



هفتمین کنفرانس ملی مرتع و مرتعداری ایران

۱۸-۱۹ اردیبهشت ماه ۱۳۹۷

## بررسی ترکیب شیمیایی اسانس گیاه آویشن (*Thymus kotschyanus*) و اثر ضد باکتریایی عصاره در منطقه‌ی زاغه-استان لرستان

امیر حیدری جمشیدی\*، فاطمه جایدی، علی آریاپور

۱- کارشناس ارشد زراعت و اصلاح نباتات سازمان جهاد کشاورزی استان لرستان، ایران

۲- کارشناسی ارشد زیست گیاهی دانشگاه آزاد اسلامی واحد بروجرد، دانشگاه آزاد اسلامی، بروجرد، ایران

۳- دانشیار گروه مرتعداری، واحد بروجرد، دانشگاه آزاد اسلامی، بروجرد، ایران

### چکیده

امروزه درمان طبیعی بیماری‌های با منشأ میکروبی با استفاده از مواد دارای منشأ گیاهی از اهمیت زیادی برخوردار است. به منظور شناسایی ترکیبات موجود در اسانس حاصل از اندام‌های هوایی گونه‌ی گیاهی *Thymus kotschyanus* و بررسی اثر ضد میکروبی عصاره، نمونه‌های گیاهی در مرحله‌ی گل‌دهی از مناطق مختلف منطقه‌ی زاغه از استان لرستان جمع‌آوری شدند. نمونه‌ها پس از انتقال به آزمایشگاه در سایه خشک شدند. 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 گردید. همچنین، در این پژوهش اثر ضد میکروبی عصاره و اسانس گونه‌ی مورد نظر علیه چهار باکتری با استفاده از روش دیسک به کمک محیط کشت مولر هینتون آگار (MHA) و سنجش قطر هاله بازدارنده، بررسی شد. با توجه به زمان بازداری ترکیب‌ها، اندیس بازداری کوتاه، طیف جرمی و مقایسه‌ی این پارامترها با ترکیبات استاندارد، نتایج نشان داد که این گونه ۵۲ ترکیب در اسانس خود دارد که در مجموع ۷۸/۸۷ درصد کل اسانس را تشکیل می‌دهند. ترکیبات اصلی آن شامل سیمول<sup>۱</sup> (۴/۳۵٪)، گاماترپنین<sup>۱</sup> (۸/۴۳٪)، سیس سابین هیدرات<sup>۲</sup> (۲/۸۷٪)، بورنئول<sup>۳</sup> (۴/۳۵٪)، ۴- ترینئول<sup>۴</sup> (۲/۵۰٪)،

۱- Cymol,



## هفتمین کنفرانس ملی مرتع و مرتعداری ایران

۱۸-۱۹ اردیبهشت ماه ۱۳۹۷

تیمول<sup>۲</sup> (۳۲/۷۷٪) و کارواکرول<sup>۱</sup> (۵/۶۱٪) است. نتایج اثر ضد میکروبی نشان داد بین باکتری‌های مورد آزمایش در غلظت‌های مختلف تفاوت معنی داری وجود دارد و اسانس آویشن اثر مهار رشد باکتری‌ها را دارند که بسته به نوع باکتری شدت اثرات متفاوت است.

کلمات کلیدی: *Thymus kotschyanus*, اسانس، اثرات ضد میکروبی، خصوصیات گیاه‌شناسی، تیمول.

### مقدمه

تعداد زیادی از گیاهان تیره‌ی نعناع، سریعاً تحت تأثیر شرایط متفاوت محیط زندگی قرار می‌گیرند؛ به عنوان مثال، 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 پیدا 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 پیدا 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 یابد به حدی که به کلی از بین برود (زرگری، ۱۳۷۵). نتایج تحقیقات گرسباش<sup>۷</sup> (۲۰۰۲)؛ باران<sup>۸</sup> و همکاران (۲۰۰۸)؛ بویسیلی (۲۰۰۹) نشان داد که در سطح اپیدرم برگ گونه‌های *Salvia argentea*، *Prostanthera ovalifolia* و *Schistostephium heptalobum* از خانواده نعناع، کرک‌های غده‌ای وجود دارد.

آویشن گیاهی است پایا و دارای نمونه‌هایی به اشکال متفاوت و متمایز از یکدیگر، به طوری 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. گل‌های کوچک آن به رنگ سفید یا ارغوانی و مجتمع در کناره برگ‌ها است و

- 
- 2-Gamma-terpinene
  - 3-Cis-Sabinene hydrate
  - 4- Borneol
  - ۱- terpineo
  - 2-Thymol
  - 3-Carvacrol
  - ۴- Gersbash
  - 5- Baran
  - 6- Buyisile



