دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارسنجان

مجله اکوفیزیولوژی گیاهی

سال پنجم، شماره سیزدهم،

بررسی خصوصیت ضد باکتریایی و ترکیب‌های شیمیایی اسانس حاصل از گیاه آویشن شیرازی(*Thymus Lancifolious*) در منطقه گریت–استان لرستان

کلثوم کرمی[۱]، امیر حیدری جمشیدی[۲]، علی آریاپور[۳]

تاریخ دریافت: ۹۱/۱۱/۲۵ تاریخ پذیرش: ۹۲/۵/۲۰

چکیده

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 اندام‌های هوایی گونه گیاهی *Thymus lancifolious* و بررسی اثر ضد میکروبی عصاره گونه مذکور می‌باشد. نمونه‌های گیاهی در سال ۱۳۹۰ از مناطق مختلف منطقه گریت از استان لرستان و در مرحله گلدهی از گیاه برداشت شد. 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 ٤ 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. eriocalyx* 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 ٤٥ ترکیب در اسانس خود دارد که در مجموع ۹۵/۸۵ درصد کل اسانس را تشکیل می‌دهند. ترکیبات اصلی آن شامل کیمول (۳/۲٦ درصد)، کارواکرول (۵۲/۳٤ درصد)، تیمول (۱٦/٤۳ درصد) و گاما ترپینن (۱۰/۸٦ درصد) می‌باشد. همچنین نتایج حاصله در خصوص اثر ضد میکروبی نشان داد که عصاره‌های گونه‌ی مورد نظر دارای اثرات ضد باکتریایی می‌باشد.

واژه های کلیدی: *Thymus lancifolious*، اسانس، اثرات ضد میکروبی، خصوصیات بوتانیکی، تیمول

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی واحد بروجرد، باشگاه پژوهشگران جوان- مسئول مکاتبات. پست الکترونیک: karamik65@gmail.com

۲-کارشناس ارشد زراعت و اصلاح نباتات سازمان جهاد کشاورزی استان لرستان

۳- عضو هیئت علمی دانشگاه آزاد اسلامی واحد بروجرد

مقدمه

استفاده از گیاهان اسانس‌دار در ایران از سابقه طولانی برخوردار می‌باشد و اسانس‌ها به دلیل نقش دارویی 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، راه کارهای ویژه‌ای را در طب گیاهی گشوده اند. 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 اجزاء 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، ١٣٨٤). عده زیادی از گیاهان تیره نعناع، سریعاً تحت تأثیر شرایط متفاوت محیط زندگی سازگاری می‌یابند. مانند انواعی از گونه‌ها 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 می شود، یا کناره پهنک برگ‌های آنها به سمت پائین خمیدگی حاصل می‌کند و یا روزنه‌ها، به حالت فرو رفته در بشره باقی می‌ماند و یا ممکن است هیپودرم در آنها به صورت کاملاً کلانشیمی درآید و یا برگ حالت نسبتاً ضخیم و چرمی پیدا کند و حتی سطح آن ممکن است کاهش می‌یابد، به حدی که به کلی از بین برود (زرگری، ١٣٧٥). نتایج تحقیق گرسباش (٢٠٠٢)، باران و همکاران (٢٠٠٨) و بویسیلی (٢٠٠٩) نشان داد که در سطح اپیدرم برگ گونه‌های، *Prostanthera ovalifolia*، *Salvia argentea*، *Schistostephium heptalobium* از خانواده نعناء کرک‌های غده‌ای وجود دارد.

آویشن گیاهی است پایا و دارای نمونه‌هایی به اشکال متفاوت و متمایز از یک دیگر، بطوری که در بین آنها پایه‌هایی با ساقه مدور یا چهارگوش و فرم‌هایی با ریشه‌های نابجا در ناحیه ساقه‌ی خوابیده‌ی گیاه با زمین، دیده می‌شود. پایه‌های متعدد آن، غالباً به صورت انبوه، سطح زمین محل رویش را فرا می‌گیرد. از مشخصات آن این است که برگ‌های متقابل، کوچک بیضوی، نوک تیز و به درازی یک سانتی‌متر 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 مخصوصاً منطقه مدیترانه و همچنین در برخی نقاط آسیا، مانند قفقاز، سیبری در آفریقا و آمریکای شمالی می‌روید. گل‌های آن

