

تأثیر عصاره‌های الکلی و آبی گونه‌هایی از جنس بارهنگ در سنین ۲-۳ و ۵ ماهگی روی میکروارگانیسم‌های مختلف

آمنه جمشیدی*، مرضیه حاجتی**، غلامرضا بخشی خانیکی***

چکیده

عصاره الکلی و آبی ۴ گونه از جنس بارهنگ در سنین ۲، ۳ و ۵ ماهگی گیاه روی ۳ سوش باکتری و یک فارچ مورد بررسی قرار گرفت. هیچ‌کدام از عصاره‌ها به‌طور کامل باعث مهار رشد میکروارگانیسم‌ها نشد، ولی عصاره الکلی گونه‌هایی مانند *P. major*، *P. lanceolata* و *P. amplexicaulis* در سن ۵ ماهگی و با غلظت ۱۰۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر روی رشد *st. aureus* اثر مهاری متوسطی نشان داد و *P. major* اثر بازدارندگی بهتری در هر ۳ سن روی *C. albicans* نسبت به سایر گونه‌های بارهنگ نشان داد. عصاره آبی هر ۴ گونه جنس بارهنگ در تمام سنین و در غلظت‌های ۱۰۰۰-۱۲۵ میکروگرم در میلی‌لیتر روی ۳ سوش باکتری بدون تأثیر بود و اثر مهاری خیلی ضعیفی روی *C. albicans* نشان داد. به‌طور کلی عصاره‌های الکلی نسبت به عصاره‌های آبی تأثیر مهاری بهتری نشان دادند و تأثیر گونه‌های گیاهی ۵ ماهه نسبت به ۲ و ۳ ماهه روی مهار رشد میکروارگانیسم‌ها بهتر بود.

برای هیچ‌کدام از عصاره‌ها حداقل غلظت مهاری یا Minimum Inhibitory Concentration (MIC) کامل به دست نیامد. ولی عصاره برخی نمونه‌ها ۸۰٪ غلظت مهاری را نشان داد.

کلیدواژه

Plantago amplexicaulis، *Plantago lanceolata*، *Plantago media*، *Plantago major*، حداقل غلظت مهاری، خواص ضد میکروبی، گیاهان دارویی.

* عضو هیئت علمی دانشگاه پیام نور، مرکز تهران.

** کارشناس ارشد علوم گیاهی.

*** عضو هیئت علمی دانشگاه پیام نور، مرکز تهران.

مقدمه

فلاونوئید، کارتنوئید، اکوبین، کاتالپین، ساپونین، اینورتین، اپی گنین، سوربیتول، مواد معدنی، ویتامین ها، تانن، رزین، صمغ، سوم و غیره است (زرگری، ۱۳۷۶؛ صمصام شریعت، ۱۳۷۲؛ میرحیدر، ۱۳۷۳؛ James, 2000; anonymous, 2006). بارهنگ توسط کیمسیون E آلمان نیز مورد آزمایش قرار گرفته است و استفاده در مورد سرفه و عفونتهای تنفسی و التهاب پوست را توصیه می کند (James, 2006). ریشه، برگ و دانه آن تصفیه کننده خون، خنک کننده، نرم کننده دستگاه تنفسی و التیام بخش زخم بوده، در درمان سوختگی و گزیدگی نیش حشرات کاربرد دارد. عصاره تازه برگ آن در التهاب پوست، برونشیت، آسم، کنترل قند و چربی خون و برای عفونت قارچی به کار می رود. برای برگ آن خاصیت ضد میکروبی، ضد سم، ضد ویروس و ضد عفونی کننده در نظر گرفته اند (زرگری، ۱۳۷۶؛ صمصام شریعت، ۱۳۷۲؛ میرحیدر، ۱۳۷۳؛ James, 2006; Grieve, 2004, Narayan & Kumar, 2003; Schwartz, 2003; anonymous, 2006 & 2000). برای بارهنگ خاصیت باکتریواستاتیک و باکتریوسیدال در نظر گرفته اند و فرم سرد عصاره بارهنگ را به عنوان ضد میکروب در نظر می گیرند (anonymous, 2000). بارهنگ را برای بهبودی افراد مبتلا به برونشیت و به عنوان ضد التهاب و کاهش دهنده درد تجویز می کنند و همچنین برای بارهنگ خاصیت آنتی اکسیدان در نظر گرفته اند (Soaring & Michael, 2001) برای برگ بارهنگ خاصیت ضد قارچی و ضد باکتریایی در نظر گرفته اند (Fabiola et.al. 2002) در نیمه شمالی اسکاتلند

