

بررسی خواص ضد میکروبی عصارهٔ بخش‌های گیاه گزنهٔ دوپایه (*urtica dioica* L.)

دکتر احمد مجد^۱، دکتر صدیقه مهربان^۲ و زهرهٔ جعفری^۳

چکیده

در این پژوهش خواص ضد میکروبی عصاره‌های اتانلی ۸۰٪ و آبی گیاه گزنهٔ دوپایه *urtica dioica* ۴ باکتری و یک قارچ آلوده‌کننده محیط‌های کشت و بیماریزای انسانی با استفاده از روش‌های متداول میکروبیولوژی و با بکارگیری محیط‌های کشت مولر - هیتون آگار و ساب‌وودکستروز آگار با روش ایجاد چاهک و روش تمام ظرف و سنجش قطر هاله عدم رشد انجام شد. عصاره‌های اتانلی ۸۰٪ بخش‌های مختلف این گیاه بر باکتریهای *Pseudomonas aeruginosa* *Bacillus subtilis*، *Staphylococcus aureus*، *E. coli* و قارچ *Candida albicans* دارای اثر میکروب‌کشی بودند. در میان عصاره‌ها، عصارهٔ بذر گزنه دارای بیشترین اثر ضد باکتریایی بر روی باکتریهای گرم مثبت بود، عصارهٔ برگ گیاه مذکور بر باکتریهای گرم منفی دارای بیشترین تأثیر بازدارندگی بود و بالاخره عصارهٔ گل گزنه دارای بیشترین خاصیت ضد قارچی بود.

عصاره‌های آبی بخش‌های مختلف گیاه گزنه بر روی بازدارندگی رشد همهٔ میکروارگانیسم‌های فوق به جز پسودوموناس آتروژینوزا تأثیر مثبت داشت.

واژه‌های کلیدی: گزنهٔ دوپایه، روش پورپلیت، روش سنجش قطر هاله عدم رشد

۱- استاد گروه زیست‌شناسی دانشکده علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال

۲- دانشیار گروه زیست‌شناسی دانشکده علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال

۳- دانشجوی گروه زیست‌شناسی دانشکده علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم تحقیقات

مقدمه

گیاه گزنه از خانواده *urticaceae* در طب سنتی ایران مورد استفاده زیادی داشته و در مواردی از جمله در درمان اگزما، آفت دهان، عفونتهای پوستی، گوارشی و تنفسی از زمان جالینوس حکیم و ابوریحان بیرونی مورد استفاده بوده است و اخیراً نیز تحقیقات زیادی در مورد اثرات ضد سرطانی این گیاه انجام شده است.

هدف

بررسی اثرات ضد میکروبی عصاره‌های اندامهای مختلف این گیاهان بر باکتریها و قارچ آلوده‌کننده محیط‌های کشت گیاهی و یا بیماریزای انسانی و تعیین اینکه کدام اندام دارای خواص ضد میکروبی بیشتر بوده تا بتوان از این امر در تهیه داروهای گیاهی بهره جست.

مواد و روشها

میکروارگانیسیمهای مورد استفاده شامل استافیلوکوکوس اورئوس، اشیریشیا کلی، پseudomonas آئروژینوزا، باسیلوس سوبتیلیس و کاندیدا آلبیکانس بودند. این میکروارگانیسیمها از آزمایشگاه محمودیه وابسته به دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال تهیه گردید و نمونه‌های فوق با تأیید کارشناسان گروه میکروبیولوژی این مرکز و تهیه لام و واکستهای مختلف جهت تأیید خالص بودن آنها مورد استفاده قرار گرفت. گیاه مورد استفاده از شمال کشور و نیز از شهر تهران جمع‌آوری و خشک شده، به صورت پودر درآورده شد و با روش تندالیزاسیون استریل گردید. عصاره‌های آبی و اتانولی (۸۰٪) با روش خیساندن (maceration) از بخشهای مختلف رویشی و زایشی گیاه تهیه شد. (مجدد، تجدد، ۱۳۷۷).

بررسی اثر ضد میکروبی عصاره‌ها با دو روش انتشار (چاهک) و سنجش قطر هاله عدم رشد و نیز به روش اضافه نمودن عصاره به محیط کشت (*pour plate*) بر روی محیط‌های کشت مولر هیتون آگار و نوترین برات برای نمونه‌های باکتری و محیط کشت ساپرو دکستروز آگار و ساپرو دکستروز برات بری نمونه قارچ انجام شد. این دو روش به این صورت انجام شدند:

الف) روش حفر چاهک (روش انتشار) در محیط جامد

برای این منظور در مناطقی از محیط کشت که باکتری کشت داده شده است، چاهک‌هایی با قطر ۶۸ میلی‌متر به وسیله انتهای پیت پاستور ایجاد کرده و بعد انتهای حفره را به وسیله یک قطره محیط کشت مذاب (یا ۱ قطره آگار - آگار مذاب) و استریل مسدود می‌کنیم. درون هر حفره با میکروسپلر (یا با سرنگ انسولینی) حدود ۱۵۰ میکرولیتر عصاره گیاهی اضافه می‌نماییم. چون عصاره مورد استفاده الکلی است چاهکی نیز به وسیله الکل ۸۰ درصد به عنوان شاهد در نظر می‌گیریم. در مورد عصاره‌های آبی نیز همین کار را تکرار می‌کنیم، با این تفاوت که از آب به عنوان شاهد استفاده نمی‌کنیم زیرا آب اثر ضد میکروبی ندارد. (بهتر است در حین کار در کنار شعله گاز باشیم و همچنین از دود اسپند در صورت عدم امکان استفاده از هود برای ضد عفونی کردن محیط، بهره بگیریم).

بعد از ۲۴ ساعت قطر هاله عدم رشد را در اطراف هر چاله با کولیس یا خط کش به دقت اندازه گرفته و با هم مقایسه می‌کنیم.

ب) روش *pour plate*

ابتدا باکتری یا قارچ مورد نظر را در محیط مایع کشت داده و آن را ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتیگراد قرار می‌دهیم. بعد بوسیله میکروسپلر ۲۵ یا سوپ استریل

(در حدود ۲ قطره) در ۳ لوله جداگانه که حاوی محیط مایع نوترین برات به مقدار ۹ سی سی می باشند، به ترتیب رقت را پایین می آوریم. این محیط مایع را ابتدا با شاهد شماره ۲ مک فارلند مقایسه کرده و رقت درست می کنیم تا تعداد کلنی روی محیط کشت جامد به حدود ۳۰۰ عدد برسد. در نهایت از لوله آخری روی پلیتی که از قبل روی آن ۱cc از عصاره مورد نظر را ریخته و گذاشته ایم که الکل یا آب آن تبخیر شود، در کنار شعله و در یک محیط استریل کشت می دهیم. یک پلیت را نیز به عنوان شاهد الکی (شاهد مثبت) و یک پلیت را بدون عصاره (شاهد -) کشت می دهیم. بعد از ۲۴ ساعت تعداد در کلنی های تشکیل شده را شمرده و با شاهد مقایسه می کنیم.

نتایج آماری

برای محاسبات آماری از نرم افزارهای کامپیوتری SPSS نسخه ۱۰ و Excel 2000 استفاده شد. از نرم افزار SPSS برای آنالیز داده ها و از نرم افزار Excel برای رسم نمودار استفاده شد و روش آماری مورد استفاده آنالیز واریانس یک عاملی (one-way ANOVA) بود.

