

## بررسی تأثیر تیمارهای مختلف آبیاری بر ترکیب شیمیایی و خواص ضد باکتری اسانس گیاه وایول (*Parthenium argentatum* A. Gray)

زهرا باهر نیک<sup>۱\*</sup>، مریم تیموری<sup>۲</sup> و مهدی میرزا<sup>۳</sup>

\*- نویسنده مسئول، مربی پژوهشی، بخش تحقیقات گیاهان دارویی و محصولات فرعی، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، پست الکترونیک: baher@rifr-ac.ir

<sup>۲</sup>- مربی پژوهشی، بخش تحقیقات جنگل، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور

<sup>۳</sup>- دانشیار، بخش تحقیقات گیاهان دارویی و محصولات فرعی، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور

تاریخ دریافت: آبان ۱۳۸۷

تاریخ اصلاح نهایی: اسفند ۱۳۸۷

تاریخ پذیرش: اردیبهشت ۱۳۸۸

### چکیده

در این تحقیق تأثیر تیمارهای مختلف آبیاری بر ترکیب شیمیایی و خواص ضد باکتریایی اسانس گل گیاه وایول (*Parthenium argentatum* A. Gray) مطالعه شده است. اجرای مطالعات تیمار آبیاری گیاهان در قالب طرح آماری اسپلیت پلات در چهار سطح آبیاری کامل (در حد ظرفیت زراعی)، تنشهای ملایم (۷۵٪ و ۵۰٪ ظرفیت زراعی) و شدید (۲۵٪ ظرفیت زراعی) و در سه تکرار انجام شد. بعد اسانس گیاهان تحت تیمار استخراج شده و مورد بررسی کمی و کیفی قرار گرفت. همچنین اثر ضد باکتریایی اسانسهای بدست آمده از گیاهان تحت تیمار بر روی ۴ باکتری گرم مثبت و ۴ باکتری گرم منفی به روش انتشار روی دیسک بررسی شد. نتایج حاصل نشان داد که نه تنها کمیت اسانس بلکه کیفیت آن نیز تحت تأثیر قرار گرفته و میزان ترکیبهای آلفا-پینن، بتا-پینن و نیز گاما-اودسمول و بتا-اودسمول نیز تغییر یافته است. همچنین نتایج نشان داد که اثر ضد باکتریایی اسانس حاصل از تیمار تنش متوسط (۵۰٪ ظرفیت زراعی) بر باکتریهای گرم مثبت و منفی بیش از سایر اسانسها بوده که می تواند ناشی از میزان بالای آلفا-پینن و بتا-پینن در ترکیبهای تشکیل دهنده آن در مقایسه با سایرین باشد. بعلاوه حساسیت باکتریهای گرم مثبت بیش از باکتریهای گرم منفی بوده است.

واژه های کلیدی: وایول (*Parthenium argentatum* A. Gray)، تیمار آبیاری، اسانس، خواص ضد باکتریایی.

### مقدمه

از آنجایی که گیاهان قادرند راهبردهای متفاوتی را در پاسخ به تغییرات محیطی از خود نشان دهند، از جمله به منظور کاهش اثرهای تنش، ساختمان و یا متابولیسم خود را تعدیل و اصلاح نمایند، بنابراین تغییر در سنتز یا تجمع برخی مواد مانند آنزیمهای متابولیسم کربن و مواد معدنی و یا لیپیدها و نیز تغییر در نوع و میزان ترکیبهای

موجود در اسانس گیاهان ممکن است روی دهد ( Basra )  
Holtzer و همکاران (۱۹۸۸) نشان دادند که براساس

نوع گونه، تنش خشکی می تواند موجب افزایش یا کاهش مواد ثانویه و یا بدون اثرگذاری بر تولید آنها باشد. بعلاوه براساس یافته های محققان مختلف خصوصیات کمی و کیفی اسانس گیاهان دارویی به

منبعی از لاتکس و چند محصول فرعی است. بوته‌ای با ارتفاع ۱ متر و پیرامون ۲ متر، دارای ریشه‌ای گنبدی شکل، مرکب از ریشه‌ای شیرابه‌ای با تورهای فیبری که به صورت عمودی در خاک فرو می‌رود. برگها دراز و باریک، حواشی برگها دندانهای، گلها کوچک و بر روی نهج‌های مشترک واقعند. میوه آن فندقه است (Rollins, 1950). پراکنندگی آن به صورت تک تک و انفرادی بوده و عمدتاً در ارتفاع حدود ۲۱۰۰-۱۲۰۰ متر از سطح دریا رشد می‌کند. ارقام مختلف این گیاه جهت بررسی امکان کشت و سازگاری کولتیوارهای مختلف وایول، در ایران کاشته شده است.

