

بررسی اثر ضدباکتریایی اسانس و عصاره آبی گیاهان دارویی بر باکتری‌های عامل شانکر و لکه برگ درختان میوه هسته‌دار

هادی محمودی^{۱*}، کامران رهنما^۲، محمدعلی عربخانی^۳

- ۱- دانشجوی کارشناسی ارشد بیماری‌های گیاهی، گروه گیاهپزشکی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان و عضو باشگاه پژوهشگران جوان دانشگاه آزاد اسلامی واحد فردوس
- ۲- دانشیار، گروه گیاهپزشکی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان
- ۳- دانشجوی کارشناسی ارشد بیماری‌های گیاهی، گروه گیاهپزشکی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان

*آدرس مکاتبه: بیرجند، کیلومتر ۱۸ جاده بیرجند - کرمان، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی خراسان جنوبی، صندوق پستی: ۴۱۳، تلفن: ۰۹۱۵۶۶۵۹۸۵۱، نمابر: ۲۲۲۲۶۲۴ (۰۵۶۱)

پست الکترونیک: Hd_mahmoudi@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۸۷/۹/۳۰

تاریخ تصویب: ۸۸/۳/۱۳

چکیده

مقدمه: شانکر و لکه برگ باکتریایی درختان میوه هسته‌دار به وسیله باکتری‌های *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* و *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* ایجاد می‌شوند. با توجه به اثرات سوء سموم کشاورزی بر اکوسیستم‌های زیستی استفاده از ترکیبات ضد میکروبی بی‌خطر از جمله اسانس و عصاره‌های گیاهان دارویی امری ضروری به نظر می‌رسد.

هدف: مطالعه اثر ضدباکتریایی چهارده اسانس و چهار عصاره آبی گیاهی روی باکتری‌های ذکر شده.

روش بررسی: اسانس گیاهان به روش تقطیر با آب استخراج شد. اثر ضد میکروبی اسانس‌ها به روش نشر از چاهک در ۳ تکرار روی باکتری‌های ذکر شده مورد بررسی و داده‌ها با نرم‌افزار SAS تجزیه شد.

نتایج: نتایج نشان دادند که بین اسانس‌ها در بازداری از رشد باکتری‌ها تفاوت معنی‌داری وجود دارد. در باکتری *Xap* اسانس نعناع، مریم‌گلی، زیره، کاکوتی و زنیان به ترتیب با میزان بازدارندگی ۶/۳، ۶/۱۷، ۵/۷۷، ۵/۵۷ و ۴/۷۷ سانتی‌متر بالاترین میزان بازدارندگی و اسانس گیاهان بومادران، گشنیز، گلپر و عصاره مریم‌گلی کمترین اثر را نشان دادند. عصاره آبی چریش بیشترین میزان بازدارندگی و عصاره‌های آبی آنغوزه و آویشن هیچ‌گونه تاثیری در رشد باکتری نداشتند. در باکتری *Pss* اسانس آویشن، زنیان، زیره و نعناع با میزان بازداری از رشد ۳/۲۷، ۲/۲۲، ۲/۱۷ و ۲ سانتی‌متر بیشترین اثر و کاکوتی، گشنیز و رزماری دارای اثر متوسط بوده و اسانس مریم‌گلی و آنغوزه تاثیری در جلوگیری از رشد باکتری نداشتند.

نتیجه‌گیری: با توجه به اثرات بازدارندگی این اسانس‌ها روی باکتری‌های عامل شانکر و لکه برگ درختان میوه هسته‌دار از این ترکیبات می‌توان در کنار سایر روش‌های کنترل به منظور کاهش مصرف سموم استفاده نمود.

کلواژگان: اسانس و عصاره، گیاهان دارویی، شانکر و لکه برگ باکتریایی درختان میوه هسته‌دار



