

اثر ضدباکتریایی اسانس گل و عصاره اندام های گیاهی سرخارگل بر باکتری
Pectobacterium caratovorum subsp. *caratovorum* در شرایط آزمایشگاه

سودابه اندرگانی^۱، سلیمان جمشیدی^{۲*}، مهدی اورعی^۳
تاریخ دریافت: ۹۳/۴/۲۵ تاریخ پذیرش: ۹۳/۶/۱۲

چکیده

امروزه مهار زیستی عوامل بیماری‌زای گیاهی با هدف کاهش تهدیدات زیست محیطی و خطرات آفت کش های شیمیایی یک اولویت می‌باشد. در این راستا، استفاده از کارآیی ضد میکروبی مواد گیاهی در سال های اخیر مورد توجه قرار گرفته است. هدف این مطالعه ارزیابی اثر فرآورده های گیاهی به دست آمده از گیاه سرخارگل روی باکتری بیماری‌زای گیاهی *Pectobacterium caratovorum* subsp. *caratovorum* عامل پوسیدگی نرم سیب زمینی بود. عصاره های گل، برگ، ساقه و ریشه به روش خیساندن با حلال های آب، استون، اتانول، متانول و کلریدریک اسید به دست آمده و با دستگاه روتاری در خلا تغلیظ شد و اسانس گل با دستگاه کلونجر استخراج شد. فعالیت ضدباکتریایی عصاره ها و اسانس سرخارگل علیه این باکتری در آزمایشگاه و با روش انتشار دیسک و تعیین حداقل غلظت بازدارندگی و کشندگی مورد بررسی قرار گرفت. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا گردید. نتایج نشان داد که حساسیت باکتری به اسانس گل بیش از عصاره های سایر اندام ها بود. عصاره حاصل از ریشه نسبت به عصاره های به دست آمده از سایر قسمت های گیاه بازدارندگی بیشتری داشت. همچنین عصاره های استونی و آبی اثر چندانی بر باکتری از خود نشان ندادند. عصاره های برگ نیز بیشتر از این که کشنده باشند، دارای خاصیت بازدارندگی از رشد بودند. با توجه به نتایج این مطالعه به نظر می رسد مواد گیاهی به دست آمده از سرخارگل می تواند کارآیی بالقوه قابل ملاحظه ای روی این باکتری داشته و در آینده برای مهار زیستی این باکتری مد نظر قرار داده شود.

واژه‌های کلیدی: سرخارگل، فعالیت ضدباکتریایی، حداقل غلظت کشندگی و حداقل غلظت بازدارندگی

^۱ - دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم باغبانی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد میانه، میانه، ایران.

^۲ - استادیار و عضو باشگاه پژوهشگران و نخبگان دانشگاه آزاد اسلامی واحد میانه، میانه، ایران.

^۳ - استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد میانه، میانه، ایران.

* - نویسنده مسئول مقاله: s.jamshidy@gmail.com

مقدمه

سرخارگل با نام علمی *Echinasea purpurea* Moench از تیره آفتابگردان گیاهی علفی و چندساله از شمال آمریکا و از جمله گیاهان دارویی مهم با کاربرد وسیعی در صنایع دارویی، غذایی، آرایشی و بهداشتی است. این گیاه با وجود این که بومی ایران نیست در سال‌های اخیر کشت و کار آن معمول شده است (Izadi et al., 2012). مواد مؤثره موجود در ریشه و پیکر رویشی سرخارگل خاصیت ضدالتهابی، آنتی‌اکسیدانی ضدقارچی، ضدباکتری و ضدویروسی دارند و در درمان سرماخوردگی و بیماری‌های تنفسی و مجاری ادراری استفاده می‌شود و به عنوان داروی بالقوه برای درمان بیماری ایدز به شمار می‌رود (Savag et al., 1996; O'Hara et al., 1998; Sabouri et al., 2012; Omidbeigi, 2010). تمام پیکره این گیاه از ریشه تا بخش رویشی دارای مواد ضد میکروبی ارزشمندی است و شیکوریک اسید^۱ به عنوان مؤثرترین ماده در سرخارگل شناخته شده است (Sloley et al., 2001). عصاره‌های گیاهی سرخارگل باکتری‌های مفید روده را تحریک و در نتیجه، حضور باکتری‌های گرم منفی مانند *Escherichia coli* را کاهش می‌دهد. پلی‌ساکاریدها از اجزای تشکیل دهنده عصاره سرخارگل باعث افزایش تولید اسید لاکتیک و در نتیجه افزایش تکثیر باکتری‌های مفید در روده و کاهش حضور باکتری‌های گرم منفی مانند *E. coli* می‌شوند (Merali et al., 2003). گزارش‌ها حاکی از فعالیت ضدباکتریایی پلی‌استیلن‌های استخراج شده از ریشه گیاه سرخارگل در مقابل *E. coli* می‌باشد (Schulte et al., 1967). عصاره سرخارگل به عنوان تحریک کننده رشد و افزایش مقاومت ماهی اسکار^۲ در برابر عفونت باکتریایی گزارش شده است (Alishahi et al., 2013). سرخارگل به عنوان آنتی‌اکسیدان و بهبودبخش زخم با اثرات ضدباکتریایی و ضدویروسی و جلوگیری از عفونت شده و مانع رشد سلول‌های سرطانی می‌شود (Lee et al., 2010). فرآورده‌های تهیه شده از سرخارگل بر بیماری‌های تنفسی ناشی از باکتری‌ها که گاه با آلودگی‌های ویروسی نیز همراه می‌باشند، اثر رضایت بخشی دارد (Sharma et al., 2003; Bany et al., 2010). عصاره سرخارگل سبب تحریک سیستم ایمنی بدن شده و دفاع بدن را در برابر آلودگی‌های باکتریایی افزایش می‌دهد (Bany et al., 2003).