## هفتمین کنفرانس ملی مرتع و مرتعداری ایران

۱۸-۱۹ اردیبهشت ماه ۱۳۹۷

گل‌های آن در فروردین تا اوایل پاییز به تناسب شرایط محل رویش ظاهر می‌شود (دوازده امامی و همکاران، ۱۳۸۷). در بررسی انجام شده توسط فکور و همکاران در سال ۱۳۸۶ روی اسانس گیاه *Thymus eriocalyx* (T. e.) مشخص شد که ترکیبات شاخص این گیاه تیمول (۶۳/۸ درصد)، بتاکاریوفیلین (۱۳/۳ درصد) و سیس‌سabinین هیدروکساید<sup>۱</sup> (۸/۱ درصد) می‌باشند. کارمان<sup>۲</sup> و همکاران (۲۰۰۲)، اثرات باکتری ایستایی قوی اسانس برخی از گیاهان تیره نعناع از جمله *Thymus revolutus* (T. r.) را روی باکتری گرم مثبت *Staphylococcus aureus* (استافیلوکوک طلائی) بررسی کردند. تحقیق رسولی و همکاران (۲۰۰۲)، اثرات باکتری‌کشی برخی از گیاهان تیره نعناع از جمله *Thymus bubesgus* را روی باکتری‌های *S. aureus* و *Escherichia coli* نشان دادند. در تحقیق میگوئل<sup>۳</sup> و همکاران (۲۰۰۳) روی اسانس گونه‌ی *Thymus caespititius* (T. c.)، آلفا ترپینئول، لینالول، استات لینالیل و ۸ و ۱ سینئول به عنوان ترکیب‌های شاخص گونه‌ی مذکور شناخته شد. در تحقیقی که توسط ماریا روتا<sup>۴</sup> و همکاران (۲۰۰۸)، روی سه گونه آویشن با نام‌های *Thymus vulgaris*، *T. hyemali* و *T. zygis* انجام گرفت؛ مشخص شد که تیمول، لینالول، و کاراکرول ماده‌ی موثر اصلی موجود در این گونه‌ها است.

هدف از این پژوهش معرفی گیاه *T. k* به عنوان گیاه دارویی که در استان لرستان پراکنش دارد؛ بررسی میزان اسانس و شناسایی مواد تشکیل دهنده‌ی اسانس گونه‌ی مذکور و همچنین بررسی اثرات ضد میکروبی عصاره این گیاه است.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری گیاه مورد بررسی

گونه‌ی *T. k* از منطقه زاغه، استان لرستان از فروردین ماه تا تیرماه سال ۱۳۹۰ در مراحل مختلف رویشی قبل از گل‌دهی، زمان گل‌دهی و بعد از گل‌دهی جمع‌آوری گردید و پس از جمع‌آوری جهت تایید گونه به مؤسسه جنگل‌ها و مراتع کشور ارسال شد. بعد از شناسایی گونه‌ی مذکور، اقدامات بعدی شامل جمع‌آوری، خشک کردن و آماده کردن نمونه‌ها جهت اسانس‌گیری و آنالیز مواد مؤثره انجام گرفت.

شناسایی ترکیب‌های شیمیایی اسانس

۱ Cis-Sabinene hydrocsid

2- karman

3- Miguel

4- Maria, C. Rota



## هفتمین کنفرانس ملی مرتع و مرتعداری ایران

۱۸-۱۹ اردیبهشت ماه ۱۳۹۷

جهت تهیه اسانس از روش تقطیر با آب توسط کلونجر استفاده شد. 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 تشکیل دهنده‌ی آن بر اساس نقطه‌ی 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 تک‌تک پیک‌ها محاسبه شد که با تطبیق آن‌ها با منابع مربوطه، مقایسه‌ی طیف‌ها با اطلاعات کتابخانه‌ای کامپیوتری Wiley 275 و کتاب آدامز (۲۰۰۴) و دیگر منابع، طیف‌های مربوط به هر جسم تفسیر و ترکیب‌های تشکیل دهنده‌ی اسانس و فرمول شیمیایی آن‌ها شناسایی شد (دیویس، ۱۹۹۰؛ آدامز، ۲۰۰۴).

### بررسی اثرات ضد میکروبی عصاره اسانس گونه‌ی مورد مطالعه

در این مطالعه اثرات ضد میکروبی عصاره‌ی گیاه و آزمون آنتی‌بیوگرام با استفاده از روش انتشار در آگار توسط دیسک کاغذی

انجام شد.

### روش عصاره‌گیری

ابتدا ۲/۵ گرم از اندام‌های هوایی گیاه مورد استفاده را مرحله گل‌دهی را آسیاب نموده، سپس آن را یک ساعت در بن ماری در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده بعد از یک ساعت در یخچال قرار داده و ۲۴ ساعت در دمای آزمایشگاه گذاشته شد. روزهای دوم و سوم هم این کار را تکرار نموده تا پودر گیاهان سترون شود. روز چهارم به هر کدام از آن‌ها ۱۲/۵ سی سی متانول یا ۱۲/۵ سی سی اتانول اضافه و در یخچال نگهداری و روز پنجم عصاره‌ها صاف و غلظت‌های مختلف ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰، ۱۰۰ پی‌پی‌ام عصاره متانولی و غلظت ۱۰۰ پی‌پی‌ام عصاره اتانولی تهیه و سپس به محیط کشت منتقل شدند.

