مجله میکرب شناسی پزشکی ایران
سال ۵ شماره ۶ ، پاییز ۱۳۹۰، صفحات ۶۷- ۶۱

بررسی مقایسه ای اثرات ضد جهشی و ضد سرطانی گیاهان رزماری (*Rosmarinus officinalis* L.) و اسطوخودوس (*Lavandula angustifolia* Mill.) در مراحل مختلف نموی

احمد مجد[۱]، صدیقه مهرابیان[۱]، پریسا جنوبی[۱] و آزاده مدرسی[۱]
[۱]دانشگاه تربیت معلم تهران، گروه زیست شناسی

۱)احمد مجد، استاد، دانشگاه تربیت معلم تهران، گروه زیست شناسی، Majd@tmu.ac.ir، ۰۲۶۱-۴۵۱۳۰۰۹
۲)صدیقه مهرابیان، استاد، دانشگاه تربیت معلم تهران، گروه زیست شناسی، Mehrabian@tmu.ac.ir، ۰۲۶۱-۴۵۱۳۰۰۹
۳)پریسا جنوبی، استادیار، دانشگاه تربیت معلم تهران، گروه زیست شناسی، Jonoubi@tmu.ac.ir ، ۰۲۶۱-۴۵۱۳۰۰۹
۴)آزاده مدرسی، دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشگاه تربیت معلم تهران، گروه زیست شناسی،
A.Modaresi@yahoo.com، ۰۲۶۱-۴۵۱۳۰۰۹
نویسنده رابط : آزاده مدرسی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه تربیت معلم تهران
تلفن : ۰۲۶۱-۴۵۱۳۰۰۹ A.Modaresi@yahoo.com

چکیده :

زمینه و اهداف : با شیوع بسیار زیاد سرطان در ایران و جهان، نیاز به داروهایی با عوارض جانبی کمتر و اثرات درمانی بهتر مورد توجه پژوهش گران قرار گرفته‌است. بطوری که امروزه بیش از ۶۰ درصد ترکیبات ضد سرطانی برای درمان بیماران سرطانی از منابع گیاهی، دریایی و میکروارگانیسم ها به دست می‌آیند. رزماری (***Rosmarinus officinalis*** **L.**) و اسطوخودوس (***Lavandula angustifolia*** **Mill.**) از خانواده نعنا (Lamiaceae) دارای خواص درمانی گسترده همچون پیشگیری از سرطان، ممانعت از تشکیل تومور، درمان زخم و عفونت ها می‌باشند. در پژوهش حاضر به دلیل اهمیت گیاهان مذکور و کشت روزافزون آن‌ها در اقلیم‌های متفاوت ایران به بررسی مقایسه‌ای اثرات ضد جهشی و ضد سرطانی این گیاهان توجه شده است.

روش بررسی : برای بررسی خواص ضد جهشی و ضد سرطانی این دو گیاه، گل‌های آن‌ها در دو فصل تابستان و پاییز از جنوب شرق تهران جمع آوری و در سایه، در دمای اتاق خشک شدند. عصاره های متانولی و اتانولی تهیه شدند. شناسایی اثر ضد جهشی عصاره های مزبور با استفاده از باکتری سالمونلا TA100 مطابق روش ایمز انجام شد. به منظور بررسی اثر ضد سرطانی میکروزوم کبد موش (S_9) به نمونه مورد آزمایش اضافه شد. هر آزمایش سه بار تکرار همزمان داشت. برای شاهد مثبت از آزید سدیم و برای شاهد منفی از حلالهای آلی و آب استفاده شد. میزان خاصیت ضد جهشی و ضد سرطانی با استفاده از فرمول ong محاسبه شد.

یافته ها : عصاره متانولی گل آذین رزماری در پاییز بیشترین اثر ضد سرطانی (۶۵/۹۵ درصد) و ضد جهشی (۶۳/۱۲درصد) و عصاره اتانولی گل آذین اسطوخودوس در تابستان کمترین اثر ضد سرطانی (۳۲/۸۰ درصد) و ضد جهشی (۳۰/۸۸درصد) را نشان دادند.

نتیجه گیری : در بین گیاهان مورد آزمایش عصاره گل‌های رزماری نسبت به اسطوخودوس اثر بخش تر بودند، عصاره‌های مربوط به فصل پاییز تاثیر بیشتری داشتند. اثر ضد جهشی و ضد سرطانی عصاره‌های متانولی بیشتر از عصاره‌های اتانولی بودند.

