بررسی تاثیر زمان برداشت بر کمیت و کیفیت اسانس دو گونه از گیاه دارویی *Thymus armeniacus* و *Thymus lancifolius*

زهرا کریمی[1*]، سعداله هوشمند[2]، عبدالرحمن محمدخانی[3]، کاظم یوسف‌زاده[4]

[1] دانشجوی کارشناسی‌ارشد اصلاح نباتات، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

[2] استاد، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

[3] دانشیار، گروه علوم باغبانی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

[4] دانش آموخته دکتری اصلاح نباتات، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

تاریخ دریافت: ۹۵/۶/۹ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۵/۹/۱۱

چکیده

گونه‌های مختلف جنس آویشن به‌دلیل پتانسیل سنتز متابولیت‌های ثانویه تیمول و کارواکرول از مصارف گسترده دارویی برخوردارند. این تحقیق به منظور بررسی تاثیر زمان‌های مختلف برداشت (شروع گلدهی، ۵۰ درصد و ۱۰۰ درصد گلدهی) بر کمیت و کیفیت اسانس دو گونه از آویشن *T. lancifolius* و *T. armeniacus* به‌صورت یک آزمایش گلدانی و با استفاده از طرح آزمایشی کاملا تصادفی با سه تکرار در سال ۱۳۹۴ در دانشگاه شهرکرد اجرا شد. سرشاخه‌های هوایی گیاه طی سه مرحله برداشت گردید، استخراج اسانس با استفاده از دستگاه تقطیر با آب (طرح کلونجر) و آنالیز مواد موثره با استفاده از دستگاه GC/MS انجام گرفت. نتایج نشان داد در فاز کامل گلدهی، گونه‌ها از بیشترین مقدار محتوای اسانس برخوردار بودند . بیشترین میزان تیمول (۶۲ درصد) در مرحله شروع گلدهی و بیشترین میزان سیترونلول (۳۰/۲ درصد) در فاز نیمه و کامل گلدهی گیاه *T. lancifolius* گزارش گردید. بیشترین میزان کارواکرول (۴۴-۴۵ درصد) به‌ترتیب در مراحل شروع و نیمه گلدهی گیاه *T. armeniacus* و بیشترین میزان ۱و۸- سینئول (۱۴/۴ درصد) در فاز گلدهی کامل گزارش گردید. نتایج بیانگر آنست که کمیت و کیفیت مواد موثره اسانس بسته به نوع گونه و زمان‌های مختلف رشد و نمو متفاوت بوده و به تناسب آن نیز می‌تواند از عملکردهای متفاوت دارویی برخوردار باشد.

واژه‌های کلیدی: آویشن، اسانس، تیمول، فنولوژی، کارواکرول

*نویسنده مسئول: z.karimi1370@gmail.com

مقدمه

جنس آویشن (*Thymus*) متعلق به تیره نعنا می‌باشد که از کلمه یونانی *Thyme* به معنای بوی خوش و ملایم گرفته شده است (Omidbaigi, 2005). این جنس بالغ بر ۳۵۰ گونه مختلف در جهان و ۱۸ گونه معطر چند ساله در ایران دارد که تعدادی از این گونه‌ها انحصاری ایران هستند (Jamzad, 2009).

تیمول و کارواکرول از عمده‌ترین ترکیب‌های گونه‌های مختلف آویشن و منشاء اصلی خواص دارویی آن به شمار می‌روند (Sefidkon and Asgari, 2003). تیمول و کارواکرول از ترکیبات مونوترپنی فنلی دارای طیف وسیعی از فعالیت‌های ضدباکتریایی، ضدقارچی و آنتی‌اکسیدانی هستند و به‌طور وسیعی در صنایع غذایی، دارو سازی استفاده می‌شود و اغلب در طب سنتی به‌عنوان مقوی معده، نیرودهنده، ضد تشنج، ضد نفخ، ضد اسپاسم، خلط آور، ضد عفونی کننده، قاعده آور و ضد التهاب در رفع عفونت تنفسی، ضعف هاضمه، ضعف عمومی، سیاه سرفه، سرفه‌های مزمن و سرما خوردگی مورد استفاده قرار می‌گیرند (Vaičiulytė and Ložienė, 2015; Naghdibadi and Makizade, 2003; Kalvandi et al., 2014; Keefover-Ring et al., 2009; Aznar et al., 2013).

تحقیقات نشان داده است عوامل مختلف زیستی و اکولوژیک تاثیر زیادی بر کیفیت و کمیت متابولیت‌های ثانویه گیاهان از جمله گیاهان آویشن می‌گذارد از جمله مرحله فنولوژیکی زمان برداشت است که می‌تواند بر عملکرد تاثیر گذار باشد (Ghasemi, 2009). ترکیب‌های متشکله اسانس در گونه‌های مختلف آویشن و همچنین مراحل مختلف رشد و اندام‌های گیاه بسیار متنوع است. برداشت گیاهان در مراحل مختلف رشد (فنولوژی) گیاه علاوه بر میزان ماده خشک تولیدی، بر میزان عملکرد و کیفیت اسانس تاثیر گذار است، به‌طوری‌که در بررسی سفیدکن و همکاران (Sefidkon et al., 2009). تاثیر مراحل مختلف برداشت و روش‌های مختلف اسانس‌گیری بر بازده اسانس آویشن باغی تاثیر معنی‌دار در مراحل مختلف برداشت را نشان داده است، به‌نحوی که بیشترین بازده اسانس در مرحله آغاز گلدهی (۱/۱۸ درصد) و کمترین آن در مرحله رویشی (۰/۸۶ درصد) گزارش شده است، در صورتی که در بررسی دیگر بیشترین بازده اسانس آویشن باغی (۱/۷۱ درصد) در فاز گلدهی و کمترین آن (۰/۱۸ درصد) در فاز بذردهی گیاه گزارش شده است (Hornak, 1991).