استفاده از گیاهان در التیام دردها، تسکین یا رفع بیماری ها و بهبود زخم ها، از دیرباز در میان انسان ها معمول بوده است. امروزه به دلیل پدیده خودایمنی و عوارض جانبی داروهای شیمیایی، تحقیق در مورد گیاهان دارویی، خصوصاً گیاهانی که دارای خاصیت ضد میکروبی هستند شکل جدی تری به خود گرفته است. از گیاه بارهنگ استفاده دارویی زیادی به طور سنتی صورت گرفته است. تحقیقات دارویی مدرن نیز استفاده دارویی از بارهنگ را در قدیم حمایت می کند (James, 2006). جنس *Plantago L.* متعلق به راسته *plantaginales* زیررده های *Asteridea* رده *magnolipsida* و خانواده *Plantaginaceae* است. تعداد گونه های این جنس را در دنیا از ۲۵۰ تا ۲۸۲ گونه گزارش کرده اند که ۲۲ گونه از این جنس در ایران می روید و در هر زمانی، از بهار تا تابستان، یافت می شود (پارسا؛ جانی قربانی، ۱۳۷۴؛ قهرمان، ۱۳۷۲؛ Bhatta Charje & Briggs, 1980; Crauven, Kumar, 1943 1976; Crounquist, 1988; Patzak & Rechner, 1965). اغلب قسمت های اندام گیاه نظیر برگ، ریشه و دانه آن مصارف دارویی دارد (زرگری، ۱۳۷۶؛ میرحیدر، ۱۳۷۳؛ Bhatta charje (& Kumar, 1943). این گیاه در خاک های مرطوب و حاصلخیز در نور خورشید به خوبی رشد می کند، ولی با وجود این در خاک های شنی، ماسه ای و نسبتاً ضعیف، در تمام جاهای معتدل و در جاهای نیمه سایه نیز رشد می کند (Grieve, 2004; James, 2006; Schwartz 2003). ترکیبات شیمیایی بارهنگ شامل: موسیلاژ، اسیدهای آلی، پلی ساکارید، ماده پلاتناژین،

(MBH)، (مرک آلمان)؛ ۱۰. اودر آنتی‌بیوتیک Ceftriaxon (شرکت Hanmi کره)؛ ۱۱. پودر آنتی‌بیوتیک Nystatin (شرکت DSM capua. S.P.A ایتالیا).

روش کار

کشت گیاه و تهیه عصاره گیاه: بذر گونه‌های بارهنگ که از مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مزارع تهیه شده بود در اواخر فروردین ماه در گلدان‌های پلاستیکی (۱۵ × ۱۰ سانتیمتری) که حاوی ۴۰٪ خاک ماسه‌ای و ۴۰٪ رس و ۲۰٪ کود حیوانی و گیاهی بود کشت داده شد و تمامی آنها در شرایط نوری و رطوبت مناسب در دمای C ۲۵-۱۵ در آزمایشگاه قرار گرفت. برگ گیاه را در سنین ۲، ۳ و ۵ ماهگی برداشت کرد، بعد از تمیز کردن، در سایه خشک کردیم و به صورت پودر درآوردیم. سپس پودر را در حلال اتانول ۹۰٪ و حلالهای آب مقطر به طور جداگانه به نسبت ۱:۱۰ حل کرده، به مدت ۴۸ ساعت در یخچال و دور از نور نگهداری کردیم. برای عصاره‌گیری، این محلول را با فیلتر ۰/۲۲ میکرومتر، فیلتر کردیم و سپس لیوفیلیزه انجام گرفت و عصاره گیاهی به صورت پودر درآمد.

