



فصلنامه علمی - پژوهشی گیاه و زیست بوم

سال ۱۰، شماره ۴۰، پاییز ۱۳۹۳

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

علی آریاپور^۱، کلثوم کرمی^۱، امیر حیدری جمشیدی^۲

چکیده

خانواده نعنائیان دارای حدود ۲۰۰ جنس و ۴۰۰۰ گونه گیاهی می‌باشد که جنس آویشن یا *Thymus* یکی از آن‌ها می‌باشد. اکثر گیاهان این خانواده دارای اسانس بوده که در صنایع مختلف دارویی، آرایشی و بهداشتی و غذایی کاربرد دارند. جنس آویشن دارای گونه‌های مختلفی در ایران است که در استان‌های مختلف پراکنش دارد. هدف از این مطالعه بررسی ترکیبات موجود در اسانس حاصل از اندام های هوایی گونه گیاهی *Thymus eriocalyx* و بررسی اثر ضد میکروبی عصاره گونه مذکور می‌باشد. نمونه‌های گیاهی در سال ۱۳۹۰ از مناطق مختلف منطقه پرسک الشتر از استان لرستان و در مرحله گلدهی از گیاه برداشت شد. نمونه‌ها پس از انتقال به آزمایشگاه در سایه خشک شدند. ابتدا برای مطالعات آناتومیکی از رنگ آمیزی با رنگ قهوه‌ای بیسمارک و سبز متیل استفاده شد و سپس اسانس آن به روش تقطیر با آب توسط دستگاه کلونجر استخراج و توسط دستگاه گاز کروماتوگرافی متصل به شناساگر جرمی بررسی و اجزای آن شناسایی شد. همچنین در این پژوهش اثر ضد میکروبی عصاره گونه مورد نظر بر علیه ۴ باکتری گرم مثبت و گرم منفی با استفاده از روش دیسک به کمک محیط کشت مولر هینتون آگار (MAH) و سنجش قطر هاله عدم رشد بررسی شد. در بررسی‌های آزمایشگاهی مشخص شد گونه مورد مطالعه با گونه‌های دیگر در منطقه لرستان با نام‌های *T. Lancifoliosus* و *T. kotschyanus* از نظر آناتومیکی خصوصیات مشابهی دارند. با توجه به زمان بازداری ترکیب‌ها، اندیس بازداری کوئینس، طیف جرمی و مقایسه‌ی این پارامترها با ترکیبات استاندارد، نتایج نشان داد که این گونه ۴۵ ترکیب در اسانس خود دارد که در مجموع ۹۵/۸۵ درصد کل اسانس را تشکیل می‌دهند. ترکیبات اصلی آن شامل سیمول^۳ (۳/۲۶ درصد)، کارواکرول^۴ (۵۲/۳۴ درصد)، تیمول^۵ (۱۶/۴۳ درصد)، گاما ترپنین^۶ (۱۰/۸۶ درصد) می‌باشد. نتایج این تحقیق با سایر تحقیقات به لحاظ ترکیبات اصلی موجود در اسانس یکسان بود اما میزان آن‌ها متفاوت است که این تفاوت ممکن است ناشی از اثر عوامل محیطی یا روش‌های برداشت نمونه‌ها بر روی بیوسنتز اسانس باشد که زمان برداشت، مکان، مرحله رشد گیاه، تغییرات آب و هوایی و نیز عوامل منطقه‌ای از جمله آن‌ها است. همچنین نتایج حاصله در خصوص اثر ضد میکروبی نشان داد که عصاره‌های گونه‌ی مورد نظر دارای اثرات ضد باکتریایی می‌باشد.

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

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

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

* مکاتبه کننده: (aariapour@yahoo.com)

