مقاله پژوهشی

# بررسی اثرات زیست بوم برفعالیت ضد میکروبی عصاره گیاهان دارویی بومی استان فارس

**عبدالرسول ذاکرین [۱]، الهه احمدی [۱*]، مهدی فصیحی رامندی [۲]، سارا عبداللهی [۳]، علیرضا مولا زاده [۳]، سمیه جعفری [۳]، قادر الهوردی [۴]، سید امین کوهپایه [۵]، محمد حسن مشکی باف [۴]**

۱- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد جهرم، گروه مهندسی کشاورزی، جهرم، ایران.
۲- دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله، دانشکده پزشکی، مرکز تحقیقات بیولوژی مولکولی، تهران، ایران.
۳- گروه میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی فسا، فسا، ایران.
۴- گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی فسا، فسا، ایران.
۵- گروه فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی فسا، فسا، ایران.

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۳/۱۰/۳۰ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۴/۰۱/۳۰

## چکیده

**زمینه و هدف:** شرایط اکولوژیک، بر تولید مواد مؤثر دارویی گیاهان تاثیرگذار است. هدف از این مطالعه بررسی تاثیرات شرایط اکولوژیک رویشگاه بر اثرات آنتی باکتریال گیاهان دارویی است.

**مواد و روش‌ها:** فعالیت ضد باکتریایی عصاره هیدروالکلی ۸ گیاه دارویی از دو منطقه سپیدان و فسا شامل: زنیان، بوزیدان، برگ بو، زیره سیاه، کاکوتی، رزماری، آویشن پهن و اسطوخودوس، به روش انتشار از دیسک، چاهک‌گذاری و تعیین حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد مورد بررسی قرار گرفت. داده‌های اقلیمی از ایستگاه هواشناسی سینوپتیک دو منطقه، استخراج و با نتایج به دست آمده، مقایسه شد.

**نتایج:** در مقایسه با استاندارد آنتی بیوتیکی، اثرات آنتی باکتریال علیه *S. aureus* در گیاهان فسا، زنیان، آویشن شیرازی، برگ بو و رزماری با بیشترین اثر و زیره سیاه با کمترین اثر؛ در گیاهان سپیدان زنیان، آویشن شیرازی و رزماری با بیشترین اثر و زیره سیاه با کمترین اثر؛ اثرات آنتی باکتریال علیه *E.coli*، در گیاهان فسا، آویشن شیرازی با بیشترین اثر و زیره سیاه و اسطوخودوس با کمترین اثر و در گیاهان سپیدان، زنیان با بیشترین اثر و زیره سیاه، اسطوخودوس و برگ بو با کمترین اثر و اثرات آنتی باکتریال علیه *P.aeroginosa* در گیاهان فسا، آویشن شیرازی و کاکوتی با بیشترین اثر و زیره سیاه با کمترین اثر و در گیاهان سپیدان آویشن شیرازی با بیشترین اثر و زیره سیاه با کمترین اثر، را داشتند.

**نتیجه‌گیری:** با توجه به وجود تفاوت در اثرات آنتی باکتریال عصاره‌های دو اقلیم، پیشنهاد می‌شود که محققین علوم مرتبط نگاهی دقیق‌تر به تاثیرات مذکور در مطالعات داشته باشند.

کلمات کلیدی: **مواد مؤثر دارویی ، عصاره هیدروالکلی، اثرات آنتی باکتریال**

## مقدمه

امروزه استفاده از فراورده‌های دارویی مشتق از گیاهان دارویی رو به افزایش است. گیاهان دارویی مخازن غنی از مواد مؤثره اولیه بسیاری از داروها می‌باشند که عمدتا متابولیت‌های ثانویه گیاه محسوب می‌شوند. مواد مذکور اگر چه اساسا با هدایت فرآیندهای ژنتیکی ساخته می‌شوند ولی ساخت آن‌ها به طور بارزی تحت تاثیر عوامل محیطی قرار می‌گیرد به طوری که عوامل محیطی سبب تغییراتی در رشد گیاهان دارویی و نیز در مقدار و کیفیت مواد مؤثره می‌گردد (۱).

یکی از مهم ترین اهدافی که در مورد گیاهان دارویی مدنظر است، بررسی شرایط گوناگون اقلیمی که منجر به افزایش میزان

* **نویسنده مسئول: الهه احمدی**، دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم، گروه مهندسی کشاورزی، جهرم، ایران. تلفن: ۰۹۳۵۴۴۸۹۱۸۲
Email: e_ahmadi1980@yahoo.com

[ Downloaded from journal.fums.ac.ir on 2024-03-28 ]
[ DOR: 20.1001.1.22285105.2015.5.1.15.0 ]

تولید ماده مؤثره توسط گیاه می‌شود، خواهد بود؛ دلیل این اهمیت بهره وری اقتصادی در صنعت دارویی است (۲). عواملی چون درجه حرارت، میزان بارندگی، شدت نور و ارتفاع از سطح دریا که تعیین کننده اقلیم یک منطقه هستند، از جمله مهمترین عوامل محیطی تاثیرگذار در تولید و تجمع متابولیت‌های ثانویه هستند (۳ و ۴).

بروز مقاومت‌های دارویی علیه آنتی بیوتیک‌ها و گسترش جهانی این معضل و همچنین، توانایی باکتری‌ها در ایجاد عفونت‌های حاد، سبب شده است پژوهشگران تلاش فراوانی را برای یافتن داروهای جدید ضد میکروبی انجام دهند (۵ و ۶)؛ پژوهش‌های نوین نشان داده‌اند که برخی از گیاهان دارویی که در پزشکی سنتی مورد استفاده قرار می‌گیرند اثرات ضد باکتری موثری دارند (۸-۷ و ۱۱-۱۰).