استفاده از ترکیبات گیاهی و طبیعی در کنترل آفات و بیماری‌های گیاهی، یکی از راه‌های کاهش مخاطرات زیست محیطی است (Afzal et al., 1997). اسانس‌ها و بسیاری از متابولیت‌های ثانوی و عصاره‌های گیاهی دارای فعالیت زیستی متفاوت از جمله خواص ضد میکروبی می‌باشند (Rodriguez et al., 2005; Tepe et al., 2004; Cowan, 1999) و باعث شده تا موضوع جایگزینی سموم شیمیایی با مواد طبیعی امن و دوست‌دار محیط زیست در مجامع علمی دنیا مطرح شود (Hassanzadeh, 2005). یکی از مهمترین عوامل بیماری‌زای سبب زمین‌باکتری‌های وابسته به جنس *Pectobacterium* هستند. یکی از ویژگی‌های مهم این گروه از باکتری‌ها این است که قدرت لهانیدن و تخریب فراوان بافت‌های نرم و پر آب را دارد و بیماری پوسیدگی نرم و ساق سیاه را به وجود می‌آورد (Hayward, 1991). این گروه از باکتری‌ها جزو مهم‌ترین عوامل بیماری‌زای گیاهی بوده که نقش عمده‌ای در پایین آوردن کمیت و کیفیت محصولات کشاورزی داشته و دارای گسترش جهانی هستند. دارای دامنه

¹ Chichoric acid

² Oscar fish

میزبانی گسترده بوده و اکثر گیاهان آب دار و گوشتی، میزبان یک یا تعداد بیشتری از گونه‌ها و یا زیرگونه‌های این جنس هستند. باکتری *P. caratovorum* subsp. *caratovorum* عامل بیماری پوسیدگی غده سیب زمینی در انبار است (Hooker, 1981). حدود ۲۴-۳۸ درصد از ضایعات سیب زمینی طی سه ماهه اول انبارداری ناشی از این باکتری گزارش شده است (Varns et al., 1985). این مطالعه با هدف ارزیابی کارایی بالقوه عصاره اندام‌های مختلف گیاهی و اسانس گل سرخارگل برای مهار این باکتری بیماری‌زای گیاهی انجام گردید.

