



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 Marward 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).

Publisher: Iranian Society for Range Management

DOR: 20.1001.1.20080891.1402.17.2.5.6

مرتع

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

علیرضا محمودی^۱، کمال غلامی بور 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	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، ضددرد، ضدالتهابی، آنتی‌اکسیدان، ضدبacterی، ضدپرتوسی، ضدعفونی‌کننده و ضدقارچی 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 انسانس نمونه رویشگاهی و زراعی این گونه است.
تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۹/۲۱ تاریخ ویرایش: ۱۴۰۲/۰۲/۱۵ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۲/۲۰	مواد و روش‌ها: سرشاخه‌های گلدار گیاه از منطقه مرغابید 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) انسانس گیری شد. به‌منظور استخراج انسانس، ۱۰۰ گرم سرشاخه‌های گلدار خرد شده توسط آسیاب، به روش تقطیر با آب به کمک دستگاه کلونجر (Celevenger) به مدت ۳ ساعت، در آزمایشگاه گیاهان دارویی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی شهرستان داراب انسانس گیری انجام شد. برای شناسایی ترکیب‌های انسانس از دستگاه‌های گاز کروماتوگرافی (GC/Mas) استفاده شد.
واژه‌های کلیدی: کلونجر، عنانیان، انسانس، ترکیب‌های شیمیابی.	نتایج: در انسانس <i>Zataria Multiflora</i> Boiss. نمونه زراعی ۴۰ ترکیب و در نمونه جمع‌آوری شده از رویشگاه مرتعی ۳۲ ترکیب شناسایی شدند. درصد بازده انسانس در نمونه کاشته شده ۳/۱ درصد و بیشترین ترکیب‌های شیمیابی موجود در آن شامل لینالول (۵۴/۳۳ درصد)، کارواکرول (۲۴/۸۳) و تیمول (۲/۴۸ درصد) است. در انسانس نمونه مرتعی بازده انسانس ۱/۷ درصد و بیشترین ترکیب‌های انسانس تیمول (۵۱/۲۰ درصد)، کارواکرول (۲۰/۰۸ درصد)، پاراسیمین (۷/۷۴ درصد) و گاما‌تریپیئن (۷/۲۵ درصد) وجود دارد. مقایسه دو انسانس 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 انسانس در نمونه کاشته شده کارواکرول در مقایسه با نمونه رویشگاه افزایش نشان داد. ترکیب تیمول نیز در انسانس 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 انسانس 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 مرتع 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): ۲۳۲-۲۴۶.



DOI: 20.1001.1.20080891.1402.17.2.5.6

© نویسنده‌گان

ناشر: انجمن علمی مرتعداری ایران

مقدمه

مراقب علاوه بر تولید علوفه، دارای محصولات فرعی دیگری مانند گیاهان دارویی و صنعتی هستند که بعضی از آن‌ها مانند آنفوزه، شیرین‌بیان، 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 بهدلیل موقعیت مناسی که از ذخایر فیلو ژنتیکی (بیش از ۷۵۰۰ گونه گیاهی)، آب و هوا بی‌سابقه است از اقلیم جهان (۱۳) و جغرافیای سیاسی که دارد، قادر است به جایگاه مهمی در زمینه گیاهان دارویی دست یابد (۳۱). گیاهان دارویی و ژنتیک‌های 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 گونه‌ها، تمهدیات بسیار سختگیرانه اتخاذ می‌گردد (۵).

با نام آویشن شیرازی یا *Zataria multiflora* Boiss. آویشن بزرگ پهنه‌ای از شناخته شده ترین گیاهان دارویی از تیره نعنائیان است. این گیاه پراکنده‌گی محدودی در جهان دارد، رویشگاه‌ها و پراکنده‌گی 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 گستردگی پراکنده شده است، به علت وسعت رویشگاه‌های آن مصارف متعددی در طب سنتی در نقاط مختلف کشور دارد که علاوه بر مصرف خوارکی 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، ۲۲، ۱۳ 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 ببروی ترکیبات شیمیایی انسان آویشن شیرازی نشان داد که انسان آن حاوی مقادیر قابل توجهی از ترکیبات مونوتربینی مانند تیمول،

