

## ارزیابی تنوع صفات مورفولوژیک و فعالیت ضد میکروبی اکوتیپ‌های پونه (*Mentha longifolia*) جمع‌آوری شده از رویشگاه‌های استان لرستان

سهیلا افکار

استادیار، گروه کشاورزی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

پست الکترونیک: soheila.afkar@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۰/۲۴ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۳/۱۹

### چکیده

به منظور بررسی تنوع صفات مورفولوژیکی پونه (*Mentha longifolia*) و تعیین فعالیت ضدباکتریایی آن علیه سه سویه باکتری *Listeria monocytogenes*، *Klebsiella pneumoniae* و *Streptococcus agalactiae* سه اکوتیپ پونه از سه رویشگاه استان لرستان شامل خرم‌آباد، الشتر و دلفان جمع‌آوری و برای صفات ارتفاع بوته، طول برگ، عرض برگ، تعداد برگ، تعداد انشعابات، تعداد گل‌آذین، طول گل‌آذین و درصد اسانس مورد تجزیه واریانس یک‌طرفه قرار گرفتند. نتایج نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین اکوتیپ‌های مورد مطالعه از نظر طول و عرض برگ، ارتفاع گیاه و درصد اسانس وجود داشت. اکوتیپ خرم‌آباد دارای بالاترین ارتفاع گیاه، طول گل‌آذین و درصد اسانس بود. همبستگی مثبت و معنی‌داری بین صفات ارتفاع بوته و عرض برگ با درصد اسانس مشاهده شد. نتایج تجزیه رگرسیون گام‌به‌گام و تجزیه علیت نشان داد که ارتفاع گیاه می‌تواند مهمترین شاخص برای انتخاب لاین‌های والدینی در برنامه‌های اصلاحی باشد. با توجه به شاخص‌های حداقل غلظت مهارکنندگی باکتری (MIC) و حداقل غلظت باکتری‌کشی (MBC) نتیجه‌گیری شد که حداقل غلظت بازدارندگی و کشندگی اسانس پونه بین ۰/۰۳-۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود. فعالیت ضد میکروبی حکایت از این داشت که باکتری‌های *L. monocytogenes* و *S. agalactiae* توسط اسانس اکوتیپ دلفان و باکتری *K. pneumoniae* توسط اسانس اکوتیپ الشتر مهار شدند و سه باکتری مورد مطالعه کمترین حساسیت را به اسانس پونه اکوتیپ خرم‌آباد داشتند.

واژه‌های کلیدی: استان لرستان، اثرهای ضد میکروبی، پونه، درصد اسانس، صفات مورفولوژیکی

### مقدمه

اختلالات عفونی از جمله بیماری‌های شایع در جهان بوده که هزینه‌های زیادی به بشر تحمیل کرده و سلامت بشر را تهدید می‌کند (Sadeghian et al., 2012). مطالعات نشان داده که باکتری گرم مثبت *Listeria monocytogenes* عوارضی مانند مننژیت، سپتی‌سمی و سقط جنین را در زنان باعث می‌شود (Hof et al., 1998). باکتری *Streptococcus agalactiae* دیپلوکوک گرم مثبت است که سبب بیماری-

زایی در گونه‌های مختلف ماهی، گاو و انسان شده (Mian et al., 2009) و همچنین باعث ایجاد گلودردهای چرکی می‌گردد (Basheer et al., 2015). باکتری *Klebsiella pneumoniae* باکتری گرم منفی روده‌ای است که سبب عفونت‌های بیمارستانی می‌شود (Pourali Sheshblouki et al., 2016). گیاهان دارویی، بهترین انتخاب برای مهار باکتری‌های عفونت‌زای مقاومت به آنتی‌بیوتیک هستند که از مزایای آن کم‌بودن هزینه تولید، عوارض جانبی کم و نداشتن

بهترین حفاظت از خزانه ژنی آنها ضروریست (Vining *et al.*, 2005) و همچنین بدست آوردن اطلاعاتی در مورد میزان تنوع ذخایر ژنتیکی و روابط ژنتیکی بین آنها از ضروریات اولیه اصلاح گونه‌های گیاهیست (Behera *et al.*, 2008). یکی از گزینه‌های مهم برای انتخاب والدین در برنامه‌های اصلاحی، ارزیابی و تعیین میزان تنوع ژنتیکی است. از سوی دیگر تعیین مشخصات و گروه‌بندی ژرم‌پلاسم به جلوگیری از نمونه‌گیری دوباره در جمعیت‌ها توسط اصلاحگران کمک می‌کند (Zinodini *et al.*, 2013). اصلاح ژنتیکی گونه‌های نعنای باعث سازگاری بیشتر، درصد اسانس بالاتر و افزایش کیفیت اسانس شده که به تولید اقتصادی آن کمک می‌نماید (Khanuja *et al.*, 2000).

تنوع ژنتیکی ۳۸ ژنوتیپ ژاپنی *Mentha arvensis* در شرایط آب و هوایی شمال هند بررسی شد که در ۸ خوشه بر اساس درصد اسانس و کیفیت ترکیبات قرار گرفتند (Singh *et al.*, 1998). بررسی صفات مورفولوژیکی *M. longifolia* جمع‌آوری شده در ده منطقه استان فارس و استان خراسان رضوی در زمان گلدهی نشان‌دهنده تنوع بالایی از نظر خصوصیات مورفولوژیکی در بین اکوتیپ‌های مورد مطالعه بود. نتایج نشان داد که طول و عرض برگ و صفات زایشی مانند تعداد و طول گل همبستگی مثبتی با میزان بازده اسانس داشته و می‌تواند در برنامه‌های اصلاحی مورد توجه قرار گیرند (Hosseini, 2016). برخی تحقیقات نشان داده که باکتری‌های گرم مثبت نسبت به باکتری‌های گرم منفی به اسانس *Mentha spicata* حساس‌تر هستند (Shahbazi, 2015) و اسانس نعنای فلفلی فعالیت آنتی-باکتریال و آنتی‌اکسیدانی بالایی دارد (Singh *et al.*, 2015). این تحقیق با هدف بررسی تنوع مورفولوژیک و درصد اسانس اکوتیپ‌های مختلف پونه در سه اکوتیپ بومی استان لرستان به منظور تعیین روابط بین آنها و شناسایی صفات مناسب زراعی برای استفاده در برنامه‌های اصلاحی در آینده انجام شد. همچنین خواص ضدباکتریایی اسانس اکوتیپ‌های جمع‌آوری شده پونه علیه سه سویه باکتری به منظور مقایسه قدرت مهارکنندگی و مشخص کردن مؤثرترین اسانس در

