نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۳، شماره ۴، زمستان ۱۳۹۸، ص. ۵۷۶-۵۶۷
شاپا: ۴۷۳۰ - ۲۰۰۸

Journal of Horticultural Science
Vol. 33, No.4, Winter 2020, P. 567-576
ISSN: 2008 - 4730

مقایسه خصوصیات مورفولوژیکی، محتوا و اجزای اسانس آویشن باغی (*Thymus vulgaris*) و دو توده بومی آویشن خراسانی (*Thymus transcaspicus*) در شرایط آب و هوایی مشهد

سمانه محمدی[۱]- مجید عزیزی ارانی[۲*]- جمیل واعظی[۳]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۲/۲۳
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۰/۱۶

چکیده

آویشن یکی از مهمترین گیاهان دارویی ایران و جهان است که به دلیل داشتن دو ترکیب تیمول و کارواکرول دارای خواص دارویی متنوعی می‌باشد. هدف از انجام این آزمایش بررسی خصوصیات میکروسکوپی و مورفولوژیکی آویشن باغی (*Thymus vulgaris*) در مقایسه با دو توده آویشن خراسانی (*Thymus transcaspicus*) در شرایط کشت شده آب و هوایی مشهد می‌باشد. بدین منظور آزمایشی به صورت طرح بلوک کاملً تصادفی با ۳ تیمار و ۴ تکرار و در هر تکرار ۹ بوته انجام شد. تیمارها شامل آویشن باغی و دو توده آویشن خراسانی (A و B) بود. نتایج نشان داد که تنوع در خور توجهی از نظر صفات مهم اصلاحی گیاهان دارویی بین تیمارها وجود دارد. با توجه به نتایج بدست آمده از لحاظ خصوصیات مورفولوژیکی بزرگترین طول و عرض برگ، تعداد گل و طول گل، فاصله میانگره و طول گل‌آذین در توده A آویشن خراسانی مشاهده شد و بیشترین عملکرد تر و خشک، ارتفاع گیاه، بزرگترین قطر تاج پوشش و درصد اسانس مربوط به بوته‌های آویشن باغی بود. نتایج آنالیز GC-MS نشان داد که اسانس آویشن باغی دارای ۳۱ ترکیب و اسانس آویشن‌های خراسانی دارای ۲۷ ترکیب بودند. با توجه به تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی در آویشن‌های مورد مطالعه دو نوع کرک غده‌ای و پوششی تشخیص داده شد که کرک غده‌ای از نوع سپری بدون پایه بود. در آویشن باغی میانگین اندازه کرک‌های سپری و کرک‌های پوششی به ترتیب ۷۳/۱۱ و ۵۷/۳۳ میکرومتر بود که در مقایسه با آویشن‌های خراسانی، تراکم کرک‌های پوششی و سپری بیشتر بود. در مجموع نتایج بدست آمده حکایت از وجود پتانسیل ژنتیکی مناسبی از لحاظ کلیه صفات در آویشن‌های خراسانی و باغی داشت که می‌توان با انتقال صفات از آویشن باغی در برنامه‌های اصلاحی به عنوان پایه به آویشن خراسانی حداکثر استفاده را به عمل آورد و می‌توان از این گونه بومی ایران به عنوان جایگزین مناسبی برای گونه اروپایی آویشن باغی جهت مقاصد مختلف، بالاخص کاربردهای دارویی استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: آویشن باغی، آویشن خراسانی، کرک سپری، میکروسکوپ الکترونی روبشی

مقدمه

ایران به لحاظ تنوع اقلیمی و تنوع زیستی ازوسیع و منحصر به‌فردی برخوردار است. این تنوع در مورد گیاهان و از جمله گیاهان دارویی به روشنی مشهود است. گیاه آویشن (*Thymus* spp.) با نام عمومی Thyme به دلیل دارا بودن برخی متابولیت‌های دارویی و به ویژه اسانس یکی از پر مصرف‌ترین (به عنوان دارو، ادویه و عطر) و ارزشمندترین گیاهان دارویی دنیاست. آویشن خراسانی (*T. transcaspicus*) یکی از گونه‌های اسانس‌دار می‌باشد که در استان خراسان به صورت خودرو در مناطق شمالی و مرکزی استان (مخصوصا ارتفاعات هزار مسجد و بینالود) پراکنش دارد. گیاهی بالشتکی تنک، با ساقه‌های بسیار منشعب، با قاعده چوبی، شاخه گل دهنده به ارتفاع ۱۰ تا ۵۰ سانتی‌متر، کم و بیش راست، در تمام سطح پوشیده از کرک‌های گسترده می‌باشد. آویشن باغی (*T. vulgaris* L.) از قرن شانزدهم رسما به عنوان یک گیاه دارویی معرفی شد. آویشن باغی یا آلمانی بومی جنوب اروپا و نواحی مختلف مدیترانه از جمله کشورهای فرانسه، پرتغال، اسپانیا، ایتالیا و یونان است. این گیاه در نواحی نیمه خشک زلاندنو به میزان بیش از چندین هزار هکتار به صورت خودرو وجود دارد. این گونه در ایران به طور وحشی دیده نشده

۱ و ۲- به‌ترتیب دانشجوی دکتری و استاد، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
(*-نویسنده مسئول: Email: azizi@um.ac.ir)
۳- دانشیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد
DOI: 10.22067/jhorts4.v33i4.62795

است. در تمام فارماکوپه‌های معتبر از پیکر رویشی آویشن به عنوان دارو یاد شده و خواص درمانی آن مورد تأکید قرار گرفته است. ۱۸ گونه از آویشن‌ها متعلق به کشور ایران است که حدود ۱۳٪ از کل گونه‌های آویشن دنیا بومی ایران هستند (۸). گونه‌های موجود در ایران اکثرا متعلق به زیربخش Kotschyani Klokov می‌باشند (۸). کرک‌های غده‌ای ساختارهای ترشحی تخصص یافته‌ای هستند که تولید اسانس در برخی گیاهان به وجود آنها بستگی دارد (۴).

