Journal of Birjand University of Medical Sciences

Birjand University of Medical Sciences

Original Article

Diversity of antibacterial and antifungal activities of *Thymus kotschyanus* essential oil collected from fourteen regions of Iran

Fatemeh Elahian[1], Alireza Yazdinezhad[2], Negin Moein-Albokay Tusi[2], Zahra Nouri[2], Seyed Abbas Mirzaei[1,3]*

ABSTRACT

Background and Aim: *Thymus kotschyanus* is one of the most famous medicinal plants in Iran from the mint family and it has many applications in traditional medicine, such as relieving the symptoms of colds and coughs and relieving some gastrointestinal diseases. It also has antibacterial and antifungal effects. This study was performed to investigate the diversity of antibiotic effects of this plant.

Materials and Methods: Essential oils of fourteen different ecotypes of *Thymus kotschyanus* were extracted by using the Clevenger apparatus. After oil analyses with GC-MS device, the minimum inhibitory concentration of growth and also the minimum lethal concentration of 7 types of bacteria and 2 types of fungi were measured by microdilution method in the range of 0.01 to 5.12 mg/ml.

Results: Oxygenated monoterpenes were the major fraction (64.60–90.60%) of the oils, and thymol and carvacrol were considered as the most abundant constituents (27.23–75.55%). The amount and concentration of these two phenolic substances in thyme essential oil were directly related to antibacterial and antifungal effects. The antibacterial and antifungal activity of the essential oils ranged from 0.24 to 5.12 and 0.08 to 0.96 mg/ml, respectively. The most active antimicrobial activity is related to the essential oil of Salmas and Nodoshan ecotypes and the least activity was seen in Rudbar ecotype.

Conclusion: Geographical characteristics of the place where plants grow had a significant role in the type and amount of compounds in the essential oil of the plant. In this regard, different biological effects and antibacterial and antifungal properties can occur from each ecotype.

Key Words: Antifungal, Antimicrobial, Ecotype, *Thymus Kotschyanus*, Volatile Oil

Citation: Elahian F, Yazdinezhad A, Moein-Albokay Tusi N, Nouri Z, Mirzaei SA. [Variety of antibacterial and antifungal activity of *Thymus kotschyanus* essential oil collected from fourteen regions of Iran]. J Birjand Univ Med Sci. 2020; 27(3): 275-290. [Persian].

DOI http://doi.org/10.32592/JBirjandUnivMedSci.2020.27.3.106.

Received: April 9, 2020 **Accepted:** June 28, 2020

[1] Department of Medical Biotechnology, School of Advanced Technologies, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran.
[2] Department of Pharmaceutical Biotechnology, School of Pharmacy, Zanjan University of Medical Sciences, Zanjan, Iran.
[3] Cellular and Molecular Research Center, Basic Health Sciences Institute, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran

Correspondening author; Cellular and Molecular Research Center, Basic Health Sciences Institute, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran Tel: +983833331471 Fax: +983833330709 Email: mirzaei.a@skums.ac.ir, dr_amirzaei@yahoo.com

[DOI: 10.32592/JBirjandUnivMedSci.2020.27.3.106]

مقاله اصیل پژوهشی

تنوع فعالیت ضدّ باکتریایی و ضدّ قارچی اسانس اکوتیپ‌های آویشن کوهی جمع‌آوری‌شده از چهارده منطقه ایران

فاطمه الهیان[۱]، علیرضا یزدی‌نژاد[۲]، نگین معین‌البکای طوسی[۲]، زهرا نوری[۲]، سیدعباس میرزایی[۱و۳]

چکیده

زمینه و هدف: آویشن کوهی یکی از مشهورترین گیاهان دارویی ایران از خانواده نعناعیان است و کاربردهای زیادی در طب سنتی همچون تسکین علائم سرماخوردگی و سرفه و تخفیف برخی بیماری‌های گوارشی دارد؛ همچنین دارای اثرات ضدّ باکتریایی و ضدّ قارچی است. این مطالعه به‌منظور بررسی تنوع اثرات آنتی‌بیوتیکی این گیاه اجرا گردیده است.

روش تحقیق: اسانس چهارده اکوتیپ مختلف آویشن کوهی با استفاده از دستگاه کلونجر استخراج شده و پس از آنالیز با دستگاه GC-MS به‌منظور اندازه‌گیری حداقل غلظت مهارکنندگی رشد و همچنین حداقل غلظت کشندگی، از ۷ نوع باکتری و ۲ نوع قارچ به روش رقیق‌سازی میکرو در محدوده ۰/۰۱ تا ۵/۱۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر استفاده شد.

یافته‌ها: فراوان‌ترین اجزای اسانس‌های به‌دست آمده، مونوترپن‌های اکسیژنه (۶۴/۶۰–۹۰/۶۰٪) بودند که تیمول و کاروکرول (۲۷/۲۳–۷۵/۵۵٪) مهمترین اجزای آن‌ها هستند. میزان و غلظت این دو ماده فنولی در اسانس آویشن کوهی، ارتباط مستقیمی با اثرات ضدّ باکتری و ضدّ قارچی دارد. فعالیت ضدّ باکتریایی و ضدّ قارچی اسانس‌ها به‌ترتیب در دامنه ۰/۲۴ تا ۵/۱۲ و ۰/۰۸ تا ۰/۹۶ میلی‌گرم در میلی‌لیتر قرار گرفت. فعال‌ترین فعالیت ضدّ میکروبی مربوط به اسانس اکوتیپ‌های سلماس و نودوشن بود و کمترین فعالیت در اکوتیپ رودبار دیده شد.

نتیجه‌گیری: ویژگی‌های جغرافیایی محل رویش گیاهان، نقش بسزایی در نوع و مقدار ترکیبات داخل اسانس گیاه دارد. در همین راستا اثرات بیولوژیکی و خواص ضدّ باکتریایی و ضدّ قارچی متفاوتی می‌تواند از هر اکوتیپ بروز کند.

واژه‌های کلیدی: ضدّ قارچی، ضدّ باکتریایی، اکوتیپ، آویشن کوهی، اسانس

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند. ۱۳۹۹؛ ۲۷ (۳): ۲۷۵-۲۹۰.

دریافت: ۱۳۹۹/۰۱/۲۱ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۴/۰۸

[۱] گروه بیوتکنولوژی پزشکی، دانشکده فناوری‌های نوین، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران.

[۲] گروه گیاهان دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی زنجان، زنجان، ایران

[۳] مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، پژوهشکده علوم پایه سلامت، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران

نویسنده مسؤول؛ مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، پژوهشکده علوم پایه سلامت، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران

آدرس: شهرکرد- رحمتیه- دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد- پژوهشکده علوم پایه سلامت- مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، کدپستی: ۸۸۱۳۸۳۳۴۳۵

تلفن: ۹۸۳۸۳۳۳۳۰۷۰۹+ نمابر: ۹۸۳۸۳۳۳۳۱۴۷۱+ پست الکترونیکی: dr_amirzaei@yahoo.com و mirzaei.a@skums.ac.ir

[DOI: 10.32592/JBirjandUnivMedSci.2020.27.3.106]

مقدمه

آویشن یکی از معروف‌ترین و پر مصرف‌ترین گیاهان دارویی در جهان به شمار می‌آید. آویشن متعلق به خانواده نعنائیان است که در زیر خانواده Nepetoideae قرار دارد و از نظر فیلوژنی با جنس‌های اریگانوم، زاتاریا و میکرومریا قرابت و خویشاوندی دارد. نام جنس *Thymus* از کلمه Thyo به‌معنای عطر گرفته شده است. تفسیر دیگری که در رابطه با نام این جنس وجود دارد کلمه یونانی Thymos به‌معنای قوّت است و Thymus به گروهی از گیاهان که دارای اثر تقویت‌کننده و محرّک بوده‌اند اطلاق می‌شده است. آویشن‌ها به‌علت داشتن عطر و همچنین خواص دارویی، در همه جای دنیا مورد استفاده قرار می‌گیرند. تعداد گونه‌های آویشن در بعضی از گزارش‌های تاکسونومی به ۸۰۰ می‌رسد، اما با در نظر گرفتن کمترین مقدار تنوع مورفولوژیکی ۲۱۵ گونه از این جنس گزارش گردیده است؛ در میان ۲۱۵ گونه از این جنس، ۱۴ گونه در ایران رشد می‌کند (۲، ۱).

آویشن کوهی (*Thymus kotschyanus*)، گیاهی چوبی و چند ساله است؛ گل‌های سفید و برگ‌های بیضی‌شکل دارد و تا ارتفاع ۲۰ سانتی‌متر رشد می‌کند؛ تقریباً راست‌قامت و کوتاه قد است و ساقه آن انشعاب‌های زیاد دارد. این گیاه دارای شاخه گل‌دهنده به‌طول ۶ تا ۱۲ سانتی‌متر، با کرک‌های کوتاه خوابیده یا گسترده متراکم است و برگ‌های تیز با رنگ سبز تیره بر شاخه‌های چوبی کوچکش می‌روید. برگ‌های ساقه‌های گل‌دهنده کاملاً مساوی هستند و طول آن‌ها ۸ تا ۱۷ میلی‌متر و به عرض ۴/۵ تا ۷ میلی‌متر می‌باشد. شکل برگ‌ها کم و بیش تخم‌مرغی است و قاعده بریده تا باریک، نوک گرد، با کرک‌های گسترده متراکم، پراکنده، یا بدون کرک است. تعداد زیادی غده ترشحی قرمزرنگ دارد. رگبرگ‌های برجسته در سطح زیرین برگ قرار گرفته‌اند. گل‌آذین اغلب به‌صورت کپه‌ای متراکم است. برگ گل‌آذینی شبیه به برگ ساقه‌ای و اغلب سبزرنگ است. طول براکته‌ها ۱ تا ۱/۵ میلی‌متر است. جام گل سفید یا صورتی کم‌رنگ به‌طول ۶ میلی‌متر دارد. زمان گل‌دهی آویشن اواخر بهار تا اواسط تابستان است. برگ‌های معطر آن به‌عنوان ادویه و دارو استفاده می‌شوند (۴، ۳).

