



Original Article

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

Fatemeh Elahian¹, Alireza Yazdinezhad², Negin Moein-Albokay Tusi², Zahra Nouri², 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

Corresponding 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

تنوع فعالیت ضد باکتریایی و ضد قارچی اسانس اکوتیپ‌های آویشن کوهی جمع آوری شده از چهارده منطقه ایران

فاطمه الهیان^۱, علیرضا یزدی‌نژاد^۲, نگین معین‌البکای طوسی^۳,
زهرا نوری^۴, سیدعباس میرزاei^۵

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 ضد باکتریایی و ضد 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 ۰/۰ تا ۵/۱۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر استفاده شد.

یافته‌ها: فراوان‌ترین اجزای اسانس‌های بهدست آمده، مونوترين‌های اکسیژنه (۶۰٪/۶۰-۹۰٪) بودند که تیمول و کاروکرول (۷۵/۵۵٪-۷۷/۲۳٪) مهمترین اجزای آن‌ها هستند. میزان و غلظت این دو ماده فنولی در اسانس آویشن کوهی، ارتباط مستقیمی با اثرات ضد باکتری و ضد قارچ دارد. فعالیت ضد باکتریایی و ضد قارچی اسانس‌ها بهترین در دامنه ۰/۲۴ تا ۰/۹۶ و ۵/۱۲ تا ۰/۰۸ میلی‌گرم در میلی‌لیتر قرار گرفت. فعال‌ترین فعالیت ضد میکروبی مربوط به اسانس اکوتیپ‌های سلامس و ندوشن 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 ضد باکتریایی و ضد قارچی متفاوتی می‌تواند از هر اکوتیپ بروز کند.

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

محله علمی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند. ۱۳۹۹:۲۷:۲۷۵-۲۹۰.

دریافت: ۱۳۹۹/۰۴/۰۸ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۱/۲۱

^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 نامبر: +۹۸۳۸۳۳۳۳۱۴۷۱ پست الکترونیکی: mirzaei.a@skums.ac.ir و dr_amirzaei@yahoo.com

مقدمه

به طول ۶ میلی‌متر دارد. زمان گل‌دهی آویشن اواخر بهار تا اواسط تابستان است. برگ‌های معطر آن به عنوان 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 جمع‌آوری شده 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 (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 جوانه‌زن بذرهای گیاهان دیگر که در رقابت با گیاهان مؤبد 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 آنتی‌بacterیال، آنتی‌موتاژن، ضد قارچی، ضد 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 ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی است (۶).

آویشن یکی از معروف‌ترین و پر مصرف‌ترین گیاهان دارویی در جهان به شمار می‌آید. آویشن متعلق به خانواده نعنایان است که در زیر خانواده Nepetoideae قرار دارد و از نظر فیلوزنی با جنس‌های اریگانوم، زاتاریا و میکرومربیا قرابت و خویشاوندی دارد. نام جنس *Thymus* از کلمه *Thyo* به معنای عطر گرفته شده است. تفسیر دیگری که در رابطه با نام این جنس وجود دارد کلمه یونانی *Thymos* به معنای قوت است و *Thymus* به گروهی از گیاهان که دارای اثر تقویت‌کننده و محرك بوده‌اند اطلاق می‌شده است. آویشن‌ها به علت 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 به طول ۶ تا ۱۲ سانتی‌متر، با کرک‌های کوتاه خوابیده یا گسترش‌دهنده 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 تخم مرغی است و قاعده بریده تا باریک، نوک گرده با کرک‌های گسترش‌دهنده متراکم، پراکنده، یا بدون کرک است. تعداد زیادی غده ترشحی قرمزرنگ دارد. رگ‌برگ‌های برجسته در سطح زیرین برگ قرار گرفته‌اند. گل‌آذین اغلب به صورت کپه‌ای متراکم است. برگ گل‌آذینی شبیه به برگ ساقه‌ای و اغلب سبزرنگ است. طول برآکته‌ها ۱ تا ۱/۵ میلی‌متر است. جام گل سفید یا صورتی کمرنگ

اجزای انسانس 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 ۳۰ متری با قطر ۰/۲۵ میلی‌متر از جنس HP-5 MS مجهز شده بود. آون ستون در ابتدا به مدت ۵ دقیقه روی 40°C تنظیم شده و سپس با سرعت $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$ تا 230°C درجه بالا رفت و در نهایت با سرعت $30^{\circ}\text{C}/\text{min}$ تا 280°C درجه افزایش یافت. دمای اینجکتور و دتکتور به ترتیب روی 240° و 250° درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. هلیوم به عنوان گاز حامل با سرعت 1 ml/min به ستون تزریق گردید و یک میکروولتر از هر انسانس به دستگاه تزریق شد. از کتابخانه NIST و Wiley و همچنین استانداردهای نرم‌الکان برای تفسیر و تشخیص داده‌های طیفسنج جرمی استفاده گردید (۱۰، ۱۱).

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 اورئوس نیز (ATCC13311) و سودوموناس آئرزوینوزا (ATCC27853) و دو گونه استاندارد قارچی آسپرژیلوس نایجر (ATCC9142) و کاندیدیا آلیکننس (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 ضد باکتریایی انسانس‌ها به کمک روش میکرودیلشن مطابق استانداردهای آزمایشگاه‌های بالینی اندازه‌گیری گردید. سویه‌های باکتریایی تازه کشت شده، درون محیط کشت مولر هینتون (شرکت Merck) براحت تا $0/1 = \text{OD}_{600}$ رقیق شده و مجدد برای چند ساعت در دمای 37°C قرار گرفت تا به $0/5 = \text{OD}_{600}$ برسند. رقت $1:200$ از

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

روش تحقیق

به منظور 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 خشک شده تا زمان انسانس‌گیری در دمای 40°C و دور از نور و رطوبت نگهداری شد (۸).

برای تهیه انسانس گیاه، از روش تقطیر با آب به کمک دستگاه کلونجر (آزمیران-ایران) استفاده شد. ۱۰۰ گرم از سرشاخه‌های هوایی خشک شده گیاه آویشن کوهی، پودر شده و داخل بالن ۲ لیتری ریخته شد و به آن 600 mL آب مقدار اضافه گردید. با استفاده از دستگاه کلونجر و روش‌های علمی در دمای 70°C به مدت ۳ ساعت انسانس‌گیری انجام شد. انسانس‌ها توسط سدیم‌سولفات خشک آب‌گیری و در ظرف‌های کوچک تبره، داخل یخچال در دمای 40°C برای آزمایش‌های بعدی نگهداری گردید (۹). چگالی^۱ و راندمان تولید انسانس محاسبه شد (۱۰).