در تحقیقی مشابه، خورشیدی و همکاران (Khorshidi et al., 2010) به‌منظور بررسی تاثیر اقلیم و زمان برداشت بر بازده و عملکرد اسانس آویشن دنایی (*T. daenensis* Celak) انجام گرفت. مشخص گردید که در فاز گلدهی اسانس از بالاترین مقدار و کیفیت مواد موثره برخوردار بود. در بررسی‌های دیگر نیز که در مورد تاثیر زمان‌های مختلف برداشت بر محتوای اسانس آویشن دنایی (*T. daenensis*) و آویشن قره باغی (*T. fedtschenkoi*) انجام گرفت نیز حاکی از آن بود که در هر دو گیاه در فاز گلدهی کامل از بالاترین کمیت و کیفیت مواد موثره اسانسی برخوردار بودند (Mirahmadi et al., 2010).

در بررسی دیگر که در مورد تاثیر زمان برداشت بر کیفیت و کمیت اسانس گیاه آویشن ابلق (*Thymus citriodorus* Pers. Schreb) انجام گرفت نیز نتایج مشابه بدست آمد و اینکه بیشترین مقدار اسانس (۲/۲۱ درصد) در فاز آغاز گلدهی گیاه با بیشترین میزان ژرانیول (۷۲/۴۸ درصد) و کمترین مقدار آن (۵۴/۲۱ درصد) در مرحله تشکیل بذر به‌دست آمد (Omidbaigi et al., 2005).

در بررسی‌های مشابه توسط یزدانی و همکاران (Yazdani et al., 2006) دیگر نیز ترکیب‌های

مونوترپنی تیمول، کارواکرول، گاما-ترپینن، پارا-سیمین و ۸،۱-سینئول از مهمترین ترکیبات اسانس گیاه آویشن و اینکه در فاز گلدهی اسانس گیاه از بیشترین مقدار و بالاترین کیفیت مقدار کارواکرول (۴۱/۴ درصد)، تیمول (۱۹/۵ درصد)، گاما-ترپینن (۱۰/۳ درصد)، پارا-سیمین (۵/۳ درصد)، بتاکاریوفیلن (۲/۵ درصد) و بورنئول (۲/۴ درصد) برخوردار بوده است. همچنین در بررسی جردن و همکاران (Jordan et al., 2006) اثر زمان‌های مختلف برداشت در دوره‌های فنولوژیکی متفاوت در آویشن هیمالیایی (*T. hyemalis* Lange.) نشان داده است که بیشترین درصد تیمول و کارواکرول در آغاز گلدهی حاصل شده است. در این خصوص در مورد اثر بررسی دوره‌های مختلف فنولوژیک در آویشن کرمانی (*T. caramanicus* Jalass) نیز مشخص گردید بیشترین میزان کارواکرول در فاز رویشی (قبل از گلدهی) است (Nejad-Ebrahimi et al., 2008).

در مورد گیاه آویشن باغی (*Thymus vulgaris* L.) نیز بررسی‌های مشابه و مختلف در رویشگاه‌های مختلف و شرایط متفاوت برداشت مشخص گردید که در زمانهای مختلف برداشت کمیت و کیفیت مواد موثره اسانس (پارا-سیمن، گاما-ترپینن، تیمول، بتا-کاریوفیلن) متفاوت است (Mirza and Baher., 2003; Asllani and Toska, 2003). 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 زمان برداشت بر عملکرد و میزان مواد موثره و همچنین احتمالا نقش گونه در این زمینه، تحقیق حاضر با هدف تعیین بهترین زمان برداشت و عملکرد اسانس در دو گونه دارویی ارزشمند آویشن *T. lancifolius* و *T. armeniacus* به مرحله اجرا گذاشته خواهد شد. امید آن که این تحقیق بتواند برای پیشرفت تحقیقات بعدی مثمر ثمر باشد.

مواد و روش‌ها

در این آزمایش دو گونه آویشن شامل *T. lancifolius* و *T. armeniacus* (به ترتیب متعلق به استان چهارمحال و بختیاری و آذربایجان شرقی) 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 نشاء و تولید گیاهچه (سال ۱۳۹۱)، جهت یکنواختی ژنتیکی از هر گونه یک گیاهچه قوی به گلدان منتقل و پس از استقرار کامل در سال اول از آن قلمه گیری و تکثیر شد. سپس قلمه‌ها به گلدان‌هایی با ارتفاع ۳۰ سانتی‌متر و قطر ۲۵ سانتی‌متر حاوی خاک زراعی، ماسه و کود دامی به نسبت ۱:۲:۳ منتقل شدند و آزمایش روی بوته‌های سه ساله در سال ۱۳۹۴ انجام گردید. گلدان‌ها طی زمستان در گلخانه نگهداری و در بهار بوته‌ها از ارتفاع پنج سانتی‌متری سطح خاک هرس شده و جهت اجرای آزمایش به فضای باز منتقل گردیدند. از هر گونه ۹ گلدان لحاظ شد و سه مرحله‌ی گلدهی شامل: آغاز گلدهی، ۵۰ درصد گلدهی و ۱۰۰ درصد گلدهی (سه تکرار برای هر مرحله) مورد استفاده قرار گرفت. جهت ارزیابی تیمارها، برداشت اندام هوایی بوته از ۵ سانتی‌متری سطح خاک گلدان انجام و استخراج اسانس و آنالیز اجزای آن در هر تیمار انجام شد.

