JVM Journal of Veterinary Microbiology

نشریه میکروبیولوژی دامپزشکی دوره بیستم،
شماره دوم، پاییز و زمستان ۱۴۰۳،
پیاپی ۴۹ : ۴۱-۲۸

مقاله پژوهشی

تعیین حداقل غلظت ممانعت کنندگی و باکتری کشی اسانس و عصاره واریته های مختلف گیاه نرگس (*Narcissus tazetta* L.)

محمد یونس ماهن[۱]، محمد محمودی سورستانی*[۲]، حسین معتمدی[۳]، سید منصور سیدنژاد[۴]

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد گیاهان دارویی گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

۲- دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

۳- استاد گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

۴- استاد گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

دریافت: ۱۴۰۲/۰۶/۰۷ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۲/۰۱

چکیده مبسوط

زمینه و هدف مطالعه: اسانس گیاهان به دلیل داشتن اثرات ضدمیکروبی در صنایع داروسازی و نگهداری مواد غذایی مورد استفاده قرار می گیرند. این مطالعه با هدف بررسی اثر ضدباکتریایی اسانس و عصاره واریته‌های مختلف گل نرگس و مقایسه اثرات مهاری آنها با یکدیگر انجام شد. **مواد و روش‌ها:** در این آزمایش، اسانس گل نرگس به روش چربی جاذب و عصاره با استفاده از حلال‌های آلی هگزان و اتانول استخراج گردید. سپس خاصیت ضدمیکروبی اسانس و عصاره واریته‌های مختلف گل نرگس *Narcissus tazetta* L. (شهلا، مسکینک، پنجه گربه‌ای و پُرپر) به دو روش، انتشار دیسک و مهار کنندگی رشد روی چهار گونه باکتری شامل (*باسیلوس سابتیلیس*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *اشرشیا کلی* و *سودوموناس آئروژینوزا*) مورد بررسی قرار گرفت. در روش انتشار دیسک، باکتری‌ها در محیط مولر هینتون آگار کشت و بعد از ۲۴ ساعت قطر هاله‌های عدم رشد اندازه‌گیری شد و در روش رقت‌های متوالی از دو رقت (۱:۲ و ۱:۴) استفاده شده، باکتری‌ها در محیط مولر هینتون براث کشت و بعد از ۲۴ ساعت، رشد و عدم رشد باکتری‌ها از طریق بررسی کدورت لوله‌های کشت و مقایسه آنها با شاهد تعیین گردید. **نتایج:** نتایج بدست آمده از روش انتشار دیسک نشان داد که اسانس واریته شهلا بیشترین اثرکشندگی را روی باکتری‌های گرم مثبت دارد. از بین عصاره‌های هگزانی، بیشترین اثر کشندگی در واریته پنجه گربه‌ای و در مورد عصاره اتانولی، بیشترین اثر کشندگی در واریته شهلا ثبت گردید. نتایج روش مهارکنندگی رشد نشان داد که اسانس و عصاره هگزانی واریته‌های مختلف تنها در رقت ۱:۲ روی رشد تمام باکتری‌ها اثر گذاشته و در تیمارهای عصاره اتانولی در هیچ یک از رقت‌ها تاثیری مشاهده نشد. **نتیجه گیری:** بطور کلی نتایج حاصل از این آزمایشات نشان داد که اسانس و عصاره گل نرگس دارای خاصیت ضدمیکروبی می‌باشد اما روش انتشار دیسک در مقایسه با روش مهارکنندگی رشد، اثرات بیشتری روی باکتری‌ها دارد.

کلمات کلیدی: اسانس، باکتری گرم مثبت، باکتری گرم منفی، عصاره، گل نرگس

* نویسنده مسئول : محمد محمودی سورستانی

آدرس: دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

پست الکترونیک: m.mahmoodi@scu.ac.ir

مقدمه

بر اساس آمارهای سازمان بهداشت جهانی، بیماری‌هایی که به سبب مصرف آب و غذای آلوده بوجود می‌آیند، سالانه جان حدود ۲/۲ میلیون نفر که از آن جمله۱/۹ میلیون آنها کودکان هستند را در سراسر جهان می‌گیرد و از همین رو، امروزه تولید مواد غذایی سالم، ایمن و با کیفیت یکی از مهمترین چالش‌ها می‌باشد (Burt, 2004). متابولیت‌های ثانویه گیاهی‌که به صورت پیش سازهای غیرفعال ذخیره شده‌اند شامل ترکیبات فنلی، فلاونوئیدها، فلاونول‌ها، گلیکوزیدها، اسانس ها و آلکالوئیدها می باشد که در مواد غذایی زیادی با مقادیر متفاوت وجود دارد (Saranraj & Durga Devi, 2017). اسانس‌ها که به آنها روغن‌های فرار نیز گفته می‌شود، از نظر شیمیایی، ترکیباتی ناهمگن بوده و به طور کلی متعلق به گروه‌های شیمیایی ترپن‌ها و فنیل پروپانوئیدها می‌باشند (Omidbaigi, 2013). اسانس‌ها در تولید داروهای پزشکی به خاطر کنترل عوامل بیماری‌زا، تهیه مواد آرایشی و بهداشتی و تولید عطر، تهیه مواد شوینده، حشره‌کش‌ها وهم‌چنین به عنوان مواد نگهدارنده و طعم‌دهنده در صنایع غذایی استفاده می‌شوند (Hesham et al., 2016; Lubbe & Verpoorte, 2011). فعالیت‌های ضدمیکروبی اسانس‌ها و عصاره‌ها احتمالا به دلیل وجود ترکیبات با خواص ضدمیکروبی هستند. تعدادی از این ترکیبات در غلظت‌های نسبتاً زیاد در اسانس‌ها و عصاره ها وجود دارند و باداشتن خواص ضدمیکروبی، شناخته شده‌اند. لینالول، ۱ و ۸ سینئول، لیمونن، الفا پینن، پی سیمن و ترپنئول از جمله این ترکیبات می‌باشند (Safaei-Ghomi & Abbasi, 2010). این ترکیبات در برابر گونه‌های مختلفی از باکتری‌ها، قارچ‌ها و ویروس‌ها موثر بوده‌اند. بطور مثال، لینالول دارای اثرات مهارکنندگی در برابر باکتری‌هایی مانند *استافیلوکوکوس آورئوس* و *اشرشیا کلی*، و هم‌چنین قارچ *کاندیدا البیکنس* بوده است. ۱،۸-سینئول خاصیت مهارکنندگی قوی روی گونه‌های *استرپتوکوکس پیوژنس* و *استافیلوکوکس آورئوس* داشته و کامفور نیز در برابر گونه‌های مختلفی از باکتری‌ها، از جمله *استافیلوکوکس آورئوس* و *سودوموناس آئروژینوزا*، خاصیت ضدمیکروبی دارد. ترپینن نیز در برابر گونه‌های مختلفی از جمله *اشرشیا کلی* و *سالمونلا تیفی موریوم*، موثر می‌باشد (Abers et al., 2021).

