

مقایسه شکل ظاهری ساختار تشریحی و اثر ضد میکروبی میوه زنیان *Trachyspermum copticum* باگونه‌های *Ammi majus* و *Ammi visnaga* از تیره چتریان (Umbelliferae)

• دینا عزیزیان • فرشته افتخار، اعضای هیات علمی گروه زیست شناسی، دانشکده علوم دانشگاه شهید بهشتی

تاریخ دریافت: شهریور ماه ۱۳۷۸ تاریخ پذیرش: فروردین ماه ۱۳۷۹

چکیده

میوه گونه *Trachyspermum copticum* (L.) Link دارویی بخصوص در استان فارس شناخته شده است، در بسیاری موارد به اشتباه با گونه‌های *Ammi visnaga* (L.) Lam. و *Ammi majus* L. تحت نام زنیان معرفی می‌شود. در این بررسی میوه این سه گونه از نظر مورفولوژی و آناتومی مقایسه شد و نتایج به دست آمده نشان داد علاوه بر تفاوت‌های مربوط به بخش‌های رویشی برگ، میوه در این سه گونه از نظر اندازه و شکل مریکارپا و ساختمان درونی از یکدیگر قابل تشخیص می‌باشد. همچنین اثرات ضد میکروبی عصاره الکلی میوه هر سه گونه با یکدیگر مقایسه شد. تعداد ۹ گونه باکتری گرم مثبت و گرم منفی شامل چهار استاندارد آزمایشگاهی ATCC و ۵ باکتری بیمار یزای کلینیکی مورد بررسی قرار گرفت، نتایج به دست آمده نشان داد که هر چند هر سه گونه گیاه اثر ضد میکروبی داشتند اما عصاره *T. copticum* قوی‌تر از سایر گونه‌ها بوده و احتمالاً دارای ارزش درمانی بیشتری است. کلمات کلیدی: زنیان - چتریان - اثر ضد میکروبی - آناتومی

باکتری استاندارد ATCC و ۵ ایزوله کلینیکی شامل باکتریهای گرم مثبت و گرم منفی مورد مطالعه قرار گرفت تا تفاوت‌های ساختاری و اثر ضد میکروبی آنها با یکدیگر مقایسه گردد.

مواد و روشها

الف: مطالعات مورفولوژی و آناتومی

برای مطالعه گونه‌های مورد نظر از نمونه‌های هرباریوم اوین، مؤسسه بررسی آفات و بیماریهای گیاهی و هرباریوم گروه زیست شناسی دانشگاه شهید بهشتی استفاده شد همچنین برای مقایسه و برش‌گیری، نمونه‌های میوه از دانشکده کشاورزی کرج و نمونه‌های تازه از منطقه ممسنی فارس جمع‌آوری گردید و بعد از شناسایی و تأیید آنها در هرباریوم مورد استفاده قرار گرفت. مشخصات نمونه‌های مورد مطالعه در جدول ۱ ارائه شده است. از آنجائی که هدف اصلی مطالعه مورفولوژی و آناتومی میوه مورد نظر بود ابتدا دانه‌ها از نظر شکل و اندازه و اختصاصات ظاهری به‌دقت بررسی و تصاویر آنها توسط میکروسکوپ دو چشمی Olympus ترسیم گردید. برای تهیه برش عرضی، میوه (دانه) بعد از نرم شدن در آب گرم به وسیله دست برش‌گیری شد و بعد از رنگ‌آمیزی در یک قطره گلیسیرین در زیر میکروسکوپ مطالعه و سپس از برشها عکس تهیه گردید.

مقدمه

صفات مورفولوژی و آناتومی میوه نقش بسیار مهمی را در شناسائی، طبقه‌بندی و تعیین وابستگی گیاهان تیره چتریان دارا می‌باشد. در اغلب طبقه‌بندیهای چتریان به خصوص در حد جنس و بالاتر، از صفات مربوط به میوه^۱ استفاده می‌شود و در مراحل بعدی به جزئیات مربوط به گل آذین و اندامهای رویشی تأکید می‌شود:

(۱۹۷۱) Theobald و (۱۹۸۸) Al - Eisawi در سالهای اخیر توسط محققین استفاده از صفات دیگر نظیر دانه گرده و به خصوص ترکیبات شیمیائی مورد استفاده قرار گرفته است (۵، ۸، ۱۰). که بیشتر این اطلاعات در تأیید صفات آناتومی میوه می‌باشد (۷ و ۸). گونه ایرانی *Trachyspermum copticum* (L.) Link که میوه آن زنیان نامیده می‌شود از دیر زمان دارای ارزش داروئی بوده و در طب سنتی دارای مصارف

جدول شماره ۱- نمونه‌های مورد مطالعه

Trachyspermum copticum: Esfahan, Kawiani, 13007 - E. Fars, Abadeh, Sharafi. No.