¹ Density

دستمال نظافت استریل فیلتر گردید. تعداد اسپورها با لام هموسیتومتر شمارش شده و با نرمال سالین به غلظت یک میلیون اسپور در میلی لیتر رسانده شد. مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون اسپور با ۱۰۰ میکرولیتر محلول اسانس در سابروود دکستروز براث به گونه‌ای درون پلیت ۹۶ خانه مخلوط گردید تا غلظتنهای اسانس (۰/۰۱، ۰/۰۲، ۰/۰۴، ۰/۰۸، ۰/۱۶، ۰/۳۲، ۰/۴۶، ۰/۰۲، ۰/۰۸، ۰/۱۶، ۰/۳۲، ۰/۴۶) به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۲۸ و رطوبت ۸۰ درصد آنکوبه شدند (۱۵).

کاندیدیا آلبیکنس نیز در محیط سابروود دکستروز براث (شرکت مرک) واکشت شده و یک کشت جوان تا غلظت 10^6 CFU/ml با 5×5 رقیق گردید و مجدد ۱۰۰ میکرولیتر از این سوسپانسیون با ۱۰۰ میکرولیتر اسانس مخلوط گردید تا محدوده غلظتی $5/6$ mg/ml به مدت آید. پلیتها به مدت 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. پس از اختلاط اسانس و باکتری با کمک شیکر، پلیتها به مدت ۲۴ ساعت در دمای 37°C قرار گرفتند. پس از آن ۲۰ میکرولیتر محلول MTT با غلظت $0/2$ mg/ml به هر چاهک افزوده شد و به مدت نیم ساعت درون شیکر-آنکوباتور قرار گرفت. کمترین غلظت اسانس که هیچ رنگ بنفشی در آن دیده نشد به عنوان غلظت مهارکنندگی (MIC)^۱ در نظر گرفته شد؛ سپس مقدار ۵ میکرولیتر از هر خانه بدون رنگ بر روی پلیتهای مولر هینتون آگار به مدت یک شب واکشت گردید. نمونه‌هایی که با کمترین غلظت اسانس مجاورت داشته‌اند ولی هیچ رشدی روی پلیت نداشتند، به عنوان غلظت کشنندگی اسانس (MBC)^۲ معرفی گردید. نتایج، میانگین سه بار آزمون‌های مستقل در واحدهای سه‌تایی است. از آمپیسیلین با غلظت سریالی $256 \mu\text{g}/\text{ml}$ به منظور استاندارد استفاده شده است (۱۶، ۱۷).

به منظور بررسی فعالیت ضد کاندیدیایی و ضد آسپرژیلوسی اسانس‌ها، قارچ رشته‌ای آسپرژیلوس نایجر به مدت یک هفته در دمای 30°C روی محیط کشت سابروود دکستروز آگار کشت گردید. قارچ‌ها به منظور اسپورزایی به مدت یک هفته در یخچال قرار گرفت. اسپورها با سرم فیزیولوژیک حاوی $1/0$ درصد توئین شسته و با چند لایه

این سوسپانسیون برای تلقیح استفاده گردید که حدوداً معادل یک میلیون باکتری در میلی لیتر است (۱۲). مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون رقیق شده باکتریایی و ۱۰۰ میکرولیتر از غلظت‌های سریالی اسانس در محیط کشت مولر هینتون در پلیت ۹۶ خانه مجاور گردید تا غلظت‌های نهایی (۰/۰۱، ۰/۰۲، ۰/۰۴، ۰/۰۸، ۰/۱۶، ۰/۳۲، ۰/۴۶) به دست 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 به مدت ۲۴ ساعت در دمای 37°C قرار گرفتند. پس از آن ۲۰ میکرولیتر محلول MTT با غلظت $0/2$ mg/ml به هر چاهک افزوده شد و به مدت نیم ساعت درون شیکر-آنکوباتور قرار گرفت. کمترین غلظت اسانس که هیچ رنگ بنفشی در آن دیده نشد به عنوان غلظت مهارکنندگی (MIC) در نظر گرفته شد؛ سپس مقدار ۵ میکرولیتر از هر خانه بدون رنگ بر روی پلیتهای مولر هینتون آگار به مدت یک شب واکشت گردید. نمونه‌هایی که با کمترین غلظت اسانس مجاورت داشته‌اند ولی هیچ رشدی روی پلیت نداشتند، به عنوان غلظت کشنندگی اسانس (MBC) معرفی گردید. نتایج، میانگین سه بار آزمون‌های مستقل در واحدهای سه‌تایی است. از آمپیسیلین با غلظت سریالی $256 \mu\text{g}/\text{ml}$ به منظور استاندارد استفاده شده است (۱۳، ۱۴).

تمام آزمون‌ها حداقل سه بار مستقل تکرار گردیده و نتایج آنها به صورت میانگین \pm انحراف معیار گزارش شد. از آزمون یکنواختی (هوموژنیتی) واریانس در آنالیز واریانس یکطرفه به منظور ارزیابی اختلاف میانگین فعالیت بیولوژیکی استفاده گردید و میانگین‌هایی که P-value کمتر از $0/05$ داشتند از

¹ Minimum Inhibitory Concentration² Minimum Bactericidal Concentration

جدول‌های ۳ و ۴ به ترتیب خواص ضد میکروبی اسانس‌های آویشن کوهی را نمایش می‌دهند. نتایج نشان می‌دهد که اسانس‌های مورد مطالعه، اثرات ضد باکتریایی بیشتری روی باکتری‌های گرم مثبت نظیر باسیلوس سوبتیلیس و استافیلوکوکوس اورئوس داشتند ($P<0.05$) و باکتری گرم منفی سودوموناس آئروژینوزا از همه گونه‌ها نسبت به غلظت‌های اسانس‌ها مقاومتر بود ($P<0.001$). غالب توجه است که اثر اسانس‌ها روی استافیلوکوکوس ارئوس مقاوم به متی‌سیلین و غیر مقاوم، اختلاف معنی‌دار نداشت ($P>0.05$). در مجموع اسانس‌های اکوتیپ‌های سلاماس، نودوشن و قزوین-۲ بیشترین فعالیت ضد باکتریایی را داشتند؛ در حالی که اکوتیپ‌های رودبار و ینگجه کمترین فعالیت ضد میکروبی را داشتند. اسانس‌ها عمدتاً اثرات ضد قارچی قوی‌تری از خود نشان داده‌اند. بیشترین اثرات ضد قارچی مربوط به اکوتیپ قزوین، نودوشن و سلاماس و کمترین آن مربوط به اکوتیپ رودبار بوده است. داروی استاندارد آمپی‌سیلین در تمام سویه‌ها بیشترین اثرات را از خود نشان داده است.

