بررسی اثرات ضد میکروبی و فیتوشیمیایی عصاره‌های آلی گیاه بومی *Capsicum annuum* بر روی ایزوله‌ی *Erwinia carotovora* جداشده از گوجه فرنگی

الناز بهفروزی*[۱]، خسرو عیسی زاده[۲]، محمدرضا مجید خوش خلق پهلویانی[۳]، محمدعلی ابراهیمی[۴]

۱و ۴- دانشگاه پیام نور، دانشکده علوم پایه و کشاورزی،گروه بیوتکنولوژی کشاورزی، تهران، ایران، صندوق پستی:۱۵۹۹۹۵۷۶۱۳

۲- دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان، دانشکده علوم پایه،گروه میکروبیولوژی، لاهیجان، ایران، صندوق پستی: ۱۶۱۶

۳- دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان، دانشکده علوم پایه، گروه بیوتکنولوژی، لاهیجان، ایران، صندوق پستی: ۱۶۱۶

(*عهده‌دار مکاتبات- elnaz_microb2006@yahoo.com)

چکیده

بیماری‌های باکتریایی گیاهان میوه‌دار باعث آسیب های زیادی در سرتا سر جهان می‌شوند. به منظور مدیریت بیماری‌های گیاهی، مواد شیمیایی مختلفی در تمام دنیا مورد استفاده قرار می‌گیرند. این مواد در بافت‌های حیوانی تجمع پیدا کرده و باعث به خطر انداختن سلامت انسانی می‌شوند. گیاهان به عنوان مخزنی از مواد شیمیایی درمانی موثر می‌توانند منابع با ارزشی از آفت‌کش‌های طبیعی تلقی گردند. گونه‌های گیاهی مختلف برای کنترل میکروارگانیسم‌های پاتوژن گیاهی مهم هستند. در میان تمام عصاره‌های بدست آمده تنها عصاره‌های برگ و میوه می‌توانند در مقابل باکتری‌های گرم منفی فعالیت بیشتری نشان دهند. جنس *Capsicum annuum* متعلق به خانواده *Solanaceae* می‌باشد و انواع مختلفی از فلفل (chili papper) را شامل می‌شود. در مطالعه حاضر فعالیت ضد باکتریایی عصاره‌های الکلی هگزان،استات اتیل، کلروفرم، پترولیوم اتر، اتانول و متانول میوه گونه‌ای از فلفل (*Capsicum annuum*) در مقابل ایزوله *E. carotovora* با استفاده از روش انتشار دیسک در آگار در مقایسه با آنتی‌بیوتیک‌های منتخب در شرایط آزمایشگاهی بررسی شده است. عصاره‌ها فعالیت های ضد باکتریایی را در محدوده مهاری رشد ۱۸- ۱۲ میلی‌متر نشان دادند. محدوده حداقل غلظت ممانعت کننده (MIC) بدست آمده از عصاره‌های این گیاه بین۰/۰۳۳-۰/۰۳۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر متعاقب روش رقت در آبگوشت نشان داده شد. این مقادیر برای MBC در محدوده غلظتی ۰/۷۳-۰/۵۳ میلی‌گرم در میلی لیتر بود. غربالگری فیتوشیمیایی حضورساپونین، ترکیبات فنلی، تانن، آلکالوئید و فلاونوئید را در حلال‌های مختلف نشان داد. توانایی عصاره‌های میوه این گونه گیاهی جهت مهار رشد *Erwinia* نشان‌دهنده پتانسیل ضد باکتریایی آن می‌باشد که ممکن است بتوان از آن در کنترل بیولوژیکی دیگر پاتوژن‌ها استفاده کرد. نتایج به دست آمده، نشان داد که عصاره‌های اتانولی و متانولی *Capsicum annuum* افق قابل توجهی در وسعت بخشیدن به فعالیت‌های داروهای گیاهی ضد میکروبی دارند.

کلمات کلیدی: عصاره، فعالیت ضد باکتریایی، *Capsicum annuum*، پاتوژن گیاهی.