Ammi majus: Balouchetan, Sarbaz, Salavatian 709-E, Chahbehlar, Reching 1133-E.

Ammi visnaga: Azarbyejan, Dasht - moghan, Parsabad, mozaaffarian 64260: Khuzestan, 80 km on the - rood from Behbahan to Ramhormoz, Sardabi & Lotfian 43173.

باکتریها

هینتون پخش گردید. دیسک‌های کاغذی ۷ میلی‌متری آغشته به غلظت‌های مختلف هر عصاره با فاصله بر روی محیط تلقیح شده قرار گرفتند. عصاره میوه زنیان *T. copticum* در غلظت‌های ۱/۶ گرم، ۱/۳ گرم و بالاخره ۱/۷۵ گرم در سی‌سی حلال تهیه شد. عصاره *A. visnaga* در غلظت‌های ۱/۵۵ گرم، ۱/۷۷ گرم در هر سی‌سی حلال مورد استفاده قرار گرفت و عصاره *A. majus* در غلظت‌های ۱/۳۲ گرم، ۱/۶ گرم، ۱/۳۵ گرم در سی‌سی تهیه شد. هر دیسک حاوی ۲۵ میکرولیتر از غلظت‌های تهیه شده برای هر گیاه بود. پلیت‌ها به مدت ۱۸ تا ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتیگراد قرار داده شدند و در پایان گرماگذاری، نواحی فاقد رشد در اطراف دیسکها اندازه‌گیری و به میلی‌متر گزارش شدند. نواحی عدم رشد بیش از ۱۵ میلی‌متر حساس بین ۱۰ تا ۱۵ میلی‌متر حساسیت حد واسط کمتر از ۱۰ میلی‌متر مقاوم گزارش شدند. انتخاب این پارامترها در مقایسه با نتایج

در این پژوهش ۹ باکتری گرم مثبت و گرم منفی شامل ۴ استاندارد ATCC و ۵ باکتری کلینیکی مورد استفاده قرار گرفتند. لیست باکتری‌ها در جدول ۲ ارائه شده است. ایزوله‌های کلینیکی از آزمایشگاه ماری کوری در تهران جمع‌آوری شدند. آزمایش ضد میکروبی برای تعیین حساسیت میکرو ارگانیزم‌ها از روش دیسک آغشته به عصاره‌های گیاهی Kirby & Bauer etal (۱۹۹۶) استفاده شد (۶). در این روش ۴ تا ۵ کلنی از یک کشت ۱۸ ساعته باکتری در محیط نوترینت آگار به ۴ سی‌سی محیط کشت مایع مولر هینتون تلقیح شد و لوله‌ها به مدت ۴ تا ۶ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد قرار داده شدند. پس از مقایسه و تطبیق کدورت این کشت‌ها با استاندارد شماره ۵/۵ مک فارلند (معادل 3×10^8 باکتری در سی‌سی)، به وسیله یک سوآپ استریل مقداری از هر کشت بر سطح یک پلیت حاوی آگار مولر

✓ Pajouhesh & Sazandegi, No 50
PP:66-69

Comparison of Fruit Morphology, Anatomy and Antimicrobial Activity of *Trachyspermum copticum*, *Ammi majus* and *Ammi Visnaga*, Apiaceae (Umbelliferae)