کارواکرول، لینالول، گاما ترپین و پاراسیمن 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 انسان 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 انسان‌هایی 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، بیزد، کرمان، بوشهر، فارس، سیستان و بلوچستان، خوزستان و هرمزگان رویش دارد (۲۷). محل رویش این گیاه دارویی، در استان فارس، در شهرستان‌های شیراز، سروستان، داراب، فسا، چهرم، استهبان، لار و فیروزآباد است (۱۷). آویشن شیرازی در زمین‌های سنگلاخی با خاک کم همراه با سنگریزه‌های کلوبویال 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 انسان 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

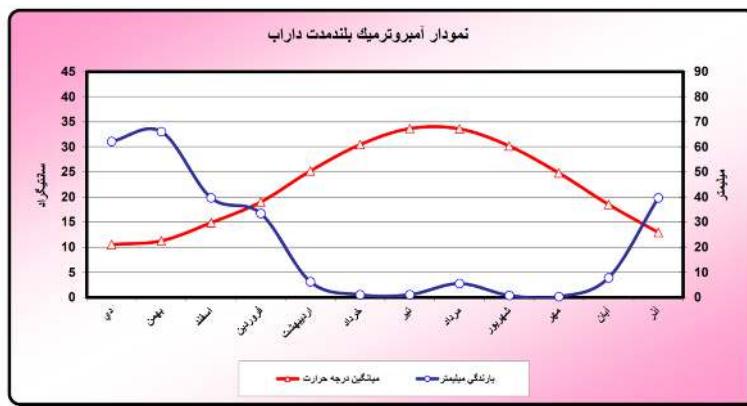
(الف) موقعیت رویشگاه طبیعی

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 آمبروترومیک 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 عمدۀ 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 aerophora* و... وجود دارد.

آن از نظر درصد و نوع ترکیبات شیمیایی متفاوت خواهد 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 هریک از این عوامل می‌تواند تأثیر بسزایی بر کمیت و کیفیت اسانس گیاه داشته باشد (۲۶). اسانس‌ها می‌توانند 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 مقدادر کمی ترکیبات شیمیایی گیاه از جمله ترکیبات فنلی و فلاونوئیدها در بین توده‌های مناطق مختلف می‌تواند ناشی از تبع ژنتیکی یا شرایط اکولوژی حاکم بر رویشگاه باشد (۳۲). با توجه به قیمت بالای آویشن شیرازی در عطاری‌ها و مراکز فروش، سبب برداشت‌های بی رویه‌ای، 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 خودوری 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 آمپروترمیک شهرستان داراب (منبع: اداره کل هواشناسی استان فارس)

گردید (اشکال ۲ تا ۶). در هر دو منطقه نمونه برداری به سیله دستگاه موقعیت یاب (GPS، مدل Vista، تایوان) ارتفاع از سطح دریا، طول و عرض جغرافیایی اندازه‌گیری شد (جدول ۱).

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



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)

مقایسه فیتوشیمیایی نمونه زراعی و مرتعی گیاه دارویی آویشن شیرازی ... / محمودی و غلامی بور فرد

جدول ۱: خصوصیات رویشگاه طبیعی و کشت شده آویشن شیرازی

میانگین ارتفاع از سطح دریا (متر)	طول جغرافیایی	عرض جغرافیایی	محل جمع‌آوری
۲۰۰	۵۴.۳۷.۳۰	۲۸.۴۵.۴۷	رویشگاه طبیعی (مرائع موارد داراب)
۱۱۳۵	۵۴.۴۴.۸۶۰	۲۸.۷۵۱۰۳	منطقه کشت شده (دانشکده کشاورزی داراب)

برداری خاک و تجزیه و تحلیل اطلاعات ثبت شد جدول .(۲)

خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک رویشگاه طبیعی و منطقه کشت شده آویشن شیرازی مانند میزان اسیدیته خاک، میزان هدایت الکتریکی و عنصر خاک، از طریق نمونه

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

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

سنچ (chromatography) و گاز کروماتوگراف متصل به طیف

GC-MS: Gas chromatography-mass سنج جرمی (spectrometry) استفاده شد.

