مجله علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی، (JSIAU)
جلد ۱۸ شماره ۷۰/۱ زمستان ۸۷

بررسی تغییرات کمی و کیفی ترکیبات سازنده اسانس گونه دارویی مرزه خوزستانی (*Satureja khuzistanica* J.)در طول تکوین گیاه و خواص ضدمیکروبی اسانس آن در شرایط in vitro

احمد مجد*
گروه زیست شناسی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
طاهر نژاد ستاری، رمضانعلی خاوری نژاد و بهروز دوستی
گروه زیست شناسی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

Archive of SID

چکیده

در این پژوهش تغییرات کمی و کیفی گونه دارویی مرزه خوزستانی اسانس در طول سه مرحله تکوینی و اثرات ضد میکروبی اسانس آن در مرحله گلدهی مورد بررسی قرار گرفت. استخراج اسانس به روش تقطیر با آب و با استفاده ازدستگاه کلونجر صورت گرفت و شناسایی ترکیبات سازنده اسانس نیز با GC- MS انجام شد. اثرات ضد میکروبی اسانس نیز به روش تعیین حداقل غلظت بازدارندگی مشخص گردید. نتایج آزمایشها نشان داد که بیشترین مقدار اسانس بدست آمده از گیاه در مرحله قبل از گلدهی و کمترین میزان مربوط به مرحله پس از گلدهی است. اسانس در مرحله قبل از گلدهی با ۹ ترکیب برای ماده خشک و ۱۱ ترکیب برای ماده تر، واجد کمترین تنوع از نظر ترکیبات سازنده آن و در مرحله پس از گلدهی با ۱۸ ترکیب برای ماده خشک و ۱۷ ترکیب برای ماده تر بیشترین تنوع را از نظر ترکیبات سازنده داشت. کارواکرول بعنوان ترکیب اصلی سازنده اسانس در همه مراحل تکوینی بود و بیشترین مقدار آن مربوط به مرحله قبل از گلدهی و کمترین میزان آن در مرحله بعد از گلدهی بود. تفاوت معنی داری بین ماده خشک و تر مورد استفاده در اسانس گیری از نظر میزان ترکیبات سازنده اسانس مشاهده نشد. بر اساس نتایج حاصل ازبررسی های ضدمیکروبی مشخص گردید که اسانس گیاه مرزه خوزستانی بر رشد باکتری های گرم مثبت شامل: *S. aureus* 6538p (MIC=0.2µl/ml)، 12228CIP (MIC=0.2 µl/ml

* عهده‌دار مکاتبات

www.SID.ir

S.epidermidis و گرم منفی شامل (MIC=0.4 µl/ml) *S.typhi morium ID* (MIC=0.4 µl/ml) ، MIC=0.4 µl/ml) *P.aeroginosa* 27853ATCC (MIC=2 µl/ml) *E.coli* 35218BBL ، MIC=0.1 µl/ml) و قارچ *C.albicans* 10231 BBL اثر بازدارندگی دارد. این اثر بر باکتری های گرم مثبت و قارچ کاندیدا البیکانس بیش از باکتری های گرم منفی می باشد.

واژه های کلیدی: اسانس، ترکیبات سازنده، مراحل تکوینی، اثرات ضدمیکروبی، مرزه خوزستانی

مقدمه

اطلاعات به دست آمده درباره روند تغییرات کمی و کیفی اسانس در طول تکوین و پاسخ گیاه به تغییر عوامل محیطی برای نظام بخشی سیستم های رشد گیاهان حاوی اسانس ضروری است. در اغلب گونه ها هدف بیشینه کردن یا بهینه نمودن تولید زی توده و برداشت محصول، پیش از هرگونه زوال در کمیت و کیفیت اسانس می باشد. مرزه خوزستانی جمزاد(*Satureja khuzistanica* J.) متعلق به تیره نعناعیان و یکی از گیاهان بومی ایران است که به طور وسیعی در بخش های جنوبی ایران پراکنش دارد و محل رویش آن نیز بیشتر در کوهپایه ها و روی سنگ های آهکی شکاف دار می باشد. ماده اصلی سازنده اسانس در این گیاه کارواکرول است[۱-۳]. استفاده از گیاه مرزه خوزستانی در مصارف پزشکی و طب سنتی به عنوان اشتها آور، آرام بخش، ضد عفونی کننده و مسکن درد دندان رایج می باشد. اسانس ها ترکیبات شیمیایی پیچیده ای هستند که اغلب بیش از صد جزء اصلی در ترکیبشان موجود است که عامل اصلی طعم و بوی آنها می باشند. هیدروکربورها، الکل ها، کتون ها، آلدهیدها، اترها و اکسیدها از جمله مواد شیمیایی موجود در اسانس ها هستند.[۳-۵]