در ایران مشکلات بسیاری برای تولید گیاهان دارویی وجود دارد. برداشت بی‌رویه از عرصه‌های طبیعی منجر به تخریب زیستگاه‌ها، کاهش تنوع و در نهایت انقراض بسیاری از گونه‌های گیاهان دارویی گردیده است. به منظور حفظ و حراست از این گونه‌ها که ذخایر ژنتیکی ارزشمند این سرزمین به حساب می‌آیند و نیز بهره‌برداری علمی و اصولی از این منابع، شناخت عمیق و مبتنی بر اصول علمی چنین گیاهانی در اولویت بررسی قرار دارند. بهینه‌سازی عملیات به زراعی اگرچه نقش مؤثری در بهبود تولید این گروه از محصولات کشاورزی داشته است ولی بدون انجام عملیات به نژادی رسیدن به حداکثر تولید امکان‌پذیر نمی‌باشد. عملیات به‌نژادی در گیاهان دارویی و معطر در ابتدای فاز توسعه خود است لذا مطالعه خصوصیات مورفولوژیکی و میکروسکوپی این گروه از گیاهان بستر اولیه مطالعات اصلاحی در راستای بهره‌برداری اصولی از این منابع جهت به‌نژادی و افزایش کمیت و کیفیت مواد مؤثره گیاهان دارویی به حساب می‌آید (۱۳).

مطالعات یاوری و همکاران نشان داده است که گیاهان رویشگاه‌های مختلف استان‌های آذربایجان شرقی و غربی از نظر میانگین طول ساقه گلدار، طول دومین میانگره، طول و عرض برگ، طول گل آذین، طول کاسه و جام گل و بازده متوسط اسانس با هم متفاوت هستند. محل رویش و نمو گیاهان دارویی، از لحاظ ارتفاع از سطح دریا، شیب و عرض جغرافیایی و تأثیری که این عوامل بر دما، نور و رطوبت نسبی می‌گذارند، در متابولیسم گیاهان دارویی و تغییرات سنتز مواد مؤثره آنها اهمیت زیادی دارد (۱۶). آویشن از نظر ترکیبات دارویی و صفات مورفولوژیکی دارای تنوع بسیار بالایی است (۱۵). در همین رابطه در مطالعه‌ای که توسط لوپز پوژول و همکاران برروی تنوع ژنتیکی جمعیت‌های مختلف گونه *T. loscosii* صورت گرفت، تنوع ژنتیکی بسیار بالایی بین این جمعیت‌ها مشاهده شد و این تنوع به پلی‌پلوئید بودن این گونه ارتباط داده شد که سبب افزایش قدرت باروری و سازگاری آن شده است (۹). افلاکیان و همکاران با مطالعه اکوتیپ‌های مختلف آویشن دنایی که از سه استان اصفهان، مرکزی و لرستان جمع‌آوری شده بود بیان کردند که اکوتیپ خرم آباد ۱ از نظر عملکرد بوته به سایر اکوتیپ‌ها برتری دارد و مهمترین عوامل اثرگذار بر عملکرد، صفات قطر تاج پوشش، طول برگ و عرض برگ هستند (۲). بررسی فیتوشیمیایی و مورفولوژیک ۷۱ جمعیت *Thymus* در اسپانیا نشان داد که تغییرات فلاونوئیدها رابطه نزدیکی با ویژگی‌های مورفولوژیک و آناتومیک همه جمعیت‌ها دارد و احتمالا نتیجه چندشکلی ژنتیکی است (۷). استوانوویک و همکاران گزارش کردند که در بررسی تنوع ریخت‌شناسی پنج جمعیت *T. glabrescens* تغییرات معنی‌داری در طول و عرض برگ و تعداد غده‌های ترشحی برگ مشاهده شده که می‌تواند در برنامه‌های اصلاحی مورد توجه باشد (۱۲). در جریان متداول کردن زراعت گیاهان دارویی، بررسی‌های سازگاری این گیاهان به شرایط اقلیمی مختلف و جنبه‌های تکنیکی زراعی، اصلاحی، فرآوری، خشک کردن، ارزیابی مواد مؤثره دارویی و استاندارد کردن آنها از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (۱۶).

شناخت توده‌های محلی (فرم‌های اولیه) و حفاظت شده (فرم‌های ثانویه) و انتخاب بهترین و مناسب‌ترین پایه‌ها از بین این توده‌ها و مقایسه با رقم‌های ثبت شده جهانی، ارزش بسیاری در اصلاح آویشن دارد، بطوری‌که بررسی مواد مؤثره و تولید ارقام پر محصول اهمیت زیادی دارند (۶). دورگ‌گیری از مهمترین روش‌های به نژادی تمام گیاهان است و برای انجام دورگ‌گیری آگاهی و مقایسه خصوصیات مورفولوژیکی و میکروسکوپی توده‌ها و ارقام پر محصول خارجی در شرایط آب و هوایی ایران لازم و ضروری است. با توجه به اینکه در خصوص کرک‌های آویشن چنین اقدامی تاکنون صورت نگرفته است، شناسایی این خصوصیات می‌تواند سهم بزرگی در اصلاح این گیاه دارویی با ارزش داشته باشد.

