

بررسی اثرات ضدمیکروبی عصاره‌های آلی و آبی دانه‌های گیاه *Triticum sativum Lam.* بر روی باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی

حسین کمیلی‌زاده^۱، مژده حاکمی‌والا^{۲*}، محمد کمالی‌نژاد^۳، سمیه نشاط آشفته^۴

۱- دانشیار، عضو هیات علمی گروه شیمی دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی شهریابهشتی

۲- دکتری باکتری‌شناسی پزشکی، انتیتو پاستور ایران، بخش بیوتکنولوژی

۳- مریم، گروه فارماکوگنوزی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی شهریابهشتی

۴- دکتری حرفه‌ای داروسازی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم دارویی

*آدرس مکاتبه: تهران، خیابان انقلاب، خیابان ۱۲ فروردین، انتیتو پاستور ایران پلاک ۶۹

تلفن: ۰۲۱ ۶۶۹۵۳۳۱۲، نمبر: ۰۲۱ ۶۶۴۸۰۷۸۰

پست الکترونیک: mojdeh_hakemi@yahoo.com

تاریخ تصویب: ۸۷/۶/۲۴

تاریخ دریافت: ۸۶/۱/۲۶

چکیده

مقدمه: بیماری‌های باکتریایی از جمله بیماری‌های رایج در زندگی انسان‌ها بوده و از طرف دیگر درمان با آنتی‌بیوتیک‌ها مسایل دیگری چون مقاومت دارویی و بروز عوارض جانبی را مطرح می‌کند. لذا استفاده از داروهای گیاهی جدید با عوارض جانبی کمتر می‌تواند کمک شایانی در درمان این نوع عفونت‌ها باشد.

هدف: از آنجایی که استفاده از گندم با نام علمی *Triticum sativum* در طب سنتی ایران مرسوم است، در این تحقیق بررسی اثر ضدباکتریایی گیاه گندم علیه تعدادی از باکتری‌های گرم مثبت و منفی بررسی شد.

روش بررسی: عصاره‌گیری از گیاه با حللاهای آب، متابول ۸۰ درصد، کلروفرم و اتردوپترول به روش ماسراسیون انجام شد. غلظت‌های ۰،۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از عصاره تهیه شد و با استفاده از مت Kirby-Bauer و روش دیسک دیفیوژن اثر ضدمیکروبی آن بر روی باکتری‌های استافیلوکوک اورئوس، استرپتوکوک پیوژن، اشريشیاکلی و سودوموناس آئروژنیوزا بررسی شد.

نتایج: عصاره آبی در هیچ یک از غلظت‌های مصرفی (۱۰۰، ۷۵، ۵۰، ۲۵ mg/ml) بر هیچ یک از باکتری‌های مورد آزمایش اثر ضدباکتریایی نشان نداد. عصاره متابولی بر باکتری استرپتوکوک پیوژن اثر قابل توجه داشته و بر باکتری استافیلوکوک اورئوس اثر ضعیفی نشان داد. عصاره کلروفرمی بر باکتری‌های استرپتوکوک پیوژن و استافیلوکوک اورئوس اثر ضدمیکروبی ضعیف داشت. اثر عصاره اتردوپترولی بر باکتری استرپتوکوک پیوژن قابل توجه و بر باکتری‌های اشريشیاکلی و استافیلوکوک اورئوس ضعیف بوده است. هیچ یک از عصاره‌های فوق بر سودوموناس آئروژنیوزا اثری نداشتند.

نتیجه‌گیری: عصاره آلی گندم دارای اثر ضدباکتریایی بر روی برخی از باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت می‌باشد.