با وجود گسترش تولید آنتی بیوتیک‌ها، عفونت‌های باکتریایی و قارچی موضوع مهمی در بخش پزشکی می‌باشد و در حال حاضر به دلیل افزایش مقاومت میکروارگانیسم‌ها به داروهای شیمیایی، راه حل مناسب در این باره جایگزین نمودن موادی با عملکرد مناسب و متفاوت علیه میکروب‌ها می‌باشد. اسانس‌های گیاهی به دلیل داشتن حداقل اثرات جانبی و طبیعی بودنشان، می‌توانند به این منظور مورد استفاده قرار گیرند (Kalemba & Kunicka, 2003). اسانس‌های گیاهی بخاطر داشتن اثرات ضدمیکروبی توام با سایر روش‌های درمانی از جمله آنتی بیوتیک‌ها، کاربرد وسیعی در زمینه داروسازی و نگهداری مواد غذایی دارند (Nazzaro et al., 2017).

خانواده Amaryllidaceae شامل ۸۵ جنس و ۱۱۰۰ گونه می‌باشد که به طور گسترده در مناطق گرمسیری جهان پراکنده هستند. بیش از ۵۰۰ آلکالوئید از این خانواده جدا شده و گزارش شده که دارای خاصیت مهار کننده استیل کولین استراز، ضد باکتری، فعالیت‌های ضد قارچی، ضد مالاریا، ضد تومور، ضد ویروسی و سیتوتوکسیک می‌باشد. خواص دارویی این گیاهان از قبل شناخته شده بود و در قرن چهارم قبل از میلاد، بقراط از روغن نرگس *Narcissus poeticus L*.، برای درمان تومورهای رحم استفاده کرده است. فعالیت ضدمیکروبی آلکالوئیدهای خانواده Amaryllidaceae در تحقیقات قبلی ذکر شده است، اما در واقع، اطلاعات کمی برای حمایت از این ادعا وجود دارد (Locarek et al., 2015). در تحقیقی که توسط Benedec و همکاران (2018) روی ترکیبات فنلی، فعالیت ضدمیکروبی و آنتی اکسیدانی برخی گونه‌های مختلف خانواده Amaryllidaceae از جمله (*Galanthus nivalis* L., *Narcissus poeticus* L., *N. pseudonarcissus* L. and *Leucojum vernum* L.) انجام شده است، مشخص شد که اندام‌های هوایی این گونه‌ها حاوی مقادیر قابل توجهی پلی فنل و اسید کلروژنیک به عنوان ترکیب اصلی می‌باشند. هم چنین عصاره گونه‌های *G. nivalis* و *L. vernum* فعالیت ضد *استافیلوکوکال* بسیار خوبی نشان دادند، در حالی که عصاره *N. poeticus* اثر ضد *کاندیدا آلبیکنس* داشته است. گونه‌های این خانواده نه تنها به دلیل داشتن آلکالوئیدها، بلکه به دلیل محتوای پلی فنل‌های موجود در اندام هوایی، فعالیت ضد میکروبی بسیار خوبی دارند.

گل نرگس *Narcissus tazetta* یک گیاه چندساله است که دارای خواص ضدویروسی، ضد تومور و فعالیت‌های ضد فشار خون می‌باشد و سرشار از ترکیبات پلی فنلی است (Tariq et al., 2022).

گونه‌های مختلف گل نرگس در برخی استان‌های ایران از جمله خوزستان، کهکیلویه و بویر احمد، استان فارس، خراسان جنوبی، کردستان و منطقه گله‌دار در شمال استان بوشهر به بصورت خودرو وجود دارد. مهمترین رویشگاه گل نرگس در خوزستان شهرستان بهبهان می‌باشد که در سال ۱۹۹۲ میلادی به عنوان بهترین رویشگاه طبیعی گل نرگس دنیا شناخته شده است (Malaie & Najjari, 2017). گیاهان خانواده گل نرگس به دلیل داشتن خواص دارویی بسیار زیاد مورد توجه عموم می‌باشد از همین رو، این پژوهش به منظور بررسی خاصیت ضدباکتریایی اسانس و عصاره هگزانی و اتانولی واریته-های مختلف گل نرگس و هم‌چنین روش اسانس و عصاره‌گیری و نوع حلال که بر روی استخراج ترکیبات موثره گیاهان اثر گذار است، انجام شد.

مواد و روش‌ها

این تحقیق به منظور بررسی اثرات ضدمیکروبی اسانس، عصاره هگزانی و اتانولی واریته‌های مختلف گل نرگس (شهلا، مسکینک، پنجه گربه‌ای و پُرپر) که توسط دکتر چهرازی عضو هیئت علمی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید چمران اهواز شناسایی گردید، به دو روش مهار کنندگی رشد در محیط مایع و انتشار دیسک روی چهار گونه باکتری (گرم مثبت و گرم منفی) در آزمایشگاه میکروبیولوژی گروه زیست شناسی دانشکده علوم

دانشگاه شهید چمران اهواز اجرا گردید. اسانس واریته-های مختلف گل نرگس با استفاده از چربی جاذب و عصاره آنها با استفاده از حلال‌های آلی مانند هگزان نرمال و اتانول ۹۶ درصد، استخراج و سپس اسانس و عصاره بدست آمده با غلظت‌های مختلف مورد استفاده قرار گرفت.

اسانس واریته های مختلف گل نرگس به روش انفلوراژ با استفاده از قالب‌های چوبی با داشتن صفحات شیشه‌ای بنام چیس با ابعاد (۵۰×۵۰×۴) سانتی‌متر که مطابق استاندارد تهیه شده بود، استخراج گردید (Oktavianawati et al., 2019). روی صفحه شیشه‌ای چیس مقدار ۳۰۰ گرم چربی پالم تصفیه شده پهن گردید تا یک شکل کاملاً مسطح ایجاد شد و سپس گل‌های واریته‌های مختلف گل نرگس به مدت ۴۸ ساعت روی آن گذاشته شد. چربی هر تیمار بعد از مدت ۱۰ روز جمع‌آوری و داخل ظروف شیشه‌ای درب‌دار قرار داده، سپس مقدار ۳۰۰ میلی لیتر اتانول به هر نمونه اضافه گردید و به مدت ۱۰ روز نگهداری شد. بعد از صاف نمودن حلال از چربی، حلال حاوی اسانس از چربی توسط دستگاه روتاری در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد تبخیر شد. جهت جدا نمودن مواد اضافی آن از سانتریفیوژ در ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه استفاده گردید و فاز رویی‌که اسانس بود با سرنگ کشیده شد و داخل ویال-های شیشه‌ای ریخته و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید.

