NCMBJ
Research article

New Cell Mol Biotech
j.11/44 , 2021

Scan online to view this article

Evaluation of antibacterial effect of methanolic extract of *Verbascum thapsus L.* Ecotypes in North Khorasan against of *Escherichia coli, Bacillus cereus* and *Staphylococcus aureus* in vitro

Raheleh Ghorbani Moghaddam[1], Ahmad Asgharzadeh[2,*], Amir Amani[3], Mohammad Reza Hosseinzadeh[4], Jamal Kasaian[3]

1. Department of Medicinal Plants, Islamic Azad University, Shirvan, Iran.
2. Department of Horticulture, Islamic Azad University, Shirvan, Iran.
3. Natural Products and Medicinal Plants Research Center, North Khorasan University of Medical Sciences, Bojnurd, Iran.
4. Department of Agriculture, Islamic Azad University, Bojnourd, Iran.

Abstract

Aim and Background: Wild plants in nature are valuable samples for use in various studies due to their characteristics such as resistance to adverse environmental conditions, resistance to pests and diseases and even having high active ingredients. Today, with the increasing resistance of bacteria to antibiotics, the use of medicinal plants has been welcomed.The present study aimed to investigate the effect of antibacterial effects of different ecotypes of *Verbascum thapsus* extract.

Materials and Methods: *Verbascum thapsus* from three regions of North Khorasan (Ashkhaneh, Bojnourd and Shirvan), after collection and drying, was extracted by methanol solvent by soaking and its antibacterial properties was investigation against*(Escherichia coli, Bacillus cereus and Staphylococcus aureus*) using disk and well diffusion , MIC (Minimum Inhibitory Concentration) and MBC (Minimum Bactericidal Concenteration) methods.

Results: The results showed that between different ecotypes of North Khorasan, Verbascom extract of Bojnourd region had the most inhition zone in disk and well diffusion method on *Staphylococcus aureus* bacteria were equal to 12.33 and 14.66 mm, respectively, and for *Bacillus cereus* bacteria were 11.33 and 13.66 mm, respectively And MIC and MBC of Verbascum extract of Bojnourd region on bacteria (*Staphylococcus aureus*) 12. mg/ml were observed as the most sensitive bacteria.

conclusion: In this study, it was found that among different ecotypes of North Khorasan, methanolic extract of *Verbascum thapsus* of Bojnourd region had the most antibacterial effect on bacteria (*Bacillus cereus* and *Staphylococcus aureus*) however the extract was not effective on *Escherichia coli.*

Keywords: *Verbascum*, Antibacterial , *Escherichia coli, Bacillus cereus and Staphylococcus aureus,* Iau Science.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2024-04-16]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1400.11.44.6.0]

Corresponding author:
Department of Horticulture, Islamic Azad University, Shirvan, Iran
Email: asg.ahmad@yahoo.com

مجله تازه های بیوتکنولوژی سلولی مولکولی
دوره ۱۱ - شماره۴۴ - پاییز ۱۴۰۰
NCMBJ
مقاله پژوهشی

برای مشاهده این مقاله به صورت آنلاین اسکن کنید

بررسی اثر ضد باکتریایی عصاره متانولی اکوتیپ‌های گیاه گل ماهور (*Verbascum thapsus L.*) خراسان شمالی علیه باکتری‌های *اشریشیاکلی*، *باسیلوس سرئوس* و *استافیلوکوکوس اورئوس* در شرایط آزمایشگاهی

راحله قربانی مقدم [۱]، احمد اصغرزاده [۲،*]، امیر امانی [۳]، محمد رضا حسین زاده [۴]، جمال کسائیان [۳]

۱. گروه گیاهان دارویی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیروان، ایران
۲. گروه باغبانی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیروان، ایران
۳. مرکز تحقیقات فرآورده‌های طبیعی و گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، بجنورد، ایران
۴. گروه کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد بجنورد، ایران

چکیده

سابقه و هدف: گیاهان خودرو در طبیعت به‌دلیل داشتن خصوصیت‌هایی مانند مقاومت‌به شرایط نامناسب محیطی، مقاومت‌به آفات و بیماری‌ها و داشتن مواد مؤثره بالا نمونه‌های ارزشمند برای بهره گیری در مطالعه‌های مختلف کاربردی هستند امروزه با افزایش مقاومت باکتری‌ها در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها، استفاده از گیاهان دارویی مورد استقبال قرار گرفته است. این مطالعه با هدف بررسی اثرهای ضد باکتریایی اکوتیپ‌های مختلف عصاره گیاه گل ماهور انجام گردید.

مواد و روش‌ها: گیاه گل ماهور (*Verbascum thapsus L.*) از سه منطقه خراسان شمالی (آشخانه، بجنورد و شیروان)، پس از جمع‌آوری و خشک نمودن در سایه، توسط حلال متانول به‌روش خیساندن عصاره‌گیری شد و خاصیت ضد باکتریایی (*اشریشیاکلی*، *باسیلوس سرئوس* و *استافیلوکوکوس اورئوس*) با استفاده از روش‌های انتشار دیسک، چاهک پلیت، حداقل غلظت مهارکنندگی و کشندگی بررسی شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد بین اکوتیپ‌های مختلف خراسان شمالی، عصاره گل ماهور منطقه بجنورد بیش‌ترین هاله عدم رشد در روش دیسک و چاهک بر روی باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* به‌ترتیب برابر با ۱۲/۳۳و ۱۴/۶۶ میلی‌متر و برای باکتری *باسیلوس سرئوس* به‌ترتیب ۱۱/۳۳ و ۱۳/۶۶ میلی‌متر به‌دست آمد و حداقل غلظت بازدارندگی و کشندگی عصاره گل ماهور منطقه بجنورد بر باکتری (*استافیلوکوکوس اورئوس*) ۱۲/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به‌عنوان حساس ترین باکتری مشاهده گردید.

نتیجه‌گیری: در این پژوهش مشخص شد بین اکوتیپ‌های مختلف خراسان شمالی عصاره متانولی گل ماهور منطقه بجنورد بیش‌ترین اثر ضد باکتری را بر روی باکتری‌های (*باسیلوس سرئوس* و *استافیلوکوکوس اورئوس*) داشته *ولی بر روی باکتری اشریشیاکلی* مؤثر نبوده است.

واژگان کلیدی: گل ماهور، ضد باکتریایی، *اشریشیاکلی*، *باسیلوس سرئوس* و *استافیلوکوکوس اورئوس*، Iau Science.

