

بررسی اثرات ضد باکتریایی عصاره آبی و الکلی سه گونه گیاه پیاز دار در ویترو

مسعود خیامی^۱ و امیر برجیان^۲

چکیده

استفاده بیش از حد از آنتی بیوتیکها اغلب مقاومت روزافزون باکتریها به این داروها شده است. از طرف دیگر مصرف بی رویه آنتی بیوتیکها اغلب با عوارض جانبی در بدن انسان همراه است. از آنجاییکه برخی از گیاهان خاصیت ضد میکروبی دارند، می توان از آنها برای مقابله با میکروبیهای بیماریزای خاص استفاده کرد و جایگزینی بی ضرر برای آنتی بیوتیکها پیدا نمود. در این کار پژوهشی اثرات ضد باکتریایی عصاره آبی و الکلی پیاز سه گونه به نامهای *Allium kharputens*, *Allium hirtifolium*, *Allium chrysantherum* روی سه باکتری بیماریزای انسانی (*Escherichia coli*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*) مورد آزمایش قرار گرفته است. این گیاهان به ترتیب از اطراف ارومیه، مهاباد و منطقه سردشت در آذربایجان غربی جمع آوری گردیده، سپس پیاز آنها در شرایط طبیعی خشک و پودر شدند. عصاره الکلی این پودر به روش پرکولاسیون تهیه شد. بدین معنی که به ۲۰ گرم از پودر گیاه مورد نظر الکل ۹۶ درجه اضافه شد و در یک قیف دکانتور به مدت ۴۸ ساعت در حرارت آزمایشگاه نگه داشته شد تا الکل عصاره را استخراج کند. برای تهیه عصاره آبی ۲۵ گرم از پودر گیاهی با ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر مخلوط و به مدت ۳۴ ساعت با شیکر به هم زده شد سپس محلول از روی کاغذ صافی عبور داده

۱- دانشیار گروه زیست شناسی، دانشگاه ارومیه

۲- دانشجوی کارشناسی ارشد، علوم گیاهی

شد. برای تعیین خاصیت ضد باکتریایی عصاره ها از روش انتشار دیسک استفاده شد. دیسک های بلانک به قطر ۶ میلیمتر (ساخت شرکت پادتن طب) در سه غلظت مختلف عصاره های گیاهان مورد آزمایش غوطه ور شدند. باکتریهای مورد آزمایش که از مرکز کلکسیون قارچها و باکتری های ایران (PTCC) تهیه شده بودند، روی محیط کشت مولر هینتون آگار در پتری دیش هایی به قطر ۱۲ سانتیمتر کشت داده شدند. دیسک های حاوی عصاره های گیاهی روی آن قرار داده شد. همزمان دیسک های شاهد منفی و آنتی بیوتیکهای رایج ضد باکتریها نیز برای مقایسه بکار گرفته شد. پتری دیش ها به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتیگراد قرار داده شد و سپس قطر هاله ممانعت رشد باکتریها با کولیس اندازه گرفته شد. نتایج بدست آمده نشان می دهند که هم عصاره آبی و هم عصاره الکلی پیاز *A. hirtifolium* در حد بالایی روی باکتری های مورد آزمایش موثر بوده و عصاره آبی دو گونه دیگر اثر معنی داری روی باکتریهای مورد آزمایش نداشته است.

واژه های کلیدی: اثرات ضد باکتریایی، عصاره آبی، عصاره الکلی، جنس پیاز.

مقدمه

استفاده بیش از حد از آنتی بیوتیکها باعث مقاومت روزافزون باکتریها به این دارو شده است ضمن اینکه مصرف بی رویه آنتی بیوتیکها اغلب با عوارض جانبی همراه است. از آنجاییکه برخی از گیاهان خاصیت ضد میکروبی از خود بروز می دهند می توان از آنها برای مقابله با میکروبیهای بیماریزای خاص استفاده کرد و جایگزینی بی ضرر برای آنتی بیوتیکها پیدا نمود. به همین دلیل در سالهای اخیر در بسیاری از نقاط جهان تحقیقات برای پیدا کردن گیاهانی که خاصیت ضد میکروبی دارند از سر گرفته شده است که بعضی از آنها به عنوان سابقه تحقیق اشاره می شود. در سال ۱۹۸۸ تحقیقات