نتایج آماری خواص ضد میکروبی

نتایج آماری تأثیر ضدباکتریایی عصاره الکی ۸۰٪ گزنه دوپایه در مراحل مختلف رویشی بر روی میکروبهای مورد آزمایش در روش چاهک:

تفسیر نمودار ۱

نتایج آماری در مورد باکتری باسیلوس سوبتیلیس

- تفاوت بین میانگین های قطر هاله عدم رشد در مورد عصاره های الکی برگ و ریشه نسبت به شاهد معنی دار نبودند، اما قطر هاله عدم رشد عصاره های الکی آنها

بیشتر از شاهد بود و روند افزایش قطر هاله عدم رشد ناشی از عصاره الکلی آنها بر باکتری باسیلوس سوبتیلیس نسبت به قطر هاله عدم رشد شاهد تفاوت معنی داری در $P < 0/05$ مشاهده نشد.

- تفاوت بین میانگین‌های قطر هاله عدم رشد در مورد عصاره‌های الکلی گل و ساقه نسبت به شاهد (با روند افزایشی) معنی دار بودند و روند افزایش قطر هاله عدم رشد ناشی از عصاره‌های الکلی آنها (روند افزایش) بر روی باکتری باسیلوس سوبتیلیس نسبت به قطر هاله عدم رشد شاهد تفاوت معنی داری در $P < 0/05$ مشاهده شد.

- تفاوت بین میانگین‌های قطر هاله عدم رشد در مورد عصاره الکلی بذر نسبت به شاهد در $P < 0/05$ معنی دار نبود اما قطر هاله عدم رشد عصاره الکلی بذر بیشتر از شاهد بود و روند افزایش قطر هاله عدم رشد ناشی از عصاره الکلی بذر بر باکتری باسیلوس سوبتیلیس از بیشترین مقدار خود نسبت به سایر اندام برخوردار بود.

نتایج آماری در مورد باکتری استافیلوکوکوس اورئوس

- تفاوت بین میانگین‌های قطر هاله عدم رشد در مورد عصاره‌های الکلی برگ، ریشه، گل و ساقه نسبت به شاهد معنی دار نبودند، اما قطر هاله عدم رشد عصاره‌های الکلی آنها بیشتر از شاهد بود و روند افزایش قطر هاله عدم رشد ناشی از عصاره‌های الکلی آنها بر باکتری استافیلوکوکوس اورئوس نسبت به قطر هاله عدم رشد شاهد تفاوت معنی داری در $P < 0/05$ مشاهده نشد.

- تفاوت بین میانگین‌های قطر هاله عدم رشد در مورد عصاره الکلی بذر نسبت به شاهد در $P < 0/05$ معنی دار نبود، اما قطر هاله عدم رشد عصاره الکلی بذر بیشتر از شاهد بود و روند افزایش قطر هاله عدم رشد ناشی از عصاره الکلی بذر بر باکتری استافیلوکوکوس اورئوس از بیشترین مقدار خود نسبت به سایر اندام برخوردار بود.

نتایج آماری در مورد باکتری پseudomonas آئروژینوزا

- تفاوت بین میانگین‌های قطر هاله عدم رشد در مورد عصاره الکلی برگ نسبت به عصاره الکلی ساقه معنی‌دار نبود، اما قطر هاله عدم رشد عصاره الکلی برگ بیشتر از قطر هاله عدم رشد ساقه بود و روند افزایش قطر هاله عدم رشد ناشی از عصاره الکلی برگ بر باکتری پseudomonas آئروژینوزا نسبت به قطر هاله عدم رشد ساقه تفاوت معنی‌داری در $P < 0/05$ مشاهده نشد. روند افزایش قطر هاله عدم رشد ناشی از عصاره الکلی برگ بر باکتری پseudomonas آئروژینوزا از بالاترین مقدار خود نسبت به سایر اندام برخوردار بود.

- تفاوت بین میانگین‌های قطر هاله عدم رشد در مورد عصاره الکلی ریشه نسبت به شاهد معنی‌دار نبود و روند افزایش قطر هاله عدم رشد ناشی از عصاره الکلی ریشه بر باکتری پseudomonas آئروژینوزا نسبت به قطر هاله عدم رشد شاهد تفاوت معنی‌داری در $P < 0/05$ مشاهده نشد.

- تفاوت بین میانگین‌های قطر هاله عدم رشد در مورد عصاره‌های الکلی گل، بذر و ساقه نسبت به شاهد معنی‌دار نبود، اما قطر هاله عدم رشد عصاره‌های الکلی آنها بیشتر از شاهد بود و روند افزایش قطر هاله عدم رشد ناشی از عصاره‌های الکلی آنها بر باکتری پseudomonas آئروژینوزا نسبت به قطر هاله عدم رشد شاهد تفاوت معنی‌داری در $P < 0/05$ مشاهده نشد.

نتایج آماری در مورد باکتری اش‌ریشیاکلی

- تفاوت بین میانگین‌های قطر هاله عدم رشد در مورد عصاره الکلی برگ نسبت به عصاره الکلی ساقه معنی‌دار نبود، اما قطر هاله عدم رشد عصاره الکلی برگ بیشتر از ساقه بود و روند افزایش قطر هاله عدم رشد ناشی از عصاره الکلی برگ بر باکتری اش‌ریشیاکلی نسبت به قطر هاله عدم رشد عصاره الکلی ساقه تفاوت معنی‌داری در

$P < 0/05$ مشاهده نشد. روند افزایش قطر هاله عدم رشد ناشی از عصاره الکلی برگ بر باکتری اشیریشیاکلی از بیشترین مقدار خود نسبت به سایر اندام برخوردار بود.

- تفاوت بین میانگین‌های قطر هاله عدم رشد در مورد عصاره‌های الکلی ریشه، بذر و ساقه نسبت به شاهد معنی‌دار نبود، اما قطر هاله عدم رشد عصاره‌های الکلی آنها بیشتر از شاهد بود و روند افزایش قطر هاله عدم رشد ناشی از عصاره‌های الکلی آنها بر باکتری اشیریشیاکلی نسبت به قطر هاله عدم رشد شاهد تفاوت معنی‌داری در $P < 0/05$ مشاهده نشد.

- تفاوت بین میانگین‌های قطر هاله عدم رشد در مورد عصاره الکلی گل نسبت به شاهد معنی‌دار نبود و روند افزایش قطر هاله عدم رشد ناشی از عصاره الکلی گل بر باکتری اشیریشیاکلی نسبت به قطر هاله عدم رشد شاهد تفاوت معنی‌داری در $P < 0/05$ مشاهده نشد.

نتایج آماری در مورد قارچ کاندیدا آلبیکانس

- تفاوت بین میانگین‌های قطر هاله عدم رشد در مورد عصاره الکلی گل نسبت به شاهد معنی‌دار بود و قطر هاله عدم رشد عصاره الکلی گل بیشتر از شاهد بود و روند افزایش قطر هاله عدم رشد ناشی از عصاره الکلی گل بر روی مورد قارچ کاندیدا آلبیکانس نسبت به قطر هاله عدم رشد شاهد تفاوت معنی‌داری در $P < 0/05$ مشاهده شد.

نتایج آماری تأثیر ضدباکتریایی عصاره آبی گزنه دویپایه در مراحل مختلف رویشی بر روی میکروبه‌های مورد آزمایش در روش چاهک:

تفسیر نمودار ۲

نتایج آماری در مورد باکتری باسیلوس سوبتیلیس و استافیلوکوکوس اورئوس

- تنها تفاوت بین میانگین‌های قطر هاله عدم رشد در مورد عصاره الکلی بذر نسبت به شاهد (با روند افزایشی) در $P < 0/05$ معنی‌دار بود و سایر اندامها فاقد اثر ضد میکروبی بودند.

نتایج آماری در مورد باکتری پسودوموناس آئروژینوزا

- هیچ یک از اندامها واجد اثر ضد میکروبی نبودند و روند افزایش قطر هاله عدم رشد ناشی از اثر عصاره اندامهای مختلف بر روی باکتری پسودوموناس آئروژینوزا تأثیری مشاهده نشد.