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه

بیماری‌های گیاهی، عواملی مستمر و محدود کننده در تولید محصولات کشاورزی می‌باشند و توجه ناکافی به آن‌ها موجب ضررهای اقتصادی زیادی می‌شود، امری که با توجه به روند رو به رشد جهانی از اهمیت خاصی برخوردار است. از آن‌جایی‌که زندگی انسان‌ها در بسیاری موارد، از جمله تغذیه، پوشاک و وسائل خانگی و حتی در بسیاری موارد خانه‌سازی نیز وابسته به گیاهان است، مبارزه با بیماری‌های گیاهی اهمیت زیادی دارد (۱۶). گوجه فرنگی یکی از مطلوب‌ترین محصولات خانواده سولاناسه (*Solanaceae*) در دنیا است که می‌تواند دوره رویش در معرض بیماری‌ها و آسیب‌های زیادی قرار گیرد، لذا پژوهش در زمینه‌ی شناخت علائم بیماری‌های شایع این محصول گیاهی در گلخانه‌ها یا باغات، پرورش این محصول و تلاش در جهت بهبود کیفیت و کمیت آن از نظر اقتصادی اهمیت زیادی دارد. گونه‌های باکتریایی متعلق به جنس *Erwinia* از طریق ژن لوکوس *hrp* در بیماری‌زایی گوجه فرنگی دخالت دارند (۳). این باکتری گرم منفی، بی‌هوازی اختیاری، اکسیداز منفی و کاتالاز مثبت بوده و معمولاً دارای فلاژل‌های پری تریش می‌باشد. محتوای گوانین و سیتوزین آن ۵۰ تا ۵۸ درصد است.گونه‌های متعلق به این جنس عامل پوسیدگی نرم به ویژه میوه‌ها و اندام‌های ذخیره‌ای گیاهان علفی می‌باشد. کنترل بیولوژیکی آفات گوجه فرنگی بدون استفاده از مواد شیمیایی مضر به منظور کنترل موارد بروز بیماری و اپیدمی حاصل از پاتووارهای باکتریایی عامل فساد طی دهه‌ی اخیر مورد توجه قرار گرفته است (۸). هدف از این پژوهش، بررسی آزمایشگاهی عصاره‌های بدست آمده از گیاه فلفل هندی (*Capsicum annuum*) برای نشان دادن اثر مهاری آن در مقابل رشد باکتری *Erwinia* در گوجه فرنگی از طریق غربالگری اولیه و تعیین مقادیر حداقل غلظت ممانعت کننده (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) و مقایسه آن با آنتی‌بیوتیک‌های کنترل می‌باشد. جنس *Capsicum* شامل درختچه‌های کوتاه، دائمی و همیشه سبز می‌باشند که معمولاً به صورت گیاهان یکساله درفضای بازکاشته می‌شوند. فلفل زینتی (*Capsicum annuum*) به دلیل میوه‌های زیبایی که ابتدا سبز، سپس زرد و به تدریج به قرمزی می‌گرایند مورد توجه می‌باشد. گل‌های ستاره‌ای شکل آن نیز در خور توجه بوده و در بهار به تعداد زیاد در روی گیاه ظاهر می‌شوند. این گیاه می‌تواند برای تسکین دردهای مجاری ادراری و زایمانی به کار رود. برگ‌های آن برای معالجه درد دندان استفاده می‌شود. همچنین برطرف کننده نفخ، تسکین دهنده اعصاب و ضد رماتیسم نیز می‌باشد. دارای خواص آنتی‌سپتیک، تعریق آور، هضم کننده و مسهل می‌باشد. عصاره الکلی آن از رشد *Salmonella typhimurium* و *Pseudomonas aeruginosa* جلوگیری می‌کند. عصاره اتانولی این میوه قدمتی مشابه در فعالیت ضد میکروبی علیه باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی و قارچ‌ها نشان داده است که می‌تواند ناشی از مقادیر مختلف Capsaicin می‌باشند. آزمایش‌های بیواوتوگرافی نشان داده است که Capsaicin موجود در گیاه عمده‌ترین ماده‌ی ضد میکروبی است (۲).