مقدمه

شانکر باکتریایی درختان میوه هسته‌دار در تمام مناطق عمده کشت درختان میوه جهان وجود دارد. این بیماری تحت نام‌های بلاست جوانه، بلاست شکوفه، سرخشیدگی و بلایت سرشاخه هم شناخته شده و یکی از مهم‌ترین بیماری‌های درختان میوه هسته‌دار در بسیاری از نواحی کشت میوه و از جمله ایران است. برآورد خسارت به دلیل صدمات شدید وارد شده به درختان و همچنین کاهش تولید مشکل است. این بیماری باعث زوال درختان میوه جوان و کاهش محصول درختان مسن می‌شود [۱]. در ایران این بیماری اولین بار توسط بهار و همکاران [۲] روی درختان زردآلو در اصفهان مشاهده و میزان خسارت آن ۵۰ - ۲۲ درصد ذکر شد. عامل شانکر باکتریایی درختان هسته‌دار *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* (Pss) و عامل لکه برگ باکتریایی این درختان *Xanthomonas arboricola* pv. *Pruni* (Xap) هستند. نشانه‌های بیماری به رقم، سن درخت، بافت مورد حمله میزبان، نژاد بیمارگر و شرایط محیطی بستگی دارد. تشکیل شانکر به همراه تراوش‌های صمغی از مشخص‌ترین علائم بیماری بوده و نواحی آلوده اندکی فرورفته و نسبت به پوست سالم مجاور تیره‌تر می‌باشند. علائم این بیماری روی برگ به صورت بروز لکه‌های آب‌سوخته است که در نهایت قهوه‌ای و خشک شده و حالت غربالی در برگ‌ها به وجود می‌آید. روی میوه‌های آلوده لکه‌های سطحی و قهوه‌ای به وجود می‌آید [۳]. استفاده از ارقام مقاوم و مبارزه شیمیایی با سموم حفاظتی از جمله ترکیبات مسی و آنتی‌بیوتیکی راهکارهای موجود برای کنترل بیماری در ایران می‌باشد. استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها از جمله استرپتومایسین و اریترومایسین علاوه بر مقرون به صرفه نبودن موجب بروز مقاومت در جمعیت‌های باکتری شده و در کشورهای اروپایی اجازه مصرف ندارند [۴]. در مورد معایب ترکیبات مسی نیز می‌توان به تاثیر پایین و مشکلات گیاه سوزی آنها 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 آنجایی که مس و ترکیبات مسی

خاصیت قارچ‌کشی و باکتری‌کشی دارند لذا اثرات بسیار مخربی بر میکروارگانیسم‌های خاک داشته و بدین ترتیب از فرایند تجزیه مواد آلی در خاک جلوگیری می‌کنند [۵].

اهمیت استفاده از گیاهان دارویی در درمان بیماری‌ها و ممانعت از رشد باکتری‌های بیماری‌زا به خوبی شناخته شده و امروزه نیز اثرات ضدقارچی و ضدباکتریایی بسیاری از ترکیبات گیاهی به اثبات رسیده است [۶]. تاثیر اسانس مریم نخودی^۱ روی باکتری‌های *Pseudomonas aeruginosa*، *Bacillus subtilis* و مخمر *Candida albicans* [۷]، کاهش رشد باکتری *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (عامل بیماری لکه برگ برنج) توسط عصاره اتانولی برگ تاتوره [۸]، اثرات ضدباکتریایی عصاره‌های زرشک و سیر روی *Agrobacterium tumefaciens* (عامل بیماری سرطان طوقه انگور) و *Erwinia amylovora* (عامل بیماری آتشک سیب و گلابی) [۹]، تاثیر خوب عصاره گیاه بابونه رومی^۲ و بابونه مجارستانی^۳ روی چهار تیپ مختلف باکتری عامل شانکر مرکبات [۱۰]، اثرات ضدباکتریایی اسانس گل رز^۴ روی باکتری *X. axonopodis* subsp. *vesicatoria* [۱۱]، تاثیر عصاره سیر^۵ و میوه اسپند^۶ روی باکتری *P. syringae* [۱۲]، توان بازدارندگی از رشد قارچ *Alternaria alternata* [۱۳]، اثرات ضدقارچی عصاره‌های سیر [۱۴]، تاتوره^۷ [۱۵]، گند جارو^۸ [۱۶] روی قارچ‌های مختلف را می‌توان نام برد.

ازتورک^۹ و ارسبسل^{۱۰} [۱۷] با بررسی اثر اسانس و عصاره الکلی گیاه کاکوتی^{۱۱} بر ۵۲ باکتری گرم منفی و گرم مثبت از جمله *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* نشان دادند که اسانس این گیاه بر تمامی باکتری‌های به کار گرفته شده خاصیت بازدارندگی از رشد دارد. اسانس و عصاره الکلی گونه‌های نعنای روی طیف وسیعی از باکتری‌های بیماری‌زای گیاهی اثر بازدارندگی دارد [۱۸]. روبرتو^{۱۲} و همکاران [۱۹] اثر

¹ *Teucrium leucocladum*

³ *Matricaria recutita*

⁵ *Allium sativum*

⁷ *Datura* sp.

⁹ Ozturk

¹¹ *Ziziphora clinopodioides*

² *Chamemelum nobile*

⁴ *Rosa damasena*

⁶ *Peganum harmala*

⁸ *Artemisia* spp.

¹⁰ Ercisli

¹² Ruberto



مواد و روش‌ها

تهیه و آماده‌سازی نمونه‌های گیاهی جهت اسانس‌گیری

نمونه‌های گیاهی از مراتع استان‌های خراسان و گلستان جمع‌آوری شد (جدول شماره ۱). سپس در سایه و در دمای اتاق خشک و توسط آسیاب پودر شدند. استخراج اسانس‌ها از روش تقطیر با آب و به وسیله دستگاه کلونجر انجام گرفت [۲۲]. حدود ۱۰۰ گرم از اندام‌های پودر شده هر گیاه در داخل بالن دستگاه ریخته و ۵۰۰ میلی‌لیتر آب به آن اضافه شد.