شرایط رشد برای میکروارگانیسم‌ها

باکتریها در محیطهای کشت MHA و MHB و قارچ‌ها در محیط کشت SDA و SDB رشد می‌کنند.

آزمایش حساسیت میکروبی: برای انجام این

مرحله، مراحل زیر انجام شد:

بارهنگ به نام slan-lus یعنی گیاهی که آرامش می‌بخشد شناخته شده است (Grieve, 2004). در این تحقیق عصاره الکلی و آبی برگ ۴ گونه جنس *Plantago* نر سنین ۲، ۳ و ۵ ماهگی گیاه بر روی میکروارگانیسمهایی مانند *E.coli*, *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*، *Pseudomonas aeruginosa*، که به صورت میکروفلور طبیعی در بدن انسان یافت می‌شوند و معمولاً به عنوان رفرنس در آزمایش‌های میکروبی مورد استفاده قرار می‌گیرند، اثر داده شد (Patric et.al. 2003; Samuel, 1991; Victor Lorian, 1996).

مواد و روش‌ها

مواد: ۱. بذر ۴ گونه *Plantago media* L.، *Plantago major* L.، *Plantago lanceolata* L. و *Plantago amplexicaulis* CAV از مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کرج؛ ۲. خاک (ماسه‌ای و رس)؛ ۳. کود گیاهی و حیوانی؛ ۴. کلکسیون قارچ‌ها و باکتری‌های صنعتی و عفونی ایران (PTCC: ۵۰۲۷) *Candida albicans* از مرکز (PTCC)؛ ۵. باکتری‌های (PTCC: ۱۳۹۹) *E.coli*، کلکسیون قارچ‌ها و باکتری‌های صنعتی و عفونی ایران (PTCC: ۱۴۳۰) *Pseudomonas aeruginosa* از مرکز کلکسیون قارچ‌ها و باکتری‌های صنعتی و عفونی ایران (PTCC) و باکتری (ATCC) *staphylococcus* از مرکز انستیتو پاستور ایران؛ ۶. محیط کشت سابروودکستروز آگار (Agar=SDA) (Sabouraud Dextrose)، (مرک آلمان)؛ ۶. محیط کشت سابروودکستروز برات (SDB)، (مرک آلمان)؛ ۸. محیط کشت مولر هیتون آگار (agar=MHA) *Muller Hinton*، (مرک آلمان)؛ ۹. محیط کشت مولر هیتون برات

Baron & Finegold, 1990; Fabiola et.al.) مقدار میکروبی که در آزمایش‌ها برای تعیین (MIC) به کار می‌رود باید غلظتی معادل 5×10^5 cfu/ml داشته باشد (Baron & Finegold, 1990; Victor) (Lorian, 1996). ۱۰ لاندازا از سوسپانسیون میکروبی را که طبق 0.5 mac تهیه شده بود برداشته، به لوله حاوی ۳ میلی لیتر MHB و عصاره اضافه نمودیم. ۱۰ لاندازا از این سوسپانسیون حاوی $1/5 \times 10^6$ cfu/ml است و چون به لوله حاوی ۳ میلی لیتر محیط کشت و عصاره اضافه می‌شود، این لوله دارای 5×10^5 cfu/ml خواهد بود. برای هر کدام از باکتری‌ها یک شاهد مثبت (لوله حاوی MHB و باکتری) و یک شاهد منفی (لوله حاوی MHB، آنتی‌بیوتیک Ceftriaxon و باکتری) در نظر گرفته شد. از سوسپانسیون قارچ نیز که طبق روش 0.5 mac تهیه شده بود ۱۰۰۰ لاندازا برداشته، به لوله‌های حاوی ۲ میلی لیتر SDB و عصاره اضافه نمودیم. ۱۰۰۰ لاندازا از این سوسپانسیون حاوی $1/5 \times 10^6$ cfu/ml قارچ است و چون در نهایت به ۳ میلی لیتر می‌رسد، مقدارر تلقیحی قارچ برابر با 5×10^5 cfu/ml خواهد بود. برای قارچ نیز یک شاهد مثبت (لوله حاوی SDB و قارچ) و یک شاهد منفی (لوله حاوی SDB و آنتی‌بیوتیک Nystatin و قارچ) در نظر گرفته شد. برای عصاره لیوفیلیزه آبی نیز همین مراحل انجام گرفت. تمامی لوله‌های آزمایش به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور در دمای 37°C (برای باکتری) و 30°C (برای قارچ) قرار گرفت. بعد از گرماگذاری در انکوباتور، نتایج بررسی شد. لوله‌های آزمایشی که کلونی در آنها وجود داشت

