مقاله تحقیقی

مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی بابل
دوره چهاردهم، شمارهٔ ۲، اسفند۱۳۹۰، صفحه ۲۱-۱۶

بررسی تاثیر دمای محیط بر فعالیت ضد باکتریایی عصاره آبی اندام های مختلف گونهViola odorata در مراحل مختلف رشد گیاه

معظمه رمضانی(MSc)[۱]، فاطمه زرین کمر(PhD)[۱]، مقداد باقری(BSc)[۲]، رمضان رجب نیا(PhD)[۳*]

۱- گروه زیست شناسی، دانشگاه تربیت مدرس
۲- گروه میکروب شناسی و ایمنی شناسی دانشگاه علوم پزشکی بابل
۳- مرکز تحقیقات بیماریهای عفونی و گرمسیری، دانشگاه علوم پزشکی بابل

دریافت: ۸۹/۸/۹، اصلاح: ۸۹/۱۰/۱۴، پذیرش: ۹۰/۸/۱۸

خلاصه

سابقه و هدف: بنفشه معطر گونه Viola odorata از گیاهان دارویی مهمی است که در درمان برونشیت‌های حاد، سرماخوردگی و التهاب دستگاه گوارش بکار می‌رود. امروزه به علت گسترش مقاومت میکروبی در برابر آنتی بیوتیکها توجه بیشتری به فعالیت ضد میکروبی گیاهان دارویی می شود. این مطالعه به منظور بررسی تاثیر دمای محیط بر فعالیت ضد باکتریایی عصاره آبی اندام های مختلف گونه Viola odorata در مراحل مختلف رشد گیاه انجام شد.

مواد و روشها: در این مطالعه تجربی- آزمایشگاهی گیاه پس از کاشت در سه تیمار دمایی ۱۰ و ۲۰ و ۳۰ درجه سانتی گراد جمع آوری شد. عصاره گیری با روش پرکولاسیون انجام شد و اثر ضد باکتریایی آنها بر روی ۳ باکتری پاتوژن شامل استافیلوکوکوس اورئوس، اشرشیاکلای، سودوموناس آئروژینوزا، با استفاده از دو روش دیسک دیفیوزن و دیامترودایلوشن جهت تعیین MIC (کمترین غلظت مهارکنندگی رشد) مورد بررسی قرار گرفت.

یافته ها: عصاره آبی گیاه روی هر سه باکتری مورد بررسی اثر داشت به طوری که بیشترین اثر را روی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس (با غلظت۱ میکروگرم بر میلی لیتر) وکمترین اثر را روی سودوموناس آئروژینوزا (با غلظت ۸ میکروگرم بر میلی لیتر) داشته است. در بررسی فعالیت ضدباکتریایی اندام ها دیده شد که تیمار سرما اثر موثرتری را نسبت به تیمار دمایی گرما و شاهد (۲۰درجه سانتیگراد) دارا بوده (با غلظت ۲ میکروگرم بر میلی لیتر) و با رشد گیاه فعالیت ضدباکتریایی در دو اندام برگ و ریشه کاهش یافته ولی در مرحله گلدهی در اندام گل فعالیت ضد باکتریایی (با غلظت ۵/ ۰میکروگرم بر میلی لیتر) افزایش می یابد.

نتیجه گیری: نتایج مطالعه نشان داد که عصاره آبی اندام های این گیاه، در دو تیمار دمایی مختلف بر روی هر سه باکتری مورد بررسی اثرات ضد باکتریایی متفاوتی دارند، بنابراین می توان با ایجاد شرایط بهینه رشد و استفاده از اندام های مختلف، مواد موثره بیشتری را از این گیاهان دارویی برداشت نمود.

واژه های کلیدی: بنفشه معطر، اثر ضد باکتریایی، تیمار سرما و گرما، برگ، گل، ریشه.

