فصلنامه علمی - پژوهشی گیاه و زیست بوم
سال ۱۰، شماره ۴۰، پاییز ۱۳۹۳

بررسی خصوصیت ضد باکتریایی و ترکیب‌های شیمیایی اسانس حاصل از گیاه آویشن شیرازی *Thymus eriocalyx (Ronniger)Jalas* در منطقه پرسک الشتر–استان لرستان

علی آریاپور[1*]، کلثوم کرمی[1]، امیر حیدری جمشیدی[2]

چکیده

خانواده نعناییان دارای حدود ۲۰۰ جنس و ۴۰۰۰ گونه گیاهی می‌باشد که جنس آویشن یا Thymus یکی از آن‌ها می‌باشد. اکثر گیاهان این خانواده دارای اسانس بوده که درصنایع مختلف دارویی، آرایشی و بهداشتی و غذایی کاربرد دارند. جنس آویشن دارای گونه‌های مختلفی در ایران است که در استان‌های مختلف پراکنش دارد. هدف از این مطالعه بررسی ترکیبات موجود در اسانس حاصل از اندام های هوایی گونه گیاهی *Thymus eriocalyx* و بررسی اثر ضد میکروبی عصاره گونه مذکور می‌باشد. نمونه‌های گیاهی در سال ۱۳۹۰ از مناطق مختلف منطقه پرسک الشتر از استان لرستان و در مرحله گلدهی از گیاه برداشت شد. نمونه‌ها پس از انتقال به آزمایشگاه در سایه خشک شدند. ابتدا برای مطالعات آناتومیکی از رنگ آمیزی با رنگ قهوه‌ای بیسمارک و سبز متیل استفاده شد و سپس اسانس آن به روش تقطیر با آب توسط دستگاه کلونجر استخراج و توسط دستگاه گاز کروماتوگرافی متصل به شناساگر جرمی بررسی و اجزای آن شناسایی شد. همچنین در این پژوهش اثر ضد میکروبی عصاره گونه مورد نظر بر علیه ۴ باکتری گرم مثبت و گرم منفی با استفاده از روش دیسک به کمک محیط کشت مولر هینتون آگار (MAH) و سنجش قطر هاله عدم رشد بررسی شد. در بررسی‌های آزمایشگاهی مشخص شد گونه مورد مطالعه با گونه‌های دیگر در منطقه لرستان با نام‌های *T. Lancifolious* و*T.kotschyanus* از نظر آناتومیکی خصوصیات مشابهی دارند. با توجه به زمان بازداری ترکیب‌ها، اندیس بازداری کواتس، طیف جرمی و مقایسه‌ی این پارامترها با ترکیبات استاندارد، نتایج نشان داد که این گونه ۴۵ ترکیب در اسانس خود دارد که در مجموع ۹۵/۸۵ درصد کل اسانس را تشکیل می‌دهند. ترکیبات اصلی آن شامل سیمول[3] (۳/۲۶ درصد)، کارواکرول[4] (۵۲/۳۴درصد)، تیمول[5] (۱۶/۴۳ درصد)، گاما ترپنین[6] (۱۰/۸۶ درصد) می باشد. نتایج این تحقیق با سایر تحقیقات به لحاظ ترکیبات اصلی موجود در اسانس یکسان بود اما میزان آن‌ها متفاوت است که این تفاوت ممکن است ناشی از اثر عوامل محیطی یا روش‌های برداشت نمونه‌ها بر روی بیوسنتز اسانس باشد که زمان برداشت، مکان، مرحله رشد گیاه، تغییرات آب و هوایی و نیز عوامل منطقه‌ای از جمله آن‌ها است. همچنین نتایج حاصله در خصوص اثر ضد میکروبی نشان داد که عصاره‌های گونه‌ی مورد نظر دارای اثرات ضد باکتریایی می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: آویشن، اسانس، اثرات ضد میکروبی، خصوصیات گیاه شناسی، تیمول

۱- دانشگاه آزاد اسلامی واحد بروجرد. دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی.گروه مرتعداری. بروجرد. ایران.

۲- سازمان جهاد کشاورزی استان لرستان بخش زراعت و اصلاح نباتات. بروجرد . ایران

* مکاتبه‌کننده : (aariapour@yahoo.com)

تاریخ دریافت: بهار ۹۱ تاریخ پذیرش: تابستان ۹۲

[3]-Cymol
[4]-Carvacrol
[5]-Thymol
[6]- γ-terpinene

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

استفاده از گیاهان اسانس‌دار در ایران از سابقه طولانی برخوردار می‌باشد و اسانس‌ها به دلیل نقشی که می‌توانند در داروها داشته باشند دارای اهمیت زیادی هستند. لذا شناسایی دقیق و بررسی اکولوژیک مجموعه گونه‌های گیاهان دارویی، صنعتی و اسانس‌دار که بسته به شرایط اقلیمی، اکولوژیک هر منطقه، از تنوع و غنای گونه‌ای متفاوتی برخوردار است، ضروری می‌باشند. اسانس‌ها که ترکیبات معطر گیاهی می‌باشند با داشتن اثرات ضد میکروبی، ضد قارچی، ضد ویروسی، ضد التهابی، ضد سرطانی، راه‌کارهای ویژه‌ای را در طب گیاهی گشوده‌اند. عفونت‌های میکروبی تهدید جدی برای سلامتی انسان‌ها بوده و در طول تاریخ همواره باعث به مخاطره افتادن جان افراد شده است. لذا انسان همواره به دنبال مواد و داروهایی بوده است که باعث بهبود بیماری و کاهش اثرات آن می‌شود. در سال‌های اخیر با پیشرفت دستگاه‌ها و روش‌های اندازه‌گیری و شناسایی ترکیبات شیمیایی اسانس‌ها، گستره پژوهشی این دسته از مواد، چشم‌انداز نوینی یافته است. از آن‌جایی که گیاهان مفید دارویی در کشور فراوان می‌روید، بررسی ترکیب‌های موثره این گیاهان و اثرات دارویی آن‌ها می‌تواند گامی مثبت در شناسایی و استفاده بهینه از این ثروت ملی با ارزش باشد. با توجه به کاربردهای مختلف اسانس‌ها شناسایی اجزای تشکیل دهنده آن‌ها، می‌تواند در استفاده اختصاصی و بهینه رهنمون باشد که با توجه به اهمیت این چنین گیاهانی ضرورت دارد مطالعات جامعی از جنبه‌های مختلف اکولوژیک در مورد آن‌ها انجام شود (حسینی بمرود، ۱۳۸۴). عده زیادی از گیاهان تیره نعناع، سریع تحت تاثیر شرایط متفاوت محیط زندگی قرارمی‌گیرند مانند آنکه انواعی از آن‌ها که در دشت‌ها و اماکن مرطوب می‌رویند اگر در محیط‌های خشک قرار گیرند، به سرعت تغییراتی از نظر سازش و تطابق با محیط حاصل می‌کنند تا مقاومت آن‌ها در مقابل تعرق، زیاد شود به طوری که برگ‌های آن‌ها پوشیده از کرک می‌شود، یا کناره پهنک برگ‌های آن‌ها به سمت پایین خمیدگی حاصل می‌کند و یا روزنه‌ها، به حالت فرو رفته در بشره باقی می‌ماند و یا ممکن است هیپودرم در آن‌ها به صورت کامل کلانشیمی درآید و یا برگ حالت به نسبت ضخیم و چرمی پیدا کند و حتی سطح آن ممکن است کاهش حاصل نماید به حدی که به کلی از بین برود (زرگری، ۱۳۷۵). نتایج تحقیق (Gersbash, 2002)،(baran *etal*., 2008) و (Buyisile, 2009) نشان داد که در سطح اپیدرم برگ گونه‌های، *Prostanthera ovalifolia*، *Salvia argentea*، *Schistostephium eptalobium* از خانواده نعناء کرک‌های غده‌ای وجود دارد.