هدف از این مطالعه، بررسی اثرات زیست بوم بر خواص ضد میکروبی عصاره گیاهان دارویی بومی استان فارس در دو منطقه‌ی سپیدان (با آب و هوای سرد کوهستانی) و فسا (با آب و هوای گرم و خشک) می‌باشد. در این مطالعه اثرات ضد باکتریایی عصاره هیدروالکلی ۸ گیاه شامل: آویشن برگ باریک (کاکوتی) *Ziziphora clinopodiodes* L.، آویشن شیرازی *Zataria multiflora*، رزماری (اکلیل کوهی) *Rosmarinus officinalis* L.، اسطوخودوس *Lavendula angustifolia*، برگ بو *Laurus nobilis* L.، بوزیدان *Withania somnifera*، زنیان *Carum copticum* L. و زیره سیاه *Carum carvi* L.، در مقایسه با آنتی بیوتک‌های استاندارد و رایج درمانی در بالین، علیه سویه‌های استاندارد باکتریایی استافیلوکوکوس اورئوس، سودوموناس آئروژینوزا و اشریشیاکلی در شرایط آزمایشگاهی، با تاکید بر روش‌های استاندارد، بوده است (۹). شایان ذکر است که، اثرات ضد میکروبی این گیاهان به صورت تجربی در مطالعات بسیاری گزارش شده است.

## مواد و روش‌ها

**تهیه نمونه‌های گیاهی:** در این مطالعه گیاهان رزماری (برگ)، اسطوخودوس (گل‌های خشک بدون پایه)، زیره سیاه (میوه)، بوزیدان(ریشه)، زنیان (میوه)، برگ بو (برگ)، آویشن شیرازی و آویشن باریک (سرشاخه‌ها و برگ خشک شده)، از دو منطقه مختلف استان، با شرایط اقلیمی و آب و هوایی متفاوت، در اردیبهشت ماه سال ۱۳۹۳ جمع آوری و با استفاده از کتب مرجع و سایت‌های معتبر علمی دانشگاهی مورد تایید و شناسایی قرار گرفتند و پس از خشک شدن در جای خنک و تاریک، توسط دستگاه آسیاب برقی خرد گردیدند.

**تهیه عصاره گیاهی:** جهت عصاره گیری، از روش ماسراسیون (خیساندن) هیدرو – الکلی استفاده شد. بدین منظور ۵۰ گرم از پودر خشک شده گیاه را به ۲۰۰ میلی لیتر اتانول ۷۰ درصد افزوده و به مدت ۷۲ ساعت بر روی دستگاه تکان دهنده (IKA, Germany)، با سرعت ۹۰ دور در دقیقه قرار گرفت؛ سپس با استفاده از گاز استریل تفاله‌های موجود از عصاره حذف گردید. عصاره حاصل را در لوله‌های فالکون ۵۰ میلی لیتری تقسیم کرده و با دور ۴۰۰۰ در دقیقه، به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ (Sigm, Germany) نمودیم و محلول رویی را جهت استفاده در مراحل بعدی جمع آوری کردیم. با استفاده از کاغذ صافی واتمن (Watmann 0.5 mm, USA) و قیف بوخنر (Millipore)، تحت شرایط مکش توسط پمپ خلاء، عصاره کاملاً صاف شد و مواد اضافی حذف گردید. عصاره حاصل، توسط دستگاه تقطیر در خلاء چرخان (Seneco, China)، تحت فشار منفی در دمای ۴۰ درجه سلسیوس تغلیظ و حلال الکلی به طور کامل از عصاره جدا شده و حجم نهایی عصاره توسط آب مقطر به ۲۵ میلی لیتر رسانده شد.

**تعیین وزن خشک عصاره‌ها:** جهت به دست آوردن وزن مخصوص عصاره‌ها و استاندارد کردن روش، ابتدا برای هر عصاره به طور جداگانه یک لوله خالی توسط ترازوی دیجیتالی حساس وزن شد. سپس از هر کدام از عصاره‌ها ۲۵ میلی لیتر به هر لوله اضافه شد. پس از قرار دادن ۴۸ ساعته لوله ها در ۶۰ درجه سلسیوس عصاره‌ها کاملاً خشک شده، سپس لوله مربوط به هر کدام از عصاره‌ها مجدداً توزین گردیده و با کم کردن وزن لوله‌های خالی، وزن خشک عصاره‌های الکلی در میلی لیتر به دست آمد. جهت بررسی اثرات عوامل ضد میکروبی و استاندارد کردن روش، ۵۰۰ میلی گرم از ماده خشک هر عصاره در ۲۵۰۰ میکرولیتر آب مقطر استریل حاوی ۵٪ دی متیل سولفوکساید حل شد و فیلتراسیون توسط فیلتر میکروبی انجام گردید. عصاره حاصل، درون ظروف استریل درپوش دار، تا زمان انجام آزمایشات، در یخچال در دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری گردید.

[ Downloaded from journal.fums.ac.ir on 2024-03-28 ]
[ DOR: 20.1001.1.22285105.2015.5.1.15.0 ]

**بررسی اثرات ضد میکروبی:** اثر ضد باکتریایی عصاره‌های گیاهی به سه روش انتشار از دیسک در آگار[1]، تهیه رقت‌های متوالی در محیط براث[2] و چاهک گذاری[3] بررسی شد. از سویه‌های *Ps. aeroginosa* PTCC 1310 ، *S.aureus* PTCC 1431 و *E. coli* PTCC 1399 به عنوان سویه‌های استاندارد استفاده شد. جهت حصول اطمینان از هر یک از غلظت‌های مختلف عصاره الکلی، این آزمایش‌ها برای هر سویه باکتریایی سه بار تکرار شد و نتایج آن به صورت میانگین محاسبه شد.

**تهیه سوسپانسیون میکروبی:** برای تهیه سوسپانسیون میکروبی یک تا چند کلونی از میکروارگانیسم به لوله آزمایش استریل حاوی ۵ میلی لیتر سرم فیزیولوژی استریل اضافه شده و توسط مخلوط کن دوار[4](Labtron, Iran)، هم زده می‌شود. سپس جذب نوری این سوسپانسیون در طول موج ۶۲۰ nm توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در مقابل بلانک سرم فیزیولوژی تنظیم می‌شود تا کدورتی معادل استاندارد ۰/۵ مک فارلند ($10^8$ cuf/ml × ۱/۵) داشته باشد.