نتایج آماری در مورد باکتری اشیشیاکلی

- تفاوت بین میانگین‌های قطر هاله عدم رشد در مورد عصاره آبی برگ نسبت به عصاره آبی بذر معنی‌دار نبود، اما قطر هاله عدم رشد عصاره آبی برگ بیشتر از بذر بود و روند افزایش قطر هاله عدم رشد ناشی از عصاره آبی برگ بر باکتری اشیشیاکلی نسبت به قطر هاله عدم رشد عصاره آبی بذر تفاوت معنی‌داری در $P < 0/05$ مشاهده نشد. روند افزایش قطر هاله عدم رشد ناشی از عصاره آبی برگ بر باکتری اشیشیاکلی از بیشترین مقدار خود نسبت به سایر اندام برخوردار بود.

- تفاوت بین میانگین‌های قطر هاله عدم رشد در مورد عصاره‌های آبی بذر، گل و ساقه نسبت به عصاره آبی ریشه معنی‌دار نبود، اما قطر هاله عدم رشد عصاره‌های آبی آنها بیشتر از ریشه بوده و روند افزایش قطر هاله عدم رشد ناشی از عصاره‌های آبی آنها بر باکتری اشیشیاکلی نسبت به قطر هاله عدم رشد عصاره آبی ریشه تفاوت معنی‌داری در $P < 0/05$ مشاهده نشد.

نتایج آماری در مورد قارچ کاندیدا آلبیکانس

- تفاوت بین میانگین‌های قطر هاله عدم رشد در مورد عصاره آبی برگ نسبت به عصاره آبی ریشه و در مورد عصاره آبی ساقه (روند کاهش) نسبت به عصاره آبی بذر (روند افزایش) معنی دار نبود، اما قطر هاله عدم رشد عصاره آبی برگ بیشتر از ریشه و ساقه بیشتر از بذر بوده و روند افزایش قطر هاله عدم رشد در هر دو مورد تفاوت معنی داری در $P < 0/05$ مشاهده نشد

- تفاوت بین میانگین‌های قطر هاله عدم رشد در مورد عصاره آبی گل نسبت به عصاره آبی برگ معنی دار نبود، اما قطر هاله عدم رشد عصاره آبی گل بیشتر از برگ بود و روند افزایش قطر هاله عدم رشد ناشی از عصاره آبی گل بر روی قارچ کاندیدا آلبیکانس نسبت به قطر هاله عدم رشد عصاره آبی برگ تفاوت معنی داری در $P < 0/05$ مشاهده نشد. روند افزایش قطر هاله عدم رشد ناشی از عصاره آبی گل بر قارچ کاندیدا آلبیکانس از بیشترین مقدار خود نسبت به سایر اندام برخوردار بود

نتایج آماری تأثیر ضدباکتریایی عصاره آبی گزنه دوپایه در مراحل مختلف رویشی بر میکروبهای مورد آزمایش در روش *pour plate*:

با توجه به نمودار ۳

نتایج آماری در مورد باکتری اشریشیا کلی

- تفاوت بین میانگین‌های تعداد کلنی حاصل از پلیت حاوی عصاره آبی برگ (روند کاهش) آلوده به اشریشیا کلی نسبت به شاهد در $P < 0/05$ معنی دار بود به طوری که تعداد کلنی در مورد عصاره برگ کمتر از شاهد بود و به طور کلی این عصاره کمترین تعداد کلنی را داشت.

- تفاوت بین میانگین‌های تعداد کلنی حاصل از پلیت‌های حاوی عصاره‌های آبی ریشه و بذر (روند کاهش) آلوده به اشیریشیا کلی نسبت به شاهد در $P < 0/05$ معنی‌دار بوده به طوری که تعداد کلنی در مورد عصاره‌های آبی ریشه و بذر کمتر از شاهد بودند.

- تفاوت بین میانگین‌های تعداد کلنی حاصل از پلیت‌های حاوی عصاره‌های آبی ساقه و گل (روند افزایش) آلوده به اشیریشیا کلی نسبت به ریشه در $P < 0/05$ معنی‌دار بوده، اما تعداد کلنی در مورد عصاره‌های آبی ساقه و گل بیشتر از ریشه بود.

نتایج آماری در مورد باکتری استافیلوکوکوس اورئوس

- تفاوت بین میانگین‌های تعداد کلنی حاصل از پلیت‌های حاوی عصاره آبی بذر (روند کاهش) آلوده به استافیلوکوکوس اورئوس نسبت به شاهد در $P < 0/05$ معنی‌دار بود به طوری که تعداد کلنی در مورد عصاره بذر کمتر از شاهد بود و به طور کلی این عصاره کمترین تعداد کلنی را داشت.

- تفاوت بین میانگین‌های تعداد کلنی حاصل از پلیت‌های حاوی عصاره آبی ریشه (روند افزایش) آلوده به استافیلوکوکوس اورئوس نسبت به گل در $P < 0/05$ معنی‌دار بود به طوری که تعداد کلنی در مورد عصاره ریشه کمتر از گل بود.

- تفاوت بین میانگین‌های تعداد کلنی حاصل از پلیت‌های حاوی عصاره‌های آبی برگ، گل و ساقه (روند افزایش) آلوده به استافیلوکوکوس اورئوس نسبت به بذر در $P < 0/05$ معنی‌دار بوده به طوری که تعداد کلنی در مورد عصاره بذر کمتر از عصاره‌های آبی برگ، گل و ساقه بود.

نتایج آماری در مورد قارچ کاندیدا آلبیکانس

- تفاوت بین میانگین‌های تعداد کلنی حاصل از پلیت‌های حاوی عصاره آبی گل (روند کاهش) آلوده به کاندیدا آلبیکانس نسبت به شاهد در $P < 0/05$ معنی‌دار بود به

طوری که تعداد کلنی در مورد عصاره گل کمتر از شاهد بود و به طور کلی این عصاره کمترین تعداد کلنی را داشت.

- تفاوت بین میانگین‌های تعداد کلنی حاصل از پلیت‌های حاوی عصاره‌های آبی ریشه، بذر و ساقه آلوده به کاندیدا آلبیکانسن نسبت به برگ (روند کاهش) در $P < 0/05$ معنی‌دار بود به طوری که تعداد کلنی در مورد عصاره برگ کمتر از آنها بود.

نتایج آماری تأثیر ضدباکتریایی عصاره الکلی گزنه دوپایه در مراحل مختلف رویشی بر روی میکروبه‌های مورد آزمایش در روش *pour plate* با توجه به نمودار ۴

نتایج آماری در مورد باکتری اشیریشیاکلی

- تفاوت بین میانگین‌های تعداد کلنی حاصل از پلیت حاوی عصاره الکلی برگ (روند کاهش) آلوده به اشیریشیا کلی نسبت به شاهد در $P < 0/05$ معنی‌دار بود به طوری که تعداد کلنی در مورد عصاره برگ کمتر از شاهد بود و به طور کلی این عصاره کمترین تعداد کلنی را داشت.

- تفاوت بین میانگین‌های تعداد کلنی حاصل از پلیت حاوی عصاره الکلی ریشه (روند کاهش) آلوده به اشیریشیا کلی نسبت به گل در $P < 0/05$ معنی‌دار بود به طوری که تعداد کلنی در مورد عصاره ریشه کمتر از گل بود.

- تفاوت بین میانگین‌های تعداد کلنی حاصل از پلیت حاوی عصاره الکلی ساقه (روند کاهش) آلوده به اشیریشیا کلی نسبت به بذر در $P < 0/05$ معنی‌دار بود به طوری که تعداد کلنی در مورد عصاره ساقه کمتر از بذر بود.

