Applied Biology, Volume 10, Issue 39, 2020

Research Article

The effects of vegetative and generative shoots of Ajuga Chamaecistus, A. austro-iranica against some bactria and fungi strains[1]

Farkhondeh Rezanejad | Professor, biology Group, Shahid Bahounar University, Kerman, Iran **(Corresponding Author).** frezanejad@uk.ac.ir
Sedigheh Mehrabian | Professor, biology Group, Kharazmi University,Tehran, Iran. mehrabian_s@yahoo.com

Abstract

Objectives: Study of antimicrobial effects of aqueous and methanolic extracts of vegetative and reproductive structures of *A. Chamaecistus* and *A. austro-iranica* on several fungi and bacteria

Materials and Methods: Aquatic and methanolic extracts prepared from *Ajuga Chamaecistus*, *A. austro-iranica* were tested for antibacterial activity against gram positive (*Satphyloccocus aureous* and *Streptococus pyogenes*) and gram negative (*Pseudomonas aeroginosa* and *Proteus vulgaris*) bacteria and *Aspergillus niger* and *fusarium solani*. The vegetative and generative shoots of plants were powdered, sterilized, and extracted at 4°C with methanol and water. The concentrations of 50, 100 and 200 $mgml^{-1}$ of methanolic and aquatic extracts were used to detect the minimum inhibitory concentration (MIC). All experiments were tested three times. The antibacterial effects were evaluated using the cup-plate and antifugal activity using cup-plate and pour plate

Results: The antibacterial effect of aqueous extracts showed that only the leaf extract (vegetative extract) of *A. chamaecistus* is effective on S. aureus showing that in gram-negative bacteria, the presence of a lipopolysaccharide wall causes greater resistance. Methanolic extracts of both species were more active than aqueous extracts and had antimicrobial effects on all tested bacteria as well as *A. niger*. In both species, the extracts of the generative parts showed a stronger antifungal effect. In different species of this genus, the presence of phenolic compounds, tannins and terpenoids that have antimicrobial properties confirms the antimicrobial properties of this species. However, the amount of their effect depends on plant and microbe species, the tested parts (plant organs), the extracts concentration, the sampling season, the sample age and soil type.

Keywords: Ajuga, Anti microbial effects, Gram negative, Gram positive, Fungi and bacteria, Vegetative and generative structures.

1. **Received:** 2020/07/06 ; **Accepted:** 2020/10/07

**Copyright © the authors

بیولوژی کاربردی، دوره ۱۰، شماره ۳۹، پاییز ۱۳۹۹

مقاله پژوهشی

اثر عصاره‌های آبی و الکلی شاخسارهای رویشی و زایشی *Ajuga Chamaecistus* و *Ajuga austro-iranica (Lamiaceae)* بر رشد برخی باکتری‌ها و قارچ‌ها[1]

فرخنده رضانژاد | استاد، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران (**نویسنده مسئول**). frezanejad@ uk.ac.ir
صدیقه مهرابیان | استاد، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه تربیت معلم، تهران، ایران. mehrabian_s@yahoo.com

چکیده

هدف: هدف پژوهش حاضر مطالعه و مقایسه اثرات ضد میکروبی عصاره آبی و متانولی ساختارهای رویشی و زایشی دو گونه *A. Chamaecistus* و *A. austro-iranica* روی چندین گونهٔ قارچ و باکتری است.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش عصاره‌های آبی و متانولی دو گونه آژوگا (*Ajuga Chamaecistus* و *A. austro-iranica*) از تیره نعناع در برابر باکتری گرم مثبت (*Satphyloccocus aureou*)، گرم منفی (*Pseudomonas aeroginosa* و *Proteus vulgaris*) و قارچ‌ها (*Aspergillus niger* و *Fusarium solani*) بررسی شد. نوشاخه‌های رویشی و زایشی گیاه مورد بررسی، پودر و استریل شدند و عصاره‌های آبی و متانولی آنها تهیه شد. برای بررسی اثرات ضد میکروبی و تعیین غلظت مهاری حداقل، غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره‌ها تهیه گردید. همه آزمایش‌ها سه بار تکرار شدند. مطالعه فعالیت ضد باکتریایی با روش چاهک (cup-plate) و فعالیت ضد قارچی با روش چاهک و pour plate انجام شد.