کلید واژه ها : مرحله زایشی، تغییرات فصلی، روش ایمز، باکتری سالمونلا TA100، سدیم آزید

مقدمه :

استفاده از ترکیبات گیاهی به عنوان عوامل ضد سرطانی برای اولین بار توسط هارتول و همکارانش در اواخر دهه ۱۹۶۰ انجام شد. آن‌ها از Podophyllotoxin و مشتقات آن به عنوان عامل ضد سرطانی استفاده کردند (۱). امروزه بیش از ۶۰ درصد ترکیبات ضد سرطانی برای درمان بیماران سرطانی از منابع گیاهی، دریایی و میکروارگانیسم ها بدست می‌آیند (۱،۲و۳). به علت علاقه وافر مردم به مصرف روزافزون داروهای گیاهی و اهمیتی که این بخش از منابع طبیعی ایران از نظر اقتصادی و درمانی دارد، ضرورت تحقیق در زمینه اثرات درمانی گیاهان دارویی آشکار است.

یکی از روش‌های متداول برای سنجش فعالیت ضدجهشی استفاده از باکتری ها است که در زمانی کوتاه نتایج خوبی را به دست می‌دهند. ایمز(Ames) و همکارانش در سال ۱۹۷۵ فعالیت ضد جهشی و ضد سرطانی ترکیبات متفاوتی را مورد بررسی قرار دادند. در روش ایمز از سویه های سالمونلایی که بر اثر جهش قدرت سنتز هیستیدین را از دست داده اند استفاده می‌شود.

خانواده نعنا یک منبع خوب اورسولیک اسید، اولئانولیک اسید و بتولینیک اسید می‌باشد. مقدار این ترکیبات در برگ‌های رزماری زیاد است و در برگ و گل اسطوخودوس نیز یافت می‌شوند (۴). رزمارینیک اسید یک ترکیب فنولی طبیعی است که نقش های زیستی متفاوتی همچون ضد افسردگی (۵)، محافظت از بافت کبدی (۶)، ضد التهابی (۷)، ضد رگزایی (۸)، ضد توموری (۹) و بازدارندگی ویروس HIV-1 دارد (۱۰). وترن و همکاران تاثیر ضد جهشی رزمارینیک اسید را توسط تست ایمز و با استفاده از باکتری سالمونلا تیفی موریوم نشان دادند (۱۱). ترکیبات اصلی عصاره اسطوخودوس لینالول (۳۲/۸٪)، لینالیل استات (۱۷/۶٪)، لاواندولیل استات (۱۵/۹٪)، α-ترپینئول (۶/۷٪) و ژرانیل استات (۵٪) می‌باشند (۱۲). اواندری و همکاران توسط تست ایمز و باکتری سالمونلا تیفی موریوم نشان داده‌اند که روغن اسطوخودوس فعالیت ضد جهشی قوی دارد (۱۳).

واکنش ضد جهشی به واسطه فعالسازی بازدارندگی رقابتی توسط گلیکوزیدازهای کبدی (ایزوآنزیم های P_{450}) فعال می‌شود (۱۴). این نقش توسط ردوکتاز یا اکسیژناز به انجام می رسد (۱۵). ردوکتاز و اکسیژناز خواص آنتی اکسیدانی دارند. نقش آن ها خنثی کردن ترکیباتی که اکسیژن رادیکال، رادیکال آزاد و اکسیژن فعال ایجاد می کنند می باشد (۱۶). بنابراین استفاده از عصاره میکروزومی به منظور بررسی فعالیت ضد سرطانی عصاره های گیاهی در بدن و برقراری ارتباط بین سیستم پروکاریوتی با سیستم یوکاریوتی ضروری است.

با توجه به فراوانی گیاهان رزماری و اسطوخودوس و استفاده متداول از آن ها در کشور، پژوهش حاضر با هدف بررسی مقایسه ای خواص ضد جهشی و ضد سرطانی عصاره های اتانولی و متانولی بخش های زایشی این گیاهان در دو فصل تابستان و پاییز، با استفاده از عصاره کبد موش آزمایشگاهی، تدوین و انجام شده است.

