

## فعالیت ضد باکتریایی عصاره های هیدروالکلی گیاه آویشن و به لیمو بر باکتری

*Pseudomonas syringae* در شرایط آزمایشگاهی

فایقه اطمینانی\* و ادیبه اطمینانی

ایران، سنندج، دانشگاه آزاد اسلامی واحد سنندج، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان

تاریخ پذیرش: ۹۷/۲/۲۲

تاریخ دریافت: ۹۶/۱/۱۰

## چکیده

*Pseudomonas syringae* pv. *syringae* عامل شانکر درختان میوه هسته دار، یکی از مهم ترین بیمارگرهای گیاهی در جهان است. پس از جمع‌آوری گیاهان از مناطق مختلف استان کردستان و تهیه عصاره الکلی (اتانول ۷۰ درصد)، حداقل غلظت مهارکنندگی MIC و غلظت کشندگی MBC روی سویه باکتری مورد ارزیابی قرار گرفت. میانگین قطر هاله عدم رشد عصاره های الکلی گیاه آویشن و به لیمو اختلاف معنی داری با تیمار شاهد نشان دادند. حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) عصاره الکلی آویشن و به لیمو به ترتیب ۰/۶۵ و ۱/۳۱ و همچنین حداقل غلظت کشندگی (MBC) عصاره های مذکور به ترتیب ۱/۳۱ و ۲/۶۲ میلی گرم در میلی لیتر محاسبه گردید. باکتری سودوموناس سرینگه نسبت به آنتی بیوتیکهای تتراسایکلین، اریترومايسين، جنتامایسن، نالیدیکسیک اسید به ترتیب با قطر هاله ۲۵، ۱۵، ۲۷ میلی متر حساس و نسبت به آنتی بیوتیک پلی میکسین با قطر هاله ۱۵ میلی متر متوسط تشخیص داده شد و قطر هاله عدم رشد برای اکسی کلورومس ۱۵ میلی متر ملاحظه گردید.

با توجه به نتایج این مطالعه، عصاره گیاهان آویشن و به لیمو اثرات معنی داری در کنترل باکتری مذکور در شرایط آزمایشگاهی دارند که با تحقیقات بیشتر می توان از آنها به عنوان جایگزین مناسبی برای سموم استفاده نمود.

واژه های کلیدی: آویشن، به لیمو، سودوموناس، شانکر

\* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۸۷۳۳۲۴۱۱۷۳، پست الکترونیکی: agriculture.student@yahoo.com

## مقدمه

میزبانی وسیعی است به گونه‌ای که تا به حال بیش از ۱۸۰ گونه گیاهی از جنسهای مختلف از جمله درختان میوه هسته‌دار، دانه‌دار، حبوبات، نیشکر، گندم، برنج و گیاهان زینتی ایجاد بیماری نموده و خسارت وارد می‌کند، اما درختان گیلاس، هلو، گوجه، بادام و زردآلو از مهم‌ترین میزبانان آن به شمار می‌روند. از نظر خسارت اقتصادی یکی از مهم‌ترین بیماریهای درختان میوه هسته‌دار به شمار می‌رود که این خسارت، ۱۶ الی ۷۵ درصد در باغهای جوان برآورد می‌شود (۸). در اثر این بیماری، تغییر رنگ، تیره شدن قسمتی از پوست تنه و بروز شانکر حادث می‌شود که در مواردی قسمتی از درخت یا تمام آن سبز خشک

درختان میوه هسته‌دار به دلیل ارزش غذایی، دارویی و خوش طعمی همواره مورد توجه بوده است سرانه مصرف این محصولات در جهان و ایران رو به افزایش است (۱۲) و (۱۴). بیماریهای مختلفی در جهان موجب کاهش عملکرد محصول این درختان می‌شوند که یکی از مهم‌ترین آنها، بیماری باکتریایی شانکر درختان هسته‌دار است. شانکر درختان هسته‌دار به اسامی دیگری از قبیل گموز باکتریایی، بلاست شکوفه، بلاست غنچه و مرگ سرشاخه نیز شناخته می‌شود، عامل بیماری توسط پاتوارهای *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* از جمله پاتوار *syringae* (Pss) ایجاد می‌شود. این پاتوار دارای دامنه

متابولیتهای موجود در اندامهای مختلف گیاه بر حسب شرایط اکولوژیکی متفاوت است از جمله گیاهان دارویی می‌توان به آویشن و به لیمو اشاره کرد.