گل واژگان: *Triticum sativum Lam.*، عصاره‌های آلی و آبی، باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی



مقدمه

مواد و روش‌ها

گیاه گندم تحت شماره $\frac{AyT11342}{9110}$ [۱] از مزرعه دانشکده کشاورزی (موسسه تحقیقات اصلاح نهال و بذر کرج) در اوخر تیرماه جمع‌آوری شد. اگرچه در مطالعات قبلی به اثرات ضد میکروبی این گیاه اشاره شده بود ولی اطلاعات دقیقی از میزان قطبیت و سایر خصوصیات ماده موثره آن موجود نیست. لذا در این مطالعه برای عصاره‌گیری از گیاه از روش ماسرسیون و حلال‌های مختلف شامل آب، متانول ۸۰ درصد، کلروفرم و اتردوپترول استفاده شد. بدین‌منظور، مقدار ۳۰۰ گرم از دانه گیاه خشک بدون سبوس را با ترازو دقیقاً توزین و در داخل یک اrlen بزرگ، ۳۰۰ میلی‌لیتر از حلال اضافه و بعد از ۴۸ ساعت عصاره‌گیری انجام شد. پس از این مدت، محلول توسط کاغذ صافی صاف شده و بر روی باقی‌مانده مجدداً حلال اضافه شد. این عمل را چند بار تکرار کرده و محلول‌های صاف شده به هم اضافه شدند. محلول صاف شده توسط دستگاه تقطیر در خلا^۱ کاملاً تغییظ شد. در مورد عصاره متانولی در دمای ۷۰ درجه سلسیوس و در مورد عصاره‌های کلروفرمی و اتردوپترولی در دمای ۶۰ درجه سلسیوس و در مورد آب در حرارت ۱۰۰ درجه بن ماری عمل تغییظ انجام شد. عصاره‌های تغییظ شده به پلیت‌های مخصوصی که هر یک به دقت وزن شده بودند اضافه شد سپس دهانه پلیت‌ها تا حذف کامل حلال توسط پارافیلم پوشیده شدند.

به منظور بررسی اثرات ضد میکروبی، ۴ غلظت (۱۰۰، ۵۰، ۷۵، ۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) از گیاه تهیه شد. برای تهیه هر یک از غلظت‌های فوق مقدار مناسب از عصاره خشک گیاه را دقیقاً توزین و در حلال مناسب خود حل کرده و از آنها برای بررسی اثرات ضد میکروبی گیاه استفاده شد [۸]. باکتری‌های مورد آزمایش شامل استافیلوکوک اورئوس (PTCC ۱۴۳۱)، استرپتوکوک پیوژن (PTCC ۱۴۴۷)، اشريشياکلى (PTCC ۱۳۳۵) و سودوموناس آئروژينوزا

گندم با نام علمی *Triticum sativum* Lam. متعلق به جنس *Triticum* و خانواده Poaceae است. تیره گندم از بزرگ‌ترین تیره‌های گیاهان گل‌دار است و دارای ۶۰۰۰ گونه است که در ۴۵۰ جنس جای دارند و از اختصاصات آنها این است که در غالب محیط‌ها به صورت اجتماعات خاص پراکنده‌گی دارند [۱]. حدس زده می‌شود که جنوب غربی آسیا مبدای گندم است [۲]. گندم گیاهی است یک ساله که ریشه‌های آن یافی، افشان و سطحی است. ساقه آن استوانه‌های توخالی و در گره پر می‌باشد. در بعضی انواع، قسمتی از ساقه نیز پر است. هر ساقه به یک خوشة متصل از سنبله‌ها متنه می‌شود که پس از ظهور و تلقیح گل‌ها خوشه گندم را تشکیل می‌دهند و برگ‌های آن سبز، باریک و دراز است [۳]. دانه آن اغلب درشت و گاهی پهن، رنگ آن سفید، زرد، نارنجی، قرمز تیره و بندرت آبی است. دانه گندم مخزن مواد غذایی است که بشر از ابتدا مورد استفاده قرار داده است. اهمیت ترکیبات شیمیایی دانه گندم در نخستین مرحله در تغذیه انسان و در مرحله دوم به خاطر استفاده از آن در دامپروری و صنعت است. ترکیبات شیمیایی دانه گندم شامل آب، کربوهیدرات (نشاسته، سلولز، قند)، پروتئین‌ها (گلیادین، گلوبولین، آلبومین، پیرولامین)، لیپیدها، مواد معدنی، ویتامین‌ها (کروه E، B می‌باشد [۲].

