Research Article

Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research
Vol. 40, No. 4, Page 701-717 (2024)

DOI:10.22092/ijmapr.2023.362076.3312

Essential oil contenet and composition of *Thymus lancifolius* Celak. in habitat and field conditions

Mohamadreza Sadeghimanesh[1], Zeynab Jafarian-Jeloudar[*2], Jamshid Ghorbani[3] and Razieh Azimi[4]

1- Ph.D. student in Rangeland Management in University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Sari, and Research Expert in Research and Education Center of Agricultural and Natural Resources, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Hamedan, Iran
2*- Corresponding author, Department of Rangeland, University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Sari, Mazandaran, Iran, E-mail: jafarian79@yahoo.com
3- Department of Rangeland, University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Sari, Mazandaran, Iran
4- Research Institute of Forests and Rangeland, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran

Received: April 2022 Revised: July 2023 Accepted: August 2023

Abstract

Background and objectives: *Thymus lancifolius* Celak. is one of the exclusive species of thyme genus in Iran, possessing high economic and medicinal value due to its high phenolic compounds. Considering the indiscriminate harvesting from thyme habitats, low production and non-standard quantity and quality of bioactive ingredients due to the high genetic diversity of thyme, the domestication of *T. lancifolius* Celak. species and its standardization is one of the goals of this study. In this regard, the quantity and quality of this species' essential oil (EO) were investigated and compared in habitat and field conditions.

Methodology: In order to investigate the effects of environmental factors on the quantitative and qualitative production of *T. lancifolius* Celak. in the field and habitat conditions (five habitats of Rezen, Asadabad, Hamedan, Malayer, and Toyserkan), this species was planted in the Ekbatan station through seed propagation, in the form of a complete randomized block design with three replications. The EO of plants at the full flowering stage were extracted using the hydrodistillation method, and the chemical compounds of EO were measured and identified by GC and GC/MS devices.

Results: The comparison of the EO percentage of *T. lancifolius* populations shows that there is a significant difference in the habitat, so the Asadabad habitat had the highest EO percentage (3.85%), and the Malayer habitat had the lowest EO (1.94%). The amount of EO of the populations in the field also has a significant difference, so the highest percentage of EO (4.18%) is related to the Asadabad population and the lowest is related to Malayer (1.78%). In the populations of Asadabad and Toyserkan, the percentage of EO from the field was more than that of the habitat, but in the populations of Razan, Hamedan, and Malayer, the higher EO belongs to the habitat. Compounds in all populations are almost similar in habitat and field conditions but differ in the type of dominant compounds and their amount. The result of the cluster analysis of the important bioactive constituents of the EO in the five studied populations indicates the existence of two types of chemical types (chemotypes), including thymol (chemotype 1) and geraniol/geranyl acetate (chemotype 2) in both field and habitat conditions.

Copyright: © 2024 by the authors. This is an open access, peer-reviewed article published by Research Institute of Forests and Rangelands (http://ijmapr.areeo.ac.ir/) and distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

In the EO of four populations of *T. lancifolius* related to chemotype 1, the main compounds include thymol (habitat: 52.2-71.4%, field: 49.4-68.1%), carvacrol (habitat: 4.5-23.5%, field: 3.9-25.5%), *p*-cemen (habitat: 4.3-6.1%, field: 4.6-6.6%), and γ-terpinene (habitat: 3.9-9.3%, field: 5.7-8.9%). In this chemotype, the highest amount of thymol (71.4%) was observed in the Hamedan habitat, and the highest amount of phenolic compounds (80%) was found in the Malayer habitat. In the Razan population related to chemotype 2, bioactive constituents including geraniol (habitat: 52.1%, field35.8%), geranyl acetate (habitat: 22%, field: 16%), linalool (habitat: 6.3%, field: 14.7%), and thymol (habitat: 7%, farm: 12%) formed the main compounds of the EO.

Conclusion: According to the results of examining the quantity and quality of EO of different populations of *T. lancifolius* Celak., two main chemotypes, including the thymol chemotype and the geraniol/geranyl acetate chemotype, can be introduced for the domestication and cultivation of this species in Hamadan province to prevent the destruction of thyme plants while using them in the pharmaceutical industry.

Keywords: *Thymus lancifolius* Celak., essential oil, chemotype, thymol, geraniol, habitat, field.

بررسی کمّیت و کیفیت اسانس *Thymus lancifolius* Celak. در شرایط رویشگاهی و مزرعه

محمدرضا صادقی‌منش[۱]، زینب جعفریان جلودار*[۲]، جمشید قربانی[۳] و راضیه عظیمی[۴]

۱- دانشجوی دکترا، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری و کارشناس پژوهش مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی همدان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، همدان، ایران

۲*- نویسنده مسئول، استاد، گروه مرتع، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی، ساری، مازندران، ایران، پست الکترونیک: jafarian79@yahoo.com

۳- دانشیار، گروه مرتع، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی، ساری، مازندران، ایران

۴- استادیار، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: فروردین ۱۴۰۲ تاریخ اصلاح نهایی: تیر ۱۴۰۲ تاریخ پذیرش: مرداد ۱۴۰۲

چکیده

سابقه و هدف: گونه آویشن (*Thymus lancifolius* Celak.) یکی از گونه‌های انحصاری جنس آویشن در ایران است که به‌علت داشتن ترکیبات فنولی بالا، از ارزش اقتصادی و دارویی زیادی برخوردار است .با در نظر گرفتن برداشت بی‌رویه از رویشگاه‌های آویشن، کم بودن میزان تولید و استاندارد نبودن کمّیت و کیفیت مواد مؤثره به‌علت تنوع بالای ژنتیکی آویشن، اهلی کردن گونه *T. lancifolius* Celak. و استانداردسازی آن از اهداف این مطالعه است. در این راستا، کمّیت و کیفیت اسانس این گونه آویشن در شرایط طبیعی و زراعی بررسی و مقایسه شد.

مواد و روش‌ها: به‌منظور بررسی تأثیر عوامل محیطی بر عملکرد کمّی و کیفی اسانس گونه *T. lancifolius* Celak. در شرایط زراعی و رویشگاهی (پنج رویشگاه رزن، اسدآباد، همدان، ملایر و تویسرکان)، این گونه در ایستگاه اکباتان همدان، در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با سه تکرار از طریق تکثیر بذر کاشته شد. اسانس گیاهان در مرحله گلدهی کامل به روش تقطیر با آب استخراج و ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس به‌وسیله دستگاه‌های GC و GC/MS اندازه‌گیری و شناسایی گردید.

نتایج: مقایسه درصد اسانس جمعیت‌های *T. lancifolius* بیانگر آن است که در رویشگاه با هم اختلاف معنی‌داری دارند، به‌طوری که رویشگاه اسدآباد دارای بیشترین درصد اسانس (۳/۸۵٪) و رویشگاه ملایر دارای کمترین درصد اسانس (۱/۹۴٪) بود. میزان اسانس جمعیت‌ها در مزرعه هم اختلاف معنی‌داری داشتند، به‌طوری که بیشترین درصد اسانس (۴/۱۸٪) مربوط به جمعیت اسدآباد و کمترین آن مربوط به ملایر بود (۱/۷۸٪). در جمعیت اسدآباد و تویسرکان، درصد اسانس مزرعه از رویشگاه بیشتر بود اما در جمعیت‌های رزن، همدان و ملایر نمونه‌های رویشگاهی درصد اسانس بالاتری داشتند. ترکیبات تشکیل‌دهنده در همه جمعیت‌ها هم در شرایط رویشگاه و هم در شرایط زراعی تقریباً مشابه بود اما در نوع ترکیبات غالب و نیز میزان آنها تفاوت داشتند. نتیجه حاصل از تجزیه خوشه‌ای مواد مؤثره مهم اسانس در پنج جمعیت مورد مطالعه، نشان‌دهنده وجود دو نوع تیپ شیمیایی (کموتایپ) شامل تیمول (کموتایپ ۱) و ژرانیول/ژرانیل استات (کموتایپ ۲) در دو شرایط مزرعه و رویشگاه بود. در اسانس چهار جمعیت *T. lancifolius* مربوط به کموتایپ ۱، ترکیب‌های اصلی شامل تیمول (رویشگاه: ۷۱/۴٪-۵۲/۲٪، مزرعه: ۶۸/۱٪-۴۹/۴٪)، کارواکرول (رویشگاه: ۲۳/۵٪-۴/۵٪، مزرعه: ۲۵/۵٪-۳/۹٪)، پارا-سیمن (رویشگاه: ۶/۱٪-۴/۳٪، مزرعه: ۶/۶٪-۴/۶٪) و گاما-ترپینن (رویشگاه: ۹/۳٪-۳/۹٪، مزرعه: ۸/۹٪-۵/۷٪) بودند. در این کموتایپ بیشترین میزان تیمول (۷۱/۴٪) در رویشگاه همدان و بیشترین مقدار ترکیبات فنولی (۸۰٪) در رویشگاه ملایر مشاهده شد. در جمعیت رزن مربوط به کموتایپ ۲، مواد مؤثره شامل ژرانیول (رویشگاه: ۵۲/۱٪، مزرعه ۳۵/۸٪)، ژرانیل استات (رویشگاه: ۲۲٪، مزرعه: ۱۶٪)، لینالول (رویشگاه: ۶/۳٪، مزرعه: ۱۴/۷٪) و تیمول (رویشگاه: ۷٪، مزرعه: ۱۲٪) ترکیب‌های عمده اسانس را تشکیل دادند.