مقدمه

امروزه به علت مقاومت میکروارگانیسم های بیماریزا در برابر آنتی بیوتیکها، به ترکیبات فعال زیستی گونه های گیاهی توجه ویژه ای می شود. در اکثر نقاط جهان گیاهان دارویی برای فعالیتهای ضد باکتریایی، ضد قارچی و ضد ویروسی استفاده می شوند. خانواده بنفشه (Violaceae) گیاهانی هستند علفی و به دلیل ترکیبات فنولی، متیل سالیسیلات و آلکالوئیدها از قدیمی ترین گیاهان دارویی محسوب می شوند. از لحاظ خواص درمانی، بنفشه معطر (Viola odorata) با وجود اسید سالیسلیک در تهیه آسپرین بکار می‌رود. دم کرده گل بنفشه جهت درمان برونشیت‌های حاد، گلودرد، سرماخوردگی و بیماری‌های سینه و التهاب دستگاه گوارش و کلیه بکار می‌رود. مصرف گل این گیاه برای درمان بیماری های مخملک، سرخک و به طور کلی تب‌های دانه‌ای تجویز می‌شود. برگ بنفشه اثر نرم کننده دارد و از آن ضمادی به تنهایی تهیه می شود که برای درمان التهاب اعضای خارجی بدن و ورم چشم استفاده می شود. ریشه بنفشه دارای اثرات

▣ این مقاله حاصل پایان نامه معظمه رمضانی دانشجو فیزیولوژی گیاهی دانشگاه تربیت مدرس می باشد.

* مسئول مقاله:
آدرس: بابل، دانشگاه علوم پزشکی، گروه میکروب شناسی، تلفن: ۲۱۹۹۹۳۲۶-۰۱۱۱
e-mail:ramazan69@yahoo.com

[DOR: 20.1001.1.15614107.1390.14.2.2.6]

خلط‌آور بوده که باعث تحریک دستگاه گوارش می‌شود (۱). این گونه به دلیل دارا بودن پلی ساکاریدهای پکتینی و پروتئین های خاص و اسید سالیسیلیک دارای فعالیت ضد باکتریایی است و به دلیل وجود ترکیبات فنلی در آن دارای فعالیت ضد ویروسی می باشند (۲). این گونه به دلیل دارا بودن پروتئین سیکلوتید (cyclotide) باعث فعالیت های مختلفی همچون فعالیت ضد باکتریایی، ضد توموری، ضد سرطانی، ضد حشره خواری، ضدسمی و ضد ویروس نقص ایمنی انسانی (Human Immuno Difeciency Virus, HIV) می باشد. چنین فعالیت هایی باعث می شود خصوصیت ضد سمی این پروتئین کاندیدی برای کاربردهای داروسازی باشد (۴و۳). عوامل متعددی از جمله دماهای مختلف بر روی ویژگی های مورفولوژیکی و مقدار متابولیتهای ثانویه در گیاهان تاثیر می گذارند. مطالعات گیاهان دارویی در شرایط صحرایی نشان می دهد که ترکیبات فعال، در گیاهان وابسته به دماهای مختلف، متفاوت بوده است. بنابراین می توان با تشخیص شرایط بهینه رشد در مورد گیاهان دارویی و فراهم کردن شرایط مطلوب رشد این گیاهان، مواد موثره بیشتری را از این گیاهان برداشت نمود (۶و۵). مطالعات انجام شده نشان داد، تحت تاثیر تیمار دمایی در گیاه broccoli موجب افزایش در میزان فلاونوئیدها شده است. مثلاً براسینو استروئیدها می توانند در مواقع استرس باعث بیان تجمع پروتئین ضدمیکروبی شوند. استرس منجر به بیان ژن و تغییرات بیوشیمیایی، سرانجام منجر به افزایش سنتز متابولیت های اولیه و ثانویه می شوند (۸و۷). بررسی های انجام شده بر روی گیاه الوتروکوکوس سنتیکوروس (Eleutherococcus senticosus) نشان داد که تیمار دمایی سرما و گرما بر میزان وزن خشک، وزن تر، فنول ها، فلاونوئیدها و متابولیت های ثانویه موثر بوده است (۹).

این مطالعه به منظور تعیین تغییر ترکیبات موثره گیاه تحت تنش، در مراحل مختلف تکوین (جوانه زنی بذر، ۵ برگی، ۶ برگی و گل دهی) و نیز معرفی محیطی مناسب برای پرورش گیاه در جهت فعالیت ضد باکتریایی بیشتر انجام شد. تا با انجام این تحقیق بتوان مرحله ای از رشد و اندام خاص (برگ، ساقه، ریشه و گلبرگ) در گیاه را با فعالیت ضد باکتریایی بیشتر تعیین و بهترین شرایط رشد گیاه را در سرما و گرما برای ایجاد فعالیت ضد باکتریایی بیشتر مشخص کرد.