مواد و روش‌ها

بذور آویشن باغی و دو توده آویشن خراسانی

دو توده بذری متفاوت آویشن خراسانی یکی حاصل جمع‌آوری از رویشگاه طبیعی آن در شمال خراسان، منطقه تیوان، و توده دیگر حاصل از بذور جمع‌آوری شده از یک توده زراعی در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد بودند و بذور آویشن باغی از بانک ژن موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور تهیه گردید. بذور در اواخر بهمن سال ۱۳۹۳ در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه فردوسی مشهد در لیوان‌های یکبار مصرف کشت شدند. قبل از کاشت نشاها در زمین عملیات آماده‌سازی زمین انجام شد. در اسفندماه نشاهای حاصل از گلخانه به زمین اصلی منتقل گردید. فاصله بوته‌ها روی ردیف ۳۰ سانتی‌متر و بین ردیف‌ها ۵۰ سانتی‌متر در نظر گرفته شد. آبیاری مزرعه بر اساس نیاز گیاه به صورت غرقابی و با توجه به شرایط آب و هوایی منطقه انجام گرفت. مراقبت‌های لازم در طی فصل رشد انجام و در طی فصل رشد، صفات مورفولوژیکی مورد مطالعه و

یادداشت‌برداری قرار گرفتند.

مطالعه میکرومورفولوژی برگ با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)[1]

در ابتدا یک سانتی‌متر مربع از نمونه را در glutaraldehyde و tetraoxydeosmium تثبیت و سپس با استفاده از الکل اتیلیک (۳۵، ۵۰، ۷۰، ۹۰ و ۹۵ درصد، هر بار ۱۵ دقیقه و الکل خالص سه بار هر بار ۲۰ دقیقه) بدنبال آن با استون انیدریک دهیدراته شد. سپس نمونه‌های دهیدراته شده با استفاده از طلا با ضخامت لایه ۳۰- ۶۰ آنگستروم پوشانده و در نهایت با میکروسکوپ الکترونی روبشی(SEM) مدل Leo 1450 VP در آزمایشگاه مرکزی دانشگاه فردوسی مشهد مورد مطالعه قرار گرفتند. صفات نوع و اندازه کرک‌های برگ اندازه‌گیری شد (۵).

اندازه‌گیری میزان اسانس

به منظور استخراج اسانس، ۱۰۰ گرم از سرشاخه‌های خشک گیاه در مرحله گلدهی کامل انتخاب و خرد شد و طبق فارماکوپه بریتانیا به مدت ۴ ساعت به کمک دستگاه کلونجر و با استفاده از روش تقطیر با آب، اسانس‌گیری شد. پس از پایان اسانس گیری، درصد اسانس نمونه‌ها نسبت به وزن خشک به صورت حجمی- وزنی محاسبه شد. سپس جداسازی اسانس با سرنگ مخصوص جمع‌آوری و توسط سدیم سولفات بدون آب، آبگیری و تا زمان آنالیز توسط دستگاه کروماتوگراف گازی (GC) و کروماتوگراف گازی مجهز به طیف سنجی‌جرمی (GC/MS) در ظروف شیشه ای تیره در دمای یخچال نگهداری شد.

برای شناسایی ترکیبات موجود در اسانس استخراج شده از دستگاه کروماتوگراف گازی (GC) و کروماتوگراف گازی مجهز به طیف سنجی‌جرمی (GC/MS) استفاده شد (۱).

آنالیز آماری

این آزمایش به صورت طرح بلوک کامل تصادفی با ۳ تیمار و ۴ تکرار (هر تکرار شامل ۹ بوته) انجام شد. برای تجزیه واریانس صفات ریخت‌شناسی از نرم‌افزار SAS استفاده شد. میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد مقایسه شدند.

نتایج

خصوصیات بیوشیمیایی

درصد اسانس آویشن باغی نسبت به دو توده آویشن خراسانی مورد مقایسه آماری قرار گرفته و اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد مشاهده شد. نتایج نشان داد که بیشترین میزان اسانس مربوط به نمونه آویشن باغی (۲/۴۲ درصد) و کمترین درصد اسانس مربوط به آویشن خراسانی توده A (۱/۱۷ درصد) بود. مطابق جدول ۱ اسانس گیاه آویشن باغی دارای ۳۱ ترکیب و اسانس آویشن‌های خراسانی دارای ۲۷ ترکیب بودند. ترکیب‌های عمده اسانس شامل تیمول و کارواکرول بوده و ترکیب‌های بورنئول، پارا- سایمن، ۱ و ۸- سینئول و کامفن نیز با درصد کمتری مشاهده شد. مطابق اطلاعات موجود در جداول، بالاترین میزان ترکیب تیمول که اولین ترکیب مهم اسانس آویشن می‌باشد برابر ۶۴/۷۵ درصد و در نمونه آویشن باغی حاصل شد و بیشترین مقدار ترکیب کارواکرول که دومین ترکیب مهم می‌باشد در توده B آویشن خراسانی با ۱۲/۳ درصد مشاهده شد.