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج حاصل از بررسی کمّیت و کیفیت اسانس جمعیت‌های مختلف *T. lancifolius* Celak.، می‌توان دو کموتایپ اصلی شامل کموتایپ تیمول و کموتایپ ژرانیول/ژرانیل استات را برای اهلی کردن و کشت این گونه در استان همدان معرفی کرد تا ضمن استفاده از آنها در صنایع دارویی از تخریب رویشگاهای آویشن جلوگیری بعمل آورد.

واژه‌های کلیدی: *Thymus lancifolius* Celak.، اسانس، کموتایپ، تیمول، ژرانیول، رویشگاه، مزرعه.

مقدمه

آویشن برگ نیزه‌ای با نام علمی *Thymus lancifolius* Celak. از خانواده Lamiaceae، گیاهی چندساله با برگهای تخم‌مرغی و گلهای قرمز متمایل به صورتی می‌باشد (Mozaffarian, 2007). اسانس گونه‌های مختلف آویشن در صنایع مختلف غذایی، دارویی، آرایشی و بهداشتی استفاده می‌گردد و دارای خواص ضداسپاسم، بادشکن، ضدقارچ، ضدعفونی‌کننده و خلط‌آور است (Safai *et al.*, 2017). ترکیبات عمده اسانس گیاه آویشن، تیمول و کارواکرول می‌باشد (Sajjadi & Khatamsaz, 2003؛ Safai *et al.*, 2017). در دهه‌های اخیر نیاز به مواد خام گیاهی زیاد شده است و این نیاز باعث فشار مضاعف بر رویشگاه‌های طبیعی گیاهان دارویی شده است، ازاین‌رو یکی از مهمترین اهداف اهلی کردن گیاهان دارویی، دسترسی راحت به مواد خام گیاهی و برداشتن فشار بهره‌برداری از عرصه طبیعی است. یکی از راه‌های مطالعه و بررسی تنوع شیمیایی مختلف یک گونه، کاشت افراد گونه از جمعیت‌های مختلف در شرایط یکسان در کرت‌های آزمایشی و مقایسه آنها با نتایج برداشت از رویشگاه‌های طبیعی می‌باشد (Ghasemi pirbalouti *et al.*, 2013؛ Heydari *et al.*, 2019؛ El-bakkal *et al.*, 2020؛ Jamzad, 2009). اهلی کردن گیاهان دارویی از مناسب‌ترین راهکارها برای حفاظت گیاهان در معرض خطر است. در حال حاضر رویشگاه‌های طبیعی با توجه به فشار چرای دام و بهره‌برداری‌های انسان‌ها در سال‌های اخیر به‌شدت ضعیف شده و در بعضی از مراتع باید به‌عنوان ذخایر ژنتیکی مورد حفاظت قرار گیرند تا میزان زادآوری این گیاهان در طبیعت زیاد شود و بتوان آنها را به‌راحتی تکثیر کرد. در تمام دنیا برای حفاظت گیاهان دارویی در معرض خطر انقراض، بحث اهلی‌سازی در حال رشد و توسعه است و هر ساله گیاهان دارویی تحت عنوان ارقام جدید تولید می‌شوند که هر رقم خصوصیات منحصر به خود دارد (El-bakkal *et al.*, 2020؛ Chen *et al.*, 2016a). در رابطه با گونه‌های دیگر آویشن مانند *T. daenensis*، *T. eriocalix* و *T. kotschyanus* تحقیقات بیشتری انجام شده است (Kalvandi *et al.*, 2014؛ Khorshidi *et al.*, 2019؛ Emami Bistgani *et al.*, 2019؛ Safai *et al.*, 2017؛ Sefidkon et al., 2005) اما در رابطه با گونه مورد مطالعه، پژوهش کمتری انجام شده است (Karimi *et al.*, 2016؛ Mousavi *et al.*, 2015؛ Sepahvand *et al.*, 2017). Mousavi و همکاران (۲۰۱۵) با مطالعه مواد مؤثره حاصل از ۱۲ جمعیت از گونه *T. lancifolius* مربوط به مناطق مختلف کشور نشان دادند که جمعیت‌های A1، A46، A45، A23 و A38 به‌ترتیب از کردستان، اصفهان، مرکزی و قزوین با تیمول بالا کموتایپ تیمول را تشکیل می‌دهند و بقیه جمعیت‌ها با تیمول و کارواکرول کم تا متوسط یک گروه خاصی را تشکیل می‌دهند که تنوع دیگر مواد در آنها نسبتاً زیاد است. Karimi و همکاران (۲۰۱۶) در پژوهشی با بررسی تأثیر زمان برداشت بر کمّیت و کیفیت اسانس دو گونه از گیاه دارویی (*T. lancifolius* Celak. و *T. armeniacus*) در استان چهارمحال و بختیاری به این نتیجه رسیدند که در مرحله کامل گلدهی، این دو گونه دارای بیشترین اسانس بودند و بیشترین مقدار تیمول در مرحله شروع گلدهی (۶۲٪) بود. نتایج نشان داد که کمّیت و کیفیت مواد مؤثره با توجه به نوع گونه و زمان‌های مختلف برداشت، متفاوت است. آویشن (*T. lancifolius* Celak.) نسبت به سایر گونه‌های آویشن دارای مزیت نسبی بالاتری بوده، به‌طوری که در شرایط دیم

کشت شده در استان لرستان دارای میانگین تولید سالانه ۲۵۸۸ کیلوگرم در هکتار بوده است (Sepahvand *et al.*, 2017). حال آنکه گونه *T. pubescence* که در استان کردستان کشت شده، مقدار تولید آن ۲۰۱۹ کیلوگرم در هکتار است (Hasani, 2013). Sepahvand و همکاران (۲۰۱۷) به‌منظور بررسی تأثیر تراکم بر عملکرد و اجزای عملکرد آویشن (*T. lancifolius* Celak.) در شرایط دیم استان لرستان، این گونه را در قالب طرح کاملاً تصادفی کشت کردند که در نتیجه مقدار عملکرد گیاه در سال چهارم ۳۹۳۸ کیلوگرم در هکتار و اسانس دارای ۴۴٪ کارواکرول و ۳۱٪ تیمول گزارش شد. Safai و همکاران (۲۰۱۷)، در بررسی و مقایسه کمّی و کیفی آویشن دنایی (*T. daenensis*) در شرایط زراعی و رویشگاهی، این گیاه را در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با ۳ تکرار کاشتند. نتایج نشان‌دهنده اثر معنی‌دار مکان بر همه صفات به‌استثناء درصد ۸،۱-سینئول و میزان اسانس بود. بیشترین تولید خشک اندام هوایی، عملکرد اسانس و تیمول به‌ترتیب با میانگین‌های ۲۳۲۴، ۶۲/۴ و ۵۳/۳ کیلوگرم در هکتار بود. با افزایش ارتفاع از سطح دریا، کاهش عملکرد خشک و عملکرد اسانس مشاهده گردید. درصد کارواکرول با افزایش میزان پتاسیم خاک افزایش و با زیاد شدن شوری خاک کاهش یافت.

Khorshidi و همکاران (۲۰۱۹)، کمّیت و کیفیت آویشن دنایی (*T. daenensis* Celak.) در استان‌های همدان، مرکزی و لرستان را در شرایط رویشگاه طبیعی و زراعی مطالعه کردند. نتایج نشان داد که میزان اسانس جمعیت‌ها در رویشگاه طبیعی اختلاف معنی‌داری با هم داشتند ولی در شرایط کشت در مزرعه این اختلاف معنی‌دار نبود. درصد اسانس جمعیت استان همدان در شرایط زراعی بیشتر از شرایط رویشگاه طبیعی بود ولی در دو جمعیت دیگر میزان اسانس در رویشگاه طبیعی بیشتر از زراعی بود. ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس در همه جمعیت‌ها هم در شرایط رویشگاه و هم در شرایط زراعی تقریباً مشابه بود، اما در نوع ترکیبات غالب و نیز میزان آنها در جمعیت‌های مختلف در شرایط رویشگاه و زراعی تفاوت‌هایی مشاهده شد. مقایسه فیتوشیمیایی اسانس دو گونه آویشن (*T. pallidus* و *T. satureioides*) در حالت کشت شده و رویشگاه در مراکش نشان داد که تفاوت چندانی بین مواد مؤثره در دو حالت ذکر شده وجود ندارد. بنابراین فرایند کشت می‌تواند جایگزین امیدوارکننده‌ای برای اطمینان از استفاده پایدار از دو گونه بومی آویشن در شرایط تهدید باشد و کشت آویشن باعث می‌شود بهره‌برداری از آن به‌صورت پایدار انجام شود. آویشن در شرایط نیمه خشک در طبیعت از نظر عملکرد اسانس و تیمول اقتصادی نیست، بنابراین کشاورزان در مناطق نیمه خشک باید برای تولید اقتصادی اسانس و تیمول جمعیت‌های برتر آویشن را کشت و توسعه دهند (El-bakkal *et al.*, 2020؛ Heydari *et al.*, 2019).