روش‌های نفوذی مورد استفاده در این تحقیق روش انتشار از دیسک و روش چاهک گذاری بوده است. جهت بررسی در روش انتشار در آگار، غلظت‌های ۲۰، ۳۰، ۴۰ و ۵۰ میکروگرم از عصاره گیاهی (مطابق با غلظت‌های استاندارد آنتی بیوتیک)، بر روی دیسک‌های بلانک تزریق شدند؛ سپس دیسک‌ها به مدت ۲ ساعت در زیر اشعه ماورای بنفش قرار گرفتند تا استریل شوند. از این دیسک‌ها در روش انتشار از دیسک استفاده گردید. به منظور استاندارد سازی روش، از دیسک‌های آنتی بیوگرام تهیه شده از شرکت پادتن طب- ایران استفاده گردید.

به وسیله انتهای پیپت پاستور چاهک‌هایی در محیط مولر هینتون آگار تعبیه گردید و به میزان ۱۰، ۲۰ و ۳۰ میکروگرم از عصاره گیاهان مورد بررسی، در آن‌ها ریخته شد؛ از آن جایی که عصاره‌ها دارای رنگ بودند، با توجه به انتشار رنگ در محیط می‌توانستیم انتشار عصاره را نیز ردیابی نماییم. با حفظ شرایط استاندارد در انجام تست‌های حساسیتی، از سوسپانسیون استاندارد ۰/۵ مک فارلند هر سویه به طور جداگانه به روش کشت چمنی بر روی محیط، کشت داده شد و پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون پلیت‌ها که به طور وارونه در گرم‌خانه ۳۷ درجه سلسیوس قرار داشتند، قطر هاله‌های عدم رشد به طور دقیق اندازه گیری شدند.

**روش رقیق سازی:** در این روش پس از اضافه کردن غلظت عصاره اولیه (۱۰۰۰ میلی گرم از عصاره در ۱ میلی لیتر آب مقطر استریل) به ۱ میلی لیتر محلول مولر هینتون براث، رقت‌های متوالی ۵۰۰، ۲۵۰، ۱۲۵، ۶۲/۵، ۳۱/۲۵، ۱۵/۶۲ و ۷/۸ میلی گرم از عصاره گیاهی تهیه گردید؛ مشابه با روش انتشار از دیسک و طبق استاندارد CLSI (با روش کدورت سنجی استاندارد نیم مک فارلند)، از سوسپانسیون باکتری به رقت‌های تهیه شده افزوده گردید. محیط‌های حاوی باکتری و عصاره گیاهی به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سلسیوس قرار داده شد. حداقل غلظت مهارکنندگی رشد (MIC) تعیین شد. در کنار لوله‌ها از کنترل مثبت (لوله شماره ۸، شامل محیط کشت حاوی باکتری، بدون عصاره)، و کنترل منفی (لوله شماره ۹، محیط کشت حاوی عصاره، بدون باکتری) استفاده گردید.

**تعیین مقدار ترکیبات فنولی تام عصاره‌ی گیاهان :** اندازه گیری محتوای فنل کل عصاره‌ها به روش Seevers and Daly و با استفاده از معرف فولین سیوکالتیو انجام گرفت در این سنجش از گالیک اسید به عنوان استاندارد استفاده گردید و منحنی استاندارد آن رسم شد. سپس با استفاده از معادله خط حاصل، محتوای فنل کل عصاره‌ها تعیین گردید (۱۲).

**بررسی تأثیرات فشار اسمزی بر باکتری‌ها:** برای مشخص کردن اثرات و تغییرات اسمتیک در محیط کشت بر روی باکتری‌ها، از پودر پلی اتیلن گلیکول، استفاده شده است. این ماده به عنوان کنترلی جهت بررسی تغییرات اسمتیک در آزمایشات، به کار می‌رود (۱۳).

**پارامترهای آب و هوایی:** با مراجعه به ایستگاه هواشناسی شهرستان های فسا و سپیدان، اطلاعات مربوط به نزدیک ترین ایستگاه سینوپتیک در هر منطقه استخراج گردید.

1. Agar disk diffusion
2. Broth dilution prepared
3. Well established
4. Vortex mixer

[ Downloaded from journal.fums.ac.ir on 2024-03-28 ]
[ DOR: 20.1001.1.22285105.2015.5.1.15.0 ]

## نتایج

اثرات ضد باکتریال گیاهان بعد از ۲۴ ساعت بررسی شد. بر این اساس، در روش انتشار از دیسک و چاهک گذاری طبق اندازه بزرگترین قطر هاله ممانعت از رشد مؤثرترین عصاره در خصوص باکتری استافیلوکوکوس اورئوس، سودوموناس آئوژینوزا و اشریشیاکلی، مربوط به گیاهان آویشن شیرازی و زنیان بوده است.

نتایج MIC نیز بر اساس حداقل غلظت ممانعت از رشد دلالت بر مؤثرترین اثرات ضد باکتریایی گیاهان آویشن شیرازی، زنیان، رزماری و برگ بو، علیه باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس، اشریشیا کولی و سودوموناس آئوژینوزا، بوده است.

بر اساس مقایسه قطر هاله ممانعت از رشد و MIC، بیشترین تأثیر آنتی باکتریال گیاهان بدین شرح بوده است: زنیان سپیدان (۴۰ میلی متر- ۷/۸ میکروگرم) علیه استافیلوکوکوس اورئوس، آویشن شیرازی فسا (۲۵ میلی متر- ۷/۸ میکروگرم) علیه سودوموناس آئروژینوزا و آویشن شیرازی (۲۳ میلی متر- ۷/۸ میکروگرم) علیه اشریشیاکلی؛ شایان ذکر است که بیشترین اثرات، بر اساس قطر هاله ممانعت از رشد و حداقل غلظت مهارکنندگی، مربوط به گیاه زنیان شهرستان سپیدان بر روی باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس بوده است. در مقایسه کلی سه روش انجام شده، بیشترین اثر آنتی باکتریال علیه استافیلوکوکوس اورئوس، اشریشیاکلی و سودوموناس آئوژینوزا، به ترتیب مربوط به آویشن شیرازی فسا، آویشن شیرازی فسا و زنیان سپیدان بوده است (جدول ۱ و ۲).

