بررسی اثرات ضد میکروبی عصاره بخش‌های مختلف گیاه داروئی شقایق وحشی (*Papaver rhoeas* L.) بر پاتوژن‌های باکتریائی

فاطمه ترکاشوند

۱- کارشناسی‌ارشد زیست‌شناسی-سلولی و مولکولی دانشگاه ازاد اسلامی واحد آزاد خرم آباد

Email: niushatorkashvand.@yahoo.com

چکیده

گیاهان داروئی به دلیل داشتن طیف وسیعی از متابولیت‌های ثانویه از مهمترین منابع ترکیبات داروئی و ضد میکروبی به حساب می‌آیند. گیاه داروئی شقایق وحشی (*P. rhoeas*) از جمله گیاهان بومی کشور بوده و به دلیل محتوی بالای آلکالوئیدی و پلی فنولی مورد توجه است. در سال‌های اخیر استفاده بی‌رویه از سموم شیمیائی و آنتی‌بیوتیک‌ها، مقاومت‌های باکتریایی گسترده‌ای مشاهده می‌گردد بر همین اساس استفاده از ترکیبات گیاهی می‌تواند جایگزین مناسبی برای این دسته از ترکیبات شیمیائی باشد. در مطالعه حاضر اثر آنتی‌بیوتیکی عصاره الکی بخش‌های مختلف گیاه داروئی شقایق وحشی بر روی ۴ باکتری بیماری‌زای گیاهی اروینیا، پکتوباکتریوم، سودوموناس و زانتاموناس مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که بیشترین اثر بازدارندگی و کشندگی به عصاره ریشه و کپسول تعلق داشت ضمن اینکه اثر آنتی‌بیوتیکی عصاره‌ها بر روی باکتری‌های مختلف از نظر آماری اختلاف داشت. به طور کلی با توجه به نتایج به دست آمده می‌توان بیان داشت که گیاه داروئی شقایق وحشی می‌تواند گزینه مناسبی برای تولید ترکیبات ضد باکتری باشد.

کلمات کلیدی: شقایق، آنتی‌بیوتیک، MIC، MBC، متابولیت

۱. مقدمه

گیاهان به دلیل داشتن مجموعه متنوعی از ترکیبات شیمیائی، از اولین و پرکاربردترین مواد و ابزارهای هستند که بشر برای برای درمان بیماری‌ها مورد استفاده قرار می‌داده و سالیان درازی است که اثرات داروئی و درمانی گیاهان داروئی برای همه شناخته شده است. براساس نتایج پژوهش‌های منتشر شده، از بین حدود ۴۲۰ هزار گونه گیاه گلدار شناخته شده، بیش از ۵۰۰۰ گونه حداقل دارای یک ترکیب شیمیائی منحصر به فرد بوده و دارای ارزش داروئی بالا هستند (۱۴).

براساس آمارهای منتشر شده از سوی سازمان بهداشت جهانی (WHO)[1]، امروزه میلیون‌ها نفر در سراسر جهان به طور مستقیم و غیر مستقیم از گیاهان داروئی و ترکیبات آنها استفاده می‌کنند و برآورد می‌شود که بیش از ۸۰ درصد جمعیت کشورهای توسعه یافته برای درمان بیماری و افزایش سلامتی زندگی، از گیاهان داروئی و ترکیبات به دست آمده از آنها استفاده می‌کنند. در

[1]Word Health Organization

گزارش دیگری آمده که حدود ۲۵ درصد داروهای موجود منشأ گیاهی داشته و مستقیماً از گیاهان و یا براساس ترکیبات گیاهی سنتز شده‌اند (۳). بیش از ۲۰ هزار گونه مختلف از گیاهان داروئی از خانواده‌های مختلف به عنوان منبع استخراج ترکیبات داروئی مورد استفاده قرار می‌گیرند و این تعداد رو به افزایش است. تجارت این دسته از گیاهان نیز در سطح بین‌المللی رو به افزایش بوده و در سال‌های اخیر تجارت این دسته از گیاهان به بیش از ۴ میلیون تن در سال می‌رسد (۴).