هدف از این مطالعه بررسی تأثیر تیمارهای مختلف آبیاری بر ترکیبهای شیمیایی اسانس گل‌های گیاه وایول و خواص ضد باکتریایی آنها بوده است.

### مواد و روشها

تحقیق حاضر در ایستگاه تحقیقات البرز کرج وابسته به مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور در طی سالهای ۱۳۸۵-۱۳۸۱ اجرا شد. خاک ایستگاه لومی (جدول ۱)، میزان بارندگی سالیانه ۲۳۵ میلی‌متر و ارتفاع آن از سطح دریا ۱۳۵۰ متر است. به منظور انجام تحقیق، بذر رقم CAL7 وایول از کلکسیون موجود در مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور تهیه شد و پایه‌های حاصل از کشت بذر به مزرعه البرز جهت انجام سایر مراحل آزمایش منتقل شدند. اجرای طرح در چهار تیمار آبیاری (به عنوان فاکتور اصلی) و سه رقم (فاکتور فرعی) در سه تکرار براساس طرح آماری اسپلیت پلات در قالب بلوکهای کامل تصادفی انجام شد. تیمارها براساس مقادیر ظرفیت زراعی بدست آمده و بر حسب اعمال تیمارهای

عوامل متعددی مانند: نور (Voirin et al., 1990)؛ زمان کاشت و کوددهی (Fahlen et al., 1997)؛ Dragland & Aslaksen, 1994؛ Marotti et al., 1994) و زمان برداشت (Shu & Lawrence, 1997) بستگی دارد. از سوی دیگر، مدارک و شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهد اسانس برخی گیاهان می‌تواند منبعی از ترکیبهای دارویی جدید باشد، بنابراین فرایند بدست آوردن داروهای جدید، امروزه مورد توجه بسیاری از محققان قرار گرفته که نوید یافتن داروهای جدید را بدنبال دارد (Dorman & Deans, 2000؛ Lima et al., 2005). همچنین افزایش روزافزون باکتریهای مقاوم به داروها باعث بالا رفتن تقاضا برای مواد ضد میکروبی جدید شده است که می‌تواند در پیشگیری از وقوع بیماریها مؤثر باشد.

بررسی فعالیت‌های ضد قارچی رزین وایول توسط Maatooq و Hoffmann (۱۹۹۶) منتهی به شناسایی شش نوع سزکویی‌ترین از نوع اودسمول گردید که شامل: آرژنتن، ۱۵- نور- آرژنتن، ۴۵- هیدروکسی آرژنتن، ۸- اکسو- آرژنتن، ۸- اکسو- ۱۵- نور آرژنتن و کاریس آرژنتن بوده است. بتا-اودسمول، گاما-اودسمول، گواپولون و پارتنیول از رزین هیبرید *Parthenium argentatum* و *P. tomentosum* استخراج شده است. گواپولون و پارتنیول دارای خواص ضد قارچی می‌باشند. جنس *Parthenium* متعلق به خانواده کمپوزیته و دارای ۱۷ گونه است که به‌طور طبیعی در مکزیک و جنوب تگزاس پراکنش دارد و برخی از آنها گیاهان یک‌ساله و برخی درختی و درختچه‌ای می‌باشند. گیاه وایول (*P. argentatum*)، درختچه‌ای چندساله، خاکستری نقره‌فام و بومی مناطق خشک و بیابانی و

۴- برداشت نمونه جهت استخراج اسانس و جداسازی و شناسایی آن؛  
گل‌های کولتیوار UC/100 از پایه‌های سه‌ساله موجود در مزرعه تحقیقاتی مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور در تیرماه جمع‌آوری و پس از قرار گرفتن به مدت ۲۴ ساعت در دمای آزمایشگاه، ۸۰ گرم از نمونه‌های نیمه‌خشک به روش تقطیر با آب (دستگاه کلونجر) اسانس‌گیری شد. مدت زمان لازم برای اسانس‌گیری سه ساعت ثبت شد.

پس از استخراج اسانس مقادیر بسیار جزئی آب موجود در آن به وسیله سولفات سدیم جذب و اسانس پس از عبور از کاغذ صافی به صورت خالص بدست آمد و در ظرف تیره و مخصوص در یخچال نگهداری شد. اسانس در محلول دی‌کلرومتان رقیق شده و جهت تهیه کروماتوگرام و طیف‌های جرمی یک میکرولیتر از آن به دستگاه گاز کروماتوگراف گازی تزریق شد.  
۵- بررسی اثر ضد باکتریایی اسانس وایول.