یافته‌ها: بررسی اثر ضد باکتریایی عصاره‌های آبی روی میکروب‌های مورد مطالعه نشان داد که فقط عصاره برگی (نوشاخه رویشی) *A. chamaecistus* روی *S. aureus* مؤثر است. این نتایج بیانگر این است که در باکتری‌های گرم منفی، وجود دیوارهٔ لیپوپلی ساکاریدی سبب مقاومت بیشتر می‌شود. عصاره‌های متانولی هر دو گونه نسبت به عصاره‌های آبی فعال‌تر بودند و روی همهٔ باکتری‌های مورد آزمایش و نیز قارچ *A. niger* اثر میکروب‌کشی داشتند. در هر دو گونه، عصاره‌های بخش زایشی، اثر ضدقارچی قوی‌تری نشان دادند. در گونه‌های مختلف این سرده، وجود ترکیبات فنلی، تانن‌ها و ترپنوئیدها که دارای خواص ضد میکروبی هستند، خاصیت ضد میکروبی این گیاه را تائید می‌کند. به هرحال، میزان اثر، به گونه و سویه گیاه و میکروب، بخش مورد آزمایش (بخش زایشی یا رویشی (ساقه، ریشه و برگ)) غلظت عصاره‌ها، فصل نمونه‌برداری گیاه مورد آزمایش یا به عبارتی سن نمونه و نوع خاک بستگی دارد.

کلیدواژه‌ها: آژوگا، گرم منفی، گرم مثبت، باکتری‌ها، قارچ‌ها، شاخسارهای رویشی و زایشی.

---

۱. **تاریخ دریافت:** ۱۳۹۹/۰۴/۱۶ ؛ **تاریخ پذیرش:** ۱۳۹۹/۰۷/۱۶

۱. مقدمه

بیش از ۱۰۰ گونه از گیاهان *Ajuga* در جهان پراکنده‌اند. این گیاهان که متعلق به تیرهٔ نعناع هستند، در ایران، چین، کره، ژاپن، عراق، افغانستان، ترکیه نیز پراکندگی وسیعی در اروپا دارند (۱). این جنس دارای بیش از ۵۰ گونه در جهان است که ۵ گونه از آن شامل *A. Chamaecistus*، *A. austro-iranica*، *A. reptans*، *A. orientalis* و *A. comata* در ایران گزارش شده و دو جنس *Ajuga chamaecistus* و *Ajuga austo- iranica* بیشترین پراکنش را دارند (۲، ۳). *A. chamaecistus* در استان کرمان سمسک نامیده می‌شود و پراکنش وسیعی دارد. این گیاه در فرهنگ‌های مختلف در طب سنتی استفاده می‌شود و خواص دارویی مهمی همچون اثرات ضد تب، ضد کرم، ضد التهاب، آنتی اکسیدان، ضد هپاتیت، کاهش قند خون، التیام دهندهٔ زخم و درمان بیماری‌های دهان و ریه به آن نسبت داده شده است (۴، ۲). در برخی نقاط ایران از جمله استان کرمان گونهٔ *Ajuga chamaecistus* در درمان بیماری‌های گوارشی از جمله اسهال و استفراغ، بیماری‌های عفونی، کاهش قند خون و نیز از بین بردن لارو حشرات از جمله شپش استفاده می‌شود. در چین و ژاپن نیز به طور سنتی به عنوان مادهٔ ضد التهاب، ضد سرفه و خلط‌آور استفاده می‌شود (۵).