مواد و روشها

این مطالعه بصورت تجربی- آزمایشگاهی انجام شد.

کشت، جمع آوری و عصاره گیری گیاه: در این تحقیق بذرگونه دارویی Viola odorata در دو تیمار دمایی ۱۰ و۳۰ درجه و دمای شاهد ۲۰ درجه، در شرایط گلخانه ای کشت داده شد. اثر ضد باکتریایی این گونه بر روی ۳ باکتری که از مرکز تحقیقات علمی و صنعتی ایران (Persian Type Culture Collection) تهیه شد، انجام گرفت. این باکتری ها شامل استافیلوکوکوس اورئوس (PTCC 1435)، اشرشیاکلای (PTCC 1399) و سودوموناس آئروژینوزا (PTCC 1430) می باشند.

برای استخراج عصاره از گیاه مورد بررسی، قسمت های مورد نیاز، خشک شده و به پودر تبدیل شدند و از حلال های آب و اتانول جهت عصاره گیری از گیاه استفاده شد. تهیه عصاره اتانولی گیاه مورد نظر به روش پرکولاسیون انجام شد (۱۰). یک میلی گرم از پودر نمونه گیاهی مورد نظر را در داخل دکانتور ریخته، سپس مرحله به مرحله به آن اتانول ۷۰ درجه افزوده شد، تا جایی که تمامی حجم گیاه داخل دکانتور خیس شده و اتانول به صورت کامل در نمونه حل شود. پس از یک ساعت، محلول حاوی عصاره و اتانول جداسازی شد. در تهیه عصاره آبی، ابتدا یک میلی گرم از گیاه تازه وزن شده، سپس در محلول کلرید جیوه ۱٪ و آب مقطر استریل به مدت ۳۰ دقیقه، جهت استریلیزاسیون سطحی قرار گرفت. سپس از کاغذ صافی رد شد و گیاه مجددا با آب مقطر استریل شسته شد. ۱۵میلی لیتر آب مقطر ۸۰-۷۰ درجه به آن اضافه کرده و کوبیده شد. عصاره حاصل را در لوله های آزمایش استریل ریخته و در ۸۰۰۰ دور سانتریفوژ صورت گرفت. تمامی این مراحل برای گیاه خشک شده نیز انجام گرفت (۱۱).

بررسی اثر ضد باکتریایی عصاره ها: بررسی اثر ضدباکتریایی عصاره ها به دو روش دیسک دیفیوژن و ماکرو دایلوشن و بر اساس استانداردهای CLSI2006 M2A9 و CLSI2006 M7A7 انجام شد (۱۳و۱۲). باکتری های مورد نظر در محیط کشت مولر هینتون براث کشت داده شده و در ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه شدند تا باکتریها پس از گذشت ۴ تا ۶ ساعت به مرحله رشد تصاعدی رسیده و ایجاد کدورت برابر استاندارد نیم مک فارلند نمایند (۱۴).

روش دیسک دیفیوژن: برای بررسی اولیه اثرات ضد باکتریایی عصاره های الکلی و آبی از روش دیسک دیفیوژن استفاده شد. بدین ترتیب که پس از تهیه سوسپانسیون باکتریایی با کدورت معادل نیم مک فارلند، با استفاده از سواب استریل روی محیط کشت مولر هینتون آگار کشت داده شد. آنگاه دیسک بلانک استریل در غلظت عصاره گیاه (۱ گرم در ۱۵ میلی لیتر حلال) غوطه ور شده و در سطح محیط کشت قرار گرفت پلیت ها در حرارت ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴-۱۸ ساعت قرار داده شد، سپس با مشاهده هاله عدم رشد در اطراف دیسک ها نتایج مورد بررسی قرار گرفتند. این تست برای تعیین اولیه اثر ضد باکتریایی عصاره ها انجام شد. عصاره هایی که دارای اثرات ضد باکتریایی بودند جهت تعیین MIC به روش ماکرو دایلوشن مورد آزمایش قرار گرفتند.