در فروردین تا اوایل پائیز 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 کنندهٔ 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 مبرم به تحقیقات 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، اشتغال زایی و صادرات غیرنفتی داشته باشند. در بررسی بعمل آمده 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 *Staphylococcus. Aureus* اثر باکتری کشی داشته اما عصاره‌های متانولی این گیاهان روی همه باکتری‌ها و برخی قارچ‌های مورد آزمایش اثر مهار شده داشتند. عصاره‌های متانولی در مرحله زایشی گیاه خواص ضد میکروبی داشته 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 (۱۳۸٦) روی اسانس گیاه *T. eriocalyx* مشخص شد که ترکیبات شاخص این گیاه تیمول (٦۳/۸ درصد)، بتاکاریوفیلن (۱۳/۳درصد) و سیس سابینن هیدروکساید (۸/۱درصد) می‌باشند. طی مطالعاتی که روی گیاه *Eremosta chyspulvinaris* از تیره نعناع، انجام گرفت سه نوع آنتی اکسیدان phenyl، ethanoil، glycosides در ریزوم این گیاه شناسایی شدند(دل آزار، ۲۰۰٤). کارمان و همکاران (۲۰۰۱) اثرات باکتریواستاتیکی قوی اسانس برخی از گیاهان تیره نعناع از جمله *Thymus revolatus* را بر باکتری گرم مثبت استافیلوکوک طلایی بررسی کردند. رسولی و همکاران (۲۰۰۲) اثرات باکتریوسیدی برخی از گیاهان تیره نعناع از جمله *Thymus bubesgus* را بر باکتری گرم مثبت استافیلوکوک طلایی و باکتری گرم منفی اشرشیا را نشان دادند. در تحقیق میگوئل و همکاران (۲۰۰۳) بر اسانس گونه *T. caespititius*، آلفا ترپینئول، لینالول، استات لینالیل و ۸و۱ سینئول به عنوان ترکیب‌های شاخص گونه ی مذکور شناخته شد. نتیجه پژوهش امین (۲۰۰٤) روی فعالیت ضد میکروبی *Micromeriacilica* بر 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. نیک آور و همکاران (۲۰۰۵)، در مطالعه‌ای که روی اسانس اندام هوایی گیاه *T. daenensis* انجام دادند، ترکیبات شاخص این گونه را تیمول (٤۷ درصد)، پی سیمن (٦/۵ درصد)، بتا کاریوفیلن (۳۸ درصد) و متیل کارواکرول (۳/٦ درصد) اعلام نمودند. نیک آور (۲۰۰۵) در بررسی دیگری روی اسانس اندام هوایی گیاه *T. kotschyanus* نتیجه گرفت، تیمول با (۳۸/٦ 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 بورنئول به عنوان ترکیبات اصلی اسانس گیاه شناسایی شدند. همچنین تحقیقات به عمل آمده در مورد این گونه روی 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 ۱۵-۵ mg/ml می‌باشد همچنین فعالیت ضد میکروبی بر روی ۲ باکتری باسیلوس سابتیلوس و پزودوموناس، آئرو ژینوزا بیشترین حد را داشته است. تحقیقات بوناتریوو همکاران (۲۰۰۷) بر روی گیاه *Thymus capitatus* نشان داد که گونه مذکور علاوه بر فعالیت آنتی اکسیدانی دارای اثرات ضد میکروبی روی باکتری-های باسیلوس سراوس گونه سالمونلا تیفی، لیستریا اینوکوا، ٤ سوش استافیلوکوکوس اورئوس و یک شکل مقاوم 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 ماریا روتا و همکاران (۲۰۰۸) روی سه گونه آویشن با نام‌های *T. vulgaris*، *T. hyemalis* و *T .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 بیماری زا مورد بررسی قرار گرفت و نتایج حاصل نشان داد که ترکیبات موثره سه گونه‌ی مذکور دارای خصوصیات ضد میکروبی بوده و منبعی بالقوه از اجزاء ترکیبی آنتی باکتریال برای صنعت تغذیه می‌باشند.

هدف از این پژوهش معرفی گیاه *Thymus lancifolious* بعنوان گیاه دارویی که در استان لرستان پراکنش دارد، 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 بهره‌برداری‌های 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، می-باشد. بر این اساس تجزیه و شناسایی ترکیبات اسانس گونه‌ی *Thymus lancifolious* همچنین ساختارهای ترشح کننده اسانس، و بررسی اثرات میکروبی، مورد تحقیق قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری گیاه مورد بررسی

گونه *Thymus lancifolious* از منطقهٔ گریت، استان لرستان از فروردین ماه تا تیرماه سال ۱۳۹۰ در مراحل مختلف رویشی قبل از گلدهی، زمان گلدهی و بعد از گلدهی جمع آوری گردیده و پس از جمع‌آوری جهت شناسایی به مؤسسه جنگل‌ها و مراتع کشور منتقل نموده، شناسایی و نامگذاری شد. بعد از شناسایی گونه ی مذکور، اقدامات بعدی شامل جمع آوری، بررسی مورفولوژیکی، خشک کردن و آماده کردن نمونه‌ها جهت اسانس‌گیری و آنالیز مواد مؤثره انجام گرفت.

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 برش گیری، برش‌های گرفته شده را پس از رنگبری و خنثی سازی با رنگ آمیزی مضاعف، رنگ آمیزی 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 طیف نگار 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 آدامز (۲۰۰٤) و دیگر منابع، طیف‌های مربوط به هر جسم تفسیر و ترکیب‌های تشکیل دهنده اسانس و فرمول شیمیایی آن‌ها شناسایی شد (دیویس، ۱۹۹۰؛ آدامز، ۲۰۰٤).