مشکلات زیست‌محیطی می‌باشد (Mohsenipour & Hassanshahian, 2016; Masoumipour *et al.*, 2018). برخی اسانس‌ها بر علیه تعدادی از قارچ‌ها، پاتوژن‌های بیماری‌زای گیاهی و انسانی، باکتری‌ها، حشرات، آفات و سایر میکروارگانیسم‌های مضر مؤثر هستند (Kalemba & Kunicka, 2003). به‌طورکلی اسانس‌ها در صنایع مختلف از جمله صنایع غذایی، عطرسازی و دارویی کاربرد دارند (Bajalan & Pirbalouti, 2014). فعالیت ضد میکروبی اسانس احتمالاً به علت توانایی آنها در ترکیب شدن با پروتئین‌های خارج سلولی، محلول و همچنین ترکیب شدن با دیواره سلولی باکتری می‌باشد (Tsuchiya *et al.*, 1996). پونه متعلق به جنس *Mentha* و خانواده Lamiaceae بوده که متشکل از زیرگونه‌های مختلف و واریته‌های فراوان با خواص دارویی بسیار بالاست. پونه به‌عنوان چاشنی در برخی از غذاهای ایرانی استفاده می‌شود، همچنین دارای خواص بهداشتی، دارویی و غذایی فراوانی است (Zinodini *et al.*, 2013). از جمله ویژگی‌های دارویی ارزشمند این گیاه دارویی می‌توان به اثرهای ضدباکتریایی، ضدقارچی و استفاده در درمان بیماری‌های میکروبی و غیر میکروبی اشاره کرد (Azarkish *et al.*, 2016). همچنین پونه به‌عنوان ضد-نفخ و معطرکردن غذا و کنترل بیماری‌های پوستی مورد استفاده قرار می‌گیرد (Anwar *et al.*, 2017). گونه *Mentha longifolia* پراکنش جغرافیایی طبیعی گسترده‌ای در بین گونه‌های نعنای اروپا تا آسیای مرکزی و شمال آفریقا داشته که اغلب آنها دیپلوئید بوده اما بعضی تتراپلوئید هستند، اندازه ژنوم *M. longifolia* حدود  $c=385$  Mbp گزارش شده و مقدار C-value این گونه در میان گونه‌های کشت شده کوچک است (Vinning *et al.*, 2005). مطالعات انجام شده روی گونه‌های مختلف نعنای نشان داد که جنس نعنای ایران از تنوع ژنتیکی مناسبی برخوردار است (Zeinali *et al.*, 2012).

برای مدیریت و حفاظت گیاهان، شناخت مواد گیاهی موجود در یک منطقه مهم می‌باشد (Atashgahi *et al.*, 2009). تخمین تنوع ژنتیکی درون و بین جمعیت‌ها برای

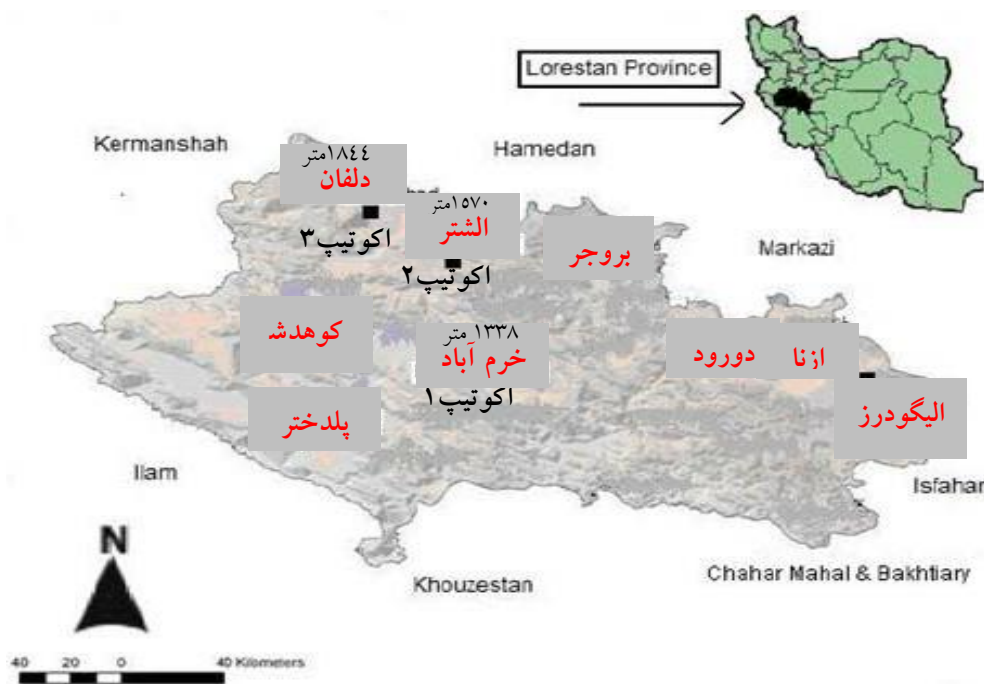
مهار باکتری‌های مورد مطالعه بررسی گردید.

بین اکوتیپ‌ها، ابتدا سه رویشگاه از استان لرستان (شهرستان خرم‌آباد، الشتر و دلفان) انتخاب (شکل ۱) و نمونه‌گیری در زمان گلدهی کامل انجام شد. مشخصات جغرافیایی، شرایط اقلیمی و ویژگی‌های خاک مناطق مورد بررسی به ترتیب در جدول ۱ و ۲ ارائه شده است.

### مواد و روش‌ها

#### مواد گیاهی

در تیرماه سال ۱۳۹۶ با هدف شناسایی توده‌های بومی پونه در بررسی تنوع صفات مورفولوژیکی (*Mentha longifolia*)



شکل ۱- توزیع جغرافیایی اکوتیپ‌های پونه مورد مطالعه در استان لرستان (اعداد روی شکل ارتفاع از سطح دریا هستند)

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

کد اکوتیپ	منطقه جمع‌آوری	طول جغرافیایی	عرض جغرافیایی	ارتفاع از سطح دریا (متر)	متوسط بارش (میلی‌متر)	متوسط دمای سالیانه (درجه سانتیگراد)
۱	خرم‌آباد (روستای رباط دولت‌شاه)	۴۸°۱۷'۳۷/۳۶"	۳۳°۳۷'۴۵/۶۳"	۱۳۳۸/۹	۵۲۳/۴	۱۶/۱
۲	الشتر (روستای کرم الهی)	۴۸°۱۴'۴۰/۵۵"	۳۳°۴۷'۴۴/۱۶"	۱۵۷۰/۵	۴۷۴/۱	۱۳/۶
۳	دلفان (اراضی مجاور دانشگاه پیام نور)	۴۷°۵۹'۵۷/۸۴"	۳۴°۲۴'۱۲/۶"	۱۸۴۴/۱۰	۴۴۶/۷	۱۲/۲