### تهیه‌ی محلول میکروبی جهت تلقیح به آگار

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

توصیه می‌شود به شرح زیر است:

---

1- Adams

2- Davies



## هفتمین کنفرانس ملی مرتع و مرتعداری ایران

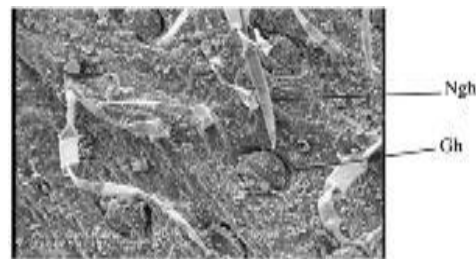
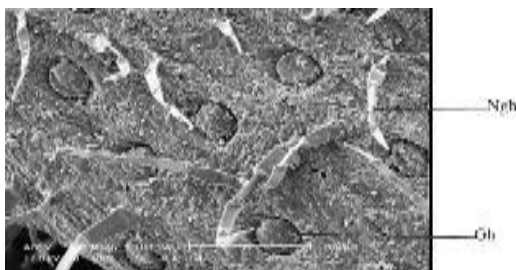
۱۸-۱۹ اردیبهشت ماه ۱۳۹۷

توسط لوپ سترون چهار تا پنج پرگنه‌ی مجزا با صفات شکلی مشابه به لوله آزمایش محتوی محیط کشت مایع مناسب منتقل شد. محیط مایع مزبور در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده و کدورت آن با محلول استاندارد سولفات باریم در لوله شماره ۰/۵ مک فارلند برابر شد. در این تحقیق سویه‌های استاندارد از گونه‌های باکتریایی *Staphylococcus aureus ATCC 5115*، *Escherichia coli ATCC 35218*، *Pseudomonas aeruginosa ATCC 2785* و  $\beta$ -*streptococcus ATCC* که به صورت محلول تهیه شده بودند روی محیط‌های کشت اختصاصی، کشت داده شد و سپس به مدت ۲۴ ساعت درون انکوباتور قرار گرفت. سپس همه باکتری‌ها به وسیله‌ی لوپ روی محیط کشت بلاد آگار منتقل نموده تا آماده شوند و بعد، ۲۴ ساعت درون انکوباتور قرار داده شد و پس از آن به وسیله‌ی لوپ از میکروب‌ها به محلول سرم فیزیولوژیک منتقل و سپس با کدورت محلول ۰/۵ مک فارلند مقایسه گردید. وقتی به این ترتیب شیرابه میکروبی تهیه گردید، به محیط کشت مولر هینتون آگار منتقل شد.

نتایج و بحث

ساقه‌ی گیاه

برش عرضی تهیه شده از گیاه *T. k.* نشان داد که بیرونی‌ترین لایه‌ی آن اپیدرم است که روی آن کرک‌های ترش‌حی و غیر ترش‌حی مشاهده می‌شود (شکل ۱ و ۲).



شکل ۲- تصویر ساقه‌ی *T. k.* با میکروسکوپ الکترونی SEM.

Ngh: کرک غیر ترش‌حی، Gh: کرک ترش‌حی

شکل ۱- تصویر ساقه‌ی *T. k.* با میکروسکوپ الکترونی

SEM، Ngh: کرک غیر ترش‌حی، Gh: کرک ترش‌حی

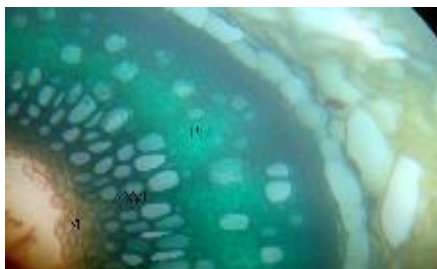
برگ گیاه



## هفتمین کنفرانس ملی مرتع و مرتعداری ایران

۱۸-۱۹ اردیبهشت ماه ۱۳۹۷

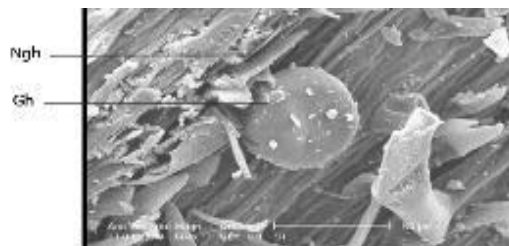
بررسی‌های میکروسکوپی نشان داد که برگ گیاه *T. k.* دارای اپیدرم فوقانی و تحتانی است که در سطح اپیدرم تحتانی کرک‌هایی مشاهده می‌شود که کرک‌ها عمدتاً از نوع غیر ترش‌حی و نیزه‌ای شکل هستند و تنه‌ی کرک‌ها از چند سلول ساخته شده است. در زیر اپیدرم پارانشیم نردبانی و حفره‌ای مشاهده می‌شود در بخش رگبرگ میانی دسته‌جات چوبی و آبکشی مشاهده می‌شود (شکل‌های ۳-۶).