در گیاه آویشن تنوع از نظر رنگ گل، میزان پوشش کرک، شکل و اندازه برگ‌ها و سایر صفات مورفولوژیکی به چشم می‌خورد و این عامل مهمی در پیچیدگی تاکسونومیکی و در نتیجه شناسایی گونه‌ها و تعیین حدود و مرز بین آن‌ها و در نهایت رده‌بندی آن‌ها می‌باشد. اصولاً شناسایی گونه‌ها بر اساس نمونه‌های هرباریومی، بدون در اختیار داشتن طیف وسیعی از گونه‌های یک منطقه مشکل می‌باشد؛ از طرف دیگر شناسایی نمونه‌هایی که از کاشت بذرهای جمع‌آوری‌شده از گیاهان یک منطقه که دارای گونه‌های مختلفی هستند حاصل شده‌اند، کاری پیچیده و مشکل است. آویشن کوهی در کشورهای ترکیه، ایران، عراق و قفقاز پراکنده شده است. گونه آویشن کوهی در شهرهای آذربایجان، زنجان، کردستان، همدان، کرمانشاه، اصفهان، خراسان، یزد، سمنان، مرکزی، تهران و قزوین یافت شده است (۶، ۵).

اسانس‌ها جزء متابولیت‌های ثانویه گیاهان هستند. نقش آن‌ها حفظ گیاه در مقابل حشرات برگ‌خوار و میکروب‌هاست. با آزادشدن اسانس‌ها از برگ‌ها و نفوذ آن‌ها در خاک، از جوانه‌زدن بذرهای گیاهان دیگر که در رقابت با گیاهان مولّد اسانس هستند، جلوگیری به عمل می‌آید. اسانس‌ها، ترکیبات طبیعی بسیار پیچیده‌ای هستند که در غلظت‌های مختلف تقریباً از ۲۰ تا ۶۰ جزء تشکیل شده‌اند. تعداد ۲ یا ۳ جزء اسانس که درصد بیشتری (۷۰٪–۲۰٪) نسبت به سایر اجزاء دارند، عامل اصلی در ویژگی‌های زیستی اسانس هستند. بسیاری از اسانس‌ها و اجزاء آن‌ها دارای اثرات آنتی‌باکتریال، آنتی‌موتاژنز، ضدّ قارچی، ضدّ ویروس، حشره‌کشی و طیف وسیعی از فعالیت‌های فارماکولوژیکی هستند. از این خواص اسانس‌ها در داروسازی و صنایع غذایی استفاده می‌شود. اسانس آویشن منبع غنی از تیمول است و به همین دلیل دارای خواص ضدّ میکروبی و آنتی‌اکسیدانی است (۷، ۶). به

[DOI: 10.32592/JBirjandUnivMedSci.2020.27.3.106]

نظر می‌رسد تغییر منطقه جغرافیایی بر نوع و میزان ترکیبات اسانس مؤثر است؛ بنابراین در این مطالعه تأثیر جغرافیای رویش بر روی اثرات ضدّ میکروبی و قارچی آویشن کوهی مورد بررسی قرار گرفته است.

روش تحقیق

به‌منظور جمع‌آوری و شناسایی گیاه، بخش‌های هوایی اکوتیپ‌های آویشن کوهی با توجه به رفرنس‌ها و منابع گیاهی معتبر از ۱۴ محل رویشگاه طبیعی آن در ایران (از شهرستان‌های رودبار، خلخال، اردبیل، نودوشن، سلماس، دو نمونه از قزوین، ینگجه، چاربین، دیوان دره، سقز، قم، جعفریه و دستجرد) در فصل بهار سال ۱۳۹۴ جمع‌آوری و طول و عرض جغرافیایی محل جمع‌آوری نمونه‌ها با دستگاه GPS ثبت شد. پس از جمع‌آوری، نمونه‌ها در سایه به دور از نور آفتاب و در دمای اتاق خشک گردید. از هر اکوتیپ گیاهی، یک نمونه هرباریومی تهیه و توسط متخصص گیاه‌شناسی تعیین گونه و جنس گردید. نمونه هرباریومی در دانشکده داروسازی زنجان ثبت شد. نمونه‌های خشک‌شده تا زمان اسانس‌گیری در دمای ۴°C و دور از نور و رطوبت نگهداری شد (۸).

برای تهیه اسانس گیاه، از روش تقطیر با آب به کمک دستگاه کلونجر (آزمیران-ایران) استفاده شد. ۱۰۰ گرم از سرشاخه‌های هوایی خشک‌شده گیاه آویشن کوهی، پودر شده و داخل بالن ۲ لیتری ریخته شد و به آن ۶۰۰ سی‌سی آب مقطر اضافه گردید. با استفاده از دستگاه کلونجر و روش‌های علمی در دمای ۷۰°C به‌مدت ۳ ساعت اسانس‌گیری انجام شد. اسانس‌ها توسط سدیم‌سولفات خشک آب‌گیری و در ظرف‌های کوچک تیره، داخل یخچال در دمای ۴°C برای آزمایش‌های بعدی نگهداری گردید (۹). چگالی[1] و راندمان تولید اسانس محاسبه شد (۱۰).

اجزای اسانس آویشن کوهی با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی شرکت Agilent (GC-7800A) مورد ارزیابی قرار گرفت. این دستگاه به یک طیف‌سنج جرمی (EIMS-5975C) و یک ستون موئینه ۳۰متری با قطر ۰/۲۵ میلی‌متر از جنس HP-5 MS مجهز شده بود. آون ستون در ابتدا به‌مدت ۵ دقیقه روی ۴۰°C تنظیم شده و سپس با سرعت ۱۰°C/min تا ۲۳۰ درجه بالا رفت و در نهایت با سرعت ۳۰°C/min تا ۲۸۰ درجه افزایش یافت. دمای اینجکتور و دتکتور به‌ترتیب روی ۲۴۰ و ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. هلیوم به‌عنوان گاز حامل با سرعت ۱ ml/min به ستون تزریق گردید و یک میکرولیتر از هر اسانس به دستگاه تزریق شد. از کتابخانه NIST و Wiley و همچنین استانداردهای نرمال آلکان برای تفسیر و تشخیص داده‌های طیف‌سنج جرمی استفاده گردید (۱۱، ۱۰).

در این مطالعه از سه باکتری گرم مثبت با نام‌های باسیلوس سوبتیلیس (ATCC12711)، استافیلوکوکوس اورئوس (ATCC25923) و انترکوکوس فکالیس (ATCC 29212) و همچنین سه گونه باکتری گرم منفی اشیریشیاکلی (ATCC8739)، سالمونلا تیفی موریوم (ATCC13311) و سودوموناس آئروژینوزا (ATCC27853) و دو گونه استاندارد قارچی آسپرژیلوس نایجر (ATCC9142) و کاندیدیا آلبیکنس (ATCC10231) بهره گرفته شد. تمام گونه‌ها از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران خریداری گردیدند. یک سویه مقاوم به متی‌سیلین (MRSA) از استافیلوکوکوس اورئوس نیز در مطالعه استفاده شد.

فعالیت ضدّ باکتریایی اسانس‌ها به کمک روش میکرودیلوشن مطابق استانداردهای آزمایشگاه‌های بالینی اندازه‌گیری گردید. سویه‌های باکتریایی تازه کشت‌شده، درون محیط کشت مولر هینتون (شرکت Merck) براث تا OD_{600}= ۰/۱ رقیق شده و مجدد برای چند ساعت در دمای ۳۷°C قرار گرفت تا به OD_{600}= ۰/۵ برسند. رقّت ۱:۲۰۰ از

[1] *Density*

[DOI: 10.32592/JBirjandUnivMedSci.2020.27.3.106]

این سوسپانسیون برای تلقیح استفاده گردید که حدوداً معادل یک میلیون باکتری در میلی‌لیتر است (۱۲). مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون رقیق‌شده باکتریایی و ۱۰۰ میکرولیتر از غلظت‌های سریالی اسانس در محیط کشت مولر هینتون در پلیت ۹۶ خانه مجاور گردید تا غلظت‌های نهایی ۰، ۰/۰۱، ۰/۰۲، ۰/۰۴، ۰/۰۸، ۰/۱۶، ۰/۳۲، ۰/۶۴، ۱/۲۸، ۲/۵۶ و ۵/۱۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر از اسانس به‌دست آید. دی‌متیل سولفوکساید با حداکثر غلظت ۲ درصد برای انحلال اسانس در محیط کشت استفاده گردید و همین غلظت در کنترل بدون اسانس نیز بهره گرفته شد. پس از اختلاط اسانس و باکتری با کمک شیکر، پلیت‌ها به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷°C قرار گرفتند. پس از آن ۲۰ میکرولیتر محلول MTT با غلظت ۰/۲ mg/ml به هر چاهک افزوده شد و به‌مدت نیم‌ساعت درون شیکر–آنکوباتور قرار گرفت. کمترین غلظت اسانس که هیچ رنگ بنفشی در آن دیده نشد به‌عنوان غلظت مهارکنندگی (MIC)[1] در نظر گرفته شد؛ سپس مقدار ۵ میکرولیتر از هر خانه بدون رنگ بر روی پلیت‌های مولر هینتون آگار به‌مدت یک شب واکشت گردید. نمونه‌هایی که با کمترین غلظت اسانس مجاورت داشته‌اند ولی هیچ رشدی روی پلیت نداشتند، به‌عنوان غلظت کشندگی اسانس (MBC)[2] معرفی گردید. نتایج، میانگین سه بار آزمون‌های مستقل در واحدهای سه‌تایی است. از آمپی‌سیلین با غلظت سریالی ۲۵۶ µg/ml -۰/۵ به‌منظور استاندارد استفاده شده است (۱۴، ۱۳).

