

بررسی برخی اثرات رویشگاه‌های مختلف بر فعالیت ضد میکروبی گیاه دارویی گزنه (*Urtica dioica L.*)

*الهام مقیسه^۱، مه لقا قربانلی^۲

۱. باشگاه پژوهشگران جوان دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان

۲. گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان

چکیده

رویشگاه‌های مختلف با شرایط آب و هوایی متنوع اثرات متفاوتی بر رشد و میزان مواد مؤثره گیاهان دارند. گیاه دارویی گزنه دو پایه *Urtica dioica L.* در طب سنتی در درمان بسیاری از بیماری‌ها استفاده می‌شده است. جهت انجام این پژوهش، در طول دوره زایشی گزنه، نمونه‌های گیاهی از چهار منطقه مختلف گرگان واقع در استان گلستان جمع‌آوری شدند. فعالیت ضد میکروبی عصاره اتانولی اندام‌های مختلف گیاه آنها علیه سه باکتری *Staphylococcus aureus*، *Escherichia coli* و *Pseudomonas aeruginosa* و قارچ *Candida albicans* به روش MIC و MBC بررسی شد. بر اساس نتایج این پژوهش، عصاره اتانولی گزنه، اثر ضدباکتریایی و ضدقارچی نشان داد. عصاره گونه‌هایی که در ارتفاعات بالاتر رویش داشتند، اثر ضد میکروبی بیشتری داشت و در بین چهار اندام مورد بررسی، مؤثرترین عصاره مربوط به برگ بود (MIC: ۶۲/۵ mg/ml) و در بسیاری موارد عصاره ساقه اثر ضد میکروبی نداشت یا کم اثر بود. باکتری گرم منفی *E. coli*، تقریباً به تمام عصاره‌ها مخصوصاً عصاره ریشه حساسیت نشان داد. بهترین اثر مهاری و کشندگی (MIC: ۷/۸ mg/ml و MBC: ۱۵/۶۲ mg/ml) نیز در همین مورد دیده شد.

کلمات کلیدی: اثر ضد میکروبی، رویشگاه‌های مختلف، گیاه دارویی گزنه.

مقدمه

گزنه دو پایه با نام علمی *Urtica dioica L.* گیاهی است چند ساله که در خاک‌های غنی از نیتروژن و در زمین‌های متروکه تا ارتفاع ۱۸۰۰ متر رویش دارد (Pignatti, 1982). این گیاه دارای خواص دارویی مختلف می‌باشد و از دیرباز مورد توجه بوده است. ترکیبات هیستامینیک گزنه در رفع التهابات و بیماری‌های وابسته به آن بسیار مؤثر است. علت گزنده بودن برگ‌ها به واسطه‌ی وجود اسید فرمیک، هیستامین و کولین

است. ریشه گیاه سرشار از اسکوپولتین، استرول، اسیدهای چرب، پلی ساکاریدها و ایزولکتین می‌باشد. تحقیقات نشان می‌دهد که ماده شیمیایی لکتین علیه ویروس HIV و ویروس‌های تنفسی مؤثر است. تحقیقات بالینی فراوانی در آمریکا و آلمان در مورد اثر ضدالتهابی آن و رفع روماتیسم و آرتريت صورت گرفته است. تأثیر دارویی گزنه از طریق تحریک تولید سلول‌های ایمنی بدن و اثر آن روی تقسیم سلول و هورمون پروستاگلاندین می‌باشد. در ۲۰

بررسی خواص ضد میکروبی گزنه پرداخت و اثر ضد میکروبی عصاره اتانولی گزنه را علیه استافیلوکوکوس اورئوس، اشرشیاکلی و کاندیدا آلبیکنس نشان داد (جعفری، ۱۳۸۲).

مجد و همکاران در سال ۱۳۸۵ بیان کردند که در زمینه کشت در شیشه این گیاه و نیز اثر رویشگاه‌های مختلف بر مواد مؤثره آن پژوهشی انجام نشده است. به همین دلیل آنها گونه‌هایی از دو منطقه نور و بروجرد تهیه نمودند و مقدار ترکیباتی مانند بتاسیتواسترول و اسکوپولتین را در این گزنه‌ها و گیاهچه‌های حاصل از کشت در شیشه مقایسه کردند و به این نتیجه رسیدند که مقدار این ترکیبات در گیاهچه‌های حاصل از کشت در شیشه بیشتر از دو منطقه طبیعی است و بیان نمودند که با کشت در شیشه این گیاه می‌توان تولید متابولیت‌های ثانویه ای مانند بتاسیتواسترول و اسکوپولتین را افزایش داد.

Shale و همکاران در سال ۱۹۹۹ نیز بیان نمودند که برای تهیه عصاره از گیاهانی استفاده شود که در ارتفاعات بالا قرار دارند، زیرا دارای مواد مؤثره بیشتری نسبت به گیاهانی هستند که در زمین‌های پست قرار دارند.

تیمار خاک جنگل با کربنات کلسیم، فسفر، نیترات و آمونیوم، موجب گسترش پوشش متراکمی از گزنه دو پایه نیتروفیل می‌گردد (Jandle et al., 2003). مواد آلی بالای خاک به طور یکسان مواد غذایی مورد نیاز گیاه جهت رشد بهینه را فراهم نموده و رشد خوب گیاه را تضمین می‌نمایند و مراحل متابولیسم و مقاومت گیاهان به تنش را بالا می‌برند. نیتروژن خاک نیز همبستگی نزدیکی با رشد گیاه و متابولیسم دارد زیرا ترکیب ساختاری آمینو اسیدها جهت سنتز پروتئین‌ها می‌باشد (Yan et al., 2004).