آویشن گیاهی است پایا و دارای نمونه‌هایی به اشکال متفاوت و متمایز از یک دیگر، به طوری که در بین آن‌ها پایه‌هایی با ساقه مدور یا چهارگوش و فرم‌هایی با ریشه‌های نابجا در ناحیه ساقه‌ی خوابیده گیاه با زمین، دیده می‌شود. پایه‌های متعدد آن، به طور غالب به صورت انبوه، سطح زمین محل رویش را فرا می‌گیرد. ازمشخصات آن این است که برگ‌های متقابل، کوچک بیضوی، نوک تیز و به درازی یک سانتی متر دارد. گل‌های کوچک آن به رنگ گلی، سفید یا ارغوانی و مجتمع در کناره برگ‌ها است. وضع پراکندگی آن به نحوی است که در اماکن خشک، چمنزارها، مناطق عاری از درخت، تپه‌های شنی و آبرفت‌های نواحی مختلف اروپا به خصوص منطقه مدیترانه و همچنین در برخی نقاط آسیا، مانند قفقاز، سیبری در آفریقا و آمریکای شمالی می

Archive of SID

www.SID.ir

روید. گل‌های آن در فروردین تا اوایل پاییز به تناسب شرایط محل رویش ظاهر می‌شود (دوازده امامی و همکاران، ۱۳۸۷). در اسانس آویشن متیل کاویکول، سینئول، و بورنئول نیز وجود دارد. ترکیبات موجود در آویشن دارای خواص ضد عفونی کننده، خلط آور، ضد میکروب، ضد قارچ، تونیک و ضد انگل هستند. انواع آویشن در درمان سرفه، به عنوان ضد نفخ، تقویت کننده‌ی دستگاه هاضمه و آرام‌بخش به کار می‌رود. در صنایع غذایی در انواع پیتزا و مانند آن به عنوان یک طعم دهنده به کار می‌رود (کشفی بناب، ۱۳۸۹). رویکرد جهانی به استفاده از گیاهان دارویی و ترکیب‌های طبیعی در صنایع دارویی، آرایشی-بهداشتی و غذایی و به دنبال آن توجه مردم، مسئولین و صنایع داخلی به استفاده از گیاهان دارویی و معطر نیاز مبرم‌به‌تحقیقات پایه‌ای و کاربردی وسیعی را در این زمینه نمایان می‌سازد. گیاهان دارویی یکی از منابع بسیار ارزشمند در گستره وسیع منابع طبیعی ایران هستند که در صورت شناخت علمی، کشت، توسعه و بهره‌برداری صحیح می‌توانند نقش مهمی در سلامت جامعه، اشتغال‌زایی و صادرات غیرنفتی داشته باشند. در بررسی به عمل آمده برروی خواص ضد میکروبی عصاره‌های *S. sclarea*, *S. officinalis* مشخص شد که عصاره‌های آبی این گیاهان‌باروش اندازه‌گیری قطر هاله مهار رشد، تنها بر باکتری *S. aureus* اثر باکتری‌کشی داشته اما عصاره‌های متانولی این گیاهان بر روی همه باکتری‌ها و برخی قارچ‌های مورد آزمایش اثر مهار شده داشتند. عصاره‌های متانولی در مرحله زایشی گیاه خواص ضد میکروبی داشتند و حداقل غلظت بازدارندگی برای عصاره‌های متانولی بر باکتری‌ها حدود ۵۰mg/ml است (میرزا و همکاران، ۱۳۷۸). در بررسی انجام شده توسط (فکور و همکاران، ۱۳۸۶) بر روی اسانس گیاه *T. eriocalyx* مشخص شد که ترکیبات شاخص این گیاه تیمول ۶۳/۸ درصد، بتاکاریوفیلن ۱۳/۳ درصد و سیسسابینن هیدروکساید ۸/۱ درصد می باشند. طی مطالعاتی که روی گیاه *Eremosta chyspulvinaris* از تیره نعناع، انجام گرفت سه نوع آنتی‌اکسیدان phenyl, ethanoil, glycosides در ریزوم این گیاه شناسایی شدند. (karman *etal*., 2001)، اثرات باکتریواستاتیکی قوی اسانس برخی ازگیاهان تیره نعناع از جمله *Thymus revolatus* را برروی باکتری گرم مثبت استافیلوکوک طلایی بررسی کردند. در تحقیق (Miguel *etal*., 2003) بر روی اسانس گونه *T. caespititius*، آلفا ترپینئول، لینالول، استات لینالیل و ۸ و ۱ سینئول به عنوان ترکیب‌های شاخص گونه‌ی مذکور شناخته شد. نتیجه پژوهش (Emin, 2004) بر روی فعالیت ضد میکروبی *Micromeriacilica* بر روی چند باکتری و یک مخمر به عنوان عوامل به وجود آورنده عفونت در انسان نشان داد که اسانس این گیاه دارای خواص ضد میکروبی می‌باشد. (نیک‌آور و همکاران، ۲۰۰۵) در مطالعه‌ای که بر روی اسانس اندام هوایی گیاه *T. daenensis* انجام دادند، ترکیبات شاخص این گونه را تیمول ۴۷ درصد، پی سیمن۶/۵ درصد، بتا کاریوفیلن ۳۸ درصد و متیل کارواکرول ۳/۶ درصد اعلام نمودند. (نیک‌آور، ۲۰۰۵) در بررسی دیگری در همان سال بر روی اسانس اندام هوایی گیاه *T. kotschyanus* نتیجه گرفت، تیمول با ۳۸/۶ درصد، کارواکرول ۳۳/۹ درصد، گاماترپی نن ۸/۲ درصد و پی سیمن ۷/۳ درصد به عنوان ترکیبات شاخص این گونه می‌باشند. در مطالعه‌ی دیگری توسط (ابراهیمی و همکاران، ۲۰۰۸) که در مورد اسانس اندام هوایی گیاه *T. carmanicus* صورت گرفت، کارواکرول، پی سیمن، گاماترپینن، تیمول و

Archive of SID

www.SID.ir

بورنئول به عنوان ترکیبات اصلی اسانس گیاه شناسایی شدند. همچنین تحقیقات به عمل آمده در مورد این گونه برروی هفت باکتری گرم مثبت و یک باکتری گرم منفی با استفاده از روش دیسک و حداقل غلظت بازدارندگی نشان داد که فعالیت ضد میکروبی حدود ۱۵mgr/ml-۵/. می‌باشد. همچنین فعالیت ضد میکروبی بر روی ۲ باکتری باسیلوس سابتیلوس و پزودوموناس، آئروژینوزا بیشترین حد را داشته است. تحقیقات (Bounatriou, 2007) برروی گیاه *Thymus capitatus* نشان داد که گونه مذکور علاوه برفعالیت آنتی‌اکسیدانی دارای اثرات ضد میکروبی برروی باکتری‌های باسیلوس سراوس گونه سالمونلا، لیستریا اینوکوا، ۴ سوش استافیلوکوکوس اورئوس و یک شکل مقاوم اس اورئوس می‌باشد که خصوصیات ضد میکروبی با آنتی بیوتیک مصنوعی مقایسه گردیده و فعالیت‌های آنتی باکتریال بالاتر در مراحل گلدهی و پس از گلدهی مشاهده گردید. در تحقیقی که توسط (Maria, C. Rota *etal*., 2008) بر روی سه گونه آویشن با نام‌های *Thymus vulgaris*، *Thymus hyemalis* و *Thymus zygis* انجام گرفت، مشخص شد که تیمول، لینالول، و کارواکرول ماده موثر اصلی موجود در این گونه‌ها می‌باشد. همچنین در این پژوهش فعالیت ضد میکروبی سه گونه برای کنترل رشد و بقاء ۱۰ میکروارگانیسم بیماری‌زا مورد بررسی قرار گرفت و نتایج حاصل نشان داد که ترکیبات موثره سه گونه‌ی مذکور دارای خصوصیات ضد میکروبی بوده و منبعی بالقوه از اجزای ترکیبی آنتی باکتریال برای صنعت تغذیه می‌باشند. تحقیق (متقی‌نژاد و همکاران، ۱۳۸۹) در خصوص شناسایی ترکیبات موجود در اسانس اندام‌های هوایی گیاه *Sambucus ebulus*.L در منطقه رامسر نشان داد که در برگ‌ها ۱۵ و گل‌ها ۱۹ ترکیب گیاهی وجود دارد که بیشترین آن‌ها به ترتیب در برگ‌ها α- Pinene، β-Pinene و Limonene و نیز در گل‌ها α-Pinene، Palmitic acid و Spathulenol می‌باشد.