جدول ۲- ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک

منطقه جمع‌آوری	درصد آهک	فسفر (mg/kg)	پتاسیم (mg/kg)	درصد کربن آلی	هدایت الکتریکی (ms/m)	اسیدیته pH	درصد شن	درصد سیلت	درصد رس
خرم‌آباد	۳/۷	۱۶/۲	۲۶۳	۳	۰/۶۶	۷/۴۸	۱۶	۴۴	۴۰
الشتر	۳۹	۶/۳	۲۴۱	۲/۵۱	۰/۵۷	۷/۶۲	۱۹	۴۰	۴۱
دلفان	۳۸	۱۴/۳	۲۱۰	۱/۵۶	۰/۶	۷/۴۹	۱۷	۴۲	۴۱

## صفات مورد ارزیابی و تجزیه داده‌ها

به منظور بررسی خصوصیات مورفولوژیکی، هشت صفت کمی اندازه‌گیری شد که شامل ارتفاع بوته، طول برگ، عرض برگ، تعداد برگ، تعداد انشعابات، تعداد گل‌آذین، طول گل-آذین و درصد اسانس بودند. برای اندازه‌گیری طولی از خط‌کش و برای اندازه‌گیری وزنی از ترازوی دیجیتالی استفاده شد. برای اندازه‌گیری میزان اسانس، اندام هوایی گیاهان بعد از برداشت به آزمایشگاه منتقل شدند و پس از خشک کردن نمونه گیاه خرد و آسیاب شد. پس از توزین به درون بالن ریخته و استخراج اسانس با روش تقطیر با آب و استفاده از دستگاه کلونجر<sup>۱</sup> انجام شد. وزن و حجم اسانس اندازه‌گیری شد. برای محاسبه درصد اسانس از رابطه زیر استفاده گردید (Hasanpour Reihani et al., 2016).

=درصد اسانس

(رابطه ۱)  $100 \times (\text{وزن خشک گیاه} / \text{وزن اسانس})$

داده‌های جمع‌آوری شده در قالب تجزیه واریانس یک طرفه با پنج تکرار تجزیه واریانس شدند و مقایسه میانگین اکوتیپ‌ها با روش دانکن با استفاده از نرم‌افزار SPSS 18 انجام شد. برای بررسی روابط بین صفات از روش همبستگی پیرسون، رگرسیون گام‌به‌گام و تجزیه علیت با استفاده از نرم‌افزار Minitab 16 و Path استفاده شد.

## تعیین خاصیت آنتی‌میکروبی اسانس

باکتری‌های مورد مطالعه شامل *Klebsiella pneumonia*

<sup>۱</sup> Clevenger Apparatus

*Streptococcus agalactiae* و *monocytogenes*، *Listeria* بود. شاخص‌های MIC<sup>۲</sup> و MBC<sup>۳</sup> هر باکتری با Micro dilution broth method و بر اساس اصول CLSI<sup>۴</sup> تعیین شد. بدین صورت که ابتدا رقت‌های پی‌درپی دو برابر از اسانس گیاه در محیط کشت مایع تهیه شد. سپس ۱۰۰ µl از هر رقت به ترتیب به چاهک‌های هر ردیف از میکروپلیت ۹۶ خانه‌ای افزوده شد. از باکتری که ۲۴ ساعت از کشت آن گذشته بود، سوسپانسیون میکروبی با غلظت استاندارد (برابر نیم‌مک‌فارلند) تهیه شد و مقدار ۱۰۰ µl از آن به هر چاهک اضافه گردید. پلیت به مدت ۱۸ تا ۲۴ ساعت در دمای ۳۷°C در انکوباتور قرار داده شد. پس از این زمان و در مرحله آخر ۱۵ µl از ماده ۲-۳-۵- تری فنیل‌تترازولیوم-کلراید<sup>۵</sup> (TTC) به تمام چاهک‌ها اضافه شد و دوباره به مدت دو ساعت پلیت در دمای ۳۷°C در انکوباتور قرار داده شد. این ماده باعث رنگی شدن چاهک‌هایی می‌شود که در آنها باکتری زنده است و می‌توان زنده و یا کشته شدن باکتریها را با توجه به تغییر رنگ آن متوجه شد. 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 در نظر گرفته شد. کمترین غلظتی از اسانس گیاه که باعث کشته شدن باکتریها می‌شود با انتقال ۲ µl از چاهک‌ها به محیط کشت جامد و نگهداری

2 Minimum Inhibitory Concentration

3 Minimum Bactericidal Concentration

4 Clinical and laboratory standards Institute

5 2,3,5-Triphenyl Tetrazolium Chloride

اسمیرنف، داده‌های صفات درصد اسانس، تعداد برگ و تعداد گل‌آذین نرمال شدند. تجزیه واریانس مربوط به صفات مورفولوژیکی انجام شد (جدول ۳). همانطور که مشاهده می‌شود تفاوت بین اکوتیپ‌های پونه از نظر صفات ارتفاع بوته، طول برگ، عرض برگ و درصد اسانس در سطح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد معنی‌دار شد. اختلاف معنی‌دار سه اکوتیپ مورد مطالعه از نظر صفات ارتفاع بوته، درصد اسانس و طول و عرض برگ مشاهده شد. با توجه به نتایج مقایسه میانگین صفات، اکوتیپ ۱ (خرم‌آباد) بیشترین ارتفاع گیاه، عرض برگ، طول گل‌آذین و درصد اسانس را داشت (جدول ۴).

به مدت ۲۴ ساعت در دمای  $37^{\circ}\text{C}$  و مشاهده تشکیل یا عدم تشکیل کلنی میکروبی تعیین شد (Jorgensen, 1993). همه آزمایش‌ها برای هر باکتری سه بار همزمان انجام شد. از دو آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساسین و وانکومايسن به‌عنوان کنترل استفاده گردید (Masomi et al., 2005).

## نتایج

تجزیه واریانس و مقایسه میانگین داده‌های مورفولوژیکی به‌صورت طرح کاملاً تصادفی با سه اکوتیپ از *M. longifolia* جمع‌آوری شده از سه منطقه که مشخصات آنها در جدول ۱ آمده در پنج تکرار بررسی شدند. پس از آزمون نرمال‌بودن داده‌ها با روش کولموگوف-

جدول ۳- تجزیه واریانس صفات مورفولوژیک اکوتیپ‌های مختلف پونه

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات					
		ارتفاع گیاه (سانتی- متر)	طول برگ (سانتی‌متر)	عرض برگ (سانتی‌متر)	تعداد برگ	انشعابات بوته	تعداد گل‌آذین (سانتی‌متر)
اکوتیپ	۲	۹۲۶/۷*	۰/۸۹**	۰/۲۸*	۱۸/۶۱	۳/۳۶	۲/۳۲
خطا	۱۲	۱۷۹	۰/۰۸	۰/۰۲	۱۲/۷۳	۶/۱۶	۱/۹۰
ضریب تغییرات		۲۲	۸/۸۹	۱۷/۳۹	۲/۸۱	۶۶/۷	۷/۳۱
درصد اسانس							
اکوتیپ							
خطا							
ضریب تغییرات							