**جدول۱: ترتیب اثرات آنتی باکتریال عصاره گیاهان دارویی**

| باکتری | شهر | روش بررسی | ترتیب اثرات آنتی باکتریال گیاهان مورد مطالعه از بیشتر به کمتر |
|---|---|---|---|
| استافیلوکوکوس اورئوس | فسا | DISK | آویشن شیرازی، رزماری (۲۲*)، کاکوتی (۲۰)، زنیان (۱۶)، برگ بو، بوزیدان و اسطوخودوس (۱۵)، زیره سیاه (۱۲) |
| | | HOLE | آویشن شیرازی (۳۲)، کاکوتی (۳۰)، رزماری (۲۹)، برگ بو (۲۷)، بوزیدان، زنیان (۲۱)، اسطوخودوس (۲۰)، زیره سیاه (۱۴) |
| | | MIC | آویشن شیرازی، زنیان، برگ بو، رزماری [۷/۸**] ، کاکوتی، بوزیدان [۱۵/۶۲]، اسطوخودوس [۳۱/۲۵]، زیره سیاه [۶۲/۵] |
| | سپیدان | DISK | زنیان (۳۰)، رزماری، آویشن شیرازی (۲۰)، برگ بو (۱۶)، کاکوتی، بوزیدان (۱۵)، اسطوخودوس (۱۴)، زیره سیاه (۰) |
| | | HOLE | زنیان (۴۰)، آویشن شیرازی (۳۲)، رزماری (۲۸)، بوزیدان (۲۴)، کاکوتی (۲۱)، اسطوخودوس (۱۸)، زیره سیاه و بوزیدان (۱۷) |
| | | MIC | زنیان، آویشن شیرازی و رزماری [۷/۸]، کاکوتی، بوزیدان [۱۵/۶۲]، اسطوخودوس، برگ بو [۳۱/۲۵]، زیره سیاه [۶۲/۵] |
| سودوموناس آئروژینوزا | فسا | DISK | آویشن شیرازی (۱۶)، زنیان (۱۵)، کاکوتی (۱۳)، برگ بو، اسطوخودوس (۱۰)، رزماری (۹)، زیره سیاه و بوزیدان (۰) |
| | | HOLE | آویشن شیرازی (۲۵)، کاکوتی (۲۲)، برگ بو (۲۰)، رزماری (۱۸)، زنیان (۱۵)، بوزیدان (۱۳)، اسطوخودوس (۱۰)، زیره سیاه (۰) |
| | | MIC | آویشن شیرازی، کاکوتی [۱۵/۶۲]، برگ بو، رزماری، زنیان، بوزیدان [۳۱/۲۵]، اسطوخودوس [۶۲/۵]، زیره سیاه [۵۰۰] |
| | سپیدان | DISK | آویشن شیرازی و زنیان (۱۴)، کاکوتی (۱۳)، رزماری، بوزیدان (۱۱)، اسطوخودوس (۱۰)، زیره سیاه و برگ بو (۰) |
| | | HOLE | آویشن شیرازی (۲۱)، زنیان (۲۰)، برگ بو (۱۷)، کاکوتی، رزماری (۱۶)، بوزیدان، اسطوخودوس (۱۳)، زیره سیاه (۰) |
| | | MIC | آویشن شیرازی [۱۵/۶۲]، رزماری، اسطوخودوس، برگ بو، بوزیدان، زنیان [۳۱/۲۵]، کاکوتی [۶۲/۵]، زیره سیاه [۵۰۰] |
| اشریشیاکلی | فسا | DISK | آویشن شیرازی (۱۵)، زنیان (۱۴)، کاکوتی، اسطوخودوس (۱۰)، رزماری (۹)، زیره سیاه، برگ بو و بوزیدان (۰) |
| | | HOLE | آویشن شیرازی (۲۳)، کاکوتی (۱۹)، برگ بو (۱۶)، رزماری، زنیان (۱۵)، بوزیدان (۱۳)، اسطوخودوس و زیره سیاه (۰) |
| | | MIC | آویشن شیرازی [۱۵/۶۲]، کاکوتی، برگ بو، رزماری، زنیان، بوزیدان [۳۱/۲۵]، اسطوخودوس و زیره سیاه [۵۰۰] |
| | سپیدان | DISK | زنیان (۱۴)، بوزیدان (۱۲)، آویشن شیرازی (۱۰)، رزماری (۹)، زیره سیاه، برگ بو، کاکوتی و اسطوخودوس (۰) |
| | | HOLE | زنیان (۲۲)، آویشن شیرازی (۲۰)، رزماری (۱۷)، بوزیدان (۱۳)، کاکوتی (۱۲)، اسطوخودوس، برگ بو و زیره سیاه (۰) |
| | | MIC | زنیان [۱۵/۶۲]، رزماری، آویشن شیرازی، بوزیدان [۳۱/۲۵]، کاکوتی [۶۲/۵]، زیره سیاه، اسطوخودوس و برگ بو [۵۰۰] |

* اعداد درون پرانتز بر حسب میلی متر است

** اعداد درون کروشه بر حسب میکروگرم در میلی لیتر است.

[ Downloaded from journal.fums.ac.ir on 2024-03-28 ]

[ DOR: 20.1001.1.22285105.2015.5.1.15.0 ]

