

ارزیابی ویژگی‌های مورفولوژیک، ساختار کرک و ارتباط آنها با میزان اسانس در چهار گونه آویشن (*Thymus sp.*)

شهربانو عباسی^۱، سعداالله هوشمند^{۲*}، ندا میرآخوری^۳ و رودابه راوش^۳

۱- دانشجوی دکترای اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

۲- نویسنده مسئول، استاد، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

پست الکترونیک: S_houshmand@yahoo.com

۳- استادیار، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

تاریخ دریافت: آبان ۱۳۹۶

تاریخ اصلاح نهایی: تیر ۱۳۹۷

تاریخ پذیرش: مرداد ۱۳۹۷

چکیده

در آویشن (*Thymus*) برگ مهمترین اندام تولیدکننده اسانس است و کرک‌های ترش‌غده‌ای روی سطوح اندام هوایی ظرفیت منحصر به فردی برای سنتز و ترشح مواد مؤثره دارند. در این بررسی ویژگی‌های مورفولوژیک و انواع ساختار کرک در چهار گونه آویشن شامل *T. transcaucasicus*، *T. carmanicus*، *T. daenensis* و *T. armeniacus* ارزیابی شدند. نتایج حاصل از تجزیه واریانس بیانگر اختلاف معنی‌داری بین گونه‌ها برای صفات طول ساقه، طول و تعداد برگ، وزن تر و خشک بوته، وزن خشک برگ و ساقه، تعداد کرک‌های غده‌ای برگ، طول کرک، عملکرد و درصد اسانس بود. گونه *T. armeniacus* بیشترین تعداد کرک را نشان داد، در حالی‌که بیشترین طول کرک مربوط به گونه *T. transcaucasicus* بود. بیشترین درصد و عملکرد اسانس به ترتیب در گونه‌های *T. carmanicus* و *T. daenensis* ناشی از تعداد کرک غده‌ای و تعداد برگ بیشتر مشاهده گردید. نتایج اسکن میکروسکوپ الکترونی (SEM) نشان داد از بین انواع کرک غده‌ای در هر چهار گونه مورد نظر تنها کرک غده‌ای سیری در برگ وجود داشت. ضرایب همبستگی مثبت و معنی‌دار بین تعداد کرک غده‌ای سطح رویی و زیری برگ با درصد و عملکرد اسانس تأکیدی بر نقش این ویژگی در تولید اسانس دارد. در تجزیه رگرسیون مرحله‌ای برای وزن خشک (متغیر تابع)، بیشترین ضرایب مثبت رگرسیون مربوط به وزن خشک برگ بود و ۹۷٪ تغییرات را توجیه نمود. زمانی که عملکرد اسانس به‌عنوان متغیر تابع لحاظ گردید، تنها صفت طول کرک با توجیه ۴۹٪ از تغییرات این صفت، وارد مدل شد.

واژه‌های کلیدی: آویشن (*Thymus*)، اسانس، صفات مورفولوژیک، کرک غده‌ای، SEM.

مقدمه

آنتی‌اکسیدان و دارویی است (Crocoll, 2011). گزارش‌ها حکایت از تنوع گسترده در صفات مورفولوژیک و ویژگی‌های اسانس در گونه‌های آویشن دارد. در ارزیابی تنوع مورفولوژیک و بازده اسانس در جمعیت‌های

گیاه آویشن (*Thymus spp.*) متعلق به خانواده نعناعیان (Lamiaceae)، یکی از گیاهان حاوی اسانس و با دامنه وسیع کاربرد از جمله ضد میکروبی، حشره‌کش،

کرک‌های موجود روی قسمت‌های هوایی همانند برگ و سرشاخه‌های گل‌دار، محل تجمع بخش عمده اسانس در گیاهان خانواده نعناعیان از جمله آویشن می‌باشند (Brazandeh & Bagherzadeh, 2007). کرک‌ها به‌عنوان زائده‌ای از اپیدرم گیاهان و اولین خط دفاعی در برابر پاتوژن‌ها و گیاه‌خواران (Yu, 2013)، با کاهش جریان هوا روی سطح برگ به حفظ یک لایه رطوبتی و کاهش تبخیر آب در زمان باز بودن روزنه‌ها کمک می‌کنند (Ehleringer, 1984). معمولاً بر مبنای مورفولوژی، کرک‌ها در دو نوع کرک‌های ساده و کرک‌های ترش‌حی غده‌ای گروه‌بندی می‌شوند (Wagner et al., 2004؛ Dai et al., 2010). Jia و همکاران (۲۰۱۳) با بررسی نوع، مورفولوژی، توزیع، ساختمان و فرایند تکامل کرک‌های غده‌ای سطح رویی برگ‌های *T. quinquecostatus* Celak شامل کپه‌ای و سپری در این گونه مشاهده نمودند. در بررسی میکرومورفولوژی و آناتومیکی کرک‌های غده‌ای در *T. pannonicus* با استفاده از اسکن میکروسکوپ الکترونی توسط Boz و همکاران (۲۰۰۹) مشخص شده‌است که کرک‌های غده‌ای ساختمان‌های ترش‌حی چند سلولی هستند که شامل یک پایه سلولی، یک ساقه تک‌سلولی، یک غده با تعداد متفاوت سلول می‌باشند. البته تعیین چگونگی تشکیل و توزیع کرک‌ها روی سطح قسمت‌های هوایی گیاه احتمالات جدیدی برای مهندسی و اصلاح تولید و تراکم کرک غده‌ای ایجاد می‌کند (Tissier, 2012). با توجه به اهمیت آویشن و موارد ذکر شده بالا، این پژوهش با هدف بررسی صفات مورفولوژیک، ویژگی‌های اسانس، انواع و توزیع کرک‌های غده‌ای و ارتباط بین این ویژگی‌ها در چهارگونه آویشن *T. transcaucasicus* Ronniger، *T. daenensis* Celak، *T. carmanicus* Jalas، *T. armeniacus* Klok. et Shost اجرا گردید.