خصوصیات مورفولوژیکی

بر اساس جدول تجزیه واریانس (جدول ۱) صفات طول و عرض برگ، نسبت طول به عرض برگ، ارتفاع بوته، طول گل و غنچه، تعداد ساقه هوایی، بزرگترین قطر تاج پوشش، فاصله دومین میانگره و طول گل‌آذین در سطح ۵ درصد معنی‌دار شدند ولی صفات تعداد گل، عملکرد تر و خشک قسمت‌های هوایی بوته معنی‌دار نبود. مقایسه میانگین صفات مورد مطالعه نشان داد که بیشترین طول گل مربوط به توده A آویشن خراسانی (۷/۵ میلی‌متر) و کمترین آن در آویشن باغی (۵/۱ میلی‌متر) بود. حداکثر طول غنچه در آویشن خراسانی توده A (۴/۲۵ میلی‌متر) و حداقل آن در آویشن باغی (۱/۵ میلی‌متر) مشاهده شد. طول و عرض برگ به ترتیب در آویشن خراسانی توده A و B بیشترین (۰/۸۲ و ۰/۳۲ سانتی‌متر) و آویشن باغی کمترین را (۰/۴ و ۰/۱۵ سانتی‌متر) دارا بود. بر اساس نتایج تجزیه واریانس بدست آمده عملکرد تر و خشک بوته معنی‌دار نشد ولی آویشن باغی بیشترین عملکرد را (۲۵۸/۵۲ و ۸۳/۵۷ گرم) داشتند. بیشترین ارتفاع گیاه مربوط به بوته‌های آویشن باغی با ۷۴/۲۵ سانتی‌متر و کمترین ارتفاع مربوط به توده A آویشن خراسانی با ۳۵/۲۵ سانتی‌متر بود. طول گل و طول غنچه در توده A آویشن خراسانی بیشترین (به ترتیب ۶ و ۳/۵ سانتی‌متر) و در آویشن باغی کمترین طول (به ترتیب ۳/۵ و ۱/۵ سانتی‌متر) را دارا بود. بیشترین طول گل‌آذین مربوط به آویشن باغی (۴/۹ سانتی‌متر) و بیشترین فاصله میانگره مربوط به توده A آویشن خراسانی (۰/۸۷۵ سانتی‌متر) بود. بوته‌های آویشن باغی به طور میانگین دارای بزرگترین قطر تاج پوشش (۷۳/۵ سانتی‌متر) و توده A آویشن خراسانی دارای کوچکترین قطر تاج (۳۹/۷۵ سانتی‌متر) بودند. بیشترین تعداد ساقه هوایی مربوط به بوته‌های آویشن باغی (۱۱۰) بود.

1- Scanning Electron Microscopy

جدول ۱- درصد اجزا تشکیل دهنده اسانس توده‌های آویشن خراسانی و باغی

Table 1- Composition percentage of essential oils of *T. transcaspicus* and *T. vulgaris*

شماره Number	ترکیب‌ها Components	اندیس بازداری Retention index	*T. vulgaris*	*T. transcaspicus* A	*T. transcaspicus* B
1	α-Thujene	928	0.2	1.02	0.91
2	α-Pinene	934	0.17	1.66	1.25
3	Camphene	950	1.01	5.33	3.78
4	Sabinene	973	1.02	-	-
5	1-Octen-3-ol	976	0.5	0.5	0.8
6	β-Pinene	978	0.36	1.6	2.03
7	Myrcene	990	0.12	0.95	0.51
8	α-Phellandrene	1002	-	0.4	0.1
9	α-Terpinene	1015	0.48	2.88	1.89
10	P-Cymene	1024	4.05	6.1	4.3
11	1,8- Cineol	1033	0.4	0.22	0.37
12	γ-Terpinene	1057	2.89	8.02	6.9
13	(E)-Sabinene hydrate	1061	1.05	0.98	0.92
14	Terpinolene	1087	3.02	0.3	0.1
15	Linalool	1098	1.3	-	0.2
16	Camphor	1143	0.52	1.07	1.6
17	Borneol	1161	0.2	2.01	2.3
18	Thymol methyl ether	1237	2.06	0.3	-
19	Carvacrol methyl ether	1241	0.17	0.55	0.51
20	Thymol	1293	64.75	48.02	50.77
21	Carvacrol	1303	6.78	10.06	12.3
22	β-Bourbonene	1358	-	0.2	0.5
23	β-Caryophyllene	1417	2.9	0.49	0.36
24	Aromadendrene	1439	1.05	0.5	0.2
25	α-Humulene	1454	0.35	-	0.1
26	Germacrene-D	1473	0.41	0.1	-
27	Bicyclogermacrene	1496	0.09	-	-
28	β-Bisabolene	1503	0.14	2.6	1.9
29	γ-Cadinene	1510	0.25	0.4	0.8
30	δ-Cadinene	1522	0.54	0.6	0.7
31	(E)-α-Bisabolene	1533	0.74	-	-
32	Caryophyllene oxide	1581	0.05	0.2	0.1
33	10-epi-γ-eudesmol	1621	0.5	-	-
	Total (%)		98.07	97.06	96.2