نتایج آماری در مورد باکتری استافیلوکوکوس اورئوس

- تفاوت بین میانگین‌های تعداد کلنی حاصل از پلیت حاوی عصاره الکلی بذر (روند کاهش) آلوده به استافیلوکوکوس اورئوس نسبت به شاهد در $P < 0/05$ معنی‌دار بود به طوری که تعداد کلنی در مورد عصاره بذر کمتر از شاهد بود و به طور کلی این عصاره کمترین تعداد کلنی را داشت.

- تفاوت بین میانگین‌های تعداد کلنی حاصل از پلیت حاوی عصاره الکلی ریشه (روند کاهش) آلوده به استافیلوکوکوس اورئوس نسبت به گل در $P < 0/05$ معنی‌دار بود به طوری که تعداد کلنی در مورد عصاره ریشه کمتر از گل بود.

- تفاوت بین میانگین‌های تعداد کلنی حاصل از پلیت حاوی عصاره الکلی گل (روند کاهش) آلوده به استافیلوکوکوس اورئوس نسبت به ساقه در $P < 0/05$ معنی‌دار بود به طوری که تعداد کلنی در مورد عصاره گل کمتر از ساقه بود.

نتایج آماری در مورد قارچ کاندیدا آلبیکانس

- تفاوت بین میانگین‌های تعداد کلنی حاصل از پلیت حاوی عصاره الکلی گل (روند کاهش) آلوده به کاندیدا آلبیکانس نسبت به شاهد در $P < 0/05$ معنی‌دار بود به طوری که تعداد کلنی در مورد عصاره گل کمتر از شاهد بود و به طور کلی این عصاره کمترین تعداد کلنی را داشت.

- تفاوت بین میانگین‌های تعداد کلنی حاصل از پلیت حاوی عصاره الکلی برگ (روند کاهش) آلوده به کاندیدا آلبیکانس نسبت به شاهد در $P < 0/05$ معنی‌دار بود به طوری که تعداد کلنی در مورد عصاره برگ کمتر از شاهد بود.

- تفاوت بین میانگین‌های تعداد کلنی حاصل از پلیت حاوی عصاره الکلی بذر (روند کاهش) آلوده به کاندیدا آلبیکانس نسبت به ساقه در $P < 0/05$ معنی‌دار بود به طوری که تعداد کلنی در مورد عصاره بذر کمتر از ساقه بود.

- به طور کلی در روش *pour plate* سطح زیر نمودار بیشتر از سطح زیر نمودار در روش چاهک بود و تفاوت‌های بین میانگین‌ها هم معنی‌دار تر بودند، چرا که میزان غلظت عصاره به دلیل افزایش سطح بیشتر بوده است.

با توجه به شکل‌های ۱ تا ۷ نتایج زیر حاصل شد:

- عصاره اندام‌های مختلف گیاه شامل عصاره ریشه، ساقه، برگ، گل و بذر بر باکتری‌های مورد آزمایش اثر ضد باکتری نشان داد. عصاره‌های آبی و الکلی گیاه بر باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس و اشیریشیا کلی اثر ضد میکروبی قوی‌تری داشتند. اثر ضد باکتریایی عصاره الکلی قوی‌تر از عصاره آبی بود.

- به طور کلی در مورد باکتری‌های گرم منفی عصاره برگ دارای بیشترین اثر ضد میکروبی بود:

در مورد باکتری پseudomonas آئروژینوزا فقط عصاره الکلی گیاه گزنه اثر ضد باکتریایی داشت و به ترتیب عصاره الکلی برگ، ساقه، گل، بذر، ریشه در روش چاهک اثر ضد باکتریایی قوی‌تری داشتند.

در مورد باکتری اشیریشیا کلی به ترتیب عصاره الکلی برگ، ساقه، بذر، ریشه، گل و عصاره آبی: برگ، بذر، ریشه، گل و ساقه اثر ضد باکتریایی قوی‌تری داشتند.

در مورد باکتری پseudomonas آئروژینوزا فقط عصاره الکلی گیاه گزنه اثر ضد باکتریایی داشت و به ترتیب عصاره الکلی برگ، ساقه، گل، بذر، ریشه در روش چاهک اثر ضد باکتریایی قوی‌تری داشتند.

در مورد باکتری اشیریشیا کلی در دو روش *pour plate* و چاهک به ترتیب عصاره الکلی برگ، ساقه، بذر، ریشه، گل و عصاره آبی: برگ، بذر، ریشه، گل و ساقه در هر دو روش اثر ضد باکتریایی قوی‌تری داشتند. این نتایج با نتایج سلیمانی ۱۳۵۳ همسویی دارد.

به طور کلی در مورد باکتریهای گرم مثبت عصاره بذر دارای بیشترین اثر ضد میکروبی بود:

- در مورد باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در دو روش *pour plate* (برای عصاره‌های الکلی و آبی) و چاهک (برای عصاره الکلی)، به ترتیب عصاره بذر، ریشه، برگ، گل، ساقه و در مورد روش چاهک (برای عصاره آبی) تنها عصاره بذر دارای بیشترین اثر ضد میکروبی بودند.

در مورد باکتری باسیلوس سوبتیلیس به ترتیب عصاره‌های الکلی بذر، برگ، ساقه، گل، ریشه و تنها عصاره آبی بذر دارای اثر ضد باکتری بودند. این نتایج با نظر مجد-تجدد ۱۳۷۷ همسویی دارد.

- عصاره‌های آبی الکلی اندامهای مختلف گیاه گزنه بر کاندیدا آلبیکانس مؤثر بوده و عصاره گل دارای اثرات ضد قارچی بیشتری بودند. این نتایج با نتایج Gomes و همکاران ۲۰۰۲ و مجد-آبروش ۱۳۸۰ همسویی دارد.

- در مجموع اندامهای مختلف گیاه گزنه دوپایه به ترتیب شامل بذر، برگ، گل، ریشه و ساقه اثرات ضد میکروبی بیشتری داشتند. در طب سنتی نیز خواص درمانی گیاه بیشتر به بذر، برگ ریشه و سپس گل نسبت داده شده است.

بحث

در این پژوهش عصاره الکلی کلیه بخشهای گیاه گزنه بر باکتریهای اشریشیا کلی، باسیلوس سوبتیلیس، استافیلوکوکوس اورئوس، پسودوموناس آئروژینوزا و قارچ کاندیدا آلبیکانس اثر ضد باکتری و ضد قارچی نشان داد (نمودار ۱) و به طور کلی عصاره‌های الکلی دارای اثر ضد باکتریائی قوی تری نسبت به عصاره‌های آبی بودند اما عصاره‌های آبی اثرات بسیار کمی داشته و یا بی اثر بودند. به عنوان مثال عصاره‌های آبی بر باکتری پسودوموناس آئروژینوزا بی اثر بوده و در مورد باکتری باسیلوس سوبتیلیس

و استافیلوکوکوس اورئوس تنها عصاره آبی بذر دارای اثر ضد باکتری بود که با گزارشهای (مجد-میرزائی ۱۳۸۰) همسویی دارد. (نمودار ۲).

سلیمانی در سال ۱۳۵۳ در خصوص اثرات آنتی بیوتیکی گزنه دو پایه این گونه گزارش نمود که: عصاره گزنه دو پایه بر گونه‌های شیگلایارادیسانتتری، استافیلوکوکوس اورئوس اثر ضد باکتریایی داشته است، ولی این عصاره بر اشیشیا کلی، پروتئوس ولگاریس، پسودوموناس آئروژینوزا مؤثر نیست نتایج وی در پژوهش ما برای استافیلوکوکوس اورئوس همسویی دارد، ولی برای اشیشیا کلی ناهمسو است. از طرفی در مورد عصاره آبی عدم اثر ضد باکتری بر روی پسودوموناس آئروژینوزا با نتایج سلیمانی همسو است (نمودار ۱، ۲، ۳ و ۴). علت حساستر بودن باکتریهای گرم مثبت به مواد شیمیایی و عصاره‌های گیاهی اختلاف ساختمانی دیواره می‌باشد. باکتریهای گرم مثبت در ساختمان دیواره دارای ترکیب موکوپتید بوده در صورتی که باکتریهای گرم منفی فقط لایه نازکی موکوپتید دارند و قسمت اعظم ساختمان دیواره در آنها لیپو پروتئین و لیپوبلی ساکارید است به همین علت در مقابل مواد ضد باکتریایی مقاومترند.