هدف از این پژوهش معرفی گیاه *Thymus eriocalyx* به عنوان گیاه دارویی که در استان لرستان پراکنده شده، بررسی میزان اسانس و شناسایی مواد تشکیل دهنده اسانس گونه مذکور، مطالعه ساختارهای ترشح کننده اسانس در گیاه مورد مطالعه که می‌تواند در نحوه استخراج و بهره-برداری‌های بعدی از این گیاهان راه گشا باشد و همچنین بررسی اثرات ضد میکروبی احتمالی گیاه مورد مطالعه، که می‌تواند به عنوان جایگزین آنتی بیوتیک‌های سنتتیک معرفی شود. بر این اساس تجزیه و شناسایی ترکیبات اسانس گونه‌ی *Thymus eriocalyx* همچنین ساختارهای ترشح کننده اسانس، و بررسی اثرات میکروبی، مورد تحقیق قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری گیاه مورد بررسی

گونه *Thymus eriocalyx* از منطقه‌ی پرسک الشتر، در استان لرستان از فروردین ماه تا تیرماه سال ۱۳۹۰ در مراحل مختلف رویشی قبل از گلدهی، زمان گلدهی و بعد از گلدهی جمع‌آوری کرده و پس از جمع‌آوری جهت شناسایی به موسسه جنگل‌ها و مراتع کشور منتقل نموده و شناسایی و نامگذاری شد. بعد از شناسایی گونه‌ی مذکور، اقدامات بعدی شامل جمع‌آوری، بررسی مورفولوژیکی، خشک کردن و آماده کردن نمونه‌ها جهت اسانس گیری و آنالیز مواد موثره انجام گرفت.

Archive of SID

www.SID.ir

تهیه اسانس

جهت بررسی تشریحی گونه‌ی مورد بررسی و مطالعه آزمایشگاهی، ابتدا از بخش‌های مختلف مثل ساقه و برگ به روش دستی و با استفاده از یونولیت و تیغ از هر یک از قطعات به صورت جداگانه برش‌های عرضی نازک تهیه شد. برش‌های حاصله را داخل صاف کن موجود روی شیشه ساعت برچسب دار حاوی آب مقطر به طور جداگانه قرار داده شد. بعد از اتمام برش‌گیری، برش‌های گرفته شده را پس از رنگبری و خنثی‌سازی با رنگ‌آمیزی مضاعف، رنگ‌آمیزی انجام شد. برای تهیه اسانس از روش تقطیر با آب توسط کلونجر استفاده شد.

شناسایی ترکیب‌های شیمیایی اسانس

اسانس حاصل با روش‌های کروماتوگرافی گازی تجزیه‌ای (GC) و کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌نگار جرمی (GC/MS) مورد بررسی قرار گرفت. در این روش اسانس استخراج شده از گیاه مورد مطالعه توسط تقطیر با آب، به دستگاه GC/MS تزریق شده و مواد متشکله بر اساس نقطه جوش و قطبیت در طول یک ستون بلند ۳۰ متری از یکدیگر جدا شدند. در تمامی طیف‌های داده شده GC/MS از روی الگوی خروج آلکان‌های نرمال و شاخص بازداری طیف‌ها، اندیس کواتس برای تک تک پیک‌ها محاسبه شد که با تطبیق آن‌ها با کتاب و مراجع مقایسه چهره به چهره طیف‌ها با اطلاعات کتابخانه‌ای کامپیوتری Wiley 275 و کتاب (Adams, 2004) و دیگر منابع، طیف‌های مربوط به هر جسم تفسیر و ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس و فرمول شیمیایی آن‌ها شناسایی شد (Davies, 1990) و(Adams, 2004). اساس کار GC مرحله ساکن به صورت یک فیلم نازک روی یک جسم جامد بی اثر پخش شده و نمونه پس از انتشار بین آن دو، از مرحله مایع خارج می‌گردد. حلال مورد استفاده برای اجسام مختلف جذب متفاوتی داشته، بنابراین در گاز حامل ترکیب‌ها به طور جداگانه از ستون خارج گردیده و پس از وارد شدن در دتکتور ثبت می‌شوند. تشخیص اجزای به دست آمده از روی زمان بازداری آن‌ها صورت می‌گیرد. به این ترتیب هر جسمی RT ثابتی دارد و با در دست داشتن استانداردهایی از اجزای سازنده اسانس‌ها عملاً تشخیص داده می‌شود.

مشخصات و برنامه دمایی دستگاه GC و GC/MS استفاده شده در این تحقیق

اسانس حاصل از گونه Thymus در مرحله گلدهی به یک دستگاه در شرایط مشابه و یکسان تزریق شد. اسانس گیاه مورد نظر پس از آماده‌سازی، به دستگاه GC/MS تزریق گردید تا نوع ترکیب‌های تشکیل دهنده آن‌ها مشخص شود. دستگاه گاز کروماتوگرافی استفاده شده از نوع ۶۸۹۰ Agilent با ستون به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی متر و ضخامت لایه ۰/۲۵ میکرومتر از نوع HP-5MS بود. برنامه دمائی ستون به این نحو تنظیم گردید: دمای ابتدایی آون ۵۰ درجه سانتی‌گراد و توقف در این دما به مدت ۵ دقیقه، گرادیان حرارتی ۳ درجه سانتی‌گراد در هر دقیقه، افزایش دما تا ۲۴۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۱۵ درجه در هر دقیقه، افزایش دما تا ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد و سه دقیقه توقف در این دما. دمای اتاقک تزریق ۲۹۰ درجه سانتی گراد بود و از گاز هلیوم به عنوان گاز حامل با سرعت جریان (فلو) ۰/۸ میلی لیتر در دقیقه استفاده گردید. طیف نگار جرمی مورد استفاده مدل۵۹۷۳ Agilent با ولتاژ یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت، روش یونیزاسیون EI و دمای منبع یونیزاسیون ۲۲۰ درجه سانتی‌گراد بود. شناسایی طیف‌ها به کمک

Archive of SID

www.SID.ir

شاخص بازداری آن‌ها و مقایسه آن با شاخص‌های موجود در کتب مرجع و مقالات و با استفاده از طیف های جرمی ترکیبات استاندارد و استفاده از اطلاعات موجود در کتابخانه کامپیوتری صورت گرفت.