بررسی اسانس دو گونه مرزه *Satureja montana* و *Satureja cuneifolia* با هدف شناسایی ترکیبات سازنده آنها و مقایسه ترکیبات سازنده آنها در طول سه مرحله تکوینی در رویشگاه های مختلف نشان داده است که کیفیت اسانس در طول سه مرحله تکوینی و در سه منطقه مورد مطالعه یکسان بوده است اما، تفاوت های قابل ملاحظه ای در مقدار برخی از ترکیبات دیده شده است.[۶] همچنین نتایج پژوهش دیگری که در سه مرحله رشد و نموی روی گونه دیگری از جنس مرزه (*Satureja montana*) صورت گرفت نشان داد که کارواکرول به‌خصوص در مرحله قبل از گل دهی به عنوان جزء اصلی اسانس محسوب می شود و در مرحله گلدهی مقدار پی سیمن (p-cymene) افزایش می یابد.[۷] آنالیزترکیبات سازنده اسانس و مقایسه کمی و کیفی آنها در تیپ های وحشی و کشت شده گیاه مرزه خوزستانی در طول مرحله گل دهی نشان داده است که اسانس گیاهان تیپ وحشی دارای ۱۲ نوع ترکیب می باشد که ۹۸/۵ درصد کل اسانس را شامل می شوند و اسانس گیاهان تیپ کشت شده نیز دارای ۲۱ نوع ترکیب می باشد که ۹۹/۲ درصد کل اسانس را شامل می شوند.[۸] شواهد زیادی مبنی بر خواص ضد ویروسی، ضد باکتریایی و ضد قارچی برخی از اجزای سازنده اسانس گزارش شده و تحقیقات زیادی انجام شده است تا مشخص گردد که کدام یک از گروه های عامل یا ساختار های فضایی ترکیبات سازنده اسانس مسئول خاصیت آنتی بیوتیکی آنها هستند. ساختار فضایی سیس در اطراف پیوند دوگانه، نسبت به ساختار فضایی ترانس

Archive of SID

www.SID.ir

باعث فعالیت ضد میکروبی شدیدتری می شود و از فعالترین گروه های عامل، در الکل های الیفاتیک (برای مثال لینالول) و فنول ها (برای مثال تیمول و اوگئتول) گروه هیدروکسیل بوده است.[۳] فعالیت ضد باکتریایی و ضد قارچی اسانس چهار گونه از جنس مرزه (*S. macarantha ,S. thymbra S.aintabensis , S cuneifolia,*) بر علیه باکتری های اشریشیا کولی، استافیلوکوکوس اورئوس، پزودوموناس ایروجینوزا، انتروباکتر اروجنز و قارچ های کاندیدا آلبیکانس، پنی سیلیوم کلاویجروم، موکور هیمالیس و آبسیدیا گلوکا نشان داده است که همه میکروارگانیسم های مذکور توسط همه اسانس های مورد آزمایش مهار گردیدند و بعد از آنالیز اسانس مشخص گردید که کارواکرول و تیمول به عنوان اجزای اصلی سازنده اسانس در همه آنها عامل اصلی این فعالیت ها می باشند.[۸]

تاکنون مطالعات جامع و فراگیری روی تغییرات کمی و کیفی اسانس های گیاهان و چگونگی تغییر در ترکیبات سازنده اسانس و میزان آنها در طی دوره های رشد ونموی صورت نگرفته است و بیشتر پژوهش های انجام شده کمیت و کیفیت ترکیبات سازنده اسانس را در یک مرحله خاص از دوره های رشد ونموی مورد بررسی قرار داده اند. در این پژوهش برای اولین بار تغییرات کمی و کیفی ترکیبات سازنده اسانس مرزه خوزستانی (*Satureja khuzistanica* J.) در طول سه مرحله تکوینی گیاه و اثرات ضد باکتریایی و ضد قارچی اسانس آن در مرحله گلدهی مورد آزمایش قرار گرفته است.

مواد و روش ها

کشت و پرورش گیاهان

در این پروژه گیاه مرزه خوزستانی پس از شناسایی از نظر ویژگی های گیاه شناختی، در اواخر اسفند ماه سال ۱۳۸۴ کشت گردید. قلمه های ساقه گیاه از منطقه ماژین واقع در ۷۲کیلومتری اندیمشک جمع آوری شدند و در گلدان های پلاستیکی با وزن خاک تقریبی ۱/۵ کیلوگرم در مجتمع کشت و پرورش گیاهان دارویی خرمان کشت گردیدند.

