

فعالیت ضد باکتریایی عصاره متانولی و استونی گال خرنوک درخت بلوط علیه باکتری های گرم مثبت

فرشته جهانیان نجف آبادی^۱، مریم محمدی سیچانی^۲، مجید توکلی^۳

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد میکروب شناسی، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان، اصفهان، ایران

۲- مربی، کارشناسی ارشد میکروب شناسی پزشکی، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان، اصفهان، ایران

۳- مربی، کارشناسی ارشد حشره شناسی پزشکی و مبارزه با ناقلین، عضو هیات علمی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی لرستان، ایران

یافته / دوره پانزدهم / شماره ۲ / بهار ۹۲ / ویژه نامه گیاهان دارویی

چکیده

دریافت مقاله: ۹۲/۱/۱۸، پذیرش مقاله: ۹۲/۳/۱۸

*** مقدمه:** گال بلوط گونه دارمازو به عنوان داروی گیاهی سابقه استفاده طولانی دارد. گال خرنوک در اثر رشد غیرطبیعی بافت گیاهی تحت تأثیر واکنش زنبورها بر روی جوانه های جانبی و انتهایی سرشاخه های درخت بلوط گونه دارمازو به وجود می آید. در این پژوهش خاصیت ضد باکتریایی عصاره های متانولی و استونی گال *Andricus moreae* با نام محلی خرنوک از درخت بلوط گونه *Quercus infectoria* بر باکتری های گرم مثبت شامل *استافیلوکوکوس آرتوس*، *باسیلوس سرئوس* و *باسیلوس سوبتیلیس* مورد بررسی قرار گرفت.

*** مواد و روش ها:** این مطالعه تجربی آزمایشگاهی در پاییز ۱۳۹۰ انجام شد. گال ها از جنگل های بلوط لرستان جمع آوری شد. گال، خشک و آسیاب گردید و با حلال های متانول و استون به روش خیساندن عصاره گیری شد. غلظت های ۵۰، ۲۵، ۱۲/۵، ۶/۲۵، ۳/۱۲، ۱/۵۶ میلی گرم بر میلی لیتر از عصاره های متانولی و استونی به روش سری رقت تهیه گردید. خاصیت ضد باکتریایی عصاره های حاصل در غلظت های مختلف، با استفاده از روش انتشار چاهک بر باکتری های مذکور، مورد بررسی قرار گرفت. روش میکرودايلوشن برای تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) عصاره ها استفاده گردید. تجزیه و تحلیل داده ها با استفاده از آزمون آنالیز واریانس انجام شد.

*** یافته ها:** عصاره های متانولی و استونی گال خرنوک اثرات ضدباکتریایی قابل قبولی علیه باکتری های مورد آزمایش داشتند. بین فعالیت ضدباکتریایی عصاره های متانولی و استونی گال و غلظت عصاره ها ارتباط معناداری وجود داشت ($p < 0.05$). اثر ضد باکتریایی عصاره های متانولی و استونی گال خرنوک بر باکتری *استافیلوکوکوس آرتوس* بیشتر از *باسیلوس سرئوس* و *باسیلوس سوبتیلیس* بود. حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره های گال خرنوک ۱/۵۶ mg/ml تا ۳/۱۲ بود. حداقل غلظت کشندگی عصاره های گال خرنوک ۳/۱۲ تا ۶/۲۵ بدست آمد.

*** بحث و نتیجه گیری:** عصاره های متانولی و استونی گال خرنوک بر روی همه باکتری های مورد آزمایش فعالیت ضد باکتریایی نشان دادند. بنابراین، نتایج حاصل از این تحقیق نشان می دهد که عصاره های متانولی و استونی گال خرنوک از بلوط *Quercus infectoria* را می توان به عنوان یک ترکیب ضد باکتریایی در درمان پیشنهاد نمود.

