

Comparative Phytochemical Analysis of Shirazi Thyme Medicinal Plant (*Zataria multiflora* Boiss) in Cultivated and Natural Habitats

Alireza Mahmoodi^{*1}, Kamal Gholamipourfard²

1. Corresponding author; Assistant Prof., Department of Natural Resources Engineering, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Darab, Shiraz University, Darab, Iran. E mail: Mahmoodi_150@yahoo.com

2. Assistant Prof., Assistant Prof., Department of Plant Production, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Darab, Shiraz University, Darab, Iran.

Article Info

Article type:

Research Full Paper

Article history:

Received: 12.12.2022

Revised: 05.05.2023

Accepted: 10.05.2023

Keywords:

Celevenger,
Labiataeae,
essential oil,
chemical compounds.

Abstract

Background and Objectives: Shirazi thyme (*Zataria multiflora* Boiss) is a widely consumed and exported medicinal plant in Iran. It is primarily grown in the central and southern regions of Iran, as well as parts of Pakistan and Afghanistan. Studies have shown that this plant possesses immunomodulatory, analgesic, anti-inflammatory, antioxidant, antibacterial, antiviral, and disinfectant properties. It is also used in traditional medicine for its antifungal effects and to alleviate pain, treat infectious diseases, and address digestive problems. Due to the high demand, extensive harvesting, and indiscriminate collection from southern pastures, this valuable plant is facing the risk of extinction. Therefore, cultivation efforts are being undertaken. This research aims to compare the quantity and quality of essential oil in ecological and agricultural samples of Shirazi thyme.

Methodology: Flowering branches of the plant were collected from the Marwarid area of Darab city in Fars province. Additionally, a cultivated sample was obtained from the research farm located in the Faculty of Agriculture and Natural Resources in Darab. Essential oil was extracted using the distillation method with water, and gas chromatography (GC) was used for analysis. The essential oil was obtained by distilling 100 grams of crushed flowering branches using a Celevenger device for 3 hours in the medicinal plants laboratory of the Faculty of Agriculture and Natural Resources in Darab. Gas chromatography-mass spectrometry (GC/MS) was employed to identify essential oil compounds.

Results: The relative percentage of each constituent compound in the essential oils was determined based on the area under the curve in the chromatogram spectrum. The comparison of essential oil compositions between agricultural and natural conditions revealed their similarity. In the cultivated sample of *Zataria multiflora* Boiss, 40 compounds were identified, while the sample collected from the natural habitat contained 32 compounds. The yield of essential oil in the cultivated sample was 1.3%, with the main compounds being linalool (54.33%), carvacrol (24.83%), and thymol (2.48%). The essential oil from the plant sample had a yield of 1.7%, with the major compounds being thymol (51.20%), carvacrol (20.08%), paracimen (7.74%), and gammaterpinene (7.25%). A comparison of the two essential oils indicated that linalool and carvacrol were the predominant compounds in the cultivated sample, while thymol and carvacrol were dominant in the wild sample. Oxygenated monoterpenes were the main group of constituents in the essential oil, followed by hydrocarbon monoterpenes and sesquiterpenes, with hydrocarbons

having a smaller share. The essential oil composition of the cultivated sample showed an increase in carvacrol compared to the wild sample, while the essential oil of the wild sample exhibited a 58% increase in thymol composition compared to the cultivated sample.

Conclusion: Considering the economic importance of Shirazi thyme, the higher content of essential oil in the cultivated sample compared to the wild sample, and the presence of significant carvacrol and linalool compounds in the cultivated sample, it is recommended to prioritize the domestication of this species and its introduction into agricultural and rangeland management systems. Furthermore, the cultivation of this plant should be encouraged in biological restoration projects of rangelands to promote employment and empower rangeland owners.

Cite this article: Mahmoodi, A., K. Gholamipourfard, 2023. Comparative Phytochemical Analysis of Shirazi Thyme Medicinal Plant (*Zataria multiflora* Boiss) in Cultivated and Natural Habitats. *Journal of Rangeland*, 17(2): 232-246.



© The Author(s).

DOR: 20.1001.1.20080891.1402.17.2.5.6

Publisher: Iranian Society for Range Management

مقایسه فیتوشیمیایی نمونه زراعی و مرتعی گیاه دارویی آویشن شیرازی (*Zataria multiflora* Boiss.)

علیرضا محمودی^{۱*}، کمال غلامی پور فرد^۲

۱. نویسنده مسئول، استادیار گروه مهندسی طبیعت، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دارب، دانشگاه شیراز، داراب، ایران. رایان نامه:

Mahmoodi_150@yahoo.com

۲. استادیار گروه تولیدات گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دارب، دانشگاه شیراز، داراب، ایران.

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله: مقاله کامل - پژوهشی تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۹/۲۱ تاریخ ویرایش: ۱۴۰۲/۰۲/۱۵ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۲/۲۰ واژه‌های کلیدی: کلونجر، نعنائیان، اسانس، ترکیب‌های شیمیایی.	سابقه و هدف: آویشن شیرازی به عنوان یکی از پرمصرف‌ترین و صادراتی‌ترین گیاهان دارویی ایران شناخته می‌شود. این گیاه تنها در مراتع مناطق مرکزی و جنوبی ایران، قسمت‌هایی از پاکستان و افغانستان به صورت خودرو می‌روید. بررسی‌ها نشان داده است گیاه دارای اثرات افزایش قدرت ایمنی، ضد درد، ضد التهابی، آنتی اکسیدان، ضد باکتری، ضد ویروسی، ضد عفونی کننده و ضد قارچی است. قیمت بالا، فروش زیاد و برداشت بی‌رویه و غیراصولی این گیاه از مراتع جنوبی ایران، ادامه حیات این گیاه با ارزش را در معرض خطر قرار داده است، به همین خاطر کاشت زراعی این گیاه در دستور کار قرار گرفته شده است. در همین راستا هدف از تحقیق حاضر مقایسه کمی و کیفی اسانس نمونه رویشگاهی و زراعی این گونه است. مواد و روش‌ها: سرشاخه‌های گلدار گیاه از منطقه مروارید شهرستان داراب در استان فارس و همچنین نمونه کاشته شده از مزرعه تحقیقاتی واقع در دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی داراب جمع‌آوری گردید و با روش تقطیر با آب و گاز کروماتوگراف متصل شده به (GC) اسانس‌گیری شد. به منظور استخراج اسانس، ۱۰۰ گرم سرشاخه‌های گلدار خرد شده توسط آسیاب، به روش تقطیر با آب به کمک دستگاه کلونجر (Clevenger) به مدت ۳ ساعت، در آزمایشگاه گیاهان دارویی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی شهرستان داراب اسانس‌گیری انجام شد. برای شناسایی ترکیب‌های اسانس از دستگاه‌های گاز کروماتوگرافی (GC/Mas) استفاده شد. نتایج: در اسانس <i>Zataria Multiflora</i> Boiss. نمونه زراعی ۴۰ ترکیب و در نمونه جمع‌آوری شده از رویشگاه مرتعی ۳۲ ترکیب شناسایی شدند. درصد بازده اسانس در نمونه کاشته شده ۳/۱ درصد و بیشترین ترکیب‌های شیمیایی موجود در آن شامل لینالول (۵۴/۳۳ درصد)، کارواکرول (۲۴/۸۳) و تیمول (۲/۴۸ درصد) است. در اسانس نمونه مرتعی بازده اسانس ۱/۷ درصد و بیشترین ترکیب‌های اسانس تیمول (۵۱/۲۰ درصد)، کارواکرول (۲۰/۰۸ درصد)، پاراسیمین (۷/۷۴ درصد) و گاماترپینین (۷/۲۵ درصد) وجود دارند. مقایسه دو اسانس نشان می‌دهد در نمونه کاشته شده لینالول (Linalool) و کارواکرول (Carvacrol) و در نمونه رویشگاه تیمول (Thymol) و کارواکرول بیشترین ترکیب‌ها هستند. از نظر ترکیب اسانس در نمونه کاشته شده کارواکرول در مقایسه با نمونه رویشگاه افزایش نشان داد. ترکیب تیمول نیز در اسانس نمونه رویشگاه اصلی در مقایسه با نمونه کاشته شده ۵۸ درصد افزایش مقدار نشان داد. نتیجه‌گیری: با توجه به اهمیت اقتصادی گیاه آویشن شیرازی، بالا بودن میزان اسانس آویشن نمونه زراعی شیرازی نسبت به نمونه مرتعی، همچنین به علت بالا بودن ترکیبات با ارزش کارواکرول (Carvacrol) و لینالول (Linalool) در نمونه زراعی، جهت بقا و جلوگیری از خطر این گیاه با ارزش، پیشنهاد می‌شود روند اهلی‌سازی