با توجه به این که رویشگاه‌های مختلف دارای شرایط متفاوتی می‌باشند، به نظر می‌رسد اثرات متفاوتی بر رشد گیاهان دارند و شرایط مختلف آب و هوایی می‌تواند میزان مواد مؤثره گیاهان را تحت تأثیر قرار دهد. لذا ما بر آن شدیم تا این موضوع را در مورد گزنه دوپایه که گیاهی دارویی است تحقیق کنیم و تغییرات فعالیت ضد میکروبی را با توجه به برخی شرایط محیطی بررسی نماییم و بهترین محیط را برای

تحقیق بالینی دیگر، تأثیر عصاره آبی گزنه در رفع هیپرتروفی پروستات که از مهمترین بیماری‌های شایع مردان ۴۰ سال به بالاست، اثبات شد. گزنه از تبدیل تستوسترون به دی هیدروتستوسترون و سایر هورمون‌ها جلوگیری می‌نماید و مانع بزرگ شدن سلول‌های ناحیه پروستات می‌گردد (مازندرانی و همکاران، ۱۳۸۳).

در گزنه ترکیبات شیمیایی مانند تانن، موسیلاژ، پلی ساکارید، لکتین، نوعی فنل، نوعی ماده مومی، اسید فرمیک، فیتوسترین، لستین، گوگرد، نیترات پتاسیم و کلسیم، ترکیبات آهن دار، نوعی گلیکوزید و... وجود دارد (جعفری، ۱۳۸۲) و محتوای تانن و فلاونوئید و فعالیت پاکسازی رادیکال آزاد می‌تواند اثرات ضد آماسی، ضد باکتریایی یا درمان اسهال خونی توسط بعضی از گیاهان دارویی را سبب شود (Fenglin et al., 2004). گیاهانی که متابولیت‌های بیشتری چون پلی فنل‌ها، آلکالوئیدها، ساپونین‌ها و گلیکوزیدها دارند دارای اثرات ضد میکروبی بیشتری هستند (Geyid et al., 2005). آگلوتینین لکتین چسبیده به کیتین موجود در ساقه زیرزمینی گزنه دو پایه است که دارای خاصیت حشره‌کشی، ضد قارچی و ضد ویروسی انتخابی است (Hom et al., 1995). لکتین مستخرج از ریشه گزنه و β سیتوسترول جدا شده از بخش‌های هوایی گزنه دارای اثرات ضد قارچی می‌باشند و تانن‌ها دارای اثر ضد عفونی هستند و از اثرات زیان‌آور قارچ‌ها و حشرات جلوگیری می‌نمایند (جعفری، ۱۳۸۲).

Urtica dioica اثر تنظیم کنندگی سیستم ایمنی را دارد (Korata et al., 2003). Sutcu (۲۰۰۲) فعالیت ضد میکروبی عصاره‌های استات اتیل، متانل، کلروفورم و استنی چهارگونه گیاهی را با روش پخش بر روی آگار مطالعه کرد و اظهار داشت عصاره تهیه شده از بخش‌های مختلف گیاه گزنه، علیه باکتری‌های اشرشیاکلی DM، سودوموناس فلورسنس و استافیلوکوکوس اورئوس تأثیری ندارد در حالی که Gulcin و همکاران در سال ۲۰۰۴ بیان کردند عصاره گزنه دارای فعالیت ضد میکروبی علیه میکروارگانسیم‌هایی چون استافیلوکوکوس اورئوس، اشرشیاکلی، کاندیدا آلبیکنس می‌باشد. جعفری در سال ۱۳۸۲ با استفاده از روش چاهک (هاله عدم رشد) به

رشد گزنه از جهت دارا بودن فعالیت ضد میکروبی معرفی کنیم.

مواد و روش‌ها

گیاه گزنه از چهار رویشگاه طبیعی خود در استان گلستان، در محدوده زمانی نیمه خرداد تا نیمه تیرماه سال ۱۳۸۴ در قالب طرح کاملاً تصادفی جمع‌آوری شد. در هنگام نمونه‌برداری گیاهان به طور کامل از خاک خارج و در سایه پهن شدند. در سه منطقه اول اگرچه در میانگین دمای متوسط سالیانه تفاوت چندانی دیده نمی‌شود، ولی در محمدآباد بین دمای حداقل و حداکثر تفاوت زیادی وجود دارد (۲ درجه در دی و ۳۵ درجه در مردادماه) و در سرعلی‌آباد دوره یخبندان وجود دارد. چهار منطقه از لحاظ ارتفاع با هم متفاوت بوده و فقط منطقه توسکستان جنگلی است که متوسط بارندگی سالیانه آن نیز بیشتر از سایر مناطق می‌باشد (جدول ۱).

جهت تهیه خاک در هر منطقه سه نقطه انتخاب و تا عمق ۳۰ سانتیمتری گود شد. سپس خاک سه نقطه با هم مخلوط گردید و جهت انجام آزمایشات مربوطه به آزمایشگاه خاک‌شناسی ارسال شد (جدول ۲).

روش عصاره‌گیری

اندام‌های مختلف گیاهان خشک شده با کمک آسیاب پودر شدند. ۵۰ گرم از پودر آماده شده را در سینی پهن کرده و ۱۰ ml اتانل ۶۰ درجه را با پی‌پت روی آن ریخته و مخلوط گردید. مخلوط حاصل را در شیشه ریخته و دور شیشه روزنامه پیچیده شد. سپس به محتویات شیشه به قدری اتانل ۶۰ درجه اضافه شد که سطح اتانل روی نمونه، ۰/۵ سانتی‌متر بالاتر قرار گیرد. حجم اتانل یادداشت شد. درب شیشه را به صورت شل بسته و بعد از نیم ساعت که اتانل جذب نمونه شد، مجدداً کمی اتانل ۶۰ درجه اضافه کرده تا به همان حد ۰/۵ سانتیمتر بالاتر برسد و سه روز بعد در صورتی که روی نمونه خشک شده بود یا فقط مرطوب بود مقداری اتانل ۶۰ درجه اضافه شد و حجم آن یادداشت شد. در روز هفتم با کمک دستگاه آب نارنج‌گیری نمونه‌ها فشرده شد و حجم عصاره یادداشت شد. مقدار عصاره بدست آمده از حجم اتانل مصرفی کمتر است تفاوت آنها را بدست آورده به همان مقدار

اتانل ۶۰ درجه به تفاله‌ها اضافه شده و خوب هم زده شد تا اتانل جذب تفاله‌ها شود. آنگاه دوباره با دستگاه آب نارنج‌گیری فشرده شد. سپس عصاره با کاغذ صافی، صاف شده و در شیشه‌های تیره نگهداری شد و به کمک دستگاه روتاری آنها را تغلیظ کرده تا حدی که به شکل عسل دربیاید.