مطالعات زیادی بر روی گیاه گندم صورت گرفته است و اثرات مختلفی از آن گزارش شده است که عبارتند از: استفاده موضعی در درمان درماتوزیس [۴]، تهیه ضماد از دانه گندم برای گلو درد [۵]، به صورت موضعی در رفع التهاب [۴]، درمان انواع سرطان‌ها (سرطان لوزه، سرطان پوست، سرطان بناگوش، سرطان طحال، سرطان بیضه، سرطان سینوس، سرطان شکم) [۶] یبوست [۴]، سیندرم تحریک‌پذیر روده [۷]، در خصوص خاصیت ضد میکروبی گندم مطالعات اندکی صورت گرفته است و هدف از این مطالعه، بررسی اثرات عصاره‌های آلی و آبی دانه گندم بر روی برخی از باکتری‌های بیماری‌زا گرم مثبت و گرم منفی بود.

^۱ Rotary evaporator

ضدباکتریایی آب و توئین ۸۰ در بررسی عصاره متابولی از دیسک بلانک آغشته به آب مقطر استریل حاوی ۱۵ درصد توئین و در بررسی عصاره کلروفرمی و اتردوپترولی از دیسک بلانک آغشته به آب مقطر استریل حاوی ۵ درصد توئین به عنوان شاهد منفی استفاده شد [۹، ۱۰].

نتایج

در این مطالعه اثر عصاره گیاه گندم با حلال‌های مختلف (آب، متابول ۸۰ درصد، کلروفرم و اتردوپترول) با غلظت‌های ۱۰۰، ۷۵، ۵۰، ۲۵، ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به روش Kirby – Bauer Kirby بر سوش‌های استافیلوکوک اورئوس (PTCC ۱۴۳۱)، استرپتوکوک پیوزنر (PTCC ۱۴۴۷) اشريشیاکلی (PTCC ۱۳۳۵) و سودوموناس آئروژینوزا (PTCC ۱۴۴۷) بررسی شد و نتایج حاصل نشان داد که گیاه موردنظر دارای اثر ضدباکتریایی است.

در این بین عصاره اتردوپترولی بر باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس، استرپتوکوکوس پیوزنر و اشريشیاکلی موثر بوده و عصاره‌های کلروفرمی و متابولی بر باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس و استرپتوکوکوس پیوزنر اثر داشته‌اند. عصاره آبی بر هیچ‌یک از انواع باکتری‌های مورداً آزمایش اثر ضدمیکروبی نشان نداد (جدول شماره ۱).

عصاره متابولی بر روی استرپتوکوک پیوزنر اثر قابل توجهی داشته و با افزایش غلظت عصاره اثر ضدباکتریایی آن افزایش یافت. این عصاره هم‌چنین اثر ضعیفتری بر روی باکتری استافیلوکوک اورئوس داشت (جدول شماره ۲).

عصاره کلروفرمی بر باکتری‌های استرپتوکوک پیوزنر و استافیلوکوک اورئوس اثر داشته و با افزایش غلظت عصاره اثر ضدباکتریایی آن افزایش یافت (جدول شماره ۳).

عصاره اتردوپترولی بر باکتری‌های استرپتوکوک پیوزنر و اشريشیاکلی اثر داشت. هم‌چنین این عصاره تنها در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بر باکتری استافیلوکوک اورئوس موثر بود (جدول شماره ۴).

(PTCC ۱۴۴۷) بودند که از مرکز تحقیقات و پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه شد. به منظور بررسی اثرات ضدمیکروبی عصاره‌ای مختلف گدم از روش Kirby – Bauer استفاده شد.