الف) فعال کردن میکروارگانیسم‌ها: به آمپول‌های لیوفیلیزه باکتری در شرایط آسپتیک، سرم فیزیولوژی و به آمپول‌های قارچ، آب مقطر افزوده شد و پس از یکنواخت شدن سوسپانسیون، قطرات آخر آن را به پلیت‌های حاوی محیط کشت جامد که از عدم آلودگی آن مطمئن هستیم افزوده، کشت می‌دهیم. سپس ۲۴ ساعت در انکوباتور در دمای 37°C برای باکتری و 30°C برای قارچ قرار می‌دهیم. این محیط کشت، استوک قارچ و باکتری خواهد بود که در یخچال و در دمای 4°C قابل نگهداری است

ب) تهیه سوسپانسیون میکروبی: در آزمون سنجش حساسیت از سوسپانسیونی که حاوی کلرور سدیم 0.9% و میکروب است و کدورت آن معادل 0.5 MCFarland است استفاده شد. ۱ میلی لیتر از این سوسپانسیون $1/5 \times 10^6$ cfu/ml باکتری و $1/5 \times 10^6$ cfu/ml قارچ دارد (Baron & Finegold, 1990; Fabiola et.al. 2002).

ج) تأثیر عصاره‌های الکلی و آبی روی میکروارگانیسم‌ها: پودر لیوفیلیزه ۴ گونه بارهنگ در سنین ۲، ۳، ۵ ماهگی را در ۶۰ لاندازانول 90% حل کردیم، سپس با MHB و SDB، غلظت‌های 1000 – 125 میکروگرم در میلی لیتر از هر عصاره تهیه شد. برای تهیه این غلظت‌ها، ۶ میلی گرم از پودر گیاهی را پس از حل کردن در اتانول با برات به حجم ۶ میلی لیتر رساندیم. سپس رقیق‌سازی متوالی صورت گرفت و نهایتاً حجم همه آنها ۳ میلی لیتر شد. غلظتی از عصاره گیاهی یا آنتی‌بیوتیک که لازم است تا تحت شرایط استاندارد، رشد میکروب مشخصی را مهار کند، حداقل غلظت مهاری یا Minimum Inhibitory Concentration (MIC) نام دارد

مختلف به ترتیب ۵ ماهه نسبت به ۳ و ۲ ماهه تأثیر بهتری روی مهار رشد *st.aureus* و *C.albicans* نشان داد و عصاره ۳ ماهه نسبت به ۲ ماهه بهتر بود، به استثنای *P.major* الکلی که در هر ۳ سن با غلظت ۱۰۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر روی *C.albicans* تأثیر بازدارندگی مشابه و یکسانی را نشان داد. عصاره آبی هر چهارگونه در ۲ و ۳ ماهگی در تمام غلظت‌ها از ۱۰۰۰-۱۲۵ میکروگرم در میلی‌لیتر هیچ تأثیر بازدارندگی‌ای روی رشد میکروارگانیسم‌ها نشان نداد و در تمامی لوله‌ها کلونی و کدورت وجود داشت، ولی عصاره آبی ۵ ماهه در غلظت ۱۰۰۰ روی ۳ سوش باکتری بدون تأثیر بود و روی *C.albicans* تأثیر ضعیفی را نشان داد.

