University of Hormozgan

Journal of Aquatic Ecology

ISSN Print: 2322-2751 ISSN Online: 2980-9355

Homepage: https://jae.hormozgan.ac.ir

Investigating the toxicity of *Zataria multiflora* essential oil on different stages of barnacle larvae of *Amphibalanus amphitrite* species

Mahdie Amirinezhad [1], Morteza Yousezadi [2]✉, Mitra Arman[3] ,Mahsa Rahimzadeh[4]

1. Department of Marine Biology, Faculty of Marine Science and Technology, University of Hormozgan, Bandar Abbas, Iran.
2. Corresponding author, Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Qom, Qom, Iran.
3. Department of biology, payame Noor university, Tehran, Iran
4. Department of Chemistry, College of Sciences, University of Hormozgan, Bandar Abbas, Iran.

Article Info

Article type:
Research Article

Article history:
Received: 10 October 2016
Received: 29 June 2024
Published online : 10 August 2024

✉ Corresponding Author:
morteza110110@gmail.com

Keywords:

Crustaceans,

essential oils,

toxicity test,

Zataria multiflora.

ABSTRACT

The life cycle of barnacles usually consists of two stages: the free-swimming larval stage and the stationary stage. Their larval stage has 6 stages. Considering that plant essential oils showed anti-algae properties in previous studies, in this study, the toxicity of this essential oil was investigated on different stages of barnacle larvae of *A. amphitrite* species. Because they should not have a negative effect on the food chain. Also, in order to evaluate the toxicity effects of *Z. multiflora* essential oil on barnacle larvae as a study model. This test was performed based on the determination of LC_{50} in a 24-hour period on different stages of barnacle larvae, in such a way that in 24-well plates of each stock, 6 concentrations of 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125, 1.5 µg/ml was prepared, then 1 ml of sea water and 10 barnacle larvae were added to each well and the number of dead and alive was checked by loupe. The obtained results showed that the LC_{50}-14.198 µg/ml in the (VI) stage of and the LC_{50}-36.91 µg/ml in the (II) stage have a significant difference. Also, this plant essential oil showed a toxic effect on barnacle larvae at concentrations higher than 20 g/ml. But in general, the use of this herbal essential oil has significant biological activity due to having carvacrol as the main component of the essential oil. Also, by having different compounds such as phenolic, terpenoids and alkaloids, it can be a pioneer in the development of practical and bio-compatible with eco-management goals in low concentrations.

CC BY NC

Publisher: University of Hormozgan

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-07-03]

EXTENDED ABSTRACT

Introduction

The life cycle of the barnacle consists of six larvae stages and one Cypris stage. Some species of barnacles can be kept in laboratory conditions. All larval stages can be done in a short time of 4 to 11 days, and all stages can be used in toxicity tests and comparing the sensitivity of different larval stages, as well as in biological evaluation as a study model. Some plant essential oils have insecticidal, anti-pest, anti-fungal, anti-bacterial, anti-viral, and sometimes antioxidant properties. Shirazi thyme (*Zataria multiflora*) from Lamiaceae is a bushy plant with many stems, thin, hard and very branched, 40 to 80 cm high, green to white and fragrant. Essential oils contain various amounts of volatile molecules such as terpenes and terpenoids, aromatic compounds. Considering that herbal essential oils of Shirazi thyme have shown excellent anti-algae properties. Therefore, the purpose of the present study is to investigate the toxicity of this essential oil on barnacle larvae *Amphibalanus amphitrite* as a study model to investigate the effect of the toxicity of this essential oil on other aquatic animals.

Materials and Methods

Barnacles (*A. amphitrite*) used for this study was harvested in the intertidal zone and collected from Bandar Abbas, Hormozgan province, Persian Gulf. Brood sacs containing mature nauplii were dissected from the animals and nauplli were released by removing the enveloping membrane in filtered sea water. To check the toxicity of essential oils, first we weighed 200 µl of each essential oil and adjusted its volume to 1 ml using DMSO solvent, then in 24-well plates with 24 wells. concentrations of 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125, 1.5 µg/ml were prepared from each stock. Then 1 ml of autoclaved sea water with 35 ppt salinity was poured into each well, then 10 barnacle larvae were added to each well using a loop, after 24 hours the plate was taken under the loop and the number of dead and live animals were examined. A larva that does not swim is considered dead. Toxicity results are presented as 24 h LC_{50} with 95% confidence intervals.

Results

The obtained results showed that the LC_{50}-14.198 µg/ml in the (VI) stage of and the LC_{50}-36.91 µg/ml in the (II) stage have a significant difference. Also, this plant essential oil showed a toxic effect on barnacle larvae at concentrations higher than 20 µg/ml. But in general, the use of this herbal essential oil has significant biological activity due to having carvacrol as the main component of the essential oil. Also, by having different compounds such as phenolic, terpenoids and alkaloids, it can be pioneer in the development of practical and bio-compatible with eco-management goals in low concentrations.

Conclusion

The herbal essential oil of *Z. multiflora* in concentrations higher than 20 µg/ml showed a toxic effect on different stages of barnacle larvae. If this essential oil is used in low concentrations for the application of anti-algae inhibition, it will not leave a harmful effect on aquatic life, because on the other hand, due to its volatility, this essential oil easily evaporates in water within a few days after application, and the result It is possible that its impact on the water ecosystem is minimized. The anti-algae properties of *Z. multiflora* essential oil in previous studies showed that the effective concentration of the essential oil obtained compared to other control methods was quantitatively low and qualitatively caused the death of all microalgae cells. was intended Therefore, plant essential oils can be used for many applications due to the many properties it has in specified doses

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-07-03]

بوم شناسی آبزیان ۱۴ (۲)۱۴۰۳:۴۳-۵۱

بوم‌شناسی آبزیان

شاپا چاپی: ۲۷۵۱-۲۳۲۲ شاپا الکترونیکی: ۹۳۵۵-۲۹۸۰

https://jae.hormozgan.ac.ir

دانشگاه هرمزگان

بررسی سمیت اسانس آویشن شیرازی بر روی مراحل مختلف لارو ناپلیوس بارناکل گونه *Amphibalanus amphitrite*

مهدیه امیری نژاد[۱]، مرتضی یوسف زادی[۲]✉، میترا آرمان[۳]، مهسا رحیم زاده[۴]