نظر آماری معنی‌دار در نظر گرفته شدند.

یافته‌ها

اسانس‌های به دست 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 به مقدار $31\text{ g}/30\text{ g}$ وزنی حجمی و بیشترین آن در اکوتیپ قم به مقدار $82\text{ g}/82\text{ g}$ وزنی حجمی گزارش شد. ترکیبات شیمیایی موجود در اسانس‌ها با استفاده از دستگاه GC و GC/Mass GC 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 به دست آمده، مونوترپین‌های اکسیژنه نظیر کارواکرول و تیمول در تمامی نمونه‌ها درصد بالایی داشتند و حدود $60\text{--}90\%$ درصد اجزای اسانس‌ها را به خود اختصاص دادند. سزکوئی‌ترپین‌های هیدروکربنی شامل کاریوفیلین و بیزابولین در ردیم قرار گرفتند. در مجموع ترکیبات اکسیژنه با بیش از 80% درصد بیشترین اجزای اسانس را به خود اختصاص دادند (جدول ۲).

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

| ردیف | نام | شاخص کواتر مرجع (کتاب آدامز) | شاخص کواتر | ماده مؤثره | ٪ | اکوتیپ دستجرد | اکوتیپ جغرافیه | اکوتیپ قم | اکوتیپ سفر | اکوتیپ دیوان دره | اکوتیپ چاربین | اکوتیپ ینگجه | اکوتیپ ۲ | اکوتیپ ۳ | اکوتیپ ۴ | اکوتیپ سلاماس | اکوتیپ نودوشن | اکوتیپ اردبیل | اکوتیپ خلخال | اکوتیپ رو دیار | | |
|------|-----------------|------------------------------|------------|------------|----|---------------|----------------|-----------|------------|------------------|---------------|--------------|----------|----------|----------|---------------|---------------|---------------|--------------|----------------|------|--|
| ۱ | آلفا پین | ۹۳۹ | ۹۳۸ | | -- | ۱/۰۷ | ۰/۱۹ | ۱/۳۹ | ۰/۱۴ | ۰/۳۳ | -- | ۰/۴۰ | ۱/۳۰ | ۰/۰۵ | ۰/۰۶ | -- | ۰/۲۰ | ۰/۲۷ | | | | |
| ۲ | کامفن | ۹۵۴ | ۹۵۳ | | -- | | | ۰/۲۴ | ۰/۰۶ | ۰/۲۸ | -- | ۰/۳۳ | -- | -- | -- | -- | -- | -- | | | | |
| ۳ | بتا میرسن | ۹۹۱ | ۹۹۰ | | -- | ۰/۴۲ | | ۱/۷۹ | ۰/۱۸ | ۰/۳۹ | -- | ۰/۴۳ | ۰/۰۶ | ۰/۰۶ | | ۰/۰۶ | ۰/۱۱ | ۰/۱۰ | | | | |
| ۴ | پی-سایمن | ۱۰۴۶ | ۱۰۴۵ | | -- | | ۰/۱۵ | | ۷/۸۲ | -- | -- | -- | ۷/۶۳ | ۱/۶۶ | ۷/۶۸ | ۱/۲۳ | ۰/۴۴ | ۰/۲۴ | -- | | | |
| ۵ | بتا اسیمن | ۱۰۳۸ | ۱۰۳۷ | | -- | | | ۰/۱۵ | -- | -- | -- | -- | -- | -- | ۱/۹۰ | ۰/۴۴ | -- | -- | | | | |
| ۶ | لیمونن | ۱۰۲۹ | ۱۰۲۸ | | -- | ۴/۹۱ | | | ۰/۰۶ | -- | -- | -- | -- | -- | -- | -- | -- | ۲/۹۴ | ۱۰۲۹ | | | |
| ۷ | سینثول-۱۸ | ۱۰۳۳ | ۱۰۳۰ | | -- | ۱/۰۵ | ۰/۲۳ | ۲/۱۸ | -- | ۰/۱۷ | ۰/۲۳ | ۰/۵۶ | ۰/۵۷ | ۰/۷۴ | -- | -- | ۰/۱۲ | ۰/۱۴ | -- | | | |
| ۸ | گاما تریپین | ۱۰۶۰ | ۱۰۵۹ | | -- | ۴/۴۰ | ۰/۱۶ | -- | ۰/۹۳ | ۰/۴۶ | ۰/۲۰ | ۵/۴۴ | ۰/۳۱ | ۳/۲۳ | ۱/۱۹ | ۰/۲۵ | ۰/۴۷ | -- | | | | |
| ۹ | آلفا تریپینول | ۱۰۸۹ | ۱۰۸۷ | | -- | | | | ۱/۱۰ | ۰/۰۵ | -- | -- | ۰/۳۵ | -- | ۱/۸۶ | ۰/۰۷ | -- | ۰/۰۶ | ۰/۳۲ | ۱۰۸۹ | ۱۰۸۷ | |
| ۱۰ | لیمالول | ۱۰۹۷ | ۱۰۹۸ | | -- | ۳/۴۲ | ۳/۶۱ | ۴/۲۹ | ۰/۱۳ | ۱/۱۱ | -- | ۱/۴۳ | ۰/۷۰ | ۲/۹۵ | ۰/۲۵ | ۱/۴۳ | ۰/۵۴ | ۰/۱۶ | | | | |
| ۱۱ | زی بتا تریپینول | ۱۱۴۴ | ۱۱۴۴ | | -- | ۰/۲۰ | ۱/۵۲ | ۰/۲۶ | -- | ۰/۲۴ | ۰/۲۴ | ۱/۸۷ | ۰/۷۵ | ۰/۹۱ | ۰/۱۰ | ۰/۳۶ | ۰/۱۷ | ۱/۰۰ | -- | | | |
| ۱۲ | کامفور | ۱۱۵۰ | ۱۱۴۸ | | -- | | | | ۰/۰۷ | ۰/۲۴ | -- | ۰/۲۹ | -- | -- | -- | -- | ۰/۲۶ | ۰/۱۶ | | | | |
| ۱۳ | بورنیول | ۱۱۷۰ | ۱۱۶۹ | | -- | ۴/۶۲ | ۳/۵۷ | ۱/۱۲ | ۱/۲۵ | ۱/۵۴ | ۴/۴۱ | ۱/۶۸ | ۴/۹۱ | ۲/۸۷ | -- | ۲/۰۷ | ۱/۶۰ | ۰/۷۶ | ۰/۱۱ | | | |
| ۱۴ | تریپن-۴-اول | ۱۱۷۷ | ۱۱۷۵ | | -- | ۴/۹۴ | ۱/۵۲ | -- | ۰/۳۸ | ۰/۴۱ | ۰/۳۸ | ۱/۲۷ | ۱/۹۶ | -- | -- | ۰/۴۶ | ۰/۳۴ | ۰/۸۴ | -- | | | |
| ۱۵ | آلفا تریپینول | ۱۱۹۰ | ۱۱۸۹ | | -- | | | | | ۰/۱۵ | ۰/۱۵ | ۸/۰۴ | ۰/۱۵ | ۱/۰۸ | ۷/۶۱ | ۰/۲۴ | ۰/۷۰ | ۰/۹۱ | ۰/۹۴ | ۲۵/۶۰ | | |
| ۱۶ | سیترونیول | ۱۲۲۸ | ۱۲۲۷ | | -- | -- | -- | -- | -- | -- | -- | -- | -- | -- | -- | -- | -- | ۱۲/۶۰ | | | | |
| ۱۷ | نرال (سیترال) | ۱۲۳۹ | ۱۲۳۸ | | -- | ۲/۴۷ | -- | -- | ۰/۸۵ | ۲/۹۱ | -- | -- | -- | -- | -- | -- | ۱/۴۸ | ۰/۷۵ | | | | |
| ۱۸ | ژرانیول | ۱۲۵۴ | ۱۲۵۳ | | -- | ۸/۰۳ | -- | -- | ۶/۴۶ | ۲۰/۵۹ | ۱۸/۰۷ | ۴/۸۳ | -- | ۰/۸۵ | ۹/۰۵ | -- | ۱۴/۰۴ | ۲۶/۰۵ | ۷/۸۱ | | | |
| ۱۹ | تیمول | ۱۳۰۴ | ۱۳۰۳ | | -- | ۱۵/۷۲ | ۹/۰۴ | ۱۶/۳۶ | ۱۴/۲۰ | ۱۰/۶۸ | ۲۲/۰۵ | ۲۱/۲۵ | ۲۸/۰۳ | ۱۰/۰۶ | ۱۲/۱۴ | ۲۱/۹۹ | ۲۹/۵۳ | ۱۸/۶۹ | ۲۲/۶۲ | | | |
| ۲۰ | کارواکرول | ۱۳۱۰ | ۱۳۰۸ | | -- | ۳۴/۶۵ | ۵۵/۴۸ | ۵۴/۶۷ | ۳۲/۳۵ | ۴۹/۶۷ | ۲۲/۱۷ | ۴۶/۸۲ | ۳۵/۸۳ | ۵۱/۰۳ | ۴۲/۶۷ | ۵۵/۹۰ | ۴۲/۰۷ | ۳۲/۰۲ | ۵/۴۵ | | | |