در روش عصاره‌گیری با هگزان نرمال از هر واریته گل نرگس، مقدار ۱۰ گرم گل تازه توزین و داخل ارلن ریخته شد. سپس مقدار ۱۰۰ میلی‌لیتر هگزان نرمال به هر کدام اضافه و در دمای اتاق به مدت ۱۰ روز در سایه گذاشته شد (Ferri et al., 2017). هر روز بخاطر استخراج کامل عصاره توسط حلال، عمل همزدن انجام شد. بعد از اتمام کار استخراج، حلال حاوی عصاره گل-ها با استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره ۴۲ صاف گردید و حلال موجود در عصاره توسط دستگاه روتاری تحت خلا با تبخیر نمودن حلال تغلیظ گردید و عصارهٔ مطلق به نام آبسلوت بدست آمد. آبسلوت هر واریته داخل بالن ژوژه ریخته شد و سپس مقدار ۱۰ برابر آن اتانول ۹۶ درصد به آنها اضافه گردید و در دمای منفی ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید تا مواد مومی و اضافی رسوب نماید. سپس فاز بالایی جدا و مجددا توسط دستگاه روتاری، اتانول موجود در عصاره جداسازی گردید. عصاره بدست آمده داخل ویال ریخته و در دمای یخچال نگهداری شد.

در روش عصاره‌گیری با اتانول نیز مانند روش هگزان نرمال، ابتدا گل‌های تازه هر واریته جدا و مقدار ۱۰ گرم وزن شد. گل‌ها داخل ارلن ریخته و سپس مقدار ۱۰۰ میلی‌لیتر اتانول ۹۶ درصد به آنها اضافه گردید و به مدت ۱۰ روز در دمای اتاق و سایه گذاشته و هر روز مرتب عمل همزدن صورت گرفت تا عصاره گل‌ها توسط حلال خارج شود. بعد از اتمام فرایند استخراج، حلال حاوی عصاره گل‌ها با استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره ۴۲ صاف گردید و سپس توسط دستگاه روتاری تحت خلا، حلال آن جدا شد. آبسلوت بدست آمده در دمای منفی ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد تا مواد

مومی و اضافی رسوب کند. بعد از رسوب نمودن فاز بالایی که عصاره خالص بود جدا و در ویال مخصوص و در دمای یخچال نگهداری شد.

مشخصات گونه‌های باکتری

در این مطالعه از دو گونه باکتری گرم مثبت شامل *Bacillus subtilis* (ATCC 6633) و *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) و دو گونه گرم منفی شامل *Escherichia coli* (ATCC25922) و *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027) استفاده شد. باکتریهای مورد استفاده از جمله باکتری-هایی هستند که به عنوان مدل در ارزیابی حساسیت ضد-میکروبی در اکثر مطالعات استفاده می شوند و در سویه-های بالینی آنها هم مقاومت آنتی بیوتیکی به سرعت در حال گسترش است. لذا یافتن ترکیبات ضدمیکروبی جدید به ویژه از منابع طبیعی به عنوان یک راهکار برای مقابله با این باکتری‌ها مطرح است.

ارزیابی اثر ضدمیکروبی با روش انتشار دیسک

اثر ضدمیکروبی اسانس و عصاره‌ها به دو روش استاندارد انتشار دیسک کربی- بائر و رقیق سازی در محیط مایع (MIC) مورد مطالعه قرار گرفت. در روش انتشار دیسک ابتدا پس از اطمینان از خالص بودن باکتری‌های تست، در محیط استریل مولر هینتون براث (مرک، آلمان) تلقیح شدند و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت۸ ساعت انکوباسیون انجام شد تا باکتری‌ها وارد فاز رشد لگاریتمی شوند. سپس با مقایسه کدورت لوله‌ها با استاندارد نیم مک فارلند کدورت سنج، غلظت سوسپانسیون باکتریایی معادل این کدورت تنظیم شد. از این سوسپانسیون با استفاده از سوآب‌های پنبه ایی استریل، کشت چمنی بر روی محیط مولر هینتون آگار (مرک، آلمان) تهیه شد. سپس دیسک‌های کاغذی آغشته به اسانس و عصاره‌ها که از قبل مطابق توضیحات زیر تهیه شده بود با استفاده از پنس استریل و با فاصله از همدیگر روی سطح کشت چمنی تهیه شده قرار داده شد.

طرز تهیه دیسک‌های حاوی اسانس و عصاره

از هر نمونه اسانس یا عصاره، مقدار ۴۰ میکرولیتر روی یک دیسک بلانک با قطر ۶ میلی متر (پادتن طب) ریخته و چند دقیقه در دمای محیط گذاشته شد تا عصاره جذب دیسک گردد. سپس در مجاورت شعله با استفاده از پنس استریل، دیسک‌های حاوی اسانس یا عصاره روی پلیت-های حاوی مولر هینتون آگار که هر کدام از آن‌ها با باکتری‌های مورد بررسی تلقیح شده بودند، قرار داده شد. پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد در انکوباتور گرمخانه گذاری شدند. همزمان از دیسک-های آغشته به حلال هم به عنوان دیسک شاهد استفاده گردید. در پایان دوره انکوباسیون، هاله عدم رشد باکتری اطراف هر دیسک، با استفاده از خط کش با واحد اندازه‌گیری میلی‌متر در سه جهت به دقت اندازه‌گیری گردید و میانگین آن به عنوان هاله عدم رشد ثبت گردید. این مراحل برای هر نمونه اسانس و عصاره واریته‌های مختلف گل نرگس و هر گونه باکتری به طور جداگانه انجام پذیرفت.