با توجه به مطالعات انجام شده، به‌علت برداشت بی‌رویه از رویشگاه‌های آویشن (Khorshidi *et al.*, 2019)، کم بودن تولید و استاندارد نبودن مقدار مواد مؤثره به‌علت تنوع بالای ژنتیکی آویشن، اهلی کردن *T. lancifolius* Celak. و استانداردسازی آن از اهداف این مطالعه است. در این راستا، کمّیت و کیفیت اسانس این گونه آویشن در شرایط طبیعی و زراعی بررسی شد.

مواد و روش‌ها

تهیه نمونه گیاهی

به‌منظور جمع‌آوری نمونه‌های *T. lancifolius* Celak. در مرحله گلدهی، پس از شناسایی مناطق پراکنش این گیاه، در تیرماه سال ۱۳۹۸ به رویشگاه‌های مورد نظر مراجعه کرده و از هر رویشگاه نمونه‌های مورد نیاز برای بدست آوردن اسانس برداشت شد. این گونه در استان همدان دارای پنج رویشگاه مهم در شهرستان اسدآباد، رزن، تویسرکان، همدان و ملایر است. به منظور جمع‌آوری بذر گونه *T. lancifolius* Celak. برای کشت جمعیت‌های مورد مطالعه، به همان مناطقی که گیاهان در مرحله تمام گل، برداشت شدند، مراجعه کرده و بذر به میزان مورد نیاز در تابستان جمع‌آوری گردید. بذر جمعیت‌های آویشن از پنج رویشگاه، در سینی‌های نشاء کشت شد، به‌طوری که از هر جمعیت تعداد ۳۰ بوته تکثیر گردید. زمانی که گیاهچه‌های سبز شده به اندازه کافی رشد کردند، با

توجه به اقلیم منطقه از اواخر فروردین تا اواسط اردیبهشت برای کاشت در مزرعه ایستگاه تحقیقاتی اکباتان همدان در قالب طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی در سه تکرار به مساحت ۲۰۰ متر مربع با آرایش کشت ۵۰×۵۰ سانتی‌متر کشت شد.

ویژگی‌های جغرافیایی و اقلیمی رویشگاه‌ها و مزرعه و خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک رویشگاه طبیعی و مزرعه در استان همدان به‌ترتیب در جدول‌های ۱ و ۲ آورده شده است.

استخراج اسانس

پس از جمع‌آوری اندام‌های هوایی گیاه در رویشگاه و مزرعه در مرحله گلدهی کامل، سرشاخه گلدار آنها جدا و در دمای محیط و در سایه خشک شد. برای هر جمعیت در رویشگاه و مزرعه سه نمونه برای اسانس‌گیری در نظر گرفته شد. ۵۰ گرم از مواد گیاهی آسیاب شده با روش تقطیر با آب به مدت ۲ ساعت به‌وسیله دستگاه کلونجر اسانس‌گیری گردید. علاوه بر ثبت وزن گیاه استفاده شده، وزن دقیق اسانس بدست‌آمده پس از خشک کردن آن ضروریست. با در نظر گرفتن درصد رطوبت، بازده اسانس برحسب وزن خشک بدست آمد.

جداسازی و شناسایی ترکیبات اسانس

پس از تزریق اسانس‌ها به دستگاه گازکروماتوگراف (GC) برای اندازه‌گیری اجزای تشکیل‌دهنده، اسانس‌ها با حلال دی‌کلرومتان رقیق شده و به دستگاه گازکروماتوگراف کوپل شده با طیف‌سنج جرمی (GC/MS) تزریق و کروماتوگرام‌ها و طیف‌های جرمی مربوط بدست آمد. سپس با استفاده از شاخص بازداری، بررسی طیف‌های جرمی ترکیبات و مقایسه با ترکیب‌های استاندارد و استفاده از اطلاعات موجود در کتابخانه دستگاه طیف‌سنج جرمی (Adams, 2017)، ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس‌ها شناسایی شدند. در ادامه درصد نسبی ترکیبات اسانس با استفاده از نتایج کروماتوگرام GC تعیین شد.

برای محاسبه شاخص بازداری از تزریق هیدروکربن‌های نرمال ۸ تا ۲۳ کربنه در شرایط برنامه‌ریزی حرارتی مشابه با تزریق اسانس استفاده گردید. محاسبات کمّی (تعیین درصد هر ترکیب) به کمک نرم‌افزارهای دستگاه GC و به روش نرمال کردن سطح و نادیده گرفتن ضرایب پاسخ (Response factor) مربوط به ترکیبات انجام شد.

مشخصات دستگاه‌های GC و GC/MS

مشخصات دستگاه GC: گاز کروماتوگراف فوق سریع، ساخت کمپانی Thermo از کشور ایتالیا مدل Ultra-Fast Module (UFM) با داده‌پرداز Chrom-Card A/D، ستون موئینه مورد استفاده با نام تجاری DB-5 (غیرقطبی) پر شده با سیلیکای گداخته به طول ۱۰ متر، قطر ۰/۱ میلی‌متر و ضخامت لایه فاز ساکن ۰/۴ میکرومتر از جنس ۵٪ دی‌فنیل/ ۹۵٪ دی‌متیل‌پلی‌سیلوکسان بود. برنامه‌ریزی حرارتی ستون شامل ۲۸۵°C–۶۰ با افزایش دمای ۲۰°C در دقیقه و توقف به مدت ۳ دقیقه در دمای نهایی بود. دمای محفظه تزریق (Injector) ۲۸۰°C، نوع آشکارساز مورد استفاده FID با دمای ۲۹۰°C و گاز حامل هلیم با فشار ۰/۵ میلی‌لیتر در دقیقه بود.

مشخصات دستگاه GC/MS: شناسایی ترکیبات اسانس با دستگاه کروماتوگراف گازی Agilent 7890A متصل به طیف‌سنج جرمی 5975C Agilent از نوع چهار قطبی (ساخت آمریکا)، مجهز به ستون DB-5 (طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه فاز ساکن برابر ۰/۲۵ میکرون) انجام شد. برنامه‌ریزی حرارتی ستون عبارتند از: افزایش درجه حرارت از ۶۰ تا ۲۲۰°C با سرعت افزایش ۳ درجه سانتی‌گراد در دقیقه و بعد افزایش به ۲۶۰°C با سرعت افزایش ۲۰ درجه سانتی‌گراد در دقیقه و در نهایت ۵ دقیقه در این دما نگه داشته شد. درجه حرارت محفظه تزریق ۲۶۰°C و دمای ترانسفرلاین ۲۸۰°C تنظیم شد. گاز حامل هلیوم بوده که با سرعت ۳۰/۶ سانتی‌متر بر ثانیه در طول ستون حرکت می‌کند. زمان اسکن برابر یک ثانیه، انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت و اسکن ناحیه جرمی از ۴۰ تا ۳۴۰ بود.

جدول ۱- خصوصیات جغرافیایی و اقلیمی محل‌های جمع‌آوری گیاه آویشن (***Thymus lancifolius***) در استان همدان

Table1. Geographical and climatic characteristics of *Thymus lancifolius* collection sites in Hamadan province

Sampling site (Natural habitat: N and Field: F)	Annual rainfall (mm)	Annual mean temperature (°C)	Annual mean humidity (%)	Rainfall in first mid of year (mm)	Annual mean temperature in first mid	Mean humidity in first half of year (%)	Slope direction	Altitude (m)	Latitude (N)	Longitude (E)
Razan (N)	429.75	12.18	49.45	163.64	19.07	37.26	northen	2360	34° 29' 27.3"	49° 06' 32.2"
Asadabad (N)	491.03	13.33	51.18	174.70	19.99	40.00	western	2205	34° 51' 02.1"	48° 10' 19.1"
Hamedan (N)	362.86	12.50	49.08	151.52	19.05	37.34	northwest	2009	34° 47' 50.4"	48° 27' 42.6"
Toyserkan (N)	527.23	13.97	46.63	182.80	20.46	35.92	northwest	2755	34° 44' 56.9"	48° 23' 51.2"
Malayer (N)	459.47	14.25	43.38	194.12	20.53	33.40	northeast	2320	34° 06' 38.3"	48° 59' 57.4"
Hamedan (F)	321.92	13.45	45.36	141.79	19.33	35.64	no slope	1730	34° 29' 27.3"	49° 06' 32.2"

جدول ۲- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک محل‌های جمع‌آوری گیاه آویشن (***Thymus lancifolius***) در استان همدان

Table 2. Soil physicochemical characteristics of *Thymus lancifolius* collection sites in Hamadan province

Soil characteristic	Sampling site (Natural habitat: N and Field: F)					
	Razan (N)	Asadabad (N)	Hamedan (N)	Toyserkan (N)	Malayer (N)	Hamedan (F)
EC ($dS.m^{-1}$)	0.50	0.58	0.72	0.74	0.83	0.94
pH	7.51	7.44	7.52	7.32	7.47	7.56
T.N.V (%)	11.20	2.90	3.70	2.60	1.60	11.50
OC (%)	0.96	1.46	0.64	0.94	1.43	0.69
P (ppm)	29.72	31.08	15.16	33.80	27.96	7.30
K (ppm)	463.97	395.93	407.93	263.02	247.12	303.76
Total N (%)	0.10	0.15	0.06	0.09	0.14	0.07
Clay	33.70	14.90	17.90	7.90	10.90	15.04
Silt	30.20	29.25	28.60	11.85	25.65	16.84
Moister (%)	10.12	8.07	7.50	12.11	6.98	15.29
Sand	36.10	55.85	53.50	80.25	63.45	68.35
Texture	Clay loam	Sandy loam	Loamy sand	Sandy loam	Sandy loam	Sandy loam

تجزیه‌وتحلیل آماری

برای انجام تجزیه واریانس و مقایسه میانگین داده‌های بدست آمده از نرم‌افزار SAS استفاده شد. همبستگی بین صفات به روش پیرسون برآورد گردید. رسم نمودارها نیز با نرم‌افزار Excel انجام شد. با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۶ تجزیه خوشه‌ای به روش WARD با استفاده از ضریب فاصله اقلیدسی پس از استانداری‌سازی داده‌ها انجام گردید.