استخراج و آنالیز اسانس: استخراج اسانس از سر شاخه خشک گیاه (برداشت شده در هر یک از سه مرحله‌ی گلدهی) که در سایه و در دمای اتاق خشک شده بودند با استفاده از روش تقطیر با آب توسط دستگاه کلونجر به‌مدت سه ساعت انجام و پس از آبگیری توسط سدیم سولفات فعال شده، تا زمان آنالیز به‌دلیل خاصیت فرار بودن اسانس و به‌دلیل جلوگیری از تبخیر و از دست رفتن اسانس در ظروف شیشه‌ای در بسته و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند. در ضمن بازده اسانس براساس وزن اسانس استحصالی به وزن خشک گیاه ($\frac{w}{w}$) محاسبه و به‌صورت درصد ارایه گردید (Safaei-Ghomi et al., 2009). درصد حجمی اسانس نیز بر اسانس حجم اسانس استحصالی به وزن خشک گیاه ($\frac{v}{\mathrm{w}} * 100$) محاسبه شد.

شناسایی ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس: جهت مشخص نمودن ترکیب‌های تشکیل دهنده اسانس، اسانس گیاه به دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل به 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 (پنج درصد قطبی) به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ متر و ضخامت لایه ۰/۲۵ میکرومتر برای جداسازی استفاده شد. دمای ابتدایی آون 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 نهایتا 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. جهت شناسایی ترکیب‌هایتشکیل دهنده اسانس، شاخص بازداری (RI) ترکیب‌ها با استفاده از طیف‌های جرمی مخلوط آلکان‌های نرمال محاسبه (Kovats, 1958) و با شاخص‌های موجود در کتب مرجع (Adams, 2001) و اطلاعات موجود در کتابخانه NIST و Wiley مقایسه و مورد تایید قرار گرفتند. درصد هریک از ترکیب‌ها با توجه به سطح زیر منحنی طیف کروماتوگرام دستگاه GC/MS بدست آمد. تجزیه واریانس مرکب داده‌های حاصل از سه مرحله رشدی انجام گردید و مقایسه میانگین‌ها به روش LSD فیشر با استفاده از نرم افزار SAS انجام شد.

نتایج

نتایج جدول تجزیه واریانس ویژگی‌های مرتبط با صفات کمیت اسانس نشان داد مرحله برداشت تاثیر معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) بر روی حجم و وزن اسانس دارد اما اثر گونه و اثر متقابل گونه در مرحله برداشت برای این ویژگی‌ها معنی‌دار نشد (جدول ۱).

مقایسه محتوای اسانس دو گونه *T. armeniacus* و *T. lancifolius* در سه مرحله گلدهی نشان داد ژنوتیپ *T. armaniacus* دارای حجم و وزن اسانس بیشتری بود (داده‌ها آورده نشده است). هرچند اختلاف میانگین مشاهده شده معنی‌دار نشد در مقابل گونه *T. lancifolius* دارای بازده و درصد حجمی اسانس بیشتری (۰/۷۸ درصد و۰/۶۵ میلی‌لیتر در میلی‌گرم) بود.

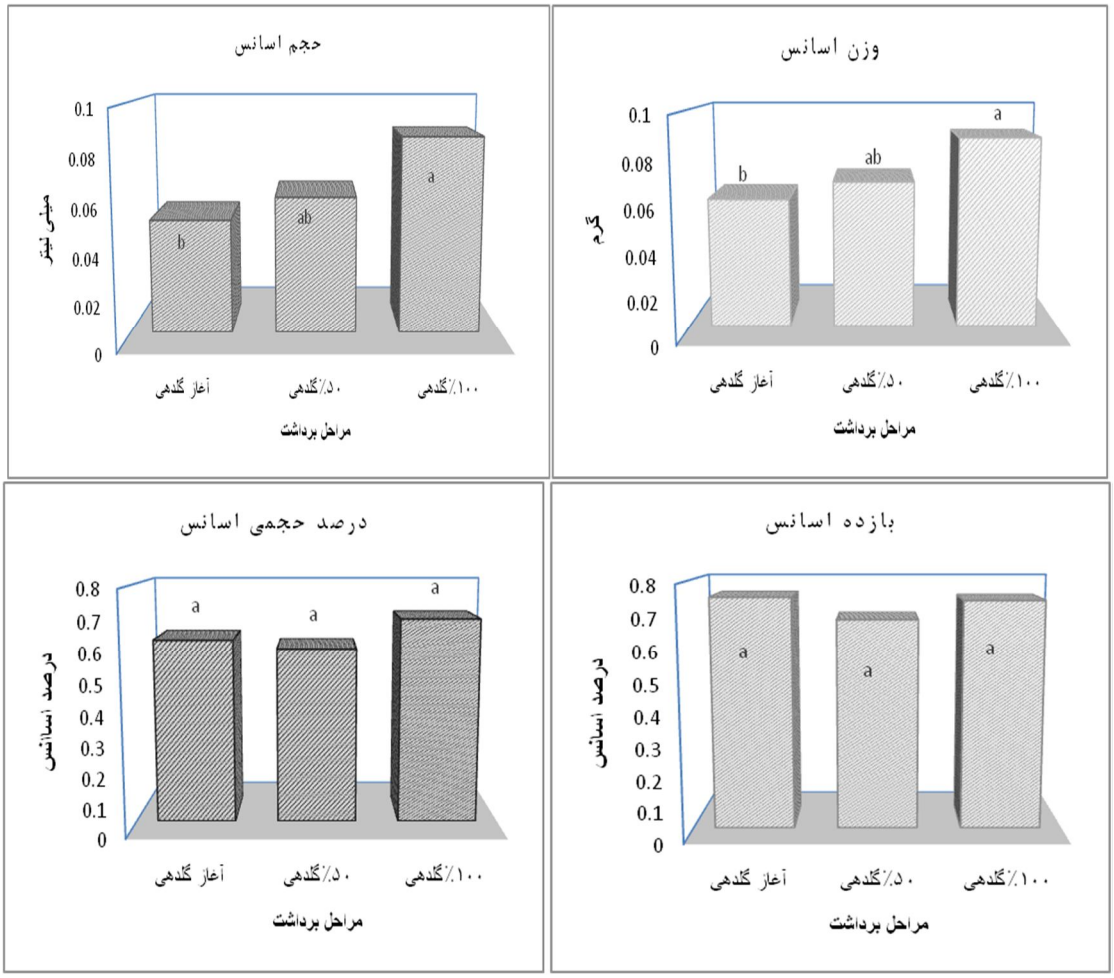
جدول ۱: تجزیه واریانس تاثیر مراحل مختلف برداشت بر صفات مربوط به کمیت اسانس در دو گونه آویشن