روش ماکرو دایلوشن (تعیین MIC): برای تعیینMIC این عصاره ها بر روی باکتری های مورد نظر از روش Macro dilution Tube و بر اساس پروتکل استاندارد CLSI 2006 M7A7 استفاده شد (۱۳). این کار به روش ۱۰ لوله ای انجام شد. آخرین لوله ای که در آن رشد (کدورت) مشاهده نشد به عنوان MIC برحسب میلی گرم بر میلی لیتر در نظر گرفته شد.

کنترل مثبت: حاوی محیط کشت و باکتری مورد نظر می باشد (فاقد عصاره گیاهی).

کنترل منفی: حاوی محیط کشت و فاقد عصاره گیاهی می باشد (فاقد باکتری مورد نظر).

داده ها با استفاده از آزمون dunkan تجزیه و تحلیل و $p<0/5$ معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته ها

نتایج آزمایشات جهت تعیین اثر ضد باکتریایی بین عصاره حاصل از گیاه خشک و تازه نشان داد که عصاره تازه نسبت به عصاره خشک دارای اثر ضد باکتریایی بیشتری بوده است.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1390.14.2.2.6]

فعالیت ضد باکتریایی عصاره اتانولی گیاه بنفشه: در بررسی تعیین حلال (حلال های آبی و اتانولی)، برای استخراج ترکیبات موثر نتایج نشان داد که حلال الکلی باعث خروج ترکیبات فعال از گیاه نشده و هیچ فعالیت ضد باکتریایی از خود نشان نداد. اما آزمایشات انجام شده بر روی حلال آبی نشان داد که آب گرم (با حرارت ۸۰-۷۰ درجه سانتیگراد) حلال مناسبی برای خروج ترکیبات موثر از اندام های مختلف گیاهی بوده و از خود اثر ضد باکتریایی نشان داده است.

روش دیسک دیفیوژن برای تعیین اثر عصاره آبی روی باکتری های مورد مطالعه: نتایج حاصل از روش دیسک دیفیوژن برای تعیین اثر عصاره آبی روی باکتری های مورد مطالعه نشان داد که عصاره آبی بنفشه معطر اثرات ضد باکتریایی دارد زیرا سبب ایجاد هاله عدم رشد با قطری برابر ۲۱ میلی متر شد. نتایج حاصل از روش دیسک دیفیوژن نشان داد که عصاره آبی هر سه اندام (برگ، گل و ریشه) گیاه در سه تیمار دمایی مختلف روی هر ۳ نوع باکتری اثر مهاری داشته اند. لذا جهت تعیین MIC به روش ماکرودایلوشن مورد آزمایش قرار گرفتند.

نتایج فعالیت ضدمیکروبی عصاره Viola odorata در مراحل مختلف رشد در ۳ تیمار دمایی:

MIC در تیمار دمایی ۱۰ درجه سانتیگراد: نتایج نشان داد که در این تیمار بین ۳ اندام گل، برگ و ریشه، به ترتیب گل دارای بیشترین و ریشه ها دارای کمترین فعالیت ضد باکتریایی بوده اند. عصاره ها بیشترین اثر را روی باکتری استافیلوکوک اورئوس و کمترین اثر را روی سودوموناس آئروژینوزا در طی مراحل محتلف رشد داشته اند. در بررسی مراحل مختلف رشد (جوانه زنی، ۵ برگی، ۶ برگی و گلدهی) دیده شد که فعالیت ضد باکتریایی در مراحل اولیه رشد (جوانه زنی) بیشترین اثر را داشته ($p<۰/۰۰۰۱$) و بتدریج با افزایش عمر گیاه و ورود به مرحله زایشی این فعالیت کاهش یافت ($p<۰/۰۰۱$). البته این کاهش فعالیت تنها در اندام های رویشی مثل برگ و ریشه بود و با ظهور گل این فعالیت در این اندام بیشترین مقدار خود را دارا بود بطوریکه در تیمار دمایی ۱۰ درجه نتایج MIC در غلظت ۵ میکروگرم بر میلی لیتر مشاهده شده است (جداول ۲و۱).