۱. گروه زیست شناسی دریا، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه هرمزگان ، بندرعباس، ایران

۲. گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه قم، قم، ایران

۳. گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

۴. گروه بیوشیمی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان، بندر عباس، ایران

اطلاعات مقاله

نوع مقاله:

مقاله پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۷/۱۹

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۴/۱۹

تاریخ انتشار: ۱۴۰۳/5/20

✉ نویسنده مسئول:

morteza110110@gmail.com

کلیدواژه‌ها:

سخت پوستان،

روغن های ضروری،

تست سمیت،

Zataria multiflora

چکیده

چرخه زندگی بارناکل‌ها به طور معمول شامل دو مرحله می‌باشد: مرحله لاروی با شنای آزاد و مرحله ثابت. مرحله لاروی آنها دارای ۶ مرحله ناپلیوسی می باشد.با توجه به اینکه اسانس‌های گیاهی در مطالعات قبل خاصیت ضد جلبکی از خود نشان دادند در این مطالعه به بررسی سمیت این اسانس بر روی مراحل مختلف لاروی بارناکل گونه ی *Amphibalanus amphitrite* پرداخته شد زیرا که نباید اثر منفی بر روی زنجیره غذایی داشته باشند. همچنین به منظور ارزیابی اثرات سمیت اسانس آویشن شیرازی با نام علمی *Zataria multiflora* بر روی مراحل مختلف لارو بارناکل به عنوان مدل مطالعه پرداخته شد. این تست براساس تعیین LC_{50} در یک دوره ۲۴ ساعته بر روی مراحل مختلف لاروی بارناکل انجام شد به این ترتیب که در پلیت‌های ۲۴ خانه‌ای از هر استوک ۶ غلظت ۵۰، ۲۵، ۱۲/۵، ۶/۲۵، ۳/۱۲۵، ۱/۵ میکرو گرم در میلی لیتر تهیه گردید سپس به هر چاهک ۱ میلی لیتر آب دریا و۱۰ عدد لارو بارناکل اضافه و تعداد مرده‌ها و زنده‌ها توسط لوپ نتایج بدست آمده نشان داد که LC_{50}: ۱۴/۹۸l µg/ml در مرحله ۶ ناپلیوسی و LC_{50}: ۳۶/۹۱ µg/ml در مرحله ۲ لاروی دارای تفاوت معنا داری است. همچنین این اسانس گیاهی در غلظتهای بالاتر از ۲۰ µg/ml اثر سمیت بر لارو بارناکل را نشان داد. کارواکرول بعنوان ترکیب اصلی سازنده اسانس از فعالیت بیولوژیکی قابل توجهی برخوردار است. همچنین اسانس آویشن شیرازی با داشتن ترکیبات مختلف از جمله فنولیک، ترپنوئیدها و آلکالوئیدها میتواند در غلظتهای پایین در توسعه کاربردی و زیست سازگار با اهداف بوم مدیریتی پیشگام باشد

ناشر: دانشگاه هرمزگان

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-07-03]

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-07-03]

مقدمه

بارناکل‌ها سخت پوستانی کفزی، دارای پوسته ی آهکی می‌باشند که در حالت بلوغ ساکن‌اند (Liang *et al*., 2019). چرخه‌ی زندگی بارناکل‌ها به طور معمول شامل دو مرحله می‌باشد: مرحله لاروی با شنای آزاد و مرحله ثابت. اولین مرحله لاروی خود دارای شش مرحله می‌باشد و پس از گذر از این مراحل لاروی به وسیله دگردیسی قبل از استقرار به لارو دیگری موسوم به سیپریس تبدیل می‌شود (Al-Aidaroos *et al*., 2016) و سپس به وسیله دگردیسی بعد از استقرار به صورت یک فرد جوان بر روی سطح مستقر می‌گردد (Chan, 2006). میکروزئوپلانکتون‌ها در اکوسیستم‌های آبی دنیا رایج هستند و بخش مهمی از اکوسیستم‌های دریایی را جوامع پلانکتونی تشکیل می‌دهند مطالعه میکروزئوپلانکتون‌ها در اکوسیستم‌های آبی به پیش بینی وضع اکوسیستم در دراز مدت کمک می‌کند (Ferrara *et al*., 2002). بارناکل‌هابا تغذیه صافی‌خواری که دارند به عنوان گونه‌های بنیادی در چرخه غذایی مناطق بین جزرو مدی شناخته می‌شوند. آن‌ها همچنین بر روی فراوانی و ساختار جمعیت موجودات دیگر مناطق بین جزرو مدی اثر می‌گذارند و برای تعدیل اکولوژیک اکوسیستم‌های نزدیک ساحلی حیاتی هستند .از سوی دیگر لارو پلانکتونی و جانور بالغ این سخت‌پوستان مورد تغذیه جانوران مختلف قرار می‌گیرند و نقش مهمی را در زنجیره‌های غذایی در محیط‌های دریایی بازی می‌کنند. گونه *Amphibalanus amphitrite* که قبلا *Balanus amphitrite* نام داشت. (Clare and Hoeg, 2008) به طور گسترده و وسیع در مناطق بین جزر و مدی وکم‌عمق پایین جزرو مدی به عنوان موجود بیوفولینگ (به چسبیدن و رشد میکروارگانسیم‌ها، گیاهان و جانوران به صورت توده نامطلوب روی سطوح مصنوعی غوطه‌ور درآب دریا بیوفولینگ دریایی اطلاق می‌شود) (Bianco *et al*., 2009) وجود دارند. چرخه‌ی زندگی بسیاری از بی‌مهرگان دریایی دارای یک دوره لاروی است که در طی آن جانور بیشترین حساسیت را نسبت به استرس‌های محیطی دارد (xu *et al*., 2022) دوره لاروی اغلب شامل چندین مرحله لاروی است که در هر دوره اندازه، تحرک و همچنین میزان حساسیت در مقابل استرس‌های محیطی متفاوت می‌باشد، درنتیجه میزان حساسیت لاروها در مرحله مختلف از همان گونه، در انجام تست‌های سمیت در بسیاری از مطالعات مقایسه می‌گردد (Epifanio, 1971). چرخه‌ی زندگی بارناکل متشکل از شش مرحله ناپلیوسی و یک مرحله سیپریس است. برخی از گونه‌های بارناکل مانند (*Balanus amphitrite*، *B. improvises* و*Elminius modestus*) در شرایط آزمایشگاهی می‌توان نگهداری کرد. تمام مراحل لاروی در زمان کوتاه ۴ تا ۱۱ روز میتواند انجام گیرد و از تمامی مراحل میتوان در تست‌های سمیت و مقایسه حساسیت مراحل مختلف لاروی و همچنین در ارزیابی زیستی به عنوان یک مدل مطالعاتی استفاده کرد (Piazza *et al*., 2012).