د) روش‌های تجزیه دستگاهی

۱- مشخصات گازکروماتوگرافی (GC)

از دستگاه گازکروماتوگراف نوع

Agilent HP-5 مدل 7890 A technologies طول ۳۰ متر، قطر ۰/۳۲ میلی متر و ضخامت لایه فاز ساکن ۰/۲۵ میکرومتر، استفاده گردید. برنامه ریزی دمایی ستون

از ۶۰ تا ۲۱۰ درجه سانتی گراد با افزایش دمای سه درجه سانتی گراد در دقیقه و ۲۱۰ تا ۲۴۰ درجه سانتی گراد با افزایش دمای بیست درجه سانتی گراد در دقیقه و تأخیر به

مدت ۸/۵ دقیقه در دمای نهایی انجام شد. از آشکارساز FID با دمای ۲۹۰ درجه سانتی گراد و از گاز نیتروژن با نوع

سرعت یک میلی لیتر در دقیقه، به عنوان گاز حامل استفاده شد. دمای محفظه تزریق ۲۴۰ درجه سانتی گراد بود.

۲- مشخصات گازکروماتوگرافی متصل به طیف سنج

جرمی (GC/MS)

گاز کروماتوگراف متصل به طیف سنج جرمی از نوع HP-5MS مدل 5975C Agilent technologies

طول ۳۰ متر و قطر ۰/۲۵، ضخامت لایه فاز ساکن ۰/۲۵

ج) استخراج انسانس

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

رابطه (۱):

۱۰۰*(وزن خشک گیاه/وزن انسانس)= درصد بازده انسانس انسانس‌ها پس از آبگیری تا زمان تزریق به دستگاه گازکروماتوگراف در دمای ۴ درجه سانتی گراد در یخچال در ظروف شیشه‌ای در بسته نگهداری شدند (۲۵).

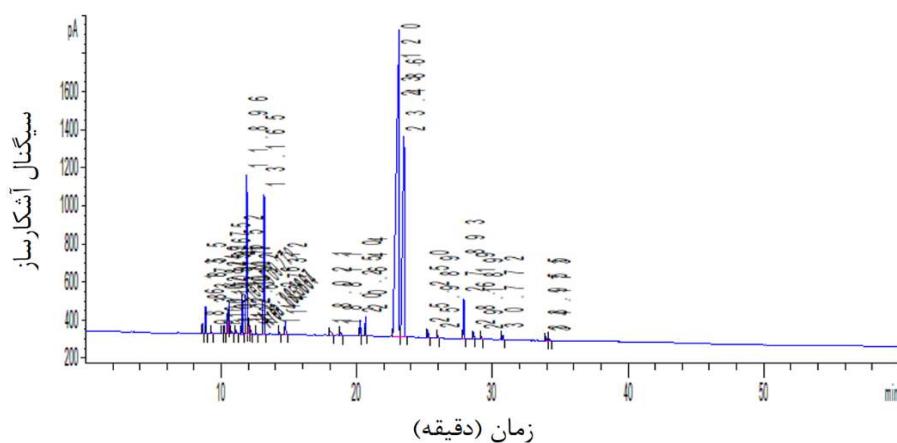
ب) شناسایی ترکیبات‌های تشکیل دهنده انسانس جهت تعیین کمیت و کیفیت ترکیبات تشکیل دهنده انسانس از دستگاه گازکروماتوگراف (Gas GC:

نتائج

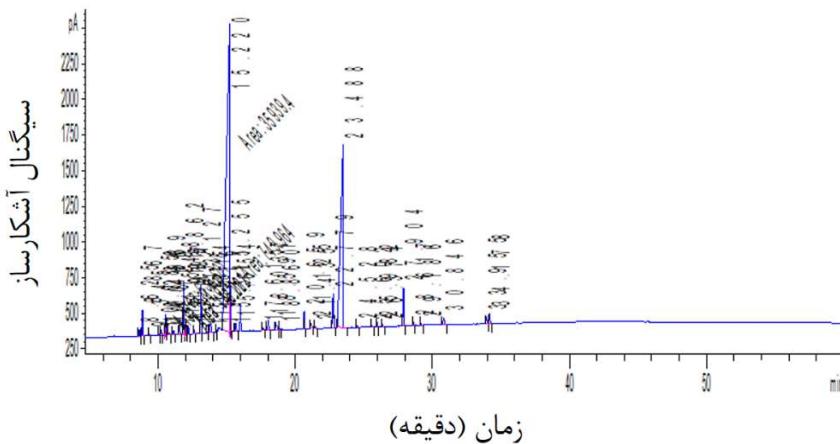
درصد نسبی هر کدام از ترکیب‌های تشکیل دهنده انسان‌ها با توجه به سطح زیر منحنی آن در طیف کروماتوگرام به دست آمد (اشکال ۴ و ۵). در انسان نمونه زراعی *Zataria Multiflora* Boiss. نمونه جمع‌آوری شده از رویشگاه مرتعی ۳۲ ترکیب شناسایی شدند (جدول ۳). بازده انسان در نمونه کاشته شده ۳/۱ درصد و بیشترین ترکیب‌های شیمیایی موجود در آن شامل لینالول (۵۴/۳۳ درصد)، کارواکرول (۲۴/۸۳) و تیمول (۲/۴۸ درصد) است. در انسان نمونه مرتعی بازده انسان ۱/۷ درصد و بیشترین ترکیب‌های انسان تیمول (۵۱/۲۰ درصد)، کارواکرول (۲۰/۰۸ درصد)، پاراسیمین (۷/۷۴ درصد) و گاما-ترپیئن (۷/۲۵ درصد) وجود دارند. مقایسه دو انسان 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 الکترون ولت و گاز حامل هلیوم با سرعت یک میلی لیتر بر دقیقه بود. برای جداسازی و شناسایی ترکیبات تشکیل دهنده انسانس 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).

۵) شناسایی ترکیب‌های تشکیل دهنده اسانس پس از تزریق اسانس به دستگاه‌های نامیربد 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 ترپن‌وییدها در رایانه دستگاه ترکیب‌های تشکیل دهنده اسانس اقدام گردید.



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



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 بازداری
۱	-Thujene	۰/۲۹	۰/۳۸	۹۲۶
۲	-Pinene	۱/۱۳	۱/۰۲	۹۳۳
۳	Camphene	۰/۰۶	۰/۰۷	۹۵۲
۴	Sabinene	-	-	۹۷۳
۵	-Pinene	۰/۰۲	۰/۰۲	۹۷۷
۶	3-Octanone	۰/۲۴	۰/۳۵	۹۸۵
۷	Myrcene	۰/۳۵	۰/۹۷	۹۹۱
۸	3-Octanol	۰/۹۶	۱/۱۱	۹۹۴
۹	-Phellandrene	۰/۰۵	۰/۱۴	۱۰۰۲
۱۰	p-Mentha-1(7),8-diene	۰/۱۶	۰/۱۸	۱۰۰۵
۱۱	-Terpinene	۰/۵۷	۱/۷۲	۱۰۱۷
۱۲	p-Cymene	۲/۲۸	۷/۷۴	۱۰۲۵
۱۳	Limonene	۰/۲۲	۰/۱۹	۱۰۲۹
۱۴	1,8-Cineole	۰/۲۲	۰/۲۳	۱۰۳۱
۱۵	(Z)-Ocimene	۰/۴۱	۰/۱۹	۱۰۷۷
۱۶	(E)-Ocimene	۰/۱۶	۰/۰۴	۱۰۴۷
۱۷	-Terpinene	۲/۰۴	۷/۲۵	۱۰۵۹
۱۸	cis-Sabinene hydrate	۰/۰۹	-	۱۰۸۷
۱۹	trans-Linalool oxide	۰/۸۶	-	۱۰۷۳
۲۰	cis-Linalool oxide	۰/۱۲	۰/۱۶	۱۰۸۹
۲۱	Linalool	۵۴/۲۳	۰/۶۴	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	۰/۴۶	۰/۰۶	۱۱۷۷
۲۷	-Terpineol	۰/۵۷	-	۱۱۹۰
۲۸	trans-Dihydro carvone	۰/۰۶	۰/۱۹	۱۲۰۱
۲۹	trans-Carveol	-	-	۱۲۱۲
۳۰	Thymol methyl ether	-	۰/۷۲	۱۲۳۴
۳۱	Carvacrol methyl ether	۰/۷۴	۰/۹۰	۱۲۴۴
۳۲	Linalyl acetate	۰/۲۹	-	۱۲۵۹

