Iranian Journal of Horticultural Science
Vol 51, No 4, Winter 2021 (823-835)
DOI: 10.22059/ijhs.2019.278471.1623

علوم باغبانی ایران
دورهٔ ۵۱، شمارهٔ ۴، زمستان ۱۳۹۹ (ص ۸۳۵-۸۲۳)

ارزیابی ترکیبات اسانس و اثر ضدباکتریایی پونه (*Mentha longifolia*) جمع‌آوری‌شده از مناطق مختلف لرستان

سهیلا افکار[1*]، مژگان آزادپور[2]، بتول مهدوی[3] و مرضیه رشیدی‌پور[4]
۱. استادیار، گروه کشاورزی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران
۲ و ٤. دانشجوی دکتری و دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، مرکز تحقیقات داروهای گیاهی رازی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم‌آباد، ایران
۳. استادیار، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ولی عصر (عج) رفسنجان، رفسنجان، ایران
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱/۲۸ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۵/۱٤)

چکیده

تحقیق حاضر با هدف بررسی ترکیبات شیمیایی اسانس استخراج شده از پونه جمع‌آوری‌شده از مناطق مختلف شامل خرم‌آباد، الشتر و دلفان در استان لرستان و تعیین فعالیت ضدباکتریایی آنها علیه سه سویه باکتری *Escherichia coli*، *Staphylococcus aureus* و *Pseudomonas aeruginosa* انجام شد. آنالیز GC-MS نشان داد ترکیبات اصلی اسانس پونه منطقه خرم‌آباد شامل پولگان (٥٤/٤١ درصد) و ۸،۱- سینئول (۲۲/۰۵ درصد) بود، درحالی‌که پونه منطقه الشتر غنی از پیپریتنون (۲۹/۲۹ درصد)، پولگان (۱۷/۵۳ درصد)، پیپریتنون‌اکساید (١٤/٣٥ درصد) و ۸،۱- سینئول (١٤/٣٤ درصد) و ترکیبات اصلی پونه منطقه دلفان سیترونلیل‌استات (۵۹/۹۳ درصد) و آروماندرن (۵/۱ درصد) بودند. همبستگی معنی‌داری بین تمام ویژگی‌های جغرافیایی و خاک، به‌جز فسفر و هدایت الکتریکی، با ترکیبات اسانس مشاهده شد. با توجه به نتایج به‌دست‌آمده از MIC و MBC نشان داد حداقل غلظت بازدارندگی اسانس پونه مناطق مورد مطالعه بین mg/mL ۲-۰/۰۳ بود. فعالیت ضدمیکروبی حاکی از این بود که مؤثرترین اسانس در مهارکنندگی باکتری‌های *E. coli* و *S. aureus* به‌ترتیب اسانس پونه منطقه الشتر و دلفان بودند و دو باکتری *P. aeruginosa* و *S. aureus* کمترین حساسیت به اسانس پونه منطقه خرم‌آباد داشتند. اسانس پونه جمع‌آوری شده از مناطق مختلف استان لرستان دارای قدرت بازدارندگی علیه باکتری‌های گرم مثبت و منفی مورد مطالعه از کم تا عالی بودندکه بستگی به منطقه جمع‌آوری گیاهان و سویه‌های مورد مطالعه باکتری داشت. در این تحقیق سه ترکیب سیترونلال، سیترونلیل‌استات و آرومادرن برای اولین بار برای اسانس پونه گزارش شد.

واژه‌های کلیدی: اسانس، پونه، ترکیبات شیمیایی، فعالیت ضدباکتریایی، لرستان.

Evaluation of essential oil composition and antibacterial effect of *Mentha longifolia* collected from different region of Lorestan province

Soheila Afkar[1*], Mozhgan Azadpour[2], Batool Mahdavi[3] and Marzieh Rashidipour[4]
1. Assistant Professor, Department of Agriculture, Payame Noor University, Tehran, Iran
2, 4. Ph.D. Candidate and Former M.Sc. Student, Razi Herbal Medicines Research Center, Lorestan University of Medical Sciences, Khorramabad, Iran
3. Assistant Professor, Faculty of Agriculture, Vali-e-Asr University of Rafsanjan, Rafsanjan, Iran
(Received: April 17, 2019- Accepted: Aug. 05, 2019)

ABSTRACT

The aim of this study was to investigate of the chemical composition of the essential oil extracted from *Mentha longifolia* collected from different regions of Lorestan province (Khorramabad, Aleshtar, Delfan) and to determine the antibacterial activities against three certain bacterial strains (*Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus, Escherichia coli)*. The chemical profiling of the essential oil was performed using gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) analysis. GC-MS analysis revealed that essential oil of *M. longifolia* from Khorramabad region was constituted by pulegone (54.41%) and 1, 8-cineole (22.05%) as a major component. *M. longifolia* from Aleshtar was rich in piperitenone (29.29%), pulegone (17.53%), piperitenone oxide (14.35%), 1, 8-cineole (14.34%) and the main component of *M. longifolia* from Delfan was citronelyll acetate (59.93%), aromadrene (5.1%), respectively. A significant correlation between geographical and soil characteristics, except phosphorus and electrical conductivity, with the essential oils components was detected. The results obtained using MIC and MBC showed that the minimum inhibitory concentration of the essential oil of *M. longifolia* from studied region was in the range of 0.03-2 mg/mL. The most effective essential oil in bacterial inhibition for *E. coli* and *S. aureus* bacteria was the essential oil from Aleshtar and Delfan, respectively. Two bacteria *P. aeruginosa* and *S. aureus* were least susceptible to *M. longifolia* essential oil from Khorramabad region. The essential oil of *M. longifolia* from different regions of Lorestan provinc exhibited low to high inhibitory activity against gram-positive and negative bacteria,.which depended to the region of collected plants and studied bacterial strains. In this research, three components citronellyl acetat, citronellal and aromandrene was detected in *M. longifolia* essential oil for the first time

Keywords: Antibacterial activity, chemical composition, essential oil, Lorestan, *Mentha longifolia.*

* Corresponding author E-mail: soheila.afkar@gmail.com

مقدمه

طبیعت منبع غنی از ترکیبات دارویی بوده که بخشی از آنها در گیاهان وجود دارند (Asghari & Mazaheritehrani, 2010)، به عبارتی ویژگی دارویی گیاهان ارزشمندترین هدیه طبیعت به بشر است. طب سنتی قرنهاست که برای درمان بیماری‌های مختلفی در انسان از گیاهان دارویی بهره‌برداری می‌کند (Cragg & Newman, 2001). گیاهان معطر به‌طور گسترده در طب سنتی، آشپزی و صنایع غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرند. ارزش دارویی گیاهان معطر را می‌توان به اسانس آنها مرتبط دانست. متابولیت‌های ثانویه مختلف با عطر مشخص از بخش‌های مختلف گیاه مثل گل، غنچه، ساقه، پوست، برگ و میوه به‌دست می‌آید (Edris, 2008; Bakkali *et al*., 2008). تیره نعناع یکی از بزرگ‌ترین تیره‌های گیاهی با پراکنش جهانی بوده که دارای حدود ۲۰۰ جنس و بیش از ۴۰۰۰ گونه از گیاهان معطراست (Mozaffarian, 2013). نعناع معمولا بعد از غذا برای کاهش سوءهاضمه و اسپاسم‌های روده استفاده می‌شود (Bhat *et al*., 2002). گونه‌های مختلف نعناع هم دارای ارزش دارویی و هم ارزش تجاری هستند. آنها در طب سنتی برای درمان تب، سردرد، اختلالات گوارشی، برونشیت و مشکلات کبدی استفاده می‌شوند (Zaidi & Dahiya, 2015).

پونه (*Mentha longifolia*) یکی از شش گونه نعناع موجود در ایران است (Mozaffarian, 2013). این گونه دارای برگ‌های معطر با گل‌های ارغوانی است (Davazdahemami & Majnoonhosini, 2013). در گزارش‌های مختلف از پیپریتون به‌عنوان مهمترین ماده مؤثره گیاه پونه نام‌برده شده است که این ترکیب در منطقه صربستان تا میزان ۵۰ درصد نیز گزارش شده است (Stanisavljevic *et al*., 2010). مشخص شده که *M.longifolia* حاوی اسیدهای فنلی و فلاونوئید با کیفیت بالا هستند، به همین دلیل این گیاه می‌تواند در صنایع دارویی، درمانی و کشاورزی به‌طور گسترده استفاده شود (Khamis & Aly, 2017).

