مقایسه ترکیبات شیمیایی اسانس جمعیت‌های آویشن کوهی (*Thymus kotschyanus* Boiss. & Hohen.) ایران

محمدحسین عظیمی[۱]، حسنعلی نقدی‌بادی[۲*]، سپیده کلاته جاری[۳]، وحید عبدوسی[۳]، علی مهرآفرین[٤]

۱- دانشجوی دکتری، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، گروه علوم باغبانی، تهران، ایران

۲- دانشیار پژوهش، گروه کشت و توسعه مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی، کرج، ایران

۳- استادیار، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، گروه علوم باغبانی، تهران، ایران

٤- استادیار پژوهش، گروه کشت و توسعه مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی، کرج، ایران

*آدرس مکاتبه: گروه کشت و توسعه مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی، کرج، صندوق‌پستی: ۱۳٦۹-۳۱۳۷۵

تلفن: ۱۹- ۳٤۷٦٤۰۱۰ (۰۲٦)، نمابر: ۳٤۷٦٤۰۲۱ (۰۲٦)

پست الکترونیک: Naghdibadi@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۹۳/۱/۲۷ **تاریخ تصویب:** ۹۳/۹/٤

چکیده

مقدمه: آویشن کوهی (*Thymus Kotschyanus* Boiss. & Hohen.) یکی از گیاهان دارویی بومی ایران است که در مناطق وسیعی از مازندران، گیلان، آذربایجان، کردستان و تهران می‌روید.

هدف: هدف از این مطالعه، شناسایی میزان اسانس و ترکیبات شیمیایی آن در ۱۵ جمعیت آویشن کوهی ایران بود.

روش بررسی: میزان اسانس و ترکیبات شیمیایی آن در ۱۵ جمعیت آویشن کوهی که از مناطق مختلف جمع‌آوری شده بودند در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار مورد بررسی قرار گرفتند. اندام هوایی جمعیت‌ها در مرحله گلدهی کامل برداشت شدند و اسانس‌گیری با دستگاه کلونجر انجام و جهت تجزیه نمونه‌های اسانس و اندازه‌گیری دقیق ترکیبات از دستگاه‌های GC و GC/MS استفاده شد.

نتایج: نتایج نشان داد جمعیت‌های مختلف آویشن کوهی از نظر میزان اسانس دارای تفاوت معنی‌داری در سطح آماری یک درصد بودند. به طوری که بیشترین میزان اسانس مربوط به جمعیت‌های تهران، آذربایجان غربی (۱) و آذربایجان غربی (٤) و بالاترین درصد تیمول در اسانس متعلق به جمعیت کردستان (۱) به میزان ٤۰/٤۲ درصد بود. همچنین بالاترین میزان کارواکرول اسانس به ترتیب در جمعیت کرمان به میزان ۳۳/۰۸ درصد و جمعیت زنجان (۳) به میزان ۳۰/٤۹ درصد یافت شد. به غیر از ترکیب کارواکرول، جمعیت‌های آویشن کوهی از نظر سایر ترکیبات مورد مطالعه نیز دارای تفاوت معنی‌داری ($p\leq$ ۰/۰۱) بودند. به هرحال در مجموع ۲۳ ترکیب شیمیایی در اسانس جمعیت‌ها شناسایی شد که عمده آنها به ترتیب کارواکرول، تیمول، ۱ و ۸- سینئول، اورتوسایمن، کارواکرول متیل اتر، زد- کاریوفیلن، کامفر و لینالول بود.

نتیجه‌گیری: اگرچه جمعیت‌های آویشن کوهی مورد مطالعه در شرایط اکولوژیکی و زراعی یکسان کشت شده‌بودند ولی از نظر ترکیبات فیتوشیمیایی تفاوت معنی‌داری نشان دادند که این مسأله ممکن است ناشی از عوامل ژنتیکی باشد.

گل‌واژگان: *Thymus Kotschyanus*، اسانس، تنوع فیتوشیمیایی

مقدمه

خانواده نعناعیان (*Lamiacae*) دارای گیاهان دارویی مهمی می‌باشد و جنس آویشن یکی از جنس‌های مهم این خانواده است. این خانواده دارای ۲۰۰ جنس و بیش از ٤۰۰۰ گونه گیاهی است [۲۳]. آویشن کوهی (*Thymus Kotschyanus* Boiss. & Hohen.) گیاهی چوبی - علفی، تقریباً راست، کوتاه قد، ساقه با انشعاب‌های زیاد، بدون شاخه‌های قاعده‌ای خوابیده، رگبرگ ها در سطح زیرین برگ برجسته، جام گل سفید یا صورتی کم رنگ که زمان گلدهی اواخر بهار تا اواسط تابستان می‌باشد [۱۳]. این گیاه در مناطق وسیعی از نواحی شمالی، غربی و مرکزی ایران مانند مازندران، گیلان، آذربایجان، کردستان، اطراف تهران و برخی مناطق دیگر می‌روید [۳۲]. کشور ایران به دلیل وسعت و تنوع شرایط اکولوژیکی، تعداد قابل توجهی از گونه‌های جنس آویشن را دارا می‌باشد [۱]. جعفری و همکاران [۱۲] گزارش کرده‌اند از نظر اکولوژیکی، آویشن در کهکلویه و بویر احمد در مناطقی با ارتفاع ۲۰۰۰ تا ۳٦۲۵ متر از سطح دریا و با شیب‌های مختلف رویش دارد.