بررسی اثر اسانس و عصاره گل نرگس بر مهار رشد باکتری در محیط مایع(MIC)

از آنجا که نتایج روش انتشار دیسک به قدرت انتشار ترکیبات فعال موجود در دیسک درون محیط آگار بستگی دارد، از روش رقیق سازی ماکروبراث نیز استفاده گردید. در این روش باکتری‌ها به طور مستقیم در معرض ماده ضدمیکروبی قرار می‌گیرند و نتایج بر اساس میزان رشد باکتری‌ها و کدورت محیط کشت ارزیابی می‌گردد. برای این منظور هر کدام از گونه‌های باکتری مورد نظر ابتدا در محیط مولر هینتون براث (مرک، آلمان) کشت داده شدند و در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد گرمخانه گذاری شد تا به کدورت ۰/۵ مک فارلند برسند. رقت‌های متوالی ۲ تایی از اسانس یا عصاره به ترتیب از رقت ۱:۲ و ۱:۴ تهیه شد سپس مقدار ۵۰۰ میکرولیتر از اسانس یا عصاره گل نرگس رقیق شده به لوله حاوی یک میلی لیتر محیط مولر هینتون براث اضافه گردید. به هر کدام از لوله‌ها ۱۰ میکرولیتر سوسپانسیون باکتری معادل ۰/۵ مک فارلند افزوده و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوباسیون انجام شد. پس از گذشت ۲۴ ساعت از انکوباسیون، رشد و عدم رشد باکتری‌ها از طریق بررسی کدورت لوله‌های کشت و مقایسه آنها با شاهد تعیین گردید. لوله‌هایی‌که کدر نشده بودند نمایانگر مهار رشد باکتری هستند و کمترین غلظتی از عصاره یا اسانس که توان مهار رشد باکتری را داشته باشد به عنوان حداقل غلظت مهار کننده رشد باکتری (MIC) در نظر گرفته شد.

نتایج

نتایج حاصل از روش انتشار دیسک

به منظور بررسی اثرات ضدمیکروبی اسانس و عصاره واریته‌های مختلف گل نرگس از روش انتشار در محیط آگار استفاده گردید. جدول (۱) نتایج اندازه‌گیری هاله-های عدم رشد باکتری‌ها در مواجه با اسانس یا عصاره واریته‌های مختلف گل نرگس را نشان می‌دهد. همانطور که مشاهده می‌شود اسانس واریته مسکینک روی ۳ گونه باکتری شامل *اشرشیا کلی*، *سودوموناس آئروژینوزا* و *باسیلوس سابتیلیس* اثر مهارکنندگی داشته و هاله عدم رشد تشکیل شده بود. بیشترین قطر هاله (۱۹/۵ میلی‌متر) مربوط به باکتری *سودوموناس آئروژینوزا* می‌باشد. اسانس واریته پنجه گربه‌ای به غیر از گونه *اشرشیا کلی*، روی ۳ گونه دیگر اثر داشته و تشکیل هاله به ترتیب برای *استافیلوکوکوس اورئوس*، *سودوموناس آئروژینوزا* و *باسیلوس سابتیلیس* مشاهده گردید. در میان اسانس‌ها، واریته شهلا بیشترین اثر ضدمیکروبی و مهار کنندگی را داشته و توانست هر چهار گونه باکتری را مهار و هاله عدم رشد تشکیل دهد. در مقایسه بین گونه‌های گرم مثبت و گرم منفی، روی باکتری‌های گرم مثبت تاثیر بیشتری داشته است و بیشترین قطر هاله (۲۳/۵ میلی‌متر) مربوط به باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* می‌باشد. این نتایج حاکی از آن است که اسانس واریته شهلا در مقایسه با اسانس واریته‌های دیگر دارای اثرات ضدمیکروبی قابل توجهی می‌باشد. اسانس واریته پُرپر روی هر چهار گونه باکتری به ترتیب *سودوموناس آئروژینوزا*، *اشرشیا کلی*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *باسیلوس سابتیلیس* اثر مهار کنندگی خوبی از خود نشان داد.

نتایج آزمایش نشان داد که عصاره هگزانی واریته‌های مسکینک و پُرپر روی هیچ‌کدام از باکتری‌ها، هاله عدم رشد تشکیل نداده بود ولی عصاره واریته‌های پنجه گربه‌ای و شهلا روی هر چهار گونه باکتری اثر مهارکنندگی داشته و هاله تشکیل گردیده بود. هاله‌های تشکیل شده از عصاره واریته پنجه گربه‌ای به ترتیب برای *باسیلوس سابتیلیس*، *سودوموناس آئروژینوزا*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشرشیا کلی* ثبت گردیده است درحالیکه نتیجه عصاره واریته شهلا تقریبا بر عکس واریته پنجه گربه‌ای بوده و هاله‌ها به ترتیب برای *اشرشیا کلی*، *سودوموناس آئروژینوزا*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *باسیلوس سابتیلیس* ثبت شد.

عصاره اتانولی واریته مسکینک روی باکتری‌های *سودوموناس آئروژینوزا*، *استافیلوکوکوس اورئوس* اثر گذاشته بود و میانگین قطر هاله‌ها به ترتیب ۲۱ و ۲۰ میلی‌متر اندازه‌گیری شد. عصاره اتانولی واریته‌های پنجه گربه‌ای و شهلا روی تمام گونه‌های باکتری تاثیر گذاشت و هاله عدم رشد مشاهده شد. میانگین قطر هاله‌های مربوط به عصاره اتانولی واریته پنجه گربه‌ای برای باکتری *باسیلوس سابتیلیس*، *سودوموناس آئروژینوزا*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشرشیا کلی* به ترتیب ۱۳، ۱۲/۵، ۱۱و ۹ میلی‌متر و میانگین قطر هاله‌های مربوط به عصاره اتانولی واریته شهلا ۲۲/۵، ۲۱، ۲۰ و ۱۸/۵ میلی‌متر به ترتیب برای باکتری *اشرشیا کلی*، *سودوموناس آئروژینوزا*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *باسیلوس سابتیلیس* اندازه‌گیری گردید. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که عصاره‌های واریته پنجه گربه‌ای بیشتر روی باکتری‌های گرم مثبت و عصاره‌های واریته شهلا بیشتر روی باکتری‌های گرم منفی اثر مهارکنندگی داشته و هاله‌های بزرگتری تشکیل شده بود.