در سه دهه اخیر آنتی‌بیوتیک‌های جدیدی در صنایع داروسازی تولید شده که مقاومت به این داروها توسط میکروارگانیسم‌ها در حال افزایش است (Afolayan, 2003). امروزه به‌دلیل عوارض جانبی داروهای شیمیایی و افزایش مقاومت میکروارگانیسم‌ها به آنتی‌بیوتیک‌ها استفاده از داروهای گیاهی در درمان انواع بیماری‌ها مورد توجه زیادی قرار گرفته است و تحقیقات در زمینه استخراج ترکیب‌های فعال بیولوژیکی از گیاهان به سرعت در حال انجام می‌باشد (Afolayan, 2003; Edris, 2008). ارزیابی عصاره گیاهان و تولیدات آنها برای فعالیت آنتی‌میکروبی مشخص کرده که گیاهان می‌توانند برای تولید آنتی‌بیوتیک‌های جدید استفاده شوند (Afolayan, 2003). گزارش شده که اسانس استخراج شده از گیاهان مختلف دارای فعالیت بیولوژیکی، آرامش‌بخش، ضدالتهابی، ضدعفونی‌کننده می‌باشد (Edris, 2008; Bakkali *et al*., 2008). جنس نعناع در اصلاح‌نباتات برای بهبود کیفیت و صفات عملکرد مورد توجه جدی قرار گرفته است (Bhat *et al*., 2002). بیشترین اثر ضدمیکروبی اسانس *M. spicata* علیه باکتری *E. coli* مشاهده شد (Sulieman *et al*., 2011). باکتری *Psuedomonas auruginoza* مهمترین عامل عفونت در بیمارانی با نقص سیستم ایمنی بوده که پراکنش گسترده‌ای در خاک، مواد غذایی و حیوانات دارد (Rohde *et al*., 2004). مشخص شده که

اسانس *M.longifolia* خاصیت ضدباکتریایی داشته که می‌تواند به علت ترپن‌ها و سزکویی‌ترپن‌ها باشد (Mkaddem *et al*., 2009). اسانس گیاهان پونه *M.longifolia* جمع‌آوری شده از عربستان غنی از کاروون بوده و خاصیت ضدمیکروبی، آنتی‌اکسیدانی و ترومبولیتیک نشان داد (Anwar *et al*., 2017). فعالیت آنتی‌باکتریایی قابل‌توجه و اثرات بازدارندگی مؤثر اسانس پونه علیه آنزیم مرتبط با آلزایمر گزارش شده است (Zouari-Bouassida *et al*., 2018). ترکیبات اصلی اسانس پونه جمع‌آوری‌شده از شرق ترکیه منتون، پولگان، پیپریتون، دی‌هیدروکاروون، لیمونن، ۳- ترپینولنون، ۱، ۸- سینئول، جرماکرین D و کاریوفیلن گزارش شد (Okut *et al*., 2017). اسانس پونه اثرات ضدباکتریایی معنی‌داری علیه *Shigella flexneri* نشان داد (Makvandi *et al*., 2017).

با توجه به مهارکنندگی رشد باکتری توسط اسانس‌ها و افزایش مقاومت میکروارگانیسم‌ها به آنتی‌بیوتیک‌ها تحقیق حاضر به‌منظور شناسایی ترکیبات اسانس و ارزیابی اثرات ضدباکتریایی اسانس گیاه بومی پونه (*Mentha longifolia*) جمع‌آوری‌شده از مناطق مختلف لرستان علیه باکتری‌های بیماری‌زای *Escherichia coli*، *Pseudomonas aeruginosa* و *Staphylococcus aureus* انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

سه رویشگاه از استان لرستان (شهرستان خرم‌آباد، الشتر و دلفان) انتخاب شد و نمونه‌گیری در زمان گلدهی کامل در تیرماه سال ۹۶ انجام شد و نمونه هرباریومی گونه *Mentha longifolia* با کد ۱۴۱۲۳ در هرباریوم مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان لرستان نگهداری شد. مشخصات جغرافیایی مناطق مورد بررسی در جدول ۱ ارائه شده است.

استخراج اسانس و شناسایی ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس

سرشاخه‌های گلدار گیاهان جمع‌آوری‌شده پس از خشک‌شدن، آسیاب شده، سپس به مدت سه ساعت با دستگاه طرح کلونجر به‌روش تقطیر با آب اسانس‌گیری شدند. برای شناسایی ترکیب‌های اسانس با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی (GC) و کروماتوگرافی گازی مدل GC-17A متصل به طیف‌سنج جرمی (GC/MS) مدل QP5050 ساخت شرکت Shimatzu ژاپن در آزمایشگاه مرکزی دانشگاه لرستان انجام شد.

جداسازی ترکیبات در ستون موئینه Fused Silica از نوع BP-5 به طول ۳۰ متر با ابعاد داخلی ۰/۲۲ میلی‌متر و ضخامت فیلم ۰/۲۵ میکرومتر صورت گرفت. دمای محل تزریق ۲۸۰ درجه سلسیوس بود و از گاز هلیم با سرعت ۱ میلی‌لیتر بر دقیقه (ولتاژ یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت) به‌عنوان گاز حامل استفاده شد. جهت شناسایی ترکیبات موجود در اسانس به‌کمک شاخص‌های بازداری آنها از تزریق هیدروکربن‌های نرمال (C8-C20) تحت شرایط با تزریق نمونه استفاده شد. پس از تزریق اسانس به دستگاه‌های فوق با مقایسه مؤلفه‌ها با ترکیب‌های استاندارد با استفاده از زمان بازداری ترکیب‌ها و اندیس بازداری و مقایسه با منابع، ترکیب‌های اسانس شناسایی شدند.

تعیین خاصیت آنتی‌میکروبی اسانس

باکتری‌های موردمطالعه شامل *Staphylococcus aureus*، *Pseudomonas aeruginosa* و *Escherichia coli* بودند. MIC و MBC هر باکتری با روش رقیق‌سازی در مایع (Micro dilution broth method) و بر اساس اصول CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) تعیین شد، بدین صورت که ابتدا رقت‌های پی در پی دو برابر (Serial dilution) از اسانس گیاه در محیط کشت مایع تهیه شد. سپس µl ۱۰۰ از هر رقت به‌ترتیب به چاهک‌های هر ردیف از میکروپلیت ۹۶ خانه‌ای افزوده شد. از باکتری که ۲۴ ساعت از کشت آن گذشته بود، سوسپانسیون میکروبی با کدورت استاندارد (معادل نیم مک فارلند) تهیه شد و مقدار µl۱۰۰ از آن به هر چاهک اضافه شد. پلیت به‌مدت ۱۸ تا ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد در انکوباتور قرار داده شد. پس از این زمان و در مرحله آخر µl۱۵ از ماده ۲-۳-۵- تری‌فنیل تترازولیوم‌کلراید (TTC) به تمام چاهک‌ها اضافه شد و مجدد به مدت ۲ ساعت پلیت به انکوباتور دمای۳۷ درجه سانتی گراد منتقل شد. این ماده باعث رنگی‌شدن چاهک‌های حاوی باکتری زنده شده و می‌توان زنده و یا کشته شدن باکتری‌ها را با توجه به تغییر رنگ آن متوجه شد.

جدول ۱. مشخصات جغرافیایی مناطق جمع‌آوری نمونه‌های پونه در استان لرستان

Table 1. Geographical characteristics of the collection regions of *M. longifolia* samples in Lorestan province

Regions of sample collection	Longitude	Latitude	Height above sea-level (m)	Average rainfall (mm) 2016-2017	Average temperature (ºC) (yearly)
Khorramabad (Robat Dowlatshah village)	48°17′ 37″	33° 37′ 45″	1338.9	523.40	16.10
Aleshtar (Karamolahi village)	48° 24′ 46″	33° 79′ 5″	1570.5	474.10	13.60
Delfan (Payame Noor university)	47° 99′ 94″	34° 4′ 35″	1844.1	446.70	12.20

تشکیل رنگ صورتی مایل به قرمز بعد از گذشت مدت زمان لازم نشان‌دهنده رشد باکتری بود. آخرین چاهکی که در آن عدم رشد مشاهده شد به عنوان کمترین غلظتی از اسانس گیاه که باعث مهار رشد باکتری می‌شود (MIC) در نظر گرفته شد. کمترین غلظتی از اسانس گیاه که باعث کشته شدن باکتری‌ها می‌شود (MBC) با انتقال ۲ µl از چاهک‌ها به محیط کشت جامد و نگهداری به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد و مشاهده تشکیل یا عدم تشکیل کلنی میکروبی تعیین شد. همه آزمایشات برای هر باکتری ۳ بار هم زمان انجام شد.