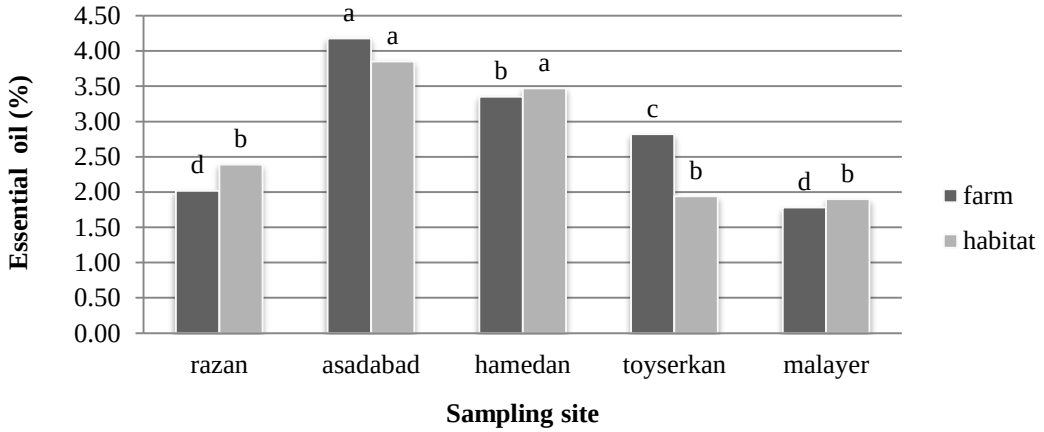
نتایج

با توجه به داده‌های اقلیمی مناطق رویشی آویشن (*T. lancifolius* Celak.) در استان همدان، این گیاه در مناطقی با ارتفاعات نسبتاً بالا (۲۷۰۰–۲۷۰۰۰ متر) با میانگین رطوبت نسبی پایین، میزان بارش (۳۰۰ تا ۴۵۰ میلی‌متر) و میانگین دمای متوسط می‌روید (جدول ۱). همچنین آنالیز خاک مناطق رویشی بیانگر آن است که این گیاه در خاک‌های با pH متوسط به سمت قلیایی و بافت‌های متوسط تا سبک رشد می‌کند (جدول ۲).

نتایج حاصل از مقایسه درصد اسانس جمعیت‌ها بیانگر آن است که میزان اسانس در رویشگاه طبیعی با هم اختلاف معنی‌داری دارند، به‌طوری که رویشگاه اسدآباد دارای بیشترین درصد اسانس (۳/۸۵٪) و کمترین آن مربوط به ملایر بود (۱/۹۱٪). جمعیت‌ها در مزرعه هم اختلاف معنی‌داری داشتند، به‌طوری که در مزرعه، جمعیت اسدآباد دارای بیشترین درصد اسانس (۴/۱۸٪) و کمترین آن مربوط به ملایر بود (۱/۷۸٪). بنابراین با توجه به نتایج بدست آمده تأثیر عوامل ژنتیکی بیشتر بوده و کشت در مزرعه نتوانسته درصد اسانس سایر جمعیت‌ها را بالاتر از جمعیت اسدآباد نشان دهد. کمترین اختلاف درصد اسانس مربوط به جمعیت همدان بود که علت آن نزدیکی رویشگاه همدان به مزرعه می‌باشد. بیشترین اختلاف بین درصد اسانس مربوط به جمعیت تویسرکان بود که علت آن می‌تواند اختلاف ارتفاع بین آن و مزرعه باشد. در جمعیت اسدآباد و تویسرکان درصد اسانس مزرعه از رویشگاه بیشتر اما در رویشگاه‌های رزن، همدان و ملایر درصد اسانس رویشگاه بیشتر از مزرعه بود (شکل ۱). همچنین بیشترین ترکیبات فنولی در رویشگاه ملایر و کمترین آن در رزن مشاهده شد (شکل ۲). از بین ۵ جمعیت موجود از لحاظ عملکرد بوته به غیر از جمعیت تویسرکان، عملکرد بوته در مزرعه بیشتر از رویشگاه بود و اختلاف معنی‌داری با هم داشتند اما جمعیت تویسرکان به علت قرار گرفتن در ارتفاعات بالا و دسترسی کمتر دام و انسان نسبت به آن تولید بیشتری نسبت به مزرعه داشت (جدول ۳).

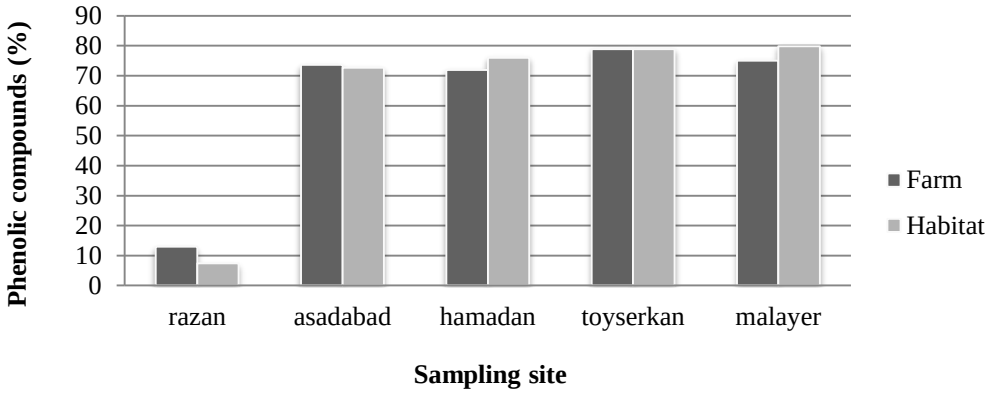
در مجموع ۳۱ ترکیب در همه جمعیت‌ها شناسایی شد. ترکیب‌های شناسایی شده و درصد ترکیبات در جمعیت‌های مختلف در جدول ۴ نشان داده شده است. بررسی نتایج آنالیز مواد مؤثره نشان داد که ترکیبات تشکیل‌دهنده در همه جمعیت‌ها هم در شرایط رویشگاه و هم در شرایط مزرعه تقریباً مشابه بود. اما در نوع ترکیبات غالب و نیز میزان آنها در جمعیت‌های مختلف در شرایط رویشگاه و مزرعه تفاوت‌هایی مشاهده شد. براساس تجزیه خوشه‌ای مواد مؤثره مهم اسانس در پنج جمعیت مورد مطالعه، دو کموتایپ تیمول (کموتایپ ۱) و ژرانیول/ژرانیل استات (کموتایپ ۲) در دو شرایط رویشگاه و مزرعه تعیین شد (شکل ۳). در اسانس چهار جمعیت *T. lancifolius* مربوط به کموتایپ ۱، ترکیب‌های شاخص و عمده اسانس شامل تیمول (رویشگاه: ۷۱/۴٪–۵۲/۲٪، مزرعه: ۶۸/۱٪–۴۹/۴٪)، کارواکرول (رویشگاه: ۲۳/۵٪–۴/۵٪، مزرعه: ۲۵/۵٪–۳/۹٪)، پارا–سیمن (رویشگاه: ۶/۱٪–۴/۳٪، مزرعه: ۶/۶٪–۴/۶٪) و گاما–ترپینن (رویشگاه: ۹/۳٪–۳/۹٪، مزرعه: ۸/۹٪–۵/۷٪) با فراوانی بالا تعیین شد. در این کموتایپ بیشترین میزان تیمول (۷۱/۴٪) در رویشگاه همدان و بیشترین مقدار ترکیبات فنولی (۸۰٪) در رویشگاه ملایر مشاهده شد. در جمعیت رزن مربوط به کموتایپ ۲ مواد مؤثره شامل ژرانیول (رویشگاه: ۵۲/۱٪، مزرعه ۳۵/۸٪)، ژرانیل استات (رویشگاه: ۲۲٪، مزرعه: ۱۶٪)، لینالول (رویشگاه: ۶/۳٪، مزرعه: ۱۴/۷٪) و تیمول (رویشگاه: ۷٪، مزرعه: ۱۲٪) ترکیب‌های عمده اسانس را تشکیل دادند.