مقدمه

شرایط اقلیمی گوناگون و متنوع ایران موجب پدید آمدن محیط‌های مناسب برای رشد تعداد زیادی از گیاهان دارویی با پراکنش زیاد شده که میزان و تجمع مواد مؤثره تحت تأثیر شرایط محیطی و ژنتیک گیاه است. اکوتیپ‌های خودرو در طبیعت به‌دلیل داشتن خصوصیت‌هایی مانند مقاومت‌به شرایط نامناسب محیطی، مقاومت‌به آفات و بیماری‌ها و حتی داشتن مواد مؤثره بالا نمونه‌های ارزشمند برای بهره‌گیری در مطالعه‌های مختلف هستند (۱). گل ماهور یا خرگوشک با نام علمی *Verbascum* گیاه علفی دو ساله است که دارای گل‌های زرد رنگ و برگ‌ها با کرک‌های پنبه‌ای و ساقه ضخیم به ارتفاع

نویسنده مسئول:
گروه باغبانی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیروان، ایران
پست الکترونیکی: asg.ahmad@yahoo.com
تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۴/۱۷
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۷/۱۸

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2024-04-16]
[DOR: 20.1001.1.22285458.1400.11.44.6.0]

حدود ۲ متر است که در زمین‌های بایر، جنگل‌ها و مزارع و در نواحی کوهستانی نیز تا حد ۱۸۰ سانتی‌متری رشد می‌کند (۲). گل ماهور یا خرگوشک در مناطق مختلف ایران به نام‌های علف خرگوش، خرگوشک، گل ماهور و علف ماهور نامیده می‌شود و در کتب سنتی به نام‌های «قلونُس»، «بوصیر» و «آذان الدب» آورده شده است (۳). به‌طور کلی گیاهان این جنس را *Molene* و به انگلیسی *Mullen* و *Lungwort* و *Torches* می‌نامند که از خانواده پروانه‌آسا *(Scorphulariacea)* هستند و متجاوز از ۲۰ گونه آن در ایران در نقاط مختلف می‌رویند، از روزگاران کهن از این گیاهان برای درمان ناراحتی‌های تنفّسی استفاده می‌گردید. پزشکان از این گیاه جهت درمان سرفه استفاده می‌کردند و مهاجران اروپایی این گیاه را با خود به آمریکا انتقال داده و از زمان‌های قدیم از این گیاه برای درمان سرماخوردگی، التهاب حلق و گلو، ورم لوزه‌ها، اسهال و بواسیر و عفونت‌های مجاری ادراری استفاده می‌شده است۰ (۳). گل‌های گل ماهور به‌دلیل داشتن ساپونین، موسیلاژ و فلاونوئیدها خاصیت دارویی دارند و در بیش‌تر دارونامه‌های معتبر از گل‌های این گیاه به‌عنوان دارو یاد شده است این ترکیب‌ها برای مداوای برخی ناراحتی-های ریوی مانند برونشیت و سیاه سرفه استفاده می‌شوند (۵،۴). اثرهای خلط‌آوری،تسکین‌دهندگی و نرم‌کنندگی گل ماهور به‌وجود ساپونین و موسیلاژ نسبت داده می‌شود، در حالی‌که اثرهای ضدالتهابی، ضدمیکروبی و فعالیت مدر آن به-دلیل وجود ترکیب‌های فنلی موجود در اندام‌های مختلف آن است (۶). از ترکیب‌های اصلی این گیاه، فلاونوئیدها، ساپونین-ها، ایریدوئیدها، فنیل اتانوئیدگلیکوزید، مونوترپن گلوکوزید، استروئید، اسپرمن آلکالوئید، اسیدفنل، اسید چرب، تانن، کاروتن و غیره را می‌توان نام برد(۷).

امروزه استفاده از عصاره‌های گیاهی برای درمان کمکی عفونت‌های میکروبی، توجه بسیاری از پژوهشگران را به خود معطوف کرده است. اگرچه تاکنون تعداد زیادی از گیاهان عالی برای یافتن مواد ضدمیکروب بررسی شده اند، اما هیچ‌یک از ترکیب‌های ضدمیکروب حاصل از آن‌ها قادر به رقابت با آنتی‌بیوتیک‌های رایج نبوده و جست‌وجو برای یافتن عوامل گیاهی ضدمیکروب هم‌چنان ادامه دارد (۸). امروزه مسئله مقاومت دارویی و عدم تأثیر آنتی‌بیوتیک‌ها با سرعت زیادی در حال پیشرفت است (۹). یکی از مشکلات کنونی درمان عفونت‌های باکتریایی افزایش مقاومت آن‌ها به آنتی‌بیوتیک‌ها است (۱۰).

اشریشیاکلی[1] نوعی باسیل گرم منفی از خانواده انتروباکتریاسه است که به‌طور شایع در روده جانوران خونگرم وجود دارد. برخی از سروتیپ‌های آن موجب مسمویت غذایی و اسهال میگردند. *اشریشیاکلی* شایع‌ترین عامل عفونت دستگاه ادراری است. *استافیلوکوکوس اورئوس*[2]، باکتری گرم مثبت و بی-هوازی اختیاری است که ممکن است به‌شکل فلور عادی پوست یا بینی وجود داشته باشد. *استافیلوکوکوس اورئوس* گستره وسیعی ازعفونت‌ها، عفونت‌های ساده پوستی تا بیماری‌هایی مانند پنومونی و مننژیت را ایجاد می‌نماید. *استافیلوکوکوس اورئوس* به‌عنوان یکی از ۵ عامل شایع ایجادکننده عفونت‌های بیمارستانی به‌ویژه عفونت‌های زخم پس از جراحی است (۱۲،۱۱). *باسیلوس سرئوس*[3] نیز به‌عنوان عامل مسمومیت شناخته شده و در خاک، آب و گرد و غبار و مواد غذایی آلوده شده مانند گوشت، شیر، تخم مرغ وجود دارد. با توجه‌به گستره وسیع بیماری‌زایی این سه باکتری در زندگی روزمره بررسی اثر آنتی‌باکتریال گیاهان دارویی می‌تواند بسیار مؤثر باشد (۱۳).

گیاهان دارویی و مشتق‌های آن‌ها امروزه ۲۰ درصد تجویزهای دارویی در کشورهای صنعتی پیشرفته و ۸۰ درصد از کشورهای در حال توسعه را به خود اختصاص داده است. از آن جایی که گیاهان مفید دارویی در کشور ما فراوان می‌رویند، بررسی اثرهای ضدمیکروبی آن‌ها می‌تواند گامی مثبت در شناسایی و استفاده بهینه از این ثروت ملی و با ارزش باشد (۱۴). بسیاری از متابولیت‌های ثانوی و عصاره‌های گیاهی دارای فعالیت زیستی متفاوت ازجمله خواص ضدمکیروبی هستند که باعث شده موضوع جایگزینی سموم شیمیایی با مواد طبیعی امن و دوستدار محیط زیست در مجامع علمی دنیا مطرح شود. بنابراین، این مطالعه با هدف بررسی اثرهای ضدباکتریایی اکوتیپ‌های مختلف عصاره متانولی گیاه گل ماهور انجام گردید.

روش بررسی

جمع‌آوری گیاه از رویشگاه

این تحقیق پس از بازدیدهای میدانی زیاد و بر اساس نظر کارشناسان منابع طبیعی، بر اساس حضور گونه در مهم‌ترین رویشگاه‌های گل ماهور انتخاب گردید. اندامهای هوایی گیاه گل ماهور در مرحله گلدهی کامل از رویشگاه طبیعی خود از حوالی شهرستان‌های بجنورد، شیروان و آشخانه واقع در خراسان شمالی جمع آوری شد و نمونه ها ی تهیه شده، در

[1] *Escherichia coli*
[2] *Staphylococcus aureus*
[3] *Bacillus cereus*

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2024-04-16]
[DOR: 20.1001.1.22285458.1400.11.44.6.0]

هرباریوم مرکزتحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی بجنورد شناسایی و نام علمی آن تأیید گردید.