تاریخ دریافت: بهار ۹۱ تاریخ پذیرش: تابستان ۹۲

³-Cymol

⁴-Carvacrol

⁵-Thymol

⁶- γ -terpinene

مقدمه

استفاده از گیاهان اسانس دار در ایران از سابقه طولانی برخوردار می باشد و اسانس ها به دلیل نقشی که می توانند در داروها داشته باشند دارای اهمیت زیادی هستند. لذا شناسایی دقیق و بررسی اکولوژیک مجموعه گونه های گیاهان دارویی، صنعتی و اسانس دار که بسته به شرایط اقلیمی، اکولوژیک هر منطقه، از تنوع و غنای گونه ای متفاوتی برخوردار است، ضروری می باشند. اسانس ها که ترکیبات معطر گیاهی می باشند با داشتن اثرات ضد میکروبی، ضد قارچی، ضد ویروسی، ضد التهابی، ضد سرطانی، راه کارهای ویژه ای را در طب گیاهی گشوده اند. عفونت های میکروبی تهدید جدی برای سلامتی انسان ها 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 می شود. در سال های اخیر با پیشرفت دستگاه ها و روش های اندازه گیری و شناسایی ترکیبات شیمیایی اسانس ها، گستره پژوهشی این دسته از مواد، چشم انداز نوینی یافته است. از آنجایی که گیاهان مفید دارویی در کشور فراوان می روید، بررسی ترکیب های موثره این گیاهان و اثرات دارویی آن ها می تواند گامی مثبت در شناسایی و استفاده بهینه از این ثروت ملی با ارزش باشد. با توجه به کاربردهای مختلف اسانس ها شناسایی اجزای تشکیل دهنده آن ها، می تواند در استفاده اختصاصی و بهینه رهنمون باشد که با توجه به اهمیت این چنین گیاهانی ضرورت دارد مطالعات جامعی از جنبه های مختلف اکولوژیک در مورد آن ها انجام شود (حسینی بمرود، ۱۳۸۴). عده زیادی از گیاهان تیره نعناع، سریع تحت تاثیر شرایط متفاوت محیط زندگی قرار می گیرند مانند آنکه انواعی از آن ها

که در دشت ها و اماکن مرطوب می رویند اگر در محیط های خشک قرار گیرند، به سرعت تغییراتی از نظر سازش و تطابق با محیط حاصل می کنند تا مقاومت آن ها در مقابل تعرق، زیاد شود به طوری که برگ های آن ها پوشیده از کرک می شود، یا کناره پهنک برگ های آن ها به سمت پایین خمیدگی حاصل می کند و یا روزنه ها، به حالت فرو رفته در بشره باقی می ماند و یا ممکن است هیپودرم در آن ها به صورت کامل کلانشیمی درآید و یا برگ حالت به نسبت ضخیم و چرمی پیدا کند و حتی سطح آن ممکن است کاهش حاصل نماید به حدی که به کلی از بین برود (زرگری، ۱۳۷۵). نتایج تحقیق (Gersbash, 2002)، (baran *etal.*, 2008) و (Buyisile, 2009) نشان داد که در سطح اپیدرم برگ گونه های، *Prostanthera ovalifolia*، *Schistostephium*، *Salvia argentea* *eptalobium* از خانواده نعناع کرک های غده ای وجود دارد.

آویشن گیاهی است پایا و دارای نمونه هایی به اشکال متفاوت و متمایز از یک دیگر، به طوری که در بین آن ها پایه هایی با ساقه مدور یا چهارگوش و فرم هایی با ریشه های نابجا در ناحیه ساقه ای خوابیده گیاه با زمین، دیده می شود. پایه های متعدد آن، به طور غالب به صورت انبوه، سطح زمین محل رویش را فرا می گیرد. از مشخصات آن این است که برگ های متقابل، کوچک بیضوی، نوک تیز و به درازی یک سانتی متر دارد. گل های کوچک آن به رنگ گلی، سفید یا ارغوانی و مجتمع در کناره برگ ها است. وضع پراکندگی آن به نحوی است که در اماکن خشک، چمنزارها، مناطق عاری از درخت، تپه های شنی و آبرفت های نواحی مختلف اروپا به خصوص منطقه مدیترانه و همچنین در برخی نقاط آسیا، مانند قفقاز، سیبری در آفریقا و آمریکای شمالی می

T. eriocalyx مشخص شد که ترکیبات شاخص این گیاه تیمول ۶۳/۸ درصد، بتاکاریوفیلین ۱۲/۳ درصد و سیسسابین هیدروکساید ۸/۱ درصد می باشند. طی مطالعاتی که روی گیاه *Eremosta chyspularis* از تیره نعناع، انجام گرفت سه نوع آنتی‌اکسیدان phenyl, ethanoil, glycosides در ریزوم این گیاه شناسایی شدند. (karman et al., 2001)، اثرات باکتریواستاتیکی قوی اسانس برخی از گیاهان تیره نعناع از جمله *Thymus revolutus* را بر روی باکتری گرم مثبت استافیلوکوک طلایی بررسی کردند. در تحقیق (Miguel et al., 2003) بر روی اسانس گونه *T. caespitius*، آلفا ترپینئول، لینالول، استات لینالیل و ۸ و ۱ سینئول به عنوان ترکیب‌های شاخص گونه‌ی مذکور شناخته شد. نتیجه پژوهش (Emin, 2004) بر روی فعالیت ضد میکروبی *Micromeriaticilica* بر روی چند باکتری و یک مخمر به عنوان عوامل به وجود آورنده عفونت در انسان نشان داد که اسانس این گیاه دارای خواص ضد میکروبی می‌باشد. (نیک‌آور و همکاران، ۲۰۰۵) در مطالعه‌ای که بر روی اسانس اندام هوایی گیاه *T. daenensis* انجام دادند، ترکیبات شاخص این گونه را تیمول ۴۷ درصد، پی سیمن ۶/۵ درصد، بتا کاریوفیلین ۳۸ درصد و متیل کارواکرول ۳/۶ درصد اعلام نمودند. (نیک‌آور، ۲۰۰۵) در بررسی دیگری در همان سال بر روی اسانس اندام هوایی گیاه *T. kotschyanus* نتیجه گرفت، تیمول با ۳۸/۶ درصد، کارواکرول ۳۳/۹ درصد، گاماتریپی ن 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، گاماتریپین، تیمول و