\*\* معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪

جدول ۴- مقایسه میانگین صفات مورفولوژیک و درصد اسانس اکوتیپ‌های پونه (*Mentha longifolia*)

اکوتیپ	ارتفاع گیاه (سانتی‌متر)	طول برگ (سانتی‌متر)	عرض برگ (سانتی‌متر)	تعداد برگ	انشعابات بوته	تعداد گل‌آذین (سانتی‌متر)	درصد اسانس
اکوتیپ ۱	۷۴/۸۸ a	۳/۲۴ a	۱/۴۴ a	۸۲ a	۲/۷۵ a	۱۵/۷ a	۴/۱۲ a
اکوتیپ ۲	۵۰/۸۶ b	۲/۷۳ b	۰/۹۶ c	۱۱۶ a	۴/۰ a	۱۴/۲ a	۱/۷۷ b
اکوتیپ ۳	۵۱/۷۵ b	۳/۵۷ a	۱/۲۷ b	۱۸۰ a	۴/۴ a	۲۶/۶ a	۰/۹۴ c

اعداد هر ستون که دارای حروف مشابهی هستند بر اساس آزمون چنددامنه‌ای دانکن ۵٪ از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری با هم ندارند.

همبستگی بین تعداد گل‌آذین با صفات تعداد برگ ( $r=0.71^{**}$ ) و تعداد انشعابات شاخه اصلی ( $r=0.71^{**}$ ) مثبت و معنی‌دار بود.

ضرایب همبستگی فنوتیپی بین صفات برای ارزیابی رابطه بین صفات، ضرایب همبستگی محاسبه شد که نتایج در جدول ۵ آمده است. ضرایب

جدول ۵- ضرایب همبستگی بین صفات مورد مطالعه در اکوتیپ‌های پونه

صفات	ارتفاع بوته	طول برگ	عرض برگ	تعداد برگ	تعداد انشعابات	طول گل‌آذین	تعداد گل‌آذین
طول برگ	۰/۲۷						
عرض برگ	۰/۴۳	۰/۵۵*					
تعداد برگ	-۰/۳۸	۰/۱۲	-۰/۲۲				
تعداد انشعابات	-۰/۶۳**	-۰/۰۷	-۰/۱۴	۰/۷۶**			
طول گل‌آذین	۰/۲۹	-۰/۲۵	-۰/۱۵	-۰/۲۷	-۰/۲۷		
تعداد گل‌آذین	-۰/۲۱	۰/۲۸	-۰/۰۶	-۰/۹۵**	۰/۷۱**	-۰/۲۹	
درصد اسانس	۰/۷۱*	-۰/۰۳	۰/۵*	-۰/۴۴	-۰/۳۳	۰/۳۶	-۰/۲۸

\*\* معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪

$$Y = 1/1 - 1/71 X_1 + 2/9 X_2 + 0/05 X_3 \quad (\text{رابطه ۲})$$

با توجه به رابطه بالا طول برگ تأثیر منفی بر درصد اسانس داشته، در حالی که ارتفاع بوته و عرض برگ تأثیر مثبتی بر درصد اسانس داشت. یکی از روش‌های بسیار مفید برای تجزیه همبستگی و پی‌بردن به اثرهای مستقیم و غیرمستقیم صفات، تجزیه علیت است. این تجزیه اهمیت نسبی هر صفت (متغیر ثابت) را در برآورد متغیر تابع (عملکرد) نشان می‌دهد. برای پیدا کردن اثرهای مستقیم و غیرمستقیم صفات بر درصد اسانس تجزیه علیت انجام شد. نتایج نشان داد که صفات ارتفاع بوته و عرض برگ بالاترین اثر مستقیم مثبت و طول برگ بیشترین اثر مستقیم منفی را بر درصد اسانس داشتند (جدول ۷). از سوی دیگر این اثرهای مستقیم با همبستگی همخوانی داشته و در یک جهت بود، پس انتخاب مستقیم از طریق این صفات می‌تواند به بهبود درصد اسانس کمک کند.

همبستگی منفی و معنی‌دار ( $r = -0/63^{**}$ ) بین تعداد شاخه و ارتفاع بوته مشاهده شد، در حالی که همبستگی بین تعداد شاخه با تعداد برگ مثبت و معنی‌دار ( $r = 0/76^{**}$ ) بود. همبستگی مثبت و معنی‌داری بین درصد اسانس با صفات ارتفاع بوته ( $r = 0/71^{**}$ ) و عرض برگ ( $r = 0/50^*$ ) دیده شد.

#### رگرسیون گام‌به‌گام و تجزیه علیت

در تجزیه رگرسیون گام‌به‌گام، درصد اسانس به‌عنوان متغیر تابع (Y) و بقیه صفات اندازه‌گیری شده در این تحقیق به‌عنوان متغیر مستقل در نظر گرفته شدند. نتایج تجزیه رگرسیون گام‌به‌گام نشان داد که صفات طول برگ، عرض برگ و ارتفاع بوته با ضریب تبیین ۷۰ درصد بیشترین تغییرات درصد اسانس را توجیه نمودند که این نتایج با نتایج بدست‌آمده از ضرایب همبستگی مشابه می‌باشد (جدول ۶). با در نظر گرفتن درصد اسانس (Y)، طول برگ ( $X_1$ )، عرض برگ ( $X_2$ ) و ارتفاع بوته ( $X_3$ ) رابطه زیر بدست آمد.

جدول ۶- تجزیه رگرسیون گام‌به‌گام صفت محتوای اسانس (متغیر وابسته) با سایر صفات

مراحل رگرسیون	متغیر مستقل	عرض از مبدأ	ضرایب رگرسیون			ضریب تبیین	ضریب تبیین تصحیح شده
			a	b1	b2		
گام ۱	ارتفاع بوته	-۱/۲۲۱	۰/۰۵۹			۴۶/۸۱	۴۳/۴۸
گام ۲	طول برگ	۱/۴۰۷	۰/۰۶۵	-۰/۹۴		۵۴/۷۳	۴۸/۷
گام ۳	عرض برگ	۱/۱۵۱	۰/۰۵۱	-۱/۷۱	۲/۹	۷۰/۴۰	۶۴/۰۵

جدول ۷- تجزیه علیت برای صفت درصد اسانس

صفات	اثر مستقیم	اثر غیرمستقیم
ارتفاع بوته	۰/۵۹۱	طول برگ
طول برگ	-۰/۵۲۸	عرض برگ
عرض برگ	۰/۵۰۸	

### فعالیت ضد میکروبی اسانس

مهارکنندگی باکتری *K. pneumonia* برابر ۰/۵ میلی گرم به ازای هر میلی لیتر اسانس اکوتیپ خرم آباد بود که قدرت بازدارندگی آن یک چهارم آنتی بیوتیک استاندارد بود. با توجه به MIC و MBC نتیجه گیری شد که حداقل غلظت بازدارندگی و کشندگی اسانس پونه بین ۰/۰۳-۲ میلی گرم به ازای هر میلی لیتر اسانس بود.