Archive of SID

www.SID.ir

مواد و روش‌ها

تهیه عصاره‌های الکلی گیاه

Capsicum annuum

میوه این گیاه در پاییز سال ۱۳۸۹ از منطقه آستانه (واقع در استان گیلان) جمع‌آوری گردید. گیاه مربوطه توسط کارشناس مرکز تحقیقات مراتع و جنگل‌ها و همچنین مرکز تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی شناسایی و تأیید گردید. میوه گیاه در سایه خشک شد و به قطعات کوچک بریده و سپس به وسیله دستگاه خردکن برقی به شکل پودر آماده گردید. ۱۰۰ گرم از پودر میوه خشک شده توسط دستگاه سوکسله برای تهیه عصاره‌های اتانولی و متانولی مورد استفاده قرار گرفت. پس از صاف کردن توسط کاغذ صافی واتمن شماره ۱، در دمای ۵۰°C تغلیظ و بعد از وزن نمودن محتوای عصاره‌ها جهت استفاده بعدی در ۴ °C در شیشه‌های دودی ذخیره گردید.

جداسازی باکتری از بافت گوجه فرنگی

با استفاده از این روش بافت گیاهی را که شامل یک قسمت آلوده و یک قسمت سالم بوده در داخل هاون استریل حاوی ۳-۱ میلی‌لیتر آب مقطر استریل کوبیده شد و سپس حدود ۲۰-۱۵ دقیقه انتظار کشیده تا رسوب نماید. بعد از تهیه رسوب رقت‌های 10^{-1} تا 10^{-4} تهیه گردید. ۰/۱ میلی‌لیتر از هر یک از رقت‌ها و در سطح محیط کشت cvp (Crystal violet pectate) کشت داده شد. معمولاً برای هر سوسپانسیون از چهار پلیت استفاده گردید (۱). در ضمن به هر کدام از محیط‌های کشت فوق جهت مهار رشد قارچ‌ها، آنتی‌بیوتیک سیکلوهگزامید (۰/۱٪ وزنی- حجمی) اضافه گردید. هر کدام از پلیت‌ها در دمای ۳۷ °C-۳۵ انکوبه گردیده و بعد از ۴۸-۲۴ ساعت مورد بررسی قرار گرفتند. باکتری مورد بررسی با استفاده از بررسی صفات تست‌های فنوتیپی مانند تکنیک رنگ‌آمیزی گرم، اکسیداز، کاتالاز، تولید اندول، تست احیای نیترات، حرکت، فعالیت اوره آزی، تولید SH_2 و اسید از قندهای گلوکز، سوکروز و مالتوز، DNase و غیره شناسایی شده و در محیط Trypticase Soy Agar کشت گردید و در دمای ۲۰ °C- برای استفاده‌های بعدی ذخیره گردیدند.

آنالیز فیتوشیمیایی

این تست ها برای شناسایی اجزای اصلی تشکیل دهنده عصاره انجام گردید.

فلاونوئید

ابتدا ۴ میلی لیتر از محلول عصاره با ۱/۵ میلی‌لیتر از محلول اتانول ۵۰٪ مخلوط گردید. محلول بدست آمده گرم شده و منیزیم به آن اضافه شد. سپس به این محلول ۵ تا ۶ قطره اسید کلریدریک غلیظ اضافه گردید. پیدایش رنگ قرمز، نشان دهنده وجود فلاونوئید و رنگ نارنجی نشان دهنده حضور فلاون بود.

تانن‌ها

به ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول عصاره یک میلی‌لیتر آب مقطر و ۲-۱ قطره محلول کلرید فریک اضافه گردید. حضور رنگ آبی نشان دهنده تانن گالیک و رنگ سیاه و یا سبز- سیاه نشان دهنده حضور کاتیگونیک تانن بود.

www.SID.ir

قندهای احیا کننده

با اضافه کردن ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول عصاره به یک میلی‌لیتر آب و سپس ۸-۵ قطره از محلول fehling در شرایط گرم، مشاهده رسوب قرمز آجری حضور قند احیا کننده را اثبات می‌کند.