ضدباکتریایی اسانس گیاه رازیانه روی ۲۵ جنس باکتری بیماری‌زای حیوانی و گیاهی را گزارش نمودند. موج^۱ و همکاران [۲۰] با بررسی عصاره دو گیاه دارویش^۲ و عشقه^۳ بر باکتری *E. amlovora* کاهش ۴۶/۷ درصدی رشد باکتری را نشان دادند. ترکیب اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی با ترکیبات مسی و یا سایر ترکیبات شیمیایی می‌تواند اثر آنها را افزایش دهد [۲۱]. با توجه به اینکه این بیماری‌ها هر ساله خسارات زیادی به باغات کشور وارد می‌سازند، استفاده از یک سیستم کنترل تلفیقی امری اجتناب‌ناپذیر است. در همین راستا در این پژوهش اقدام به بررسی اثر چهارده اسانس و چهار عصاره گیاهی علیه این دو بیماری شد.

^۱ Mosch^۲ *Viscum album*^۳ *Hedera helix*

جدول شماره ۱ - مشخصات گیاهان مورد استفاده در اسانس و عصاره‌گیری و میزان اسانس به دست آمده از آنها

نام علمی	نام فارسی	نام خانواده	اندام مورد استفاده	میزان اسانس بعد از ۴ ساعت (میلی‌لیتر)
<i>Rosmarinus officinalis</i>	رزماري	Lamiaceae	گل و برگ	۰/۷۵
<i>Zataria multiflora</i>	آویشن شیرازی	Lamiaceae	برگ	۰/۹
<i>Thymus vulgaris</i>	آویشن*	Lamiaceae	برگ و شاخه	۱/۱
<i>Mentha piperita</i>	نعناع	Lamiaceae	برگ و شاخه	۰/۸
<i>Salvia officinalis</i>	مریم گلی*	Lamiaceae	برگ و گل	۰/۱
<i>Ziziphora clinopodioides</i>	کاکوتی	Lamiaceae	برگ، شاخه و گل	۲
<i>Heracleum persicum</i>	گلپر	Apiaceae	بذر	۰/۱۴
<i>Cuminum cyminum</i>	زیره سبز	Apiaceae	بذر	۲
<i>Ferula assa-foetida</i>	آغوزه*	Apiaceae	ریشه	۰/۹۲
<i>Foeniculum vulgare</i>	رازیانه	Apiaceae	شاخه و برگ	۰/۶۵
<i>Coriandrum sativum</i>	گشنیز	Apiaceae	بذر	۰/۴
<i>Tarchyspermum copticum</i>	زنیان	Apiaceae	بذر	۰/۴۴
<i>Achillea millefolium</i>	بومادران	Asteraceae	گل و شاخه	۰/۱
<i>Artemisia annua</i>	گند جارو	Asteraceae	برگ	۰/۱
<i>Azadirachta indica</i>	چریش**	Meliaceae	میوه	—

* عصاره این گیاهان بررسی شدند

** فقط عصاره این گیاه آزمایش شد



سانتی‌گراد نگهداری شدند. بعد از گذشت ۴۸ ساعت قطر هاله بازدارنده رشد اطراف چاهک اندازه‌گیری و ثبت شد [۲۴]. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام و نتایج با نرم‌افزار SAS تجزیه شد.

نتایج

جداسازی اسانس‌ها در این بررسی بر اساس روش تقطیر با آب به وسیله دستگاه کلونجر انجام گرفت. از آنجایی‌که اسانس در قسمت‌های مختلف گیاه یافت شده و میزان آن متغیر است بنابراین با توجه به تحقیقات قبلی در مورد هر گیاه اندام خاصی از آن که دارای بیشترین میزان اسانس بود، انتخاب شد. با توجه به جدول شماره ۱ بیشترین میزان اسانس از گیاه زیره سبز به دست آمد. نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که بین توان بازدارندگی اسانس‌ها از رشد هر دو باکتری تفاوت بسیار معنی‌داری وجود دارد (جدول شماره ۳). با توجه به نمودار شماره ۱ تمامی اسانس‌ها و عصاره‌ها به جز عصاره آویشن و عصاره آنگوزه همگی اثرات ضدباکتریایی روی باکتری *Xap* نشان دادند. در این میان اسانس نعنای با ۶/۳ سانتی‌متر و اسانس مریم‌گلی با ۶/۱۷ سانتی‌متر به ترتیب بالاترین میزان بازدارندگی را نشان دادند اسانس‌های گیاه زیره سبز، کاکوتی و زنیان نیز به ترتیب با میزان بازدارندگی ۵/۷۷، ۵/۵۷ و ۴/۷۷ سانتی‌متر بعد از نعنای و مریم‌گلی بیشترین میزان بازدارندگی از رشد این باکتری را به خود اختصاص داده و اسانس گیاهان بومادران، گشنیز، گلپر و عصاره مریم‌گلی کمترین اثر را نشان دادند. در بین عصاره‌های آبی، عصاره چریش بیشترین میزان بازدارندگی و عصاره‌های آنگوزه و آویشن هیچ‌گونه تأثیری در رشد باکتری نداشتند.