مواد و روش‌ها

تهیه باکتری عصاره‌ها و اسانس گیاه

سویه بیمارگر باکتری *P. caratovorum* subsp. *caratovorum* از مؤسسه تحقیقات گیاه پزشکی کشور دریافت و به محیط کشت آگار مغذی منتقل شد. محیط‌های کشت مایه زنی شده با باکتری در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت نگهداری شدند. گیاه سرخارگل از مزرعه گیاهان دارویی روستای کلخوران اردبیل به صورت تر تهیه و اندام‌های مختلف آن شامل گل، ساقه، برگ و ریشه جداگانه و در سایه و شرایط آزمایشگاهی خشک شد. عصاره‌گیری با استفاده از پنج حلال متانول ۸۰٪، استون ۵۰٪، کلریدریک اسید ۵۰٪، اتانول ۷۰٪ و آب انجام گرفت. برای تهیه عصاره از روش خیساندن^۱ استفاده شد. به این ترتیب که ابتدا اندام‌های مختلف سرخارگل به تفکیک با مخلوط کن خرد گردید. سپس مقدار ۵۰ گرم از پودر گیاهی به ۵۰۰ میلی لیتر از حلال‌های ذکر شده اضافه و به مدت ۴۸ ساعت در دمای محیط آزمایشگاه قرار داده شد. ظرف ارلن مایر محتوی مخلوط تهیه شده، طی این مدت چندین بار تکان داده شد. محتویات ارلن از یک لایه کاغذ صافی واتمن شماره یک عبور داده شد. پس از عصاره‌گیری حلال باید از عصاره جدا شود این کار با روش تقطیر در خلاء و با استفاده از دستگاه روتاری در دمای ۴۰ درجه سلسیوس انجام شد و به این ترتیب عصاره غلیظ به دست آمد (Ghaemi et al., 2006). سپس عصاره غلیظ داخل پتری‌دیش‌های شیشه‌ای ریخته شده و در دمای ۴۵ درجه سلسیوس و به مدت ۴۸ ساعت به صورت عصاره خشک درآمد. برای تهیه غلظت ۲۰ میلی‌گرم بر میلی لیتر از عصاره گیاهی، ۲۰ میلی گرم از عصاره خشک و غلیظ شده سرخارگل در ۱ میلی لیتر حلال خنثی دی متیل سولفوکسید^۲ حل و با فیلتر سر سرنگ ۰/۲۲ میکرون سترون شد. اسانس‌گیری با ۵۰ گرم از پودر گل به روش تقطیر با آب به مدت ۴ ساعت در دستگاه کلونجر انجام شده و توسط سولفات سدیم بی آب رطوبت زدایی شد. نمونه به دست آمده تا آزمون زیست‌سنجی در ظرف شیشه‌ای تیره و در دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری گردید (Izadi et al., 2012).

¹ maceration

² dimethyl sulfoxide (DMSO)

آزمون های زیست سنجی

روش نشر در آگار

برای انجام این آزمون از محیط کشت مولر هیتتون آگار ۳۸ گرم در لیتر استفاده شد. بعد از ریختن محیط کشت، تشتک‌های پتری در زیر هود قرار داده شد تا محیط کشت کاملاً بسته شود. جدایه خالص باکتری توسط سوزن سترون برداشته و در محلول سرم فیزیولوژی سترون حل شد. سوسپانسیون تهیه شده از باکتری با استاندارد نیم مک فارلند (10^6 سلول باکتری در میلی لیتر) مقایسه گردید تا از لحاظ میزان کدورت برابر باشند. مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری روی محیط کشت ریخته شده و به وسیله پیپت پاستور سترون، به طور کامل روی آن پخش و برای مدت ۲۵-۲۰ دقیقه بدون در زیر هود قرار گرفت تا سطح محیط کشت خشک شود. سپس روی هر کدام از دیسک های سترون، ۱۵ میکرولیتر عصاره یا اسانس سرخارگل ریخته شد. از جتتامایسین ۱۰ میکروگرمی ساخت شرکت پادتن طب به عنوان شاهد مثبت و از دیسک حاوی ۲۰ میکرولیتر حلال خشی دی متیل سولفوکسید به عنوان شاهد منفی استفاده شد. سه دیسک شامل شاهد مثبت، منفی و عصاره یا اسانس در سه تکرار روی محیط کشت قرار داده شدند. تشتک‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس نگهداری و قطر هاله عدم رشد بر حسب میلی متر پس از طی دوره نگهداری اندازه گیری شد (Shahidi et al., 2013). آزمون زیست سنجی در قالب طرح آماری کاملاً تصادفی با سه تکرار با نرم افزار SPSS ver. 16 تجزیه و تحلیل و مقایسه میانگین ها نیز با استفاده از آزمون دانکن در سطح ۵٪ صورت پذیرفت.