تهیه میکروارگانسیم‌ها

به منظور سنجش فعالیت ضد میکروبی چهار میکروارگانسیم با مشخصات زیر از مرکز کلکسیون قارچها و باکتری‌های صنعتی و عفونی ایران خریداری شدند.

Escherichia coli (PTCC: 1399) Gram – negative
Staphylococcus aureus (PTCC: 1431) Gram – positive
Pseudomonas aeruginosa (PTCC: 1430) Gram – negative
Candida albicans (PTCC: 5027)

MIC و MBC عصاره‌ها (Bailey & Scott, 1994)

ابتدا رقت‌های متوالی از محلول تهیه شده در محیط کشت N.B (نوترینت براث) تهیه شد. برای تهیه رقت‌های متوالی ۲ میلی‌لیتر از محلول به ۲ میلی‌لیتر محیط نوترینت براث استریل اضافه شد. رقت ۱/۲ بدست آمد و رقیق‌سازی به همین ترتیب ادامه یافت تا رقت ۱/۲۵۶ بدست آمد. آنگاه ۰/۵ میلی‌لیتر از سوسپانسیون هر یک از میکروارگانسیم‌ها (غلظت برابر لوله ۰/۵ مک فارلند) به هریک از غلظت‌های فوق اضافه شد. شاهد حاوی ۲ میلی‌لیتر محیط نوترینت براث و ۰/۵ میلی‌لیتر سوسپانسیون میکروارگانسیم تهیه گردید. لوله‌ها در دمای ۳۷°C به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شدند. پایین‌ترین رقتی که در آن کدورتی مشاهده نشد به عنوان MIC (حداقل غلظت ممانعت‌کننده برای رشد باکتری‌ها) تعیین گردید. سپس از لوله‌های فاقد کدورت روی محیط کشت جامد نوترینت آگار کشت داده، پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷°C قرار داده شدند. پلیت فاقد کلنی که دارای کمترین رقت از ماده مورد نظر بود به عنوان MBC (حداقل غلظت کشنده برای باکتری‌ها) در نظر گرفته شد.

نتایج

تأثیر عصاره‌های بدست آمده روی اشریشیاکلی

در مورد عصاره ریشه چهار منطقه، به جز منطقه زیارت که MIC عصاره ریشه گیاه ۱/۲ (mg/ml) ۲۵۰ بود، عصاره ریشه سه منطقه دیگر، MIC بسیار کمتری را نشان داد، به

نیز حداقل غلظت مهاری ۱/۲ (mg/ml) ۲۵۰ بود، اما در محمدآباد و توسکستان به ۱/۴ (mg/ml) ۱۲۵ هم می‌رسد (شکل ۵). بهترین اثر کشندگی در عصاره برگ گزنه زیارت و سرعلی آباد و گل آذین محمد آباد و توسکستان در رقت ۱/۴ (mg/ml) ۱۲۵ مشاهده شد (شکل ۶).

تأثیر عصاره‌های بدست آمده روی کاندیدا آلیکنس

مقایسه اثر ضد میکروبی عصاره ریشه نشان داد که اثر مهاری تنها در عصاره ریشه گزنه محمدآباد و زیارت وجود داشت، به طوری که در زیارت این اثر مهاری در رقت ۱/۸ (mg/ml) ۶۲/۵ و در محمدآباد در رقت ۱/۴ (mg/ml) ۱۲۵ بود. عصاره ساقه چهار منطقه بر روی رشد این قارچ اثر مهاری نداشت، اما عصاره‌های برگ و گل آذین دارای اثر مهاری بودند، به طوری که عصاره برگ گزنه زیارت و سرعلی آباد نسبت به دو منطقه دیگر دارای بیشترین اثر مهاری در رقت ۱/۸ (mg/ml) ۶۲/۵ بودند و عصاره گل آذین همه مناطق بجز زیارت، در رقت ۱/۴ (mg/ml) ۱۲۵ اثر مهاری بر روی رشد قارچ نشان دادند (شکل ۷). بیشترین کشندگی قارچ توسط عصاره ریشه گزنه زیارت و عصاره گل آذین توسکستان در رقت ۱/۴ (mg/ml) ۱۲۵ مشاهده شد (شکل ۸).

بحث

در این پژوهش اثر عصاره اتانولی اندام‌های مختلف گیاه گزنه جمع‌آوری شده از رویشگاه‌های مختلف بر باکتری‌های اشرشیاکلی، استافیلوکوکوس اورئوس، سودوموناس آئروژینوزا و قارچ کاندیدا آلیکنس بررسی شد. عصاره اتانولی گزنه اثر ضدباکتریایی و ضدقارچی را نشان داد و بیشترین اثر را یکی از عصاره‌ها با MIC mg/ml ۷/۸ داشت. Gulcin و همکاران نیز در سال ۲۰۰۴ اثر ضد میکروبی عصاره آبی گزنه را روی ۹ گونه باکتری و یک گونه مخمر بررسی کردند و نشان دادند که عصاره آبی گزنه دارای فعالیت ضد میکروبی علیه استافیلوکوکوس اورئوس، اشرشیاکلی و کاندیدا آلیکنس و سودوموناس آئروژینوزا است. Aksu و Kaya در سال ۲۰۰۴ اثر گزنه خشک شده را روی خصوصیات میکروبیولوژیکی سوسیس بررسی کردند. آنها نشان دادند که اضافه کردن مقادیر مختلف از گزنه در خمیر سوسیس، روی تعداد استافیلوکوکوس اثر داشته است و