جدول ۲- نتایج MIC عصاره گیاهان فسا و سپیدان برحسب میکروگرم در میلی لیتر

| | باکتری | رزماری | اسطوخودوس | آویشن شیرازی | برگ بو | بوزیدان | زیره سیاه | آویشن باریک | زنیان |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| فسا | استافیلوکوکوس اورئوس | ۷/۸$^{a}$ | ۳۱/۲۵$^{c}$ | ۷/۸$^{a}$ | ۷/۸$^{a}$ | ۱۵/۶۲$^{b}$ | ۶۲/۵$^{d}$ | ۱۵/۶۲$^{b}$ | ۷/۸$^{a}$ |
| | سودوموناس آئروژینوزا | ۳۱/۲۵$^{c}$ | ۶۲/۵$^{d}$ | ۱۵/۶۲$^{b}$ | ۳۱/۲۵$^{c}$ | ۳۱/۲۵$^{c}$ | ۵۰۰$^{e}$ | ۱۵/۶۲$^{b}$ | ۳۱/۲۵$^{c}$ |
| | اشریشیاکلی | ۳۱/۲۵$^{c}$ | ۵۰۰$^{e}$ | ۱۵/۶۲$^{b}$ | ۳۱/۲۵$^{c}$ | ۳۱/۲۵$^{c}$ | ۵۰۰$^{e}$ | ۳۱/۲۵$^{c}$ | ۳۱/۲۵$^{c}$ |
| سپیدان | استافیلوکوکوس اورئوس | ۷/۸$^{a}$ | ۳۱/۲۵$^{c}$ | ۷/۸$^{a}$ | ۳۱/۲۵$^{c}$ | ۱۵/۶۲$^{b}$ | ۶۲/۵$^{d}$ | ۱۵/۶۲$^{b}$ | ۷/۸$^{a}$ |
| | سودوموناس آئروژینوزا | ۳۱/۲۵$^{c}$ | ۳۱/۲۵$^{c}$ | ۱۵/۶۲$^{b}$ | ۳۱/۲۵$^{c}$ | ۳۱/۲۵$^{c}$ | ۵۰۰$^{e}$ | ۶۲/۵$^{d}$ | ۳۱/۲۵$^{c}$ |
| | اشریشیاکلی | ۳۱/۲۵$^{c}$ | ۵۰۰$^{e}$ | ۳۱/۲۵$^{c}$ | ۵۰۰$^{e}$ | ۳۱/۲۵$^{c}$ | ۵۰۰$^{e}$ | ۶۲/۵$^{d}$ | ۱۵/۶۲$^{b}$ |

میانگین‌هایی که دارای یک حرف مشترک هستند، در سطح ۱٪ آزمون دانکن اختلاف معنی داری با هم ندارند.

به طور کلی از ۸ گیاه مورد بررسی در منطقه فسا به روش چاهک گذاری به طور جداگانه، باکتری استافیلوکوس اورئوس، نسبت به ۷ گیاه؛ سودوموناس آئروژینوزا نسبت به ۶ گیاه و اشریشیاکلی نسبت به ۵ گیاه حساس بوده است. همین آمار در روش انتشار از دیسک گیاهان فسا در مورد باکتری‌های استافیلوکوس اورئوس، سودوموناس آئروژینوزا و اشریشیاکلی به ترتیب ۷، ۲ و ۲ می‌باشد و از ۸ گیاه مورد بررسی در منطقه سپیدان به روش چاهک گذاری به طور جداگانه، باکتری استافیلوکوس اورئوس، نسبت به ۸ گیاه؛ سودوموناس آئروژینوزا نسبت به ۵ گیاه و اشریشیاکلی نسبت به ۳ گیاه حساس بوده است. همین آمار در روش انتشار از دیسک گیاهان سپیدان در مورد باکتری‌های استافیلوکوس اورئوس، سودوموناس آئروژینوزا و اشریشیاکلی به ترتیب ۶، صفر و صفر می‌باشد و در یک جمع بندی کلی سه سویه باکتری مورد بحث، نسبت به ۲۹ مورد عصاره در فسا و نسبت به ۲۲ مورد عصاره در سپیدان حساس بوده‌اند (منظور از حساس یعنی قطر هاله عدم رشد باکتری مورد مطالعه در حضور عصاره این گیاهان بیشتر از ۱۴ بوده است) (نمودار ۱).

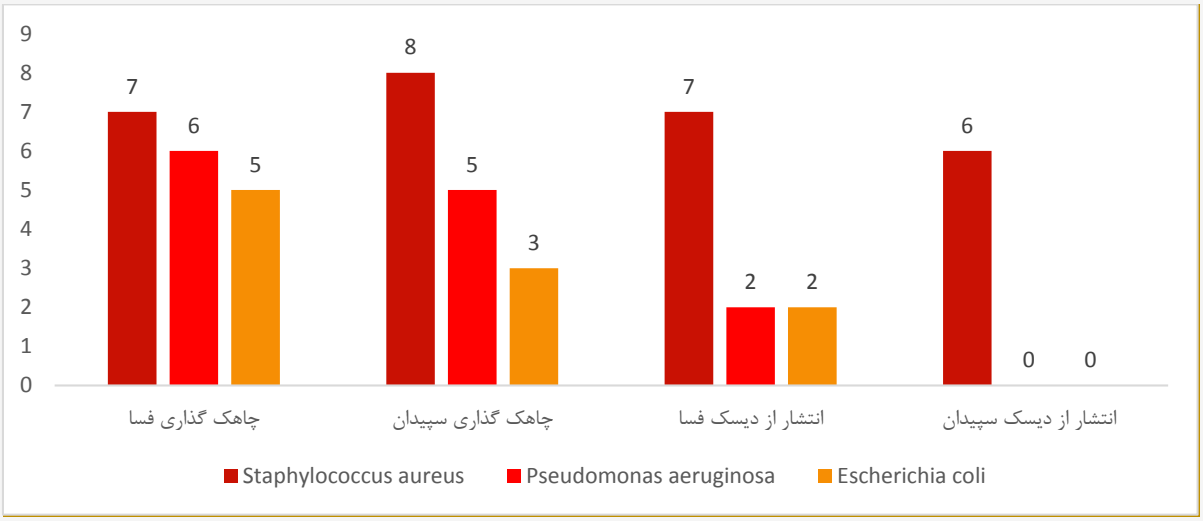
آزمون فیتوشیمیایی اولیه انجام گرفته بر روی عصاره‌ی گیاهان، حضور ترکیبات فنولی را در نمونه‌های عصاره تائید کردند. نتایج نشان می‌دهد که فعالیت آنتی باکتریال نمونه‌ها رابطه مستقیم با مقدار ترکیبات فنلی کل دارد. اطلاعات حاصل از مطالعات فیتوشیمیایی در جدول ۳ آورده شده است.