آویشن کوهی (*T. kotschyanus* Boiss. & Hohen) و همکاران (۲۰۱۳) تفاوت معنی‌داری را بین صفات مورفولوژیکی از جمله ارتفاع گیاه، طول و عرض برگ و فاصله میان‌گره گزارش کردند. تنوع در ویژگی‌هایی همانند ارتفاع بوته و میزان اسانس در *T. transcaspicus* Klokov توسط Moradi و همکاران (۲۰۱۴) و در جوامع آویشن کوهی و آویشن باغی توسط Kaveh و همکاران (۲۰۱۳) گزارش شده است. همچنین در بررسی چند گونه آویشن (*Thymus* sp.) بومی ایران تنوع معنی‌داری صفات مورفولوژیکی و میزان اسانس مشاهده گردیده است (Rezaie et al., 2016؛ Houshmand et al., 2016).

تعیین صفات مرتبط با اسانس، به‌عنوان مهمترین خصوصیت عملکردی آویشن، از اهمیت خاصی برخوردار است. در جمعیت‌های آویشن کوهی (*T. kotschyanus*) و همکاران (۲۰۱۳) همبستگی مثبت و معنی‌داری را بین بازده اسانس با صفات تعداد گل در گل‌آذین، فاصله میان‌گره، وزن خشک و تر گیاه مشاهده نموده‌اند. در بررسی صفات مؤثر بر اسانس در سه گونه آویشن *T. pubescense* Boiss. & Hohen ex *T. kotschyanus* و *T. persicus* (Ronniger ex. Rechinger) Jalas توسط Mirzaie-Nodoushan و همکاران (۲۰۰۸) به‌ترتیب همبستگی مثبت و منفی مقدار اسانس با تعداد ساقه و عرض برگ گزارش شده است. این محققان بر بیشترین نقش اثر مستقیم صفت طول برگ بر افزایش اسانس در این گونه‌ها تأکید نموده‌اند. Rezaie و همکاران (۲۰۱۶) همبستگی مثبت و معنی‌دار صفات ارتفاع، تعداد ساقه و طول برگ در گونه‌های آویشن بومی ایران با وزن تر و خشک بوته و حجم و وزن اسانس مشاهده کردند. در گزارشی توسط Karimi (۲۰۱۶) همبستگی مثبت و معنی‌داری بین طول اندام هوایی، وزن تر و خشک بوته و تعداد برگ با وزن و بازده اسانس مشاهده شده‌است.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی، کشت و تکثیر

مواد ژنتیکی مورد ارزیابی در این مطالعه شامل چهار گونه از جنس آویشن (*Thymus*) شامل *T. carmanicus*، *T. transcaucasicus* و *T. armeniacus* و *T. daenensis* بود که بذره‌های آنها از بخش گیاهان دارویی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان اصفهان تهیه شد. پس از کشت بذرها در سینی نشاء در بستری با ترکیبی از پیت ماس، ماسه و کوکویت به نسبت ۴:۲:۱ و تولید گیاهچه، به منظور تکثیر گیاهان و با هدف یکنواختی کلیه تکرارها، پس از رشد مناسب قلمه‌گیری از یک بوته هرگونه انجام و به تعداد واحد آزمایشی مورد نیاز فراهم و در اوایل خرداد ۱۳۹۴ به گلدان‌های با ابعاد ۲۵×۳۰ سانتی‌متر منتقل گردیدند. آبیاری با توجه به نیاز گیاه (هر ۵ تا ۶ روز یک‌بار) انجام شد. گلدان‌ها تا آخر تابستان در فضای باز نگهداری و بعد به گلخانه تحقیقاتی دانشگاه شهرکرد منتقل شدند. به منظور رشد دوباره گیاهان، در فروردین سال ۱۳۹۵ اندام هوایی آنها از ۵ سانتی‌متری سطح خاک هرس و آخر اردیبهشت‌ماه گلدان‌ها به بیرون از گلخانه منتقل شدند.

بررسی صفات مورفولوژیک و تعیین فراوانی کرک‌های غده‌ای

در اواسط مردادماه سال ۱۳۹۵ و طی یک آزمایش در قالب طرح کامل تصادفی در سه تکرار صفات مورفولوژیک شامل طول ساقه (cm)، تعداد برگ، طول میان‌گره (cm)، وزن تر و خشک اندام هوایی، وزن خشک برگ و ساقه، تعداد شاخه‌ها و فراوانی کرک‌های غده‌ای در سطح اندازه‌گیری و مورد ارزیابی قرار گرفتند. برای محاسبه طول و عرض برگ از برگ‌های ۵ گره از رأس گیاه در زیر بینوکولار عکس گرفته شد. سپس به وسیله نرم‌افزار Imagej عکس‌ها اندازه‌گیری گردید. برای تعیین تعداد برگ در ساقه

از هر تکرار پنج شاخه به‌طور تصادفی انتخاب و تعداد برگ‌ها شمارش شد. وزن تر بوته پس از برداشت با ترازو وزن شد و پس از سایه خشک شدن، وزن خشک تعیین شد. در پایان وزن خشک برگ و ساقه تعیین گردید. تعداد کرک‌های غده‌ای در دو سمت بالا و پایین برگ در مرحله رشدی آغاز گلدهی آنها توسط تصویربرداری برگ‌ها با یک اسکنر نوری با بزرگنمایی (رزولیشن) ۱۲۰۰ dpi یا بینوکولار متصل به دوربین عکس‌برداری تعیین گردید. همه غدد قابل رؤیت شمارش شده و فراوانی آنها در میلی‌مترمربع محاسبه شد.