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

اسانس حاصل از گونه *T. kotschyanus* در مرحله گلدهی به یک دستگاه در شرایط مشابه و یکسان تزریق شد. اسانس گیاه مورد نظر پس از آماده سازی، به دستگاه GC/MS تزریق گردید تا نوع ترکیب‌های تشکیل دهنده آنها مشخص شود. دستگاه گاز کروماتوگرافی استفاده شده از نوع Agilent٦٨٩٠ با ستون به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلیمتر 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 ۲٤۰ 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 سانتیگراد 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 مدل Agilent٥٩٧٣ با ولتاژ یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت، روش یونیزاسیون EI و دمای منبع یونیزاسیون ۲۲۰ درجه سانتیگراد بود. شناسایی طیف‌ها به کمک شاخص بازداری آنها و مقایسه آن با شاخص‌های موجود در کتب مرجع و مقالات و با استفاده از طیف‌های 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 عصارهٔ گیاه از روش انتشار در آگار توسط دیسک کاغذی برای عصاره‌ها و از روش دیسک کاغذی جهت آنتی بیوگرام-ها استفاده شد.

روش تهیه محلول میکروبی جهت تلقیح به آگار

روشی که معمولاً برای تهیه شیرابه میکروبی توصیه می‌شود، تلقیح به آگار نام دارد. 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 ATCC

دیسک‌های آنتی بیوگرام به کار رفته عبارت بودند از: ۱-پنی‌سیلین ۲-جنتامایسین ۳-سفازولین ٤- نورفلوکساسین

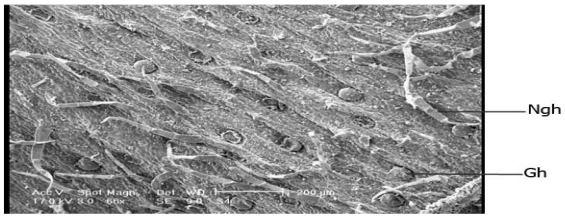
در این تحقیق غلظت‌های مختلف ۲۰، ٤۰، ٦۰، ۸۰، ۱۰۰ درصد عصاره متانولی و غلظت ۱۰۰ درصد عصاره اتانولی در نظر گرفته شد. دیسک‌های کاغذی استریل آنتی بیوگرام در سطح پلیت به عنوان عامل کنترل مثبت، قرار گرفت. در هر پلیت از سه آنتی بیوگرام با فاصله مناسب استفاده شد. بعد از قرار دادن دیسک‌ها در داخل هر پلیت به کمک میکروپیپت استریل حدود ۱٤۰ 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 $^{\circ}$۳۷ جهت رشد باکتریها گذاشته شد. بعد از ۲٤ ساعت پتری‌ها بررسی شدند و مجدداً 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 باز بینی شدند. سپس با استفاده از کولیس قطر هاله‌ی مناطق عدم رشد اندازه گیری شدند و در پایان کار از پلیت‌ها توسط دوربین دیجیتالی عکس تهیه شد.

نتایج و بحث

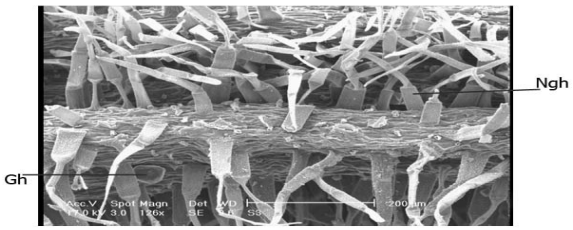
ساقه گیاه

برش عرضی تهیه شده از ساقه چهار گوش گیاه *T. lancifolious* دارای چندین قسمت است که بیرونی ترین لایه اپیدرم است. در اپیدرم تعدادی از سلولها تمایز پیدا کرده و به کرک تبدیل شده است که کرک ها به دو صورت ترشحی و غیر ترشحی مشاهده می شوند (شکل ۱).

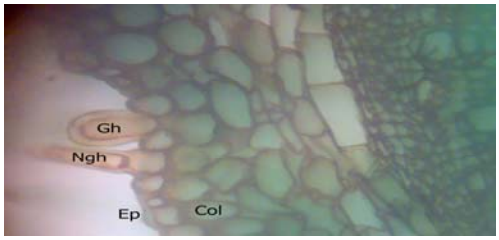
شکل ۱- *Thymus lancifolious*



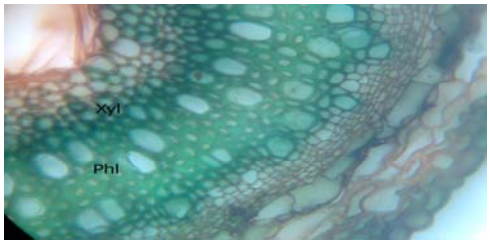
شکل ۲- ساقه *Thymus lancifolious* با میکروسکوپ الکترونی SEM، Ngh: کرک غیر ترشحی، Gh: کرک ترشحی.



شکل ۳- ساقه *Thymus lancifolious* با میکروسکوپ الکترونی SEM، Ngh: کرک غیر ترشحی، Gh: کرک ترشحی



شکل ٤- برش عرضی ساقه *Thymus lancifolious* با بزرگنمایی ٤۰۰x، Col: کلانشیم، Gh: کرک ترشحی، Ngh: کرک غیر ترشحی، Ep: اپیدرم.