در جمعیت همدان، ترکیب‌های عمده اسانس در رویشگاه به‌ترتیب شامل تیمول (۷۱/۴٪)، پارا-سیمن (۶/۱٪)، کارواکرول (۴/۵٪) و گاما-ترپینن (۳/۹٪) بود اما در شرایط مزرعه میزان این ترکیب‌های اصلی به‌ترتیب تیمول (۶۸/۱٪)، گاما-ترپینن (۷/۲٪)، پارا-سیمن (۶/۶٪) و کارواکرول (۳/۹٪) تعیین گردید. در جمعیت اسدآباد در شرایط رویشگاه ترکیب‌های شاخص شامل تیمول (۵۲/۲٪)، کارواکرول (۲۰/۴٪)، گاما-ترپینن (۹/۳٪) و پارا-سیمن (۴/۶٪) بیشترین درصد اسانس را به خود اختصاص دادند و در شرایط مزرعه نیز همین ترکیبات (تیمول (۵۴٪)، کارواکرول (۱۹/۶٪)، گاما-ترپینن (۸/۹٪) و پارا-سیمن (۴/۶٪)) به‌عنوان ترکیب‌های عمده اسانس مشاهده شدند. در جمعیت تویسرکان ترکیبات عمده اسانس در رویشگاه به‌ترتیب شامل تیمول (۶۳/۲٪)، کارواکرول (۱۵/۶٪)، گاما-ترپینن (۷/۲٪) و پارا-سیمن (۴/۷٪) بود و در شرایط مزرعه نیز ترکیبات تیمول (۶۴/۴٪)، کارواکرول (۱۴/۵٪)، گاما-ترپینن (۷/۲٪) و پارا-سیمن (۴/۶٪) بودند. در جمعیت ملایر ترکیبات شاخص اسانس با فراوانی بالا در رویشگاه به‌ترتیب شامل تیمول (۵۶٪/۴)، کارواکرول (۲۳/۵٪)، گاما-ترپینن (۶/۱٪) و پارا-سیمن (۴/۳٪) بود و میزان آنها در شرایط مزرعه تیمول (۴۹٪/۴)، کارواکرول (۲۵/۵٪)، گاما-ترپینن (۵/۷٪) و پارا-سیمن (۵/۲٪) تعیین شدند. با توجه به نتایج جدول ۴ کاملاً مشخص است که جمعیت رزن، کموتایپ ۲ گونه *T. lancifolius* را تشکیل داد، به‌طوری که مواد مؤثره اصلی اسانس این جمعیت در دو شرایط زراعی و رویشگاه شبیه هم بوده ولی با چهار جمعیت مربوط به کموتایپ ۱ متفاوت بود. در جمعیت رویشگاه رزن، مواد مؤثره ژرانیول (۵۲/۱٪)، ژرانیل استات (۲۲٪)، تیمول (۷٪) و لینالول (۶/۳٪) به‌عنوان ترکیب‌های اصلی، درصد بالای اسانس را به خود اختصاص دادند و در شرایط مزرعه همین ترکیبات (ژرانیول (۳۵/۸٪)، لینالول (۱۴/۷٪)، ژرانیل استات (۱۶٪) و تیمول (۱۲٪)) به‌عنوان ترکیبات عمده اسانس مشاهده شدند (جدول ۴).



شکل ۱- مقایسه میانگین میزان اسانس جمعیت‌های مختلف گیاه آویشن (***Thymus lancifolius***) در رویشگاه طبیعی و مزرعه

Figure 1. Means comparison of essential oil content of different *Thymus lancifolius* populations under habitat and field conditions



شکل ۲- مجموع ترکیبات فنولی جمعیت‌های مختلف گیاه آویشن (***Thymus lancifolius***) در رویشگاه طبیعی و مزرعه

Figure 2. Total phenolic compounds of different *Thymus lancifolius* populations under habitat and field conditions

جدول ۳- مقایسه میانگین‌صفات اسانس و عملکرد بوته جمعیت‌های مختلف گیاه آویشن (***Thymus lancifolius***) در رویشگاه و مزرعه

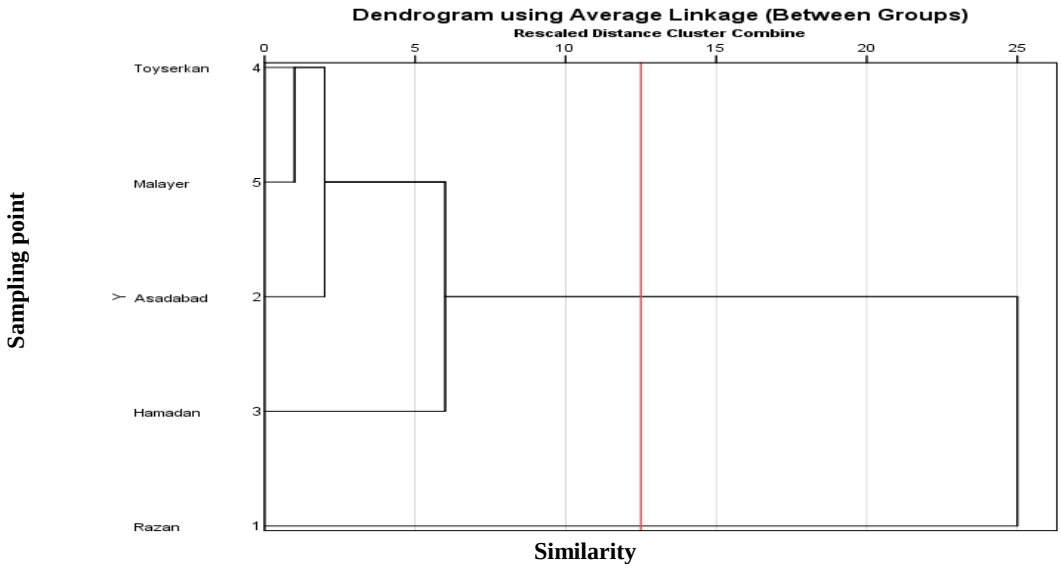
Table 3. Means comparison of essential oil traits and plant yield of different *Thymus lancifolius* populations under habitat and field conditions

Sampling site	Location	thymol (%)	carvacrol (%)	geraniol (%)	geranyl acetate (%)	linalool (%)	Essential oil (%)	Plant yield (kg.ha^{-1})
Razan	Field	12.0 a	0.9 a	35.8 a	16.2 b	14.7 a	2.1 a	1276 a
	Habitat	7.0 b	0.4 b	52.1 b	22.0 a	6.3 b	2.5 b	656 b
Asadabad	Field	54.0 a	19.6 b	0.2 a	0.0 b	2.5 a	4.4 a	1140 a
	Habitat	52.2 a	20.4 a	0.3 a	0.3 a	1.0 b	4.0 b	656 b
Hamedan	Field	68.1 a	3.9 a	0.00	0.00	0.4 a	3.5 a	1360 a
	Habitat	71.4 a	4.5 a	0.00	0.00	0.6 a	3.6 a	600 b
Toyserkan	Field	64.4 a	15.6 a	0.00	0.00	0.2 a	3.0 a	1388 a
	Habitat	63.2 a	14.5 a	0.00	0.00	0.3 a	2.0 b	1476 a
Malayer	Field	49.4 a	25.5 a	0.00	0.00	0.5 a	1.9 a	1252 a
	Habitat	56.4 a	23.5 a	0.00	0.00	0.3 a	2.0 a	424 b

In each column, means with common letters are in the same statistical group at 5% probability level (T test).

طبق جدول ۴ در جمعیت‌های مختلف آویشن (*T. lancifolius* Celak.) بین ۲۰ تا ۳۱ ترکیب شناسایی گردید که از این میان به‌طور متوسط ۱۰ مونوترپن هیدروکربنی (رویشگاه: ۱۹/۱٪-۲/۴٪، مزرعه: ۲۰/۵٪-۴/۳٪)، ۱۳ مونوترپن اکسیژن‌دار (رویشگاه: ۹۴/۵٪-۷۸٪، مزرعه: ۸۷/۶٪-۷۷/۳٪)، سه سزکوئی‌ترپن هیدروکربنی (رویشگاه: ۱٪-۰/۴٪، مزرعه: ۵/۷٪-۰/۳٪) و پنج سزکوئی‌ترپن اکسیژن‌دار (رویشگاه: ۱٪-۰/۱٪، مزرعه: ۱٪-۰/۲٪) وجود داشت. همان‌طور که نتایج نشان داد بخش عمده ترکیبات اسانس گیاه مورد مطالعه شامل مونوترپن اکسیژن‌دار بودند. این گونه ترکیبات از اجزاء ارزشمند اسانس آویشن هستند که به‌طور عمده خواص فیزیکی شامل رنگ، عطر و طعم و فعالیت شیمیایی و بیولوژیکی اسانس‌ها به‌ویژه اسانس گونه‌های مختلف جنس آویشن را شامل می‌شوند (Chen *et al.*, 2016a).

دارنگاره (dandrogram) حاصل از تجزیه خوشه‌ای ۱۲ ماده مؤثره مهم گونه *T. lancifolius* در شکل ۳ نشان داده شد. برازش دارنگاره مذکور، جمعیت‌های *T. lancifolius* مورد مطالعه (در رویشگاه و مزرعه) را در ۲ گروه مجزا قرار می‌دهد. جمعیت‌های ۲، ۳، ۴ و ۵ به‌علت تشابه مواد مؤثره و میزان تیمول بالا کموتایپ تیمول را تشکیل می‌دهند. جمعیت رزن به‌دلیل درصد بالای ژرانیول و دارا بودن مواد مؤثره مشابه شامل ژرانیل استات، تیمول و لینالول به‌عنوان کموتایپ ژرانیول/ژرانیل استات در گروه مجزا مستقر شد (شکل ۳).