جدول ۱- قطر هاله عدم رشد باکتری‌ها در مواجه با اسانس و عصاره واریته‌های مختلف گل نرگس بر حسب (میلی‌متر)

اسانس / عصاره گل نرگس	گونه‌های باکتری			
	E. coli	*P. aeruginosa*	*S. aureus*	*B. subtilis*
اسانس – مسکینک	۱۳	۱۹/۵	–	۱۱
اسانس – پنجه گربه‌ای	–	۹/۵	۸	۱۲
اسانس – شهلا	۱۰	۱۰	۲۳/۵	۱۳/۵
اسانس – پُرپر	۹	۸	۱۰/۵	۱۱
عصاره هگزان – مسکینک	–	–	–	–
عصاره هگزان– پنجه گربه‌ای	۱۶	۱۶/۵	۱۳/۵	۱۸
عصاره هگزان – شهلا	۱۳	۱۱	۹	۸
عصاره هگزان – پُرپر	–	–	–	–
عصاره اتانول– مسکینک	–	۲۱	۲۰	–
عصاره اتانول– پنجه گربه‌ای	۹	۱۲/۵	۱۱	۱۳
عصاره اتانول– شهلا	۲۲/۵	۲۱	۲۰	۱۸/۵

نتایج میانگین اندازه‌گیری هاله عدم رشد باکتری ها بر حسب میلی‌متر در سه جهت است

علامت (-) عدم فعالیت ضدمیکروبی نشان می‌دهد

جدول ۲- بررسی اثر مهاری اسانس و عصاره واریته‌های مختلف گل نرگس بر رشد باکتری‌ها در محیط مایع

اسانس و عصاره گل نرگس	رقت ها	گونه‌های باکتری			
		E. coli	*P. aeruginosa*	*S. aureus*	*B. subtilis*
اسانس- مسکینک	۱:۲	+	+	−	−
	۱:۴	+	−	−	−
اسانس- پنجه گربه‌ای	۱:۲	+	+	−	−
	۱:۴	+	+	−	−
اسانس- شهلا	۱:۲	+	+	+	+
	۱:۴	−	−	−	−
اسانس- پُرپر	۱:۲	+	+	+	+
	۱:۴	−	−	−	−
عصاره هگزان- پنجه گربه‌ای	۱:۲	+	+	+	+
	۱:۴	−	−	−	−
عصاره هگزان- شهلا	۱:۲	+	+	+	+
	۱:۴	−	−	+	−
عصاره اتانول- مسکینک	۱:۲	−	−	−	−
	۱:۴	−	−	−	−
عصاره اتانول- پنجه گربه‌ای	۱:۲	−	−	−	−
	۱:۴	−	−	−	−
عصاره اتانول- شهلا	۱:۲	−	−	−	−
	۱:۴	−	−	−	−

علامت (+) عدم رشد و علامت (−) رشد باکتری‌ها نشان می‌دهد.

نتایج روش مهار رشد باکتری‌ها در محیط براث

نتایج بررسی میزان اثر اسانس و عصاره واریته‌های مختلف گل نرگس بر مهار رشد باکتری‌ها در محیط براث در جدول (۲) نشان داده شده است. در این آزمایش از ۲ رقت متفاوت اسانس و عصاره استفاده گردید که از این میان اسانس نسبت به عصاره اثر مهارکنندگی بیشتری داشته است. نتایج بدست آمده نشان می‌دهد که اسانس واریته مسکینک بیشترین اثر مهارکنندگی را در هر دو رقت روی باکتری *اشرشیاکلی* و کمترین اثر مهارکنندگی را فقط در رقت ۱:۲ روی باکتری *سودوموناس آئروژینوزا* داشته و اما روی دو باکتری گرم مثبت هیچ تاثیری نگذاشته بود. اسانس واریته پنجه گربه-ای در رقت ۱:۲ و ۱:۴ روی باکتری‌های *اشرشیا کلی* و *سودوموناس آئروژینوزا* اثر مهارکنندگی داشته ولی روی دو گونه دیگر باکتری هیچ اثری دیده نشد. بررسی اثر مهارکنندگی اسانس واریته‌های شهلا و پُرپر نشان می‌دهد که تنها در رقت ۱:۲ روی هر چهار گونه باکتری

اثر داشته و در رقت ۱:۴ هیچ اثری مشاهده نشده و باکتری‌ها رشد کرده بودند. عصاره‌های هگزانی واریته-های پنجه‌گربه‌ای و شهلا در این آزمایش اثر مهارگنندگی خوبی با رقت ۱:۲ روی هر چهار گونه باکتری، از خود نشان داده‌اند در حالیکه عصاره واریته شهلا با رقت ۱:۴ فقط روی باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* اثر داشته است و عصاره اتانولی واریته‌های گل نرگس روی هیچ کدام از باکتری‌های استفاده شده اثر مهارکنندگی نداشته است.

بحث

بیماری‌های باکتریایی از شایع‌ترین بیماری‌ها در جهان بوده و سالانه قربانی‌های زیادی از انسان‌ها می‌گیرد و هم‌چنین مقاومت باکتریایی در مقابل عوامل ضدباکتریایی از موضوعات مهمی است که درمان این بیماری‌ها را پیچیده‌تر ساخته است. با توجه به این مسئله، یافتن ترکیبات ضدباکتری مناسب امری اجتناب ناپذیر می‌باشد و تحقیقات زیادی در خصوص شناسایی مکانیسم‌های مقاومت میکروارگانیسم‌ها در برابر آنتی بیوتیک‌ها و نیز یافتن منابع طبیعی ترکیبات ضدمیکروبی موثر بر سویه‌های مقاوم انجام شده و در حال انجام است. ترکیبات شیمیایی اسانس و عصاره واریته‌های مختلف گل نرگس از تنوع بسیار بالای برخوردار بوده، این ترکیبات بسته به نوع گیاه، واریته آن، منطقه جغرافیایی کشت، فصل رویش، زمان گلدهی، زمان جمع‌آوری گل، خصوصیات ژنتیکی، ارتفاع، دما، رطوبت، تنش-های محیطی و روش استخراج متفاوت هستند (Koksal et al., 2015). به دلیل اینکه مسیرهای متابولیکی و بیوسنتزی مواد مؤثره در گیاهان تحت تأثیر ژنوتیپ گیاه، شرایط متفاوت محیطی، منشأ جغرافیایی، فعالیت‌های کشاورزی و عوامل خاکی قرار می‌گیرد، در نتیجه ترکیبات متنوعی از لحاظ کمی و کیفی تولید می‌شود و از همه مهمتر نور و دما است، که نقش اساسی در تولید ترکیبات معطر و کیفیت رایحه گل‌ها دارد و هم‌چنین تاثیر این دو عامل در مناطق و فصول مختلف، متفاوت می‌باشد (Terry et al., 2021; Rota et al., 2004).