به‌منظور بررسی فعالیت ضدّ کاندیدیایی و ضدّ آسپرژیلوسی اسانس‌ها، قارچ رشته‌ای آسپرژیلوس نایجر به‌مدت یک هفته در دمای ۳۰°C روی محیط کشت سابرود دکستروز آگار کشت گردید. قارچ‌ها به‌منظور اسپورزایی به‌مدت یک هفته در یخچال قرار گرفت. اسپورها با سرم فیزیولوژیک حاوی ۰/۱ درصد توئین شسته و با چند لایه دستمال نظافت استریل فیلتر گردید. تعداد اسپورها با لام هموسیتومتر شمارش شده و با نرمال‌سالین به غلظت یک میلیون اسپور در میلی‌لیتر رسانده شد. مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون اسپور با ۱۰۰ میکرولیتر محلول اسانس در سابرود دکستروز براث به‌گونه‌ای درون پلیت ۹۶ خانه مخلوط گردید تا غلظت نهایی اسانس (۰، ۰/۰۱، ۰/۰۲، ۰/۰۴، ۰/۰۸، ۰/۱۶، ۰/۳۲، ۰/۶۴، ۱/۲۸، ۲/۵۶ و ۵/۱۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) به‌دست آید. پلیت‌ها بعد از تکان دادن مناسب به‌مدت ۷۲ ساعت در دمای ۲۸ و رطوبت ۸۰ درصد آنکوبه شدند (۱۵).

کاندیدیا آلبیکنس نیز در محیط سابرود دکستروز براث (شرکت مرک) واکشت شده و یک کشت جوان تا غلظت 5×10^6 CFU/ml رقیق گردید و مجدد ۱۰۰ میکرولیتر از این سوسپانسیون با ۱۰۰ میکرولیتر اسانس مخلوط گردید تا محدوده غلظتی ۵/۶ mg/ml –۰/۰۱ به‌دست آید. پلیت‌ها به‌مدت ۴۸ ساعت در شرایط مشابه فوق قرار گرفت. دی‌متیل سولفوکساید با حداکثر غلظت ۲ درصد برای انحلال اسانس در محیط کشت استفاده گردید و همین غلظت در کنترل بدون اسانس نیز بهره گرفته شد. حداقل غلظت مهاری (MIC)، کمترین غلظت اسانس است که در آن هیچ میسیلیوم قابل مشاهده‌ای رشد نکرده باشد. حجم ۵ میکرولیتر از خانه‌های شفاف روی محیط کشت سابرود دکستروز آگار واکشت شد. حداقل غلظت کشندگی (MFC) کمترین غلظتی از اسانس است که پس از سه روز رشد قابل مشاهده‌ای روی پلیت نداشته باشد. از آمفوتریسین–بی با غلظت µg/ml ۱۲/۸–۰/۱ به‌عنوان استاندارد ضدّ قارچی استفاده گردید. (۱۷، ۱۶).

تمام آزمون‌ها حداقل سه بار مستقل تکرار گردیده و نتایج آنها به‌صورت میانگین±انحراف معیار گزارش شد. از آزمون یکنواختی (هوموژنیتی) واریانس در آنالیز واریانس یکطرفه به‌منظور ارزیابی اختلاف میانگین فعالیت بیولوژیکی استفاده گردید و میانگین‌هایی که P-value کمتر از ۰/۰۵ داشتند از

[1] *Minimum Inhibitory Concentration*
[2] *Minimum Bactericidal Concentration*

[DOI: 10.32592/JBirjandUnivMedSci.2020.27.3.106]

نظر آماری معنی‌دار در نظر گرفته شدند.

یافته‌ها

اسانس‌های به‌دست آمده از قسمت‌های هوایی گلدار که با روش تقطیر با آب حاصل شدند، رنگ زرد تیره داشته و بسیار معطر بودند. کمترین راندمان تولید اسانس در نمونه‌های اردبیل و سقز به‌مقدار ۰/۳۱ وزنی حجمی و بیشترین آن در اکوتیپ قم به‌مقدار ۰/۸۲ وزنی حجمی گزارش شد. ترکیبات شیمیایی موجود در اسانس‌ها با استفاده از دستگاه GC و GC/Mass شناسایی شد. درصد هر یک از این ترکیبات در جدول یک آورده شده است. تغییرات مواد گوناگون در اکوتیپ‌های مختلف، نشان‌دهنده تأثیر عوامل محیطی بر ترکیبات گیاه آویشن کوهی است. براساس نتایج به‌دست آمده، مونوترپن‌های اکسیژنه نظیر کارواکرول و تیمول در تمامی نمونه‌ها درصد بالایی داشتند و حدود ۶۰ تا ۹۰ درصد اجزای اسانس‌ها را به خود اختصاص دادند. سزکوئی‌ترپن‌های هیدروکربنی شامل کاریوفیلین و بیزابولین در رده دوم قرار گرفتند. در مجموع ترکیبات اکسیژنه با بیش از ۸۰ درصد بیشترین اجزای اسانس را به خود اختصاص دادند (جدول ۲).

جدول‌های ۳ و ۴ به‌ترتیب خواص ضدّ میکروبی اسانس‌های آویشن کوهی را نمایش می‌دهند. نتایج نشان می‌دهد که اسانس‌های مورد مطالعه، اثرات ضدّ باکتریایی بیشتری روی باکتری‌های گرم مثبت نظیر باسیلوس سوبتیلیس و استافیلوکوکوس اورئوس داشتند ($P<۰/۰۵$) و باکتری گرم منفی سودوموناس آئروژینوزا از همه گونه‌ها نسبت به غلظت‌های اسانس‌ها مقاومتر بود ($P<۰/۰۰۱$). جالب توجه است که اثر اسانس‌ها روی استافیلوکوکوس ارئوس مقاوم به متی‌سیلین و غیر مقاوم، اختلاف معنی‌دار نداشت ($P>۰/۰۵$). در مجموع اسانس‌های اکوتیپ‌های سلماس، نودوشن و قزوین-۲ بیشترین فعالیت ضدّ باکتریایی را داشتند؛ در حالی که اکوتیپ‌های رودبار و ینگجه کمترین فعالیت ضدّ میکروبی را داشتند. اسانس‌ها عمدتاً اثرات ضدّ قارچی قوی‌تری از خود نشان داده‌اند. بیشترین اثرات ضدّ قارچی مربوط به اکوتیپ قزوین، نودوشن و سلماس و کمترین آن مربوط به اکوتیپ رودبار بوده است. داروی استاندارد آمپی‌سیلین در تمام سویه‌ها بیشترین اثرات را از خود نشان داده است.

[DOI: 10.32592/JBirjandUnivMedSci.2020.27.3.106]