روید. گل‌های آن در فروردین تا اوایل پاییز به تناسب شرایط محل رویش ظاهر می‌شود (دوازده امامی و همکاران، ۱۳۸۷). در اسانس آویشن متیل کاپیکول، سینئول، و بورنئول نیز وجود دارد. ترکیبات موجود در آویشن دارای خواص ضد عفونی کننده، خلط آور، ضد میکروب، ضد قارچ، تونیک و ضد انگل هستند. انواع آویشن در درمان سرفه، به عنوان ضد نفخ، تقویت کننده‌ی دستگاه هاضمه و آرام‌بخش به کار می‌رود. در صنایع غذایی در انواع پیتزا و مانند آن به عنوان یک طعم دهنده به کار می‌رود (کشفی بناب، ۱۳۸۹). رویکرد جهانی به استفاده از گیاهان دارویی و ترکیب‌های طبیعی در صنایع دارویی، آرایشی-بهداشتی و غذایی و به دنبال آن توجه مردم، مسئولین و صنایع داخلی به استفاده از گیاهان دارویی و معطر نیاز 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، اشتغال‌زایی و صادرات غیرنفتی داشته باشند. در بررسی به عمل آمده بر روی خواص ضد میکروبی عصاره‌های *S. sclarea*, *S. officinalis* مشخص شد که عصاره‌های آبی این گیاهان باروش اندازه‌گیری قطر هاله مهار رشد، تنها بر باکتری *S. aureus* اثر باکتری‌کشی داشته اما عصاره‌های متانولی این گیاهان بر روی همه باکتری‌ها و برخی قارچ‌های مورد آزمایش اثر مهار شده داشتند. عصاره‌های متانولی در مرحله زایشی گیاه خواص ضد میکروبی داشتند و حداقل غلظت بازدارندگی برای عصاره‌های متانولی بر باکتری‌ها حدود ۵۰ mg/ml است (میرزا و همکاران، ۱۳۷۸). در بررسی انجام شده توسط (فکور و همکاران، ۱۳۸۶) بر روی اسانس گیاه

گیاهی وجود دارد که بیشترین آن‌ها به ترتیب در برگ‌ها α -Pinene، β -Pinene و Limonene و نیز در گل‌ها α -Pinene، Palmitic acid و Spathulenol می‌باشد.

هدف از این پژوهش معرفی گیاه *Thymus eriocalyx* به عنوان گیاه دارویی که در استان لرستان پراکنده شده، بررسی میزان اسانس و شناسایی مواد تشکیل دهنده اسانس گونه مذکور، مطالعه ساختارهای ترشح کننده اسانس در گیاه مورد مطالعه که می‌تواند در نحوه استخراج و 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. بر این اساس تجزیه و شناسایی ترکیبات اسانس گونه‌ی *Thymus eriocalyx* همچنین ساختارهای ترشح کننده اسانس، و بررسی اثرات میکروبی، مورد تحقیق قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری گیاه مورد بررسی