مواد و روش ها

نمونه برداری و عصاره گیری گیاهان : به منظور بررسی خواص ضد جهشی و ضد سرطانی گیاهان رزماری و اسطوخودوس و تاثیر مراحل مختلف نموی بر روی این ویژگیها در این گیاهان، جمع آوری گل آذین‌ها در دو فصل تابستان و پاییز انجام شد. پس از شستشوی اولیه، نمونه ها در دمای اتاق و دور از نور مستقیم خورشید، خشک شده و به وسیله آسیاب برقی پودر شدند. با استفاده از اتانول و متانول ۸۰ درجه، عصاره های گل آذین‌ها تهیه شدند. عصاره ها با استفاده از فیلتر سر سرنگی میلی پور۰/۴۵ میکرون ساخت شرکت بیوفیل استریل شدند.

باکتری های مورد آزمایش : باکتری های مورد استفاده سالمونلا تیفی موریوم TA100 بودند که ازپروفسور ایمز دریافت شده اند.

آزمون های تایید سوش مورد آزمایش (TA100) : برای تایید سوش در تمامی آزمون های زیر از کشت تازه شبانه استفاده شد.

جهش rfa : سوش مورد نظر برای حساسیت به کریستال ویوله آزمایش شد. به این منظور یک دیسک کاغذی استریل آغشته به کریستال ویوله در سطح پلیت کشت شده با سالمونلا تیفی موریوم (TA100) قرار داده شد، بعد از ۲۴ ساعت قطر هاله مهار رشد سنجیده شد.

جهش uvrB : این جهش با نشان دادن حساسیت به UV در سوش TA100 حامل این جهش تائید شد.

فاکتور R : سوش TA100 برای وجود فاکتور مقاومت به آمپی سیلین مورد آزمایش قرار گرفت برای تایید جهش فوق از دیسک آمپی‌سیلین ۱۰ میلی گرمی در محیط نوترینت آگار حاوی باکتری استفاده شد. رشد باکتری ها در اطراف دیسک نشانه وجود ژن مقاومت به آمپی سیلین است. این آزمایش نشانه‌ای مناسب برای کسب اطلاع در زمینه وجود پلاسمید است (۱۷).

محلول میکروزوم کبد موش (S_9) : برای تهیه S_9، از کبد موش صحرایی نر استفاده شد. با شستشوی کبد موش در محلول استریل و سرد کلرید پتاسیم ۰/۱۵ مولار و سانتریفیوژ کردن، محلول S_9 تهیه گردید .

آزمون اثر ضد جهشی عصاره ها با استفاده از سالمونلا تیفی موریوم : این آزمون شامل آمیختن ماده مورد آزمایش به ۰/۱ میلی لیتر کشت تازه شبانه سالمونلا تیفی موریوم (TA100) و ۰/۱ میلی لیتر محلول هیستیدین-بیوتین در لوله آزمایش محتوی تاپ آگار است. سپس محتویات این لوله پس از ۳ ثانیه تکان دهی بطور یکنواخت در سطح محیط آگار حداقل گسترده شده و بعد از سفت شدن آگار به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷°C قرار می گیرد. در آزمایش‌های مربوط برای هر عصاره مورد بررسی ۳ پلیت در نظر گرفتیم. شاهد منفی حاوی باکتری و آب مقطر استریل و شاهد مثبت شامل باکتری و سدیم آزید(۰/۱ میلی لیتر) بود. پس از ۴۸ ساعت انکوباسیون، کلنی های برگشت یافته در پلیت ها شمارش شدند. در این آزمون عصاره های متانولی گل آذین‌های گیاهان رزماری و اسطوخودوس در دو فصل تابستان و پاییز مورد آزمایش قرار گرفتند.

آزمون اثر ضد سرطانی عصاره ها با استفاده از سالمونلا تیفی موریوم و محلول S_9 : این آزمون شامل آمیختن عصاره، سوش باکتری مورد آزمایش، محلول هیستیدین-بیوتین و مخلوط S_9 در لوله آزمایش حاوی تاپ آگار بود که در سطح آگار حداقل گسترده شدند. در این آزمایش‌ها نیز همانند تجربیات مذکور شاهد مثبت و منفی در نظر گرفته شد و پس از ۴۸ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷°C ، کلنی های برگشت یافته شمارش شدند.

محاسبه درصد بازدارندگی از جهش عصاره ها : مقدار درصد بازدارندگی از جهش عصاره ها با استفاده از فرمول S=(1-T/M) محاسبه شد (۱۸). در این فرمول S مقدار درصد بازدارندگی ، T تعداد کلنی های برگشتی در هر پلیت در حضور عامل جهش زا و عصاره و M تعداد کلنی های برگشتی در هر یک از پلیت های شاهد مثبت می‌باشند. تعداد کلنی های برگشتی خودبخودی در شاهد منفی باید از صورت و مخرج کسر کاسته شود.