در بین اسانس و عصاره‌ها، اسانس آویشن بیشترین میزان بازدارندگی از رشد باکتری *Pss* (۳/۲۷) را در بین اسانس‌ها به خود اختصاص داده است (نمودار شماره ۲). بعد از آویشن، زنیان، زیره و نعنای به ترتیب با میزان بازدارندگی از رشد ۲/۲۲، ۲/۱۷ و ۲ سانتی‌متر بیشترین اثر را نشان دادند. اسانس گیاهان

عمل گرمادهی برای هر گیاه ۴ ساعت انجام شد. بعد از اتمام این مدت اسانس‌ها به دلیل پایین بودن چگالی‌شان در سطح آب قرار گرفته و با خارج نمودن آب از شیر تحتانی دستگاه به آسانی جداسازی شدند. برای تهیه مقادیر بیشتر اسانس برای هر گیاه چند بار این عمل تکرار شد. اسانس‌ها در ظروف با رنگ تیره به منظور جلوگیری از اکسید شدن و در یخچال دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. برای تهیه عصاره‌های گیاهی از عصاره جوشانده دستگاه کلونجر برای هر گیاه استفاده شد. محلول داخل بالن به وسیله کاغذ صافی ۹ سانتی‌متری (سترون به وسیله اتوکلاو) صاف و به مدت ۳۰ دقیقه در ۶۰۰۰ گرم سانتریفیوژ شدند، مایع بالایی جدا شده و درون ظروف تیره در یخچال نگهداری شدند.

تهیه باکتری‌های مورد آزمایش

ایزوله‌های مورد استفاده در این بررسی از مناطق آلوده در استان‌های خراسان و گلستان جداسازی و خالص‌سازی شدند (جدول شماره ۲). خصوصیات تشخیصی تاکسونومیکی و بیماری‌زایی جدایه‌ها در آزمایشگاه گروه گیاهپزشکی دانشکده علوم کشاورزی گرگان بر اساس جدول‌های استاندارد تعیین شد [۲۳].

بررسی اثر ضدباکتریایی اسانس‌ها و عصاره‌ها

از کشت‌های ۲۴ ساعته باکتری‌ها سوسپانسیون با غلظت ۱۰۸ - ۱۰۷ سلول باکتری در میلی‌لیتر تهیه شد (غلظت سوسپانسیون با استفاده از روش اسپکتوفتومتری اندازه‌گیری شد). ۰/۱ میلی‌لیتر از سوسپانسیون روی محیط کشت حاوی آگار مغذی^۱ ۲۳ گرم، گلوکز ۵ گرم، عصاره مخمر ۵ گرم و آب مقطر ۱ لیتر پخش شد. مدتی بعد از خشک شدن سطح پتری‌ها (قطر ۱۰ سانتی‌متر) چاهک‌های به قطر ۳ میلی‌متر در وسط هر پتری ایجاد و حدود ۱۲ میکرولیتر از هر یک از اسانس‌ها درون هر چاهک ریخته شد. برای تیمار شاهد از آب مقطر استریل استفاده شد. برای هر گیاه ۳ تکرار در نظر گرفته شد. درب پتری‌ها با پارافیلیم بسته و به طور وارونه در دمای ۲۵ درجه

^۱ Nutrient agar



جدول شماره ۲- ایزوله‌های باکتری مورد استفاده در آزمایش

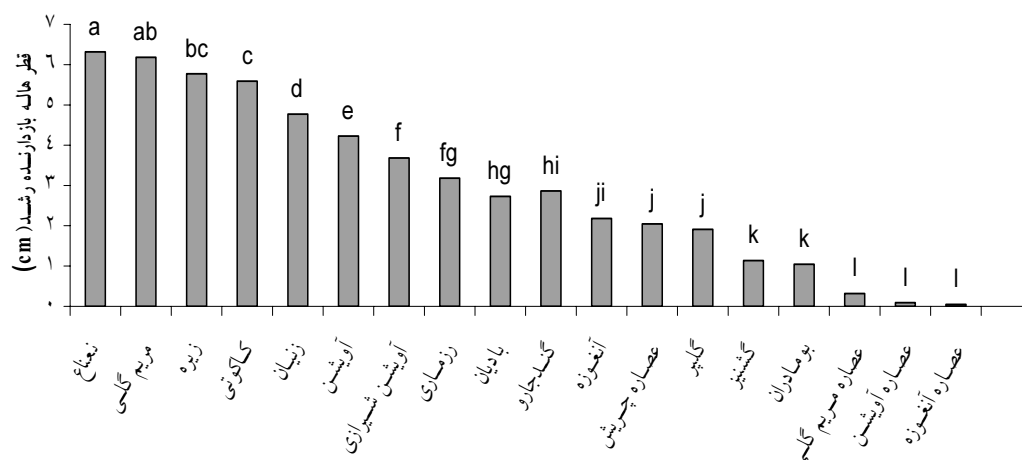
نام جدایه	تاریخ جمع‌آوری	علائم ایجاد شده روی میزبان	میزبان جدا شده	محل جمع‌آوری
Xp12 ¹	۱۳۸۶	لکه برگ	هلو	کردکوی
Zam10 ²	۱۳۸۶	شانکر	زردآلو	نیشابور