#### مشخصات دستگاه کروماتوگراف گازی (GC)

از دستگاه کروماتوگراف گازی مدل GC-9A Shimadzu مجهز به دکتور F.I.D. و داده‌پرداز با نرم‌افزار Eurochrom 2000، ستون DB-1 که ستون غیر قطبی است به طول ۶۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه فاز ساکن برابر ۰/۲۵ میکرون استفاده شد. برنامه‌ریزی حرارتی ستون از ۵۰ تا ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت افزایش دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در دقیقه انجام شد. گاز حامل هلیوم و فشار آن در ابتدای ستون برابر ۳ کیلوگرم بر سانتی‌متر مربع تنظیم شد. نسبت شکافت برابر ۱:۱۰۰، برای رقیق کردن نمونه

آبیاری که عبارت بودند از: آبیاری در حد ظرفیت زراعی (F C)، تنش ملایم و متوسط (LS1=۷۵٪ ظرفیت زراعی و LS2=۵۰٪ ظرفیت زراعی) و تنش شدید (HS=۲۵٪ ظرفیت زراعی) در طی دوره رویشی انجام شد. پس از انجام تجزیه خاک‌شناسی و تعیین ظرفیت زراعی خاک مزرعه و تعیین منحنی رطوبتی خاک که با نمونه‌برداری متعدد از خاک در مراحل مختلف انجام شد و نیز با توجه به آمار بدست آمده از تشتک تبخیر نصب شده در مزرعه، تیمارهای آبی بر پایه‌های مستقر اعمال شد. آبیاری پایه‌ها از هنگام انتقال تا ۲۱ روز، دو بار در هفته و بعد براساس نوع تیمار و تغییر رطوبت خاک (با توجه به منحنی حاصل از تغییر رطوبت خاک نسبت به تغییرات درجه حرارت) به صورت زیر انجام شد:

FC: هر ۷-۴ روز یک بار

LS1 و LS2: هر ۱۲-۱۰ و ۲۱-۱۴ روز یک بار

HS: هر ۳۰-۲۱ روز یک بار

اجرای تحقیق در مراحل مختلف بشرح زیر انجام شد:

۱- کاشت بذره‌های تیمار شده در شهریور ماه، در

گلدان و در گلخانه؛

۲- آماده‌سازی زمین، کرت‌بندی، لوله‌کشی و نصب

کنترل و سایر تجهیزات؛

نقشه کشت به صورت ایجاد کرت‌هایی به ابعاد ۲ در ۲

متر با فاصله کرت‌ها در هر تیمار از هم ۲ متر و فاصله

تکرارها از هم ۱ متر، پیاده شد. در هر کرت ۳ ردیف و

فاصله هر ردیف از هم ۱۰۰cm و فاصله هر پایه در هر

ردیف ۵۰cm در نظر گرفته شد.

۳- انتقال پایه‌های شش ماهه به مزرعه در فروردین

ماه و اعمال تیمارهای مختلف آبیاری دو هفته بعد از

استقرار کامل پایه‌ها؛

میکروبی اسانسها، از روش انتشار روی دیسک ( Disk Diffusion method) استفاده شد. برای این منظور با استفاده از دی‌متیل سولفوکساید (DMSO) به‌عنوان حلال اسانسها به نسبت ۱:۵ رقیق شدند. از کشت ۱۸ ساعته میکروبیهای فوق در محیط مایع تریپتوکیس سوی برات، مایع تلقیح با غلظت ۱ استاندارد مک فارلند تهیه و بعد ۰/۵ میلی‌لیتر از آن بر روی محیط تریپتوکیس سوی آگار، تلقیح کرده و بعد با استفاده از سواب سترون شده در سطح محیط کشت به‌صورت یکنواخت پخش شد. دیسک‌های بلانک با قطر ۶ میلی‌متر و حاوی ۳۰ میکرولیتر از اسانس بر روی پلیت قرار گرفتند. بعد از ۲۴ ساعت قطره‌اله عدم رشد بر حسب میلی‌لیتر اندازه‌گیری شد. برای مقایسه اثر ضد باکتریایی اسانسها از دیسک‌های آماده جنتامایسین (۱۰ μg) برای باکتریهای گرم منفی و تتراسیکلین (۳۰ μg) برای باکتریهای گرم مثبت استفاده شد و آزمون ضد میکروبی برای هر یک از باکتریها ۳ بار تکرار شد و متوسط ۳ بار تکرار بدست آمده گزارش شده است. از دیسک بلانک حاوی ۳۰ میکرولیتر DMSO به‌عنوان شاهد منفی استفاده شد.