در مواردی که با ستاره مشخص شده است کدورت بسیار کم و کلونی وجود نداشت.

جدول ۱: P.major ۵ ماهه الکلی

غلظت (میکروگرم در میلی‌لیتر) میکروب	۱۰۰۰	۵۰۰	۲۵۰	۱۲۵
	St. a.	* +	* +	+
E.coli	+	+	+	+
p.a.	+		+	+
C.a.	* +	* +	+	+

جدول ۲: P.major ۳ ماهه الکلی

غلظت (میکروگرم در میلی‌لیتر) میکروب	۱۰۰۰	۵۰۰	۲۵۰	۱۲۵
	St. a.	* +	+	+
E.coli	+	+	+	+
p.a.	+		+	+
C.a.	* +	+	+	+

و کدورت هم دیده می‌شد نشان‌دهنده این بودند که عصاره تأثیر بازدارندگی روی رشد میکروارگانیسم نداشت است و لوله‌هایی که کدورت موجود در آنها خیلی کم بود و کلونی هم دیده نمی‌شد، ۱۰۰ لاندا از آن برداشته، به پلیت‌های حاوی محیط کشت جامد اضافه نمودیم و در تمام جهات کشت دادیم و بعد از ۲۴ ساعت گرماگذاری کلونی‌ها را شمارش کردیم. اگر در لوله‌ها هیچ کدورتی مشاهده نشود و مشابه لوله حاوی آنتی‌بیوتیک باشد، حداقل غلظت بازدارنده (MIC) به دست می‌آید که از این لوله‌ها ۱۰۰ لاندا برداشته، به محیط کشت می‌افزاییم. اگر تعداد کلونی‌های ایجادشده پس از ۲۴ ساعت کمتر از کلونی باشد حداقل غلظت کشنده (MBC) به دست می‌آید (Baron & Finegold, 1990). برای سنجیدن تعداد واقعی باکتری‌ها و رشد آنها از شاهد مثبت، درست پس از تلقیح باکتری، ۰/۵ میلی‌لیتر را برداشته، به ۰/۵ میلی‌لیتر محیط کشت افزودیم و سپس ۰/۰۰۱ لاندا از آن را در محیط کشت جامد کشت دادیم. تعداد کلونی‌های ایجاد شده حدود ۲۵۰ کلونی بود که نشان می‌داد تعداد واقعی باکتری‌های اولیه 10^5 cfu/ml بوده است (Ibid).

نتایج

در میان میکروارگانیسم‌ها، *E.coli* و *P.aeruginosa* مقاومت بیشتری در برابر عصاره‌های گیاهی نشان دادند و در همه لوله‌ها کلونی و کدورت وجود داشت، ولی *st.aureus* در حضور عصاره الکلی تمام گونه‌های ۵ ماهه بارنگ در غلظت ۱۰۰۰ میکروگرم رشد کمتری داشت. در میان عصاره‌های الکلی در سنین

جدول ۷: P.major ۵ ماهه الكلى

غلظت (میکروگرم در میلی لیتر) میکروب	۱۰۰۰	۵۰۰	۲۵۰	۱۲۵
	St. a.	* +	+	+
E.coli	+	+	+	+
p.a.	+		+	+
C.a.	+	+	+	+

جدول ۳: P.major ۲ ماهه الكلى

غلظت (میکروگرم در میلی لیتر) میکروب	۱۰۰۰	۵۰۰	۲۵۰	۱۲۵
	St. a.	+	+	+
E.coli	+	+	+	+
p.a.	+		+	+
C.a.	* +	+	+	+

جدول ۸: P.major ۳ ماهه الكلى

غلظت (میکروگرم در میلی لیتر) میکروب	۱۰۰۰	۵۰۰	۲۵۰	۱۲۵
	St. a.	+	+	+
E.coli	+	+	+	+
p.a.	+		+	+
C.a.	+	+	+	+

