Iranian Journal of Horticultural Science
Vol 51, No 3, Autumn 2020 (669-677)
DOI: 10.22059/ijhs.2020.306929.1826

علوم باغبانی ایران
دورهٔ ۵۱، شمارهٔ ۳، پاییز ۱۳۹۹ (ص ۶۷۷-۶۶۹)

بررسی تنوع شیمیایی اسانس جمعیت‌های طبیعی آویشن شیرازی (*Zataria multiflora* Boiss.) در استان هرمزگان

سولماز معماری[۱]، علیرضا یاوری[۲*] و مهدی بیکدلو[۳]
۱ و ۲. دانشجوی کارشناسی ارشد و استادیار، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران
۳. استادیار، دانشکده کشاورزی و محیط زیست، دانشگاه اراک، اراک، ایران
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۵/۵ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۷/۱۳)

چکیده

آویشن شیرازی با نام علمی *Zataria multiflora* Boiss. متعلق به تیره نعناع (Lamiaceae) بوده و از نظر پراکنش جغرافیایی بومی کشورهای ایران، افغانستان و پاکستان می‌باشد. در این پژوهش، سرشاخه‌های گلدار شش رویشگاه طبیعی در استان هرمزگان شامل رودخانه، لاورشیخ، فاریاب، تنگ زاغ، بشاگرد و بندر خمیر جمع‌آوری گردید. پس از تایید صحت گونه، نمونه‌ها در سایه و دمای محیط خشک و استخراج اسانس به روش تقطیر با آب توسط دستگاه طرح کلونجر انجام شد. سنجش اجزای شیمیایی اسانس به روش‌های گاز کروماتوگرافی (GC) و گاز کروماتوگرافی متصل به طیف‌سنج جرمی (GC/MS) شناسایی گردید. نتایج نشان داد بیشترین و کمترین بازده اسانس به‌ترتیب مربوط به اکوتیپ رودخانه (٦/٥ درصد) و اکوتیپ بندر خمیر (۳/۹ درصد) بود. بر این اساس ۲۳ ترکیب که نماینده ۹۹/۳- ۹۳/۵ درصد از کل ترکیبات بود، شناسایی گردید. از میان این ترکیبات، تیمول، لینالول، کارواکرول و پاراسیمن ترکیبات اصلی این اکوتیپ‌ها بودند. مونوترپن‌های اکسیژن-دار (۷۵/۳-٤٥/٦ درصد) گروه اصلی سازنده ترکیبات در تمام نمونه‌ها، به‌جز فاریاب، را شامل می‌شد. تجزیه خوشه‌ای ترکیبات شیمیایی، رویشگاه‌های مورد مطالعه را در سه گروه قرار داد. گروه اول که توسط مقدار بالای کارواکرول مشخص شد شامل اکوتیپ‌های بندر خمیر و بشاگرد، گروه دوم که حاوی مقدار بالای تیمول بود، شامل سه اکوتیپ تنگ زاغ، فاریاب و رودخانه و اکوتیپ لاورشیخ که گروه سوم را تشکیل می‌داد توسط مقدار بالای لینالول مشخص شد. نتایج نشان داد جمعیت‌های آویشن شیرازی در رویشگاه‌های استان هرمزگان از درصد اسانس و تنوع فیتوشیمیایی بالایی برخوردار بوده و در برنامه‌های اصلاحی می‌تواند مورد استفاده قرار گیرند.

واژه‌های کلیدی: آویشن شیرازی، اسانس، تیمول، رویشگاه طبیعی، کارواکرول.

Investigation of chemical diversity of essential oil of natural populations of *Zataria multiflora* Boiss. in Hormozgan province

Soolmaz Meamari[1], Alireza Yavari[2*] and Mahdi Bikdeloo[3]
1, 2. M.Sc. Student and Assistant Professor, Faculty of Agriculture & Natural Resources, University of Hormozgan, Bandar Abbas, Iran
3. Assistant Professor, Faculty of Agriculture & Environment, University of Arak, Arak, Iran
(Received: July 26, 2020- Accepted: Oct. 04, 2020)

ABSTRACT

Zataria multiflora Boiss. belongs to Lamiaceae family, which grows wildly in Iran, Afghanistan and Pakistan. In the present study, the aerial parts of this plant were collected at full flowering stage from six habitats in Hormozgan province including Roudkhane, Lavar-shaikh, Faryab, Tang-e-Zagh, Bashagard and Bandar-e-Khamir. After confirmation of scientific names of the species, the plant materials were dried at shade and at room temperature and the essential oils were obtained by hydro-distillation. The essential oils were analyzed by GC and GC/MS techniques. Results showed that maximum and minimum essential oil contents (w/w%) obtained from Roudkhaneh (6.5%) and Bandar-e-khamir (3.9%) ecotypes, respectively. According to essential oil compound analysis, twenty-three components, representing 93.5 – 99.3% of the total components, were identified. Thymol, linalool, carvacrol and p-cymene were the major compounds in the studied ecotypes. Oxygenated monoterpens were the main group of constituents in all samples except Faryab (45.6-75.3%). Cluster analysis of chemical compounds divided the studied ecotypes into three groups. The first group, which was characterized by a high amount of carvacrol, included the ecotypes of Bandar-e-khamir and Bashagard; the second group, which contained a high amount of thymol, included three ecotypes of Tang-e-zagh, Faryab and Roudkhane, and the ecotype of Lavar-shaikh, which formed the third group, had the highest amount of linalool. The results showed that *Z. multiflora* ecotypes in the habitats of Hormozgan province have a high percentage of essential oil and phytochemical diversity and can be used in breeding programs.

Keywords: Carvacrol essential oil, natural habitat, thymol, *Zataria multiflora*.