اندام هوایی گیاه آویشن کوهی دارای اسانس می‌باشد که حاوی ترکیبات شیمیایی متعددی است که دو ایزومر تیمول و کارواکرول از مهم‌ترین آنها می‌باشد [۳۲]. اسانس این گیاه جایگاه خاصی در تجارت جهانی دارد [۱۹]. بهترین روش تهیه اسانس از گیاه آویشن تقطیر با آب است [۲۸] که بیشترین بازده اسانس را تولید می‌کند [۲۱]. آویشن محتوی ۰/۸ تا ۲/٦ درصد اسانس است که قسمت اعظم آن را فنول‌ها، هیدروکربن‌های مونوترپنی و الکل‌ها تشکیل می‌دهند [۸]. آویشن حاوی ترکیباتی مانند فلاونوئید، ساپونین و مواد تلخ می‌باشد [۵]. اندام هوایی آویشن کوهی حاوی اسانس روغنی، تانن‌ها، ساپونین‌ها و ضد عفونی‌کننده‌های گیاهی می‌باشند [۱۵]. از برگ آویشن در فراورده‌های غذایی و همچنین از اسانس گیاه در نوشیدنی‌ها و صنایع دارویی بهداشتی و آرایشی استفاده می‌شود. روغن آویشن دارای خواصی نظیر ضداسپاسم، بادشکن، ضد قارچ، ضد باکتریایی، ضد عفونی‌کننده، ضد کرم، خلط‌آور، آنتی‌اکسیدان و غیره می‌باشد. آویشن کوهی به صورت دم‌کرده جهت رفع ناراحتی‌های هضمی و نفخ استفاده می‌شود. اسانس گل و برگ‌های آویشن دارای ضد روماتیسم، ضد سیاتیک و ضد عفونی‌کننده قوی است. در داروسازی برای تهیه محلول‌های دهان‌شویه و شربت‌های ضدسرفه به کار می‌رود [۱۷].

سفیدکن و عسگری [۳۱] از اندام‌های هوایی خشک شده آویشن کوهی که از منطقه سیراچال استان تهران جمع‌آوری شده بود با روش تقطیر با بخار آب، ۲۰ ترکیب اسانس در زمان قبل از گلدهی و ۲۵ ترکیب اسانس در زمان گلدهی شناسایی کردند که به ترتیب ۹۳/۵ و ۹۹/۳ درصد اسانس را تشکیل دادند. در زمان گلدهی میزان کارواکرول (٤۱/٤ درصد)، تیمول (۱۹/۵ درصد)، گاماترپینن (۱۰/۳ درصد)، پاراسایمین (۵/۳ درصد)، بتاکاریوفیلن (۲/۵ درصد) و بورنئول (۲/٤ درصد) بود. روستائیان و همکاران [۲۷] گزارش کردند ترکیبات غالب اسانس در آویشن کوهی که از منطقه دیزین استان البرز تهیه شده بودند شامل تیمول (۳۸ درصد)، کارواکرول (۱٤/۲ درصد) و ۱ و ۸- سینئول (۱۳/۲ درصد) می‌باشد. کاسومو [۱٤] ترکیبات غالب اسانس آویشن کوهی به ترتیب تیمول (۳۵/٤۸ درصد)، کارواکرول (۱۱/٦۵ درصد)، پاراسایمین (۱۷/۷٤ درصد) و گاماترپینن (٦/۵۰ درصد) گزارش کردند. رسولی و همکاران [۲٦] ترکیبات غالب اسانس آویشن کوهی را کارواکرول (۳۵/۰٦ درصد)، تیمول (۲٦/٦ درصد) و گاماترپینن (۷/۸۱ درصد) درصد بیان کردند. در تحقیقی که توسط نیکور و همکاران [۲۲] انجام شد ترکیبات غالب اسانس در آویشن کوهی را تیمول (۳۸/٦ درصد)، کارواکرول (۳۳/۹ درصد)، پاراسایمین (۷/۳ درصد) و گاماترپینن (۵/۲ درصد) گزارش کردند. به هرحال بررسی‌ها نشان داده است که ترکیب‌های غالب در اسانس‌های گونه‌های آویشن عبارتند از: تیمول، کارواکرول، بورنئول، پاراسایمین، گاماترپینن، آلفاترپینن، لینالول، لینالول استات، ژرانیول و ۱ و ۸- سینئول [۱۳]. با توجه به اهمیت اقتصادی گیاه دارویی آویشن کوهی و ضرورت شناسایی علمی ذخایر ژنتیکی این گونه در کشور، شناخت ترکیبات شیمیایی اسانس و اجزای آن در جمعیت‌های مختلف این گونه از اهداف این تحقیق می‌باشد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

در این تحقیق، ۱۵ جمعیت آویشن کوهی (*Thymus kotschyanus*) موجود در کلکسیون گیاهان دارویی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان مرکزی واقع در ۱۲ کیلومتری شهر اراک مورد ارزیابی قرار گرفتند (جدول شماره ۱). این مطالعه در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار و با ۱۵ تیمار (جمعیت‌های آویشن) انجام شد. از اندام هوایی گیاهان به روش علمی در مرحله گلدهی نمونه‌برداری انجام شد و سپس نمونه‌ها در سایه و در دمای اتاق خشک و در پاکت‌های کاغذی نگهداری شدند [۲۹]. نمونه‌ها جهت تعیین درصد اسانس گیاه به آزمایشگاه آنالیز فیتوشیمیایی پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی – کرج انتقال داده شدند.

استخراج اسانس

به منظور تعیین میزان اسانس در گیاه، مقدار ۵۰ گرم از اندام هوایی خشک تولید شده در هر کرت آزمایشی، به صورت تصادفی انتخاب شدند. هر نمونه بعد از آسیاب شدن، به درون یک بالن یک لیتری ریخته و مقدار ۳۰۰ میلی‌لیتر آب به آن اضافه شد. سپس به مدت ٤ ساعت، با استفاده از روش تقطیر با آب به وسیله دستگاه کلونجر، اسانس‌گیری صورت گرفت [۳۰]. اسانس به دست آمده توسط سولفات سدیم بدون آب، آب‌گیری شد و در نهایت، درصد و عملکرد اسانس تعیین شد [٤].