نتایج فعالیت ضد میکروبی اسانس حکایت از این دارد که باکتری های *S. agalactiae* و *L. monocytogenes* توسط اسانس پونه اکوتیپ دلفان و باکتری *K. pneumonia* توسط اسانس اکوتیپ الشتر مهار می شوند. در مقابل، هر سه باکتری مورد مطالعه کمترین حساسیت را به اسانس پونه اکوتیپ خرم-آباد نسبت به اکوتیپ دلفان و الشتر داشتند.

نتایج بررسی فعالیت میکروبی اسانس پونه نشان داد که در اکوتیپ دلفان شاخص MIC دارای کمترین مقدار برابر ۰/۰۳۱ میلی گرم به ازای هر میلی لیتر اسانس علیه باکتری بیماری زای *Listeria monocytogenes* بود. در اکوتیپ الشتر کمترین مقدار شاخص MIC علیه *Klebsiella pneumonia* برابر ۰/۱۲۵ میلی گرم به ازای هر میلی لیتر اسانس بود، در حالی که کمترین MIC علیه *Streptococcus agalactiae* ۰/۱۲۵ میلی گرم به ازای هر میلی لیتر اسانس متعلق به اکوتیپ دلفان بود (جدول ۸). به بیان دیگر مؤثرترین اسانس در مهارکنندگی باکتری های *L. monocytogenes* و *S. agalactiae* اسانس پونه اکوتیپ دلفان بود و کم اثرترین اسانس در

جدول ۸- MIC، MBC و نسبت MBC/MIC اسانس پونه سه اکوتیپ بومی استان لرستان بر سه سویه باکتری

Minimum Inhibitory Concentration (MIC, mg/ml)					میکروارگانیزم
Vancomycin	Ciprofloxacin	<i>M.longifolia</i> (Delfan)	<i>M.longifolia</i> (Aleshtar)	<i>M.longifolia</i> (Khorramabad)	
	۰/۰۶۲۵	۰/۰۳۱	۰/۲۵	۰/۵	<i>Listeria monocytogenes</i>
	۰/۱۲۵	۰/۲۵۰	۰/۱۲۵	۰/۵	<i>Klebsiella pneumonia</i>
۰/۰۱۶		۰/۱۲۵	۰/۵۰	۱	<i>Streptococcus agalactia</i>

Minimum Bactericidal Concentration (MBC, mg/ml)					میکروارگانیزم
Vancomycin	Ciprofloxacin	<i>M.longifolia</i> (Delfan)	<i>M.longifolia</i> (Aleshtar)	<i>M.longifolia</i> (Khorramabad)	
	۰/۰۶۲۵	۰/۲۵	۱	۲	<i>Listeria monocytogenes</i>
	۰/۵۰۰	۱	۱	۲	<i>Klebsiella pneumonia</i>
۰/۰۱۶		۱	۲	۲	<i>Streptococcus agalactia</i>

## بحث

تنوع و ارتباط بین صفات مورفولوژیکی و اسانس اختلاف معنی‌دار بین اکوتیپ‌ها برای صفات ارتفاع بوته، درصد اسانس، طول و عرض برگ بیانگر واکنش متفاوت اکوتیپ‌های مورد مطالعه بوده که می‌تواند به دلیل سازش و تطابق با محیط باشد. با توجه به مطالعه Abou El-Nasr و همکاران (2013) این تفاوت می‌تواند ناشی از ژنوتیپ، محیط یا اثر متقابل ژنوتیپ و محیط باشد. در تحقیقات جداگانه‌ای در اکوتیپ‌های پونه (*Mentha longifolia*) (Azarkish et al., 2016)، پونه سوسنبر (*Mentha aquatic L.*) (Abbaszadeh et al., 2012) و آویشن دناپی (*Thymus daenensis Celak*) (Hadian et al., 2016) تنوع معنی‌داری را برای صفات ارتفاع بوته، طول و عرض برگ و درصد اسانس گزارش نمودند که تأییدی بر نتایج این آزمایش می‌باشد. بر اساس نتایج مقایسه میانگین صفات (جدول ۴)، اکوتیپ خرم‌آباد دارای بالاترین ارتفاع بوته، طول گل‌آذین و درصد اسانس بوده و با توجه به کاربردهای فراوان اسانس در صنایع مختلف از جمله صنایع دارویی، غذایی و عطرسازی استفاده از این اکوتیپ برای کارهای اصلاحی پیشنهاد می‌شود و قابلیت خوبی برای اهلی‌کردن و زراعی‌شدن دارد. البته با توجه به کم‌بودن ویژگی‌های بازدارندگی اسانس این اکوتیپ علیه باکتری‌های مورد مطالعه توصیه نمی‌شود ولی می‌توان با بررسی‌های بیشتر از اسانس این اکوتیپ در صنعت عطرسازی، تولید حشره‌کش و خاصیت ضد-میکروبی آن علیه سایر میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا استفاده نمود. با توجه به جدول ۲ می‌توان گفت با افزایش ارتفاع از سطح دریا، کاهش دما و بارندگی از میزان اسانس کاسته می‌شود که با نتایج Mousavi و Hemmati (2014) همخوانی دارد. آنان نشان دادند که در مناطق گرم‌تر و کم ارتفاع‌تر میزان اسانس بیشتری در گیاه پونه سنتز می‌شود.

همبستگی بین درصد اسانس و صفات ارتفاع بوته و عرض برگ مثبت و معنی‌دار بود، بدین معنا که در برنامه اصلاحی به‌منظور افزایش مقدار اسانس به این دو صفت باید توجه داشت. نتایج مشابه مبنی بر وجود همبستگی بین اسانس با ارتفاع و عرض برگ، در پونه (*Mentha longifolia*) (Hosseini, 2016) نیز مشاهده شد.

(2016)، آویشن کرمانی و آذربایجانی (Hadian et al., 2016) و بادرنجبویه (*Melissa officinalis*) (Rahimi et al., 2017) گزارش شده‌است. نتایج تجزیه رگرسیون با نظر گرفتن درصد اسانس به‌عنوان متغیر تابع و سایر صفات به‌عنوان متغیر مستقل نشان داد که طول برگ تأثیر منفی بر درصد اسانس داشته، در حالی که ارتفاع بوته و عرض برگ تأثیر مثبتی بر درصد اسانس داشت. در تجزیه علیت صفات مذکور بر درصد اسانس، نتایج نشان داد که صفات ارتفاع بوته و عرض برگ بالاترین اثر مستقیم مثبت و طول برگ بیشترین اثر مستقیم منفی را بر درصد اسانس داشتند (جدول ۷). از سوی دیگر این اثر مستقیم با همبستگی همخوانی داشته و در یک‌جهت بود، پس با توجه به نتایج این آزمایش، انتخاب مستقیم از طریق این صفت می‌تواند به بهبود درصد اسانس کمک کند، البته برای نتیجه‌گیری دقیق‌تر پیشنهاد می‌شود تعداد اکوتیپ‌های بیشتری بررسی شود.