ادامه جدول ۳

شماره	نام ترکیب	نمونه مرتعی (درصد)	نمونه زراعی (درصد)	شاخص بازداری
۳۳	Thymol	۵۱/۲۰	۲/۴۸	۱۲۹۰
۳۴	Carvacrol	۲۰/۰۸	۲۴/۸۳	۱۲۹۹
۳۵	-Elemene	-	۰/۰۹	۱۳۳۶
۳۶	Thymol acetate	۰/۳۶	-	۱۳۵۴
۳۷	Neryl acetate	-	۰/۰۳	۱۳۴۴
۳۸	Carvacrol acetate	۰/۱۶	۰/۱۸	۱۳۷۲
۳۹	Geranyl acetate	-	۰/۰۶	۱۳۸۳
۴۰	(E)-Caryophyllene	۲/۱۶	۱/۹۸	۱۴۱۷
۴۱	Aromadendrene	۰/۰۴	۰/۱۷	۱۴۴۶
۴۲	allo-Aromadendrene	۰/۱۰	۰/۱۰	۱۴۵۷
۴۴	Bicyclogermacrene	۰/۰۷	۰/۰۵	۱۴۹۳
۴۵	Spathulenol	۰/۰۲۵	۰/۰۴	۱۵۷۶
۴۶	Caryophyllene oxide	۰/۱۸	۰/۰۵۲	۱۵۸۱

داشتند. تعداد ترکیب‌های شناسایی شده در نمونه رویشگاه

۳۲ ترکیب و در نمونه زراعی ۴۰ ترکیب بود. از نظر ترکیب انسانس در نمونه کاشته شده کارواکرول در مقایسه با نمونه رویشگاه افزایش نشان داد. ترکیب تیمول نیز در انسانس نمونه رویشگاه اصلی در مقایسه با نمونه کاشته شده ۵۸ درصد افزایش مقدار نشان داد. بالا بودن میزان تیمول در آنالیز انسانس پژوهش حاضر مشابهت زیادی با نتایج بررسی‌ها 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 انسانس در نمونه کاشته شده، لینالول در مقایسه با نمونه مرتعی ۵۳ درصد افزایش مقدار نشان داد. در پژوهشی مهم‌ترین ترکیب انسانس تودهای وحشی آویشن شیرازی جمع‌آوری شده از رویشگاه لامرد استان فارس میزان کارواکرول ۶۶/۴ درصد گزارش شد (۲۸). مطالعه بر روی ترکیبات انسانس آویشن شیرازی در رویشگاه‌های طبیعی انجام شده است، اما پژوهش حاضر اولین اطلاعات از تجزیه شیمیایی انسانس 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، ضداسترس اکسیداتیو و ضد التهاب قوی شناخته شده‌اند. هم چنین اثرات حفاظت نورونی، کبدی و کلیوی این مواد پلی فنولیک در مدل بیماری‌های