مجد - تجدد ۱۳۸۲ اثرات ضد میکروبی بالای اسانس سرخس پرسیاوش را بر باکتری استافیلوکوکوس اورئوس نشان دادند. در این پژوهش نیز ما نشان دادیم که عصاره گزنه بر باکتریهای استافیلوکوکوس اورئوس و اشیشیا کلی دارای بیشترین اثر است. (نمودار ۳ و ۴). اثر ضد باکتریایی عصاره‌های اتانولی ۷ گیاه دارویی از جمله *Urtica dioica* (بخشهای هوایی):، *Cichorium intybus* (ریشه‌ها) را بر روی ۷ باکتری از جمله استافیلوکوکوس اورئوس و اشیشیا کلی بررسی شده است (Kelet و همکاران ۲۰۰۱). آنها اثبات نمودند که تمام عصاره‌های مورد آزمایش اثر ضد میکروبی بر روی استافیلوکوکوس اورئوس نشان دادند (مجد، تجدد ۱۳۷۷). مشاهدات این پژوهشگران مبنی بر اثر عصاره‌ها بر باکتریهای گرم مثبت با مشاهدات ما همسویی دارد.

از طرفی Broekaert. و همکاران در سال ۱۹۸۹ اشاره کردند که کیتین متصل به لکتین در گیاه گزنه دارای اثرات ضد قارچی می‌باشد
(www.Diet Blends-Ingredients).

همچنین Macedo. در سال ۲۰۰۲ اشاره کرد که لکتین دارای اثرات ضد قارچی بر علیه *Fosarum oxyrorum* و *Saccharomyces cerevisiae* می‌باشد.
در سال ۱۹۹۵ Banthorpe و Brown از گیاه *Salvia sclarea* (مریم گلی) دی‌ترینی به نام Sclareol جدا کردند که دارای خاصیت ضد قارچی بر علیه *Alternaria alternata* بوده است. از طرفی Mclean در سال ۱۹۷۰ ترکیبی به نام B-سیتوسترول از بخشهای هوایی گزنه جداسازی نمود که محرک ایمنی می‌باشد. ما نیز می‌توانیم اثرات ضد قارچی این گیاه را به وجود این ترکیب شیمیایی نسبت دهیم. در این پژوهش اثر ضد قارچی عصاره‌های آبی به مراتب بیشتر از اثر ضد باکتریایی آن بود که این امر را با اندازه‌گیری pH محیط و نشان دادن قلیایی بودن عصاره آبی گل، برگ و ریشه می‌توان توجیه نمود به این ترتیب که ترکیبهای موجود در عصاره آبی (به عنوان مثال تانن‌ها (Gessner, ۱۹۹۲)) به علت قلیائی بودنشان قدرت قارچ‌کشی بیشتری دارند چرا که قارچ‌ها اسید دوست بوده و در محیط قلیایی رشد نمی‌کنند.

این اثرات در روش چاهک به مراتب بیشتر از روش *Pour plate* بود. از طرفی عصاره گل گزنه دارای بیشترین اثر ضد قارچی بوده که این مسأله با یافته مجد- محقق ۱۳۸۱ مبنی بر اینکه عصاره غنچه‌ها در مورد گیاه قرنفل دارای بیشترین اثر قارچ‌کشی بوده، همسوئی دارد. آینه‌چی ۱۳۷۰ اشاره نموده که چون تانن‌ها دارای اثر آنتی‌سپتیک می‌باشند پس از اثرات زیان‌آور قارچها و حشرات جلوگیری می‌نمایند. از طرفی زرگری ۱۳۶۶ فعالیت ضد میکروبی این گیاه را به وجود تانن‌ها و گلیکوزیدها نسبت داده است. همچنین مشخص شده پلی‌ساکاریدهای موجود در گزنه که دارای خاصیت محرک ایمنی می‌باشند، در درمان بثورات جلدی، خارش و حساسیت پوست، التیام

زخم‌ها به خصوص زخمهای خورنده مؤثراند. پس به طور کلی فعالیت ضد میکروبی عصاره‌های بکار رفته می‌تواند به پلی‌ساکاریدها، لکتین‌ها، سیتوسترول‌ها و تانن موجود در گزنه مربوط باشد که در درمان ناراحتیهای پوستی، التیام زخم‌ها به خصوص زخمهای خورنده و زخمهای چرکین، آفت و التهاب لثه رفع نزله و پاک کردن سینه و ریه و معده از اخلاط و بیماریهای کلیوی و گوارشی و تب یونجه مؤثر می‌باشد و این خود ثابت کننده اثرات ضد میکروبی این گیاه دارویی است.

جدول شماره ۱- مقادیر قطر هاله عدم رشد در عصاره الکلی گزنه دوپایه در مراحل مختلف رویشی (به روش چاهک)

<i>Pseudomonas aeruginosa</i>					
ساقه	بذر	گل	ریشه	برگ	شاهد الکلی
۱۰±۲۰	۰±۲۰	۵±۱۴	۰±۱۰	۰±۲۵	۰±۱۰
Df=11		Dr=7.50		F=1.774	
p<0.05					
<i>E.coli</i>					
ساقه	بذر	گل	ریشه	برگ	شاهد الکلی
۰±۲۳	۰±۲۰	۰±۱۰	۰±۱۳	۰±۲۹	۰±۱۰
Df=11		Dr=7.40		F=0	
p<0.05					
<i>Bacillus subtilis</i>					
ساقه	بذر	گل	ریشه	برگ	شاهد الکلی
۲/۵±۱۴/۵	۵±۳۵	۱±۱۴	۳/۵±۱۳/۵	۴±۱۶	۰±۱۰
Df=11		Dr=9.16		F=7.960*	
p<0.05					
<i>Staphylococcus aureus</i>					
ساقه	بذر	گل	ریشه	برگ	شاهد الکلی
۱/۵±۱۳/۵	۲±۲۸	۴±۱۶	۰±۲۲	۵±۲۰	۰±۱۰
Df=11		Dr=6.81		F=5.279	
p<0.05					
<i>Canadida albicans</i>					
ساقه	بذر	گل	ریشه	برگ	شاهد الکلی
۰	۰	۲/۵±۳۲/۵	۰	۰	۰±۱۰
Df=11		Dr=12.51		F=164.2*	
p<0.05					

جدول شماره ۲- مقادیر قطر هاله عدم رشد در عصاره آبی گزنه دوپایه در مراحل مختلف رویشی (به روش چاهک)