طوری که در سرعلی‌آباد ۱/۱۶ (mg/ml) ۲۵/۳۱، محمدآباد ۱/۳۲ (mg/ml) ۱۵/۶۲۵ و در توسکستان ۱/۶۴ (mg/ml) ۷/۸۱۲۵ بود. مقایسه ساقه گزنه چهار منطقه هم نشان داد که فقط ساقه گزنه محمدآباد در رقت ۱/۳۲ (mg/ml) ۱۵/۶۲۵ اثر مهاری رشد دارد. در عصاره تهیه شده از برگ حداقل رقت مهاری رشد ۱/۲ (mg/ml) ۲۵۰ است، ولی عصاره برگ گزنه زیارت و سرعلی آباد تا رقت ۱/۸ (mg/ml) ۶۲/۵ نیز اثر مهاری نشان داد. مقایسه عصاره گل آذین‌ها نشان داد که بجز توسکستان که در رقت ۱/۲ (mg/ml) ۲۵۰ اثر مهاری داشت، سایر مناطق تا رقت ۱/۴ (mg/ml) ۱۲۵ اثر مهاری بر رشد این باکتری دارند (شکل ۱).

مقایسه MBC چهار اندام مختلف در چهار منطقه نشان داد که عصاره ریشه اثر کشندگی بیشتری داشته است، زیرا MBC آن در منطقه توسکستان تا رقت ۱/۳۲ (mg/ml) ۱۵/۶۲۵ بود (شکل ۲).

تأثیر عصاره‌های بدست آمده روی استافیلوکوکوس اورئوس مقایسه اثر ضد میکروبی عصاره ریشه گزنه مناطق مختلف نشان داد که حداقل رقت ممانعت کننده از رشد این باکتری ۱/۲ (mg/ml) ۲۵۰ بود اما در مورد ریشه گزنه سرعلی‌آباد این رقت ۱/۴ (mg/ml) ۱۲۵ بود. همچنین فقط عصاره ساقه گزنه زیارت و سرعلی‌آباد اثر مهاری در رقت ۱/۴ (mg/ml) ۱۲۵ داشتند.

حداقل غلظت عصاره برگ گزنه چهار منطقه که مانع از رشد این باکتری شد ۱/۲ (mg/ml) ۲۵۰ بود، اما در زیارت و سرعلی‌آباد تا رقت ۱/۸ (mg/ml) ۶۲/۵ هم اثر مهاری نشان داد. در مورد عصاره تهیه شده از گل آذین نیز حداقل غلظت مهاری ۱/۲ (mg/ml) ۲۵۰ است، اما در زیارت تا رقت ۱/۸ (mg/ml) ۶۲/۵ هم اثر مهاری داشته است (شکل ۳).

مقایسه MBC چهار اندام مختلف در چهار منطقه نشان داد که عصاره برگ اثر کشندگی بیشتری داشته است، زیرا MBC آن ۱/۴ (mg/ml) ۱۲۵ بود، اما در مورد بقیه اندام‌ها مقدار MBC ۱/۲ (mg/ml) ۲۵۰ بود (شکل ۴).

تأثیر عصاره‌های بدست آمده روی سودوموناس آئروژینوزا

عصاره ریشه و ساقه تقریباً اثر مهاری قابل توجهی را نشان ندادند، اما در عصاره برگ گزنه چهار منطقه، اثر مهاری آن در رقت ۱/۴ (mg/ml) ۱۲۵ بود. در مورد عصاره گل آذین

بیشترین تعداد استافیلوکوکوس در سوسیس شاهد دیده شد و تعداد استافیلوکوکوس در گزنه بعد از روز دهم بررسی شروع به کاهش کرد. همچنین افزایش مقدار گزنه اضافه شده در خمیر سوسیس، باعث کاهش تعداد مخمر شد، در حالی که تعداد مخمر در گروه شاهد بیشتر بود.

مقایسه چهار منطقه مختلف از لحاظ نوع اندامی که بیشترین اثر ضد میکروبی را داشته است نشان داد که در اکثر موارد عصاره برگ اثر ضد میکروبی بیشتری داشته است به جز در مورد اشرشیاکلی که عصاره ریشه مؤثرتر بود و در بسیاری از موارد، ساقه اثر ضد میکروبی نداشت یا اثر آن بسیار کم بود. همچنین بیشترین اثر مهاری و کشندگی را عصاره ریشه علیه اشرشیاکلی با $7/8 \text{ MIC mg/ml}$ و $15/6 \text{ mg/ml MBC}$ داشت.

Shale و همکاران در سال ۱۹۹۹ عصاره آبی، هگزانی و متانولی ریشه و برگ ۱۲ گونه گیاهی را تهیه کرده و اثر ضدباکتریایی آنها را علیه استافیلوکوکوس اورئوس، اشرشیاکلی و سودوموناس آئروژینوزا با روش پخش بر روی دیسک بررسی نمودند و بیان کردند شش گونه از گیاه فعالیت ضدباکتریایی زیاد علیه دو باکتری گرم مثبت و گرم منفی نشان دادند. تعدادی از عصاره‌ها فعالیت باز دارندگی متوسطی را نشان دادند و بیشتر علیه باکتری گرم مثبت مؤثر بودند و فعالیت ضد میکروبی اساساً در عصاره‌های ریشه دیده شد. باکتری اشرشیاکلی بیشترین مقاومت را به بسیاری از عصاره‌های مورد آزمایش نشان داد.