شکل ۴- برش عرضی ساقه *T. k.* با بزرگنمایی ۴۰۰x،  
Ngh: کرک غیر ترشچی، Gh: کرک ترشچی



شکل ۶- برش عرضی ساقه ی *T. k.* با بزرگنمایی ۴۰۰x،  
Phi: آوند آبکش، Xyl: آوند چوب، Col: کلانشیم، En:  
آندودرم



شکل ۳- تصویر برگ *T. k.* با میکروسکوپ الکترونی  
SEM، Ngh: کرک غیر ترشچی، Gh: کرک ترشچی



شکل ۵- برش عرضی ساقه ی *T. k.* با بزرگنمایی ۴۰۰x،  
Phi: آوند آبکش، Xyl: آوند چوب، M: مغز

### ترکیبات شناخته شده در اسانس گیاه در مرحله ی گل دهی

بعد از تزریق اسانس به دست آمده به دستگاه GC/MS، با توجه به زمان بازداری ترکیبها، اندیس بازداری کوتاه، طیف جرمی و مقایسه ی این پارامترها ترکیبات عمده تشکیل دهنده اسانس شناسایی شدند. طیف کارماتوگرام (شکل ۷) و ترکیبات تشکیل دهنده اسانس همراه با درصد فراوانی هر جزء در جدول ۱، ارائه گردیده است در این نمونه ۵۲ ترکیب در اسانس آن شناخته شده که مجموعاً ۷۸/۸۷٪ کل اسانس را تشکیل می دهند. ترکیبات اصلی آن شامل *Cymol* (۴/۳۵٪)، *Gamma-gurjunene* (۲/۱۷٪)، *Gamma-terpinene* (۸/۴۳٪)، *Cis-Sabinene hydrate* (۲/۸۷٪)، *Borneol* (۴/۳۵٪)، *4-terpineol* (۲/۵۰٪)، *Thymol*



## هفتمین کنفرانس ملی مرتع و مرتعداری ایران

۱۸-۱۹ اردیبهشت ماه ۱۳۹۷

Carvacrol (۳۲/۷۷٪)، است (جدول ۱). شکل ۷ طیف کروماتوگرام گازی اسانس اندام هوایی *T. kotschyanus* در مرحله‌ی گل‌دهی را نشان می‌دهد.

جدول ۱- مواد شناسایی شده در اسانس گونه‌ی *T. k.* در مرحله‌ی گل‌دهی

ردیف	نام ترکیب	شاخص کواتس	درصد	ردیف	نام ترکیب	شاخص کواتس	درصد
۱	Tricyclene	۹۰۹	۰/۰۲	۲۷	۴-□□□□□□□□	۱۱۸۷	۲/۵۰
۲	Alpha-thujene	۹۱۶	۰/۵۰	۲۸	Alpha-terpineol	۱۱۹۲	۰/۲۵
۳	Alpha-pinene	۹۲۶	۰/۴۹	۲۹	Carvacrol methyl ether	۱۲۵۸	۰/۲۰
۴	Comphene	۹۶۱	۰/۷۲	۳۰	Beta-bourbonene	۱۳۹۱	۰/۰۶
۵	Sabinene	۹۷۰	۰/۱۳	۳۱	Beta-elemene	۱۴۱۴	۰/۱۰
۶	Beta-pinene	۹۶۷	۰/۱۶	۳۲	Trans-caryophyllene	۱۴۷۹	۱/۶۷
۷	۲-□□□□□□□□	۹۸۰	۰/۱۸	۳۳	Germacrene D	۱۴۹۱	۱/۲۵
۸	۱-□□□□□-۲-□□	۹۷۷	۰/۱۱	۳۴	Valencene	۱۴۹۲	۰/۰۸
۹	Beta-myrcene	۹۹۲	۰/۶۶	۳۵	Bicyclogermacrene	۱۳۶۰	۰/۳۳
۱۰	۲-□□□□□□□□	۹۸۸	۰/۰۴	۳۶	Neryl acetate	۱۵۱۱	۰/۰۳
۱۱	Phellandrene	۱۰۰۰	۰/۱۰	۳۷	Beta-bisabolene	۱۴۷۰	۰/۱
۱۲	Delta-3-carene	۱۰۰۶	۰/۰۳	۳۸	Beta-cadinene	۱۵۲۶	۰/۰۴
۱۳	Alpha-terpinene	۱۰۱۹	۱/۲۲	۳۹	Delta-cadinene	۱۵۳۷	۰/۰۳
۱۴	Cymol	-	۴/۳۵	۴۰	Cis-alpha-bisabolene	۱۵۷۱	۱/۱۷
۱۵	۱,۸-□□□□□□□□	۱۰۰۹	۱/۴۵	۴۱	Geranyl butyrate	۱۵۸۹	۰/۱۴
۱۶	Limonene	۱۰۲۵	۰/۱۷	۴۲	Spathulene	۱۵۸۱	۰/۲۵
۱۷	Cis-ocimene	۱۰۳۸	۰/۰۵	۴۳	Caryophyllene oxide	۱۴۷۲	۰/۶۰
۱۸	Beta-ocimene Y	۱۰۳۹	۰/۷۱	۴۴	Geranyl peropionate	۱۱۳۹	۰/۰۶
۱۹	Gamma-terpinene	۱۰۶۲	۸/۴۳	۴۵	Trans-isolimonene	۱۴۶۹	۰/۰۷
۲۰	Cis-sabinene hydrate	۱۰۶۹	۲/۸۷	۴۶	Gamma-gurjunene	۱۴۶۹	۲/۱۷
۲۱	p-cymenyl	۱۰۲۷	۰/۰۲	۴۷	Geraniol	۱۲۸۵	۰/۲