ادامه جدول یک

| ردیف | ماده مؤثره | شاخص کواتز کواتز | مرجع (کتاب آدامز) | شاخص کواتز | اکوتیپ رودبار | اکوتیپ خلخال | اکوتیپ اردبیل | اکوتیپ نودوشن | اکوتیپ سلاماس | اکوتیپ قزوین-۱ | اکوتیپ قزوین-۲ | اکوتیپ یتگجه | اکوتیپ چاربین | اکوتیپ دیوان دره | اکوتیپ سفر | اکوتیپ قم | اکوتیپ جعفریه | اکوتیپ دستجرد |
|------|--------------------|------------------|-------------------|------------|---------------|--------------|---------------|---------------|---------------|----------------|----------------|--------------|---------------|------------------|------------|-----------|---------------|---------------|
| ۲۱ | آلفا تریپنیل استات | ۱۳۵۰ | ۱۳۴۹ | ۱۳۵۸ | — | ۰/۲۰ | ۰/۲۷ | ۰/۰۸ | — | ۲/۴۸ | — | ۰/۰۷ | — | ۰/۱۴ | — | ۰/۲۳ | — | — |
| ۲۲ | اوزنول | ۱۳۵۸ | ۱۳۵۹ | ۱۳۵۶ | — | ۰/۱۱ | — | ۰/۱۰ | — | ۰/۰۶ | — | ۰/۰۷ | — | ۰/۱۴ | — | ۰/۲۵ | ۰/۸۴ | ۰/۱۱ |
| ۲۳ | ژرانیل استات | ۱۳۸۱ | ۱۳۸۱ | ۱۳۸۱ | ۰/۱۵ | ۲/۷۲ | ۰/۲۵ | ۰/۰۶ | ۱/۰۴ | ۰/۱۵ | ۰/۰۷ | ۰/۱۴ | — | ۰/۸۱ | ۰/۳۳ | ۰/۲۵ | ۰/۸۴ | ۱/۰۴ |
| ۲۴ | بتا کوبیین | ۱۳۸۶ | ۱۳۸۵ | ۱۳۸۵ | ۰/۱۴ | ۰/۱۵ | ۰/۱۱ | — | — | — | — | — | — | — | ۱/۷۳ | ۰/۹۵ | — | — |
| ۲۵ | بتابوریون | ۱۳۸۹ | ۱۳۸۸ | ۱۳۸۸ | ۰/۰۹ | ۰/۰۷ | ۰/۰۶ | ۰/۰۵ | ۰/۱۸ | ۰/۱۴ | ۰/۰۴ | ۰/۰۷ | — | ۰/۱۵ | ۰/۱۴ | ۰/۰۹ | — | — |
| ۲۶ | زی جاسمون | ۱۳۹۳ | ۱۳۹۵ | ۱۳۹۵ | — | — | — | ۰/۰۹ | — | ۰/۲۰ | ۰/۲۹ | ۰/۰۶ | — | ۰/۱۲ | ۰/۰۷ | ۰/۱۴ | — | — |
| ۲۷ | کاریوفیلین | ۱۴۲۰ | ۱۴۱۹ | ۱۴۱۹ | ۱/۸۵ | ۲/۸۴ | ۱/۱۱ | ۳/۸۹ | ۸/۱۴ | ۴/۳۰ | ۱/۴۷ | ۱/۶۸ | ۲/۲۰ | ۰/۱۴ | ۰/۲۵ | ۰/۲۵ | ۰/۱۵ | ۵/۱۵ |
| ۲۸ | بتابا گورجون | ۱۴۳۵ | ۱۴۳۴ | ۱۴۳۴ | ۰/۰۵ | ۰/۰۶ | ۰/۰۵ | ۰/۲۵ | ۰/۱۱ | — | — | ۰/۰۵ | — | — | — | ۰/۲۷ | ۰/۸۵ | ۰/۱۲ |
| ۲۹ | آلفا هیماچالن | ۱۴۵۱ | ۱۴۵۲ | ۱۴۵۲ | ۰/۲۰ | — | ۰/۲۹ | — | — | ۰/۱۳ | — | ۰/۰۵ | — | — | ۰/۸۲ | ۲/۸۲ | — | — |