گیاهان معطر عمدتاً در مصارف غذایی، آرایشی و بهداشتی بکار می‌روند اما چنانچه طی آزمایشات و تحقیقات علمی، خواص و اثرات دارویی نیز برای آنها ثابت شده، در زمره گیاهان دارویی قرار می‌گیرند. استفاده از گیاهان معطر به عنوان دم کردنی‌های گیاهی، ادویه و چاشنی‌های غذایی و همچنین منبع تهیه انواع اسانس‌ها و عصاره‌ها از دیرباز رایج و مرسوم بوده است (Sadeghi *et al*., 2015). برخی از اسانس‌های گیاهی دارای خواص حشره‌کش، ضدآفات، ضدقارچ، ضد باکتری، ضد ویروسی، و بعضاً ضداکسیدان می‌باشند (*Olmedo et al* ., 2015).آویشن شیرازی از تیره نعناع (Lamiaceae) گیاهی بوته‌ای و دارای ساقه‌های متعدد، نازک، سخت و بسیار منشعب، به ارتفاع ۴۰ تا ۸۰ سانتی متر، سبز متمایل به سفید و معطر است. روغن‌های ضروری حاوی مقادیر متنوعی از مولکولهای فرار مانند ترپن‌ها و ترپنوییدها، ترکیبات آروماتیک می‌باشد. بسیاری از محققین بیان کردند ترکیبات عمده گونه‌های جنس مرزه از مونوترپن‌های فنلی مثل تیمولو کارواکرول می‌باشد که اغلب به همراه گاماترپین، پاراسمین و لینالول وجود دارند و این گروه از ترکیبات فنلی دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌میکروبی هستند. کارواکرول بعنوان ترکیب اصلی سازنده اسانس در همه مراحل تکوینی می باشد.کارواکرول حالت مایع و بوئی شبیه به تیمول دارد. وزن مخصوص آن در گرمای ۲۵ درجه ۰/۹۷۵۱ است. در گرمای صفر درجه منجمد می‌گردد. عملاً در آب غیر محلول ولی به مقادیر زیاد در الکل و اتر حل می‌شود. کارواکرول اثر ضدعفونی کننده دارد و در سنتز بعضی مواد آلی مورد استفاد قرار می‌گیرد.(Azadi *et al*., 2020) ترکیبات تشکیل دهنده اسانس‌های گیاهی بر حسب منطقه جغرافیایی رویش، سن گیاه در هنگام تهیه اسانس، شرایط محیطی و فصلی،

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-07-03]

نوع کشت، زمان برداشت، روش خشک کردن و استخراج اسانس، اسانس‌گیری اندام‌های مختلف، مرحله رشد و در نهایت تفاوت ژنتیکی گیاه می‌تواند تغییر کند. کارواکرول بعنوان ترکیب اصلی سازنده اسانس در همه مراحل تکوینی می‌باشد به همین جهت از فعالیت بیولوژیکی قابل توجهی برخوردار می‌باشند (Mojaddar *et al*., 2019).

برخی از گونه‌های بارناکل مانند *A. amphitirte* در شرایط آزمایشگاهی می توان نگهداری کرد. تمام مراحل لاروی در زمان کوتاه ۴ تا ۱۱ روز میتواند انجام گیرد و از تمامی مراحل میتوان در تست های سمیت و مقایسه حساسیت مراحل مختلف لاروی و همچنین در ارزیابی زیستی به عنوان یک مدل مطالعاتی استفاده کرد (Anil and Dattesh, 2000) از آنجایی که تعداد بیشتری از ناپلیوس II در دسترس می‌باشد و بارناکلهای بالغ تعداد انبوهی ناپلیوس II زنده تولید می‌کنند. همچنین دسترسی سریع در مدت زمان کوتاه برای رسیدن به این مرحله، بیشتر برای انجام تست سمیت استفاده می‌شود از طرفی با انجام کشت انبوه و مرگ و میر تعداد زیادی از ناپلیوس‌ها در حین رشد و نمو و رسیدن به مراحل بعدی تحت شرایط آزمایشگاهی از تعداد لاروها کاسته شده و همچنین به دلیل بزرگ شدن و نشست لاروها به کف و کم تر شدن پاسخ مراحل بالاتر به نورگرایی، انجام تست سمیت مشکل تر شده به همین علت بیشتر از مرحله II ناپلیوسی برای انجام تست‌های سمیت استفاده می‌شود.

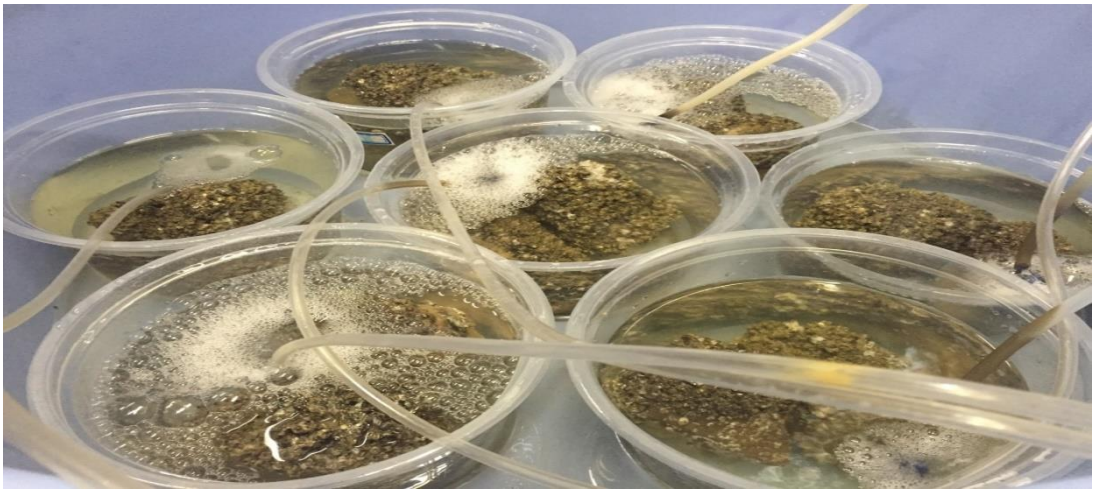
با توجه به اینکه اسانس‌های گیاهی آویشن شیرازی خاصیت ضد جلبکی بسیار عالی از خود نشان داده‌اند (Barani *et al*, 2013) لذا هدف از مطالعه حاضر به بررسی سمیت این اسانس بر روی لارو بارناکل به عنوان مدل مطالعه میباشد تا تاثیر سمیت این اسانس بر سایر آبزیان مورد بررسی قرار گیرد.