وسعی روی تعدادی از گونه های جنس مریم گلی^۱ بومی جزایر کاناری^۲ انجام گرفته است. ترکیبات دی ترپن ها از این گیاهان جدا شده اند و فعالیت ضد باکتریایی این ترکیبات با روش انتشار دیسک کاغذی مورد مطالعه قرار گرفت و نشان داده شد که روی باکتریهای گرم مثبت مانند باسیلوس سوبتیلیس^۳ و استافیلوکوکوس اورئوس^۴ موثرند، البته باکتریهای گرم منفی مانند اشرشیا کلی^۵ و سودوموناس اثرورینوزا^۶ حساسیتی به این ماده نداشتند (Bravo و Darias، ۱۹۹۰). در سال ۱۹۹۳ عصاره های تعدادی از گیاهان دارویی مورد استفاده مردم آرژانتین جهت بررسی فعالیت ضد میکروبی بر روی استافیلوکوکوس اورئوس و اشرشیا کلی و آسپرژیلوس نیجر^۷ مورد آزمایش قرار گرفت که از بین آنها عصاره دوازده گونه روی استافیلوکوکوس اورئوس و عصاره های ده گونه روی اشرشیا کلی و عصاره چهار گونه روی آسپرژیلوس نیجر موثر بودند (Anesini و Peraz، ۱۹۹۳). در سال ۱۹۹۶ عصاره خام از بخشهای مختلف ۵۹ گونه متفاوت از اسکروفولیاسه^۸ و آکانتاسه^۹ استخراج و با روش انتشار دیسک روی اشرشیا کلی و استافیلوکوکوس اورئوس و قارچ کانیدیدا آلیکانس^{۱۰} تأثیر داده شد، فعالیت مهار کنندگی این عصاره ها در مقابل یک یا بیشتر از یک گونه میکروبی بیش از ۴۵ درصد بوده است (Mc.Beth و Meurrer، ۱۹۹۶). در سال ۱۹۹۶ فعالیت ضد میکروبی عصاره اتری و اتانولی گیاه *Vitex agaus-castus* L. با روش رقت لوله ای مطالعه شد. عصاره ها روی باکتریهای استافیلوکوکوس اورئوس و اشرشیا کلی و

1 - Salvia

2 - Canary

3 - Bacillus subtilis

4 - Staphylococcus aureus

5 Escherichia coli

6 - Pseudomonas aeruginosa

7 Aspergillus niger

8 Scrophulariaceae

9 - Acanthaceae

10 - Candida albicans

استرپتوکوکوس فکالیس^۱ و سالمونلا^۲ و قارچ کانیدیدا آلبیکانس موثر واقع شدند (Pepelinja و Kustark، ۱۹۹۶). در این کار تحقیقی سه گیاه پیاز دار انتخاب شدند تا اثرات احتمالی آنها مورد بررسی قرار گیرد. این گیاهان عبارتند از گیاه لوشه *Allium chrysantherum* و گیاه موسیر *Allium hirtifolium* و گیاه قونسور

Allium kharputens

مواد و روشها

گیاه موسیر از دره شهدا در نزدیکی ارومیه و گیاه قونسور از اطراف مهاباد و گیاه لوشه از ناحیه سردشت واقع در آذربایجان غربی جمع آوری گردیدند و با استفاده از منابع و به کمک نمونه های هرباریومی شناسایی شدند (قهرمان، ۱۳۷۳، مبین، مظفریان، ۱۳۷۷، Rechinger، ۱۹۷۲). پیاز گیاهان جمع آوری شده بعد از تمیز کردن قطعه قطعه شده و در شرایط آزمایشگاهی و دور از نور خورشید خشک شده و سپس با آسیاب برقی بصورت پودر در آمده برای تهیه عصاره الکلی ۲۰ گرم از پودر گیاه مورد نظر را با ۲۰ میلی لیتر الکل ۹۶ درجه مخلوط تا بصورت خمیر درآید سپس آنرا در قیف دکانتور ۳ قرار داده روی آن به ارتفاع ۲ سانتیمتر (حدود ۴۰ میلی لیتر) الکل می ریزیم و بعد از ۴۸ ساعت قیف را باز تا عصاره الکلی خارج شود. عمل را سه بار تکرار می کنیم و عصاره حاصل که بعد از تبخیر الکل بصورت صمغ می باشد بدست می آید (روش پرکولاسیون)^۳. برای تهیه عصاره آبی ۲۵ گرم پودر گیاهی با ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر مخلوط و بمدت ۲۴ ساعت در بهم زن قرار داده سپس با کاغذ صافی شماره دو صاف نمودیم.