آویشن با نام علمی *Thymus vulgaris* از قدیمی‌ترین گیاهان دارویی جهان و متعلق به تیره نعنائیان است. در این گیاه ترکیبات مختلفی از قبیل ترکیبات تانن، فلاونوئید، ساپونین و مواد تلخ، ترکیبات فنولی همانند تیمول، کارواکرول، پاراسمین، لینالول، سینئول، تریپنوئید، گلیکوزید، کافئیک و رزمارینیک اسید گزارش شده است. تیمول ترکیبی فنولی و مهم‌ترین ماده مؤثره آن بوده و ترکیب مهم دیگر آن کارواکرول است که به خوبی در الکل و حلالهای آلی حل می‌شوند و این مواد عمدتاً در طی رشد گیاه در برگهای جوان ذخیره می‌گردند که در خاصیت ضد میکروبی آن نقش به‌سزایی دارد (۹).

به لیمو با نام علمی *Aloysia triphylla* یکی از گیاهان بومی کشور ایران است که امروزه در شمال کشور کشت می‌گردد. علاوه بر آن گونه‌های بومی نیز در مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری ایران وجود دارند. این گیاه از خانواده شاه‌پسند با بیش از ۲۰۰ گونه است. به لیمو برگهای سبز و روشن با بوی مشابه با لیمو دارد ترکیبات مختلفی از قبیل لیمونن و ۱-۸ سینونل، ژرانیول، مگا ژرانیول و کارمن فنیل اکسید از ترکیبهای اساسی مختلفی در برگ لیمو گزارش شده است (۱۱ و ۱۳). این تحقیق با هدف بررسی اثر ضد باکتریایی عصاره‌های لیمو و آویشن بر باکتری سودوموناس سرینگه انجام پذیرفت.

### مواد و روشها

این مطالعه، یک مطالعه تجربی-آزمایشگاهی با محتوای کاربردی بود. به منظور آماده‌سازی عصاره‌های الکلی گیاهان آویشن و به لیمو، گیاهان مذکور از کوه آبدر و عطاری شهرستان سنندج به ترتیب تهیه گردید و پس از تأیید توسط مرکز تحقیقات و آموزش جهاد کشاورزی،

می‌شود، ریشه‌ها سالم مانده و تولید پاجوشهای زیادی می‌کنند. در برخی از درختان هم، مانند زردآلو بر اثر حمله بیماری گاهی فقط بخشی از درخت دچار پژمردگی و خشکیدگی می‌گردد. به طور معمول بیماری به شکوفه‌ها و شاخه‌های گل‌دهنده آسیب وارد نموده و در شرایط جوی مساعد، ضمن خشک نمودن شکوفه‌ها و شاخه‌های گل‌دهنده، موجب مرگ سریع شاخه‌ها می‌گردد. این بیماری هم اکنون از استانهای مازندران، اصفهان، چهارمحال بختیاری، خراسان، فارس، تهران و کردستان گزارش شده است و همه ساله موجب خسارتهای جبران‌ناپذیری به درختان میوه می‌گردد (۲ و ۱۰). در واقع می‌توان گفت حضور این بیماری نه تنها در بسیاری از نقاط کشور، بلکه در جهان از چالشهای همیشگی باغداران بوده و مدیریت آن از اصلی‌ترین دغدغه‌های محققان است اگر چه اقدامات شیمیایی مختلفی از جمله مبارزه شیمیایی به کمک محلولهای بردو در بهار قبل از شکوفه‌دهی به کشاورزان به وفور توصیه شده است، و یا از اکسی‌کلور مس و آنتی‌بیوتیکهای استرپتومایسین و اریترومایسین برای کنترل بیماری کمک گرفته‌اند، که علاوه بر مقرون به صرفه نبودن موجب بروز مقاومت در جمعیتهای باکتریایی شده و در بسیاری از کشورهای پیشرفته اجازه مصرف ندارد به طور کلی در طولانی مدت هیچ یک از این راه‌ها نتوانسته نتیجه مطلوبی را در پی داشته باشد. در عین حال به نگرانیهای بشر در رابطه با مصرف سموم هم افزوده است. مصرف سموم در کنار، اتلاف سرمایه، تحمیل هزینه مضاعف به کشاورزان و در نهایت اضافه شدن قیمت محصول برای مصرف‌کننده، مشکلات جانی و زیست‌محیطی به مراتب خطرناک‌تری را به دنبال دارد که امروزه این مشکلات بر همگان محرز است. لذا بایستی به دنبال راه‌حلی طبیعت‌دوستانه‌تر بود.