اکوتیپ خرم‌آباد از نظر صفات مذکور بر اکوتیپ‌های الشتر و دلفان برتری داشته و دارای درصد اسانس بالاتری نیز بود اما خواص ضدباکتریایی علیه باکتری‌های مورد مطالعه قابل توجه نبود. نتایج تجزیه علیت در آویشن دناپی (*Thymus daenensis Celak*) توسط Hadian و همکاران (2016) تأیید-کننده نتایج بالاست. احتمالاً افزایش عرض برگ و ارتفاع بوته از طریق افزایش بیومس تأثیر مثبتی بر درصد اسانس دارند. با توجه به تنوع بین اکوتیپ‌ها، می‌توان گفت که در جمعیت‌های وحشی علاوه بر فاصله جغرافیایی و جریان ژنی بین جمعیت‌ها، شرایط اکولوژیکی محل نمونه‌برداری نیز تعیین‌کننده فاصله ژنتیکی می‌باشد. بر اساس یافته‌های Saadatjou و همکاران (2015) رشد و نمو، کمیت و کیفیت مواد مؤثره در گیاهان دارویی تحت تأثیر ژنتیک می‌باشد ولی شرایط محیطی محل نمو بسیار مهم بوده، به‌طوری‌که عوامل محیطی باعث ایجاد تغییراتی در رشد گیاهان دارویی و کمیت مواد مؤثره آنها و به‌دنبال آن میزان اسانس خواهد شد. از سوی دیگر، تفاوت اکوتیپ‌های متعلق به یک استان با همدیگر می‌تواند ناشی از تفاوت شرایط محیطی باشد که در طول سالیان متمادی گیاهان پونه را تحت تأثیر قرار داده است. از جمله صفاتی که تحت کنترل عوامل محیطی، ژنتیکی و اثرهای متقابل ژنتیک-محیط



سیروفلوکساسین می‌باشد. شایان ذکر است که باکتری *K.pneumonia* جزء باکتری‌هایی هستند که مقاومت به چندین دارو<sup>۱</sup> نشان داده (Giamarellou and Poulakou, 2009) و ارزش اسانس اکوتیپ الشتر در مهار این باکتری مشخص می‌شود. خاصیت ضدلیستریایی<sup>۲</sup> عصاره نعناع (Moshtaghi. & Boniadian, 2008) و ممانعت از رشد *Streptococcus mutans* توسط اسانس گیاه (*Plectranthus amboinicus*) از تیره نعناعیان (EL-Hawary et al., 2013) نتایج این آزمایش را تأیید می‌کند. باکتری *K.pneumonia* کمترین حساسیت را به عصاره متانولی ترکیبی سه گیاه کلپوره، چای سبز و فلفل سیاه نشان داد (Masoumipour et al., 2018). اجزاء تشکیل‌دهنده اسانس‌ها خاصیت آبرگریزی داشته و با اتصال به لیپیدهای غشاء سلول باکتری و میتوکندری‌ها موجب اختلال در ساختمان آنها و ایجاد نفوذپذیری بیشتر می‌شوند (Adams, 2001)، بدنال آن خروج و نشت یون‌ها و دیگر محتویات سلولی به بیرون اتفاق می‌افتد و خروج مقادیر وسیع محتویات سلولی موجب مرگ سلول می‌شود.

مشخص شده که متابولیت‌های فنلی موجود در گیاهانی مانند نعناع (*Mentha*)، توانایی رهاسازی یک هیدروژن از گروه هیدروکسیل موجود در حلقه آروماتیک خود داشته که باعث اکسیداسیون رادیکال‌های آزاد چربی‌ها و دیگر بیومولکول‌های غشای سلولی و تخریب آن می‌شود (Strycharz and Shetty, 2002) و می‌توان آن را عامل خاصیت ضد میکروبی این گونه *Mentha longifolia* ذکر کرد. اثر بازدارندگی و ضد میکروبی عصاره نعناع فلفلی (Shan et al., 2007) و مرزنگوش (Tserennadmid et al., 2010) بر باکتری‌های گرم مثبت بیشتر از باکتری‌های گرم منفی بود که با نتایج این تحقیق (اسانس پونه منطقه دلفان) همخوانی دارد. با توجه به گزارش (Glisic et al., 2007) اختلاف در حساسیت بین باکتری‌های گرم مثبت و منفی می‌تواند به علت تفاوت در ترکیبات دیواره سلولی و نیز ژن‌های احتمالی موجود بر روی پلاسمید که عامل مقاومت به عوامل

قرار دارد مقدار اسانس است. از آنجایی که تمام اکوتیپ‌های مورد بررسی متعلق به یک گونه هستند ولی در شرایط اقلیمی متفاوتی رشد کرده‌اند، تفاوت مقدار اسانس را می‌توان به تفاوت در ژنوتیپ گیاهان و تا حدی زیادی به شرایط محیطی نسبت داد که توسط یافته‌های Azarkish و همکاران (2016) تأیید می‌شود. بنابراین توصیه می‌شود برای بررسی بیشتر تنوع اکوتیپ‌های مورد مطالعه از مارکرهای مولکولی استفاده شود، همچنین برای حفظ ژرم‌پلاسم بومی این گیاه حفاظت از رویشگاه‌های این گیاهان در اولویت باشد.

#### خواص ضدباکتریایی اسانس

قدرت بازدارندگی اسانس بر علیه سویه‌های میکروبی به صورت زیر تقسیم‌بندی می‌شود: ۱- قدرت بازدارندگی عالی:  $50 \mu\text{l/ml} < \text{MIC}$  ۲- قدرت بازدارندگی قابل توجه:  $250 \mu\text{l/ml} < \text{MIC} < 500 \mu\text{l/ml}$  ۳- قدرت بازدارندگی کم  $500 \mu\text{l/ml} < \text{MIC} < 2500 \mu\text{l/ml}$  ۴- قدرت بازدارندگی ضعیف یا فاقد قدرت بازدارندگی  $500 \mu\text{l/ml} < \text{MIC}$  (Koba et al., 2004). بر اساس این تقسیم‌بندی قدرت بازدارندگی اسانس اکوتیپ دلفان علیه *L. monocytogenes* عالی و اکوتیپ الشتر علیه *K. pneumonia* و اکوتیپ دلفان علیه *S. agalactiae* قابل توجه بوده اما اسانس اکوتیپ خرم‌آباد علیه باکتری *S. agalactiae* فاقد قدرت بازدارندگی بود. قدرت بازدارندگی اسانس اکوتیپ خرم‌آباد بر علیه دو باکتری *monocytogenes* و *L. pneumonia* و اسانس اکوتیپ الشتر علیه باکتری *S. agalactiae* کم بود. این نتایج خاصیت ضدباکتریایی اسانس گیاه پونه جمع‌آوری شده از مناطق مختلف استان لرستان را نشان می‌دهد که بر اساس محل جمع‌آوری نمونه و سویه باکتری مورد آزمایش متفاوت می‌باشد. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت اسانس اکوتیپ خرم‌آباد فاقد خاصیت بازدارندگی یا دارای خاصیت بازدارندگی کم علیه میکروارگانیزم‌های مورد مطالعه است، از این رو پیشنهاد می‌شود که از اسانس پونه اکوتیپ الشتر بر علیه *K. pneumonia*، اسانس اکوتیپ دلفان علیه *S. agalactiae* و *L. monocytogenes* استفاده شود. خاصیت بازدارندگی اسانس اکوتیپ الشتر همانند آنتی‌بیوتیک استاندارد