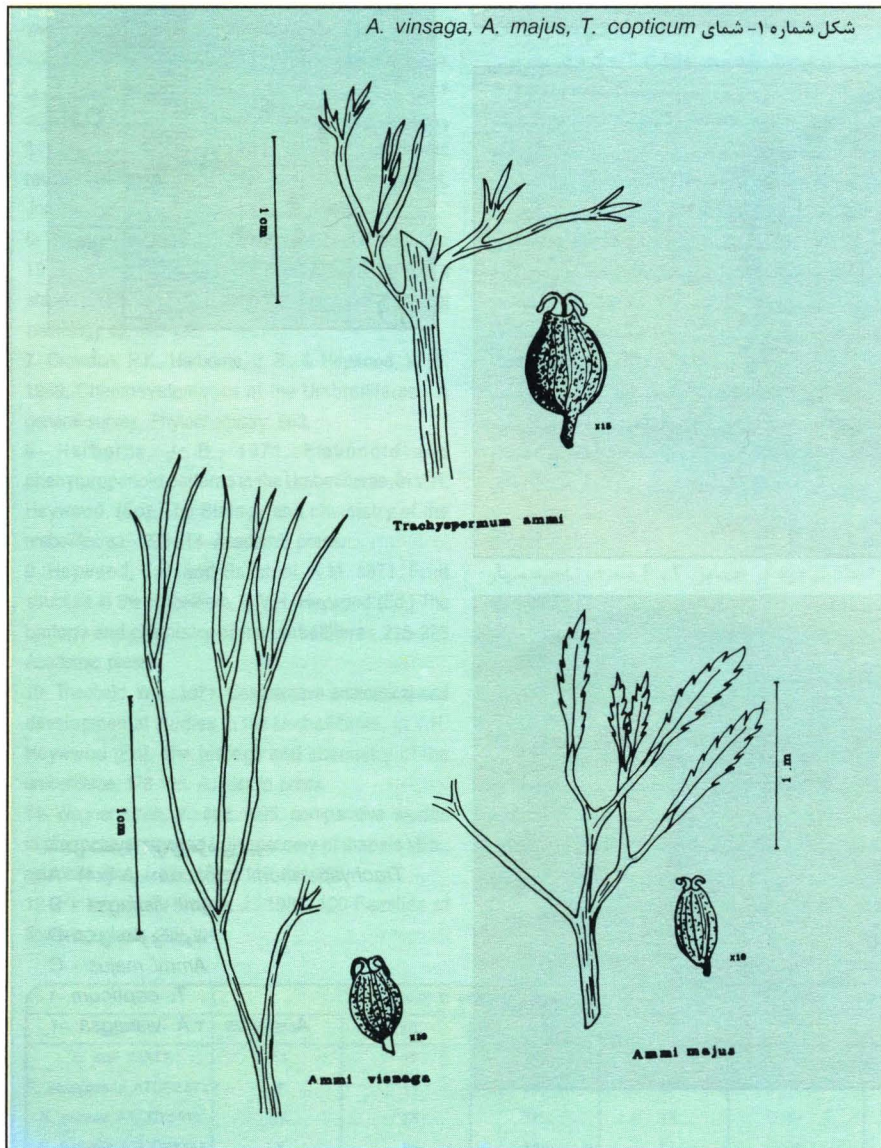
By: D. Azizi and F. Eftekhari Scientific members of biology Dep. Science faculty, shahid Beheshti University.

E-mail= D. azizi@cc.sb

Trachyspermum copticum (L.) Link. is known as a medicinal plant especially in the province of Fars. The fruit (seed) of this plant is called Zenian but is often mistaken with the fruits of *Ammi majus* L. and *Ammi visnaga* (L.) Lam. In this research, the fruits of the three above species were studied and compared both morphologically and anatomically. We also compared the antimicrobial activity of the methanolic extracts of the fruits against nine bacterial isolates (4 ATCC laboratory standards and, 5 clinical isolate tests). The results showed morphological and anatomical differences in size, mericarp shape and internal structures. All three fruit extracts showed antimicrobial activity when tested against the bacterial isolates. However, the antimicrobial activity of *T. copticum* was stronger compared with *Ammi majus* and *Ammi visnaga* showing its high medicinal value.