مواد و روش ها

برای اسانس گیری گیاه آویشن شیرازی ابتدا قسمت برگ گیاه در منطقه ی گنو در استان هرمزگان جمع آوری شد و در سایه و دمای مناسب خشک گردید. سپس گیاه با استفاده از دستگاه آسیاب در حدی که باعث بیرون آمدن اسانس نشود پودر شد همچنین در این مرحله گیاه نباید به مدت طولانی در معرض هوای محیط قرار بگیرد. در ادامه ۵۰ گرم از پودر خشک گیاه را به بالن دستگاه کلونجر منتقل شد و حجم بالن توسط آب مقطر به یک لیتر رسانده شد. مقداری آب مقطر از انشعاب بالا ریخته تا جایی که لوله جانبی کاملا پر و سپس هیتر روشن گردید. اسانس گیری۳ تا ۴ ساعت طول کشید. اسانس جمع آوری شده در ظروف تیره و شیشه‌ای دربسته نگه داری شد. ظروف حاوی اسانس در دمای چهار درجه سانتیگراد تا زمان استفاده در یخچال نگه‌داری گردید (Dehkordi *et al*., 2010). آنالیز GC-MS از دستگاه Thermoquest-Finnigan Trace GC-MS مجهز به ستون DB-1 به طول ۶۰ متر و قطر ۲۵/. میلی متر و ضخامت لایه ۲۵/. میکرومتر استفاده شد. دمای آون از ۶۰ درجه سانتی گراد تا ۲۵۰ درجه سانتی گراد با سرعت ۴ درجه سانتی گراد بر دقیقه افزایش یافت. از گاز هلیم با سرعت ۱/۱ میلی لیتر بر دقیقه و انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت در طیف سنج جرمی جفت شده با گاز کروماتوگراف استفاده شد(Adams, 2001). بارناکل‌های بالغ *A. amphitrite* چسبیده به قلوه سنگ‌ها در زمانی که آب دریا بیشترین جزر را داراست از سواحل بندر عباس جمع آوری و به همراه آب دریا به آزمایشگاه زیست شناسی منتقل گردید(Piazza *et al*, 2011).

بارناکل *A. amphitrite* پس از انتقال به آزمایشگاه علوم و فنون دریایی دانشگاه هرمزگان و حذف سایر گونه‌های بیوفولینگی، به خوبی با آب معمولی تمیز شدند. سپس بارناکل‌های جدا شده در ظرفهایی حاوی۲ لیتر آب دریا با دمای ۲۷ درجه سانتیگراد و با شوری ppt ۳۵ نگهداری و توسط پمپ اکسیژن هوادهی شدند (شکل۱) . روزانه بارناکل‌های به سنگ چسبیده به وسیله ناپلیوس آرتمیا سالینا با غلظت ۷ ناپلیوس در میلی لیتر تغذیه شدند (Piazza *et al*, 2011).

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-07-03]



شکل۱- تصویری از نمونه های بارناکل *A. amphitrite* در آزمایشگاه

پرورش انبوه لارو بارناکل جهت تست سمیت در مراحل مختلف لاروی ابتدا با ایجاد یک نقطه نوری مشخص در یک طرف ظرف حاوی بارناکل ها در محیط نسبتا تاریک لاروهای بارناکل‌ها با استفاده پیپت پاستور پلاستیکی و با کمک لوپ جمع‌آوری و به ظروف کشت لارو انتقال داده شد لاروهای جمع آوری شده در مرحله‌ی دوم ناپلیوسی بودند. محیط کشت لاروها حاوی آب دریا با شوری ppt ۳۵ می باشد محیط کشت لاروها حاوی فیتوپلانکتونهای *Tetraselmis suecica* و *Chaetoceros calcitrans* با غلظت ۲×۱۰^{۵} سلول در میلی لیتر جهت تغذیه‌ی آنها بود. ظروف محیط کشت لاروی به مکانی با ۲۷ سانتیگراد و دوره‌ی نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی انتقال داده شد هر ۲۴ ساعت یک بار وضیعت لاروها از نظر مرگ و میر، زمان و درصد رسیدن لاروها به مرحله بعد مورد ارزیابی قرار گرفت (Nasrolahi *et al*., 2007) . جهت بررسی سمیت اسانس‌ها ابتدامیکرولیتر ۲۰۰ از هر اسانس را وزن کرده و حجم آن توسط حلال DMSO به ۱۰۰۰میلی لیتر رساندیم، سپس در پلیت‌های ۲۴ خانه‌ای که دارای ۲۴ چاهک است (Marechal and Hellio, 2011) و از هر استوک ۶ غلظت ۵۰، ۲۵، ۱۲/۵، ۶/۲۵، ۳/۱۲۵، ۱/۵ میکرو گرم در میلی لیتر تهیه گردید. در ادامه به هر چاهک ۱ میلی لیتر آب دریای اتوکلاو با شوری ppt ۳۵ریخته، سپس به درون هر چاهک ۱۰ عدد لارو بارناکل با استفاده از لوپ و توسط پیپت پاستور اضافه شد، بعد از ۲۴ ساعت پلیت را زیر لوپ برده و تعداد مرده‌ها و زنده‌ها بررسی شد. لاروی که شنا نمی‌کند مرده محسوب می شود (Rittschof *et al* 1992; Rojo-Nieto *et al*. 2012) در هر مرحله لاروی این روش تکرار شد. هر غلظت با ۳ بار تکرار انجام گرفت به دلیل سمی بودن حلال DMSO در هر پلیت یک ستون به عنوان کنترل در نظر گرفته و یک ستون نیز حاوی آب دریا و لارو بارناکل به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. در نتیجه با این روند، درصد مرگ‌ومیر در هر غلظت با استفاده از رابطه ی زیر محاسبه گردید. LC_{50} غلظتی از اسانس است که در آن ۵۰ درصد جمعیت کشته شود.