* Corresponding author E-mail: yavari@hormozgan.ac.ir; yavari313@gmail.com

مقدمه

آویشن شیرازی با نام علمی *Zataria multiflora* Boiss. یکی از گونه‌های مهم تیره نعناع (Lamiaceae) در نواحی مرکزی و جنوبی ایران می‌باشد که علاوه بر ایران، در کشورهای پاکستان و افغانستان به‌صورت طبیعی رویش دارد (Sajed *et al*., 2013). از نظر ویژگی‌های ظاهری این گونه گیاهی درختچه‌ای و چندساله بوده که دارای برگ‌هایی به رنگ سبزتیره و گل‌هایی سفیدرنگ می‌باشد که ارتفاع گیاه تا ۸۰ سانتی‌متر می‌رسد (Ghahreman & Attar, 1999). فعالیت‌های بیولوژیکی این گیاه به اسانس‌هایی که در غده‌های اپیدرمی برگ‌ها، ساقه‌ها و اندام‌های دیگر ذخیره می‌شوند نسبت داده می‌شود (Golmakani & Rezaei, 2008). گونه *Z. multiflora* دارای طیف وسیعی از خواص بیولوژیک شامل ضد درد، ضدمیکروبی، ضد اسپاسم و اثرات ضد التهابی می‌باشد (Azadi *et al*., 2020; Barghi *et al*., 2019; Dashipour *et al*., 2015). مطالعات زیادی روی اسانس آویشن شیرازی به‌عنوان ماده مؤثره غالب این گونه، متمرکز شده که سه ترکیب تیمول، لینالول و کارواکرول را به عنوان ترکیبات اصلی گزارش کرده‌اند (Mahmoudvand *et al*., 2016; Sadeghi *et al*., 2015; Hadian *et al*., 2011; Saharkhiz *et al*., 2010). اسانس آویشن شیرازی دارای خواص آنتی‌اکسیدانی به‌واسطه کاهش استرس اکسیداتیو می باشد (Mojaddar Langroodi, 2019; Saei-Dehkordi *et al*., 2010; Saleem *et al*., 2004). از آویشن شیرازی برای درمان اختلالات دستگاه تنفسی، اختلالات دستگاه گوارش، تب، درد زودرس زایمان، پارگی، استخوان و درد مفاصل، سردرد، اسهال، استفراغ و سرماخوردگی استفاده می‌شود (Sajed *et al*., 2013).

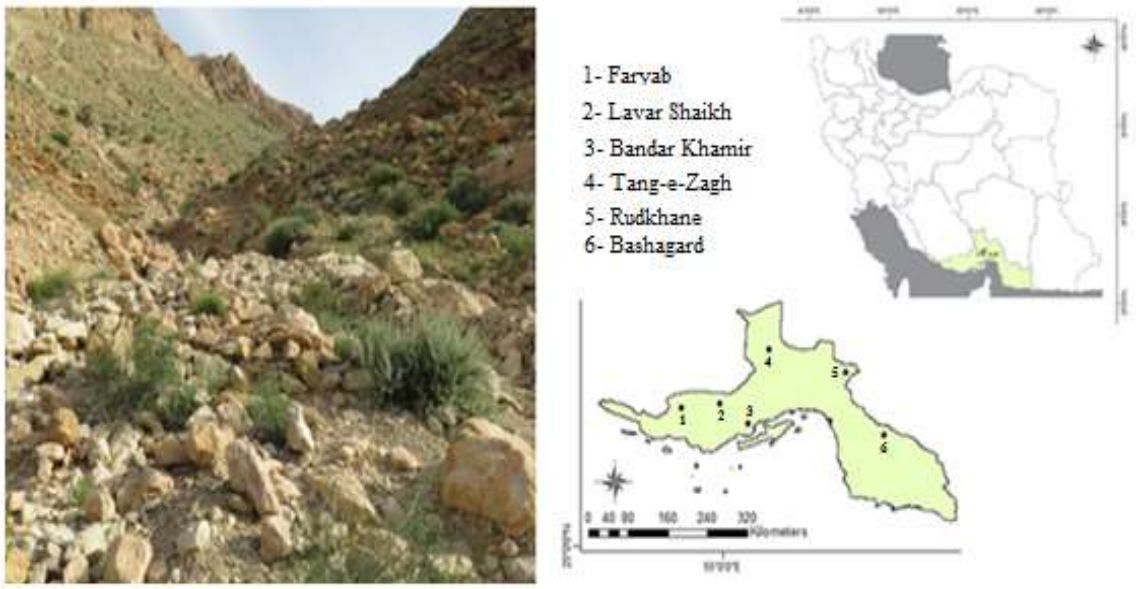
بررسی بازده عملکرد و ترکیب‌های شیمیایی اسانس سرشاخه‌های گلدار آویشن شیرازی جمع‌آوری‌شده از ۱۲ رویشگاه طبیعی در استان فارس نشان داد بیشترین و کمترین بازده اسانس به‌ترتیب مربوط به زرقان (۴ درصد) و سیوند (۲/۹۱ درصد) بود. ترکیب غالب در اسانس لینالول، تیمول و کارواکرول گزارش شد (Sadeghi *et al*., 2015). در پژوهشی دیگر ترکیب‌های شیمیایی اسانس سرشاخه‌های گلدار آویشن شیرازی جمع‌آوری‌شده از استان‌های اصفهان، فارس و یزد مورد ارزیابی قرار گرفت نتایج نشان داد کارواکرول و تیمول از مهمترین اجزای اسانس سرشاخه‌های گلدار مورد مطالعه بودند (Nagafpoornavaei & Mirza, 2014).