*** واژه های کلیدی:** فعالیت ضدباکتریایی، گال، *Andricus moreae* *Quercus infectoria*، استافیلوکوکوس آرتوس

آدرس مکاتبه: اصفهان، نجف آباد، خیابان شیخ بهایی جنوبی، بلوار شهید حجتی، کوچه مطهری، منزل پنجم شمالی

پست الکترونیک: fereshte.jahaniyan@yahoo.com

مقدمه

بیش از پنجاه سال است که از مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها برای کنترل و درمان بیماری‌های عفونی می‌گذرد، ولی استفاده نادرست و مداوم از این مواد باعث بروز پدیده مقاومت به آنتی‌بیوتیک و پیدایش سویه‌های مقاوم شده و درمان بیماری‌ها را با مشکل مواجه کرده است (۱،۲). لذا استفاده از عوامل ضد میکروبی جایگزین، ضروری است. بر روی درختان بلوط گال‌های متعدد و متنوعی تشکیل می‌شود طور کلی گال‌ها در اثر رشد غیر طبیعی بافت گیاهی تحت تأثیر عوامل زنده مانند زنبور‌ها بر روی اندام‌های مختلف درخت بلوط دارمازو به وجود می‌آیند (۳).

با توجه به این که درخت بلوط بومی ایران گال‌های منحصر به فردی دارد که تاکنون مطالعه‌ای در مورد خاصیت ضد باکتریایی آن‌ها به تفکیک و با توجه به نوع گال ایجاد شده انجام نشده است، تحقیق در این زمینه مناسب و کاربردی خواهد بود.

گال *Andricus moreae* که در کردستان با نام محلی گال خرنوک شناخته می‌شود، در اثر فعالیت غیرجنسی زنبور *Andricus moreae* از خانواده *Cynipidae* روی جوانه‌های جانبی یا انتهایی در نوک شاخه‌های جوان درختان بلوط گونه *Quercus infectoria* ایجاد می‌شود (۳). هدف از این مطالعه بررسی اثر ضدباکتریایی عصاره‌های متانولی و استونی گال خرنوک که از فعالیت زنبور *A. moreae* بر روی درخت بلوط دارمازو *Quercus infectoria* به وجود می‌آید، بر عوامل پاتوژن شامل باکتری‌های گرم مثبت *Staphylococcus aureus* (ATCC:25923)، *Bacillus cereus* (ATCC:1247) و *Bacillus subtilis* (ATCC:1399) بود.

باسری^۱ و همکاران در سال ۲۰۰۴، اثر ضدباکتریایی عصاره‌های آبی و استونی گال‌های *Quercus infectoria*

را بر تعدادی از باکتری‌های گرم مثبت مانند استافیلوکوکوس آئروس، استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس و باسیلوس سوبتیلیس و تعدادی از باکتری‌های گرم منفی شامل اشرشیا کلی، سالمونلا تیفی‌موریوم و سودوموناس آئروژینوزا بررسی کردند. از باکتری‌های آزمایش شده استافیلوکوکوس آئروس حساس‌ترین باکتری نسبت به عصاره‌ها بود. عصاره‌ها روی بقیه گونه‌ها نیز مؤثر بودند، اما اشرشیاکلی هیچ حساسیتی نشان نداد (۴).

ناجش^۲ و همکاران در سال ۲۰۱۲، اثر عصاره متانولی گال‌های *Quercus infectoria* را بر انتروکوکوس فکالیس بررسی کردند. نتایج نشان داد که عصاره متانولی اثر ضد باکتریایی بالایی علیه انتروکوکوس فکالیس دارد (۵). از آن جایی که مطالعه مشخصی در مورد گال‌های خرنوک انجام نشده بود، در این مطالعه فعالیت ضد باکتریایی عصاره متانولی و استونی گال خرنوک درخت بلوط علیه باکتری‌های گرم مثبت ارزیابی شد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه تجربی آزمایشگاهی در پاییز سال ۱۳۹۰ انجام شد. جمع‌آوری گال خرنوک از رویشگاه درختان دارمازو *Quercus infectoria* واقع در استان لرستان انجام گرفت. این گال به شکل نیم کره یا گلدانی شکل می‌باشد. قسمت فوقانی گال کنگره‌دار بوده و شبیه گلدان می‌باشد و انتهای آن کمی باریکتر شده و به شاخه‌ها می‌چسبد. اندازه طول آن حدود ۸ تا ۱۲ میلی‌متر و قطر آن ۱۰ تا ۱۲ میلی‌متر است (۳). گال خرنوک به دقت با آب و هیپو کلریت سدیم ده درصد شسته شد. خشک شدن گال در سایه و تحت شرایط استریل انجام شد. سپس توسط دستگاه آسیاب برقی پودر شدند.