**بررسی نتایج پارامترهای اقلیم فسا و سپیدان:** با مقایسه پارامترهای اقلیم و دمایی منطقه فسا و سپیدان، می‌توان نتیجه گرفت که تفاوت معنی دار بین ارتفاع از سطح دریا، میانگین بارندگی سال زراعی و دمای فسا و سپیدان وجود دارد، به طوری که ارتفاع از سطح دریا در منطقه فسا بین ۱۲۸۸ تا ۱۴۵۰ متر و سپیدان بین ۲۲۰۰ تا ۲۳۰۰ متر و اختلاف حداکثر و حداقل مطلق دما بین دو منطقه فسا و سپیدان به ترتیب ۸/۶ و ۹/۳ و میانگین بارندگی سال زراعی در ایستگاه هواشناسی سینوپتیک فسا، ۲۹۰/۲ میلی متر و در ایستگاه هواشناسی سینوپتیک سپیدان ۶۷۹/۳ میلی متر ثبت شده است.

## بحث و نتیجه‌گیری

با توجه به بررسی نتایج فعالیت آنتی باکتریال با تست‌های استاندارد میکروبی (آنتی بیوتیک‌های استاندارد بالینی)، طبق میانگین محاسبه شده بر اساس جدول استاندارد آنتی بیوگرام، برای مطالعه یک فرض در نظر گرفته شده است و مقایسه‌های انجام شده بر همین الگو انجام می‌شود (قطر هاله بیشتر از ۱۴ میلی متر، حساس، قطر هاله ما بین ۱۲ تا ۱۴ میلی متر، حدواسط، قطر هاله کمتر از ۱۲ میلی متر، مقاوم).

[ Downloaded from journal.fums.ac.ir on 2024-03-28 ]
[ DOR: 20.1001.1.22285105.2015.5.1.15.0 ]




**نمودار ۱: نتایج تعداد گیاهان مؤثر بر باکتری‌های استافیلوکوس اورئوس، سودوموناس آئروژینوزا و اشریشیاکلی**

**جدول ۳: میزان ترکیبات فنولی تام عصاره گیاهان فسا و سپیدان**

| | نتایج بر حسب میلی گرم گالیک اسید بر گرم نمونه | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | رزماری | اسطوخودوس | آویشن شیرازی | برگ بو | بوزیدان | زیره سیاه | آویشن باریک | زنیان |
| فسا | ۱۸۲/۸۷±۶/۵ | ۱۲۱/۴۱±۳/۵ | ۲۲۳/۵۵±۲/۳ | ۱۶۱/۴۵±۱/۲ | ۱۲۴/۶۵±۲/۵ | ۹۲/۲۱±۴/۲ | ۱۹۳/۱۸±۳/۵ | ۱۲۲/۸۵±۸/۷ |
| سپیدان | ۱۷۵/۷۴±۵/۹ | ۱۲۰/۲۵±۲/۹ | ۲۱۴/۶۵±۷/۷ | ۱۵۱/۱۳±۱/۸ | ۱۱۸/۱۱±۱/۲ | ۹۸/۹۵±۶/۲ | ۱۲۳/۷۵±۸/۵ | ۲۵۱/۶۸±۴/۳ |

با توجه به مقایسه کلی نتایج چاهک گذاری و انتشار از دیسک، دو منطقه سپیدان و فسا و با وجود اختلاف در پارامترهای آب و هوای دو منطقه‌ی مورد مطالعه در این تحقیق و با توجه به نتایج متفاوت اثر ضدباکتریایی گیاهان مورد مطالعه، از میان ۱۶ گیاه مورد بررسی بیشترین اثر ضدباکتریال عصاره هیدروالکلی گیاهان فسا در هر سه روش مطالعه، مربوط به آویشن شیرازی و کمترین اثر مربوط به زیره سیاه بوده است. همچنین بررسی نتایج سپیدان حاکی از بیشترین اثر در گیاه زنیان و آویشن شیرازی و کمترین اثر مربوط به زیره و برگ بو، بوده است. در همه مقادیر مورد بررسی عصاره هیدروالکلی زنیان، آویشن شیرازی اثر ضدباکتریایی بسیار خوبی علیه استافیلوکوکوس اورئوس داشت است که اختلاف معنی داری را با آنتی بیوتیک‌های استاندارد داشت. نتایج نشان می‌دهد که فعالیت آنتی باکتریال نمونه‌ها رابطه مستقیم با مقدار ترکیبات فنلی کل دارد، در واقع نتایج فعالیت ضد میکروبی عصاره گیاهان کاملاً منطبق با مقدار ترکیبات فنولی عصاره گیاهان بوده است که به روش فولین سیوکالتیو استخراج گردیده است. نتایج به دست آمده با نتایج تحقیق مرتضائی و همکاران ، مطابقت دارد (۱۴). مطالعات نشان می‌دهد که بالا بودن ترکیبات فنلی دلیل عمده بالا بودن فعالیت آنتی اکسیدانی بعضی از عصاره‌ها از جمله عصاره‌های قطبی باشد. زیرا بر اساس شواهد موجود ارتباط مثبتی بین میزان ترکیبات فنلی و قدرت آنتی اکسیدانی گیاهان وجود دارد (۱۵).

به طور کلی عوامل محیطی محل رویش گیاهان دارویی در سه محور بر آن‌ها تاثیر می‌گذارد: ۱- تأثیر بر مقدار کلی ماده موثرهٔ گیاهان دارویی. ۲- تأثیر بر عناصر تشکیل دهنده مواد موثره. ۳- تاثیر بر مقدار تولید وزن خشک گیاه (۱۶).

نتایج کلی حاصل از این تحقیق بیانگر خاصیت ضدباکتریایی عصاره‌ی هیدروالکلی زنیان و آویشن شیرازی بر باکتری‌های گرم

[ Downloaded from journal.fums.ac.ir on 2024-03-28 ]
[ DOR: 20.1001.1.22285105.2015.5.1.15.0 ]

مثبت و گرم منفی است. گیاهان زنیان و آویشن شیرازی که اثر ضدباکتریایی بسیار خوبی در همه مقادیر عصاره داشتند، میانگین قطر هاله عدم رشد آن‌ها در مقایسه با میانگین قطر هاله عدم رشد سویه‌های مختلف در برابر آنتی بیوتیک که به عنوان کنترل در نظرگرفته شده بود، بیشتر می‌باشد که اختلاف معنی داری را با آنتی بیوتیک‌های استاندارد داشت. اثر بازدارندگی رشد این عصاره بر باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی، از غلظت µg/ml ۱۰ آغاز می‌شود و با افزایش غلظت عصاره تا µg/ml ۳۰، ناحیه عدم رشد به نحو چشمگیری افزایش می‌یابد.