| ۳۰ | آلفا هومولن | ۱۴۵۶ | ۱۴۵۵ | ۱۴۵۵ | ۰/۱۰ | ۰/۷۸ | ۰/۰۵ | ۰/۴۰ | ۱/۴۰ | ۲/۱۲ | ۰/۵۷ | ۰/۵۴ | ۰/۱۰ | ۰/۱۶ | ۰/۱۰ | ۰/۸۳ | ۰/۸۳ | ۲/۶۳ |
| ۳۱ | گاما مورولن | ۱۴۸۱ | ۱۴۸۲ | ۱۴۸۲ | ۰/۰۵ | ۰/۰۷ | ۰/۰۶ | ۰/۶۱ | ۰/۰۷ | — | — | ۰/۰۴ | — | — | — | ۰/۲۸ | ۰/۳۴ | ۰/۶۸ |
| ۳۲ | بتابا گواین | ۱۴۹۴ | ۱۴۹۴ | ۱۴۹۴ | — | — | — | ۱/۱۶ | — | — | — | — | — | — | — | — | ۰/۳۹ | ۰/۳۹ |
| ۳۳ | بتابا بیسابولن | ۱۵۰۷ | ۱۵۰۶ | ۱۵۰۶ | ۰/۰۵ | ۰/۰۳ | ۰/۰۲ | ۱/۲۷ | — | — | — | ۰/۰۴ | — | ۰/۰۸ | ۰/۴۲ | ۰/۶۰ | ۱/۲۴ | ۱/۰۸ |
| ۳۴ | گاما کادین | ۱۵۱۵ | ۱۵۱۴ | ۱۵۱۴ | ۰/۱۳ | ۰/۵۱ | ۰/۱۷ | ۰/۲۱ | ۰/۸۱ | ۰/۰۳ | ۰/۵۱ | ۰/۴۳ | — | ۰/۷۹ | ۱/۶۹ | ۱/۰۶ | ۰/۸۹ | ۰/۹۱ |
| ۳۵ | دلتا کادین | ۱۵۲۴ | ۱۵۲۳ | ۱۵۲۳ | — | ۰/۴۷ | — | — | ۰/۷۷ | ۱/۲۲ | — | ۰/۳۵ | ۱/۰۸ | — | — | ۰/۰۵ | ۰/۱۰ | ۰/۷۹ |
| ۳۶ | ژرانیل بوتاموات | ۱۵۶۵ | ۱۵۶۴ | ۱۵۶۴ | — | — | — | — | — | ۰/۲۹ | — | — | — | — | — | ۱/۱۹ | ۳/۹۸ | ۰/۹۷ |
| ۳۷ | اسپاتولنول | ۱۵۷۹ | ۱۵۷۸ | ۱۵۷۸ | ۰/۱۱ | ۰/۳۷ | ۰/۳۱ | ۰/۱۹ | ۰/۳۱ | ۲/۳۹ | ۰/۸۵ | ۰/۳۵ | ۰/۵۶ | ۰/۸۲ | ۰/۸۰ | ۰/۶۰ | ۱/۱۹ | ۳/۹۸ |
| ۳۸ | کاریوفیلین اکسید | ۱۵۸۴ | ۱۵۸۳ | ۱۵۸۳ | ۰/۴۳ | ۰/۹۸ | ۰/۴۳ | ۰/۶۳ | ۰/۵۸ | ۲/۲۱ | ۰/۸۵ | ۰/۳۵ | ۰/۱۳ | ۱/۲۱ | ۳/۱۲ | ۴/۹۲ | ۱/۲۱ | ۰/۹۹ |
| ۳۹ | گلوبولول | ۱۵۸۶ | ۱۵۸۵ | ۱۵۸۵ | ۰/۱۴ | — | ۰/۱۴ | — | — | ۰/۱۸ | ۰/۲۶ | — | — | — | — | ۰/۰۶ | ۰/۳۵ | ۰/۷۹ |
| ۴۰ | کوبنول | ۱۶۴۸ | ۱۶۴۶ | ۱۶۴۶ | ۰/۳۳ | ۰/۱۱ | ۰/۱۱ | ۰/۰۶ | ۰/۰۶ | ۰/۴۲ | ۰/۲۵ | ۰/۱۰ | ۰/۱۰ | ۰/۲۲ | ۰/۸۴ | ۰/۲۲ | ۰/۲۲ | ۰/۳۹ |
| ۴۱ | آلفا کادینول | ۱۶۵۵ | ۱۶۵۶ | ۱۶۵۶ | ۰/۰۸ | ۰/۰۸ | ۰/۱۴ | ۰/۱۴ | — | ۰/۲۴ | ۰/۲۲ | ۰/۱۳ | — | ۰/۰۷ | ۰/۲۹ | ۰/۱۰ | ۰/۱۰ | ۱/۳۵ |
| ۴۲ | آلفا بیسابولول | ۱۶۸۷ | ۱۶۸۵ | ۱۶۸۵ | ۰/۰۸ | ۰/۰۸ | ۰/۱۰ | ۰/۱۰ | ۰/۱۹ | ۰/۲۶ | — | — | — | — | ۰/۷۸ | ۰/۹۷ | ۰/۱۵ | ۱/۲۴ |
| ۴۳ | سایر مواد | ۱۶۸۷ | ۱۶۸۵ | ۱۶۸۵ | ۰/۴۳ | ۰/۴۸ | ۰/۴۳ | ۰/۳۰ | ۰/۳۰ | ۲/۴۷ | ۰/۳۵ | ۰/۲۶ | — | — | — | ۰/۲۵ | ۰/۳۵ | ۰/۱۳ |