شکل ۵- برش عرضی ساقه *Thymus lancifolious* با بزرگنمایی ٤۰۰x، Phl: آوند آبکش، Xyl: آوند چوب

برگ گیاه

بررسی‌ها نشان داد که برگ این گیاه دارای اپیدرم فوقانی و تحتانی است که به صورت یک ردیف در سطح پهنک قرار گرفته است. در زیر اپیدرم درمیان برگ (مزوفیل) پارانشیم نرده‌ای و در قسمت درونی‌تر آن پارانشیم حفره‌ای (کروی شکل) دیده می‌شود. آوند آبکش در داخل و آوند چوبی به سمت خارج آرایش پیدا کرده است.

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

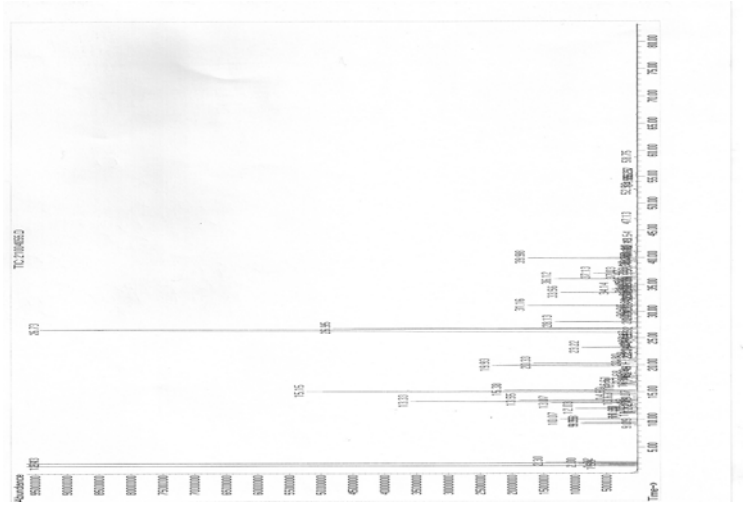
و مقایسه‌ی این پارامترها با ترکیبات استاندارد، ٤٥ ترکیب در اسانس آن شناخته شده که مجموعا ۹۵/۸۵ درصد کل اسانس را تشکیل می‌دهند. ترکیبات اصلی آن شامل شامل Cymol (۳/۲٦ درصد)، Carvacrol(۵۲/۳٤ درصد)، Thymol (۱٦/٤۳ درصد)، Gamma-terpinene (۱۰/۸٦ درصد) می-باشد (جدول ۱). شکل ٦ طیف کروماتوگرام گازی اسانس اندام هوایی *Thymus lancifolious* در مرحله گلدهی را نشان می‌دهد.

جدول ۱- مواد شناسایی شده اسانس گونه *Thymus lancifolious* در مرحله گلدهی

ردیف	نام ترکیب	اندیس کواتس	درصد
۱	Tricyclene	۹۰۹	۰/۰۱
۲	Alpha-Thujene	۹۱٦	۰/۹۲
۳	Alpha-Pinene	۹۲٦	۰/٤٥
٤	Comphene	۹٦۱	۰/۲۳
٥	Sabinene	۹۷۰	۰/۱۱
٦	Beta-Pinene	۹٦۷	۰/۱٤
۷	3-Octanone	۹۸۰	۰/٦۳
۸	1-Octen-3-ol	۹۷۷	۰/۰۷
۹	Beta-Myrcene	۹۹۲	۱/۱۹
۱۰	3-Octanol	۹۸۸	۰/۰٥
۱۱	Phellandrene	۱۰۰۰	۰/۱۷
۱۲	Alpha-Terpinene	۱۰۲۳	۱/۲۲
۱۳	Cymol	-	۳/۲٦
۱٤	1.8-Cineole	۱۰۰۹	۰/٦۰
۱٥	Limonene	۱۰۲٥	۰/۱۸
۱٦	Beta-Ocimene Y	۱۰۳۹	۰/۰٦
۱۷	Gamma-Terpinene	۱۰۲٦	۱۰/۸٦
۱۸	Cis-Sabinene hydrate	۱۰٦۹	۰/۳۱
۱۹	3-Nonanone	۹۰۳	۰/۰٤
۲۰	Alpha-Terpinolene	۱۰۸۹	۰/۰۷
۲۱	Cis-beta-Terpineol	۱۱٤٤	۰/۱۰
۲۲	Linalool	۱۰۹۸	۰/۲٦
۲۳	Trans-Sabinene hydrate	۱۰٦٤	۰/۰۱
۲٤	Borneol	۱۱٦٦	۰/۷٥
۲٥	4-Terpineol	۱۱۸۷	۰/٤۳
۲٦	Carvacrol methyl ether	۱۲٤۲	۰/۰۳
۲۷	Thymol	۱۲٦۷	۱٦/٤۳
۲۸	Carvacrol	۱۲۹۹	۵۲/۳٤
۲۹	Thymyl acetate	۱۳٥۱	۰/۰٥
۳۰	Eugenol	۱۳٥۱	۰/۰۲
۳۱	Carvacryl acetate	۱۳٥۸	۰/۱۱
۳۲	Alpha-Ylagene	۱۳٦۸	۰/۰۱
۳۳	Beta-Bourbonene	۱۳۸۲	۰/۰۳
۳٤	Trans-Caryophyllene	۱٤۱٤	۱/۸۳