مشخصات دستگاه GC/MS

جهت تجزیه نمونه‌های اسانس و اندازه‌گیری دقیق ترکیبات موجود در آن، از دستگاه کروماتوگراف گازی (GC) و کروماتوگراف گازی متصل به طیف سنج جرمی (GC/MS)، استفاده شد. دستگاه کارماتوگرافی استفاده شده از نوع Agilent 6890 با ستون به طول ۳۰ متر قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه ۰/۲۵ میکرومتر از نوع HP-5MS بود. برنامه دمایی ستون به این نحو تنظیم شد: دمای ابتدایی آون ۵۰ درجه سانتی‌گراد و توقف در این دما به مدت ۵ دقیقه گرادیان حرارتی سه درجه سانتی‌گراد در هر دقیقه افزایش دما تا ۲٤۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۱۵ درجه در هر دقیقه افزایش دما تا ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد و سه دقیقه توقف در این دما، دمای اتاقک تزریق ۲۹۰ درجه سانتی‌گراد بود و از گاز هلیوم به عنوان گاز حامل با سرعت جریان (فلو) ۰/۸ میلی‌متر در دقیقه استفاده شد.

طیف‌نگار جرمی مورد استفاده مدل Aglent 5973 با ولتاژ یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت روش یونیزاسیون EI و دمای منبع یونیزاسیون ۲۲۰ درجه سانتی‌گراد بود. شناسایی طیف‌ها به کمک شاخص بازداری آنها و مقایسه آن با شاخص‌های موجود در کتب مرجع و مقالات و با استفاده از طیف‌های جرمی و ترکیبات استاندارد و استفاده از اطلاعات موجود در کتابخانه کامپیوتری صورت گرفت. طیف‌های به دست آمده از طریق مقایسه با طیف‌های جرمی ترکیب‌های استاندارد شناسایی شدند و سپس با استفاده از محاسبه شاخص‌های بازداری (RI) و با تزریق هیدروکربن‌های نرمال مورد تأیید قرار گرفتند. درصد هر یک از ترکیبات نیز با توجه به سطح زیر منحنی آن در طیف کروماتوگرام حاصل از GC با روش Area Normalization به دست آمد [۱۸]. داده‌های حاصل از آزمایش بر اساس طرح آماری مورد استفاده، توسط نرم‌افزار SAS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند و از آزمون چند دامنه‌ای دانکن جهت مقایسه میانگین استفاده شد و رسم نمودارها نیز توسط نرم‌افزار Excel انجام شد.

جدول شماره ۱- مشخصات جغرافیایی جمعیت‌های مورد بررسی

کد هرباریومی	جمعیت‌ها	استان محل جمع‌آوری بذر	ارتفاع (متر)	عرض جغرافیایی	طول جغرافیایی
۵۸	*T. kotschyanus*	کردستان (۱)	۲٤۰۰	۳۵° ۳۱' ۰۰"	٤٦° ۵۲' ۰۰"
۲۳	*T. kotschyanus*	کردستان (۲)	۲٤۰۰	۳۵° ۵۵' ۰۰"	٤٦° ٤۰' ۰۰"
۲۱	*T. kotschyanus*	کردستان (۳)	۲٤۰۰	۳۵° ۲۵' ۰۰"	٤٦° ۵۲' ۰۰"
۵٦	*T. kotschyanus*	کرمان	۲٤۰۰	۳۰° ۵٤' ۲۵"	۵٦° ٤۷' ۳۵"
۵۰	*T. kotschyanus*	زنجان (۱)	۲۰۰۰	۳٦° ٤۸' ۳۷"	٤۸° ۳۷' ۲۰"
۱۱	*T. kotschyanus*	زنجان (۲)	۱۸۵۰	۳٦° ۵۰' ۰۰"	٤۹° ٤۵' ۲۰"
۷	*T. kotschyanus*	زنجان (۳)	۲۲۰۰	۳٦° ٦۰' ۱۷"	٤۸° ۲۵' ٤٦"
۲۷	*T. kotschyanus*	قزوین (۱)	۱۸۰۰	۳٦° ۳٤' ۰۰"	٤۹° ۲۰' ۰۰"
۲۲	*T. kotschyanus*	قزوین (۲)	۱۵۰۰	۳٦° ۲٦' ۰۰"	۵۰° ۰۷' ۰۰"
۵۱	*T. kotschyanus*	تهران	۱۵۰۰	۳٦° ۲۹' ۰۰"	۵۱° ۲۳' ۰۰"
۵٤	*T. Kotschyanus*	آذربایجان غربی (۱)	۱۳۸۹	۳٦° ۵۵' ۱۲"	٤۵° ۲۲' ٤۵"
٦۷	*T. kotschyanus*	آذربایجان غربی (۲)	۱۵۲٤	۳۷° ۵۷' ۳٤"	٤٤° ۵۷' ٦۰"
۷۰	*T. kotschyanus*	آذربایجان غربی (۳)	۱٤۸۷	۳۷° ۱۷' ۸۰"	٤۵° ۰۷' ۱٤"
۱۰	*T. kotschyanus*	آذربایجان غربی (٤)	۱٦۰۰	۳۸° ۵٦' ٦۰"	٤۵° ۵۵' ۵٦"
٤۷	*T. kotschyanus*	لرستان	۱۷۰۰	۳۳° ۰۷' ۰۳"	٤۹° ۲٤' ٤۳"