گیاهان داروئی علاوه بر متابولیت‌های اولیه، ساختارهای پیچیده و متنوع شیمیائی را با نام عمومی متابولیت ثانویه تولید می‌کنند. سنتز این ترکیبات در مرحله خاصی از رشد و تمایز سلولی در گیاهان صورت گرفته و انباشت آنها نیز محدود به بافت‌های مشخصی است (۱۰). بیش از ۱۰۰۰۰۰ متابولیت ثانویه مختلف از گیاهان داروئی شناسائی و جداسازی شده و هر سال تعداد زیادی از این گروه از ترکیبات زیستی در گونه‌های گیاهی مختلف شناسائی و معرفی می‌گردد (۸). متابولیت‌های ثانویه از طریق تغییرات شیمیائی مختلفی نظیر متیلاسیون، هیدروکسیلاسیون و گلیکوزیزاسیون از متابولیت‌های اولیه ساخته شده و به همین دلیل این گروه از ترکیبات شیمیایی نسبت به متابولیت‌های اولیه از پیچیدگی و تنوع بیشتری برخوردار هستند (۱۳).

متابولیت‌های ثانویه گیاهی می توانند بر دیواره سلولی باکتری‌ها اثر گذاشته و از سنتز مولکول‌های زیستی نظیر اسیدهای نوکلئیک در سلول باکتری جلوگیری نمایند. متابولیت‌های ثانویه با سایر ترکیبات زیستی موجود در سلول باکتری واکنش داده و سبب تغییرات قابل توجهی در چرخه تولید مولکول‌های زیستی خواهند شد. عملکرد ضد میکروبی بسیاری از متابولیت‌های ثانویه بسیار پیچیده بوده و از طریق کاهش یا توقف متابولیسم و بر هم زدن ساختارهای زیستی باکتری‌های بیماری‌زا سبب مرگ آن‌ها می‌شوند (۱۲).

در سال‌های اخیر استفاده بی‌رویه از آنتی‌بیوتیک‌های شیمیائی و ترکیبات مصنوعی ضد باکتریائی، مقاومت‌های باکتریائی گسترده‌ای در جهان ایجاد شده است. تعداد ترکیبات شیمیائی موثر بر علیه باکتری‌های بیماری‌زا رو به کاهش بوده و با توجه به مقاومت‌های ایجاد شده، استفاده از ترکیبات گیاهی با خواص ضد میکروبی رو به افزایش است. در این میان متابولیت‌های ثانویه موجود در گیاهان داروئی با استفاده از مکانیسم‌های مختلف کشندگی، می‌توانند بر علیه طیف وسیعی از میکروارگانیسم‌های از جمله باکتری‌های بیماری‌زا مورد استفاده قرار گیرند (۲).

همانطور که اشاره شد، میکروارگانیسم‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک مشکلات و نگرانی‌های رو به رشدی را برای بشر به وجود آورده است. این امر باعث شده است که محققان توجه خود را به گیاهان معطوف نمایند تا بتوانند ترکیبات ضد میکروبی را کشف کنند. خاورمیانه و کشور ایران طیف وسیعی از تنوع گیاهی را با بیش از ۲۰ هزار گونه در زیستگاه‌های مختلف در بر می‌گیرد. تعداد متنوعی از متابولیت‌های ثانویه گیاهی و مشتقات آنها به عنوان عوامل ضد میکروبی شناسایی شده‌اند. در میان متابولیت‌های ثانویه مورد مطالعه، آلکالوئیدها و پلی فنول‌ها فعالیت ضد میکروبی قوی نشان می‌دهند (۱۱). شقایق وحشی (*P. rhoeas*) گیاهی یکساله و از خانواده Papaveraceae و بومی غرب آسیا، شمال آفریقا و اروپا است. مطالعات گذشته نشان داده که عصاره این گیاه حاوی مجموع متنوعی از متابولیت‌های ثانویه از جمله آلکالوئیدها و پلی‌فنول‌ها می‌باشد (۶).