1. Basri

2. Nagesh

روش عصاره گیری

برای تهیه عصاره استونی و متانولی از روش خیساندن استفاده شد. به این صورت که پنجاه گرم از پودر گال را به ارلن حاوی سیصد میلی لیتر استون اضافه کرده و به مدت ۴۸ ساعت در دمای اتاق و به صورت ساکن قرار داده شد. پس از گذشت ۴۸ ساعت، عصاره با کاغذ صافی واتمن صاف گردید و در دمای محیط، خشک و به پودر عصاره استونی تبدیل شد (۴). برای تهیه عصاره متانولی نیز مقدار پنجاه گرم از پودر گال در ارلن حاوی ۲۵۰ میلی لیتر متانول خالص ریخته شد. پس از ۴۸ ساعت که ارلن روی شیکر نود دور در دقیقه قرار گرفت، مخلوط با کاغذ صافی واتمن صاف گردید و عصاره در دمای محیط خشک شد. عصاره های استونی و متانولی تا زمان انجام آزمایش، در ظروف در بسته، دور از نور و در دمای چهار درجه سانتی گراد نگهداری گردید (۶،۷).

تهیه سویه ها میکروبی استاندارد

میکروارگانیزم های مورد آزمایش به صورت لیوفیلیزه از کلکسیون میکروبی مؤسسه تحقیقات بیوتکنولوژی دانشگاه تهران تهیه گردید. نمونه های میکروبی مطابق با روش های استاندارد احیا شدند. از آن جایی که تراکم سوسپانسیون تلقیحی باید استاندارد باشد، بدین منظور برای تهیه سوسپانسیون میکروبی از کشت تازه و جوان باکتری چند کلنی به محیط کشت مولر هینتون براث منتقل شد تا کدورت سوسپانسیون میکروبی تهیه شده مطابق با لوله شماره ۰/۵ استاندارد مک فارلند (کدورت معادل $1/5 \times 10^8$ باکتری در هر میلی لیتر) تنظیم گردد. برای رسیدن به غلظت $1/5 \times 10^7$ باکتری در هر میلی لیتر، سوسپانسیون باکتریایی با کدورت معادل ۰/۵ مک فارلند به نسبت ۰/۱ رقیق شد (۴).

فعالیت ضد باکتریایی عصاره به روش انتشار در آگار^۱

به منظور بررسی اثرات ضد میکروبی عصاره ها غلظت های ۵۰، ۱/۳، ۵۶/۶، ۱۲/۱۲، ۲۵/۲۵ میلی گرم بر میلی لیتر از عصاره های متانولی و استونی تهیه گردید و فعالیت ضد میکروبی به روش انتشار چاهک مورد بررسی قرار گرفت. یکصد میکرولیتر از سوسپانسیون میکروبی تهیه شده روی پلیت های مولر هینتون آگار استریل تلقیح و با سوآپ استریل به صورت یکنواخت کشت داده شد. پس از پنج دقیقه که مایع جذب محیط گردید با پی پت پاستور استریل در فاصله های مناسب، تعدادی چاهک به قطر شش میلی متر روی هر محیط کشت ایجاد گردید. ته چاهک ها با اضافه کردن ده میکرولیتر محیط مولر هینتون آگار استریل مذاب بسته شد. از هر کدام از غلظت ها به میزان صد میکرولیتر درون چاهک مربوط به آن ریخته شد. سپس از سوسپانسیون آنتی بیوتیک خالص سفالکسین (شرکت آنتی بیوتیک سازی ایران) به غلظت ۰/۰۱ میلی گرم بر میلی لیتر، صد میکرولیتر در یک چاهک به عنوان کنترل مثبت برای استافیلوکوکوس آرئوس، باسیلوس سرئوس و باسیلوس سوبتیلیس ریخته شد. برای کنترل منفی از صد میکرولیتر مولر هینتون براث استریل استفاده و بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون در ۳۷ درجه سانتی گراد قطر هاله های عدم رشد اندازه گیری شدند (۸).

تعیین MIC و MBC به روش میکرودايلوشن^۲

روش میکرودايلوشن برای تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی MIC^۳ و حداقل غلظت کشندگی MBC^۴ عصاره ها استفاده گردید.