مطالعات مربوط به تنوع فیتوشیمیایی، روشی مهم برای طراحی برنامه‌های به‌نژادی گونه‌های مختلف گیاهان دارویی می‌باشد که در مدیریت ژرم‌پلاسم گیاهی و در برنامه‌های حفاظت گونه‌های بومی مؤثر می‌باشد. 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. بررسی منابع علمی نشان داد که تاکنون تنوع شیمیایی اسانس جمعیت‌های این گیاه در استان هرمزگان گزارش نشده است. بنابراین در این مطالعه مقدار و ترکیب شیمیایی اسانس آویشن شیرازی در شش رویشگاه طبیعی استان هرمزگان مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

در این پژوهش جهت تعیین نقاط پراکنش، ابتدا محدوده رویشگاه‌های طبیعی آویشن شیرازی با استفاده از منابع اولیه موجود از جمله فلورا ایرانیکا (Rechinger, 1982)، بررسی منابع علمی، گزارش‌های کارشناسی و مصاحبه با کارشناس‌های مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع‌طبیعی استان هرمزگان و مشاهده مستقیم مشخص گردید. پس از شناسایی رویشگاه‌های طبیعی آن در استان هرمزگان و مشاهده مستقیم تک بوته‌های مختلف آویشن شیرازی، اطلاعات فنولوژیکی مناطق مختلف جمع‌آوری و براساس آن، زمان گلدهی کامل گیاه تعیین شد. سپس در مرحله گلدهی کامل از رویشگاه تنگ زاغ در اسفندماه ۱۳۹۶ و سایر رویشگاه‌ها شامل رودخانه، لاورشیخ، فاریاب، بشاگرد و بندرخمیر در طول فروردین‌ماه ۱۳۹۷، سرشاخه‌های گلدار جمع‌آوری گردید (شکل ۱). شناسایی گونه توسط مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان هرمزگان صورت گرفت و با کد هرباریومی ۲۲۲۸ ثبت گردید. سرشاخه‌های گلدار جمعیت‌های مختلف در سایه و دمای محیط در آزمایشگاه فناوری گیاهان‌دارویی دانشگاه هرمزگان، خشک گردید.



شکل ۱. رویشگاه‌های آویشن شیرازی مورد مطالعه در استان هرمزگان
Figure 1. Studied natural habitats of *Z. multiflora* in Hormozgan province

اطلاعات رویشگاهی هر منطقه شامل طول و عرض جغرافیایی و ارتفاع از سطح دریا با استفاده از دستگاه مکان‌یاب جهانی (GPS) مشخص شد. داده‌های اقلیمی مربوط به ۱۸ سال گذشته هر رویشگاه از جمله متوسط دمای سالیانه، کمینه و بیشینه دما و نیز متوسط بارندگی سالیانه از ایستگاه‌های هواشناسی منطقه جمع‌آوری گردید. در مواردی که ایستگاه‌های هواشناسی مربوط به منطقه نمونه‌برداری وجود نداشت، داده‌های اشاره‌شده از نزدیک‌ترین ایستگاه هواشناسی با اولویت ایستگاه‌های سینوپتیک استخراج گردید (جدول ۱).

استخراج اسانس

به‌منظور استخراج اسانس، ۱۰۰ گرم سرشاخه‌های گلدار خرد شده توسط آسیاب، به روش تقطیر با آب به کمک دستگاه طرح کلونجر طبق فارماکوپه بریتانیا (British Pharmacopoeia, 2007) به مدت ۳ ساعت در آزمایشگاه فناوری گیاهان دارویی دانشگاه هرمزگان با ۳ تکرار اسانس گیری انجام شد. جداسازی اسانس از ستون دستگاه، با سرنگ مخصوص انجام گردید و سپس با انتقال به ویال‌های شیشه‌ای مخصوص نگهداری اسانس، توسط سولفات سدیم بدون آب، آبگیری صورت گرفت. نمونه‌ها تا زمان تزریق به دستگاه‌های GC و GC-MS، که در آزمایشگاه تجزیه شیمی بخش گیاهان دارویی موسسه جنگل‌ها و مراتع کشور انجام شد، در یخچال نگهداری گردیدند. درصد اسانس (وزنی به وزنی) نمونه‌ها بر حسب وزن خشک ماده گیاهی مورد استفاده، محاسبه شد.

روش‌های تجزیه دستگاهی

دستگاه گاز کروماتوگراف (GC)

گاز کروماتوگراف مدل Thermo-UMF مجهز به داده‌پرداز با نرم افزار Chrom-card 2006، دارای ستون موئینه به طول ۱۰ متر و قطر داخلی ۰/۱ میلی‌متر و ضخامت لایه فاز ساکن برابر ۰/۲۵ میکرون و با نام تجارتی Ph-5 بود. برنامه‌ریزی دمایی ستون از دمای اولیه ۶۰ درجه سانتی‌گراد شروع شده و در هر دقیقه ۳ درجه سانتی‌گراد به آن افزوده می‌شد تا به دمای ۲۱۰ درجه سانتی‌گراد می‌رسید. سپس دما با سرعت ۲۰ درجه سانتی‌گراد در دقیقه افزایش یافته در دمای ۲۴۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۸/۵ دقیقه متوقف می‌گردید. دمای محفظه تزریق ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد و دمای آشکارساز ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. آشکارساز مورد استفاده در دستگاه گاز کروماتوگراف از نوع FID (آشکارساز یونیزاسیون شعله‌ای) که از گاز هلیم به عنوان گاز حامل استفاده گردید و فشار ورودی آن به ستون برابر ۳ کیلوگرم بر سانتی‌متر مربع تنظیم شد.