جدول ۱- بررسی درصد اجزای اصلی اسانس اکوتیپ‌های آویشن کوهی ایران

ردیف	ماده مؤثره	شاخص کواتز	شاخص کواتز مرجع (کتاب آدامز)	اکوتیپ رودبار	اکوتیپ خلخال	اکوتیپ اردبیل	اکوتیپ نودوشن	اکوتیپ سلماس	اکوتیپ قزوین-۱	اکوتیپ قزوین-۲	اکوتیپ ینگجه	اکوتیپ چاربین	اکوتیپ دیوان‌دره	اکوتیپ سقز	اکوتیپ قم	اکوتیپ جعفریه	اکوتیپ دستجرد
۱	آلفا پینن	۹۳۸	۹۳۹	۰/۲۷	۰/۲۰	--	۰/۰۶	۰/۰۵	۱/۳۰	۰/۴۰	--	۰/۳۳	۰/۱۴	۱/۳۹	۰/۱۹	۱/۰۷	--
۲	کامفن	۹۵۳	۹۵۴	--	--	--	--	--	--	۰/۳۳	--	۰/۲۸	۰/۰۶	۰/۲۴			--
۳	بتا میرسن	۹۹۰	۹۹۱	۰/۱۰	۰/۱۱	۰/۰۶		۰/۰۶	۰/۰۶	۰/۴۳	--	۰/۳۹	۰/۱۸	۱/۷۹		۰/۴۲	--
۴	پی- سایمن	۱۰۲۵	۱۰۲۶	--	۰/۲۴	۰/۴۴	۱/۲۳	۷/۶۸	۱/۶۶	۷/۶۳	--	--	--	--	۷/۸۲		--
۵	بتا اسیمن	۱۰۳۷	۱۰۳۸	--	--	۰/۴۴	۱/۹۰	--	--	--	--	--	--	--	--	۰/۱۵	--
۶	لیمونن	۱۰۲۸	۱۰۲۹	۲/۹۴	--	--	--	--	--	--	--	۰/۰۶		۴/۹۱	--	--	--
۷	۱،۸- سینئول	۱۰۳۰	۱۰۳۲	--	۰/۱۴	۰/۱۲	--	--	۰/۷۴	۰/۵۷	۰/۵۶	۰/۳۳	۰/۱۷	--	۲/۱۸	۰/۲۳	۱/۰۵
۸	گاما ترپینن	۱۰۵۹	۱۰۶۰	--	۰/۴۷	۰/۲۵	۱/۱۹	۳/۲۳	۰/۳۱	۵/۴۴	۰/۲۰	۰/۴۶	۰/۹۳	--	۰/۱۶	۴/۴۰	--
۹	آلفا ترپینولن	۱۰۸۷	۱۰۸۹	۰/۳۲	۰/۰۶	--	۰/۰۷	۱/۸۶	--	۰/۳۵	--	--	۰/۰۵	۱/۱۰	--	--	--
۱۰	لینالول	۱۰۹۸	۱۰۹۷	۰/۸۶	۰/۵۴	۱/۴۳	۰/۲۵	۲/۹۵	۰/۷۰	۱/۴۳	--	۱/۱۱	۰/۳۳	۴/۲۹	--	۳/۶۱	۳/۴۲
۱۱	زی بتا ترپینئول	۱۱۴۴	۱۱۴۴	--	۱/۰۰	۰/۱۷	۰/۳۶	۰/۱۰	۰/۹۱	۰/۷۵	۱/۸۷	۰/۲۴	۰/۲۴	--	۰/۲۶	۱/۵۲	۰/۲۰
۱۲	کامفور	۱۱۴۸	۱۱۵۰	۰/۱۶	۰/۲۶	--	--	--	--	۰/۲۹	--	۰/۲۴	۰/۰۷	--	--	--	۰/۹۶
۱۳	بورنئول	۱۱۶۹	۱۱۷۰	۰/۱۱	۰/۷۶	۱/۶۰	۲/۰۷	--	۲/۸۷	۴/۹۱	۱/۶۸	۴/۴۱	۱/۵۴	۱/۲۵	۱/۱۲	۳/۵۷	۴/۶۲
۱۴	ترپین ۴- اول	۱۱۷۵	۱۱۷۷	--	۰/۸۴	۰/۳۴	۰/۴۶	--	--	۱/۹۶	۱/۲۷	۰/۳۸	۰/۴۱	۰/۳۸	--	۱/۵۲	۴/۹۴
۱۵	آلفا ترپینئول	۱۱۸۹	۱۱۹۰	۲۵/۶۰	۰/۹۴	۰/۹۱	۰/۷۰	--	۳/۳۹	۰/۲۴	۷/۶۱	۱/۰۸	۰/۱۵	۸/۰۴	--	--	۰/۱۴
۱۶	سیترونلول	۱۲۲۷	۱۲۲۸	۱۲/۶۰	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
۱۷	نرال (سیترال)	۱۲۳۸	۱۲۳۹	۰/۷۵	۱/۴۸	--	--	--	--	--	--	۲/۹۱	۰/۸۵	--	--	--	۲/۴۷
۱۸	ژرانیول	۱۲۵۳	۱۲۵۴	۷/۸۱	۲۶/۰۵	۱۴/۰۴	--	۹/۰۵	۰/۸۵	--	۴/۸۳	۱۸/۰۷	۲۰/۵۹	۶/۴۶	--	--	۸/۰۳
۱۹	تیمول	۱۳۰۳	۱۳۰۴	۲۲/۶۲	۱۸/۶۹	۲۹/۵۳	۲۱/۹۹	۱۲/۱۴	۱۰/۰۶	۲۸/۰۳	۲۱/۲۵	۲۲/۰۵	۱۰/۶۸	۱۴/۲۰	۱۶/۳۶	۹/۰۴	۱۵/۷۲
۲۰	کارواکرول	۱۳۰۸	۱۳۱۰	۵/۴۵	۳۲/۰۲	۴۲/۰۷	۵۵/۹۰	۴۲/۶۷	۵۱/۰۳	۳۵/۸۳	۴۶/۸۲	۲۲/۱۷	۴۹/۶۷	۳۲/۳۵	۵۴/۶۷	۵۵/۴۸	۳۴/۶۵

[DOI: 10.32592/JBirjandUnivMedSci.2020.27.3.106]

ادامه جدول یک

ردیف	ماده مؤثره	شاخص کواتز	شاخص کواتز مرجع (کتاب آدامز)	اکوتیپ رودبار	اکوتیپ خلخال	اکوتیپ اردبیل	اکوتیپ نودوشن	اکوتیپ سلماس	اکوتیپ قزوین-۱	اکوتیپ قزوین-۲	اکوتیپ ینگجه	اکوتیپ چاربین	اکوتیپ دیوان‌دره	اکوتیپ سقز	اکوتیپ قم	اکوتیپ جعفریه	اکوتیپ دستجرد
۲۱	آلفا ترپینیل استات	۱۳۵۰	۱۳۴۹	۱۲/۰۱	۰/۲۰	۰/۲۷	۰/۰۸	--	۲/۴۸	--	۰/۰۷	--	--	--	--	--	--
۲۲	اوژنول	۱۳۵۸	۱۳۵۹	--	۰/۱۱	۰/۱۰	--	۰/۰۶	۰/۵۹	۰/۰۷	۰/۱۴	--	۰/۱۴	--	--	۰/۲۳	۰/۱۱
۲۳	ژرانیل استات	۱۳۸۱	۱۳۸۱	۰/۱۵	۲/۷۲	۰/۲۵	۰/۰۶	۱/۰۴	۰/۱۵	۰/۴۷	--	۰/۸۹	۰/۸۱	۰/۳۳	۰/۶۴	۰/۲۵	۱/۰۴
۲۴	بتا کوبیین	۱۳۸۶	۱۳۸۵	۰/۱۴	۰/۳۸	--	--	--	--	--	--	۱/۷۳	--	۰/۹۵	--	--	--
۲۵	بتا بوربونن	۱۳۸۹	۱۳۸۸	۰/۰۹	۰/۰۷	۰/۰۶	۰/۰۵	۰/۱۸	۰/۱۴	۰/۰۴	--	۱/۱۸	۰/۱۵	۰/۲۵	--	۰/۰۹	--
۲۶	زی جاسمون	۱۳۹۳	۱۳۹۵	--	--	۰/۰۹	--	۰/۲۰	۰/۲۹	۰/۰۶	--	۰/۱۲	۰/۰۷	--	--	۰/۱۴	--
۲۷	کاریوفیلین	۱۴۲۰	۱۴۱۹	۱/۸۵	۲/۸۴	۱/۱۱	۳/۸۹	۸/۱۴	۴/۳۰	۱/۴۷	۱/۹۸	۱/۶۸	۲/۲۰	۵/۱۴	۵/۲۵	۵/۱۵	۳/۷۸
۲۸	بتا گورجونن	۱۴۳۵	۱۴۳۴	--	۰/۰۵	۰/۰۶	۰/۲۵	--	۰/۱۱	--	۰/۰۵	--	۰/۶۵	۰/۲۷	۰/۱۲	--	۰/۱۵
۲۹	آلفا هیماچالن	۱۴۵۱	۱۴۵۲	۰/۲۹	--	۰/۲۰	--	--	۰/۱۳	--	--	۰/۰۵	--	--	۲/۸۲	--	۲/۶۳
۳۰	آلفا هومولن	۱۴۵۶	۱۴۵۵	۰/۱۰	۰/۷۸	۰/۰۵	۱/۴۰	۰/۳۱	۲/۱۲	۰/۵۷	۰/۵۴	۱/۱۶	۰/۱۰	۲/۰۵	--	۰/۸۳	۲/۶۱
۳۱	گاما مورولن	۱۴۸۱	۱۴۸۲	۰/۰۵	--	۰/۱۱	۰/۴۰	۰/۰۷	۰/۶۱	۰/۰۷	۰/۵۴	۰/۵۰	۰/۴۸	۰/۳۴	--	۰/۲۸	۰/۶۸
۳۲	بتا گواین	۱۴۹۴	۱۴۹۴	--	--	--	۱/۱۶	--	۱/۲۵	--	--	--	--	--	--	۰/۳۹	۰/۳۹
۳۳	بتا بیسابولن	۱۵۰۷	۱۵۰۶	۰/۵۴	۰/۸۳	۰/۸۲	۱/۲۷	--	۴/۲۲	۰/۶۴	۰/۸۸	۵/۴۲	۰/۶۰	۲/۴۲	--	۱/۰۸	۱/۲۴
۳۴	گاما کادینن	۱۵۱۵	۱۵۱۴	۰/۱۳	۰/۵۱	۰/۱۷	۰/۲۱	۰/۸۱	۰/۵۳	۰/۵۱	--	۰/۷۹	۰/۴۳	--	--	۰/۹۱	--
۳۵	دلتا کادینن	۱۵۲۴	۱۵۲۳	--	--	۰/۴۷	--	۰/۷۷	۱/۳۲	--	۱/۰۸	۰/۳۵	۰/۶۹	۱/۰۶	۱/۶۹	۰/۷۹	--
۳۶	ژرانیل بوتاموات	۱۵۶۵	۱۵۶۴	--	--	--	--	۰/۲۹	--	--	--	۱/۱۹	--	--	--	--	--
۳۷	اسپاتولنول	۱۵۷۹	۱۵۷۸	۰/۱۱	۰/۳۷	۰/۳۱	۰/۱۹	۰/۱۶	۱/۰۸	۰/۳۵	۰/۵۶	۰/۲۸	۰/۸۲	۳/۹۸	۱/۱۹	۰/۱۷	۰/۹۷
۳۸	کاریوفیلن اکسید	۱۵۸۴	۱۵۸۳	۰/۴۳	۱/۹۸	۰/۶۳	۰/۵۸	۲/۲۱	۲/۳۹	۰/۸۵	۴/۹۲	۳/۱۲	۱/۳۱	۰/۵۶	--	۱/۹۹	۱/۴۹
۳۹	گلوبولول	۱۵۸۶	۱۵۸۵	۰/۱۴	--	--	--	۰/۱۸	۰/۲۶	--	--	--	--	--	--	--	--
۴۰	کوبنول	۱۶۴۸	۱۶۴۶	--	۰/۳۳	۰/۱۱	۰/۰۶	۰/۰۶	۰/۴۲	۰/۲۵	۰/۱۴	۰/۳۵	۰/۱۰	۰/۲۲	۰/۶۴	۰/۲۲	۰/۳۹
۴۱	آلفا کادینول	۱۶۵۵	۱۶۵۶	۰/۰۸	۰/۰۸	۰/۱۴	--	۰/۲۴	۰/۲۲	۱/۳۳	--	۰/۲۳	۰/۰۷	--	۰/۲۹	۰/۱۰	۱/۳۵
۴۲	آلفا بیسابولول	۱۶۸۷	۱۶۸۵	--	۲/۴۷	۰/۳۵	۰/۱۹	۰/۲۶	--	--	--	۲/۱۳	۰/۹۷	۰/۷۸	۲/۱۵	۱/۲۴	۱/۵۶
۴۳	سایر مواد	--	--	۴/۳۲	۲/۴۸	۳/۳۰	۴/۰۳	۵/۲۳	۳/۵۱	۴/۷۳	۳/۰۱	۴/۳۱	۴/۳۵	۵/۲۵	۲/۴۵	۵/۱۳	۵/۴۱