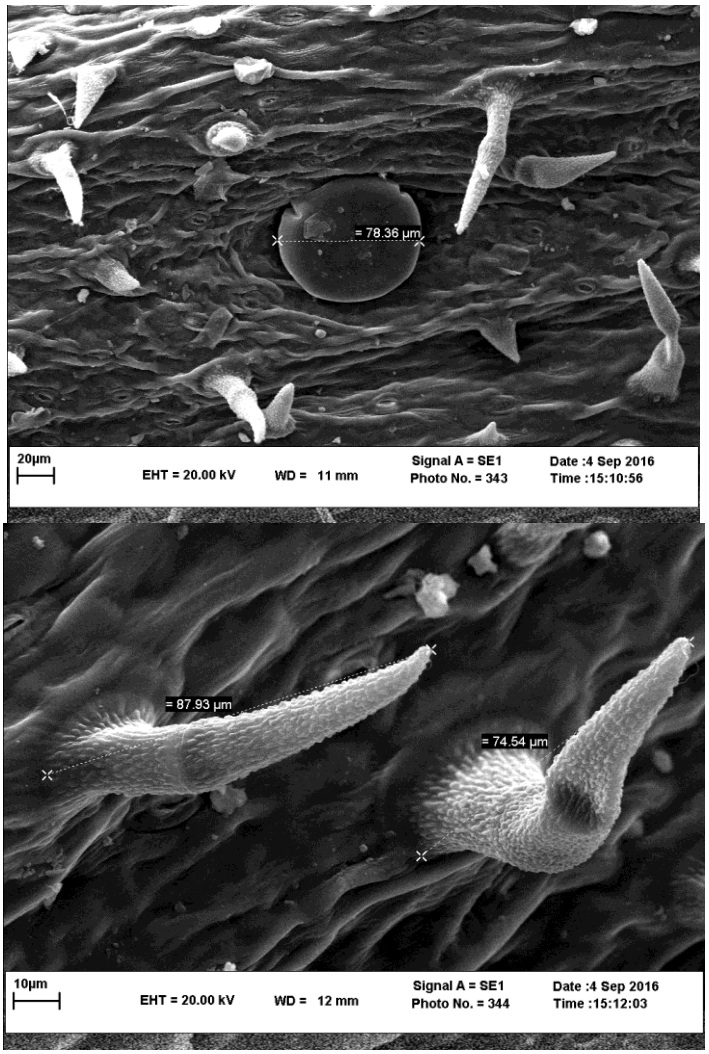
خصوصیات میکروسکوپی

نتایج حاصل از بررسی تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) نشان داد که در اپیدرم تحتانی برگ‌های آویشن‌ها از نظر ریخت‌شناسی علاوه بر کرک‌های پوششی، کرک‌های غده‌ای از نوع کرک سپری نیز مشاهده می‌گردند. اندازه کرک‌های سپری و پوششی، پراکنش و تراکم کرک‌ها در برگ آویشن‌های مختلف متفاوت بود و ساختار و تعداد سلول‌های سازنده هر بخش در کرک پوششی بین برگ‌های آویشن‌های مختلف، متفاوت بود. کرک‌های سپری از نوع کرک‌های بدون پایه بودند. بیشترین پراکنش و تراکم هر دو نوع کرک در آویشن باغی مشاهده شد (شکل ۳). ساختار و تعداد سلول‌های سازنده کرک‌های پوششی آویشن باغی متفاوت است. بزرگترین اندازه کرک پوششی در برگ توده A آویشن خراسانی (۸۶/۲۴ میکرومتر) و کوچکترین اندازه مربوط به توده B آویشن خراسانی (۵۴/۰۶ میکرومتر) بود. بزرگترین و کوچکترین اندازه کرک سپری به ترتیب در برگ آویشن‌های توده B آویشن خراسانی (۹۸/۵۸ میکرومتر) و آویشن باغی (۷۳/۱۱) مشاهده شد (شکل‌های ۲ و ۳).

بحث

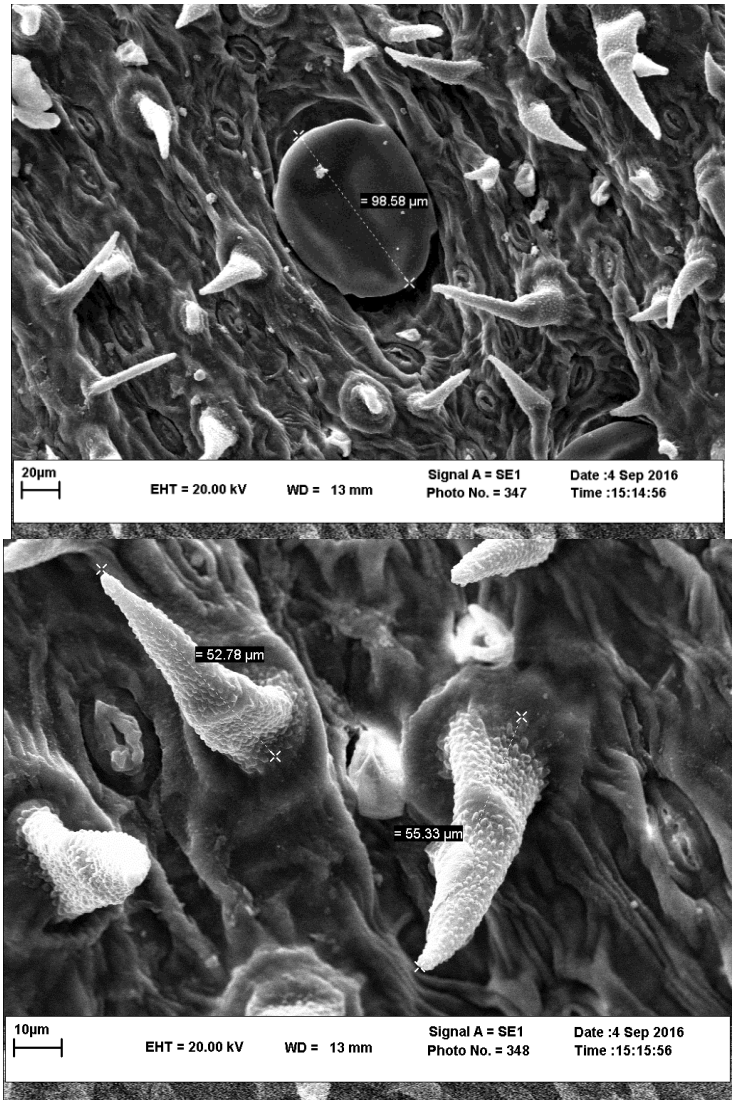
با توجه به نتایج مقایسه میانگین‌های صفات بین گونه‌های آویشن، می‌توان گفت که توده A آویشن خراسانی دارای بیشترین طول و عرض برگ، طول گل و غنچه بود و آویشن باغی دارای بیشترین درصد اسانس، ارتفاع بوته، بزرگترین قطر تاج پوشش، عملکرد تر و خشک بود. افلاکیان و همکاران (۱۳۹۱) با مطالعه اکوتیپ‌های مختلف آویشن دنایی که از سه استان اصفهان، مرکزی و