بررسی اثرات ضد میکروبی عصاره گونه‌های مورد مطالعه

در این مطالعه اثرات ضد میکروبی عصاره‌ی گیاه از روش انتشار در آگار توسط دیسک کاغذی برای عصاره‌ها و از روش دیسک کاغذی جهت آنتی بیوگرام‌ها استفاده شد.

روش تهیه محلول میکروبی جهت تلقیح به آگار

روشی که به طور معمول برای تهیه شیرابه میکروبی توصیه می‌شود، تلقیح به آگار نام دارد. در این بالوپ استریل قسمت فوقانی ۴ تا ۵ کلنی مجزا با صفات شکلی مشابه را به لوله آزمایش محتوی محیط کشت مایع مناسب منتقل می‌نمایند. محیط مایع یاد شده را در انکوباتور ۳۷ درجه قرار می‌دهند و سپس کدورت آن را با محلول استاندارد سولفات باریم در لوله شماره ۰/۵ مک فارلند برابر می‌کنند. به این ترتیب شیرابه میکروبی از گونه نامبرده به تعداد ۳ تکرار تهیه گردید و آن‌ها به محیط کشت مولر هینتون آگار منتقل شدند. سوش‌های میکروبی استاندارد به کار رفته در این پژوهش شامل:

Staphylococcus aureus ATCC 5115
Escherichia coli ATCC 35218
Pseudomonas aeroginosa ATCC 2785
β.streoptocococs

دیسک‌های آنتی بیوگرام به کار رفته عبارت هستند از: ۱-پنی‌سیلین ۲-جنتامایسین ۳-سفازولین ۴-نورفلوکساسین

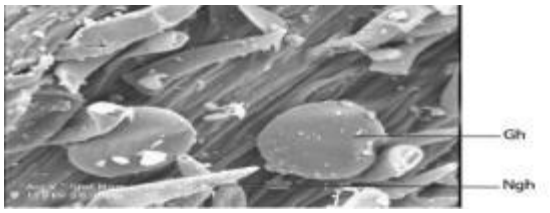
در این تحقیق غلظت های مختلف ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰، ۱۰۰ عصاره متانولی و غلظت ۱۰۰ عصاره اتانولی در نظر گرفته شد. دیسک‌های کاغذی استریل آنتی بیوگرام در سطح پلیت به عنوان عامل کنترل مثبت، قرار گرفت. در هر پلیت از سه آنتی بیوگرام با فاصله مناسب استفاده شد. بعد از قرار دادن دیسک‌ها در داخل هر پلیت به کمک میکروپیپت استریل حدود ۱۴۰ لاندا (میکرو لیتر) از عصاره‌های متانولی و اتانولی تهیه شده از هر کدام، به طور جداگانه به دیسک‌های موجود در هر پلیت اضافه شد. در این تحقیق از اتانول و متانول به عنوان کنترل منفی (شاهد) استفاده شد. بعد از انجام مراحل بالا درب پلیت‌ها با پارافیلم بسته شد و سپس در داخل انکوباتور با 37° جهت رشد باکتری‌ها گذاشته شد. بعد از ۲۴ ساعت پتری‌ها بررسی شدند و بار دیگر ۱۲ ساعت جهت اطمینان از پیشروی یا عدم پیشروی قطر هاله‌ی عدم رشد، پلیت‌ها دوباره به داخل انکوباتور برگردانده شدند. ۱۲ ساعت بعد برای مشاهده هاله‌های عدم رشد، پلیت‌ها مجددا بازبینی شدند. سپس با استفاده ازکولیس قطر هاله‌ی مناطق عدم رشد اندازه‌گیری شدند و در پایان کار از پلیت‌ها توسط دوربین دیجیتالی عکس تهیه شد.

نتایج

بررسی برگ گیاه

در برش عرضی برگ اپیدرم رویی و زیرین مشاهده شد که بر روی آن‌ها کرک‌های ترشحی و غیر ترشحی مشاهده گردید تراکم کرک‌ها بسته به مراحل مختلف رشد و نوع بافت‌ها به نظر متفاوت می‌باشد به طوری که کرک‌ها در سطح زیرین بیشتر از سطح فوقانی می‌باشد (شکل ۱).

Archive of SID
www.SID.ir

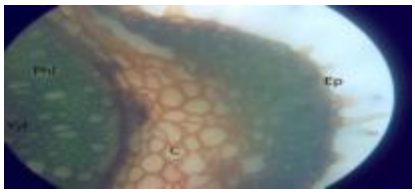


شکل۱ : تصویر برگ *Thymus eriocalyx* با میکروسکوپ الکترونی SEM، Ngh: کرک غیر ترشحی، Gh: کرک ترشحی ساقه گیاه

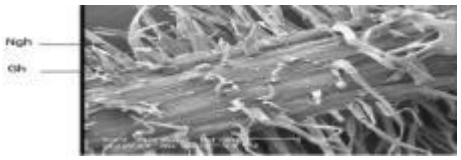
در آزمایش برش عرضی ساقه جوان این گونه، شکل آن چهارگوش به نظر آمد در حالی که در گونه‌های مسن ساقه‌ها مدور و پوشیده از کرک بود. به علاوه در برش عرضی ساقه اختصاصات تشریحی زیر مشاهده شد. اپیدرم شامل یک ردیف سلول مستطیل شکل که از خارج به داخل تحدب داشته و جدار خارجی آن کوتینی شده است. بر روی اپیدرم کرک‌های ترشحی از نوع پایه کوتاه یا پایه بلند و ساده و کرک‌های غیر ترشحی فراوان از نوع پوششی و ساده مشاهده شد که از رشته های دو یا سه سلولی تشکیل شده بودند (شکل ۲ الی ۵).

شکل ۲:برش عرضی ساقه *Thymuseriocalyx* با بزرگنمایی ۴۰۰x، Col:کلانشیم، Gh:کرک ترشحی

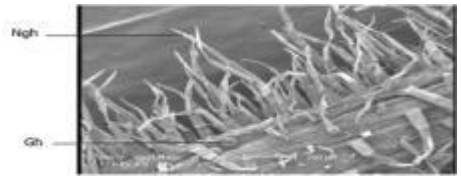
شکل ۳: برش عرضی ساقه *Thymuseriocalyx* با بزرگنمایی ۴۰۰x، Phl:آوند آبکش،Xyl:آوند چوب،M: مغز



شکل ۴: برش عرضی ساقه *Thymus eriocalyx* با بزرگنمایی۴۰۰x، Phl: آوند آبکش، Xyl: آوند چوب،C: پوست، Ep: اپیدرم



شکل ۵: تصویر ساقه *Thymus eriocalyx* با میکروسکوپ الکترونی SEM، Ngh: کرک غیر ترشحی، Gh: کرک ترشحی



شکل ۶: تصویر ساقه *Thymus eriocalyx* با میکروسکوپ الکترونی SEM، Ngh: کرک غیر ترشحی، Gh: کرک ترشحی

بررسی ترکیبات شناخته شده در اسانس گیاه در مرحله گلدهی

در بررسی‌های انجام شده و با توجه به زمان بازداری ترکیب‌ها، اندیس بازداری کواتس، طیف جرمی و مقایسه‌ی این پارامترها با ترکیبات استاندارد، ۴۳ ترکیب در اسانس آن شناخته شده که در مجموع ۹۸/۲۸ درصد کل اسانس را تشکیل می دهند. ترکیبات اصلی آن شامل Thymol (۴۲/۶۰٪)، Carvacrol (۳۲/۳۳٪)، Cymol (۴/۰۵٪)، γ-terpinene (۳٪) و Borneol (۲/۱۲٪) می‌باشد (جدول ۱). شکل ۷ طیف کروماتوگرام گازی اسانس اندام هوایی *Thymus eriocalyx* در مرحله گلدهی را نشان می‌دهد.