روش استخراج و آنالیز ترکیبات سازنده اسانس

بخش های هوایی گیاه مرزه خوزستانی در طول سه مرحله تکوینی(قبل از گلدهی، ضمن گلدهی و پس از گلدهی) برداشت شدند و در دمای اتاق خشک گردیدند. در هر بار اسانس گیری صد گرم از بخش های هوایی گیاه (به دو صورت خشک شده و تر) به صورت خرد شده در بالون یک لیتری دستگاه کلونجر ریخته شد و مقداری آب که سه تا شش برابر وزن گیاه بود برای نرم شدن بافت های گیاه به آن اضافه گردید. سپس اسانس موجود در آنها با استفاده از دستگاه کلونجر به مدت ۵ ساعت استخراج شد. اسانس تقطیر شده در یک لوله که حجم آن ۵ میلی لیتر بود جمع آوری گردید. شناسایی ترکیبات سازنده اسانس با استفاده از کروماتوگراف GC- MASS (مدل HP 6890) با ستون HP-5MS (30m * 0/25mm) دمای ستون با سرعت ۶ درجه در دقیقه از ۶۰ به ۲۴۰ درجه سانتی گراد و گاز حامل هلیوم انجام شد. دمای تزریق۲۵۰ درجه سانتی گراد بود. نوع و میزان هر یک از ترکیبات سازنده اسانس پس از تجزیه و تحلیل کروماتوگرام ها مشخص گردید.

روش بررسی خواص ضدمیکروبی اسانس گیاه مرزه خوزستانی

Archive of SID

www.SID.ir

تهیه میکرو ارگانیزم های فعال

باکتریهای مورد آزمایش شامل *Staphylococcus aureus* 6538p، (*Staphylococcus* 12228CIP *epidermidi*، *Salemonella typhi morium ID* ، *E.coli* 35218BBL *P.aeroginosa* 27853ATCC و قارچ *Candida.albicans* 10231 BBL (تایید شده توسط سازمان پژوهش های علمی و صنعتی ایران) از آزمایشگاه شرکت خرمان لرستان تهیه شدند. از هریک از انواع میکروارگانیزم های مذکور به وسیله لوپ از کلونی میکروبی نمونه برداری شد و به روش خطی چهار منطقه ای[1] در محیط کشت مولر هینتون آگار برای باکتریها و محیط کشت سابروز دکستروز آگار برای قارچها کشت گردید. باکتری ها را در انکوباتور (دمای ۳۰ تا ۳۵ درجه سانتی گراد) و قارچها در انکوباتور (دمای ۲۰ تا ۲۵ درجه سانتی گراد) قرار داده شدند و در روز انجام آزمایش از آنها استفاده گردید.

تهیه سوسپانسیون میکروبی

برای تعیین میزان میکروارگانیسم ها در سوسپانسیون میکروبی از لوله های نیم مک فارلند استفاده شد. کدورت لوله های نیم مک فارلند معادل $۱/۵ \times ۱۰^{۸}$ cfu/ml می باشد. ۱۰۰µl از این سوسپانسیون که $۱/۵ \times ۱۰^{۷}$ cfu/ml دارد را برداشته و در۱۰ میلی لیتر آب مقطر استریل پراکنده کردیم تا به تراکم معادل $۱/۵ \times ۱۰^{۶}$ cfu/ml رسیدیم. از این محلول۵µl را که معادل $۱۰^{۴}$ میکروارگانیسم می باشد برداشته و در هر پلیت در جای مخصوص خود تلقیح کردیم.

روش اثبات خاصیت ضدمیکروبی اسانس

در لوله های یکسان غلظت ۱۰۰ میکرولیتر بر میلی لیتر اسانس در DMSO[2] ساخته شد به این ترتیب که یک میلی لیتر از رقت اولیه اسانس بعلاوه یک میلی لیتر از سوسپانسیون $۱۰^{۴}$ cfu با یک میلی لیتر محیط کشت مخلوط و یکنواخت گردید و سپس لوله های حاوی باکتری های *S.aureus*، *S.epidermidis*، *S.typhi*، *E.coli*، *P.aeroginosa* در انکوباتور ۳۰ تا ۳۵ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت و لوله های حاوی قارچ *C.albicans* به مدت ۴۸ ساعت در انکوباتور ۲۰ تا ۲۵ درجه سانتی گراد قرار داده شدند. برای هر میکروارگانیزم یک لوله شاهد بدون اسانس نیز در نظر گرفته شد و پس از مدت زمان مزبور به علت کدورت حاصله در لوله های حاوی محیط مایع، ۲۰ میکرولیتر از هر لوله برداشته شد و در پلیت حاوی مولر هینتون آگار به خوبی پخش گردید. به این ترتیب هر پلیت مختص یک گونه باکتری یا یک گونه قارچی بود. سپس این پلیت ها در انکوباتورهای مخصوص قرار داده شدند و ۲۴ ساعت بعد پلیت های باکتریها و ۴۸ ساعت بعد پلیت های قارچها را با پلیت های شاهد خودشان مقایسه کردیم. از آنتی بیوتیک جنتامایسین برای باکتری ها و از نیستاتین برای قارچ کاندیدا آلبیکنس به منظور مقایسه اثرات ضدمیکروبی عصاره ها استفاده شد.