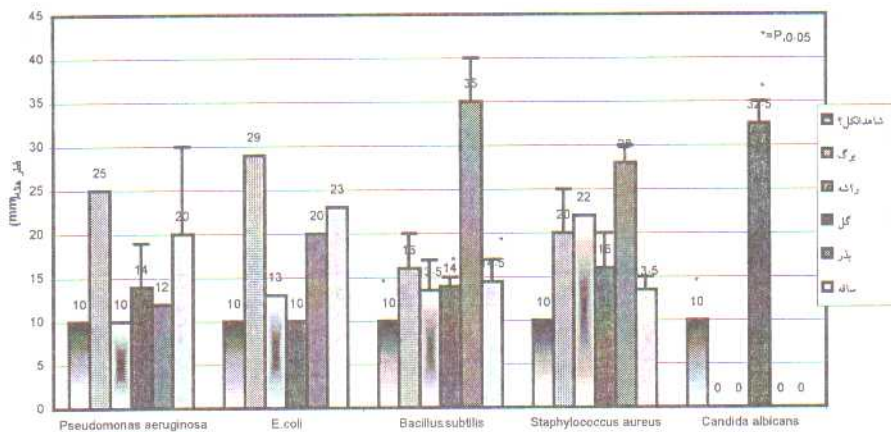
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>				
برگ	ریشه	گل	بذر	ساقه
.
F=0		Dr=0		Df=9
p<0.05				
<i>E.coli</i>				
برگ	ریشه	گل	بذر	ساقه
۴±۲۸	۱۰±۱۵	۷±۱۷	۲/۵±۲۷/۵	۲/۵±۱۷/۵
F=1.09		Dr=8.60		Df=9
p<0.05				
<i>Bacillus subtilis</i>				
برگ	ریشه	گل	بذر	ساقه
.	.	.	۰,۵±۳۶/۵	.
F=5329*		Dr=15.39		Df=9
p<0.05				
<i>Staphylococcus aureus</i>				
برگ	ریشه	گل	بذر	ساقه
.	.	.	۰,۵±۲۹/۵	.
F=3481*		Dr=12.44		Df=9
p<0.05				
<i>Canadida albicans</i>				
برگ	ریشه	گل	بذر	ساقه
۲/۵±۲۲/۵	۲/۵±۲۰/۵	۵±۲۵	۲±۲۰	۷/۵±۱۷/۵
F=3481*		Dr=12.44		Df=9
p<0.05				

جدول شماره ۳- مقادیر تعداد کلنی در تأثیر ضدباکتریایی عصاره آبی گزنه دوپایه در مراحل مختلف رویشی (به روش پورپلیت)

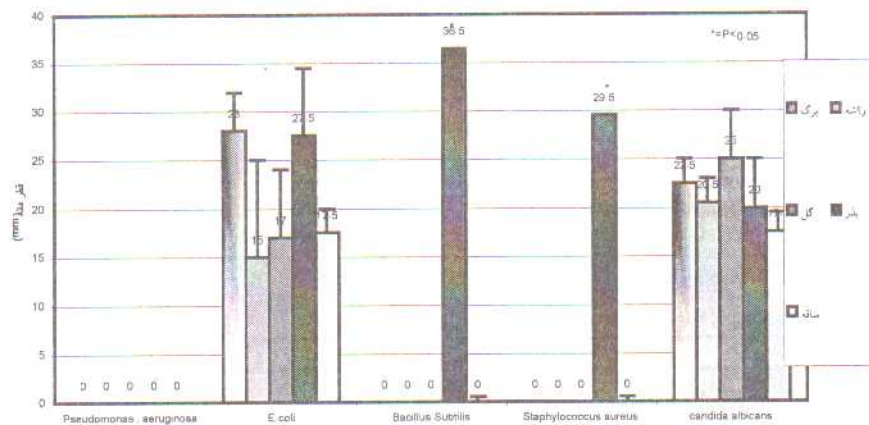
E.coli					
ساقه	بذر	گل	ریشه	برگ	شاهد
0.05 ± 300	0.05 ± 70	0.05 ± 300	0.05 ± 88	0.05 ± 50	0.05 ± 300
$p < 0.05$	Df=17	Dr=119.21	F=48320*		
Staphylococcus aureus					
ساقه	بذر	گل	ریشه	برگ	شاهد
0.05 ± 300	0.05 ± 80	0.05 ± 300	0.05 ± 160	0.05 ± 300	0.05 ± 300
$p < 0.05$	Df=17	Dr=90.49	F=27840*		
Canadida albicans					
ساقه	بذر	گل	ریشه	برگ	شاهد
0.05 ± 50	0.05 ± 20	0.05 ± 4	0.05 ± 55	0.05 ± 8	0.05 ± 60
$p < 0.05$	Df=17	Dr=23.7	F=1909.2*		

جدول شماره ۴- مقادیر تعداد کلنی در تأثیر ضدباکتریایی عصاره الکلی گزنه دوپایه در مراحل مختلف رویشی (به روش پورپلیت)

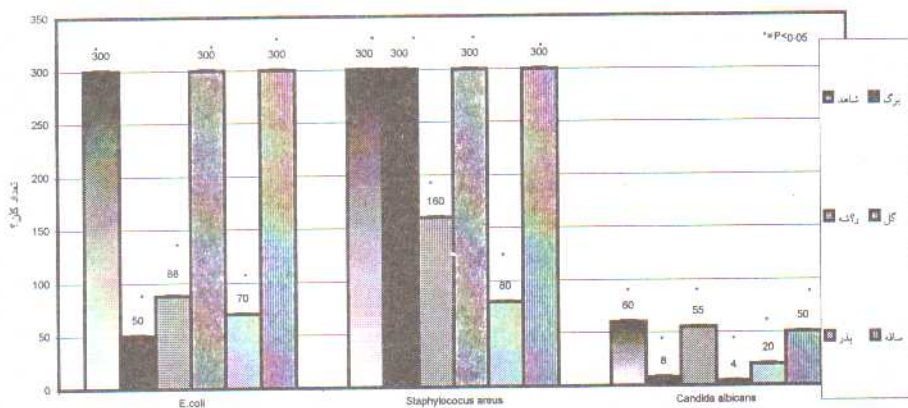
E.coli					
ساقه	بذر	گل	ریشه	برگ	شاهد
0.05 ± 60	0.05 ± 140	0.05 ± 172	0.05 ± 112	0.05 ± 52	0.05 ± 300
$p < 0.05$	Df=17	Dr=86.68	F=2548.8*		
Staphylococcus aureus					
ساقه	بذر	گل	ریشه	برگ	شاهد
0.05 ± 192	0.05 ± 62	0.05 ± 184	0.05 ± 132	0.05 ± 140	0.05 ± 300
$p < 0.05$	Df=17	Dr=74.64	F=18942.8*		
Canadida albicans					
ساقه	بذر	گل	ریشه	برگ	شاهد
0.05 ± 28	0.05 ± 14	0.05 ± 6	0.05 ± 32	0.05 ± 12	0.05 ± 60
$p < 0.05$	Df=17	Dr=18.49	F=1160*		



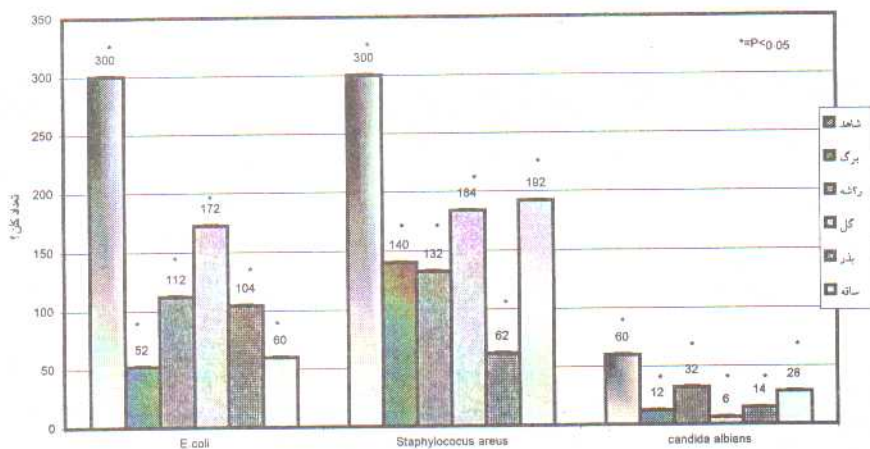
نمودار شماره ۱- تأثیر ضدباکتریایی عصاره الکلی ۸۰٪ گزنه دوپایه در مراحل مختلف رویشی بر روی میکروبهای مورد آزمایش (به روش چاهک)