نتایج و بحث

آنالیز اسانس و بررسی فیتوشیمی

همان‌طور که در جدول ۲ نشان داده شده است تجزیه اسانس نمونه‌های پونه جمع‌آوری‌شده از مناطق مختلف استان لرستان از نظر کمی موجب شناسایی ۲۶، ۳۷ و ۴۴ ترکیب در منطقه خرم‌آباد، الشتر و دلفان به‌ترتیب شد. از نظر کیفی در منطقه خرم‌آباد پولگان ۴۹/۲ درصد ، ۸،۱-سینئول ۲۲/۰۵ درصد ، منتون ۷/۵۶ درصد، میرسن ۵/۶۳ درصد، سابینن ۲/۵۳ درصد، آلفاپینن ۲/۳۲ درصد و آرومادرن ۰/۲۹ درصد ترکیبات اصلی را تشکیل می‌دادند. ترکیبات اصلی منطقه الشتر شامل پیپریتنون ۲۹/۲۹ درصد، پولگان ۱۷/۵۳ درصد، پیپریتنون‌اکسید ۱۴/۳۵ درصد، ۱-۸ سینئول ۱۴/۳۴ درصد، میرسن ۵/۹۵ درصد، لیمونن ۴/۲۱ درصد، سابینن ۲/۵۳ درصد، آلفاپینن ۲/۳۲ درصد و آرومادرن ۱/۱۹ درصد بودند. ترکیبات سیترونلیل‌استات ۵۹/۹۳ درصد، آرومادرن ۵/۱ درصد، ۸،۱- سینئول ۴/۵۵ درصد، کاروون ۲/۹۷ درصد، جرماکرن‌دی ۲/۷۵ درصد، لیمونن ۲/۷۱ درصد، میرسن ۲/۲۱ درصد، بتافارنسن ۱/۷۴ درصد و بتاپینن ۱/۱۳ درصد در منطقه دلفان ترکیبات اصلی بودند (شکل ۱).

از جنبه ساختاری نیز مونوترپن‌های اکسیژنه در منطقه خرم‌آباد و الشتر حضور فراوان‌تری از خود نشان دادند. مقایسه ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس در سه رویشگاه نشان داد که ۱۴ ترکیب در این رویشگاه‌ها مشترک هستند که عبارتند از آلفاپینن، آلفاتوجن، کامفن، میرسن، لیمونن، ۸،۱- سینئول، لینالول، منتون، پولگان، آروماندرن، کاریوفیلن‌اکساید، ۳-اکتانول، ۳-اکتانول‌استات و ۲-ای- هگزانل و بیشترین ترکیبات مشترک بین اسانس مناطق خرم‌آباد و الشتر مشاهده شد. گاماترپینن و ترانس‌پینوکارول فقط در اسانس گیاهان منطقه الشتر مشاهده شد، ترکیب‌های منتوفوران، منتول، متیل‌استات، بتافارنسن، جرماکرن-D، سیترونلیل‌استات، اسپاتولنل و ویریدیفلورل فقط در اسانس منطقه دلفان شناسایی شدند. در این آزمایش تفاوت عمده‌ای در ترکیبات اسانس و درصد این ترکیبات مشاهده شد. پولگان با ۴۹/۲ درصد، پیپریتنون با ۲۹/۹ درصد و سیترونلیل‌استات با ۵۹/۹۳ درصد به‌ترتیب بیشترین درصد ترکیبات اسانس مناطق خرم‌آباد، الشتر و دلفان را تشکیل دادند.

تفاوت در ترکیبات اسانس را می‌توان به‌طور مشخص به تأثیر شرایط رویشگاهی بر کمیت و کیفیت اسانس این گونه نسبت داد (Rabiee *et al*., 2016). نتایج پژوهش‌های انجام شده در بررسی ترکیبات شیمیایی گیاه دارویی پونه مشخص کرد که مقدار و کیفیت ترکیبات ثانویه تحت‌تأثیر عوامل اقلیمی و ادافیکی مختلف قرار گرفته، بنابراین می‌توان برخی مناطق را به‌عنوان مناطق مستعد جهت اهلی‌سازی و اصلاح تیپ شیمیایی برتر در نظر گرفت (Hoseeini *et al*., 2017). در بررسی کمیت و کیفیت اسانس پونه در مناطق مختلف استان فارس و خراسان رضوی ۳۴ ترکیب در اسانس شناسایی شد که بیشترین میزان ۸،۱- سینئول و منتول در رویشگاه فسا، بیشترین میزان پولگان به‌ترتیب در منطقه کوار و بوانات، پیپریتون اکسید در رویشگاه کازرون و فسا به‌ترتیب بیشترین مقدار را داشتند (Hoseeini *et al*., 2017) و در آفریقای جنوبی مشخص شد که منتون ترکیب عمده اسانس پونه می‌باشد (Okut *et al*., 2013).

در بررسی‌های انجام‌شده در نواحی مختلف تاجیکستان، مهمترین ترکیبات اصلی اسانس پونه شامل پولگان و منتون گزارش شده است (Sharopov *et al*., 2012). در مطالعه ترکیبات اسانس پونه در

چند منطقه در استان خراسان رضوی و فارس ترکیبات ۸،۱ -سینئول، منتول، پولگان، پیپریتون اکسید و پیپریتنون بیشترین مقدار در بین ترکیبات اسانس داشتند (Hoseeini *et al*., 2017) که ترکیبات اسانس منطقه خرم‌آباد و الشتر این نتایج را تأیید می‌کند. ترکیبات اصلی تشکیل‌دهنده اسانس گونه‌های مختلف نعناع از جمله *M. aquatica*، *M. arvensis*، *M. piperita*، *M. pulegium*، *M. rotundifolia* شامل منتوفوران، ۸،۱- سینئول، پیپریتنون‌اکساید، پولگان، منتول، منتون، نئومنتون و بتاکاریوفیلن گزارش شده است (Benabdallah *et al*., 2018) که این ترکیبات در پونه مورد مطالعه در این تحقیق نیز مشاهده گردید. در مطالعه ترکیبات اسانس پونه *M. longifolia* در مناطق مختلف خراسان رضوی و فارس مشخص شد که پولگان بالاترین ترکیب نمونه‌های بوانات (۴۹/۵۵ درصد)، مشهد (۴۵/۷۱ درصد)، کوار(۴۵/۲۳ درصد)، کاشمر(۴۰/۷۲ درصد) را تشکیل می‌دهد که مشابه نتایج اسانس منطقه خرم‌آباد می‌باشد اما در نمونه‌های سپیدان (۶۲/۱۷ درصد)، تربت‌حیدریه (۳۸/۸ درصد) و چناران (۳۵/۷۷ درصد) ترکیب پیپریتنون‌اکسید بالاترین مقدار بود (Hoseeini *et al*., 2017) که ترکیبات اسانس منطقه الشتر با آن همخوانی دارد.

در هیچ‌کدام از مناطق ترکیب سیترونلال و سیترونلیل‌استات و آروماندرن مشاهده نشد. قابل ذکر است که ترکیبات سیترونلول، سیترونلال و سیترونلیل‌استات جزء ترکیبات اصلی گیاهانی مانند مرکبات، گل رز، ریحان، لیمو و اکالیپتوس بوده که معطر و دارای فعالیت ضدباکتریایی هستند (Bakkali *et al*., 2008). همچنین ترکیب سیترونلال به‌عنوان ترکیب اصلی اسانس بادرنجبویه (*Melisa officinalis*) گزارش شده است (Abdellatif & Hassani, 2015). اما در این تحقیق ترکیب سیترونلیل‌استات (۵۹/۹۳ درصد) در منطقه دلفان، سیترونلال (۶۱/ درصد) در منطقه خرم‌آباد و آروماندرن در سه منطقه مورد مطالعه (خرم‌آباد، الشتر و دلفان) با مقادیر ۰/۱۲۹، ۱/۱۹ و ۵/۱ درصد به‌ترتیب مشاهده شد.

جدول ۲. اجزای تشکیل‌دهنده اسانس پونه سه منطقه لرستان

Table 2. Components of essential oil of *M. longifolia* from three areas of Lorestan province

Compounds	RI	Rt	1(Khoramabad)	2 (Aleshtar)	3(Delfan)
Pulegone	1256	13.08	49.2	17.54	0.73
Limonene	1032	6.98	0.92	4.21	2.71
1,8-Cineole	1040	7.13	22.05	14.34	4.55
Linalool	1077	7.9	0.17	0.19	0.16
3-octanol acetate	1111	8.71	0.26	0.28	0.59
Trans Pinocarveol	1148	9.73	0.12	0.04	0.05
Menthone	1167	10.25	7.57	0.06	0.11
Isomenthone	1176	10.52	0.35	0.15	0
trans dihydrocarvone	1188	10.85	1.32	0.44	0
Terpin-4-ol	1192	10.96	0.19	0.15	0.1
α- Terpineol	1208	11.45	2.26	0.5	0.42
Citronellal	1230	12.21	0.61	0	0
Piperitone	1269	13.51	0.09	0.51	0
Piperitenone	1355	16.66	1.8	29.3	0
Piperitenone oxide	1375	17.44	0.15	14.35	0
Aromandrene	1427	19.46	0.29	1.2	5.1
α- Thujene	924	5.17	0.03	0.05	0.01
α- Pinene	936	5.34	1.83	2.33	0.87
Camphene	956	5.64	0.07	0.1	0.02
Sabinene	976	5.94	2.28	2.53	0
Myrcene	986	6.09	5.64	5.96	2.21
3-Octanol	996	6.24	0.71	1.22	0.52
Caryophyllene oxide	1595	26.06	0.29	0.09	0.62
2-e-Hexenal	856	4.33	0.04	0.16	0.21
α- Terpineol	1180	10.64	0	0.04	0.42
γ-Terpinene	1059	7.54	0	0.05	0
Trans Carveol	1212	11.58	0	0.1	0
Carvone	1274	13.71	0	0.74	2.97
Germacrene D	1492	22.01	0	0.28	2.75
Cis Carveol	1211	11.56	0	0	0.23
ß- Pinene	975	5.93	0	0	1.13
Menthofuran	1172	1040	0	0	0.07
Menthol	1187	10.81	0	0	0.68
Menthyl acetate	1309	14.94	0	0	0.02
Citronellyl acetate	1408	18.7	0	0	59.93
Spathulenol	1590	25.86	0	0	0.29
ß- Farnesene	1449	20.3	0.07	0.2	1.74
γ- Elemene	1333	15.84	0	0	0.16
Viridiflorol	1607	26.53	0	0	0.04