Archive of SID
www.SID.ir

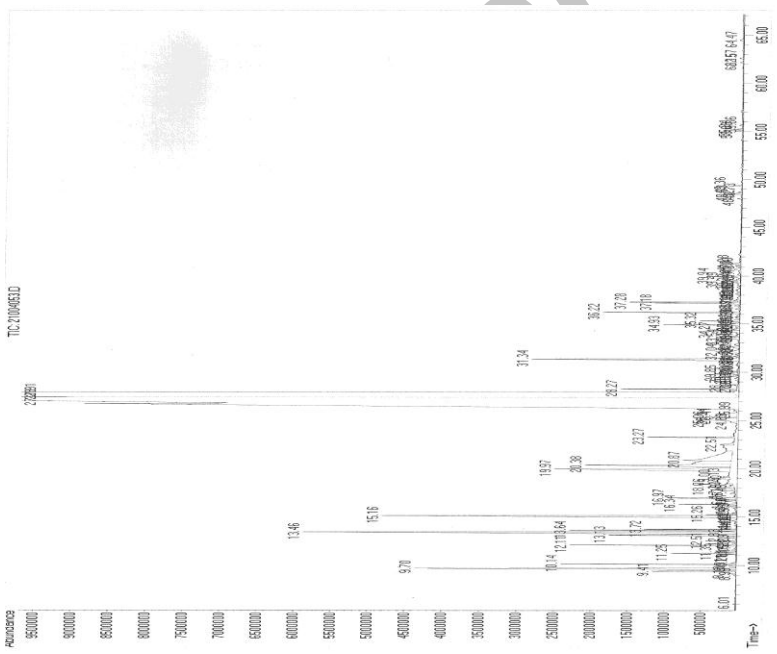
جدول ۱: مواد شناسایی شده اسانس گونه *Thymus eriocalyx* در مرحله گلدهی

ردیف	نام ترکیب	اندیس کواتس	درصد
۱	α-Thujene	۹۱۶	۰/۳۹
۲	α-Pinene	۹۲۶	۱/۵۹
۳	Comphene	۹۶۱	۰/۶۹
۴	Sabinene	۹۷۰	۰/۰۲
۵	β-Pinene	۹۶۷	۰/۲۴
۶	3-Octanone	۹۸۰	۰/۱۰
۷	β-Myrcene	-	۰/۸۱
۸	3-Octanol	۹۹۲	۰/۰۰۴
۹	Phellandrene	۱۰۰۰	۰/۱۳
۱۰	Δ-3-Carene	۱۰۰۶	۰/۰۵
۱۱	α-Terpinene	۱۰۲۳	۰/۹۰
۱۲	Cymol	-	۴/۰۵
۱۳	1.8-Cineol	۱۰۰۹	۰/۸۰
۱۴	Limonene	۱۰۲۵	۰/۲۸
۱۵	Cis-Ocimene	۱۰۳۳	۰/۰۱
۱۶	β-Ocimene Y	۱۰۳۹	۰/۰۳
۱۷	γ-Terpinene	۱۰۳۶	۳/۰۰
۱۸	Cis-Sabinene hydrate	۱۰۶۹	۰/۱۱
۱۹	α-Terpinolene	۱۰۸۹	۰/۲۲۱
۲۰	Cis-beta-Terpineol	۱۱۴۴	۰/۰۷۱
۲۱	Linalool	۱۰۹۸	۰/۳۷
۲۲	Trans-Sabinene hydrate	۱۰۶۴	۰/۰۶
۲۳	Comphor	۹۶۱	۰/۱۴
۲۴	Borneol	۱۱۶۶	۲/۱۲
۲۵	4- Terpineol	۱۱۸۷	۱/۶۵
۲۶	Carvacrol methyl ether	۱۱۴۴	۰/۳۹
۲۷	Thymol	۱۲۶۷	۴۲/۶۰
۲۸	Carvacrol	۱۲۹۹	۳۲/۳۳
۲۹	Piperitone	۱۲۵۲	۰/۳۹
۳۰	Ylangene	۱۳۶۸	۰/۰۱
۳۱	α-Copaene	۱۳۷۲	۰/۰۴

Archive of SID

www.SID.ir

۰/۱۲	۱۳۸۲	β-Borbonene	۳۲
۰/۰۲	۱۳۵۱	Methyleugenol	۳۳
۱/۷۲	۱۴۱۴	Trans-Caryophyllene	۳۴
۰/۰۵	۱۴۱۴	α-Caryophyllene	۳۵
۰/۰۴	۱۴۹۱	Valencene	۳۶
۰/۰۴	۱۴۷۹	Germacrene D	۳۷
۰/۱۷	۱۴۰۶	α-Gurjunene	۳۸
۰/۳۹	۱۵۱۱	β-Bisabolene	۳۹
۰/۲۰	۱۵۲۶	Δ-Cadinene	۴۰
۰/۸۲	۱۵۱۷	Cis-alpha-Bisabolene	۴۱
۰/۴۱	۱۵۸۹	Spathulenol	۴۲
۰/۵۲	۵۹۶	Caryophllene oxide	۴۳



شکل ۷: طیف کروماتوگرام گازی اسانس اندام هوایی *Thymus eriocalyx* در مرحله گلدهی

www.SID.ir

نتایج حاصل از بررسی اثرات ضد باکتریایی عصاره متانولی و اتانولی

بررسی‌های تجزیه واریانس و آزمون دانکن نشان داد که بین اثرات ضد باکتریایی عصاره اتانولی و متانولی این گیاه و شاهدها و برخی از آنتی بیوتیک‌ها تفاوت معنی‌دار وجود دارد (جدول ۲). بیشترین اثرضد باکتریایی بر علیه باکتری استافیلوکوکوس اورئوس به ترتیب مربوط به سفازولین، جنتامایسین، پنیسیلین، عصاره اتانولی با غلظت ۱۰۰، عصاره متانولی باغلظت ۴۰، ۱۰۰، ۲۰، ۶۰ و کمترین اثر مربوط به عصاره متانولی با غلظت ۸۰، نورفلوکساسین، اتانول و متانول بوده است. بیشترین اثر ضد باکتریایی بر علیه بتااسترپتوکوکوس به ترتیب مربوط به نورفلوکساسین، جنتامایسین، پنی‌سیلین، سفازولین و کمترین اثر مربوط به عصاره اتانولی با غلظت ۱۰۰، عصاره متانولی با غلظتهای مختلف ۱۰۰، ۸۰، ۶۰، ۴۰، ۲۰، اتانول و متانول بوده است. بیشترین اثر ضد باکتریایی بر علیه اشرشیاکلی به ترتیب مربوط به نورفلوکساسین، سفازولین، جنتامایسین، عصاره اتانولی و متانولی با غلظت ۱۰۰ و کمترین اثر ضدجباکتریایی مربوط به پنیسیلین، عصاره متانولی با غلظت‌های مختلف ۸۰، ۶۰، ۴۰،۲۰، اتانول و متانول بوده است. بیشترین اثر ضدباکتریایی بر علیه سودوموناس آئروژینوزا به ترتیب مربوط به سفازولین، پنیسیلین، جنتامایسین، عصاره اتانولی با غلظت ۱۰۰، عصاره متانولی با غلظت ۱۰۰ و ۸۰ و کمترین اثرمربوط به نورفلوکساسین، عصاره متانولی با غلظت‌های ۶۰، ۴۰، ۲۰، اتانول و متانول بوده است (شکل ۸ الی ۱۰).