عصاره‌گیری از گیاه

گیاه مورد مطالعه پس از جمع آوری و خشک کردن در سایه پودر شد و ۱۰۰ گرم از گیاه پودر شده با استفاده از حلال متانول به روش خیساندن به‌مدت ۴۸ ساعت، استخراج و با استفاده از تبخیر کننده چرخان (روتاری) تغلیظ شده و سپس به‌مدت ۴۸ ساعت در آون خشک گردید و تا زمان آزمایش در یخچال (۴+ درجه سانتی‌گراد) نگهداری گردید.

تهیه ارگانیسم‌های مورد آزمایش

در این مطالعه ۲ باکتری گرم مثبت شامل *باسیلوس سرئوس (PTCC ۱۲۴۷) و استافیلوکوکوس اورئوس(ATCC ۶۵۳۸)* و یک باکتری گرم منفی *اشریشیاکلی(ATCC ۸۷۳۹)* از انستیتو پاستور ایران تهیه گردید و ۱۸-۲۴ ساعت قبل از انجام آزمایش‌ها به‌صورت کشت تازه بر روی محیط مولر هینتون آگار (MHA, Merck, آلمان) تهیه شدند.

تست‌های ضدباکتریایی

روش دیسک دیفیوژن

آزمایش آنتی‌بیوگرام به‌روش انتشار دیسک به این صورت انجام شد که دیسک‌های آغشته به‌عصاره اکوتیپ‌های مختلف گل ماهور با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، دیسک کاغذی (پادتن طب، ایران) حاوی آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساسین (سینا دارو، ایران) با غلظت ۰/۳ درصد به‌عنوان کنترل مثبت و دیسک حاوی دی‌متیل سولفوکساید به‌عنوان کنترل منفی به‌مدت یک ساعت در انکوباتور قرار داده شد تا خشک گردند و بر روی محیط کشت که پیش‌تر توسط تلقیح میکروبی *(اشریشیاکلی، باسیلوس سرئوس و استافیلوکوکوس اورئوس)* آغشته شده، در فواصل مناسب قرار داده شدند. سپس پلیت‌ها به‌مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار نگهداری شدند. در ادامه اثر دیسک حاوی عصاره با دیسک حاوی آنتی‌بیوتیک از لحاظ قطر هاله عدم رشد با خط‌کش برحسب میلی‌متر مقایسه گردید (۱۵).

روش چاهک پلیت

در این روش از پلیت‌های حاوی محیط کشت مولر هینتون آگار که آغشته به باکتری‌ها (*اشریشیاکلی، باسیلوس سرئوس و استافیلوکوکوس اورئوس)* بودند استفاده گردید. توسط یک پیپت پاستور استریل یک حفره در محیط کشت ایجاد و داخل هر چاهک با سمپلر ۵۰ میکرولیتر از عصاره با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به‌طور جداگانه اضافه گردید. سپس پلیت‌ها به‌مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور قرار گرفتند. پس از آن قطر هاله‌های عدم رشد هر چاهک مورد ارزیابی قرار گرفت و براساس میلی‌متر با خطکش محاسبه گردید. از چاهک‌های حاوی آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساسین با غلظت ۰/۳ درصد به‌عنوان کنترل مثبت و دی‌متیل سولفوکساید به‌عنوان کنترل منفی به‌مقدار ۵۰ میکرولیتر استفاده شد (۱۵).

تعیین میزان اثر مهارکنندگی و بازدارندگی رشد عصاره‌های مختلف

در این روش مقدار۲۰۰ میکرولیتر از غلظت‌های ۱۰۰، ۵۰، ۲۵، ۱۲/۵، ۶/۲۵، ۳/۱۲۵، ۱/۲۵۶و ۰/۱۸۷ میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره اکوتیپ‌های (آشخانه، بجنورد و شیروان) و ۲۰ میکرولیتر سوسپانسیون میکروبی به خانه‌های پلیت ۹۶ خانه اضافه شد. به‌عنوان کنترل مثبت، در تعدادی از خانه‌های پلیت، ۱۵۰ میکرولیتر از محیط کشت اختصاصی،۲۰ میکرولیتر سوسپانسیون باکتری و ۵۰ میکرولیتر آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساسین و از خانه‌های حاوی ۲۰۰ میکرولیتر از محیط کشت و ۲۰ میکرولیتر باکتری به‌عنوان کنترل منفی استفاده شد. پلیت ۹۶ خانه به‌مدت ۲۴ ساعت در گرمخانه ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. پس از این مدت به تمام خانه‌های هر پلیت ۵۰ میکرولیتر از معرف تری‌فنیل‌تترازولیوم کلراید اضافه شد و دوباره به‌مدت ۳ ساعت در گرمخانه قرار داده شد. پس از خروج از گرمخانه، در هر ردیف مربوط به غلظت‌های مختلف یک عصاره، اولین غلظتی که در آن رنگ قرمز تشکیل نشده باشد، به‌عنوان حداقل غلظت مهار کنندگی (MIC: Minimum Inhibitory Concentration) در نظر گرفته شد (۱۵).

برای به‌دست آوردن مقادیر تعیین حداقل غلظت کشندگی (MBC: Minimum Bactericidal Concentration) از کلیه خانه‌هایی که رنگ قرمز در آن‌ها تشکیل نشده باشد، یک لوپ به پلیت‌های حاوی محیط کشت آگار اختصاصی منتقل شد. اولین غلظتی از عصاره که در پلیت مربوط به آن رشد مشاهده نشده باشد به‌عنوان MBC در نظر گرفته شد (۱۵).

آنالیز واریانس داده‌ها

آزمایش‌ها سه بار تکرار گردید و برای تجزیه واریانس داده‌ها (ANOVA) با استفاده از نرم‌افزار SAS صورت گرفت و مقایسه میانگین با آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام شد.

یافته‌ها

روش انتشار دیسک

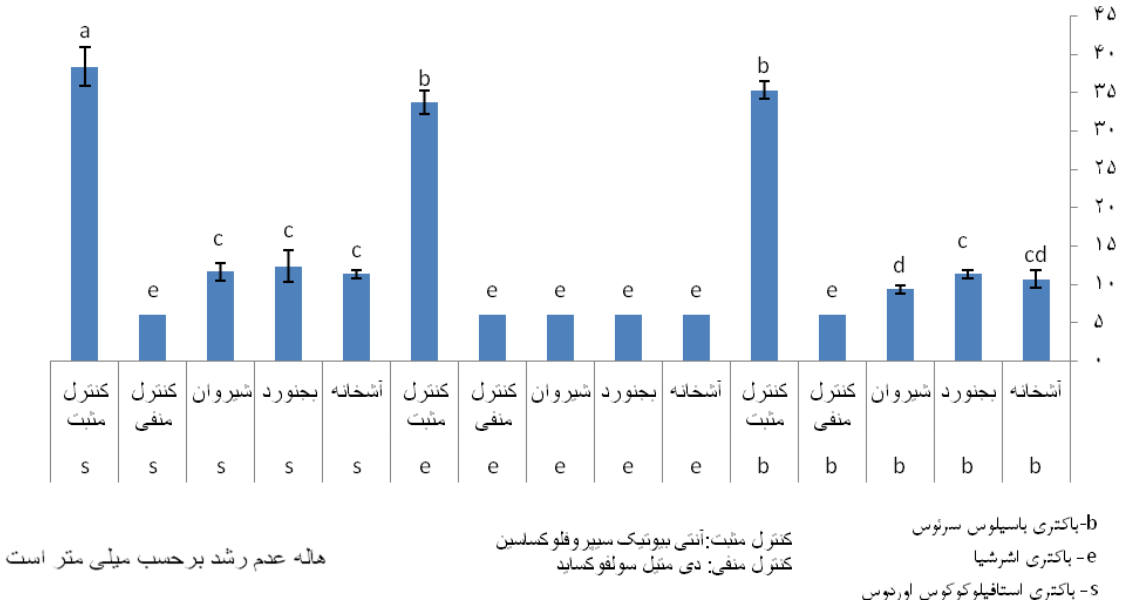
[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2024-04-16]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1400.11.44.6.0]

