

بررسی فعالیت ضد میکروبی و ضد قارچی عصاره‌های مختلف گیاهان دارویی علف مار (*Capparis spinosa*)، علف مورچه (*Cretica Cressa*) و اشورک (*Rhazya stricta*)

سعیده سعیدی^۱، بهمن فاضلی نسب^{۲*}

۱- کارشناس ارشد میکروبیولوژی، پژوهشکده زیست‌فناوری کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران.

۲- گروه پژوهشی زراعت و اصلاح نباتات، پژوهشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران.

دریافت مقاله: ۰۶ اردیبهشت ۱۳۹۸، بازنگری: ۱۳ مهر ۱۳۹۸، پذیرش نهایی: ۲۷ مهر ۱۳۹۸

چکیده

هدف از این مطالعه بررسی فعالیت ضد میکروبی و ضد قارچی عصاره‌های مختلف گیاهان دارویی علف مار (*Capparis spinosa*)، علف مورچه (*Cretica Cressa*) و اشورک (*Rhazya stricta*) است. گیاهان دارویی اشورک، علف مار و علف مورچه از استان سیستان و بلوچستان شهرستان سراوان جمع‌آوری گردید. عصاره‌گیری با حلال‌های مختلف با دستگاه روتاری انجام شد. باکتری‌های استاندارد از کلکسیون قارچ و باکتری ایران خریداری شد. حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی با روش میکرودایلوشن تعیین شد. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که کمترین غلظت مهارکنندگی عصاره آبی برابر با ۲/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بوده که باکتری‌های *اشریشیاکلی*، *باسیلوس سرئوس* و *شیگلا دیسنتری* مهار شده‌اند. ضمناً کمترین غلظت مهارکنندگی مربوط به عصاره متانولی علف مورچه و برابر با ۰/۶۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بوده که باکتری *باسیلوس سرئوس* در این غلظت از بین رفته است. کمترین غلظت مهارکنندگی عصاره‌های علف مار مربوط به عصاره اتانولی و برابر با ۰/۶۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بوده که باکتری *اشریشیاکلی* و *باسیلوس سرئوس* مهار شده و در همین غلظت عصاره هیدروالکلی و متانولی مهارکننده باکتری‌های *شیگلا دیسنتری* و *سودوموناس آئروژینوزا* بوده‌اند. نتایج این مطالعه بیانگر اثرات ضد میکروبی خوب عصاره گیاه دارویی علف مورچه و علف مار بر روی باکتری‌های بیماری‌زا است.

واژگان کلیدی: اشورک، علف مار، علف مورچه، حلال‌های مختلف، باکتری بیماری‌زا

مقدمه

مطالعه گیاهان دارویی به‌منظور کشف روش‌های درمانی جدید که دارای عوارض جانبی کمتر و ارزش اقتصادی بالاتری باشند در سطح جهان اهمیت خاصی پیدا کرده است (۱). بر اساس گزارش‌های منتشرشده در حال حاضر بیش از ۳۰ درصد داروهای گیاهی، در بیمارستان‌ها و کلینیک‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند (۲). آنتی‌بیوتیک‌ها داروهای ارزشمندی برای درمان بسیاری از بیماری‌های انسانی می‌باشند، با این حال استفاده بیش از حد این داروها مقاومت‌های میکروبی را در پی خواهد داشت. بنابراین دانشمندان تحقیقات بر روی قسمت‌های مختلف گیاهان دارویی، برای کشف داروهای جدید با منشأ گیاهی را در اولویت قرار داده‌اند (۳).

گیاه اشورک از خانواده *Apocynaceae* (۴) و زیر خانواده *Rauwolfioideae* است (۵) اشورک در عربستان سعودی به‌عنوان اسفند شناخته شده است. اشورک یک بوته همیشه‌سبز و کوچک است. این گیاه به‌عنوان دارو در درمان بیماری‌ها در کشورهای افغانستان، هند، ایران، عراق، پاکستان، قطر و عربستان سعودی استفاده می‌شده است (۶).

عصاره اتانولی خام میوه اشورک دارای فعالیت ضد میکروبی است (۷). عصاره متانولی و کلروفرمی ریشه این گیاه دارای فعالیت ضد میکروبی و ضد قارچی بر علیه اشریشیاکلی، باسیلوس ساب‌تیلیس، استافیلوکوکوس اورئوس و کاندیدا البیکنس می‌باشد (۸) و همچنین عصاره آبی اشورک فعالیت ضد میکروبی در برابر *Neisseria meningitides* از خود نشان داده است (۸).

اشورک و متابولیت‌های آن برای درمان بیماری‌هایی از جمله سرطان، بیماری‌های پوستی، فشار خون بالا، روماتیسم، گلو درد، سفلیس و تب استفاده می‌شود (۷). مطالعات مختلف نشان داده است که قسمت‌های مختلف اشورک حاوی عناصر

فیتوشیمیایی زیادی مانند آلکالوئیدها، فلاونوئیدها و ترپن‌ها هستند (۹).