* شاخص کواتز (ستون چهارم) مرجع از کتاب آدامز چاپ ۲۰۰۷ برگرفته شده است.

[DOI: 10.32592/JBirjandUnivMedSci.2020.27.3.106]

جدول ۲- دسته‌بندی اجزای اسانس آویشن کوهی (برحسب درصد حجمی-حجمی)

ماده مؤثره	اکوتیپ رودبار	اکوتیپ خلخال	اکوتیپ اردبیل	اکوتیپ نودوشن	اکوتیپ سلماس	اکوتیپ قزوین-۱	اکوتیپ قزوین-۲	اکوتیپ ینگجه	اکوتیپ چاربین	اکوتیپ دیوان‌دره	اکوتیپ سقز	اکوتیپ قم	اکوتیپ جعفریه	اکوتیپ دستجرد
مونوترپن‌های هیدروکربنی	۱۵/۵۲	۱/۲۲	۱/۸۲	۴/۵۲	۱۱/۰۲	۶/۵۵	۱۴/۸۹	۰/۲۷	۲/۱۴	۱/۳۱	۸/۸۱	۶/۱۷	۶/۲۹	۰/۰۰
مونوترپن‌های اکسیژنه	۷۷/۳۷	۸۵/۶۵	۹۰/۶۵	۸۱/۸۰	۶۹/۹۵	۷۱/۶۴	۷۵/۳۲	۸۷/۵۳	۷۸/۴۱	۸۵/۷۱	۶۴/۶۴	۷۵/۲۳	۷۵/۵۸	۷۰/۳۳
سزکوئی ترپن‌های هیدورکربنی	۳/۴۶	۵/۶۲	۳/۰۵	۸/۶۹	۱۰/۲۳	۱۴/۷۳	۴/۰۰	۵/۰۷	۱۱/۶۸	۵/۶۵	۱۲/۸۲	۱۰/۱۱	۹/۳۰	۹/۱۶
سزکوئی ترپن‌های اکسیژنه	۰/۸۷	۵/۲۳	۱/۶۷	۱/۰۲	۴/۰۳	۴/۳۷	۲/۷۸	۳/۶۲	۳/۳۸	۳/۲۷	۹/۵۴	۴/۲۴	۳/۷۲	۱۵/۷۶

[DOI: 10.32592/JBirjandUnivMedSci.2020.27.3.106]

جدول ۳- مقایسه حداقل غلظت مهار کنندگی (MIC, mg/ml) و غلظت کشندگی (MBC, mg/ml) اسانس انواع آویشن کوهی روی سویه‌های باکتریایی استاندارد

نام سویه باکتریایی		آمپی‌سیلین µg/ml	اکوتیپ رودبار	اکوتیپ خلخال	اکوتیپ اردبیل	اکوتیپ نودوشن	اکوتیپ سلماس	اکوتیپ قزوین-۱
اشیریشیا کلی	MIC	۲۲±۰/۰۰	۲/۵۷±۰/۰۰	۳/۳۳±۱/۲۸	۴/۱۸±۰/۰۰	۱/۱۰±۰/۰۰	۱/۰۶±۰/۰۰	۰/۵۸±۰/۰۰
	MBC	۶۴±۰/۰۰	۲/۵۷±۰/۰۰	۳/۳۳±۱/۲۸	۴/۱۸±۰/۰۰	۱/۱۰±۰/۰۰	۱/۰۶±۰/۰۰	۰/۵۸±۰/۰۰
باسیلوس سوبتیلیس	MIC	< ۵±۰/۰۰	۲/۵۷±۰/۰۰	۴/۴۴±۰/۰۰	۳/۱۴±۱/۲۱	[b] ۰/۵۵±۰/۰۰	[b] ۰/۵۲±۰/۰۰	۰/۵۸±۰/۰۰
	MBC	< ۵±۰/۰۰	۲/۵۷±۰/۰۰	۴/۴۴±۰/۰۰	۳/۱۴±۱/۲۱	۰/۵۵±۰/۰۰[b]	۰/۵۲±۰/۰۰[b]	۰/۵۸±۰/۰۰
استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین	MIC	۱۲۸±۰/۰۰	۵/۱۲±۰/۰۰	۰/۲۸±۰/۰۰[a]	۰/۲۶±۰/۰۰[a]	۰/۵۵±۰/۰۰	۰/۲۶±۰/۰۰	۰/۸۷±۰/۳۳
	MBC	> ۲۵۶±۰/۰۰	۵/۱۲±۰/۰۰	۰/۵۵±۰/۰۰	۰/۵۲±۰/۰۰[a]	۱/۱۰±۰/۰۰	۰/۲۶±۰/۰۰[a]	۰/۸۷±۰/۳۳
سالمونلا تیفی موریوم	MIC	۳±۰/۰۰۱	> ۵/۱۲±۰/۰۰	> ۵/۱۲±۰/۰۰	۴/۱۸±۰/۰۰	۴/۴۰±۰/۰۰	۱/۰۶±۰/۰۰[b]	۲/۳۱±۰/۰۰
	MBC	۱۶±۰/۰۰	> ۵/۱۲±۰/۰۰	> ۵/۱۲±۰/۰۰	۴/۱۸±۰/۰۰	۴/۴۰±۰/۰۰	۱/۰۶±۰/۰۰[b]	۲/۳۱±۰/۰۰
انتروکوکوس فکالیس	MIC	< ۵±۰/۰۰	> ۵/۱۲±۰/۰۰	۴/۴۴±۰/۰۰	۳/۱۴±۱/۲۱	۰/۲۷±۰/۰۰[a]	۰/۲۶±۰/۰۰[a]	۳/۴۶±۱/۳۳
	MBC	۸±۰/۰۰	> ۵/۱۲±۰/۰۰	۴/۴۴±۰/۰۰	۳/۱۴±۱/۲۱	> ۵/۱۲±۰/۰۰	۰/۲۶±۰/۰۰	۳/۴۶±۱/۳۳
استافیلوکوکوس اورئوس	MIC	۸±۰/۰۰	> ۵/۱۲±۰/۰۰	۴/۴۴±۰/۰۰	۳/۱۴±۱/۲۱	۱/۱۰±۰/۰۰	۰/۷۹±۰/۳۰	۴/۶۲±۰/۰۰
	MBC	۸±۰/۰۰	> ۵/۱۲±۰/۰۰	> ۵/۱۲±۰/۰۰	۳/۱۴±۱/۲۱	۱/۱۰±۰/۰۰	۰/۷۹±۰/۳۰	۴/۶۲±۰/۰۰
سودوموناس آئروژینوزا	MIC	> ۲۵۶±۰/۰۰	۵/۱۲±۰/۰۰	۱/۶۶±۰/۶۴	۴/۱۸±۰/۰۰	۲/۲۰±۰/۰۰	۱/۵۸±۰/۶۱	۲/۳۱±۰/۰۰
	MBC	> ۲۵۶±۰/۰۰	۵/۱۲±۰/۰۰	۱/۶۶±۰/۶۴	۴/۱۸±۰/۰۰	۲/۲۰±۰/۰۰	۲/۱۱±۰/۰۰	۴/۶۲±۰/۰۰