در این روش در میکروپلیت ۹۶ خانه ای ته گرد استریل خانه شماره ۱ تا ۶ مربوط به رقت های ۵۰ تا ۱/۵۶ میلی گرم در میلی -

1. Agar Diffusion

2. Micro Dilution

3.. Minimum Inhibitory Concentration

4..Minimal Bactericidal Concentration

یافته‌ها

در این مطالعه سه سویه باکتریایی گرم مثبت استافیلوکوکوس آرنوس، باسیلوس سرئوس و باسیلوس سوبتیلیس انتخاب و فعالیت ضد باکتریایی عصاره‌های مورد بررسی به طریقه کیفی و کمی بر روی آن‌ها تعیین شد. عصاره‌های متانولی و استونی گال خرنوک با دارا بودن مقادیر بالای میانگین قطر هاله‌های عدم رشد فعالیت ضد میکروبی بالایی نشان دادند.

میانگین قطر هاله عدم رشد در غلظت‌های ۵۰ و ۲۵ میلی گرم بر میلی لیتر از عصاره متانولی و استونی خرنوک برای باکتری استافیلوکوکوس آرنوس و باسیلوس سوبتیلیس بیشتر از آنتی بیوتیک سفالکسین بود. همچنین میانگین قطر هاله عدم رشد در غلظت‌های ۶/۲۵ میلی گرم بر میلی لیتر و بالاتر از عصاره متانولی و استونی خرنوک برای باکتری باسیلوس سرئوس بیشتر از آنتی بیوتیک بوده است. بنابراین، می‌توان گفت تأثیر ضدباکتریایی عصاره متانولی و استونی گال خرنوک در غلظت‌های بالا بیشتر از آنتی بیوتیک سفالکسین بوده است (جدول ۱ و ۲).

جدول ۱. میانگین قطر هاله عدم رشد در غلظت‌های مختلف عصاره متانولی

خرنوک بر باکتری‌های مورد آزمون بر حسب (میلی متر)

باکتری	استافیلوکوکوس آرنوس	باسیلوس سرئوس	باسیلوس سوبتیلیس	غلظت
میانگین	انحراف	میانگین	انحراف	میانگین
(mg/ml)	معیار	معیار	معیار	معیار
۵۰	۲۲	۲۰/۷	۰/۵۸	۱۸
۲۵	۱۸/۷	۱/۶	۰/۵۸	۱۵/۳
۱۲/۵	۱۶	۱	۰/۵۸	۱۳
۶/۲۵	۱۳	۰	۰/۵۸	۱۱
۳/۱۲	۱۰/۳	۲/۹	۲/۱	۸
۱/۵۶	۷/۷	۱/۵	۱/۶	۶
شاهد مثبت	۱۷	۱/۴۱	۱/۳۰	۱۴/۵

شاهد مثبت: سفالکسین ۳۰ میکروگرمی

لیتر از عصاره بود. ردیف ۷، کنترل مثبت و ردیف ۸، کنترل منفی بود. در خانه‌های ۱ تا ۶ هر ردیف صد میکرولیتر از غلظت مربوط به هر خانه اضافه شد و در ردیف ۷، صد میکرولیتر محیط کشت مولر هینتون برآث و در ردیف ۸، دوپست میکرولیتر از مولر هینتون برآث اضافه شد. در تمام خانه‌ها به استثناء ردیف ۸، صد میکرولیتر از سوسپانسیون معادل کدورت $10^7 \times 1/5$ باکتری در هر میلی لیتر اضافه شد. بلافاصله بعد از کامل شدن خانه‌ها، میکروپلیت در دستگاه الایزا^۱ قرار داده شد و در طول موج ۶۳۰ نانومتر جذب‌ها خوانده و نگه‌داری شد. سپس میکروپلیت به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه شد و دوباره جذب آن توسط دستگاه الایزا خوانده شد. از مقایسه میزان جذب نوری قبل و بعد از انکوباسیون در هر یک از چاهک‌ها و همچنین بررسی چشمی کدورت ایجاد شده در چاهک‌ها، کمترین رقت از ماده مورد آزمون که در چاهک مربوط به آن غلظت، کدورتی مشاهده نمی‌شد به عنوان میزان MIC در نظر گرفته شد. به منظور تعیین MBC عصاره مورد آزمایش، پنجاه میکرولیتر از چاهک‌های مربوط به MIC و سه چاهک مربوط به غلظت‌های بیشتر از عصاره مورد آزمایش که کدورت قابل تشخیصی نداشتند، بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار به صورت خطی کشت داده شد. پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون پلیت‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد، رشد باکتری بر روی پلیت‌ها مورد بررسی قرار گرفت. غلظتی از عصاره مورد آزمایش که بر روی محیط کشت جامد مربوط به آن هیچ گونه رشدی از باکتری مشاهده نمی‌شد به عنوان MBC در نظر گرفته شد.