گیاه علف مار (*Capparis spinosa*) از راسته میخک سنانان (*Caryophyllales*) و تیره *Capparidaceae* است. این تیره شامل گیاهان علفی یک‌ساله، پایا یا به صورت درختچه و غالباً با پوشش غده‌ای هستند. در مناطق مختلف کشور ایران و در گویش‌های مختلف اسامی دیگر این گیاه کبر یا کیپر لگجی، لیجین و خارو می‌باشد. هرچند نخستین زیستگاه علف مار به درستی مشخص نیست، اما امروزه دامنه رویش این گیاه در شرایط جغرافیایی متنوعی از اقلیم مدیترانه‌ای و گرمسیر تا هیمالیا گسترش یافته است. در ایران نیز علف مار در نیمه جنوبی کشور در اغلب مناطق یافت می‌شود. از گلبرگ این گیاه به‌عنوان چاشنی استفاده می‌شود و میوه آن در فرهنگ‌های مختلف مصارف غذایی و دارویی متعددی دارد که از جمله مهم‌ترین مصارف آن در تهیه ترشی است. البته ممکن است محصولات این گیاه در برخی افراد ایجاد حساسیت نمایند (۱۰).

علف مورچه (*Cretica cressa*) گیاهی هالوفیت، چند ساله و مهاجم متعلق به تیره *Convolvuleae* است. ساقه‌های آن در ابتدا ایستاده و بعداً حالت خوابیده می‌گیرند. برگ‌ها کوتاه و سبز و در مواقعی خاکستری رنگ و پوشیده از کرک و مخمل گون، گل‌ها بدون دم‌گل و در رأس شاخه‌ها به‌صورت خوشه‌هایی قرار دارند. میوه از نوع کپسول و شکوفایی آن بی‌قاعده است. بذر این گیاه گرد یا تخم‌مرغی شکل صاف و همواره کمی براق و به رنگ قهوه‌ای است.

با توجه به این‌که استفاده طولانی‌مدت از آنتی‌بیوتیک‌ها باعث ظهور باکتری‌های مقاوم شده و مشکلات بالینی مهمی را در درمان بیماری‌های عفونی ایجاد کرده است. لذا هدف از این مطالعه بررسی فعالیت ضد میکروبی و ضد قارچی

عصاره‌های مختلف گیاهان دارویی علف مار (*Capparis spinosa*)، علف مورچه (*cretica*) و اشورک (*Rhazya stricta*) بوده است.

مواد و روش‌ها

برگ‌های گیاه اشورک، علف مار و علف مورچه از مزرعه دشت‌های استان سیستان و بلوچستان، شهرستان سراوان جمع‌آوری و در آزمایشگاه گیاهشناسی دانشگاه زابل شناسایی گونه شدند. نمونه‌ی برگ گیاهان مورد نظر بعد از خشک کردن، آسیاب شدند. در ادامه ۲۰ گرم از برگ گیاه پودر شده به‌طور جداگانه در ۱۰۰ سی سی از حلال‌های آب، اتانول (۱۰۰ درصد) (شرکت رازی، ایران)، متانول (۱۰۰ درصد) (شرکت پتروشیمی زاگرس، ایران)، هیدرو الکل (۷۰۰ درصد الکل و ۳۰ درصد آب) و اتیل استات (۱۰۰ درصد) (شرکت مرک، آلمان) خیسانده و به مدت ۲۴ ساعت روی شیکر نگهداری شدند. بعد از یک روز، این مواد از کاغذ صافی شماره ۲ (شرکت واتمن، نمایندگی سپاهان طب ایران) عبور داده شدند. سپس حلال‌ها توسط دستگاه روتاری خلأ (شرکت پارس آزما، ایران) از مواد فیلتر شده خارج شدند. عصاره‌های غلیظ شده تا حاصل شدن عصاره خالص و زدوده شدن کامل حلال، به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. در نهایت عصاره‌های به دست آمده خشک شده و پس از توزین تا زمان آزمایش در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در یخچال نگهداری شدند.

تهیه باکتری و ذخیره‌سازی: باکتری‌های استاندارد ویبریو کلرا ATCC1611، اشریشیاکلی ATCC25922، سودوموناس آئروژینوزا ATCC27853، باسیلوس سرئوس ATCC1015، شیگلا دیسنتری ATCC 1188 از کلکسیون قارچ و باکتری ایران (تهران- ایران) تهیه شده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در محیط

مایع نوترینت برات (شرکت مرک، آلمان) گرمخانه‌گذاری شدند. پس از ۲۴ ساعت نگهداری در محیط کشت نوترینت برات حاوی ۱۰ درصد گلیسرول استریل، در فریزر با دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد برای استفاده بعدی ذخیره‌سازی شدند.