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که بین اسانس واریته‌های مختلف، بیشترین اثر مهارکنندگی مربوط به اسانس واریته شهلا می‌شود که در هر چهار گونه باکتری هاله تشکیل شده بود. طبق نتایج بدست آمده از تحقیق حاضر کمترین اثر مهارکنندگی مربوط به اسانس واریته پرپر می‌باشد. بر اساس نتایج حاصل عصاره هگزانی واریته-های مسکینک و پرپر اثر مهارکنندگی نداشتند اما واریته‌های پنجه گربه‌ای و شهلا روی هر چهار گونه باکتری اثر گذاشته و هاله تشکیل گردیده بود. هم‌چنین عصاره اتانولی واریته مسکینک روی دو گونه باکتری *سودوموناس آئروژینوزا*، *استافیلوکوکوس اورئوس* اثر گذاشته بود و عصاره اتانولی واریته‌های پنجه گربه‌ای و شهلا روی هر چهار گونه‌های باکتری تاثیر گذاشت و هاله مشاهده شد. این نتایج با یافته‌های تحقیق(2022) Tariq et al. با کاربرد نانو ذرات نقره و عصاره گل نرگس گونه *Narcissus tazetta* روی باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* انجام شده بوده همخوانی دارد.

نتایج حاصل از آزمایش مهارکنندگی باکتری‌ها در محیط براث نشان داد، اسانس واریته‌های مسکینک و پنجه گربه‌ای در هر دو رقت روی باکتری‌های گرم منفی موثر بوده و اسانس واریته‌های پرپر و شهلا تنها در رقت ۱:۲ روی هر چهار گونه اثر مهارکنندگی داشت. هم-چنین عصاره هگزانی واریته‌های پنجه گربه‌ای و شهلا در رقت ۱:۲ روی باکتری گرم منفی و گرم مثبت موثر بوده است، اما اثر مهارکنندگی عصاره اتانولی واریته‌های گل نرگس روی هیچ کدام از باکتری‌های مشاهده نشد. در تحقیقی که توسط Talib & Mahasneh (2010) انجام شده بود، گزارش نمودند که عصاره‌های استخراج شده بوسیله حلال‌های مختلف از قسمت‌های هوای گونه نرگس *Narcissus tazetta*، اثرات مهارکنندگی خوبی در غلظت‌های ۱۲۵ تا ۵۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر از خود روی باکتریایی *استافیلوکوکوس اورئوس*، *باسلوس سریوس*، *اشرشیا کلی*، *سودوموناس آئروژینوزا* و *اسپرژیلوس نیگر* نشان داده‌اند که نسبت به یافته‌های آزمایش ما خیلی خیلی بیشتر می‌باشد. دلیل عمده‌ای آن این است که در روش انتشار دیسک از عصاره رقیق نشده استفاده شد و غلظت آن هم ۴۰ میکرولیتر در دیسک بود در حالیکه در روش براث از عصاره رقیق شده استفاده شد و این مقدار هم در حجم نهایی ۱۶۰۰ میکرولیتر رقیق شده بود به همین دلیل ممکن است اثر ضدمیکروبی از عصاره اتانولی در روش براث دیده نشد یا در رقت‌های پائین‌تر عصاره هگزانی اثر ضدمیکروبی مشاهده نشد.

طبق نتایج بدست آمده در تحقیق حاضر، تفاوت قابل ملاحظه از نظر خاصیت ضدمیکروبی بین اسانس و عصاره واریته‌های مختلف گل نرگس وجود دارد، دلیل آن می‌تواند تفاوت در ترکیبات شیمیایی اسانس و عصاره آنها باشد. بر اساس نتایج حاصل از آنالیز دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنجی جرمی ترکیبات بنزیل استات، لینالول، ترانس بتا اوسیمن، ۲– بوتکسی اتانول، ۱و ۸ سینئول، بوتیلتد هیدروکسی انیسول، ۲– فنیل اتیل استات، هیدرو سینامل استات و ایندول بین واریته‌های مختلف شناسایی شده بودند. ترکیبات عصاره هگزانی شناسایی شده شامل بنزیل استات، لینالول، بنزیل الکل، ترانس بتا اوسیمن، هیدرو سینامل الکل و فنیل اتیل استات و هم‌چنین عمده‌ترین ترکیبات عصاره اتانولی واریته‌های گل نرگس ۲ – بوتکسی اتانول، ۱ و ۸ سینئول، بنزیل الکل، ترانس بتا اوسیمن، لینالول، فنیل اتیل الکل، بنزیل استات و بنزیل اتانول می‌باشد شناسایی گردیده‌اند (Mahen et al., 2022).

نتایج حاصل از آزمایش انتشار دیسک و مهارکنندگی رشد باکتری‌ها با کاربرد اسانس و عصاره‌های هگزانی و اتانولی گل نرگس نشان داد اسانس نسبت به عصاره‌ها اثر کشندگی و مهارکنندگی بیشتری روی هر دو نوع باکتری گرم منفی و گرم مثبت داشت و در بین عصاره‌ها بیشترین اثر مربوط به عصاره هگزانی واریته شهلا بود. عصاره اتانولی به دلیل رقیق سازی در روش محیط براث روی هیچ کدام از باکتری‌ها اثری مشاهده نشد. در بین اسانس و عصاره‌های واریته‌های مختلف گل نرگس بیشترین اثر کشندگی و مهارکنندگی در واریته شهلا ثبت گردید. بر اساس این یافته‌ها، می‌توان چنین نتیجه

گرفت که اسانس گل نرگس دارای فعالیت قوی‌تر و طیف گسترده‌تری نسبت به عصاره‌ها بوده و تفاوت‌های موجود در اثرات ضدمیکروبی اسانس‌ها بیشتر مربوط به اجزای تشکیل دهنده آنها می‌باشد(Mahen et al., 2022). اسانس‌ها اثر ضدمیکروبی خود را از طریق تغییر ساختار و عمل غشای سلولی اعمال می‌کنند. آزمایشات صورت گرفته پیرامون مکانیسم عمل اسانس‌ها به اثبات رسانیده است که این ترکیبات باعث افزایش نفوذپذیری غشاء می‌شوند. ترکیبات اسانس با نفوذ در غشاء سبب متورم شدن آن شده و فعالیت آن را کاهش می‌دهد و در نهایت منجر به از بین رفتن و مرگ سلول خواهد شد (Eloff, 2000).