ترپنوئید و استروئید

۴ میلی‌گرم از عصاره با ۰/۵ میلی‌لیتر اسید استیک بدون آب و ۰/۵ میلی لیتر کلروفرم مخلوط گردیده و سپس به تدریج محلول غلیظ اسید سولفوریک اضافه شد. مشاهده رنگ قرمز- بنفش به جهت حضور ترپنوئید و رنگ سبز متمایل به آبی نشان‌دهنده وجود استروئید بود.

گلیکوزیدها

به ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول عصاره، اسید استیک اضافه شده و سپس چند قطره کلرید فریک و اسید سولفوریک غلیظ نیز افزوده شد. رنگ قرمز متمایل به قهوه‌ای مشاهده شده در بین دو لایه و رنگ سبز متمایل به آبی در لایه بالایی نشان از وجود گلیکوزید می‌باشد.

آلکالوئید

ابتدا عصاره الکلی را به وسیله حرارت تبخیر کرده تا کاملاً خشک شود (در بن ماری جوش بااسید کلریدریک ۲٪). بعد از سرد شدن محلول حاصل صاف شده و به آن چند قطره از معرف Mayer افزوده گردید. نمونه‌ها سپس به جهت حضور کدورت و تشکیل رسوب زرد رنگ مورد بررسی قرار گرفتند.

ساپونین

یک گرم از پودر خشک شده گیاه به همراه ۱۰ میلی‌لیتر از آب مقطر در یک بطری به مدت ۱۰ دقیقه جوشانده شده و مخلوط گرم شده آن صاف و سپس سرد گردید. ۲/۵ میلی‌لیتر از محلول صاف شده با ۱۰ میلی‌لیتر از آب مقطر رقیق شده و به مدت ۲ دقیقه به شدت تکان داده شد پس از ۲۰-۱۵ دقیقه انتظار تشکیل کف نشان‌دهنده حضور ساپونین بود. عدم تشکیل کف= منفی، کف کمتر از یک سانتی‌متر= ضعیف مثبت، تشکیل کف با ارتفاع ۱/۲ سانتی‌متر= مثبت، تشکیل کف بیش از ۲ سانتی متر = مثبت قوی.

فلوباتانین

هنگامی که عصاره هر نمونه گیاهی با اسید کلریدریک ۱٪ جوشانده شده و تشکیل رسوب قرمزرنگ دهد، نشان دهنده وجود فلوباتانین بود.

ترکیبات فنلی

عصاره با ۴-۳ قطره از محلول کلرید فریک مخلوط شده و تشکیل رنگ سبز متمایل به آبی نشان دهنده حضور فنل بود.

تعیین فعالیت ضد میکروبی اولیه

تهیه سوسپانسیون میکروبی

برای این منظور سه لوله آزمایش استریل بلند انتخاب گردیده و به هر کدام ۹ میلی‌لیتر از محیط آبگوشت مولر هینتون اضافه شد. به لوله اول ۱ میلی‌لیتر از سوسپانسیون میکروبی موجود در محیط کشت Trypticase Soy Broth معادل ۰/۵ مک فارلند اضافه شده و سپس ۱ میلی‌لیتر از آن به لوله دوم و از لوله دوم، دوباره ۱ میلی‌لیتر به لوله سوم اضافه می‌شود

www.SID.ir

(قبل از هر انتقال، لوله‌ها با استفاده از دستگاه مخلوط کن به خوبی مخلوط شدند). در این حالت غلظت باکتری در لوله سوم برابر با $۱/۵\times۱۰^{۵}$ cfu/ml بود.

بررسی اثر ضد میکروبی عصاره ها بر روی فیتوپاتوژن‌های شایع گوجه فرنگی به روش روش انتشاردیسک در آگار (Agar disk diffusion method)

برای کشت باکتری بر روی محیط کشت آگار مولر هینتون، ابتدا سوسپانسیون میکروبی تهیه گردید. برای این کار چند کلونی از میکروارگانیسم مورد نظر (۲ تا ۳ کلونی) در لوله‌های استریل که حاوی ۳ تا ۵ میلی‌لیتر محیط کشت MHB بودند، وارد شدند و سوسپانسیون میکروبی استاندارد ۰/۵ مک فارلند تهیه شد. سپس لوله‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق قرار گرفتند.