به منظور تأیید نتایج حاصل آزمایشات چهار بار تکرار گردید (۹). تجزیه و تحلیل داده‌ها با آزمون آنالیز واریانس (ANOVA) و با استفاده از نرم‌افزار SPSS ویرایش ۱۶ انجام شد.

1. Elisa Reader

ضدباکتریایی گیاهانی که مصرف آن‌ها در طب سنتی برای درمان بیماری‌ها گزارش شده، با ارزش می‌باشد.

در این پژوهش با دو روش کیفی (انتشار چاهک) و کمی (میکرودایلوشن) نشان داده شد که عصاره‌های متانولی و استونی گال خرنوک اثرات ضد باکتریایی نسبتاً بالایی بر روی باکتری‌های گرم مثبت داشتند. در روش چاهک اندازه‌ی قطر هاله عدم رشد با مقدار غلظت عصاره نسبت مستقیم داشت ($p < 0.05$).

روند اثرگذاری بر روی این سویه نشان دهنده این است که عصاره این گیاه اثر ضد باکتری مشخصی دارد که با افزایش غلظت یا به عبارت دیگر با افزایش ماده مؤثره این اثر نیز بیشتر می‌شود. باکتری استافیلوکوکوس آرتوس با داشتن قطر هاله عدم رشد بزرگتر در غلظت‌های مختلف از عصاره‌ها و مقدار MIC کوچکتر در مقایسه با باسیلوس سوبتیلیس و باسیلوس سرئوس نسبت به اثر عصاره‌های متانولی و استونی گال خرنوک حساس‌تر است. باکتری باسیلوس سوبتیلیس و باسیلوس سرئوس حساسیت یکسان نسبت به عصاره‌ها داشتند. شاید شباهت‌های بسیار این دو باکتری باعث حساسیت یکسان آن‌ها نسبت به عصاره‌ها شده است. بافت گال حاوی ترکیبات فنلی همچون اسیدگالیک و اسیدتانیک می‌باشد و این ترکیبات دارای اثرات فیزیولوژیک و همچنین دارای خواص آنتی اکسیدانی، ضد باکتریایی، ضد التهابی و ضد قارچی می‌باشند (۴). بنابراین، می‌توان خاصیت ضد باکتریایی عصاره‌های متانولی و استونی گال خرنوک را به وجود ترکیبات فنلی در این عصاره‌ها نسبت داد.

در تحقیقی که توسط ساتیراپاتکول و همکاران در سال ۲۰۱۱ انجام شد، تأثیر عصاره‌های مختلف شامل عصاره‌های متانولی، اتانولی، آبی، هگزانی و کلروفرمی گال *Quercus infectoria* (نوع زنبور ایجادکننده‌ی گال نامشخص) بر

جدول ۲. میانگین قطر هاله عدم رشد در غلظت‌های مختلف عصاره استونی خرنوک بر باکتری‌های مورد آزمون بر حسب (میلی متر)

غلظت (mg/ml)	استافیلوکوکوس آرتوس		باسیلوس سرئوس		باسیلوس سوبتیلیس	
	میانگین	انحراف معیار	میانگین	انحراف معیار	میانگین	انحراف معیار
۵۰	۲۱/۷	۱/۶	۱۹/۷	۰/۵۸	۱۸/۷	۰/۵۸
۲۵	۱۸/۷	۱/۶	۱۷/۳	۱/۵	۱۶/۷	۰/۵۸
۱۲/۵	۱۶	۱	۱۵/۷	۱/۶	۱۳	۱
۶/۲۵	۱۳/۷	۱/۶	۱۳/۳	۰/۵۸	۱۱	۱
۳/۱۲	۱۰	۱	۱۱/۳	۱/۶	۸/۷	۱/۶
۱/۵۶	۶/۷	۱/۶	۹	۲/۶	۶	۰
شاهد مثبت	۱۷	۱/۴۱	۱۱	۱/۳۰	۱۴/۵	۱/۵۶

شاهد مثبت: سفالکسین

مقادیر MIC عصاره‌های متانولی و استونی گال خرنوک برای هر یک از باکتری‌های مورد آزمون با هم برابر بود. کمترین مقدار MIC برای باکتری استافیلوکوکوس آرتوس و برابر $1/56 \text{ mg/ml}$ و مقدار MIC برای باکتری باسیلوس سوبتیلیس و باسیلوس سرئوس مشابه و برابر $3/13 \text{ mg/ml}$ بود (جدول ۳). مقادیر MBC هر دو عصاره نیز با هم مساوی و برای استافیلوکوکوس آرتوس برابر $3/13 \text{ mg/ml}$ و برای باسیلوس سوبتیلیس و باسیلوس سرئوس یکسان و برابر $6/25 \text{ mg/ml}$ بود (جدول ۳).