عصاره اتانولی هیچ کدام از واریته‌های گل نرگس اثر مهارکنندگی روی باکتریایی استفاده شده در این آزمایش نداشته و عدم مشاهده اثرات ضدمیکروبی از عصاره‌های اتانولی گل نرگس احتمالاً به دلیل تفاوت ترکیبات موجود در عصاره استخراج شده، خالص نبودن عصاره و رقیق سازی آن، روش عصاره‌گیری و نوع حلال مورد استفاده باشد. عصاره‌هایی‌که با روش‌ها و حلال‌های متفاوت از یک گیاه استخراج می‌شوند، می‌توانند اثرات ضدمیکروبی متفاوتی بر روی گونه‌های خاصی از میکروارگانیسم‌ها از خود نشان دهند (Nostro et al., 2000). تحقیقی توسط Halawani (2014) به منظور بررسی اثرات ضدمیکروبی عصاره اتانولی، آبی و متانولی گل محمدی با استفاده از روش انتشار انجام شده بود. نتایج نشان داد که عصاره‌های مختلف گل محمدی دارای خاصیت ضدمیکروبی علیه باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی می‌باشد و بیشترین خاصیت ضد میکروبی را عصاره اتانولی بر روی باکتری‌های *اشرشیا کلی* و *سودوموناس آئروژینوزا* داشت. Ulusoy (2009) et al گزارش نمودند که اسانس و عصاره گل محمدی با داشتن ترکیبات شیمیایی سیترونلول، ژرانیول، لینالول، نیرول، فنیل اتیل الکل و نونادکان روی باکتری‌های گرم منفی *اشرشیا کلی*، *سودوموناس آئرژینوزا* و باکتری‌های گرم مثبت *باسیلوس سابتیلیس* و *استافیلوکوکوس اورئوس* اثرات قوی داشته و با نتایج این آزمایش همخوانی دارد. بصورت کل نتایج تحقیق حاکی از آن است که اثر مهارکنندگی و عدم رشد میکروارگانیسم‌ها بیشتر وابسته به غلظت اسانس و عصاره، نوع باکتری و نوع واریته گل نرگس بوده و این اختلافات ناشی از تفاوت در ترکیبات شیمیایی اسانس و عصاره و حساسیت باکتری‌ها می‌باشد (Mahen et al., 2022).

نتیجه‌گیری کلی

باکتری‌های استفاده شده در این تحقیق از جمله باکتری های هستند که میزان عفونت ناشی از آنها چه در عفونت های اکتسابی از جامعه و چه در عفونت‌های بیمارستانی بالا و روبه افزایش است. علاوه براین میزان مقاومت آنتی بیوتیکی در سویه‌های بالینی این گونه‌ها به سرعت در حال گسترش است و روند نگران کننده‌ایی به خود گرفته است به گونه‌ایی که احتمال می‌رود در آینده عفونت‌هایی با منشاء این میکروارگانیسم‌ها بروز کند که به آنتی بیوتیک‌های موجود پاسخ نمی‌دهند و کنترل آنها بسیار مشکل خواهد بود. نتایج به دست آمده در این تحقیق

نشان می‌دهد که واریته‌های مختلف گل نرگس دارای ترکیبات فعال ضدمیکروبی هستند که می‌توانند در صورت استخراج به عنوان ترکیب پایه سنتز آنتی بیوتیک های جدید استفاده شوند؛ بویژه اینکه اسانس همه واریته ها روی طیف وسیعی از باکتری ها اثر مثبت نشان دادند و هر دو گروه باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی را مهار کردند. بنابراین مطالعه بیشتر در خصوص روش‌های استخراج موثرتر ترکیبات فعال موجود در گل نرگس و مطالعه میزان و مکانیسم اثر آنها برای دستیابی به منابع ضدمیکروبی جدید پیشنهاد می‌گردد.

سپاسگزاری

نویسندگان از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه شهید چمران به لحاظ حمایت مالی از این طرح در قالب پژوهانه (SCU.AH1400.775) و جناب آقای تجلی به خاطر حمایت مالی و تامین گل و مواد مورد نیاز تشکر و قدردانی می‌نمایند.

منابع

1. Abers, M., Schroeder, S., Goelz, L., Sulser, A., Tiffany St. Rose, T. S., Puchalski, K. and Jeffrey L. 2021. Antimicrobial activity of the volatile substances from essential oils. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, **21** (124): 1 - 14. doi.org/10.1186/s12906-021-03285-3
2. Benedec, D., Oniga, I., Hanganu, D., Gheldiu, A. M., Puscas, C., Silaghi-Dumitrescu, R., Duma, M., Tiperciuc, B., Vârban, R. and Vlase, L. 2018. Sources for developing new medicinal products: biochemical investigations on alcoholic extracts obtained from aerial parts of some Romanian Amaryllidaceae species. BMC Complementary and Alternative Medicine, **18** (226): 1-12. https://doi.org/10.1186/s12906-018-2292-8
3. Burt, S. 2004. Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods–A review. *International Journal of Food Microbiology*, 94(3): 223 - 253. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022
4. Eloff, J. N. 2000. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, **44** (1): 1457 - 1463.
5. Ferri, D., Ubaldi, C., Marcozzi, G., Facsiani, P., Bacchetta, L. and Pace, L. 2017. Chemical Characterization of *Narcissus poeticus* from Sirente - Velino (Apennines - Italy): Galantamine Accumulation and Distribution of Allergenic Compounds in the Flower. *Natural Product Communications*, **12** (1): 15-18.
6. Halawani, E. M. 2014. Antimicrobial activity of *Rosa damascena* petals extracts and chemical composition by gas chromatography-mass spectrometry (GC/MS) analysis. *African Journal of Microbiology Research*, **8** (24): 2359-2367. DOI: 10.22192/lsa.2017.3.2.6
7. Hesham, H.A., Abdurahman, H.N. and Rasoli, M.Y. 2016. Techniques for Extraction of Essential Oils from Plants: A Review. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 10 (16): 117-127.
8. Kalemba, D. and Kunicka, A. 2003. Antibacterial and Antifungal Properties of Essential Oils. *Current Medicinal Chemistry*, **10**. 813-829.
9. Koksal, N., Kafkas, E., Sadighazadi, S., and Kulahlioglu, I. 2015. Floral Fragrances of Daffodil under Salinity Stress. *Romanian Biotechnological Letters*, **20** (4):10600-10610.
10. Locarek, M., Novakva, J., Kloucek, P., Host alkova, A., Kokoska, L., Gabrlova, L., Safratova, M., Opleta, L. and Cahlikova, L. 2015. Antifungal and

Antibacterial Activity of Extracts and Alkaloids of Selected Amaryllidaceae Species. Natural Product Communications, **10** (9): 1537-1540.