این گونه و معرفی به سیستم‌های کشاورزی و مرتع داری بایستی در اولویت قرار گیرد. همچنین از این گیاه جهت کاشت در طرح‌های احیاء بیولوژیک مراتع جهت ایجاد اشتغال و توانمندسازی مرتع داران استفاده شود.

استناد: محمودی، ع.، ک. غلامی پور فرد، ۱۴۰۲. مقایسه فیتوشیمیایی نمونه زراعی و مرتعی گیاه دارویی آویشن شیرازی (*Zataria multiflora* Boiss). مرتع، ۱۷(۲): ۲۴۶-۲۳۲.



DOR: 20.1001.1.20080891.1402.17.2.5.6

© نویسندگان

ناشر: انجمن علمی مرتعداری ایران

مقدمه

مراتع علاوه بر تولید علوفه، دارای محصولات فرعی دیگری مانند گیاهان دارویی و صنعتی هستند که بعضی از آنها مانند آنگوزه، شیرین بیان، آویشن و سقز جزو اقلام صادراتی کشور هستند. از میان خانواده‌های مختلف گیاهی، تیره نعنائیان گیاهان دارویی بیشتری را شامل می‌شوند (۲۰). گیاهان دارویی یکی از بزرگترین مواهب خداوند است و ایران به دلیل موقعیت مناسبی که از ذخایر فیلو ژنتیکی (بیش از ۷۵۰۰ گونه گیاهی)، آب و هوایی (۱۱ اقلیم از ۱۳ اقلیم جهان) و جغرافیای سیاسی که دارد، قادر است به جایگاه مهمی در زمینه گیاهان دارویی دست یابد (۳۱). گیاهان دارویی و ژنوتیپ‌های مختلف آنها در مرتع، بخشی از منابع ژنتیکی و غنای تنوع زیستی بیوم مراتع می‌باشند که می‌تواند به عنوان، منبع تأمین بذر اولیه جهت تکثیر و تولید در عرصه‌های کشاورزی مورد استفاده قرار گیرد. در کشورهای مختلف جهان، منابع ژنتیکی از مهمترین منابع حفاظتی به شمار رفته و برای حفظ رویشگاه‌های طبیعی و حفظ ژن این گونه ها، تمهیدات بسیار سختگیرانه اتخاذ می‌گردد (۵).

Zataria multiflora Boiss. با نام آویشن شیرازی یا

آویشن برگ پهن یکی از شناخته شده ترین گیاهان دارویی از تیره نعنائیان است. این گیاه پراکندگی محدودی در جهان دارد، رویشگاه‌ها و پراکندگی جغرافیایی آویشن شیرازی در ایران، افغانستان و پاکستان می‌باشد (۱۶). این گیاه بومی، چندساله و بوته‌ای بوده که در مناطق مرکزی و جنوبی ایران به طور گسترده‌ای پراکنده شده است، به علت وسعت رویشگاه‌های آن مصارف متعددی در طب سنتی در نقاط مختلف کشور دارد که علاوه بر مصرف خوراکی به عنوان عطر و طعم‌دهنده، در درمان اختلالات گوارشی، زخم‌های موضعی و همچنین به دلیل اثرات ضد احتقان و خلط آور در اختلالات تنفسی و سرماخوردگی نیز استفاده می‌شود (۱۶، ۱۳، ۲۲ و ۳۰). گونه *Z. multiflora* دارای طیف وسیعی از خواص بیولوژیک شامل ضد درد، ضد میکروبی، ضد اسپاسم و اثرات ضد التهابی می‌باشد (۴، ۹ و ۱۲).

مطالعات صورت گرفته بر روی ترکیبات شیمیایی اسانس آویشن شیرازی نشان داد که اسانس آن حاوی مقادیر قابل توجهی از ترکیبات مونوترپنی مانند تیمول،

کارواکرول، لینالول، گاما ترپینن و پاراسیمین بوده است (۲۳). نیکزاد و همکاران (۲۰۲۰) اعلام کردند عصاره آویشن شیرازی دارای غلظت بالایی از ترکیبات فنولیک است که به عنوان آنتی اکسیدان عمل می‌کنند. گزارش‌های اخیر بر روی این گیاه ثابت کرد که اسانس آن دارای خواص ضد انگلی و ضد قارچی بوده است و داروی ارزشمندی برای درمان کیست به شمار می‌رود. آویشن شیرازی برای درمان اختلالات دستگاه تنفسی، اختلالات دستگاه گوارش، تب، درد زودرس زایمان، استخوان و درد مفاصل، سردرد، اسهال، استفراغ و سرماخوردگی استفاده می‌شود (۲۹). فعالیت‌های بیولوژیکی این گیاه به اسانس‌هایی که در غده‌های اپیدرمی برگ‌ها، ساقه‌ها و اندام‌های دیگر ذخیره می‌شوند نسبت داده می‌شود (۱۴). از نقطه نظر پراکنش جغرافیایی این گیاه منحصرأ در کشورهای ایران، افغانستان و پاکستان پراکنش دارد. در ایران در استان‌های اصفهان، یزد، کرمان، بوشهر، فارس، سیستان و بلوچستان، خوزستان و هرمزگان رویش دارد (۲۷). محل رویش این گیاه دارویی، در استان فارس، در شهرستان‌های شیراز، سרוستان، داراب، فسا، جهرم، استهبان، لار و فیروزآباد است (۱۷). آویشن شیرازی در زمین‌های سنگلاخی با خاک کم همراه با سنگریزه‌های کلوئیل و در خاک‌های شنی - لومی یا رسی - لومی با pH برابر ۸، هدایت الکتریکی ۴ میلی‌موس بر سانتی‌متر و میزان آهک ۳۶-۶۵ درصد دیده می‌شود، شروع رشد رویشی از نیمه اول فروردین، گلدهی از نیمه دوم اردیبهشت و بذردهی از نیمه دوم تیرماه است و شروع دوره خواب در گیاه از نیمه دوم شهریورماه است (۳).