لرستان جمع‌آوری شده بود بیان کردند که اکوتیپ خرم آباد ۱ از نظر عملکرد بوته به سایر اکوتیپ‌ها برتری دارد و مهمترین عوامل اثرگذار بر عملکرد، صفات قطر تاج پوشش، طول برگ و عرض برگ هستند (۲). مطالعات یاوری و همکاران (۲۰۱۰) نشان داده است که آویشن‌های رویشگاه های مختلف استان‌های غربی از نظر میانگین طول ساقه گلدار، طول دومین میانگره، طول و عرض برگ، طول گل آذین، طول کاسه و جام گل و بازده متوسط اسانس با هم متفاوت هستند. محل رویش و نمو گیاهان دارویی، از لحاظ ارتفاع از سطح دریا، شیب و عرض جغرافیایی و تأثیری که این عوامل بر دما، نو و رطوبت نسبی می‌گذارند، در متابولیسم گیاهان دارویی و تغییرات سنتز مواد مؤثره آنها اهمیت زیادی دارد. در جریان متداول کردن زراعت گیاهان دارویی، بررسی‌های سازگاری این گیاهان به شرایط اقلیمی مختلف و جنبه‌های اگروتکنیکی، اصلاحی، فراوری، خشکانیدن، ارزیابی مواد موثره دارویی و استاندارد کردن آنها از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (۱۶). کرک‌های غده‌ای ساختارهای ترشحی تخصص یافته‌ای هستند که تولید اسانس به وجود آنها بستگی دارد. در گیاهان تیره نعنا کرک‌های غده‌ای مهمترین ساختار ترشحی محسوب می‌شوند و به طور وسیعی روی اندام‌های هوایی رویشی و زایشی توزیع شده‌اند ولی جزئیات ساختاری آنها در بین گونه‌های تیره نعنا متفاوت است. با توجه به اهمیت فراوان صنعتی و دارویی گیاه آویشن تا به حال تحقیقی در مورد ساختار تشریحی و پراکنش کرک‌های غده‌ای آن در ایران صورت نگرفته است.



شکل ۱- تصاویر میکروسکوپی الکترونی از اپیدرم تحتانی برگ بوته‌های آویشن خراسانی توده A
تصویر بالا: کرک سپری در ابعاد ۲۰ میکرومتر تصویر پایینی: کرک پوششی در ابعاد ۱۰ میکرومتر

Figure 1- SEM micrographs showing the leaf adaxial epidermis of *T. transcaspicus* A landrace
Above image: the peltate trichomes in scale 20 µm, Bottom image: the capitate trichomes in scale 10 µm.



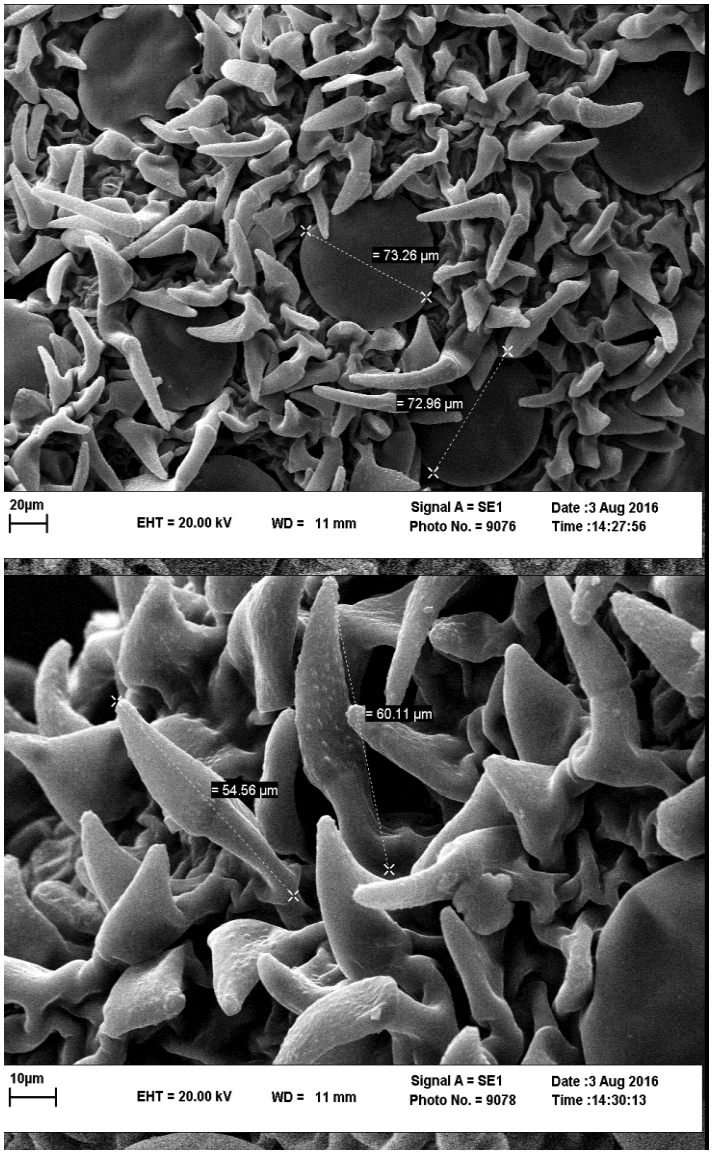
شکل ۲- تصاویر میکروسکوپی الکترونی از اپیدرم تحتانی برگ بوته‌های آویشن خراسانی توده B
تصویر بالا: کرک سپری در ابعاد ۲۰ میکرومتر تصویر پایین: کرک پوششی در ابعاد ۱۰ میکرومتر
Figure 2- SEM micrographs showing the leaf adaxial epidermis of *T. transcaspicus* B landrace
Above image: the peltate trichomes in scale 20 µm, Bottom image: the capitate trichomes in scale 10 µm.