تحلیل آماری : بررسی آماری نتایج آزمایش ها با استفاده از نرم افزار SPSS 18.0 و تحلیل واریانس یک عاملی (One-Way ANOVA) و رسم نمودارها با استفاده از نرم افزار Microsoft ® Excel انجام شد.

یافته ها :

اثرات ضد جهشی (S_9-) و ضد سرطانی (S_9+) عصاره های رزماری و اسطوخودوس در فصل تابستان در جدول ۱و اثرات ضد جهشی (S_9-) و ضد سرطانی (S_9+) عصاره های فصل پاییز در جدول ۲ **آمده است**. بررسی مقایسه ای عصاره ها نیز در نمودار ۱و ۲ آمده‌است. همان گونه که نتایج آورده شده در جدول ۱ نشان می‌دهند عصاره متانولی گل آذین رزماری بیشترین اثر ضد جهشی (۵۲/۵۰٪) و بیشترین اثر ضد سرطانی (۵۵/۵۱٪) را داشته اند و کمترین این اثرات مربوط به عصاره اتانولی گل آذین اسطوخودوس (به ترتیب ۳۰/۸۸٪ اثر ضد جهشی و ۳۲/۸۰٪ اثر ضد سرطانی) می‌باشد. این تفاوت ها در سطح $P<0.05$ معنی دار هستند.در مورد عصاره های فصل پاییز آورده شده در جدول شماره ۲ نشان می دهند که عصاره متانولی گل آذین رزماری بیش ترین اثرضد جهشی (۶۳/۱۲٪) و بیشترین اثر

ضد سرطانی (۶۵/۹۵٪) را داشته اند و کمترین اثر ضد جهشی (۳۷/۸۹٪) و ضد سرطانی (۳۸/۷۱٪) مربوط به عصاره اتانولی گل آذین اسطوخودوس می باشد. تفاوت ها در سطح $P<0.05$ معنی دار هستند.

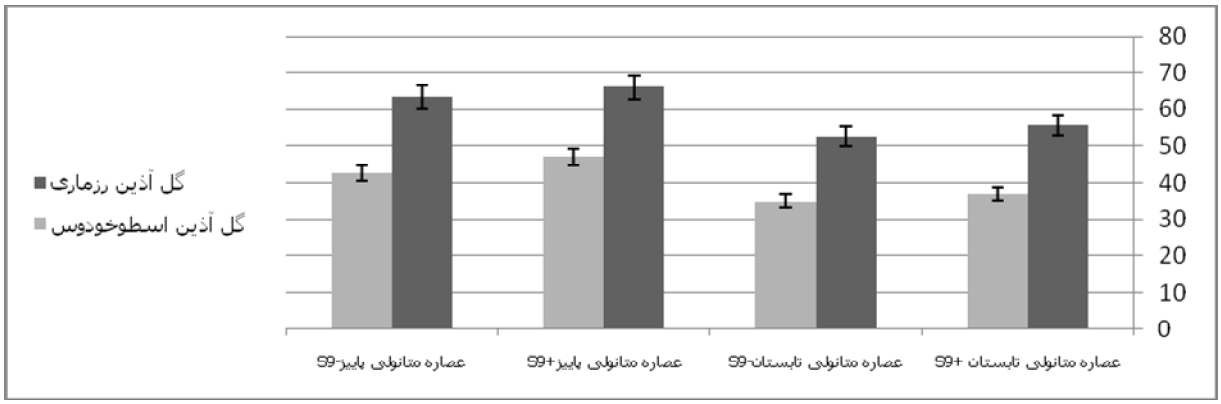
نتایج بررسی نقش نوع حلال های مورد آزمایش : نتایج آزمایش ها نشان می دهند که عصاره های متانولی اثرات ضد جهشی و ضد سرطانی بیشتری از عصاره های اتانولی داشته اند (جدول ۱ و ۲). بررسی های آماری نتایج آزمایش ها نشان می دهند که تفاوت اثرات عصاره های متانولی و عصاره هایی که حلال **آن ها اتانول بوده است در سطح $P<0.05$ معنی دار می باشد.**