در اسانس پونه منطقه دلفان ترکیب سیترونلیل استات گزارش می‌شود که در ترکیبات اسانس سایر مناطق مطالعه شده در این تحقیق مشاهده نشد. تاکنون هیچ گونه گزارشی مبنی بر وجود سه ترکیب سیترونلال و سیترونلیل‌استات و آروماندرن در اسانس پونه (Rohde *et al*., 2004; Sulieman *et al*., 2011; Abbaszadeh *et al*., 2013; Mozaffarian, 2013; Laggoune *et al*., 2016; Anwar *et al*., 2017) مشاهده نشده است. البته قابل ذکر است که ترکیب آروماندرن در اسانس *M.spicata* در شهر سطات مراکش گزارش شده است (Bensabah *et al*., 2013). علاوه بر نوع اندام، شرایط اقلیمی حاکم بر رویشگاه، منشاء جغرافیایی، ارتفاع از سطح دریا، ژنوتیپ گیاهی، اثر متقابل ژنوتیپ و محیط، تکامل، مراحل فنولوژی، زمان برداشت گیاه، درجه خشکی، شرایط خشک‌شدن، روش و زمان استخراج، حضور میکروارگانیسم‌ها و علف هرز از فاکتورهای مؤثر بر تنوع در عملکرد و ترکیبات شیمیایی اسانس می‌باشد (Karousou et *al*., 2000; Kelen & Tepe, 2008; Hadipanah *et al*., 2012; Allali *et al*., 2013; Rodriguse *et al*., 2013; Laggoune *et al*., 2016; Hoseeini *et al*., 2017; Hadi *et al*., 2018). بررسی‌های حاصله نشان داد تنوع ژنتیکی بالایی در پونه وجود دارد که می‌تواند در نتیجه تنوع اقلیمی بسیار متفاوت در ایران و همچنین جریان ژنی در اثر دگرگشن بودن و تکثیر جنسی توسط بذر در این گیاه باشد. در کل درک چنین تنوع بالایی در مدیریت و حفاظت ژرم‌پلاسم این گیاه مفید می‌باشد و اصلاح‌گر را در تعیین راهبردهای بهره‌برداری، اصلاح و اهلی‌سازی و کشت و کار این گیاه یاری می‌کند (Hassanpour Reyhani *et al*., 2017).

قابل ذکر است که ترکیبات اصلی اسانس پونه جمع‌آوری‌شده از مناطق مختلف لرستان دارای خواص زیر می‌باشند. ۱، ۸- سینئول دارای اثر ضداضطرابی و شل‌کننده عضلات می‌باشد (Lahlou *et al*., 2002; Kim *et al*., 2014). همچنین این ترکیب مانع تکثیر سرطان روده بزرگ انسان با القای آپوپتوز می‌شود و دارای اثرات ضدالتهابی و ضدباکتریایی است (Murata *et al*., 2013). پولگان دارای فعالیت بیولوژیکی چندگانه‌ای شامل آنتی‌اکسیدانی، ضدمیکروبی، حشره‌کشی و آنتی‌کولین استراز می‌باشد. پولگان به‌عنوان یک عامل درمانی برای بیماری‌های التهابی قابل استفاده است (Roy *et al*., 2018). کاروون پتانسیل خوبی در جلوگیری از رشد باکتری داشته همچنین خاصیت قارچ‌کشی و دافع حشرات دارد. بعلاوه دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالایی است (Kee *et al*., 2017). اسانس منطقه خرم‌آباد بالاترین مقدار از ترکیبات پولگان، ۸،۱- سینئول، منتون و کارون دارد.

ترکیب پیپریتنون‌اکساید به شدت سمی و دافع حشره بالغ *A.stephensi* ناقل مالاریاست (Tripathi *et al* ., 2004). لیمونن به‌طور گسترده به‌عنوان یک افزودنی معطر و مطلوب در محصولات مصرفی مانند عطرها، نوشیدنی‌ها و صابون استفاده می‌شود. بعلاوه جزء ترکیبی محصولات پاک‌کننده خانگی می‌باشد. ویژگی‌های دارویی مثل فعالیت ضدمیکروبی، آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی آنرا ترکیبی مطلوب در صنایع غذایی و نوشیدنی کرده است (Erasto & Viljoen, 2008). بالاترین میزان از ترکیبات پیپریتنون و پیپریتنون‌اکساید، لیمونن و میرسن در منطقه الشتر مشاهده گردید. سیترونلیل‌استات مایعی با عطر میوه‌ای است که اغلب به‌عنوان عطر رایج است، همچنین این ترکیب برای خنثی‌کردن طعم‌های دیگر میوه در ادکلن‌ها استفاده می‌شود (Bauer *et al*., 1997). سیترونلیل‌استات به مقدار زیادی در اسانس منطقه دلفان مشاهده شد.

همبستگی ویژگی‌های محل نمونه‌برداری و ترکیبات اسانس

ترکیبات ۸،۱- سینئول و پیپریتنون با pH خاک همبستگی مثبت معنی‌داری داشتند، اما ارتباط ارتفاع از سطح دریا با ترکیب ۸،۱- سینئول منفی و معنی‌دار گزارش می‌شود. به نظر می‌رسد اسیدیته خاک یکی از فاکتورهای محدودکننده اسانس در رویشگاهاست. دسترسی به چندین مواد معدنی مغذی در گیاهان مانند نیتروژن، فسفر و پتاسیم می‌تواند توسط pH خاک تحت‌تأثیر قرار بگیرد (Kazemi *et al*., 2017).

از طرف دیگر ارتباط مقدار پتاسیم خاک با ۸،۱- سینئول مثبت و معنی‌دار بود. ترکیب آلفاپینن با درصد شن و ترکیب کاروون با درصد سیلت همبستگی مثبت و معنی‌داری نشان دادند، اما بین ترکیب منتون و آلفاترپینول با درصد رس همبستگی منفی معنی‌داری مشاهده شد. همبستگی ترکیب آلفاترپینن با درصد آهک منفی بود. پولگان با متوسط دما و بارندگی ارتباط مثبت و معنی‌دار نشان داد (جدول ۳). می‌توان نتیجه‌گیری کرد که با افزایش pH خاک دو ترکیب ۸،۱- سینئول و پیپریتنون افزایش می‌یابد و با افزایش درصد شن و سیلت خاک ترکیب آلفاپینن و کاروون به‌ترتیب افزایش نشان می‌دهند. کاهش ارتفاع از سطح دریا و افزایش مقدار پتاسیم خاک باعث افزایش در ترکیب ۱، ۸- سینئول می‌شوند. ترکیب پولگان با افزایش دما و بارندگی افزایش یافته درحالی‌که ترکیب منتون و آلفاترپینول با افزایش درصد رس و آهک کاهش می‌یابد. عوامل محیطی شامل آهک، رس و ماسه بالاترین همبستگی معنی‌دار با ترکیبات اسانس در گیاه *Chaerophyllum macropodum* داشتند (Rabie *et al*., 2018). توجه به تأثیرگذاری عوامل دیگری مانند شیب منطقه، مقدار نیتروژن، ماده آلی خاک، مراحل فنولوژی گیاه، سن گیاه و وجود میکروارگانیسم‌ها و علف هرز، مطالعات تکمیلی پیشنهاد می‌شود.

فعالیت ضدباکتریایی

نتایج حاصل از بررسی حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل غلظت کشندگی اسانس پونه جمع‌آوری‌شده از مناطق مختلف استان لرستان روی باکتری‌های موردبررسی به‌همراه خواص آنتی‌باکتریال ماده استاندارد سیپروفلوکساسین و وانکومایسین در جدول ۳ آورده شده است. این نتایج نشان می‌دهد که کمترین MIC علیه *E.coli* ۰/۱۲۵ میلی‌گرم به‌ازای هر میلی‌لیتر اسانس منطقه الشتر بود. کمترین MIC علیه *Staphylococcus aureus* ۰/۰۳۱ میلی‌گرم به‌ازای هر میلی‌لیتر اسانس منطقه دلفان مشخص شده، درحالی‌که کمترین MIC علیه *aeruginosa pseudomonas* ۰/۲۵ میلی‌گرم به‌ازای هر میلی‌لیتر اسانس منطقه الشتر و دلفان گزارش شد.