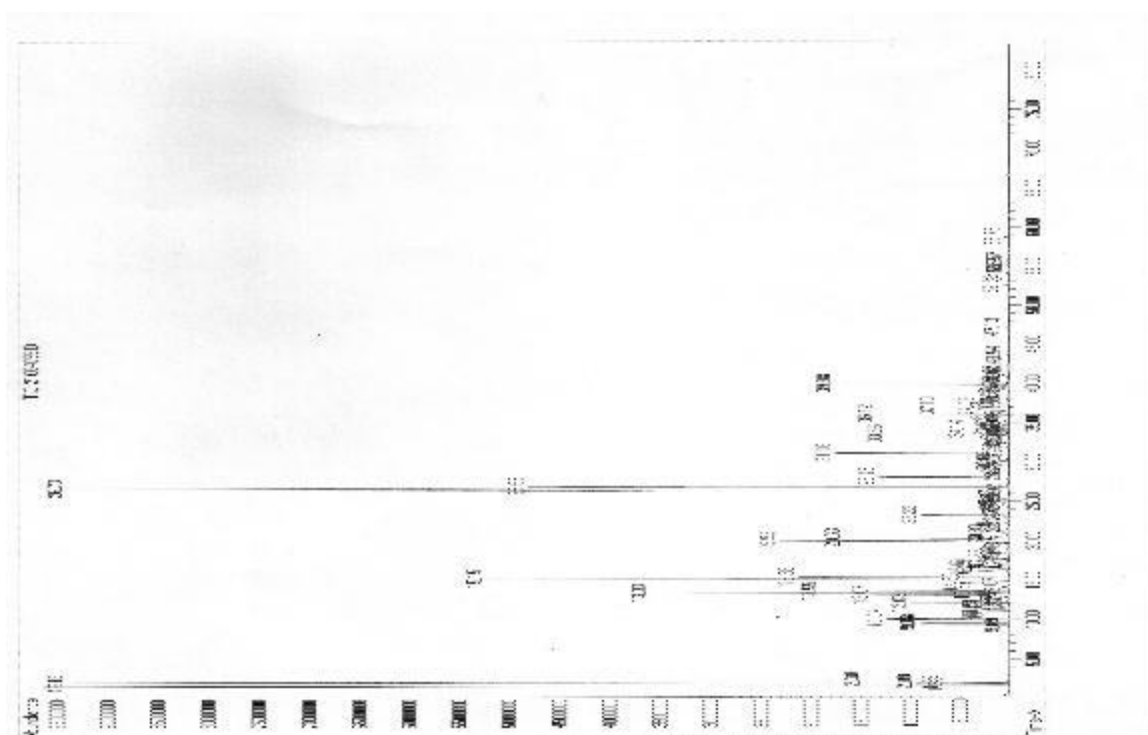




## هفتمین کنفرانس ملی مرتع و مرتعداری ایران

۱۸-۱۹ اردیبهشت ماه ۱۳۹۷

۲۲	Alpha-terpinolene	۱۰۱۶	۰/۱۹	۴۸	Bornyl acetate	۱۲۶۷	۰/۱۸
۲۳	Cis-beta-terpineol	۱۱۴۴	۰/۳۸	۴۹	Thymol	۱۲۹۹	۳۲/۷۷
۲۴	Linalool	۱۰۹۸	۰/۱۲	۵۰	Carvacrol	۱۳۵۱	۵/۶۱
۲۵	Camphor	۱۱۴۳	۰/۰۶	۵۱	Acetyl thymol	۱۳۷۹	۱
۲۶	Borneol	۱۱۶۶	۴/۳۵	۵۲	Geranyl acetate	۱۴۸۲	۰/۰۳



شکل ۷- طیف کروماتوگرام گازی اسانس اندام هوایی *T. k.* در مرحله گل‌دهی

### بررسی اثرات ضد باکتریایی عصاره

نتایج تجزیه واریانس و آزمون دانکن نشان داد که بین اثرات ضد باکتریایی عصاره اتانولی و متانولی این گیاه و شاهدها و برخی از آنتی‌بیوتیک‌ها تفاوت معنی‌دار وجود دارد (جدول ۲). همان‌طور که در جدول (۲) مشاهده می‌شود؛ بیشترین اثر ضد باکتریایی علیه *S. aureus* به ترتیب مربوط به سفازولین، پنی‌سیلین، جنتامایسین، عصاره‌ی اتانولی با غلظت ۱۰۰ و عصاره‌ی متانولی با غلظت ۱۰۰ پی‌پی‌ام و کمترین آن مربوط به نورفلوکساسین و عصاره متانولی در غلظت‌های ۲۰، ۴۰، ۶۰ و ۸۰ پی‌پی‌ام است. همچنین بیشترین