جدول ۳. حداقل غلظت مهار کنندگی و حداقل غلظت کشندگی عصاره متانولی و استونی گال خرنوک بر باکتری‌های مورد آزمون

نوع باکتری	عصاره استونی		عصاره متانولی	
	MBC	MIC	MBC	MIC
استافیلوکوکوس آرتوس	۳/۱۳	۱/۵۶	۳/۱۳	۱/۵۶
باسیلوس سرئوس	۶/۲۵	۳/۱۳	۶/۲۵	۳/۱۳
باسیلوس سوبتیلیس	۶/۲۵	۳/۱۳	۶/۲۵	۳/۱۳

بحث و نتیجه‌گیری

عصاره‌های گیاهی از زمان‌های قدیم برای درمان بیماری‌ها مورد استفاده قرار گرفته‌اند. با توجه به سازگاری این مواد با بدن و اثرات دارویی مفید آن‌ها تحقیق بر روی اثرات

باکتری‌های استافیلوکوکوس آرتوس، باسیلوس سوبتیلیس و اشرشیا کلی مورد بررسی قرار گرفت. عصاره‌ی متانولی نسبت به بقیه عصاره‌ها اثر بیشتری بر روی باکتری‌ها داشت. مقدار MIC عصاره‌ی متانولی برای باکتری اشرشیا کلی، استافیلوکوکوس آرتوس و باسیلوس سوبتیلیس به ترتیب برابر ۲/۵۰، ۱/۲۵ و ۰/۶۲ میلی گرم بر میلی لیتر بود (۱۰).

این یافته‌ها از این نظر با پژوهش حاضر مطابقت دارد که باکتری استافیلوکوکوس آرتوس و باسیلوس سوبتیلیس در پژوهش ما هم مورد بررسی قرار گرفت. هر دو باکتری حساسیت بالایی نسبت به عصاره‌ها نشان دادند. مقدار MIC برای باکتری استافیلوکوکوس آرتوس ۱/۵۶ میلی گرم بر میلی لیتر و برای باسیلوس سوبتیلیس ۳/۱۳ میلی گرم بر میلی لیتر بوده است.

داروگا در سال ۲۰۰۹، فعالیت ضد باکتریایی عصاره‌های گال *Quercus infectoria* (نوع زنبور ایجادکننده‌ی گال نامشخص) را بر باکتری‌های استافیلوکوکوس آرتوس، سودوموناس آئروژینوزا، اشرشیا کلی، گونه‌ی انتروباکتر، پروتئوس میرابیلیس، کلبسیلا نومونیه، کلبسیلا اکسی توکا و سیتروباکتر فروندی، بررسی کردند. عصاره‌های متانولی، اتانولی و آبی از گال تهیه شد و فعالیت ضد باکتریایی آن‌ها به روش دیسک دیفیوژن بررسی شد. نتایج نشان داد که عصاره‌ی اتانولی اثر ضد باکتریایی بالاتری نسبت به عصاره‌ی متانولی و آبی داشت. حساس‌ترین باکتری نسبت به اثر عصاره‌ها باکتری استافیلوکوکوس آرتوس بود. مقدار MIC عصاره‌ی اتانولی برای این باکتری ۳/۱۲ میلی گرم بر میلی لیتر بود (۱۲). در نتایج حاصل از پژوهش ما استافیلوکوکوس آرتوس حساس‌ترین باکتری نسبت به اثر عصاره متانولی و استونی بود. مقدار MIC حاصل از عصاره‌های متانولی و استونی خرنوک برای این باکتری ۱/۵۶ میلی گرم بر میلی لیتر بود. با مقایسه میانگین قطر

هاله‌های عدم رشد و همچنین مقادیر یکسان MIC عصاره‌های متانولی و استونی گال خرنوک مشاهده می‌شود که هر دو عصاره گال خرنوک دارای فعالیت ضد باکتریایی مشابهی هستند. بنابراین، می‌توان حدس زد که نوع و مقدار ترکیبات فعالی که خاصیت ضدباکتریایی دارد به‌طور یکسان در دو حلال متانول و استون حل شده است.