نتایج قطر هاله عدم رشد عصاره زنیان سپیدان در روش چاهک و دسیک نشان دهنده اختلاف معنی داری با عصاره زنیان فسا و سایر گیاهان دارد. می‌توان دلیل این تفاوت را اختلاف معنی دار پارامترهای دما و ارتفاع از سطح دریا در دو منطقه فسا و سپیدان عنوان کرد. با افزایش ارتفاع از سطح دریا، محتوای ترکیبات فنلی و آنتوسیانین در گیاهان افزایش می‌یابد، زیرا در مناطق مرتفع، تشعشعات نور ماورای بنفش بیشتر تابیده می‌شود (۱۷).

نتایج به دست آمده در مطالعه Levesque و همکاران، بر روی خصوصیات رشد و مراحل فنولوژیک و ماده مؤثره گونه Papaver radicatum و یافته‌های دیانتی تیلکی و همکاران، بر تأثیر فاکتورهای محیطی (ارتفاع و شیب) روی مواد مؤثره گرز خشخاش سیاه نشان می‌دهد که ارتفاع از سطح دریا بر خصوصیات رشد و مراحل فنولوژیک و ماده مؤثره گونه‌های مورد تحقیق فوق، مؤثر بوده است که با نتیجه تحقیق فوق همخوانی دارد (۱۸ و ۱۹).

در مطالعه حاضر، با توجه به اهداف مورد بررسی، یکی از موارد حائز اهمیت، انطباق نتایج روش‌های انتشار ازدیسک، چاهک گذاری و MIC، مقایسه بین نتایج این روش‌ها انجام پذیرفت. بر همین اساس علیرغم انطباق نتایج MIC بر نتایج چاهک و دیسک، بر خلاف انتظار، در بیشترین دوزهای مصرفی در دو روش دیسک و چاهک، نتایج مشابه و منطبق بر هم نبودند؛ علت این امر می‌تواند ناشی از: انتشار تسهیل شده تر از چاهک در آگار نسبت به انتشار از دیسک، از طرفی، و همچنین مشکل تکنیکی آغشته سازی کامل دیسک با عصاره گیاهی بوده باشد (۲۰). همچنین یافته‌ها نشان داد که غلظت‌های معینی از این عصاره‌ها در دیسک دارای اثر ضد میکروبی قابل توجهی روی باکتری‌ها بودند ولی تأثیر عصاره‌ها با کم شدن غلظت آن‌ها در دیسک کم می‌شد. می‌توان اذعان داشت که، علی رغم تأثیر قابل توجه برخی از غلظت‌های عصاره این گیاه بر باکتری‌ها، برای معرفی آن به عنوان جایگزین داروهای ضد میکروبی، به مطالعه‌های وسیع تری نیاز است. با توجه به نبود یک استاندارد خاص در خصوص روش‌های استاندارد بررسی اثرات ضد باکتریایی گیاهان دارویی، چالش‌هایی در این موارد وجود دارد، که عموماً جای بحث دارند. پیشنهاد می‌شود که در صورت یک نظارت جامع توسط انجمن‌های علمی کشور در علوم مرتبط، بر مطالعات موجود و همسوسازی آن‌ها با مشارکت محققین، از گمراهی محققین جوان در مطالعات آتی ممانعت نمود. شایان ذکر است می‌توان با بسط مطالعات گسترده‌ای که در کشور انجام شده است به سمت ارزیابی بر روی حیوانات و تعیین سمیت سلولی و بافتی، شاهد رشد علمی هرچه بیشتر در این حیطه در آینده باشیم.

## تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از تمامی همکاران این طرح تحقیقاتی و معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی فسا، سپاسگزاری می‌نمایند. این مطالعه برگرفته از طرح مصوب در معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی فسا و پایان نامه مصوب دانشجویی جهت دریافت مدرک کارشناسی ارشد در رشته فیزیولوژی گیاهان دارویی دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم بوده است و هیچ گونه تعارض منافع در این مطالعه وجود نداشت.

## تعارض منافع

نویسندگان هیچ گونه تعارض منافعی را اعلام نکرده اند.

[ Downloaded from journal.fums.ac.ir on 2024-03-28 ]

[ DOR: 20.1001.1.22285105.2015.5.1.15.0 ]