شکل ۳- دارنگاره مربوط به ۱۲ ماده مؤثره مهم مربوط به پنج جمعیت ***Thymus lancifolius***

Figure 3. Diagram related to phytochemical traits related to five populations of *Thymus lancifolius*

جدول ۴- اجزای اسانس جمعیت‌های مختلف گیاه آویشن (***Thymus lancifolius***) در شرایط رویشگاه و مزرعه

Table 4. Essential oil compounds of different *Thymus lancifolius* populations under habitat and field conditions

Compound*	RI (Exp.)**	RI (Adams) ***	Essential oil compound (%)									
			Razan		Asadabad		Hamedan		Toyserkan		Malayer	
			Field	Habitat	Field	Habitat	Field	Habitat	Field	Habitat	Field	Habitat
			Chemotype 2		**Chemotype 1**							
α-thujene	930	930	0.1	0.4	0.7	0.8	1.8	1	0.6	0.6	0.6	0.5
α-pinene	940	939	0.4	0.2	0.6	0.7	0.9	0.5	0.6	0.6	1.1	0.7
camphene	952	954	0.3	0.2	0.3	0.3	0.5	0.4	0.3	0.2	0.3	0.3
sabinene	975	975	0.3	0.2	0.4	0.3	0.2	0.2	0.7	0.6	0.5	0.4
ß-pinene	983	979	0.3	0.3	0.4	0.3	0.4	0.2	0.7	0.6	0.5	0.4
myrcene	989	990	1	0.5	1.7	1.7	1.9	1	1	1.6	1.4	1.3
α-terpinene	1015	1017	0.1	0.1	1.1	1.1	1	0.4	1	1.1	0.4	0.9
p-cymene	1020	1024	0.8	0.4	4.6	4.6	6.6	6.1	4.6	4.7	5.2	4.3
1,8-cineole	1038	1031	1.7	0.7	1.3	1.2	1.4	0.8	1	0.9	1.7	1.1
E- ß-ocimene	1056	1050	0	0.1	0.1	0.1	0	0	0	0	0	0
γ-terpinene	1065	1059	0.88	0.9	8.9	9.3	7.2	3.9	7.2	7.2	5.7	6.1
cis-sabinene hydrate	1078	1070	1.9	0.6	0.6	0.7	1	0.6	0.3	0.4	0.4	0.4
linalool	1100	1096	14.7	6.3	2.5	1.5	0.4	0.6	0.2	0.3	0.5	0.3
camphor	1142	1146	0.2	0.2	0	0.6	0	0	0.1	0	0	0
borneol	1167	1169	0.7	0.5	0.8	0.5	1.3	1.6	0.6	0.6	0.8	0.9
terpinen-4-ol	1175	1177	0.4	0	0.4	0.2	0.4	0.5	0.5	0.3	0.4	0.4
α-terpineol	1190	1188	0.5	0.5	0.2	0.4	0.4	0.6	0.2	0.1	0.2	0.1
nerol	1227	1229	1.4	2.2	0	0	0	0	0.1	0	0	0
neral	1235	1238	1.3	1.8	0	0	0.3	0	0	0	0	0
geraniol	1250	1252	35.8	52.1	0.2	0.3	0.1	0	0	0	0	0
thymol	1296	1290	12	7	54	52.2	68.1	71.4	64.4	63.2	49.4	56.4
carvacrol	1302	1299	1	0.4	19.6	20.4	3.9	4.5	14.5	15.6	25.5	23.5
geranyl acetate	1370	1381	16	22	0	0.3	0	0	0	0	0	0
(*E*)-caryophyllene	1425	1419	0.8	0.7	0.5	0.5	1.2	0.9	0.3	0.4	0.3	0.5
germacrene D	1486	1481	0.4	0.3	0	0.6	0	0	0	0	0	0

Compound*	RI (Exp.)**	RI (Adams) ***	Essential oil compound (%)									
			Razan		Asadabad		Hamedan		Toyserkan		Malayer	
			Field	Habitat	Field	Habitat	Field	Habitat	Field	Habitat	Field	Habitat
			Chemotype 2		**Chemotype 1**							
bicyclogermacrene	1501	1500	4.4	0	0	0	0	0	0	0	0	0
thymohydro quinone	1553	1555	0.2	0.1	0	0	0.1	0.2	0.1	0	0.1	0.2
spathulenol	1580	1578	0.2	0.2	0.1	0	0	0.1	0	0	0	0
caryophyllene oxide	1585	1583	0.2	0.3	0.1	0	0.3	0.5	0	0	0.1	0
geranyl-2methyl butanoate	1605	1601	0.2	0.3	0	0	0	0.1	0	0	0	0
epi-α-cadinol	1642	1640	0.2	0.2	0.1	0.2	0.1	0.2	0	0	0.1	0.2
Monoterpene Hydrocarbons (%)			4.3	2.4	18.8	19.1	20.5	13.6	16.7	17.2	15.6	14.8
Oxygenated Monoterpenes (%)			87.6	94.5	79.6	78	77.3	80.6	81.9	81.4	78.7	83.1
Sesquiterpene Hydrocarbons (%)			5.7	1	0.5	0.6	1.2	1	0.3	0.4	0.3	0.5
Oxygenated Sesquiterpenes (%)			1	1	0.3	0.2	0.5	1	0.2	0.1	0.3	0.4
Number of compounds			31	31	27	30	23	25	22	20	22	20

*Compounds listed in order of their elution on a DB-5 column; **RI (Exp.): retention indices determined experimentally on the mentioned column by co-injection of a homologous series of n-alkanes (C_8–C_{24}); *** RI (Adams): retention indices reported in Adams library (2017); Chemotype 1: thymol and chemotype 2: geraniol/geranyl acetate.

بحث

با توجه به اینکه کمّیت و کیفیت مواد مؤثره در رویشگاه‌های مختلف متفاوت است، بنابراین شناخت کموتایپ‌های مختلف و تفاوت کمّی و کیفی جمعیت‌های مختلف یک گونه گیاه دارویی یکی از پیش‌نیازهای مهم اهلی‌سازی آنهاست. بدین ترتیب هدف از اهلی‌سازی گیاهان دارویی، ابتدا شناخت جمعیت‌های برتر و وجود احتمالی کموتایپ و بعد اقلیم مناسب با آن برای کشت در اراضی مساعد است (Heydari *et al*., 2019). در این پژوهش، کمّیت و کیفیت اسانس جمعیت‌های مختلف در شرایط رویشگاه طبیعی معنی‌دار بود. جمعیت اسدآباد هم در رویشگاه و هم در مزرعه از لحاظ مقدار اسانس از سایر جمعیت‌ها بالاتر بود که میزان بالاتر اسانس در مقایسه با سایر جمعیت‌ها را تا حدودی می‌توان به کمتر بودن ارتفاع رویشگاه و نزدیک بودن رویشگاه و مزرعه و بالا بودن میزان کربن آلی خاک نسبت داد. جمعیت همدان در دو حالت شرایط رویشگاه و مزرعه دارای بیشترین درصد تیمول بود، شاید به این دلیل که با کاهش ارتفاع، دما افزایش می‌یابد و افزایش دما باعث افزایش بیوسنتز اسانس‌ها می‌شود (Heydari *et al*., 2019). در چنین شرایطی گیاه تحت تنش ملایم گرمایی و خشکی قرار می‌گیرد و برای مقابله با این تنش تولید ترکیبات محافظت کننده گیاه مانند مونوترپن‌ها افزایش می‌یابد. در شرایط مزرعه، درصد اسانس و میزان تیمول جمعیت‌ها با هم متفاوت بود. از لحاظ کارواکرول، جمعیت ملایر دارای بیشترین درصد بود (۲۵٪)، هرچند از لحاظ تیمول هم درصد بالایی داشت اما در جمعیت همدان که دارای بالاترین درصد تیمول (۷۱٪) بود، مقدار کارواکرول آن نسبت به سایر جمعیت‌ها غیر از جمعیت رزن کمتر بود. جمعیت رزن به لحاظ اجزای اسانس با سایر جمعیت‌ها تفاوت داشت، به‌طوری که این جمعیت از لحاظ میزان ژرانیول (۵۲٪)، ژرانیل استات (۲۲٪) و لینالول (۶/۳٪) دارای درصد بالایی بود. در این جمعیت مقدار ژرانیول و ژرانیل استات رویشگاه بیشتر از مزرعه بود اما درصد لینالول مزرعه (۱۴/۷٪) بیشتر از رویشگاه (۶٪) بود. Pluhár و همکاران (۲۰۱۲) به این نتیجه رسیدند که با شرایط بهینه محیطی (آب و هوای مرطوب)، حضور کموتایپ‌های معطر با منوترپن‌های فنولی مشاهده شد، در مناطق با شیب کم مقدار لینالول از مناطق کوهستانی بیشتر بود که با نتایج این مطالعه مطابقت دارد. ژرانیول و لینالول از منوترپن‌های غیرحلقوی هستند و یک اثر خیلی قوی بر روی فعالیت تیروزن دارند، آنزیم تیروزیناز یک پلی فنل اکسیداز است که به‌طور وسیعی در طبیعت وجود دارد و نقش مهم آن برای تغییر رنگ میوه‌ها و پوست‌اندازی حشرات است. بنابراین بازدارندگی اثر تیروناز می‌تواند از قهوه‌ای شدن و پوست‌اندازی حشرات جلوگیری کند. با این فرض مهارکننده‌های تیروزیناز می‌توانند در محصولات آرایشی- بهداشتی برای سفید کردن پوست و حذف لکه‌های قهوه‌ای آن کاربرد داشته باشند. لینالول و ژرانیول به‌عنوان عطر در صنایع آرایشی و بهداشتی، داروسازی، صنایع سم‌سازی و دامپزشکی به‌عنوان حشره‌کش استفاده می‌شود (Jamzad, 2009؛ Badawy *et al*., 2019؛ Silva *et al*., 2022؛ Miró *et al*., 2022؛ Chen & Viljoen, 2022).