### نتایج

کلیه ترکیبهای تشکیل‌دهنده اسانس همراه با درصد نسبی و شاخص بازداری در جدول ۱ قابل مشاهده می‌باشد. بازده اسانس گلها به‌ترتیب از ۰/۴، ۰/۸، ۱ و ۱ درصد در تیمارهای در حد ظرفیت زراعی، تنشهای ملایم (۷۵٪ و ۵۰٪ ظرفیت زراعی) و شدید (۲۵٪ ظرفیت زراعی) متغیر بوده و با کاهش مقادیر آبیاری درصد اسانس افزایش یافته است. همچنین نتایج بدست آمده نشان داد که در مجموع بیست و چهار ترکیب

استفاده شد. دمای قسمت تزریق ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد و دمای آشکارساز ۲۶۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد.

### مشخصات دستگاه کروماتوگراف گازی متصل به طیف‌سنج جرمی (GC/MS)

از دستگاه واریان ۳۴۰۰ متصل به طیف‌سنجی جرمی، دارای ستون DB-1 به طول ۶۰ متر و قطر ۲۵۰ میکرومتر که ضخامت لایه فاز در آن ۰/۲۵ میکرومتر بود، استفاده شد. برنامه‌ریزی حرارتی از ۵۰ تا ۲۷۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۴ درجه در دقیقه تنظیم شد. درجه حرارت محفظه تزریق ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد و درجه حرارت ترانسفرلاین ۲۹۰ درجه سانتی‌گراد بود. گاز هلیوم به‌عنوان گاز حامل مورد استفاده قرار گرفت.

شناسایی ترکیبها با استفاده از پارامترهای مختلف از جمله اندیس بازداری، مطالعه طیفهای جرمی نمونه و مقایسه این طیفها با طیفهای جرمی و اندیس بازداری ترکیبهای استاندارد و همچنین اطلاعات موجود در کتابخانه Wiley5 و ترپنوئیدهای موجود در رایانه دستگاه GC/MS انجام شد (Sandra & Bicchi, 1987).

### بررسی اثر ضد باکتریایی اسانس وایول

بررسی اثر ضد باکتریایی اسانس وایول تحت تیمار آبیاری بر چهار نوع باکتری گرم مثبت شامل: *Bacillus* *Bacillus cereus*, *subtilis* و *Micrococcus loteus* و پنج نوع باکتری گرم منفی شامل: *Staphylococcus areous* و *Yersinia enterocolitica*، *Pseudomonas Klebsiella*، *Escherichia coli aeruginosa* و *Serratia marcescens* باکتریهای فوق از کلکسیون میکروبی سازمان پژوهشهای علمی و صنعتی ایران تهیه شدند. به‌منظور بررسی اثر ضد

در مقایسه اثر تیمارهای مختلف آبیاری، اثر ضد میکروبی تیمار LS2 بیش از سایرین بوده و مقایسه نسبت ترکیبها در اسانسهای بدست آمده و تغییرات حاصل در آنها و نتایج بدست آمده از اثر ضد میکروبی (جدول ۲) گواه بر وجود مقادیر بالاتر ترکیبهای آلفا-پینن و بتا-پینن در اسانس تیمار آبیاری در حد تنش LS2 (۵۰٪ ظرفیت زراعی) می باشد.

### بحث

چنانچه نتایج بدست آمده نشان می دهد نه تنها بازده و درصد اسانس گیاه وایول تحت تیمارهای مختلف آبیاری افزایش یافته، بلکه نسبت ترکیبها نیز در اسانسه تغییر کرده است. نتایج تحقیقات انجام شده توسط Holtzer و همکاران (۱۹۸۸)، Charles و همکاران (۱۹۹۰)، Simon (۱۹۹۲)، Singh-Sangwan و همکاران (۱۹۹۳) و Baher و همکاران (۲۰۰۲) با نتایج بدست آمده از تحقیق حاضر و تغییر درصد اسانس و تغییرات کیفی مشاهده شده تحت تیمارهای آبیاری مطابقت دارد. همچنین مقایسه نتایج بدست آمده از بررسی ترکیبهای شیمیایی اسانس گلها در پایه های سه ساله رقم UC/100 وایول توسط باهر نیک و همکاران (۱۳۸۶) نشان داد که اسانس آن با بازده ۰/۸ درصد در مجموع دارای شانزده ترکیب بوده که ۹۷/۶٪ اسانس را تشکیل می دهند و ترکیبهای مهم آن را آلفا-پینن (۲۷/۲٪)، بتا-فلاندرن (۱۷/۰٪)، گاما-اودسمول (۱۱/۳٪)، بتا-پینن (۱۰/۰٪) و بتا-اودسمول (۹/۰٪) تشکیل می دهند؛ در صورتی که اسانس بدست آمده از رقم یک ساله CAL7 مورد تحقیق حاضر با ۲۴ ترکیب