تحقیقات متعددی بر روی گونه‌های مختلف آن به ویژه *Ajuga reptans* و *Ajuga pyramidalis* انجام شده است (۱، ۴، ۶-۹، ۱۰، ۱۱-۱۷) و متابولیت‌های مختلفی در این جنس شناسایی شده‌اند که عبارتند از: کلرودان دی ترپنوئیدها.[1] به عنوان مواد ضد تغذیه‌ای حشره‌ای،[2] فیتواکدیستروئیدها[3] با زیربنای استروئیدی به عنوان هورمون پوست‌اندازی حشرات[4] و تنظیم رشد آنها که این دو متابولیت روی رشد حشرات متعدد از جمله نماتد، سوسک، ملخ، مگس و حتی برخی پستانداران اثر مهاری داشته و به همین دلیل در کنترل آفات گیاهی بسیار مؤثرند. به علاوه ترپنوئیدها در صنایع غذایی، عطرسازی، داروسازی و لوازم آرایشی و بهداشتی استفاده می‌شوند و به دلیل خاصیت ضد باکتریایی و محافظت‌کنندگی و معطر بودن، در زمان‌های قدیم همراه با غذا مورد مصرف قرار می‌گرفتند (۸، ۱۱، ۱۴، ۱۸ ۱۹). وجود اسانس‌های ضد باکتریایی در ادویه، چاشنی و لوازم آرایشی سبب

1. Clerodane diterpenoisd
2. Insect antifeedants
3. Phytoecdysteroids
4. Insect molting hormone

جلوگیری از رشد سریع میکروب‌ها و فساد مواد غذایی، آرایشی و بهداشتی می‌شود (۲). فیتو اکدیستروئیدها در تولید سنتز پروتئین، فرونشانی ابریشم و شیمی‌درمانی نیز مؤثرند (۲۱). همچنین در مهره‌داران نیز فعالیت‌های متفاوتی از جمله تحریک هیپرگلیسمی در موش، کاهش چربی رت و خرگوش، کاهش حجم کلسترول در ترشح صفرای رت، عادی‌سازی زنجیرهٔ تنفسی و مسیر انتهایی انتقال الکترون در هپاتوسیت‌های رت و فعال‌سازی اثرات انسولین را نشان می‌دهند (۶). متابولیت‌های دیگری از جمله آنتوسیانین‌ها و اسید فرولیک نیز در این گیاه شناسایی شده است که آنتوسیانین‌ها به عنوان رنگ‌کننده در فرآورده‌های دارویی، غذایی و نساجی استفاده می‌شوند. همچنین بر روی چربی و کلسترول خون مؤثرند (۱، ۱۵، ۱۹، ۲۱). بخش‌های هوایی آژوگا دارای اسید فرولیک هستند که در سال‌های اخیر به دلیل خاصیت آنتی اکسیدان آن در نگهداری غذا، به عنوان جزء مهم لوسیون‌ها و کرم‌های ضد آفتاب و نیز به دلیل فعالیت ضد تومور، ضد هپاتیک و ضد استروژنیک مورد توجه است (۱۹، ۲۱). تانن‌ها و فلاونوئیدها از ترکیبات دیگر این گیاه هستند که دارای خواص ضد میکروبی و ضد دیابتی می‌باشند. به هرحال، آلکالوئیدها و آنتراکینون‌ها در عصاره‌های این گیاه شناسایی نشدند (۲۲، ۲۳).

یکی از عوامل اصلی مرگ و میر، بیماری‌های عفونی هستند (بر طبق مطالعات سازمان بهداشت جهانی در۱۹۹۶ سالانه حدود ۱۷ میلیون نفر به ویژه کودک به این دلیل می‌میرند) (۱۰). همچنین به دلیل وجود ترکیبات مهم این جنس و از طرفی کمبود اطلاعات در مورد خواص ضد میکروبی آن، در این مطالعه اثرات ضد میکروبی این دو گونه روی چندین گونهٔ قارچ و باکتری مطالعه شده است که در صورت داشتن خواص ضد میکروبی، مصرف این گیاه به صورت ادویه، چاشنی و اسانس توصیه می‌گردد. همچنین می‌توان در تحقیقات بعدی با خالص‌سازی ترکیبات مؤثر در تهیه دارو از آنها استفاده کرد.