در ادامه نمونه‌های میکروبی جدا شده از گوجه فرنگی توسط سوآب‌های استریل بر روی سطح پلیت محیط MHB کشت داده شدند، طوری که اطمینان حاصل شود که تمام سطح پلیت با باکتری‌ها تلقیح شده است. سپس به دیسک‌های بلانک استریل به قطر ۶ میلی‌متر ۸۰ میکرولیتر از از عصاره‌ها به دیسک‌های بلانک آغشته شده و توسط پنس استریل روی پلیت‌های تهیه شده قرار گرفته و در $۳۷\ ^{\circ}C$ به مدت ۲۴ و ۴۸ ساعت انکوبه شدند. پس از انکوباسیون پلیت‌ها مورد بررسی قرار گرفتند و هاله‌های عدم رشد مشاهده شده در اطراف برخی دیسک‌ها بر حسب میلی‌متر اندازه‌گیری شد و بدین ترتیب با توجه به قطر هاله‌های مهار رشد، میزان فعالیت ضد میکروبی عصاره‌ها ارزیابی گردید. انجام آزمون ۳ بار تکرار شد. به عنوان کنترل منفی از دیسک‌های بلانک استریل حاوی دی متیل سولفو اکسید DMSO 1% و از دیسک استاندارد سیپروفلوکسازین به عنوان کنترل مثبت جهت ارزیابی اولیه فعالیت ضد میکروبی عصاره‌ها، در مقایسه با دیسک‌های کنترل پس از ۳ نوبت تکرار آزمایش و تعیین میانگین آن نتیجه به صورت مثبت (قطر هاله مهاری بیش از ۷ میلی‌متر) یا منفی (عدم حضور هاله مهاری رشد در اطراف دیسک) ثبت گردید.

تعیین میزان MIC برای عصاره های الکلی *Capsicum annuum*

کمترین غلظتی که در آن هیچ گونه کدورت آشکاری در لوله آزمایش مشاهده نگردید به عنوان MIC تعیین گردید. در روش رقت در آبگوشت (Macro dilution broth method) با استفاده از غلظت‌های اولیه، رقت‌های سریال دوتایی در غلظت‌های $\mu g/ml$ ۰/۷۸۰ تا $\mu g/ml$ ۲۰۰ با استفاده از آبگوشت مغذی آماده گردید. سپس ۰/۲ میلی‌لیتر از سوسپانسیون ارگانیسم مورد نظر به داخل لوله اضافه گردید. بعد از ۱۸ ساعت انکوباسیون در $۳۷\ ^{\circ}C$ لوله‌های آزمایش به جهت کدورت مشاهده شد. کمترین غلظتی که هیچ گونه کدورتی مشاهده نشده بود به عنوان مقدار کمترین غلظت مهاری ثبت شد.

تعیین میزان MBC عصاره‌های الکلی *Capsicum annuum*

کمترین غلظتی که در آن هیچ گونه رشد باکتریایی به دنبال ساب کالچر آن در محیط آگار فاقد آنتی بیوتیک مشاهده نشد به عنوان MBC تعیین گردید. تعیین این مقدار با استفاده از رقت انجام شد. در

www.SID.ir

صورتیکه تعداد کلنی‌های حاصله پس از انکوباسیون ۳۷ °C به مدت ۲۴ ساعت کمتر از ۳ بوده و یا هیچ گونه رشد باکتریایی دیده نشود به طور قرارداد به عنوان MBC تلقی می‌گردد.

نتایج

اجزای شیمیایی اصلی بدست آمده در جدول ۲ به جهت حضور استروئید، ترپنوئید، قند احیاکننده، آلکالوئید، ترکیبات فنلی، تانن، ساپونین و فلاونوئید مورد بررسی قرار گرفت. هیچ کدام از عصاره‌های آلی حضور استروئید را نشان ندادند. تمام عصاره‌های حلال آلی حضورساپونین را نشان دادند. فلاونوئیدها در عصاره کلرو فرم و استات اتیل منفی ولی در سایر موارد مثبت بودند. حضور ترکیبات فنلی در جز اتانولی قابل توجه بود (++). ترکیبات ترپنوئیدی در عصاره‌های حلال آلی وجود نداشت. در عصاره‌های کلروفرم و هگزان آلکالوئید ها دیده نشدند.

