cultivated plants in Jordan. Flavour and Fragrance Journal, 22 (4): 322-327.

12.Jamzad, Z. 2009. *Thymus* and *Satureja* species of Iran. Research Institute of Forests and Rangelands Publication, Tehran. PP: 171.

13.Janssen, A.M., Scheffer, J.J.C. and Svendsen, AB. 1987. Antimicrobial activity of essential oils: A 1976-1986. Literature review. Plant media, 53 (5): 395-397.

14. 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).

15. Khanabc, I., Ashutosh, B., Shruti, S., Faisal, A., Kumar, C., 2020. Antimicrobial potential of the food-grade additive carvacrol against uropathogenic *E. coli* based on membrane depolarization, reactive oxygen species generation and molecular docking analysis. Microbial Pathogenesis. Volume 142, May 2020, 104046.
16. Khorshidi, J. and Rustaiee, A.R. 2011. Comparison of essential oil components of *Thymus daenensis* Celak. and *T. fedtschenkoi* in flowering stage. BioDiversity-Elixir International Journal, 33: 2273-2275.
17. Lee, S.J., Umano, K., Shibamoto, T. and Lee, K.G. 2005. Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum* L.) and Thyme leaves (*Thymus vulgaris* L.) and their antioxidant properties. Food Chemistry, 91: 131-137.
18. Lidiane, N., Barbosaad, F., Bergamo, C., Bruna, F., Murbach, T., Mariana, A., Vera, L., Mores, R., Henrique, A., Marilia, F., Rabelo, B., 2020 . Proteomic analysis and antibacterial resistance mechanisms of *Salmonella enteritidis* submitted to the inhibitory effect of *Origanum vulgare* essential oil, thymol and carvacrol. Journal of Proteomics , Volume 214, 1 March 2020, 103625.
19. Mirza, M, Sharifi Ashoorabadi, E. and Allahverdi Mamaghani, B. 2015. Study of quality and quantity of essential oil of Thyme species cultivated in national botanic garden of Iran .Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 31(5): 864 – 880.
20. Nikavar, B., Mojab, F. and Doulatabadi, R. 2005. Composition of the volatile oil of *Thymus daenensis* Celak. subsp. *daenensis*. Journal of Medicinal Plants, 4 (13): 45-49.
21. Rustaiee, A.R., Khorshidi, J., Fakhr Tabatabaei, M., 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.
22. 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).
23. Zandi Esfahan,S., Saghaei, F., Ghasemi Pirbalooti, A. and Zandi Esfahan, E. 2015. Analgesic and anti-inflammatory effects of ethanolic extract of *Thymus daenensis* Celak in mice. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 30 (6): 977 -984.
24. Zare, M., Ganj Khanloo, H., Sharifi Ashorabadi, E. and Maddah Arefi, H. 2013. Evaluation of genetic variation, compatibility, selection and introduction of suitable germplasm within *Thymus daenensis* Celak. accessions in Centric province. Ecophytochemical Journal of Medical Plants, 1 (1): 15-24.

# Phytochemical Study of Essential oil in Different Extensions of *Thymus daenensis* Celak Cultivated in Lowland Lands: A Case Study in Golestan Province

**Dorri, M.A.[1], Mirza, M.[2], Sharifi Ashoorabadi, E.[2]**

[1]Assistant Professor, Forest and Rangeland Section, Research Center of Agricultural and Natural Resources of Golestan, AREEO, Gorgan, Iran

[2]Professor, Medicinal Plants Research Division, Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran

[3]Associate Professor, Medicinal Plants Research Division, Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran

**Received: 2017-6-18 ; Accepted: 2017-10-15**

**Abstract**

To identify, domesticate and select superior chemotypes of medicinal species in different habitats, evaluation and comparison of quantitative and qualitative changes in their chemical composition is necessary in each habitat.*Thymus daenensis* Celak. is a valuable medicinal species belonging to the Lamiaceae genus with numerous medicinal, health and cosmetic uses, so recognizing phytochemical changes in its various extensions is of particular importance in improving and domesticating its comotypes. It has different. Thyme (*Thymus daenensis* Celak) extensions were planted in the research farm of Golestan Agricultural Research and Training Center and Natural Resources in Gorgan and were studied in 2010 and 2011. For this purpose, flowering branches of the plant were harvested from different habitats at the time of 50% flowering. Samples of flowering branches were dried and ground in the shade. Essential oils were extracted from all accessions by water distillation and analyzed using gas chromatography devices connected to GC/MS mass spectrometry and their most important chemical compounds were identified and compared. The essential oil content of these accessions ranged from 0.22 to 3.6%, the highest of which was measured in accession 60 originated from Markazi province 1 (3.6%). In this study, several important comotypes with the highest levels were identified: linalool, paracisman, thymol, carvacrol and 1, 8 cineole. The highest percentage of compounds: thymol (72%) and carvacrol (43.9%) were related to accession 60 and 49 originated from Markazi province 1 and Isfahan province 2, respectively. The results indicate that the percentage of essential oil and the amount of thymol and carvacrol in thyme are affected by habitat changes, so to achieve superior and improved comotype determining the most suitable habitat seems necessary and these two accessions could be recommended to produce more thymol and carvacrol.

***Keywords*:** *Thymus daenensis* Celak., Essential oil, Ecotype, Carvacrol, Golestan, Thymol.

*Corresponding author; mohamaddori@yahoo.com