جدول ۴: P.major ۵ ماهه الكلى

غلظت (میکروگرم در میلی لیتر) میکروب	۱۰۰۰	۵۰۰	۲۵۰	۱۲۵
	St. a.	+	+	+
E.coli	+	+	+	+
p.a.	+		+	+
C.a.	+	+	+	+

جدول ۹: P.major ۲ ماهه الكلى

غلظت (میکروگرم در میلی لیتر) میکروب	۱۰۰۰	۵۰۰	۲۵۰	۱۲۵
	St. a.	+	+	+
E.coli	+	+	+	+
p.a.	+		+	+
C.a.	+	+	+	+

جدول ۵: P.major ۳ ماهه الكلى

غلظت (میکروگرم در میلی لیتر) میکروب	۱۰۰۰	۵۰۰	۲۵۰	۱۲۵
	St. a.	+	+	+
E.coli	+	+	+	+
p.a.	+		+	+
C.a.	+	+	+	+

جدول ۱۰: P.major ۵ ماهه الكلى

غلظت (میکروگرم در میلی لیتر) میکروب	۱۰۰۰	۵۰۰	۲۵۰	۱۲۵
	St. a.	* +	+	+
E.coli	+	+	+	+
p.a.	+		+	+
C.a.	+	+	+	+

جدول ۶: P.major ۲ ماهه الكلى

غلظت (میکروگرم در میلی لیتر) میکروب	۱۰۰۰	۵۰۰	۲۵۰	۱۲۵
	St. a.	+	+	+
E.coli	+	+	+	+
p.a.	+		+	+
C.a.	+	+	+	+

(intermediate) بر میکروب‌ها دارند. مثلاً عصاره‌های الکلی برگ‌های ۵ ماهه P.major در غلظت‌های ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر بر روی St. aureus و C.albicans اثر بازدارنده متوسطی را نشان می‌داد. همین عصاره‌ها در برگ‌های ۳ ماهه فقط در غلظت ۱۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر بر روی این دو میکروب اثر بازدارنده متوسطی نشان می‌داد و در برگ‌های ۲ ماهه، کدورت لوله آزمایش حاوی St.aureus کم بود و کلونی‌های ریز تشکیل شده بود.

عصاره برگ‌های ۵ ماهه P.amplexicaulis و P.lanceolata فقط در غلظت ۱۰۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر بر روی St. aureus بازدارندگی متوسطی نشان می‌داد.

عصاره‌های آبی برگ‌ها نیز بر باکتری‌ها بی‌تأثیر بود و فقط در غلظت ۱۰۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر عصاره ۵ ماهه کلیه گونه‌های بارهنگ در لوله‌های حاوی C.albicans کدورت کم و کلونی‌های ریزی تشکیل داده بود.

بحث

عصاره الکلی برگ‌های ۵ و ۳ ماهه P.major در غلظت ۱۰۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر بر روی St.aureus و C.albicans اثر بازدارنده متوسطی نشان می‌داد که با نتایج فابیولا و همکاران (Fabiola et.al. 2002) همخوانی دارد. البته همین عصاره در برگ‌های ۲ ماهه فقط بر روی C.albicans اثر بازدارنده متوسط دارد که با نتایج این محققان همخوانی دارد. عصاره الکلی برگ ۵ ماهه همین گونه در غلظت ۵۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر نیز بر روی St.aureus و C.albicans اثر بازدارنده متوسطی داشت که با نتایج محققان فوق مطابقت ندارد و این عصاره مؤثرتر بوده است.