نتایج

نتایج نشان داد که جمعیت‌های مورد مطالعه از نظر میزان اسانس دارای تفاوت معنی‌داری در سطح یک درصد (جدول شماره ۲) و بر اساس نتایج آزمون مقایسه میانگین جمعیت‌ها (جدول شماره ۳)، درصد اسانس در جمعیت‌های آذربایجان غربی (۱)، تهران و آذربایجان غربی (٤) با ۰/۸۵ درصد بالاترین و در جمعیت‌های کردستان (۲)، آذربایجان غربی (۳) و قزوین (۲) با ۰/۱۵ درصد کمترین میزان بود. نتایج نشان داد که جمعیت‌های مورد مطالعه به غیر از ترکیب کارواکرول، از نظر سایر ترکیبات شیمیایی اسانس تفاوت معنی‌داری با هم ($p\leq ۰/۰۱$) دارند. بالاترین ضریب تغییرات مربوط به ترکیب تیمول (۳۲/٤ درصد) و کمترین ضریب تغییرات مربوط به بورنیل استات (۰/۸۷ درصد) بود (جدول شماره ۲).

در مقایسه بین جمعیت‌های آویشن کوهی از نظر ترکیبات شیمیایی اسانس، ترکیبات کارواکرول، تیمول، بورنئول، ۱ و ۸- سینئول، اورتوسایمن در همه جمعیت‌ها عمده بود. در مقایسه بین جمعیت‌های آویشن، نتایج نشان داد که بیشترین میزان کارواکرول مربوط به جمعیت‌های کرمان و زنجان (۳) به ترتیب ۳۳/۰۸ و ۳۰/٤۹ درصد و کمترین میزان مربوط به جمعیت‌های قزوین (۱)، کردستان (۲) و زنجان (۲) به ترتیب صفر، ۲/۰۹ و ۲/۰٦ درصد بود. میزان ترکیب تیمول در جمعیت‌های مختلف، متفاوت بود به طوری که بالاترین درصد تیمول در جمعیت کردستان (۱) به میزان ٤۰/٤۲ درصد بدست آمد. البته در اسانس جمعیت‌های قزوین (۱)، تهران، زنجان (۲)، آذربایجان غربی (۲)، لرستان و کردستان (۳)، ترکیب تیمول مشاهده نشد. بیشترین میزان بورنئول در جمعیت کردستان (۳) و کمترین میزان در جمعیت آذربایجان غربی (٤) به ترتیب ۲٦/٤۵ و صفر درصد یافت شد. بالاترین درصد ۱ و ۸- سینئول در جمعیت‌های کرمان و آذربایجان غربی (۱) به ترتیب ٦/۵۷ و ٦/۳۵ مشاهده شد در حالی که این ترکیب در جمعیت‌های زنجان (۱)، قزوین (۱)، تهران و زنجان (۲)

جدول شماره ۲- تجزیه واریانس ترکیبات جمعیت‌های *Thymus kotschyanus*

منابع تغییرات	درجه آزادی	اسانس	کارواکرول	تیمول	بورنئول	گاما ترپینن	۱و ۸- سینئول	اورتوسایمن	آلفا پینن
بلوک	۲	۱/۳۵ns	۵/٤۹ns	۳٦/۵۰ns	۰/۵۷ns	۰/۰۹ns	۰/٤۹ns	۰/۷۷ns	۰/۰۰ns
تیمار (جمعیت)	۱٤	۲۲٦۸/۲۵**	۳۰٤/۱۳ns	٤۱۹/۰۹**	۲۷۱/۷۵**	۳۵/۱۱**	۱٤/۸٤**	۱٦۸/۵۵**	۹/۰۲**
خطا	۲۸	۲/٤۵	۰/۳۳	۲۱/۹۲	۱/۷۱	۰/۳۵	۰/٦۷	۱/۸۰	۰/۰۵
CV%	-	۳/۰٦	۵/۲	۳۲/٤	۱۷/۱۳	۱۱/۱٦	۲۰/۲۱	۱۲/٦۹	٦/۳۱

**و * و ns به ترتیب معنی در سطح ۱ درصد و۵ درصد و غیر معنی‌دار

ادامه جدول شماره ۲-

منابع تغییرات	کارواکرول متیل اتر	زدکاریوفیلن	کامفر	ژرانیال	کامفنن	لینالول	بورنیل استات	کاریوفیلن اکساید	ترپینن-٤-ال
بلوک	۰/۵۸ns	۰/۱۲ns	۰/۳٤ns	۰/۰۵ns	ns ۰/۱۰	۰/۱۳ns	۰/۰۰ns	۰/۰۰ns	ns ۰/٤۵
تیمار (جمعیت)	۲٦۸/۸۵**	۱۳۹/۳٤**	۲۷/۵٦**	۸۹/۸۸**	۱۱/۹۹**	۹٦۲/۳۲**	۹/۷۵**	۱۲/۹۰**	۵۸/۷۰**
خطا	۱/۵٤	۱/۲۱	۰/٦٦	۰/۲۸	۰/٦۰	۰/۵۳	۰/۰۰۲	۰/۱۷	۰/۲۲
CV%	۱۲/۲۳	۱۲/۰٦	۱۸/۷۱	۵/٦۲	۲۳/٤۷	٤/۷۱	۰/۸۷	۱۰/۳۰	٦/۱۹

جدول شماره ۳- آزمون مقایسه میانگین دانکن ترکیبات اندازه‌گیری شده در جمعیت‌های آویشن