موجود ۹۸-۹۹ درصد اسانس را تشکیل می دهند. در اسانسهای بدست آمده مقادیر بالایی از مونوترپنها در تیمارهای تنشهای ملایم (۷۵٪ و ۵۰٪ ظرفیت زراعی) وجود داشته و از ۵۰-۵۵ درصد متغیر بوده است. درحالی که در تیمارهای در حد ظرفیت زراعی و تنش شدید (۲۵٪ ظرفیت زراعی) سزکویی ترپنها ترکیبهای غالب (۷۵٪ اسانس) را تشکیل داده اند.

از ترکیبهای مهم در تیمار در حد ظرفیت زراعی می توان از بی سیکلوجرماکرن، المول و بتا-اودسمول نام برد که حدود ۵۰٪ اسانس را تشکیل داده اند. مقادیر آلفا-پینن، سابینن، بتا-فلاندرن و ترانس-بتا-اوسیمین تحت تیمارهای ملایم افزایش یافت، در حالی که مقادیر گاما-اودسمول و بتا-اودسمول تا حد ۳۰/۶٪ و ۱۹/۱٪ تحت تیمار شدید افزایش یافته است. دلتا-۲-کارن و وربنیل استات تنها در اسانسهای تحت تیمارهای در حد ظرفیت زراعی و ملایم وجود داشته و بورنتول نیز فقط در اسانس تحت تیمار شدید مشاهده شده است.

همان طور که در جدول ۲ مشاهده می شود اسانس *Parthenium argentatum* دارای اثر ضد باکتریایی بالایی بوده و نتایج نشان می دهد که باکتریهای گرم مثبت حساسیت بیشتری از باکتریهای گرم منفی از خود نشان داده اند. پهنای بازدارندگی رشد در *Bacillus subtilis*، *Bacillus cereus* و *Micrococcus luteus* بیش از سایرین بود. قطر هاله ممانعت از رشد ایجاد شده توسط تیمار LS2 در *Bacillus subtilis*، *Bacillus cereus* و *Micrococcus luteus* به ترتیب ۲۵، ۲۴ و ۱۸/۵ بود. کمترین حساسیت را *Serratia marcescens* با قطر هاله ای معادل ۱۱ میلی متر از خود نشان داد.

جدول ۱- نام و درصد ترکیبهای موجود در اسانس گیاه *Parthenium argentatum* تحت تیمارهای مختلف آبیاری

ردیف	نام ترکیب	RI <sup>e</sup>	FC	LS1	LS2	HS
۱	santolina triene	۹۰۶	۰/۱	۰/۸	-	-
۲	$\alpha$ -pinene	۹۳۶	۶/۶	۲۰/۶	۱۸/۰	۵/۸
۳	camphene	۹۵۰	۰/۱	۰/۴	۱/۰	۰/۳
۴	sabinene	۹۷۳	۲/۲	۵/۵	۴/۸	۱/۶
۵	$\beta$ -pinene	۹۸۰	۳/۴	۹/۰	۲۰/۴	۷/۸
۶	myrcene	۹۸۹	۰/۴	۰/۷	۰/۷	۰/۳
۷	$\delta$ -2-carene	۱۰۰۰	۰/۷	۱/۷	-	-
۸	$\delta$ -3-carene	۱۰۰۷	۰/۲	۰/۳	۰/۳	-
۹	$\beta$ -phellandrene	۱۰۲۵	۶/۶	۱۰/۳	۹/۵	۴/۶
۱۰	(E)- $\beta$ -ocimene	۱۰۴۸	۰/۷	۱/۰	۰/۷	۰/۲
۱۱	borneol	۱۱۶۷	-	-	-	۰/۴
۱۲	bornyl acetate	۱۲۸۶	۱/۴	۱/۰	۲/۴	۲/۵
۱۳	<i>trans</i> -verbenyl acetate	۱۲۹۳	۰/۵	۰/۴	-	-
۱۴	$\beta$ -cubebene	۱۳۹۱	۱/۶	۱/۰	۰/۲	۰/۳
۱۵	$\beta$ -caryophyllene	۱۴۱۹	۴/۶	۲/۳	۰/۴	۰/۶
۱۶	$\alpha$ -humulene	۱۴۵۷	۱/۰	۰/۶	۰/۳	۰/۴
۱۷	germacrene D	۱۴۸۳	۱۲/۱	۶/۱	۱/۸	۲/۸
۱۸	bicyclogermacrene	۱۴۹۷	۱۶/۵	۹/۰	۳/۱	۵/۰
۱۹	$\delta$ -cadinene	۱۵۳۱	۵/۷	۳/۳	۰/۷	۱/۱
۲۰	elemol	۱۵۵۶	۱۲/۴	۹/۳	۳/۷	۷/۰
۲۱	$\gamma$ -eudesmol	۱۶۳۸	۱/۵	۳/۴	۱۶/۳	۳۰/۶
۲۲	$\beta$ -eudesmol	۱۶۵۶	۹/۵	۵/۹	۱۰/۱	۱۹/۱
۲۳	$\alpha$ -eudesmol	۱۶۶۰	۷/۳	۳/۷	۳/۷	۵/۸
۲۴	bulnesol	۱۶۶۹	۳/۶	۲/۵	۱/۰	۲/۰