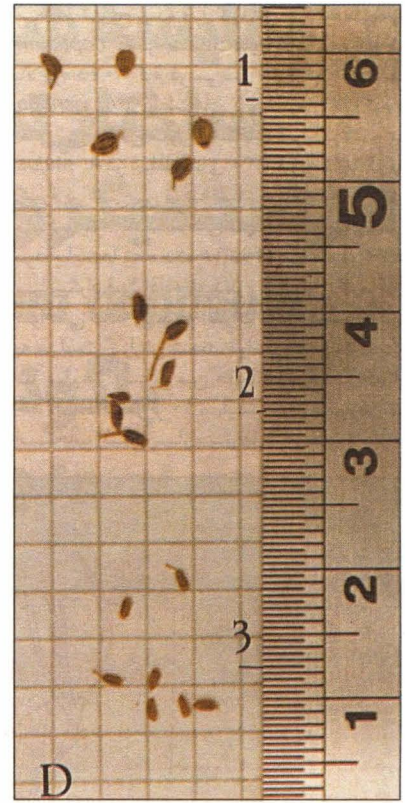
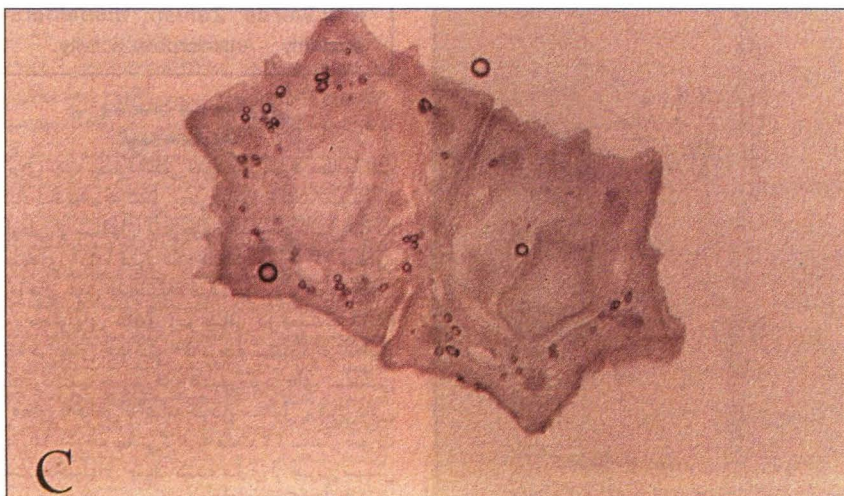
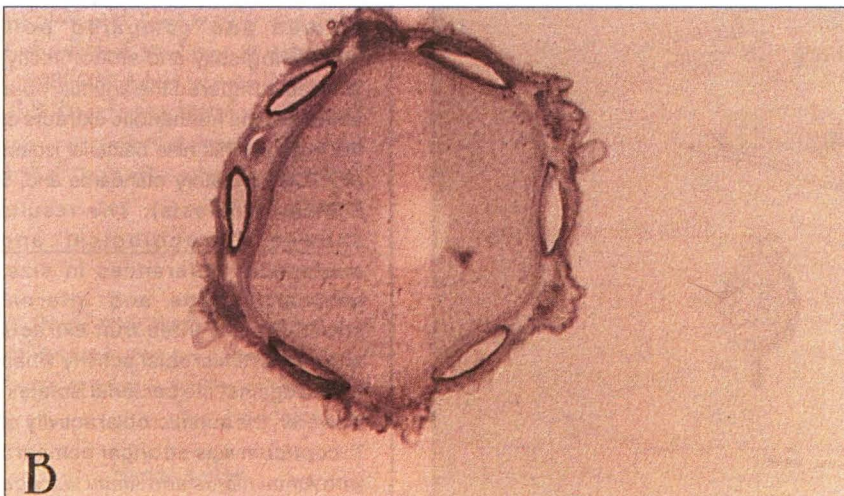
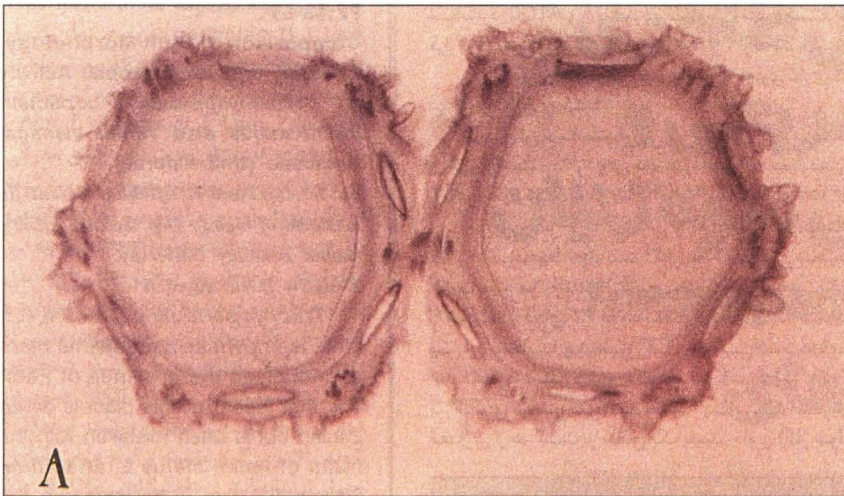
Key words: Zenian. Umbelliferae - anatomy - Antimicrobial activity.