روش رقت لوله ای و تعیین حداقل غلظت بازدارنده رشد^۱ و کشنده^۲ عصاره و اسانس سرخارگل

در این آزمون از محیط کشت مایع مولر هیتتون براث (۲۱ گرم در لیتر) ساخت شرکت مرک آلمان استفاده شد برای تهیه غلظت اولیه عصاره سرخارگل از ۴۰ میلی گرم عصاره خشک در ۱ میلی لیتر حلال دی متیل سولفوکسید و برای اسانس ۱ و ۲ میکرولیتر اسانس هر کدام در ۲۰ میکرولیتر حلال استفاده شد. در بخش عصاره از نه لوله آزمایش حاوی ۱ میلی لیتر و در مورد اسانس از هشت لوله آزمایش حاوی ۱ میلی لیتر از محیط کشت استفاده شد. در هر دو بخش یکی از لوله‌های آزمایش حاوی محیط کشت و باکتری به عنوان شاهد مثبت حاوی فقط محیط کشت و باکتری و لوله آزمایش دیگر حاوی فقط محیط کشت به عنوان شاهد منفی در نظر گرفته شد. در عصاره ها هفت لوله آزمایش باقی مانده از شماره ۱ تا ۷ و شش لوله باقی مانده در مورد اسانس از ۱ تا ۶ شماره گذاری گردید. داخل لوله شماره ۱، ۱ میلی لیتر از عصاره سرخارگل با غلظت ۴۰ میلی گرم بر میلی لیتر و یا ۲۰ میکرولیتر از اسانس با غلظت ۱ و ۲ میکرولیتر ریخته شد، به وسیله ورتکس لوله به مدت یک دقیقه یکنواخت شد. از لوله آزمایش شماره ۱، مقدار ۱ میلی لیتر از محلول هموزن به وسیله سمپلر برداشته شده و داخل لوله شماره ۲ ریخته شد و این کار تا لوله شماره ۷ و برای اسانس تا لوله شماره ۶ تکرار شد و از لوله شماره آخر، ۱ میلی لیتر از محلول یکنواخت محیط کشت مایع و عصاره سرخارگل برداشته و به بیرون انتقال گردید بدین ترتیب غلظت های ۲۰، ۱۰، ۵، ۲/۵، ۱/۲۵، ۰/۶۲۵ و

¹ minimal Inhibitive concentration (MIC)² minimal bactericidal concentration (MBC)

۰/۳۱۲ میلی گرم در میلی‌لیتر از عصاره های قسمت های مختلف سرخارگل و غلظت های ۱، ۰/۵، ۰/۲۵، ۰/۱۲۵ و ۰/۰۶۲۵ میکرولیتر برای اسانس با غلظت ۲ میکرولیتر و غلظت های ۱، ۰/۵، ۰/۲۵، ۰/۱۲۵ و ۰/۰۶۲۵ و ۰/۰۳۱۲ میکرولیتر برای اسانس با غلظت ۱ میکرولیتر به دست آمد. سپس از سوسپانسیون باکتری تهیه شده مقدار ۲۰ میکرولیتر برداشته و داخل تمام لوله ها به جز لوله کنترل منفی ریخته شده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس نگهداری و سپس رشد یا عدم رشد باکتری ها به صورت چشمی مورد بررسی قرار گرفت. مرز رقت بدون هیچ رشد قابل رؤیت به عنوان حداقل غلظت بازدارنده از رشد در نظر گرفته شد و اولین لوله ای که نشان دهنده مهار رشد باکتری باشد به عنوان کمترین غلظت مهار کننده رشد در نظر گرفته شد. برای تعیین این که درون لوله ها رشد باکتری مهار شده یا از بین رفته به محیط کشت جامد مولر هینتون آگار انتقال داده شد و در دمای ۳۷ درجه سلسیوس، به مدت ۲۴ ساعت نگهداری شد. کمترین غلظتی که هیچ رشدی از باکتری در آن مشاهده نشد به عنوان حداقل غلظت کشنده در نظر گرفته شد (Izadi et al., 2012; Shahidi et al., 2013)

نتایج و بحث

تیمارهای مورد بررسی شامل اسانس و عصاره بخش های مختلف سرخارگل با حلال های مختلف اثرات معنی دار و متفاوتی بر رشد پرگنه باکتری مورد مطالعه داشتند (جدول ۱).