با توجه به کاربرد گسترده این گیاه در طب سنتی ایران ضرورت مطالعات بیشتر فیتوشیمیایی بر روی آن به شدت احساس می‌شود. مطالعات مربوط به فیتوشیمیایی، روشی مهم برای طراحی برنامه‌های به‌نژادی گونه‌های مختلف گیاهان دارویی می‌باشد که در مدیریت ژرم‌پلاسم گیاهی و در برنامه‌های حفاظت گونه‌های بومی مؤثر است. شناسایی تنوع ترکیبات شیمیایی اسانس آویشن شیرازی از رویشگاه‌های مختلف می‌تواند در برنامه‌های اهلی‌سازی و کشت برای استفاده در مصارف صنایع مختلف صنعتی، غذایی، دارویی و آرایشی- بهداشتی مفید واقع گردد. گیاهان دارویی خودروی مرتعی در مقایسه با حالت زراعی

اسانس در شرایط رویشگاه طبیعی در مراتع و کشت زراعی انجام شده است.

مواد و روش ها

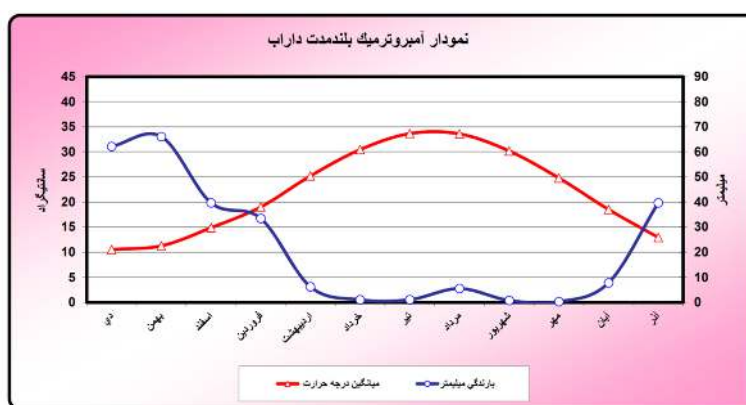
الف) موقعیت رویشگاه طبیعی

رویشگاه طبیعی گیاه آویشن شیرازی در شهرستان داراب منطقه مروارید انتخاب شد. این منطقه در شمال شرق شهرستان داراب، جنوب شرقی استان فارس واقع است (شکل ۱). منطقه مروارید در محدوده عرض جغرافیایی ۲۸ درجه و ۴۵/۳۰ دقیقه تا ۲۸ درجه و ۵۲/۳۱ دقیقه شمالی و طول جغرافیایی ۵۴ درجه و ۳۷/۳۰ دقیقه تا ۵۴ درجه و ۴۵/۳۰ دقیقه شرقی قرار دارد و میانگین بارندگی سالیانه ۲۵۰ میلی‌متر و میانگین درجه حرارت ۲۰ درجه سانتی‌گراد است. برای اطلاع بیشتر از ویژگی‌های اقلیمی شهرستان نمودر آمبروترمیک شهرستان در شکل (۲) آورده شده است (آمار اداره کل هواشناسی استان فارس- ایستگاه هواشناسی حسن آباد داراب). خاک منطقه از رسوبات آبرفتی آهکی تکامل یافته و عمده خاک‌های منطقه شامل انتی سولز و اینسپتی سولز است. مهم‌ترین کاربری اراضی در منطقه شامل اراضی مرتعی، اراضی جنگلی و باغات گل محمدی دیم است. با توجه به شرایط توپوگرافی در این منطقه گیاهان دارویی مختلفی از جمله *Zataria multiflora*, *Achillea*, *Teucrium persicum*, *Zizyphora tenuior*, *Blepharis*, *Artemisia sieberi*, *eriophora persica* و... وجود دارد.

آن از نظر درصد و نوع ترکیبات شیمیایی متفاوت خواهند بود. بر اساس گزارش‌های موجود رشد و عملکرد گیاهان در اکوسیستم‌های مختلف تحت تأثیر عواملی نظیر گونه، اقلیم، خاک و مشخصات جغرافیایی قرار دارد که هر یک از این عوامل می‌تواند تأثیر بسزایی بر کمیت و کیفیت اسانس گیاه داشته باشد (۲۶). اسانس‌ها می‌تواند تحت تأثیر شرایط آب و هوایی، بافت خاک، اندام گیاه، مرحله رشد گیاهان متفاوت باشد. متابولیت‌های ثانویه گرچه اساساً با هدایت فرآیند ژنتیکی ساخته می‌شوند ولی ساخت آنها به طور بارزی تحت تأثیر عوامل محیطی قرار می‌گیرد به طوری که این عوامل سبب تغییراتی در رشد گیاهان، مقدار و کیفیت مواد موثره و اسانس‌ها می‌گردد (۲۶). تفاوت در مقادیر کمی ترکیبات شیمیایی گیاه از جمله ترکیبات فنلی و فلاونوئیدها در بین توده‌های مناطق مختلف می‌تواند ناشی از تنوع ژنتیکی یا شرایط اکولوژی حاکم بر رویشگاه باشد (۳۲). با توجه به قیمت بالای آویشن شیرازی در عطاری‌ها و مراکز فروش، سبب برداشت‌های بی‌رویه‌ای، از این گیاه با ارزش در مراتع شده است. در بعضی از این مناطق، رویشگاه‌هایی طبیعی این گیاه تخریب شده است. در سال‌های اخیر جهت جلوگیری از تخریب رویشگاه‌های طبیعی این گیاه در مراتع و همچنین بحث تولید انبوه و ارزش اقتصادی این گیاه اقدام به کاشت زراعی این گیاه در مناطقی از استان فارس شده است (شهرستان‌های داراب و لارستان). با توجه به اهمیت دارویی گیاه آویشن شیرازی و همچنین بحث کاشت زراعی این گیاه خوددوری مرتعی لذا این تحقیق با هدف مقایسه مواد متشکله اسانس گیاه و درصد هر کدام از ترکیب‌های



شکل ۱: موقعیت رویشگاه طبیعی آویشن شیرازی در شهرستان داراب



شکل ۲: نمودار آمبروترمیک شهرستان داراب (منبع: اداره کل هواشناسی استان فارس)

ب) جمع‌آوری گیاه

نمونه مرتعی آویشن شیرازی در اوایل اردیبهشت ماه از رویشگاه طبیعی از مراتع منطقه مروارید شهرستان داراب در استان فارس جمع‌آوری شد. از نظر اکولوژیک مراتع منطقه مروارید یکی از بهترین رویشگاه‌های آویشن شیرازی در شهرستان داراب است. همچنین نمونه زراعی آویشن شیرازی در اواسط اردیبهشت ماه از مزرعه تحقیقاتی واقع در دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی داراب جمع‌آوری

گردید (اشکال ۲ تا ۶). در هر دو منطقه نمونه‌برداری به وسیله دستگاه موقعیت‌یاب (GPS، مدل Vista، تایوان) ارتفاع از سطح دریا، طول و عرض جغرافیایی اندازه‌گیری شد (جدول ۱).