بیماری‌های گیاهی از مهمترین عوامل کاهش کمیت و کیفیت محصولات کشاورزی و باغی به شمار می‌روند و براساس آمارهای منتشر شده، سالانه بیش از ۱۲ درصد از تولید کشاورزی در جهان توسط پاتوژن‌های گیاهی از بین می‌رود (۱). از این رو به

منظور کاهش اثرات نامطلوب بیماری‌های گیاهی و بهره‌وری بیشتر از محصولات کشاورزی، استفاده از سموم شیمیایی افزایش یافته است. با این وجود استفاده بی‌رویه از سموم شیمیائی علاوه بر اثرات نامطلوب زیست محیطی، سبب افزایش بیماری‌های ناشی از مصرف محصولات کشاورزی آلوده به این سموم شده است (۲). با توجه به اهمیت موضوع، مطالعه حاضر به منظور بررسی اثرات ضد میکروبی عصاره متانولی بخش‌های مختلف گیاه داروئی شقایق وحشی (*P. rhoeas*) بر روی ۴ باکتری بیماری‌زای گیاهی به اجرا درآمد.

۲.مواد و روش‌ها

نمونه‌های گیاهی شقایق وحشی (*P. rhoeas*) از دامنه‌های رشته کوه‌های زاگرس لرستان جمع‌آوری و برای تهیه عصاره الکلی، ابتدا هر کدام از بخش‌های گلبرگ، برگ، ریشه و کپسول توسط خردکن برقی به قطعات کوچک خرد شدند. ۱۰ گرم از هر یک از اندام‌های خرد شده به طور جداگانه به ارلن‌های ۲۵۰ میلی‌لیتری حاوی ۱۰۰ میلی‌لیتر الکل متانول اضافه گردید. نمونه‌های مورد نظر به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق بر روی شیکر با ۱۰۰ دور در دقیقه قرار داده شدند. عصاره تهیه شده در سانتریفیوژ با ۵۰۰۰ دور در رقیقه[۱](RPM) قرار داده شد و عصاره به دست آمده از کاغذ صافی واتمن (شماره ۴۲) عبور داده شد. نهایتاً به منظور تهیه عصاره عاری از باکتری، عصاره‌های به دست آمده با استفاده از فیلتر سرنگی (۲۲ میکرومتری) فیلتراسیون شدند.

پس از تهیه عصاره از هر یک از بخش‌ها، عصاره مورد نظر به پتری‌های شیشه‌ای استریل منتقل و به مدت ۴۸ ساعت در انکوباتور و دمای ۳۷ درجه سانتیگراد گرماگذاری شدند. وزن عصاره‌های خشک شده به دقت اندازه‌گیری شد و به میکروتیوب‌های ۱/۵ میلی‌لیتری استریل منتقل گردید. جهت تهیه عصاره نهائی با غلظت‌های مورد نظر، حجم مناسبی از آب مقطر دیونیزه استریل به هر یک میکروتیوب‌های مورد نظر اضافه گردید. میکروتیوب‌های حاوی عصاره در شرایط تاریکی و دمای ۴ درجه سانتیگراد نگهداری شدند.

به منظور بررسی اثر آنتی بیوتیکی عصاره بخشش‌های مختلف، از ۴ پاتوژن باکتریایی مولد بیماری‌های گیاهی استفاده شد. چهار باکتری گیاهی مورد مطالعه (زانتاموناس[۲] پکتوباکتریوم[۳] سودوموناس[۴]و اروینیا[۵] از مرکز ذخائر ژنتیکی ایران تهیه شدند. به منظور کشت اولیه و تهیه تک کلون‌ها از هر یک از باکتری‌ها، از محیط کشت LB جامد استفاده شد. هر یک از باکتری‌ها به صورت خطی کشت شد و سپس نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور و دمای ۲۸ درجه سانتیگراد قرار داده شدند. تک کلنی‌های

---

۱ Round Per Minute
۲ *Xanthomonas campestris*
۳ *Pectobacterium aroidearum*
۴ *Pseudomonas aeruginosa*
۵ *Erwinia amylovora*

بدست آمده از کشت خطی در میکروتیوب‌های ۲ میلی لیتری حاوی ۱ میلی لیتر محیط کشتLB به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۸ درجه سانتیگراد کشت داده شده و پس از رشد مناسب باکتری‌ها، حجم باقی مانده میکروتیوپ‌ها با اضافه کردن گلیسرول ۸۰ درصد استریل پر شد. به منظور نگهداری باکتری‌های کشت شده، نمونه ها در فریزر با دمای ۲۰ – درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