جدول ۱- تجزیه واریانس قطر هاله بازدارنده رشد *P. caratovorum subsp. caratovorum* در اثر اعمال عصاره اندام-های گیاهی و اسانس گل سرخارگل

منبع تغییرات	درجه آزادی	جمع مربعات	میانگین مربعات	مقدار F	مقدار P
تیمار	۲۳	۴۰۵۷/۰۷۷	۱۷۶/۳۹۵**	۹۶/۰۳۳	۰/۰۰۰
خطای آزمایش	۴۸	۸۸/۱۶۷	۱/۸۳۷		
کل	۷۱	۴۱۴۵/۲۴۸			

ضریب تغییرات (۱۳/۴۳٪)

** بیانگر اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد است.

با این حال هیچ یک از تیمارهای مورد بررسی نتوانستند با آنتی بیوتیک جنتامایسین که به عنوان شاهد مثبت استفاده شده بود، رقابت کنند. مؤثرترین تیمار شامل ۲ میکرولیتر از اسانس سرخارگل تقریباً نصف هاله بازدارنده ایجاد شده در جنتامایسین را ایجاد نمود و با سایر تیمارهای مورد بررسی نیز اختلاف معنی داری نشان داد. کاهش غلظت اسانس به نصف (۱ میکرولیتر) به طور معنی داری از اثر آن بر رشد باکتری کاست. نتایج نشان داد که مواد ضدباکتریایی در اندام های مختلف گیاهی از قبیل ریشه، ساقه، برگ و گل پراکنده اند و بر حسب حلال مورد استفاده مقادیر مختلفی از آن ها استخراج می شود. ریشه سرخارگل ظاهراً منبعی سرشار از این مواد بوده و نسبت

به سایر قسمت های این گیاه از مواد مؤثره بیشتری برخوردار است. استون تنها حلالی است که نتوانسته مواد ضدباکتریایی از ریشه را استخراج کند و اثر عصاره استونی ریشه با شاهد منفی معنی دار نیست. به این دلیل که استون یک حلال غیرقطبی است احتمالاً نتوانسته در استخراج مواد ضد میکروبی موجود در عصاره اندام های مختلف سرخارگل موفق عمل نماید. در حالی که سایر حلال ها قطبی می باشند و اکثراً تا حد زیادی در این رابطه مؤثر بوده اند. همچنین آب که یک حلال قطبی است نتوانسته بهتر از استون در این زمینه عمل نماید. با این حال به نظر می رسد استفاده از برخی روش ها مثل جوشاندن در آب بتواند در این زمینه به استخراج مواد ضد میکروبی از گیاه بهتر عمل نماید. با این حال عصاره های اتانول، کلریدریک اسید و حتی آبی ریشه توانست با غلظت ۱ میکرولیتر اسانس گل رقابت نموده و به اندازه آن اثرگذار باشد. عصاره متانولی ریشه نسبت به سایر عصاره های ذکر شده اثر کمتری از خود باقی گذاشت. عصاره های تهیه شده از ساقه به جز عصاره استونی اثر مشابهی روی باکتری مورد مطالعه از خود نشان دادند. استون در استخراج مواد آنتی باکتریایی از برگ و همچنین گل نیز موفقیت چندانی از خود نشان نداد و برای تهیه عصاره سرخارگل حلال مناسبی به شمار نمی رود. همچنین عصاره آبی از ساقه و ریشه مواد ضدباکتریایی قابل توجهی را نتوانست استخراج نماید، در حالی که در استخراج این مواد از برگ و گل موفق عمل نکرد. عصاره های متانولی برگ و ساقه و ریشه و گل نیز با هم اختلاف معنی داری نشان ندادند. این امر نشانگر یکنواخت و باثبات عمل نمودن متانول در استخراج مواد ضدباکتریایی از اندام های مختلف سرخارگل را دارد با این حال این حلال نتوانست به اندازه سایر حلال ها در این کار موفق عمل نماید. در کل، عصاره های گیاهی سرخارگل (به جز عصاره های استونی و بعضاً آبی) و به ویژه اسانس تهیه شده از گل آن می تواند بر این باکتری اثر کشنده یا متوقف کننده رشد داشته باشد. عصاره اتانولی گل از لحاظ دارا بودن مواد ضدباکتریایی با اسانس ۱ میکرولیتر و نیز عصاره های ریشه قابل رقابت بود (جدول ۲).