از دیرباز گیاهان دارویی همواره مورد توجه بوده‌اند علی‌الخصوص که در دهه‌های اخیر به دلیل خاصیت ضد میکروبی آنها بیشتر مورد مطالعه قرار گرفته‌اند. میزان و نوع

برای مطالعه در نظر گرفته شد. سپس برای تهیه عصاره اتانولی، ۱۰۰ گرم از پودر خشک شده با ۵۰۰ سی سی اتانول ۷۰ درصد، مخلوط، و به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق (۲۲ درجه سانتی‌گراد) نگهداری شد. سپس عصاره به دست آمده توسط کاغذ صافی فیلتر شده وارد دستگاه روتاری اوپریاتور EV311 Lab Tech با سرعت ۱۰۰ دور در دقیقه و دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد (برای حذف اتانول) گردید. سپس عصاره الکلی تهیه شده در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد در انکوباتور خشک شد (۴).

**فعال‌سازی باکتریها:** برای فعال‌سازی سویه باکتری، از محیط‌کشت‌های نوترینت برات و تریپتون سویا برات استفاده گردید و لوله‌های آزمایش محتوی سوسپانسیون باکتری در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت در گرمخانه Memmert نگهداری گردیدند.

**کشت باکتری:** ۲۴ ساعت پس از فعال‌سازی نمونه‌ها، باکتری در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد، در زیر هود لامینار، کنار شعله چراغ الکلی و در شرایط استریل با استفاده از لوپ میکروبی بر محیط‌کشت نوترینت آگار به صورت خطی (streak) کشت گردید.

**تعیین قطر هاله عدم رشد:** مطابق با استانداردهای آزمایشگاهی و کلینیکی (CLSI) پروتکل M45-A برای تعیین قطر هاله عدم رشد از روش دیسک دیفیوژن استفاده گردید. در واقع در این روش، ۱۰/۹۶ میلی‌گرم از عصاره خشک شده آویشن و به لیمو حاصل از حلال الکلی وزن گردید و در ۱ میلی‌لیتر الکل ۹۶ درصد حل گردید. سپس بر روی دستگاه شیکر به مدت ۲ ساعت نگهداری گردید. محلول حاصل را از فیلتر میکروبی ۰/۲۲ عبور داده شد تا سترون شود. دیسک‌های بلانک سترون را به محلول اضافه گردید و در فور 30 memert درجه سانتی‌گراد برای ۲۴ ساعت نگهداری گردید تا کاملاً خشک شود. بعد از آن از کشت تازه باکتریها، سوسپانسیونی با غلظت نیم‌مک فارلند ( $1/1085 \times$  باکتری در میلی‌لیتر) در محیط تریپتون سویا

براث تهیه شد و کاملاً به صورت چمنی در سطح محیط‌کشت مولر هیتتون آگار پخش گردید، دیسک بر روی محیط با پنس سترون قرار داده شد. برای کنترل منفی، دیسک بلانک سترون تنها در اتانول ۷۰ درصد قرار داده شد. برای کنترل مثبت هم از دیسک‌های آنتی بیوتیک استفاده گردید. سپس پلیت حاوی باکتریها و دیسکها برای ۲۴ ساعت در گرمخانه، ۲۶ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. میانگین قطر هاله عدم رشد توسط کولیس برحسب میلی‌متر اندازه‌گیری گردید.

