

بررسی خواص ضد باکتریایی و ضد قارچی اسانس گونه هایی از سه جنس آویشن (*Thyme*) و دو اکوتیپ کاکوتی و گونه مرزه بختیاری (*Satureja bachtiarica*)

قاسم محمد پور\*

گروه زیست شناسی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

احمد مجد

گروه زیست شناسی، دانشکده علوم زیستی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

طاهر نژاد ستاری

گروه زیست شناسی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

صدیقه مهربان

گروه زیست شناسی، دانشگاه تربیت معلم، تهران، ایران

اباصلت حسین زاده کلاگر

گروه زیست شناسی، دانشگاه مازندران، مازندران، ایران

تاریخ پذیرش: ۸۸/۱۱/۲۱

تاریخ دریافت: ۸۷/۹/۴

### چکیده

**مقدمه:** امروزه درمان طبیعی بیماری های با منشأ میکروبی با استفاده از مواد دارای منشأ گیاهی از اهمیت زیادی برخوردار می باشد.

**هدف:** در پژوهش حاضر اثر ضد میکروبی اسانس های گونه های مختلف جنس آویشن (*Thyme*) شامل آویشن کوهی مازندران، آویشن شیراز، آویشن دنیایی و نیز گیاهان کاکوتی شیراز، کاکوتی مازندران و مرزه

بختیاری، بر روی باکتریهای اشریشیاکلی، سودوموناس آئروژینوزا، استرپتوکوکوس پیوژن، استافیلوکوکوس آرتوس و همچنین دو گونه از قارچ کاندیدا آلبیکنس مورد بررسی و مقایسه قرار گرفت.

**روش:** اسانس روغنی تمام نمونه ها بعد از خشک شدن گیاهان در سایه، به روش تقطیر با آب و با استفاده از دستگاه کلونجر جداسازی شد. بررسی اثرات ضد میکروبی و ضد قارچی اسانس ها در غلظت های ۰.۱٪، ۰.۲٪، ۰.۵٪، ۱٪ و ۲٪ در DMSO با روش دیسک بلانک بر باکتریها و قارچهای مذکور انجام گرفت.

**نتایج:** حاصل از اندازه گیری قطر هاله عدم رشد در سه بار تکرار بر آزمایش نشان داد که حداقل غلظت بازدازنده (MIC) اسانس مرزه بختیاری بر روی باکتریها و قارچهای مورد آزمایش در مقایسه با اسانس دیگر گیاهان به طور معنی داری کمتر (MIC با غلظت کمتر از یک درصد) می باشد. اسانس آویشن دناایی، آویشن شیراز و آویشن مازندران بیشترین اثرات را بر روی مهار رشد باکتریها و قارچها دارند که بسته به نوع اسانس و نوع باکتری یا قارچ، شدت اثرات متفاوت است. اسانس گیاهان کاکوتی مازندران و کاکوتی شیراز در مقایسه با سایر اسانس ها کمترین اثر را بر روی گونه های مختلف باکتریها و قارچهای مورد آزمایش نشان داد.

**نتیجه گیری:** با توجه به اینکه اسانس مرزه بختیاری بیشترین اثر ضد میکروبی را در بین دیگر اسانس های گیاهی مورد بررسی در این تحقیق داشت، استفاده از اسانس این گیاه می تواند به عنوان فرآورده ای آنتی سپتیک در درمان عفونت های باکتریایی و قارچی بر علیه این میکروارگانیسم به کار گرفته شود که این مسئله نیازمند تحقیقات بیشتر می باشد.

**واژه های کلیدی:** آویشن، مرزه بختیاری، کاکوتی، اثر آنتی باکتریایی، اثر ضد قارچی، اسانس

#### مقدمه

بیماریهای با منشأ میکروبی و قارچی در زمره شناخته شده ترین بیماری هایی هستند که از گذشته تا به حال همواره گریبانگیر انسان بوده و به همین منظور تلاش های زیادی برای شناخت، کنترل و درمان این عوامل بیماریزا انجام شده است. باکتریایی نظیر استافیلوکوکوسها، استرپتوکوکوسها، سودوموناس آئروژینوزا، اشریشیاکلی و همچنین قارچ کاندیدا آلبیکنس ز جمله عوامل عفونی بیماری زا در انسان هستند که امروزه مشکلات زیادی را برای انسان به وجود آورده اند. تقریباً تمامی افراد در طول عمر خود به نوعی از عفونت های استرپتوکوکوسی (*Streptococcus*) مبتلا می شوند که عوارض آن از یک مسمومیت غذایی تا عفونت های خفیف پوستی و عفونت های تهدید کننده حیات متغیر می باشند.<sup>(۱)</sup> استافیلوکوکوس آرتوس (*Staphylococcus aureus*) به عنوان یکی از باکتریهای فلور طبیعی پوست بدن و از جمله باکتریهای های فرصت طلب در ایجاد عفونت های بیمارستانی و نیز بوی ناخوشایند بدن انسان می باشد.<sup>(۲)</sup> باکتری سودوموناس آئروژینوزا (*Pseudomonas aeruginosa*) انتشار وسیعی در خاک ها، مواد غذایی و حیوانات دارد و به عنوان یکی از مهمترین عوامل عفونت در بیماران با نقص سیستم ایمنی محسوب می شود.<sup>(۳)</sup> کاندیدا آلبیکنس (*Candida albicans*) به عنوان یکی از مهمترین عوامل تولید