منابع تغییر	درجه آزادی	حجم اسانس (ml)	وزن اسانس (gr)	بازده اسانس (٪)	درصد حجمی اسانس (ml/gr)
مرحله برداشت	۲	۰/۰۰۲*	۰/۰۰۱*	۰/۰۰۹ns	۰/۰۱۸ns
تکرار× مرحله گلدهی	۶	۰/۰۰۰۳	۰/۰۰۲	۰/۰۴	۰/۰۴
گونه	۱	۰/۰۰۳ns	۰/۰۰۱ns	۰/۰۶ns	۰/۰۴۵ns
گونه × مرحله	۲	۰/۰۰۰۱ns	۰/۰۰۰۰۴ns	۰/۰۸ns	۰/۰۴۵ns
خطا	۶	۰/۰۰۰۵	۰/۰۰۰۴	۰/۰۴	۰/۰۵
ضریب تغییرات		۳۴/۹۸	۲۶/۵۱	۲۸/۸۱	۳۴/۹۳

جدول ۲: مقایسه میانگین گونه‌های آویشن در مراحل گلدهی

گونه	محتوای اسانس (درصد)	درصد حجمی اسانس (ml/gr)
T. armeniacus	۰/۶۷a	۰/۶۲a
T. lancifolius	۰/۷۸a	۰/۶۵a

در هر ستون و برای هر عامل میانگین‌های با حرف مشابه در آزمون $LSD_{0/05}$ اختلاف معنی‌دار ندارند.



شکل ۱: مقایسه میانگین مراحل مختلف برداشت صفات مربوط به کمیت اسانس در دو گونه آویشن *T. armeniacus* و *T. lancifulius*

در هر نمودار میانگین‌های با حرف مشترک در آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد اختلاف معنی دار ندارند.

جدول ۳: مقایسه درصد ترکیب مهمترین مواد موثره اسانس دو گونه آویشن در سه مرحله گلدهی

نام ترکیب	شاخص کواتز	*T. armeniacus*			*T. lancifolius*		
		شروع گلدهی	۵۰ درصد گلدهی	۱۰۰ درصد گلدهی	شروع گلدهی	۵۰ درصد گلدهی	۱۰۰ درصد گلدهی
α –thujene	۹۱۸	۰/۵۷	–	۱/۰۲	–	–	–
α-Pinene	۹۲۲	۲/۱۲	۱/۳	۴/۲۴	۰/۳۴	–	–
Camphene	۹۳۵	۰/۳۲	۰/۴۱	۱/۱۸	۰/۳۴	–	۰/۱۹
β-pinene	۹۶۳	۰/۷۴	۰/۳۴	۰/۷۲	–	–	–
Sabinene	۹۷۱	–	–	۰/۳۸	–	–	–
Myrcene	۹۸۴	–	–	۰/۷۷	–	–	–
α-terpinene	۱۰۱۰	۰/۶۶	–	۰/۵۳	–	–	–
para-cymene	۱۰۱۸	۲/۶۳	۲/۷۳	۱۶/۶۴	۴/۳۷	–	۲/۳۸
1,8-cineole	۱۰۲۶	۷/۳۴	۹/۲۵	۱۴/۴۶	–	۰/۳۶	–
γ-terpinene	۱۰۵۶	۴/۸۸	۰/۸۷	۴/۱۲	۱/۲۶	۰/۲۱	۰/۴۹
cis-sabinene hydrate	۱۰۶۶	۱/۸۵	۰/۵	۰/۳۸	۱/۲۴	–	–
Trans-sabinene-hydrate	۱۰۸۵	–	۲/۴۱	۲/۲۸	–	–	–
Camphor	۱۱۴۷	۰/۷۳	۱/۵۹	۱/۸۵	۰/۸	۰/۲۴	۰/۴۱
Borneol	۱۱۶۲	۳/۱۷	۵/۶	۳/۶۵	۴/۴۶	–	–
α-Terpineol	۱۱۹۲	۱/۲۲	۲/۷۹	۱/۴۹	–	–	–
citronellol	۱۲۲۸	۵/۹۴	–	۶/۵۴	۷/۲۶	۳۰/۲۹	۲۷/۷۷
thymol methylether	۱۲۳۴	۲	۱/۷۸	–	–	–	۳/۱۵
Carvacrolmethylether	۱۲۴۸	–	–	۱/۴۱	۴/۷۲	۳/۷۷	–
Geraniol	۱۲۶۲	۲/۱۷		۰/۷۸	۰/۸۵	۳/۸۱	۶/۱۵
citronellyl formate	۱۲۷۳	۱/۶۵	–	۱/۱۴	۰/۶۲	۳/۰۵	۷/۴۹
Thymol	۱۳۰۹	۱/۲۶	۱۵/۰۵	۲/۳۵	۶۲/۴۳	۳۱/۷۶	۲۱/۸۲
Carvacrol	۱۳۱۳	۴۵/۲۱	۴۴/۸۴	۲۷/۷۵	–	۰/۲	–
β-Caryophyllene	۱۴۲۹	۳/۳۹	۳/۳۹	۰/۸۸	۲/۶۶	۱/۵۹	۲/۱
Germacrene D	۱۴۸۴	۱/۳۲	۰/۳۳	۰/۲۸	۱/۳۲	۱/۶۱	۲/۶۱
Spathulenol	۱۵۸۴	۱/۳۵	۰/۸۵	۰/۳۲	۰/۸۶	۲/۶۳	۲/۱۳
Caryophyllene oxide	۱۵۸۹	۱/۸۳	۱/۷۱	۰/۸۲	۴/۴۹	۶/۰۲	۴/۸۱
جمع ترکیب‌ها (درصد)		۹۲/۳۵	۹۴/۷۴	۹۵/۹۸	۹۸/۰۲	۸۵/۵۴	۸۱/۵