جدول ۱- نتایج بررسی اثر ضد جهشی و ضد سرطانی عصاره های رزماری و اسطوخودوس در تابستان

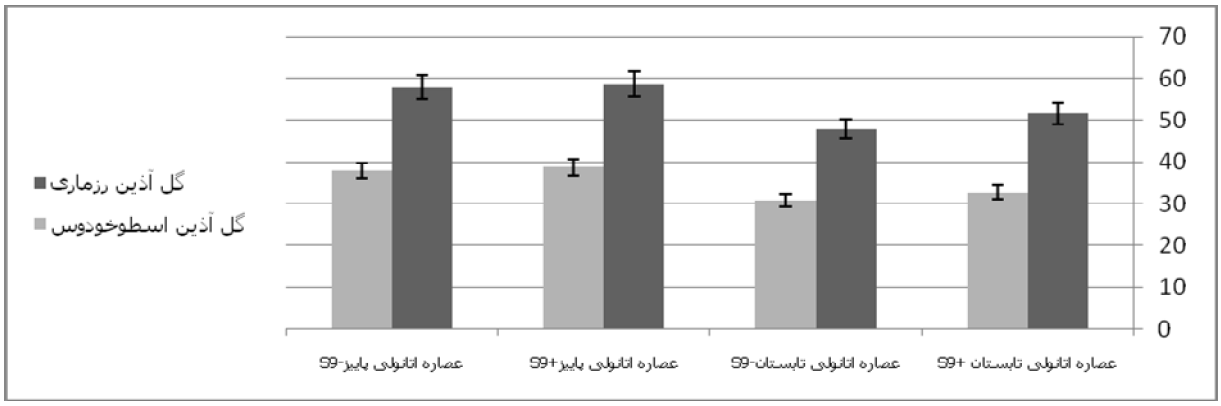
	درصد مهار جهش (S_9-)	درصد مهار جهش (S_9+)
عصاره متانولی گل آذین رزماری	۵۲/۵۰	۵۵/۵۱
عصاره متانولی گل آذین اسطوخودوس	۳۵/۱۲	۳۷/۱۱
عصاره اتانولی گل آذین رزماری	۴۷/۸۴	۵۱/۸۵
عصاره اتانولی گل اسطوخودوس	۳۰/۸۸	۳۲/۸۰

جدول ۲- نتایج بررسی اثر ضد جهشی و ضد سرطانی عصاره های رزماری و اسطوخودوس در پاییز

	درصد مهار جهش (S_9-)	درصد مهار جهش (S_9+)
عصاره متانولی گل آذین رزماری	۶۳/۱۲	۶۵/۹۵
عصاره متانولی گل آذین اسطوخودوس	۴۲/۷۷	۴۷/۱۰
عصاره اتانولی گل آذین رزماری	۵۷/۸۵	۵۸/۷۴
عصاره اتانولی گل آذین اسطوخودوس	۳۷/۸۹	۳۸/۷۱



نمودار ۱- مقایسه درصد مهار جهش عصاره‌های متانولی رزماری و اسطوخودوس در تابستان و پاییز



نمودار ۲- مقایسه درصد مهار جهش عصاره‌های اتانولی رزماری و اسطوخودوس در تابستان و پاییز

بحث :

در این پژوهش جهش یافتگی سالمونلا تیفی موریوم TA100 با جدول ایمز که در سال ۱۹۸۳ بر اساس آخرین بررسی ها ارائه شده هم سویی نشان داد. سوش TA100 تایید گردید. بررسی فعالیت ضد جهشی با استفاده از کاهش تعداد جهش های برگشتی در مقایسه با شاهد مثبت در آزمایشگاه های زیادی رایج می باشد (۱۹و۲۰). نتایج آزمایش های پژوهش حاضر نشان می‌دهد که تعداد کلنی ها با جهش برگشتی در حضور عصاره ها در مقایسه با شاهد مثبت کاهش یافته است و این نشان دهنده فعالیت ضد جهشی عصاره ها می‌باشد. این نتایج با گزارش های بقالی و مجد (۱۳۸۵)، ستوده و مجد (۱۳۸۵)، سعادت و مجد (۱۳۸۸-۱۳۸۷) و محمدپور و مجد (در حال چاپ) هم سویی دارند.