مقایسه میانگین و انحراف معیار (شکل ۱) نشان داد تفاوت معنی‌داری بین عصاره متانولی گل ماهور اکوتیپ‌های (آشخانه، بجنورد و شیروان) و باکتری‌های (*باسیلوس سرئوس*، *استافیلوکوکوس اورئوس و اشریشیاکلی*) بر قطر هاله عدم رشد در روش دیسک وجود دارد(p=۰/۰۰۰۳). طبق نتایج به‌دست آمده، عصاره گل ماهور سه منطقه (آشخانه، بجنورد و شیروان) بر روی باکتری گرم منفی *اشریشیاکلی* هیچ‌گونه اثر مهاری نداشته و فقط بر روی باکتری های گرم مثبت (*باسیلوس سرئوس و استافیلوکوکوس اورئوس*) اثر ضدباکتریایی از خود نشان داده است که از بین این دو، باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* باز نسبت‌به *باسیلوس سرئوس* در هر سه منطقه (آشخانه، بجنورد و شیروان) هاله بیش‌تری نسبت‌به عصاره‌ها نشان داده که نشان از ضعیف بودن این باکتری و اثر مهاری بالاتر عصاره‌های سه منطقه بر این باکتری است به‌طوری‌که عصاره متانولی گل ماهور منطقه بجنورد، بیش‌ترین هاله عدم رشد را به‌ترتیب بر باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *باسیلوس سرئوس* برابر با ۱۲/۳ و۱۱/۳ میلی‌متر و عصاره متانولی گل ماهور منطقه شیروان و آشخانه کم‌ترین هاله عدم رشد را داشته است (جدول ۱).

جدول ۱. میانگین و انحراف معیار قطر هاله عدم رشد عصاره اکوتیپ‌های مختلف گل ماهور خراسان شمالی به روش دیسک

باکتری	قطر هاله عدم رشد (میلی متر)				
	عصاره متانولی گل ماهور منطقه آشخانه	عصاره متانولی گل ماهور منطقه بجنورد	عصاره متانولی منطقه شیروان	آنتی بیوتیک سیپروفلوکساسین	دی متیل سولفوکساید
استافیلوکوکوس اورئوس	۱۱/۳±۰/۶	۱۲/۳±۲/۱	۱۱/۶±۱/۲	۳۸/۳±۲/۵	۶±۰
باسیلوس سرئوس	۱۰/۶ ±۱/۱	۱۱/۳±۰/۵	۹/۳±۰/۵	۳۵/۳±۱/۱	۶±۰
اشرشیا کلی	۶±۰	۶±۰	۶±۰	۳۳/۶±۱/۵	۶±۰



شکل ۱. مقایسه میانگین خواص آنتی‌باکتری عصاره اکوتیپ‌های مختلف گل ماهور خراسان شمالی به‌روش انتشار دیسک
در هر ستون، میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشابه، اختلاف معنی‌داری درسطح ۵٪ با یکدیگر ندارند (p<۰/۰۵).

روش چاهک

مقایسه میانگین و انحراف معیار (شکل ۲) نشان داد تفاوت معنی‌داری بین عصاره متانولی گل ماهور اکوتیپ‌های (آشخانه، بجنورد و شیروان) و باکتری‌های (*باسیلوس سرئوس*، *استافیلوکوکوس اورئوس و اشریشیاکلی*) بر قطر هاله عدم رشد در روش چاهک وجود دارد (p=۰/۰۰۱۳). طبق نتایج به‌دست آمده، عصاره گل ماهور سه منطقه (آشخانه، بجنورد و شیروان) بر روی باکتری گرم منفی *اشریشیاکلی* هیچ‌گونه اثر مهاری نداشته و فقط بر روی باکتری‌های گرم مثبت (*باسیلوس سرئوس و استافیلوکوکوس اورئوس*) اثر ضدباکتریایی از خود

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2024-04-16]
[DOR: 20.1001.1.22285458.1400.11.44.6.0]

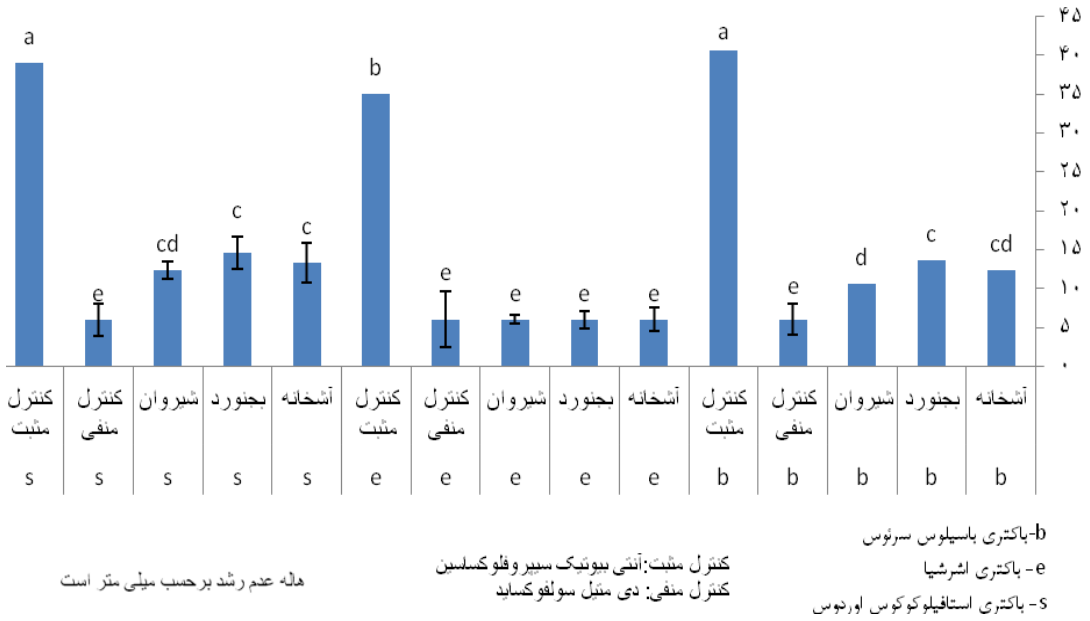
نشان داده است که از بین این دو، باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* باز نسبت‌به *باسیلوس سرئوس* در هر سه منطقه (آشخانه، بجنورد و شیروان) هاله بیش‌تری نسبت‌به عصاره‌ها نشان داده که نشان از ضعیف بودن این باکتری و اثر مهاری بالاتر عصاره‌های سه منطقه بر این باکتری است به‌طوری‌که عصاره متانولی گل ماهور منطقه بجنورد، بیش‌ترین هاله عدم رشد را به‌ترتیب بر باکتری‌های (*استافیلوکوکوس اورئوس* و *باسیلوس سرئوس*) برابر با ۱۴/۶ و۱۳/۶ میلی‌متر و عصاره متانولی گل ماهور منطقه شیروان و آشخانه کم‌ترین هاله عدم رشد را داشته است (جدول۲).