تعیین حداقل غلظت بازدارندگی(MIC)

در این مرحله غلظت های ۰/۰۲، ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۲، ۰/۴، ۰/۸، ۰/۹ ، ۱ و ۲ میکرولیتر بر میلی لیتر اسانس در DMSO تهیه گردید. حجم کلی لوله ها ۱۰ میلی لیتر در نظر گرفته شد و غلظت DMSO در لوله ها نیز ۴٪ در

[1] - Streak culture
[2]- Dimethylsolfoxide

Archive of SID

www.SID.ir

نظر گرفته شد. محیط کشت، تعداد میکروارگانیزم های تلقیحی (اینوکلوم) و روش کار مانند مرحله قبل ولی برای قارچ کاندیدا آلبیکنس محیط کشت سابرود دکستروز آگار بود و پلیت ها به جای ۲۴ ساعت در دمای C °۳۵- ۳۰ در مورد باکتری ها، ۴۸ ساعت در انکوباتور با دمای C °۲۵-۲۰ قرار گرفتند. با توجه به تغییرات کدورت محیطهای کشت و مقایسه با نمونه های شاهد(بدون اسانس) MIC را مشخص نمودیم.

نتایج و بحث

تغییرات میزان اسانس در طول سه مرحله تکوینی گیاه

بررسی تغییرات میزان اسانس به دست آمده از بخش های هوایی (برگ و شاخه های جوان) گیاه مرزه خوزستانی در طول سه مرحله تکوینی گیاه نشان داد که، بیشترین میزان اسانس بدست آمده از گیاه در مرحله قبل از گلدهی(۵ میلی لیتر در صدگرم ماده خشک و ۲/۱۸ میلی لیتر در صدگرم ماده تر) و کمترین مقدار مربوط به مرحله پس از گلدهی(۱/۹میلی لیتر در صدگرم ماده خشک و ۰/۹ میلی لیتر در صدگرم ماده تر) می باشد. میزان اسانس در مرحله گل دهی ۳/۷۵ میلی لیتر در صدگرم ماده خشک و ۱/۳۶ میلی لیتر در صدگرم ماده تر می باشد(جدول ۱).

مقایسه نوع و میزان ترکیبات سازنده اسانس در طول مراحل تکوین گیاه نشان می دهد که کارواکرول به عنوان ترکیب اصلی سازنده اسانس در همه مراحل تکوینی می باشد ولی مقدار آن در طول سه مرحله تکوینی مورد آزمایش به طور فاحشی تغییر می کند و بیشترین مقدار آن مربوط به مرحله قبل از گلدهی (٪۹۲/۸۷ برای ماده خشک و ٪۹۲/۷ برای ماده تر) می باشد. اسانس به دست آمده از گیاه در مرحله بعد از گل دهی دارای کمترین میزان کارواکرول (برای ماده خشک ٪۷۹/۳۱ و ٪۸۰/۲۴ برای ماده تر) می باشد. از نظر تنوع ترکیبات موجود در اسانس، مرحله قبل از گل دهی با ۹ ترکیب برای ماده خشک و ۱۱ ترکیب برای ماده تر، واجد کمترین تنوع می باشد و مرحله پس از گل دهی با ۱۸ ترکیب برای ماده خشک و ۱۷ ترکیب برای ماده تر دارای بیشترین تنوع ترکیبات را دارد. در مرحله گل دهی نیز برای ماده خشک ۱۴ ترکیب و برای ماده تر ۱۱ نوع ترکیب شناسایی گردید. کارواکرول، گاما ترپینن و پارا سیمن ترکیبات اصلی سازنده اسانس در مرحله قبل از گل دهی می باشند و ۹۷/۲۲ درصد اسانس را در ماده خشک و ۹۶/۳۳ درصد اسانس ماده تر را در مرحله مزبور تشکیل می دهند. همچنین کارواکرول، گاما ترپینن و پارا سیمن به همراه بتا بیسابولن ترکیبات اصلی سازنده اسانس در مرحله بعد از گل دهی بوده و ۹۵/۲۱ درصد اسانس را در ماده خشک و ۹۷/۲۳ درصد اسانس ماده تر را تشکیل می دهند. ترکیبات سازنده اسانس در مرحله گل دهی تا حدود زیادی متفاوت از دو مرحله دیگر می باشند. در مرحله پس از گلدهی نیز نظیر دو مرحله دیگر حجم قابل توجهی از اسانس را سه ترکیب کارواکرول، پاراسیمن و بتا بیسابولن تشکیل می دهند(۸۲/۰۹ برای ماده خشک و ۸۲/۷۷ برای ماده تر). ترکیباتی نظیر آلفا ترپینن و ۲- بتاپینن نسبت به دو مرحله قبلی درصد بیشتری از اسانس را در مرحله گلدهی تشکیل می دهند و ۹ ترکیب جدید در این مرحله دیده می شود که ۴ ترکیب از آنها شامل سیس آلفا بیسابولن، پی سیمن، متیل یوژنول و بنزوتیفن ۹/۰۶ درصد اسانس را در ماده خشک و ۸/۹۲ درصد اسانس را در ماده تر تشکیل می دهند. مقایسه میزان و نوع ترکیبات موجود در اسانس در دو وضعیت اسانس گیری(خشک و تر) نشان می دهد که تفاوت معنی داری بین دو حالت خشک و تر در مراحل تکوینی مورد آزمایش دیده نمی شود (جدول۲).