**بررسی کمی حساسیت به روش سریال‌های رقتی:** در این روش جهت تعیین نسبی حداقل غلظت رشد باکتری (MIC) از عصاره الکلی سریهای رقت ۱/۲، ۱/۴، ۱/۸، ۱/۱۶، ۱/۳۲ در محیط مولر هیتتون برات تهیه شد. مطابق دستورالعمل مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران شماره ۵۸۷۵ (نگهدارنده‌ها-تعیین حداقل غلظت بازدارنده (MIC)-روش آزمون میکروبیولوژی) ۱۳ لوله آزمایش برای هر سویه، در فور با دمای ۱۶۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید تا کاملاً سترون شود. سپس در لوله‌های شماره ۲ تا ۱۰، ۱۰۰۰ میکرولیتر از تریپتون سویا برات (با اسیدیته ۷) توزیع گردید. لوله‌ها در اتوکلاو با دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد ۱۵ دقیقه سترون شدند. سپس درون لوله شماره ۱، ۱۰۰۰ میکرولیتر از عصاره الکلی خالص ریخته شد و در لوله شماره ۲، ۱۰۰۰ میکرولیتر عصاره خالص اضافه گردید. بعد از حل شدن کامل از لوله شماره ۲، ۱۰۰۰ میکرولیتر برداشته و به لوله شماره ۳ منتقل گردید تا رقت ۱:۴ حاصل گردد. این کار تا لوله شماره ۱۰ تکرار گردید. در نهایت از لوله شماره ۱۰، ۱۰۰۰ میکرولیتر خارج گردید تا حجم تمام لوله‌ها مشابه باشد. در نهایت برای هر سه تکرار رقت‌های زیر فراهم گردید. به تمام لوله‌ها ۱۰۰۰ میکرولیتر از باکتری با غلظت نیم‌مک فارلند ( $1/5 \times 10^8$ ) CFU/ml اضافه گردید تا شرایط برای تمام تیمارهای آزمایش مشابه باشد.

تکرار انجام پذیرفت و برای مقایسه میانگین داده‌ها از آزمون آماری DUNCAN استفاده شد.

### نتایج

نتایج مربوط به قطر هاله عدم رشد در جدول ۱ نشان داده شده است. بیشترین قطر هاله عدم رشد مربوط به عصاره الکلی آویشن با قطر هاله ۱۸ میلی متر و پس از آن مربوط به عصاره الکلی به لیمو با قطر هاله عدم رشد  $8/66+0/57$  میلی متر گزارش شد.

**تعیین MBC:** برای تعیین MBC، بعد از تهیه محیط کشت مولر هینتون آگار در پلیتهای ۱۰ سانتیمتری توزیع گردید و هر کدام از پلیتها به ده قسمت مساوی تقسیم گردید. سپس از لوله شماره ۱ تا لوله شماره ۱۰ MIC، عصاره الکلی، ۱۰ میکرولیتر را برداشته و به پلیت اضافه گردید و در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد در انکوباتور نگهداری گردید.

**تجزیه و تحلیل آماری:** برای آنالیز آماری داده‌ها از نرم افزار SPSS V.20 در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه

جدول ۱- میانگین قطر هاله عدم رشد دیسکهای حاوی عصاره‌های الکلی آویشن و به لیمو بر باکتری سودوموناس سرینگه

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1.00	3	18.0000	1.00000	.57735	15.5159	20.4841	17.00	19.00
2.00	3	8.6667	.57735	.33333	7.2324	10.1009	8.00	9.00
Total	6	13.3333	5.16398	2.10819	7.9141	18.7526	8.00	19.00

نسبت به آنتی بیوتیک پلی میکسین با قطر هاله ۱۵ میلی متر متوسط تشخیص داده شد و قطر هاله عدم رشد برای اکسی کلورومس ۱۵ میلی متر ملاحظه گردید (شکل ۱).

همچنین طبق جدول CLSI (جدول ۲) نشان داده شده، که باکتری سودوموناس سرینگه نسبت به آنتی بیوتیکهای تتراسایکلین، اریترومایسین، جنتامایسین، نالیدیکسیک اسید به ترتیب با قطر هاله ۲۵، ۱۵، ۲۵، ۲۷ میلی متر حساس و

جدول ۲- میانگین قطر هاله عدم رشد دیسکهای حاوی آنتی بیوتیکهای مختلف بر روی باکتری سودوموناس سرینگه (میلی متر)