## References

1. Day KB, Draper J, Smith H. Plant regeneration and the baines content of plants derived from callus culture of Papaver bracteatum. J. Plant Cell Reports. 1986;5(6):471-474.
2. Mirjalili MH. Economic status of the world's essential oils plants. Tehran: Bita Press; 2003. P .26-34. [Article in Persian]
3. Davise FS, Albrigo LG. Citrus. CAB. Wallington, UK: International Press; 1994. P. 9814.
4. Abdollahi A, Fasihi-Ramandi M, Kouhpayeh SA, Najafipour S. Antimicrobial effect of 15 medicinal plant species and their dependency on climatic conditions of growth in different geographical and ecological areas of Fars province. Zahedan Journal of Research in Medical Sciences. 2012; 14(5):34-37.
5. Davies J, Dorothy Davies. Origins and evolution of antibiotic resistance. Microbiol Mol Biol Rev. 2010; 74(3): 417-433.
6. Meshkibaf MH, Abdollahi A, Fsihi Ramandi M, Adnani Sadati SJ, Moravvej A. Antibacterial effects of hydro-alcoholic extracts of Ziziphora tenuior, Teucrium polium, Barberis corcorde and Stachys inflate. Koomesh. 2011; 11(4):240-245. [Article in Persian]
7. Jafari S, Najafipour S, Kargar M, Abdollahi A, Mardaneh J, Abdollahi S. Phenotypical Evaluation of Multi-Drug Resistant Acinetobacter Baumannii. Journal of Fasa University of Medical Sciences. 2013; 2(4):254-258. [Article in Persian]
8. Abdollahi Kheirabadi S, Najafipour S, Kafilzadeh F, Abdollahi A, Jafari S. Evaluation of Drug Resistance Pattern of Escherichia coli Strains Isolated from Fasa Vali-e-Asr Hospital Patients. Journal of Fasa University of Medical Sciences. 2013; 2(4):273-278. [Article in Persian]
9. Abdollahi A, Ahmadi E, Zakerin AR. The importance of Standardization in evaluation of herbal antimicrobial effect methods. Journal of Fasa University of Medical Sciences. 2014; 2(4):141-142. [Article in Persian]
10. Abdollahi A, Koohpayeh SA, Najafipoor S, Mansoori Y, Abdollahi S, Jafari S. Evaluation of drug Resistance and Staphylococcal cassette chromosome (SCCmec) types among methicillin-Resistant Staphylococcus aureus (MRSA). Journal of Alborz Health. 2012; 1(1):47-52. [Article in Persian]
11. Behzadian Nejad Q, Abdollahi A, Najar Peerayeh SH, Forouhesh Tehrani H. Evaluation of bla-ctx-m-type gene in multi drug resistance Klebsiella pneumonia species isolated from clinical samples. Razi Journal of Medical Sciences. 2009; 15(60):37-45. [Article in Persian]
12. Seevers PM, Daly JM. Studies on wheat stem rust resistance control at sr6 locus. 1- The role of phenolic compounds. Phytopathology. 1970; 6:1322-1328.
13. Macar TK, Ozlem T, Ekmekci Y. Effect of deficit induced by PEG and NaCl on chickpea (Cicer arientinum L.) cultivars and lines at early seedling stages. Gazi U. J. Sci. 2009; 22(1):5-14.
14. Mortazaeinezhad S, Rafiean M, Ansari samani R, Shahinfard N. The concentration of phenolic compounds and antioxidant activity of the eight herbs, Rafsanjan University of Medical Sciences Journal. 2013; 12(7):519-530. [Article in Persian]
15. Yadegarinia D, Gachkar L, Rezaei, MB, Taghizadeh M, Astaneh SA, Rasooli I. Biochemical activities of Iranian Mentha Piperita L. and Myrtus Communis L. essential oils. Phytochemistry. 2006; 67(12):1249-1255.
16. Omidbaigi R. Production and Processing of medicinal plants. Tehran University. 2005.P.283-288. [In Persian]
17. Galilee Marandi R. Post harvest physiology. Third edition. Urmia: Urmia University Jihad publication; 2012. P:624. [In Persian]
18. Levesque E, Henry GHR, Svoboda J. Phenological and growth responses of Papaver radicatum along altitudinal gradients in the Canadian High Arctic. J. Global Change Biology. 1997; 3(S1):125-145.
19. Dianati Tilaki Gh A, Mirzaee AR, Rezaee MB, Tabari M. Study on the effect of environmental factors on active components of Papaver bracteatum Lindl. capsule in mountain rangelands of Rineh, Mazandaran Province. Eco-phytochemical Journal of Medical Plants. 2013; 1(3):1-9.
20. Khosravi AR, Zahraei Salehi T, Sharif Zadeh A, Balal A. Study the chemical composition essential oils and its inhibitory effect on copticum oral isolates of Candida albicans to azole resistance in AIDS patients. Journal of Medicinal Plants. 2012; 12(46):149-137.

[ Downloaded from journal.fums.ac.ir on 2024-03-28 ]
[ DOR: 20.1001.1.22285105.2015.5.1.15.0 ]

Original Article

# The Effects of Ecologic Condition on Antimicrobial Activity of Endemic Herbal Extracts in Fars Province

**Zakerin AR[1], Ahmadi E[1], Fasihi-Ramandi M[2], Abdollahi S[3], Molazadeh AR[3], Jafari S[3], Allahverdi Gh[4], Kouhpayeh SA[5], Meshkibaf MH[4]**

1- Department of Agriculture, Jahrom Branch, Islamic Azad Uninversity, Jahrom, Iran.
2- Molecular Biology Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
3- Department of Microbiology, Fasa University of Medical Sciences, Fasa, Iran.
4- Department of Biochemistry, Fasa University of Medical Sciences, Fasa, Iran.
5- Department of Pharmacology, Fasa University of Medical Sciences, Fasa, Iran.

Received: 20 Jan 2015 Accepted: 19 Apr 2015

## Abstract

***Background & Objectives:*** Ecologic conditions affect production of effective pharmaceutical products. We evaluate the effect of ecologic conditions on antibacterial effects of herbal plants in Fars.

***Materials & Methods:*** We collected eight plant species including Trachyspermum copticum, Withania somnifera, Laurus nobilis, Carum carvi, Thymus, Rosemary, Zataria multiflora, and Lavandula in Fasa and Sepidan.. Their antibacterial effects were studied by disk diffusion method, well assay method, and Minimum Inhibitory Concentration (MIC). Ecological and weather conditions were derived from internet.

***Results:*** Comparing with standard antibacterial indexes the following results were achieved. Fasa herbs including Trachyspermum copticum, Zataria multiflora, Laurus nobilis, and Rosemary had the most effect on Staphylococcus aureus, while Carum carvi had the least effect. This effect in Sepidan herbs was the most in Trachyspermum copticum, Zataria multiflora, and Rosemary, while Carum carvi had the least effect. Surveying the effects against E.coli among Fasa herbs, Zataria multiflora had the most and Carum carvi and Lavandula had the least effects. On the other hand, among Sepidan herbs, Trachyspermum had the highest and Carum carvi, Lavandula, and Laurus nobilis had the lowest effects on E.coli. Antibacterial effects of Fasa herbs against Pseudomonas aeruginosa was the most in Zataria multiflora and Thymus and the least in Carum carvi. In Sepidan herbs, it was the highest in Zataria multiflora and the lowest in Carum carvi.

***Conclusion:*** Considering the differences in antibacterial effects of the herbs in two ecologic conditions, we suggest other researchers to pay attention to the mentioned effects in their studies.

***Keywords:*** **herbal plants, hydro-alcoholic extract, antimicrobial effects**

* **Corresponding Author: Elahe Ahmadi**, Department of Agriculture, Jahrom Branch, Islamic Azad Uninversity, Jahrom, Iran.
Tel: +989354489182
Email: e_ahmadi1980@yahoo.com



[ Downloaded from journal.fums.ac.ir on 2024-03-28 ]

[ DOR: 20.1001.1.22285105.2015.5.1.15.0 ]