X. arboricola pv. *pruni*¹*P. syringae* *syringae*²

جدول شماره ۳- تجزیه واریانس میزان هاله بازدارنده از رشد باکتری‌های مورد بررسی توسط اسانس و عصاره‌های گیاهی

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات
<i>X. arboricola</i> pv. <i>pruni</i>		<i>P. syringae</i> pv. <i>syringae</i>
تیمار	۱۷	** ۱۳/۳۳۸
خطا	۳۶	۰/۱۰۳
کل	۵۳	
ضرب تغییرات		۱۰/۷
		۰/۱۴

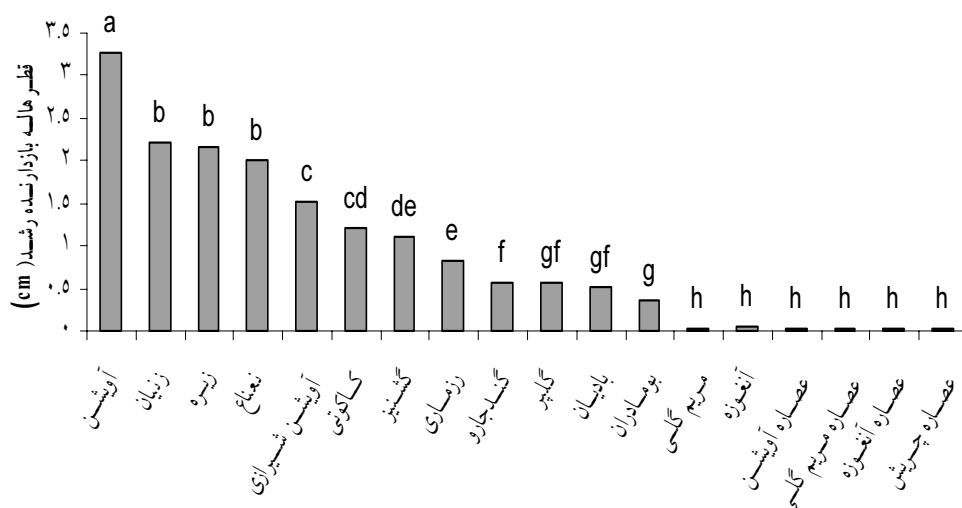
** معنی‌دار در سطح ۱ درصد

a: داده‌های مربوط به *P. syringae* pv. *syringae* به دلیل بالا بودن ضریب تغییرات تبدیل جذری شدند و میانگین مربعات مربوط به داده‌های تبدیل شده است.نمودار شماره ۱- مقایسه میزان بازدارندگی از رشد باکتری *X. arboricola* pv. *pruni* توسط اسانس و عصاره‌های گیاهی در سطح یک درصد

تحقیق اثر بازدارندگی روی *Pss* نشان ندادند. لیست گیاهانی که اسانس آنها بیشترین اثر بازدارندگی داشته در جداول شماره ۴ و ۵ آمده است.

آویشن شیرازی، کاکوتی، گشنیز و رزماری دارای اثر متوسط و اسانس گیاهان بومادران، گلپر، گندجارو و رازیانه اثرات ضعیف داشته و اسانس مریم گلی و آنگوزه هیچ‌گونه تاثیری در جلوگیری از رشد باکتری نداشتند. تمامی عصاره‌ها در این





نمودار شماره ۲- مقایسه میزان بازدارندگی از رشد باکتری *P. s. pv. syringae* توسط اسانس و عصاره‌های گیاهی در سطح یک درصد

جدول شماره ۴- گیاهانی که اثر بالایی از بازدارندگی روی باکتری عامل لکه برگ *X. arboricola pv. pruni* نشان دادند

نام گیاه	میانگین قطر هاله بازدارنده (cm)	نام گیاه	میانگین قطر هاله بازدارنده (cm)
نعناع	6.3 ± 0.61	کاکوتی	5.75 ± 0.4
مریم گلی	6.17 ± 0.7	زنیان	4.77 ± 0.25
زیره	5.77 ± 0.25	آویشن	4.22 ± 0.23

جدول شماره ۵- گیاهانی که اثر بالایی از بازدارندگی روی باکتری عامل شانکر هسته‌داران *P. s. pv. syringae* نشان دادند

نام گیاه	میانگین قطر هاله بازدارنده (cm)	نام گیاه	میانگین قطر هاله بازدارنده (cm)
آویشن	3.27 ± 0.5	نعناع	2 ± 0.2
زنیان	2.22 ± 0.16	آویشن شیرازی	1.51 ± 0.08
زیره	2.17 ± 0.35		