بحث و نتیجه‌گیری

مقایسه بازده انسانس‌ها نشان داد در نمونه کاشته شده در شهرستان داراب (۳/۱ درصد) میزان انسانس بیشتر از نمونه مرتعی (۱/۷ درصد) بود. در مطالعات پیشین بازده انسانس سرشاخه‌های گلدار آویشن شیرازی جمع‌آوری شده از از رویشگاه‌های مرتعی استان‌های اصفهان، فارس و یزد بازده انسانس بین ۱/۵ تا ۳/۳ تعیین شد (۲۳). تنوع موجود در مقدار درصد انسانس در گیاهان دارویی می‌تواند مربوط به ژنتیک گیاه، شرایط اقلیمی محل رویش، ارتفاع از سطح دریا، زمان برداشت گیاه، روش خشک کردن، روش استخراج انسانس و اثر متقابل این عوامل باشد (۱۰). خشکی و دمای بالا، میزان فتوستتر را در گیاهان محدود می‌سازند و با تغییر در میزان جذب مواد غذایی از خاک، تولید ماده آلی، اسیدهای آمینه و قند را چگار نوسان می‌کند که در این شرایط گیاه تغییرات غیر عادی ایجاد شده را دریافت کرده و برای مقابله با شرایط ایجاد شده فعالیت چرخه‌های مربوط به تولید متابولیت‌های اولیه را کاهش داده و باعث فعال سازی مسیرهای تولید متابولیت‌های ثانویه انسانس می‌گردد (۱۱).

با توجه به ترکیبات مختلف شناسایی شده در انسانس آویشن مرتعی و مزرعه‌ای، مشخص گردید که مونوتترپن‌های اکسیژن دار اصلی ترین گروه اجزای تشکیل دهنده انسانس بودند و پس از آن مونوتترپن‌های هیدروکربنی سهم بیشتری را دارا بودند و سزکوئیت‌های هیدروکربنی سهم کمتری

گونه‌های آویشن بیشتر می‌باشد و در مناطق مرطوب‌تر ترکیبات غیرفنولیک حلقوی نظیر پاراسیمن و گاما‌اترپین و مونوتربن‌های غیرحلقوی 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 انسانس در گیاهان دخالت دارند (۶) در نتیجه تفاوت در این عوامل می‌تواند منشأ تغییر مسیرهای سنتزی پاراسیمن به تیمول، کارواکرول به آلفاپین و لینالول می‌شود. در پژوهشی روی جمعیت‌های مختلف آویشن دنایی 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 انسانس بودند. تیمول به عنوان 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 انسانس 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 می‌باید. این یافته‌ها با نتایج حاصل از این پژوهش مطابقت دارد. نمونه مرتعی آویشن شیرازی در سطح ارتفاعی ۲۰۰۰ 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 حاصل خیزی 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 بالاتر درصد را داشته است. با توجه به اینکه ۹۵ درصد از لینالول

مختلف مشخص شده است. کارواکرول از طریق ایجاد سوراخ در غشاء 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 مونوتربن غیراشباع با توصیف بوی خاص است. این الکل مونوتربن 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 لوسيون 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 انسانس‌های 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، نروول، 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 بر جسته می‌کند، در نتیجه از لینالول به عنوان یک آفت‌کش طبیعی می‌تواند یاد کرد (۲۰). 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 مونوتربن‌ها، 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 مرتع جهت ایجاد اشتغال و توامندسازی 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 انسانس 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

- Adams, R.P., 2007. Identification of essential oil components by gas chromatography/ mass spectroscopy. Allured Publishing Corporation, Illinois, USA, 1–804.
- Aprotosoaie, 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.
- 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)
- Azadi, M., T. Jamali, Z. Kianmehr, G. Kavoosi & 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.
- Azarnivand, H. & M.A. Zare Chakohi, 2010. Rangeland ecology, Tehran University Press, 345 p. (in Persian)
- Azimi, M., H.A. Naghdi Bady, S. KalateJari, V. Abdusi & A. Mehrafarin, 2014. Comparing thechemical compositionof theessential oil of mountain thyme (*Thymus kotschyanus* Boiss. & Hohen.) of Iran. Journal of Medicinal Plants, 13(4): 136-146. (In Persian)
- 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)
- Baqalian, K. & H. Naqdi Badi., 2000. Essential plants, first edition, Tehran, Andarz Publications. 234 p. (in Persian)
- 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.
- Bigdeloo, M., J. Hadian & V. Nazeri, 2017. Composition of essential oil compounds from different populations of *Thymus caramanicus* Jalas. Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants, 7: 95-98.
- 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.
- Dashipour, A., V. Razavilar, H. Hosseini, S. Shojaee-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.
- 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.
- 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. Mesdaghi, M., 2003. Range managment 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. Navaee, 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 Lahjhamfard, 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)