۲. مواد و روش‌ها

۲-۱. مواد گیاهی و تهیهٔ عصاره آنها

نوشاخه‌های[1] زایشی و رویشی *A. chamaecistus* (گیاه بوته‌ای چند ساله) از منطقهٔ ساردوئیه

1. Shoots

در استان کرمان در فصل مناسب (به ترتیب در اواسط بهار و اواسط تابستان) و نوشاخه‌های زایشی *A. austo-iranica* (گیاه علفی یکساله) از منطقهٔ خواجو در شیراز در اوایل بهار جمع‌آوری شدند. گیاهان جمع‌آوری شده در دمای معمولی و دور از تابش مستقیم خورشید خشک و سپس پودر شدند. برای تهیهٔ عصارهٔ متانولی، مقدار مورد نیاز از پودرهای تهیه شده وزن و درون ظروف شیشه‌ای درب‌دار درون بن ماری با دمای ۸۰°C به مدت ۳۰ دقیقه قرار داده شدند. سپس خیلی زود، شیشه‌های محتوی پودر به داخل یخچال منتقل و پس از سرد شدن سریع (۳۰ دقیقه) به مدت ۲۴ ساعت در دمای آزمایشگاه قرار گرفتند تا بدین روش امکان رشد اسپورهای میکروبی برقرار شود. این روش سترون کردن (تندالیزاسیون) سه بار تکرار شد تا کلیه اسپورها از بین بروند. پس از سترون کردن پودرها، با استفاده از متانول ۸۰ درصد، غلظت‌های مورد نیاز ($۵۰ mgml^{-1}$، $۱۰۰ mgml^{-1}$ و $۲۰۰ mgml^{-1}$) عصارهٔ بخش‌های مورد استفاده به دست آمد و عصاره‌های حاصل جهت خیساندن حداقل به مدت ۴۸- ۲۴ ساعت در دمای ۴°C قرار داده شدند.

غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و $۱۵۰ mgml^{-1}$ عصاره‌های آبی به روش تندالیزاسیون و نیز استفاده از یک اتوکلاو خفیف در فشار یک اتمسفر و زمان ۱۰ دقیقه تهیه شدند.

۲-۲. سویه‌های میکروبی و تهیه سوسپانسیون‌های میکروبی

در این بررسی *Staphylcoccus aureus* از باکتری‌های گرم مثبت و *Psedomonas aeroginosa* و Proteus vulgaris از باکتری‌های گرم منفی و قارچ‌های Fusarium solami و Aspergillus niger مورد آزمایش قرار گرفتند. برای تهیه سوسپانسیون میکروبی به وسیله حلقهٔ فلزی (فیلدوپلاتین) از سلول‌های باکتریایی استوک برداشت نموده به لوله‌های آزمایش دارای ۲۰ میلی‌لیتر محیط BHI اضافه نمودیم و به منظور فعال‌سازی به مدت ۱۸- ۱۲ ساعت در دمای ۳۷°C نگهداری شدند. قارچ‌های مورد آزمایش روی محیط کشت استوک نگهداری شدند.

۲-۳. بررسی خواص ضد میکروبی

حدود ۲۵ میلی‌متر از محیط مولر هینتون برای کشت باکتری و ۲۰ میلی‌لیتر از محیط کشت سابرودکستروز آگار جهت کشت قارچ در هر ظرف پتری ریخته شد. در شرایط کشت باکتری، از روش حفر چاهک[1] استفاده شد که در این روش به وسیلهٔ لولهٔ دورهام چاهک‌هایی به قطر

1. Cup plate

۶ میلی‌متر ایجاد شد و به وسیلهٔ سواپ استریل در کنار شعله از محلول آبگوشت باکتری استاندارد روی تمام سطح محیط به طور یکنواخت کشت داده شد. مقدار ۰/۱ میلی‌لیتر از هر عصاره به وسیله سرنگ در هر چاهک ریخته شد و سپس ظروف پتری در گرم‌خانه (انکوباتور) $37^{o}C$ به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شدند و سرانجام قطر هاله مهار رشد اندازه‌گیری گردید. در شرایط کشت قارچ از روش تمام ظرف[1] استفاده شد، یعنی مقدار ۰/۱۵ میلی‌لیتر عصاره بر روی محیط کشت ریخته شد و به طور یکنواخت روی سطح پتری پخش گردید. پس از نفوذ عصاره به درون محیط و تبخیر متانول آن مقداری میسلیوم یا کلنی قارچ با فیلدوپلاتین سترون به صورت نقطه‌ای در وسط ظروف پتری قرار داده شد و پس از ۴۸ ساعت رشد در دمای $30^{\circ}C$ ، اثر مهاری عصاره بر رشد قارچ بررسی شد. میزان MIC[2] (کمترین غلظت عصاره‌ای که در آن هیچ رشدی ملاحظه نمی‌شود) برای آزمایشات ضد باکتریایی و ضد قارچی اندازه‌گیری شد. همهٔ آزمایشات ۳ بار تکرار شدند.