MIC در تیمار دمایی ۳۰ درجه سانتیگراد: نتایج نشان داد که در این تیمار بین ۳ اندام گل، برگ و ریشه، به ترتیب برگ ها دارای بیشترین و ریشه ها دارای کمترین فعالیت ضد باکتریایی بوده اند. عصاره ها، بیشترین اثر را روی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس و کمترین اثر را روی سودومونا آئروژینوزا در طی مراحل محتلف رشد داشته اند. در بررسی مراحل مختلف رشد (جوانه زنی، ۵ برگی، ۶برگی و گلدهی)، مشخص شد که فعالیت ضد باکتریایی در مراحل اولیه رشد (جوانه زنی) دارای بیشترین اثر ($p<۰/۰۰۰۱$) و بتدریج با افزایش عمر گیاه و ورود به مرحله زایشی این فعالیت کاهش یافته است ($p<۰/۰۰۱$). البته این کاهش فعالیت به تدریج در برگ، گل و ریشه ها دیده شد، بطوریکه در تیمار دمایی ۱۰ درجه نتایج MIC در غلظت ۲ میکروگرم بر میلی لیتر مشاهده شد (جداول ۲و۱).

MIC تیمار دمایی ۲۰ درجه سانتیگراد (نمونه شاهد): نتایج MIC نشان داد که فعالت ضد باکتریایی در نمونه شاهد تقریباً مشابه با تیمار دمایی۳۰ درجه بوده و تنها تفاوتشان در نتایج MIC حاصل از اندام برگ می باشد. به طوری که در دمای شاهد، برگ ها فعالیت ضد باکتریـایی کمتـری را نسبت به تیمار دمایی ۳۰ درجه نشان دادند ($p<۰/۰۰۰۱$). در بین ۳ باکتری مورد مطالعه نیز مانند دو تیمار دمایی ۱۰ و۳۰ درجه سانتیگراد، عصاره ها بیشترین اثر را روی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس و کمترین اثر را روی سودومونا آئروژینوزا در طی مراحل محتلف رشد داشته اند (جدول ۱).

جدول ۱. نتایج حاصل از MIC عصاره برگ گیاه Viola Odorata در بیمار دمایی ۱۰، ۲۰ و ۳۰ درجه سانتیگراد

باکتری(MIC(µgr/ml مراحل رشد	اشریشیاکولای	استافیلوکوکوس اورئوس	سودوموناس آئروژینوزا
۱۰ درجه			
مرحله اول (چهاربرگی)	۱	۰/۲	۲
مرحله دوم (پنج برگی)	۱	۰/۲	۲
مرحله سوم(شش برگی)	۲	۰/۵	۴
مرحله چهارم (گلدهی)	۴	۱	۸
۲۰ درجه			
مرحله اول (چهاربرگی)	۵	۵	۲
مرحله دوم (پنج برگی)	۱	۰/۱	۴
مرحله سوم (شش برگی)	۲	۰/۱	۴
مرحله چهارم (گلدهی)	۲	۰/۲	۸
۳۰ درجه			
مرحله اول (چهاربرگی)	۰/۲	۰/۲	۱
مرحله دوم (پنج برگی)	۰/۵	۰/۲	۱
مرحله سوم (شش برگی)	۱	۰/۵	۲
مرحله چهارم (گلدهی)	۲	۰/۱	۲

جدول ۲. نتایج حاصل از MIC عصاره ریشه گیاه Viola Odorata در بیمار دمایی ۱۰ و ۳۰ درجه سانتیگراد

باکتری(MIC(µgr/ml مراحل رشد	اشریشیاکولای	استافیلوکوکوس اورئوس	سودوموناس آئروژینوزا
۱۰ درجه			
مرحله اول (چهاربرگی)	۲	۰/۱	۴
مرحله دوم (پنج برگی)	۴	۰/۱	۴
مرحله سوم (شش برگی)	۴	۰/۲	۸
مرحله چهارم (گلدهی)	۴	۰/۲	۱۰
۳۰ درجه			
مرحله اول (چهاربرگی)	۲	۰/۲	۸
مرحله دوم (پنج برگی)	۴	۰/۲	۸
مرحله سوم (شش برگی)	۴	۰/۵	۱۰
مرحله چهارم (گلدهی)	۸	۱	۱۰

[DOR: 20.1001.1.15614107.1390.14.2.2.6]

بحث و نتیجه گیری

نتایج بررسی ها نشان داد که عصاره های اندام های مختلف بنفشه معطر دارای اثرات ضد باکتریایی موثری بر روی باکتری های سودومونا آئروژینوزا و ایکلای و استافیلوکوکوس اورئوس هستند. مراحل مختلف رشد گیاه و دمای محیط نیز در اثرات ضد باکتریایی عصاره های این گیاه موثر هستند. لذا از آنجایی که این باکتری ها از عوامل مهم عفونت های انسانی، به خصوص عفونت های بیمارستانی هستند احتمالا بتوان از عصاره های اندام های مختلف این گیاه در درمان عفونت های ناشی از باکتری های فوق استفاده کرد. این نتایج با نتایج حاصل از آزمایشات Arora جهت تعیین فعالیت ضد باکتریایی مطابقت داشته است (۱۱).