<sup>۱</sup> MDR: multidrug-resistant

<sup>۲</sup> Anti-Listeria

- florists, life form and chorology of plants in the east of Dodangeh forests, Mazandaran province, Iran. Iranian Journal of Biology, 22 (2): 193-203. (In Persian)
- Azarkish, P., Moghaddam, M., Vaezi, J., Ghasemi Pirbalouti, A. and Davarinejad, Gh., 2016. Genetic diversity of ecotypes of horse mint (*Mentha longifolia*) in the southwest of Iran using morphological traits. Seed and Plant Improvement Journal, 32 (3): 311-329. (In Persian)
- Bajalan, I. and Pirbalouti, A.G., 2014. Variation in antibacterial activity and chemical compositions of essential oil from different populations of Myrtle. Industrial Crops and Products, 61: 303-307.
- Basheer, N., Modawi, A., Elamin, H.B. and Ibrahim, H.M., 2015. A potential new isolate for streptokinase production. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences, 4: 380-7.
- Behera, T.K., Gaikward, A.B., Singh, A.K. and Staub, J.E., 2008. The relative efficiency of DNA markers (RAPD, ISSR and AFLP) in detecting genetic diversity of bitter melon (*Momordica charantia* L.). Journal of the Science of Food and Agriculture, 88: 733-737.
- Giamarellou, H. and Poulakou, G., 2009. Multidrug-resistant gram-negative infections. Drug, 69 (14): 1879-1901.
- Glisic, S.B., Milojevic, S.Z., Dimitrijevic, S.I., Orlovic, A.M. and Skala, D.U., 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: 311-320.
- Hadian, J., Karimi, E., Shouryabi, M., Nadjafi, F. and Kanani, M.R., 2016. Evaluation of morphological variation and path coefficient analysis of oil content of *Thymus daenensis* Celak populations. Plant Production Technology, 16 (1): 41-56. (In Persian)
- Hasanpour Reihani, K., Ghasemi, R. and Sofalian, A., 2016. Study of morphological variation of *Mentha longifolia* ecotypes. The 5<sup>th</sup> National Conference on Agricultural and Sustainable Natural Resources, Tehran, Iran. (In Persian)
- Hof, H., Nichterlein, T., Lampidis, R. and Wecke, J., 1998. Listeria dispose of many facettes. Biotest Bulletin, 6: 21-3.
- Hosseini, S.A. and Dori, M.A., 2005. Preliminary investigation on the establishment and performance of flower of *Hypericum perforatum* collected from Diarrhoea and Garmabad in the Golestan province. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 20 (4): 397-406. (In Persian)
- Hosseini, Z., 2016. Evaluation of morphological and phytochemical characteristics of *Mentha longifolia* L. during flowering in Fars and Khorasan Razavi province. M.Sc. Thesis. University of Torbat
- ضدمیکروبی هستند باشد.
- نتیجه گیری کلی
- بدست آوردن اطلاعاتی در مورد تنوع مورفولوژیکی به همراه بررسی موقعیت جغرافیایی مختلف به اصلاحگران در تعیین روش های بهره برداری، اصلاح و اهلی سازی کمک می کند. به طور کلی مشخص شد که اکوتیپ های مورد مطالعه تنوع نسبتاً بالایی داشته و گزینش از بین اکوتیپ ها باید با در نظر گرفتن صفات مطلوب انجام شود که در این تحقیق مشخص شد که ارتفاع بوته صفت مطلوبی برای افزایش درصد اسانس می باشد اما توصیه می شود برای بهره برداری از نتایج، تعداد اکوتیپ بیشتری از پونه بررسی شود. نتایج این مطالعه نشان می دهد که هر چند درصد اسانس اکوتیپ خرم آباد بیشتر است اما با توجه به بالا بودن خاصیت بازدارندگی اسانس پونه دو اکوتیپ الشتر و دلفان پیشنهاد می شود از اسانس پونه اکوتیپ الشتر بر علیه باکتری *K. pneumonia*، اسانس اکوتیپ دلفان علیه دو باکتری *S. agalactiae* و *L. monocytogenes* استفاده شود. برای مشخص شدن سازوکار خاصیت ضدمیکروبی اسانس نیاز به مطالعات بیشتر روی میکروارگانیسم های مختلف است.
- منابع مورد استفاده
- Abbaszadeh, B., Rezaee, M. and Layegh Haghghi, M., 2012. Investigation morphological characteristics and essential oil component of 2 ecotypes of watermint (*Mentha aquatica* L.). Journal of Medicinal Plants, 1 (41): 248-257. (In Persian).
- Abou El-Nasr, T.H.S., Ibrahim, M.M., Aboud, K.A. and El-Enany, M.A.M., 2013. Assessment of genetic variability for three corianders (*Coriandrum sativum* L.) cultivars grown in Egypt, using morphological characters, essential oil composition and ISSR markers. World Applied Science Journal, 25 (6): 839-849.
- Adams, R.P., 2001. Identification of essential oil components by gas chromatography and Mass Spectrometry. Allured, USA. 750p.
- Anwar, F., Alkharfy, K.M., Rehman, N., Adam, E.H.K. and Gilani, A.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 (5): 408-424.
- Atashgahi, Z., Ejtehad, H. and Zare, H., 2009. Study of