تهیه سودوپانسیون باکتریایی: باکتری‌های ویبریو کلرا، اشریشیاکلی، سودوموناس آئروژینوزا، باسیلوس سرئوس، شیگلا دیسنتری پس از یخ‌زدایی در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، در محیط نوترینت برات کشت داده شدند. همچنین به‌منظور بررسی پرگنه‌های خالص از نمونه‌های باکتریایی روی محیط جامد نوترینت آگار به صورت خطی کشت داده شده و برای این منظور به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه در انکوباتور قرار داده شدند. پس از ۲۴ ساعت از کلونی‌های خالص هر باکتری برداشته و در آب مقطر استریل کدورتی معادل ۰/۵ مک فارلند ساخته شد. برای اطمینان از غلظت باکتری‌ها با اسپکتروفتومتر جذب آنها در طول موج ۶۰۰ nm قرائت شد. تراکم باکتری‌ها با غلظت 10^8 CFU/ml $\times 1/5$ جذبی معادل ۰/۱ - ۰/۸ دارد.

جداسازی قارچ کاندیدا آلبیکنس: نمونه‌برداری توسط دو عدد سواب استریل از ترشحات واژن انجام و سپس نمونه‌های گرفته شده در لوله‌های درپيچدار حاوی دو میلی‌لیتر آب مقطر استریل، جهت انتقال به آزمایشگاه قرار داده شدند. از سواب‌های گرفته شده برای آزمایش مستقیم با پتاس ۱۵ درصد، کشت روی محیط‌های سابورو دکستروز آگار (شرکت مرک، آلمان) و کروم آگار (شرکت فرانس، فرانسه) استفاده گردید. محیط‌های کشت به مدت ۴۸ تا ۷۲ ساعت در ۳۰ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. برای تأیید تشخیص گونه آلبیکنس از سایر گونه‌های کاندیدا از کلنی‌های مزبور روی محیط کورن میل آگار + توئین ۸۰ کشت خطی داده شد. همچنین از آزمون‌های جرم تیوب و

بتاگلوکوزیداز برای تفریق کاندیدا آلبیکنس از سایر گونه‌ها استفاده شدند. پلیت‌های مزبور به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. از کشت تازه، تک کلنی هر مخمر به محلول آب- گلیسرول ۲۰ درصد انتقال یافت و نمونه‌ها در منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. در صورت نیاز به هر نمونه یا به‌منظور تکرار هر مرحله از آزمایش، از نمونه‌های ذخیره شده در محلول آب- گلیسرول ۲۰ درصد استفاده شد.

در مرحله بعدی قارچ کاندیدا آلبیکنس جداسازی شده توسط عصاره‌های مختلف گیاهان دارویی علف مار، علف مورچه و اشورک مورد هدف قرار گرفت.

تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی و تعیین

حداقل غلظت کشندگی: برای تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی (Minimum inhibitory concentration, MIC) و حداقل غلظت باکتری‌کشی (Minimum Bactericidal concentration, MBC) عصاره‌های گیاهان اشورک، علف مار و علف مورچه از روش رقت سازی در چاهک استفاده شد. برای این منظور ابتدا به هر چاهک میکرو پلیت مقدار ۱۰۰ میکرو لیتر از محیط مایع مغذی مولر هیلتون (MHB) اضافه شد. سپس به چاهک اول ۱۰۰ میکرو لیتر از محلول رقیق شده هر یک از عصاره‌های آب، اتانول، متانول، هیدروالکل و اتیل استات رازیا، علف مار و علف مورچه اضافه شده و پس از مخلوط کردن ۱۰۰ میکرو لیتر از چاهک اول برداشته به چاهک دوم اضافه شد و بدین ترتیب تا آخرین چاهک این کار انجام شد. از چاهک آخر ۱۰۰ میکرو لیتر محیط کشت مخلوط شده با عصاره خارج گردید. سپس مقدار ۱۰ میکرو لیتر از سوسپانسیون میکروبی حاوی 10^8 واحد در میلی لیتر (معادل $0/5$ مک فارلند) از هر یک از باکتری‌های ویبریو کلرا، اشریشیاکلی، سودوموناس

آئروژینوزا، باسیلوس سرئوس، شیگلا دیسنتری به طور جداگانه اضافه شده و در انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفت. اولین چاهکی که از رشد باکتری پس از قرار دادن در انکوباتور جلوگیری کرده باشد به عنوان حداقل غلظت مهارکننده در نظر گرفته شد. برای اطمینان از چاهک‌های شفاف ۱۰ میکرو لیتر برداشته به محیط مولر هیلتون آگار منتقل گردید و پس از ۲۴ ساعت اولین رقتی که توانسته بود ۹۹/۹ درصد باکتری را از بین ببرد به عنوان حداقل غلظت کشنده تعیین شد.

یافته‌ها: نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که کمترین غلظت مهارکنندگی عصاره آبی برابر با ۲/۵ میلی گرم بر میلی لیتر بوده که باکتری‌های اشریشیاکلی، باسیلوس سرئوس و شیگلا دیسنتری مهار شده‌اند. حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره اتانولی در برابر باکتری‌های ویبریو کلرا، اشریشیاکلی، سودوموناس آئروژینوزا، باسیلوس سرئوس، شیگلا دیسنتری برابر با ۵ میلی گرم بر میلی لیتر بوده است، کمترین غلظت مهارکنندگی عصاره متانولی اشورک برابر با ۱/۲۵ میلی گرم بر میلی لیتر بوده که باکتری باسیلوس سرئوس در این غلظت از بین رفته است (جدول ۱).