شکل شماره ۱- شمای *A. visnaga*, *A. majus*, *T. copticum*



ب: مطالعات ضد میکروبی تهیه عصاره‌ها

برای تهیه عصاره الکلی میوه‌های مورد مطالعه هر سه گیاه سائیده و به شکل پودر در آورده شد، سپس در مخلوطی از متانول، پترولیوم اتر و دی اتیل اتر به نسبت‌های ۱:۱:۱ قرار داده شدند. پس از ۲۴ ساعت مخلوط‌های فوق به وسیله قیف بوختر و پمپ خلاء صاف و محلولهای حاصل زیر صافی در دستگاه Rota vapor در دمای حداکثر ۵۰ درجه سانتیگراد تغلیظ شدند. رسوب چربی‌ها و هییدروکربن‌های سنگین عصاره‌های ناخالص با اضافه کردن متانول و قرار دادن آنها در ۱۵- درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت صورت گرفت. محلولهای صاف شده عاری از چربی سپس مجدداً در خلاء و دستگاه Rota vapor تغلیظ و به عنوان عصاره ناخالص جهت تعیین خاصیت ضد میکروبی مورد بررسی قرار گرفتند.



شکل شماره ۲ برش عرضی میوه
Trachyspermum copticum - A (x4)
Ammi visnaga - B
-D شکل ظاهری میوه،
Ammi majus - C
T. copticum - ۱
A. majus - ۳ *A. visnaga* - ۲

جدول شماره ۲- فهرست باکتریهای استفاده شده

<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922.
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 85327.
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212.
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.
<i>Escherichia coli</i> MC 11T.
<i>E. coli</i> MC 19.
<i>Klebsiella pneumoniae</i> MC 16.
<i>Staphylococcus aureus</i> ME 6.
<i>S. aureus</i> MC 37.

جدول ۴- اثر ضد میکروبی عصاره (*T. copticum* g.cc) (۲/۵) بر چند باکتری جدا شده از بیماران

ناحیه مهار رشد باکتری توسط عصاره <i>T. copticum</i> ۲/۵g./cc به mm	باکتری ایزوله کلینیکی
۲۴	<i>E. coli</i> MC 11
۲۳	<i>E. coli</i> MC 19
۲۰	<i>Klebsiella pneumoniae</i> MC 16
۲۵	<i>S. aureus</i> MC 6
۲۵	<i>S. aureus</i> Mc 37

اعداد جدول معدل حداقل سه آزمایش جداگانه در روزهای متفاوت می‌باشند.

پاورقی‌ها

- 1- Mericarp 2- Exocarp 3- Mesocarp 4- Vitta
5- Endocarp 6- Costata

منابع مورد استفاده

- ۱- امین، غلامرضا، ۱۳۷۰. گیاهان دارویی و سنتی ایران - مؤسسه پژوهش‌های گیاهی دارویی در ایران دانشگاه علوم پزشکی تهران.
۲- زرگری، علی، ۱۳۷۰. گیاهان دارویی جلد دوم، ۵۱۷-۵۱۶. انتشارات دانشگاه تهران.
۳- کشاورز، نازیلا، ۱۳۷۵. بررسی سیستماتیک، آناتومی و خواص دارویی سه گونه *Trachyspermum copticum*, *Ammi visnaga* و *A. majus* از خانواده چتریان. (پایان نامه دوره کارشناسی - ۱۳۷۵).
۴- میرحیدر، حسین، ۱۳۷۲. معارف گیاهی، کاربرد گیاهان در پیشگیری و درمان بیماری‌ها جلد دوم، ۵۲۳-۵۲۴. دفتر نشر فرهنگ اسلامی.
5- Al. Eisawi, D, & Jury, St. L., 1988. A taxonomic revision of the genus *Tordylium* L. (Apiaceae). Bot. Jor. Linn. Soc. 7: 357-403.
6- Bauer. A.W. Kirby, WMM, Sherris, J. and M. Turrk. 1996. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method - American J. clinical pathology 45: 495-496.
7- Crowden, R.K., Harborne, J. B., & Heywood, V. H., 1969, Chemosystematics of the Umbelliferae - A general survey. Phytochemistry: 963.
8- Harborne, J. B., 1971. Flavonoid and phenylpropanoid patterns in the Umbelliferae, in V.H. Heywood, (Ed). The Biology and chemistry of the umbelliferaea - 293-314. Academic press.
9- Heywood, V.H. and Dakshini, K.M. 1971. Fruit structure in the umbellifera, in V.H. Heywood (Ed) The biology and chemistry of the umbellifera - 215-225 Academic press.
10- Theobald, W.L., 1971. Comparative anatomical and developmental studies in the Umbelliferae, in V.H. Heywood (Ed). The biology and chemistry of the umbelliferae, 178-196. Academic press.
11- Wagner smith, V., etal. 1995. comparative studies in phytochemistry and fruit anatomy of thapsis spp., apiaceae. Bot. J. Linn. Soc. 117: 281-292.
12- Hickey: M. & King, e.J., 1981. 100 Families of flowering plants. 299-301.