جدول ۱. برخی از ویژگی‌های رویشگاه‌های گونه *Zataria multiflora* در استان هرمزگان

Table 1. Some characteristics of *Zataria multiflora* habitats in Hormozgan province

No.	Collection places	Longitude (E)	Latitude (N)	Altitude (m)	Mean annual temp. (°c)	Maximal temp. (°c)	Minimal temp. (°c)	Rainfall (mm/year)
1	Roudkhane	57º 22′	27º 74′	485	18.9	37.8	28.3	18.5
2	Lavar Sheikh	54º 69θ′	27º 11′	894	13.9	39.6	26.7	22.8
3	Faryab	57º 27′	27º 82′	492	18.9	37.8	28.3	18.5
4	Tang-e-zagh	55º 97′	27º 84′	894	19.3	34.3	26.8	11
5	Bashagard	57º 89′	26º 45′	735	17.5	36.6	27	13.5
6	BandarKhamir	55º 58′	26º 95′	154	20	37.3	28.6	19.9

دستگاه گاز کروماتوگراف متصل به طیف‌سنج جرمی (GC/MS)

از گاز کروماتوگراف واریان ۳۴۰۰ متصل شده به طیف‌سنج جرمی (Saturn II, GC/MS) استفاده شد. ستون مورد استفاده از نوع Ph-5 به طول ۱۰ متر و قطر داخلی ۰/۱ میلی‌متر و ضخامت لایه فاز ساکن ۰/۲۵ میکرون بود. برنامه‌ریزی حرارتی از ۵۰ تا ۲۴۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۳ درجه در دقیقه، دمای محفظه تزریق ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد و دمای ترانسفرلاین ۲۶۰ درجه سانتی‌گراد با استفاده از گاز هلیم به عنوان گاز حامل مورد استفاده قرار گرفته است. سرعت گاز هلیم ۳۱/۵ سانتی‌متر بر ثانیه، دتکتور تله یونی (Ion trap)، انرژی یونیزاسیون معادل ۷۰ الکترون ولت، زمان اسکن برابر یک ثانیه و ناحیه جرمی از ۴۰ تا ۳۰۰ بوده است.

شناسایی طیف‌ها به کمک محاسبه شاخص‌های بازداری کواتس که با تزریق هیدروکربن‌های نرمال (C_7-C_{25}) تحت شرایط یکسان با تزریق اسانس‌ها صورت گرفت و با مقادیری که در منابع مختلف منتشر گردیده بود، مقایسه شد. بررسی طیف‌های جرمی نیز جهت شناسایی ترکیب‌ها انجام گرفت و شناسایی‌های صورت‌گرفته با استفاده از طیف‌های جرمی ترکیب‌های استاندارد و استفاده از کتابخانه‌های مختلف تأیید گردید. درصد نسبی هر کدام از ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس‌ها با توجه به سطح زیر منحنی آن در طیف گاز کروماتوگراف به دست آمد و با مقادیری که در منابع مختلف با در نظر گرفتن اندیس کواتس منتشر شده، مقایسه گردید (Shibamoto, 1987; Davies, 1998; Adams, 2011).

آنالیز آماری

از نرم‌افزار SPSS ver. 21 برای تجزیه و تحلیل خوشه‌ای ترکیبات اسانس به روش Ward و براساس فاصله اقلیدسی استفاده شد.

نتایج و بحث

بازده متوسط تولید اسانس

بازده متوسط تولید اسانس حاصل از سرشاخه‌های گلدار آویشن شیرازی در سه تکرار بر حسب وزن اسانس به روش تقطیر با آب، در جدول ۲ ذکر شده است. درصد اسانس در نمونه‌های رویشگاه‌های مختلف از ۳/۹ تا ۶/۵ درصد متغیر بود. نتایج نشان داد بیشترین و کمترین بازده اسانس به ترتیب در نمونه‌های مربوط به رویشگاه‌های رودخانه با ۶/۵ درصد، لاورشیخ با ۶/۲ درصد، فاریاب با ۴/۷ درصد، تنگ زاغ با ۴/۳ درصد، بشاگرد با ۴ درصد و بندر خمیر با ۳/۹ درصد به‌دست آمد. در مطالعات پیشین بازده اسانس سرشاخه‌های گلدار آویشن شیرازی جمع‌آوری شده از رویشگاه‌های مختلف استان فارس بین ۲/۹۱ تا ۴ درصد گزارش شد (Sadeghi *et al.*, 2015). در گزارشی دیگر از نمونه‌های جمع‌آوری شده از رویشگاه‌های استان اصفهان، فارس و یزد بازده اسانس بین ۱/۵ تا ۳/۳ اعلام شد (Nagafpoornavaei & Mirza, 2014). این تنوع موجود در مقدار درصد اسانس در گیاهان دارویی می‌تواند 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 (Bigdeloo *et al.*, 2017). رویشگاه‌های آویشن شیرازی مورد مطالعه در این پژوهش از ارتفاع ۱۵۴ تا

۸۹۴ متر از سطح دریا پراکنش دارند. بالاترین بازده اسانس در رویشگاه رودخانه مشاهده گردید که ارتفاع از سطح دریا در آن رویشگاه ۴۸۵ متر بوده و کمترین بازده اسانس از رویشگاه بندر خمیر مشاهده گردید که ارتفاع از سطح دریا در آن رویشگاه ۱۵۴ متر بود. در پژوهشی بازده و اجزای تشکیل‌دهنده اسانس آویشن دنایی مورد ارزیابی قرار گرفت و نوع خاک، شرایط اقلیمی و ارتفاع از سطح دریا از عوامل تأثیر گذار بر روی عملکرد اسانس و اجزای تشکیل‌دهنده آن گزارش شد و کمترین میزان عملکرد اسانس را از مرتفع ترین منطقه و بیشترین میزان اسانس را از کم ارتفاع ترین منطقه گزارش کردند (Roustaei *et al*., 2009)، که نتایج حاصل از این پژوهش با آن مطابقت نداشت.