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

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

تهیه اسانس

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

شناسایی ترکیب‌های شیمیایی اسانس

اسانس حاصل با روش‌های کروماتوگرافی گازی تجزیه‌ای (GC) و کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌نگار جرمی (GC/MS) مورد بررسی قرار گرفت. در این روش اسانس استخراج شده از گیاه مورد مطالعه توسط تقطیر با آب، به دستگاه GC/MS تزریق شده و مواد متشکله بر اساس نقطه جوش و قطبیت در طول یک ستون بلند ۳۰ متری از یکدیگر جدا شدند. در تمامی طیف‌های داده شده GC/MS از روی الگوی خروج آلکان‌های نرمال و شاخص بازداری طیف‌ها، اندیس کوئاس برای تک تک پیک‌ها محاسبه شد که با تطبیق آن‌ها با کتاب و مراجع مقایسه چهره به چهره طیف‌ها با اطلاعات کتابخانه‌ای کامپیوتری (Wiley 275 و کتاب Adams, 2004) و دیگر منابع، طیف‌های مربوط به هر جسم تفسیر و ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس و فرمول شیمیایی آن‌ها شناسایی شد (Davies, 1990) و (Adams, 2004). اساس کار GC مرحله ساکن به صورت یک فیلم نازک روی یک جسم جامد بی

اثر پخش شده و نمونه پس از انتشار بین آن دو، از مرحله مایع خارج می‌گردد. حلال مورد استفاده برای اجسام مختلف جذب متفاوتی داشته، بنابراین در گاز حامل ترکیب‌ها به طور جداگانه از ستون خارج گردیده و پس از وارد شدن در دکتور ثبت می‌شوند. تشخیص اجزای به دست آمده از روی زمان بازداری آن‌ها صورت می‌گیرد. به این ترتیب هر جسمی RT ثابتی دارد و با در دست داشتن استانداردهایی از اجزای سازنده اسانس‌ها عملاً تشخیص داده می‌شود.

مشخصات و برنامه دمایی دستگاه GC و

GC/MS استفاده شده در این تحقیق

اسانس حاصل از گونه Thymus در مرحله گلدهی به یک دستگاه در شرایط مشابه و یکسان تزریق شد. اسانس گیاه مورد نظر پس از آماده‌سازی، به دستگاه GC/MS تزریق گردید تا نوع ترکیب‌های تشکیل دهنده آن‌ها مشخص شود. دستگاه گاز کروماتوگرافی استفاده شده از نوع Agilent ۶۸۹۰ با ستون به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی متر و ضخامت لایه ۰/۲۵ میکرومتر از نوع HP-5MS بود. برنامه دمایی ستون به این نحو تنظیم گردید: دمای ابتدایی آن ۵۰ درجه سانتی‌گراد و توقف در این دما به مدت ۵ دقیقه، گرادیان حرارتی ۳ درجه سانتی‌گراد در هر دقیقه، افزایش دما تا ۲۴۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۱۵ درجه در هر دقیقه، افزایش دما تا ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد و سه دقیقه توقف در این دما. دمای اتاقت 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 ۵۹۷۳ Agilent 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 عصاره‌ی گیاه از روش انتشار در آگار توسط دیسک کاغذی برای عصاره‌ها و از روش دیسک کاغذی جهت آنتی بیوگرام‌ها استفاده شد.

روش تهیه محلول میکروبی جهت تلقیح به آگار

روشی که به طور معمول برای تهیه شیرابه میکروبی توصیه می‌شود، تلقیح به آگار نام دارد. در این بالوپ استریل قسمت فوقانی ۴ تا ۵ کلنی مجزا با صفات شکلی مشابه را به لوله آزمایش محتوی محیط کشت مایع مناسب منتقل می‌نمایند. محیط مایع یاد شده را در انکوباتور ۳۷ درجه قرار می‌دهند و سپس کدورت آن را با محلول استاندارد سولفات باریوم 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 aeruginosa ATCC 2785

β.streptocococs

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

در این تحقیق غلظت‌های مختلف ۲۰، ۴۰، ۶۰،

۸۰، ۱۰۰ عصاره متانولی و غلظت ۱۰۰ عصاره

اتانولی در نظر گرفته شد. دیسک‌های کاغذی استریل آنتی بیوگرام در سطح پلیت به عنوان عامل کنترل مثبت، قرار گرفت. در هر پلیت از سه آنتی بیوگرام با فاصله مناسب استفاده شد. بعد از قرار دادن دیسک‌ها در داخل هر پلیت به کمک میکروپیپت استریل حدود ۱۴۰ لاندا (میکرو لیتر) از عصاره‌های متانولی و اتانولی تهیه شده از هر کدام، به طور جداگانه به دیسک‌های موجود در هر پلیت اضافه شد. در این تحقیق از اتانول و متانول به عنوان کنترل منفی (شاهد) استفاده شد. بعد از انجام مراحل بالا درب پلیت‌ها با پارافیلیم بسته شد و سپس در داخل انکوباتور با ۳۷° جهت رشد باکتری‌ها گذاشته شد. بعد از ۲۴ ساعت پتری‌ها بررسی شدند و بار دیگر ۱۲ ساعت جهت اطمینان از پیشروی یا عدم پیشروی قطر هاله‌ی عدم رشد، پلیت‌ها دوباره به داخل انکوباتور برگردانده شدند. ۱۲ ساعت بعد برای مشاهده هاله‌های عدم رشد، پلیت‌ها مجدداً بازبینی شدند. سپس با استفاده از کولیس قطر هاله‌ی مناطق عدم رشد اندازه‌گیری شدند و در پایان کار از پلیت‌ها توسط دوربین دیجیتالی عکس تهیه شد.