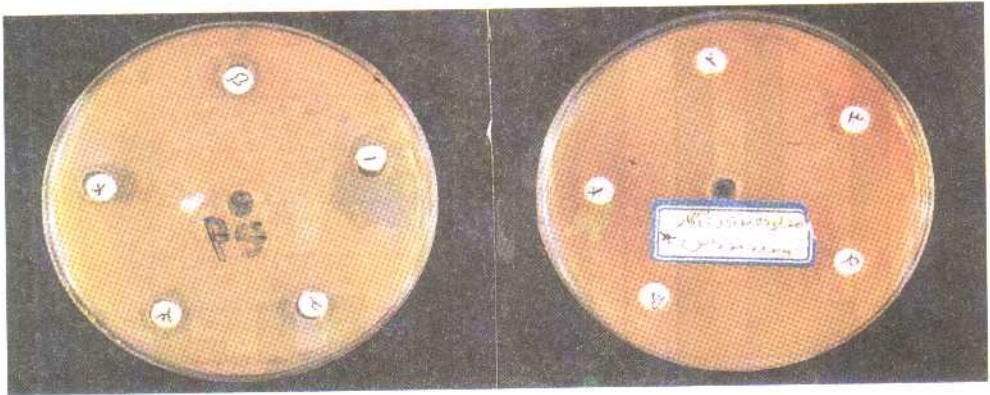
نمودار شماره ۲- تأثیر ضدباکتریایی عصاره آبی گزنه دوپایه در مراحل مختلف رویشی بر روی میکروبهای مورد آزمایش (به روش چاهک)



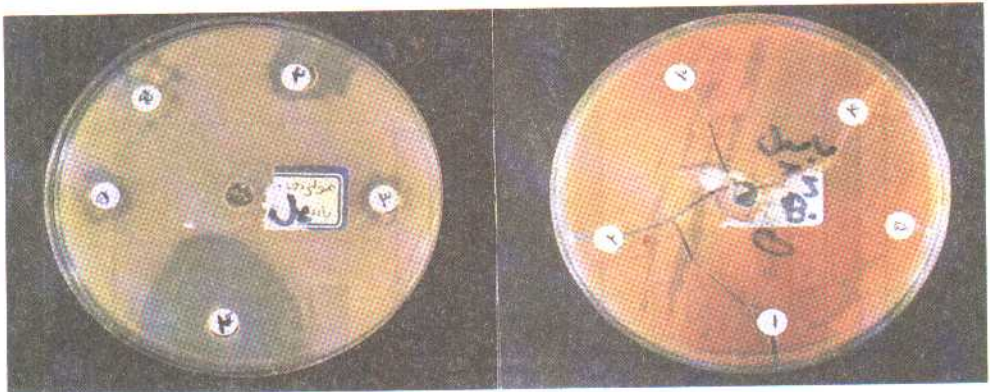
نمودار شماره ۳- تأثیر ضدباکتریایی عصاره آبی گزنه دوپایه در مراحل مختلف روشی (به روش Pour Plate)



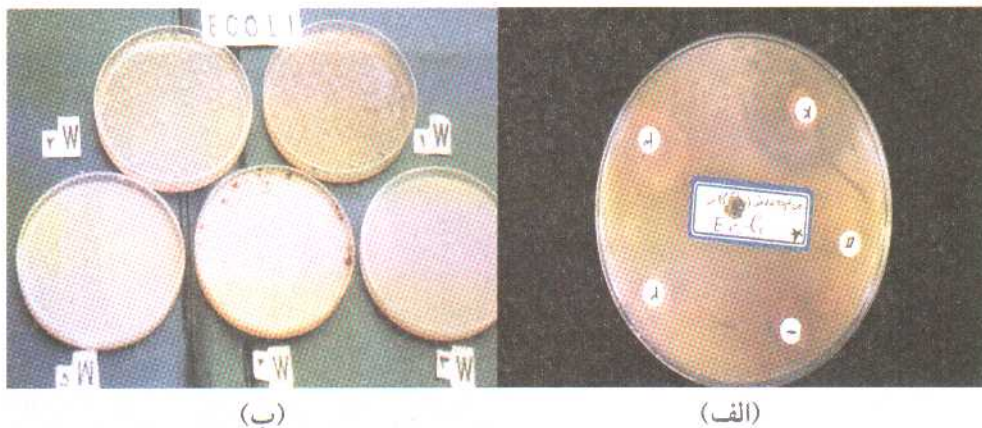
نمودار شماره ۴- تأثیر ضدباکتریایی عصاره الکلی گزنه دوپایه در مراحل مختلف روشی (به روش Pour Plate)



شکل شماره ۱- تأثیر ضدباکتریایی عصاره‌های اتانلی ۸۰٪ (الف) و عصاره‌های آبی (ب) گیاه گزنه دوپایه بر باکتری پseudomonas آئروژینوزا در روش چاهک. ۱: برگ، ۲: ریشه، ۳: گل، ۴: بذر، ۵: ساقه

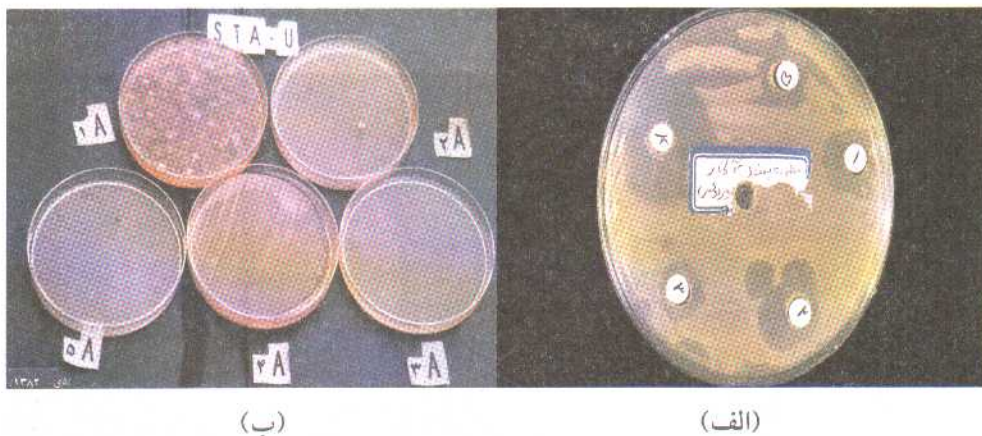


شکل شماره ۲- تأثیر ضدباکتریایی عصاره‌های اتانلی ۸۰٪ (الف) و عصاره‌های آبی (ب) گیاه گزنه دوپایه بر باکتری باسیلئس سویتیلیس. ۱: برگ، ۲: ریشه، ۳: گل، ۴: بذر، ۵: ساقه



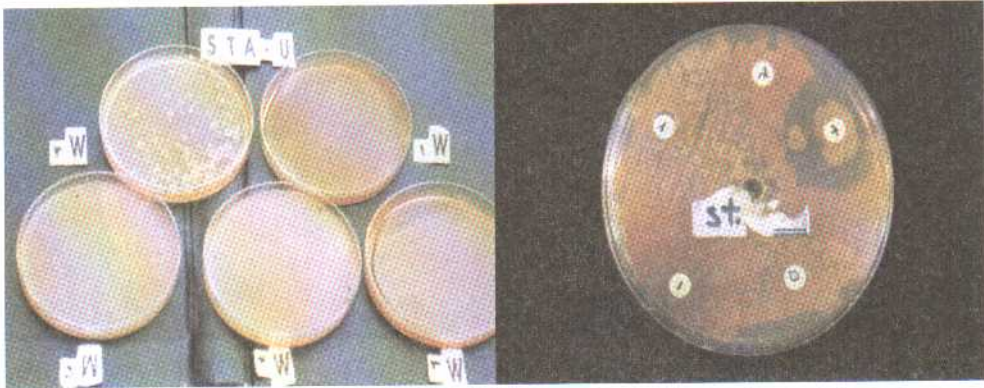
شکل شماره ۳- تأثیر ضدباکتریایی عصاره‌های آبی گیاه گزنه دوپایه بر باکتری اشریشیاکلی در الف) روش چاهک ب) روش *Pour Plate* تکرار (۱) و (۲).