تغییرات متوسط دمای سالیانه در رویشگاه‌های مختلف آویشن شیرازی بین ۲۶/۷ تا ۲۸/۶ درجه سانتی‌گراد بود و تفاوت بین کمینه دما و بیشینه دما در رویشگاه‌های مورد مطالعه ۲۵/۷ درجه سانتی‌گراد بود. خشکی و دمای بالا، میزان فتوسنتز را در گیاهان محدود می‌سازند و با تغییر در میزان جذب مواد غذایی از خاک، تولید ماده آلی، اسیدهای آمینه و قند را دچار نوسان می‌کند که در این شرایط گیاه تغییرات غیر عادی ایجادشده 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 (اسانس) می‌گردد (Cristina Figueiredo *et al*., 2008). در این مطالعه رویشگاه‌های رودخانه، لاورشیخ و فاریاب که دارای بیشترین عملکرد بازده اسانس بود از نظر بیشینه دمای سالیانه نیز دارای دمای بالاتری نسبت به رویشگاه‌های دیگر بودند. بررسی متوسط بارش سالیانه در رویشگاه‌های مورد مطالعه نشان داد بیشترین بارندگی در رویشگاه لاورشیخ (۲۲/۸ میلی-متر) و کمترین میزان بارش در رویشگاه تنگ زاغ (۱۱ میلی‌متر) رخ می‌دهد.

بررسی اجزای اسانس

جمعیت‌های مختلف آویشن شیرازی مورد مطالعه در این پژوهش از نظر نوع و درصد ترکیبات اسانس، تنوع زیادی با یکدیگر نشان دادند (جدول ۲). در مجموع تعداد ۲۳ ترکیب در اسانس سرشاخه‌های گلدار این ترکیب شناسایی گردید. در شش رویشگاه رودخانه، لاورشیخ، فاریاب، تنگ زاغ، بشاگرد و بندر خمیر به ترتیب ۱۹، ۲۱، ۲۱، ۲۳، ۲۲ و ۲۲ ترکیب شناسایی شدند که در جدول ۲ آورده شده است. ترکیبات شناسایی‌شده از رویشگاه رودخانه ۹۷/۳ درصد، رویشگاه لاورشیخ ۹۳/۵ درصد، رویشگاه فاریاب ۹۷/۸ درصد، رویشگاه تنگ زاغ ۹۸/۴ درصد، رویشگاه بشاگرد ۹۸/۵ درصد و رویشگاه بندر خمیر ۹۹/۳ درصد از اجزای اسانس را به خود اختصاص دادند. عمده‌ترین ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس *Z. multiflora* عبارتند از پنج ترکیب پاراسیمن (۱۰/۳ درصد)، گاما ترپینن (۷/۵ درصد)، تیمول (۶۱/۸ درصد)، کارواکرول (۴/۲ درصد) و تیمول استات (۳/۵ درصد) از رویشگاه رودخانه؛ چهار ترکیب آلفا پینن (۵/۸ درصد)، پارا-سیمن (۴/۹ درصد)، لینالول (۵۶/۴ درصد) و تیمول (۱۳/۸ درصد) از رویشگاه لاورشیخ؛ چهار ترکیب پارا سیمن (۲۴/۴ درصد)، گاماترپینن (۹/۶ درصد)، تیمول (۳۵/۹ درصد) و کارواکرول (۴/۴ درصد) از رویشگاه فاریاب؛ پنج ترکیب آلفاپینن (۵/۲ درصد)، پاراسیمن (۱۲/۴درصد)، گاماترپینن (۱۰/۷ درصد)، تیمول (۲۸/۷ درصد) و کارواکرول (۲۳/۸ درصد) از رویشگاه تنگ زاغ؛ پنج ترکیب آلفا پینن (۳/۷ درصد)، پارا سیمن (۱۸/۱ درصد)، گاما ترپینن (۹/۵ درصد)، تیمول (۵/۶ درصد) و کارواکرول (۴۶/۱ درصد) از رویشگاه بشاگرد و پنج ترکیب آلفا پینن (۹/۸ درصد)، پاراسیمن (۱۶/۶ درصد)، گاما ترپینن (۶/۳ درصد)، تیمول (۷/۷ درصد) و کارواکرول (۴۰/۶ درصد) از رویشگاه بندر خمیر بود و سایر ترکیبات کمتر از سه درصد اجزای اسانس را تشکیل دادند.

با توجه به ترکیبات مختلف شناسایی‌شده در اسانس این شش رویشگاه، مشخص گردید که مونوترپن‌های اکسیژن‌دار اصلی‌ترین گروه اجزای تشکیل‌دهنده اسانس رویشگاه‌های رودخانه (۷۱/۱ درصد)، لاورشیخ (۷۵/۳ درصد)، تنگ زاغ (۵۹/۹ درصد) و بندر خمیر (۵۵/۴ درصد) بودند و پس از آن مونوترپن‌های هیدروکربنی سهم بیشتری را دارا بودند و سزکویی ترپن‌های هیدروکربنی سهم کمتری

داشتند (جدول ۲). اصلی ترین گروه اجزای تشکیل‌دهنده اسانس رویشگاه فاریاب مونوترپن‌های هیدروکربنی با (۴۵/۶ درصد) بود. مطابق نتایج به‌دست‌آمده در این پژوهش، تنوع موجود در ترکیبات اسانس آویشن شیرازی توسط پژوهش‌گران دیگر نیز گزارش شده است. در پژوهشی مهمترین ترکیب اسانس توده‌های وحشی آویشن شیرازی جمع‌آوری شده از رویشگاه لامرد استان فارس کارواکرول (۷۷/۴ درصد) گزارش شد (Saharkhiz *et al*., 2010). در پژوهشی دیگر، ترکیبات اصلی اجزای اسانس رویشگاه‌های استان فارس، کارواکرول (۵۷-۴ درصد)، تیمول (۴۵-۱ درصد)، گاماترپینن (۳۸-۱ درصد)، پاراسیمن (۲۰-۴ درصد) و لینالول با (۶۲/۲۲ درصد) گزارش شد (Kavoosia & Rabieia, 2015). در مطالعات دیگری ترکیب اصلی اجزای اسانس نمونه‌های جمع‌آوری شده از رویشگاه زرقان فارس لینالول با (۹۰/۶ و ۵۵/۷ درصد) گزارش شد (Saharkhiz *et al*., 2010; Sadeghi *et al*., 2015).