جدول ۱۱: P.major ۳ ماهه الکلی

غلظت (میکروگرم در میلی‌لیتر) / میکروب	۱۰۰۰	۵۰۰	۲۵۰	۱۲۵
St. a.	+	+	+	+
E.coli	+	+	+	+
p.a.	+		+	+
C.a.	+	+	+	+

جدول ۱۲: P.major ۲ ماهه الکلی

غلظت (میکروگرم در میلی‌لیتر) / میکروب	۱۰۰۰	۵۰۰	۲۵۰	۱۲۵
St. a.	+	+	+	+
E.coli	+	+	+	+
p.a.	+		+	+
C.a.	+	+	+	+

جدول ۱۳: تأثیر عصاره آبی گونه‌های بارهنگ ۵ ماهه را روی میکروارگانیسم‌ها در غلظت ۱۰۰۰ میکروگرم در

میلی‌لیتر نشان می‌دهد

غلظت (میکروگرم در میلی‌لیتر) / میکروب	St. a.	E.coli	p.a.	c.a.
P. lanceolate	+	+	+	+
P. major	+	+	+	+
P.media	+		+	+
P.amplexicaulis	+	+	+	+

از نمونه‌های مشکوک که دارای کدورت کم است و با ستاره (*) مشخص شده است ۱۰۰ لاند برداشته، در محیط کشت جامد واکشت نمودیم. تعدا کلونی‌های ایجاد شده از ۷۰۰-۶۰۰ تا بود که نشان می‌داد عصاره‌ها اثر متوسطی

هیچ کدام از گونه‌های جنس بارهنگ به‌طور کامل اثر بازدارندگی روی رشد میکروارگانیسم‌های مورد آزمایش نشان نداد. باتوجه به اینکه برای گونه‌های مختلف بارهنگ در بدن خاصیت باکتریواستاتیک و باکتریوسیدال در نظر گرفته‌اند (Newak et.al. 1996 به نقل از: anonymous, 2000) و از بارهنگ به‌عنوان گیاه آرام‌بخش یاد می‌شود شاید این گیاه با بالا بردن فعالیت سامانه دفاعی بدن بتواند مؤثر واقع شود. احتمالاً اگر همین تحقیق روی بارهنگ با سن بیشتر انجام شود شاید در سن ۷ یا ۸ ماهگی بتوان عصاره‌ای استخراج کرد که ماده مؤثر با خواص ضد میکروبی بیشتری داشته باشد و واقعاً مهارکنندگی بیشتری روی رشد میکروارگانیسم‌ها نشان دهد و بتوان MIC کامل برای آن تعیین کرد.

منابع

اعتمادی، فتانه (۱۳۴۹)، بررسی خواص ضد میکروبی صبرزرد و عده‌ای از گیاهان عالی، پایان‌نامه کارشناسی ارشد دانشگاه تهران؛
پارسا، احمد [بی‌تا]، فلور ایران، جلد چهارم، صفحه ۹۵۵؛
جانی قربان، مهین (۱۳۷۴)، فلور ایران، مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع، تهران؛
زرگری، علی (۱۳۷۶)، گیاهان دارویی، جلد چهارم، چاپ ششم، دانشگاه تهران؛
سیدزاده دلویی، محمدرضا (۱۳۷۴)، بررسی اثرات ضد میکروبی گیاهان ایران، منطقه گلستان کوه، پایان‌نامه دکتری دانشگاه علوم پزشکی تهران؛
صمصام شریعت، سیدهادی (۱۳۷۲)، عصاره‌گیری و استخراج مواد مؤثره گیاهان دارویی و روش‌های شناسایی و ارزشیابی آنها، انتشارات مانی؛
قهرمان، احمد (۱۳۷۲)، فلور رنگی ایران، مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع، تهران، ش ۱۳۳۸؛
میرحیدر، حسین (۱۳۷۳)، معارف گیاهی، جلد ششم، دفتر نشر فرهنگ اسلامی؛

عصاره الکلی برگ‌های ۵ ماهه *P. amplexicaulis* و *P. lanceolata* در غلظت ۱۰۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر نیز بر روی *st.aureus* اثر بازدارنده متوسطی داشت که با نتایج اعتمادی (۱۳۴۹) در مورد اثر *P. lanceolata* بر روی *st.aureus* مطابقت ندارد، ولی با نظر این محقق در مورد بی‌اثر بودن عصاره آبی این گیاه بر *st.aureus* و *Pseudomonas aeruginosa* مطابقت دارد و با نظر سیدزاده (۱۳۷۴) که عصاره آبی *st.aureus* اثر متوسطی دارد مشابه نیست و با نظر این محقق در مورد بی‌اثر بودن عصاره آبی گیاه بر *Pseudomonas aeruginosa* همخوانی دارد (سیدزاده، ۱۳۷۴).