کننده برخی بیماریها و جزء فلور طبیعی بدن است که موجب عفونت در زیربغل، واژن و ناخن دست و پا می گردد.<sup>(۴)</sup>

امروزه تعداد زیادی از داروهای ضد قارچی و ضد باکتریایی موثر برای درمان این عوامل عفونی به کار گرفته می شوند، اما با توجه به تنوع ژنتیکی ایجاد شده در عوامل بیماریزای میکروبی و پیدایش سویه های مقاوم و همچنین عوارض جانبی ناشی از مصرف این داروها، جایگزین کردن آنها توسط داروهای ضد میکروبی با منشاء گیاهی از اهمیت ویژه ای برخوردار بوده و سبب تحقیقات در زمینه یافتن داروهای گیاهی بدون عوارض جانبی شده است. بنابراین با توجه به تنوع آب و هوایی و تنوع فلور گیاهی در ایران، شناسایی مواد موثر گیاهان بومی کشور و استخراج آنها به منظور تولید انبوه و در سطح صنعتی آنها اهمیت زیادی پیدا کرده است. این کار در مورد گیاهانی از جمله مرزه بختیاری که منحصر بومی ایران بوده و کمتر مورد بررسی قرار گرفته است از اهمیت ویژه ای برخوردار می باشد.<sup>(۶)</sup>

آویشن (*Thyme*) و مرزه (*Satureja*) از جمله گیاهانی هستند که نه تنها کاربردهای فراوانی در طب سنتی دارند بلکه به دلیل داشتن ترکیبات فنلی، تیمول و کارواکرول فعالیت ضد میکروبی آنها بر روی برخی از ایزوله های قارچی تا حدودی به اثبات رسیده است.<sup>(۷-۹)</sup> بررسیهای انجام شده بر روی تجزیه و تحلیل ترکیبات شیمیایی اسانس گونه های *Satureja* و *Thyme* نیز نشان دهنده شباهتهای زیادی بین این دو گروه می باشد.<sup>(۷-۹)</sup> به همین منظور شناخت مقایسه ای خواص ضد باکتریایی و ضد قارچی گونه های آویشن و مرزه می تواند به شناسایی هر چه بهتر این گیاهان کمک کرده، منجر به بهره وری و انتخاب مناسبتری از گونه های با ارزش گیاهی به عنوان منابع مواد ضد میکروبی طبیعی گردد.

در پژوهش کنونی خواص ضد میکروبی و ضد قارچی سه جنس از آویشن (آویشن شیرازی، آویشن دنائی، آویشن کوهی مازندران) به همراه دو اکوتیت از کاکوتی ( کاکوتی مازندران و کاکوتی شیراز) و مرزه بختیاری بر روی رشد باکتریهای استافیلوکوکوس اورئوس، استرپتوکوکوس بیوژن، سودوموناس آئرجینوزا و اشریشیاکلی و قارچ کاندیدا آلبیکنس با استفاده از روش دیسک گذاری مورد بررسی و مقایسه قرار گرفت.

## مواد و روشها

### استخراج اسانسهای روغنی

گیاهان آویشن شیراز (*Zataria multiflora* L.)، آویشن کوهی مازندران (*Thymus pabescens*)، آویشن دنایی (*Thymus pabescens*)، کاکوتی شیراز (*Ziziphora clinopodioides*) و کاکوتی مازندران (*Ziziphora clinopodioides*) و مرزه بختیاری (*Satureja bachtiarica*) در طول سالهای ۸۶ و ۸۷ از استانهای فارس و مازندران جمع آوری شدند. بعد از شناسایی و تایید نام علمی گیاهان با استفاده از کلیدهای شناسایی و هماهنگی های لازم، اسانس روغنی (essential oil) تمام نمونه ها بعد از خشک کردنشان در سایه، به روش تقطیر با آب و با استفاده از دستگاه کلونجر جداسازی شد. در هر بار اسانس گیری، یکصد و پنجاه گرم از بخش های هوایی گیاه به صورت نیم کوب شده در بالون یک لیتری دستگاه کلونجر ریخته شد و مقداری آب که ۴ تا ۶ برابر وزن گیاه بود،

برای نرم شدن بافت های گیاه به آن اضافه گردید. سپس اسانس موجود در آن به مدت ۲ ساعت بعد از تقطیر، جمع آوری شد.<sup>(۸،۷)</sup>

#### سویه های میکروبی

سویه های میکروبی مورد آزمایش، شامل باکتری های اشریشیاکلی (*Escherichia coli*: 53218)، استافیلوکوکوس اورئوس (*Staphylococcus aureus* 51153)، سودوموناس آئروجینوزا (27853)، استرپتوکوکوس پیوژن (*Streptococcus pyogenes*) به صورت آمبولهای لیوفیلیزه و گونه قارچ های کاندیدا آلبیکنس (*Candida albicans* 10231 BBL) بصورت کشتهای آماده، از انستیتو پاستور ایران خریداری شدند.

#### بررسی خاصیت ضد میکروبی اسانسها

برای بررسی خاصیت ضد میکروبی اسانس ها از روش دیسک کاغذی (Disc fusion assay) با استفاده از اندازه گیری هاله عدم رشد، استفاده شد. به هر آمپول از باکتریهای ذکر شده ۰/۵ میلی لیتر از محلول BHI (Brain heart infusion) اضافه شد، محتوای آمپول حل گردید و به مدت ۱۶ تا ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه نگهداری شد. بعد از آن، ۰/۵ میلی لیتر از محلول حاوی باکتری به محیط نوترینت آگار (NA) اضافه و تلقیح گردید. برای بررسی اثرات ضد قارچی اسانسها، از کلنی قارچ نمونه برداری شد، در محیط LB حل و همگن شد. سپس ۱۰۰ میکرولیتر از این محلول روی محیط سابرو دکستروز آگار تلقیح و به مدت یک شبانه روز در دمای ۳۷ درجه نگهداری شد.