بحث

تاثیر چندین اسانس گیاهی بر باکتری عامل شانکر گوجه‌فرنگی *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* نشان دادند که اسانس آویشن بیشترین میزان بازدارندگی از رشد را در بین اسانس‌ها دارد. همچنین کوکوسکا و پاولا^۱ [۲۵] بازدارندگی قوی اسانس آویشن بر باکتری *E. chrysanthemi*

بیکی^۱ و علیزاده^۲ [۲۴] نشان دادند که اسانس گونه‌های نعناع بیشترین اثر بازدارندگی روی باکتری‌های عامل بیماری نواری جو و گندم دارند. سویلو^۳ و همکاران [۲۶] با بررسی

^۱ Pavela

^۱ Beiki

^۲ Alizadeh

^۳ Soyulu



را گزارش نمودند. هوسی^۱ و همکاران [۲۷] با بررسی خواص ضدباکتریایی ۳۴ گونه گیاهی روی باکتری‌های *Pseudomonas savastanoi*, *Pss E. amylovora* و *Xanthomonas vesicatoria* نشان دادند که اسانس گونه‌های نعنای و آویشن بیشترین بازدارندگی را ایجاد می‌کنند. حسن‌زاده [۲۸] نیز توان بالای بازدارندگی از رشد باکتری *E. amylovora* را به وسیله اسانس آویشن نشان داده است.

با توجه به نمودارهای شماره ۱ و ۲ اسانس گیاه مریم‌گلی در کنترل باکتری *Pss* تأثیری بسیار پایین داشته ولی در مورد باکتری *Xap* در گروه گیاهان با بیشترین میزان تأثیر قرار می‌گیرد. کوسکوا^۱ و همکاران [۲۵] نیز اثر بازدارندگی بالای اسانس مریم‌گلی روی باکتری عامل لکه برگ‌گی شمعدانی *X. hortorum* pv. *pelargonii* و خاصیت بازدارندگی ضعیف آن را روی باکتری *E. chrysanthemi* گزارش کردند. بیشترین اثر بازداری از رشد در مورد *Pss* مربوط به اسانس آویشن بوده در حالی که در مورد باکتری *Xap* نعنای بیشترین اثر را داشته است. عصاره آویشن بر باکتری *Xap* اثر بازدارندگی از رشد نشان داده ولی بر باکتری *Pss* هیچ‌گونه اثری نداشته است. در مجموع نشان داده شد که اثرات ضدباکتریایی گیاهان مورد بررسی روی باکتری *Xap* بیشتر از باکتری *Pss* می‌باشد. در مورد تأثیر پایین عصاره‌های گیاهی در این آزمایش می‌توان دو دلیل ذکر نمود. اولاً میزان مواد موثره که خاصیت ضد میکروبی دارند در اسانس بیشتر از عصاره است مثلاً میزان کارواکرول در اسانس گیاه آویشن ۸۰ درصد بوده حال آنکه در عصاره آن به مراتب کمتر از این مقدار می‌باشد [۲۹]. ثانیاً روش تهیه عصاره در این تحقیق با روش معمول عصاره‌گیری تفاوت داشت و از عصاره جوشانده هر گیاه استفاده شد به نظر می‌رسد حرارت با اثر منفی بر مواد موثره عصاره‌ها باعث کاهش خاصیت ضد میکروبی آن‌ها شده است.

خاصیت ضد میکروبی اسانس گیاهان به ترکیبات شیمیایی آن بستگی دارد. تجزیه اسانس‌های گیاهان مختلف به وسیله کروماتوگرافی نشان داد که ترکیبات مختلفی در اسانس گیاهان

وجود دارد (جدول شماره ۴) [۳۰]. این ترکیبات اکثراً شامل مونوترپن‌ها، سسکوئیترپن‌ها و سایر مشتقات اکسیژن‌دار (الکل‌ها، آلدهیدها، استرها، اترها، کتون‌ها، فنول‌ها) است. این محققان نشان دادند که در بین این ترکیبات از گروه کتون‌ها، کارون و دهیدروکارون و از گروه فنول‌های ایزومریک، تیمول و کارواکرول خاصیت ضد میکروبی دارند.

ترکیب شیمیایی اسانس در گیاهان متنوع بوده با این وجود در هر اسانس یک ترکیب غالبیت دارد [۳۱].