از کلی ۲۴ ساعته هر کدام از باکتری‌های کشت شده در محیط کشت جامد (تریپتیکیس سوی آگار و بلاد آگار) به کمک لوب برداشته و در یک لوله آزمایش استریل حاوی ۵ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی استریل کاملاً مخلوط کرده تا سوسپانسیون یکنواختی از باکتری موردنظر حاصل شد. این لوله به مدت ۳۰ دقیقه در گرماخانه ۳۷ درجه سلسیوس قرار داده شد تا کدورتی مشابه لوله استاندارد ۰/۵ مک فارلند ایجاد نماید. سپس توسط سوآب استریل از لوله حاوی سوسپانسیون باکتری مقداری برداشت نموده و سوآب آغشته به میکروب راروی پلیت حاوی محیط کشت مولرهیتون اگار و مولر هیلتون بلادآگار (در مورد باکتری استرپتوکوک پیوزنر) به صورت خطوط موازی در سه جهت (عمودی، افقی، مورب) بر هم کشت داده به گونه‌ای که تمام سطح پلیت از یک لایه میکروبی یکنواخت پوشیده شد. سپس دیسک‌های حاوی عصاره با غلظت‌های متفاوت روی پلیت‌ها به فواصل مناسب قرار داده شد. جهت تهیه دیسک‌های حاوی عصاره، دیسک‌های بلانک استریل را به تعداد مشخص در غلظت‌های تهیه شده از عصاره قرار داده و به مدت یک شب‌نه روز به محظیات داخل ظرف زمان داده شد تا عصاره‌ها کاملاً جذب دیسک‌های کاغذی شوند. در نهایت درب پلیت‌های دیسک‌گذاری شده را بسته و به مدت ۲۴ ساعت در گرماخانه ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند تا باکتری‌ها رشد کنند. لازم به ذکر است که در این مطالعه از دیسک آنتی‌بیوتیک کلرامفینیکل به عنوان شاهد مثبت استفاده شد. هم‌چنین برای تهیه غلظت‌های مختلف از عصاره‌های تهیه شده، در ابتدا به ۴ عصاره خشکی که حلال آنها کاملاً حذف شده بود، آب مقطر اضافه شد. از آنجایی که عصاره‌های کلروفرمی، متابولی و اتردوپترولی که حلال آنها قبلًا تبخیر شده در آب مقطر کاملاً حل نمی‌شدند به همین دلیل از توئین ۸۰ به عنوان کمک حلال اضافه شد. لذا، جهت اثبات خاصیت ضدمیکروبی و عدم تاثیر



جدول شماره ۱ - بررسی اثر عصاره آبی دانه‌های گیاه گندم بر روی باکتری‌های مورد آزمایش براساس قطر هاله عدم رشد
بر حسب میلی‌متر

باکتری	غلظت عصاره (mg/ml)						باکتری
	(+)	(-)	۲۵	۵۰	۷۵	۱۰۰	
استافیلوکوک اورئوس	-	-	-	-	-	-	۲۰
استرپتوکوک پیوژنر	-	-	-	-	-	-	۲۸
اشریشیاکلی	-	-	-	-	-	-	۲۵
سودوموناس آئروژینوزا	-	-	-	-	-	-	۲۳

- : بی اثر

شاهد منفی: دیسک آغشته به آب مقطر استریل

شاهد مثبت: کلاموفنیکل

جدول شماره ۲ - بررسی اثر عصاره متابولی دانه‌های گیاه گندم بر روی باکتری‌های مورد آزمایش براساس قطر هاله عدم رشد بر حسب میلی‌متر

باکتری	غلظت عصاره (mg/ml)						باکتری
	(+)	(-)	۲۵	۵۰	۷۵	۱۰۰	
استافیلوکوک اورئوس	-	-	-	۱۱	۱۰	۹	۲۰
استرپتوکوک پیوژنر	-	۱۸	۲۱	۲۱	۲۳	۲۳	۲۸
اشریشیاکلی	-	-	-	-	-	-	۲۵
سودوموناس آئروژینوزا	-	-	-	-	-	-	۲۳