مرگ و میر (%) = $[(N_0 _ N) / N0 \times 100]$ (An *et al*., 2008). رابطه ۱

که در این فرمول N_0 تعداد لارو زنده در کنترل و N تعداد لاروهای در معرض اسانس بود.

مرتب کردن داده‌ها جهت انجام آنالیزهای آماری و همچنین رسم نمودارها در این تحقیق به وسیله‌ی نرم‌افزار Excell (Microsoft office 2010) انجام شد. همچنین تمامی آنالیزهای آماری انجام شده در تحقیق پیش رو توسط نرم افزار آماری SPSS نسخه‌ی ۱۶ انجام پذیرفت. جهت مقایسه درصد کشندگی اسانس در غلظت‌های متفاوت، هچنین مقایسه مراحل مختلف

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-07-03]

لاروی جهت تعیین میزان حساسیت مورد مطالعه طی هر دوره از آزمایش از آنالیز یک‌طرفه (one-way ANOVA) و جهت مقایسه دو به دو میانگین‌ها از پس آزمون چند دامنه‌ی دانکن استفاده گردید. ، همچنین برای محاسبه LC_{50} اسانس‌ها با استفاده از برنامه probit analysis که یکی از برنامه‌های تحت spss می‌باشد با بازه اطمینان۹۵ درصد محاسبه گردید.

نتایج

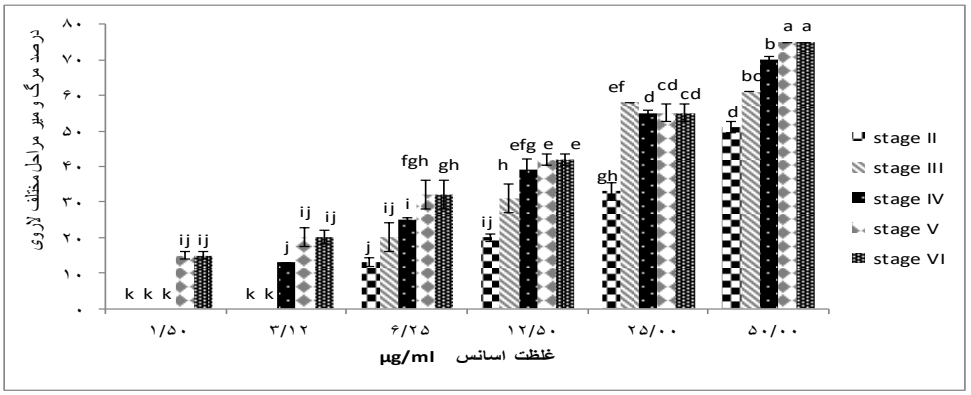
در بررسی ترکیب شیمیایی اسانس *Z. multiflora* دو ترکیب کارواکرول و تیمول، به ترتیب ۵۳/۲ و ۱۲/۲ درصد از کل حجم اسانس را به خود اختصاص دادند (جدول۱).

جدول ۱- نوع و میزان ترکیبات اسانس (درصد) گونه *Z. multiflora*

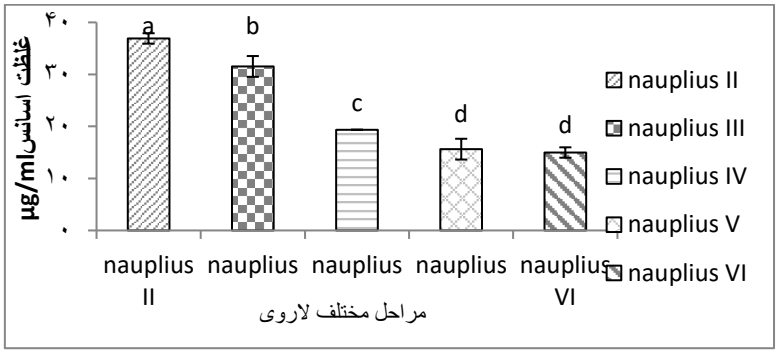
ترکیب	میزان	ترکیب	میزان
α-Pinene	۱/۲	Thymo	۱۲/۲
Camphene	۰/۵	Carvacrol	۵۳/۲
3-Octanone	۰/۹	Thymyl acetate	۰/۵
β-Pinene	۰/۳	Carvacryl acetate	۱/۲
β-Mycerene	۰/۵	β-Caryophyllene	۲/۱
p-Cymene	۷/۲	Eudema-3,7-dien	۰/۳
1,8-Cineole	۱/۹	Aromadendrene	۱/۱
γ-Terpinen	۱/۵	Cyclosativene	۰/۲
α-Linalool	۱/۰	Ledene	۰/۵
p-Menth-1-en-4-ol	۱/۴	Spathulenol	۰/۹
p-Menth-1-en-8-ol	۱/۶	Caryophyllene oxide	۰/۶
Carvacrol methyl ether	۱/۹		

اثر سمیت غلظت‌های اسانس گونه *Z. multiflora* بر مراحل مختلف لاروی بارناکل اختلاف معنی داری نشان داد. نتایج مطالعات ما نشان داد که مراحل ۵ و ۶ لارو بارناکل حساسیت بیشتری نسبت به بقیه مراحل دارد و همچنین مرحله ۲ لارو بارناکل مقاومترین حالت را نسبت به سمیت اسانس *Z. multiflora* از خود نشان داد. اسانس گیاه *Z. multiflora* در غلظت‌های مختلف سمیت متفاوتی نشان داد به طوری که با افزایش غلظت اسانس سمیت آن نیز افزایش یافت. بدین صورت که در غلظت ۱/۵ میکرو گرم بر میلی لیتر با درصد کشندگی بین ۰ تا ۱۵ کمترین سمیت را نشان داد (۰ درصد کشندگی برای مراحل ۲و ۳ و۴ و ۱۵ درصد کشندگی برای مراحل ۴ و ۵ لاروی) و در غلظت ۵۰ میکروگرم بر میلی لیتر با درصد کشندگی بین ۵۱ تا ۷۵ درصد بالاترین میزان سمیت را نشان داد (۷۵ درصد کشندگی برای مراحل ۵ ، ۶ و ۵۱ درصد کشندگی برای مرحله۲)(شکل۲) نتایج (شکل۳) نشان داد که اختلاف معنی‌داری در LC_{50} بین مراحل مختلف لاروی بارناکل گونه *Amphibalanus amphitrite* وجود دارد. اما بین مرحله ۵ و ۶ ناپلیوسی تفاوت معنا داری یافت نشد ($p<۰/۰۵$) (شکل۲)