بیشترین میزان محتوای اسانس (۰/۷۵ درصد) مربوط به مرحله شروع گلدهی بود. هرچند نسبت به سایر مراحل اختلاف معنی‌داری نشان نداد و مرحله ۱۰۰ درصد گلدهی (۰/۷۴ درصد) و شروع گلدهی (۰/۶۸ درصد) مقادیر محتوای اسانس کمتری نشان دادند. بیشترین میزان درصد حجمی اسانس در مرحله ۱۰۰ درصد گلدهی و معادل ۰/۶۹ درصد بود و بعد از آن با اختلاف اندکی مرحله شروع گلدهی و ۵۰ درصد گلدهی به‌ترتیب با مقادیر ۰/۶۲ درصد و ۰/۵۹ درصد مشاهده شد (شکل ۱).

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). ترکیب‌های استخراج شده در دو گونه آویشن وضعیت متفاوتی داشتند. غالب این ترکیب‌ها از نوع ترکیب‌ها مونوترپنی بودند و ترکیب‌های تیمول، کارواکرول، سیترونلول، ۸،۱- سینئول و پارا-سیمین از مهمترین اجزای تشکیل دهنده اسانس گونه‌های مورد بررسی بودند. بیشترین مقدار تیمول (۶۲/۴۳ درصد) متعلق به گونه *T. lancifolius* و در مرحله آغاز گلدهی، میزان کارواکرول (۴۵/۲۱ درصد) مربوط به مرحله آغاز گلدهی در گونه *T. armeniacus*، سیترونلول (۲۷/۷۷ درصد) در مرحله کامل گلدهی در گونه *T. lancifolius*، ۱، ۸- سینئول (۱۴/۴۶ درصد) در مرحله کامل گلدهی و در گونه *T. armeniacus* و ترکیب پارا-سیمن (۱۶/۶۴ درصد) در گونه *T. armeniacus* و در مرحله کامل گلدهی مشاهده شد. در بین ترکیب‌های مورد اشاره (جدول ۲)، ترکیب‌های گاما-ترپینن، تیمول، بتا- کاریوفیلن، کاریوفیلن اکساید و ژرماکرن-دی در هر دو گونه و در هر سه مرحله گلدهی مشترک بود و سایر ترکیب‌ها ممکن است تنها در یک گونه و یا یک مرحله گلدهی مشاهده شوند و مقدار آن‌ها به گونه گیاه بستگی داشت. ترکیب‌های سیترونلول، ژرانیول و سیترونلول در گونه *T.lancifulius* و ترکیب‌های کامفن، آلفا-پینن، بتا-پینن، ۱، ۸- سینئول، بورنئول، کارواکرول، پاراسیمین و سیس سابینن هیدرات در گونه *T. armeniacus* در هر سه مرحله گلدهی مشاهده شدند.

برای دو ترکیب اصلی آویشن یعنی تیمول و کارواکرول با عبور از مراحل گلدهی از شروع تا گلدهی کامل روند کاهشی مشاهده شد و درصد کمتری از کل ترکیب را شامل می‌شدند. ترکیب‌های پارا-سیمین، ۸،۱- سینئول، کامفور، سیترونلول و ژرانیول با عبور از مراحل گلدهی روند افزایشی نشان دادند. کارواکرول به‌عنوان ترکیب اصلی آویشن در گونه *T. lancifolius* فقط در مرحله ۵۰ درصد گلدهی و تنها با مقدار ۰/۲ درصد از کل ترکیب‌ها مشاهده شد. ترکیب‌های آلفا-توجن، بتا-پینن، سابینن، میرسن، آلفا-ترپینن، ترانس-سابینن هیدرات و آلفا- ترپینئول مختص گونه *T. armeniacus* بوده و در گونه *T. lancifolius* دیده نشدند.

بحث

نتایج این مطالعه نشان داد که میزان اسانس تولیدی گیاه تحت تاثیر گونه و مرحله گلدهی قرار می‌گیرد. محتوای اسانس تنوع بالایی در بین گونه‌های آویشن نشان داد و عکس‌العمل‌های متفاوتی از گونه‌های مورد بررسی در مواجهه با مراحل گلدهی مختلف دیده شد. گونه‌های مختلف آویشن عکس‌العمل متفاوتی در مراحل گلدهی مختلف از خود نشان دادند و اسانس این گونه‌ها در مراحل مختلف گلدهی از ترکیب‌ها با مقادیر متفاوت مشاهده شدند. در سایر بررسی‌ها نشان داده شده است که در مرحله کامل گلدهی، بهترین مرحله برداشت برای دستیابی به حداکثر اسانس می‌باشد. نتایج این مطالعه با یافته‌های سفیدکن و رحیمی بیدگلی (Sefidkon and Rahimibidgoli, 2002) در مورد گونه *T. kotschyanus* که در مرحله کامل گلدهی را برای دست‌یابی به بالاترین میزان اسانس از *T. kotschyanus* پیشنهاد کرده بودند همخوانی دارد. همچنین نتایج بررسی انجام شده در کشور نیوزلند بهترین مرحله برداشت آویشن باغی را پس از گلدهی معرفی کردند (McGimpsey et al., 2006). در حالی که در گیاه *Satureja rechingeri* و *Satureja sahendica* نشان داده شد که بالاترین