CLSI			دیسک آنتی بیوتیک	
مقاوم	متوسط	حساس	سودوموناس سرینگه	
$\leq 14$	۱۵-۱۸	$\geq 19$	۲۵	تتراسایکلین
$\leq 11$	۱۲-۱۴	$\geq 15$	۱۵	اریترومایسین
$\leq 12$	۱۳-۱۴	$\geq 15$	۲۵	جنتامایسین
$\leq 14$	۱۵-۲۰	$\geq 21$	۲۷	نالیدیکسیک اسید
$\leq 13$	۱۴-۱۸	$\geq 19$	۱۵	پلی میکسین

طبق مقادیر MIC و MBC ارائه شده در (جدول ۳ و ۴) حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل غلظت کشندگی عصاره الکلی آویشن برای باکتری سودوموناس سرینگه به ترتیب ۰/۶۵ و ۱/۳۱ میلی گرم در میلی متر و حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل غلظت کشندگی عصاره الکلی به لیمو به ترتیب ۱/۳۱ و ۲/۶۲ میلی گرم در میلی لیتر محاسبه گردید.



شکل ۱- بررسی هاله عدم رشد سویه باکتریایی سودوموناس سرینگه در حضور آنتی بیوتیکها و اکسی کلورومس

روند اما استفاده بیش از اندازه از این ترکیبات در باغات و مزارع کشاورزی سبب ایجاد آلودگی در محیط زیست گردیده و به عنوان یک آلاینده خاک مطرح می‌باشد به طوری که Pietzark and Mcphail (۲۰۰۴) بیان داشتند که حضور غلظت بالای ترکیبات مسی حاصل از سموم در باغات مختلف کشاورزی از جمله در هند ۱۱-۳۲۰ mg/kg و فرانسه ۱۰۰-۱۵۰۰ mg/kg است (۱۵). در مورد معایب ترکیبات مسی نیز می‌توان به تأثیر پایین و مشکلات گیاه سوزی اشاره نمود. همچنین این ترکیبات، پایدار بوده و در چرخه‌های اکولوژیک وارد می‌شوند. مصرف این ترکیبات باعث تجمع مس در خاک و منابع آبی می‌شود. از آن جایی که مس و ترکیبات مسی خاصیت باکتری کشی دارند، لذا اثرات بسیار مخربی بر میکروارگانیسمها گذاشته و بدین ترتیب از فرآیند تجزیه مواد آلی در خاک جلوگیری می‌کند (محمودی و همکاران، ۱۳۸۹ : ۵) استفاده نمودن در طولانی مدت نتوانسته نتیجه مطلوبی را در پی داشته باشد (۹). در عین حال به نگرانیهای بشر در رابطه با مصرف سموم هم افزوده است. در این خصوص افزایش آگاهی متخصصین و عموم مردم از خطرات ناشی از تماس کوتاه مدت و دراز مدت، شامل سرطانزایی، بیماریهای سیستم عصبی، تنفسی و زاد آوری و .. توجه عموم و دولتمردان را به خود جلب نموده است. امروزه آلودگی محیط زیست به صورت یک مسئله جهانی در آمده است. سموم کشاورزی یکی از اصلی‌ترین آلاینده‌های آن به حساب می‌آید. وجود سموم شیمیایی در آب‌های زیرزمینی برای انسان بسیار خطرناک است. به همین دلیل در برخی کشورها، برنامه‌های کاهش مصرف سموم شیمیایی توسط دولت‌ها اجباری شده است. یکی از مهم‌ترین راه حلها، استفاده از ترکیبات طبیعی به عنوان جایگزین سموم شیمیایی است.

عصاره های گیاهی از زمانهای دور به دلیل خواص ضد میکروبی آنها در درمان بیماریهای مختلف به کار رفته اند. در پژوهشی که به منظور بررسی اثر عصاره مرزه، رزماری

جدول ۳- مقدار MIC و MBC عصاره های الکلی آویشن بر باکتری

سودوموناس سرینگه

MBC	MIC	باکتری
۱/۳۱	۰/۶۵	سودوموناس سرینگه

جدول ۴- مقدار MIC و MBC عصاره های الکلی به لیمو بر باکتری

سودوموناس سرینگه

MBC	MIC	باکتری
۲/۶۲	۱/۳۱	سودوموناس سرینگه

## بحث

کشت درختان میوه هسته‌دار در مناطق مختلف استان کردستان قدمتی دیرینه دارد. بیماریهای مختلفی موجب کاهش عملکرد محصول این درختان می‌شوند که یکی از مهم‌ترین آنها، بیماری باکتریایی شانکر درختان هسته‌دار است.