اسکن میکروسکوپ الکترونی (SEM)

برای بررسی دقیق‌تر نوع، توزیع و تراکم کرک‌های سطح زیری برگ در چهار گونه آویشن مورد بررسی با استفاده از اسکن میکروسکوپ الکترونی (SEM)، برگ‌ها در گلو تارالدهید ۴٪ و بافر فسفات ۰/۰۱ مولار در دمای ۴°C ثابت شدند. با استفاده از مجموعه اتانول (۱۵، ۳۰، ۵۰، ۷۰، ۹۰، ۹۶، ۹۹/۸ و ۱۰۰ درصد) هر سری به مدت ۱۵ دقیقه و ۱۰۰٪ (دوبار) دهیدراته و بعد با استفاده از روش نقطه بحرانی خشک کردن در Polaron E3500 خشک شدند. نمونه‌های خشک شده با لایه نازکی از طلا پوشش داده و از مشاهدات با استفاده از میکروسکوپ الکترونی عکس تهیه گردید (Chwil et al., 2016).

اسانس‌گیری و بررسی اسانس

برداشت گیاه آویشن برای اندازه‌گیری اسانس و تعیین عملکرد در مرحله آغاز گلدهی انجام شد. به این صورت که ابتدا بوته‌های هر گلدان برداشت و در سایه خشک شدند. سپس اسانس به روش تقطیر با آب و با استفاده از دستگاه کلونجر به مدت ۳ ساعت استخراج و اندازه‌گیری شد (Weisany et al., 2015). برای آنگیری اسانس بدست آمده از سولفات سدیم (ماده جذب‌کننده رطوبت) استفاده گردید (Dawidowicz et al., 2008).

T. daenensis با میانگین ۳۲/۲ برگ بود که با سه گونه دیگر اختلاف معنی‌داری نشان داد. از سوی دیگر بلندترین طول میان‌گره که بیشترین فاصله بین برگ‌ها را مشخص کرد، مربوط به گونه *T. transcaucasicus* بود (جدول ۱).

همان‌طور که در (جدول ۱) مشاهده می‌گردد مقایسه میانگین گونه‌ها برای صفت تراکم کرک غده‌ای سطح رویی برگ نشان می‌دهد که گونه *T. carmanicus* با $۸/۷۹ \text{ (mm}^{-2}\text{)}$ تنها با گونه *T. transcaucasicus* (با کمترین میانگین $۵/۶۸ \text{ mm}^{-2}$) اختلاف معنی‌داری دارد. مقایسه تراکم کرک غده‌ای سطح رویی و زیری برگ در گونه‌ها حکایت از آن دارد که هر چند در گونه *T. armeniacus* و *T. transcaucasicus* سطح زیری برگ به ترتیب حدود ۲۵٪ و ۱۵٪ تراکم کرک بیشتری نسبت به سطح رویی برگ دارد، اما در دو گونه دیگر در این زمینه تفاوتی دیده نشد (جدول ۱). از سوی دیگر هر چند گونه *T. transcaucasicus* کمترین تعداد کرک سطح زیری برگ را داشت، اما طول کرک آن ($۰/۱۱۹ \text{ mm}$) به‌طور معنی‌داری بیش از سایر گونه‌ها بود. برای ویژگی‌های عملکردی همانند وزن تر و خشک بوته، وزن خشک برگ گونه *T. daenensis* بیشترین تولید را در بوته نشان داد. در مقابل گونه *T. armeniacus* کمترین میانگین‌ها را در این ویژگی‌ها داشت. مقایسه میانگین صفت درصد و عملکرد اسانس (شکل ۱) به ترتیب بیانگر برتری معنی‌داری گونه *T. carmanicus* و *T. daenensis* نسبت به سایر گونه‌هاست.

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS9 و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از روش حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) فیشر انجام شد. از ضرایب همبستگی ساده برای تعیین ارتباط بین صفات و از رگرسیون مرحله‌ای برای تشخیص صفات اصلی تأثیرگذار بر ماده خشک تولیدی بوته و عملکرد اسانس استفاده شد. نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel رسم شدند.

نتایج

نتایج حاصل از تجزیه واریانس بیانگر معنی‌دار بودن اثر گونه برای صفات طول اندام هوایی، طول میان‌گره، تعداد برگ در ساقه، تعداد کرک‌های غده‌ای برگ، طول کرک، عملکرد و درصد اسانس بود (داده‌ها ارائه نشده‌است). مقایسه میانگین طول ساقه گونه‌ها نشان داد که بیشترین ($۲۲/۳۸ \text{ cm}$) و کمترین طول ساقه ($۱۳/۸ \text{ cm}$) به ترتیب مربوط به گونه‌های *T. carmanicus* و *T. armeniacus* بود (جدول ۱). همان‌طور که در جدول ۱ ارائه شده است در چهار گونه آویشن مورد ارزیابی دامنه تغییرات صفات طول برگ ($۸/۳۸-۹/۸۶ \text{ mm}$) و عرض برگ ($۲/۷۹-۳/۳۱ \text{ mm}$) محدود و اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد که شباهت سطح برگ در این گونه‌ها را به دنبال خواهد داشت. با توجه به شباهت سطح برگ، تعداد برگ بیشتر در گیاه باعث افزایش جذب نور و فتوسنتز بیشتر شده و از اهمیت بالایی در تولید برخوردار خواهد بود. در این رابطه بیشترین تعداد برگ در ساقه مربوط به گونه‌هاست.