براساس گزارش‌های قبلی و پژوهش حاضر، به‌نظر می‌رسد این تنوع شیمیایی در بین توده‌های *Z. multiflora* می‌تواند تحت تأثیر عوامل محیطی و ژنتیکی باشد. به‌عنوان مثال در نمونه‌های گیاهی *Thymus vulgaris* نشان داده شده است بیوسنتز شیمیایی ترکیبات کارواکرول، لینالول، تیمول و گاماترپینن تحت کنترل عوامل ژنتیکی می‌باشد و بیوسنتز آن‌ها توسط یک سری مکان‌های ژنی کنترل می‌گردد و این مکان‌های ژنی رابطه غالبیت وجود دارد. در مسیر بیوسنتز مونوترپن‌ها که از ژرانیل پیروفسفات آغاز می‌گردد، انشعابات متعددی وجود دارد که هر یک منجر به ساخت یک مونوترپن خاص می‌گردد (Majidi *et al*., 2017; Ložienėa & Venskutonis, 2005; Vernet *et al*., 1986).

جدول ۲. ترکیب‌های شناسایی شده در اسانس گونه *Zataria multiflora* در رویشگاه‌های استان هرمزگان

Table 2. Identified compounds in the essential oils of *Zataria multiflora* from Hormozgan province habitats

No.	Compound name*	RI**	Content (%)					
			Roudkhane	Lavar-sheikh	Faryab	Tang-e-zagh	Bashagard	Bandar-e-khamir
1	α -thujene	932	0.2	0.3	1.3	0.8	0.9	0.8
2	α - pinene	944	1.1	5.8	7	5.2	3.7	9.8
3	camphene	962	-	0.2	0.3	0.2	0.2	0.4
4	β – pinene	971	0.1	-	0.1	0.1	2.8	0.2
5	3-octanone	976	1.5	1.2	2.6	2.5	0.5	2.7
6	myrcene	1005	0.2	0.8	1.3	0.8	0.5	1.3
7	α – phellandrene	1028	-	-	0.1	0.1	0.1	0.1
8	α - terpinene	1038	1.54	0.7	2.9	2.4	2.2	1.7
9	*p*- cymene	1050	10.3	4.9	24.4	12.4	18.1	16.6
10	limonene	1053	0.2	0.3	0.9	0.5	0.4	0.5
11	1,8 –cineole	1058	0.2	0.7	-	0.5	0.2	0.3
12	γ -terpinene	1079	7.5	2.1	9.6	10.7	9.5	6.3
13	linalool	1108	1.1	56.4	0.8	1.3	0.3	1
14	terpinene- 4-ol	1217	1.2	0.5	1	1	1.2	1.1
15	α – terpineol	1230	0.4	1.2	1.2	0.8	0.3	0.6
16	methyl ether thymol	1252	-	0.1	1.1	0.6	-	-
17	methyl ether carvacrol	1260	-	0.1	0.2	2.2	2.3	2.4
18	thymol	1317	61.8	13.8	35.9	28.7	5.6	7.7
19	carvacrol	1327	4.2	1.7	4.4	23.8	46.1	40.6
20	thymyol acetate	1359	3.5	0.2	0.6	0.3	0.1	0.2
21	carvacrol acetate	1370	.1	0.1	-	0.3	0.9	1.1
22	e –caryophyllene	1470	2.3	1.4	0.9	1.9	1.9	1.5
23	aromadendrene	1480	0.8	0.1	0.3	0.6	0.4	0.4
Monoterpene hydrocarbons			23	16.6	50.8	36	38.8	41.9
Oxygenated monoterpens			71.1	75.3	45.6	59.9	57.4	55.4
Sesqui terpenes			3.2	1.6	1.4	2.6	2.4	2.1
Total identified			**97.3**	**93.5**	**97.8**	**98.4**	**98.5**	**99.3**
Essential oil content (w/w%)			**6.5**	**6.2**	**4.7**	**4.3**	**4**	**3.9**

*) روش شناسایی: اندیس بازداری (RI)، اسپکترومتری جرمی (MS)، تزریق همزمان با تعدادی از ترکیبات استاندارد در دسترس.

**) اندیس بازداری در این تحقیق با استفاده از نرمال آلکان‌های ۲۴-۶ کربنه در ستون DB-5 تعیین گردید.

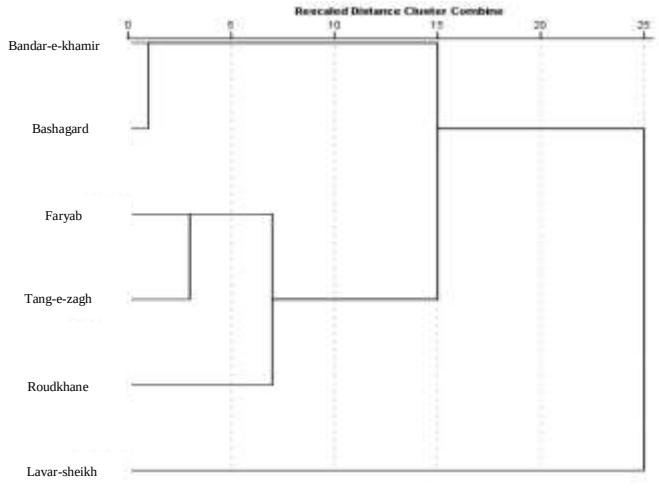
*) Mode of identification: retention index (RI), mass spectrometery (MS), and co-injection (CoI) with some available authentic compounds.