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-07-03]



شکل۲- مقایسه مربوط به اثرات غلظت های مختلف اسانس گیاه *Z. multiflora* بر مراحل مختلف لاروی بارناکل و مقایسه مراحل ناپلیوسی با یکدیگر.(آنتنک‌ها نشانه‌ی انحراف معیار و حروف غیرمشابه نشان دهنده‌ی تفاوت معنی‌دار بین غلظت‌های متفاوت اسانس می‌باشد)



شکل ۳- مقایسه LC_{50} بین مراحل مختلف لاروی بارناکل .(آنتنک‌ها نشانه‌ی انحراف معیار و حروف غیرمشابه نشان دهنده‌ی تفاوت معنی‌دار بین گونه‌های متفاوت گیاه می‌باشد)

جدول ۲- مقایسه LC_{50} گونه *Z. multiflora* در مراحل مختلف لاروی

نام گیاه	LC_{50} ($\mu g.mL^{-1}$) در مراحل مختلفی ناپلیوسی				
Z. multiflora	مرحله II	مرحله III	مرحله IV	مرحله V	مرحله VI
	۳۶/۹۱	۳۱/۵۳	۱۹/۳۵	۱۵/۶۳	۱۴/۹۸

مقدار $LC_{10,15}$ در گیاه *Z. multiflora* به ترتیب ۶/۵۰ و ۹/۰۶ میکرو گرم بر میلی لیتر در مرحله II ناپلیوسی و ۱/۰۷ ,۱/۷۷ میکرو گرم بر میلی لیتر در مرحله VI ناپلیوسی است. همچنین $LC_{90,99}$ به ترتیب ۲۰۹/۴۸ و ۴۴۲/۶۶ میکروگرم بر میلی لیتر در ناپلیوس II و ۱۸۵/۲۳, ۲۷۳/۲۸ میکروگرم بر میلی لیتر در ناپلیوس مرحله VI است که این مقایسه ها نشان داد در LC_{50} های مختلف مرحله II لاروی از مقاومت بیشتری برخوردار است (جدول ۳).

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-07-03]

جدول ۳- نتایج اثر سمیت اسانس گونه گیاهی *Z. multiflora* بر مراحل مختلف لاروی *A.amphitrite* (µg/ml)

نام گونه	نوع اسانس	دوز کشنده	II ناپلیوس	III ناپلیوس	IV ناپلیوس	V ناپلیوس	VI ناپلیوس
A. amphitrite	*Z. multiflora*	LC_{10}	۶/۵۰	۳/۳۲	۲/۹۷	۱/۳۲	۱/۰۷
		LC_{15}	۹/۰۶	۵/۱۱	۴/۲۵	۲/۱۱	۱/۷۷
		LC_{85}	۱۵۰/۲۷	۱۹۴/۴۱	۸۷/۹۸	۱۲۶/۲۴	۱۱۵/۴۲
		LC_{90}	۲۰۹/۴۸	۲۹۸/۹۶	۱۲۵/۹۰	۲۰۹/۰	۱۸۵/۲۳
		LC_{99}	۴۴۲/۶۶	۵۶۵/۶۰	۲۱۴/۰۸	۳۴۱/۱۲	۲۷۳/۲۸

بحث

نتایج حاصل از محاسبه اثر سمیت غلظت‌های اسانس بر مراحل مختلف لاروی بارناکل اختلاف معنی داری نشان می‌دهد LC_{50} −۱۴/۹۸µg/ml در مرحله ۶ ناپلیوسی وLC_{50} −µ ۹۱/۳۶g/ml در مرحله ۲ لاروی نشان دهنده این است که مراحل ۵و ۶ لارو بارناکل حساسیت بیشتری نسبت به بقیه مراحل دارد و همچنین مرحله ۲ لارو بارناکل مقاومترین حالت را نسبت به سمیت اسانس *Z. multiflora* از خود نشان داد. در این تحقیق با مشاهده LC_{50} در مراحل مختلف لاروی بارناکل مشخص شد که هر چه مراحل رشد و نمو لاروی به سمت جلو میرود مقدار LC_{50} کمتری از خود نشان داد و در غلظتهای پایین تری باعث مرگ ۵۰ درصد از لارو ها شد. میزان مرگ و میر در غلظتهای مختلف از ۱/۵ تا ۵۰ میکروگرم در میلی لیتر اسانس با توجه به افزایش غلظت افزایش پیدا می‌کند ($p<۰/۰۵$). نوع گیاه و نوع موجود مورد مطالعه در غلظت به کار برده شده برای کشتن ۵۰ درصد از موجودات متفاوت می‌باشد و این به دلیل ترکیبات متفاوتی که هر اسانس داراست. ترکیبات تشکیل دهنده اسانس‌های گیاهی بر حسب منطقه جغرافیایی رویش، سن گیاه در هنگام تهیه اسانس، شرایط محیطی و فصلی، نوع کشت، زمان برداشت، روش خشک کردن و استخراج اسانس، اسانس‌گیری اندام‌های مختلف، مرحله رشد و در نهایت تفاوت ژنتیکی گیاه می‌تواند تغییر کند (Moghaddam, 2015). کارواکرول بعنوان ترکیب اصلی سازنده اسانس در همه مراحل تکوینی می‌باشد. همچنین ترکیبات فنلی کارواکرول و اسیدهای فنلی آزاد به ویژه رزمارینیک اسید در اسانس از فعالیت بیولوژیکی قابل توجهی برخوردار می‌باشد. کارواکرول به عنوان ترکیب اصلی یک منوترپن فنولی است که به صورت مایع بیرنگ و تا اندازه ای چسبناک عمل میکند و بوئی شبیه تیمول دارد احتمال می رود که، کارواکرول عامل اصلی وجود اثرات سیتوتوکسیک این اسانس به شمار آید. Qiu و همکاران(۲۰۰۵) اثر سمی مس را بر رشد مراحل مختلف لاروی بارناکل گونه *Balanus amphitrite* و مقایسه حساسیت سه مرحله لاروی در برابر مس مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد کاهش رشد در همه مراحل رخ داده و ناپلیوس II بیشترین حساسیت را نسبت به مراحل دیگر لاروی دارد و این مرحله برای انجام تست سمیت استفاده می‌گردد اما نتایج مطالعات ما حاکی از آن است که مراحل ۵ و ۶ لارو بارناکل حساسیت بیشتری نسبت به بقیه مراحل دارد و همچنین مرحله ۲ لارو بارناکل مقاومترین حالت را نسبت به سمیت اسانس *Z. multiflora* از خود نشان داد. Ries و همکاران (۲۰۱۱) بارناکل را به عنوان بیومانیتور آلودگی فلزات در آبهای ساحلی مورد بررسی قرار دادند نتایج نشان داد که بدن بارناکل به خصوص گونه هایی که گستره جهانی دارند مانند *Amphibalanus*