شکل ۳: نمونه آویشن شیرازی در رویشگاه طبیعی در شهرستان داراب (منبع: نویسنده، ۱۴۰۲)



شکل ۲: نمونه آویشن شیرازی در رویشگاه طبیعی در شهرستان داراب (منبع: نویسنده، ۱۴۰۱)



شکل ۵: نمونه زراعی آویشن شیرازی در شهرستان داراب (منبع: نویسنده، ۱۴۰۱)



شکل ۴: نمونه زراعی آویشن شیرازی در شهرستان داراب (منبع: نویسنده، ۱۴۰۲)



شکل ۶: نمونه زراعی آویشن شیرازی در شهرستان داراب (منبع: نویسنده، ۱۴۰۱)

جدول ۱: خصوصیات رویشگاه طبیعی و کشت شده آویشن شیرازی

میانگین ارتفاع از سطح دریا (متر)	طول جغرافیایی	عرض جغرافیایی	محل جمع آوری
۲۰۰۰	۵۴.۳۷.۳۰	۲۸.۴۵.۴۷	رویشگاه طبیعی (مزارع مروارید داراب)
۱۱۳۵	۵۴.۴۴.۸۶۰	۲۸.۷۵۱.۰۳	منطقه کشت شده (دانشکده کشاورزی داراب)

خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک رویشگاه طبیعی و منطقه کشت شده آویشن شیرازی مانند میزان اسیدیته خاک، میزان هدایت الکتریکی و عناصر خاک، از طریق نمونه برداری خاک و تجزیه و تحلیل اطلاعات ثبت شد جدول (۲).

جدول ۲: خصوصیات فیزیکوشیمیایی خاک مناطق جمع آوری آویشن شیرازی (مرتعی و زراعی)

کاشت زراعی	رویشگاه طبیعی	فاکتورهای اندازه گیری	ردیف
۷/۶	۸/۷۱	اسیدیته pH	۱
۰/۹۰	۰/۱۳	شوری (دس زمینس بر متر) EC	۲
۴۸/۲۸	۴۸	درصد شن	۳
۳۲/۲۸	۳۸	درصد سیلت	۴
۱۹/۴۲	۱۴	درصد رس	۵
۱۷/۳	۳۲	ظرفیت تبادل کاتیونی (سانتی مول بر کیلوگرم)	۶
۱/۲۰	۵/۶	درصد ماده آلی خاک	۷
۵۲	۲۳	درصد کربنات کلسیم	۸

ج) استخراج اسانس

به منظور جلوگیری از بروز تغییرات نامطلوب، اندام‌های گیاهی جمع آوری شده، در سایه با دمای در ۱۰-۲۰ درجه سانتیگراد خشک گردید. به منظور استخراج اسانس، ۱۰۰ گرم سرشاخه‌های گلدار خرد شده توسط آسیاب، به روش تقطیر با آب به کمک دستگاه کلونجر (Clevenger) به مدت ۳ ساعت، در آزمایشگاه گیاهان دارویی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی شهرستان داراب اسانس‌گیری انجام شد. جداسازی اسانس از ستون دستگاه، با سرنگ مخصوص انجام گردید اسانس‌های حاصل پس از جداسازی از سطح آب توسط سولفات بدون آب، رطوبت زدایی گردیده و آن گاه توزین و سپس درصد بازده تولید اسانس از طریق رابطه (۱) محاسبه شد.

رابطه (۱):

۱۰۰ * (وزن خشک گیاه/وزن اسانس) = درصد بازده اسانس

اسانس‌ها پس از آگیری تا زمان تزریق به دستگاه گازکروماتوگراف در دمای ۴ درجه سانتی گراد در یخچال در ظروف شیشه ای در بسته نگهداری شدند (۲۵).

ب) شناسایی ترکیبات‌های تشکیل دهنده اسانس

جهت تعیین کمیت و کیفیت ترکیبات تشکیل دهنده اسانس از دستگاه گازکروماتوگراف (GC: Gas)

chromatography) و گاز کروماتوگراف متصل به طیف سنج جرمی (GC-MS: Gas chromatography-mass spectrometry) استفاده شد.

د) روش‌های تجزیه دستگاهی

۱- مشخصات گازکروماتوگرافی (GC)

از دستگاه گازکروماتوگراف نوع Agilent technologies مدل 7890 A، مجهز به ستون HP-۵ به طول ۳۰ متر، قطر ۰/۳۲ میلی متر و ضخامت لایه فاز ساکن ۰/۲۵ میکرومتر، استفاده گردید. برنامه‌ریزی دمایی ستون از ۶۰ تا ۲۱۰ درجه سانتی‌گراد با افزایش دمای سه درجه سانتی‌گراد در دقیقه و ۲۱۰ تا ۲۴۰ درجه سانتیگراد با افزایش دمای بیست درجه سانتی‌گراد در دقیقه و تاخیر به مدت ۸/۵ دقیقه در دمای نهایی انجام شد. از آشکارساز FID با دمای ۲۹۰ درجه سانتی‌گراد و از گاز نیتروژن با نوع سرعت یک میلی‌لیتر در دقیقه، به عنوان گاز حامل استفاده شد. دمای محفظه تزریق ۲۴۰ درجه سانتی‌گراد بود.