جمعیت‌ها	اسانس	کارواکرول	تیمول	بورنئول	گاما ترپینن	۱و ۸- سینئول	اورتوسایمن	آلفا پینن	کارواکرول متیل اتر	زدکاریوفیلن	کامفر
کردستان (۱)	۰/۷۱b	۹/۱۹d	٤۰/٤۲a	٦/۷۹e	۳/۸٤c	٤/۸٦b	۷/۵۳f	۳/۱b	-	-	-
کردستان (۲)	۰/۱۵f	۲/۰۹g	۱۳/٤۳c	٤/۷۱efg	-	۳/۹۱bc	۳/٦۹g	-	-	٦/٤۵c	۲/۵٤c
کردستان (۳)	۰/۲۸e	۵/٤۸ef	-	۲٦/٤۵b	-	۲/۳۷c	۱۱/۲۲e	۳/۲٤b	٤/۳٤e	٦/۱c	۷/٤٤b
کرمان	۰/۷۱b	۳۳/۰۸a	۳/۱۳d	۳/۲٦gf	۷/۰۷b	٦/۵۷a	۱۹/۵٤b	-	٤/٤۳e	۲/۸۸d	-
زنجان (۱)	۰/٤۲d	٤/٦۲f	۱٦/۷۰bc	۳/۳۵gf	-	-	۸/٦۵f	۵/۰۱a	۱۲/۵۰c	۲۰/۲۰a	۲/۱۳c
زنجان (۲)	۰/۲۷e	۲/۰٦g	-	۲/۹۵g	-	-	۳/۰۱g	-	-	-	۲/۹۹c
زنجان (۳)	۰/۵۷c	۳۰/٤۹b	۳/٤۷d	۵/٦٦ef	۳/۹۱c	۳/۱۵c	۱۲/۸۲b	-	-	-	۲/۷۲c
قزوین (۱)	۰/۲۸e	-	-	۳/۱۰a	-	-	۱۲/۳٤de	-	-	-	۹/۳۵a
قزوین (۲)	۰/۱۵f	۱۷/۳۷c	۳/۳٤d	۱۰/٦۱d	۲/٤٤d	۳/۵۸bc	۱٤/۰۲d	۲/۸۱b	۳/۵۹e	-	-
تهران	۰/۸۵a	۵/۸۳e	-	۳/۷۱gf	-	-	۳/۳٤g	-	۳۵/٤۷a	-	-
اذربایجان غربی (۱)	۰/۸۵a	۵/۱٤ef	۲۰/۹۹bc	۱۲/٦۸d	۲/۸۲d	٦/۳۵a	۸/۸۷f	-	۸/۱۸d	۲/۵٤d	۲/۷c
اذربایجان غربی (۲)	۰/۷۱b	۹/٦۲d	-	۲/۵۹g	-	۲/٤c	۳/۷۹g	-	۳/۸۷e	۱۹/٦۷a	-
آذربایجان غربی	۰/۱۵f	۵/۰۰۵ef	۵/۲۳d	٤/۳۱gf	-	۳/۳۵c	۱٦/۳۵c	-	۲/۹۸e	٤/۱۱d	٦/۹۲b
آذربایجان غربی	۰/۸٤a	۵/۵۸ef	۲۳/۲۸b	-	۱۱/۷۲a	٤/۹٤b	۳۰/۱۰a	-	-	-	-
لرستان	۰/۷۱b	۱۷/۱۹c	-	۱٦/٦۷c	-	۳/۱٤c	۳/۳۲g	-	۱۵/۹۳b	۸/۹۲b	۲/٦۱c

میانگین‌ها با حروف مشابه در هر ستون فاقد تفاوت معنی‌دار می‌باشند (آزمون چند دامنه‌ای دانکن)

ادامه جدول شماره ۳ -

جمعیت‌ها	ژرانیال	کامفنن	لینالول	بورنیل استات	کاریوفیلن اکساید	ترپینن-٤-ال
کردستان (۱)	-	-	-	-	-	-
کردستان (۲)	-	۲/۰۸c	۲٦/۳۲b	-	۵/۸۰a	۱٦/۰۸a
کردستان (۳)	-	۲/۲٤c	۲/۸٤g	-	۵/۱٤a	-
کرمان	-	-	-	-	-	-
زنجان (۱)	۲/۷۳c	-	-	-	-	-
زنجان (۲)	-	-	٦۸/٤٦a	-	۲/٦۳c	-
زنجان (۳)	-	۲/۲۷c	۸/۲۱d	-	-	۲/۳۱d
قزوین (۱)	-	٤/۸۳b	۳/۱۵g	-	۳/۷۱b	-
قزوین (۲)	-	٦/۳۱a	۳/۰٦g	-	۲/۱٤c	۵/۱c
تهران	٤/٦۵b	-	۱۵/۳۲c	۵/۳۱a	-	-
آذربایجان غربی (۱)	-	-	-	-	-	-
آذربایجان غربی (۲)	۲۱/۰۸a	-	-	٤/۹۳b	-	-
آذربایجان غربی (۳)	-	-	٦/۷۸e	-	-	٦/٦۹b
آذربایجان غربی (٤)	-	-	-	-	-	-
لرستان	-	۲/۱۲c	٤/۸f	-	-	-

مشاهده نشد. در مقایسه بین جمعیت‌ها، بالاترین درصد اورتوسایمن به میزان ۳۰/۱۰ در جمعیت آذربایجان غربی (٤) و کمترین میزان آن در جمعیت‌های تهران، زنجان (۲)، آذربایجان غربی (۲)، لرستان و کردستان (۲) به ترتیب به میزان‌های ۳/۳٤، ۳/۰۱، ۳/۷۹، ۳/۳۲ و ۳/٦۹ مشاهده شد. در ضمن یافته‌های این تحقیق نشان داد که برخی ترکیبات از جمله بتاپینن (۳/۷ درصد) و میرسن (۲/٦ درصد) در جمعیت قزوین (۱)، اژنول (۸/۲٦ درصد) و آلفاترپینن (۲/۹۷ درصد) در جمعیت قزوین (۲)، بتابوربونن (۲/۸٦ درصد) در جمعیت آذربایجان غربی (۱)، تیمول متیل اتر (۱۳/۸ درصد) در جمعیت آذربایجان غربی (۲) و بتابیسابولن (۳/۹٤ درصد) در جمعیت زنجان (۲) یافت شدند.