ادامه جدول ۱

۳۵	Alpha-Caryophyllene	۱٤۱٤	۰/۰۷
۳٦	Germacrene D	۱٤۷۹	۰/٤۲
۳۷	Valencene	۱٤۹۰	۰/۰٥
۳۸	Bicyclogermacrene	۱٤۹۲	۰/۲٦
۳۹	Beta-Bisabolene	۱٥۱۱	۰/٦٤
٤۰	Delta-Cadinene	۱٥۲٦	۰/۰٥
٤۱	Cis-alpha-Bisabolene	۱٥۱۷	۰/۷۳
٤۲	Neryl acetate	۱۳٦۰	۰/۰۱
٤۳	Spathulene	۱٥۸۹	۰/۱۹
٤٤	Caryophyllene Oxide	٥٦۹	۰/۲۰
٤٥	Farnesol	۱۷۸٥	۰/۰٤



شکل ٦- طیف کروماتوگرام گازی اسانس اندام هوایی *Thymus lancifolious* در مرحله گلدهی

نتایج حاصل از بررسی اثرات ضد باکتریایی عصاره

نتایج حاصل از بررسی اثرات ضد باکتریایی عصاره متانولی و اتانولی

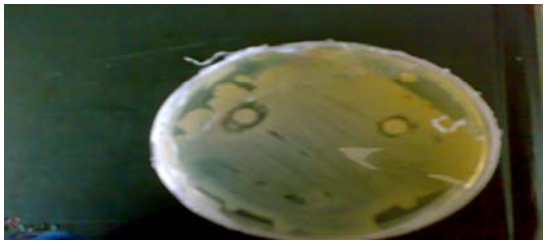
بررسی‌های تجزیه واریانس و آزمون دانکن نشان داد که بین اثرات ضد باکتریایی عصاره اتانولی و متانولی این گیاه و شاهدها و برخی از آنتی بیوتیک‌ها تفاوت معنی دار وجود دارد (جدول ۲). همانطور که در جدول مشاهده می‌شود بیشترین اثر ضد باکتریایی بر علیه استافیلوکوکوس اورئوس به ترتیب مربوط به سفازولین، پنی سیلین، جنتامایسین، عصاره اتانولی با غلظت ۱۰۰ و عصاره متانولی با غلظت ۱۰۰ می‌باشد و کمترین اثر ضد باکتریایی مربوط به نورفلوکساسین و عصاره متانولی در غلظت‌های ۲۰، ٤۰، ٦۰ و ۸۰، متانول و اتانول می‌باشد. همچنین بیشترین اثر ضد باکتریایی بر علیه بتا

استرپتوکوکوس به ترتیب مربوط به نورفلوکساسین، جنتامایسین، پنی سیلین، سفازولین و کمترین اثر مربوط به عصاره اتانولی با غلظت ۱۰۰ و عصاره متانولی گیاه در غلظت‌های ۱۰۰، ۸۰ ، ٦٠ ، ٤٠، ۲۰، بکار رفته اتانول و متانول در آزمایش است. همچنین بیشترین اثر ضد باکتریایی بر علیه اشرشیاکلی مربوط به نورفلوکساسین، سفازولین، جنتامایسین، عصاره اتانولی با غلظت ۱۰۰، عصاره متانولی با غلظت‌های ٦٠ و کمترین اثر مربوط به پنی سیلین و عصاره متانولی با غلظت‌های ۱۰۰، ۸۰، ٤٠ و ۲۰ می‌باشد. همچنین بیشترین اثر ضد باکتریایی بر علیه سودوموناس، آئروژینوزا به ترتیب مربوط به نورفلوکساسین، جنتامایسین، عصاره اتانولی با غلظت ۱۰۰ و عصاره متانولی با غلظت‌های ۱۰۰ و٦٠ و کمترین اثر مربوط به عصاره متانولی با غلظت‌های ۸۰، ٤٠، ۲۰، سفازولین و پنی سیلین می‌باشد (شکل‌های ۷ و ۸).