## هفتمین کنفرانس ملی مرتع و مرتعداری ایران

۱۸-۱۹ اردیبهشت ماه ۱۳۹۷

اثر ضد باکتریایی علیه *β-streptococcus ATCC* به ترتیب مربوط به نورفلوکساسین، جنتامایسین، پنی سیلین، سفازولین و کمترین اثر مربوط به عصاره اتانولی و متابولی با غلظت ۱۰۰ و عصاره متانولی گیاه در کلیه غلظت‌های به کار رفته در آزمایش بود. همچنین، بیشترین اثر ضد باکتریایی علیه *E. coli* مربوط به نورفلوکساسین، سفازولین، جنتامایسین، عصاره اتانولی با غلظت ۱۰۰، عصاره متانولی با غلظت‌های ۶۰، ۱۰۰ و کمترین اثر مربوط به پنی سیلین و عصاره متانولی با غلظت‌های ۸۰، ۴۰ و ۲۰ بود. همچنین بیشترین اثر ضد باکتریایی علیه *P. aeruginosa* به ترتیب مربوط به نورفلوکساسین، جنتامایسین، عصاره اتانولی با غلظت ۱۰۰ و عصاره متانولی با غلظت‌های ۱۰۰ و ۸۰ و کمترین اثر مربوط به عصاره متانولی با غلظت‌های ۶۰، ۴۰، ۲۰، سفازولین و پنی سیلین است.

نتایج آزمایش‌ها نشان داد که از میان اسانس‌های اثر داده شده روی باکتری *E. coli*، عصاره اتانولی با غلظت ۱۰۰ پی‌پی‌ام دارای بیشترین اثر و در سطح ۵ درصد معنی‌دار شد و برای عصاره متانولی با غلظت‌های مختلف معنی‌دار نبود. همچنین اثر عصاره آویشن روی باکتری‌ها در مقایسه با آنتی‌بیوتیک‌ها در سطح یک درصد معنادار شد و آنتی‌بیوتیک نورفلوکساسین با قطر هاله ۴۱/۲۰ میلی‌متر دارای بیشترین مقدار بود. همچنین نتایج حاصل از بررسی اثر اسانس و عصاره آویشن روی باکتری *S. aureus* در عصاره متانولی با غلظت ۸۰ پی‌پی‌ام با قطر هاله ۶/۶۸ میلی‌متر و عصاره اتانولی با غلظت ۱۰۰ پی‌پی‌ام در سطح ۵ درصد معنی‌دار شد و برای سایر غلظت‌ها معنی‌داری نبود. در بررسی اثر عصاره آویشن روی باکتری‌ها در مقایسه با آنتی‌بیوتیک‌ها در سطح یک درصد معنی‌دار شد و آنتی‌بیوتیک سفازولین با قطر هاله ۱۹/۷۱ میلی‌متر دارای بیشترین تأثیر بازدارندگی بود.

در بررسی اثر اسانس و عصاره آویشن بر روی باکتری سودوموناس آئروجینوزا در عصاره متانولی با غلظت ۱۰۰ و ۸۰ پی‌پی‌ام با قطر هاله ۸/۰۶ و ۶/۴۸ میلی‌متر و عصاره اتانولی با غلظت ۱۰۰ پی‌پی‌ام با قطر هاله ۸/۱۴ میلی‌متر در سطح ۵ درصد معنی‌دار شد و برای سایر غلظت‌ها معنی‌دار نشد. همچنین اثر عصاره آویشن بر روی باکتری‌ها در مقایسه با آنتی‌بیوتیک‌ها در سطح یک درصد معنی‌دار شد و دارای اختلاف معناداری بود و آنتی‌بیوتیک نورفلوکساسین با قطر هاله ۳۰/۰۱ میلی‌متر بیشترین و آنتی‌بیوتیک جنتامایسین با قطر هاله ۱۸/۴۰ میلی‌متر دارای کمترین مقدار بود و بر روی آنتی‌بیوتیک پنی سیلین و سفازولین بی اثر و فاقد سطح معنی‌داری بود.

جدول ۲- مقایسه‌ی میانگین قطر هاله (میلی متر) عصاره‌ی آویشن در تیمارهای مختلف میکروبی در آزمون دانکن



## هفتمین کنفرانس ملی مرتع و مرتعداری ایران

۱۸-۱۹ اردیبهشت ماه ۱۳۹۷

تیمار	میانگین قطر هاله	میانگین قطر هاله در تیمار	میانگین قطر هاله در تیمار	میانگین قطر هاله در تیمار
عصاره	در تیمار	در تیمار	در تیمار	در تیمار
	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>β. streptococcus</i>
متانولی با غلظت ۱۰۰ (p.p.m)	۶/۶۸ <sup>e</sup>	۷/۰۶ <sup>d</sup>	۸/۰۶ <sup>c</sup>	. <sup>e</sup>
متانولی با غلظت ۸۰ (p.p.m)	. <sup>f</sup>	. <sup>e</sup>	۶/۴۸ <sup>d</sup>	. <sup>e</sup>
متانولی با غلظت ۶۰ (p.p.m)	. <sup>f</sup>	۷/۰۸ <sup>d</sup>	. <sup>e</sup>	. <sup>e</sup>
متانولی با غلظت ۴۰ (p.p.m)	. <sup>f</sup>	. <sup>e</sup>	. <sup>e</sup>	. <sup>e</sup>
متانولی با غلظت ۲۰ (p.p.m)	. <sup>f</sup>	. <sup>e</sup>	. <sup>e</sup>	. <sup>e</sup>
اتانولی با غلظت ۱۰۰ (p.p.m)	۸/۱۰ <sup>d</sup>	۸/۱۱ <sup>d</sup>	۸/۱۴ <sup>c</sup>	. <sup>e</sup>
جتنامایسین	۱۱/۶۹ <sup>c</sup>	۱۸/۱۰ <sup>c</sup>	۱۸/۴۰ <sup>b</sup>	۲۵/۴۰ <sup>b</sup>
سفازولین	۱۹/۷۱ <sup>a</sup>	۲۱/۷۹ <sup>b</sup>	. <sup>e</sup>	۱۶/۲۹ <sup>d</sup>
نورفلوکساسین	. <sup>f</sup>	۴۱/۲۰ <sup>a</sup>	۳۰/۰۱ <sup>a</sup>	۳۰/۰۳ <sup>a</sup>
پنی سیلین	۱۵/۶۰ <sup>b</sup>	. <sup>e</sup>	. <sup>e</sup>	۲۰/۷۰ <sup>c</sup>