بیماری شانکر باکتریایی در باغهای درختان میوه هسته‌دار از سالها پیش وجود داشته است که از نظر خسارت اقتصادی حائز اهمیت است. این خسارت ۱۶ الی ۷۵ درصد در باغهای جوان برآورد می‌شود (۸). در اثر این بیماری میوه‌ها کوچک و بد شکل شده و بازارپسندی خود را از دست می‌دهند. نشانه‌های بیماری به رقم، سن درخت، بافت مورد حمله و نژاد بیمارگر بستگی دارد. معمولاً در سالهایی که در طول شکوفه‌دهی و یا مدت کوتاهی بعد از آن، هوای سرد و مرطوب حادث شود، خسارت آن شدیدتر خواهد بود. اصلی‌ترین خسارت این بیماری، برگریزی شدید درختان است که در نهایت به ضعف شدن درخت و خشک شدن کامل درختان منجر می‌شود. عدم آشنایی باغداران با این بیماری و همچنین کنترل نسبتاً مشکل آن از جمله مهم‌ترین عوامل افزایش خسارت و نابودی درختان است (۶). یکی از مهم‌ترین راه حلها برای کنترل این بیماری، استفاده از سموم شیمیایی است. کاربرد سموم شیمیایی از جمله باکتری کشها به دلیل وجود ترکیبات مسی برای مبارزه با بیماریهای مختلف به کار می

بیشترین اندازه هاله رشد را به خود اختصاص داده است که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد (۴).

در پژوهش دیگری طبرسا و همکاران (۱۳۹۵) به بررسی اثر ضد باکتریایی عصاره برگ به لیمو بر روی باکتریهای اشریشیاکلاهی و استافیلوکوکوس اورئوس پرداختند نتایج نشان داد که غلظت‌های مختلف عصاره اتانولی برگ به لیمو موجب کاهش تعداد باکتریها گردید به گونه‌ای که هر چه به غلظت عصاره در زمانهای مختلف افزوده می‌شود، تعداد باکتریها کاهش می‌یابد و این کاهش با افزایش زمان بیشتر می‌شود (۵).

علیمی و جهان تیغ (۷) در بررسی اثر چندین عصاره گیاهی دارویی بر کنترل عامل بیماری بلاست مرکبات دریافتند که عصاره های گیاهان دارویی مختلفی از قبیل ریحان، پونه، رزماری، اسطوخودوس، آویشن و گزنه در شرایط آزمایشگاهی بهتر از اثر آنتی بیوتیکها و ترکیبات اکسی کلرور در شرایط آزمایشگاهی بود. اما در شرایط باغی گزارش نمودند که بین تیمارهای عصاره های گیاهی، آنتی بیوتیک و سموم اختلاف معنی داری مشاهده نمودند، اما به هر حال کارآیی آنها در شرایط باغی عصاره های این گیاهان معادل مبارزه شیمیایی بوده است.

به نظر می‌رسد که با مطالعه عصاره گیاهان دارویی مناطق مختلف در مناطق با پوشش گیاهی متفاوت و بررسی خواص ضد میکروبی آن بتوان از این ترکیب طبیعی به جای سموم شیمیایی استفاده نمود. این ترکیبات بر خلاف سموم شیمیایی خاصیت گیاه سوزی ندارند. در این پژوهش ثابت شد که عصاره‌های حاصل از حلال الکلی گیاهان آویشن و به لیمو کردستان بر باکتریهای سودوموناس سرینگه در شرایط آزمایشگاه مؤثر باشد و از آنجا که پیدایش اشکال مقاوم باکتریها در برابر سموم شیمیایی غالباً به میزان زیاد به وقوع می‌پیوندد و از طرفی همراه با تحمیل هزینه‌های جانبی و عوارض زیستی خطرناک است، لذا یافتن ترکیباتی طبیعی (از جمله عصاره