در جمعیت رزن مقدار لینالول در مزرعه از رویشگاه بیشتر بود و باهم اختلاف معنی‌داری داشتند. بنابراین با توجه به تقاضا برای این ماده مؤثره باید نسبت به معرفی آن به‌عنوان یک رقم تجاری و کشت وسیع آن به‌عنوان یک رقم اقتصادی در مزارع اقدام کرد. لینالول به‌دلیل داشتن بوی معطر، در ساخت مواد بهداشتی و تمیزکننده مانند صابون‌ها و لوسیون‌ها استفاده می‌شود و علاوه بر این کاربرد، در صنایع آرایشی و بهداشتی، در درمان بیماری‌هایی مانند حساسیت‌های شدید پوستی، لوسمی و سرطان نیز بکار می‌رود. این ترکیب از طریق حفاظت از سیستم کولینرژیک مانع از نقص حافظه ناشی از تشنج می‌شود (Raguso, 2016؛ Nakamura *et al*., 2009). از این گذشته، از لینالول در صنایع غذایی و نوشابه‌سازی به‌عنوان طعم‌دهنده به فراوانی استفاده می‌شود. در صنعت، لینالول به‌عنوان یک ترکیب حدوسط مهم در تولید ویتامین‌های E و A، فارنسول

و سیترونلول نیز کاربرد دارد، همچنین از آن به‌عنوان حشره‌کش برای کنترل انگل‌های روی پوست حیوانات خانگی استفاده می‌شود (Aprotosoaie *et al*., 2014؛ Gupta *et al*., 2019). بنابراین وجود درصد بالایی از مشتقات اکسیژن‌دار ترپنی نشان‌دهنده کیفیت بالا این اسانس می‌باشد. ترپن‌ها به دسته بزرگی از فراوان‌ترین ترکیبات طبیعی تعلق دارند و معمولاً به‌عنوان ترکیبات اسانس در گیاهان وجود دارند. در حالی که سنتز پلی‌اتیلن‌های شیمیایی جدید دشوار است، به‌نظر می‌رسد ترپن‌ها ظرفیت زیادی برای استفاده به جای پلی‌اتیلن دارند، ترپن‌های حاوی اکسیژن و هیدروکربن می‌توانند با مولکول‌های دارو کمپلکس‌هایی تشکیل دهند و در مقایسه با پلی‌اتیلن‌های مصنوعی معمولی، ترپن‌های طبیعی دارای فعالیت افزایشی بالاتری از ترکیبات چربی‌دوست و آب‌دوست هستند و به نفوذ راحت دارو در پوست کمک می‌کنند (Chen *et al*., 2016b؛ Paulino *et al*., 2022).

مقایسه جمعیت‌ها از نظر میزان تولید اسانس متفاوت بود، به‌طوری که جمعیت‌های همدان، رزن و ملایر در شرایط رویشگاه درصد اسانس بیشتری نسبت به مزرعه داشت. در حالی که در دو جمعیت اسدآباد و تویسرکان درصد اسانس مزرعه از رویشگاه بیشتر بود. عوامل محیطی ازجمله عوامل اساسی و تعیین کننده کمّیت و کیفیت مواد مؤثره دارویی در گیاهان دارویی می‌باشد، به‌طوری که مقدار T.N.V. در شرایط رویشگاهی با مقدار تیمول رابطه عکس و با ژرانیول رابطه مستقیم دارد. همچنین مقدار رطوبت سالیانه با درصد اسانس رابطه مستقیم دارد. میزان اسانس جمعیت‌ها در رویشگاه طبیعی اختلاف معنی‌داری با هم داشتند ولی در شرایط کشت در مزرعه این اختلاف معنی‌دار نبود. درصد اسانس جمعیت همدان در شرایط مزرعه بیشتر از شرایط رویشگاه طبیعی بود ولی در دو جمعیت دیگر میزان اسانس در رویشگاه طبیعی بیشتر از مزرعه بود. ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس در همه جمعیت‌ها هم در شرایط رویشگاه و هم در شرایط مزرعه تقریباً مشابه بود، اما در نوع ترکیبات غالب و نیز میزان آنها در جمعیت‌های مختلف در شرایط رویشگاه و مزرعه تفاوت‌هایی مشاهده شد (Khorshidi *et al*, 2019). در این مطالعه در شرایط کشت شده و رویشگاه تفاوت چندانی بین مواد مؤثره در دو حالت وجود نداشت. با توجه به این نتایج اهلی‌سازی این گونه مقرون به صرفه بوده و با توجه به عملکرد بالای ماده خشک و اسانس که باعث می‌شود علاوه بر میزان بالای تولید اسانس، میزان تیمول و در وهله بعدی، میزان ترکیباتی مانند ژرانیول و کارواکرول در مقیاس وسیع و قابل کنترل در مزرعه تولید شود، ازاین‌رو رصد کردن و ارزیابی تغییرات این ترکیبات یکی از مهمترین نکات قابل توجه در اهلی‌سازی این گیاه می‌باشد، این نتایج نشان می‌دهد که فرایند کشت می‌تواند جایگزین امیدوارکننده‌ای برای اطمینان از استفاده پایدار از گونه‌های بومی آویشن در معرض تهدید باشد (El-bakkal *et al*., 2020؛ Heydari *et al*., 2019).

نتایج نشان داد که کمّیت و کیفیت مواد مؤثره با توجه به تنوع جمعیت‌ها متفاوت است. در این مطالعه با افزایش پتاسیم مقدار کارواکرول کاهش یافت. اما در مطالعه Safai و همکاران (۲۰۱۷) بر روی آویشن دنایی درصد کارواکرول با افزایش میزان پتاسیم خاک افزایش و با زیاد شدن شوری خاک کاهش یافت، در نتیجه شرایط مختلف اقلیمی و خاکی و در رأس آن ارتفاع از سطح دریا می‌تواند تولید خشک گیاه آویشن و ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس آن را تحت تأثیر قرار داده و باعث اقتصادی یا غیراقتصادی شدن محصول آن گردد.

به‌علت اینکه گونه‌های آویشن تنوع ژنتیکی بالایی دارند در اهلی کردن باید از توده‌های بیشتری استفاده کرد تا بتوان انتخاب بهتری برای کشت در محیط زراعی داشت (Pereira *et al*., 2000؛ kalvandi *et al*., 2014). خصوصیات اقلیمی و محیطی متفاوت با تأثیر بر اجزای ماده مؤثره باعث ایجاد کموتاپ‌های متنوعی می‌شود که هنگام اهلی کردن باید به این نکات توجه کرد (Torras *et al*., 2007؛ Abdel-Rahman *et al*., 2019). در پژوهشی که تحت عنوان تأثیر خصوصیات شیمیایی خاک بر کمّیت و کیفیت مواد مؤثره گونه *Thymus pulegioides* در کشور لیتوانی انجام شد به

این نتیجه رسیدند که با افزایش عناصری مانند آلومینیم، مس، منگنز و آهن مقدار اسانس این گونه کاهش پیدا می‌کند اما با افزایش فسفر مقدار آلفا-ترپینئول افزایش می‌یابد. همچنین با افزایش سولفور مقدار کارواکرول و لینالول زیاد می‌شود (Vaičiulytė *et al.*, 2017). از لحاظ عملکرد ماده خشک با توجه به اینکه در شرایط زارعی، آبیاری به صورت منظم انجام می‌شود و با در نظر گرفتن نقش آب در رشد و توسعه گیاه، ازاین‌رو تفاوت تولید ماده خشک مشاهده شده بین رویشگاه اصلی گیاه و مزرعه منطقی می‌باشد و اختلاف معنی‌داری با هم داشتند. علت نزدیکی عملکرد رویشگاه تویسرکان با مزرعه می‌تواند ناشی از قرار گرفتن آن در ارتفاعات بالاتر و دسترسی کمتر به آن بر خلاف سایر رویشگاه‌ها باشد.