جدول ۳. مشخصات جغرافیایی و خاک مناطق جمع‌آوری پونه

Table 3. Geographical and soil characteristics of *Mentha longifolia* collection sites

Geographical and soil characteristics	Pulegone	Limonene	1,8-Cineole	Menthone	α- Terpineol	Piperitenone oxide	Piperitenone
T.N.V[1] (%)	-0.937^{ns}	0.894^{ns}	-0.826^{ns}	-1**	-0.999*	0.458^{ns}	0.499^{ns}
P (mg/kg)	0.349^{ns}	-0.924^{ns}	0.113^{ns}	0.653^{ns}	0.619^{ns}	-0.927^{ns}	-0.982^{ns}
K (mg/kg)	0.963^{ns}	-0.459^{ns}	1*	0.810^{ns}	0.835^{ns}	0.152^{ns}	0.107^{ns}
OC (%)	0.937^{ns}	-0.382^{ns}	0.994^{ns}	0.757^{ns}	0.785^{ns}	0.235^{ns}	0.19^{ns}
EC (mS/m)	0.776^{ns}	-0.99^{ns}	0.601^{ns}	0.947^{ns}	0.932^{ns}	-0.719^{ns}	-0.75^{ns}
pH	-0.237^{ns}	0.873^{ns}	0.997*	0.004^{ns}	-0.522^{ns}	0.993^{ns}	0.997*
Sand (%)	-0.487^{ns}	0.971^{ns}	-0.262^{ns}	-0.76^{ns}	-0.73^{ns}	0.926^{ns}	0.942^{ns}
Silt (%)	0.643^{ns}	-0.999*	0.440^{ns}	0.869^{ns}	0.846^{ns}	-0.837^{ns}	-0.861^{ns}
Clay (%)	-0.940^{ns}	0.89^{ns}	-0.83^{ns}	-1***	-0.999*	0.452^{ns}	0.492^{ns}
Height above sea level (m)	-0.975^{ns}	0.502^{ns}	-1*	-0.838^{ns}	-0.861^{ns}	-0.103^{ns}	-0.057^{ns}
Annual rainfall (mm)	1**	-0.673^{ns}	0.973^{ns}	0.934^{ns}	0.949^{ns}	-0.108^{ns}	-0.154^{ns}
Average temperature (ºC)	1**	-0.671^{ns}	0.974^{ns}	0.933^{ns}	0.948^{ns}	-0.106^{ns}	-0.152^{ns}

ns، * و **: به‌ترتیب نبود تفاوت معنی‌دار، تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.

ns, * and ** Non significant, significant at the 5% and 1% levels probability, respectively

1. Total Neutralizing Value

ادامه جدول ۳. مشخصات جغرافیایی و خاک مناطق جمع‌آوری پونه

Continued Table 3. Geographical and soil characteristics of *Mentha longifolia* collection sites

Geographical and soil characteristics	Aromandrene	α- Pinene	Sabinene	Myrcene	Carvone	Germacrene D	Citronellyl acetate
T.N.V[1] (%)	0.364^{ns}	0.725^{ns}	-0.243^{ns}	0.492^{ns}	-0.849^{ns}	0.572^{ns}	0.494^{ns}
P (mg/kg)	0.466^{ns}	-0.995^{ns}	-0.575^{ns}	-0.98^{ns}	0.924^{ns}	0.247^{ns}	0.335^{ns}
K (mg/kg)	-0.842^{ns}	-0.181^{ns}	0.767^{ns}	0.114^{ns}		-0.945^{ns}	-0.911^{ns}
OC (%)	-0.885^{ns}	-0.097^{ns}	0.818^{ns}	0.197^{ns}	0.383^{ns}	-0.969^{ns}	-0.942^{ns}
EC (mS/m)	-0.047^{ns}	-0.907^{ns}	-0.081^{ns}	-0.745^{ns}	0.99^{ns}	-0.279^{ns}	-0.189^{ns}
pH	-0.567^{ns}	0.977^{ns}	0.667^{ns}	0.997^{ns}	-0.872^{ns}	-0.359^{ns}	-0.444^{ns}
Sand (%)	-0.327^{ns}	0.999*	0.445^{ns}	0.939^{ns}	-0.971^{ns}	-0.097^{ns}	-0.189^{ns}
Silt (%)	0.143^{ns}	-0.97^{ns}	-0.268^{ns}	-0.858^{ns}	0.999*	-0.093^{ns}	0^{ns}
Clay (%)	0.371^{ns}	0.72^{ns}	-0.25^{ns}	0.486^{ns}	-0.891^{ns}	0.578^{ns}	0.5^{ns}
Height above sea level (m)	0.814^{ns}	0.229^{ns}	-0.734^{ns}	-0.064^{ns}	-0.503^{ns}	0.928^{ns}	0.889^{ns}
Annual rainfall (mm)	-0.675^{ns}	-0.429^{ns}	0.575^{ns}	-0.147^{ns}	0.673^{ns}	-0.829^{ns}	-0.773^{ns}
Average temperature (ºC)	-0.676^{ns}	-0.427^{ns}	0.577^{ns}	-0.145^{ns}	0.672^{ns}	-0.830^{ns}	-0.774^{ns}

ns، * و **: به‌ترتیب نبود تفاوت معنی‌دار، تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.

ns, * and ** Non significant, significant at the 5% and 1% levels probability, respectively

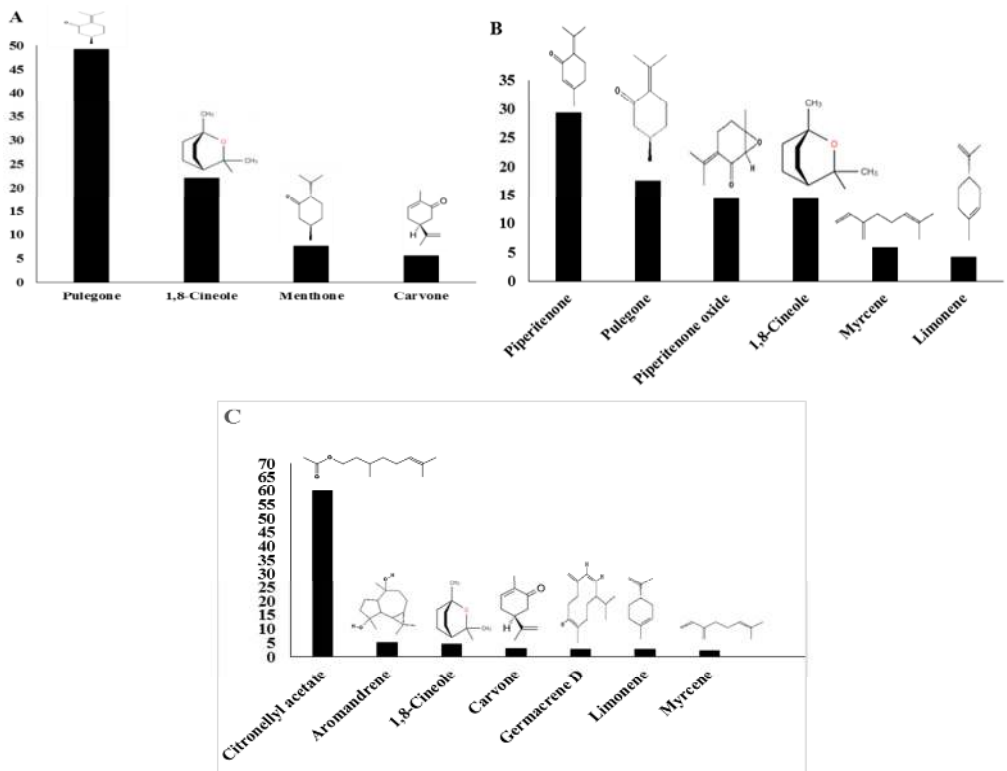
1. Total Neutralizing Value

به بیان دیگر مؤثرترین اسانس در مهارکنندگی باکتری *E.coli* و *S. aureus*به‌ترتیب اسانس پونه منطقه الشتر و دلفان می‌باشد و کم‌اثرترین اسانس در مهارکنندگی باکتری *P. aeuruginosa* اسانس منطقه خرم‌آباد بود که قدرت بازدارندگی آن یک چهارم آنتی‌بیوتیک استاندارد بود.

مقدار MBC اسانس پونه منطقه خرم‌آباد و الشتر علیه *E.coli* ۸ برابر MIC آن (به‌ترتیب معادل ۲ و ۱ میلی‌گرم به ازای هر میلی‌لیتر) به‌دست آمد درحالی‌که MBC اسانس پونه منطقه دلفان علیه همین باکتری ۴ برابر MIC آن بود (معادل ۱ میلی‌گرم به‌ازای هر میلی‌لیتر). در این تحقیق MIC و MBC سیپروفلوکساسین علیه هر دو باکتری *E. coli* و *P.aeuruginosa* برابر و معادل ۰/۱۲۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود، اما MIC و MBC آنتی‌بیوتیک وانکومایسین علیه باکتری *S. aureus*، ۰/۰۰۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر به‌دست آمد. مقاومت هر سه باکتری مورد مطالعه به اسانس پونه منطقه خرم‌آباد بیشتر است.