۲- مشخصات گازکروماتوگرافی متصل به طیف سنج جرمی (GC/MS)

گاز کروماتوگراف متصل به طیف سنج جرمی از نوع Agilent technologies مدل 5975C، ستون HP-5MS به طول ۳۰ متر و قطر ۰/۲۵، ضخامت لایه فاز ساکن ۰/۲۵

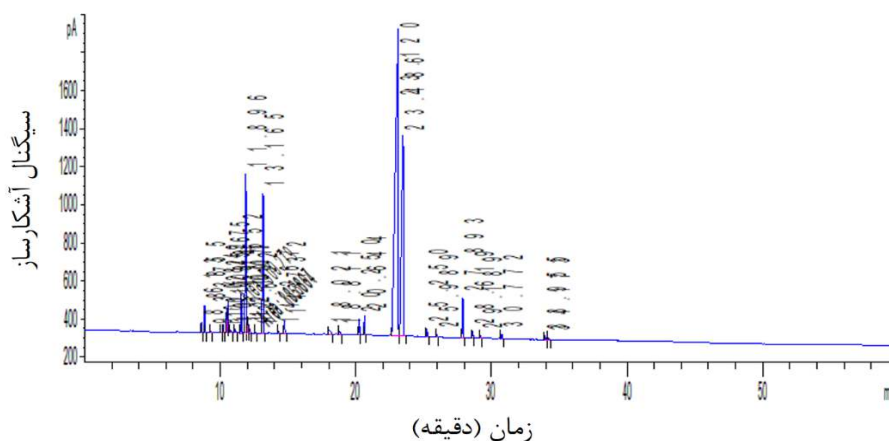
نتایج

درصد نسبی هرکدام از ترکیب‌های تشکیل دهنده اسانس‌ها با توجه به سطح زیر منحنی آن در طیف کروماتوگرام به‌دست آمد (اشکال ۴ و ۵). در اسانس *Zataria Multiflora* Boiss. نمونه زراعی ۴۰ ترکیب و در نمونه جمع‌آوری شده از رویشگاه مرتعی ۳۲ ترکیب شناسایی شدند (جدول ۳). بازده اسانس در نمونه کاشته شده ۳/۱ درصد و بیشترین ترکیب‌های شیمیایی موجود در آن شامل لینالول (۵۴/۳۳ درصد)، کارواکرول (۲۴/۸۳) و تیمول (۲/۴۸ درصد) است. در اسانس نمونه مرتعی بازده اسانس ۱/۷ درصد و بیشترین ترکیب‌های اسانس تیمول (۵۱/۲۰ درصد)، کارواکرول (۲۰/۰۸ درصد)، پاراسیمین (۷/۷۴ درصد) و گاماترپینین (۷/۲۵ درصد) وجود دارند. مقایسه دو اسانس نشان می‌دهد در نمونه کاشته شده لینالول (Linalool) و کارواکرول (Carvacrol) و در نمونه رویشگاه تیمول (Thymol) و کارواکرول بیشترین ترکیب‌ها هستند (جدول ۳).

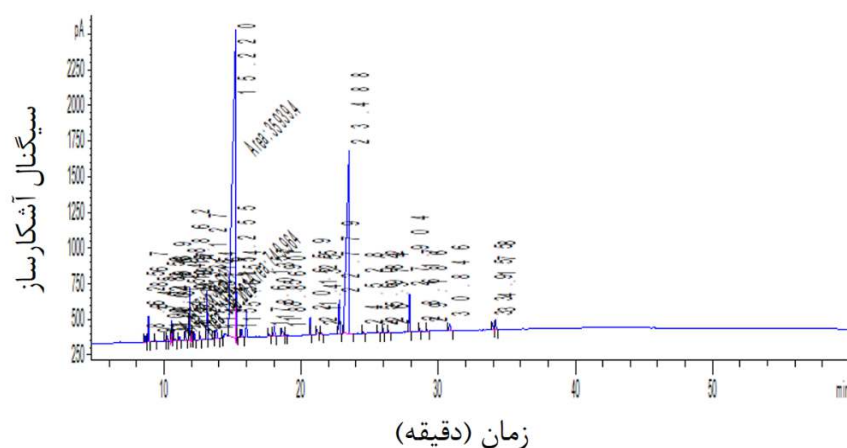
میکرومتر استفاده شد. برنامه ریزی حرارتی ستون شبیه برنامه ریزی ستون در دستگاه GC بوده و دمای محفظه تزریق ۲۸۰ درجه سانتی گراد، انرژی یونیزاسیون در دستگاه ۷۰ الکترون ولت و گاز حامل هلیوم با سرعت یک میلی‌لیتر بر دقیقه بود. برای جداسازی و شناسایی ترکیبات تشکیل دهنده اسانس از دستگاه GC-MS برای تعیین درصد اجزاء آن از دستگاه GC استفاده شد. شناسایی با استفاده از پارامترهای مختلف از قبیل شاخص بازداری (RI)، طیف جرمی و مقایسه این پارامترها با اطلاعات موجود در حافظه کامپیوتر دستگاه GC-MS و منابع انجام پذیرفت (۱).

ه) شناسایی ترکیب‌های تشکیل دهنده اسانس

پس از تزریق اسانس به دستگاه‌های نامبرده با استفاده از اندیس بازداری، زمان بازداری (RT) ترکیب‌ها طیف‌های جرمی و مقایسه این مؤلفه‌ها با ترکیب‌های استاندارد و با اطلاعات موجود در کتابخانه نسبت به شناسایی GC/MS ترپنویدها در رایانه دستگاه ترکیب‌های تشکیل دهنده اسانس اقدام گردید.



شکل ۴: کروماتوگرام گازی اسانس گیاه آویشن شیرازی در نمونه مرتعی



شکل ۵: کروماتوگرام گازی اسانس آویشن شیرازی در نمونه زراعی

جدول ۳: مقایسه ترکیب‌های شیمیایی اسانس نمونه زراعی و مرتعی گیاه آویشن شیرازی

شماره	نام ترکیب	نمونه مرتعی (درصد)	نمونه زراعی (درصد)	شاخص بازداري
۱	-Thujene	۰/۳۸	۰/۳۹	۹۲۶
۲	-Pinene	۱/۰۲	۱/۱۳	۹۳۳
۳	Camphene	۰/۰۷	۰/۰۶	۹۵۲
۴	Sabinene	-	-	۹۷۳
۵	-Pinene	۰/۰۲	۰/۰۲	۹۷۷
۶	3-Octanone	۰/۳۵	۰/۲۴	۹۸۵
۷	Myrcene	۰/۹۷	۰/۳۵	۹۹۱
۸	3-Octanol	۱/۱۱	۰/۹۶	۹۹۴
۹	-Phellandrene	۰/۱۴	۰/۰۵	۱۰۰۲
۱۰	p-Mentha-1(7),8-diene	۰/۱۸	۰/۱۶	۱۰۰۵
۱۱	-Terpinene	۱/۷۲	۰/۵۷	۱۰۱۷
۱۲	p-Cymene	۷/۷۴	۲/۲۸	۱۰۲۵
۱۳	Limonene	۰/۱۹	۰/۲۲	۱۰۲۹
۱۴	1,8-Cineole	۰/۲۳	۰/۲۲	۱۰۳۱
۱۵	(Z)- -Ocimene	۰/۱۹	۰/۴۱	۱۰۳۷
۱۶	(E)- -Ocimene	۰/۰۴	۰/۱۶	۱۰۴۷
۱۷	-Terpinene	۷/۲۵	۳/۰۴	۱۰۵۹
۱۸	cis-Sabinene hydrate	-	۰/۰۹	۱۰۶۷
۱۹	trans-Linalool oxide	-	۰/۸۶	۱۰۷۳
۲۰	cis-Linalool oxide	۰/۱۶	۰/۱۲	۱۰۸۹
۲۱	Linalool	۰/۶۴	۵۴/۳۳	۱۰۹۹
۲۲	n-Nonanal	-	۱/۱۳	۱۱۰۸
۲۳	1-Octen-3-yl acetate	-	۰/۰۶	۱۱۱۴
۲۴	3-Octanol acetate	-	۰/۴۰	۱۱۲۵
۲۵	Borneol	-	-	۱۱۶۶
۲۶	Terpinen-4-ol	۰/۵۶	۰/۴۶	۱۱۷۷
۲۷	-Terpineol	-	۰/۵۷	۱۱۹۰
۲۸	trans-Dihydro carvone	۰/۱۹	۰/۰۶	۱۲۰۱
۲۹	trans-Carveol	-	-	۱۲۱۲
۳۰	Thymol methyl ether	۰/۷۲	-	۱۲۳۴
۳۱	Carvacrol methyl ether	۰/۹۰	۰/۷۴	۱۲۴۴
۳۲	Linalyl acetate	-	۰/۲۹	۱۲۵۹