این عصاره ها بیشترین اثر را بر علیه باکتری استافیلوکوکوس اورئوس و کمترین اثر را بر علیه سودومونا آئروژینوزا در طی مراحل محتلف رشد داشته اند. دلیل عملکرد مطلوب عصاره بنفشه روی باکتری گرم مثبت در مقایسه با عملکرد متوسط ضد باکتریایی بر باکتری گرم منفی، ممکن است به ساختار دیواره سلولی آنها برگردد زیرا باکتری گرم مثبت دارای دیواره سلولی ضخیمی هستند که اساساً از لایه های مختلف پپتید و گلیکان تشکیل شده است در حالیکه در باکتری های گرم منفی، دیواره سلولی نازک بوده و از لایه های کمتری پپتید و گلیکان تشکیل شده است؛ که احتمالا می تواند سبب نفوذپذیری بیشتر عصاره و در نتیجه مقاومت کمتر باکتری های گرم منفی گردد (۱۵). نتایج مربوط به تیمار دمایی نشان داد که گیاه در دمای ۱۰ درجه بیشترین فعالیت ضد باکتریایی را دارد ولی اندام برگ در دمای ۳۰ درجه نسبت به دمای ۱۰ درجه بیشترین اثر را از خود نشان داده است. که این نتایج با نتایج بدست آمده از تحقیقات Craik که بر روی این گیاه انجام داده، مطابقت دارد (۴). در هر صورت می توان نتیجه گیری کرد که آنتوژنی اندام یا سن اندام و نیز تیمارهای مختلف بر بازده عصاره موثر است. ارتباط قوی بین تولید ترکیبات موثر و سن برگ، مربوط به توسعه بافت برگی است که منجر به افزایش واکنش های بیوشیمیایی متناسب با تولید ترکیبات موثر می شود. بررسی مقدار کل عصاره نشان داد که بازده عصاره در طول رشد اولیه گیاه افزایش یافته است و تا مرحله ۶ برگی (مراحل پایانی رشد) بتدریج کاهش نشان می دهد اما در مرحله گلدهی افزایش چشم گیری را در اندام گل داشته است. که این کاهش می تواند در نتیجه تبدیل شدن برخی ترکیبات به یکدیگر و یا کاهش فعالیت آنزیم های بیوسنتزی دخیل در سنتز این ترکیبات باشد (۱۷و۱۶). سنتز اسانس در گیاهان تحت تاثیر آنتوژنی گیاه، مکان تولید اسانس، فتوسنتز، تغییرات فتوپریود، اثرات شدت نور، تنوع فصلی، شرایط اقلیمی، روابط تغذیه ای، تنظیم کننده های رشد گیاهی و نیز تنش های محیطی چون خشکی، شوری و دما تغییر می کند، متابولیت های ثانویه نقش مهمی در مقاومت و دفاع در برابر عفونت های میکروبی ایفا می کنند (۱۹و۱۸).