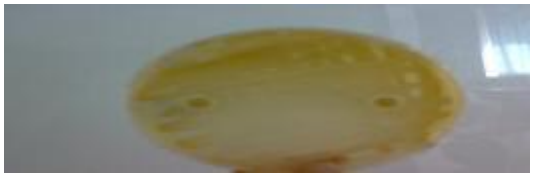
جدول ۲: مقایسه میانگین قطر هاله (میلی‌متر) عصاره *Thymus eriocalyx* در تیمارهای مختلف میکروبی

تیمار / عصاره	میانگین قطر هاله در تیمار *S.aureus*	میانگین قطر هاله در تیمار *E.coli*	میانگین قطر هاله در تیمار *P.aeroginosa*	میانگین قطر هاله در تیمار *β. streptococos*
متانولی باغلظت۱۰۰	^{e}۷/۰۳	^{e}۷/۵۰	^{c}۷/۰۸	^{e}۰
متانولی با غلظت ۸۰	^{f}۰	^{f}۰	^{d}۰	^{e}۰
متانولی با غلظت ۶۰	^{b}۶/۲۰	^{f}۰	^{d}۰	^{e}۰
متانولی با غلظت۴۰	^{d}۸/۱۰	^{f}۰	^{d}۰	^{e}۰
متانولی با غلظت ۲۰	^{e}۶/۷۸	^{f}۰	^{d}۰	^{e}۰
اتانولی با غلظت ۱۰۰	^{d}۹/۵۱	^{d}۱۰/۶۸	^{c}۸/۲۸	^{e}۰
جنتامایسین	^{c}۱۱/۶۹	^{c}۱۸/۱۰	^{b}۱۸/۴۰	^{b}۲۵/۴۰
سفازولین	^{a}۱۹/۷۱	^{b}۲۱/۷۹	^{d}۰	^{d}۱۶/۲۹
نورفلوکساسین	^{f}۰	^{a}۴۱/۲۰	^{a}۳۰/۰۱	^{a}۳۰/۰۲
پنیسیلین	^{b}۱۵/۶۰	^{f}۰	^{d}۰	^{c}۲۰/۷۰

Archive of SID

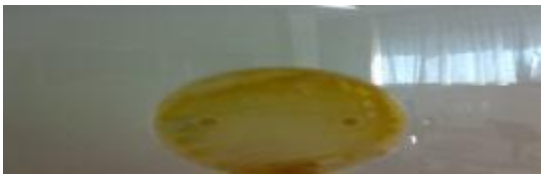
www.SID.ir

در آزمون دانکن میانگین‌هایی که دارای حرف مشترک در هر ستون هستند، بر مبنای آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ ۰/۰ تفاوت معنی‌داری ندارند و در نتیجه در یک گروه قرار می‌گیرند.



شکل ۸: اثر ضدمیکروبی عصاره متانولی گیاه *T. eriocalyx* سمت چپ، با *T. Lancifolious* سمت راست بر روی باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس

شکل ۹: اثر ضد میکروبی عصاره اتانولی گیاه *T. lancifolious* سمت راست، با *T. eriocalyx* سمت چپ بر روی باکتری گرم منفی اشرشیاکلی.



شکل۱۰: اثر ضدمیکروبی عصاره اتانولی گیاه *T. eriocalyx* سمت چپ، با*T. kotschyanus* سمت راست بر روی باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس.

بحث و نتیجه‌گیری

تفسیر نتایج حاصل از بررسی‌های آناتومیکی گونه مورد مطالعه

در بررسی ساقه گونه مورد نظر، در سطح خارجی اپیدرم لایه‌ی کوتیکول حاوی کوتین مشاهده شد با توجه به ارتفاع و کوهستانی بودن محل رویش وجود لایه کوتیکول را می‌توان عاملی جهت جلوگیری از ورود به داخل بافت‌های زیرین و خروج آب از گیاه دانست، بافت کلانشیم موجود در زوایای ساقه چهارگوش این گونه باعث استحکام ساقه شده تا بتواند حالت طبیعی در افراشتگی خود را حفظ کند ساختار و تراکم کرک‌ها در قسمت‌های مختلف برگ کاملاً متفاوت بوده این مسئله بیان کننده این است که کرک‌ها در مراحل مختلف نمو یک برگ پدید می آیند. کرک‌های ترشحی همزمان با رشد کامل و بزرگ شدن برگ حاصل شده و از اسانس انباشته می‌شوند (هی، ۱۳۷۹). تراکم روزنه‌ها در سطح زیرین گیاه نسبت به سطح بالایی برگ بیشتر بود با توجه به نوع گیاه و محل رویش آن این مسئله برای گیاه مزایای زیادی دارد که می‌توان گفت: ۱-باعث افزایش سطح برگ جهت دریافت نور بیشتر می‌شود ۲-دراثر رسوب موادی مثل گرد و غبار بسته نمی‌شوند ۳-در معرض مستقیم تابش نور خورشید نبوده بنابراین تبخیر آب از سطح بالایی برگ کمتر شده است وجود انواع کرک‌های ترشحی و غیرترشحی در برگ با محل رویش و نحوه زیست آن‌ها ارتباط دارد زیرا با تولید اسانس باعث جذب حشرات و گرده افشانی شده و با داشتن کرک‌های غیرترشحی از تبخیر آب جلوگیری می‌شود، بنابراین می توان اذعان کرد که نحوه توزیع کرک‌های ترشحی و غیرترشحی در سطح برگ‌های این گیاهان به احتمال زیاد به منشأ گیاه بستگی دارد (امید بیگی، ۱۳۷۶). در قسمت رویی برگ کرک‌های غیر ترشحی فراوان‌ترند تا بسته به شرایط محیط از گیاه محافظت کنند وجود پارانشیم نرده‌ای در سطح رویی و زیرین برگ روشی برای مبارزه با کم آبی محیط می‌باشد و یکی از سازش‌هایی است که تعرق را در گیاهان کاهش می‌دهد، کرک ترشحی از نوع ساده و چند سلولی و پوششی مشاهده شد.

در مطالعه‌ای که توسط (Gersbash, 2002) بر روی گیاه *Prostantheraovalifolia* انجام شد در سطح برگ این گیاه کرک‌های غده‌ای مشاهده شد که کرک‌ها شامل سلولهای پایه در اپیدرم، یک سلول ساقه با

Archive of SID

www.SID.ir

دیواره کوتینی شده و یک سر ۱۶ سلولی بودند که از نظر ساختار کرک‌های غده‌ای با مشاهدات این تحقیق مشابه است. در مطالعه دیگری که توسط (Baran *etal*., 2008) در کشور ترکیه بر روی گیاه *Salviaargentea* انجام شد، در سطح اپیدرم برگ این گیاه کرک‌های غده‌ای مشاهده شد که از نظر شکل ظاهری با نتایج این تحقیق همسویی دارد. در بررسی انجام شده توسط بویسیلی در سال ۲۰۰۹ بر روی ساختار کرک‌های گیاه *Schistostephium heptalobium* مشخص شد که کرک‌های غده‌ای در این گیاه چند سلولی و دارای یک کیسه که بوسیله کوتیکول پوشیده شده، و کرک‌های غیر غده‌ای دو و سه سلولی با پایه لوله‌ای شکل هستند که این مشاهدات با نتایج این تحقیق همسویی دارد.