جدول ۱- مقایسه میانگین صفات مورفولوژیک چهار گونه آویشن

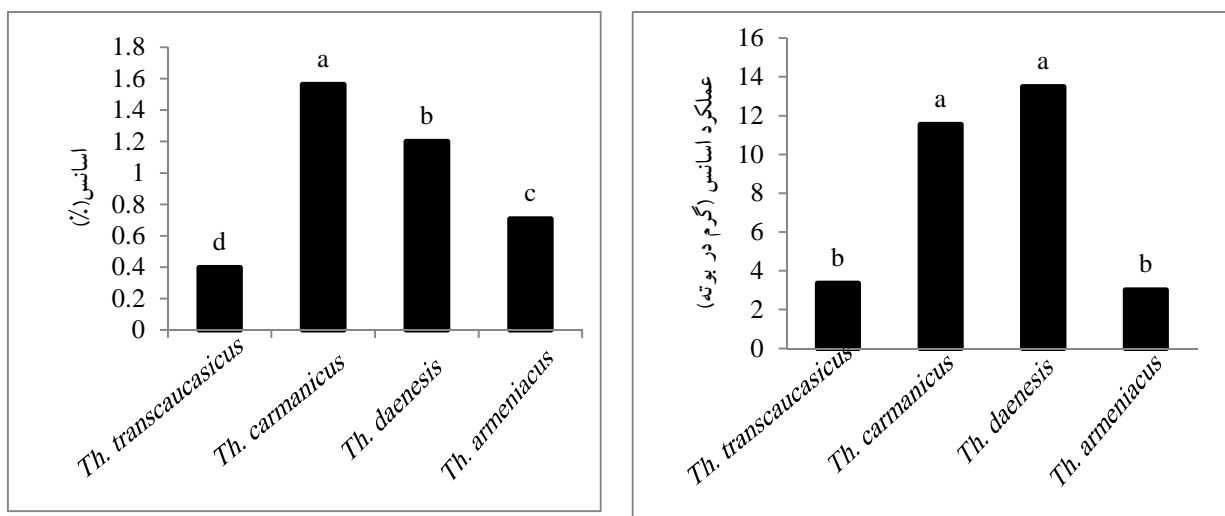
گونه	طول ساقه (cm)	طول برگ (mm)	عرض برگ (mm)	طول میان‌گره (cm)	تعداد برگ در ساقه	تراکم کرک سطح رویی برگ (mm ⁻²)	تراکم کرک سطح زیرین برگ (mm ⁻²)
<i>T. transcaucasicus</i>	۲۳/۳ a	۸/۳۸ a	۳/۰۱ a	۱/۷۹ a	۱۹/۸ b	۵/۶۸ b	۶/۷۶ b
<i>T. carmanicus</i>	۲۳/۴ a	۸/۹۴ a	۳/۲ a	۱/۲۴ b	۱۹/۴ b	۸/۷۹ a	۸/۷۱ ab
<i>T. daenensis</i>	۱۷/۱ ab	۹/۸۶ a	۳/۳۱ a	۱/۴۷ b	۳۲/۲ a	۷/۸۹ a	۷/۸۱ ab
<i>T. armeniacus</i>	۱۳/۸ b	۹/۴۴ a	۲/۷۹ a	۱/۷۴ a	۱۵/۳b	۸/۲۳ a	۱۱/۱ a

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون مطابق آزمون LSD در سطح احتمال ۵٪ اختلاف معنی‌داری ندارند.

ادامه جدول ۱-

گونه	طول کرک (mm)	قطر ساقه (mm)	وزن تر بوته (gr)	وزن خشک بوته (gr)	وزن خشک برگ (gr)	وزن خشک ساقه (gr)
<i>T. transcaucasicus</i>	۰/۱۱۹ a	۰/۷۱۲ a	۳۰/۳ ab	۸/۴۳ ab	۶/۳ ab	۲ b
<i>T. carmanicus</i>	۰/۰۶۶ c	۰/۶۵۴ a	۳۰/۱ab	۷/۳۹ ab	۵/۱ ab	۲/۲ b
<i>T. daenensis</i>	۰/۰۷۴ c	۰/۷۲۵ a	۴۰/۹a	۱۱/۲ a	۷/۴ a	۳/۷ a
<i>T. armeniacus</i>	۰/۰۹۵ b	۰/۶۲۹ a	۲۰/۲b	۴/۲۶ b	۳/۲ b	۱/۱ b

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون مطابق آزمون LSD در سطح احتمال ۵٪ اختلاف معنی‌داری ندارند.