نتایج بررسی حداقل غلظت کشنده و بازدارنده نشان داد که تمام عصاره ها و اسانس مورد مطالعه بر رشد باکتری بازدارنده اند ولی برخی از آنها به ویژه عصاره های برگ می توانند کشنده باشند. عصاره های استونی کم اثرترین تیمارها از لحاظ باکتری ایستایی بودند و در تمامی اندام های مورد بررسی در غلظت ۵ میلی گرم بر میکرولیتر نتوانستند از رشد باکتری جلوگیری کنند. هیچ تیمار دیگری که از سایر حلال ها برای عصاره گیری آن استفاده شده بود به این اندازه کم اثر نشان نداد. مؤثرترین تیمار از لحاظ متوقف نمودن رشد باکتری اسانس تهیه شده از سرخارگل در غلظت های ۱ و ۲ میکرولیتر بود که در غلظت ۰/۶۲۵ میکرولیتر در میلی لیتر نتوانست بازدارنده باشد. عصاره های استونی به جز عصاره استونی گل نتوانست بر باکتری مورد مطالعه اثر کشنده داشته باشد. عصاره های آبی نیز کمترین کشندگی را داشتند و عصاره آبی برگ نتوانست بر باکتری کشنده باشد. عصاره آبی سایر اندام ها نیز از لحاظ کشندگی در پایین ترین سطح نسبت به سایر عصاره های تهیه شده از سایر حلال ها قرار داشتند. عصاره اتانولی برگ کشنده ترین تیمار مورد مطالعه بود و حتی نسبت به اسانس ها نیز از این لحاظ موفق تر عمل نمود (جدول ۳).

جدول ۲ - قطر هاله بازدارنده رشد *P. caratovorum* subsp. *caratovorum* تحت تأثیر اعمال عصاره اندام‌های مختلف سرخارگل با چند حلال و اسانس گل سرخارگل

قطر هاله بازدارنده (میلی متر)	حلال	اندام‌های گیاهی	قطر هاله بازدارنده (میلی متر)	حلال	اندام‌های گیاهی
۸/۵ ^{hi}	استون	اندام‌های گیاهی	۹ ^{gh}	استون	اندام‌های گیاهی
۱۲/۳۳ ^{def}	اتانول	گل	۱۵/۳۳ ^c	اتانول	گل
۱۱/۳۳ ^{efg}	متانول	گل	۱۱/۳۳ ^{efg}	متانول	ساقه
۱۲/۳۳ ^{def}	آب	گل	۸/۳۳ ^{hi}	آب	گل
۱۳/۳۳ ^{cde}	اسیدکلریدریک	گل	۱۰/۵ ^{fgh}	اسیدکلریدریک	گل
۶/۴ ⁱ	استون	برگ	۸/۳۳ ^{hi}	استون	برگ
۱۴/۶۶ ^{cd}	اتانول	برگ	۱۳/۶۶ ^{cde}	اتانول	برگ
۱۲/۶۶ ^{def}	متانول	برگ	۹/۳۳ ^{hg}	متانول	ریشه
۱۵/۶۶ ^c	آب	برگ	۶/۴ ⁱ	آب	برگ
۱۵/۵ ^c	اسیدکلریدریک	برگ	۱۲/۶۶ ^{def}	اسیدکلریدریک	برگ
۲۱ ^b	-	اسانس گل (۱ میکرولیتر)	۱۵/۳۳ ^c	-	اسانس گل (۲ میکرولیتر)
۶/۴ ⁱ	-	جنتامایسین (شاهد مثبت)	۴۵ ^a	-	دی متیل سولفید (شاهد منفی)

نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که سرخارگل به عنوان یک گیاه ضد میکروبی از کارایی بالقوه مناسبی برای مهار باکتری عامل پوسیدگی نرم در سیب زمینی برخوردار است. تمام پیکره رویشی و زایشی گیاه از مواد ضدباکتریایی برخوردارند (Sloley *et al.*, 2001) ولی تجمع مواد ضد میکروبی در عصاره ریشه و نیز اسانس گل بیشتر است. شولت و همکاران (Schulte *et al.*, 1967) نیز بر تجمع بیشتر مواد ضدباکتریایی در ریشه تأکید نموده‌اند. این مطالعه اثر مستقیم کشندگی و بازدارندگی مواد گیاهی استخراج شده از سرخارگل بر این باکتری را مورد تأیید قرار می‌دهد هرچند برخی محققین معتقدند سرخارگل با تأثیر روی سیستم ایمنی بدن موجب مقاومت بدن انسان در برابر باکتری‌های بیماری‌زایی می‌گردد (Sharma *et al.*, 2010; Bany *et al.*, 2003).