به منظور تعیین حداقل غلظت بازدارندگی رشد باکتری‌های مورد مطالعه (MIC) ابتدا غلظت‌های مختلفی از عصاره هر بخش گیاه شقایق شامل ۵۰ الی ۱۰۰۰ میکروگرم در میلی‌لیترتهیه شد. از باکتری‌های مورد مطالعه رقتی برابر با ۱×۱۰^{۸} باکتری تهیه شد. تعداد ۲۰ میکروتیوب دو میلی‌لیتری تهیه و به هر کدام ۱۰۰۰ میکرولیتر از محیط کشت LB مایع با غلظت دو برابر اضافه گردید. به ۱۹ میکروتیوب آماده شده مقدار ۱۰ میکرولیتر از سوسپانسیون هر یک از باکتری‌های مورد مطالعه اضافه گردید. سپس به ۱۸ میکروتیوب مقادیر مختلفی ۱۰۰ میکرولیتر از غلظت‌های عصاره تهیه شده هر یک از اجزای دو گیاه داروئی اضافه گردید. مقادیر غلظت عصاره با افزایش ۵۰ میکروگرم در نظر گرفته شد به طوری که میکروتیوب شماره یک دارای ۱۰۰ میکروگرم و میکروتیوب شماره ۱۹ فاقد عصاره بود. میکروتیوب شماره ۲۰ نیز به عنوان کنترل منفی در نظر گرفته شد و فاقد باکتری و عصاره بود.

نمونه‌ها پس از تهیه به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۸ درجه سانتیگراد گرماگذاری شدند. پس از ۲۴ ساعت مقادیر جذب در طول موج ۶۰۰ نانومتر تمام نمونه‌ها اندازه‌گیری شد. میکروتیوب با حداقل میزان رشد (جذب) نسبت به میکروتیوب شماره ۱۹ (حداکثر رشد و کدورت) به عنوان حداقل غلظت بازدارندگی رشد باکتری در نظر گرفته شد. برای تمام باکتری‌ها و عصاره‌های مختلف آزمون مورد نظر بالا به اجرا درآمد. علاوه‌براین از آنتی‌بیوتیک جنتامایسین به عنوان کنترل مثبت استفاده شد.

پس از تعیین MIC، جهت تعیین حداقل غلظت کشندگی باکتری‌های مورد مطالعه (MBC[۲]) مقدار ۵ میکرولیتر از میکروتیوب‌هایی که به عنوان حداقل غلظت بازدارندگی تعیین شده بود به همراه دو لوله پائین‌تر و بالاتر بر روی پتری‌هایی حاوی محیط کشت LB جامد (دارای ۱۰ گرم در لیتر آگار) کشت داده شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد گرماگذاری شد. سپس پتری‌هایی که در آن‌ها باکتری رشد نکرده بود و فاقد کلنی بود به عنوان حداقل غلظت کشندگی در نظر گرفته شدند (۱).

پس از تعیین مقادیر حداقل غلظت کشندگی عصاره بخش‌های مختلف، از روش انتشار دیسک[۳]و اندازه‌گیری قطر هاله عدم رشد اثرات ضد باکتریایی عصاره‌ها مشخص شد. برای این منظور ابتدا برای هر باکتری به صورت چمنی بر روی سه پتری ۱۰ سانتیمتری بر روی محیط کشت جامد LB کشت داده شد. هر پتری حاوی ۵ دیسک (پادتن طب، ایران) با قطر ۶ میلیمتر بود که به هر یک از پلیت‌ها عصاره از بخش‌های مختلف اضافه شد. دیسک شماره ۶ به عنوان کنترل منفی و حاوی حلال عصاره‌ها (آب مقطر دیونیزه) در نظر گرفته شد. از دیسک‌های تجاری حاوی ۱۰ میکروگرم آنتی‌بیوتیک جنتامایسین (پادتن طب، ایران) به عنوان کنترل مثبت استفاده گردید. پتری‌های کشت داده شده در دمای ۲۸ درجه در انکوباتور قرار داده شدند. بعد از ۲۴ ساعت، قطر هاله‌های عدم رشد با استفاده از خط‌کش و بر حسب میلیمتر اندازه‌گیری شدند.