[DOI: 10.32592/JBirjandUnivMedSci.2020.27.3.106]

ادامه جدول ۳

نام سویه باکتریایی		اکوتیپ قزوین-۲	اکوتیپ ینگجه	اکوتیپ چاربین	اکوتیپ دیوان‌دره	اکوتیپ سقز	اکوتیپ قم	اکوتیپ جعفریه	اکوتیپ دستجرد
اشیریشیا کلی	*MIC*	۰/۵۲±۰/۰۰	> ۵/۱۲±۰/۰۰	۱/۵۹±۰/۶۱	۱/۵۶±۰/۶۰	۲/۰۷±۰/۰۰	۰/۷۷±۰/۲۹	۰/۴۸±۰/۰۰	۲/۹۳±۱/۱۳
	MBC	۰/۵۲±۰/۰۰	> ۵/۱۲±۰/۰۰	۴/۲۴±۰/۰۰	۲/۰۸±۰/۰۰	۲/۰۷±۰/۰۰	۱/۲۸±۰/۸۹	۱/۲۰±۰/۸۳	۲/۹۳±۱/۱۳
باسیلوس سوبتیلیس	*MIC*	۰/۵۲±۰/۰۰[b]	۱/۲۵±۱/۴۵	۰/۷۹±۰/۳۱	۰/۵۲±۰/۰۰[b]	۰/۵۲±۰/۰۰[b]	۰/۲۶±۰/۰۰[a]	۰/۲۴±۰/۰۰[a]	۱/۴۶±۰/۵۶
	MBC	۰/۵۲±۰/۰۰[b]	۲/۵۰±۱/۹۰	۱/۵۹±۰/۶۱	۰/۷۸±۰/۳۰	۰/۵۲±۰/۰۰[b]	۰/۲۶±۰/۰۰[a]	۰/۲۴±۰/۰۰[a]	۱/۹۵±۰/۰۰
استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین	*MIC*	۰/۵۲±۰/۰۰	> ۵/۱۲±۰/۰۰	۳/۱۸±۱/۲۲	۱/۵۶±۰/۶۰[b]	۱/۵۵±۰/۶۰[b]	۰/۲۶±۰/۰۰[a]	۰/۷۲±۰/۲۸	۱/۹۵±۰/۰۰
	MBC	۰/۵۲±۰/۰۰[a]	> ۵/۱۲±۰/۰۰	۴/۲۴±۰/۰۰	۴/۱۵±۰/۰۰	۳/۱۰±۱/۱۹	۰/۳۸±۰/۱۵	۰/۹۶±۰/۰۰	۳/۹۰±۰/۰۰
سالمونلا تیفی موریوم	*MIC*	۲/۰۸±۰/۰۰	> ۵/۱۲±۰/۰۰	۱/۰۶±۰/۰۰[b]	۱/۰۴±۰/۰۰[b]	۱/۵۵±۰/۶۰	۰/۲۶±۰/۰۰	۰/۴۸±۰/۰۰[a]	۰/۴۹±۰/۰۰[a]
	MBC	۲/۰۸±۰/۰۰	> ۵/۱۲±۰/۰۰	۱/۰۶±۰/۰۰[b]	۱/۰۴±۰/۰۰	۱/۵۵±۰/۶۰	۰/۲۶±۰/۰۰	۰/۴۸±۰/۰۰[a]	۰/۴۹±۰/۰۰[a]
انتروکوکوس فکالیس	*MIC*	۰/۳۹±۰/۱۵	۲/۵۰±۰/۰۰	۲/۱۲±۰/۰۰	۲/۰۸±۰/۰۰	۲/۵۸±۱/۷۹	۰/۵۲±۰/۰۰	۳/۸۵±۰/۰۰	۱/۹۵±۰/۰۰
	MBC	> ۵/۱۲±۰/۰۰	۲/۵۰±۰/۰۰	۲/۱۲±۰/۰۰	۲/۰۸±۰/۰۰	۲/۵۸±۰/۰۰	۰/۵۲±۰/۰۰	۳/۸۵±۰/۰۰	۱/۹۵±۰/۰۰
استافیلوکوکوس اورئوس	*MIC*	۱/۰۴±۰/۰۰	۲/۵۰±۱/۸۹	۳/۱۸±۱/۲۲	۲/۰۸±۰/۰۰[a]	۲/۰۸±۰/۰۰[a]	۲/۰۸±۰/۰۰[a]	۱/۲۰±۰/۸۳	۱/۹۵±۰/۰۰
	MBC	۱/۰۴±۰/۰۰	۲/۵۰±۱/۸۹	۴/۲۴±۰/۰۰	۴/۱۵±۰/۰۰	۲/۰۸±۰/۰۰[a]	۲/۰۸±۰/۰۰	۲/۱۶±۱/۱۷[a]	۳/۹۰±۰/۰۰
سودوموناس آئروژینوزا	*MIC*	۲/۰۸±۰/۰۰	> ۵/۱۲±۰/۰۰	۲/۱۲±۰/۰۰	> ۵/۱۲±۰/۰۰	۳/۱۰±۱/۱۹	۲/۰۸±۰/۰۰	۱/۹۲±۰/۰۰	۱/۹۵±۱/۲۵
	MBC	۳/۱۳±۱/۲۰	> ۵/۱۲±۰/۰۰	۴/۲۴±۰/۰۰	> ۵/۱۲±۰/۰۰	> ۵/۱۲±۰/۰۰	> ۵/۱۲±۰/۰۰	> ۵/۱۲±۰/۰۰	۱/۹۵±۱/۲۵

* قدرت فعالیت ضدباکتریایی خانه‌های هر ردیف که الفبای یکسان انگلیسی دارند از لحاظ آماری معنی‌دار و متفاوت نیستند (P>۰/۰۵).

* کمترین غلظت اسانس که رشد باکتریای را مهار کرده است به عنوان غلظت مهارکنندگی (MIC) در نظر گرفته شد.

* کمترین غلظت اسانس که موجب مرگ باکتری‌ها گردید به عنوان غلظت کشندگی اسانس (MBC) معرفی گردید.

[DOI: 10.32592/JBirjandUnivMedSci.2020.27.3.106]

جدول ۴- مقایسه حداقل غلظت مهار کنندگی (MIC, mg/ml) و غلظت کشندگی (MFC, mg/ml) اسانس انواع آویشن کوهی روی سویه‌های قارچی استاندارد

نام سویه قارچی		آمفوتریسین µg/ml	اکوتیپ رودبار	اکوتیپ خلخال	اکوتیپ اردبیل	اکوتیپ نودوشن	اکوتیپ سلماس	اکوتیپ قزوین-۱
آسپرژیلوس نایجر	*MIC*	۰/۸۲±۰/۰۵	۰/۱۰±۰/۰۰^{b}	۰/۰۸±۰/۰۰^{a}	۰/۰۸±۰/۰۰^{a}	۰/۰۸±۰/۰۰^{a}	۰/۰۸±۰/۰۰^{a}	۰/۰۹±۰/۰۰
	MFC	۴/۶۹±۱/۸۰	۰/۶۰±۰/۲۳^{a}	۰/۲۱±۰/۱۵^{a}	۰/۱۶±۰/۰۳^{a}	۰/۲۶±۰/۰۰^{a}	۰/۱۶±۰/۰۶^{a}	۰/۲۷±۰/۱۰^{a}
کاندیدیا آلبیکنس	*MIC*	۰/۴۰±۰/۰۰	۰/۹۶±۰/۳۷	۰/۲۸±۰/۰۰^{d}	۰/۲۶±۰/۰۰^{c}	۰/۲۷±۰/۰۴^{d}	۰/۲۶±۰/۰۰^{c}	۰/۲۹±۰/۱۴
	MFC	۱/۵۶±۰/۲۰	۱/۹۲±۰/۷۴	۰/۴۱±۰/۱۶^{c}	۰/۲۶±۰/۰۰^{a}	۰/۵۵±۰/۰۰	۰/۳۹±۰/۱۵^{c}	۰/۵۸±۰/۰۰

نام سویه قارچی		اکوتیپ قزوین-۲	اکوتیپ ینگجه	اکوتیپ چاربین	اکوتیپ دیوان‌دره	اکوتیپ سقز	اکوتیپ قم	اکوتیپ جعفریه	اکوتیپ دستجرد
آسپرژیلوس نایجر	*MIC*	۰/۰۸±۰/۰۰^{a}	۱/۵۶±۰/۱۸	۰/۳۲±۰/۰۰	۰/۲۴±۰/۰۹^{c}	۰/۶۴±۰/۰۰	۰/۱۲±۰/۰۴^{b}	۰/۱۵±۰/۰۶	۰/۲۳±۰/۰۹^{c}
	MFC	۰/۲۴±۰/۰۹^{a}	۶/۲۶±۰/۰۰	۱/۹۹±۰/۷۶	۰/۳۲±۰/۰۰	۲/۵۸±۰/۱۵	۰/۳۲±۰/۰۰^{a}	۰/۶۰±۰/۲۳^{a}	۰/۴۶±۰/۱۷^{a}
کاندیدیا آلبیکنس	*MIC*	۰/۱۹±۰/۰۷^{b}	۰/۱۶±۰/۰۰^{a}	۰/۲۰±۰/۰۷^{b}	۰/۱۹±۰/۰۷^{b}	۰/۱۹±۰/۰۷^{b}	۰/۱۹±۰/۰۷^{b}	۰/۱۸±۰/۰۹^{a}	۰/۲۴±۰/۰۰^{c}
	MFC	۰/۳۳±۰/۲۳^{b}	۰/۳۱±۰/۰۳^{b}	۰/۳۳±۰/۲۳^{b}	۰/۲۶±۰/۰۰^{a}	۰/۲۵±۰/۰۰^{a}	۰/۱۹±۰/۰۷	۰/۲۴±۰/۰۱^{a}	۰/۲۴±۰/۰۴^{a}

* نتایج هر ردیف که با حرف الفبای انگلیسی مشابه لیبل شده باشد از لحاظ آماری معنی‌دار نیستند (P>۰/۰۵).