۳. نتایج

بررسی اثر ضد باکتریایی عصاره‌های آبی روی میکروب‌های مورد مطالعه نشان داد که فقط عصاره برگی (نوشاخه رویشی) *A. chamaecistus* روی *S. aureus* مؤثر است که در این تجربه قطر هالهٔ عدم رشد ۱۵ میلی‌متر بود. همچنین روش مؤثر تهیه عصاره، سترون کردن مستقیم عصاره‌های مورد نظر به وسیله اتوکلاو (فشار یک اتمسفر به مدت ۱۰ دقیقه) بـود.

نتایج حاصل از مطالعهٔ اثر عصاره‌های متانولی بر باکتری‌های مورد بررسی در جدول ۱ و ۲ نشان داده شده است. همچنین مقدار MIC، $\leq 50 mgml^{-1}$ بود.

نتایج حاصل از بررسی عصاره‌های متانولی روی قارچ‌های مورد آزمایش نشان داد که عصاره‌های مذکور روی قارچ *A. niger* اثر مهاری بالایی دارند و عصاره‌های مؤثر مربوط به مرحلهٔ زایشی هر دو گونه مورد آزمایش بودند. شکل ۱ میزان حساسیت این قارچ نسبت به عصارهٔ بخش زایشی *A. chamaecistus* را نشان می‌دهد.

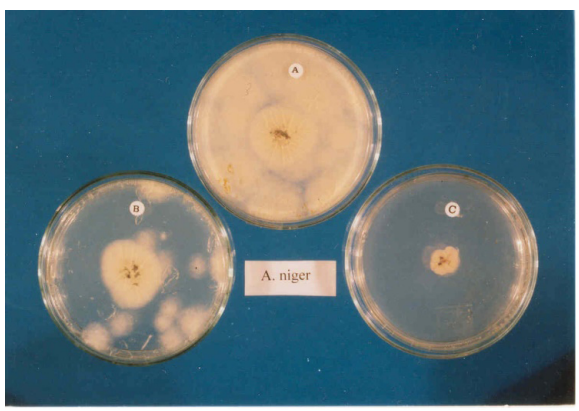
1. Pour plate
2. Minimum Inhibitory Concentration

جدول ۱- نتایج حاصل از بررسی قطر هاله عدم رشد عصاره‌های متانولی *A. chamaecistus* بر باکتری‌های مورد مطالعه

غلظت عصاره / باکتری	غلظت عصاره در بخش رویشی ($mgml^{-1}$)			غلظت عصاره در بخش زایشی (میزان، $mgml^{-1}$)		
	قطر هاله عدم رشد (mm)	۵۰	۱۰۰	۲۰۰	۵۰	۱۰۰	۲۰۰
S. aureus		۱۳	۱۴	۱۶	۷	۱۰	۱۰
P. vulgaris		۸	۱۵	۱۵	۷	۷	۸
P. aeroginosa		۸	۹	۱۰	۱۰	۱۳	۱۲

جدول ۲- نتایج حاصل از بررسی قطر هاله عدم رشد عصاره‌های متانولی *A. austro- iranica* بر باکتری‌های مورد مطالعه

غلظت عصاره / باکتری	بخش رویشی (میزان، $mgml^{-1}$)			
	قطر هاله عدم رشد (mm)	۵۰	۱۰۰	۲۰۰
S. aureus		۷	۱۰	۱۳
P. vulgaris		۱۲	۱۵	۱۷
P. aeroginosa		۶/۵	۱۳	۱۳



شکل ۱- اثر مهاری عصاره متانولی *A. chamaecistus* بر قارچ *A. niger*، A = شاهد، B = شاهد متانولی، C = عصاره متانولی

٤. نتیجه‌گیری

اگرچه در ۳-۲ دهه اخیر، تولید آنتی‌بیوتیک‌ها و سموم مختلف افزایش یافته است، اما از طرفی به دلایل مختلف از جمله ایجاد واکنش‌های سمّی ایجاد شده توسط آنها و نیز ظهور باکترهای