حساسیت باکتری گرم مثبت *S. aureus* نسبت به اسانس منطقه دلفان بیشتر از دو باکتری گرم منفی *E. coli* و *P aeruginosa* می‌باشد.

حداقل غلظت بازدارندگی رشد باکتری‌های مورد مطالعه تحت‌تأثیر سه اسانس بین ۰/۰۳ تا ۰/۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود. نسبت MBC/MIC اسانس دو منطقه خرم‌آباد و الشتر برای باکتری *E.coli*، منطقه الشتر و دلفان علیه باکتری *S. aureus* مساوی ۸ یا بیشتر از ۸ بود، در صورتی‌که این نسبت برای اسانس سه منطقه علیه *P. aeruginosa*، منطقه دلفان علیه باکتری *E. coli* و منطقه خرم‌آباد علیه *S. aureus* مساوی یا کمتر از ۴ بود. قدرت بازدارندگی اسانس علیه سویه‌های میکروبی به‌صورت زیر تقسیم‌بندی می‌شوند: ۱- قدرت بازدارندگی عالی MIC<۵۰µl/ml، ۲- قدرت بازدارندگی قابل‌توجه ۵۰<MIC<۲۵۰µl/ml، ۳- قدرت بازدارندگی کم ۲۵۰<MIC< ۵۰۰µl/ml، ۴- قدرت بازدارندگی ضعیف یا فاقد قدرت بازدارندگی ۵۰۰µl/ml<MIC (Koba *et al*., 2004).



شکل ۱. ترکیبات اصلی اسانس پونه جمع‌آوری‌شده از سه منطقه لرستان (A: خرم‌آباد، B: الشتر، C: دلفان)

Figure 1. Main component essential oil of *M. longifolia* from three areas of Lorestan (A: Khorramabad B: Aleshtar C: Delfan)

بر این اساس قدرت بازدارندگی اسانس سه منطقه علیه *E. coli*، اسانس دو منطقه الشتر و دلفان علیه *P. aeruginosa* و اسانس منطقه الشتر علیه باکتری *S. auerus* قابل‌توجه بود، درحالی‌که مشخص شد که قدرت بازدارندگی اسانس منطقه دلفان علیه باکتری *S. auerus* عالی است. قدرت بازدارندگی اسانس منطقه خرم‌آباد بر علیه دو باکتری *P. aeruginosa* و *S. auerus* کم می‌باشد. خاصیت بازدارندگی اسانس پونه منطقه الشتر و دلفان نصف آنتی‌بیوتیک استاندارد سیپروفلوکساسین می‌باشد.

اگر نسبت MBC/MIC مساوی یا کمتر از ۴ باشد اسانس خاصیت کشندگی باکتری دارد، درحالی که اگر این نسبت بیشتر از ۴ باشد اسانس یا ترکیب باکتریوستاتیک (مانع رشد باکتری) می‌باشد (Berche *et al*., 1991). با توجه به این موضوع می‌توان گفت اسانس سه منطقه علیه باکتری *P. aeruginosa*، منطقه دلفان علیه باکتری *E. coli* و منطقه خرم‌آباد علیه باکتری *S. aureus* خاصیت کشندگی داشته و اسانس دو منطقه خرم‌آباد و الشتر علیه باکتری *E. coli* و دو منطقه الشتر و دلفان علیه باکتری *S. aureus* خاصیت باکتریوستاتیک نشان دادند. با توجه به نتایج این پژوهش اسانس گیاه پونه جمع‌آوری‌شده از مناطق مختلف استان لرستان دارای خاصیت ضدباکتریایی با درجه متفاوت از کم تا عالی هستند و این خصوصیت بسته به محل جمع‌آوری نمونه و سویه باکتری مورد آزمایش متفاوت می‌باشد.

این نتایج حساسیت متفاوت باکتری‌ها و نیز وجود تفاوت‌هایی در ترکیب اسانس گیاهان مورد آزمایش را مشخص می‌سازد. با عنایت به یافته‌های این تحقیق می‌توان گفت که استفاده از اسانس پونه منطقه الشتر بر علیه *E. coli*، اسانس منطقه الشتر و دلفان علیه *P. aeruginosa* و اسانس منطقه دلفان علیه *S. aureus* پیشنهاد می‌شود. همچنین اسانس منطقه الشتر می‌تواند به‌عنوان یک ماده نگهدارنده طبیعی برای مواد غذایی مطرح شود. لازم به ذکر است که باکتری *P. aeruginosa* جزء فلور طبیعی روده بوده و می‌تواند عامل مؤثری در ایجاد عفونت‌های بیمارستانی، عفونت‌های مجاری ادراری، باکتریایی، عفونت شدید در بیماران سوختگی و بیماران مبتلا به سیستیک فیبروزیس محسوب شود (Song *et al*., 2001; Guedes Stehling *et al*., 2008).

با توجه به اثرات ضدمیکروبی قابل‌توجه پونه دو منطقه الشتر و دلفان روی میکروب مقاوم سودوموناس آئروژینوزا ارزش دارویی اسانس پونه این دو منطقه مشخص می‌شود. چندین مطالعه حساسیت پایین *P. aeruginosa* به اسانس نعناع فلفلی را نشان می‌دهند (Aridogan *et al*., 2002; Soković *et al*., 2007).

جدول ۴. MIC، MBC و نسبت MBC/MIC اسانس پونه سه منطقه لرستان بر سه سویه باکتری

Table 4. MIC, MBC and MBC/MIC of essential oil *of M. longifolia* from three areas of Lorestan province against three strain of Bacteria

Microorganism	Minimum Bactericidal Concentration (MBC, mg/ml)				
	M. longifolia (Khorramabad)	*M. longifolia* (Aleshtar)	*M. longifolia* (Delfan)	Ciprofloxacin	Vancomycin
E. coli	2	1	1	0.125	
P. aeruginosa	1	0.25	0.25	0.125	
S. aureus	2	2	>2		0.002
MBC/MIC					
E. coli	8	8	4	1	
P. aeruginosa	2	1	1	1	
S. aureus	4	8	66		1
Minimum Inhibitory Concentration (MIC, mg/ml)					
E. coli	0.25	0.125	0.25	0.125	
P. aeruginosa	0.5	0.25	0.25	0.125	
S. aureus	0.5	0.25	0.031		0.002

گیاهان دارویی از منابع بالقوه‌ای هستند که از دیرباز خواص درمانی و دارویی آنها موردتوجه قرارگرفته است (Gutierrez *et al*., 2009). نتایج آزمایش‌های MIC (Minimum Inhibitory Concentration) و MBC (Minimum Bactericidal Concentration) اسانس *M. pulegium* نشان داد که حداقل غلظت مهارکنندگی اسانس این گونه در محدوده ۱۰-۴۰mg/ml برای باکتری‌های *E. coli*، *Staphylococcus aureus*، *Pseudomonas aeruginosa* و ۲۰ mg/ml برای *Pseudomonas syringea* است. اسانس این گونه دارای اثر مهارکنندگی مناسبی علیه باکتری‌های *S. aureus* و *E. coli* می‌باشد (Rahmani *et al*., 2018).

گزارش‌های قبلی فعالیت ضدباکتریایی اسانس نعناع علیه *S. aureus* و *E. coli* نشان داده بود (Jeyakumar *et al*., 2011; Singh & Agarwal, 2013; Sujana *et al*., 2013). برخی از محققین ارتباط بین ساختارهای شیمیایی برخی از اجزای غالب موجود در اسانس‌ها را با فعالیت ضدباکتریایی آنها گزارش نموده‌اند (Burt, 2004). وجود مقادیر بالای پولگان، ۸،۱- سینئول، پیپریتنون، سیترونلیل‌استات، پیپریتنون‌اکسید، منتون، لیمونن، میرسن و آرومادرن در این تحقیق می‌تواند با خاصیت ضدباکتریایی این اسانس‌ها مرتبط باشد. به‌طور عمومی منوترپن‌های اکسیدشده پتانسیل ضدمیکروبی در ترکیبات چندین اسانس را دارند (Laggoune *et al*., 2016).

ترکیب غالب اسانس این گیاه در دو منطقه خرم‌آباد و الشتر مولکول‌های کتونی پولگان و پیپریتنون بوده که به دلیل وجود اتم‌های اکسیژن عامل ضدمیکروبی فعال‌تری هستند (Dorman & Deans, 2000). همچنین پولگان ساختاری شبیه کاروون دارد که غشای سلولی با از بین‌بردن شیب گرادیانت و پتانسیل الکتریکی موجود بین دو طرف غشای سلولی تحت‌تأثیر قرار می‌دهد (Burt, 2004). بررسی نشان داده که ۸،۱- سینئول و سزکویی‌ترپن‌ها فعالیت ضدمیکروبی قابل‌توجهی علیه دامنه گسترده‌ای از باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی دارند (Baratta *et al*., 1998). با توجه به این یافته‌ها می‌توان نتیجه گرفت که وجود پولگان و ۸،۱- سینئول در ترکیبات اسانس پونه جمع‌آوری‌شده می‌تواند عامل فعالیت ضدباکتریایی آنها باشد. اگرچه بروز فعالیت ضدباکتریایی اغلب بسیار واضح است ولی مکانیزم عمل آن به‌طور کامل درک نشده است.