تفسیر نتایج حاصل از بررسی ترکیبات اصلی شناخته شده در اسانس *Thymus eriocalyx* در مرحله گلدهی

در بررسی انجام شده توسط (فکور و همکاران، ۱۳۸۶) بر روی اسانس گیاه *T. eriocalyx* مشخص شد که ترکیبات شاخص این گیاه تیمول ۶۳/۸ درصد، بتاکاریوفیلن ۱۳/۳ درصد و سیس سابینن هیدروکساید ۸/۱ درصد می‌باشند از مقایسه ترکیبات فوق با ترکیبات اصلی شناسایی شده در اسانس گونه مورد مطالعه در این تحقیق مشخص شد که ترکیب تیمول با بیشترین درصد و ترکیب سیس سابینن هیدروکساید مشابه ترکیبات اصلی گونه مورد مطالعه می‌باشد. در مطالعه‌ای (Nickavar *etal*., 2005)که بر روی اسانس اندام هوایی گونه های *T. daenensis*، *T. kotschyanus* انجام گرفت مشخص شد ترکیبات شاخص این گونه‌ها تیمول با ۴۷ درصد و ۳۸/۶، پی سیمن۶/۵ درصد و۷/۳ درصد در دو گونه، و در *daenensis* بتا کاریوفیلن ۳۸ درصد، متیل کارواکرول ۳/۶ درصد و در*kotschyanus* کارواکرول ۳۳/۹ درصد، گاماترپی نن با ۱۰/۸۶ درصد می باشد که بیشترین درصد ترکیبات مربوط به تیمول می باشد از مقایسه ترکیبات فوق با ترکیبات اصلی شناخته شده در اسانس *T. eriocalyx* که وجود تیمول با بیشترین درصد (۴۲/۶۰ درصد) کارواکرول ۳۲/۳۳ و گاما تر پی نن ۳ درصد جزء ترکیبات شاخص می باشند که مشابه تحقیق (Nickavar *etal*., 2005) می‌باشد و با نتایج این تحقیق همسویی دارد. در مطالعه (Nejad-Ebrahimi *etal*., 2008) که در مورد اسانس اندام هوایی گیاه *T. carmanicus* صورت گرفت، کارواکرول، پی سیمن، گاماتر پی نن، تیمول و بورنئول به عنوان ترکیبات اصلی اسانس گیاه شناسایی شدند که نشان از مشابهت این ترکیبات با گونه بکار رفته در این تحقیق دارد. در مطالعه دیگری که توسط (Safaei-ghomi *etal*., 2009) بر روی اسانس گیاه *T. carmanicus* انجام گرفت ترکیبات شاخص این گیاه کارواکرول ۸۵/۹ درصد، تیمول ۳/۳ درصد، سیمن ۳/۲ درصد، گاماترپی نن ۱/۸ درصد و بورنئول ۱/۳ درصد بودند، که در این مورد نیز با نتایج به دست آمده در این تحقیق از نظر ترکیبات شاخص همسویی دارد. در این پژوهش نیز ترکیب آلفا ترپینئول، لینالول و ۸و۱ سینئول به عنوان ترکیبات شاخص در مرحله گلدهی شناسایی شد و با نتایج تحقیق (Miguel *etal*., 2003) بر روی اسانس گیاه*T. caespititius* که آلفا ترپینئول، لینالول، استات لینالیل و ۸و۱ سینئول به عنوان ترکیب‌های شاخص گونه‌ی یاد شده معرفی شدند مطابقت دارد. در بررسی دیگری که توسط (Maria, C. Rota *etal*., 2008) بر روی، گونه های *T. zygis*، *T. vulgaris*، *T. hymalis* انجام گرفت مشخص شد که در گونه *zygis* تیمول، در *vulgaris* تیمول و لینالول و در گونه‌ی *hymalis* تیمول، لینالول و کارواکرول به عنوان

Archive of SID

www.SID.ir

ماده موثر اصلی این گونه‌ها شناخته شد که نتایج حاصل از این پژوهش نیز با نتایج (Maria, C. Rota *etal*., 2008) همسویی دارد.

تفسیر نتایج حاصل از اثرات ضد باکتریایی عصاره *Thymus eriocalyx*

هر دو نوع عصاره اتانولی و متانولی این گیاه دارای اثرات ضدمیکروبی برروی باکتری‌های گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس و گرم منفی اشرشیاکلی و سودوموناس آئروژینوزا بود و بیشترین تاثیر را عصاره اتانولی با غلظت ۱۰۰ برروی باکتری گرم منفی اشرشیاکلی (قطر هاله عدم رشد ۱۰/۶۸ میلی متر) داشت. همچنین عصاره متانولی در غلظت‌های پایین‌تر بر روی باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس موثر بوده در حالی که همین عصاره در غلظت‌های بالا (۱۰۰٪) برروی باکتریهای گرم منفی اشرشیاکلی و سودوموناس آئروژینوزا تاثیرداشته است. در بررسی به عمل آمده توسط میرزا و همکاران بر روی خواص ضد میکروبی عصاره‌های *S. sclarea, S. officinalis* مشخص شد که عصاره‌های آبی این گیاهان با روش اندازه‌گیری قطر هاله مهار رشد، تنها بر باکتری *S. aureus* اثر باکتری کشی داشته اما عصاره‌های متانولی این گیاهان بر روی همه باکتری‌ها و برخی قارچ‌های مورد آزمایش اثر مهار شده داشتند. عصاره‌های متانولی در مرحله زایشی گیاه خواص ضد میکروبی داشتند و حداقل غلظت بازدارندگی برای عصاره‌های متانولی بر باکتری‌ها حدود ۵۰mg/ml است. در پژوهش حاضر مشخص شد کمترین اثر باکتریایی مربوط به عصاره متانولی با غلظت ۸۰، نورفلوکساسین، اتانول و متانول می‌باشد که با نتایج(karman *etal*., 2001) مطابقت دارد، همچنین اثرات باکتریواستاتیکی قوی اسانس برخی از گیاهان تیره نعناع از جمله *Thymus revolatus* را بر روی باکتری گرم مثبت استافیلوکوک طلایی نشان دادند. در تحقیق ایشان نیز عصاره‌های متانولی و اتانولی گیاه *T. kotschyanus* دارای اثرات ضد میکروبی بر علیه باکتری استافیلوکوکوس اورئوس بوده که این نتایج با تحقیق حاضر یکسان است. (Emin, 2004) فعالیت ضد میکروبی *Micromeriacilica* بر روی چند باکتری و یک مخمر به عنوان عوامل به وجود آورنده عفونت در انسان نشان داد که به طور کلی اسانس این گیاه دارای خواص ضد میکروبی می‌باشد در این تحقیق نیز هر دو نوع عصاره متانولی و اتانولی این گیاه دارای اثرات ضد میکروبی بودند که با نتایج امین همسویی دارد. تحقیقات بوناتریو و همکاران در سال ۲۰۰۷ بر روی گیاه *Thymus capitatus* نشان داد که گونه مذکور علاوه بر فعالیت آنتی اکسیدانی دارای اثرات ضد میکروبی بر روی باکتری‌های باسیلوس سراوس گونه سالمونلا، لیستریا اینوکوا، ۴ سوش استافیلوکوکوس اورئوس و یک شکل مقاوم اس اورئوس می‌باشد که خصوصیات ضد میکروبی با آنتی بیوتیک مصنوعی مقایسه گردیده و فعالیت های آنتی باکتریال بالاتر در مراحل گلدهی و پس از گلدهی مشاهده گردید که با نتایج حاصل از این پژوهش همسویی دارد. تحقیقات به عمل آمده (karman *etal*., 2001) که بر روی هفت باکتری گرم مثبت و یک باکتری گرم منفی با استفاده از روش دیسک و حداقل غلظت باز دارندگی در گیاه *T. carmanicus* صورت گرفت، نشان داد که فعالیت ضد میکروبی حدود ۱۵-۵mgr/ml. می‌باشد. همچنین فعالیت ضد میکروبی بر روی ۲ باکتری باسیلوس سابتیلوس و پزودوموناس، آئرو ژینوزا بیشترین حد را داشته است. نتایج این پژوهش نشان داد بیشترین اثر ضد باکتریایی بر علیه اشرشیاکلی به ترتیب مربوط به نورفلوکساسین، سفازولین، جنتامایسین، عصاره اتانولی و متانولی با غلظت ۱۰۰ و کمترین اثر ضدجباکتریایی مربوط به پنیسیلین، عصاره متانولی