و اسطوخودوس بر باکتری *Rhizobium radiobacter* صورت پذیرفت، کنترل معنی دار باکتری مذکور گزارش گردید. اسطوخودوس با ۱۰۰ درصد بازدارندگی بیشترین و مرزه و رزماری با ۹۹/۶ درصد و ۹۹/۵ درصد اثر مطلوبی بر جای می‌گذارد. اکسی کلرور مس اثرات کمتری در حدود ۳۸/۴۴ درصد نشان داد (۱). در این پژوهش عصاره آویشن با میانگین قطر هاله عدم رشد ۱۸ میلی متر بیش از ترکیب اکسی کلرور مس با قطر هاله ۱۵ میلی متر قادر به کنترل باکتری سودوموناس سرینگه گردید. تحقیقات حسن زاده و همکاران (۳) در مطالعه گسترده ای که در رابطه با اثر ۲۷۰ اسانس و عصاره گیاهی بر عامل بیماری آتشک سیب و گلابی انجام پذیرفت، گزارش نمود که عصاره گیاه آویشن بهتر از دیگر گیاهان قادر به کنترل باکتری عامل بیماری است. محمودی و همکاران (۹) در بررسی اثر عصاره گیاهان نعناع، مریم گلی، زیره، کاکوتی و زنیان به ترتیب با میزان بازدارندگی ۶/۳، ۶/۱۷، ۵/۷۷، ۵/۵۷، ۴/۷۷ سانتیمتر بالاترین میزان بازدارندگی و اسانس گیاهان بومادران، گشنیز، گلپر و عصاره مریم گلی کمترین اثر را نشان دادند. عصاره آبی چریش بیشترین میزان بازدارندگی و عصاره آبی آنغوزه و آویشن هیچ گونه تأثیری در رشد باکتری نداشتند. در بررسی اثر عصاره های گیاهی بر باکتری سودوموناس سرینگه اسانس آویشن، زنیان، زیره و نعناع، با بازداری ۳/۲۷، ۲/۲۲، ۲/۱۷، ۲ سانتیمتر بیشترین اثر و کاکوتی، گشنیز و رزماری دارای اثر متوسط بوده و اسانس مریم گلی و آنغوزه تأثیری در جلوگیری از رشد باکتری نداشتند.

طاهری عزیز آبادی و همکاران (۱۳۹۲) به منظور بررسی خاصیت ضد باکتریایی عصاره برگ گیاه دارویی به لیمو، از عصاره های این گیاه در غلظت‌های مختلف ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر استفاده نمودند آنها دریافتند که غلظت ۲۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر عصاره برای باکتری سودوموناس سرینگه با میانگین قطر هاله ۱۰ میلی متر

جوان و نخبگان دانشگاه آزاد اسلامی واحد سنندج انجام پذیرفته است. لذا نویسندگان مقاله مراتب تشکر و قدردانی خود را نسبت به ریاست باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان واحد سنندج ابراز می‌دارند. ضمناً بین نویسندگان تعارض منافع وجود ندارد.

های گیاهی) با خاصیت ضد میکروبی، به دلیل ماهیت طبیعی و ایمن بودن آن برای سلامت انسان و محیط زیست می‌تواند با مطالعات بیشتر توصیه گردد.