جدول ۲- مقایسه میانگین قطر هاله (میلی متر) عصاره *Thymus lancifolious* در تیمارهای مختلف میکروبی در آزمون دانکن

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 *streptococos β*
عصاره متانولی باغلظت۱۰۰	۸/۵۸d	۸/۲۲d	۷/۰۸d	۰e
عصاره متانولی با غلظت ۸۰	۰e	۰e	۰e	۰e
عصاره متانولی با غلظت ٦٠	۰e	۰e	۸/۰٤c	۰e
عصاره متانولی با غلظت٤٠	۰e	۷/۱۰d	۰e	۰e
عصاره متانولی با غلظت ۲۰	۰e	۰e	۰e	۰e
عصاره اتانولی	۸/۱۱d	۸/۱۲d	۹/٥٦c	۰e
جنتامایسین	۱۱/٦۹c	۱۸/۱۰c	۱۸/٤۰b	۲٥/٤۰b
سفازولین	۱۹/۷۱a	۲۱/۷۹b	۰e	۱٦/۲۹d
نورفلوکساسین	۰e	٤۱/۲۰a	۳۰/۰۱a	۳۰/۰۲a
پنیسیلین	۱٥/٦۰b	۰e	۰e	۲۰/۷۰c

میانگین‌های دارای حرف مشترک در هر ستون، بر مبنای آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۰/۰ ۵ تفاوت معنی داری ندارند



شکل ۷- اثر ضد میکروبی عصاره اتانولی گیاه *T. lancifolious* بر روی باکتری گرم منفی اشرشیا کلی

شکل ۸- اثر ضد میکروبی عصاره اتانولی گیاه *T. lancifolious* بر روی باکتری گرم مثبت استا فیلوکوکوس

تفسیر نتایج حاصل ازبررسی‌های 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 می‌آیند. 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-در اثر رسوب موادی مثل گرد و غبار بسته نمی شوند ۲-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 می شود، بنابراین می‌توان اذعان کرد که نحوه توزیع کرک های ترشحی و غیرترشحی در سطح برگ‌های این گیاهان به احتمال زیاد به منشأ گیاه بستگی دارد (امید بیگی، ۱۳۷٦). 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 گرسباش (۲۰۰۲) روی گیاه *Prostanthera ovalifolia* انجام شد در سطح برگ این گیاه کرک‌های غده‌ای مشاهده شد که کرک‌ها شامل سلول‌های پایه در اپیدرم، یک سلول ساقه با دیواره کوتینی شده و یک سر ۱٦ سلولی بودند که از نظر ساختار کرک‌های غده‌ای با مشاهدات این تحقیق مشابه است. در مطالعه دیگری که توسط باران و همکاران

(۲۰۰۸) در کشور ترکیه روی گیاه *Salviaargentea* انجام شد، در سطح اپیدرم برگ این گیاه کرک‌های غده ای مشاهده شد که از نظر شکل ظاهری با نتایج این تحقیق همسویی دارد. در بررسی انجام شده توسط بویسیلی (۲۰۰۹) 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 غیرغده‌ای 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 lancifolious* در مرحله گلدهی

در بررسی فکور و همکاران (۱۳۸٦) روی اسانس گیاه *T. eriocalyx* مشخص شد که ترکیبات شاخص این گیاه تیمول (٦۳/۸ 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 نیک آور و همکاران (۲۰۰۵) که روی اسانس اندام هوایی گونه‌های *T. daenensis* و *T. kotschyanus* انجام گرفت مشخص شد ترکیبات شاخص این گونه‌ها تیمول با (٤۷ درصد و ۳۸/٦)، پی سیمن (٦/٥ درصد و۷/۳ درصد) در دو گونه، و در گونه *T. daenensis* بتا کاریوفیلن (۳۸ درصد)، متیل کارواکرول (۳/٦ درصد) و در گونه *T. kotschyanus* کارواکرول (۳۳/۹ درصد)، گاماترپی نن با (۸/۲ درصد) بودکه بیشترین درصد ترکیبات مربوط به تیمول گزارش شد. از مقایسه ترکیبات فوق با ترکیبات اصلی شناخته شده در اسانس *T. lancifolious* مشخص شد که وجود تیمول با (۱٦/٤۳ درصد)، کارواکرول (٥۲/۳٤ درصد) و گاما ترپی‌نن (۳ درصد) جزء ترکیبات شاخص می باشند که مشابه تحقیق بهمن نیک آور و همکاران می باشد و با نتایج این تحقیق همسویی دارد. در مطالعه ابراهیمی و همکاران (۲۰۰۸) 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 مطالعه‌ی دیگری که توسط صفایی قمی و همکاران (۲۰۰۹) روی اسانس گیاه *T. carmanicus* انجام گرفت ترکیبات شاخص این گیاه کارواکرول (۸٥/۹ 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 ترکیبات آلفا ترپینئول، لینالول و ۸ و۱ سینئول که به عنوان ترکیبات شاخص در مرحله گلدهی شناسایی شدند و با نتایج تحقیق میگوئل و همکاران (۲۰۰۳) روی اسانس گیاه *T. caespititius* که آلفا ترپینئول، لینالول، استات لینالیل و ۸ و۱ سینئول به عنوان ترکیب‌های

شاخص گونه‌ی یاد شده معرفی شدند، مطابقت دارد. در بررسی دیگری که توسط ماریا روتا و همکاران (۲۰۰۸) روی گونه‌های *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 بعنوان ماده موثر اصلی این گونه‌ها شناخته شد که نتایج حاصل از این پژوهش نیز با نتایج ماریا روتا و همکاران همسویی دارد.