میوه ها و ادویه های مدیترانه ای در کنار دیگر مواد غذایی-دارویی دارای تری‌ترپن‌های پنتاسیکلیک از گروه های لوپان ، اولئان و اورسان می‌باشند که معمولا به عنوان ترکیب های فعال این گیاهان جدا می‌شوند. به عنوان مثال آن‌ها را می‌توان در رزماری، دیگر ادویه های خانواده نعنا و میوه و برگ های زیتون یافت. روغن زیتون دست نخورده شامل تا حدود ۱۹۷ mg/kg تری ترپن می باشد که نشان دهنده اهمیت این مواد به عنوان مواد غذایی- دارویی می‌باشد (۲۵،۲۶،۲۷و۲۸). وجود این ترکیبات در عصاره های رزماری و اسطوخودوس خواص ضد جهشی را به خوبی توجیه می‌کند و نتایج ما با بررسی های انجام شده توسط ایب و همکاران ۲۰۰۲ و هوریوچی و همکاران ۲۰۰۷ هم سویی دارد (۲۶و۲۸). نتایج آزمایش های ما با بررسی های انجام شده توسط هانگ و همکاران ۱۹۹۴ و طالب و همکاران ۲۰۱۰ در این زمینه مطابقت دارد و اثرات ضد سرطانی عصاره‌های رزماری و اسطوخودوس را تایید می‌کند (۲۹و۳۰). با بررسی ظرفیت کلی آنتی اکسیدانی عصاره های گیاهانی از خانواده نعنا با غلظت های ۵mg/ml و ۱mg/ml توسط آرماتو و همکاران، ۲۰۱۰ تفاوت معنی داری میان گیاه رزماری و اسطوخودوس نشان داده شده است. این نتایج وجود مواد موثره بیشتری را در رزماری نسبت به اسطوخودوس نشان می دهد که با نتایج به دست آمده در پژوهش حاضر همخوانی دارند (۳۱).

تغییرات فصلی در آنتی اکسیدان ها در برگ های گیاهان پایا و یکساله مشاهده شده است (۳۲،۳۳و۳۴). بیشتر این مطالعات پیشنهاد می‌کند که عوامل محیطی مثل نور، دما و حتی فوتواکسیدان‌های معلق در هوا عوامل ایجاد نوسانات فصلی آنتی اکسیدانی می‌باشند. کرونیگر و همکاران پیشنهاد کرده‌اند که تغییرات فصلی آنتی اکسیدانی به صورت تکوینی کنترل شده‌است (۳۵). فعالیت آنزیمی آنتی‌اکسیدان ها تحت تاثیر عوامل دیگری مانند ماده مغذی، وضعیت رطوبت خاک و بلوغ یا سن گیاهان متغیر می‌باشد (۳۶و۳۷). نتایج ما با بررسی های انجام شده در این زمینه توسط پول و همکاران ۱۹۹۶ و کرونیگر و همکاران ۱۹۹۲ مطابقت دارد. افزایش خاصیت ضد جهشی و ضد سرطانی عصاره های این دو گیاه در فصل پاییز مربوط به تغییرات عوامل محیطی، شرایط نموی گیاهان و تغییرات فصلی آنتی اکسیدان ها می باشد. پرز و همکاران نشان دادند که عصاره

متانولی نسبت به عصاره اتانولی فعالیت آنتی‌اکسیدانی و محتوای فنولی بیشتری دارد که با نتایج ما هم سویی دارد و موثرتربودن عصاره‌های متانولی را توجیه می‌کند (۳۸).

نتیجه گیری :

در بین گیاهان مورد آزمایش عصاره گل‌های رزماری نسبت به اسطوخودوس اثر بخش تر بودند، عصاره‌های مربوط به فصل پاییز تاثیر بیشتری داشتند. اثر ضد جهشی و ضد سرطانی عصاره‌های متانولی بیشتر از عصاره‌های اتانولی بودند.

تقدیر و تشکر :

لازم می‌دانیم از سرکار خانم ملاباشی کارشناس آزمایشگاه میکروبیولوژی گروه زیست شناسی دانشکده علوم دانشگاه تربیت معلم برای زحمات بی‌شائبه ایشان و از جناب آقای آرمان خاکی که در تحلیل آماری مقاله ما را یاری داده اند تشکر و قدردانی نمائیم.

فهرست مراجع :

1.Srivastava V, Negi A S, Kuma J K R, Gupta M M, Khanuja S P S, Plant based anticancer molecules: A chemical and biological profile of some important leads, *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 2005; **13**: 5892-590.