برای بررسی خواص ضد باکتریایی و ضد قارچی اسانسها، دیسک های کاغذی بلانک در سطح پلیت های حاوی محیط کشت نوترینت آگار (برای باکتریها) و محیط کشت سابرو دکستروز آگار (برای قارچ) در محل های تعیین شده قرار گرفت. سپس حدود ۲۰ میکرولیتر از غلظت های ۲۰، ۱۰، ۶/۶، ۵ و ۴ درصد اسانس در محلول DMSO روی دیسک ها اضافه شد. از دیسک های آنتی بیوتیک جنتامایسین با غلظت ۱۰ µg/ml (برای باکتریها) و نیستاتین با غلظت ۳۰ µg/ml (برای قارچ ها) به عنوان کنترل مثبت استفاده شد. سپس محیط های کشت حاوی باکتری ها به مدت ۱۶ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد و محیط های کشت حاوی قارچ ها به مدت ۲۴ تا ۳۰ ساعت در دمای ۲۰ تا ۲۵ درجه سانتیگراد نگهداری شدند. قطر هاله های عدم رشد به وسیله کولیس اندازه گیری شد. جهت بررسی مقدار MIC هر نمونه از روش رقیق سازی اسانس (broth dilution method) استفاده شد.<sup>(۱۰)</sup>

#### آنالیز آماری

مقایسه میانگین قطر هاله ها و بررسی قدرت ضد میکروبی اسانسها در مقایسه با یکدیگر با استفاده از نرم افزار SPSS و آزمون t تجزیه و تحلیل گردید. در این تحقیق مقدار p کمتر از ۰/۰۵ از لحاظ آماری معنی دار می باشد.

نتایج و بحث

در بررسی اولیه برای انتخاب درصد مناسب غلظت اسانسها، از غلظت های ۵۰، ۳۳، ۲۵، ۲۰ و ۱۶/۵ درصد اسانس ها استفاده شد قطر هاله های عدم رشد زیاد بود و به همین دلیل غلظت های کمتری از اسانسهای روغنی شامل غلظتهای ۲۰٪ (با رقت ۱/۵)، ۱۰٪ (رقت ۱/۱۰)، ۶/۶٪ (رقت ۱/۱۵)، ۵٪ (رقت ۱/۲۰) و ۴٪ (رقت ۱/۲۵) برای تمام اسانس ها انتخاب شد. نتایج حاصل از اثر غلظت های مختلف اسانس ها گیاهان بر روی میانگین هاله های عدم رشد باکتریها و قارچهای مورد آزمایش به ترتیب در نمودار شماره ۱ و ۲ نشان داده شده است. نمودار ۱- نتایج تاثیر رقت های مختلف اسانس سه جنس اویشن و مرزه بختیاری بر روی گونه های مختلف باکتریایی