مقاوم در برابر آنتی‌بیوتیک‌های تولید شده، مزایای استفاده از آنها در معرض تهدید است. بنابراین، بررسی داروهای جدید که از منابع طبیعی به دست می آیند، نقش مهمی در پیشگیری و درمان بسیاری از بیماری‌ها دارد. در بسیاری از کشورها، طب سنتی یکی از سیستم‌های مراقبت‌های بهداشتی اولیه است (۲۴). اثر ضد باکتریایی عصاره‌های گیاهی ارتباطی مناسب بین طب سنتی و نتایج ضد باکتریایی را نشان می‌دهد. براساس مطالعات، یکی از ترکیباتی که به وفور در گیاهان تیرهٔ نعناع وجود دارد، کارواکرول است (۶) که در آب نامحلول، اما در حلال‌های آلی حل می‌شود و دارای خواص ضد عفونی‌کننده و ضد کرمی است. بنابراین، شاید به دلیل اینکه مواد ضدعفونی گیاه در آب کمتر حل می‌شوند، خواص ضد میکروبی عصاره‌های آبی کمتر است. نتایج حاصل از عصاره‌های آبی بخش رویشی *A. chamaecistus* نشان داد که فقط *S. aureus* (گرم مثبت) در برابر عصاره‌ها حساس بود که بیانگر این است که در باکتری‌های گرم منفی، وجود دیوارهٔ لیپوپلی ساکاریدی سبب مقاومت بیشتر می‌شود (۱۲). خواص ضد قارچی و ضد باکتریایی عصاره برخی گونه‌های آژوگا توسط محققین مختلف بررسی شده است. وجود ترکیبات متعدد در این جنس مانند دی‌ترپن‌ها، ایروئیدها، فلاونوئیدها، آنتوسیانین‌ها، اکدیستروئیدها، روغن‌های فرار (ضروری)، خاصیت ضد میکروبی این ترکیبات و این جنس را تأیید می‌کند (۴، ۱۲، ۲۱). ترکیباتی مانند تیمول، اگزو فنچول، بتا پینن، بتا سیمین، آلفا ترپینئول، آلفا لیلاندرین، آلفا توجن، الفا پینن،گاما مورولن، لیمونن، جرماکرین، لینالول، آژوگاپیرین A، براکتئونین A، لوپولین C، ایروئیدها که محدوده وسیعی از خواص زیستی و دارویی دارند، در این جنس شناسایی شده‌اند. مطالعات متعددی به خواص ضد قارچی (۲، ۶، ۷، ۱۶، ۲۵) و ضد باکتریایی (۱۱، ۱۲، ۱۶، ۱۷، ۲۵) این ترکیبات اشاره کرده است. وجود ترکیباتی ماند تیمول، لینالول اکسید و اسپاچولنول، به عنوان روغن‌های فرار اصلی و نیز ترکیباتی ماند کوماریک اسید، گالیک اسید و فرولیک اسید، به عنوان ترکیبات فنلی اصلی، در *A. chamaecistus*، و اثرات ضد میکروبی این ترکیبات، نقش این گیاه با داشتن ترکیبات ذکر شده، در مهار رشد باکتری‌ها و قارچ‌ها را تایید می‌کند (۲۲). احتمالا این ترکیبات در یک روش سینرژیک عمل کرده و اثر کلی آنها نقش مهمی در کنترل بیماری‌های ناشی از قارچ‌ها و باکتری‌ها اعمال می‌کند. به هر حال، عوامل متعددی مانند واریته، ژنوتیپ، شرایط آب و هوایی، نوع خاک، ارتفاع، سن گیاه، زمان نمونه‌برداری، اندام‌های مختلف گیاه و... بر میزان و نوع ترکیبات، اثر قابل توجهی دارند (۴، ۱۰، ۲۰). به علاوه نوع گونه یا سویهٔ باکتری و گیاه مورد

آزمایش نیز مؤثر است (۱۱، ۱۲). اگرچه، مطالعات نشان داده است که روغن‌های فرار، تقریباً بر علیه همه گونه‌های باکترها موثر هستند، اما مکانیسم فعالیت ضد میکروبی روغن‌های فرار، هنوز به طور کامل مشخص نیست (۱۷).