این پژوهش برای نخستین بار در ایران کرک‌های غده‌ای و پوششی آویشن را با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی، مورد بررسی قرار داده است. در اکثر گیاهان تیره نعنا سطح اندام‌های رویشی و زایشی از کرک‌های غده‌ای و پوششی پوشیده شده است (۳). در برگ‌های گیاه آویشن‌های باغی و خراسانی نیز دو نوع کرک پوششی و غده‌ای مشاهده گردید. که هر سه نوع آویشن دارای کرک‌های پوششی ۱، ۲ یا ۳ سلولی هستند که طول آنها متفاوت است ولی تراکم این کرک‌ها در آویشن باغی بیشتر می‌باشد. کرک‌های غده‌ای نیز از نوع سپری بدون پایه تشخیص داده شد. جیا و همکاران گزارش کردند که در *T. quinquecostatus* سه نوع کرک غده‌ای وجود دارد که شامل کرک سپری، رأسی و انگشت مانند می‌باشد (۱۱). در گیاه مریم گلی کرک‌های پوششی از ۲ تا ۴ سلول تشکیل شده‌اند که در بالای سلول پایه‌ای بزرگ قرار گرفته‌اند (۱۴). در ریحان نیز کرک‌های پوششی یک ردیفی، نوک دار، مستقیم یا عصایی شکل و دارای ۴ تا ۵ سلول با دیواره ضخیم وجود دارند (۵). بنابراین ساختار ترشحی کرک‌های پوششی در آویشن‌های باغی و خراسانی با سایر گونه‌های متعلق به تیره نعنا مطابقت زیادی دارد.

نتیجه‌گیری

نتایج نشان داد که صفاتی مانند طول دومین میانگره، طول و

عرض برگ، تراکم، سایز و نوع کرک‌ها در برگ و ارتفاع گیاه از مهمترین صفات رویشی بودند که که در بین تیمارها دارای تنوع بود. با در نظر گرفتن این نکته که تولید و ذخیره اسانس و قسمت استفاده شده جهت استخراج اسانس اغلب سرشاخه‌های گلدار این گیاه است، طول گل‌آذین، طول و عرض برگ نقش مهمی در بازده تولید اسانس دارد و از نظر کشت، تولید و برداشت گیاهان دارویی ارزش بالایی دارد. بالا بودن ارتفاع گیاه امکان برداشت مکانیزه توسط ماشین‌های برداشت را فراهم می‌کند که می‌تواند در برنامه‌های اصلاحی مورد توجه قرار گیرد.



شکل ۳- تصاویر میکروسکوپی الکترونی از اپیدرم تحتانی برگ بوته‌های آویشن باغی
تصویر بالا: کرک سپری در ابعاد ۲۰ میکرومتر تصویر پایین: کرک پوششی در ابعاد ۱۰ میکرومتر
Figure 3- SEM micrographs showing the leaf adaxial epidermis of *T. vulgaris*
Above image: the peltate trichomes in scale 20 µm, Bottom image: the capitate trichomes in scale 10 µm.

از نظر صفات زایشی صفاتی همچون تعداد گل در گل آذین، طول گل و غنچه می‌تواند مورد توجه قرار گیرند، زیرا بخش‌های زایشی از محل‌های انباشت اسانس محسوب می‌شوند به طوری‌که در اکثر گیاهان تیره نعنا میزان متوسط اسانس موجود در بافت‌های گیاهی در آغاز گلدهی رو به افزایش است که دلیل عمده‌ی ان مقدار اسانس بیشتر موجود در گل آذین‌هاست (۱۰). با شناسایی و مشخص

شدن توده‌هایی که دارای ویژگی‌های مطلوب و مورد نظر اصلاح‌گران می‌باشد می‌توان در برنامه‌های اصلاحی گیاه آویشن مورد استفاده قرار داد. با توجه به نتایج بدست آمده با دورگ‌گیری از آویشن باغی به عنوان پایه، می‌توان خصوصیات مطلوب آویشن باغی مانند ارتفاع بوته، بزرگترین قطر تاج پوشش، عملکرد تر و خشک و درصد اسانس بیشتر بدلیل غده‌های سپری و پوششی بیشتر به آویشن‌های خراسانی بر اساس برنامه‌های اصلاحی منتقل کرد و می‌توان از این گونه بومی ایران به عنوان جایگزین مناسبی برای گونه اروپایی آویشن باغی جهت مقاصد مختلف، بالاخص کاربردهای دارویی استفاده کرد.

منابع

1. Adams R.P. 2001. Identification of essential oil components by Gas Chromatography and Mass Spectrometry. Allured, USA, 750p.
2. Aflakian S., Zeinali H., Madah Arefi H., Enteshari Sh., and Kaveh Sh. 2012. Study of eleven ecotype yield daenensis thyme (*Thymus daenensis* Celak). Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants 28(2): 187-197. (In Persian with English Abstract)
3. Ascensao L., and Marques M. S. 1995. Annals of Botany. 75, 619p.
4. Azizi M., Ghazian Tafreshi G., and Mirmostafaee S. 2015. Breeding of medicinal plants. Nokhost Press. 132p. (In Persian)
5. Bezic N., Dunkic V., and Radonic A. J. 2001. Flar. Frag. 16, 157p.
6. Davazdah Emami S., and Majnonolhosseini N. 2009. Plant and produce of medicinal plants and spice. Tehran of University. 300p. (In Persian with English Abstract)
7. Horwath A.B., Grayer R.J., Keith-Lucas D.M., and Simmonds M.S. 2008. Chemical characterization of wild populations of *Thymus* from different climatic regions in south-east Spain. Biochemical Systematics and Ecology 36(2): 117-133.
8. Jamzad Z. 2010. *Thymus* and *Satureja* of Iran. Press of Forests and Meadows of Country. Tehran. P. 171. (In Persian)
9. LÓPEZ-PUJOL J.O.R.D.I., Bosch M., Simon J., and Blanche C. 2004. Allozyme diversity in the tetraploid endemic *Thymus loscosii* (Lamiaceae). Annals of Botany 93(3): 323-332.
10. Majd A., Nejad Satari T., Khavari Nejad R., and Dousti B. 2010. Study of qualitative and quantitative changes of volatile compounds Savory Khuzestan (*Satureja khuzistanica* Jamzad) during plant development and antimicrobial properties of essential oils in terms of In vitro. Journal of Islamic Azad University. 18: 51-60. (In Persian with English Abstract)
11. Ping J., Hanzhu L., Ting G., and Hua X. 2013. Glandular Trichomes and Essential Oil of *Thymus quinquecostatus.* The Scientific World Journal 1-9.
12. Stevanovic D., Sostaric I., Marin P.D., Stojanovic D., and Ristic M. 2008. Population variability in *Thymus glabrescens* Willd. From Serbia: morphology, anatomy and essential oil composition. Archives of Biological Science Belgrade. 60(3): 475-483.
13. Vejdani H. 2002. Investigation produce and export of Iranian medicinal plant. National congress on medicinal plants of Iran. Karaj. Institute of research Forests and Meadows of Country. (In Persian with English Abstract)
14. Venkatachalam K. V., Kjonass R., and Croteao R. 1984. Plant Physiology. 76, 148p.
15. Vernet P., Gouyon R. H., and Valdeyron G. 1986. Genetic control of the oil content in *Thymus vulgaris* L: a case of polymorphism in a biosynthetic chain. Genetica, 69(3), 227-231.
16. Yavari A., Nazari V., and Hassani M. 2010. Study of some ecological characteristics, morphological and essential oil content of thyme in Azarbijan. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants 2: 227-239. (In Persian with English Abstract)