2.Moller P, Wallin H, Knudsen L E, Oxidative stress associated psychological stress and life-style factor, *Chem Bio Interact* 1996; **102**: 1-36.

3.Namiki M, Antioxidant/antimutagenes in foods, *Food Technol* 1990; **29**: 273-300.

4. Gotfredsen, E. The incomplete reference-guide to Herbal medicine. Liber Herbarum II, htttp://liberherbarum (Accessed 27.03.2009).

5.Takeda H, Tsuji M, Inazu M, Egashira T, Matsumiya T, Rosmarinic acid and caffeic acid produce antidepressive-like effect in the forced swimming test in mice, *Eur. J. Pharmacol*. 2002; **449**: 261–267.

6.Osakabe N, Yasuda A, Natsume M, Sanbongi C, Kato Y, Osawa T, et al., Rosmarinic acid, a major polyphenolic component of *Perilla frutescens*, reduces lipopolysaccharide (LPS)-induced liver injury in d-galactosamine (d-GalN)- sensitized mice Free Radic. *Biol. Med*. 2002; **33**: 798–806.

7.Osakabe N, Yasuda A, Natsume M, Yoshikawa T, Rosmarinic acid inhibits epidermal inflammatory responses: anticarcinogenic effect of *Perilla frutescens* extract in the murine two-stage skin model, *Carcinogenesis* 2004; **25**: 549–557.

8.Huang S S, Zheng R L, Rosmarinic acid inhibits angiogenesis and its mechanism of action in vitro, *Cancer Lett*. 2006; **239**: 271–280.

9.McKay D L, Blumberg J B, A review of the bioactivity and potential health benefits of peppermint tea (*Mentha piperita* L.), *Phytother. Res.* 2006; **26**: 619–633.

10.Dubois M, Bailly F, Mbemba G, Mouscadet J F, Debyser Z, Witvrouw M, et al., Reaction of rosmarinic acid with nitrite ions in acidic conditions: discovery of nitro- and dinitrorosmarinic acids as new anti-HIV-1 agents, *J. Med. Chem*. 2008; **51**: 2575–2579.

11.Vattem D A, Jang H D, Shetty K, Synergism of cranberry phenolics with ellagic acid and rosmarinic acid for antimutagenic and DNA protection functions, *J. Food Biochem*. 2006; **30**: 98–116.

12.Fakhari A R, Salehi P, Heydari R, Nejad Ebrahimi S, Haddad P R, Hydrodistillation headspace solvent microextraction, a new method for analysis of the essential oil components of *Lavandula angustifolia* Mill., *Journal of Chromatography A*. 2005; **1098**: 14–18.

13.Evandri M G, Battinelli L, Daniele C, Mastrangelo S, Bolle P, Mazzanti G, The antimutagenic activity of Lavandula angustifolia (lavender) essential oil in the bacterial reverse mutation assay, *Food and Chemical Toxicology* 2005; **43**: 1381–1387.

14.Edenharder R, vanPetersdorf I, Rauscher V, Antimutagenic effects of flavonoids, chalcones and structurally related compounds on the activity of 2-amino-3-methylimidazol(4,5-*f*)quinoline (IQ) and other heterocyclic amine mutagens from cooked food, *Mutat. Res*. 1993; **287**: 261–274.

15.Maron D, Ames B, Revised methods for the salmonella mutagenisity test. Mutation Research. 1978; **113**: 173-215.

16.Kappus H, Overview of enzyme systems involved in bioreduction of drugs and in redox cycling, *Biochem. Pharmacol*. 1986; **35**: 1–6.

17.Maron D, Ames B, Revised methods for the salmonella mutagenisity test. Mutation Research. 1978; **113**: 173-215.

18.Parke DV, Ioannides C, Lewis D F V, The role of the cytochromes P450 in the detoxication and activation of drugs and others chemicals. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 1991; **69**: 537–549.

19.Ong T, Ong W Z W, Stwart J D, Brockman H E, Chlorophllin a potant antimutagen against environmental and dietary complex mixture, *Mutate Res*. 1986; **173**: 111-115.

20.Shamom L A, Pezzuto J M, Assesment of antimutagenic activity with *Salmonella typhimurium* strain TM677. *Methods in science* 1997; **19** [Abstract].

۲۱.بقالی، زهرا و مجد، احمد.۱۳۸۵. بررسی ساختار تشریحی، روند تکوینی و برخی کاربردهای گیاه اسطوخودوس(*Lavandula angustifolia* Mill.) و نقش آللوپاتیک احتمالی آن بر گیاهان. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه تربیت معلم تهران.