۱: برگ، ۲: ریشه، ۳: گل، ۴: بذر، ۵: ساقه



شکل شماره ۴- تأثیر ضدباکتریایی عصاره‌های اتانلی ۸۰٪ گیاه گزنه دوپایه بر باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در الف) روش چاهک ب) روش *Pour Plate* تکرار (۱) و (۲).

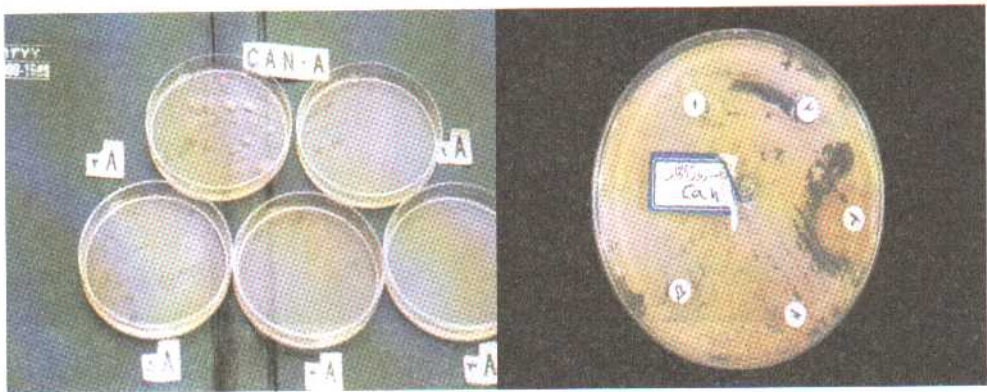
۱: برگ، ۲: ریشه، ۳: گل، ۴: بذر، ۵: ساقه



الف) روش چاهک

ب) روش *Plour Plate*

شکل شماره ۴- W- تأثیر ضدباکتریایی عصاره‌های آبی گیاه گزنه دوپایه بر باکتری استافیلوکوکوس اورئوس ۱: برگ، ۲: ریشه، ۳: گل، ۴: بذر، ۵: ساقه



الف) روش چاهک

ب) روش *Plour Plate*

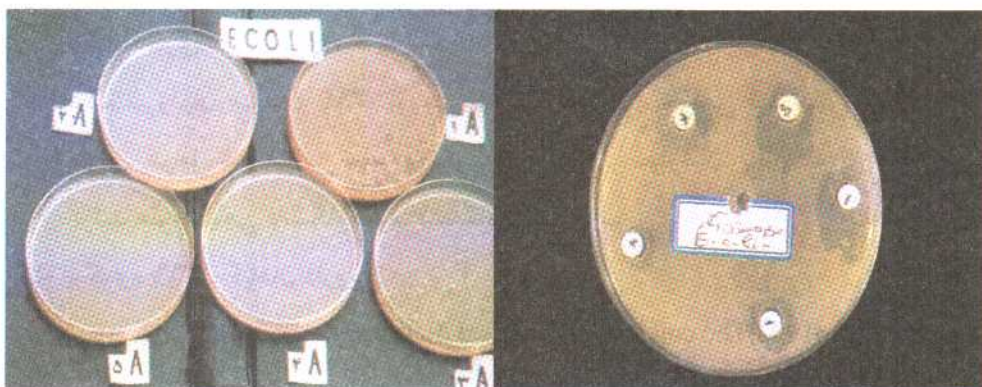
شکل شماره ۵- تأثیر ضدقارچی عصاره‌های اتانلی ۸۰٪ گیاه گزنه دوپایه بر قارچ کاندیدا آلبیکانس ۱: برگ، ۲: ریشه، ۳: گل، ۴: بذر، ۵: ساقه



الف) روش چاهک

ب) روش *Plour Plate*

شکل شماره ۶- تأثیر ضدقارچی عصاره‌های آبی گیاه گزنه دوپایه بر قارچ کاندیدا آلبیکانس ۱: برگ، ۲: ریشه، ۳: گل، ۴: بذر، ۵: ساقه



الف) روش چاهک

ب) روش *Plour Plate*

شکل شماره ۷- تأثیر ضدقارچی عصاره‌های اتانلی ۸۰٪ گیاه گزنه دوپایه بر باکتری اشرشیاکلی ۱: برگ، ۲: ریشه، ۳: گل، ۴: بذر، ۵: ساقه

منابع

- بخت‌آور، سلیمانی، ۱۳۵۲، گزنه شمال ایران (بررسی کلی ترکیبات آن). دانشگاه آذربایجان رساله دکتری.
- مجد، تجدد، ۱۳۷۷، بررسی ساختار تشریحی و تکوینی دو گونه از تیره نعناع و مقایسه اثرات ضد میکروبی و آلرژی‌زایی آنها، پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال.
- مجد، آبروش، ۱۳۸۰، بررسی ویژگیهای تشریحی، ترکیبات اسانس و خواص ضد میکروبی گیاه خلال دندان از تیره چتریان، پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال.
- مجد، تجدد، ۱۳۸۲، مطالعه ساختار تشریحی، اثر بتاکاروتن بر رویش هاگ تا تمایز اندامهای جنسی و بررسی اثرات ضد میکروبی اسانس و عصاره سرخس پرسیاوش *Adiantum Capillus-Veneris*، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، رساله دکتری.
- مجد، میرزاییان، سیسان. ۱۳۸۱ بررسی ساختار تشریحی، خواص ضد میکروبی و اثر برخی عوامل محیطی بر تمایز و تکوین سرخس پر سیاوشان. پایان‌نامه کارشناسی ارشد علوم گیاهی دانشگاه علوم. دانشگاه تربیت معلم.
- زرگری، ۱۳۶۶، گیاهان دارویی.
- Gessner, 1992, The condensed chemical dictionary.
- www.Diet Blends-Ingredients.htm.
- www.The bathroom challenge.htm.
- Valdirence M. Gomes et al, 2002, Isolation and partial Characterization of novel lectin from talisi esculeuta seeds that interferes with fungal growth, Plant physiology, Biochemistry, Vol. 40. pp. 67.

The study of Antimicrobial Effects of *Urtica dioica* Extract.

A. Majd¹, S. Mehrabian¹ and Z. Jafary²

Abstract

In this study anti-microbial properties of aquatic and ethanolic extract of *urtica dioica* were tested. The antimicrobial properties of aquatic and ethanolic extracts (80%) of this plant were studied on four species of bacteria (*Pseudomonas. aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *E. coli*) and a fungus (*Candida albicans*) using routine methods applying the Muller-Hinton Agar, Sabourou Dextrose Agar and pour plate method, measuring the diameter of inhibitory zone .

The Ethanolic extract(80%) of plant showed antimicrobial effect on *Pseudomonas. a*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *E. coli*, *Candida albicans*, among them *urtica*'s seed extract had the most effect on gram – positive bacteria, *urtica*' s leaf had the most effect on gram-negative bacteria and *urtica*'s flower had the most fungicidal property.All the aquatic extracts of plant showed antimicrobial effect on extracts thses microorganisms except *Pseudomonas.a*

Key word: Zone of inhibition growth , pour plate, *urtica dioica*

1- Academic Member of Islamic Azad univ. Tehran-Iran.

2- Student of Plant Biology of Islamic Azad univ. Tehran-Iran unticadioica
2003 @ yahoo. com