عصاره‌های الکلی اثر بازدارندگی بهتری روی رشد میکروارگانیسم‌ها نسبت به عصاره‌های آبی داشتند. مثلاً عصاره الکلی *P.major*، *P.lanceolata*، *P. amplexicaulis* با سن ۵ ماهه در غلظت ۱۰۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر روی *st.aureus* اثر متوسط داشت و کدورت خیلی کمی در لوله مشاهده شد، ولی عصاره آبی همین گونه‌ها با همین غلظت روی *st.aureus* اثری نداشت و کلونی و کدورت خیلی زیادی وجود داشت. عصاره الکلی *P.media* ۵ ماهه در غلظت ۱۰۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر روی *st.aureus* اثر مهاری ضعیفی نشان داد، ولی عصاره آبی آن با همین غلظت هیچ تأثیری نداشت. تأثیر گونه‌های گیاهی ۵ ماهه روی مهار رشد میکروارگانیسم‌ها در برخی موارد بیشتر از گونه‌های ۲ و ۳ ماهه بود که نشان‌دهنده افزایش ماده ضد میکروبی با افزایش سن است که این مورد با افزایش میزان کافور با افزایش سن درخت کافور مشابه است (صمصام شریعت و معطر، ۱۳۷۰).

- Baron, E. J. & S. M. Finegold** (1990), *Methods for Testing Antimicrobial Effectiveness*, 171-194;
- Bhata, Charje & Supria Kumar** (1943), *Handbook of Medicinal Plants*;
- Briggs, B. G.** (1980), *Plantago Multiscapa-anew Species from Eremaean*;
- Crauvén, L. A.** (1976), "A review of genus Plantagol", In *New Guinea. Contrib.. Herb. Aust.* 13: 1-7;
- Crounquist, A.** (1988), *The Evohution and Classification of Flowering Plants*;
- Fabiola, B. H. et.al.** (2002), Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases Men inst Oswald Cruz, Rio de Janeiro, Vol. 97(7): 1027-1031;
- Grieve, M.** (2004), "A modern herbal" <http://Botanical.com/botanical/mgmh/p/placom43.html>;
- Hugo, W. B. & A. D. Russell** (1987), *Pharmaceutical Microbiology*;
- James, A. D.** (2006), "All about plantain herb weed Plantago major article research", www.prairieland.herb.com/plantain.html;
- Narayan Das Prajapati & U. Kumar** (2003), *Argo's Dictionary of Medicinal Plants*;
- Patzak, A. & K. H. Rechinger** (1965), *Fl. Iranica*, No. 15, evGraz. Austria;
- Patrick, R. et.al.** (2002), *Medical Microbiology*, 4th Edition Mosby;
- Samuel, B.** (1991), *Medical Microbiology*, Thrid Edition, Churchill Liveston, 203-215;
- Schwartz, Deb** (2003), "Common Plantain", www.Kingdomplantae.net/commonPlantain.php;
- Soaring, B. & C. Michael** (2001), "Plantago major/lanceolate", www.herbmed.org/members/serv/bridgeport/default.Asp?getpg=http://herbtemplantes/subcategory.asp/varHerbID=12;
- Victor Lorian, M. D.** (1996), *Antibiotics in Laboratory Medicine*, 4th Edition, William & Wilkins;
- Anonymous** (2000), "Plantain", www.herbalgram.org/youngLiving/expandedCommisione/he078.asp;
- anonymous** (2000), "Plantain", www.herbalgram.org/youngLiving/expandedCommisione/he078.asp;
- anonymous** (2006), "GiG. No Smoking Deterrents-stop smoking-Quit smoking", www.ptimary.net/~gic./herb/store-a8.htm■