- : بی اثر

شاهد منفی: دیسک آغشته به آب مقطر استریل و ۱۵ درصد توتین

شاهد مثبت: کلاموفنیکل

جدول شماره ۳ - بررسی اثر عصاره کلروفرمی دانه‌های گیاه گندم بر روی باکتری‌های مورد آزمایش براساس قطر هاله عدم رشد بر حسب میلی‌متر

باکتری	غلظت عصاره (mg/ml)						باکتری
	(+)	(-)	۲۵	۵۰	۷۵	۱۰۰	
استافیلوکوک اورئوس	-	۹	۱۰	-	-	-	۲۰
استرپتوکوک پیوژنر	-	۱۰	۱۱	۱۲	۱۳	۱۳	۲۸
اشریشیاکلی	-	-	-	-	-	-	۲۵
سودوموناس آئروژینوزا	-	-	-	-	-	-	۲۳

- : بی اثر

شاهد منفی: دیسک آغشته به آب مقطر استریل و ۵ درصد توتین



شاهد مثبت: کلرامفنیکل

جدول شماره ۴ - بررسی اثر عصاره اتردوپترولی دانه‌های گیاه گندم بر روی باکتری‌های مورد آزمایش بر اساس قطر هاله عدم رشد بر حسب میلی‌متر

شاهد	شاهد	غلظت عصاره (mg/ml)					باکتری
		۲۵	۵۰	۷۵	۱۰۰		
۲۰	-	-	-	-	۱۰		استافیلوکوک اورئوس
۲۸	-	۱۰	۱۸	۲۰	۲۲		استرپتوکوک پیوژنر
۲۵	-	۸	۱۰	۱۰	۱۲		اشریشیاکلی
۲۳	-	-	-	-	-		سودوموناس آئروژینوزا

- بی اثر

شاهد منفی: دیسک آگزنشت به آب مقطز استریل و ۵ درصد تونین

شاهد مثبت: کلرامفنیکل

بحث

در سال‌های اخیر تحقیقات فراوانی در زمینه اثرات ضدمیکروبی گیاهان مختلف صورت گرفته است و مشخص شده که بعضی از گیاهان تاثیراتی همانند داروهای شیمیایی یا به مراتب بیشتر از آنها داشته‌اند [۱۱].

محققان دیگری در خارج از کشور بر روی اثر آنتی‌باکتریال گیاه *Triticum sativum* Lam. مطالعاتی انجام داده و آزمایش‌هایی به منظور بررسی اثر ضدبакتریایی عصاره‌های آبی، اتانولی، اتیل اتری و هگزانی گیاه گندم بر روی چند میکروارگانیسم انجام شد و به ماهیت ضدمیکروبی گیاه بی برداشتند. از نتایج این بررسی مشخص شد عصاره آبی هیچ گونه اثر ضدمیکروبی نداشته و به عکس، عصاره‌های آلی بر باکتری‌های گرم مثبت نسبت به گرم منفی اثر بهتری اعمال نموده است [۱].

این نتیجه با نتایج حاصل از این تحقیق مطابقت دارد، به طوری که عصاره اتردوپترولی از میان از باکتری‌های گرم منفی مورد آزمون در این مطالعه، فقط بر اشریشیاکلی اثر ضدبакتریایی داشته و هیچ یک از عصاره‌های فوق بر سودوموناس آئروژینوزا (-g) اثری نداشته‌اند.

احتمال دارد اثر ضدبакتریایی عصاره اتلنی گندم بر استرپتوکوک پیوژنر به علت اتصال به N - استیبل گلوکزامین موجود در دیواره سلولی آن باشد [۱۲].