Archive of SID

www.SID.ir

اثرات ضد میکروبی اسانس مرزه خوزستانی

بر اساس نتایج حاصل از اندازه گیری قطر هاله های عدم رشد برای میکروارگانیسم های مختلف برای اسانس مرزه خوزستانی با غلظت 100 µl /ml در محیط مایع و مقایسه آن با قطر هاله های شاهد(جدول ۳) مشخص می گردد که اسانس گیاه مرزه خوزستانی از رشد میکروارگانیزم های مختلف جلوگیری می کند و بر رشد باکتری های گرم مثبت شامل: *S.aureus* 6538p ، *S.epidermidis* 12228CIP، و گرم منفی شامل *S.typhi morium I D*: 10231 BBL و قارچ *P.aeroginosa* 27853ATCC ،*E.coli* 35218BBL ، *C.albicans* اثر بازدارندگی دارد. قطر هاله های عدم رشد در مورد همه باکتریهای مورد آزمایش و قارچ کاندیدا آلبیکانس در غلظت 100 µl /ml اسانس کمتر از شاهد بود که دلالت بر اثر بازدارندگی غلظت 100 µl /ml اسانس روی میزان رشد میکروارگانیزم های مورد آزمایش دارد. برای تعیین حداقل غلظت مهار کنندگی اسانس(MIC)، غلظت های کمتر از ۱۰۰ µl /ml آزمایش شد. بنابراین غلظتهای کمتر از ۱۰۰ µl /ml در بررسی MIC آزمایش شدند. با نتایج بدست آمده از آزمایش MIC می توان گفت که اسانس گیاه بدلیل وجود درصد بالای کارواکرول قدرت اثر بازدارندگی بر باکتریهای گرم مثبت، گرم منفی و قارچ نامبرده را دارد. اسانس گیاه مرزه خوزستانی بر روی باکتریهای گرم مثبت (MIC=0.2 µl /ml) و قارچ نامبرده (MIC=0.1 µl /ml) قدرت بازدارندگی بالاتری نسبت به باکتریهای گرم منفی دارد. قدرت بازدارندگی رشد توسط اسانس بر قارچها نیز بیشتر از قدرت اثر آن بر باکتریهای گرم مثبت و گرم منفی(MIC=0.4) می باشد (جدول۴). کمترین مقدار MIC مربوط به اسانس کارواکرول بر روی قارچ کاندیدااَلبیکنس می باشد که نشانگر بالاترین قدرت بازدارندگی (بیشترین حساسیت به اسانس) است. در مقایسه با مقدار MIC برای آمپی سیلین در مجموع اثر ضد باکتریایی اسانس بسیار پایین تر است و به صورت ضریبی از صد برابر کمتر اثر ضد باکتریایی دارد (جدول ۴).

جدول ۱: مقایسه میزان اسانس برگ و شاخه های جوان گیاه مرزه خوزستانی در طی مراحل تکوینی گیاه

مرحله تکوینی	ماده گیاهی مورد استفاده در تقطیر	میزان اسانس حاصل (V/W) – میلی لیتر در صدگرم
قبل از گل دهی	ماده خشک	۵
	گیاه تازه	۲/۱۸
گل دهی	ماده خشک	۳/۷۵
	گیاه تازه	۱/۳۶
بعد از گل دهی	ماده خشک	۱/۹
	گیاه تازه	۰/۹

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۲: ترکیبات سازنده اسانس ماده تر و ماده خشک مرزه خوزستانی در مراحل تکوینی