میزان اسانس در مرحله شروع گلدهی حاصل می‌شود (Sefidkon et al., 2007; Sefidkon and Akbari-nia, 2009). در مطالعه سفید کن و همکاران (Sefidkon et al., 2009) به‌منظور بررسی مراحل مختلف برداشت بر بازده اسانس گیاه آویشن باغی مشخص شد که تاثیر مراحل مختلف برداشت بر بازده اسانس معنی‌دار می‌باشد. نتایج بدست آمده از مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بیشترین بازده اسانس مربوط به آغاز گلدهی (۱/۱۸ درصد) و کمترین آن مربوط به مرحله رویشی ۰/۸۶ درصد) می‌باشد.

در مطالعه امیدبیگی و رضایی‌نژاد (Omidbaigi and Rezaei Nejad, 2000) بررسی تاثیر زمان برداشت بر کمیت و کیفیت اسانس آویشن باغی نشان داده شده است که بهترین زمان برداشت برای به دست آوردن بیشترین محتوای اسانس، شروع بذردهی می‌باشد. همچنین تحقیقات انجام شده روی گیاه آویشن باغی نشان داده است که مراحل مختلف برداشت تاثیر معنی داری بر عملکرد اسانس نداشته‌اند، ولی تاثیر آن بر محتوای اسانس در سطح ۵۰ درصد معنی‌دار بوده است (Naghdi Badi et al., 2004). همچنین نتایج مطالعه مذکور نشان داده است که بیشترین عملکرد اسانس (۱۱۵ کیلوگرم در هکتار) مربوط به مرحله آغاز گلدهی و کمترین عملکرد اسانس (۱۰۱/۸ کیلوگرم در هکتار) مربوط به مرحله بذر دهی است. همچنین بیشترین بازده اسانس (۲/۰۸ درصد) مربوط به مرحله آغاز گلدهی و کمترین بازده اسانس (۱/۸ درصد) مربوط به مرحله گلدهی کامل بوده است. نتایج بررسی نقدی بادی و همکاران (Naghdi Badi et al., 2004) روی آویشن باغی نشان داده است که بیشترین میزان تیمول مربوط به مرحله آغاز گلدهی بوده است. همچنین بررسی روند تغییرات درصد تیمول نشان داده که این گیاه در مرحله رویشی از میزان تیمول کمتری برخوردار است ولی پس از عبور از مرحله رویشی به گلدهی کاهش چشمگیری در آن دیده می‌شود و سپس با کامل‌تر شدن و با گلدهی کامل میزان تیمول افزایش چشمگیری داشته که می‌تواند تحت تاثیر عوامل مختلف محیطی و ژنتیکی باشد.

نی آور و همکاران (Nickavar et al., 2005)، عمده ترکیبات تشکیل دهنده اسانس گیاه آویشن دنایی (*Thymus daenensis* subsp. daenensis) را تیمول، پاراسیمن، بتا-کاریوفیلن و متیل کارواکرول معرفی نموده‌اند. نژادابراهیمی و همکاران (Nejad Ebrahhmi et al., 2008) در بررسی تاثیر مرحله رشد گیاه بر کمیت و کیفیت اسانی آویشن کرمانی در شرایط رویشگاهی مشاهده نمودند که بازده اسانس با توجه به مرحله رشد گیاه بین ۱/۹ تا ۲/۵ درصد متغییر است. آن‌ها درصد اسانس را در مرحله گلدهی ۲/۵ درصد، غنچه دهی ۲/۱ درصد، تشکیل دانه ۲ درصد و رویشی ۱/۹ درصد گزارش نمودند. در این تحقیق ذکر شده که ترکیب اصلی در تمام نمونه‌ها شامل کارواکرول (۵۸/۹-۶۸/۹) درصد)، تیمول (۲/۴-۶ درصد)، گاما-ترپینن (۴/۳-۸ درصد)، پارا-سیمین (۳-۸/۹ درصد) و بورنئول (۲/۳-۴ درصد) بوده است.

یوسف‌زاده و همکاران (Yosefzadeh et al., 2016) اسانس و ترکیب‌های اصلی گیاه *Thumus armeniacus* و *Thymus lancifolius* را در مرحله گلدهی کامل در شرایط تنش خشکی ۵۰ درصد و ۷۵ درصد مورد ارزیابی قرار دادند. ترکیب‌های اصلی گونه *T. armeniacus* به‌ترتیب در ۵۰ درصد و ۷۵ درصد خشکی شامل تیمول (۵/۲۴ درصد و ۸/۵۵ درصد)، کارواکرول (۲۸/۹ درصد و ۲۸/۰۸ درصد)، بتا- کاریوفیلن (۳/۹۹ درصد و ۳/۹۳ درصد)، ۱،۸- سینئول (۱۰/۳ درصد و ۱۰/۵ درصد)، گاما-ترپینن (۱/۷۱ درصد و ۳/۹۴ درصد) و پارا-سیمین (۸/۸۳ درصد و ۱۰/۱۱ درصد) بودند. ترکیب ژرانیول در این