بیشترین غلظت مهارکنندگی عصاره هیدروالکلی ۱۰ میلی گرم بر میلی لیتر بوده است که باکتری ویبریوکلرا در این غلظت از بین رفته است و بیشترین غلظت مهارکنندگی عصاره اتیل استات برابر با ۱۰ میلی گرم بر میلی لیتر بوده که باکتری‌های ویبریو کلرا، اشریشیاکلی و سودوموناس آئروژینوزا در این غلظت مهار شده‌اند (جدول ۱).

نتایج مطالعه نشان داد که بیشترین غلظت کشندگی عصاره آبی اشورک برابر با ۱۰ میلی گرم بر میلی لیتر که باکتری‌های ویبریو کلرا و سودوموناس آئروژینوزا در این غلظت از بین رفته‌اند. بیشترین

عصاره‌های هیدروالکلی و متانولی به ترتیب مهارکننده باکتری‌های *شیگلا دیسنتری* و *سودوموناس آئروژینوزا* بوده‌اند (جدول ۵).

بیشترین غلظت کشندگی مربوط به عصاره هیدروالکلی علف مار در غلظت ۱۰ میلی گرم بر میلی لیتر بوده که باکتری‌های *ویبریو کلرا* و *باسیلوس سرئوس* در این غلظت از بین رفته است (جدول ۶). نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که کمترین غلظت مهارکنندگی عصاره اتانولی علف مار در برابر قارچ کاندیدا آلبیکنس برابر با ۱۲/۵ میلی گرم بر میلی لیتر بوده که ۲ سویه در این غلظت از بین رفته است. کمترین غلظت مهارکنندگی علف مورچه در برابر قارچ کاندیدا آلبیکنس برابر با ۳/۱ میلی گرم بر میلی لیتر بوده که یک سویه در این غلظت از بین رفته است در حالی که کمترین غلظت مهارکنندگی عصاره اشورک در برابر این قارچ برابر با ۱۲/۵ میلی گرم بر میلی لیتر بوده که ۳ سویه در این غلظت از بین رفته است (جدول ۷).

غلظت کشندگی عصاره هیدروالکلی برابر با ۲۰ میلی گرم بر میلی لیتر است که باکتری *ویبریو کلرا* در این غلظت از بین رفته است. بیشترین غلظت کشندگی عصاره متانولی برابر با ۱۰ میلی گرم بر میلی لیتر است که باکتری *سودوموناس آئروژینوزا* در این غلظت مهارشده است (جدول ۲). نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که کمترین غلظت مهارکنندگی عصاره متانولی علف مورچه برابر با ۰/۶۲ میلی گرم بر میلی لیتر بوده که باکتری *باسیلوس سرئوس* در این غلظت از بین رفته است (جدول ۳).

بیشترین غلظت کشندگی علف مورچه مربوط به عصاره اتیل استات و هیدروالکلی بوده که در غلظت ۱۰ میلی گرم بر میلی لیتر باکتری *ویبریو کلرا* از بین رفته است (جدول ۴). کمترین غلظت مهارکنندگی عصاره اتانولی علف مار برابر با ۰/۶۲ میلی گرم بر میلی لیتر بوده که باکتری *اشریشیاکلی* و *باسیلوس سرئوس* را مهار کرده است و در همین غلظت

جدول ۱- حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره‌های مختلف اشورک بر روی باکتری‌های استاندارد (میلی گرم / میلی لیتر)

نام باکتری	نوع عصاره				
	آبی	اتانولی	هیدروالکلی	اتیل استات	متانولی
<i>ویبریو کلرا</i>	۵	۵	۱۰	۱۰	۲/۵
<i>اشریشیاکلی</i>	۲/۵	۵	۵	۱۰	۲/۵
<i>سودوموناس</i>	۵	۵	۵	۱۰	۵
<i>باسیلوس سرئوس</i>	۲/۵	۵	۵	۵	۱/۲۵
<i>شیگلا دیسنتری</i>	۲/۵	۵	۵	۵	۲/۵

جدول ۲- حداقل غلظت کشندگی عصاره‌های مختلف اشورک بر روی باکتری‌های استاندارد (میلی گرم / میلی لیتر)

نام باکتری	نوع عصاره				
	آبی	اتانولی	هیدروالکلی	اتیل استات	متانولی
<i>ویبریو کلرا</i>	۱۰	۱۰	۲۰	۲۰	۵
<i>اشریشیاکلی</i>	۵	۱۰	۱۰	۲۰	۵
<i>سودوموناس</i>	۱۰	۱۰	۱۰	۲۰	۱۰
<i>باسیلوس سرئوس</i>	۵	۱۰	۱۰	۱۰	۲/۵
<i>شیگلا دیسنتری</i>	۵	۱۰	۱۰	۱۰	۵

جدول ۳- حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره‌های مختلف علف مورچه بر روی باکتری‌های استاندارد (میلی گرم / میلی لیتر)