به‌عنوان نتیجه‌گیری نهایی باید گفت که در اهلی‌سازی گیاهان دارویی علاوه بر کمّیت ماده مؤثره، میزان ماده مؤثره غالب و باارزش است که تعیین کننده محیط کشت ثانویه برای گیاه می‌باشد. ترکیبات عمده اسانس آویشن (*T. lancifolius* Celak.) شامل تیمول، کارواکرول، ژرانیول، ژرانیل استات و لینالول است که تعیین کننده محیط کشت ثانویه گیاه می‌باشند. با توجه به نتایج این مطالعه و کم بودن اختلاف کمّیت و کیفیت اسانس در بین جمعیت‌های این گونه، می‌توان دو کموتایپ اصلی شامل تیمول و ژرانیول/ ژرانیل استات را برای اهلی کردن و کشت در استان همدان معرفی کرد. بنابراین فرایند بهره‌برداری از گیاهان دارویی و به‌ویژه آویشن در کشور باید به سوی کشت و اهلی کردن این گونه‌های گیاهی دارویی بومی ایران سوق داده شود تا ضمن استفاده از آنها در صنایع دارویی و طب سنتی، تخریب و زوال گونه‌های گیاهی و کاهش تنوع زیستی که امروزه گریبان‌گیر منابع طبیعی و محیط زیست کشور است تا جای ممکن کاهش یابد و امکان احیای رویشگاه‌های گونه‌های گیاهی در این عرصه‌ها از طریق اعمال مدیریت‌های صحیح و برنامه‌های حفاظت فراهم شود

References

- Abdel-Rahman, A. and Migahid, M., 2019. The autecological characteristics of endangered medicinal plant *Thymus capitatus*, in the Western Mediterranean region of Egypt. Egyptian Journal of Botany, 59(2): 387-398.
- Adams, R., 2017. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry, Carol Stream. Carol Stream, Allured Publication, 804 p.
- Aprotosoaie, A.C., Hăncianu, M., Costacheb, I.I. and Mirona, A., 2016. Linalool: a review on a key odorant molecule with valuable biological properties. Flavour and Fragrance Journal, 29(4): 193-219.
- Badawy, M.E.I., Marei, G.I.K., Rabea, E.I. and Taktak, N.E.M., 2019. Antimicrobial and antioxidant activities of hydrocarbon and oxygenated monoterpenes against some foodborne pathogens through in vitro and in silico studies. Pesticide Biochemistry and Physiology, 158: 185-200.
- Chen, J., Jiang, Q.-D., Chai, Y.-P., Zhang, H., Peng, P. and Yang, X.-X., 2016a. Natural terpenes as penetration enhancers for transdermal drug delivery. Molecules, 21(12): 1709.
- Chen, S.L., Hua, Y., Luo, H.M. and Wu, Q., 2016b. Conservation and sustainable use of medicinal plants: problems, progress, and prospects. Chinese Medicine, 11(37): 1-10.
- Chen, W. and Viljoen, A.M., 2022. Geraniol- A review update. South African Journal of Botany, 150: 1205-1219.
- El-Bakkal, S., Zeroual, S., Elouazkiti, M., Mansori, M., Bouamama, H., Zehhar, N. and El-Kaoua, M., 2020. Comparison of yield chemical composition and biological activities of essential oils obtained from *Thymus pallidus* and *Thymus satureioides* Coss. grown in wild and cultivated conditions in Morocco. Journal of Essential Oil-Bearing Plants, 23:1-14.
- Emami Bistgani, Z. and Sefidkon, F., 2019. Review on ethnobotany, phytochemical, molecular and pharmacological activity of *Thymus daenensis* Celak. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 22: 101400.
- Ghasemi Pirbalouti, A., Hashemi, M. and Ghahfarokhi, F.T., 2013. Essential oil and chemical compositions of wild and cultivated *Thymus*

daenensis Celak. and *Thymus vulgaris* L. Industrial Crops and Products, 48: 43-48.
- Gupta, A., Mumtaz, Sh., Li, C.H., Hussain, I. and Rotello, V.M., 2019. Combatting antibiotic-resistant bacteria using nanomaterials. Chemical Society Reviews, 48: 415-427.
- Hasani, J., 2013. Essential oil comparison in Thymus daenensis Celak. and Thymus fedtschenkoi Ronniger. in natural Kurdistan habitats. Eco-phytochemical Journal of Medical Plants, 1(1): 1-12.
- Heydari, A., Hadian, J., Esmaeili, H., Kanani, M.R., Mirjalili, M.H. and Sarkhosh, A., 2019. Introduction of *Thymus daenensis* into cultivation: Analysis of agro-morphological, phytochemical and genetic diversity of cultivated clones. Industrial Crops and Products, 131: 14-24.
- Jamzad, Z., 2009. Iran's thymes and spices. Publications of the Research Institute of Forests and Rangelands, 177p (In persin).
- Karimi, Z., Houshmand, S., Mohammad Khani, A. and Yousefzadeh, K., 2016. Investigating the effect of harvesting time on the quantity and quality of the essential oil of two species of medicinal plants (*Thymus armeniacus*, *Thymus lancifolius*). Ecophytochemistry Quarterly of Medicinal Plants, 5(1): 40-56.
- Khorshidi, J., Shokrpour, M. and Nazeri, V., 2019. Phytochemical investigation and comparison of the essential oil of *Thymus daenensis* Celak. medicinal plant in the conditions of natural habitats and farm. Ecophytochemical Quarterly of Medicinal Plants, 25(1): 1-11.
- Kalvandi, R., Mirza, M., Atri, M., Hessamzadeh Hejazi, M., Jamzad, Z. and Safikhani, K., 2014. Introduction of seven new chemotypes of *Thymus eriocalyx* (Ronniger) Jalas species in Iran by examining the diversity of essential oil compounds in individuals of different populations of this species. Iran Medicinal and Aromatic Plants Research, 30(1): 101-122.
- Miró, M.V., Costa-Júnior, L.M., Alvarez, L.I., Lanusse, C., Virkel, G. and Lifschitz, A., 2022. Pharmacological characterization of geraniol in sheep and its potential use in the control of gastrointestinal nematodes. Veterinary and Animal Science, 18: 65-69.
- Mozaffarian, M., 2007. A Dictionary of Iranian Plant Names, Farhang Moaser Press, Tehran, 671p.
- Mousavi, A., Ghahraninejad, F and Mirza, M., 2015, chemical diversity of *Thymus lancifolius* populations in Iran, National Conference of Medicinal Plants, Shahroud, Iran, 8-9 march: 21-22.
- Nakamura, A., Fujiwara, S., Matsumoto, I. and Abe, K., 2009. Stress repression in restrained rats by (R)-(-)-linalool inhalation and gene expression profiling of their whole blood cells. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 57(12): 5480-5485.
- Paulino, B.N., Silva, G.N.S., Araújo, F.F., Néri-Numa, I.A., Pastore, G.M., Bicas, J.L. and Molina, G., 2022. Beyond natural aromas: The bioactive and technological potential of monoterpenes. Trends in Food Science & Technology, 128: 188-201.
- Pereira, S.I., Santos, P.A.G., Barroso, J.G., Figueiredo, A.C., Pedro, L.G., Salgueiro, L.R., Deans, S.G. and Scheffer, J.J.C., 2000. Chemical polymorphism of the essential oils from populations of *Thymus caespititus* grown on the Island S. Jorge (Azores). Phytochemistry, 55(3): 241-246.
- Pluhár, Z., Sárosi, S. and Simkó, H., 2012. Enviromental condition and essentioal oil diversity of native *Thymus Pulegioides* population in highlands of Hungery and in the Carpathians. Acta Horticulturae, 955: 65-71.
- Raguso, A.R., 2016. More lessons from linalool: insights gained from a ubiquitous floral volatile. Current Opinion in Plant Biology, 32: 31-36.
- Safai, L., Sharifi Ashourabadi, A. and Afiuni, D., 2017. Study of environmental factors effects on *Thymus daenensis* quality and quantity in field and habitat conditions. Journal of Plant Ecophysiology, 9(29): 195-203.
- Sajjadi, S.E. and Khatamsaz, M., 2003. Composition of the essential oil of *Thymus daenensis* Celak. subsp. *lancifolius* (Celak.) Jalas. Journal of Essential Oil Research, 15: 34-35.
- Sefidkon, F., Kalvandi, R., Atri, M. and Barazandeh, M.M., 2005. Essential oil variability of *Thymus eriocalyx* (Ronniger) Jalas. Flavour and Fragrance Journal, 20(5): 521-524.
- Sepahvand, A., Khademi, K., Astereki, H. and Mohammadian, A., 2017. 'Effects of density on yield and yield components of thyme (*Thymus lancifolius* Celak.) under dry farming conditions of Lorestan province'. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research, 32(6): 988-997.
- Silva, G. dos S.E., Marques, J.N. de J., Linhares, E.P.M., Bonora, C.M., Costa, É.T. and Saraiva, M.F., 2022. Review of anticancer activity of monoterpenoids: Geraniol, nerol, geranial and neral. Chemico-Biological Interactions, 362: 90-94.
- Torras, J., Grau, M.D., Lopez, J.F. and Heras, F.X.C., 2007. Analysis of essential oils from chemotypes of *Thymus vulgaris* in Catalonia. Journal of the Science of Food and Agriculture, 87: 2327-2333.
- Vaičiulytė, V., Ložienė, K., Taraškevičius, R. and Butkienė., R., 2017. Variation of essential oil composition of *Thymus pulegioides* in relation to soil chemistry. Industrial Crops and Products, 95: 422-433.