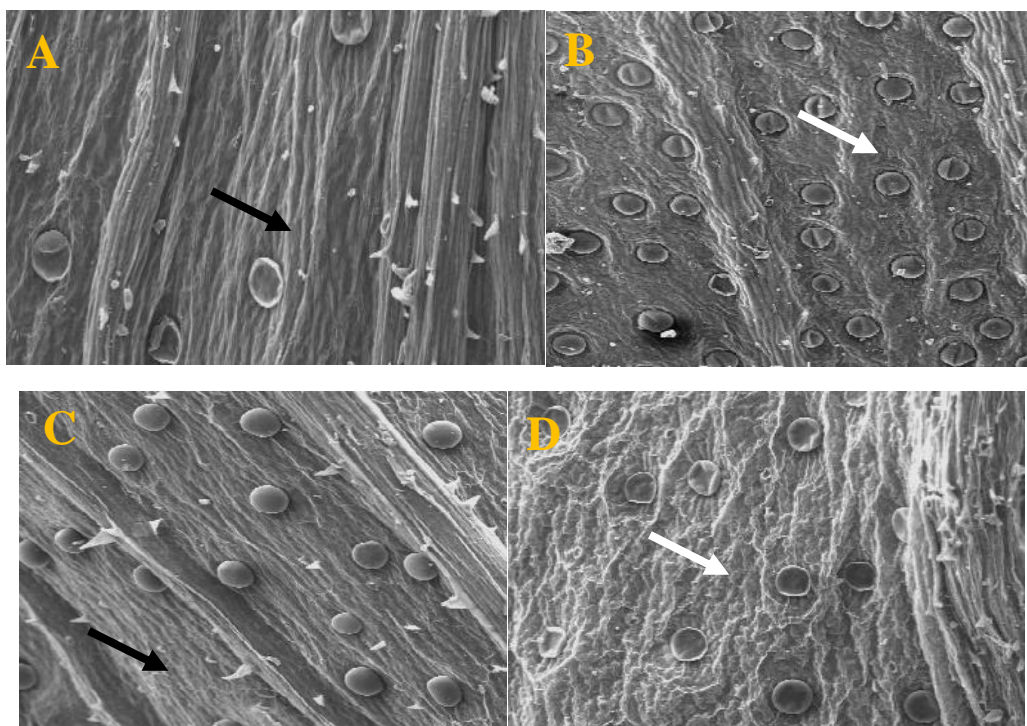


شکل ۱- مقایسه میانگین درصد اسانس (چپ) و عملکرد اسانس (راست) در چهار گونه آویشن (*Thymus spp*)

۴۹٪ از تغییرات این صفت وارد مدل شد. مطالعه برای تعیین انواع، توزیع و ساختار کرک‌های غده‌ای در گونه‌های مورد بررسی توسط اسکن میکروسکوپ الکترونی نشان داد در هر چهار گونه *T. transcaucasicus*، *T. carmanicus*، *T. daenesis* و *T. armeniacus* کرک‌های غده‌ای سپری وجود دارند (شکل ۲). این اسکن همانند شمارش زیر بینوکولار نشان داد که بیشترین و کمترین تعداد کرک غده‌ای سپری در سطح زیری برگ به ترتیب مربوط به گونه‌های *T. transcaucasicus* و *T. carmanicus* می‌باشد. کرک‌های غیرغده‌ای بجز گونه *T. carmanicus* در سه گونه دیگر، با فراوانی کمتری نسبت به کرک‌های غده‌ای سپری مشاهده گردید. از سوی دیگر نحوه قرار گرفتن کرک‌ها در سطح برگ متفاوت است، به نوعی که در گونه‌های *T. transcaucasicus* و *T. armeniacus* روی سطح برگ قرار گرفته‌اند؛ در حالی که این کرک‌ها در گونه‌های *T. carmanicus* و *T. daenesis* به نظر در یک حالت حفره‌مانند قرار گرفته‌اند. کرک‌های غده‌ای سپری در دو گونه *T. transcaucasicus* و *T. daenesis* حالت توخالی دیده شدند.

با توجه به جدول ضرایب همبستگی صفات (جدول ۲)، صفت طول ساقه با تعداد برگ، وزن تر بوته و وزن خشک ساقه، همچنین صفت تعداد برگ با صفات وزن تر و خشک بوته، وزن خشک برگ و ساقه و عملکرد اسانس همبستگی مثبت نشان دادند. وزن خشک بوته نیز با تعداد برگ، وزن تر بوته، وزن خشک برگ و ساقه همبستگی مثبت نشان داده‌اند. صفات تراکم کرک‌های غده‌ای سطح رویی و زیری برگ با یکدیگر همبستگی مثبت و معنی‌دار ($r=0.95^{**}$) داشتند و این دو صفت با طول کرک همبستگی منفی نشان دادند؛ یعنی هرچه طول کرک بیشتر باشد تعداد کرک بر سطح رویی و زیری برگ کاهش می‌یابد. همچنین همبستگی طول کرک با عملکرد اسانس نیز مثبت و معنی‌دار بود.

نتایج حاصل از رگرسیون مرحله‌ای که در راستای تعیین ویژگی‌های اصلی تأثیرگذار بر وزن خشک بوته و عملکرد اسانس به عنوان ویژگی‌های عمده اقتصادی انجام گردید در جدول ۳ ارائه شده است. برای وزن خشک بوته، صفات وزن خشک برگ و ساقه به ترتیب وارد مدل شدند و در مجموع ۹۹٪ از تغییرات آن را توجیه نمودند. برای عملکرد اسانس به عنوان متغیر تابع، تنها صفت طول کرک با توجیه



شکل ۲- مورفولوژی کرک‌های غده‌ای سپری (پیکان سفید) و کرک‌های غیرغده‌ای (پیکان مشکی) در سطح زیری برگ گونه‌های آویشن
(A) *T. transcaucasicus*, (B) *T. carmanicus*, (C) *T. daenensis* و (D) *T. armeniacus*

بحث

ماده خشک برگ و کل بوته و میزان اسانس، همچنین مورفولوژیک مورد بررسی و میزان و درصد اسانس در چهار گونه آویشن مورد ارزیابی شامل *T. transcaucasicus*، *T. carmanicus*، *T. daenensis* و *T. armeniacus* داشت؛ با توجه به تفاوت در سطح گونه این موضوع دور از انتظار نیست. ضمن اینکه گزارش‌های دیگری از جمله Sefidkon و Askari (۲۰۰۱)، Babalar و همکاران (۲۰۱۳)، Kaveh و همکاران (۲۰۱۳) و Moradi و همکاران (۲۰۱۴)، Houshmand و همکاران (۲۰۱۶) بر وجود تنوع در این صفات در گونه‌های مختلف آویشن تأکید کرده‌اند. در کل برای تعیین راهبردهای بهره‌برداری، اصلاح و اهلی‌سازی، آگاهی از جنبه‌های مختلف مورفولوژیکی ضروریست. تنوع مشاهده شده و مقایسه میانگین‌ها می‌تواند ایده‌ای برای انتخاب ژنوتیپ‌های برتر را فراهم آورد. در بین گونه‌های مورد بررسی *T. daenensis* برای تعداد برگ به‌عنوان عامل اصلی فتوسنتز و تولید در گیاه، عملکرد