1 - *Streptococcus faecalis*
2- *Salmonella*
3- Perculation

باکتریهای مورد آزمایش از مرکز کلکسیون قارچها و باکتریهای صنعتی و عفونی ایران (P.T.C.C) تهیه شدند و عبارتند از:

<i>Staphylococcus aureus</i>	P.T.C.C (1112)
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	P.T.C.C (1114)
<i>Escherichia coli</i>	P.T.C.C (1330)

برای تعیین اثر ضد باکتریایی عصاره ها از روش انتشار دیسک استفاده شد. دیسکهای بلانک به قطر ۶ میلیمتر (ساخت شرکت پادتن طب) در سه غلظت (۷۵ درصد و ۵۰ درصد و ۲۵ درصد) عصاره های گیاهان مورد آزمایش غوطه ور شدند. باکتریهای مورد آزمایش در محیط کشت مولر هیتون آگار^۱ و در پتری دیش هایی به قطر ۱۲ سانتیمتر کشت داده شدند و همزمان دیسکهای حاوی عصاره گیاهی روی آنها قرار دادند. دیسک های شاهد منفی و آنتی بیوتیکهای رایج ضد باکتریها نیز برای مقایسه بکار گرفته شد. پتری دیش ها بمدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتیگراد قرار داده شد و آنگاه قطر دایره ممانعت رشد^۲ باکتریها با کولیس اندازه گیری شد. آنتی بیوتیکهای بکاربرده جهت مقایسه عبارتند از: توبرامایسین^۳ و جنتامایسین^۴ و تریامتوپرین^۵.

نتایج و بحث

نتایج بدست آمده در نمودارهای شماره ۱ و ۲ و ۳ منعکس شده است. در مورد گیاه موسیر هم عصاره الکلی و هم عصاره آبی به نحو چشم گیری روی باکتری استافیلوکوکوس اپیدرمیس موثر بوده است و اثر بهتر آن در مقایسه با آنتی بیوتیک انتخابی یعنی توبرامایسین مشاهده گردیده است. بطوریکه در نمودار مشخص شده