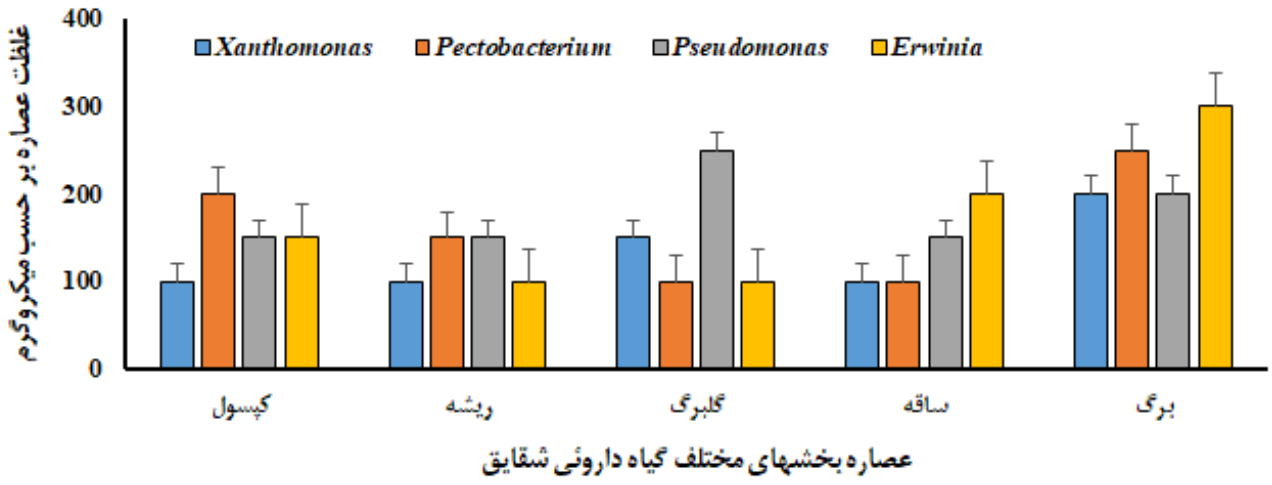
---

۱ Minimum Inhibitory Concentration
۲ Minimum Bactericidal Concentration
۳ Disk diffusion

به منظور تعیین اثر هر یک از عصاره‌ها بر روی باکتری‌های مورد مطالعه، تجزیه واریانس بر پایه طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار مورد ارزیابی قرار گرفت و مقایسات میانگین با استفاده از آزمون LSD در سطح ۵ درصد انجام گرفت. جهت تجزیه آماری از نرم افزار SAS استفاده شد و نهایتاً نمودارهای مربوط به هر بخش توسط نرم‌افزار Excel رسم شد.

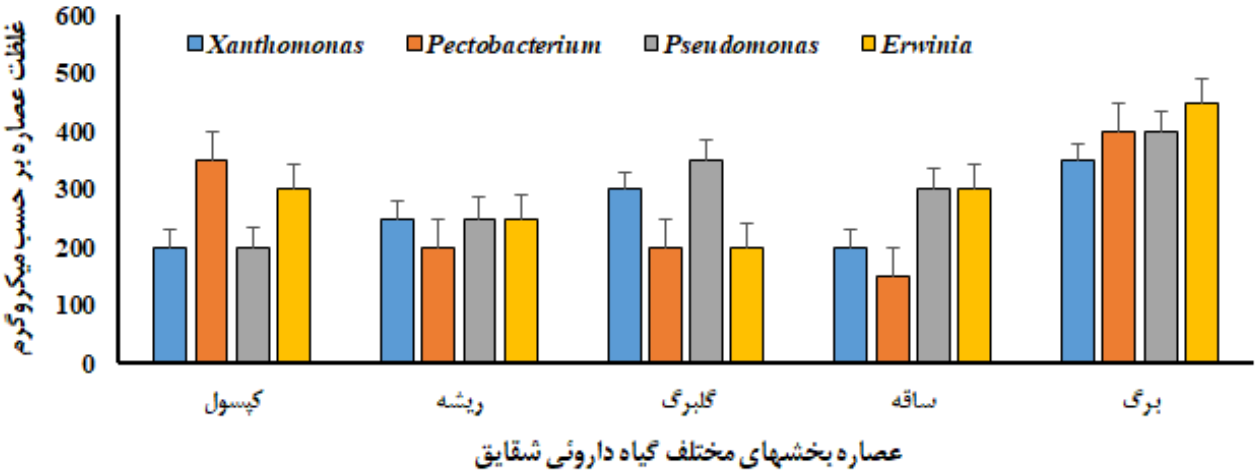
۳.نتایج و بحث

نتایج آزمون حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) نشان داد که بیشترین اثر بازدارنده مربوط به عصاره الکی ریشه و گلبرگ با .. میکروگرم در میلی لیتر بر روی باکتری اروینیا بود. اثر بازدارندگی عصاره ساقه و عصاره کپسول نیز بر روی باکتری زانتاموناس... میکروگرم در میلی‌لیتر بود. کمترین اثر بازدارندگی نیز به عصاره برگ بر روی هر چهار باکتری مورد مطالعه تعلق داشت (شکل ۱).