گونه در هیچ یک از تنش‌ها دیده نشد. ترکیب‌های اصلی گونه *T. lancifolius* به‌ترتیب در ۵۰ درصد و ۷۵ درصد خشکی شامل تیمول (۲۱/۵۹ درصد و ۲۹/۳۱ درصد)، کارواکرول (۱/۶۱ درصد و ۱/۵۳ درصد)، بتا-کاریوفیلن (۳/۷۸ درصد و ۴/۷ درصد)، گاما-ترپینن (۲/۱۸ درصد و ۵/۰۶ درصد) و پارا-سیمن (۲۶/۳۴ درصد و ۱۹/۵۱ درصد) بودند. ترکیب ژرانیول در این گونه فقط در تنش ۵۰ درصد (۰/۲۸ درصد) مشاهده شد و در مرحله ۷۵ درصد مشاهده نشد. در گونه *T. lancifolius* ترکیب ۱، ۸- سینئول در دو شرایط تنش خشکی تحت تاثیر قرار نگرفت و در هر دو سطح تنش ۱/۹۹ درصد مشاهده شد.

افتخار و همکاران (Eftekhar et al., 2009) اسانس و ترکیب‌های اصلی آویشن کرمانی در مرحله گلدهی کامل مورد ارزیابی قرار داده‌اند و محتوای اسانس اندام هوایی خشک گیاه را ۲/۵ درصد و ترکیب‌های اصلی آن را کارواکرول (۶۸/۹ درصد) پارا-سیمن (۶/۰ درصد)، تیمول (۵/۳ درصد)، گاما-ترپینن (۴/۶ درصد) و بورنئول (۴/۰ درصد) گزارش نمودند. در بررسی نظری و همکاران (Nazari et al., 2011) ترکیب‌های عمده اسانس *Thymus kotschyanus* را لینالول ۲۴/۸ درصد، کارواکرول (۲۴/۵ درصد) و ترانس-کاریوفیلن (۸/۶ درصد) و میزان بازده اسانس را ۰/۶ درصد گزارش نموده‌اند (ترکیب‌های عمده آویشن کوهی *Thymus kotschyanus* در مطالعه پیری‌قرنایی و همکاران (Pirigharnaei et al., 2012) تیمول (۵۱/۷۹ درصد)، آلفا-ترپینن (۱۲/۳۱ درصد)، آلفا-ترپینئول (۶/۸۳ درصد) و کارواکرول (۶/۶۹ درصد) گزارش شدند.

در مطالعه هادی‌پناه و همکاران (Hadypnah 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 د (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 (۳۱/۵۰ درصد)، پارا-سیمن (۲۳/۴۰ درصد)، گاما-ترپینن (۹۴/۱۳ درصد)، لینالول (۳/۳۸ درصد) و کارواکرول (۲/۶۶ درصد) بود و در استخراج اسانس آویشن دنایی 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-سیمن (۱۲/۸۷ درصد)، گاما-ترپینن (۸/۴۸ درصد)، لینالول (۱/۶۸ درصد) و بورنئول (۳/۰۹ درصد) بود.

نتیجه‌گیری نهایی

با توجه به نتایج حاصل از این مطالعه، بالاترین درصد اسانس متعلق به گونه *T. lancifolius* بود. بالاترین درصد تیمول در مرحله آغاز گلدهی در گونه *T. lancifolius*، گونه *T. armeniacus* دارای بالاترین درصد کارواکرول در مرحله آغاز گلدهی بود. تیمول در گونه *T. lancifolius* با گذشت زمان از مرحله شروع گلدهی روند کاهشی نشان داد اما در گونه *T. armeniacus* روند ابتدا افزایشی و سپس کاهشی بود. برای کارواکرول نیز در گونه *T. armeniacus* روند کاهشی مشاهده شد. کارواکرول در گونه *T. lancifolius* تنها در مرحله ۵۰ درصد گلدهی در ترکیبات اسانس دیده شد. بنابراین با توجه به اثر گونه‌های اویشن بر انواع باکتری‌ها و قارچ‌ها و استفاده از گونه‌های آویشن در طب سنتی و کاربرد اسانس و

مواد موثره آنها در صنایع غذایی و داروسازی و از طرفی وجود بالاترین بازده اسانس و از طرفی بالاترین درصد تیمول و کارواکرول در آغاز گلدهی می‌توان از گونه‌های مورد اشاره در مرحله آغاز گلدهی جهت دست‌یابی به درصد تیمول و کارواکرول بیشتر به‌عنوان دو ترکیب اصلی آویشن استفاده کرد. همچنین با توجه به نتایج مرحله ۱۰۰ درصد گلدهی جهت دستیابی به بیشترین وزن اسانس، حجم اسانس و درصد حجمی اسانس توصیه می‌گردد.