1- Muller Hinton Agar

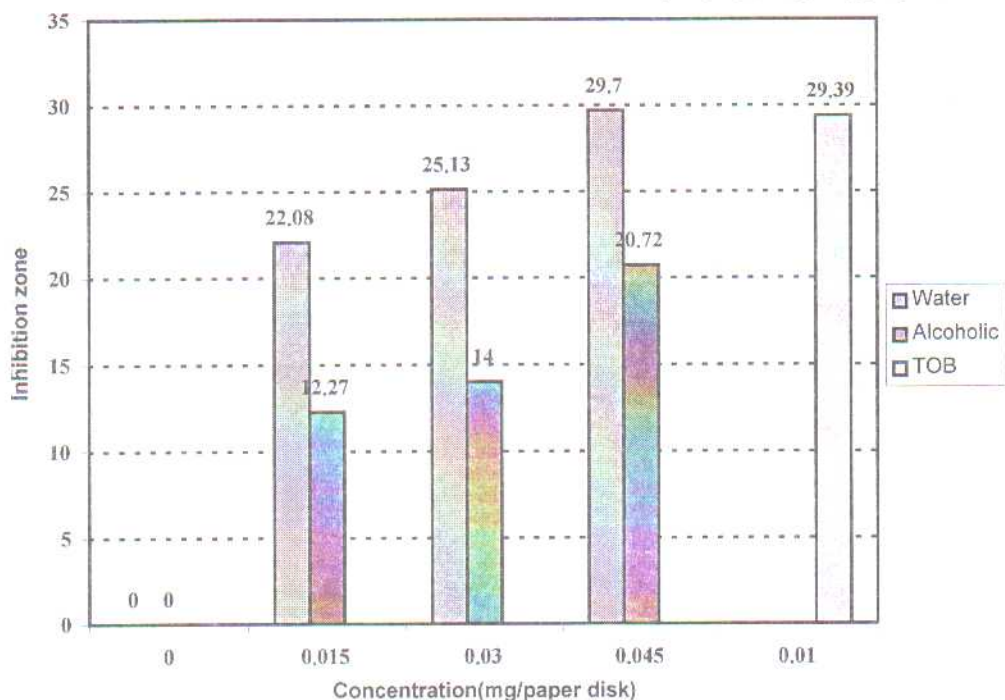
2- Inhibition zone

3- Tobramycin

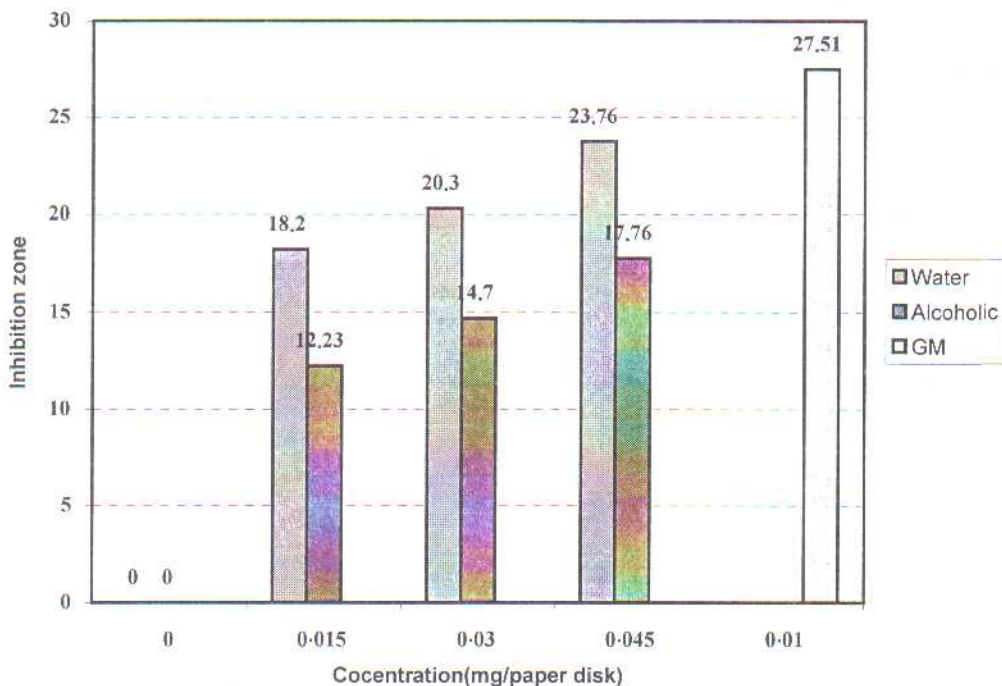
4 - Gentamycin

5 - Triamethoprin

است با افزایش غلظت، قدرت مهار کنندگی عصاره ها نیز افزایش یافته است. عصاره آبی و الکلی موسیر روی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس نیز اثر خوبی از خود نشان داده است و اثر آن تقریباً در حد آنتی بیوتیک انتخابی مربوطه یعنی جنتامایسین می باشد. اثر عصاره این گیاه روی باکتری اشرشیا کلی نیز معنی دار بوده است. در مورد دو گیاه قونسور و لوشه عصاره های آبی و الکلی این دو گیاه در غلظتهای آزمایش شده اثر ضد باکتریایی معنی داری از خود نشان ندادند.