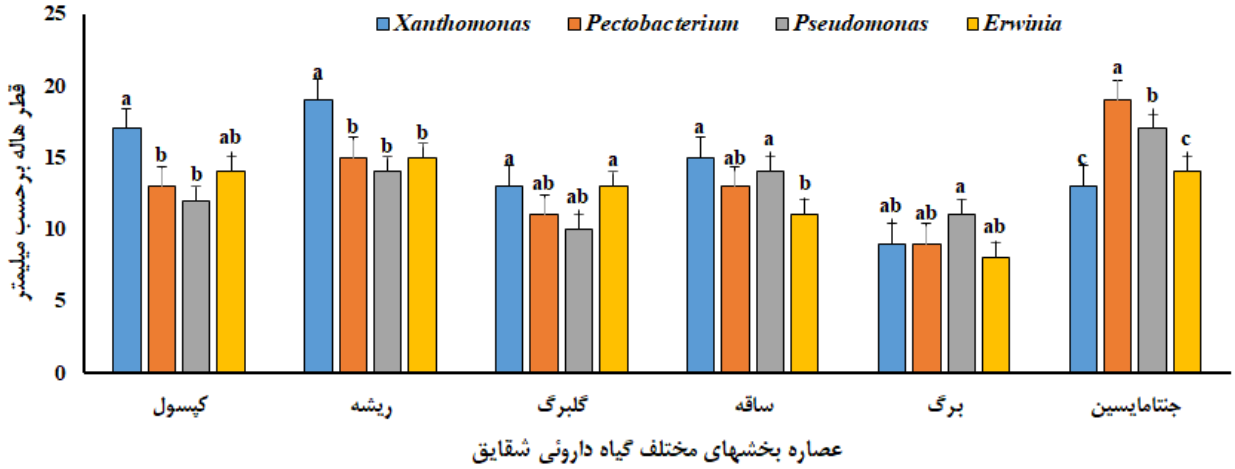
شکل ۱-نتایج آزمون حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) عصاره بخش‌های مختلف گیاه داروئی شقایق بر باکتری های بیماری‌زای گیاهی

نتایج آزمون حداقل غلظت کشندگی (MBC) بر روی چهار باکتری مورد مطالعه با استفاده از عصاره بخش‌های مختلف شقایق وحشی نشان داد که بیشترین اثر کشندگی به عصاره الکی گلبرگ با .. میکروگرم در میلی لیتر بر روی باکتری اروینیا تعلق داشت. اثر کشندگی عصاره کپسول نیز بر روی باکتری زانتاموناس و سودوموناس ... میکروگرم در میلی‌لیتر بود. کمترین اثر کشندگی نیز به عصاره برگ بر روی هر چهار باکتری مورد مطالعه تعلق داشت (شکل ۲). به طور کلی نتایج نشان داد که مقاومت باکتری پکتوباکتریوم نسبت به عصاره بخش‌های مختلف نسبت به سایر باکتری‌های مورود مطالعه بیشتر بود.



شکل ۲-نتایج آزمون حداقل غلظت کشندگی (MBC) عصاره بخش‌های مختلف گیاه دارویی شقایق بر باکتری های بیماری‌زای گیاهی

نتایج آزمون انتشار دیسک نشان داد که عصاره ریشه و کپسول در مقایسه با سایر عصاره‌ها از اثر مهاری بیشتری بر روی باکتری‌های مورد مطالعه داشت ضمن اینکه هاله تشکیل شده در باکتری اروینیا با استفاده از عصاره ریشه از اثر مهاری آنتی بیوتیک جنتامایسین بیشتر بود (شکل ۳ و ۴). به طوریکه قطر هاله تشکیل شده توسط عصاره ریشه در باکتری اروینیا .. میلیمتر و در آنتی‌بیوتیک جنتامایسین ... میلیمتر بود. در مجموع بیشترین اثر مهاری عصاره‌های مورد مطالعه به باکتری زانتاموناس تعلق داشت و اختلاف مشاهده شده از نظر آماری معنی‌دار بود (شکل ۳).