MIC (%)	قطر هاله در رقتهای مختلف اسانس هر ۶ گونه گیاهی (mm)					اسانس گیاه در مقایسه با جنتامایسین	باکتری
	٪۴	٪۵	٪۶/۶	٪۱۰	٪۲۰		
۰/۸	۱۲/۸۶ ± ۰/۹۲	۱۴/۹۶ ± ۰/۲	۱۵/۲۳ ± ۰/۳	۱۶/۵۶ ± ۰/۲	۲۱/۲ ± ۰/۴۱	آویشن شیرازی	اثر سینتیک
۲/۵	۹/۰۳ ± ۰/۱۵	۹/۸ ± ۰/۱	۹/۹ ± ۰/۱	۱۰/۳۶ ± ۰/۲۹	۱۳/۱ ± ۰/۳	کاکوتی شیراز	
۰/۷	۱۴/۶ ± ۰/۱	۱۵/۶ ± ۰/۴۳	۱۶/۲۶ ± ۰/۳۲	۱۶/۴۸ ± ۰/۳۲	۲۳/۹۶ ± ۰/۲۵	آویشن کوهی مازندران	
۰/۶	۱۳/۶۳ ± ۰/۲۵	۱۶/۳۶ ± ۰/۲	۱۷/۰۶ ± ۰/۱۵	۲۰/۰۳ ± ۰/۱۵	۲۷/۹۶ ± ۰/۳۲	آویشن دنایی	
۰/۵	۱۴/۸۳ ± ۰/۲۵	۱۸ ± ۰/۲۶	۱۹/۲ ± ۰/۱	۲۲/۶۶ ± ۰/۳۲	۲۸/۹ ± ۰/۲	مرزه بختیاری	
۲/۵	۹ ± ۰/۳	۹/۲ ± ۰/۳۶	۹/۳ ± ۰/۱	۱۲/۳۶ ± ۰/۰۵	۱۳/۸۳ ± ۰/۲۵	کاکوتی مازندران	
			۱۱/۷۳ ± ۰/۴۵			جنتامایسین	
۰/۴	۱۸/۳۳ ± ۰/۳۲	۲۰/۴۳ ± ۰/۴۱	۲۲/۶ ± ۰/۲۶	۲۵/۸۳ ± ۰/۳	۲۹/۱۳ ± ۰/۲	آویشن شیرازی	سودوموناس آروژینوزا
۴	۸/۴ ± ۰/۲۶	۸/۹ ± ۰/۲	۱۰/۳۶ ± ۰/۳	۱۲/۳۶ ± ۰/۸	۲۴/۵۳ ± ۰/۳۲	کاکوتی شیراز	
۱	۱۲/۷۶ ± ۰/۱۱	۱۷/۱۶ ± ۰/۱۵	۲۰/۲۶ ± ۰/۱۵	۲۲/۷۶ ± ۰/۱۵	۲۷/۳۳ ± ۰/۳۷	آویشن کوهی مازندران	
۰/۹	۱۳/۴۳ ± ۰/۱۵	۱۹/۶۳ ± ۰/۲۵	۲۱/۵۶ ± ۰/۳۲	۲۴/۱۶ ± ۰/۲	۲۹/۹۶ ± ۰/۱۵	آویشن دنایی	
۰/۳	۱۹/۳ ± ۰/۱۷	۲۱/۳۶ ± ۰/۲۳	۲۵/۴۳ ± ۰/۱۵	۲۹/۴۳ ± ۰/۳۵	۳۲/۲۳ ± ۰/۲	مرزه بختیاری	
۵	۷/۶ ± ۰/۳۲	۹/۶ ± ۰/۰۵	۱۰/۳ ± ۰/۳۶	۱۲/۲ ± ۰/۲	۱۳/۳ ± ۰/۳۶	کاکوتی مازندران	
			۱۶/۲۶ ± ۰/۸			جنتامایسین	
۱	۱۴/۱ ± ۰/۲	۱۴/۹ ± ۰/۳	۱۵/۱ ± ۰/۲	۱۷/۲۳ ± ۰/۴۷	۲۵/۳۶ ± ۰/۴۵	آویشن شیرازی	استرپتوکوکوس آرترس
۳	۱۰/۳۳ ± ۰/۳	۱۰/۷ ± ۰/۵	۱۱/۲ ± ۰/۳	۱۱/۶ ± ۰/۳	۱۴/۲۳ ± ۰/۵۵	کاکوتی شیراز	
۱/۵	۱۲/۴ ± ۰/۴	۱۲/۹ ± ۰/۲	۱۳/۵۳ ± ۰/۶۱	۱۴/۸ ± ۰/۴	۲۳/۷ ± ۰/۵۲	آویشن کوهی مازندران	
۰/۹	۱۵/۰۶ ± ۰/۱۵	۱۶/۶ ± ۰/۵۵	۱۹/۷ ± ۰/۴۵	۲۱/۷۳ ± ۰/۴	۲۴/۳ ± ۰/۴۵	آویشن دنایی	
۰/۷	۱۶/۰۳ ± ۰/۳	۱۸ ± ۰/۲۴	۲۰/۶۳ ± ۰/۳۷	۲۳/۷۳ ± ۰/۳۵	۲۷/۶ ± ۰/۴۳	مرزه بختیاری	
۳	۹/۱ ± ۰/۲۶	۹/۸ ± ۰/۲	۱۰/۵ ± ۰/۲۶	۱۱/۴۶ ± ۰/۳۵	۱۲/۴ ± ۰/۲	کاکوتی مازندران	
			۱۸/۹ ± ۰/۵			جنتامایسین	
۰/۹	۱۵/۲ ± ۰/۵۵	۱۵/۳۳ ± ۰/۴۷	۱۸/۴ ± ۰/۴۵	۱۸/۷ ± ۰/۴۵	۳۰/۴۳ ± ۰/۱۵	آویشن شیرازی	استرپتوکوکوس پیوژن
۲	۱۰/۹۳ ± ۰/۳۲	۱۱/۱۳ ± ۰/۳۸	۱۱/۲ ± ۰/۴	۱۱/۳ ± ۰/۴۵	۱۹/۶ ± ۰/۱	کاکوتی شیراز	
۰/۹	۱۵/۴ ± ۰/۶	۱۵/۸ ± ۰/۵۲	۱۶/۶ ± ۰/۴۵	۱۷/۹۳ ± ۰/۴۵	۲۷ ± ۰/۲۵	آویشن کوهی مازندران	
۱	۱۶/۱ ± ۰/۲۵	۱۷/۰۳ ± ۰/۳۲	۱۷/۳ ± ۰/۴۵	۱۸/۸۶ ± ۰/۱۵	۲۶/۱ ± ۰/۲۵	آویشن دنایی	
۰/۷	۱۵/۸ ± ۰/۳۷	۱۶/۷۶ ± ۰/۶۶	۱۶/۹ ± ۰/۲	۱۸/۹ ± ۰/۲	۲۴/۴ ± ۰/۴	مرزه بختیاری	
۳	۱۰/۳ ± ۰/۳۶	۱۰/۹ ± ۰/۳	۱۱/۷۳ ± ۰/۶	۱۱/۹ ± ۰/۴۵	۱۳/۳۶ ± ۰/۴۵	کاکوتی مازندران	
			۱۷/۶ ± ۰/۱			جنتامایسین	