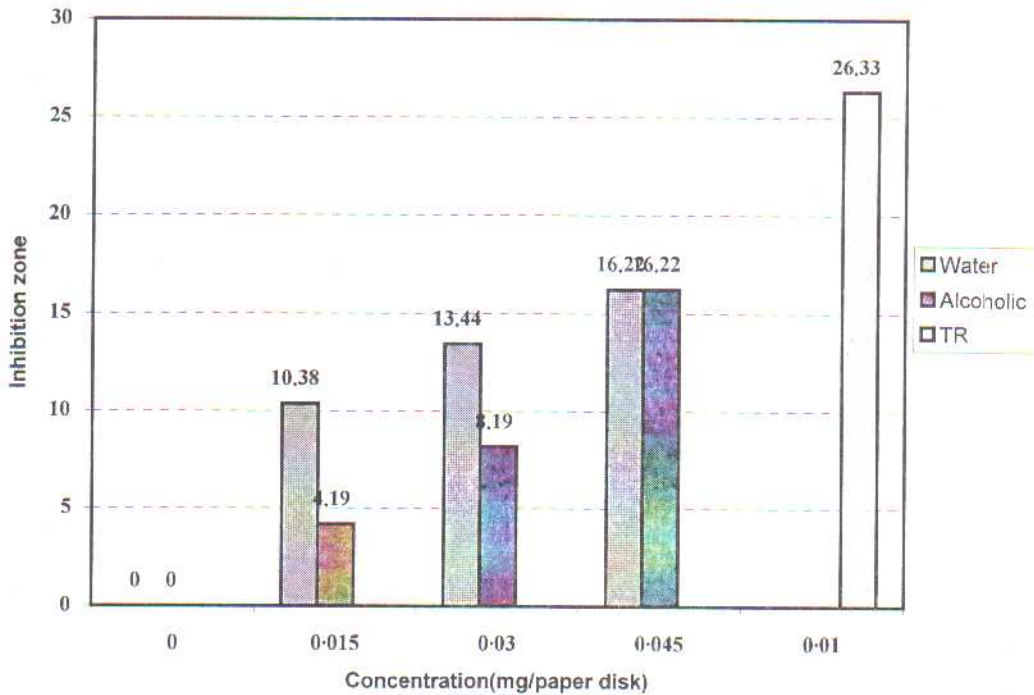
نمودار ۱- نمودار اثر ضد میکروبی عصاره آبی و الکلی موسیر
Allium hirtifolium بر باکتری استافیلوکوکوس اپیدرمیس و مقایسه
 با آنتی بیوتیک توبرامایسین
 Tobramycin=TO



نمودار ۲- نمودار اثر ضد میکروبی آبی و الکلی موسیر *Allium hirtifolium* بر

باکتری استافیلوکوکوس اورئوس و مقایسه با آنتی بیوتیک جنتامایسین

Gentamycin=GM



نمودار ۳- نمودار اثر ضد میکروبی عصاره آبی و الکلی موسیر *Allium hirtifolium*

بر باکتری اشرشیا کلی و مقایسه با آنتی بیوتیک تریامتوپرین Triamethoprin=TR

منابع

- قهرمان، ا.، ۱۳۷۳. فلور رنگی ایران، لیلیاسه. - موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع. مبین، ص.، رستنی های ایران. جلد اول، دانشگاه تهران.
- مظفریان، و.، ۱۳۷۷. فرهنگ نامهای گیاهان ایران. انتشارات فرهنگ معاصر، تهران.
- Anesini, G. and C. Peraz, 1993. Screening of plants used in Argentina folk medicine for antimicrobial activity. *J. Of Ethnopharmacology*, 39(2): 119-128.
 - Darias, V. and L.L. Bravo, 1990. Cytostatic and antimicrobial activity of some compounds isolated from several Lamiaceae from Canary Island. *Plant Medical*, 56: 70-72.
 - Meurrer, B. and B.L. McBeth, 1996. Antimicrobial activity in medicinal plants of the Scrofuliaceae and Acanthaceae. I. *J. of Pharmacology*, 34(4): 243-248.
 - Pepelinja, K.S. and D. Kustark, 1996. Antimicrobial activity of the *Vitex Agnus-castus* L. Extracts. *Acta Pharmaceutica (Zagreb)*. 46(3): 201-206.
 - Rechinger, K. H., 1972. *Flora Iranica, Alliaceae* No. 76. Pp.85

Antibacterial effects of alcoholic and water extracts of three species from Alliaceae in vitro

M. Khayami¹, A. Borjian²

Abstract

The ability of bacteria to develop resistance to antibiotics has become a significant problem in the treatment and control of diseases. Some of the plants however, show antibacterial effects. The extracts of these plants are natural products and do not cause any risk to human body and could be replace antibiotics. In this study we investigated the antibacterial effects of *Allium hirtifolium*, *A. kharputens* and *A. chrysantherum* on three strains of bacteria: *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *Escherichia coli*. The plants were collected from vicinity of Urmia, Mahabad and Sardasht in west Azerbaijan. "Disk Diffusion Method" used the extracts of dry bulbs against bacteria. The samples matched with antibiotics recently recommended against our selected bacteria. The result showed that the extracts of *Allium hirtifolium* had high effect on all the three bacteria but extract of two other plants had not a significant effect on used bacteria.

Key words: Medicinal plant, Antibacterial effects, Allium.

1 - Academic Member of Biology, Urmia University, P. O. Box: 162, Urmia, Iran.
Email: m.khayami@mail.urmia.ac.ir

2 - Student of Biology, Urmia University, P. O. Box: 162, Urmia, Iran.