این گونه با دارا بودن ترکیبات موثری چون پلی ساکاریدهای پکتینی، پروتئین های خاص، اسید سالیسیلیک، ترکیبات فنلی، پروتئین سیکلوتید و غیره، دارای اثر ضد میکروبی، ضدسرطانی و ضدHIV می باشد. همانطور که گفته شد از جمله ترکیبات موثر در این گونه، پروتئین سیکلوتید می باشد؛ این پروتئین از جمله ترکیبات دفاعی است که در مراحل اولیه رشد نسبت به مراحل پایانی رشد به میزان بیشتری تولید می شود و نقش دفاعی را در مراحل اولیه رشد بیشتر از مراحل پایانی ایفا می کند. همچنین تیمار دمایی بالا در طول مراحل اولیه رشد گیاه می تواند باعث افزایش تولید این پروتئین و بدنبال آن افزایش فعالیت ضدمیکروبی گردد. از طرفی گزارشات نشان داد که بیشترین میزان تولید پروتئین سیکلوتید در برگ ها می باشد (۴). می توان احتمال داد که افزایش فعالیت ضد باکتریایی اندام برگ در تیمار ۳۰ درجه نسبت به تیمار ۱۰ و ۲۰ درجه به دلیل تولید بیشتر این پروتئین در این تیمار دمایی باشد. مکانیزم مولکولی تنوع چنین ترکیباتی در بازده عصاره به طور عمومی شامل خاموش شدن ژن ها، مضاعف شدگی و تغییرات ژنتیکی، تنظیم متفاوت ژنتیکی و تغییر و تبدیل های پس از رونویسی می باشد (۲۰). از طرفی بدلیل اینکه در مراحل اولیه رشد، گیاه حساس تر بوده و بیشتر تحت تاثیر عوامل پاتوژنی مختلف قرار دارد پس گیاه ترکیبات دفاعی موثرتری را تولید می کند تا در برابر پاتوژن ها مقابله کند تا موجب آسیب به آن نشود. در مراحل پایانی، گیاه مقاومت خود را بدست آورده و نسبت به شرایط سازگار شده و حساسیت کمتری را نشان می دهد. اما در مرحله زایشی که مرحله جدیدی از رشد است دوباره گیاه نسبت به شرایط جدید حساس تر می شود و برای مبارزه با این حساسیت ترکیبات دفاعی خود را افزایش می دهد.

نتایج مطالعه نشان داد که عصاره آبی اندام های این گیاه، در دو تیمار دمایی مختلف بر روی هر سه باکتری مورد بررسی اثرات ضد باکتریایی متفاوتی دارند، بنابراین می توان با ایجاد شرایط بهینه رشد و استفاده از اندام های مختلف، مواد موثره بیشتری را از این گیاهان دارویی برداشت نمود.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از زحمات اعضای گروه میکروب شناسی و ایمنی شناسی دانشگاه علوم پزشکی بابل تشکر می گردد.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1390.14.2.2.6]

Study of Environment Temperature Effect on the Antibacterial Activity of Water Extract of Different Organs of Viola Odorata in the Different Stages of Growth

M. Ramezani (MSc) [1], F. Zarrinkamar (PhD) [1], M. Bagheri (BSc) [2], R. Rajabnia (PhD) [×3]

1. Department of Biology, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
2. Department of Microbiology & Immunology, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran
3. Infectious Diseases Research Center, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran

J Babol Univ Med Sci; 14(2); Mar 2012; pp: 16-21

Received: Oct 31st 2010, Revised: Jan 4th 2011, Accepted: Nov 9th 2011.

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVE: Viola odorata is an important medicinal plant that used for the treatment of bronchitis, common cold and digestive diseases. Nowadays, due to the spread of bacterial resistance to antibiotics more attention is given to the activity of antimicrobial medicinal plants. The aim of this study was to assess the effect of environment temperature on the antibacterial activity of aqueous extracts of different organs at different stages of viola odorata growth.

METHODS: In this experimental-laboratory study, plant after growth in three temperatures (10, 20 and 30 degree) was collected. Extraction was performed by percolation method, and antibacterial activity of extracts was investigated on three bacteria (Staphylococcus aureus, E. coli, Pseudomonas aeruginosa with disk-diffusion and macrodilution methods.

FINDINGS: Aqueous extract has antibacterial activity on all three bacteria; so that has maximum effect on Staphylococcus aureus (concentration of 1µgr/ml) and minimum effect on Pseudomonas aeruginosa (concentration of 8µgr/ml). Evaluation of antibacterial activity of organs showed that cold treatment has more effect than warm and control treatment. With plant growth, antibacterial activity decreases in leaf and root, but in flowering stage it increases in flower organ.

CONCLUSION: Results of study showed that water extract of the plant organs in two different temperatures on three bacteria has effective antibacterial activity. So, more effective components can be collected by creating optimal conditions for growth and using specious organs.