ترکیبات سازنده اسانس	قبل از گلدهی		گلدهی		بعد از گلدهی	
	خشک	تر	خشک	تر	خشک	تر
کارواکرول(Carvacrole)	۹۲/۸۷	۹۲/۷۰	۸۶/۱۹	۸۸/۲۵	۷۹/۳۱	۸۰/۲۴
گاما ترپینن(γ-terpinene)	۲/۶۱	۲/۱۷	۳/۳۱	۱/۷۷	–	–
پارا سیمن(para-cymene)	۱/۷۴	۱/۴۶	۳/۱۴	۳/۵۸	۱/۳۸	۱/۱۸
بتا بیسابولن(β–bisabolene)	۰/۶۴	۰/۹۷	۱/۲۹	۱/۹۱	۱/۴۰	۱/۳۵
میرسن(myrcene)	۰/۶۱	۰/۵۷	۱/۲۸	۱/۷۲	۰/۳۷	۰/۳۲
آلفا توژن(α-thujene)	۰/۳۹	۰/۵۴	۰/۷۸	۰/۳۵	–	–
آلفا ترپینن(α– terpinene)	–	۰/۲۶	۰/۷۴	۰/۲۶	۱/۳۷	۱/۴۳
آلفا ترپینولن(α-terpinolene)	–	–	۰/۶۷	۰/۶۴	–	–
۲- بتا پینن(2-β-pinene)	–	–	۰/۶۳	۰/۷۲	–	–
ترپینئول(terpineol)	–	۰/۲۳	۰/۵۱	۰/۵	۲/۱۷	۲/۴۳
سابینن هیدرات(sabinenehydrates)	–	–	۰/۴۱	–	–	–
بتا فلاندرن(β-phellandrene)	–	–	۰/۳۸	–	–	–
آلفا پینن(α-pinene)	۰/۱۹	۰/۲۴	۰/۳۷	–	–	–
بتا کاریوفیلن(β-Caryophylene)	–	۰/۴۱	۰/۳	–	۰/۳۷	۰/۴۲
ترپینولن(terpinolene)	۰/۶۵	–	–	–	۰/۵۷	۰/۴۶
تیمیل استات(thymyl acetate)	۰/۳۱	–	–	۰/۳۰	۰/۱۵	–
استات کارواکرول(Carvacrole acetate)	–	۰/۴۵	–	–	–	–
سیس آلفا بیسابولن(cis α–bisabolene)	–	–	–	–	۱/۴۵	۱/۴۰
پی سیمن(p - cymene)	–	–	–	–	۱/۹۰	۱/۷۴
۱،۸ – سینئول(1,8- cineole)	–	–	–	–	۰/۳۷	۰/۴۴
لینالیل استات(linalyl acetate)	–	–	–	–	۰/۱۸	۰/۴۲
ژرانیول(geranyl)	–	–	–	–	۰/۶۷	۰/۵۸
متیل یوژنول(methyl eugenol)	–	–	–	–	۱/۵۳	۱/۴۹
کاریوفیلن اکسید(Caryophylene oxide)	–	–	–	–	۰/۶۱	۰/۹۱
لینالول(linalool)	–	–	–	–	۰/۶۲	۰/۵۳
بنزوتیفن(benzo - thyphen)	–	–	–	–	۴/۱۸	۴/۲۹

Archive of SID

www.SID.ir

جدول۳ : مقایسه اثرات ضدمیکروبی اسانس گیاه مرزه خوزستانی با جنتامایسین (برای باکتری ها)و نیستاتین برای قارچ کاندیدا آلبیکنس
نکته : در مورد باکتریها، شاهد جنتامایسین و در مورد قارچها، شاهد نیستاتین بود.

نام میکرو ارگانیزم	قطر هاله (اسانس)mm	قطر هاله (شاهد: دیسک آنتی بیوتیک)mm
S.aureus 6538p	۲۳	۲۵
S.epidermidis 12228CIP	۱۷	۲۴
S.typhi morium ID	۱۴	۲۰
E.coli 35218BBL	۱۶	۲۰
P.aeroginosa 27853ATCC	۱۵	۱۵
C.albicans 10231 BBL	۱۶	۲۹

جدول۴ : نتایج حاصل ازMIC اسانس گیاه مرزه خوزستانی و آنتی بیوتیک های استاندارد

گونه های باکتریایی	MIC آمپی سیلین µl /ml	MICاسانس µl /ml
S.aureus 6538p	./۰۰۰۵	۰/۲
S.epidermidis 12228CIP	۰/۰۰۱	۰/۲
S.typhi morium ID	۰/۰۰ ۱۲	۰/ ۴
*E.coli*35218BBL	۰/۰۰ ۱۲	۰/ ۴
*P.aeroginosa*27853ATCC	۰/۰۰ ۵	۲
گونه قارچی	MIC آمفوتریسین Bµl /ml	
*C.albicans*10231 BBL	۰/۰۰۱	۰/۱

نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج بدست آمده حداکثر مقدار اسانس مرزه خوزستانی در مرحله رویشی (قبل از گل دهی) می باشد و با شروع گل دهی و پس از آن مقدار اسانس به طور چشمگیری کاهش می یابد. در اکثر گیاهان تیره نعناع میزان متوسط اسانس موجود در بافت های گیاهی در آغاز گل دهی رو به افزایش می گذارد که به طور عمده به دلیل مقدار اسانس بیشتر موجود در گل آذین هاست چرا که تعداد غدد حاوی اسانس در واحد زی توده بیشتر می شود. از طرفی در برخی گونه ها نشان داده شده است که تکوین و توسعه کرک های غده ای سازنده اسانس در بخشهای رویشی نیز همگام با بخش های زایشی در مرحله گل دهی بیشتر می شود. البته در این زمینه استثناهایی نظیر رزماری (*Rosmarinus officinallis*) دیده می شود که در گل های خود اسانس کمی تولید می نماید.[۳]

از آنجایی که بر اساس تحقیقات نگارندگان محل تولید اسانس در گیاه مرزه خوزستانی کرک های غده ای می باشد که به طور وسیعی روی اندام های هوایی رویشی(برگ و ساقه های جوان) توزیع شده اند و از طرفی تراکم و تنوع این کرک ها در اندام های زایشی کمتر از اندام های رویشی می باشد، حداکثر مقدار اسانس در مرحله پیش

Archive of SID

www.SID.ir

از گلدهی می تواند در انطباق با حداکثر زی توده اندام های رویشی در این مرحله باشد. همچنین شروع گل دهی با تغییر در شرایط محیطی (سرد شدن هوا ، کاهش طول روز) در شروع فصل پاییز مصادف می باشد که این مساله نیز به کاهش سطح برگی و در نهایت کاهش تعداد کرک های غده ای در واحد سطح منجر می شود. با شروع گل دهی و تبدیل تعداد زیادی از مریستم های رویشی به مریستم های زایشی، فعالیت برگ زایی نیز تا حدودی متوقف می گردد و همه این عوامل منجر به کاهش تعداد کرک های غده ای و متعاقب آن کاهش تولید اسانس می شود. بکارگیری ترکیبات موجود در اسانس در تشکیل ساختارهایی نظیر بذر نیز می تواند یکی از دلایل کاهش مقدار اسانس در مرحله بعد از گلدهی باشد.[۳] نکته قابل توجه در نتایج به دست آمده، تفاوت معنی دار در مقدار تعدادی از ترکیبات در طول سه مرحله تکوینی مورد بررسی، کاهش قابل ملاحظه در مقدار ترکیبات اصلی اسانس در مرحله پس از گلدهی و ظهور تعدادی از ترکیبات جدید در این مرحله می باشد. تفاوت در مقدار و نوع ترکیبات سازنده اسانس در طول تکوین گیاه به عوامل متعددی وابسته است. اثرات متقابل ژنوم گیاه و عوامل محیطی می تواند روی مقدار و نوع ترکیبات سازنده اسانس موثر باشد به این ترتیب که میزان بیان و یا عدم بیان مجموعه های ژنی مرتبط با سنتز اسانس ها می تواند در برهم کنش با عوامل محیطی در هر مرحله تکوینی متغیر باشد. نتایج به دست آمده از این تحقیق با مطالعات Milos و همکاران(۲۰۰۱) روی دو گونه *Satureja cuneifolia* و *Satureja montanal.* منطبق می باشد و وجود رابطه بین میزان و نوع ترکیبات سازنده اسانس را با مراحل تکوینی گیاه تایید می نماید[۶]. البته گزارش های دیگری در سایر گونه ها نیز وجود دارد که وجود رابطه مذکور را تایید نمی نماید برای مثال Skocibuosic و همکاران(۲۰۰۴) نشان دادند که نوع ترکیبات سازنده اسانس در سه مرحله تکوینی گونه *Satureja montana L.* یکسان است ولی تغییراتی در مقدار آنها دیده می شود.[۷] بنابراین یک نظریه عمومی برای وجود رابطه همسان در همه گونه های گیاهی بین تغییرات در مقدار و نوع ترکیبات سازنده اسانس با مراحل تکوینی گیاه تعریف نشده است و متغیرهای فراوانی روی این رابطه تاثیر می گذارند.