لازم به ذکر است که سایر محققین فعالیت‌های ضد لاروی، ضد قارچی، ضد التهابی و آنتی اکسیدانی عصاره‌های گال‌های *Quercus infectoria* را گزارش کرده اند (۱۶-۱۳). با توجه به اثر ضد باکتریایی قابل ملاحظه عصاره‌های متانولی و استونی گال خرنوک بر روی باکتری‌های بیماری‌زای گرم مثبت که در ایجاد انواع عفونت‌های مخرب و بیمارستانی نقش دارند، این عصاره‌ها می‌تواند به عنوان فرآورده‌ی گیاهی طبیعی مد نظر قرار گیرد. همچنین لازم است مطالعات بیشتری بر روی سایر عصاره‌های این گال (اتانولی، آبی و غیره) صورت گیرد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان نامه دوره کارشناسی ارشد بوده که در دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان به انجام رسیده است. بدین وسیله از کارشناس محترم آزمایشگاه تحقیقاتی، خانم شاهسار که در انجام این پژوهش با ما همکاری داشتند، کمال تشکر را داریم.

References

1. Mazel D, Davies J. Antibiotic resistance in microbes. *Cell Mol Life Sci*. 1999;56:742-754.
2. Woo PCY, To APZ, Lau SKP, Yusen K.Y. Facilitation of horizontal transfer of antimicrobial resistance by transformation of antibiotic-induced cell Wall-deficient bacteria. *Med Hypotheses*. 2003;61:503-508.
3. Sadeghi seyed I, Asareh M, Tavakoli M. oak gall wasps, Research Institute of Forests and Rangelands. Tehran. 2009;1:1-197 (In Persian).
4. Basri D.F, Fan S.H. The potential of aqueous and acetone extracts of galls of *Quercus infectoria* as antibacterial agents. *Indian J Pharmacol*. 2004 ;37:26-29.
5. Nagesh L, Shayam S, Muralikrishna Ks, Kishore G. Antibacterial potential of gall extract *Quercus infectoria* against *enterococcus faecalis* an in vitro study. *Pharmacol J*. 2012;30(9):28-34
6. Basri DF, Liy ST, Shafiei Z, Zin NM. In Vitro antibacterial activity of galls of *Quercus infectoria* olivier against oral pathogens. *Evid Based Alt*, 2011; 1-8.
7. Satirapathkul and T. Leela. Growth inhibition of pathogenic bacteria by extract of *Quercus Infectoria* galls. *Int J Biosci, Biochem*. 2011;1(1):26-31.
8. Muskhazli M, Nurhafiza Y, Azwady AN, Dalilah EN, Dirnahayu M, Nurshaira CCK. Comparative study on the in vitro antibacterial efficacy of aqueous and methanolic extracts of *Quercus infectoria* gall's against *Cellulosimicrobium cellulans*. *Journal of Biological Sciences*. 2008;8(3):634-638.
9. Wiegand I. Methods to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial substances. *Nat protoc*. 2008;3(2):1-7
10. Archa V, Navneet P. Screening of *Quercus infectoria* gall extracts as anti-bacterial agents against dental pathogens. *Indian J Dental Res*. 2009;20:337-339.
11. Darogha SN. Antibacterial activity of *Quercus infectoria* extracts against bacterial isolated from wound infection. *J Kirkak uni*. 2009;4(1):20-30.
12. Aivazi A-A, Vijayan V. Larvicidal activity of oak *Quercus infectoria* Oliv. (Fagaceae) gall extracts against *Anopheles stephensi* Liston. *Parasitol Res*. 2009;104:1289-1293.
13. Sharifi A, Gorjipoura A, Sardisiri M, Mohammadi R, Jabarneyad A. Antifungal effect of *Quereus infectoria* gall on *saprolegnia* fungi. *Armaghan Danesh*. 2012;17(1(67)):78-84.
14. Kaur G, Hamid H, Ali A, Alam MS, Athar M. Antiinflammatory evaluation of alcoholic extract of galls of *Quercus infectoria*. *J Ethnopharmacol*. 2004;90:285-292.
15. Kaur G, Athar M, Alam MS. *Quercus infectoria* galls possess antioxidant activity and abrogates oxidative stress-induced functional alterations in murine macrophages. Elsevier: *Chem-Biol Interact*. 2008;171:272-280.