عصاره‌های متانولی نسبت به عصاره‌های آبی فعال‌تر بودند و روی همهٔ باکتری‌های مورد آزمایش و نیز قارچ *A. niger* اثر باکتری‌کشی و قارچ‌کشی داشتند. این ویژگی تائید می‌کند که ترکیبات فعال گیاه قطبی هستند. در گونه‌های مختلف این سرده، وجود ترکیبات فنلی، تانن‌ها و ترپنوئیدها که دارای خواص ضد میکروبی هستند (۱۹، ۲۱، ۲۲)، خاصیت ضد میکروبی این گیاه را تائید می‌کند، اما همان طور که ذکر شد، میزان تاثیر به گونه و سویه گیاه و میکروب، بخش مورد آزمایش (بخش زایشی یا رویشی (ساقه، ریشه و برگ)) غلظت عصاره‌ها، فصل نمونه‌برداری گیاه مورد آزمایش یا به عبارتی سن نمونه و نوع خاک بستگی دارد (۴، ۱۰، ۲۰). با توجه به اینکه خواص گیاه مورد مطالعه بویژه بخش‌های زایشی آن روی سویه‌های قارچی و باکتریایی مورد مطالعه به طور دقیق بررسی نشده است، مطالعهٔ حاضر و انجام بررسی‌های بیشتر بعدی به منظور استخراج و شناسایی ترکیبات مهم این جنس و اثر این ترکیبات روی فعالیت‌های ضد میکروبی حایز اهمیت می‌باشد.

References

1. Camps F & Coll J. Insect allele chemicals from Ajuga plants. *Phytochemistry*. 1993; 32: 1361-1370.
2. Masoudi S. Volatile constituents from different parts of three Lamiacea herbs from Iran. *Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR*. 2018; 17(1): 365.
3. Rechinger KH. *Ajuga***.** In: Rechinger, KH (Ed.), Flora Iranica. Akademische Drucks Verlagsantalt, Graz; 1982, Vol. 150: 10–23.
4. Toiu A, Mocan A, Vlase L, Pârvu AE, Vodnar DC, Gheldiu AM, Moldovan C & Oniga I. Comparative phytochemical profile, antioxidant, antimicrobial and in vivo anti-inflammatory activity of different extracts of traditionally used Romanian Ajuga genevensis L. and A. reptans L.(Lamiaceae). *Molecules*. 2019; 24(8): 1597.
5. Takasaki M, Tokuda H, Nishino H & Konoshima T. Cancer chemopreventive agents (antitumor-promoters) from Ajuga decumbens. *Journal of natural products*. 1999; 62(7): 972-975.
6. Adam K, Sivropoulou A, Kokkini S, Lanaras T & Arsenakis M. Antifungal activities of Origanum vulgare subsp. hirtum, Mentha spicata, Lavandula angustifolia, and Salvia fruticosa essential oils against human pathogenic fungi. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 1998; 46(5): 1739-1745.
7. Aguiar GP, Lima KA, Severiano ME, Groppo M & Ambrósio SR. 2018. Antifungal activity of the essential oils of Plectranthus neochilus (Lamiaceae) and Tagetes erecta (Asteraceae) cultivated in brazil. *Int J Complement Alt Med*. 2018; 11(1): 00343.
8. Bremner PD, Simmonds MS, Blaney, WM & Veitch NC. Neo-clerodane diterpenoid insect antifeedants from Ajuga reptans cv catlins giant. *Phytochemistry*. 1998; 47(7): 1227-1232.
9. Callebaut A, Terahara N, De Haan, M & Decleire M. Stability of anthocyanin composition in *Ajuga reptans* callus and cell suspension cultures. *Plant cell, tissue and organ culture*. 1997; 50(3): 195.
10. Encarnacion Dimayuga R, Virgen M & Ochoa N. Antimicrobial activity of medicinal plants from Baja California Sur (Mexico). *Pharmaceutical biology*. 1998; 36(1): 33-43.
11. Ganaie HA, Ali MN, Ganai BA, Meraj M & Ahmad M. Antibacterial activity of 14, 15-dihydroajugapitin and 8-o-acetylharpagide isolated from Ajuga bracteosa Wall ex. Benth against human pathogenic bacteria. *Microbial pathogenesis*. 2017; 103: 114-118.
12. Manena T & Muyima NYO. Comparative evaluation of the antimicrobial activities of essential oils of Artemisis afra, Pteronia and Rosmarinus officinalis on selected bacteria and yeast strains. *Letters in Applied Microbioligy.* 1999; 28: 291- 296.