ادامه جدول ۳

شماره	نام ترکیب	نمونه مرتعی (درصد)	نمونه زراعی (درصد)	شاخص بازاری
۳۳	Thymol	۵۱/۲۰	۲/۴۸	۱۳۹۰
۳۴	Carvacrol	۲۰/۰۸	۲۴/۸۳	۱۳۹۹
۳۵	-Elemene	-	۰/۰۹	۱۳۳۶
۳۶	Thymol acetate	۰/۳۶	-	۱۳۵۴
۳۷	Neryl acetate	-	۰/۰۳	۱۳۶۴
۳۸	Carvacrol acetate	۰/۱۶	۰/۱۸	۱۳۷۲
۳۹	Geranyl acetate	-	۰/۰۶	۱۳۸۳
۴۰	(E)-Caryophyllene	۲/۱۶	۱/۹۸	۱۴۱۷
۴۱	Aromadendrene	۰/۳۴	۰/۱۷	۱۴۳۶
۴۳	allo-Aromadendrene	۰/۱۰	۰/۱۰	۱۴۵۷
۴۴	Bicyclogermacrene	۰/۲۷	۰/۵۰	۱۴۹۳
۴۵	Spathulenol	۰/۲۵	۰/۴۰	۱۵۷۶
۴۶	Caryophyllene oxide	۰/۱۸	۰/۵۲	۱۵۸۱

بحث و نتیجه گیری

مقایسه بازده اسانس ها نشان داد در نمونه کاشته شده در شهرستان داراب (۳/۱ درصد) میزان اسانس بیشتر از نمونه مرتعی (۱/۷ درصد) بود. در مطالعات پیشین بازده اسانس سرشاخه های گلدار آویشن شیرازی جمع آوری شده از رویشگاه های مرتعی استان های اصفهان، فارس و یزد بازده اسانس بین ۱/۵ تا ۳/۳ تعیین شد (۲۳). تنوع موجود در مقدار درصد اسانس در گیاهان دارویی می تواند مربوط به ژنتیک گیاه، شرایط اقلیمی محل رویش، ارتفاع از سطح دریا، زمان برداشت گیاه، روش خشک کردن، روش استخراج اسانس و اثر متقابل این عوامل باشد (۱۰). خشکی و دمای بالا، میزان فتوسنتز را در گیاهان محدود می سازند و با تغییر در میزان جذب مواد غذایی از خاک، تولید ماده آلی، اسیدهای آمینه و قند را دچار نوسان می کند که در این شرایط گیاه تغییرات غیر عادی ایجاد شده را دریافت کرده و برای مقابله با شرایط ایجاد شده فعالیت چرخه های مربوط به تولید متابولیت های اولیه را کاهش داده و باعث فعال سازی مسیرهای تولید متابولیت های ثانویه اسانس می گردد (۱۱).

با توجه به ترکیبات مختلف شناسایی شده در اسانس آویشن مرتعی و مزرعه ای، مشخص گردید که مونوترپن های اکسیژن دار اصلی ترین گروه اجزای تشکیل دهنده اسانس بودند و پس از آن مونوترپن های هیدروکربنی سهم بیشتری را دارا بودند و سزکویی ترپن های هیدروکربنی سهم کمتری

داشتند. تعداد ترکیب های شناسایی شده در نمونه رویشگاه ۳۲ ترکیب و در نمونه زراعی ۴۰ ترکیب بود. از نظر ترکیب اسانس در نمونه کاشته شده کارواکرول در مقایسه با نمونه رویشگاه افزایش نشان داد. ترکیب تیمول نیز در اسانس نمونه رویشگاه اصلی در مقایسه با نمونه کاشته شده ۵۸ درصد افزایش مقدار نشان داد. بالا بودن میزان تیمول در آنالیز اسانس پژوهش حاضر مشابهت زیادی با نتایج بررسی ها در مناطق دیگر مانند حاجی آباد هرمزگان (۴۳ درصد)، نیریز فارس (۳۷ درصد)، سیرجان کرمان (۵۹ درصد) و فیروز آباد فارس (۳۶ درصد) دارد (۱۵ و ۲۴). همچنین از نظر ترکیب اسانس در نمونه کاشته شده، لینالول در مقایسه با نمونه مرتعی ۵۳ درصد افزایش مقدار نشان داد. در پژوهشی مهم ترین ترکیب اسانس توده های وحشی آویشن شیرازی جمع آوری شده از رویشگاه لامرد استان فارس میزان کارواکرول ۶۶/۴ درصد گزارش شد (۲۸). مطالعه بر روی ترکیبات اسانس آویشن شیرازی در رویشگاه های طبیعی انجام شده است، اما پژوهش حاضر اولین اطلاعات از تجزیه شیمیایی اسانس آویشن شیرازی در محیط کشت زراعی است. کارواکرول (Carvacrol) و تیمول (Thymol) به عنوان دو ترکیب فنولی مهم در گیاه آویشن شناخته شده است. کارواکرول و تیمول به عنوان مواد آنتی اکسیدان، ضد استرس اکسیداتیو و ضد التهاب قوی شناخته شده اند. هم چنین اثرات حفاظت نورونی، کبدی و کلیوی این مواد پلی فنولیک در مدل بیماری های

گونه‌های آویشن بیشتر می‌باشد و در مناطق مرطوب‌تر ترکیبات غیر فنولیک حلقوی نظیر پاراسیمین و گاماترپین و مونوترپن‌های غیر حلقوی نظیر ژرانیول و لینالول افزایش پیدا می‌کند (۸).