مکانیسم عمل فعالیت ضدباکتریایی اسانس‌ها مشخص نشده است اما بر اساس شواهد اسانس‌ها اثرات ضدباکتریایی خود را از طریق تغییر ساختار و عمل غشای سلولی اعمال می‌کنند. این ترکیبات با افزایش نفوذپذیری اسانس، تورم و کاهش فعالیت غشا باعث مرگ سلولی می‌شوند (Celiktas *et al*., 2007). بررسی‌ها نشان داد که گروه هیدروکسیل موجود در ملکول اجزای اسانس مانند کارواکرول، تیمول، سایمن و منتول برای بروز خاصیت ضدباکتریایی آنها بسیار مهم است (Ulte *et al*., 2002). ترکیباتی نظیر ۸،۱-سینئول، آلفاپنین و ترپنول‌ها با ایجاد روزنه در غشای سلولی و افزایش نفوذپذیری غشای باکتری‌های گرم منفی باعث اثرات ضدباکتریایی می‌شوند (Giles *et al*., 2010).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج مطالعه حاضر نشان داد اسانس پونه دو منطقه الشتر و دلفان می‌تواند برای خاصیت ضدباکتریایی بالای آنها استفاده شوند و همچنین بین خصوصیات جغرافیایی و خاک منطقه با ترکیب اسانس ارتباط معنی‌داری وجود داشت. در این تحقیق سه ترکیب سیترونلال، سیترونلیل‌استات و آرومادرن برای اولین بار برای اسانس پونه گزارش شد.

REFERENCES

1. Abbaszadeh, B., Teymoori, M., Pouyanfar, M., Rezaei, M.B. & Mafakheri, S. (2013). Growth and essential oil of *Mentha longifolia* from different ecological conditions. *Annals of Biological Research*, 4 (7), 85-90.
2. Abdellatif, F. & Hassani, A. (2015). Chemical composition of the essential oils from leaves of *Melissa officinalis* extracted by hydrodistillation, steam distillation, organic solvent and microwave hydrodistillation. *Journal of Materials and Environmental Science*, 6 (1), 207-213.
3. Afolayan, A.J. (2003). Extracts from the shoots of *Arctotis artotoides* inhibit the growth of bacteria and fungi. *Pharmaceutical Biology*, 41, 22-25.

4. Allali, H., Chikhi, I., Amine Dib, M.E., Muselli, A., Fekih, N., Meliani, N., Kamal, M.A., Tabti, B. & Costa, J. (2013). Antioxidant activity and chemical analysis of *Mentha spicata* cultivated from west northern region of Algeria by headspace solid phase micro-extraction and hydro-distillation. *Natural Product*, 9(6), 258-63.
5. Anwar, F., Alkharfy, K.M., Rehman, N.U., Adam, E.H.K. & Gilani, A.U.H. (2017). Chemo-geographical variations in the composition of volatiles and the biological attributes of *Mentha longifolia* essential oils from Saudi Arabia. *International Journal of Pharmacology*, 13 (3), 408-424.
6. Aridogan, B.C., Baydar, H., Kaya, S., Demirci, M., Ozbasar, D. & Mumcu, E. (2002). Antimicrobial activity and chemical composition of some essential oils. *Archives of Pharmacal Research*, 25, 860-864.
7. Asghari, Z.H. & Mazaheritehrani, T.M. (2010). Extraction of tannin from *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh and trimyristin from *Myristica fragrans* Houtt by using microwave irradiation. *Iraninan Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 26 (2), 185-195. (in Farsi).
8. Bakkali, F.; Averbeck, S.; Averbeck, D. & Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils-A review. *Food and Chemical Toxicology*, 46 (2), 446-75.
9. Baratta, M.T., Damien Dorman, H.J., Deans, S.G., Cristina Figueiredo, A., Barroso, J.G. & Ruberto, G. (1998). Antimicrobial and antioxidant properties of some commercial essential oils. *Flavour Fragrance Journal*, 13(4), 235-44.
10. Bauer, K., Garbe, D. & Surburg, H. (2006). *Common fragrance and flavor materials: preparation, properties and uses.* (5th ed). Germany
11. Benabdallah, A., Boumendjel, M., Aissi, O., Rahmoune, C., Boussaid, M. & Messaoud, C. (2018). Chemical composition, antioxidant activity and acetylcholinesterase inhibitory of wild *Mentha* species from northeastern Algeria. *South African Journal of Botany*, 116, 131-139.
12. Bensabah, F., Houbairi, S., Lamiri, A. & Naja, J. (2013). Chemical composition and inhibitory effect of the essential oil from *Mentha spicata* irrigated by wastewater on the corrosion of aluminum in 1 molar hydrochloric acid. *Portugaliae Electrochimica Acta*, 31 (4), 195-206.
13. Berche, P., Gaillard, J.L. & Simone, T.M. (1991). *Bacteriology: bacteria of human infections*. Medicine-Sciences (pp: 660). Paris.
14. Bhat, S., Maheshwari, P., Kumar, S. & Kumar, A. (2002). *Mentha* species: *In vitro* regeneration and genetic transformation. *Molecular Biology Today*, 3 (1), 11-23.
15. Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods - a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94, 223-253.
16. Celiktas, O.Y., Hames Kocabas, E.E., Bedir, E., Vardar Sukan, F., Ozek, T. & Baser, K.H.C. (2007). Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of *Rosmarinus officinalis*, depending on location and seasonal variations. *Food Chemistry*, 100, 553-559.
17. Cragg, M.G. & Newman, D.J. (2001). Natural product drugs discovery in next millennium. *Pharmaceutical Biology*, 39 (1), 8-17.
18. Davazdahemami, S. & Majnoonhosini, N. (2013). *Cultivation and production of certain herbs and species.*(pp.300) Tehran University Press. Tehran. (in Farsi).
19. Dorman, H.J.D. & Deans, S.G. (2000). Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*, 88, 308-316.
20. Edris, A.E. (2008). Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile. *Food and Chemical Toxicology*, 46, 446–475.
21. Erasto, P. & Vilgoen, A.M. (2008). Limonene- are view: biosynthetic, ecological and pharmacological relevance. *Natural Product Communications*, 3 (7), 1193-1202.
22. Escudero, A., Iriondo, J.M. & Torres, M.E. (2003). Spatial analysis of genetic diversity as a tool for plant conservation. *Biological Conservation*, 113, 351-365.
23. Giles, M., Zhao, J., An, M. & Agboola, S. (2010). Chemical composition and antimicrobial properties of essential oil of three Australian Eucalyptus species. *Food Chemistry*, 119 (2), 731-737.
24. Guedes Stehling, E., Dias, W. & da Silva, D. (2008). Study of biological characteristics of *Pseudomonas aeruginosa* stains isolated from patients with cystic fibrosis and from patients with extra-45, pulmonary infections. *Journal of Infectious Diseases*, 12 (1), 86-88.
25. Gutierrez, J., Barry-Ryan, C. & Bourke, P. (2009). Antimicrobial activity of plant essential oils using food model media: efficacy, synergistic potential and interactions with food components. *Food Microbial*, 26, 142-150.
26. Hadi, N., Shojaeiyan, A., Sefidkon, F. & Jafari, A.A. (2018). Quantitative and qualitative study of essential oil in some accessions of *Nepeta* spp. and determination of essential oil components capability in intra and inter-specific relationships analysis. *Iranian Journal of Horticultural Science*, 49 (3), 601-612. (in Farsi)
27. Hadipanah, A., Golparvar, A.R., Ghasemi Pirbalouti, A. & Zaynali, H. (2012). Determine optimum of harvest time on the quantity/quality of essential oil and thymol of thyme (*Thymus vulgaris*) in Isfahan. *Journal of Herbal Drugs*, 2 (1), 23-32. (in Farsi)