از آنجایی که مطالعات اخیر نشان داده که اثر ضدبакتریایی بعضی از داروهای گیاهی در حد و یا بیشتر از بعضی از داروهای شیمیایی می‌باشد [۱۲]، امید است در آینده تحقیقات بیشتری در زمینه اثر ضدمیکروبی این گیاه بر گونه‌های مختلف میکروبی انجام گیرد تا با یافتن مواد موثره ضدمیکروبی گیاه گندم و فرمولاسیون آن تهیه اشکال دارویی مختلف ممکن شده و اقدام ارزنده‌ای جهت بهبود بیماری‌هایی عفونی ناشی از گونه‌های مختلف میکروبی، انجام گیرد. در مطالعه دیگری اثر ضدبакتریایی عصاره‌ای آبی و آلی (هگزان، اتیل اتر، اتانول)، گیاهان متعددی از جمله گندم بررسی شد و به طور کلی اثرات ضدبакتریایی این گیاهان بر روی باکتری‌های گرم مثبت بیشتر از باکتری‌های گرم منفی بود [۱۳]. استیپکویتس^۱ و همکاران نیز در مطالعه خود اثر ضدبакتریایی گندم را در *Mycoplasma gallisepticum* جوچه‌های آلدود شده با بررسی نموده و نشان دادند در گروهی از جوچه‌ها که با عصاره گندم و Tiamulin (نوعی آنتی‌بیوتیک) درمان شدند پس از اتوپسی هیچ گونه آلدودگی با این باکتری در ارگان‌های داخلی دیده نشد در حالی که جوچه‌های گروه درمان نشده هم‌چنان آلدود بودند [۱۴]. گرچه در مطالعه حاضر بررسی

^۱ Stipkovits



سبوس گندم بیشترین اثر را نشان داد. به علاوه اثر مهاری هر دو نوع گندم کامل و تصفیه شده با افزایش pH در کلون بالا رونده و روده کوچک بیشتر شد در حالی که افزایش pH تاثیری بر سبوس نداشته است [۱۵]. در مطالعه حاضر گرچه اثرات مهارکنندگی عصاره‌های آبی و آلبی گندم بدون سبوس عليه باکتری‌های اشريشياکائی، استافيلوكوكوس اورئوس و استرپتوكوكوس پیوزنر و سودوموناس اثروزینوزا و نه سالمونلا بررسی شد ولیکن بین وجود اثرات ممانعت‌کنندگی از رشد استرپتوكوكوس و استافيلوكوكوس و اشريشياکولی در عصاره آلبی اثر دو پترولی و یا وجود اثرات ممانعت‌کنندگی از رشد استرپتوكوكوس و استافيلوكوكوس در عصاره‌های کلروفرمی و متانولی با اثر ضدسرطانی و ضدجهشی عليه سالمونلاتیفی موریوم شباهت داشته است.

تشکر و قدردانی

در انتها بر خود لازم می‌دانیم که از خدمات سرکار خانم فاطمه باقری، مریم گروه میکروب‌شناسی دانشکده داروسازی دانشگاه آزاد اسلامی و مسؤول آزمایشگاه میکروب‌شناسی آن دانشکده که راهنمایی و همکاری لازم را در انجام این مطالعه مبذول داشتند، کمال تشکر را داریم.

اثرات ضدباکتریایی در شرایط *In vivo* انجام نشده ولی وجود اثرات ضدباکتریایی در مطالعات انجام شده با اثرات ضدباکتریایی در عصاره‌های آلبی گندم بر روی برخی از باکتری‌های گرم منفی و مثبت در این مطالعه شباهت دارد. نکته قابل توجه از این مطالعه آن است که خاصیت ضدباکتریایی عصاره متابولی و کلروفرمی بر روی باکتری استافيلوكوك اورئوس با افزایش غلظت عصاره کاهش نشان داده است (جدول شماره ۲ و ۳). این امر با وجود ترکیبات مختلف با اثرات متنوع در عصاره گیاهان دور از انتظار نیست. در مطالعه دیگری اثر ضدجهش^۱ و ضدسرطانی^۲ گندم بررسی شد. بدین‌منظور، از دو نوع ترکیب سرطانزا و جهش‌زا به نام متیل ایمیداز و کوئی نولین^۳ به صورت کوتاه‌مدت و فنیل ایمیداز و پیریدین^۴ به موش نر به صورت مزمن تجویز و متعاقب، انواعی از تومورها ایجاد شد. در ادامه جهت بررسی اثر ضدسرطان و ضدجهشی از دانه کامل گندم، دانه تصفیه شده گندم و سبوس کامل به موش خوارانده شد. سپس از قسمت‌های مختلف معده با pH 1.8، کلون بالا رونده با pH 5.5 و روده کوچک با pH 7.0 نمونه‌برداری شد و در آزمون Ames و عليه باکتری سالمونلاتیفی موریوم بررسی شد. از نتایج این مطالعه آن است که اثر ضدسرطانی و ضدجهش دانه گندم تصفیه شده در pH معده قابل توجه نبوده، در حالی که این اثر در گندم تصفیه نشده کامل متوسط و در مورد