در این بخش به بحث و تفسیر نتایج حاصل از بررسی های ضد میکروبی اسانس گیاه مرزه خوزستانی در مرحله گلدهی می پردازیم. بر اساس نتایج به دست آمده اسانس گیاه مرزه خوزستانی روی باکتریهای گرم مثبت قدرت بازدارندگی بالاتری نسبت به باکتریهای گرم منفی دارد. تفاوت در اثر اسانس مرزه خوزستانی روی رشد باکتری های گرم مثبت و گرم منفی می تواند بازتابی از تفاوت در ساختار دیواره سلولی آنها باشد به طوری که تمامی باکتریهای گرم منفی دارای دیواره خارجی لیپو پلی ساکاریدی با ساختار آبدوستی[1] هستند که به دلیل حضور پروتئین های پورین[2] فراوان، مواد محلول آبدوست و کوچک به راحتی از آن عبور می کنند ولی این دیواره به عنوان سدی در مقابل ترکیبات آب گریز و درشت مولکول عمل می کند.[۲و ۹] و از آنجایی که اکثرترکیبات موجود در اسانس جزو ترکیبات آب گریز[3] هستند بنابراین به راحتی قادر به عبور از دیواره مذکور نمی باشند و به همین دلیل مقاومت باکتری های گرم منفی در تحقیق ما در برابر اسانس مرزه خوزستانی بیشتر از باکتری های گرم مثبت می باشد. بررسی خواص ضد باکتریایی اسانس گونه ای دیگر از جنس مرزه (*Satureja parnassia*) در دو مرحله

[1]- Hydrophilic
[2]- Porin
[3]- Hydrophobic

Archive of SID

www.SID.ir

رویشی و زایشی از چرخه زیستی گیاه نشان داده است که اسانس این گیاه بر علیه باکتری های گرم مثبت در هـر دو مرحله رویشی و زایشی فعالیت ضد میکروبی قوی دارد[۱۰] که با نتایج تحقیق ما در زمینه فعالیت ضد میکروبی قوی تر روی باکتری های گرم مثبت همخوانی دارد. حساسیت بالای قارچ *Candida albicans* و بـاکتری هـای گـرم مثبت به اسانس *Satureja montana* [۷]مشابه وضعیتی است که ما برای اسانس مرزه خوزستانی مشاهده کردیم. به نظر می رسد که تغییر پذیری و تنوع در اثرات مهار کنندگی اسانس ها روی میکروبهای مختلف به علـت تفـاوت در سویه های مختلف یک گونه میکروبی باشد از طرف دیگر ترکیبات اصلی سازنده اسانس در گونه هـای مختلـف گیاهی و در شرایط محیطی مختلف، متفاوت است. همچنین تحقیقات روی خواص ضد میکروبی اسانس ها همواره از فقدان یک روش آزمایشی مناسب متاثر می باشد.

استخراج و شناسایی ترکیبات سازنده اسانس در هر یک از انـواع کـرک هـای غـده ای مـرزه خوزسـتانی و مقایسه آنها با یکدیگر وتعیین رابطـه بـین ترکیبـات سـازنده اسـانس در هـر نـوع از کـرک هـای غـده ای و نقـش اکوفیزیولوژیکی آنها، بررسی اثرات ضد میکروبی اسانس موجـود در هـر نـوع از کـرک هـای غـده ای بـه صـورت جداگانه و مقایسه آنها با یکدیگر و همچنین بررسی اثر عوامل محیطی مختلف روی تغییرات کمی و کیفی ترکیبـات سازنده اسانس در گونه های مختلف گیاهان اسانس دار و اثرات ضد میکروبی آنها، موضوعاتی هستند که می بایستی در پژوهش های بعدی مورد بررسی قرار گیرند.

References:

1. Dadkhah, F., *Pharmacy Thesis*, Tehran university of Medical Sciences, Tehran (2003).
2. Radpour, M., *Pharmacy Thesis*, Tehran university of Medical Sciences, Tehran (2001).
3. Hey, R., *Volatile oil crops*, Andarz Publications, Tehran (2000).
4. Marzoughi, E., *Medical Thesis*, Lorestan University of Medical Sciences, Khorramabad (1997).
5. Momeni, K., *Volatile Oil Plants and Their Clinical Properties*, Tehran University Publications, Tehran (1997).
6. Milos, M., Radonic, A., Bezic, N. and Dunkic,V., *Flavour and Fragrance Journal*, **16**(3), 157 (2001).
7. Skocibuosic, M. and Bezic, N., 2004. *Journal of Essential Oil Research*, **21**(6), 164 (2004).
8. Farzam, H., Amanlou, M., Radpour, M. And Salehnia, A. N., *Flavour and Fragrance Journal*, **19**, 125 (2004).
9. Azaz, D., Demirci, F., Satil, F., kurkcuoglu, M., Husnu, K., and Baser, C., *J. Essent. Oil. Res*., **18,** 817 (2002).
10. Tzacou, O. and Skaltsa, H., *Planta Medica.*, **69**(3), 282 (2004).

Archive of SID

www.SID.ir