KEY WORDS: *Viola odorata, Antibacterial activity, Cold and warm temperature, Leaf, Flower, Root.*

[×]**Corresponding Author;**
Address: Infectious Diseases Research Center, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran
Tel: +98 111 2199936
E-mail: Ramazan69@yahoo.com

[DOR: 20.1001.1.15614107.1390.14.2.2.6]

References

1.Arora DS, Kaur GJ. Antibacterial activity of some Indian medicinal plants. J Nat Med 2007;61(3):313-17.

2.Zargari A. Medical plants. 4th ed. Tehran: Tehran University Publication 1997; pp: 220-21.

3.Rosengren KJ, Daly NL, Plan MR, Waine C, Craik DJ. Twists, knots, and rings in proteins. Structural definition of the cyclotide framework. J Biol Chem 2002;278(10):860-1.

4.Craik DJ, Daly NL, Mulvane J, Plan MR, Trabi M. Discovery, structure and biological activities of the cyclotides. Curr Protein Pept Sci 2004;5(5):297-315.

5. Zobayed SM, Afreen F, Kozai T. Temperature stress can alter the photosynthetic efficiency and secondary metabolite concentrations in St, John's wort. Plant Physiol Biochem 2005:43(10-11):977-84.

6.Bourgaud F, Gravot A, Milesi S, Gontier E. Production of plant secondary metabolite: a historical perspective. Plant Sci 2001;161(5): 839-51.

7.Kaplan F, Kopka J, Haskell DW, et al. exploring the temperature-stress metabolome of arabidopsis. Plant Physiol 2004; 136(4):4159-68.

8.Thakur P, Kumar S, Malik JA, Berger JD, Nayyar H. Cold stress effects on reproductive development in grain crops: An overview. Environ Exp Bot 2010;67(3):429-43.

9.Shohael AM, Ali MB, Yu KW, Hahn EJ, Paek KY. Effect of temperature on secondary metabolites production and antioxidant enzyme activities in Eleutherococcus senticosus somatic embryos. Plant Cell Tissue Organ Cult 2006; 85(Issue 2):219-28.

10.Eisa SS, Eid MA. Assessment of the phytoextraction potential of some fast growing halophytes and maize plant. Aust J Basic Appl Sci 2011; 5(5):66-95.

11.Arora DS, Kaur GJ. Antibacterial activity of some Indian medicinal plants. J Nat Med 2007; 61(3):313-17.

12.Wikler MA, Cockerill FR, Craig WA, Dudley MN, Hecht DW. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard. Clinical and Laboratory Standards Institute 2006;26(1):7-12.

13.Wikler MA, Cockerill FR, Craig WA, Dudley MN, Hecht DW. Method for Dilution Antimicrobial Test for Bacteria that Grow Aerobically; Approved Standard. Clinical and Laboratory Standards Institute 2006;26(2): 9-11, 14-16.

14.BaronEJ, Fingold SM. Bailey & Scott Diagnostic Microbiology. 12th ed. Philadelphia: Mosby 2007; pp: 236-40, 365-584.

15.Adibfar P. Medical Microbiology. 4th ed. Tehran: Tehran University of Medical Sciences 2001; pp: 58-60. [in Persian]

16.Nikolova MT, Ivancheva SV. Quantitative flavonoide variations of Artemisia vulgaris L. and Veronica chamaedrys L. in relation to altitude and polluted environment. Acta Biol Szegediensis 2005;49(3-4):29-32.

17.Sangwen NS, Farooqi AHA, Shabih F, Sangwan RS. Regulation of essential oil production in plants. J Plant Growth Regul 2001; 34(1):3-21.

18.Warner RM, Erwin JE. Photosynthetic response of heat tolerant and heat-sensitive cultivars of impatiens Hawkeri and Viola X Witrockiana to high temperature exposure. Int Soc Hortic Sci 2004;80:540-548.

19.Grassmann J, Hippeli S, Erich F. Plants defence and its benefits for animals and medicine: role of phenolics and terpenoids in avoiding oxygen stress. Plant Physiol Biochem 2002;40(6-8):471-8.

20.Craik DJ, Daly NL, Mulvane J, Plan MR, Trabi M. Discovery, structure and biological activity of the cyclotides. Curr Protein Pept Sci 2004; 5(5):297-315

21.Gershenzon J, McConkey ME, Croteau RB. Regulation of monoterpene accumulation in leaves of peppermint. Plant Physiol 2004; 122(1):205-14.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1390.14.2.2.6]