[DOI: 10.32592/JBirjandUnivMedSci.2020.27.3.106]

بحث

مطالعه بر روی گیاهان و یافتن گیاهانی با خواص دارویی، قدمتی طولانی دارد؛ به گونه‌ای که در طب‌های سنتی چینی و اسلام اساس درمان بیماری‌ها را تشکیل می‌داده است؛ همچنین در عصر حاضر با پیشرفت بسیار چشمگیر علم در عرصه داروسازی و تولید داروهای شیمیایی، باز هم توجه به داروهای گیاهی حائز اهمیت است. از جمله داروها می‌توان به آنتی‌بیوتیک‌ها اشاره کرد که با وجود اینکه تعداد بالایی از آنها کشف شده است، اما مسئله مقاومت باکتریایی نیز رو به رشد است که به دنبال این مشکل بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌ها پاسخگوی مقابله با باکتری‌ها نیستند. در میان گیاهان می‌توان ترکیباتی با خواص آنتی‌بیوتیکی پیدا نمود که در حل این مشکل کمک می‌کند (۱۹، ۱۸).

گیاهان از اجزای متفاوتی تشکیل شده‌اند که اثرات بیولوژیک آن‌ها به نوع و درصد اجزای تشکیل‌دهنده اسانس‌ها مربوط است. به‌طور معمول اثر گیاه را به جزئی از اسانس که بیش‌ترین درصد را به خود اختصاص داده است مربوط می‌دانند اما اجزای دیگر نیز بی‌تأثیر نخواهند بود و می‌توانند با اعمال اثر سینرژیکی و یا آنتاگونیستی، بر روی فعالیت نهایی تأثیرگذار باشند. از طرفی محتوا و میزان اسانس به شرایط آب و هوا و همچنین خاک محل رشد گیاه بستگی دارد (۲۰)؛ به‌عبارت دیگر تفاوت در میزان تأثیرات بیولوژیکی گیاهان را می‌توان به تفاوت در شرایط جغرافیایی مربوط دانست (۲۱). گیاه آویشن به‌علت دارا بودن خواص درمانی متعدد، یکی از پرمصرف‌ترین گیاهان در علم طب می‌باشد. این گیاه حاوی درصد بالایی از ترکیبات فنولی است که در این میان تیمول و کارواکرول درصدهای بالاتری را به خود اختصاص داده‌اند. ترکیبات فنولی، خاصیت ضدّ باکتریایی قابل توجهی دارند که این اثر در مورد دو ترکیب فوق به میزان بالاتری مشاهده می‌گردد و به‌دلیل وجود همین خاصیت، در داروسازی و پزشکی مورد استفاده قرار می‌گیرند.

همانگونه که جدول یک نشان می‌دهد کارواکـرول، تیـمول، آلفـا–ترپینئول، ژرانیـول، کاریـوفیـلن اکساید، بتا–کاریوفیلن، لیمـونن، پی–سایمن، گاما– ترپینن، لینالول و بورنئول بیشترین مواد اسانس‌ها هستند. به‌نظر می‌رسد تولید متابولیت‌های ثانویه در شرایط بد و خشن آب و هوایی افزایش می‌یابد. به صورت خاص می‌توان گفت آب و هوای خشک و کاهش آب، موجب کاهش اندازه اندام‌های گیاه و افزایش تولید اسانس شده است؛ به‌عنوان مثال اکوتیپ‌های نودوشن، قزوین–۲ و قم که از مناطق گرم و خشک‌تر جمع‌آوری شده‌اند مقدار بیشتری اسانس تولید کرده‌اند؛ در حالی که اکوتیپ سقز و اردبیل کمترین راندمان تولید اسانس را داشته‌اند. یک ارتباط منطقی بین غلظت اسانس و اثرات ضدّ باکتریایی آن دیده می‌شود. مطالعات متعدد نشان داده‌اند که محتوای فنولی، مهمترین عامل تعیین‌کننده این اثرات است. کارواکرول و تیمول بیشترین خاصیت میکروب‌کشی را به خود اختصاص داده‌اند. مطابق با همین یافته‌ها اکوتیپ‌های نودوشن و قزوین با دارابودن بیشترین مقدار منوترپن‌های اکسیژنه (کارواکرول، تیمول و اوژنول)، موجب دناتوره‌شدن پروتئین‌های غشای سلولی باکتری و نشت پتاسیم و ATP از سلول باکتری و در نهایت مرگ آن می‌شوند (۱۵). مشخص شده است که محتوای فنولی با افزایش دما و خشکی هوا بیشتر می‌شود (۲۳، ۲۲)؛ بنابراین ما نیز شاهد اثرات مشابه در اکوتیپ‌های نودوشن، قزوین–۲ و قم هستیم. جالب توجه است که تمام این اکوتیپ‌ها از مناطق کم ارتفاع (زیر ۱۵۰۰ متر) جمع‌آوری شده‌اند که احتمالاً در این پدیده اثر دارد (جداول ۱ و ۳). خواص ضدّ باکتریایی خوب اکوتیپ‌های سلماس و جعفریه احتمالاً به‌دلیل اثرات سینرژیسمی گاما ترپینن با ترکیبات فنلی است (۲۴). از طرف دیگر اکوتیپ رودبار که مناطق کاملاً مرطوب با کمترین تغییرات دمایی جدا شده است بیشترین هیدروکربن‌های مونوترپن و سزکوئی‌ترپن را به‌خود اختصاص داده است؛ بنابراین کمترین فعالیت ضدّ باکتریایی را نشان می‌دهد (جدول ۲). اثرات وابسته به دوز ضد قارچی مشابهی در اسانس‌ها دیده می‌شود که به سطح

[DOI: 10.32592/JBirjandUnivMedSci.2020.27.3.106]

بالای تیمول و کارواکرول وابسته است. برخی مطالعات نشان داده‌اند که کارواکرول، فعالیت ضدّ قارچی بیشتری نسب به فعالیت ضدّ باکتریایی دارد و در مقابل تیمول اثرات ضدّ باکتریایی بیشتری از خود نشان می‌دهد. در مجموع تیمول و کارواکرول اثرات سینرژیستی ضدّ میکروبی از خود نشان می‌دهند (۲۵، ۱۷). مطالعات نشان می‌دهند که اسانس‌هایی که درصد پایین تیمول و کارواکرول را دارند کمترین اثرات ضدّ میکروبی را دارا هستند؛ با این حال بیان دقیق چنین اثراتی نیازمند مطالعات بیشتر است.

آب و هوای گرم، خشک و نامتعادل، تولید متابولیت‌های اکسیژن‌دار در گیاه را بیشتر می‌کند. همانطور که دیده می‌شود کاروکرول و تیمول هر دو از متابولیت اکسیژن‌دار هستند در نتیجه خواص بیولوژیک اعم از ضدّ باکتریایی و ضدّ قارچی اسانس گیاه در آب و هوای گرم و خشک افزایش می‌یابد. این مطالعه با نتایج مطالعه فراهانی‌کیا و همکاران که اظهار داشته‌اند اسانس آویشن کوهی روی سودموناس اثرات کمی دارد همخوان است (۲۶). محمدپور و همکاران اعلام کردند که اسانس آویشن بیشترین اثرات را روی *اشیریشیا کلی* دارد که با مطالعه ما همسو نیست؛ احتمالاً این تفاوت‌ها به‌دلیل تفاوت در زمان و محل جمع‌آوری نمونه‌ها، تفاوت در ترکیب اسانس‌ها، سوش‌های متفاوت باکتریایی مورد آزمایش و نحوه تهیه اسانس وابسته باشند.