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

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

| ماده مؤثره | رودبار | خلخال | اردیل | نودوشن | سلماس | قزوین-۱ | قزوین-۲ | ینگجه | چارین | دیوان دره | سقز | اکوتیپ قم | جعفریه | اکوتیپ دستجرد |
|----------------------------|--------|-------|-------|--------|-------|---------|---------|-------|-------|-----------|-------|-----------|--------|---------------|
| مونوتپین‌های 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 |
| مونوتپین‌های 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 ترین‌های هیدروکربنی | 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 ترین‌های 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 |

جدول ۳- مقایسه حداقل غلظت مهار کنندگی (MBC, mg/ml) و غلظت کشندگی (MIC, 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 سلاماس | اکوتیپ قروین-۱ |
|---------------------|---------------------|---------------|--------------|---------------|---------------|------------------------|----------------|
| اشیرشیا کلی | ۲۲±۰... | ۲/۵۷±۰... | ۳/۳۳±۱/۲۸ | ۴/۱۸±۰... | ۱/۱۰±۰... | ۱/۰۶±۰... | ۰/۵۸±۰... |
| | ۶۴±۰... | ۲/۵۷±۰... | ۳/۳۳±۱/۲۸ | ۴/۱۸±۰... | ۱/۱۰±۰... | ۱/۰۶±۰... | ۰/۵۸±۰... |
| باسیلوس سوبتیلیس | < ۵±۰... | ۲/۵۷±۰... | ۴/۴۴±۰... | ۳/۱۴±۱/۲۱ | ۰/۵۲±۰... | ^b ۰/۵۲±۰... | ۰/۵۸±۰... |
| | < ۵±۰... | ۲/۵۷±۰... | ۴/۴۴±۰... | ۳/۱۴±۱/۲۱ | ۰/۵۲±۰... | ^b ۰/۵۵±۰... | ۰/۵۸±۰... |
| استافیلکوکوس اورئوس | ۱۲۸±۰... | ۵/۱۲±۰... | ۰/۲۸±۰... | ۰/۲۶±۰... | ۰/۵۵±۰... | ۰/۲۶±۰... | ۰/۸۷±۰/۳۳ |
| | > ۲۵۶±۰... | ۵/۱۲±۰... | ۰/۵۵±۰... | ۰/۵۲±۰... | ۱/۱۰±۰... | ۰/۲۶±۰... | ۰/۸۷±۰/۳۳ |
| سلمانلا تیفی موریوم | ۳±۰/۰۰۱ | > ۵/۱۲±۰... | > ۵/۱۲±۰... | ۴/۱۸±۰... | ۴/۴۰±۰... | ۱/۰۶±۰... | ۲/۳۱±۰... |
| | ۱۶±۰... | > ۵/۱۲±۰... | > ۵/۱۲±۰... | ۴/۱۸±۰... | ۴/۴۰±۰... | ۱/۰۶±۰... | ۲/۳۱±۰... |
| انتروکوکوس فکالیس | < ۵±۰... | > ۵/۱۲±۰... | ۴/۴۴±۰... | ۳/۱۴±۱/۲۱ | ۰/۲۶±۰... | ۰/۲۶±۰... | ۳/۴۶±۱/۳۳ |
| | ۸±۰... | > ۵/۱۲±۰... | ۴/۴۴±۰... | ۳/۱۴±۱/۲۱ | > ۵/۱۲±۰... | ۰/۲۶±۰... | ۳/۴۶±۱/۳۳ |
| استافیلکوکوس اورئوس | ۸±۰... | > ۵/۱۲±۰... | ۴/۴۴±۰... | ۳/۱۴±۱/۲۱ | ۱/۱۰±۰... | ۰/۷۹±۰/۳۰ | ۴/۶۲±۰... |
| | ۸±۰... | > ۵/۱۲±۰... | ۴/۴۴±۰... | ۳/۱۴±۱/۲۱ | > ۵/۱۲±۰... | ۰/۷۹±۰/۳۰ | ۴/۶۲±۰... |
| سودوموناس آنرژینوزا | > ۲۵۶±۰... | ۵/۱۲±۰... | ۱/۶۶±۰/۶۴ | ۴/۱۸±۰... | ۲/۲۰±۰... | ۱/۵۸±۰/۶۱ | ۲/۳۱±۰... |
| | > ۲۵۶±۰... | ۵/۱۲±۰... | ۱/۶۶±۰/۶۴ | ۴/۱۸±۰... | ۲/۲۰±۰... | ۲/۱۱±۰... | ۴/۶۲±۰... |