ضرایب همبستگی ترکیبات شیمیایی اسانس بین جمعیت‌های مختلف نشان داد که بیشترین همبستگی مثبت و معنی‌دار مربوط به آلفاترپینن با اژنول (r= ۰/۹۹)، تیمول متیل اتر با ژرانیال (r= ۰/۹۷)، میرسن با بتاپینن (r= ۰/۹۹) بود. همچنین بین ترکیبات زد- کاریوفیلن با درصد اسانس، بتابوربونن با کامفر، ترپینن-٤- ال با بتابیسابولن، بتابیسابولن با کامفر و بتابیسابولن با ۱و۸- سینئول هیچ‌گونه همبستگی مشاهده نشد. همبستگی بین میزان اسانس با کاریوفیلن اکساید (r= -۰/٦۸) و ترپینن-٤- ال (r= -۰/۵۸) منفی بود (p< ۰/۰۱). همچنین همبستگی بین اسانس با کامفن (r= -۰/۵۳) و کامفر (r= -۰/۵۵) منفی و در سطح آماری پنج درصد معنی‌دار بود.

بحث

نتایج مقایسه میانگین ترکیبات اسانس در جمعیت‌های آویشن کوهی نشان داد که جمعیت‌های مناطق مختلف، در کمیت و کیفیت اسانس تفاوت معنی‌داری داشتند. این موضوع بیانگر تأثیر ژنتیک بر کمیت و 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 [۳]. البته تحقیقات نشان داده است شرایط اکولوژیکی، آب و هوایی و زمان برداشت [۲۵، ٦]، ارتفاع [۱۰]، ساختار شیمیوتایپی جمعیت‌ها و سال به علت چندساله بودن آویشن [۲٤] و عوامل زراعی [۲۰] بر عملکرد اسانس، کمیت و کیفیت مواد مؤثره آویشن تأثیرگذار هستند. همچنین از آنجا که اسانس‌ها، متابولیت‌های ثانویه‌ی گیاهی هستند و برخی از گیاهان در هنگام دریافت تنش‌های محیطی میزان متابولیت‌های ثانویه را در اندام‌های خود افزایش می‌دهند [۹]. اما از آنجا که در این مطالعه جمعیت‌های آویشن کوهی در شرایط محیطی / زراعی یکسان کشت شده‌اند این تفاوت‌های مشاهده شده بیشتر می‌تواند ناشی از اثر عوامل ژنتیکی باشد.

دو ترکیب کارواکرول و تیمول که از ترکیبات کلیدی اسانس این گیاه هستند در بین جمعیت‌ها، مقادیرشان متفاوت بود. در مقایسه بین جمعیت ها نتایج نشان داد که میزان کارواکرول در جمعیت کرمان که مربوط به ارتفاع ۲٤۰۰ متری از سطح دریا بود بالاترین میزان را داشت که نسبت به سایر جمعیت‌ها در عرض جغرافیایی پایین‌تری قرار دارد، به طوری کلی با افزایش ارتفاع میزان کارواکرول در جمعیت‌ها افزایش یافته است و بالاترین میزان تیمول در جمعیت کردستان (۱) با ارتفاع ۲٤۰۰ متری مشاهده شد و در جمعیت قزوین (۱) در ارتفاع ۱۸۰۰ متری، ترکیبات کارواکرول و تیمول مشاهده نشد. در این راستا، گزارش‌های بقالیان و نقدی‌بادی [۲۰] نشان می‌دهد که در مناطقی دارای ارتفاع کم و آب و هوای گرم و اقلیم‌های مدیترانه‌ای خشک، ترکیبات فنولیک تیمول و کارواکرول در گونه‌های آویشن بیشتر است و در مناطق مرطوب‌تر ترکیبات غیرفنولیک حلقوی و مونوترپن‌های غیرحلقوی افزایش می‌یابد. در پژوهشی دیگر توسط ابراهیمی ضابط و همکاران [۷] با بررسی اثر ارتفاع رویشگاه بر میزان اسانس و کیفیت آن در گیاه آویشن الوندی (*Thymus elwendicus*) دریافتند که تعادل بین دو ترکیب کارواکرول و تیمول تحت تأثیر ارتفاع است که با افزایش ارتفاع میزان کارواکرول کاهش و تیمول افزایش می‌یابد و در تحقیقات مزوجی و همکاران [۱٦] با مقایسه ترکیبات شیمیایی

اسانس آویشن کوهی دریافتند که مهم‌ترین تفاوت شیمیوتاکسونومیک و میزان کارواکرول در بین جمعیت‌های مورد بررسی به علت تفاوت فاکتورهای اکولوژی و جغرافیایی است.