ماده خشک برگ و کل بوته و میزان اسانس، همچنین مورفولوژیک مورد بررسی و میزان و درصد اسانس در چهار گونه آویشن مورد ارزیابی شامل *T. transcaucasicus*، *T. carmanicus*، *T. daenensis* و *T. armeniacus* داشت؛ با توجه به تفاوت در سطح گونه این موضوع دور از انتظار نیست. ضمن اینکه گزارش‌های دیگری از جمله Sefidkon و Askari (۲۰۰۱)، Babalar و همکاران (۲۰۱۳)، Kaveh و همکاران (۲۰۱۳) و Moradi و همکاران (۲۰۱۴)، Houshmand و همکاران (۲۰۱۶) بر وجود تنوع در این صفات در گونه‌های مختلف آویشن تأکید کرده‌اند. در کل برای تعیین راهبردهای بهره‌برداری، اصلاح و اهلی‌سازی، آگاهی از جنبه‌های مختلف مورفولوژیکی ضروریست. تنوع مشاهده شده و مقایسه میانگین‌ها می‌تواند ایده‌ای برای انتخاب ژنوتیپ‌های برتر را فراهم آورد. در بین گونه‌های مورد بررسی *T. daenensis* برای تعداد برگ به‌عنوان عامل اصلی فتوسنتز و تولید در گیاه، عملکرد

جدول ۲- ضرایب همبستگی بین صفات مورد ارزیابی در چهار گونه آویشن

صفت	طول ساقه	طول میان‌گره	تعداد برگ در ساقه	تراکم کرک سطح زیری برگ	تراکم کرک سطح رویی برگ	طول کرک	وزن تر بوته	وزن خشک برگ	وزن خشک ساقه	وزن خشک بوته	درصد اسانس	عملکرد اسانس
طول ساقه	۱											
طول میان‌گره	۰/۱۴	۱										
تعداد برگ در ساقه	۰/۸۳**	۰/۳۳	۱									
تراکم کرک سطح زیری برگ	۰/۰۶	۰/۵۸	۰/۱۸	۱								
تراکم کرک سطح رویی برگ	۰/۰۷	۰/۶۰*	۰/۲۲	۰/۹۵**	۱							
طول کرک	۰/۴۱	۰/۲۲	۰/۵۱	۰/۷۷**	۰/۷۸**	۱						
وزن تر بوته	۰/۶۶*	۰/۴۱	۰/۸۸**	۰/۰۲	۰/۰۳	۰/۲۰	۱					
وزن خشک برگ	۰/۴۷	۰/۳۴	۰/۷۱*	۰/۲۵	۰/۲۲	۰/۱۳	۰/۹۰**	۱				
وزن خشک ساقه	۰/۶۵*	۰/۴۳	۰/۹۱**	۰/۰۸	۰/۱۵	۰/۳۳	۰/۹۶**	۰/۸۷**	۱			
وزن خشک بوته	۰/۵۴	۰/۳۸	۰/۸۰**	۰/۱۵	۰/۱۰	۰/۰۱	۰/۹۵**	۰/۹۸**	۰/۹۴**	۱		
درصد اسانس	۰/۰۳	۰/۸۳**	۰/۵۸	۰/۶۹*	۰/۷۹**	۰/۴۸	۰/۳۲	۰/۱۹	۰/۴۳	۰/۲۸	۱	
عملکرد اسانس	۰/۵۱	۰/۴۳	۰/۶۹*	۰/۷۶**	۰/۷۵**	۰/۷۴*	۰/۴۷	۰/۱۹	۰/۵۷	۰/۳۳	۰/۷۹**	۱

ضرایب همبستگی برای صفاتی که اثر گونه در جدول تجزیه واریانس معنی‌دار بود، محاسبه گردید.

*, **: به ترتیب معنی‌دار در سطح ۵٪ و ۱٪

جدول ۳- نتایج رگرسیون مرحله‌ای وزن خشک بوته، عملکرد اسانس به‌عنوان متغیر تابع و سایر صفات

به‌عنوان متغیر مستقل در چهار گونه آویشن

صفت تابع	متغیر	پارامترهای مدل	R ² مدل	R ² جزء	F
وزن خشک بوته	عدد ثابت	-۱/۰۰۱			
	وزن خشک برگ	۰/۹۲	۰/۹۷	۰/۹۷	۲۲۴/۷**
عملکرد اسانس	وزن خشک ساقه	-۰/۲	۰/۹۹	۰/۰۲۵	۱۳۱/۷**
	عدد ثابت	۲/۱۳			
	طول کرک	-۱۵/۸۱	۰/۴۹	۰/۴۹	۵/۹۱**