عصاره‌های آبی ریشه‌های گیاه *Chenopodium sp* بیشترین فعالیت بازدارندگی را علیه اشرشیاکلی نشان دادند که این نتایج با یافته‌های این تحقیق در مورد اشرشیاکلی مشابه می‌باشد. از طرف دیگر Lewu و همکاران در سال ۲۰۰۶ مطالعاتی را برای بررسی اثر ضدباکتریایی عصاره *Pelargonium sidoides* انجام دادند و نشان دادند عصاره‌های ریشه و برگها فعالیت ضد میکروبی علیه باکتری‌های گرم مثبت دارند و مقدار MIC اندازه‌گیری شده در اندام هوایی نسبت به ریشه به ویژه در عصاره‌های استنی بیشتر بوده است و پیشنهاد کردند که ترکیبات شناخته شده در ریشه‌های گیاه ممکن است مشابه برگها باشند، اما ترکیبات

فعال آنها دارای غلظت کمتری باشد. Giday و همکاران در سال ۲۰۰۳ نیز در مطالعه خود بر روی ۳۳ گیاه دارویی، از عصاره تهیه شده از برگ به عنوان ترکیب اصلی برداشت شده از گیاه استفاده نمودند. جعفری در سال ۱۳۸۲ نیز بیان نمود که عصاره بذر بیشترین اثر ضدباکتریایی را علیه گرم مثبت‌ها و عصاره برگ بیشترین اثر ضدباکتریایی را علیه گرم منفی‌ها دارد و فقط گل اثر ضدقارچی نشان می‌دهد. از طرفی Sokmen و همکاران در سال ۱۹۹۹ گزارش کردند که دانه‌های گزنه تأثیری روی گونه‌های مخمر ندارند. در یافته‌های این پژوهش اثر ضدقارچی برگ و گل بیشتر از سایر اندام‌ها است و اندام مؤثر بر باکتری گرم منفی در مورد اشرشیاکلی، ریشه و در مورد سودوموناس آئروژینوزا، برگ می‌باشد و در مورد باکتری گرم مثبت؛ استافیلوکوکوس اورئوس، برگ است. بنابراین می‌توان گفت عصاره‌هایی که در این پژوهش فعالیت ضدباکتریایی کمتری نشان دادند ممکن است علیه سایر باکتری‌ها که در این تحقیق مورد آزمایش قرار نگرفتند، فعال باشند و انتخاب ریشه در درمان سنتی تنها به علت خواص دارویی بالاتر آن نبوده است بلکه به علت جمع‌آوری آسان آن بوده است (Uzun et al., 2004).

در این پژوهش گیاهان از نقاط با ارتفاع متفاوت تهیه شدند و نتایج بدست آمده نشان داد که گیاهان انتخاب شده از مناطق با ارتفاع بالاتر دارای اثر ضد میکروبی بیشتری هستند (فقط در مورد اشرشیاکلی استثنائاتی وجود دارد).

Alwadi & Baka (۲۰۰۱) نیز مطالعه‌ای در مورد اثر ضد میکروارگانیسمی برگ‌های گیاه *Withania somnifera* انجام دادند. آنها این گیاه را از دونا حیه ارتفاعی ۰ تا ۳۰۰ متری و ۱۷۰۰ تا ۲۰۰۰ متری جمع‌آوری نمودند و دریافتند نوع و تعداد میکروارگانیسیم‌ها با ارتفاع و زمان جمع‌آوری مطابقت داشت و تعداد میکروارگانیسیم‌ها در برگ‌های مسن، بیشتر از برگهای جوان بود، تعداد میکروارگانیسیم‌ها در برگ‌هایی که مربوط به مناطق پایین‌تر بودند، بیشتر از برگ‌های مربوط به ارتفاعات بالاتر بود و این فعالیت ضدباکتریایی بالاتر گیاه را در ارتفاعات بالا نشان می‌دهد که باعث کاهش حضور میکروارگانیسیم‌ها بر روی برگ‌های گیاه در ارتفاعات بالاتر شده است. همچنین گونه‌هایی از گیاهان

مطالعات Jandle و همکاران در سال ۲۰۰۳، بالا بودن فعالیت ضد میکروبی برخی اندام‌ها که در ارتفاعات پایین تر دیده می‌شود ممکن است به خاطر بالا بودن مقدار نیترات و فسفر یا درصد ازت کل خاک باشد.

بسیاری از گیاهان دارویی، در رویشگاه‌های اولیه خود نسبت به زمین‌های کشت دارای تولید دارویی بالاتری هستند، بنابراین جهت پرورش آنها در زمین‌های کشت باید خصوصیات غذایی خاک و خصوصیات آب و هوایی مشابه رویشگاه‌های اولیه باشد. بنابراین برای تولید ترکیبات فعال از گیاهان کشت شده در مزرعه باید شرایط خاکی آن مشابه جایگاه اول آنها باشد. ماتریکس خاک اکوسیستمی از ترکیب آلی با ساختارهای خاص خودش است و بین مواد غذایی و میکروارگانیسم‌ها واکنش انجام می‌شود. متابولیسم ثانویه گیاهی یک فرایند پیچیده فیزیولوژیکی است و تولید آنها تحت تأثیر سن و سایر فاکتورهای محیطی می‌باشد (Yan et al., 2004).

نتیجه‌گیری نهایی

در این پژوهش اگر چه به نظر می‌رسد عصاره برگ گزنه مربوط به ارتفاعات بالاتر بیشتر از سایر عصاره‌ها فعالیت ضد میکروبی داشته است، اما تقریباً در همه مناطق بیشترین اثر ضد میکروبی مربوط به ریشه گیاه مخصوصاً علیه باکتری اشرشیاکلی بود. پس فعالیت ضد میکروبی به نوع باکتری و نوع اندام بستگی داشت. بنابراین جهت کشت این گیاه، چه در محیط مزرعه و چه در شیشه، فراهم آوردن نیازهای اکولوژیک مناطق مرتفع و ایجاد تنش‌هایی مانند نور فرابنفش، تنش سرما که در این تحقیق در ارتفاع بالا دیده می‌شد و در دسترس بودن میزان نیترات و فسفر کافی می‌تواند برای افزایش متابولیت‌های ثانویه در این گیاه مؤثر باشد.

مازندرانی، م.، پورقاسم، ف. و کیایی، ر. (۱۳۸۳). بررسی

مصرف غذایی و سنتی و دارویی گیاه گزنه *Urtica dioica* در کوهستان زیارت و چهار باغ استان گلستان، خلاصه مقالات سومین همایش سراسری علوم پایه باشگاه پژوهشگران جوان دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان.

که در درمان سنتی استفاده می‌شوند دارای مشتقات پلی استیلنی هستند که اثر حشره‌کش قوی داشته و این اثر با نور فرابنفش یا سایر رادیکال‌ها که باعث تخریب غشای لیپیدی می‌شود تحریک می‌گردد (Shale et al., 1999). می‌دانیم که در ارتفاعات بالا، کمیت و کیفیت نور فرابنفش بیشتر، تنش بیشتری ایجاد می‌نماید و می‌تواند علت افزایش اثرات ضد میکروبی گیاه در ارتفاعات بالاتر باشد.