نتایج تعیین حداقل غلظت مهار کنندگی

مقایسه میانگین و انحراف معیار (شکل ۳) نشان داد تفاوت معنی‌داری بین عصاره متانولی گل ماهور اکوتیپ‌های (آشخانه، بجنورد و شیروان) در سطح ۵ درصد (p=۰/۰۲۶۸) و بین باکتری‌های (*باسیلوس سرئوس*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیاکلی*) در سطح ۱ درصد (p=<۰/۰۰۰۱) بر خواص آنتی‌باکتری به روش MIC وجود دارد. نتایج نشان داد بین عصاره متانولی گل ماهور اکوتیپ‌های (آشخانه، بجنورد و شیروان)، عصاره متانولی منطقه بجنورد نسبت‌به سایر عصاره‌ها در غلظت کم‌تر (۱۲/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) توانسته باعث مهار رشد باکتری‌های گرم مثبت گردد که بر *استافیلوکوکوس اورئوس* مؤثرتر است و مانع ادامه رشد آن در غلظت کم‌تر شده است بعد آن عصاره آشخانه و سپس شیروان همین اثر را از خود نشان دادند. ولی بررسی‌ها نشان داد که سه عصاره در بالاترین غلظت نتوانسته باعث مهار رشد باکتری گرم منفی *اشریشیاکلی* گردد (جدول ۳).

جدول ۲. میانگین و انحراف معیار قطر هاله عدم رشد عصاره اکوتیپ‌های مختلف گل ماهور خراسان شمالی به‌روش چاهک پلیت

قطر هاله عدم رشد (میلی‌متر)					
باکتری	عصاره متانولی گل ماهور منطقه آشخانه	عصاره متانولی گل ماهور منطقه بجنورد	عصاره متانولی منطقه شیروان	آنتی بیوتیک سیپروفلوکساسین	دی متیل سولفوکساید
استافیلوکوکوس اورئوس	۱۳/۳±۱/۵	۱۴/۶±۱/۱	۱۲/۳±۰/۶	۳۹±۳/۶	۶±۰
باسیلوس سرئوس	۱۲/۳±۲/۵	۱۳/۶±۲/۹	۱۰/۶±۱/۱	۴۰/۶±۲/۹	۶±۰
اشرشیاکلی	۶±۰	۶±۰	۶±۰	۳۵±۲	۶±۰



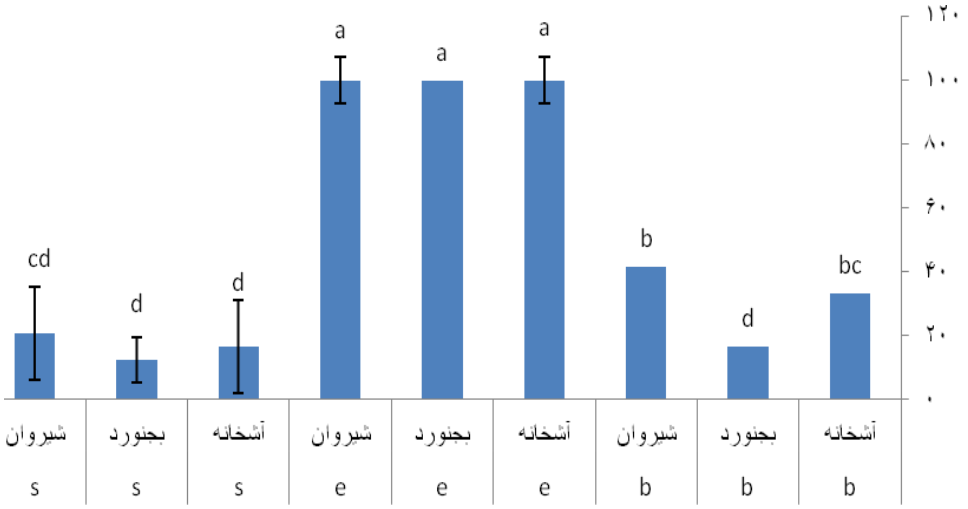
شکل ۲. مقایسه میانگین خواص آنتی‌باکتری عصاره اکوتیپ‌های مختلف گل ماهور خراسان شمالی به‌روش چاهک پلیت
در هر ستون، میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشابه، اختلاف معنی‌داری درسطح ۵٪ با یکدیگر ندارند (p<۰/۰۵).

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2024-04-16]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1400.11.44.6.0]

جدول ۳. میانگین و انحراف معیار حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره اکوتیپ‌های مختلف گل ماهور خراسان شمالی

حداقل غلظت مهارکنندگی (میلی گرم بر میلی لیتر)			
باکتری	عصاره متانولی گل ماهور منطقه آشخانه	عصاره متانولی گل ماهور منطقه بجنورد	عصاره متانولی منطقه شیروان
استافیلوکوکوس اورئوس	۱۶/۶±۷/۲	۱۲/۵±۰	۲۰/۸±۲۸/۸
باسیلوس سرئوس	۳۳/۳±۰	۱۶/۶±۰	۴۱/۶±۰
اشرشیاکلی	۱۰۰±۰	۱۰۰±۰	۱۰۰±۰



b-باکتری باسیلوس سرئوس
e- باکتری اشرشیا
s- باکتری استافیلوکوکوس اورئوس

حداقل غلظت مهارکنندگی برحسب میلی گرم بر میلی لیتر است

شکل ۳. مقایسه میانگین خواص آنتی‌باکتری عصاره اکوتیپ‌های مختلف گل ماهور خراسان شمالی روش MIC
در هر ستون، میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشابه، اختلاف معنی‌داری درسطح ۵٪ با یکدیگر ندارند (p<۰/۰۵).