FC=آبیاری در حد ظرفیت زراعی، LS1=تنش ملایم (۷۵٪ ظرفیت زراعی)، LS2=تنش متوسط (۵۰٪ ظرفیت زراعی) و

HS=تنش شدید (۲۵٪ ظرفیت زراعی)

RI<sup>e</sup>=شاخص بازداری (از ستون DB-1 استفاده شده است)

جدول ۲- اثر ضد باکتریایی اسانس وایول تحت تیمارهای مختلف آبیاری  
(قطر هاله بازدارندگی رشد براساس میلی‌متر)

TET	GEM	HS	LS2	LS1	FC	نام باکتری
۳۰±۰/۱	NT	۱۶±۰/۲	۲۴±۰/۳	۱۸±۰/۳	۲۲±۰/۲	<i>Bacillus cereus</i> (PTCC, 1247)
۲۳±۰/۲	NT	۱۸/۵±۰/۲۵	۲۵±۰/۱۵	۲۰±۰/۳	۲۳±۰/۲	<i>Bacillus subtilis</i> (PTCC, 11027)
۲۰±۰/۴	NT	۱۳±۰/۲۵	۱۶±۰/۲۵	۱۴±۰/۲	۱۵±۰/۳	<i>Staphylococcus aureus</i> (PTCC, 1431)
۱۹±۰/۱	NT	۱۳/۵±۰/۵	۱۸/۵±۰/۲	۱۵±۰/۲۵	۱۷/۵±۰/۳۵	<i>Micrococcus luteus</i> (PTCC, 1169)
NT	۲۲/۵±۰/۱	۱۱±۰/۳	۱۶±۰/۲	۱۳±۰/۳۵	۱۴±۰/۱	<i>Serratia marcescens</i> (PTCC, 1187)
NT	۱۵±۰/۲۵	۱۲/۵±۰/۳	۱۷±۰/۳	۱۴±۰/۳	۱۵±۰/۲	<i>Pseudomonas areuginosa</i> (PTCC, 1430)
NT	۳۰±۰/۲	۱۳±۰/۴	۱۸±۰/۳	۱۴±۰/۲	۱۵±۰/۳	<i>Yersinia enterocolitica</i> (PTCC, 1151)
NT	۱۲±۰/۵	۱۳/۵±۰/۲۵	۱۷±۰/۲	۱۵±۰/۴	۱۶±۰/۳	<i>Escherichia coli</i> (PTCC, 1393)
NT	۲۵±۰/۲	۱۲±۰/۳۵	۱۸±۰/۲۵	۱۳±۰/۲۵	۱۵±۰/۲	<i>Klebsiella pneumonia</i> (PTCC, 1053)

FC= آبیاری در حد ظرفیت زراعی، LS1= تنش ملایم (۷۵٪ ظرفیت زراعی)، LS2= تنش متوسط (۵۰٪ ظرفیت زراعی) و HS= تنش شدید (۲۵٪ ظرفیت زراعی)

گرم مثبت و منفی و نیز در بین انواع آنها را می‌توان با تفاوت ترکیبهای تشکیل‌دهنده دیواره سلولی و نیز ژنهای احتمالی موجود بر روی پلاسمید که عامل مقاومت به عوامل ضد میکروبی هستند توضیح داد (Karaman et al., 2003). همان گونه که در نتایج بدست آمده مشاهده شد، اثر ضد باکتریایی تیمار LS2 بیش از بقیه بود که این امر می‌تواند به دلیل مقادیر بالاتر ترکیبهای آلفا-پینن و بتا-پینن در اسانس مربوطه باشد که اثر ضد میکروبی این دو ترکیب توسط محققان دیگر ثابت شده است. از جمله Leite و همکاران (۲۰۰۷) نشان دادند که آلفا-پینن، بتا-پینن و اوزنول قادرند رشد و قابلیت زنده‌مانی باکتریهای گرم مثبتی که عامل عفونتهای قلبی می‌باشند را ممانعت

که ۹۸-۹۹ درصد اسانس را تشکیل می‌دادند، از این رو براساس تیمار، بازدهی برابر ۱-۴ درصد اشته‌اند و ترکیبهای اصلی آن شامل آلفا-پینن (۲۰/۶-۵/۸٪)، بتا-پینن (۲۰/۴-۳/۴٪)، گاما-اودسمول (۳۰/۶-۱/۵٪) و بتا-اودسمول (۱۹/۱-۵/۹٪) بوده است.