بین خصوصیات خاک و محتوای آلکالوئیدی دانه‌ها نسبتی وجود دارد و محتوای کبالت و کلسیم خاک همبستگی مثبتی با محتوای آلکالوئیدی دانه نشان می‌دهد. این عناصر معدنی روی سنتز آلکالوئید نقش دارند (Poutarau & Girardin, 2005). pH خاک و مواد آلی خاک همبستگی معنی‌داری با تولید سالیدروزید در دانه *Rhodiola sachalinensis* A.Bor. دارد. مقدار pH تولید متابولیت‌های ثانویه را تحت تأثیر قرار می‌دهد. یون هیدروژن در خاک، نفوذپذیری غشای سلول‌های ریشه را تغییر می‌دهد به همین دلیل pH خاک رشد گیاهان را به طور مستقیم تحت تأثیر قرار داده و به طور غیرمستقیم جذب مواد غذایی از خاک را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Yan et al., 2004).

در پژوهش حاضر مقدار pH خاک در چهار منطقه تقریباً یکسان و در حد خشتی بوده است و از این نظر تفاوتی بین آنها دیده نمی‌شود.

همچنین Yan و همکاران در سال ۲۰۰۴ در ادامه تحقیقات خود بیان کردند سطوح بالای نیتروژن قابل مبادله و نیتروژن کل در خاک برای تولید بالای سالیدروزید بسیار ضروری می‌باشد. کمیت ازت به شکل نیتراتی یا آمونیومی اثرات معنی‌داری روی تولید سالیدروزید ندارد و به نظر می‌رسد شکل آلی نیتروژن برای تولید سالیدروزید از شکل غیر آلی آن مهمتر باشد. بنابراین با توجه به موارد فوق و نیز

منابع

جعفری، ز. (۱۳۸۲). بررسی خاک مناسب برای رویش بذر، ویژگی‌های تشریحی، تکوینی - کاربولوژیکی و برخی خواص ضد میکروبی گزنه دو پایه (*Urtica dioica* L.)، پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال.

dioica L. مجموعه خلاصه مقالات چهاردهمین

کنفرانس سراسری و دومین کنفرانس بین المللی

زیست شناسی ایران، صفحه ۸۲.

Aksu, M.I., Kaya, M. (2004). Effect of usage *Urtica dioica* L. on microbiological properties of sucuk, a Turkish Dry-fermented sausage. *Food Control* 15,591-595.

Alwadi, H. M., Baka, Z.A.M. (2001). Microorganisms associated with *withania somnifera* leaves. *Microbiological Research* 156(4), 303-309.

Bailey & Scott, S. (1994). *Diagnostical Microbiology*, Mosby, 171-175.

Fenglin, H., Ruili, L., Bao, H., Liang, M. (2004). Free radical scavenging activity of extracts prepared from fresh leaves of selected Chinese medicinal plants. *Fitotrapia* 75(1), 14-23.

Geyid, A., Abebe, D., Debella, A., Makonnen, Z., Aberra, F., Teka, F., Kebede, T., Urga, K., Yersaw, K., Biza, T., Haile, B., Guta, MA., MU. (2005). Screening of some medicinal plants of Ethiopia for their anti-microbial properties and chemical profiles 97(3), 421-427.

Giday, M., Asfaw, Z., Elmqvist, T., Weklidu, Z. (2003). An ethnobotanical study of medicinal plants used by the Zay people in Ethiopia. *Journal of Ethnopharmacology* 85(1), 43-52.

Gulcin, I., Kufreviolu, O. I., Oktay, M., Buyukokurolu, M. E. (2004). Antioxidant, antimicrobial, antiulcer and analgesic activities of nettle (*Urtica dioica* L.). *J. Ethnopharma* 90(2-3), 205-215.

Hom, K., Gochin, M., Peumans, W.J., Shine, N. (1995). Ligand-induced perturbations in *Urtica dioica* agglutinin. *FEBS Letters* 361, 157-161.

Jandle, R., Kopeszki, H., Bruckner, A. and Hager, H. (2003). Forest soil chemistry and mesofauna 20 years after an amelioration fertilization. *Resto. Ecology*. 11(2), 239-246 (8)(Abst.).

مجد، ا.، دیباه، ه.، آبرومندآذر، پ. و جعفری، س.

(۱۳۸۵). بررسی امکان ریزازدیادی و افزایش مقدار

برخی متابولیت‌های ثانویه گیاه گزنه دوپایه *Urtica*

Karata Dugenci, S., Arda, N., Candan, A. (2003). Some medicinal plants as immunostimulant for fish. *Journal of Ethnopharmacology* 88(1), 99-106.

Lewu, F. B., Grierson, D. S., Afolayan, A.J. (2006). The leaves of *pelargonium sidoides* may substitute for its roots in the treatment of bacterial infections. *Biological Conservation* 128,582-584.

Pignatti, S. (1982). *Flora d'Italia*. Vol II. First ed. Edagricole. pp. 125-126. Bologna.

Poutarau, A., Girardin, P. (2005). Influence of chemical characteristics of soil on mineral and alkaloid seed contents of *colchicum autumnale*. *Environmental and experimental Botany* 54, 101-108.

Shale, T. L., Strik, W. A., Staden, J. V. (1999). Screening of medicinal plants used in Lestho for anti-bacterial and anti-inflammatory activity. *Journal of Ethnopharmacology* 67(3), 347-354.

Sokmen, A., Jones, B. M., Erturk, M. (1999). The in vitro antibacterial activity of Turkish medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology* 67(1), 79-86.

Sutcu, K. (2002). Antimicrobial activities of some plant extracts used in folk medicine. *Pharmaceutical Biology* 40(4), 269-273.