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-07-03]

amphitrite به عنوان یک بیو مانیتورکننده‌های آلودگی انسانی در آبهای ساحلی و در سراسر جهان استفاده و به عنوان یک ابزار مهم و با ارزش ارزیابی زیست محیطی یک اکوسیستم به شمار میرود. برخی شکوفایی‌های مضر جلبکی ناشی از داینوفلاژله‌ها، دیاتوم‌ها و سیانوباکتری‌ها در جهان اتفاق افتاده‌اند (Landsberg, 2010).

در تمام منابع مطالعاتی، در رابطه با کنترل بلوم جلبکی، رد روش استفاده از مواد شیمیایی به کرات گفته شده است (Shen *et al.*, 2012). زیرا علاوه بر از بین بردن جلبک، بر سایر آبزیان آن منطقه نیز موثر است (Pan *et al*, 2006) . اما با استفاده از مطالعه‌ای که Barani و همکاران(۲۰۱۳) داشتند و با استفاده از اسانس‌های گیاهی در غلظتهای پایین ۵/۱g/ml µ تا ۲ توانسته اند اثر ضدجلبکی را مهار کنند به دنبال مطالعاتی که در تحقیق حاضر صورت گرفت و اثر سمیت این اسانس‌های گیاهی بر سایر جانوران آبزی سنجیده شد، مطالعات حاکی از آن است که این اسانس گیاهی در غلظتهای بالاتر از µg/ml ۲۰ اثر سمیت بر لارو بارناکل را دارد.

نتیجه گیری

اسانس گیاهی آویشن شیرازی در غلظتهای بالاتر از µg/ml ۲۰ اثر سمیت بر روی مراحل مختلف لارو بارناکل را نشان داد. چنانچه از این اسانس در غلظتهای پایین برای به کارگیری مهار ضد جلبکی استفاده شود اثر زیانباری بر آبزیان از خود به جا نمی‌گذارد زیرا از طرفی این روغن ضروری به دلیل فراریت، به راحتی در آب در عرض چند روز پس از کاربرد بخار شده و نتیجه آن می شود که تاثیر آن بر اکوسیستم آبی به حداقل میرسد خاصیت ضدجلبکی اسانس *Z. multiflora* در مطالعات پیشین نشان داد که غلظت موثر اسانس به دست آمده در مقایسه با سایر روش‌های کنترلی از نظر کمی، مقادیر پایینی بود و از نظر کیفی موجب مرگ تمام سلول‌های ریزجلبک مورد نظر شد. بنابراین میتوان از اسانس های گیاهی برای کاربردهای فراوان به دلیل خواص بسیار زیادی که دارا می باشد در دوزهای مشخص شده استفاده کرد.

References:

Adams, R.P., 2001. *Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Quadrupole Mass Spectroscopy*, atuNral Scienc**e**, 16(11), pp.65-120.

Al-Aidaroos, A.M., Satheesh, S. and Devassy R.P., 2016. Biochemical analysis of adhesives produced by the cypris larvae of barnacle Amphibalanus amphitrite, Thalassas: Int. J. Mar. Sci. 32(1), pp. 37–42. DOI:10.1007/s41208-015-0004-4.

Anil, A.C. and Dattesh, D., 2000. Infuence of t emperature on the starvation threshold of nauplii of the barnacle Balanus amphitrite (Cirripedia: Thoracica), *Indian Journal of Marine Sciences*, 29(1), pp.69-72.

Azadi, M., Jamali, T., Kianmehr, Z., Kavoosi, G. and Ardestani, S.K., 2020. In-vitro (2D and 3D cultures) and in-vivo cytotoxic properties of *Zataria multiflora* essential oil (ZEO) emulsion in breast and cervical cancer cells along with the investigation of immunomodulatory potential. *Journal of Ethnopharmacology*,15(1), p. 112865. DOI: 10.1016/j.jep.2020.112865

Barani, M., Yousefzadi, M., Moezi, M. and Pejmanmehr, P., 2013. Effect of Higher plant Essential oils for the control of Red Tid Algae *Cochlodinium* polykrikoides under laboratory conditions. *Journal of the Persian gulf (marine science)*, 15(5), pp. 41- 50.

Bianco, EM., Rogers, R., Teixeira, VL. And Pereira, RC., 2009. Antifoulant diterpenes produced by the brown seaweed Canistrocarpus cervicornis. *Journal of Applied Phycology*, 21(3), pp. 341–346. https://doi.org/10.1007/s10811-008-9374-9

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-07-03]

Chan, BBK., 2006. Ecology and Biodiversity of Rocky Intertidal Barnacles Along a Latitudinal Gradient. Japan, Taiwan and Hong Kong The NagisaWorld Congress,128(2), pp.1-10. DOI: 10.5134/70915.