نام باکتری	نوع عصاره			
	آبی	اتانولی	هیدروالکلی	اتیل استات
ویبریو کلرا	۱/۲۵	۲/۵	۵	۵
اشریشیاکلی	۲/۵	۲/۵	۱/۲۵	۲/۵
سودوموناس	۲/۵	۱/۲۵	۲/۵	۱/۲۵
باسیلوس سرئوس	۲/۵	۲/۵	۲/۵	۲/۵
شیگلا دیسنتری	۲/۵	۱/۲۵	۱/۲۵	۱/۲۵

جدول ۴- حداقل غلظت کشندگی عصاره‌های مختلف علف مورچه بر روی باکتری‌های استاندارد (میلی گرم / میلی لیتر)

نام باکتری	نوع عصاره			
	آبی	اتانولی	هیدروالکلی	اتیل استات
ویبریو کلرا	۲/۵	۵	۱۰	۱۰
اشریشیاکلی	۵	۵	۲/۵	۵
سودوموناس	۵	۲/۵	۵	۲/۵
باسیلوس سرئوس	۵	۵	۵	۵
شیگلا دیسنتری	۵	۲/۵	۲/۵	۲/۵

جدول ۵- حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره‌های مختلف علف مار بر روی باکتری‌های استاندارد (میلی گرم / میلی لیتر)

نام باکتری	نوع عصاره			
	آبی	اتانولی	هیدروالکلی	اتیل استات
ویبریو کلرا	۲/۵	۱/۲۵	۵	۲/۵
اشریشیاکلی	۱/۲۵	۰/۶۲	۱/۲۵	۱/۲۵
سودوموناس	۲/۵	۲/۵	۱/۲۵	۲/۵
باسیلوس سرئوس	۱/۲۵	۰/۶۲	۵	۱/۲۵
شیگلا دیسنتری	۱/۲۵	۲/۵	۰/۶۲	۲/۵

جدول ۶- حداقل غلظت کشندگی عصاره‌های مختلف علف مار بر روی باکتری‌های استاندارد (میلی گرم / میلی لیتر)

نام باکتری	نوع عصاره			
	آبی	اتانولی	هیدروالکلی	اتیل استات
ویبریو کلرا	۵	۲/۵	۱۰	۵
اشریشیاکلی	۲/۵	۱/۲۵	۲/۵	۲/۵
سودوموناس	۵	۵	۲/۵	۵
باسیلوس سرئوس	۲/۵	۱/۲۵	۱۰	۲/۵
شیگلا دیسنتری	۲/۵	۵	۱/۲۵	۵

جدول ۷- حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره‌های اتانولی گیاهان علف مار، علف مورچه و اشورک بر روی قارچ کاندیدا/آلبیکنس (میلی گرم / میلی لیتر)

کد قارچ	حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره علف مار	حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره علف مورچه	حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره اشورک
۱	۲۵	۱۲/۵	۵۰
۲	۲۵	۳/۱	۲۵
۳	۲۵	۲۵	۱۲/۵
۴	۱۲/۵	۱۲/۵	۲۵
۵	۲۵	۶/۲۵	۱۲/۵
۶	۱۲/۵	۱۲/۵	۵۰
۷	۵۰	۲۵	۱۲/۵
۸	۲۵	۱۲/۵	۵۰
۹	۵۰	۲۵	۲۵

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که کمترین غلظت مهارکنندگی عصاره آبی برابر با ۲/۵ میلی گرم بر میلی لیتر بوده که باکتری‌های اشریشیاکلی، باسیلوس سرئوس و شیگلا دیسنتری را مهار کرده است. حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره اتانولی در برابر باکتری‌های ویبریوکلرا، اشریشیاکلی، سودوموناس آئروژینوزا، باسیلوس سرئوس، شیگلا دیسنتری برابر با ۵ میلی گرم بر میلی لیتر بوده است، کمترین غلظت مهارکنندگی عصاره متانولی اشورک برابر با ۱/۲۵ میلی گرم بر میلی لیتر بوده که باکتری باسیلوس سرئوس در این غلظت از بین رفته است.

در مطالعه Khan و همکاران که فعالیت ضد میکروبی عصاره آبی، آلکالوئید اشورک را بررسی کردند نتایج نشان داد که عصاره آلکالوئیدی تأثیر خوبی در برابر باکتری اشریشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین دارد (۱۱).

در مطالعه Shehzad و همکاران سنتز نانو ذرات در عصاره ریشه اشورک انجام دادن فعالیت ضد میکروبی نشان داد نانو ذرات سنتزی باعث افزایش فعالیت ضد میکروبی در برابر اشریشیاکلی به نسبت باسیلوس سابتیلیس شده است (۱۲).

در مطالعه Khan و همکاران که فعالیت ضد قارچی عصاره متانولی اشورک را بررسی کردند نتایج نشان داده که قطر هاله مهاری در برابر قارچ‌های *T. solani*, *C. albicans*, *longifusis* برابر با ۱۸±۱/۵ و ۲۳±۱، ۲۵±۰/۵ میلی متر بوده است در حالی که قطر هاله مهاری عصاره کلروفرمی در برابر *M. canis* و *A. flavus*, *T. longifusis* برابر با ۱۱±۱/۵ و ۷±۱، ۱۰±۰/۵ میلی متر بوده است (۱۳).