جدول ۳ - میانگین حداقل غلظت بازدارنده رشد و کشندگی و نسبت غلظت کشنده بر بازدارنده عصاره اندام های مختلف و اسانس گل سرخارگل بر باکتری *P. caratovorum subsp. caratovorum*

مواد گیاهی سرخارگل	حلال	حداقل غلظت بازدارنده (میلی گرم بر میلی لیتر)	حداقل غلظت کشنده (میلی گرم بر میلی لیتر)	حداقل غلظت کشنده/ حداقل غلظت بازدارنده
عصاره گل	استون	۵	۲۰	۴
	اتانول	۱/۲۵	۲/۵	۲
	متانول	۰/۷۵	۲/۵	۳/۳۳
	اسیدکلریدریک	۲/۵	۵	۲
	آب	۱/۲۵	۱۰	۸
عصاره برگ	استون	۵	*	-
	اتانول	۰/۷۵	۱/۲۵	۱/۶۶
	متانول	۰/۷۵	-	-
	اسیدکلریدریک	۲/۵	۵	۲
	آب	۱/۲۵	-	-
عصاره ساقه	استون	۵	-	-
	اتانول	۱/۲۵	۲/۵	۲
	متانول	۱/۲۵	۱۰	۸
	اسیدکلریدریک	۲/۵	۵	۲
	آب	۱/۲۵	۲۰	۱۶
عصاره ریشه	استون	۵	-	-
	اتانول	۱/۲۵	۲/۵	۲
	متانول	۱/۲۵	۱۰	۸
	اسیدکلریدریک	۲/۵	۵	۲
	آب	۱/۲۵	۱۰	۸
اسانس گل ۱ میکرولیتر	-	۰/۶۲۵	۰/۵	۸
اسانس گل ۲ میکرولیتر	-	۰/۶۲۵	۰/۲۵	۴

* عدم تأثیر عصاره ها در هیچ کدام از غلظت های به کار رفته

References

1. Afzal AM, Rahber-Bhatti MH and Aslam M. 1997. Antibacterial activity of plant diffusate against *Xanthomonas campestris* subsp. *citri*. International Journal of Pest Management 43: 149–153.
2. Alishahi M, Mesbah M, Namjouyan P, Sabzvaryzadeh M and Razi-Jalali M. 2013. Comparison of the effects of some chemical and herbal immune stimulators on Oscar fish (*Astronotus ocellatus*). Journal of Iranian Veterinary Medicine 8: 67–58.
3. Bany J, Siwicki AK, Zdanowska D, Sokolnicka I, Skopińska-Rózewska E and Kowalczyk M. 2003. *Echinacea purpurea* stimulates cellular immunity and anti-bacterial defence independently of the strain of mice. Journal of Veterinary Science 6: 3–5.
4. Cowan MM. 1999. Plant products as antimicrobial agents. Clinical Microbiology Reviews, 12: 564–582.
5. Ghaemi A, Soleyman Jahi H, Farshbaf Moghaddam M, Yazdani N and Zaki Dizaji H. 2006. Evaluation of antiviral potential of coneflower foliage in controlling of Herpes simplex virus (type I) human virus. Hakim 4: 59–64.
6. Hassanzadeh N. 2005. Technology of natural plant materials, emphasizing on fire blight disease. Agricultural Science 11: 58–53.
7. Hayward AC. 1991. Biology and epidemiology of bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. Annual Review of Phytopathology 29: 65–84.
8. Hooker WJ. 1981. Compendium of Potato Diseases. Minnesota: APS Press. 125 p.
9. Izadi Z, Soroushzadeh A, Modarre Sanavi SAM, Esna-Ashari, M and Davoudi P. 2012. Identify the chemical composition of the essential oil of *Echinacea purpurea* L. and evaluation of its antimicrobial activity against a number of bacterial strains. Southern Medical Journal. 12 p.
10. Lee TT, Huang CC, Shieh XH, Chen CL, Chen LJ and Yu B. 2010. Flavonoid, phenol and polysaccharide contents of *Echinacea purpurea* L. and its immunostimulant capacity in vitro. International Journal of Environment and Sustainable Development 1: 5–9.
11. Merali S, Binns S, Paulin-Levasseur M, Ficker C, Smith M, Baum, B, Brovelli, E. and Arnason, JT. 2003. Antifungal and anti-inflammatory activity of the genus *Echinacea*. Pharmaceutical Biology 41: 412–420.
12. O'Hara M, Kiefer D, Farrel K and Kemper K. 1998. A review of 12 commonly used medicinal herbs. Archives of Family Medicine 7: 523–35.
13. Omidbeigi, R. 2010. Processing of medicinal plants. First edition, Astane Qodse Razavi Publisher 423 pp.
14. Rodriguez DJ, Castillo DH, Garcia RR and Sanchez JLA. 2005. Antifungal activity of *Aloe vera* pulp and liquid fraction against plant pathogenic fungi. Industrial Crops and Products 21: 81–87.
15. Sabouri Z, Barzegar M, Sahari MA, Naghdi Badi H. 2012. Antioxidant and antimicrobial potential of *Echinacea purpurea* extract and its effect on extension of cake shelf life. Journal of Medicinal Plants 11: 28–40.
16. Savage TF, Cotter PF and Zakrzewska EI. 1996. The effect of feeding mannan oligosaccharide on immunoglobulins, plasma IgG and bile IgA, of Wrolstad MW male turkeys. Poultry Science 75: 143–148.
17. Schulte KE, Rucker G and Perlick J. 1967. The presence of polyacetylene compounds in *Echinacea purpurea* and *Echinacea angustifolia* DC. Arzneimittelforschung 17: 825–829.