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

عصاره اتانولی با غلظت ۱۰۰ این گیاه دارای اثرات ضدمیکروبی روی باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس بوده و بر باکتری گرم مثبت بتااسترپتوکوکوس بی‌اثر است. همچنین عصاره اتانولی با غلظت ۱۰۰ این گیاه دارای اثرات ضدمیکروبی بر هر دو نوع باکتری گرم منفی بوده و بیشترین تأثیر را نیز عصاره اتانولی با غلظت ۱۰۰ بر روی باکتری گرم منفی سودموناس آئروژینوزا داشته است. همچنین عصاره متانولی در غلظت بالا روی باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس موثر بوده و در غلظت های پائین‌تر بر باکتری گرم منفی اشرشیاکلی و سودوموناس آئروژینوزا تأثیر داشته است. در این تحقیق اثر آنتی‌بیوتیک‌ها بر باکتری‌ها بجز نورفلوکساسین بر روی استافیلوکوکوس اورئوس، پنی-سیلین بر اشرشیاکلی و پنی‌سیلین و سفازولین بر سودوموناس، آئروژینوزا از عصاره‌ها بیشتر بوده است. در بررسی بعمل آمده توسط میرزا و همکاران (۱۳۷۸) روی خواص ضد میکروبی عصاره‌های *S. sclarea* , *S. officinalis* مشخص شد که عصاره‌های آبی این گیاهان با روش اندازه‌گیری قطرهاله مهار رشد، تنها بر باکتری *S. aureus* اثر باکتری‌کشی داشته اما عصاره های متانولی این گیاهان روی همه باکتری‌ها و برخی قارچ‌های مورد آزمایش اثر مهار شده داشتند. عصاره‌های متانولی در مرحله زایشی گیاه خواص ضدمیکروبی داشتند و حداقل غلظت بازدارندگی برای عصاره‌های متانولی بر باکتری‌ها حدود ۵۰mg/ml است. در پژوهش حاضر مشخص شد کمترین اثر ضدباکتریایی مربوط به نورفلوکساسین و عصاره متانولی در غلظت-های ۲۰، ٤۰، ٦۰ و ۸۰ متانول و اتانول می‌باشد که با نتایج میرزا و همکاران مطابقت دارد. کارمان و همکاران (۲۰۰۱)اثرات باکتریواستاتیکی قوی اسانس برخی از گیاهان تیره نعناع از جمله *Thymus revolatus* را روی باکتری گرم مثبت استافیلوکوک طلایی نشان دادند. در تحقیق ایشان نیز عصاره‌های متانولی و اتانولی گیاه *T. kotschyanus* دارای اثرات ضدمیکروبی بر علیه باکتری استافیلوکوکوس اورئوس بوده که این نتایج با تحقیق حاضر یکسان است. در مطالعه‌ی رسولی (۲۰۰۲) اثر باکتریوسیدی برخی از گیاهان تیره نعناع از جمله *Thymus bubesqus* را بر باکتری گرم مثبت استافیلوکوک طلایی و باکتری گرم منفی اشرشیا بکار رفت که با تحقیق حاضر در مورد اثر باکتری‌های گرم مثبت عصاره متانولی با غلظت ۱۰۰ روی باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس اما بر بتااسترپتوکوکوس بی اثر می‌باشد، نتایج یکسانی نشان دادند. پژوهش امین (۲۰۰٤) فعالیت ضد میکروبی *Micromeria cilica* 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 ضدمیکروبی بودند که با نتایج امین

همسویی دارد. تحقیقات بوناتریو و همکاران (۲۰۰۷) روی گیاه *Thymus capitatus* نشان داد که گونه مذکور علاوه بر فعالیت آنتی اکسیدانی دارای اثرات ضد میکروبی روی باکتری‌های باسیلوس سراوس گونه سالمونلا، لیستریا اینوکوا، ٤ سوش استافیلوکوکوس اورئوس و یک شکل مقاوم اس اورئوس می‌باشد که خصوصیات ضدمیکروبی با آنتی‌بیوتیک مصنوعی مقایسه گردیده و فعالیت‌های 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 ابراهیمی و همکاران (۲۰۰۸) که 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 mgr/ml ۱۵-۵٪ می‌باشد. همچنین فعالیت ضد میکروبی بر ۲ باکتری باسیلوس سابتیلوس و پرودوموناس، آئروژینوزا بیشترین حد را داشت. نتایج این پژوهش نشان داد بیشترین اثر ضد باکتریایی بر علیه اشرشیاکلی مربوط به نورفلوکساسین، سفازولین، جنتامایسین، عصاره اتانولی با غلظت ۱۰۰، عصاره متانولی با غلظت‌های ٦۰ و کمترین اثر مربوط به پنی‌سیلین و عصاره متانولی با غلظت‌های ۱۰۰، ۸۰، ٤۰ و ۲۰ می‌باشد که با نتایج مطالعه ابراهیمی مشابه است. در تحقیقی که توسط ماریا روتا و همکاران (۲۰۰۸) 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 ضدمیکروبی بوده و منبعی بالقوه از اجزاء ترکیبی آنتی‌باکتریال برای صنعت تغذیه می‌باشند در این تحقیق اثر آنتی بیوتیک‌ها نیز بررسی شد که اثر نورفلوکساسین بجز بر روی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس بر سایر باکتری‌ها از عصاره های اتانولی و متانولی بیشتر بود که با نتایج حاصله همسویی دارد.