بررسی فعالیتهای ضد باکتریایی اسانس گیاه مورد تحقیق حاضر و اثر ضد باکتریایی بالای آنها و حساسیت بیشتر باکتریهای گرم مثبت نسبت به باکتریهای گرم منفی، نشان داد که این نتایج با یافته‌های محققان دیگر از جمله Ouattara و همکاران (۱۹۹۷)، Shelef و همکاران (۱۹۸۰) و نیز Agaogolu و همکاران (۲۰۰۷) مطابقت دارد. این اختلاف در حساسیت مشاهده شده در باکتریهای

- volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*, 88: 308-316.
- Dragland, S. and Aslaksen, T.H., 1997. Effect of fertilization on yield and quality of the essential oil of peppermint (*Mentha piperita* L.). Norwegian Crop Research Institute, Report 20, 17p.
  - Fahlen, A., Welander, M. and Wennersten, R., 1997. Effects of light-temperature regimes on plant growth and essential oil yield of selected aromatic plants. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 73: 111-119.
  - Gilsic, S., Milojeij, S., Dimitrjvi, j., Orlovij, A. and Skala, D., 2007. Antimicrobial activity of the essential oil and different fractions of *Juniperus communis* L. and a comparison with some commercial antibiotics. *Journal of the Serbian Chemical Society*, 72(4): 311-320.
  - Holtzer, T.O., Bryant, J.A. and Smirnoff, N., 1988. Molecular biology, Application to studies of stress tolerance. 131-135, In: Hamlyn G.J., Flowers T.J. and Jones M.B., (Eds.), *Plants under Stress*, Cambridge University Press, New York, 457p.
  - Karaman, L., Sahin, F., Gulluce, M. and Adigguzel, A., 2003. Antimicrobial activity of aqueous and methanol extracts of *Juniperus oxycedrus* L. *Journal of Ethnopharmacology*, 85: 231-235.
  - Leite, A.M., Lima, E.O., Souza, E.L., Diniz, M.F.M., Trajano, V.N. and Medeiros, I.A., 2007. Inhibitory effect of  $\beta$ -pinene,  $\alpha$ -pinene and eugenol on the growth of potential infectious endocarditis causing Gram-positive bacteria. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, 43: 121-126
  - Lima, I.O., Olivera, R.A.G., Lima, E.O., Souza, E.L., Farias, N.P. and Navaro, D.F., 2005. Inhibitory action of some phytochemicals on yeasts potentially causing of opportunistic infections. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, 41: 199-203.
  - Maatooq, G.T. and Hoffmann, J.J., 1996. Fungistatic sesquiterpenoids from *Parthenium*. *Phytochemistry*, 43(1): 67-69.
  - Marotti, M., Piccaglia, R., Giovanelli, E., Deans, S.G. and Eaglesham, E., 1994. Effects of planting time and mineral fertilization on peppermint (*Mentha piperita* L.) essential oil composition and its biological activity. *Flavour and Fragrance Journal*, 9: 125-129.
  - Ouattara, B., Simard, R.E., Holley, R.A., Piette, G.J.P. and Begin, A., 1997. Antibacterial activity of selected fatty acids and essential oils against six meat spoilage organisms. *International Journal of Food Microbiology*, 37: 155-162.
  - Rollins, R.C., 1950. The guayule rubber plant and its relatives. *The Gray Herbarium of Harvards University*, Cambridge, 172p.
- نمایند. در مطالعه دیگری که توسط Gilsic و همکاران (۲۰۰۷) انجام شده است خاصیت ضد میکروبی آلفا-پینن خالص بر روی باکتریهای مختلف از جمله استافیلوکوکوس آرتوس، باسیلوس سرئوس، سودوموناس آئروژینوزا و اشرشیاکلی ثابت شده است.
- بنابراین، مجموع نتایج بدست آمده گواه آن است که اسانس گیاه فوق نه تنها دارای اثر ضد باکتریایی است بلکه تیمارهای آبیاری به خصوص تیمار در حد تنش LS2 (۵۰٪ ظرفیت زراعی)، اثر ضد میکروبی اسانس فوق را بهبود بخشیده و آن را مؤثرتر کرده است. بنابراین به نظر می رسد که از تنش آبیاری نه تنها برای بالا بردن کمیت اسانس در این گیاه می توان استفاده کرد بلکه می توان از آن به عنوان ابزاری برای بهبود کارایی ترکیبهای ثانویه گیاه نیز استفاده کرد.