بررسی Bosabalidis و Kokkini (۱۹۹۷) تعداد کرک‌های غده‌ای برگ به‌طور خطی با عملکرد در ترین‌ها، به‌عنوان بخشی از اسانس مرتبط بوده و تعداد بیشتر کرک‌های غده‌ای سطح رویی برگ‌ها با مقدار بالاتر مواد ترپنی از آنها توسط تقطیر حاصل می‌شود. در این بررسی نیز با توجه به نتایج حاصل، بیشترین و کمترین درصد اسانس به‌ترتیب مربوط به گونه‌های *T. carmanicus* و *T. transcaucasicus* بود که آن را می‌توان به تعداد کرک‌های غده‌ای موجود در برگ که بخش عمده‌ای از ترشح و سنتز اسانس را برعهده دارند، نسبت داد. از سویی در مورد گونه *T. armeniacus* که تراکم کرک نسبتاً بالایی داشت ولی درصد و عملکرد اسانس نسبی کمتر را نشان داد می‌توان ناشی از گلدھی دیرتر این گونه و در معرض گرمای بیشتر آن نسبت به دو گونه *T. carmanicus* و *T. daenensis* دانست؛ چون طبق بیان Wagner و همکاران (۲۰۰۴) گرمای زیاد باعث تبخیر اسانس از کرک‌های غده‌ای می‌گردد. در کل این مطالعه می‌تواند تأکیدی بر بیان آن باشد که در آویشن نیز همانند سایر گیاهان خانواده نعناعیان (Maffei et al., 1989)، کرک‌های غده‌ای سلول‌های ترشحي بسیار تخصص یافته‌ای هستند که مسئول اصلی سنتز ترکیب‌های اسانس هستند. بنابراین این کرک‌ها می‌توانند به آسانی از گیاهان جداسازی شوند و برای بدست آوردن متابولیت‌ها و شناسایی آنزیم‌های متابولیکی از مسیرهای مختلف استفاده کنند. همچنین می‌توانند در زمینه چگونگی تشکیل، تکامل و توزیع انواع کرک در قسمت‌های هوایی گیاهان از جمله برگ، احتمالات جدیدی را برای مهندسی و اصلاح گیاهانی همانند آویشن فراهم نمایند.

منابع مورد استفاده

- Babalar, M., Khoshshokhan, F., Fatahi-Moghadam, M.R. and Pourmydani, A., 2013. Evaluation of morphological diversity and essential oil yield in some mountain thyme populations (*Thymus kotschyanus* Boiss. & Hohen). Iranian Journal of Horticultural Sciences, 44(2): 119-128.

Houshmand و همکاران (۲۰۱۶) با بررسی هشت گونه آویشن بر تأثیر معنی‌دار تعداد برگ بر تولید ماده خشک در آویشن تأکید نموده‌اند. ضمن اینکه وجود همبستگی بین صفات مورفولوژیک همانند طول ساقه و وزن خشک بوته در آویشن در مطالعات Babalar و همکاران (۲۰۱۳) و Houshmand و همکاران (۲۰۱۶) گزارش گردیده است. از این رو به نظر می‌رسد در گونه‌های آویشن مورد بررسی برگ‌ها از نظر عملکرد اقتصادی دارای بالاترین اهمیت در بین صفات مورد بررسی می‌باشد و می‌توان این صفت را از نظر اصلاحی برای افزایش عملکرد بوته مورد توجه قرار داد.

عملکرد اسانس دیگر ویژگی عمده اقتصادی در آویشن است. ضرایب همبستگی بیانگر ارتباط مثبت و معنی‌دار تعداد برگ در ساقه با این ویژگی بود. همبستگی بین ویژگی‌های برگ با عملکرد اسانس در گونه‌های مختلف آویشن توسط Mirzaie-Nodoushan و همکاران (۲۰۰۸) و Yavari و همکاران (۲۰۱۰) گزارش شده است. این همبستگی احتمالاً به دلیل وجود کرک سطح رویی و سطح زیری برگ می‌باشد که عمده‌ترین محل تولید و انباشت مواد مؤثره در گیاه آویشن است. همچنین همبستگی معنی‌دار ویژگی‌های کرک شامل تراکم کرک در زیر و سطح رویی برگ و طول کرک با عملکرد اسانس و نقش اصلی طول کرک در تنوع این صفت که در تجزیه رگرسیون دیده شد، می‌تواند تأکیدی بر این موضوع باشد.

اسکن میکروسکوپ الکترونی (SEM) ضمن آنکه بیانگر وجود کرک غده‌ای سپری در هر چهار گونه آویشن مورد بررسی بود، از سویی تنوع برای این ویژگی را در این گونه‌ها نیز نشان می‌دهد. کرک‌های غیرغده‌ای در همه گونه‌های مورد بررسی بجز گونه *T. carmanicus* در سطح زیری برگ وجود داشتند. البته تراکم این نوع کرک‌ها در گونه *T. daenensis* نسبت به دو گونه دیگر بیشتر بود. اما به‌طور کلی تراکم کرک‌های غیرغده‌ای نسبت به کرک‌های غده‌ای سپری در سطح زیری برگ این گونه‌ها کمتر بود. در