شکل ۳-نتایج اثرات ضد میکروبی عصاره بخش‌های مختلف گیاه دارویی شقایق وحشی بر روی باکتری‌های بیماری‌زای گیاهی (در هر بخش، ستون‌هایی با حروف مشترک در سطح ۵ درصد معنی‌دار نیستند).

شکل ٤-اثرات ضد میکروبی عصاره بخش‌های مختلف گیاه داروئی شقایق بر روی باکتری های بیماری‌زای گیاهی

براساس مطالعات گذشته، ریشه و کپسول گیاه داروئی شقایق وحشی از نظر محتوی آلکالوئیدی و ترکیات پلی فنولی نسبت به سایر بخش‌های این گیاه غنی‌تر بوده و یکی از دلایل اصلی اثر مهاری و کشندگی بیشتر عصاره ریشه و کپسول در این مطالعه را می‌توان به این دلیل دانست (۶). مطالعات گذشته نشان داده که اثرات ضد میکروبی عصاره گیاهان داروئی علاوه بر نوع و محتوی متابولیتی آنها، به نوع باکتری بستگی دارد (۱۵).

کوبان و همکاران (۵) در مطالعه بررسی اثرات ضد میکروبی عصاره متانولی و آلکالوئیدهای گیاه داروئی شقایق وحشی بر روی ۶ سویه مختلف باکتری گرم منفی و گرم مثبت و همچنین ۳ سویه قارچ نشان دادند که آلکالوئیدهای موجود در عصاره گیاه داروئی شقایق اثر ضد میکروبی قابل توجهی بر هر دو گروه باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی دارند. در مطالعه آنان مشخص شد که باکتری‌های گرم مثبت مقاومت کمتری نسبت به مقادیر عصاره مورد استفاده نشان می‌دهند.

اسماعیلی و همکاران (۷) در مطالعه‌ای آلکالوئیدهای گونه‌های مختلف شقایق را استخراج و اثرات آنتی‌بیوتیکی آنها را بر علیه باکتری گرم مثبت و گرم منفی و کاندیدا آلبیکنس مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج مطالعه آنها نشان داد که عصاره‌های آلکالوئیدی گیاهان مورد آزمایش بر روی پاتوژن‌های قارچی و باکتریایی مؤثر هستند. تمام عصاره‌های آلکالوئیدی گیاهی نسبت به پاتوژن‌های باکتریایی اثر بازدارندگی بیشتری در برابر پاتوژن قارچی نشان دادند. مقایسه مقادیر MIC و MBC برای پاتوژن‌های باکتریایی نشان داد که تمام عصاره‌های استخراج شده برای باکتری‌های گرم منفی نسبت به باکتریایی گرم مثبت اثرات بازدارندگی بیشتری نشان دادند.

در مطالعه آنسال و همکاران (۱۶)، که بر روی اثرات ضد باکتریائی صاره بخش‌های هوایی چهار گونه مختلف خانواده Papaveraceae انجام گرفت، مشخص شده که اثرات ضد میکروبی مشاهده شده در باکتری‌های گرم منفی نسبت به باکتری‌های گرم مثبت بیشتر است.

۴. نتیجه‌گیری

در مطالعه حاضر، عصاره‌های آلکالوئیدی بخش‌های مختلف شقایق وحشی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها فعالیت بازدارندگی کمتری داشت و بیشتر عصاره‌ها فعالیت ضد میکروبی خود را در غلظت‌های بالایی نشان دادند که ممکن است به دلیل غلظت کم ترکیبات ضد میکروبی در این عصاره‌ها باشد. با استفاده از روش‌های مختلف جداسازی و خالص‌سازی، می‌توان ترکیبات ضد میکروبی مختلف را از این عصاره‌ها جدا و خالص کرد و برای سنجش‌های ضد میکروبی استفاده کرد. ترکیبات ضد میکروبی در بسیاری از گیاهان دارویی وجود دارد. با استفاده از روش های مختلف می‌توان این ترکیبات را استخراج و خالص کرد و به صنایع داروسازی و تولید سموم کشاورزی و آفت کش‌ها معرفی کرد. برای این منظور ترکیبات ضد میکروبی موجود در گیاه داروئی شقایق وحشی کاندیدای مناسبی برای این هدف می‌باشد. به طور کلی نتایج این مطالعه نشان داد که از ترکیب ضد میکروبی موجود در گیاه داروئی شقایق وحشی می‌توان در مبارزه با بیماری‌های باکتریائی گیاهی استفاده کرد.