ادامه جدول ۳

| نام سویه باکتریایی | | | | اکوتیپ قزوین-۲ | اکوتیپ ینگجه | اکوتیپ چاربین | اکوتیپ دیوان دره | اکوتیپ سفر | اکوتیپ قم | اکوتیپ جعفریه | اکوتیپ دستجرد |
|--|--|--|--|----------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| اشیریشیا کلی | | | | > ۵/۱۲±۰/۰۰ | ۱/۵۶±۰/۶۰ | ۱/۵۹±۰/۶۱ | ۲/۰/۷±۰/۰۰ | ۰/۷۷±۰/۲۹ | ۰/۴۸±۰/۰۰ | ۰/۹۳±۱/۱۳ | ۰/۴۸±۰/۰۰ |
| | | | | > ۵/۱۲±۰/۰۰ | ۴/۲۴±۰/۰۰ | ۲/۰/۸±۰/۰۰ | ۲/۰/۷±۰/۰۰ | ۱/۲۸±۰/۸۹ | ۱/۲۰±۰/۸۳ | ۱/۲۰±۰/۰۰ | ۲/۹۳±۱/۱۳ |
| باسیلوس سوبتیلیس | | | | > ۵/۱۲±۰/۰۰ | ۱/۲۹±۰/۴۵ | ۰/۵۲±۰/۰۰ ^b | ۰/۷۹±۰/۳۱ | ۰/۵۲±۰/۰۰ ^b | ۰/۲۶±۰/۰۰ ^a | ۰/۴۴±۰/۰۰ ^a | ۱/۴۶±۰/۵۶ |
| | | | | > ۵/۱۲±۰/۰۰ | ۲/۰/۵±۰/۱۰ | ۰/۵۲±۰/۰۰ ^b | ۰/۷۸±۰/۳۰ | ۰/۵۲±۰/۰۰ ^b | ۰/۲۶±۰/۰۰ ^a | ۰/۲۴±۰/۰۰ ^a | ۱/۹۵±۰/۰۰ |
| استافیلکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین | | | | > ۵/۱۲±۰/۰۰ | ۳/۱۸±۱/۲۲ | ۱/۵۶±۰/۶۰ ^b | ۱/۵۸±۰/۶۰ ^b | ۰/۷۷±۰/۲۸ | ۰/۲۶±۰/۰۰ ^a | ۰/۷۷±۰/۰۰ | ۱/۹۵±۰/۰۰ |
| | | | | > ۵/۱۲±۰/۰۰ | ۴/۲۴±۰/۰۰ | ۴/۱۵±۰/۰۰ | ۳/۱۰±۱/۱۹ | ۰/۳۸±۰/۱۵ | ۰/۹۶±۰/۰۰ | ۰/۹۰±۰/۰۰ | ۰/۹۶±۰/۰۰ |
| سالمونلا تیفی موریوم | | | | > ۵/۱۲±۰/۰۰ | ۱/۰/۶±۰/۰۰ ^b | ۱/۰/۴±۰/۰۰ ^b | ۱/۰/۴±۰/۰۰ ^b | ۰/۲۶±۰/۰۰ ^a | ۰/۴۸±۰/۰۰ ^a | ۰/۴۹±۰/۰۰ ^a | ۰/۴۹±۰/۰۰ ^a |
| | | | | > ۵/۱۲±۰/۰۰ | ۲/۰/۸±۰/۰۰ | ۱/۰/۶±۰/۰۰ ^b | ۱/۰/۴±۰/۰۰ | ۰/۲۶±۰/۰۰ ^a | ۰/۴۸±۰/۰۰ ^a | ۰/۴۹±۰/۰۰ ^a | ۰/۴۹±۰/۰۰ ^a |
| انتروکوکوس فکالیس | | | | > ۵/۱۲±۰/۰۰ | ۲/۰/۸±۰/۰۰ | ۲/۰/۸±۰/۰۰ | ۲/۰/۸±۰/۰۰ | ۰/۵۲±۰/۰۰ | ۰/۳۸±۰/۱۵ | ۰/۳۹±۰/۱۵ | ۳/۸۵±۰/۰۰ |
| | | | | > ۵/۱۲±۰/۰۰ | ۲/۰/۵±۰/۰۰ | ۲/۰/۸±۰/۰۰ | ۲/۰/۸±۰/۰۰ | ۰/۵۲±۰/۰۰ | ۰/۳۸±۰/۰۰ | ۰/۳۸±۰/۰۰ | ۱/۹۵±۰/۰۰ |
| استافیلکوکوس اورئوس | | | | > ۵/۱۲±۰/۰۰ | ۲/۰/۵±۰/۸۹ | ۳/۱۸±۱/۲۲ | ۲/۰/۸±۰/۰۰ ^a | ۲/۰/۸±۰/۰۰ ^a | ۰/۲۰±۰/۸۳ | ۰/۲۰±۰/۰۰ | ۱/۹۵±۰/۰۰ |
| | | | | > ۵/۱۲±۰/۰۰ | ۴/۲۴±۰/۰۰ | ۴/۱۵±۰/۰۰ | ۲/۰/۸±۰/۰۰ ^a | ۲/۰/۸±۰/۰۰ ^a | ۰/۱۶±۱/۱۷ ^a | ۰/۱۶±۱/۱۷ ^a | ۰/۹۰±۰/۰۰ |
| سودوموناس آنروزینوزا | | | | > ۵/۱۲±۰/۰۰ | ۲/۰/۸±۰/۰۰ | ۲/۰/۸±۰/۰۰ | > ۵/۱۲±۰/۰۰ | ۰/۱۲±۰/۰۰ | ۰/۹۲±۰/۰۰ | ۰/۹۲±۰/۰۰ | ۱/۹۵±۱/۲۵ |
| | | | | > ۵/۱۲±۰/۰۰ | ۴/۲۴±۰/۰۰ | > ۵/۱۲±۰/۰۰ | > ۵/۱۲±۰/۰۰ | > ۵/۱۲±۰/۰۰ | > ۵/۱۲±۰/۰۰ | > ۵/۱۲±۰/۰۰ | ۱/۹۵±۱/۲۵ |

* قدرت فعالیت ضرباکتریایی خانه‌های هر ردیف که القبای یکسان انگلیسی دارند از لحاظ آماری معنی‌دار و متفاوت نیستند ($P < 0/05$).

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

* کمترین غلظت انسانس که موجب مرگ باکتری‌ها گردید به عنوان غلظت کشنندگی انسانس (MBC) معرفی گردید.

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 | آمفoterیسین μg/ml | اکوتیپ روDBار | اکوتیپ خلخال | اکوتیپ اردبیل | اکوتیپ نودوشن | اکوتیپ سلاماس | اکوتیپ قزوین-۱ |
|---------------------|----------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| آسپرژیلوس نایجر | ۰/۸۲±۰/۰۵ | ۰/۱۰±۰/۰۵ ^b | ۰/۰۸±۰/۰۵ ^a | ۰/۰۸±۰/۰۵ ^a | ۰/۰۸±۰/۰۵ ^a | ۰/۰۸±۰/۰۵ ^a | ۰/۰۹±۰/۰۰ |
| | ۴/۶۹±۱/۸۰ | ۰/۶۰±۰/۲۳ ^a | ۰/۲۱±۰/۱۵ ^a | ۰/۱۶±۰/۰۳ ^a | ۰/۲۶±۰/۰۶ ^a | ۰/۱۶±۰/۰۶ ^a | ۰/۲۷±۰/۱۰ ^a |
| | 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 |
| کاندیدیا آلبیکنس | 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 دیوان دره | اکوتیپ سقز | اکوتیپ قم | اکوتیپ جعفریه | اکوتیپ دستجرد |
|---------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| آسپرژیلوس نایجر | 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 |
| | 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 |
| | 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 |
| کاندیدیا آلبیکنس | ۰/۳۳±۰/۲۳ ^b | ۰/۳۱±۰/۰۳ ^b | ۰/۳۳±۰/۰۳ ^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 لیل شده باشد از لحاظ آماری معنی‌دار نیستند ($P > 0/05$).