Clare, AS. and Hoeg, JT., 2008. Balanus amphitrite or Amphibalanus amphitrite A note on barnacle nomenclature ,*Biofouling*, 24(1), pp. 55-57. DOI: 10.1080/08927010701830194

Dehkordi, S., Tajik, H., Moradi, M. and Khalighi-Sigaroodi, F.(2010). Chemical composition of essential oils in Zataria multiflora Boiss. From different parts of Iran and their radical scavenging and antimicrobial activity. *Food and Chemical, Toxicology*, 48(6), pp. 1562–1567. /doi.org/10.1016/j.fct.2010.03.025

Epifanio, CE., 1971. Effects of dieldrin in seawater on the developmentof two species of crab larvae. Leptodius floridanus and Panopeus herbstii. *Marine Biology*, 11(1), pp. 356–362. DOI:10.1007/BF00352454

Ferrara, O., Vagaggini, D. and Margaritora, F.G., 2002. Zooplankton abundance anddiversity in Lake Bracciano, Latium, Italy. *Journal of Limnology*, 61 (2), pp.169-175. DOI:10.4081/jlimnol.2002.169

Landsberg, J. H., 2010. The Effects of Harmful Algal Blooms on Aquatic Organisms. *Reviews in Fisheries Science*, 10(2), pp. 113-390. DOI:10.1080/20026491051695

Liang. C., J. Strickland, Z. Ye, W. Wu, B. and Hu, D., 2019. Rittschof, Biochemistry of barnacle adhesion: an updated review, *Front. Mar. Sci*, 6(1), pp. 565. DOI:10.3389/fmars.2019.00565

Marechal, J.P. and Hellio, C., 2011. Antifouling activity against barnacle cypris larvae: Do target species matter (Amphibalanus amphitrite versus Semibalanus balanoides)? , *International Biodeterioration and Biodegradation Society*, 65(1), pp. 92-101. DOI:10.1016/j.ibiod.2010.10.002

Moghaddam, M., Khaleghi, M., Ghasemi, GH., Pirbalouti, A., Mehdizadeh, L. and Ghaderi, Y., 2015. Variation in essential oil composition and antioxidant activity ofcumin (Cuminum cyminum L.) fruits during stages of maturity. *Industrial Crops and Products*, 70(3), pp. 163–169.

Mojaddar Langroodi, A., Tajik, H. and Mehdizadeh, T., 2019. Antibacterial and antioxidant characteristics of Zataria multiflora Boiss. essential oil and hydroalcoholic extract of Rhus coriaria L. *Journal of Food Quality and Hazards Control*, 6(1), pp. 16-24. DOI: 10.18502/jfqhc.6.1.454

Nasrolahi, A., Sari, A., Saifabadi, S. and Malek, M., 2007. Effects of algal diet on larval survival and growth of the barnacle Amphibalanus (=Balanus) improvises, *Journal of the Marine Biological Association of the UK*, 87(5), pp. 1227-1233. doi: 10.1017/S0025315407057037

Olmedo, R.H., Asensio, C.M. and Grosso, R.N., 2015. Thermal stability and antioxidant activity of essential oils fromaromatic plants farmed in Argentina. Industrial Crops and Products, 69(1), pp. 21–28. DOI:10.1016/j.indcrop.2015.02.005

Pan, G., Zhang, M.M., Chen, H., Zou, H. and Yan, H., 2006. Removal of cyanobacterial blooms in Taihu Lake using local soils. I. Equilibrium and kinetic screening on the flocculation of Microcystis aeruginosa using commercially available clays and minerals. Environmental Pollution, 141(2), pp. 195-200. DOI:10.1016/j.envpol.2005.08.042

Piazza, V., Roussis, V., Garaventa, F., Greco, G., Smyrniotopoulos, V., Vagias, S. and Faimali, M., 2011. Terpenes from the Red Alga Sphaerococcus coronopifolius Inhibit the Settlement of Barnacles. *Marine Biotechnology*, 13(1),pp. 764-772. DOI:10.1007/s10126-010-9337-4

Piazza,V., Ferioli, A., Giacco, E., Melchiorre, N., Valenti, A., Del Prete, F., Biandolino, F., Dentone, L., Frisenda, P. and Faimali, M., 2012. A standardization of Amphibalanus (Balanus) amphitrite (Crustacea, Cirripedia) larval bioassay for ecotoxicological studies. *Ecotoxicol Environ Saf*, 79(1), pp. 134–138. doi: 10.1016/j.ecoenv.2011.12.014.

Qiu, JW., Thiyagarajan, V., Cheung, S. and Qian, PY., 2005. Toxic effects of copper on larval development of the barnacle Balanus Amphitrite, Marine Pollution Bulletin, 51(8), pp. 688–693. DOI: http://dx.doi.org/10.1016/j.marpolbul.2004.11.039

Reis, PA., Salgado, A. and Vasconcelos, V., 2011. Barnacles as biomonitors of metal contamination in coastal waters, Estuarine, *Coastal and Shelf Science* , 93 (4), pp. 269–278. DOI:10.1016/j.ecss.2010.12.022

Rittschof, D., Clare, A..S, Gerhart, D.J., Avelin, Sr M. and Bonaventura, J., 1992. Barnacle in vitroassays for biologically active substances: toxicity and settlement inhibition assays using mass cultured Balanus amphitrite Darwin. *Biofouling*, 6(2), pp. 115-122. 10.1080/08927019209386217

Rojo-Nieto, E., Smith, K.E.C., Perales, J.A. and Mayer, P., 2012. Recreating the seawater mixture composition of HOCs in toxicity tests with Artemia franciscana by passive dosing, Aquatic Toxicology, 15(1), pp.120– 126. DOI: 10.1016/j.aquatox.2012.04.006

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-07-03]

Sadeghi, H., Robati, Z. and Saharkhiz, M., 2015. Variability in Zataria multiflora Boiss. essential oil of twelve populations from Fars province, *Industrial Crops and Products* , 67(1), pp.221-226. DOI:10.1016/j.indcrop.2015.01.021

Shen, P.P., Li, Y.N., Qi, Y.Z., Zhang, L.P., Tan, Y.H. and Haung, L.M., 2012. Morphology and bloom dynamics of Cochlodinium geminatum (Schütt) Schütt in the Pearl River Estuary, South China Sea. *Harmful Algae*. 13(1), pp. 10-19. DOI:10.1016/j.hal.2011.09.009

Xu., Z, Liu., Z. Zhang., C. and Xu., D., 2022. Advance in barnacle cement with high underwater adhesion, *Journal of Applied Polymer Science* ,8(3),1-10. DOI:10.1002/app.528

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-07-03]