نتایج به دست آمده از فعالیت ضد میکروبی اولیه که به روش انتشار دیسک در آگاربا استفاده از حلال‌های آلی مختلف انجام شد نشان داده است که بیشتر اثر مهاری در مقایسه با آنتی‌بیوتیک‌های کنترل مربوط به عصاره‌های اتانولی آن بود (جدول ۳).

جدول ۱: درصد میزان استخراج اجزای مختلف عصاره‌های برگ گیاه *Capsicum annuum*

شماره	حلال	میزان عصاره به دست آمده (٪)
۱	پترولیوم اتر	٪۴/۲
۲	استات اتیل	٪۲/۱
۳	کلروفرم	٪۳/۳
۴	متانول	٪۴/۰
۵	اتانول	٪۴/۵
۶	هگزان	٪۵/۳

جدول ۲: غربالگری فیتوشیمیایی عصاره‌های میوه *Capsicum annuum*

ترکیب شیمیایی	پترولیوم اتر	استات اتیل	کلروفرم	متانول	اتانول	هگزان
استروئید	−	−	−	−	−	−
ترپنوئید	−	−	+	−	−	+
قند احیا کننده	+	−	+	−	−	−
آلکالوئید	+	+	−	+	+	−
ترکیبات فنلی	+	−	−	+	++	−
تانن	+	−	−	+	+	−
ساپونین	+	+	+	+	+	+
فلاونوئید	+	−	−	+	++	+

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۳: فعالیت ضد باکتریایی عصاره‌های میوه گیاه *Capsicum annuum* به وسیله روش انتشار دیسک در آگار برحسب میلی متر

حلال									
میکروارگانیسم	پترولیوم اتر	اتیل استات	کلروفرم	متانول	اتانول	هگزان	[1]AMP	[2]G	[3]Te	[4]STP
Erwinia carotovora	۱۲	۱۶	۱۴	۱۵	۱۸	۱۳	۱۷	۲۳	۲۰	۱۷

۱- آمپی سیلین ۱۰mg/ml، ۲- جنتامایسین ۱۰mg/ml ، ۳-تتراسیکلین ۳۰mg/ml ، ۴- استرپتومایسین ۱۰mg/ml

جدول ۴: بررسی میزان MIC و MBC عصاره اتانولی میوه گیاه *Capsicum annuum* در مقابل میکروارگانیسم منتخب بر حسب(گرم/لیتر)

میکروارگانیسم	MIC	MBC
Erwinia carotovora	۰/۰۳۱	۰/۵۳

جدول ۵: بررسی میزان MIC و MBC عصاره متانولی میوه گیاه *Capsicum annuum* در مقابل میکروارگانیسم منتخب بر حسب (گرم/لیتر)

میکروارگانیسم	MIC	MBC
Erwinia carotovora	۰/۰۳۳	۰/۷۳

بحث

در سالیان اخیر تعداد باکتری‌های فیتوپاتوژن مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌ها و آفت‌کش‌های شیمیایی رو به افزایش می‌باشد (۹). سازمان بهداشت جهانی بدلیل محدوده وسیع سمیت آن‌ها در مقابل ارگانیسم‌های غیر هدف از جمله انسان‌ها، استفاده از بسیاری آفت کش‌های مهم را در امرکشاورزی ممنوع کرده است. همچنین شناخته شده که این آفت‌کش‌ها باعث آلودگی زیست محیطی می‌شوند (۶). تحقیق حاضر به روشنی فعالیت مهم ضدباکتریایی عصاره‌های مختلف بدست آمده گیاه را نشان داد. این نتایج استفاده بالقوه این گیاهان در مدیریت بیماری‌های باکتریایی *Erwinia caratovora* عامل پوسیدگی نرم گوجه فرنگی را نشان می‌دهد. فعالیت ضد باکتریایی تعدادی از عصاره‌های گیاهی در کشور ما و سایر محققین کشورهای دیگر جهت کنترل پاتوژن‌های مختلف گیاهی گزارش شده است (۴، ۱۲، ۱۴ و ۲۰).