جمعیت‌های مورد مطالعه از نظر ترکیبات شیمیایی اسانس با یکدیگر تفاوت زیادی داشتند که بیانگر وجود تنوع گسترده برای همه ترکیبات شیمیایی در جمعیت‌های وحشی آویشن کوهی است، همچنین این تنوع به علت فاکتورهای جغرافیایی، محیطی و ژنتیکی می‌باشد. در این تحقیق ۲۳ ترکیب شناسایی شدند که عمده آنها کارواکرول، تیمول، ۱و۸- سینئول، اورتوسایمن، کارواکرول متیل اتر، زد- کاریوفیلن، کامفر و لینالول بودند. به طوری که تحقیقات مزوجی و همکاران [۱٦] با مقایسه ترکیبات شیمیایی اسانس آویشن کوهی دریافتند که ۱۰ ترکیب در اسانس وجود دارد عمده ترکیبات جمعیت‌ها تیمول (۸۹/۰۸ درصد) و گاماترپینن (٤/٦۲ درصد) بودند و سه ترکیب شاخص آلفاپینن، بورنئول و تیمول در بین شش جمعیت مشاهده شد. در پژوهش دیگری توسط روستائیان و همکاران [۲۷] ترکیبات غالب اسانس در آویشن کوهی را تیمول، کارواکرول و ۱ و ۸- سینئول اعلام کردند. یافته‌های رسولی و همکاران [۲٦] نشان داد که ترکیبات غالب اسانس آویشن کوهی را کارواکرول، تیمول و گاماترپینن بودند. در تحقیقات نیکور و همکاران [۲۲] ترکیبات غالب اسانس در آویشن کوهی تیمول، کارواکرول، پاراسایمین و گاماترپینن بیان کردند و یافته‌های حبیبی و همکاران [۱۱] ترکیب غالب در آویشن کوهی را لینالول و آلفاترپینن بیان نمودند. قابل ذکر است که یافته‌های پژوهش حاضر و تحقیقات انجام شده در مورد ترکیبات آویشن کوهی، نشان‌دهنده آن است که چهار ترکیب مهم و عمده کارواکرول، تیمول، ۱و۸- سینئول و لینالول در این آویشن در اکثر تحقیقات یافت شده است.

ضرایب همبستگی ترکیبات شیمیایی اسانس بین جمعیت‌های مختلف نشان داد که آلفاترپینن با اوژنول، تیمول متیل اتر با ژرانیال و میرسن با بتاپینن بیشترین همبستگی مثبت و معنی‌دار دارد، به طوری که با افزایش آلفاترپینن، تیمول متیل‌اتر و میرسن به ترتیب اوژنول، ژرانیال و بتاپینن افزایش می‌یابد به نظر می‌رسد ژن‌های تولیدکننده این ترکیبات را در گیاه شناسایی و تحریک کنیم باعث هم‌افزایی مثبت در این ترکیبات خواهد شد. کمترین ضریب همبستگی در ترکیبات زد - کاریوفیلن با درصد اسانس، بتابوربونن با کامفر، ترپینن- ٤- ال با بتابیسابولن، بتابیسابولن با کامفر و بتابیسابولن با ۱و ۸- سینئول بودند، در این زمینه تحقیقات بیکدلو [۲] در تجزیه همبستگی ترکیبات اسانس در آویشن کرمانی (*Thymus carmanicus*) نشان داد که بیشترین همبستگی مثبت و معنی‌دار به ترتیب بین درصد آلفاتوجان با بورنئول (r=۰/۹۵)، پاراسایمین (r=۰/۹۰)، تیمول (r=۰/۸٤) و آلفاپینن (r=۰/۷۹)؛ و بین تیمول با بورنئول (r=۰/۸٤) و پاراسایمین (r=۰/۸۱) و همچنین بین بورنئول با پاراسایمین (r=۰/۸٤) بود. همچنین بیشترین همبستگی منفی و معنی‌دار بین درصد ترکیبات کارواکرول با تیمول (r= -۰/۹۹)، آلفاتوجان (r= -۰/۸٦) و پاراسایمین (r= -۰/۸۰) بود.

نتیجه‌گیری

از آنجایی که اسانس آویشن کوهی از جمله اسانس‌های معروف است و جایگاه خاصی در تجارت جهانی دارد در این تحقیق ۲۳ ترکیب شناسایی شد که عمده آنها کارواکرول، تیمول، ۱و۸- سینئول، اورتوسایمن، کارواکرول متیل اتر، زد-کاریوفیلن، کامفر و لینالول بودند، عمده اسانس در جمعیت‌های تهران ۰/۸۵، آذربایجان غربی (۱) ۰/۸۵ و آذربایجان غربی (۲) ۰/۸٤ درصد و بالاترین درصد تیمول در جمعیت کردستان به میزان ٤۰/٤۲ و بالاترین میزان کارواکرول در جمعیت کرمان و زنجان (۳) به ترتیب ۳۳/۰۸ و ۳۰/٤۹ درصد یافت شد، بنابراین از بین این جمعیت‌ها تیپ‌های مهم شیمیایی را شناسایی کرده و در برنامه های اصلاحی از آنها استفاده کنیم.

تشکر و قدردانی

از زحمات آقایان دکتر گودرزی و مهندس حق‌شناس به دلیل همکاری مؤثر درخصوص فراهم نمودن امکان اجرای این

پژوهش در مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان مرکزی و دکتر اردشیر قادری و کارکنان آزمایشگاه فارماکوگنوزی پژوهشکده گیاهان دارویی کرج، تشکر می‌شود.

منابع

1. Azizi G. Effects of drought and defoliation on some characteristics of thyme and *Ziziphora tenuior*. MS Thesis Agriculture. Ferdowsi University of Mashhad. 2004, p: 88.

2. Bikdelu M. Evaluation of morphological, genetic and phytochemical diversity of *Thymus carmanicus*. Ms thesis. Tehran University. 2012, p: 114.

3. Blandel J and J Aroson. Biodiversity and ecosystem function of the Mediterranean basin, human and non-human determinates in davis. Mediterranean types Ecosyestems. Springer, Berlin, 1995; pp: 43 - 1190.

4. British Pharmacopoeia. HMSO: London. 1993.

5. Burnie D. Wild flowers of Mediterranean dorling kinderseley. 1995, pp: 320.

6. Cabo J, Crespo ME, Jimenez J, Navarro C and Risco S. Seasonal variation of essential oil yield and composition of *Thymus hyemalis*. *Planta Medica*. 1982; 380 - 2.