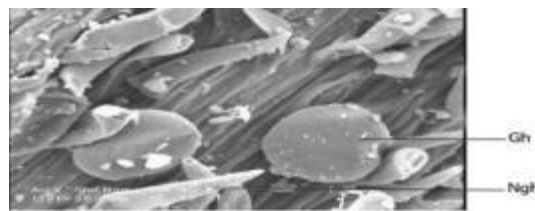
نتایج

بررسی برگ گیاه

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



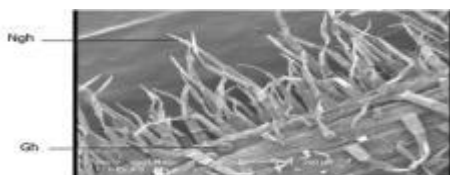
شکل ۴: برش عرضی ساقه *Thymus eriocalyx* با بزرگنمایی ۴۰۰x، Phl: آوند آبکش، Xyl: آوند چوب، C: پوست، Ep: اپیدرم



شکل ۱: تصویر برگ *Thymus eriocalyx* با میکروسکوپ الکترونی SEM، Ngh: کرک غیر ترشچی، Gh: کرک ترشچی ساقه گیاه



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

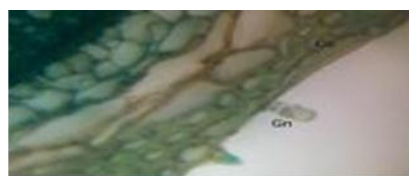


شکل ۶: تصویر ساقه *Thymus eriocalyx* با میکروسکوپ الکترونی SEM، Ngh: کرک غیر ترشچی، Gh: کرک ترشچی

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

بررسی ترکیبات شناخته شده در اسانس گیاه در مرحله گلدهی

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



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



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

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

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

نتایج حاصل از بررسی اثرات ضد باکتریایی

عصاره متانولی و اتانولی

بررسی‌های تجزیه واریانس و آزمون دانکن نشان داد که بین اثرات ضد باکتریایی عصاره اتانولی و متانولی این گیاه و شاهد‌ها و برخی از آنتی بیوتیک‌ها تفاوت معنی‌دار وجود دارد (جدول ۲). بیشترین اثر ضد باکتریایی بر علیه باکتری استفیلوکوکوس اورئوس به ترتیب مربوط به سفازولین، جنتامایسین، پنیسیلین، عصاره اتانولی با غلظت ۱۰۰، عصاره متانولی با غلظت ۴۰، ۱۰۰، ۲۰، ۶۰ و کمترین اثر مربوط به عصاره متانولی با غلظت ۸۰، نورفلوکساسین، اتانول و متانول بوده است. بیشترین اثر ضد باکتریایی بر علیه بتاسترپتوکوکوس به ترتیب مربوط به نورفلوکساسین، جنتامایسین، پنیسیلین، سفازولین و کمترین اثر مربوط به عصاره اتانولی با غلظت ۱۰۰،

عصاره متانولی با غلظت‌های مختلف ۱۰۰، ۸۰، ۶۰، ۴۰، ۲۰، اتانول و متانول بوده است. بیشترین اثر ضد باکتریایی بر علیه اشرشیاکلی به ترتیب مربوط به نورفلوکساسین، سفازولین، جنتامایسین، عصاره اتانولی و متانولی با غلظت ۱۰۰ و کمترین اثر ضد باکتریایی مربوط به پنیسیلین، عصاره متانولی با غلظت‌های مختلف ۸۰، ۶۰، ۲۰، ۴۰، اتانول و متانول بوده است. بیشترین اثر ضد باکتریایی بر علیه سودوموناس آئروژینوزا به ترتیب مربوط به سفازولین، پنیسیلین، جنتامایسین، عصاره اتانولی با غلظت ۱۰۰، عصاره متانولی با غلظت ۱۰۰ و کمترین اثر مربوط به نورفلوکساسین، عصاره متانولی با غلظت‌های ۶۰، ۴۰، ۲۰، اتانول و متانول بوده است (شکل ۸ الی ۱۰).