در گروه مونوترپن‌ها فنول‌ها و الکل‌ها، در گروه روغن‌ها کارواکرول، یوگنول، دهیدرو کارواکرول، ژرانیول لینالول خاصیت ضد میکروبی از خود نشان داده و مونوترپن‌های غیراکسیژنه از قبیل کتون‌ها، آلدهیدها، اترها و استرها خاصیت ضد میکروبی ضعیف‌تری دارند. سسکوئیترپن‌ها هیچ‌گونه خاصیت ضدباکتریایی حتی در غلظت ۱۰۰۰۰ میلی گرم ندارند [۳۸]. ترپن‌های اکسیژن‌دار بازدارندگی بالایی داشته و اثر آنها از ترکیبات دوحلقه‌ای بیشتر می‌باشد. ترکیبات فنولی و الکی اثر بازدارندگی بیشتری نسبت به مونوترپن‌های هیدروکربنه از خود نشان می‌دهند [۳۹]. با توجه به اینکه در دهه اخیر استفاده از ترکیبات گیاهی در قالب مبارزه با بیماری‌های انسانی به شدت رو به فزونی یافته و بشر استفاده از ترکیبات گیاهی را در بسیاری از مواقع به ترکیبات شیمیایی ترجیح می‌دهد استفاده از ترکیبات مختلف گیاهی علیه بیماری‌های گیاهی که به نوعی با سلامتی انسان نیز در ارتباط می‌باشد امری ضروری به نظر می‌رسد. در این میان می‌توان با آزمایش‌های تکمیلی به ترکیبات گیاهی موثرتری دسترسی پیدا کرد و با استفاده از این ترکیبات در کنار سایر روش‌های بیوکنترلی و استفاده از ارقام مقاوم در قالب یک مدیریت تلفیقی برای کنترل این بیماری‌ها اقدام نمود. امید است که نتایج این تحقیق بتواند در کنار نتایج سایر آزمایش‌ها در رسیدن به اهداف مدیریت بیماری در کشاورزی پاک مثمر ثمر باشد.

¹ Hevesi¹ Kokoskova² Beiki

1. Agrios G N. Plant Pathology. 4nd ed. Academic Press. New York USA, 1997, pp: 442 - 445.
2. Bahar M, Mojtahedi A, and Akhiani A. Bacterial Canker Apricot trees in Esfahan. *Iran. Plant Patho.* 1985; 18: 58 - 68.
3. Ogawa EI, Zehr G, Bird WD, Ritchie F, Uriu K and Uyemoto K. Compendium Disease of Stone fruit tree, APS Press. 1995, pp: 48 - 50.
4. Iacobellis N, Locantore S, Capasso P, Senatore F. Antibacterial activity of *Cuminum cyminum* L. and *Carum carvi* L. Essential oils. *J. Agric. Food Chem.* 2005; 53: 57 - 61.
5. Pietrzak U and Mcphail DC. Copper accumulation distribution and fractionation in vineyard soil of Victoria. *Geoderma.* 2004; 122: 151 - 66.
6. Hammer KA, Carson CF and Riley TV. Antimicrobial activity of essential oils and orther plant extracts. *J. Appl. Mic.* 1999; 86: 985 - 90.
7. Elshazly A and Hussein K. Chemical analysis and biological activities of essential oil of *Teucrium leococladom* (Lamiaceae). *Bio. Sys. and Eco.* 2004; 32: 665 - 74.
8. Kagale S, Marimuthu T, Thayumanavan B, Nandakumar R, and Samiyappan R. Antimicrobial activity and induction of systematic resistance in rice by leaf extract of *Datura metel* against *Rhizoctonia solani* and *Xanthiminas oryzae*. *Phy. Mol. Plant. Path.* 2004; 65: 91 - 100.
9. Hayes LE. Survey of higher plant for presence of antibacterial substance. *Bot. Gas.* 1946; 108: 408 - 11.
10. Csizinszky AA, Jones JB and Civerolo EL. Inactivation of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*. in vitro with plant extracts. *Acta Hort.* 1993; 331: 301 - 5.
11. Basim E and Basim H. Antibacterial activity of *Rosa damascenes* essential oil. *Fito.* 2003; 74: 394 - 6.
12. Ahmadi A. Investigation Antibacterial activity of some plant extracts and some bacterial epiphyte against casual canker of stone fruit tree. *Ms thesis, Tehran Tarbiat Modares Uni.* 1990; 80 - 1.
13. Feng W, Zheng S and Xiaodong E. Essential oils to control *Alternaria alternata* in vitro and in vivo. *Food. Cont.* 2007; 18: 1126 - 30.
14. Yin M and Tsao S. Inhibitory effect of seven *Allium spp.* plants upon three *Aspergillus* species. *Inter. J. Food Mic.* 1999; 49: 49 - 56.
15. Dabur R, Singh H, Chhillar A, Ali M and Sharma G. Antimicrobial potential of Indian medicinal plants. *Fitoteropia* 2004; 75: 389 - 91.
16. Tan R, Tang H and Shuai B. Lignans and Sesquiterpene Lactones from *Artemisia sieversiana* and *Inula Racemosa*. *Phytochem.* 1998; 49: 157 - 61.
17. Ozturk S, Ercisli S. Antibacterial activity and chemical constitutions of *Ziziphora clinopodioides*. *Food cont.* 2007; 18: 535 - 40.
18. Gulluce M. Antimicrobial and antioxidant properties of the essential oils and methanol extract from *Mentha longifolia* subsp. *longifolia*. *Food cont.* 2007; 103: 1449 - 56.
19. Ruberto G, Baratta MT, Deans SG and Dorman HJ. Antioxidant and antimicrobial activity of *Foeniculum vulgare* and *Crithmum maritimum* essential oils. *Plant Med.* 2000; 66: 687 - 93.
20. Mosch J, Zeller W, Rieck M, Ullrich W and Bonn WG. Further studies on plant extracts with a resistance induction effect against *Erwinia amylovora*. International workshop on fire blight, *Acta hort.* 1996; 411: 361 - 6.
21. Zeller W. Status of biocontrol methods against fire blight. International. Conference on Biological and pro-ecological methods for control of diseases in orchards and small fruit plantations. *Skierniewice* 2005; 2: 29 - 31.
22. Jaymand K and Rezaee M. Essential oil, Distillations Apparatuses, test Method of essential oil and Retention Indices in Essential oil Analysis. Iranian Society of Medicinal Plants. Tehran. 2007, pp: 106 - 8.