## نمودار ۲- نتایج تاثیر رقت های مختلف اسانس سه جنس اویشن و مرزه بختیاری بر روی کاندیدا آلبیکنس

MIC (%)	قطر هاله در رفتهای مختلف اسانس هر ۶ گونه گیاهی (mm)					فارق اسانس گیاه در مقایسه با نیستاتین
	٪۴	٪۵	٪۶/۶	٪۱۰	٪۲۰	
۱	۱۰/۰۳ ± ۰/۳۲	۱۰/۱۶ ± ۰/۴	۱۱/۹۶ ± ۰/۷۳	۱۹/۳ ± ۰/۳۷	۲۸/۰۶ ± ۰/۸	آویشن شیرازی
۴	۷/۷ ± ۰/۲	۷/۸۶ ± ۰/۲	۹/۳ ± ۰/۳۵	۱۴/۱۶ ± ۰/۴۷	۱۶/۳ ± ۰/۵۲	کاکوتی شیراز
۳	۸/۵ ± ۰/۴۵	۸/۹ ± ۰/۵۵	۱۰/۷ ± ۰/۴	۱۷/۱ ± ۰/۱	۲۴/۴ ± ۰/۵۶	آویشن کوهی مازندران
۰/۸	۱۱/۶ ± ۰/۷۷	۱۳/۱۶ ± ۰/۲۵	۱۴ ± ۰/۶	۲۱/۸۳ ± ۰/۳	۳۳/۸ ± ۰/۱۵	آویشن دنایی
۱	۱۰/۸ ± ۰/۴	۱۲ ± ۰/۷۵	۱۲/۴ ± ۰/۳	۱۹/۸ ± ۰/۴۳	۲۸/۷ ± ۰/۶	مرزه بختیاری
۴	۶/۷ ± ۰/۰۱	۶/۹ ± ۰/۰۵	۸/۹۳ ± ۰/۳۲	۱۲/۳ ± ۰/۴۵	۱۵/۸ ± ۰/۶	کاکوتی مازندران
			۲۲/۱ ± ۰/۶۱			نیستاتین
			۱۹/۳۶ ± ۱/۱			نیستاتین

کاندیدا آلبیکنس

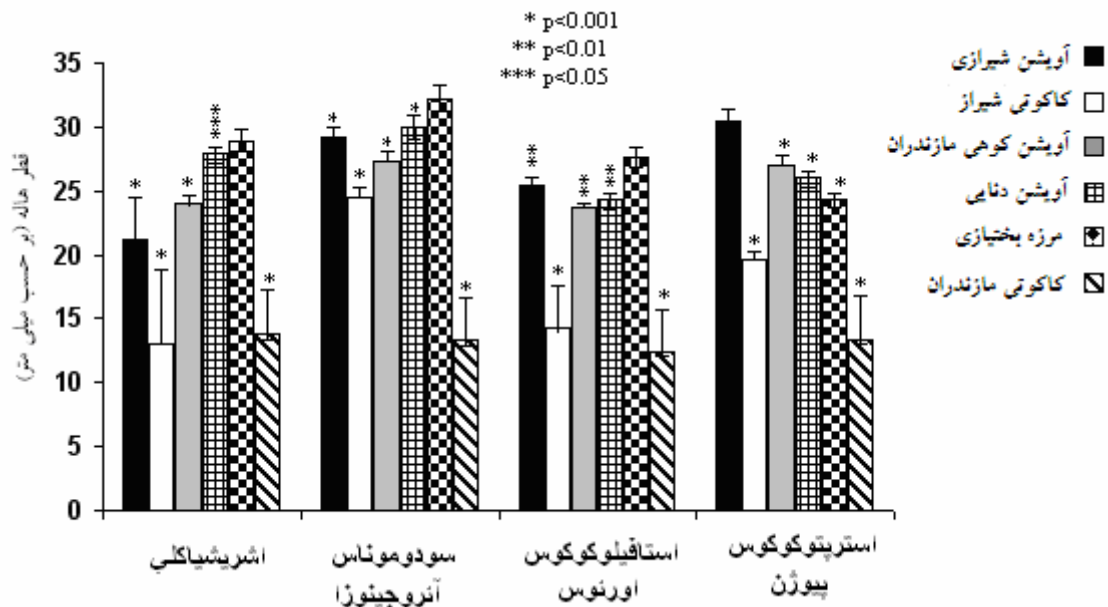
نتایج آزمایشها نشان داد که از میان اسانس های اثر داده شده بر روی باکتری اشیریشیاکلی، اسانس گیاه مرزه بختیاری با داشتن کمترین غلظت (غلظت ۰/۵ درصد) بیشترین اثر را بر روی این باکتری دارد و از این لحاظ در مقایسه با اسانس گیاه آویشن دنایی در سطح  $P < 0.05$  و در مقایسه با اسانس سایر گیاهان مورد آزمایش در سطح  $P < 0.001$  اختلاف معنی داری نشان می دهد. پس از آن اسانس آویشن دنایی، آویشن کوهی مازندران، آویشن شیراز، کاکوتی کوهی مازندران و کاکوتی شیراز به ترتیب بیشترین اثر مهار کنندگی را بر روی رشد این باکتری داشتند (نمودار ۱).

از میان اسانس های اثر داده شده بر روی باکتری سودوموناس آئروژینوزا، اسانس گیاه مرزه بختیاری بیشترین اثر را بر روی مهار رشد این باکتری داشت و از این لحاظ در مقایسه با اسانس سایر گیاهان دارای اختلاف معنی داری در سطح ( $P < 0.001$ ) بود. پس از آن اسانس گیاهان آویشن دنایی، آویشن شیرازی، کاکوتی کوهی مازندران و کاکوتی شیراز به ترتیب بیشترین اثر را بر روی این باکتری داشتند (نمودار ۱).