مقایسه موقعیت رویشگاه آویشن شیرازی در این بررسی با سایر پژوهش‌ها، بیانگر تفاوت در شرایط اکولوژیک این رویشگاه است. این تفاوت بر بسیاری از عوامل اکولوژیک مانند دما، رطوبت، نور و... مؤثر است که همه این عوامل با هم در تنوع کمی و کیفی اسانس در گیاهان دخالت دارند (۶) در نتیجه تفاوت در این عوامل می‌تواند منشأ تغییر مسیرهای سنتزی پاراسیمین به تیمول، کارواکرول به آلفاپینن و لینالول می‌شود. در پژوهشی روی جمعیت‌های مختلف آویشن دناهی مشخص شد عواملی نظیر ارتفاع، متوسط دما در مرطوب‌ترین فصل، هم دمایی، میزان بارندگی در مرطوب‌ترین فصل، میزان بارندگی سالانه در خشک‌ترین فصل، دمای سالانه از تأثیرگذارترین عوامل بر ترکیبات اسانس بودند. تیمول به‌عنوان ترکیب اصلی این گونه تحت تأثیر تغییرات دامنه دمای سالانه، ارتفاع و شیب قرار گرفت. درصد شن خاک و متوسط دما در مرطوب‌ترین فصل از جمله مهم‌ترین عوامل تأثیرگذار بر تولید کارواکرول بودند (۷). در پژوهش دیگری اثر ارتفاع رویشگاه بر میزان عملکرد اسانس و کیفیت آن در گیاه آویشن مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که تعادل بین دو ترکیب تیمول و کارواکرول تحت تأثیر ارتفاع بوده که با افزایش ارتفاع میزان تیمول افزایش و کارواکرول کاهش می‌یابد. این یافته‌ها با نتایج حاصل از این پژوهش مطابقت دارد. نمونه مرتعی آویشن شیرازی در سطح ارتفاعی ۲۰۰ متر از سطح دریا دارای مقدار تیمول بالاتر (۵۸ درصد) نسبت به گونه زراعی در سطح ارتفاعی ۱۱۳۵ متر از سطح دریا بود. بالا بودن درصد لینالول در شرایط زراعی می‌تواند به علت شرایط آبیاری و شرایط حاصل‌خیزی خاک و همچنین تأثیر موقعیت جغرافیایی از جمله عامل ارتفاع از سطح دریا باشد. البته این مطلب قابل ذکر است که در مطالعات انجام گرفته در بعضی از نقاط ایران مانند زرقان فارس یا در منطقه کلاه قاضی اصفهان (۲۲) در بین سه ترکیب اصلی آویشن شیرازی (تیمول، کارواکرول و لینالول) لینالول بالاترین درصد را داشته است. با توجه به اینکه ۹۵ درصد از لینالول

مختلف مشخص شده است. کارواکرول از طریق ایجاد سوراخ در غشای سلولی باکتری‌های گرم مثبت و تخریب غشاء خارجی باکتری‌های گرم منفی اثر ضد میکروبی خود را می‌گذارد. نقش حفاظتی کارواکرول و تیمول در بعضی از دستگاه‌های بدن از جمله سیستم تنفس، گوارش و غدد نیز گزارش شده است (۱۸).

یکی از نکات جالب در آنالیز شیمیایی نمونه زراعی گیاه آویشن شیرازی بالا بودن ترکیب با ارزش لینالول (Linalool) نسبت به نمونه مرتعی بود (۵۴ درصد). لینالول یک الکل مونوترپن غیراشباع با توصیف بوی خاص است. این الکل مونوترپن به طور طبیعی در بسیاری از گیاهان معطر وجود دارد و در صنعت عطر و طعم بسیار مورد توجه قرار می‌گیرد. لینالول به عنوان یک عطر در ۶۰ تا ۸۰ درصد محصولات بهداشتی معطر و مواد پاک‌کننده مانند صابون، شوینده، شامپو و لوسیون استفاده می‌شود. کاربردهای لینالول صرفاً به افزودن یا تقویت یک رایحه خاص به محصولات داخلی مانند صابون‌ها، شوینده‌ها و شامپوها محدود نمی‌شود (۱۹). لینالول و اسانس‌های غنی از لینالول دارای فعالیت بیولوژیکی مختلفی از جمله خواص ضد میکروبی، ضد التهابی، ضد سرطان، آنتی اکسیدان، ضد درد و ضد تشنج هستند. این الکل همچنین یک ترکیب کلیدی برای تولید صنعتی انواع مواد شیمیایی معطر مانند ژرانیول، نرول، سیترال و مشتقات آن و همچنین یک ترکیب در سنتز ویتامین‌های A و E است. خواص دافعی لینالول در محصولات مختلف از بین بردن حشرات بوده است به خوبی مستند شده است که کاربرد این مولکول در مدیریت آفات سازگار با محیط زیست را برجسته می‌کند، در نتیجه از لینالول به‌عنوان یک آفت کش طبیعی می‌تواند یاد کرد (۲). بر اساس گزارش‌های قبلی و پژوهش حاضر تنوع در ترکیبات شیمیایی آویشن شیرازی می‌تواند تحت تأثیر عوامل محیطی و ژنتیکی باشد. علاوه بر اثر بیان ژن‌ها بر روی تولید مونوترپن‌ها، عوامل مختلفی از جمله خصوصیات محیطی، مرحله رشدی گیاه، فرآیند خشک شدن و سایر پارامترهای دیگر می‌توانند در مقدار تولید این ترکیبات تأثیرگذار باشند. در پژوهشی گزارش شد مناطقی که دارای ارتفاع کم و آب و هوای گرم و اقلیم‌های مدیترانه‌ای خشک دارند، ترکیبات فنولیک نظیر کارواکرول و تیمول در

با ارزش، پیشنهاد می‌شود روند اهلی‌سازی این گونه و معرفی به سیستم‌های کشاورزی و مرتع داری باید در اولویت قرار گیرد. همچنین از این گیاه جهت کاشت در طرح‌های احیاء بیولوژیک مراتع جهت ایجاد اشتغال و توانمندسازی مرتع داران استفاده شود.

که در صنعت استفاده می‌شود به صورت شیمیایی ساخته می‌شود. وجود چنین گیاهانی که بتوانند لینالول طبیعی تولید کنند بسیار با ارزش است. به‌طور کلی با توجه به اهمیت اقتصادی گیاه آویشن شیرازی، بالا بودن میزان اسانس آویشن نمونه زراعی شیرازی نسبت به نمونه مرتعی، همچنین به علت بالا بودن ترکیبات کارواکرول و لینالول بالا در نمونه زراعی، جهت بقا و جلوگیری از خطر این گیاه