Uzun, E., Sariyar, G., Adsersen, A., Karakoc, B., Otuk, G., Oktayoglu, E., Pirildar, S. (2004). Traditional medicine in Sakarya Province (Turkey) and antimicrobial activities of selected species. *Journal of Ethnopharmacology*, 95(2-3), 287-296.

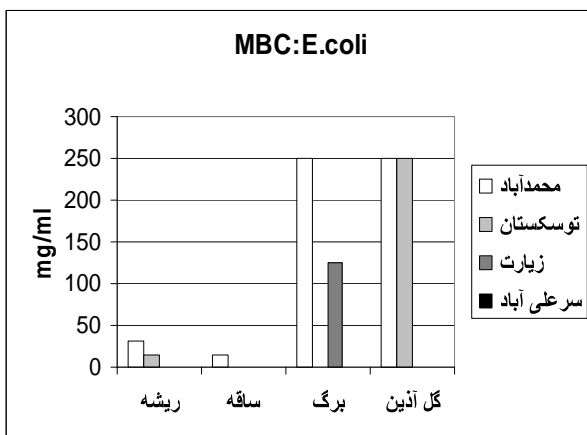
Yan, X., Wu, S., Wang, Y., Shang, X., Dai, S. (2004). Soil nutrient factors related to salidroside production of *Rhodiola sachalinensis* distributed in Chang Bai Mountain. *Environmental and experimental Botany* 52, 267-276.

جدول ۱: نام و مشخصات رویشگاه‌های انتخاب شده.

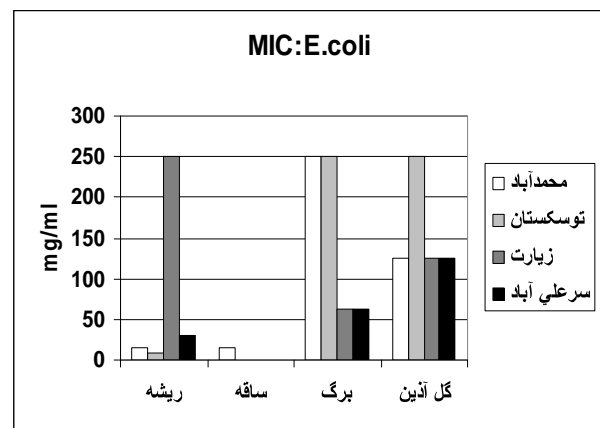
نام / مشخصات	میانگین دمای متوسط سالانه (درجه سانتی گراد)	ارتفاع از سطح دریا (متر)	متوسط بارندگی سالانه (میلیمتر)
محمدآباد	۱۶/۵	۸۰	۳۵۰ - ۴۰۰
توسکستان	۱۶/۹	۵۰۰ - ۷۰۰	۶۴۹
زیارت	۱۷/۷	۲۳۰۰ - ۵۵۰ (۹۶۰)	۴۶۶
سرعلی آباد	۶	۲۳۳۰ - ۱۲۰۰ (۱۸۰۰)	۴۰۰

جدول ۲: مختصات خاک‌های مورد استفاده در پژوهش حاضر (آزمایش خاک توسط شرکت خاک آزمایش انجام شده است).

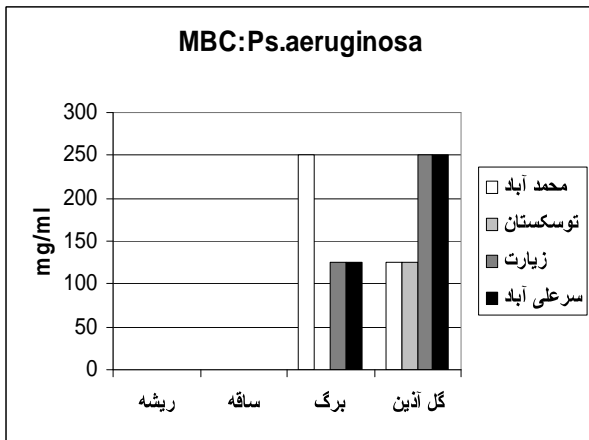
نام رویشگاه	عمق cm	درصد اشباع S.P	هدایت الکتریکی dS/m	pH گل اشباع	درصد مواد خنثی شونده	درصد کربن آلی	درصد ازت کل	فسفر قابل جذب PPM	آمونوم کل PPM	نیتрат کل PPM	% رس	% لای	% ماسه	بافت
محمدآباد	۰ - ۳۰	۳۹/۸	۲/۴	۷/۷	۳۹/۵	۱/۱۵	۰/۱۲	۴۷/۲	۱/۴	۱۸/۲	۱۴	۳۶	۵۰	L
توسکستان	۰ - ۳۰	۶۴/۱	۰/۶	۷/۹	۱۱	۳/۵۳	۰/۳۵	۸/۸	۸/۴	۱۱/۲	۱۶	۳۸	۴۶	L



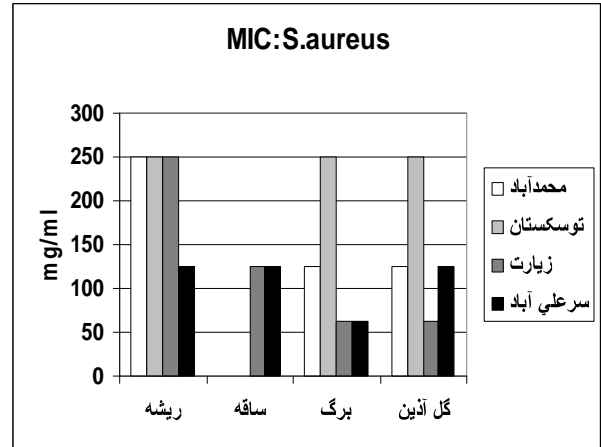
شکل ۲: حداقل غلظت کشنده برای باکتری اشریشیا کلی توسط عصاره اتانولی گزنه از چهار منطقه مختلف استان گلستان