در مطالعه Kabi و همکاران که فعالیت ضد میکروبی عصاره آبی اشورک بر روی باکتری‌های

تولیدکننده بتالاکتاماز وسیع الطیف را بررسی کردند نتایج نشان داد که بیشترین نرخ مهار باکتری‌های تولیدکننده بتالاکتاماز (۴۹/۲ درصد) در مقایسه باکتری‌های غیر تولیدکننده بتالاکتاماز (۵۰/۸ درصد) بوده است (۱۴). در حالی که در تحقیق حاضر کمترین غلظت مهارکنندگی عصاره‌های علف مار مربوط به عصاره اتانولی بوده که برابر با ۰/۶۲ میلی گرم بر میلی لیتر بوده که باکتری اشریشیاکلی و باسیلوس سرئوس مهار شده و در همین غلظت عصاره هیدروالکلی و متانولی مهارکننده باکتری‌های شیگلا دیسنتری و سودوموناس آئروژینوزا بوده‌اند.

علف مار خواص آنتی اکسیدانی و آنتی باکتریال دارد (۱۵)، به طوری که آثار ضد باکتریایی پلی ساکاریدهای برگ این گیاه بر باکتری‌های گرم منفی (اشریشیاکلی، شیگلا و سالمونلا) مؤثرتر از باکتری‌های گرم مثبت (باسیلوس پائیس و استافیلوکوکوس اورئوس) بود (۱۵). همچنین خواص ضد میکروبی ریشه گیاه علف مار نیز بررسی شده است (۱۶)، که به وفور در طب سنتی جنوب کشور ایتالیا مورد استفاده قرار می‌گیرد. خواص ضد باکتریایی ریشه علف مار به ترکیبات هتروسیدیک آن منسوب شده است. Boqa و همکاران فعالیت ضد میکروبی عصاره ریشه علف مار را بر علیه رشد *Deinococcus radiophilus* نشان داده‌اند (۱۶).

در مطالعه Prakash و Kalpana که فعالیت ضد میکروبی برگ و میوه علف مار را بررسی و نشان دادند که قطر هاله مهاری عصاره اتانولی برگ علف مار با غلظت ۱۰۰۰ ppm در برابر باکتری‌های *B. subtilis*, *E. coli*, *E. faecalis*, *Klebsiella*, *S. aureus* و *aeruginosa* برابر با ۲/۱، ۱/۵، ۰/۹، ۱/۶ و ۱ سانتی متر بوده است در حالی که قطر هاله مهاری عصاره اتانولی میوه علف مار در برابر همین باکتری‌ها برابر با ۱/۷، ۲/۳، ۲/۱، ۱/۵ و ۲/۴ و ۱/۶ سانتی متر بوده است (۱۷).

در مطالعه مقصودی و سعیدی که اثرات ضد میکروبی عصاره اتانولی گیاه علف مار را بر روی *سالمونلا تیفی* موریوم بررسی کردند نتایج نشان داد که کمترین غلظت مهارکنندگی برابر با ۲/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر بوده است که ۳ سویه در این غلظت از بین رفته است در حالی که بیشترین غلظت مهارکنندگی برابر با ۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بوده است (۱۸). در حالی که در تحقیق حاضر حداقل غلظت مهارکنندگی علف مار در عصاره‌های اتانولی، هیدروالکلی و متانولی بر علیه باکتری‌های *سودوموناس*، *باسیلوس سرئوس* و *شیگلا دیسنتری* برابر با ۰/۶۲ بوده که نشان‌دهنده تأثیر بیشتر این عصاره بر این باکتری‌های نامبرده می‌باشد.

در مطالعه Mahboubi که فعالیت ضد میکروبی عصاره آبی، اتانولی، اتیل استات و متانولی عصاره برگ و ریشه علف مار را بررسی کردند نتایج نشان داد که عصاره آبی ریشه علف مار خاصیت مهارکنندگی بیشتری در برابر باکتری‌ها نسبت به عصاره الکلی علف مار نشان داده است (۱۹). در تحقیق حاضر مشخص شد که بسته به نوع باکتری حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی برای عصاره‌های مختلف متفاوت می‌باشد.

عصاره متانولی ساقه و شاخه علف مار که در برابر *باسیلوس سابتیلیس* بررسی شد نتایج نشان داد که قطر هاله مهارتی به ترتیب برابر با ۲۶/۸ و ۲۴/۶ میلی‌متر بوده است (۲۰). Mazarei و همکاران نشان دادند که پلی‌ساکاریدهای برگ علف مار بیشترین فعالیت ضد میکروبی را در برابر باکتری‌های *شریشیاکلی*، *سالمونلا تیفی* و *سالمونلا دیسنتری* دارد (۱۵). نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که کمترین غلظت مهارکنندگی مربوط به عصاره متانولی علف مورچه بوده و برابر با ۰/۶۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بوده که باکتری *باسیلوس سرئوس* در این غلظت از بین رفته است.