18. Sharma SM, Anderson M, Schoop SR and Hudson JB. 2010. Bactericidal and anti-inflammatory properties of a standardized Echinacea extract (Echinaforce): dual actions against respiratory bacteria. *Phytomedicine* 17: 563–568.
19. Sloley BD, Urichuk LJ, Tywin C, Coutts RT and Shan JJ. 2001. Comparison of chemical components and antioxidant capacity of different *Echinacea* species. *Journal of Pharmacology and Pharmacotherapeutics* 53: 849–857.
20. Shahidi SM, Jamshidi S and Torani M. 2013. Antibacterial potential of five lichens species from Arasbaran on *Dikera chrysanthemi* potato rot causal agent in laboratory and greenhouse conditions. *Modern Science of Sustainable Agriculture* 8: 55–65.
21. Tepe B, Donmez E, Unlu M, Candan F, Daferera D. and Vardar-Unlu G. 2004. Antimicrobial and antioxidative activities of the essential oils and methanol extracts of *Salvia cryptantha* (Montbret et aucher ex Benth.) and *Salvia multicaulis* (Vahl). *Food Chemistry* 7: 519–525.
22. Varns JL, Schaper LA, Preston DA. 1985. Potatoes losses during the first three months of storage for processing. *American Potato Journal* 62: 91–99.

Archive of SID

Antibacterial effect of flower essential oils and plant organs' extracts of purple coneflower on the bacterium *Pectobacterium carotovora* pv. *carotovora* in laboratory condition

S. Andargani¹, S. Jamshidi *², M. Oraei³

Abstract

Recently, plant pathogen's biocontrol is a priority considering hazards and environmental threats of chemical pesticides. Using plant materials as antimicrobes has typically attracted many attentions. The aim of current study was evaluation of plant materials obtained from purple coneflower against *Pectobacterium caratovorum* subsp. *caratovorum* the casual agent of potato soft rot. Aqueous, acetone, methanol, ethanol and HCl extracts of coneflower root, stem, leaf and flower were obtained by rotary set while flower essential oils were extracted using Clevenger apparatus. The antimicrobial activity of coneflower extracts and essential oil was evaluated in laboratory with disc diffusion and minimal inhibitory and bactericidal concentration methods. The bacterium was more sensitive to flower essential oil than extracts. Root extracts were more inhibitory compared with other organs' extracts. Also, aqueous and acetone extracts had very limited antibacterial activities on studied bacterium. Leaf extract possessed more growth inhibitor characteristic rather than bactericide traits. Regarding the results, plant materials obtained from coneflower could be a potent candidate against potato soft rot bacterium and might be considered as a promising biocontrol agent in the future.

Keywords: *Echinacea*, antibacterial activity, minimal inhibitory concentration, minimal bactericidal concentration

¹- Former MSc student, Physiology & Breeding of Medicinal, Spice & Aromatic Plants Department, Islamic Azad University, Miyaneh Branch .

²- Assistant Professor and Young Researchers and Elite Club of Islamic Azad University, Miyaneh Branch, Miyaneh, Iran.

³- Assistant Professor of Horticulture Science Department, Islamic Azad University, Miyaneh Branch, Miyaneh, Iran.

*Corresponding author: s.jamshidy@gmail.com