23. Schaad N, Jones W and Chun W. Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria. 3 ed. St. Paul, MN, APS Press. 2001; pp: 84 - 117.
24. Beiki F and Alizadeh A. Antibacterial effects of some herbal essential oil and extract on the casual agent of bacterial leaf streak in wheat and barley. *J. Agric. Sci. Natur. Resour Gorgan Uni.* 2005; 13: 70 - 81.
25. Kokoskova B and Pavela R. Effectivity of essential oils against pectinolytic *Erwinia chrysanthemi* and *Pseudomonas marginalis*. Biocontrol of bacterial plant diseases 1st Symposium, Seeheim, Darmstadt, Germany. 2005, pp: 290 - 2.
26. Soyulu S, Soyulu EM, Baysal O and Zeller W. Antibacterial activities of the essential oils from medicinal plants against the growth of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. Biocontrol of bacterial plant diseases 1st Symposium, Seeheim/Darmstadt, Germany. 2005, pp: 82 - 5.
27. Hevesi M, Boja N, Banatfy R, Babulka P and Toth M. *In vitro* inhibition of growth of *Erwinia amylovora* by plant oils. Biocontrol of bacterial plant diseases 1st Symposium, Seeheim, Darmstadt, Germany. 2005, pp: 262 - 4.
28. Hasanzadeh N. The Essential oil of thyme as a natural plant extract for fire blight control. Biocontrol of Bacterial Plant Disaeses 1st Symposium, Seeheim, Darmstadt, Germany. 2005, pp: 290 - 2.
29. Arras G and Usani M. Fungi toxic activity of 12 essential oil agent four post-harvest citrus pathogen: *J. Food Prot.* 2001; 64: 1025 - 9.
30. Sivropoulou A, Papanikolaou E, Nikolaou C, Kokkini S, Lanaras T, Arsenakis M. Antimicrobial and cytotoxic activities of *Origanum* essential oils. *J. Agric. Food Chem.* 1996; 44: 1202 - 5.
31. Cowan M. Plant products as antimicrobial agents. *Clin. I Mic. Rev.* 1999; 12: 564 - 82.
32. Zamboneil A, Alesandra S and Aldo S. Chemical Compositon and fungicidal Activity of Commercial Essential oil of *Tymus vulgaris*. *J.E.O.R* 2004; 16: 69 - 74.
33. Behnam S, Farzaneh M, Ahmadzade M and Tehrani AS. Composition and antifungal of essential oil of *Mentha piperita* on post-harvest phytopathogens. *Com. Agric. Appl Bio. Sci.* 2006; 71: 1321 - 6.
34. Rong L and Jiang Z. Chemical composition of the essential oil of *Cuminum cyminum* L. from China. *Fla. Fra. J.* 2006; 19: 311 - 3.
35. Omidbeygi R. Production and processing of medicinal plant. Astane Ghodse Razavi 2005, pp: 300 - 1.
36. Verdian-rizi M. Essential Oil Composition and Biological Activity of *Ziziphora clinopodioides* Lam. From Iran. *Ame. Eu. J. Sus. Agri.* 2008; 2: 69 - 71.
37. Elementi S, Dantuono H, Schulz H, Kruger W and Schutz B. Essential Oil and carnosic acid analysis by means Nir Spectroscopy. *Acta. Hort,* 723: 243 - 8.
38. Locantore P, Iacobellis NS, Demarco A, Capasso F and Senatore F. Antibacterial activity of *Coriandrum sativum* L. and *Foeniculum vulgare* var. *vulgare* (Miller) essential oils. *J. Agric Food Chem.* 2004; 52: 7862 - 6.
39. Vanneste JL. Biological control of fire blight: an overview of the work carried out in New Zealand. Biocontrol of bacterial plant disaeses 1st Symposium Seeheim, Darmstadt, Germany. 2005; pp: 224 - 7.
40. Basim H, Yegen O and Zeller W. Antibacterial effect of essential oil of *Thymbra spicata* L. var. *spicata* on some plant pathogenic bacteria. *J. Plant Dis. Prot.* 2000; 107: 279 - 84.
41. Isman MB. Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Prot.* 2000; 19: 603 - 8.
42. Maiti D, Kole C and Sen R. Antimicrobial efficiency of some essential oils. *J. Plant Dis Prot.* 1985; 92: 64 - 8.