نتایج به دست آمده نشان می‌دهد که هر سه گونه تفاوت‌هایی را هم از نظر مورفولوژی علاوه بر بخش‌هایی رویشی، به خصوص در شکل ظاهری میوه و همچنین ساختمان درونی میوه دارا می‌باشند و بیشترین تفاوت در ساختمان میوه مربوط به سطح اپیدرم ناصاف با برجستگیهای زگیل مانند و وضعیت مجاری ترشچی به خصوص در میوه زنیان می‌باشد که به این ترتیب این گونه را از دو گونه دیگر متمایز می‌نماید.

نتایج مطالعات ضد میکروبی نشان داد که اثر ضد میکروبی *T. copticum* در مقایسه با گونه‌های دیگر استفاده شد قوی‌تر بود و در غلظت ۰/۳ گرم در سی‌سی عصاره ناخالص آن اثر مهار کننده بهتری از عصاره‌های *Ammi visnaga* (۱/۵۵ گرم در سی‌سی) و *Ammi majus* (۵ گرم در سی‌سی) نشان داد. (جدول ۳). همچنین بررسی اثر ضد میکروبی عصاره *T. copticum* (غلظت ۲/۵ گرم در سی‌سی) بر ۵ باکتری جدا شده از بیماران نشان داد که همه این باکتری‌ها که به اغلب آنتی بیوتیک‌های معمولی مقاوم بودند به عصاره *T. copticum* حساسیت نشان دادند. اهمیت نتایج به دست آمده از این مطالعه در این است که هر دو گروه باکتریهای گرم منفی و باکتریهای گرم مثبت نسبت به عصاره *T. copticum* حساس بودند. در اغلب مطالعات انجام شده، عصاره‌های گیاهی بر باکتریهای گرم مثبت بیشترین اثر را نشان می‌دهند و باکتریهای گرم منفی که عامل بسیاری از بیماریهای عفونی جدی می‌باشند نسبت به این عصاره‌ها مقاوم می‌باشند (جدول ۴).

اعداد موجود در جداول ۳ و ۴ معرف ناحیه مهار رشد باکتری توسط دیسک حاوی عصاره می‌باشد و به میلی متر گزارش شده است.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از آقای مهندس محمود موسوی سرپرست هرباریوم اوین (مؤسسه بررسی آفات و بیماریهای گیاهی) و آقای مهندس بهرام زهراد سرپرست هرباریوم گروه زیست‌شناسی دانشگاه شهید بهشتی به خاطر راهنمایی و استفاده از نمونه‌های هرباریومی و همچنین از خانمها نازیلا کشاورز و شعله مسلمی جهت تهیه نمونه از دانشکده کشاورزی کرج و شیراز مستنی تشکر می‌شود.

جدول ۳- اثر ضد میکروبی عصاره سه گیاه مورد مطالعه بر باکتریهای استاندارد آزمایشگاهی

باکتری	عصاره <i>T. copticum</i> (g/c.c)				عصاره <i>A. visnaga</i> (g/c.c)		عصاره <i>A. majus</i> (g/c.c)		
	۰/۷۵	۰/۳	۰/۱۵	۰/۰۶	۰/۷۷	۱/۵۵	۰/۶	۱/۳۲	۲/۳
<i>E. coli</i> ۲۵۹۲۲	۱۱	۱۳	۱۶	۲۵	۷	۱۸	۷	۷	۱۱
<i>P. aeruginosa</i> ATCC۸۵۲۷	۷	۱۲	۱۴	۱۶	۹	۱۶	۷	۷	۹
<i>S. aureus</i> ATCC۲۵۹۲۳	۱۸	۲۲	۲۶	۲۹	۲۰	۲۴	ND	ND	۱۷/۳
<i>E. faecalis</i> ATCC۲۹۲۱۲	۷	۱۰	۱۵	۲۱	۷	۱۱	۷	۷	۷