نتایج تعیین حداقل غلظت کشندگی

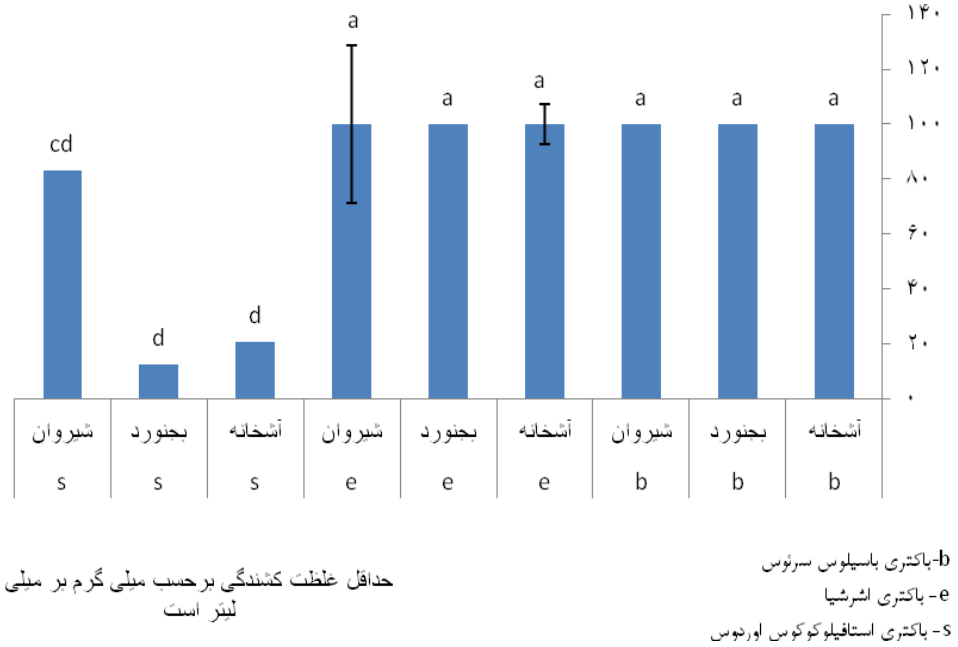
مقایسه میانگین و انحراف معیار (شکل ۴) نشان داد تفاوت معنی‌داری بین عصاره متانولی گل ماهور اکوتیپ‌های (آشخانه، بجنورد و شیروان) و باکتری‌های (*باسیلوس سرئوس*، *استافیلوکوکوس اورئوس و اشریشیاکلی*) بر خواص آنتی‌باکتری به روش MBC وجود دارد. (p=<۰/۰۰۰۱). نتایج نشان داد عصاره متانولی سه منطقه (آشخانه، بجنورد و شیروان)، توانسته فقط بر روی باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* اثر و باعث حذف این باکتری گردد که باز هم اکوتیپ بجنورد در غلظت کم‌تر (۱۲/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) مؤثرتر و بعد آشخانه و در انتها شیروان بهتر عمل نمودند. سه عصاره برای کشتن *باسیلوس سرئوس و اشریشیاکلی* نیاز به غلظت‌های بالاتر از ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر دارند (جدول ۴).

جدول ۴. میانگین و انحراف معیار حداقل غلظت کشندگی عصاره اکوتیپ‌های مختلف گل ماهور خراسان شمالی

حداقل غلظت کشندگی(میلی گرم بر میلی لیتر)			
باکتری	عصاره متانولی گل ماهور منطقه آشخانه	عصاره متانولی گل ماهور منطقه بجنورد	عصاره متانولی منطقه شیروان
استافیلوکوکوس اورئوس	۲۰/۸±۷/۲	۱۲/۵±۰	۸۳/۳±۷/۲
باسیلوس سرئوس	۱۰۰±۱۴/۴	۱۰۰±۷/۲۱	۱۰۰±۱۴/۴
اشرشیا کلی	۱۰۰±۰	۱۰۰±۰	۱۰۰±۰

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2024-04-16]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1400.11.44.6.0]



شکل ۴. مقایسه میانگین خواص آنتی‌باکتری عصاره اکوتیپ‌های مختلف گل ماهور خراسان شمالی به روش MBC در هر ستون، میانگین های دارای حداقل یک حرف مشابه، اختلاف معنی‌داری درسطح ۵٪ با یکدیگر ندارند ($p<۰/۰۵$).

بحث

نتایج مطالعه ما بر روی عصاره متانولی گیاه گل ماهور اکوتیپ‌های (آشخانه، بجنورد و شیروان) مشخص کرد که عصاره متانولی این گیاه اثر ضد باکتری بر روی باکتری‌های *(باسیلوس سرئوس و استافیلوکوکوس اورئوس)* داشته است. مقایسه نتایج ما نشان داد بین اکوتیپ‌های مختلف، منطقه بجنورد بیش‌ترین هاله عدم رشد را در روش‌های دیسک و چاهک و حداقل غلظت مهارکنندگی و کشندگی را داشته است.

Amirnia و همکاران (۲۰۱۱) با مطالعه‌های خود بر روی خواص ضدباکتری گل ماهور گونه *V.Speciosum* بر سه گونه باکتری *(Bacillus subtilis, Bacillus cereus, Escherichia coli)* گزارش کردند که عصاره آبی و اتانولی این گونه در تمام غلظت‌های اعمال شده خاصیت ضدباکتری نشان می‌دهد و با افزایش غلظت، این خاصیت نیز افزایش می-یابد (۱۶). نتایج به‌دست آمده از تحقیق ما نیز اثر ضدباکتری گیاه گل ماهور بر گونه *Bacillus cereus* را نشان می‌دهد ولی با اثر ضدباکتری *Escherichia coli* مطابقت ندارد که این اختلاف به‌احتمال ناشی از نوع گونه، مکان جغرافیایی و نوع حلال به‌کار رفته بوده است.

Senatore و همکاران (۲۰۰۷) نشان دادند که گونه *V. sinuatum* بیش‌ترین بازدارندگی را در برابر باکتری‌های گرم مثبت نشان می‌دهد اما در برابر باکتری‌های گرم منفی، پتانسیل بازدارندگی کم‌تری دارد (۱۷). که در نتایج ما نیز باکتری گرم منفی مقاومت بیش‌تری نسبت‌به سایر باکتری‌های گرم مثبت از خود نشان داد.

هم‌چنین Karamian و همکاران (۲۰۱۳) تأثیر عصاره متانولی گل ماهور گونه‌های *V.Speciosum* ,*V.sinuatum* و *V. nudicaule* بر باکتری گرم مثبت *باسیلوس سرئوس* را مورد آزمایش قرار دادند که نتایج آن‌ها برای حداقل غلظت بازدارندگی برابر با mg/ml ۱۴، ۱۱ و۱۱ بوده است (۱۸) که نتایج این محققین با مطالعه‌های ما مطابقت دارد و حداقل غلظت بازدارندگی عصاره متانولی گل ماهور منطقه بجنورد برابر با mg/ml ۱۶ است.

در مطالعه Rozman و همکاران (۲۰۰۹) اثر عصاره رزماری روی گونه‌های مختلف لیستریا را بررسی شد و MIC بین ۶۲۵ تا ۵۰۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر به‌دست آمد .هم‌چنین در این مطالعه مشخص شد مقاومت لیستریا به عصاره رزماری، به عصاره انتخاب شده، گونه‌های مختلف لیستریا و غلظت‌های مختلف عصاره بستگی دارد (۱۹).

نتایج حاصل از مطالعه Pierre Bernat (۲۰۱۸) نشان داد که اسانس گیاه مرزنگوش اثر ممانعت کننده قوی بر روی *اشریشیاکلای* داشت و اغلب *اشریشیاکلای*های جدا شده در

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2024-04-16]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1400.11.44.6.0]

رقت ۴۰۰ (چاهک سوم) از بین رفتند. با توجه‌به این مطالعه و پژوهش های قبلی به‌عمل آمده گیاه مرزنگوش به‌دلیل دارا بودن اجزا ترپنی مثل کارواکرول وتیمول می‌تواند به‌عنوان یک داروی آنتی‌باکتریال در آینده استفاده شود (۲۰).