میانگین‌هایی که دارای حرف مشترک در هر ستون هستند، بر مبنای آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۰/۰۵ تفاوت معنی داری ندارند و در نتیجه در یک گروه قرار می‌گیرند.

### بررسی ترکیبات اصلی شناخته شده در اسانس *T. k.* در مرحله‌ی گل‌دهی

در بررسی انجام شده توسط فکور و همکاران در سال ۱۳۸۶ روی اسانس گیاه *T. e.* مشخص شد که ترکیبات شاخص این گیاه تیمول (۶۳/۸٪)، بتاکاریوفیلین (۱۳/۳٪) و سیس ساینین هیدروکساید (۸/۱٪) می‌باشند؛ از مقایسه‌ی 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 ساینین هیدروکساید مشابه ترکیبات اصلی گونه‌ی مورد مطالعه است. در مطالعه‌ی نیک آور و همکاران (۲۰۰۵) که روی اسانس اندام هوایی گونه‌های *T. daenensis* و *T. k.* انجام گرفت مشخص شد؛ ترکیبات شاخص این گونه‌ها تیمول با (۴۷٪ و ۳۸/۶٪)، پی‌سیمن (۶/۵٪ و ۷/۳٪) در دو گونه، و در گونه‌ی *T. d.* بتا کاریوفیلین (۳۸٪)، متیل کارواکرول (۳/۶٪) و در گونه *T. k.* کارواکرول (۳۳/۹٪)، گاماترینین با (۸/۲٪) بود که بیشترین درصد ترکیبات مربوط به تیمول گزارش شد. از مقایسه‌ی ترکیبات فوق با ترکیبات اصلی شناخته شده در اسانس *T. k.* مشخص شد که وجود تیمول با بیشترین درصد (۳۲/۷۷٪) کارواکرول (۵/۶۱٪) و گاماترینین (۸/۴۳٪) جزء ترکیبات شاخص می‌باشند که مشابه تحقیق نیک آور و همکاران است. در مطالعه‌ی دیگری که توسط صفایی قمی و همکاران در



## هفتمین کنفرانس ملی مرتع و مرتعداری ایران

۱۸-۱۹ اردیبهشت ماه ۱۳۹۷

سال ۲۰۰۹، روی اسانس گیاه *T. c.* انجام گرفت؛ ترکیبات شاخص این گیاه کارواکرول (۸۵/۹٪)، تیمول (۳/۳٪)، سیمن (۳/۲٪)، گاماترپینن (۱/۸٪) و بورنئول (۱/۳٪) 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 تریپنئول، لینالول و ۸ و ۱ سینئول که به عنوان ترکیبات شاخص در مرحله گل‌دهی شناسایی شدند و با نتایج تحقیق میگوئل و همکاران (۲۰۰۳)، روی اسانس گیاه *T. c.* که آلفا تریپنئول، لینالول، استات لینالیل و ۸ و ۱ سینئول به عنوان ترکیب‌های شاخص گونه‌ی یادشده معرفی شدند؛ مطابقت دارد.