11. Lubbe, A. and Verpoorte, R. 2011. Cultivation of medicinal and aromatic plants for specialty industrial materials. *Industrial Crops and products*, 34 (1): 785 - 801. doi:10.1016/j.indcrop.2011.01.019
12. Mahen, M. Y., Mahmoodi Sourestani, M., Motamedi, H. and Seeyednejad, S. M. 2022. The Study on the hexane and ethanol extracts Components in difference varieties of narcissus (*Narcissus tazetta* L.). *Plant Productions*, **45** (3): 323-333. Doi: 10.22055/ppd.2022.40498.2027(In Persian)
13. Malaie, Y. and Najjari, Q. 2017. Pests and Diseases of Daffodils. First Edition. *Publication of Agriculture Education*, Tehran, Iran. P: 29. (In Persian)
14. Nazzaro, F., Fratianni, F., Coppola, R. and De Feo, V. 2017. Essential Oils and Antifungal Activity. *Pharmaceuticals*, **10** (86): 2-20. doi:10.3390/ph10040086
15. Nostro, A., Gernano, M. P., Angelo, V. A., Marino, A. and Cannatelli, M. A. 2000. Extraction methods and bioautography for evaluation of medicinal plant antimicrobial activity. *Letters of Applied Microbiology*, 30: 379-384. DOI: 10.1046/j.1472-765x.2000.00731
16. Oktavianawati, I., Letisya, N., Citra, P. and Utari, D. P. 2019. Essential Oil Composition of Rose Flowers from Karangpring Village Jember District Extracted by Distillation and Enfleurage. *Journal ILMU DASAR*, **20** (2): 67-74.
17. Omid Baigi, R. 2013. Production and processing of medicinal plants. First Vol. *Qus Razavi Pub*. Mashhad p 60. (In Persian)
18. Rota, C., Carraminana, J. J., Burillo, J. and Herrera, A. 2004. In vitro antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants against selected foodborne pathogens. *Journal of Food Protection*, **67**: 1252-1256.
19. Safaei-Ghomi, J. and Abbasi, A. 2010. Antimicrobial and antifungal properties of the essential oil and methanol extracts of *Eucalyptus largiflorens* and *Eucalyptus intertexta*. *Pharmacognosy Magazine*, **6** (23): 172 - 175. DOI: 10.4103/0973-1296.66930
20. Saranraj, P. and Durga Devi, V. 2017. Essential Oils and Its Antibacterial Properties – a Review. *Life Science Archives*, **3** (2): 994-1011. DOI: 10.22192/lsa.2017.3.2.6
21. Talib, W. H. and Mahasneh, A. M. 2010. Antimicrobial, Cytotoxicity and Phytochemical Screening of Jordanian Plants Used in Traditional Medicine. *Molecules*, **15**. 1811-1824. Doi: 10.3390/molecules15031811
22. Tariq, H., Rafi. M., Amirzada, M. I., Muhammad, S. A., Yameen, M. A., Abdul Mannan., Ismail, T., Shahzadi, I., Ghulam Murtaza. and Fatima, N. 2022. Photodynamic cytotoxic and antibacterial evaluation of *Tecoma stans* and *Narcissus tazetta* mediated silver nanoparticles. Arabian Journal of Chemistry, **15**. 1-10. https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2021.103652
23. Terry, M. I., Hernandez, V. R., Aquila, D. J., Weiss, J. and Cortines, M. E. 2021. The Effect of Post-harvest Conditions in *Narcissus* sp. Cut Flowers Scent Profile. *Journal of Frontiers in Plant Science*, **11**. 1-14. doi: 10.3389/fpls.2020.540821
24. Ulusoy, S., Bosgelmez–Tenaz, G. and Secilmis–Canbay, H. 2009. Tocopherol, carotene, phenolic contents and antibacterial properties of rose essential oil, hydrosol and absolute. *Current Microbiology*, **59**: 554-558. DOI 10.1007/s00284-009-9475-y

Journal of Veterinary Microbiology, Volume 19, Issue1,
Autumn & Winter 2025

The Determination of the Minimum Inhibitory Concentration and Bactericidal of Essential Oil and Extract of Different Varieties of Daffodil (Narcissus Tazetta L.)

Mohammad Younis Mahen[1], Mohammad Mahmoodi Sourestani[2], Hosien Motamedi[3], Seeyed Mansoor Seeyednejad[4]

1. M.Sc. Graduate of Medicinal Plants, Department of Horticulture, Agriculture Faculty. Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.

2. Associate Professor, Department of Horticulture, Agriculture Faculty. Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.

3. Professor, Department of Biology, Science Faculty. Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.

Received: 29 August 2023 *Accepted: 20 April 2024*

Extended Abstract

Introduction: *Essential oil has been used in the pharmaceutical and food industries due to its antimicrobial effects. The aim of this study was to evaluate the antibacterial effect of the essential oil and extract of different varieties of daffodil.* ***Materials and methods:*** *In this experiment, the essential oil of narcissus was extracted by the infleurage method and the extract was obtained using organic solvents; hexane and ethanol. Then, the antimicrobial properties of the essential oil and extracts of different varieties of daffodil (Shahla, Meskinack, Panjegorbai and Porpar) were examined by two methods; disc diffusion and growth inhibition, on four bacterial species including Bacillus subtilis, Staphylococcus aureus, Escherichia coli and Pseudomonas aeruginosa. In the disc diffusion method, bacteria were cultured in Mueller-Hinton agar and after 24 hours, the diameter of the growth inhibitory halos was measured. In the serial dilution method, two dilutions (1:2 and 1:4) were used, and after 24 hours of bacterial growth, the turbidity of the culture tubes was compared with the control.* ***Results:*** *The results obtained from the disc diffusion method showed that the essential oil of Shahla variety had the highest activity against Gram-positive bacteria. Among the hexane extracts, the highest activity was observed in variety of Panjegorbai, and for ethanol extract, the highest activity was registered in variety of Shahla. The results of the growth inhibitory method showed that the essential oil and hexane extracts of different varieties affected the growth of all bacteria only in the 1:2 dilutions. However, no significant effect on bacteria was obtained in any of the ethanol extracts treatments.* ***Conclusion****: In overall, the results of these experiments showed that the essential oil and extract of daffodil flowers have antimicrobial properties, but the disc diffusion method showed more impact on bacteria than the growth inhibition method.*

Keywords: Daffodil, Essential oil, Extract, Gram positive bacteria, Gram negative bacteria

** Corresponding Author: Mohammad Mahmoodi Sourestani*
Adress: Associate Professor, Department of Horticulture, Agriculture Faculty. Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.
Email: m.mahmoodi@scu.ac.ir