در سال ۲۰۰۷ در تحقیقی که Fu بر روی اثرهای ضدمیکروبی اسانس رزماری انجام داد، مشخص کرد که میزان هاله عدم رشد این اسانس بر روی باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* برابر با ۱۸ میلی متر و MIC برابر ۰/۱۲۵ است (۲۱).

Kiaei و همکاران (۲۰۱۱) تأثیر عصاره اتانولی گزنه را بر باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* مورد بررسی قرار دادند و نشان دادند این گیاه دارای خاصیت ضدباکتریایی علیه باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* است (۲۲).

گیاه گل ماهور حاوی فلاونوئید بوده که بهترین حلال برای استخراج فلاونوئیدها متانول است (۲۶،۲۵،۲۴،۲۳،۲۷). از طرفی، عصاره‌های متانولی علاوه‌بر فلاونوئیدها، آلکالوئیدها، ساپونین‌ها، تانن‌ها، آنتراکینون-ها، ترپن‌ها را نیز ااستخراج می‌کنند (۳۰،۲۹،۲۸) به‌نظر می‌رسد که خواص ضدمیکروبی عصاره-های متانولی را می‌توان به‌طورکلی به‌حضور متابولیت-های ثانویه به‌خصوص در درجه اول فلاونوئیدها، در درجه دوم ترپن‌ها و در درجه سوم به ساپونین‌ها نسبت داد (۳۱،۳۰،۲۹).

در مطالعه ما بین سه باکتری، باکتری *اشریشیاکلی* به‌عنوان قوی‌ترین باکتری (به‌خاطر تفاوت در دیواره سلولی باکتری-های گرم مثبت و منفی و نفوذپذیری سخت دیواره گرم منفی‌ها به ترکیب‌های خارجی) با کم‌ترین هاله عدم رشد مشاهده شد. همان‌گونه که در قسمت نتایج مشخص گردید عصاره متانولی برگ و گل این گیاه اثرهای قابل توجهی علیه باکتری‌های گرم مثبت از جمله *استافیلوکوکوس آرئوس و باسیلوس سرئوس* داشته و بر باکتری گرم منفی *اشریشیا* این تأثیر ضعیف‌تر بوده است، لیپو پلی‌ساکاریدهای دیواره سلولی به‌احتماا مانع از رسیدن ترکیبهای فعال اسانس و عصاره به غشای سیتوپلاسمی در باکتری‌های‌گرم منفی می‌شوند (۳۲،۲۸،۲۳). به‌طورکلی فرآورده‌های گیاهی منجر به گرانوله شدن سیتوپلاسم (۳۳)، گسیختگی غشای سیتوپلاسمی (۳۵،۳۴)، غیرفعال شدن یا ممانعت از فعالیت آنزیم‌های درون سلولی و برون سلولی (۳۶) و متلاشی شدن دیواره سلولی می‌شوند (۳۷) که این نتایج با یافته‌های محققان دیگر نیز مطابقت دارد (۳۸،۲۹،۲۳).

نتیجه‌گیری

نتایج این برسی نشان داد اکوتیپ‌های مختلف عصاره گل ماهور مناطق (آشخانه، بجنورد و شیروان) و هم‌چنین نوع باکتری در تشکیل هاله عدم رشد، حداقل غلظت مهارکنندگی و کشندگی تأثیرگذار است که در بین اکوتیپ‌های مختلف، منطقه بجنورد بیش‌ترین قطر هاله عدم رشد را در باکتری‌های *(باسیلوس سرئوس و استافیلوکوکوس اورئوس)* و حداقل غلظت مهارکنندگی و کشندگی را باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* داشت که می‌تواند به‌دلیل شرایط اقلیمی، ارتفاع، زمان برداشت و نوع باکتری باشد و از آنجا که اثرهای ضدباکتریایی عصاره گل ماهور در تحقیقات برروی گونه *باسیلوس سرئوس و استافیلوکوکوس اورئوس* به اثبات رسیده است، بنابراین جمع-آوری سایر اکوتیپ‌های گیاه گل ماهور، روش‌های مختلف عصاره‌گیری، استفاده از حلال‌های قطبی و غیر قطبی، استفاده از عصاره در درمان عفونت‌ها، جهت حفظ و نگهداری مواد غذایی و در داروسازی به‌عنوان عامل درمانی جدید علیه بیماری‌ها و عفونت‌های میکروبی قابل توصیه است.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله از سازمان منابع طبیعی و آبخیزداری ،دانشگاه علوم پزشکی و مرکز تحقیقات فرآورده‌های طبیعی و گیاهان دارویی خراسان شمالی که در جمع‌آوری گیاه و اجرای طرح یاری نمودند کمال سپاس و تشکر را دارم.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2024-04-16]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1400.11.44.6.0]

منابع

1. Omidbaigi R. Production and processing of medicinal plants. Astan Godesa Razavei Pub; 2005.link

2. Zargari A,Medicinal plants,Tehran:Tehran Univ Pub;1989.Vol.3P.527-8[persian].link

3. Mirhaidar H. Plant sciences, Nashre Farhange Eslami.2005; 418-423 (Persian).

4. Blumenthal, M., Goldberg, A. and Brinckmann, J., 2000. Herbal Medicine: Expanded Commission Emonographs. Integrative Medicine Communications, 519p.link

5. Turker, A.U. and Gurel, E., 2005. Common mullein (*Verbascum thapsus* L.): recent advances in research. Phytotherapy Research, 19: 733-739. DOI:10.1002/ptr.1653

6. Armatu, A., Bodirlau, R., Nechita, C.B., Niculaua, M., Teaca, C.A., Ichim, M. and Spiridon, I., 2011. Characterization of biological active compounds from *Verbascum phlomoides* by chromatography techniques. I. Gas chromatography. Romanian Biotechnological Letters, 16(4): 6297-6304.link

7. Tatli I,Akdemir Z,Chemical constituents of *Verbascum L*, Species, Fabad J Pharm Sci. 2004;29:93-107.link

8. Hamburger M, Hostettmann K. 7. Bioactivity in plants: the link between phytochemistry and medicine. Phytochemistry. 1991; 30(12): 3864-3874. doi.org/10.1016/0031-9422(91)83425-K

9. Mcadam AJ, Hooper DC, DeMaria A ,Limbago BM, O'Brien TF, McCaughey B .Antibiotic resistance how serious is the problem and what can be done? Lab Med2013;3:124-7. PMID: 22634378 doi: 10.1373/clinchem 2011.181636.

10. Hanberger H, Walther S, Leone M, Barie PS, Rello J, Lipman J, et al. Increased mortality associated with meticillin resistant Staphylococcus aureus infection in the intensive care unit results from the EPIC II study. Int JAntimicrob Age 2011;38:331-5. PMID: 21798720 doi:10.1016/j.ijantimicag.2011.05.013.

11. Yano Y, Satomi M, Oikawa H. Antimicrobial effect ofspices and herbs on Vibrio parahaemoleticus. Int J Foo Microbiol. 2006;111(1):6-11.

12. Chaudhry NMA, Tariq P. Anti-microbial activity of Cinnamomum Cassia against diverse microbial flora with
itsnutritional and medicinal impacts. Pak J Bot. 2006; 38(1):169-74.