Journal of Horticultural Science
Vol. 33, No.4, Winter 2020, P. 567-576
ISSN: 2008 - 4730

نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۳، شماره ۴، زمستان ۱۳۹۸، ص. ۵۷۶-۵۶۷
شاپا: ۴۷۳۰ - ۲۰۰۸

A Comparison of Morphological Characteristics, Composition and Essential Oils Content of *Thymus vulgaris* and Two Landraces of *Thymus transcaspicus* in Mashhad Region Climate

S. Mohammadi[1]**- M. Azizi**[2]***- J. Vaezi**[3]

Received: 13-03-2017
Accepted: 06-01-2018

Introduction: Thyme is a perennial plant belongs to Lamiaceae. *Thymus* is a well–known medicinal plant, native to Southern Europe and its essential oil is manufactured commercially for use in cough drops, mouth-washes, liniments, toothpastes, detergents and perfumes. The herb is approved by Commission E in the treatment of bronchitis, whooping cough and upper respiratory inflammation. The *Thymus* genus comprises over 300 species of which, 18 are found in Iran, which grow wild in many regions and four of them are endemic. There are serious difficulties in the taxonomical interpretation of the taxa belonging to the genus *Thymus* owing to the high variability of populations with respect to many morphological and micro-morphological traits. The morphology and different components of essential oils in different species of *Thymus* are variable due to hybridization and polyploidization, despite its rare self-pollination. In general, intraspecific hybrids of the genus *Thymus* seem to possess intermediate morphological characteristics and composition of essential oil in comparison with the relevant characteristics of the parent plants. The accumulation of the essential oil takes place in gland hairs, which are distributed on the surface of the epidermis of the aerial parts of the plant. The content of the essential oil can depend on origin, climate, harvest, as well as drying and storage conditions. By carefully examining the structural, phenotypic, chemical and genetic aspects of the natural populations of a plant, it is possible to select either them or samples from them as an important step in the process of breeding the desired medicinal plant.

Material and Methods: In order to have a comparison microscopically and morphologically characteristics of *Thymus vulgaris*, two landraces of *Thymus transcaspicus* were studied in completely randomized design with four replications at the faculty of Agriculture in Ferdowsi University of Mashhad. Inflorescence length, number of flowers per inflorescence, shoot height, leaf, bud and flower length, leaf width, the largest diameter of canopy, weight, fresh and dry herb yield, percent of essential oil, distinct and type of trichomes, were measured. For glands morphological and structure analysis leaves were processed according to conventional techniques for scanning electron microscopy (SEM). In order to obtain comparable results the leaves from the third node of the apex were used for SEM analyses. Leaf samples were fixed in glutaraldehyde and paraformaldehyde. After being dehydrated, they were coated with gold in the vacuum evaporator. Finally, the preparations were observed and photographed with a KYKY-2800B SEM.

Results and Discussion: The ANOVA of the data showed that there was considerable variation for all studied characters. Results of mean comparisons showed that the highest height, the largest diameter of canopy and percent of essential oil were for *T. vulgaris*. Maximum inflorescence length, number of flowers per inflorescence, leaf, bud and flower length, leaf width, was also recorded for *T. transcaspicus*. Results of essential oil (EOs) analysis by GC/MS showed that thymol and carvacrol were the major compounds of all EOs samples, with highest and lowest content observed thymol and carvacrol in *T. vulgaris* (64.75 and 6.78 %). *T. vulgaris* produced more essential oil as compared to another thyme species. Two types of glandular trichomes are distributed on the outside surface of leaf, namely, peltate ones (PGTs) and capitate ones (CGTs). The glandular hairs of Lamiaceae likely release various secretions, such as the essential oil and polysaccharide. When trichomes got matured, essential oil could be found on all of the glandular trichomes on aerial organs of *Thymus*. Besides essential oil, what else trichomes could secrete needs further study.

Conclusion: The essential oil is highly complex chemical compounds. The content and composition of it vary depending on season, growing conditions, and plant species. High essential oil content is related to a much

۱ and 2- Ph.D. Student and Professor, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, respectively
(*- Corresponding Author Email: azizi@um.ac.ir)
3- Associate Professor, Department of Biology, Faculty of Science, Ferdowsi University of Mashhad

secretion of glandular trichomes. An application for variety protection was filed for '*T. vulgaris*', now recommended to producers in Mashhad interested in a thymol-rich thyme. We can carry out a selection program to optimize quality and yield of thyme (*T. transcaspicus* L.) landraces, with used of *T. vulgaris* and crossing with clones of *T. transcaspicus*.

Keywords: SEM, T. transcaspicus, Thymus vulgaris