نتیجه‌گیری

در اپیدرم گونه‌ی *T. lancifolious*، تعدادی از سلول‌ها تمایز پیدا کرده و به کرک تبدیل شده است که کرک‌ها به دو صورت ترشحی و غیرترشحی مشاهده می‌شوند. کرک‌های غیرترشحی به صورت نوک‌تیز (نیزه‌ای)، چند سلولی و کرک‌های ترشحی به صورت پایه کوتاه مشاهده می‌گردد. از مقایسه ترکیبات شناخته شده در اسانس *T. lancifolious* مشخص شد که تیمول با ١٦/٤٣ درصد، کارواکرول ٥٢/٣٤ درصد و گاماترپی‌نن با ۳ درصد جزء ترکیبات شاخص این گونه 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.

منابع

امید بیگی، ر . ۱۳۷٦. رهیافت‌های تولید و فرآوری گیاهان دارویی. انتشارات آستان قدس رضوی.

حسینی بمرود، غ.، ح. ظریف کتابی.، ا. باریاب و م. دشتی. ۱۳۸٤. 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. و ن. مجنون حسینی. ۱۳۸۷. زراعت و تولید برخی گیاهان دارویی و ادویه‌ای. انتشارات دانشگاه تهران، ص ۲٤۱.

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

فکور، م. ه.، ع. علامه، ر. رسولی و م. مظاهری. ۱۳۸٦. فصلنامه علمی پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران جلد ۲۳، شماره‌ی ۲: ۲۷۷-۲٦۹.

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

کشفی بناب، ع. ر. ۱۳۸۹. مزیت نسبی اقتصادی کشت و تجارت گیاهان دارویی در ایران و ارزش آن در بازارهای جهانی. بررسی‌های بازرگانی، ۸(٤٤) : ۷۸-٦۷.

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

هی، ر. ۱۳۷۹. گیاهان اسانس دار. ترجمه بقالیان، ک. انتشارات نشر اندرز تهران.

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. J. Agric. Biol. Sci. 4(6): 725-733.

Bounatirou., S. Smiti., M. G. Miguel., L. Faleiro., M. N. Rejeb., M. Neffati., M. N. Costa., A. C. Figueiredo., J. G. Barroso and L. G. Pedro. 2006. Chemical composition, Anti oxidant and anti bacterial activities of the essential oils isolated from Tunisian *Thymus capitatushoff*, et link, Food Chem.105: 146-155

Buyisile, M. 2009. Morphological and chemical composition of the essential oil of the leaf of *Schistephium heptalobium*. African J. Bio. 8(8), 1509-1519.

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

Gersbash, P.V. 2002. The essential oil secretory structures of *prostanthera ovalfolia* (Lamiaceae), Annl. Bot. 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. J. Ethnopharmacol. 76: 183-188.

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

Emin Duru, M. 2004. The constituents of essential oil and invitro antimicrobial activity of *Micromeria cilica* from Turkey. Food Chem. 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 Chem. 86: 183-188.

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

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

Investigation of antibacterial properties and chemical essential oil components of *Thymus Lancifolious* Zagheh area(Lorestan province)

K. Karami[1], A. Heidari Jamshidi[2], A. Ariapour[3]

Received: 2013-2-14 Accepted: 2013-8-11

Abstract

Majority of Lamiaceae family have essence which is utilized in medical, toiletry, hygienic and nutrient. Thymus genuses have many species propagating in many provinces. The aim of this study was recognition and assessing components in shoot structure of *Thymus lancifolious* and investigation of antibacterial properties of the essential oil on the species. Samples were collected in flowering stage in Gret, in Lorestan province, Iran, in 2011. The samples were shadow dried and extracted its components by Clevenger device as Hydrodistilation method. Then anatomical properties were studied by painting and using bismarc brown and methyl green stains. After producing essences, kind of components and percent of essential chemical components recognized and separated completely using GC and GC/MS devices. Plate sink was used to investigate the antibacterial effects of the plant extract on some g+ and g-pathogen bacteria such as *Staphylococcocus Aureus*, Escherichia Coli, *Pseudomonas aeroginosa* and *β.streoptococcocs*. Results showed that the species has the same anatomical properties with other spices such as *T. eriocalyx* and *T. kotschyanus* in Lorestan. According to Retention volume, Retention time, Kovats retention index and comparison these parameters with standard components, results showed that the essential oil of this species has 45 components (95.85% of all components). The main constituents include Cymol (3.26%), Carvacrol (52.34%), Gamma-terpinene (10.86) and Thymol (16.43%). The results of this research are different from other researches. Also the results showed that the extracts of this species have antimicrobial effect.

Keywords; *Thymus lancifolious*, Essential oils, Antibacterial effect, Components, Botanical properties

1- Graduated Student, Islamic Azad University, Broujerd Branch
2- Sinior Expert of Cultivation and Crop Breeding, Jihade Agriculture Organization of Lorestan Province
3- Assistant Professor, Islamic Azad University, Borujerd Branch