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

تیمارهای مختلف میکروبی

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

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 افراستگی 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 ترشچی همزمان با رشد کامل و بزرگ شدن برگ حاصل شده و از اسانس انباشته می‌شوند (هی، ۱۳۷۹). تراکم روزه‌ها در سطح زیرین گیاه نسبت به سطح بالایی برگ بیشتر بود با توجه به نوع گیاه و محل رویش آن این مسئله برای گیاه مزایای زیادی دارد که می‌توان گفت: ۱- باعث افزایش سطح برگ جهت دریافت نور بیشتر می‌شود ۲- در اثر رسوب موادی مثل گرد و غبار بسته نمی‌شوند ۳- در معرض مستقیم تابش نور خورشید نبوده بنابراین تبخیر آب از سطح بالایی برگ کمتر شده است وجود انواع کرک‌های ترشچی و غیرترشچی 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 غیرترشچی از تبخیر آب جلوگیری می‌شود، بنابراین می‌توان ادعان کرد که نحوه توزیع کرک‌های ترشچی و غیرترشچی در سطح برگ‌های این گیاهان به احتمال زیاد به منشأ گیاه بستگی دارد (امید بیگی، ۱۳۷۶). در قسمت رویی برگ کرک‌های غیر ترشچی فراوان‌ترند تا بسته به شرایط محیط از گیاه محافظت کنند وجود پارانثیم 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 ترشچی از نوع ساده و چند سلولی و پوششی مشاهده شد.

در مطالعه‌ای که توسط (Gersbash, 2002) بر 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

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



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



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



شکل ۱۰: اثر ضد میکروبی عصاره اتانولی گیاه *T. eriocalyx* سمت چپ، با *T. kotschyanus* سمت راست بر روی باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس.

بحث و نتیجه‌گیری

تفسیر نتایج حاصل از بررسی‌های آناتومیکی گونه مورد مطالعه

در بررسی ساقه گونه مورد نظر، در سطح خارجی اپیدرم لایه‌ی کوتیکول حاوی کوتین مشاهده شد با توجه به ارتفاع و کوهستانی بودن محل رویش وجود لایه

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

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

در بررسی انجام شده توسط (فکور و همکاران، ۱۳۸۶) بر روی اسانس گیاه *T. eriocalyx* مشخص شد که ترکیبات شاخص این گیاه تیمول ۶۳/۸ درصد، بتاکاریوفیلین ۱۳/۳ درصد و سیس سابینن هیدروکساید ۸/۱ درصد می‌باشند از مقایسه ترکیبات فوق با ترکیبات اصلی شناسایی شده در اسانس گونه مورد مطالعه در این تحقیق مشخص شد که ترکیب تیمول با بیشترین درصد و ترکیب سیس سابینن هیدروکساید مشابه ترکیبات اصلی گونه مورد مطالعه می‌باشد. در مطالعه‌ای (Nickavar *et al.*, 2005) که بر روی اسانس اندام هوایی گونه‌های *T. daenensis*، *T. kotschyanus* انجام گرفت مشخص شد ترکیبات شاخص این گونه‌ها تیمول با ۴۷ درصد و ۳۸/۶، پی سیمن ۶/۵ درصد و ۷/۳ درصد در دو گونه، و در *daenensis* بتا کاریوفیلین ۳۸ درصد، متیل کارواکرول ۳/۶ درصد و در *kotschyanus*