- agronomic traits, essential oil and central concentration. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research, 25 (2): 271-288. (In Persian)
- Saadatjou, B., Mohammadkhani, A., Saeidi, K. and Shirmaridi, H.A., 2015. The evaluation of morphological variation and essential oil content of *Salvia* species ecotypes in south-west of Iran. Applied Crop Breeding, 3 (1): 125-135. (In Persian)
  - Sadeghian, I., Hassanshahian, M., Sadeghian, S. and Jamali, S., 2012. Antimicrobial effects of *Quercus Brantii* fruits on bacterial pathogens. Jundishapur Journal of Microbiology, 5 (3): 465-9.
  - Shahbazi, Y., 2015. Chemical composition and in vitro antibacterial activity of *Mentha spicata* essential oil against common food-borne pathogenic bacteria. Journal of Pathogens: 1-5.
  - Shan, B., Cai, Y.Z., Brooks, J.D. and Corke, H., 2007. The in vitro antibacterial activity of dietary spice and medicinal herb extracts. International Journal of Food Microbiology, 117(1): 112-119.
  - Singh, R., Shushni, M.A.M. and Belkheir, A., 2015. Antibacterial and antioxidant activities of *Mentha piperita*. Arabian Journal of Chemistry, 8: 322-328.
  - Singh, S.P., Sharma, S. and Tewari, R.K., 1998. Genetic improvement of *Mentha arvensis* based on essential oil yield and quality traits. Journal of Herbs, Species and Medicinal Plants, 6 (2): 79-86.
  - Strycharz, S. and Shetty, K., 2002. Peroxidase activity and phenolic content in elite clonal lines of *Mentha pulegium* in response to polymeric dye R-478 and *Agrobacterium rhizogenes*. Process Biochemistry, 37 (8): 805-12.
  - Tserennadmid, R., Tako, M., Galgoczy, L., Papp, T., Vagvolgyi, C., Gero, L. and Krisch, J., 2010. Antibacterial effect of essential oils and interaction with food components. Central European Journal of Biology, 5(5): 641-648.
  - Tsuchiya, H., Sato, M., Miyazaki, S., Fujiwara, S., Tanigaki, S., Ohyama, M., Tanaka, T. and Linuma, M. 1996. Comparative study on the antibacterial activity of phytochemical flavanones against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Journal of Ethnopharmacology, 50 (1): 27-34.
  - Vining, K.J., Zhang, Q., Tucker, A.O., Smith, C. and Davis, T.M., 2005. *Mentha longifolia* a model species for mint genetic research. Horticultural Science, 40 (5): 1225-1229.
  - Zeinali, H., Vali, E., Safaei, L. and Enteshari, Sh., 2012. Study of reproductive trait variation in *Mentha* genotypes. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research, 20 (2): 327-339. (In Persian)
  - Zinodini, A., Farshadfsr, M., Safari, H., Moradi, F. and Shirvani, H., 2013. Study of genetic relationships of some Mint species using ISSR markers. Crop Heydari, Iran. (In Persian)
  - Jorgensen, H. 1993. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Approved standard. Wayne, PA: National Committee for Clinical Laboratory Standards Antimicrobial Susceptibility Testing. NCCLS M7-A3.
  - Kalemba, D. and Kunicka, A., 2003. Antibacterial and antifungal properties of essential oils. Current Medicinal Chemistry; 10 (10): 813-839.
  - Khanuja, S.P.S., Shasany, A.K., Srivastava, A. and Kumar, S., 2000. Assessment of genetic relationships in *Mentha* species. Euphytica, 111: 121-125.
  - Koba, K., Sanda, K., Raynaud, C.D., Nenonene, Y.A., Millet, J. and Chaumont, J.P., 2004. Antimicrobial activities of essential oils from African cymbopogon against microorganisms pathogenic in pets. Annales de Médecine Vétérinaire, 148, 202-206
  - Masomi, J., Yadegari, D. and Mozoni, Sh., 2005. More appropriate antimicrobial agents for antibiogram. Iranian Journal of Infectious Diseases and Tropical Medicine, 10 (29): 53-58.
  - Masoumpour, F., Hassanshahian, M. and Jafarinasab, T., 2018. Antimicrobial activity of combined extracts of *Trachyspermum*, *Thymus* and *Pistachio* against some pathogenic bacteria. Journal of Kerman University of Medical Science, 25(2): 153-63.
  - Mian, G.F., Godoy, D.T., Leal, C.A.G., Yuhara, T.Y., Costa, G.M. and Figueiredo, H.C.P., 2009. Aspects of the natural history and virulence of *S.agalactiae* infection in Nile tilapia. Veterinary Microbiology Journal, 136: 180-183.
  - Mohsenipour, Z. and Hassanshahian, M., 2016. Antibacterial activity of euphorbia hebecarpa alcoholic extracts against six human pathogenic bacteria in planktonic and biofilm forms. Jundishapur Journal of Microbiology, 9 (6): 1-7.
  - Moshtaghi, H. and Boniadian, M., 2008. The effect of oil of *Mentha spicata* on *Listeria* in food model. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 24 (3): 326-332.
  - Mousavi, S.M. and Hemmati, Kh., 2014. Effect of height on essential oil of *Mentha longifolia* L. in Chaharmahal va Bakhtiari province. National Conference of Medicinal Plant, Islamic Azad University, Ayatollah Amoli Branch. Tehran. (In Persian).
  - Pourali Sheshblouki, G.H., Mardaneh, J. and Hosseinzadeh, Z., 2016. Klebsiella pneumonia infections in hospitalized patients: characterization of antibiotic cross-resistance and detection of cefepime susceptible-dose dependent strains. Journal of Fasa University of Medical Sciences, 6 (1): 52-59. (In Persian)
  - Rahimi, M.H., Aharizad, S. and Mohebalipour, N., 2017. Evaluation of genetic diversity in populations of Lemon balm (*Melissa officinalis*) in terms of

Biotechnology, 3 (5): 11-21. (In Persian)

## Evaluation of morphological traits and anti-microbial activity of local ecotypes of *Mentha longifolia* in Lorestan, Iran

S. Afkar

Assist. Prof., Department of Agriculture, Payame Noor University, Tehran, Iran.  
Email: Soheila.afkar@gmail.com

Received: 13.01.2021

Accepted: 09.06.2021

### Abstract

In order to evaluate the diversity of morphological traits and determine antibacterial activity against three bacterial strains including *Klebsiella pneumoniae*, *Listeria monocytogenes*, and *Streptococcus agalactiae*, three ecotypes of *Mentha longifolia* were collected from three habitats in Khorramabad, Aleshtar, and Delfan in Lorestan province, Iran. The measured traits were plant height, leaf length and width, number of leaves, branches, and inflorescences, length of inflorescences, and percentage of essential oil. Data were analyzed using one-way ANOVA with five replications. The result showed that there was a significant difference among the ecotypes in terms of leaf length and width, plant height, and essential oil percentage. Khorramabad ecotype had the highest plant height, inflorescence length, and essential oil percentage. A positive and significant correlation was observed between both plant height and leaf width with essential oil percentage. According to stepwise regression and path analysis results, it was concluded that plant height could be considered as the most important index for the selection of parental lines in the breeding programs. Based on the Minimum Inhibitory (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) indices, it was concluded that the minimum inhibitory and bactericidal concentrations of *M. longifolia* essential oil ranged from 0.03 to 0.2 mg/mL. The antimicrobial activity showed that *L. monocytogenes* and *S. agalactiae* were inhibited by Delfan ecotype essential oil and *K. pneumoniae* was inhibited by the essential oil from the Aleshtar ecotype. In contrast, the three studied bacteria had the lowest susceptibility to the essential oil from Khorramabad ecotype.

**Keywords:** Lorestan province, Antimicrobial effects, Wild mint, Essential oil, Morphological traits