¹ Anti mutagenic

³ IQ

² Anti carcinogenic

⁴ PhIP

منابع

1. Zargari A. Plants medicine. 6nd ed. Tehran university Press. vol 4. 1998, pp: 682 - 97.
2. Karimi H. Wheat, 1nd ed, Markaze Nashre Daneshgahi Press. 1982, pp: 1-3 and 505- 12.
3. Mirhaidar H. Plants usage in prophylaxy and treatment of diseases. 2nd ed. Daftare Nashre Farhange Eslami press. vol 1. 1996, pp: 379 - 90.
4. Gruenwald J. P D R for herbal medicines, 2nd ed. Medical Economics co. 2000, pp: 218 - 56.
5. Erdem yesilada, Ekrem sezik. Traditional Medicine in Turkey IX: Folkmedicine in north – West Anatolia. *J. of Ethnopharmacol.* 1999; 64, pp: 195 – 210.
6. Hartwell, J.L. Medicinal plants of the Bible. Trado – medic Books Buffalo. NY. 1983: 182-195.
7. Blumenthal M, Goldberg A and Brinckmann M. Expanded commission Emonographs. Integrative medicine communications, Newton. MA. *J. of Herbal Medicine.* 2000, pp: 28 - 35.



- 8.** Shariat Hadi S. Extraction of beneficial materials from medicine plants, identification methods and their evaluation. Mani press. 1998, pp: 6 - 20.
- 9.** Baron, Ellen Jo. Fine gold, Sydney M. diagnostic Microbiology. 8th Ed. Mosby company. 1990, pp: 181- 4.
- 10.** Murray P, Baron R, P fauer EJ, Tenoyer M, Yolken FC, Robert H. Manual of clinical Microbiology. 7th Ed, American society for microbiology. 1999, pp: 1564 - 70.
- 11.** Mohammad pour M. Determination of antibacterial effect of 80% hydro-alcoholic extract of *Eucalyptus globus* on some bacterial agents of respiratory tract infection by MIC and MBC. 2003, pp: 108 - 10.
- 12.** Sadeghi G. Determination of antibacterial effect of *Glycyrrhiza glabra* on *E.coli*, *Salmonella typhi*, *Shigella flexneri* and *Shigella sonnei*. Thesis No (1249) University of pharmacology sciences of Islamic Azad university. 2002-2003, pp: 10, 11, 91 - 99.
- 13.** Abdel – Naseer M, Safwat MS, Ali MZ. Detection of antibacterial substances in some plant residues and their effect on certain micro-organisms. *Zentralbl mikrobiol.* 1983; 138 (1), pp: 63 - 9.
- 14.** Stipkovit L, Lopis K, Hidveqi M, Kosa E, Glavits R, Resetar A. Testing the efficacy of fermented wheat germ extract against *Mycoplasma gallisepticum* infection of chickens. *Poult. Sci.* 2004; 83 (11), pp: 1844 - 8.
- 15.** Yu Z. The anti mutagenic and anti carcinogenic effects of wheat grains.
<http://Ipi.oregonstate.edu/ss03/wheatgrains.html>.