در مطالعه Thirunavukkarasu و همکاران که فعالیت ضد میکروبی عصاره علف مورچه را بررسی کردند نتایج نشان داد که قطر هاله مهارتی عصاره آبی علف مورچه در برابر باکتری‌های *B. S. aureus*، *K. P. aeruginosa*، *B. subtilis*، *pumilus* و *E. coli* برابر با ۵، ۹، ۷، ۶، ۴ و ۱ میلی‌متر بوده است (۲۱). در مطالعه Suganthi و همکاران قطر هاله مهارتی عصاره اتیل استات علف مورچه در برابر باکتری‌های *شریشیاکلی*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *پروتئوس* و *سودوموناس* برابر با ۴، ۴، ۲ و ۳ میلی‌متر، قطر هاله مهارتی عصاره متانولی در برابر همین باکتری‌ها برابر با ۵، ۵ و ۷ میلی‌متر بوده است (۲۲).

در مطالعه Balasubramanian و همکاران که فعالیت ضد میکروبی نانو ذرات سنتز شده در علف مورچه را بررسی کردند نتایج نشان داد که قطر هاله مهارتی با غلظت ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر برابر با ۱۴-۱۱-۱۰ و ۱۴ میلی‌متر در برابر باکتری‌های *P. aeruginosa*، *E. coli*، *S. aureus* و *E. faecalis* ایجاد کرده است (۲۳). در مطالعه شهرکی و همکاران حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره گیاه علف مورچه در برابر باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *شریشیاکلی* برابر با ۹۸ و ۱۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بوده و حداقل غلظت کشندگی در برابر همین باکتری‌ها برابر با ۳۲۰ و ۶۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بوده است (۲۴).

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج این تحقیق می‌توان گفت عصاره اشورک، علف مورچه و علف مار با حلال‌های مختلف مهارکننده رشد باکتری‌های بیماری‌زا است که می‌توان از این گیاهان برای درمان بیماری‌های عفونی استفاده کرد.

References

- 1- Davari A, Solouki M, Fazeli-Nasab B. Effects of jasmonic acid and titanium dioxide nanoparticles on process of changes of phytochemical and antioxidant in genotypes of *Satureja hortensis* L. *Eco-Phytochemical Journal of Medicinal Plants* 2018;5(4):1-20.
- 2- Yang Y, Xi-Qiang L, Chun-Ping T. Natural products chemistry research 2006's progress in China. *Chin J Nat Med* 2008;6(1):70-78. [https://doi.org/10.1016/S1875-5364\(09\)60008-X](https://doi.org/10.1016/S1875-5364(09)60008-X)
- 3- Islam S, Rahman A, Sheikh MI, et al. In vitro antibacterial activity of methanol seed extract of *elettaria cardamomum* (L.) maton. *Agriculturae Conspectus Scientificus* 2010;75(3):113-117.
- 4- Baeshen NA, Elkady AI, Abuzinadah OA, Mutwakil MH. Potential anticancer activity of the medicinal herb, *Rhazya stricta*, against human breast cancer. *African journal of biotechnology* 2012;11(37):8960-8972. <https://doi.org/10.5897/AJB12.570>.
- 5- Akhgari A. Alkaloids of in vitro cultures of *Rhazya stricta*. VTT Science, Dissertation 93 2015.
- 6- Gilani SA, Kikuchi A, Shinwari ZK, et al. Phytochemical, pharmacological and ethnobotanical studies of *Rhazya stricta* Decne. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives* 2007;21(4):301-307. <https://doi.org/10.1002/ptr.2064>
- 7- Baeshin NA, Twaty N, Al-Hebshi A. Evaluating the genotoxicity of *Rhazya stricta* leaves extract by the *Saccharomyces cerevisiae* auxotrophic mutants test. *Egypt. J. Nat. Toxi* 2005;2(87-100).
- 8- Abadi F, Abdulaziz A, Hadhoud A, et al. An epidemiological survey and evaluation of the antimicrobial growth effect of *Rhazya stricta* (Decne) leaves extract on different genotypes of *Neisseria meningitides*. *Egypt J Med Microbiol* 2011;20(2):77-86.
- 9- Baeshin N, Sabir J, Qari S. Cytogenetic and molecular evaluations of genetic effects of leaf extract of *Rhazya stricta* (Decne) on *Allium cepa* root tip meristems. *Egyptian Journal of Genetics and Cytology* 2016;38(1).
- 10- Alcántara M, Morales M, Carnés J. Food allergy to caper (*Capparis spinosa*). *Journal of investigational allergology & clinical immunology* 2013;23(1):67-69. PMID:23653983
- 11- Khan R, Baeshen MN, Saini KS, et al. Antibacterial activities of *Rhazya stricta* leaf extracts against multidrug-resistant human pathogens. *Biotechnology & Biotechnological Equipment* 2016;30(5):1016-1025. <https://doi.org/10.1080/13102818.2016.1209087>
- 12- Shehzad A, Qureshi M, Jabeen S, et al. Synthesis, characterization and antibacterial activity of silver nanoparticles using *Rhazya stricta*. *PeerJ* 2018;6(e6086. PubMed 30588401
- 13- Khan S, Khan GM. In vitro antifungal activity of *Rhazya stricta*. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences* 2007;20(4):279-284. PMID:17604249
- 14- Kabli SAA, Hadhoud AEDA, Baeshen MN. An epidemiological survey of extended-spectrum β -lactamases producing bacteria genotypes and the evaluation of the antimicrobial effect of *Rhazya stricta* leaf extract. *Microbiology Research* 2012;3(2):e16-e16. <https://doi.org/10.4081/mr.2012.e16>
- 15- Mazarei F, Jooyandeh H, Noshad M, Hoojati M. Polysaccharide of caper (*Capparis spinosa* L.) Leaf: Extraction optimization, antioxidant potential and antimicrobial activity. *Int J Biol Macromol* 2017;95(224-231. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.11.049>
- 16- Boga C, Forlani L, Calienni R, et al. On the antibacterial activity of roots of *Capparis spinosa* L. *Nat Prod Res* 2011;25(4):417-421. <https://doi.org/10.1080/14786419.2010.487189>
- 17- Kalpana B, Prakash M. Antibacterial activity of *Capparis sepia* L.(Capparidaceae) leaves and fruits. *Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci* 2015;4(1):1007-1012.
- 18- Maghsoudi A, Saeedi S. Study of antimicrobial effects of ethanol extract of caper plant from Sistan on antibiotic resistant *Salmonella typhimurium*. *New Findings in Veterinary Microbiology* 2018;1(1):66-73.
- 19- Mahboubi M, Mahboubi A. Antimicrobial activity of *Capparis spinosa* as its usages in traditional medicine. *Herba Polonica* 2014;60(1):39-48. <https://doi.org/10.2478/hepo-2014-0004>
- 20- Gull T, Sultana B, Bhatti IA, Jamil A. Antibacterial potential of *Capparis spinosa* and *Capparis decidua* extracts. *International Journal of Agriculture and Biology* 2015;17(4):727-733 <https://doi.org/10.17957/IJAB/14.0007>
- 21- Thirunavukkarasu P, Ramanathan T, Manigandan V, et al. Antimicrobial Effect of Coastal Sand Dune Plant of *Cressa cretica*. *Diamond* 2000;9(4):355-363.
- 22- Suganthi G, Sripathy SK, Manian K. HPTLC and antibacterial analysis of extracts of *Cressa cretica* Linn. *Anc Sci Life* 2008;27(3):1-14. PMID: 22557271
- 23- Balasubramanian S, Eyapaul U, Bosco AJ, Kala S. Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using *Cressa cretica* Leaf Extract and its Antibacterial Efficacy. *International Journal of Advanced Chemical Science and Applications (IJACSA)* 2015;3(1):65-71.
- 24- Shahraki S, Shahraki T. Investigation of antioxidant, anti-bacterial properties and binding to human serum albumin in the *Cressa cretica* L. grown in the Sistan region. *Eco-Phytochemical Journal of Medicinal Plants* 2018;6(1):11-20.