13. Terahara N, Callebaut A, Ohba R, Nagata T, Ohnishi-Kameyama M & Suzuki M. Triacylated anthocyanins from Ajuga reptans flowers and cell cultures. *Phytochemistry*. 1996; 42(1): 199-203.
14. Tomás J, Camps F, Claveria E, Coll J, Melé E & Messeguer J. Composition and location of phytoecdysteroids in *Ajuga reptans* in vivo and in vitro cultures. *Phytochemistry*. 1992; 31(5): 1585-1591.
15. Yagi T, Morisaki M, Kushiro T, Yoshida H & Fujimoto Y. Biosynthesis of 24β-alkyl-Δ25-sterols in hairy roots of Ajuga reptans var. atropurpurea. *Phytochemistry*. 1996; 41(4): 1057-1064.
16. Yang D, Michel L, Chaumont JP & et al. Use of caryophyllene oxide as an antifungal agent in an in vitro experimental model of unychomycosis. *Mycopathologia*. 1999; 148(1):79–82.
17. Zengin H & Baysal AH. Antibacterial and antioxidant activity of essential oil terpenes against pathogenic and spoilage-forming bacteria and cell structure-activity relationships evaluated by SEM microscopy. *Molecules*. 2014; 19(11): 17773-17798.
18. Sahakyan N, Petrosyan M & Trchounian A. Comparative analysis of chemical composition and biological activities of Ajuga genevensis L. in vitro culture and intact plants. *Int J Biol Biomol Agric Food Biotechnol Eng*. 2016; 10: 322-326.
19. Madhavi DL, Juthangkoon S, Lewen K, Berber-Jimenez MD & Smith MAL. Characterization of anthocyanins from Ajuga pyramidalis metallica crispa cell cultures. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 1996; 44(4): 1170-1176.
20. Mohammadhosseini M, Pazoki A, Zamani HA & Akhlaghi H. Chemical composition of the essential oil from aerial parts of *Ajuga chamaecistus* Ging. subsp. scopria in Brackish regions of Iran. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*. 2011; 14(1): 101-105.
21. Madhavi DL, Smith MAL, Linas AC & Mitiku G. Accumulation of ferulic acid in cell cultures of Ajuga pyramidalis metallica crispa. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 1997; 45(4): 1506-1508.
22. Movahhedin N, Zengin G, Bahadori MB, Sarikurkcu C, Bahadori S & Dinparast L. Ajuga chamaecistus subsp. scoparia (Boiss.) Rech. f.: A new source of phytochemicals for antidiabetic, skin-care, and neuroprotective uses. *Industrial Crops and Products*. 2016; 94: 89-96.
23. Tafesse TB, Hymete A, Mekonnen Y & Tadesse M. Antidiabetic activity and phytochemical screening of extracts of the leaves of Ajuga remota Benth on alloxan-induced diabetic mice. *BMC complementary and alternative medicine*. 2017; 17(1): 1-9.
24. Bhalodia NR, Shukla VJ. Antibacterial and antifungal activities from leaf extracts of *Cassia fistula*: An ethnomedicinal plant. *Journal of advanced pharmaceutical technology and research*. 2011; 2(2): 104-109.

25. Abi-Ayad M, Abi-Ayad FZ, Lazzouni HA, Rebiahi SA & Ziani_Cherif C. Chemical composition and antifungal activity of Aleppo pine essential oil. *Journal of Medicinal Plants Research*. 2011; 5(22): 5433-5436.

استناد به این مقاله:

رضانژاد، فرخنده؛ مهرابیان، صدیقه (۱۳۹۹). اثر عصاره‌های آبی و الکلی شاخسارهای رویشی و زایشی *Ajuga Chamaecistus* و *Ajuga austro-iranica (Lamiaceae)* بر رشد برخی باکتری‌ها و قارچ‌ها. *بیولوژی کاربردی*، ۱۰(۳۹)، ص ۵-۱۶.