References

1. Adams, RP., 2007. Identification of essential oil components by gas chromatography/ mass spectroscopy. Allured Publishing Corporation, Illinois, USA, 1-804.
2. Aprotosoae, A. C., M. Hăncianu, I.I. Costache & A. Miron, 2014. Linalool: a review on a key odorant molecule with valuable biological properties. Flavour and Fragrance Journal, 29(4): 193-219.
3. Asadpoor, R. & M.A. Soltanipoor., 2005. Study of some Ecological Characteristics of *Zataria multiflora* in Hormozgan Province, Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research, 21(2): 123-129. (in Persian)
4. Azadi, M., T. Jamali, Z. Kianmehr, G. Kavooosi & S.K. Ardestani, 2020. In-vitro (2D and 3D cultures) and in-vivo cytotoxic properties of *Zataria multiflora* essential oil (ZEO) emulsion in breast and cervical cancer cells along with the investigation of immunomodulatory potential. Journal of Ethnopharmacology, 257:112865.
5. Azarnivand, H. & M.A. Zare Chakohi, 2010. Rangeland ecology, Tehran University Press, 345 p. (in Persian)
6. Azimi, M., H.A. Naghdi Bady, S. KalateJari, V. Abdusi & A. Mehrafarin, 2014. Comparing the chemical composition of the essential oil of mountain thyme (*Thymus kotschyanus* Boiss. & Hohen.) of Iran. Journal of Medicinal Plants, 13(4): 136-146. (In Persian)
7. Bahraini nejad, B. & M. Mirza., 2019. Effects of ecological factors on essential oil components of several genotypes of *Thymus daenensis* Celak using ordination technique. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research, 2: 196-208. (in Persian)
8. Baqalian, K. & H. Naqdi Badi., 2000. Essential plants, first edition, Tehran, Andarz Publications. 234 p. (in Persian)
9. Barghi, M., M. Ashrafi, M. Aminlari, F. Namazi & S. Nazifi, 2021. The protective effect of *Zataria multiflora* Boiss essential oil on CCl4 induced liver fibrosis in rats. Drug and Chemical Toxicology, 44(3):229-237.
10. Bigdeloo, M., J. Hadian & V. Nazeri, 2017. Composition of essential oil compounds from different populations of *Thymus caramanicus* Jasas. Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants, 7: 95-98.
11. Cristina Figueiredo, A., J.G. Barroso, L.G. Pedro & J.J.C. Scheffer, 2008. Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils. Flavor and Fragrance Journal, 23(4): 213-226.
12. Dashipour, A., V. Razavilar, H. Hosseini, S. Shojaei-Aliabadi, J.B. German, K. Ghanati, M. Mansour Khakpour & R. Khaksar, 2015. Antioxidant and antimicrobial carboxymethyl cellulose films containing *Zataria multiflora* essential oil. International Journal of Biological Macromolecules, 72: 606-613.
13. Fazeli, M.R., G. Amin, M.M. Ahmadian Attari, H. Ashtiani, H. Jamalifar & N. Samadi, 2007. Antimicrobial activities of Iranian sumac and Avishan-e-Shirazi (*Zataria multiflora*) against some food borne bacteria. Food Control, 18(16): 646-649.
14. Golmakani, M.T. & K. Rezaei., 2008. Microwave-assisted hydrodistillation of essential oil from *Zataria multiflora* Boiss. European Journal of Lipid Science and Technology, 110(10): 448-454.

15. Hadian, J., S.N. Ebrahimi, M.H. Mirjalili, A. Azizi H. Ranjbar & W. Friedt, 2011. Chemical and genetic diversity of *Zataria multiflora* Boiss. accessions growing wild in Iran. Chem Biodivers, 8(1):176-88.
16. Hosseinzadeh, H., M. Ramezani & G. Salmani, 2000. Antinociceptive, anti-inflammatory and acute toxicity effects of *Zataria multiflora* Boiss extracts in mice and rats. Journal of ethnopharmacology, 73(3): 379-385.
17. Jamzad, Z., 2009. Thyme and Savory of Iran. Institute of Forest and Rangelands. Tehran, p 172. (In Persian)
18. Kaeidi, A.M., R. Rahmani & J. Hassanshahi, 2020. The Protective Effect of Carvacrol and Thymol as Main Polyphenolic Compounds of Thyme on Some Biologic Systems in Disease Condition: A Narrative Review. Journal of Rafsanjan University of Medical Sciences, 19(1):81-96.
19. Kamatou, G.P. & A.M. Viljoen., 2008. Linalool—A review of a biologically active compound of commercial importance. Natural product communications, 3(7): 1934578X0800300727.
20. Mesadaghi, M., 2003. Range management in Iran. Publications Imam Reza University. fourth edition. 333 p. (In Persian)
21. Mohagheghzadeh, A., M. Shams-Ardakani, A. Ghannadi & M. Minaeian, 2004. Rosmarinic acid from *Zataria multiflora* tops and in vitro cultures. Fitoterapia, 75(3-4): 315-321.
22. Mohagheghzadeh, A., M. bShams Ardekani & A. Ghannadi, 2000. Linalool rich essential oil of *Zataria multiflora* (Lamiaceae). Flavour and Fragrance, 15: 119-122.
23. Najafpour Navai, M. & M. Mirza., 2014. Investigation of chemical composition of essential oil of flowering branches of *Zataria multiflora* Boiss. in four different provinces. Ecophytochemistry of Medicinal Plants, 2 (4): 49-43. (In Persian)
24. Navae, M. & M. Mirza., 2015. Evaluation of essential oils of flowering shoots of *Zataria multiflora* Boiss. In four different provinces. Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants, 8(4): 43-49.
25. Nikzad, A., Sh. Sharafzadeh, A. Alizadeh, B. Amiri & F. Bazrafshan, 2020. Variability in Essential Oil Constituent, Phenolic Content, Antioxidant and Antimicrobial Activities of Different Ecotypes of *Zataria multiflora* Boiss. from Iran. Journal of Essential Oil-Bearing Plants. Taylor and Francis Group, 22(6): 1435-1449.
26. Omidbaigi, R., 2005. Production and Processing of medicinal plants. Tehran University. 283 P. (in Persian)
27. Rechinger, K. H., 1982. Flora Iranica. (Vol. 152). Graz: Akademische Druck- und Verlagsanstalt, Pp: 427-428.
28. Saharkhiz, M., J. Smaeili & M. Merikhi, 2010. Essential oil analysis and phytotoxic activity of two ecotypes of *Zataria multiflora* Boiss. growing in Iran. Natural Product Research, 24(17): 1598-1609.
29. Sajed, H., A. Sahebkar & M. Iranshahi, 2013. *Zataria multiflora* Boiss. (Shirazi thyme) -An ancient condiment with modern pharmaceutical uses. Journal of Ethnopharmacology, 145 (3): 686-698.
30. Sharififar, F., M.H. Moshafi S.H. Mansouri & M. Khodashenas, 2007. In vitro evaluation of antibacterial and antioxidant activities of the essential oil and methanol extract of endemic *Zataria multiflora* Boiss. Food control, 18(7): 800-805.
31. Shirmard, M., A. Khosh Lahjahamfard, Z. Lotfi & D. Tomorrow, 2011. Investigation of possibilities and limitations Sustainable development of Iranian medicinal plants, a case study Qom province. The first national economic jihad conference in Field of Agriculture and Natural Resources, Qom, Iran. (In Persian)
32. Valizadeh, J., A. Bagheri, J. Valizadeh & M.H. Mirjalili, 2015. Phytochemical investigation of Withania coagulans (Stocks) Dunal in natural habits of Sistan and Baluchestan. Province of Iran. Iranian Journal of Medical and Aromatics Plants, 31(3): 406-417. (In Persian)