13. EBADI M, SRINIVASAN SK, BAXI MD. Oxidative stress and antioxidant therapy in Parkinson's disease, Progress in neurobiology 1996; 48: 1-19.

14. Sharifi A, Seifi T, Mohammadzadeh A, Hammoun Navard S, Pajohialamoti MR. [Antibacterial activity of alcoholic extract of *ferulagoangolata*]. JIUMS 2015;23:202-8. (Persian).link

15. Zarghami Moghaddam, P., Mohammadi, A., Feyzi, P. and Alesheikh, p. *In vitro* antioxidant and antibacterial activity of various extracts from exocarps and endocarps of walnut , Pak J Pharm Sci. 2017 Sep;30(5):1725-1731. PMID: 29084695

16. Amirnia, R., Khoshnud, H., Alahyay, P., Ghiyasi, M., Tajbakhsh, M. and Valizadegan, O. 2011. Antimicrobial activity of *Verbascum speciosum* against three bacteria strains. *Fresenius Environmental Bulletin*, 20: 690-693.link

17. Senatore, F., Rigano, D., Formisano, C., Grassia, A., Basile, A. and Sorbo, S., 2007. Phytogrowth-inhibitory and antibacterial activity of *Verbascum sinuatum*. *Fitoterapia*, 78:244-247. DOI:10.1016/j.fitote.2006.11.010

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2024-04-16]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1400.11.44.6.0]

18. Karamian, R. and Ghasemlou, F. 2013. Total phenolic content, antioxidant and antibacterial activities of three Verbascum species from Iran. *Medicinal Plants and By- Products*, 2(1): 43-51. DOI: 10.22092/jmpb.2013.108489

19. Rožman T, Jeršek B. Antimicrobial activity of rosemary extracts (*Rosmarinus officinalis L.*) against different species of Listeria. Acta agriculturae Slovenica. 2009;93(1):51-8. DOI:10.2478/v10014-009-0007-z

20. Pierre Bernat (2018). "Steps of preparation of *Origanum vulgare* essential oil and investigation of its antibacterial properties against Escherichia coli." Veterinary Laboratory Research 10 (Special Issue No. 2 of the Twelfth Iranian Veterinary Congress): 218-218.

21. Fu Y, Zu Y, Chen L, Shi X, Wang Z,Sun S, et al. Antimicrobial activity of clove and *rosemary* essential oils alone and in combination. Phytotherapy research : PTR.2007;21(10):989-94. PMID: 17562569 DOI: 10.1002/ptr.2179

22. Kiaei A, Mazandarani M, Ghaemi A. Effect of ethanolic extract of 7 species of medicinal plant against isolated bacteria Of Patients with Urinary Tract Infection in Gorgan. 2011; 9(34): 74-83. (Persian).link

23. Duraipandiyan V, Ayyanar M, Ignacimuthu S. Animicrobial Activity of Some Ethnomedicinal Plants Used by Paliyar Tribe from Tamil Nadu, India. BMC Complement Altern Med 2006;6:35. doi.org/10.1186/1472-6882-6-35

24. Mary Tolulope O. Cytotoxicity and Antibacterial Activity of Methanolic Extract of *Hibiscus Sabdariffa*. J Med Plan Res 2007;1(1):9-13.link

25. Nazemi A, Hashemi M, Khatamineghad MR, Pourshamsiyan K. The Effect of Antimicrobial of Methanol and Aqueous Extracts on *Heracleum Persicum*. Islamic Azad Univer of Med Scien J 2005;15(2):91-94. [Full Text in Persian].link

26. Ojo OO, Ajayi AO, Anibijuwon II. Antibacterial Potency of Methanol Extracts of Lower Plants. J Zhejiang Univ Sci B 2007;8(3):189-191. PMID: 17323431 doi: 10.1631/jzus.2007.B0189

27. Sokmen A, Sokmen M, Daferera D, Polissiou M, Candan F, Unlu M, Akpulat HA. The in Vitro Antioxidant and Antimicrobial Activities of the Essential Oil and Methanol Extract of *Achillea Biebersteini Afan.* (Asteraceae). Phytother Res 2004;18(6):451-6. PMID: 15287068 DOI: 10.1002/ptr.1438

28. Olaleye M. Cytotoxicity and Antibacterial Activity of Methanolic Extract of *Hibiscus Sabdaviffa*. J Med Plan Res 2007;1(1):9-13.link

29. Mothana R, Lindequist U, Geraenert R, Bednarski P. Studies of the in Vitro Anticancer, Antimicrobial and Antioxidant Potentials of Selected Yemeni Medicinial Plants from the Island Soqotra. BMC Complement Altern Med 2009;9:7.PMID: 19320966 DOI: 10.1186/1472-6882-9-7

30. Stojanovic G, Radulovic N, Hashimoo T, Palic R. In Vitro Antimicrobial Activity of Extracts of four Achillea Species:The Composition of *Achillea Clavennae L*. (Asteraceae) Extract. J Etnopharmacol 2005;101(1-3):185-190.
PMID: 15978758 DOI: 10.1016/j.jep.2005.04.026

31. Eleyinmi AF. Chemical Composition and Antibacterial of Gongronema Latifolium. J Zhejiang Univ Sci B 2007;8(5):352-358. [doi:10.1016/S0308-8146(99)00207-1]

32. Mckeegan KS, Borges Walmsley MI, Walmsley AR. Microbial and Viral Drug Resistance Mechanisms. Tends Microbiol 2002;10:85-745. doi.org/10.1016/S0966-842X(02)02429-0

33. Cox SD, Mann CM, Markam JL. The Mode of Antimicrobial Action of the Essential Oil of *Melaleuca Alternifolia*(Tea Tree oil). J Appl Microbiol 2002;88:770-75. PMID: 10735256 DOI: 10.1046/j.1365-2672.2000.00943.x

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2024-04-16]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1400.11.44.6.0]

34. Caccioni DLR, Guizzardi Biondi DM, Renda A, Roberto G. Relationships between Volatile Components of Citrus Fruit Essential Oil and Antimicrobial Action on Pencillium Digitatum and Penicillium Italicum. Inter J Food Microbial 2000;88:770-75. PMID: 9761340 DOI: 10.1016/s0168-1605(98)00099-3

35. Jurven BJ, Kanner J, Sched F, Weisslowics H. Factors that Interact with the Antibacterial of Thyme and Essential Oil and Its Active Constituents. J Appl Microbiol 1994;76:626-31. DOI:10.1111/j.1365-2672.1994.tb01661.x

36. Brull S, Coote P. Preservative Agents in Foods Mode of Action and Microbial Resistance Mechanisms. Inter J Food Microbiol 1999;50:1-17. PMID: 10488839 DOI: 10.1016/s0168-1605(99)00072-0

37. Kraft K, Hobbs C. Pocket Guide to Herbal Medicine. New York: Thieme Stuttgart; 2004. p. 61-62.link

38. Komailizadeh H, Hakemivala M, Kamalineghad M, Neshatashofteh S. The Effect of Antimicrobial of *Triticum Sativum Lam*. Chemical and Aqueous Extracts on Gram-Negative and Gram-Positive Bacteria. J Med Plan 2008;4(28):105-111. link

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2024-04-16]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1400.11.44.6.0]