۱۲. مراجع

۱. Adesino, G.O., Jibo, S., Aggu, V.E., and Ehinmidu, J.O. Antibacterial activity of fresh juices of *Allium cepa* and *Zingiber ofiicinale* against multidrug resistant bacteria. International Journal of Pharmacological and Biological Science, 2011, 2: pp. 289–295.

۲. Al-Snafi, A. E. Medicinal plants with antimicrobial activities (part 2): Plant based review. Scholars Academic Journal of Pharmacy, 2016, 5 (6): pp. 208-239.

۳. Chen, S.-L.; Yu, H.; Luo, H.-M.; Wu, Q.; Li, C.-F.; and Steinmetz, A.; "Conservation and sustainable use of medicinal plants: problems, progress, and prospects", *Chinese Medicine*, 2016, 11: pp. 37-51.

٤. Chetan, P.; "Medicinal And Aromatic Plants (maps): A Mini-review", 2013.

٥. Çoban, I., Toplan, G. G., Özbek, B., Gürer, Ç. U., and Sariyar, G. Variation of alkaloid contents and antimicrobial activities of Papaver rhoeas L. growing in Turkey and northern Cyprus. Pharm. Biol, 2017, ٥٥: pp. ١٨٩٤–١٨٩٨.

٦. Grauso, L., de Falco, B., Motti, R., and Lanzotti, V. Corn poppy, *Papaver rhoeas* L.: a critical review of its botany, phytochemistry and pharmacology. Phtochemical Review, 2020, doi.org/10.1007/s11101-020-09676-7.

۷. Ismaili, A., Sohrabi, S.M., Azadpour, M., Heydari, R., and Rashidipour, M. Evaluation of the Antimicrobial Activity of Alkaloid Extracts of Four *Papaver* Species. Herbal Medicines Journal. 2018, 2(4): pp. 146-52.

۸. Kumar, J. and Gupta, P.K.; "Molecular approaches for improvement of medicinal and aromatic plants", *Plant Biotechnology Reports*, 2008, 2: pp. 93-112.

۹. Li, X., Xu, H., Chen, Z.S., and Chen, G. (2011). Biosynthesis of nanoparticles by microorganisms and their applications. *Journal of Nanomaterials*, DOI:10.1155/2011/270974.

۱۰. Minami, H.; Kim, J.-S.; Ikezawa, N.; Takemura, T.; Katayama, T.; Kumagai, H. and Sato, F.; "Microbial production of plant benzylisoquinoline alkaloids", *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2008, 105: pp. 7393-7398.

۱۱. Othman, l., Sleiman, a., and Abdel-Massih, RM. Antimicrobial activity of polyphenols and alkaloids in Middle East plants. Frontiers in Microbiology, 2019, doi.org/10.3389/fmicb.2019.00911.

۱۲. Savoia, D. Plant-derived antimicrobial compounds: alternatives to antibiotics. *Future Microbiol*, 2014, ۷(۸): □□. ۹۷۹–۹۹۰.

١٣. Shahid, M.; Shahzad, A.; Malik, A. and Sahai, A.; "*Recent Trends in Biotechnology and Therapeutic Applications of Medicinal Plants*", Springer, 2013.
١٤. Sharafzadeh, S.; and Alizadeh, O.; "Some Medicinal Plants Cultivated in Iran", *Medicinal Plant*, 2012, 34: 99. 156-167.
١٥. Silva, N. C. C., and Fernandes, J. Biological properties of medicinal plants: a review of their antimicrobial activity. *The Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases*, 2010, 16 (3): pp. 402-٤١٣.
١٦. Ünsal Ç, Sarıyar G, Akarsu BG, Çevikbaş A. Antimicrobial Activity and Phytochemical Studies on Turkish Samples of *Papaver* macrostomum. Pharmaceutical biology. 2007, 45(8): PP. 626-30.