از میان اسانس های اثر داده شده بر روی باکتری استافیلوکوکوس ارئوس، اسانس گیاهان مرزه بختیاری بیشترین اثر را بر روی این باکتری داشت و از این لحاظ در مقایسه با اسانس گیاهان آویشن شیرازی، آویشن دنایی و آویشن مازندران در سطح  $P < 0.01$  و با اسانس گیاهان کاکوتی شیراز و کاکوتی کوهی مازندران در سطح  $P < 0.001$  اختلاف معنی دار نشان داد (نمودار ۱). پس از آن اسانس گیاهان آویشن شیرازی، آویشن دنایی و آویشن مازندران به ترتیب بیشترین اثر را بر روی این باکتری داشتند که از این لحاظ نسبت به اسانس های کاکوتی شیراز و کاکوتی مازندران دارای اختلاف معنی داری در سطح  $P < 0.001$  بودند.

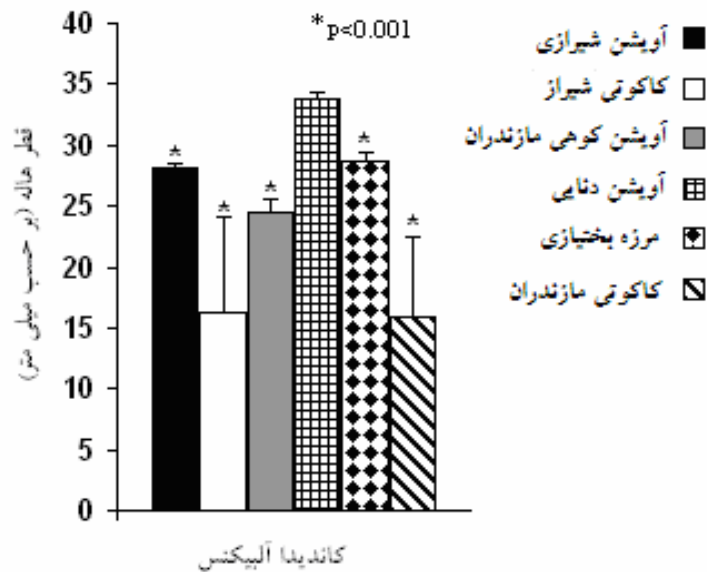
از میان اسانس های اثر داده شده بر روی باکتری استرپتوکوکوس بیوژن، اسانس گیاه آویشن شیرازی به طور معنی داری  $P < 0.001$  در مقایسه با دیگر اسانسها بیشترین اثر را بر این باکتری نشان داد. پس از آن اسانس آویشن دنایی، آویشن مازندران و مرزه بختیاری به ترتیب تاثیر قابل توجهی بر روی این باکتری نشان دادند که تاثیر

آنها در مقایسه با اسانس گیاهان کاکوتی کوهی مازندران و کاکوتی شیراز به طور معنی داری ( $P < 0.001$ ) بیشتر می باشد (نمودار ۱).



نمودار ۱- مقایسه اثر غلظت ۲۰ درصد اسانس گیاهان مختلف بر روی باکتریها

از میان اسانس های اثر داده شده بر روی قارچ کانیدیدا آلبیکنس، اسانس گیاه آویشن دنایی به طور معنی داری بیشترین اثر را بر روی این قارچ، در مقایسه با سایر گیاهان داشته است ( $P < 0.001$ ). پس از آن اسانس های مرزه بختیازی و آویشن شیرازی در مقایسه با دیگر اسانسها به طور معنی داری ( $P < 0.001$ ) بیشترین اثر را به ترتیب بر روی این قارچ داشتند. پس از این گروه، اسانس آویشن مازندران اثر قابل ملاحظه ای بر روی این قارچ داشت و تاثیر آن در مقایسه با اسانس های کاکوتی کوهی مازندران و کاکوتی شیراز به طور معنی داری بیشتر بود ( $P < 0.001$ ) (نمودار ۲).



نمودار ۲- مقایسه اثر غلظت ۲۰ درصد اسانس گیاهان مختلف بر روی قارچ کانیدیدا آلبیکنس

همانگونه که نتایج این پژوهش نشان داد، اسانس گیاهان آویشن و مرزه بختیاری دارای خاصیت ضد باکتریایی و ضد قارچی است که این خصوصیت بسته به جنس گیاه، باکتری و قارچ متفاوت می باشد. نتایج بدست آمده از اندازه گیری قطر هاله عدم رشد نشانگر این است که اسانس گیاه مرزه بختیاری اثر ضد باکتریایی قوی تری در مقایسه با سایر اسانس ها دارد. به طوری که در غلظت های ۰/۵ درصد از رشد باکتری اشیریشیاکلی، ۰/۳ درصد از رشد باکتری سودوموناس آئروژینوزا، ۰/۷ درصد از رشد باکتری استافیلوکوکوس آئروس و استرپتوکوک پیوژن ممانعت می کند. با توجه به MIC بدست آمده، اسانس این گیاه بیشترین اثر ضد باکتری را به ترتیب بر روی باکتری های سودوموناس آئروژینوزا، اشیریشیاکلی، استافیلوکوکوس آئروس و استرپتوکوک پیوژن دارد. همچنین مقایسه اندازه گیری قطر هاله عدم رشد اسانس این گیاه نشان داد که این گیاه اثر مهار کننده قابل توجهی بر روی رشد قارچ کاندیدا آلیکنس دارد، به طوری که در غلظت های یک درصد بر روی رشد کاندیدا آلیکنس اثر مهار کننده نشان می دهد. سفید کن و همکاران<sup>(۱۱)</sup> نیز در تحقیقات خود، قدرت مهار کنندگی و میکروب کشی زیاد اسانس گیاه مرزه، از جمله مرزه بختیاری را گزارش کرده و احتمال داده اند که این خواص به دلیل حضور تیمول و کارواکرول زیاد در اسانس این گیاهان باشد. همچنین در تحقیق دوستی و همکاران<sup>(۱۲)</sup> اثرات ضد میکروبی اسانس مرزه خوزستانی بر روی باکتریهای گرم مثبت (استافیلوکوکوس اورئوس و استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس) و باکتریهای گرم منفی (استرپتوکوک پارا تیقی و اشیریشیاکلی) و قارچ کاندیدا آلیکنس گزارش شده است.