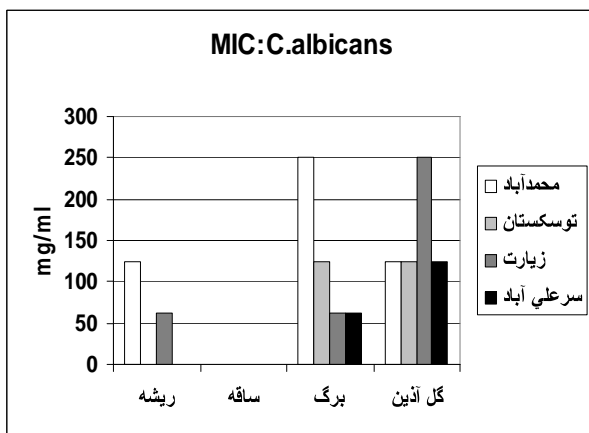
شکل ۱: حداقل غلظت ممانعت کننده برای رشد باکتری اشریشیا کلی توسط عصاره اتانولی گزنه از چهار منطقه مختلف استان گلستان



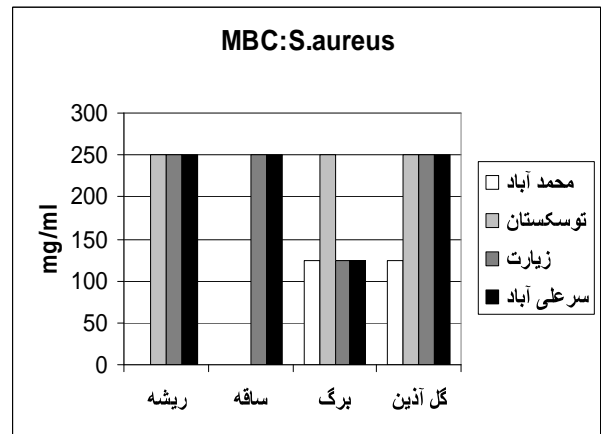
شکل ۶: حداقل غلظت کشنده برای باکتری سودوموناس آئروژینوزا توسط عصاره اتانولی گزنه از چهار منطقه مختلف استان گلستان



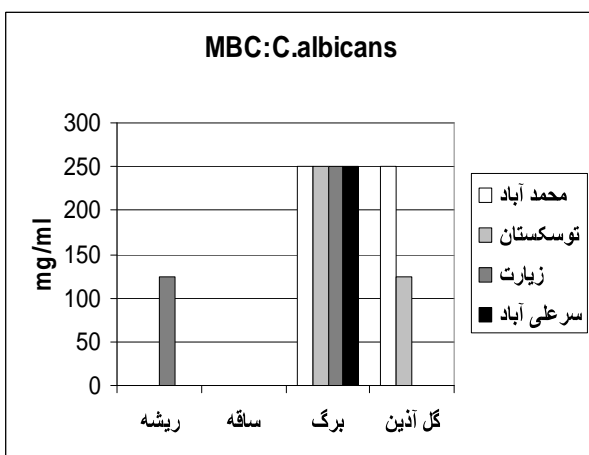
شکل ۳: حداقل غلظت ممانعت کننده برای رشد باکتری استافیلوکوکوس اورئوس توسط عصاره اتانولی گزنه از چهار منطقه مختلف استان گلستان



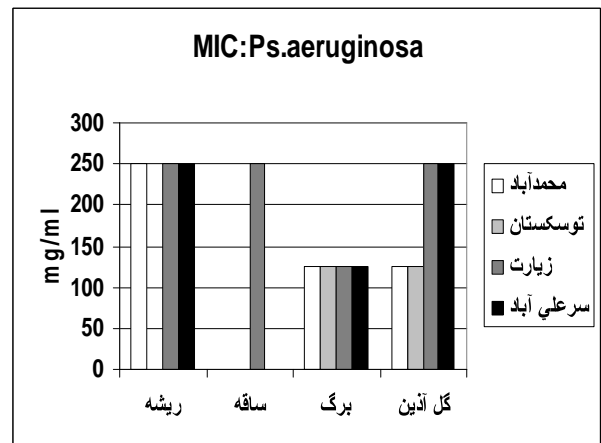
شکل ۷: حداقل غلظت ممانعت کننده برای رشد قارچ کاندیدا آلبیکس توسط عصاره اتانولی گزنه از چهار منطقه مختلف استان گلستان



شکل ۴: حداقل غلظت کشنده برای باکتری استافیلوکوکوس اورئوس توسط عصاره اتانولی گزنه از چهار منطقه مختلف استان گلستان



شکل ۸: حداقل غلظت کشنده برای قارچ کاندیدا آلبیکس توسط عصاره اتانولی گزنه از چهار منطقه مختلف استان گلستان



شکل ۵: حداقل غلظت ممانعت کننده برای رشد باکتری سودوموناس آئروژینوزا توسط عصاره اتانولی گزنه از چهار منطقه مختلف استان گلستان

Some effects of different habitats on antimicrobial activities of (*Urtica dioica* L.)

Mogheyse, E¹., Ghorbanli, M².

1. Young Researchers Club, Islamic Azad University, Gorgan Branch, Iran
2. Department of Biology, Islamic Azad University, Gorgan Branch, Iran

Abstract

Different habitats don't have the same effects on the growth of plants and different climates can influence the rate of efficient compounds of plants. So, we make a decision for researching about *Urtica dioica* L. that it's a medicinal plant and in traditional medicine, it has been used for cure of many diseases. During the reproductive period of stinging nettle the sample of this plant was collected from four regions of Gorgan city situated in Golestan province. The ethanol extract of different organs of *U. dioica* L. was extracted and effected on three bacteria, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Candida albicans*, by using MIC and MBC method. The results of this study showed that ethanol extract has antibacterial and antifungal activity. Prepared extract from high altitude had more antimicrobial effects. It was clear that leaf had most efficient extract among these four evaluated organs (MIC: 62.5mg/ml) and in most cases, stem extract didn't have antimicrobial effect or its effect was little. But *E. coli* excluded of this rule and its root extract always was the most efficient extract in all of the altitudes and had the best inhibitory and fatality (MIC 7.8 mg/ml, MBC 15.62 (mg/ml) effects.

Key words: *Urtica dioica*, Different habitats, Antimicrobial screening