**) RI: retention indices determined in the present work relative to C6–C24 *n*-alkanes on the DB-5 column.

علاوه بر اثر بیان ژن‌ها بر روی تولید مونوترپن‌ها، عوامل مختلفی از جمله خصوصیات محیطی، مرحله‌ی 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 گونه‌های آویشن بیشتر می‌باشد و در مناطق مرطوب‌تر ترکیبات غیر فنولیک حلقوی نظیر پاراسیمن و گاماترپینن و مونوترپن‌های غیر حلقوی نظیر ژرانیول و لینالول افزایش پیدا می‌کند (Baghalian & Naghdibadi, 2000). در پژوهشی روی جمعیت‌های مختلف آویشن دنایی مشخص شد عواملی نظیر ارتفاع، متوسط دما در مرطوب‌ترین فصل، هم‌دمایی، 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 مرطوب-ترین فصل از جمله مهمترین عوامل تأثیرگذار بر تولید کارواکرول بودند (Bahraini nejad & Mirza, 2019). 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 (Ebrahimi Zabet *et al*., 2013). این یافته‌ها با نتایج حاصل از این پژوهش مطابقت داشت. نمونه‌های رویشگاه بندر خمیر با کمترین ارتفاع از سطح دریا (۱۵۴ متر) دارای کارواکرول بالا با مقدار (۴۰/۶ درصد) و مقدار تیمول پایین با مقدار (۷/۷ درصد) بودند و رویشگاه رودخانه با ارتفاع از سطح دریا (۴۸۵ متر) دارای بیشترین مقدار تیمول (۶۱/۸ درصد) و مقدار کارواکرول کم با مقدار (۴/۲ درصد) بود.

گروه‌بندی تیپ‌های شیمیایی

نتایج حاصل از تجزیه کلاستر اجزای تشکیل‌دهنده اسانس منجر به شناسایی سه تیپ شیمیایی گردید. I- تیپ کارواکرول، II- تیپ تیمول و III- تیپ لینالول (شکل ۲). تیپ شیمیایی اول شناسایی شده کارواکرول، توسط مقدار بالای کارواکرول مشخص گردید. این تیپ دربرگیرنده دو رویشگاه بندر خمیر و بشاگرد که به‌ترتیب با مقادیر بالای کارواکرول (۴۰/۶ و ۴۶/۱ درصد)، تیپ شیمیایی دوم شناسایی‌شده تیمول، توسط مقدار بالای تیمول مشخص گردید. این تیپ دربرگیرنده سه رویشگاه تنگ زاغ، فاریاب و رودخانه بود که به‌ترتیب دارای مقادیر بالای تیمول (۲۸/۷، ۳۵/۹ و ۶۱/۸ درصد) و تیپ شیمیایی سوم لینالول، که توسط مقدار بالای لینالول مشخص گردید. این تیپ دربرگیرنده رویشگاه لاورشیخ با درصد بالای لینالول (۵۶/۴ درصد) مشخص گردید.



شکل ۲. دندروگرام حاصل از تجزیه کلاستر اکوتیپ‌های آویشن شیرازی (*Z. multiflora*) براساس ترکیب‌های شیمیایی اسانس

Figure 2. Dendrogram of cluster analysis for *Z. multiflora* ecotypes using the components of the essential oil

نتیجه‌گیری کلی

با توجه به اهمیت گونه *Z. multiflora* از نظر اقتصادی و برداشت بی‌رویه آن که منجر به در معرض خطر انقراض قرار گرفتن جمعیت‌های طبیعی آن شده، روند اهلی‌سازی این گونه و معرفی به سیستم‌های کشاورزی باید در اولویت قرار گیرد. در این راستا، نتایج پژوهش حاضر به‌منظور بررسی دقیق جنبه‌های شیمیایی اسانس جمعیت‌های مختلف آویشن شیرازی در استان هرمزگان، به‌عنوان یکی از خاستگاه‌های اصلی این گونه در کشور، نشان داد که به رویشگاه‌هایی در این استان مانند رودخانه و لاور شیخ می‌توان دست یافت که از آنها به‌عنوان میدان اکولوژیکی برای تولید حداکثری بازده اسانس (بیش از ۶ درصد) استفاده کرد. همچنین، شناسایی سه تیپ شیمیایی غنی از تیمول، لینالول و کارواکرول که هر یک دارای ویژگی‌های بیولوژیکی منحصر به‌فردی هستند، حاکی از وجود مناطقی در استان هرمزگان می‌باشد که در بروز استعداد متابولیتی آویشن شیرازی از پتانسیل بالایی برخوردارند. هر یک از سه تیپ شیمیایی اشاره شده می‌تواند کاندیدای مناسبی برای مصارف غذایی، دارویی و صنعتی بوده و جمعیت هر رویشگاه، بسته به ترکیبات غالب خود، برای برنامه‌های به‌نژادی و اهلی‌سازی قابل توصیه می‌باشد.