مقایسه اسانس سه گونه از آویشن شامل آویشن دناپی، آویشن شیرازی و آویشن مازندران بیانگر این موضوع است که اسانس این گیاهان نیز اثر مهارکننده قابل توجهی بر روی رشد باکتریها و قارچها دارد و بیشترین اثر آنها بر روی باکتری اشیریشیاکلی می باشد. نتیجه این تحقیق با نتایج حاصل از تحقیق مارینو و برسانی در سال ۱۹۹۹ همسو می باشد. مارینو و برسانی نشان دادند که اسانس گیاهان آویشن فعالیت باکتری کشی زیادی بویژه بر باکتری اشیریشیاکلی دارد.<sup>(۱۳)</sup> در پژوهش حاضر نیز بیشترین اثر اسانس گیاهان آویشن بر روی باکتری اشیریشیاکلی دیده شد. اسانس آویشن دناپی با MIC برابر با ۰/۶ درصد، بیشترین قدرت مهار کنندگی رشد را نسبت به اسانس آویشن شیرازی (با MIC= ۰/۸٪) و آویشن مازندران (MIC= ۰/۸٪) نشان داد نتایج آزمایشهای ما در مورد اثرات ضد میکروبی اسانس آویشن مخصوصاً آویشن شیرازی بر روی باکتری سودوموناس آئروژینوزا با گزارشهای طباطبایی نژاد و همکاران در سال ۲۰۰۲<sup>(۱۴)</sup> و نیز گزارشهای فراهانی کیا و همکاران<sup>(۱۵)</sup> که برای عصاره و اسانس گیاه آویشن (مخصوصاً آویشن شیرازی) اثر ضد میکروبی قابل توجهی را بر علیه باکتری سودوموناس آئروژینوزا مشاهده نکردند متفاوت است. این تفاوت می تواند به محل و زمان جمع آوری نمونه ها، سوبه باکتری مورد آزمایش، زمان و نحوه تهیه اسانس وابسته باشد. در آزمایشهای پژوهش حاضر اسانس گیاه آویشن شیرازی با MIC برابر با ۰/۴٪ بیشترین اثر بازدارندگی را بر روی رشد باکتری سودوموناس آئروژینوزا، در مقایسه با اسانس آویشن دناپی (با MIC برابر با ۰/۹٪) و آویشن مازندران (با MIC برابر با ۰/۱٪) نشان داد. از طرفی اسانس آویشن دناپی با MIC برابر با ۰/۹ درصد اثر بازدارندگی بالاتری بر روی رشد باکتری استافیلوکوکوس آئروس در مقایسه با آویشن شیرازی (با MIC برابر با ۱٪) و آویشن مازندران (با MIC برابر با ۱/۵٪) داشت. اسانس های آویشن شیرازی و آویشن مازندران با MIC های یکسان ۰/۹ درصد اثر بازدارندگی بالاتری در مقایسه با اسانس آویشن دناپی (با MIC



برابر ٪ ۱) بر روی باکتری استرپتوکوکوس پیوژن داشتند. این نتایج حساسیت متفاوت باکتریها و نیز وجود تفاوتی در ترکیب اسانس گیاهان مورد آزمایش را مشخص می سازد. اثرات ضد قارچی اسانس گیاهان آویشن بر روی رشد قارچها از جمله قارچ کاندیدا آلبیکنس با گزارشهای کارمان و دیگاک<sup>(۱۶)</sup> مشابه است. در این تحقیق نیز اثرات ضد قارچی اسانس این سه گونه از آویشن بر روی رشد قارچ کاندیدا آلبیکنس مورد بررسی قرار گرفت و نتایج نشان داد که اسانس آویشن دنیایی بیشترین اثر ضد قارچی را در بین اسانس این سه گونه گیاه آویشن دارد، به طوری که کمترین غلظت مهار کنندگی آن بر روی قارچ کاندیدا آلبیکنس برابر با ۰/۸ درصد است. اسانس آویشن کوهی مازندران در غلظت های کمتر از ۳ یا ۴ درصد تاثیر قابل توجهی بر روی رشد قارچ ها نداشت و بیشترین تاثیر آن در غلظت های بالای ۴ درصد دیده شد.