- Thesis, Plant Breeding, the Shahrekord University, Shahrekord.
- Kaveh, Sh., Zeinali, H., Safaei, L., Madah Arefi, H. and Aflakian, S., 2013. Comparison of morphological and phytochemical traits in different populations of *Thymus kotschyanus* Boiss. & Hohen with *Thymus vulgaris* L. species. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 29: 116-129.
 - Maffei, M., Chialva, F. and Sacco, T., 1989. Glandular trichomes and essential oils in developing peppermint leaves: I. Variation of peltate trichome number and terpene distribution within leaves. New Phytologist, 111: 707-716.
 - Mirzaie-Nodoushan, H., Mehrpur, Sh. and Sefidkon, F., 2008. Path analysis of the characters influencing essential oil in three *Thymus* species. Pajouhesh and Sazandegi, 70: 88-94.
 - Moradi, M., Nazeri V., Hassandokht, M.R. and Aboozar Soorni, A., 2014. Evaluation morphological diversity and essential oil content of *Thymus transcaspicus* Klokov. in Iran. International Journal of Farming and Allied Sciences, 3(10): 1109-1116.
 - Rezaie, M., Safarnejad, A., Arab, M., Alamdari, B.L. and Delir, M., 2016. Study the morphological diversity and essential oil content of several Thyme species (*Thymus* sp.) native to Iran. Journal of Horticultural Science, 30(3): 383-394.
 - Sefidkon, F. and Askari, F., 2001. Qualitative and quantitative comparison of essential oils the five species of thyme. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plant, 19(2): 125-136.
 - Tissier, A., 2012. Glandular trichomes: what comes after expressed sequence tags?. The Plant Journal, 70: 51-68.
 - Wagner, G., Wang, E. and Shepherd, R., 2004. New approaches for studying and exploiting an old protuberance, the plant trichome. Annals Botany, 93: 3-11.
 - Weisany, W., Raei, Y. and Pertot, I., 2015. Changes in the essential oil yield and composition of dill (*Anethum graveolens* L.) as response to arbuscular mycorrhiza colonization and cropping system. Industrial Crops and Products, 77: 295-306.
 - Yavari, A.R., Nazeri, V., Sefidkon, F. and Hassani, M.E., 2010. Evaluation of some ecological factors, morphological traits and essential oil productivity of *Thymus migricus* Klokov & Desj.-Shost. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 26: 227-238.
 - Yu, G., 2013. Two Methylketone Biosynthetic Enzymes from Wild Tomatoes. A Dissertation Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Doctor of Philosophy, 163p.
 - Bosabalidis, A.M. and Kokkini, S., 1997. Intraspecific variation of leaf anatomy in *Origanum vulgare* grown wild in Greece. Botanical Journal of the Linnean Society, 123: 353-362.
 - Boz, I., Burzo, I., Zamfirache, M.M., Toma, C. and Padurariu, C., 2009. Glandular trichomes and essential oil composition of *Thymus pannonicus* All. (Lamiaceae). Analele Universit ii din Oradea, Fascicula Biologie, 2: 36-39.
 - Brazandeh, M.M. and Bagherzadeh, K., 2007. Study the chemical composition of essential oils of thyme daenensis (*Thymus daenensis*) collected from four different regions of Isfahan province. Journal of Herbal Drugs, 6(3): 15-19.
 - Chwil, M., Nurzynska-Wierdak, R., Chwil, S., Matraszek, R. and Neugebauerova, J., 2016. Histochemistry and micromorphological diversity of glandular trichome in *Melissa officinalis* L. Hortorum Cultures, 15(3): 153-172.
 - Crocoll, C., 2011. Biosynthesis of the Phenolic Monoterpenes, Thymol and Carvacrol, by Synthases and Cytochrome P450s in Oregano and Thyme. Dissertation Grades Doctor Rerum Naturalium, 151p.
 - Dai, X., Guodong, W.W., Yang, D.S., Tang, Y., Broun, P., Marks, M.D., Sumner, L.W., Dixon, R.A. and Zhao, P.X., 2010. TrichOME: a comparative omics database for plant trichomes. Plant Physiology, 152: 44-54.
 - Dawidowicz. A.L., Rado, E., Wianowska, D., Mardarowicz, M. and Gawdzik, J., 2008. Application of PLE for the determination of essential oil components from *Thymus vulgaris* L. Talanta, 76(4): 878-884.
 - Ehleringer, J., 1984. Ecology and ecophysiology of leaf pubescence in North American desert plants: 113-132. In: Rodriguez, E., Healey, P.L. and Mehta, I., (Eds.). Biology and Chemistry of Plant Trichomes. Plenum Press, New York, 255p.
 - Houshmand, S., Karimi, Z., Yousofzadeh, K. and Mohammad Khani, A., 2016. Evaluation of some morphological characteristics of eight thyme species (*Thymus* spp.) in three flowering stages. 2nd International and 13th National Iranian Crop Science Congress, University Guilan, Rasht, Iran, 30 August-1 September.
 - Jia, P., Liu, H., Gao, T. and Xin, H., 2013. Glandular trichomes and essential oil of *Thymus quinquecostatus*. The Scientific World Journal, 2013: 1-8.
 - Karimi, Z., 2016. Evaluation of Morphological Characteristics and Essential Oil Composition of *Thymus* Species Harvested In Three Stages. M.Sc.

Evaluation of morphological characteristics, glandular trichomes structure and their relationship with essential oil content in four species of *Thyme* (*Thymus* spp.)

Sh. Abbasi¹, S. Houshmand^{2*}, N. Mirakhorli³ and R. Ravash³

1- Ph.D. student of Agriculture Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Shahrekord University, Shahrekord, Iran

2*- Corresponding author, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture, Shahrekord University, Shahrekord, Iran, E-mail: S_houshmand@yahoo.com

3- Department of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture, Shahrekord University, Shahrekord, Iran

Received: November 2017

Revised: June 2018

Accepted: July 2018

Abstract

The leaves of thyme are the most important organs producing essential oils, and the glandular trichomes provide a unique capacity for the synthesis and storage of active ingredients. In this study, the morphological characteristics and types of trichomes' structure were measured in four thyme species including: *T. transcaucasicus*, *T. carmanicus*, *T. daenensis* and *T. armeniacus*. The results of variance analysis indicated a significant difference between species in terms of stem length, leaf length and number, plant fresh and dry weight, leaf and stem dry weight, number of glandular trichomes on the adaxial and abaxial side of the leaf, the trichome length, and essential oil yield and percentage. *T. armeniacus* showed the highest trichome number; while, the highest trichome length was related to *T. transcaucasicus*. The highest essential oil percentage and yield were observed in *T. carmanicus* and *T. daenensis* respectively, which could be due to the greater number of glandular trichomes and leaves in these species. The results of scanning electron microscope (SEM) revealed that among various types of glandular trichomes, peltate glandular trichome existed in the leaf of four species examined. Positive and significant correlation coefficients between the number of glandular trichomes on the adaxial and abaxial side of the leaves with the essential oil percentage and yield indicate the role of this feature in the production of essential oil. The stepwise regression analysis, implemented for dry weight, indicated that the highest regression positive coefficient was observed for the leaf dry weight, explaining 97% of the trait variation. When the essential oil yield was assumed as a dependent variable, only the trichome length entered the model and explained 49% of the trait variation.

Keywords: *Thymus*, essential oil, morphological traits, glandular trichomes, SEM.