## هفتمین کنفرانس ملی مرتع و مرتعداری ایران

۱۸-۱۹ اردیبهشت ماه ۱۳۹۷

### منابع

- دوازده امامی، س.، مجنون حسینی، ن.، ۱۳۸۷. زراعت و تولید برخی گیاهان دارویی و ادویه‌ای. انتشارات دانشگاه تهران، ۲۴۱ ص.
- زرگری، ع.، ۱۳۷۵. گیاهان دارویی. انتشارات دانشگاه تهران، جلد اول، چاپ ششم، ۱۲۷-۱۲۳ ص.
- فکور، م.ه.، علامه، ع.، مظاهری، م.، ۱۳۸۶. فصلنامه علمی پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر، ایران جلد ۲۳، شماره ۲: ۲۶۹-۲۷۷.
- هی، ر.، واترمن، پ.، ترجمه بقالیان، ک.، نقدی باری، ح.، ۱۳۷۹. گیاهان اسانس‌دار. انتشارات نشر اندرز، چاپ علامه طباطبایی، ۷۵-۸۴ ص.
- هی، ر.، ۱۳۷۹. گیاهان اسانس‌دار. ترجمه بقالیان، ک.، انتشارات نشر اندرز تهران، ۲۱۵-۲۰۱ ص.
- Adams, R.P., 2004. Identification Of Essential Oil Components By Gas Chromatography/Quadrupole Mass Spectroscopy. Allured Publishing Corporation, Carol Stream, 456 p.
- Baran, P., Ozdemir, C., Aktas, K., 2008. Morphological And Anatomical Properties Of *salvia argenteal*, Research Jour. Agri. and Bio. 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., Barroso, G., Pedro, L.G., 2006. Chemical Composition, Anti oxidant And Anti bacterial Activities Of The Essential Oils Isolated From Tunisian *Thymus capitatus* Hoff. et Link, Food Chemistry, 105 (2007): 146-155.
- Buyisile, M., 2009. Morphological And Chemical Composition Of the Essential Oil Of The Leaf Of *schistephium heptalobium*. African Jour. 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. Jour. Chromatography, 503 (1): 1-24.



هفتمین کنفرانس ملی مرتع و مرتعداری ایران

۱۸-۱۹ اردیبهشت ماه ۱۳۹۷

Gersbash, P.V., 2002. The Essential Oil Secretary Structures Of *Prostanthera ovalifolia* (Lamiaceae) , Annals Of Botany, 89: 255-260.

Karaman, S., Digrak., M., Ravid, U., Ilcim, A., 2000. Antibacterial And Antifungal Activity Of The Essential Oil Of *Thymus revolutus* Celak From Turkey. Jour. Ethnopharmacology, 76: 183-188.

Maria, C., Rota, H., Antonio, M.M., Rosa, A.S., Jose, J., Maria, J., 2008. Antimicrobial Activity And Chemical Composition Of *Thymus vulgaris*, *Thymus zygis* And *Thymus hymalis* Essential Oils. Food Control, ۱۹, ۶۸۱- ۶۸۷.

Mehment, Emin Duru. 2004. The Constituents Of Essential Oil And Invitro Antimicrobial Activity of *Micromeria cilica* From Turkey. Food Chemistry, volum 75: 459 - 463.

Miguel, G., Simoes, M., Figueiredo, A.C., Barroso, J.G., Pedro, L.G., Carvalho, L., 2004. Composition And Antioxidant Activities Of the Essential Oils Of *Thymus mastichina*, Food chemistry 86: 183-1۸۸.

Nejad Ebrahimi, S., Hadian, J., Mir Jalili, M.H., Sonboli, A., Yousefzadi, M., 2008. Essential Oil

Composition And Antibacterial Activity Of *Thymus caramanicus* At Different Phonological Stages. Food Chemistry, 110 (2008): 927-931.

Nickavar, B., Mojab, F., Dolat-Abadi, R., 2005. Analysis Of The Essential Oils Of Two *Thymus* Species From Iran. Food Chemistry, 90: 609-611.

Safaei-ghomi, j., ebrahimabadi, h., Djafari-Bidgoli, A., Batooli. Z. 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.

## **Investigating on Chemical Components *Thymus* (*Thymus kotschyanus*) Antibacterial Effects of Extract in Zaqeh Region**

هفتمین کنفرانس ملی مرتع و مرتعداری ایران

۱۸-۱۹ اردیبهشت ماه ۱۳۹۷



**(Case study: Zaqeh region, Lorestan province, Iran)**



هفتمین کنفرانس ملی مرتع و مرتعداری ایران

۱۸-۱۹ اردیبهشت ماه ۱۳۹۷

## Abstract

The natural treatment of diseases of microbial source using the plant source materials have is of utmost importance. In order to identify the existing compounds in essential oils obtained from aerial organs of *Thymus kotschyanus* and investigate the antibacterial effects of extracts and essential oils, this study was carried out. During 2011, plant samples were collected in the flowering stage in various regions of Zaqeh, Lorestan province, Iran. Samples were transferred to the laboratory and then, shadow-dried. For the anatomical studies, staining was conducted by the means of bismarc brown and methyl green; afterwards, their essential oils have been extracted using Hydrodistillation method by Clevenger apparatus. The components have been investigated by the means of a gas chromatography device connected to a mass detector. Moreover, the antibacterial effects of essential oils and extract on four pathogenic bacteria studied using the disc method, Mueller-Hinton agar medium (MHA) and diameter measurement. With respect to the compounds retention time, Kovats retention index, spectrometers and comparisons of these parameters and standard compounds, the achieved results indicated that the studied species was included 52 compounds in its essential oils which constituted 78.87% of total essential oils. The main constituents included Cymol (4.35%) , Gamma-terpinene (8.43%) , Cis-Sabinene hydrate (2.87%) , Borneol (4.35%) , 4-terpineol (2.5%) , Thymol (32.77%) and Carvacrol (5.61%). Results demonstrated that the essential oils and extract of *T. kotschyanus* had antibacterial effects. Results showed that the anti-microbial isolates at concentrations significantly different between there and thyme oil have the effect of inhibiting bacterial growth, depending on the type of bacteria is drastically different effects.

**Key words:** *Thymus kotschyanus*, essential oils, antibacterial effects, botanical properties, thymol.