نتیجه‌گیری

در مورد برخی از اسانس‌ها رابطه مشخصی بین اثر بیولوژیک و ترکیبات اصلی دیده نشده که این موضوع مؤیّد این است که وجود ترکیباتی که بیشترین درصد اسانس را به خود اختصاص داده‌اند قطعاً مسئول اثر کلی و نهایی نمی‌باشند و وجود برخی اجزای دیگر که به مقدار کمتری وجود دارند هم مؤثر است؛ زیرا برخی از این اجزای جزئی با اعمال اثرات آگونیستی، آنتاگونیستی و یا سینرژیک قوی، بر نتیجه نهایی تأثیر می‌گذارند. تغییرات آب و هوایی و شرایط جغرافیایی، تأثیر قابل توجهی بر ترکیب و میزان اسانس آویشن کوهی و اثرات بیولوژیک آن دارد که مطالعات زیادی نیز این مطلب را تصدیق می‌کنند. مطالعه حاضر هم نشان داد افزایش ارتفاع و خشکی هوا، موجب افزایش راندمان تولید اسانس و افزایش فعالیت ضدّ باکتریایی و ضدّ قارچی می‌شود. در مجموع فعالیت ضدّ باکتریایی اسانس‌ها بیشتر از فعالیت ضدّ قارچی آنهاست.

تقدیر و تشکر

از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی زنجان (گرنت ۵۴۳) و دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد (گرنت ۲۵۸۹) بابت حمایت از طرح تشکر می‌شود. از دکتر حمید مقیمی (عضو هیأت علمی دانشگاه تهران) به‌دلیل اهدای سویه مقاوم به متی‌سیلین (MRSA) از استافیلوکوکوس اورئوس به این مطالعه سپاس‌گزاری می‌گردد. از داوران محترم که با نظرات ارزشمند خود موجب ارتقای سطح علمی مقاله شدند تشکر و قدردانی می‌شود.

تضاد منافع

نویسندگان مقاله اعلام می‌دارند که هیچ گونه تضاد منافعی در پژوهش حاضر وجود ندارد.

[DOI: 10.32592/JBirjandUnivMedSci.2020.27.3.106]

منابع:

1- Jarić S, Mitrović M, Pavlović P. Review of Ethnobotanical, Phytochemical, and Pharmacological Study of Thymus serpyllum L. Evid Based Complement Alternat Med. 2015; 2015: ID101978. doi: 10.1155/2015/101978

2- Zarshenas MM, Krenn L. A critical overview on Thymus daenensis Celak.: phytochemical and pharmacological investigations. J Integr Med. 2015; 13(2): 91-8.

3- Doosti MH, Ahmadi K, Fasihi-Ramandi M. The effect of ethanolic extract of Thymus kotschyanus on cancer cell growth in vitro and depression-like behavior in the mouse. J Tradit Complement Med. 2018; 8(1): 89-94.

4- Nickavar B, Esbati N. Evaluation of the antioxidant capacity and phenolic content of three Thymus species. J Acupunct Meridian Stud. 2012; 5(3): 119-25. doi: 10.1016/j.jams.2012.03.003.

5- Asbaghian S, Shafaghat A, Zarea K, Kasimov F, Salimi F. Comparison of volatile constituents, and antioxidant and antibacterial activities of the essential oils of Thymus caucasicus, T. kotschyanus and T. vulgaris. Nat Prod Commun. 2011; 6(1): 137-40. doi: 10.1177/1934578X1100600133.

6- Thompson JD, Tarayre M. Exploring the genetic basis and proximate causes of female fertility advantage in gynodioecious Thymus vulgaris. Evolution. 2000; 54(5): 1510-20. doi: 10.1111/j.0014-3820.2000.tb00697.x.

7- Tohidi B, Rahimmalek M, Arzani A, Sabzalian MR. Thymol, carvacrol, and antioxidant accumulation in Thymus species in response to different light spectra emitted by light-emitting diodes. Food Chem. 2020; 307: 125521. doi: 10.1016/j.foodchem.2019.125521

8- Whitfield L, Richards AJ, Rimmer DL. Relationships between soil heavy metal concentration and mycorrhizal colonisation in Thymus polytrichus in northern England. Mycorrhiza. 2004; 14(1): 55-62.

9- British Pharmacopoeia Commission, British Pharmacopoeia. Her Majesty's Stationary Office, London, 1988: 137-138.

10- Piryaei M, Abolghasemi MM, Karimi B. Determination and analysis of volatile components from Thymus kotschyanus Boiss with a new solid-phase microextraction fibre and microwave-assisted hydrodistillation by periodic mesoporous organosilica based on alkylimidazolium ionic liquid. Phytochem Ana: PCA. 2019; 30(2): 193-7. doi: 100.1002/pca.2804

11- Schott G, Liesegang S, Gaunitz F, Gless A, Basche S, Hannig C, et al. The chemical composition of the pharmacologically active Thymus species, its antibacterial activity against Streptococcus mutans and the antiadherent effects of T. vulgaris on the bacterial colonization of the in situ pellicle. Fitoterapia. 2017; 121: 118-28. doi: 10.1016/j.fitote.2017.07.005

12- CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 26th ed. CLSI supplement M100S. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2016

13- Oliva MD, Carezzano ME, Giuliano M, Daghero J, Zygadlo J, Bogino P, et al. Antimicrobial activity of essential oils of Thymus vulgaris and Origanum vulgare on phytopathogenic strains isolated from soybean. Plant Biology. 2015; 17(3): 758-65. doi: 10.1111/plb.12282

14- Valgas C, Souza SM, Smânia EF, Smânia Jr A. Screening methods to determine antibacterial activity of natural products. Braz J Microbiol. 2007; 38: 369-80. doi: 10.1590/S1517-83822007000200034.

15- Ghasemi G, Alirezalu A, Ghosta Y, Jarrahi A, Safavi SA, Abbas-Mohammadi M, et al. Composition, Antifungal, Phytotoxic, and Insecticidal Activities of Thymus kotschyanus Essential Oil. Molecules. 2020; 25(5): 1152. doi: 10.3390/molecules25051152

16- Saad A, Fadli M, Bouaziz M, Benharref A, Mezrioui NE, Hassani L. Anticandidal activity of the essential oils of Thymus maroccanus and Thymus broussonetii and their synergism with amphotericin B and fluconazol. Phytomedicine. 2010; 17(13): 1057-60. doi: 10.1016/j.phymed.2010.03.020.

17- Pinto E, Pina-Vaz C, Salgueiro L, Goncalves MJ, Costa-de-Oliveira S, Cavaleiro C, et al. Antifungal activity of the essential oil of Thymus pulegioides on Candida, Aspergillus and dermatophyte species. J Med Microbiol. 2006; 55(Pt 10): 1367-73. doi: 10.1099/jmm.0.46443-0.

[DOI: 10.32592/JBirjandUnivMedSci.2020.27.3.106]

18- Figueiredo AC, Barroso JG, Pedro LG. Volatiles from Thymbra and Thymus species of the western Mediterranean basin, Portugal and Macaronesia. Nat Prod Commun. 2010; 5(9): 1465-76.

19- Nabavi SM, Marchese A, Izadi M, Curti V, Daglia M, Nabavi SF. Plants belonging to the genus Thymus as antibacterial agents: from farm to pharmacy. Food Chem. 2015;173:339-47. doi: 10.1016/j.foodchem.2014.10.042.

20- Rahimmalek M, Bahreininejad B, Khorrami M, Tabatabaei BE. Genetic variability and geographic differentiation in Thymus daenensis subsp. daenensis, an endangered medicinal plant, as revealed by inter simple sequence repeat (ISSR) markers. Biochem Genet. 2009; 47(11-12): 831-42. doi: 10.1007/s10528-009-9281-z.

21- Afshari V, Elahian F, Ayari Y, Yazdinezhad A, Mirzaei SA. Diversity and ecotypic variation in the antioxidant and antigenotoxic effects of Thymus kotschyanus Boiss & Hohen. Flavour Fragr J. 2016; 31(6): 429-37. doi: 10.1002/ffj.3333

22- Demirci B, Kosar M, Demirci F, Dinc M, Baser KHC. Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil of Chaerophyllum libanoticum Boiss. et Kotschy. Food Chem. 2007; 105: 1512-7. doi: 10.1016/j.foodchem.2007.05.036

23- Dunkić V, Bezić N, Vuko E, Cukrov D. Antiphytoviral Activity of Satureja montana L. ssp. variegata (Host) P. W. ball essential oil and phenol compounds on CMV and TMV. Molecules. 2010; 15(10): 6713-21. doi: 10.3390/molecules15106713

24- Schmidt E, Wanner J, Hiiferl M, Jirovetz L, Buchbauer G, Gochev V, et al. Chemical composition, olfactory analysis and antibacterial activity of Thymus vulgaris chemotypes geraniol, 4-thujanol/terpinen-4-ol, thymol and linalool cultivated in southern France. Nat Prod Commun. 2012; 7(8): 1095-8.

25- Alexa E, Sumalan RM, Danciu C, Obistioiu D, Negrea M, Poiana MA, et al. Synergistic Antifungal, Allelopatic and Anti-Proliferative Potential of Salvia officinalis L., and Thymus vulgaris L. Essential Oils. Molecules. 2018; 23(1): 185. doi: 10.3390/molecules23010185

26- Farahanikia B, Khanavi M, Samadi N, Janbakhsh S, Hadijiakhoondi A (eds.). Antibacterial Activity of Five Thymus Species Essential Oils. The 3rd Congress of Medical Plant. 2007; Tehran: Shahid University.

[DOI: 10.32592/JBirjandUnivMedSci.2020.27.3.106]