Archive of SID

www.SID.ir

با غلظت‌های مختلف ۸۰، ۶۰، ۴۰، ۲۰، اتانول و متانول می‌باشد که با نتایج مطالعه (karman *etal.*, 2001)، مشابه است. در تحقیقی که توسط (Maria, C. Rota *etal.*, 2008) بر روی، سه گونه آویشن با نام‌های *Thymus vulgaris*، *Thymus hyemalis* و *Thymus zygis* صورت گرفت فعالیت ضد میکروبی سه گونه برای کنترل رشد و بقاء ۱۰ میکروارگانیسم بیماری‌زا مورد بررسی قرار گرفت و نتایج حاصل نشان داد که ترکیبات موثره سه گونه‌ی مذکور دارای خصوصیات ضد میکروبی بوده و منبعی بالقوه از اجزای ترکیبی آنتی باکتریال برای صنعت تغذیه می‌باشند در این تحقیق اثر آنتی بیوتیک نیز بررسی شد که اثر نورفلوکساسین به جز بر روی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس بر روی سایر باکتری‌ها از عصاره‌های اتانولی و متانولی بیشتر بود که با نتایج حاصله هم‌سویی دارد.

در پایان می‌توان گفت در برش عرضی، ساقه جوان گونه‌ی *T.eriocalyx*، به شکل چهارگوش بود و در گونه‌های مسن ساقه‌ها مدور و پوشیده از کرک بود. بر روی اپیدرم کرک‌های ترشحی از نوع پایه کوتاه یا پایه بلند و ساده و کرک‌های غیر ترشحی فراوان از نوع پوششی و ساده مشاهده شد که از رشته‌های دو یا سه سلولی تشکیل شده بودند. تیمول با بیشترین درصد (۴۲/۶۰ درصد)، کارواکرول ۳۲/۳۳ و گاما ترپی نن ۳ درصد جزء ترکیبات شاخص گونه ی *T. eriocalyx* می‌باشند. همچنین بررسی‌های میکروبی نشان داد که هر چه میزان اثر میکروبی اسانس بیشتر باشد قطر هاله میکروبی نیز بیشتر می‌شود و اثر ضد باکتریایی آن بیشتر می‌شود.

Archive of SID

www.SID.ir

منابع

امید بیگی، ر. ۱۳۷۶. رهیافت‌های تولید و فرآوری گیاهان دارویی. انتشارات آستان قدس رضوی.

حسینی بمرود، غ.، ح. ظریف کتابی.، ا. باریاب و م. دشتی. ۱۳۸۴. بررسی اکولوژی و پراکنش گیاه اسانس‌دار *Echinophora platyloba* در استان خراسان. مجموعه مقالات همایش ملی توسعه پایدار گیاهان دارویی، مشهد مقدس، ۷-۵ مرداد: ۷۷.

دوازده امامی، س.، مجنون حسینی، ن. ۱۳۸۷. زراعت و تولید برخی گیاهان دارویی و ادویه‌ای. انتشارات دانسشگاه تهران، ص۲۴۱.

زرگری، ع. ۱۳۷۵. گیاهان دارویی. انتشارات دانشگاه تهران، جلد اول، چاپ ششم.

فکور، م.ه.، ع. علامه.، رسولی. و م. مظاهری. ۱۳۸۶. فصلنامه علمی پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران جلد ۲۳، شماره‌ی ۲، صفحه ۲۷۷-۲۶۹.

کشفی بناب، ع. ر. ۱۳۸۹. مزیت نسبی اقتصادی کشت و تجارت گیاهان دارویی در ایران و ارزش آن در بازارهای جهانی. بررسی‌های بازرگانی، ۸(۴۴) : ۷۸-۶۷.

متقی‌نژاد، س. ع.، س. محرابی، ف. نعمت الهی، ک. لاریجانی و آ. عطوفی. ۱۳۸۹. شناسایی ترکیبات موجود در روغن اسانس گل و برگ گیاه .*Sumbucus ebulus* L با استفاده از طیف سنجی GC و GC/MS. مجله علمی پژوهشی گیاه و زیست بوم: ۶(۲۲):۵۳-۶۴.

میرزا، م.، و سفیدکن، ف. ۱۳۷۸. اسانس‌های صنعتی. انتشارات وزارت جهاد سازندگی، جلد اول، چاپ اول.

هی، ر.، و واترمن، پ. ترجمه بقالیان، ک. و نقدی باری، ح. ۱۳۷۹. گیاهان اسانس دار. انتشارات نشر اندرز، چاپ علامه طباطبایی.

Adams, R. P. 2004. Identification of Essential Oil Components by GasChromatogeraphy/Quadrupole Mass Spectroscopy. Allured Publishing Corporation, Carol Stream, 456p.

Baran, P., C. Ozdemir and K. Aktas. 2008. Morphological and anatomical properties of *Salvia argenteal*, Research. *journal of agriculture and biological sciences*, 4(6), 725-733.

Buyisile, M. 2009. Morphological and Chemical Composition of the essential oil of the leaf of *Schistephium heptalobium*. *African journal of biotechnology*, 8(8), 1509-1519.

Davies, N. W. 1990. Gas chromatographic retention indices of monoterpenes and sesquiterpenes on methyl silicon and carbowax 20M phases. *Journal of chromatography*, 503(1): 1-24.

Archive of SID

www.SID.ir

Gersbash, P.V. 2002. The essential oil secretory structures of *Prostanthera ovalfolia* (Lamiaceae), Annals of Botany, 89, 255-260.

Karaman. S., M. Digrak., U. Ravid., A. Ilcim. 2000. Antibacterial and antifungal activity of the essential oil of *Thymus revolutus* Celak from Turkey. *Journal of Ethnopharmacology* 76(2001) 183-188.

Maria, C. Rota., H. Antonio., M.M. Rosa., A.S. Jose., J.J. Maria. 2008. Antimicrobial activity and chemical composition of *Thymus vulgaris, Thymus zygis and Thymus hymalis* essential oils, Food control. 19, 681- 687.

Emin D. 2004. The Constituents of essential oil and invitro antimicrobial activity of *Micromeria cilica* from Turkey Food chemistry, Volum 75, 459-463.

Miguel, G., M. Simoes., A.C. Figueiredo., J.G. Barroso., L.G. Pedro and L. Carvalho. 2004. Composition and antioxidant activities of the essential oils of *Thymus mastichina*, Food chemistry 86, 183-188.

Nejad Ebrahimi, S., J. Hadian., M.H. Mir Jalili., A. Sonboli and M. Yousefzadi. 2008. Essential oil composition and antibacterial activity of *Thymus caramanicus* at different phonological stages, Food chemistry 110(2008) 927-931.

Nickavar, B., F. Mojab and R. Dolat-Abadi. 2005. Analysis of the essential oils of two *Thymus species* from Iran. Food chemistry 90- 609-611.

Safaei-ghomi, j., h. ebrahimabadi., A. Djafari-Bidgoli and Z. Batooli. 2009. Gc/ms analysis and invitro antioxidant activity of essential oil and methanol extracts of *Thymus caramanicus* jalas and its main constituent carvacrol, Food chemistry 115- 1524-1528.

Archive of SID

www.SID.ir