Evaluation of antibacterial and antifungal activity of various extracts of the *Rhazya stricta* , *Capparis spinosa* , *cretica Cressa*

Saeede Saeidi¹, Bahman Fazeli-Nasab^{*2}

1- Agricultural Biotechnology Research Institute, University of Zabol, Zabol, Iran.

2- Lecturer, Research Dept. Of Agronomy and Plant Breeding, Agricultural Research Institute, University of Zabol, Zabol, Iran.

Receive: April 26, 2019; Revise: October 5, 2019; Accept: October 19, 2019

Summary

This study aimed to evaluate the antibacterial and antifungal activity of various extracts of the *Rhazya stricta*, *Capparis spinosa*, *cretica Cressa*. *Rhazya stricta*, *Capparis spinosa*, *cretica Cressa* plant collected from Saravan city, Sistan and Balouchestan Province. Extraction with different solvents was performed with a rotary machine. Standard bacteria were purchased from Persian Type Culture Collection (PTCC). Minimum inhibitory concentration and minimum bactericidal concentration were determined by the micro-dilution method. The results of this study showed that the lowest inhibitory concentration of the aqueous extract against *E. coli*, *Bacillus cereus*, and *Shigella dysenteriae* was 2.5 mg/ml. The results of this study also showed that the lowest inhibitory concentration was related to methanolic extracts of *Cressa*, which is equal to 0.62 mg/ml and *Bacillus cereus* bacterium is inhibited in this concentration. The lowest inhibitory concentration of the *Caper* extract (0.62 mg/ml) that inhibited *Escherichia coli* and *Bacillus cereus*, belonged to ethanolic extract. Also in the same concentration, the hydroalcoholic and methanolic extracts inhibited *Shigella disneraceae* and *Pseudomonas aeruginosa*. The results of this study indicate that the extract of the *Cressa* and *Caper* herb has good antimicrobial effects on fungal and bacteria pathogenesis.

Keywords: *Rhazya stricta*, *Capparis spinosa*, *cretica Cressa*, Different solvents, Pathogenic bacteria