### منابع مورد استفاده

- باهر نیک، ز، میرزا، م، غفاری، م، ۱۳۸۶. استخراج و بررسی ترکیبهای شیمیایی اسانس ارقامی از گیاه *Parthenium argentatum* فصلنامه تحقیقات گیاهان دارویی، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، ۲۳ (۱): ۱۴۱-۱۴۵.
- Agaogolu, S., Dostbil, N. and Almedar, S., 2007. Antimicrobial activity of some spices used in meat industry. *Bulletin of Veterinary Institute in Pulawy*, 51: 53-57.
- Baher, Z.F., Mirza, M., Ghorbanli, M. and Rezaii, M.B., 2002. Influence of water stress on plant height, herbal and essential oil yield and composition in *Satureja hortensis* L. *Flavour and Fragrance Journal*, 17: 275-277.
- Basra, A.S. and Basra, R.K., 1997. Mechanism of environmental stress resistance in plants. Harward academic publishers, 407p.
- Charles, D.J., Joly, R.J. and Simon, J.E., 1990. Effect of osmotic stress on the essential oil content and composition of peppermint. *Phytochemistry*, 29: 2837-2840.
- Dorman, H.J.D. and Deans, S.G., 2000. Antimicrobial agents from plants: Antibacterial activity of plant



- essential oils. 138-159, In: Risch, S.J. and Ho, C.T., (Eds.), Spices-Flavor Chemistry and Antioxidant Properties. ACS Symposium Series 660, 254p.
- Singh-Sangwan, N., Sangwan, R.S., Thakur, R.S., 1993. Geraniol dehydrogenase: A determinant of essential oil quality in lemongrass. *Planta Medica*, 59: 168-170.
  - Voirin, B., Brun, N. and Bayet, C., 1990. Effects of daylength on the monoterpene composition of leaves of *Mentha piperita*. *Phytochemistry*, 29: 749-755.
  - Sandra, P. and Bicchi, C., 1987. Capillary Gas Chromatography in Essential Oil Analysis. Alford Huethig Verlag: New York, 435p.
  - Simon, J.E., Reiss-Bubenheim, D., Joly R. and Charles, D., 1992. Water stress-induced alterations in essential oil content and composition of sweet basil. *Journal of Essential Oil Research*, 4(1): 71-75.
  - Shelef, L.A., Naglik, O.A., Bogen, D.W., 1980. Sensitivity of some common food-borne bacteria to the spices sage, rosemary and all spice. *Journal of Food Science*, 45: 1042-1044.
  - Shu, C.K. and Lawrence, B.M. 1997. Reasons for the variation in composition of some commercial

## Influence of different irrigation treatments on antibacterial effects of the essential oil of *Parthenium argentatum* A. Gray

Z. Baher Nik<sup>1\*</sup>, M. Teimori<sup>2</sup> and M. Mirza<sup>2</sup>

1\*- Corresponding author, Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran, Iran, E-mail: baher@rifr-ac.ir

2- Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran, Iran

Received: October 2008

Revised: March 2009

Accepted: April 2009

### Abstract

In this research, the effects of different irrigation treatments on chemical constituents and antibacterial effects of the essential oil of *P. argentatum* were studied. The experimental design was randomized complete block design with four replications. Four irrigation treatments were determined, consisting of: (a) control, which was irrigated to full field capacity (FC); (b) low water stress treatment (LS1=75% of FC); (c) moderate water stress treatment (LS2=50% of FC); (d) severe water stress (HS=25% of FC). Then the volatile constituents of the flowers were isolated and their quantities, qualities and antibacterial effect determined against four gram negative and four gram positive bacteria on the basis of disc-diffusion method. The result showed that not only the quantity of the essential oils but also the qualities varied. The percentage of  $\alpha$ -pinene,  $\beta$ -pinene,  $\gamma$ -eudesmol and  $\beta$ -eudesmol has changed. The LS2 treatment of essential oils showed more antimicrobial activity against both gram positive and gram negative bacteria compared to other essential oils. This higher activity of essential oil may be related to higher amount of  $\alpha$ -pinene and  $\beta$ -pinene in LS2. In addition gram positive bacteria were more susceptible than gram negative bacteria.

**Key words:** *Parthenium argentatum* A. Gray, irrigation treatments, essential oil, antibacterial effects.