REFERENCES

1. Adams, R.P. (2011). *Identification of Essential Oils by Ion Trap Mass Spectroscopy*. Academic Press: New York, 809 p.
2. Azadi, M., Jamali, T., Kianmehr, Z., Kavoosi, G. & Ardestani, S.K. (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*, 112865.
3. Bahraini nejad, B. & Mirza, M. (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 Farsi)
4. Barghi, M., Ashrafi, M., Aminlari, M., Namazi, F. & Nazifi, S. (2019). The protective effect of *Zataria multiflora* Boiss. essential oil on CCl_4 induced liver fibrosis in rats. *Drug and Chemical Toxicology*, 1-9.
5. Baqalian, K., and Naqdi Badi, H. (2000). *Essential plants*, first edition, Tehran, Andarz Publications. 234 p. (in Farsi).
6. Bigdeloo, M., Hadian, J. & Nazeri, V. (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.
7. Cristina Figueiredo, A., Barroso, J.G., Pedro, L.G. & Scheffer, J.J.C. (2008). Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils. *Flavor and Fragrance Journal*, 23, 213-226.
6. Dashipour, A., Razavilar, V., Hosseini, H., Shojaee-Aliabadi, S., German, J. B., Ghanati, K., Mansour Khakpour, M. & Khaksar, R. (2015). Antioxidant and antimicrobial carboxymethyl cellulose films containing *Zataria multiflora* essential oil. *International Journal of Biological Macromolecules*, 72, 606-613.
7. Davies, N.W. (1998). Gas chromatographic retention indices of monoterpenes and sesquiterpenes on methyl silicon and Carbowax 20M phases. *Journal of Chromatography*, 503, 1-24.
8. Ebrahimi Zabet, S.H., Azizi, A. & Hasani, A. (2013). The effect of altitude on the essential oil content and quality of habitat in Alvandi Thyme (*Thymus elwendicus*). *Eighth Congress of Iranian Horticultural Science*, Bu Ali Sina University. pp: 285.
9. Ghahreman, A. & Attar, F. (1999). in "*Biodiversity of Plant Species in Iran*", Tehran University Publications, Tehran, 515 p. (in Farsi).
10. Golmakani, M. T. & Rezaei, K. (2008). Microwave-assisted hydrodistillation of essential oil from *Zataria multiflora* Boiss. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 110, 448-454.
11. Hadian, J., Ebrahimi, S. N., Mirjalili, M. H., Azizi, A., Ranjbar, H. & Friedt, W. (2011). Chemical and genetic diversity of *Zataria multiflora* Boiss. accessions growing wild in Iran. *Chemistry and Biodiversity*, 8(1), 176-188.
12. Kavoosia, Gh. & Rabieia, F. (2015). *Zataria multiflora*: chemical and biological diversity in the essential oil. *Journal of Essential Oil Research*, 27(5), 428-436.
13. Khoshnazar, R. (2007). *Medicinal plants, endangered natural heritage*. Tehran Agricultural and Resources Research Center. 325 p. (in Farsi)

14. Ložienėa, K. & Venskutonis, P.R. (2005). Influence of environmental and genetic factors on the stability of essential oil composition of *Thymus pulegioides*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 33(5), 517-525.
15. Mahmoudvand, H., Mirbadie, S. R., Sadooghian, S., Harandi, M. F., Jahanbakhsh, S. & Saedi Dezaki, E. (2016). Chemical composition and scolicidal activity of *Zataria multiflora* Boiss. essential oil. *Journal of Essential Oil Research*, 29(1), 42-47.
16. Majdi, M., Mashhady, A.M., Maroufi, A. & Crocoll, C. (2017). Tissue-specific geneexpression patterns of genes associated with thymol/carvacrol biosynthesis in thyme (*Thymus vulgaris* L.) and their differential changes upon treatment with abiotic elicitors. *Plant Physiology and Biochemistry*, 115, 152-162.
17. Mojaddar Langroodi, A., Tajik, H. & Mehdizadeh, T. (2019). Antibacterial and antioxidant characteristics of *Zataria multiflora* Boiss. essential oil and hydroalcoholic extract of *Rhus coriaria* L. *Journal of Food Quality and Hazards Control*, 6(1), 16-24.
18. Najafpour Navai, M., Mirza, M. (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 Farsi)
19. Rechinger, K.H. (1982). *Flora Iranica*. (Vol. 152). Graz: Akademische Druck- und Verlagsanstalt, Pp: 427-428.
20. Roustaei, A., Tabatabai, S.M., Omidbeigi, R., Sefidkan, F. & Hassani, M.A. (2009). Investigation of the essential oil constituents of flowering thyme branches collected from three different regions Hamedan province. *Sixth Iranian Congress of Horticultural Sciences*. Rasht. 1213 -1214 p. (in Farsi)
21. Sadeghi, H., Robati, Z. & Saharkhiz, M. (2015). Variability in *Zataria multiflora* Boiss. essential oil of twelve populations from Fars province, Iran. *Industrial Crops and Products*, 67, 221-226.
22. Sajed, H., Sahebkar, A. & Iranshahi, M. (2013). *Zataria multiflora* Boiss. (Shirazi thyme) -An ancient condiment with modern pharmaceutical uses. *Journal of Ethnopharmacology*, 145, 686-698.
23. Saharkhiz, M. J., Smaeili, S. & Merikhi, M. (2010). Essential oil analysis and phytotoxic activity of two ecotypes of *Zataria multiflora* Boiss. growing in Iran. *Natural Product Research*, 24(17), 1598-1609.
24. Saei-Dehkordi, S. S., Tajik, H., Moradi, M. & Khalighi-Sigaroodi, F. (2010). Chemical composition of essential oils in *Zataria multiflora* Boiss. from different parts of Iran and their radical scavenging and antimicrobial activity. *Food and Chemical Toxicology*, 48(6), 1562-1567.
25. Saleem, M., Nazli, R., Afza, N., Sami, A. & Shaiq Ali, M. (2004). Biological significance of essential oil of *Zataria multiflora* Boiss. *Natural Product Research*, 18(6), 493-497.
26. Shibamoto, T. (1987). *Retention indices in essential oil analysis*. In Capillary Gas Chromatography in Essential Oil Analysis, Sandra P, Bichi C (eds). Alfred Heuthig: New York.
27. Tetenyi, P. (2002). Chemical variation in medicinal and aromatic plants. *Acta Horticulturae*, 576, 15-21.
28. Vernet, P., Gouyon, P.H. & Valdeyron, G. (1986). Genetic control of the oil content in *Thymus vulgaris* L.: a case of polymorphism in a biosynthetic chain. *Genetica*, 69, 227-231.