کارواکرول ۳۳/۹ درصد، گاماتریپنن با ۱۰/۸۶ درصد می‌باشد که بیشترین درصد ترکیبات مربوط به تیمول می‌باشد از مقایسه ترکیبات فوق با ترکیبات اصلی شناخته شده در اسانس *T. eriocalyx* که وجود تیمول با بیشترین درصد (۴۲/۶۰ درصد) کارواکرول ۳۲/۳۳ و گاماتریپنن ۳ درصد جزء ترکیبات شاخص می‌باشند که مشابه تحقیق (Nickavar *et al.*, 2005) می‌باشد و با نتایج این تحقیق همسویی دارد. در مطالعه (Nejad-Ebrahimi *et al.*, 2008) که در مورد اسانس اندام هوایی گیاه *T. carmanicus* صورت گرفت، کارواکرول، پی سیمن، گاماتریپنن، تیمول و بورنتول به عنوان ترکیبات اصلی اسانس گیاه شناسایی شدند که نشان از مشابهت این ترکیبات با گونه بکار رفته در این تحقیق دارد. در مطالعه دیگری که توسط (Safaei-ghomi *et al.*, 2009) بر روی اسانس گیاه *T. carmanicus* انجام گرفت ترکیبات شاخص این گیاه کارواکرول ۸۵/۹ درصد، تیمول ۳/۳ درصد، سیمن ۳/۲ درصد، گاماتریپنن ۱/۸ درصد و بورنتول ۱/۳ درصد بودند، که در این مورد نیز با نتایج به دست آمده در این تحقیق از نظر ترکیبات شاخص همسویی دارد. در این پژوهش نیز ترکیب آلفا ترپینئول، لینالول و ۱۰۸ سینئول به عنوان ترکیبات شاخص در مرحله گلدهی شناسایی شد و با نتایج تحقیق (Miguel *et al.*, 2003) بر روی اسانس گیاه *T. caespititius* که آلفا ترپینئول، لینالول، استات لینالیل و ۱۰۸ سینئول به عنوان ترکیب‌های شاخص گونه‌ی یاد شده معرفی شدند مطابقت دارد. در بررسی دیگری که توسط (Maria, C. Rota *et al.*, 2008) بر روی گونه‌های *T. hymalis*، *T. vulgaris*، *T. zygis* انجام گرفت مشخص شد که در گونه *zygis* تیمول، در *vulgaris* تیمول و لینالول و در گونه‌ی *hymalis* تیمول، لینالول و کارواکرول به عنوان

نیز عصاره‌های متانولی و اتانولی گیاه *T. kotschyanus* دارای اثرات ضد میکروبی بر علیه باکتری استافیلوکوکوس اورئوس بوده که این نتایج با تحقیق حاضر یکسان است. (Emin, 2004) فعالیت ضد میکروبی *Micromeriaticilica* بر روی چند باکتری و یک مخمر به عنوان عوامل به وجود آورنده عفونت در انسان نشان داد که به طور کلی اسانس این گیاه دارای خواص ضد میکروبی می‌باشد در این تحقیق نیز هر دو نوع عصاره متانولی و اتانولی این گیاه دارای اثرات ضد میکروبی بودند که با نتایج امین همسویی دارد. تحقیقات بوناتریو و همکاران در سال ۲۰۰۷ بر روی گیاه *Thymus capitatus* نشان داد که گونه مذکور علاوه بر فعالیت آنتی اکسیدانی دارای اثرات ضد میکروبی بر روی باکتری‌های باسیلوس سراوس گونه سالمونلا، لیستریا اینوکوا، ۴ سگوش استافیلوکوکوس اورئوس و یک شکل مقاوم اس اورئوس می‌باشد که خصوصیات ضد میکروبی با آنتی بیوتیک مصنوعی مقایسه گردیده و فعالیت های آنتی باکتریال بالاتر در مراحل گلدهی و پس از گلدهی مشاهده گردید که با نتایج حاصل از این پژوهش همسویی دارد. تحقیقات به عمل آمده (karman *etal.*, 2001) که بر روی هفت باکتری گرم مثبت و یک باکتری گرم منفی با استفاده از روش دیسک و حداقل غلظت باز دارندگی در گیاه *T. carmanicus* صورت گرفت، نشان داد که فعالیت ضد میکروبی حدود ۱۵-۵ mg/ml می‌باشد. همچنین فعالیت ضد میکروبی بر روی ۲ باکتری باسیلوس سابیتیلوس و پزودوموناس، آئرو ژینوزا بیشترین حد را داشته است. نتایج این پژوهش نشان داد بیشترین اثر ضد باکتریایی بر علیه اشرشیاکلی به ترتیب مربوط به نورفلوکساسین، سفازولین، جنتامایسین، عصاره اتانولی و متانولی با غلظت ۱۰۰ و کمترین اثر ضدباکتریایی مربوط به پنیسیلین، عصاره متانولی