اسانس کاکوتی مازندران و کاکوتی شیراز در مقایسه با اسانس دیگر گیاهان مورد آزمایش خاصیت ضد باکتریایی و ضد قارچی بسیار پائین تری داشتند. نتایج آزمایشهای ما در این زمینه با گزارشهای کیوانک و آگگول (۱۹۸۶) و گزارشهای صالحی و همکاران در سال ۲۰۰۵ همسویی دارد.<sup>(۱۷ و ۱۸)</sup> این محققان نیز گزارش کرده اند که اسانس کاکوتی تاثیر بر باکتری سودوموناس آئرژینوزا ندارد ولی میتواند از رشد باکتریهای گرم منفی مثل اشیشیاکلی جلوگیری نماید. از طرفی اثر اسانس کاکوتی کوهی که برای غلظت های بالای ۳٪ نقش مهار کننده بر باکتریهای گرم مثبت نظیر استافیلوکوکوس ارئوس مشاهده کردیم با گزارشهای کیوانک و آگگول (۱۹۸۶) و صالحی و همکاران در سال ۲۰۰۵ مشابه است.<sup>(۱۷ و ۱۸)</sup> مقایسه خاصیت ضد قارچی اسانس دو اکوتیپ کاکوتی نشان داد که اثرات ضد قارچی آنها در غلظت های کمتر از ۵ درصد مناسب نبوده و از این لحاظ در مقایسه با سایر اسانس های گیاهی در این تحقیق کمترین اثر ضد قارچی را داشتند.

نتایج حاصل از این تحقیق نشان می دهد که اسانس گیاه مرزه بختیاری بیشترین خاصیت ضد باکتریایی و ضد قارچی را در مقایسه با اسانس های گیاهان دیگر مورد آزمایش دارد. با توجه به این نتایج می توان از اسانس این گیاه و فرآورده های آن برای درمان برخی از عفونت ها استفاده نمود که البته این مسئله تحقیقاتی را بر روی نمونه های حیوانی آزمایشگاهی نیاز دارد. از طرفی با توجه به محدودیت های روز افزون استفاده از مواد شیمیایی ضد میکروبی نظیر عوارض جانبی و ایجاد مقاومت دارویی، نیاز به جایگزینی این مواد با مواد طبیعی از جمله اسانس های این گیاهان دارد و می تواند در کنترل بیماریها مفید باشد.

## References:

1. Davies, J., and Webb, V., *The Emerging Infections. Academic Press San Diego. Chapter, 8*, 229, (1998).
2. Rohde, h., Kalizky, M., Kroger, N., Scherpe, S., Horstkotte, M.A., Zander, A.R. and Mark, D., *J. Clin. Microbiol.*, **42**, 5614 (2004).
3. Pollack, M., *Pseudomonas areuginosa. In: mandell CL, Bennett JE, Dolin R, eds. Principles and practice of infectious Diseases. 5<sup>th</sup> ed., New york, Ny: churchill livingstone (2000).*

4. Sullivan, D., Moran, G.P., Pinjon, E., Al-Mosaid, A., Stokes, C., and Coleman, D.C., *FEMS Yeast Res.*, **4**, 369 (2004).
5. Nenoff, P., Herrmann, J., and Graser, Y., *J. D. D. G.*, **5**, 198 (2007).
6. Feyzi, M.T., *Introduction of the Satureja Bakhtiarica and its Ecological Characteristic in Esfahan Province.*, Proceeding of National Iranian Congress of Medical Plants, Iran (2002).
7. Cruz, T., Cabo, M., Castillo, M., *Phytotherapy Res.*, **7**, 92 (2006).
8. Jose, M.P. and Iacopini, P., *Food Chem.*, **104**, 889 (2007).
9. Skocibusic, M. and Bezic, N., *Food Chem.*, **96**, 20 (2006).
10. Amanlou, M., Fazeli, M.R., Arvin, A., and Amin, H.G., *Fito Terapia*, **75**, 768 (2004).
11. Sefidkon, F., Askari, F. and Sadeghzadeh, L., *Antimicrobial Activity of the Essential Oil of Satureja Mutica, S. Edmondi, S. Bachtiarica and Zataria Multiflora Against Salmonella paratyphi.*, The 3<sup>rd</sup> Congress of Medical Plant, Shahed University, Tehran (2007).
12. Dosty, B., Majd, A., and Nejadstary, T., *Ph.D Thesis: Ontogenical and Ultrastructural Studies of Glandular Trichomes and Essential Oil Analysis and Antimicrobial of Satureja khuzistanica j in Vegetative and Generative Stages*, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran (2007)
13. Marino, M., and Bersani, C., *J. Food Prot.*, **62**, 1017 (1999).
14. Tabatabai Nejad, S., *Antimicrobial Effect of Zataria Multiflora on Psuedomonas Auruginoza.* (2003). The 3<sup>rd</sup> Congress of Medical Plant, Shahed University, Tehran (2007).
15. Farahanikia, B., Khanavi, M., Samadi, N., Janbakhsh, S., and Hadijiakhoondi, A., *Antibacterial Activity of Five Thymus Species Essential Oils. The 3<sup>rd</sup> Congress of Medical Plant*, Shahid University, Tehran (2007).
16. Karaman, S., and Digrak, M., *J. Ehnopharmacology*, **76**, 183 (2001).
17. Kivanc, M., and Akguel, A., *Flavour. Fragr. J.*, **1**, 175 (1986).
18. Salehi, P., Sonboli, A., Eftekhari, F., Nejad-Ebrahimi, S., and Yousefzadi, M., *Iran. Biol. Pharm. Bull.*, **28**, 1892 (2005).