7. Ebrahimi Zabet SH, Azizi A and Hasani A. The effect of altitude on the essential oil content and quality of habitat in Alvandi Thyme (*Thymus elwendicus*). Eighth Congress of Iranian Horticultural Science September. Bu Ali Sina University. 2013.

8. Evans WC. Trease and Evans pharmacognosy. 15th ed. WB Saunders Company Ltd. London. 2002; pp: 33 - 5.

9. Gout E, Aubert S, Bligny R, Rebeille F, Nonomura AR, Benson A and Douce R. Metabolism of methanol in plant cells. Carbon-13 nuclear magnetic resonance studies. *Plant Physiol*. 2000; 123 (1): 96 - 287.

10. Gouyon PH, Vernett PH, Guillerm JL and Valdeyron G. Polymorphisms and environmental the adaptive value of the oils *Thyme vulgaris*. *Heredity* 1988; 57: 59 - 66.

11. Habibi H, Chi- Chee MR, Bigdeli M, Amini Dehaghi M and Habibi R. Effects of environmental factors on essential oils and medicinal plant secondary metabolites on the south side of Alborz mountain thyme Taleghan Region. *J. Pajouhesh and Sazandegi* 2006; 73: 2 - 10.

12. Jafari A, Askaryan M and Atri M. Study of sociology and ecological characteristics of thyme in province kohkiluye va Boyer Ahmad. Conference Medicinal plant, Shahed University. Tehran. 1993, pp: 13.

13. Jamzad Z. Thymus and Satureja of Iran. Research Institute of Forests and Rangelands press. 2009, pp: 171.

14. Kasumov YOF. Chemical compositon of essential oils of Thymus specis in the flora of Armenia. *Chemistry of Natural Products* 1988; 24 (1): 121 - 2.

15. Leung AY and S Foster. Encyclopedia of common natural ingredients used in food drugs and cosmetics. A wiley Interscience publication-John wiley and sons. 1996, INC. pp: 649.

16. Mazooji A, Salimpur F, Danaei M, Akhoondi Darzikolaei S and Shirmohammadi K. Comparative study of the essential oil chemical composition of *Thymus Kotschyanus* Boiss. & Hohen. Var *kotschyanus* from Iran. *Annals of Biological Res*. 2012; 3 (3): 1443 - 51.

17. Mirza M, Sefidkon F and Ahmadi L. Natural essential oils extraction, quantative and qualitative identification and applications. Research Institute of Forest and Rangelands. 1996, pp: 205.

18. Moradi R, P Rezvani Moghaddam, M Nasiri Mahallati and A Nezhadali. Effects of organic and

biological fertilizers on fruit yield and essential oil of sweet fennel (*Foeniculum vulgare* var *dulce*). *Spanish J. Agricultural Res*. 2011; 9 (2): 546 - 53.

19. Naghdi Badi H and Makkizade Tafti M. Rewive of *Thymus vulgaris* L. *J. Medicinal Plants* 2003; 7: 1 - 12.

20. Naghdi Badi H, Yazdani D, Sajad MA and Nazari F. Effective of spacing and harvesting time on herage yield and quality/quantity of oil in thyme, *Thymus vulgaris* L. Industerial Crops and Products 2004; 19 (3): 231 - 6.

21. Nikkhah F. Sefidkon F and Sharifei Ashurabadi A. Effect of harvest time and method to measure the quantity and quality of essential oil of *Thymus vulgaris* L. *Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants* 2007; 25 (3): 309 - 320.

22. Nikvar B, Mojab F and Dolat- Abadi R. Analysis of the essential oils of Thymus species from Iran. *Food Chem*. 2005; 90: 609 - 11.

23. Ozcan M and Chalchat JC. Aroma profile of *Thymus vulgaris* L. growing wild in Turkey. *Bulg. Plant Physiol*. 2004; 30: 68 - 73.

24. Ozguven M and S Tansi. Drug yield and essential oil and ontogenetical variation. *Tr. J. Agric Forest* 1998; 22: 535 - 542.

25. Putievsky E and Basker D. Experimentalcultivation of *Marjoram oregano* and basil. *Horticultural Sci*. 1977; 52: 181 - 8.

26. Rasooli I and Mirmotafa S. Bacterial susceptibility to and chemical composition of essential oil from *Thymus kotschyanus* and *Thymus persicus*. *Food Chem*. 2003; 51: 2200 - 5.

27. Rustaiyan A, Lajvardi T, Rabbani M, Yari M and Masoudi SH. Chemical constitution of the essential oil of *Thymus kotschyanus* from Iran. *Daru* 1999; 7 (4): 27 - 8.

28. Safaei L and Afiuni D. Thyme medicinal plants (Agronomy and application). Nosuh Press. 2012, pp: 160.

29. Safaei-Ghomi J, Ebrahimabadi AH, Djafari-Bidgoli Z, Batooli H. GC/MS analysis and in vitro antioxidant activity of essential oil and methanol extracts of *Thymus caramanicus* Jalas. and its main constituent carvacrol. *Food Chem*. 2009; 115: 1524 – 8.

30. Sefidkon F, Dabiri M and Rahimi-Bidgoly A. The effect of distillation methods and stage of plant growth on the essential oil content and composition of *Thymus kotschyanus* Boiss. & Hohen. *Flavour Fragr J*. 1999; 14 (6): 405 – 8.

31. Sefidkon F and Askari F. Essential oil composition of 5 Thymus species. *Iranian Medicinal and Aromatic Plants Res*. 2002; 12: 29 -51.

32. Zargari A. Medicinal plants (In Persian 4th ed. Tehran University Press, Iran). 1989, 4: 28 - 38.