28. Hassanpour Reyhani, K., Sofalian, O., Zare, N., Asghari, A. & Esmaielpour, B. (2017). Evaluation of genetic and morpho-physiological diversity in Iranian *Mentha longifolia* ecotypes. *Modern Genetic Journal*, 12 (3), 617-625. (in Farsi)
29. Hoseeini, Z., Feizi, H., Vatandoost Jertoodeh, S. & Alipanah, M. (2017). Essential oil composition of *Mentha longifolia* in different parts of Fars and Khorasan Razavi provinces. *Ecophytochemical Journal of Medicinal Plants*, 5 (1), 30-39. (in Farsi)
30. Jeyakumar, E., Lawrence, R. & Pal, T. (2011). Comparative evaluation in the efficacy of peppermint *(Mentha piperita)* oil with standards antibiotic against selected bacterial pathogens. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 1 (2), 53-57.
31. Karousou, R., Koureas, D.N. & Kokkini, S. (2005). Essential oil composition is related to the natural habitats: *Coridothymus capitatus* and *Satureja thymbra* in natural 2000 sites of crete. *Photochemistry,* 66, 2668-2673.
32. Kazemi, S.Y., Nabavi, J., Zali, H. & Ghorbani, J. (2017). Effect of altitude and soil on the essential oils composition of *Juniperus communis*. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 20 (5): 1380-1390.
33. Kee, L., Shori, A.B. & Baba, A.S. (2017). Bioactivity and health effects of *Mentha spicata*. *Integrative Food, Nutrition and Metabolism*, 5 (1), 1-2.
34. Kelen, M. & Tepe, B. (2008). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of the essential oils of three Salvia species from Turkish flora. *Bioresource Technology*, 99, 4096- 4100.
35. Khamis, I.M. & Aly, A.A. (2017). Preliminary phytochemical screening of different solvent extracts of some medicinal plants. *Middle East Journal of Applied Sciences*, 7 (2), 226-231.
36. Kim, K.Y., Seo, H.J., Min, S.S., Park, M. & Seol, G.H. (2014). The effect of 1,8- cineole inhalation on preoperative anxiety: a randomized clinical trial. *Evidence Based Complementary and Alternative Medicine*,1-7.
37. Koba, K., Sanda, K., Raynaud, C.D., Nenonene, Y.A., Millet, J. & Chaumont, J.P. (2004). Antimicrobial activities of essential oils from African cymbopogon against microorganisms pathogenic in pets. *Annales de Médecine Vétérinaire*, 148, 202-206.
38. Laggoune, S., Öztürk, M., Erol, E., Duru, M.E., Abaza, I., Kabouche, A. & Kabouche, Z. (2016). Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of the essential oil of *Mentha spicata* from Algeria. *Journal of Material and Environmental Science*, 7 (11), 4205–13.
39. Lahlou, S., Figueiredo, A.F., Magalhaes P.J. & Leal-Cardoso, J.H. (2002). Cardiovascular effect of 1,8-cineole, a terpenoid oxide present in many plant essential oils, in normotensive rats. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 80 (12), 1125-1131
40. Makvandi, M., Shokoohizadeh, L. & Mirzaee, M. (2017). Antibacterial and drug synergistic activities of *Mentha longifolia* essential oil against *Shigella flexneri* and *Shigella sonnei*. *International Journal of Enteric Pathogens*, 5 (3), 92-95.
41. Mkaddem, M., Bouajila, J., Ennajar, M., Lebrihi, A., Mathieu, F. & Romdhane, M. (2009). Chemical composition and antimicrobial and antioxidant activities of *Mentha longifolia* and *Mentha iridous* essential oil. *Journal of Food Science*, 24 (7), 358-363.
42. Mozaffarian, V.A. (2013). *Dictionary of Iranian plant name*. (pp: 671). Farhang Moaser Press. (in Farsi)
43. Murata, S., Shiragami, R., Kosugi, C., Tezuka, T., Yamazaki, M., Hirano, A., Yoshimura, Y., Suzuki, M., Shuto, K., Ohkohchi, N. & Koda, K. (2013). Antitumor effect of 1, 8-cineole against colon cancer. *Oncology Reports*, 30, 2647-2652.
44. Okut, N., Yagmur, M., Selcuk, N. & Yildirim, B. (2017). Chmical composition of essential oil of *Mentha longifolia* growing wild. *Pakistan Journal of Botany*, 49 (2), 525-529.
45. Oyedeji, A.O. & Afolayan, A.J. (2006). Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil isolated from South African *Mentha longifolia*. *Journal of Essential Oil Research*, 18, 57-59.
46. Rabie, M., Tabatabaei Ghomi, N., Asri, Y. & Khaniki, G.R. (2018). Vegetative characteristics and essential oil of *Chaerophyllum macropodum* Bioss. in different habitats of Iran. *Journal of Applied Biology*, 31 (1), 90-108.
47. Rabiee, M., Firozi Ardestani, M., Asri, Y. & Bakhshi Khaniki, Gh. (2016). Phytochemical study of essential oil of *Ziziphora clinopdioides* in natural habitats of Alborz and Mazandaran provinces. *Ecophytochemical Journal of Medicinal Plants*, 3 (3), 54-61. (in Farsi)
48. Rahmani, F., Rezaeian-Doloei, R. & Alimoradi, L. (2018). Evaluation of phytochemical composition of *Mentha pulegium* L. essential oil and its antibacterial activity against several pathogenic bacteria. *Iranian Journal of Medical Microbiology*, 11 (6), 167-177. (in Farsi)
49. Rodrigues, L., Povoa, O., Van den Berg, C., Figueiredo, A.C., Moldao, M. & Monteiro, A. (2013). Genetic diversity in *Mentha cervina* based on morphological traits, essential oils profile and ISSR markers. *Biochemical Systematic and Ecology*, 51, 50-59.
50. Rohde, H., Kalizky, M., Kroger, N., Scherpe, S., Horstkotte, M.A., Zander, A.R. & Mark, D. (2004). Detection of virulence associated genes not useful for discriminating between invasive and commensal *Staphylococcus epidermidis* strains from a bone marrow transplant unit. *Journal of Clincal Microbiology*, 42 (12), 5614-5619.

51. Roy, A., Park, H.J., Abdul, Q.A., Jung, H.A. & Choi, J.S. (2018). Pulegone exhibits anti-inflammatory activities through the regulation of NF-B and Nrf-s signaling pathways in LPS-stimulated RAW 264.7 cells. *Natural Product Sciences*, 24 (1), 28-35.
52. Salman, M., Abdel Hameed, E.S.S., Bazaid, S.A. & Dabi, M.M. (2015). Chemical composition for hydrodistillation essential oil of *Mentha longifolia* by gas chromatography-mass spectrometry from north regions in Kingdom of Saudi Arabia. *Der Pharma Chemica*, 7 (4), 34-40.
53. Shah, A., Li, D.Z., Möller, M., Gao, L.M., Hollingsworth, M.L. & Gibby, M. (2008). Delimitation of *Taxus fuana* Nan Li & R.R. Mill (Taxaceae) based on morphological and molecular data. *Taxo,* 57, 211-222.
54. Sharopov Farukh, S., Sulaimonova, V.A. & Setzer, W.N. (2012). Essential oil composition of *Mentha longifolia* from wild populations growing in Tajikistan. *Journal of Medicinally Active Plants*, 1 (2), 76-84.
55. Singh, C.S. & Agarwal, R. (2013). Evaluation of antibacterial activity of volatile oil from *Mentha spicata*. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 3(4), 120-121.
56. Soković, M., Marin, P.D., Brkić, D. & Griensven, L.J. (2007). Chemical composition and antibacterial activity of essential oils of ten aromatic plants against human pathogenic bacteria. *Food*, 1, 220-226.
57. Song, W., Lee, K.M., Kang, H.J., Shin, D.H. & Kim, D.K. (2001). Microbiologic aspects of predominant bacteria isolated from the burn patients in Korea. *Burns*, 27(2), 136-139.
58. Stanisavljevic, D.M., Dordevic, S., Ristic, M., Velickovic, D. & Randelovic, N.V. (2010). Effects of different drying methods on the yield and the composition of essential oil from herb *Mentha longifolia* (L.). *Biologica Nyssana*, 1(2), 89-93.
59. Sujana, P., Sridhar, T.M., Josthna, P. & Naidu, C.V. (2013). Antibacterial activity and phytochemical analysis of *Mentha piperita* L. (Peppermint) - An important multipurpose medicinal plant. *American Journal of Plant Sciences*, 4, 77-83.
60. Sulieman, A.M.E., Abderlrahman, S.E. & Abdel Rahim, A.M. (2011). Phytochemical analysis of local spearmint (*Mentha spicata*) leaves and detection of the antimicrobial activity of its oil. *Journal of Microbiology Research*, 1 (1), 1-4.
61. Tripathi, A.K., Prajapati, V., Ahmad, A., Aggarwai, K.K. & Khanuja, S.P.S. (2004). Piperitenone oxide as toxic, repellent and reproduction retardant toward malarial vector *Anopheles stephensi*. *Journal of Medical Entomology*, 41 (4), 691-698.
62. Ulte, A., Bennik, M.H.J. & Moezelaar, R. (2002). The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food pathogen *Bacillus cereus*. *Applied and Environmental Microbiology*, 68, 1561-1568.
63. Zaidi, S. & Dahiya, P. (2015). *In vitro* antimicrobial activity, phytochemical analysis and total phenolic content of essential oil from *Mentha spicata* and *Mentha piperita*. *International Food Research Journal*, 22 (6), 2440-2445.
64. Zouari-Bouassida, K., Trigui, M., Makni, S., Jlaiel, L. & Tounsi, S. (2018). Seasonal variation in essential oil composition and the biological and pharmaceutical protective effects of *Mentha longifolia* leaves growth in Tunisia. *BioMed Research International*, 1-12.