بحث

تیمول، آلفا-تریپینول، ژرائیول، کاریوفیلن اکساید، بتا-کاریوفیلن، لیمونن، پی-سایمن، گاما- تریپین، لینالول و بورنئول بیشترین مواد اسانس‌ها هستند. به نظر 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؛ به عنوان مثال اکوتیپ‌های نودوشن، قزوین-۲ و قم که از مناطق گرم و خشک‌تر جمع‌آوری شده‌اند مقدار بیشتری اسانس تولید کرده‌اند؛ در حالی که اکوتیپ سقر و اردبیل کمترین راندمان تولید اسانس را داشته‌اند. یک ارتباط منطقی بین غلظت اسانس و اثرات ضد 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 منوترین‌های اکسیژنه (کارواکرول، تیمول و اوژنول)، موجب دنا توره‌شدن 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 (۲۲، ۲۳)؛ 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 (جدول ۱ و ۳). خواص ضد باکتریایی خوب اکوتیپ‌های سلماس و جعفریه احتمالاً به دلیل اثرات سینرژیسمی گاما تریپین با ترکیبات فلی است (۲۴). از طرف دیگر اکوتیپ رودبار که مناطق کاملاً مرتبط با کمترین تغییرات دمایی جدا شده است بیشترین هیدروکربن‌های مونوترین و سزکوئی‌ترین را به خود اختصاص داده است؛ بنابراین کمترین فعالیت ضد باکتریایی را نشان می‌دهد (جدول ۲). اثرات وابسته به دوز ضد قارچی مشابهی در اسانس‌ها دیده می‌شود که به سطح

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 (۱۸، ۱۹).

گیاهان از اجزای متفاوتی تشکیل شده‌اند که اثرات بیولوژیک آن‌ها به نوع و درصد اجزای تشکیل‌دهنده اسانس‌ها مربوط است. به طور 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)؛ به عبارت دیگر تفاوت در میزان تأثیرات بیولوژیکی گیاهان را می‌توان به تفاوت در شرایط جغرافیایی مربوط دانست (۲۱). گیاه آویشن به علت 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 درصددهای بالاتری را به خود اختصاص داده‌اند. ترکیبات فنولی، خاصیت ضد باکتریایی قابل توجهی دارند که این اثر در مورد دو ترکیب فوق به میزان بالاتری مشاهده می‌گردد و به دلیل وجود همین خاصیت، در داروسازی و پزشکی مورد استفاده قرار می‌گیرند.

همانگونه که جدول یک نشان می‌دهد کارواکرول،

خود اختصاص داده اند قطعاً مسئول اثر کلی و نهایی نمی باشند 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 می گذارند. تغییرات آب و هوایی و شرایط جغرافیایی، تأثیر قابل توجهی بر ترکیب و میزان انسانس آویشن کوهی و اثرات بیولوژیک آن دارد که مطالعات زیادی نیز این مطلب را تصدیق می کنند. مطالعه حاضر هم نشان داد افزایش ارتفاع و خشکی هوا، موجب افزایش راندمان تولید انسانس و افزایش فعالیت ضد باکتریایی و ضد قارچی می شود. در مجموع فعالیت ضد باکتریایی انسانس ها بیشتر از فعالیت ضد 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 می شود. از دکتر حمید مقیمی (عضو هیأت علمی دانشگاه تهران) بهدلیل اهدای سویه مقاوم به متی سیلین (MRSA) از استافیلوکوکوس اورئوس به این مطالعه سپاس گزاری می گردد. از داوران محترم که با نظرات ارزشمند خود موجب ارتقای سطح علمی مقاله شدند تشکر و قدردانی می شود.

تضاد منافع

نویسندهای مقاله اعلام می دارند که هیچ گونه تضاد منافعی در پژوهش حاضر وجود ندارد.

بالای تیمول و کارواکرول وابسته است. برخی مطالعات نشان داده اند که کارواکرول، فعالیت ضد قارچی بیشتری نسب به فعالیت ضد باکتریایی دارد و در مقابل تیمول اثرات ضد باکتریایی بیشتری از خود نشان می دهد. در مجموع تیمول و کارواکرول اثرات سینرژیستی ضد میکروبی از خود نشان می دهند (۲۵، ۱۷). مطالعات نشان می دهند که انسانس هایی که درصد پایین تیمول و کارواکرول را دارند کمترین اثرات ضد میکروبی را دارا هستند؛ با این حال بیان دقیق چنین اثراتی نیازمند مطالعات بیشتر است.

آب و هوای گرم، خشک و نامتعادل، تولید متابولیت های اکسیژن دار در گیاه را بیشتر می کند. همانطور که دیده می شود کاروکرول و تیمول هر دو از متابولیت اکسیژن دار هستند در نتیجه خواص بیولوژیک اعم از ضد باکتریایی و ضد قارچی انسانس گیاه در آب و هوای گرم و خشک افزایش می یابد. این مطالعه با نتایج مطالعه فراهانی کیا و همکاران که اظهار داشته اند انسانس آویشن کوهی روی سودمنناس اثرات کمی دارد همخوان است (۲۶). محمدپور و همکاران اعلام کردند که انسانس آویشن بیشترین اثرات را روی اشیریشیا کلی دارد که با مطالعه ما همسو نیست؛ احتمالاً این تفاوت ها بهدلیل تفاوت در زمان و محل جمع آوری نمونه ها، تفاوت در ترکیب انسانس ها، سوش های متفاوت باکتریایی مورد آزمایش و نحوه تهیه انسانس وابسته باشند.

نتیجه گیری

در مورد برخی از انسانس ها رابطه مشخصی بین اثر بیولوژیک و ترکیبات اصلی دیده نشده که این موضوع مؤید این است که وجود ترکیباتی که بیشترین درصد انسانس را به

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- Doost 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 Stationery 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.

- 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, Dalgia 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, Bežić 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, Allelopathic 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, Hadjiakhoondi A (eds.). Antibacterial Activity of Five *Thymus* Species Essential Oils. The 3rd Congress of Medical Plant. 2007; Tehran: Shahid University.