۲۲.ستوده، سمیه و مجد، احمد.۱۳۸۵. بررسی ساختار تشریحی، روند تکوینی و برخی کاربردهای گیاه رزماری (*Rosmarinus officinalis* L.) و نقش آللوپاتیک احتمالی آن بر گیاهان. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه تربیت معلم تهران.

۲۳.سعادت، سعیده و مجد، احمد.۱۳۸۸-۱۳۸۷. بررسی ویژگیهای ریخت شناسی، تشریحی، تکوینی و خواص ضد میکروبی و ضد جهشی گیاه مرزنگوش (*Origanum vulgare* L.). پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد واحد علوم تحقیقات.

۲۴.محمدپور، قاسم و مجد، احمد. در حال چاپ. بررسی خواص ضد باکتریایی و ضد قارچی اسانس گونه هایی از سه جنس آویشن (*Thyme*) و دو اکوتیپ کاکوتی و گونه مرزه بختیاری (*Satureja bachtiarica*).

25.Allouche Y, Jimenez A, Uceda M, Aguilera M P, Gaforio J J, Beltran G, Triterpenic content and chemometric analysis of virgin olive oils from forty olive cultivars, *J. Agric. Food Chem.* 2009; **57**: 3604-3610.

26.Abe F, Yamauchi T, Nagao T, Kinjo J, Okabe H, Higo H, Akahane H, Ursolic acid as a trypanocidal constituent in rosemary, *Biol. Pharm. Bull.* 2002; **25**: 1485-1487.

27.Juan M E, Wenzel U, Ruiz-Gutierrez V, Daniel H, Planas J M, Olive fruit extracts inhibit proliferation and induce apoptosis in HT-29 human colon cancer cells, *J. Nutr*. 2006; **136**: 2553-2557.

28.Horiuchi K, Shiota S, Hatano T, Yoshida T, Kuroda T, Tsuchiya T, Antimicrobial activity of oleanolic acid from *Salvia officinalis* and related compounds on vancomycin-resistant enterococci (VRE), *Biol. Pharm. Bull.* 2007; **30**: 1147-1149.

29.Huang M T, Ho C T, Wang Z Y, et al., Inhibition of skin tumorigenesis by rosemary and its constituents carnosol and ursolic acid, *Cancer Res*. 1994; **54**: 701-708.

30.Talib W H, Mahasneh A M, Antiproliferative Activity of Plant Extracts Used Against Cancer in Traditional Medicine, *Sci Pharm*. 2010; **78**: 33–45.

31.Armatu A, Colceru-Mihul S, Bubueneu C, Draghici E, Pirvu L, Evaluation of antioxidant and free scavenging potential of some Lamiaceae species growing in Romania, *Romanian Biotechnological Letters*. 2010; **15**(3): 5274-5280.

32.Polle A, H. Rennenberg H, Field studies on Norway spruce trees at high altitudes. II. Defense systems against oxidative stress in needles, *New Phytol*. 1994; **121**: 635-642.

33.Polle A, Kroniger W, Rennenberg H, Seasonal fluctuations of ascorbate-related enzymes: Acute and delayed effects of late frost in spring on antioxidative systems in needles of Norway spruce (*Picea abies* L.), *Plant Cell Environ*. 1996; **37**: 717-725.

34.Gillham D J, Dodge A D, Hydrogen-peroxide-scavenging systems within Pea chloroplasts. A quantitative study, *Planta.* 1987; **167**: 246-251.

35.Kroniger W, Rennenberg H, Polle A, Purification of two superoxide dismutase isozymes and their subcellular localization in needles and roots of Norway spruce (*Picea abies* L.) trees, *Plant Physiol*. 1992; **100**: 334-340.

36.Zhang J, Kirkham M B, Antioxidant responses to drought in sunflower and sorghum seedlings, *New Phytol*. 1996; **132**:361-373.

37.Zhang X, Schmidt R E, Hormone containing products impact on antioxidant status of tall fescue and creeping bentgrass subjected to drought, *Crop Sci*. 2000; **40**: 1344-1349.

38.Pe´rez M B, Caldero´ n N L, Croci C A. Croci, Radiation-induced enhancement of antioxidant activity in extracts of rosemary (Rosmarinus officinalis L.), *Food Chemistry*, 2007; **104**: 585–592.