References

1. Adams, R.P. 2001. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy: Carol Stream, IL.: Allured Publishing Co.
2. Asllani, U. and Toska, V. 2003. Chemical composition of Albanian Thyme oil (*Thymus vulgaris* L.). Journal of Essential Oil Research, 15: 165-167.
3. Aznar, A., Fernández, P.S., Periago, P.M. and Palop, A. 2013. Antimicrobial activity of nisin, thymol, carvacrol and cymene against growth of *Candida lusitaniae*. Food Science and Technology International, 21(1): 72-79.
4. Eftekhar, 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. Nat Prod Commun, 4: 42-1139.
5. Ghasemi, A. 2009. Medicinal and aromatic plants (cognitive effects). Islamic Azad University Press.
6. Hadypnah, A., Golparvar, A., Ghasemi Pirbaloti, 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.
7. Hornok, L. 1991. Cultivation and processing of medicinal plants. Academic Publ. Budapest, 338 p.
8. Jamzad, Z. 2009. *Thymus* and *Satureja* species of Iran. Research institute of Forest and Rangelands, Tehran, 171 p.
9. Jordan, M.J., Martinez, R.M., Goodner, K.L., Baldwin, E.A. and Sotomayor, A. 2006. Seasonal variation of *Thymus hyemalis* Lange and Spanish *Thymus vulgais* L. essential oils compositions. Industrial Crops and Products, 24: 253–263.
10. 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.
11. Keefover-Ring, K., Thompson, J.D. and Linhart, Y.B. 2009. Beyond six scents: defining a seventh *Thymus vulgaris* chemo type new to southern France by ethanol extraction. Flavour and Fragrance Journal, 24(3): 117-122.
12. Khorshidi, J., Rostaei, A., Fakhre Tabatabaei, M., Omidbaigi, R. and Sefidkon, F. 2010. Effect of climate and harvesting time on essential oil quantity of *Thymus daenensis* Celak. Scientific Conference on Medicinal plant Industry Development in Iran. 28 February and 1 March. Tehran, Iran.
13. Kovats, V.E. 1958. Gas-chromatographische Charakterisierung organischer Verbindungen. Teil 1: Retentionsindices aliphatischer Halogenide, Alkohole, Aldehyde and Ketone. Helvetica Chimica Acta, 41(7): 1915-1932.
14. McGimpsey, J.A., Douglas, M.H., Van Klink, J.W., Beauregard, D.A. and Perry, N.B. 2006. Seasonal variation in essential oil yield and composition from naturalized *Thymus vulgaris* L. in New Zealand. Flavour and Fragrance Journal, 9(6): 347-352.
15. Mirahmadi, F., Omidbaigi, R., Sefidkon, F., Rostaei, A. and Fakhre Tabatabaei, M. 2010. Compare the quality of essential oil from *Thymus fedtschenkoi*

at different stages of plant growth. Scientific Conference on Medicinal plant Industry Development in Iran. 28 February and 1 March. Tehran, Iran.

16. Mirza, M. and Baher, Z., 2003. Chemical composition of essential oil from *Thymus vulgaris* hybrid. Journal of Essential Oil Research, 15. 329-330.
17. NaghdiBadi, H., Yazdani, S., Mohammad Ali, S.M. and Nazari, F. 2004. Effects of spacing and harvesting time on herbage yield and quality/quantity of oil in thyme, *Thymus vulgaris* L. Indust. Crops Production, 19: 231–236.
18. NaghdiBadi, H. and Makizade, M. 2003. Review of Thyme. (*Thymus vulgaris* L.). Journal of Medicinal Plants, 2 (7): 1-12.
19. Nazari, F., Shaabani, S. and Khiry, H. 2011. Analysis of the essential oil of *Thymus kotschyanus* from Iran. Journal of Planta Medica, 22-77.
20. 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 phenologycal stages. Food Chemistry, 110: 927-931.
21. Nickavar, B., Mojab, F. and Dolat-Abadi, R. 2005. Analysis of the essential oils of two *Thymus* species. Iranian Food Chemical, 90: 609- 611.
22. Omidbaigi, R. and RezaeiNejad, A. 2000. The influence of nitrogen fertilizer and harvest time on the productivity of *Thymus vulgaris*. International Journal Horticulturel Science, 6:43-46.
23. Omidbaigi, R. 2005. Processing of medicinal plants. Publishers Astan Quds Razavi, 397 p.
24. Omidbaigi, R., Sefidkon, F. and Hejazi, M. 2005. Essential oil composition of *Thymus×citriodorus* L. cultivated in Iran. Flavour and Fragrance Journal, 20: 227-238.
25. Pirigharnaei, 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(2): 89- 95.
26. 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.
27. 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.
28. Sefidkon, F. and AKbari-nia, A. 2009. Essential oil content and composition of *Satureja sahendica* Bornm. in different stage of plant growth. Journal of Essential Oil Research, 25(35): 376- 385.
29. Sefidkon, F. and Asgari, F. 2003. Quantitative and qualitative comparison of fives pieces of essential oil of thyme. Pajouhesh and Sazandegi, 59:2-7.
30. Sefidkon, F. and Asgari, F. 2002. Thyme essential oil compounds 5 children. Medicinal and Aromatic Plants. Research of Iran, 29-51.
31. Sefidkon, F., Abbasi, Kh., Jamzad, Z. and Ahmadi, Sh. 2007. The effect of distillation methods and stage of plant growth on the essential oil content and composition of *Satureja rechingeri* Jamzad. Food Chemistry, 100: 1054-1058.
32. Sefidkon, F., Nikkhah, F. and Sharifi Ashoorabadi, E. 2009. The effect of distillation methods and plant growth stages on the essential oil content and composition of *Thymus vulgaris* L. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 25(3): 309–320.
33. Sefidkon, F. and Rahimibidgoli, A. 2002. Study of qualitative and quantitative changes Thyme essential oil (*Thymus kotschyanus*) during plant growth and various methods of distillation. Medicinal and Aromatic Plants Research of Iran, 1-22:15.

34. Vaiciulytė, V. and Ložienė, 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.

35. Yazdani, D., Shahnazi, S., Jamshidi, A., Rezazadeh, S. and Mojab, F. 2006. Assessment of essential oils of qualitative and quantitative changes of Thyme and tarragon in the fresh and dry parts of the plant. Medicinal Plant Journal, 17(4): 7-15.

36. Yosefzadeh, K., Houshmand, S., Shiran, B., Zeinali, H., Hadiyan, J. 2016. Effects of long-term drought stress on quantity and quality of essential oil of *Thymus* spp. Journal Ecophytochemical of Medicinal Plants, 1-14.