### تشکر و قدردانی

این تحقیق با حمایت مادی و معنوی باشگاه پژوهشگران

### منابع

- ۱- اشرفی، ح، حسن زاده، ن و قطب شریف، ج. ۱۳۸۴. بررسی عصاره های گیاهی در مقایسه با سموم معمول در کنترل *Rhizobium radiobacter* پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم تحقیقات تهران، ۷۷ صفحه.
- ۲- بهداد، ا. ۱۳۸۵. فیتوپاتولوژی و بیماریهای مهم گیاهی ایران. عطر، ۸۰۰ صفحه.
- ۳- حسن زاده، ن. ۱۳۸۴. فن آوری استفاده از مواد طبیعی گیاهان با تاکید بر مدیریت بیماری آتشک، ویژه نامه مجله علمی پژوهشی علوم کشاورزی. (۱)۱۱: ۵۳-۶۷.
- ۴- طاهری عزیزآبادی، ح، باقری، ن. ع، بابائیان جلودار ن. ع. و شریفی مهر، س. ۱۳۹۲. بررسی خاصیت آنتی‌باکتریایی عصاره گیاه دارویی به لیمو (*Lippia citriodora*) بر برخی سویه‌های باکتری گرم مثبت و منفی، همایش ملی گیاهان دارویی، تهران، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات آیت الله آملی.
- ۵- طبرسا، ح. ع، کوهساری، ه. و فدوی، ا. ۱۳۹۵. اثر ضد باکتریایی عصاره برگ به لیمو علیه باکتریهای اشریشیاکلاسی و استافیلوکوکوس اورئوس در بستنی سنتی. نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی. جلد ۲۶ شماره ۴. ۷۴۷-۷۳۷.
- ۶- عسگری، ص، انصاری سامانی، ر، دریس، ف، شاهین فرد، ن، سلیمی، م، مرتضایی، س، اصغرزاده، س، شیرزاد، ه. و رفیعیان کویایی، م. ۱۳۹۱. ارزیابی اثر آنتی‌اکسیدانی و کاهندگی برخی فاکتورهای انعقادی عصاره هیدروالکلی موسیر در خرگوش های هاپرکلسترولمیک. مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مازندران. ۲۲(۹۱): ۴۰-۴۸.
- ۷- علیمی، م. و جهان تیغ، س. ۱۳۹۱. بررسی تأثیر عصاره چند گیاه دارویی بر کنترل بیماری بلاست مرکبات. فصلنامه پژوهش های علوم گیاهی. ۷: ۵۷-۶۶.
- ۸- قاسمی، ا. و حمزه نژاد، پ. ۱۳۸۵. ارزیابی مقاومت گیلان نسبت به باکتری *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* مجله علوم کشاورزی ایران. ۳۷(۳): ۵۶۲-۴۵۷.
- ۹- محمودی، ه، رهنما، ک. و عریخانی، م. ع. ۱۳۸۹. بررسی اثر ضد باکتریایی اسانس و عصاره آبی گیاهان دارویی بر باکتریهای عامل شانکر و لکه برگ درختان میوه هسته دار. فصلنامه علمی پژوهشی گیاهان دارویی. ۹(۴): ۳۶-۴۲.
- 10- Agrios G N. 2005. Plant pathology. 5th ed. Academic press, San Francisco, California. Pp.922
- 11- Blumenthal M. 2000. Herbal Medicine First ed. Integrative Medicine Communications USA, Pp: 519.
- 12- Bradbury JF. 1986. Pseudomonas syringae pv. syringae, In: Guide to plant Pathogenic Bacteria. CAB International Mycological Institute, Kew, England, 175-177.
- 13- Carnat A, Carnat AP, Fraiss D, and Lamaison JL. 1999. The aromatic and polyphenolic composition of lemon verbena tea. Fitoterapia, 70(1): 44-49.
- 14- FAO. 2014. Fao statistic deviation. <http://faostat.Fao.org>
- 15- Pietrzak, U., McPhail, D.C. 2004. Copper accumulation, and fractionation in vineyard soils of victoria, Australia. GEODERMA, 122: 151-166.

## **Antibacterial activity of alcoholic extracts of *Thymus* spp. and *Aloysia* spp. against *Pseudomonas syringae* in laboratory condition**

**Etminani F. and Etminani A.**

Young researchers and Elite Club, Sanandaj branch, Islamic Azad Univarseity, Sanandj, I.R. of Iran

### **Abstract**

*P. syringae* pv. *syringae* (Pss), the causal agent of bacterial canker and blast of stone fruit trees, is one of the most important plant pathogen in the world. This research was conducted to survey antibacterial activity of plant extraction on *P. syringae* pv. *syringae* bacterial strains. Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) activity for bacterial strains were determined. Inhibitory concentrations (MICs) of alcoholic extract of *Thymus* spp. and *Aloysia* spp. were 0/65 and 1/31 and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) activity was 1/31 and 2/62 mg/mL respectively. *Pseudomonas syringae* was recognized susceptible to Tetracycline, Erythromycin, Gentamicin and nalidixic acid with halo diameter 25, 15, 25 and 27 and medium susceptibility to Polymyxins with 15 mm and finally 15 mm were observed for Copper oxychloride. According to the results, plant extraction showed significant effect on control of the above mentioned bacteria in laboratory condition and with further research, it can be used instead of chemical compound .

**Key words:** *Aloysia*, canker, *Pseudomonas*, *Thymus*