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

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

هر دو نوع عصاره اتانولی و متانولی این گیاه دارای اثرات ضد میکروبی بر روی باکتری‌های گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس و گرم منفی اشرشیاکلی و سودوموناس آئروژینوزا بود و بیشترین تاثیر را عصاره اتانولی با غلظت ۱۰۰ بر روی باکتری گرم منفی اشرشیاکلی (قطر هاله عدم رشد ۱۰/۶۸ میلی متر) داشت. همچنین عصاره متانولی در غلظت‌های پایین‌تر بر روی باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس موثر بوده در حالی که همین عصاره در غلظت‌های بالا (۱۰۰٪) بر روی باکتری‌های گرم منفی اشرشیاکلی و سودوموناس آئروژینوزا تاثیر داشته است. در بررسی به عمل آمده توسط میرزا و همکاران بر روی خواص ضد میکروبی عصاره‌های *S. sclarea*, *S. officinalis* مشخص شد که عصاره‌های آبی این گیاهان با روش اندازه‌گیری قطر هاله مهار رشد، تنها بر باکتری *S. aureus* اثر باکتری کشی داشته اما عصاره‌های متانولی این گیاهان بر روی همه باکتری‌ها و برخی قارچ‌های مورد آزمایش اثر مهار شده داشتند. عصاره‌های متانولی در مرحله زایشی گیاه خواص ضد میکروبی داشتند و حداقل غلظت بازدارندگی برای عصاره‌های متانولی بر باکتری‌ها حدود ۵۰ mg/ml است. در پژوهش حاضر مشخص شد کمترین اثر باکتریایی مربوط به عصاره متانولی با غلظت ۸۰، نورفلوکساسین، اتانول و متانول می‌باشد که با نتایج (karman *etal.*, 2001) مطابقت دارد، همچنین اثرات باکتریواستاتیکی قوی اسانس برخی از گیاهان تیره نعناع از جمله *Thymus revolutus* را بر روی باکتری گرم مثبت استافیلوکوک طلائی نشان دادند. در تحقیق ایشان

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

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

منابع

- امید بیگی، ر. ۱۳۷۶. رهیافت‌های تولید و فرآوری گیاهان دارویی. انتشارات آستان قدس رضوی.
- حسینی بمرود، غ.، ح. ظریف کتابی، ا. باریاب و م. دشتی. ۱۳۸۴. بررسی اکولوژی و پراکنش گیاه اسانس‌دار *Echinophora platyloba* در استان خراسان. مجموعه مقالات همایش ملی توسعه پایدار گیاهان دارویی، مشهد مقدس، ۷-۵ مرداد: ۷۷.
- دوازده امامی، س.، مجنون حسینی، ن. ۱۳۸۷. زراعت و تولید برخی گیاهان دارویی و ادویه‌ای. انتشارات دانشگاه تهران، ص ۲۴۱.
- زرگری، ع. ۱۳۷۵. گیاهان دارویی. انتشارات دانشگاه تهران، جلد اول، چاپ ششم.
- فکور، م. ه.، ع. علامه، رسولی. و م. مظاهری. ۱۳۸۶. فصلنامه علمی پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران جلد ۲۳، شماره ۲، صفحه ۲۷۷-۲۶۹.
- کشفی بناب، ع. ر. ۱۳۸۹. مزیت نسبی اقتصادی کشت و تجارت گیاهان دارویی در ایران و ارزش آن در بازارهای جهانی. بررسی‌های بازرگانی، ۸(۴۴): ۶۷-۷۸.
- متقی‌نژاد، س. ع.، س. محرابی، ف. نعمت الهی، ک. لاریجانی و آ. عطوفی. ۱۳۸۹. شناسایی ترکیبات موجود در روغن اسانس گل و برگ گیاه *Sumbucus ebulus* L. با استفاده از طیف سنجی GC و GC/MS. مجله علمی پژوهشی گیاه و زیست بوم: ۶(۲۲): ۵۳-۶۴.
- میرزا، م. و سفیدکن، ف. ۱۳۷۸. اسانس‌های صنعتی. انتشارات وزارت جهاد سازندگی، جلد اول، چاپ اول.
- هی، ر. و واترمن، پ. ترجمه بقالیان، ک. و نقدی باری، ح. ۱۳۷۹. گیاهان اسانس دار. انتشارات نشر اندرز، چاپ علامه طباطبایی.
- Adams, R. P.** 2004. Identification of Essential Oil Components by GasChromatogography/Quadrupole Mass Spectroscopy. Allured Publishing Corporation, Carol Stream, 456p.
- Baran, P., C. Ozdemir and K. Aktas.** 2008. Morphological and anatomical properties of *Salvia argenteal*, Research. *journal of agriculture and biological sciences*, 4(6), 725-733.
- Buyisile, M.** 2009. Morphological and Chemical Composition of the essential oil of the leaf of *Schistephium heptalobium*. *African journal of biotechnology*, 8(8), 1509-1519.
- Davies, N. W.** 1990. Gas chromatographic retention indices of monoterpenes and sesquiterpenes on methyl silicon and carbowax 20M phases. *Journal of chromatography*, 503(1): 1-24.

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

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

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

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

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

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

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

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