اجزای فعال موجود در گیاهان متاثر از چند نوع فاکتور می‌باشد که می‌توان به سن گیاه، نوع حلال مورد استفاده، روش استخراج و زمان برداشت محصول

Archive of SID

www.SID.ir

گیاهی مرتبط دانست (۵، ۱۱، ۱۳ و ۱۵). تحقیق حاضر تلاشی است جهت ارزیابی عصاره گیاه بومی که متعلق به خانواده سولاناسه است که نشان‌دهنده‌ی این واقعیت می‌باشد که گیاهان هنوز به عنوان مخزنی از مواد داروئی جهت استفاده در مدیریت بیماری‌های گیاهی مورد استفاده قرار می‌گیرند. با توجه به اثرات مهاری بیشتر عصاره اتانولی، این عصاره می‌تواند جایگزین مناسبی برای آفت‌کش‌ها در کنترل بیماری‌های گیاهی باشد.

طی مطالعه‌ای که توسط Saidu و Garba (۲۰۱۱) در نیجریه انجام گرفت فعالیت آنتی اکسیدانی و غربالگری فیتوشیمیایی میوه‌های *capsicum* مورد بررسی قرار گرفت. به طوریکه درعصاره‌ی اتانولی آن فلاونوئید (++)،گلیکوزید قلبی (++)، آلکالوئید (+)، فنل (++)، ساپونین (+) گزارش شد. در حالی که در این بررسی عصاره‌ی میوه *capsicum* از نظر حضور فلاونوئید، تانن کاتیگونیک، آلکالوئید و ساپونین+ بررسی شد.

در بررسی SevilToroglu و Dilekkeskin (۲۱) در ترکیه اثرات ضد باکتریایی گیاه *capsicum* بر روی باکتری‌های *Staphylococcus aureus*، *Escherichia coli*، *Pseudomonas aeruginosa*، *Bacillus megaterium*، *Klebsiella pneumoniae* نشان داده شد، به طوری‌که قطر هاله بر روی *Pseudomonas aeruginosa*، ۷ میلی‌متر بود.

در سال ۱۹۹۷، Soetarno و همکاران (۱۸) اثرات عصاره اتانولی سه گونه فلفل از جنس *capsicum* با سطوح مختلف تندی را بر روی ۵ باکتری شامل *Staphylococcus aureus*، *Escherichia coli* ، *Bacillus subtilis*، *Sarcine lutea*، *Pseudomonas aeruginosa* و مخمر *Candida albicans* و نیز کپک *Aspergillus niger* مورد بررسی قرار دادند و گزارش کردند که عصاره‌ها پتانسیل ضد میکروبی تقریباً مشابهی در مقابل تمامی میکروارگانیسم‌های تست شده را دارا می‌باشند. همچنین مشاهدات آن‌ها حاکی از این مطلب بود که Capsaicin به عنوان ماده اصلی موثر در فعالیت ضد میکروبی فلفل نقش دارد. محققین دیگر اثر ضد میکروبی اسانس گونه‌های فلفل را علیه پاتوژن‌های مختلف بررسی کردند و نتایجی مشابه این مطالعه را گزارش نموده‌اند (۷، ۹ و ۱۹). برخی از پژوهشگران نیز نتایجی متفاوت از دیگر مطالعات را گزارش دادند که می‌توان به بررسی انجام گرفته در سال ۲۰۰۲ توسط Sagdic و همکارانش (۱۷) اشاره کرد. آن‌ها اثر ضد باکتریایی ۱۸ عصاره گیاهی مختلف از جمله فلفل را در مقایسه با ۱۱ آنتی‌بیوتیک متداول شامل جنتامایسین، اریترومایسین و تتراسیکلین به عنوان آنتی‌بیوتیک مشترک در مطالعه حاضر، علیه ۸ پاتوژن شامل ۶ سویه *Staphylococcus aureus* و همچنین ۱۵ سویه لاکتوباسیلوس جدا شده از روده جوجه را مورد بررسی قرار دادند. گزارشات آن‌ها نشان داد برخی از عصاره‌ها اثرات بیشتری نسبت به آنتی‌بیوتیک دارند اما فلفل مورد بررسی آن‌ها در هیچیک از موارد علیه سویه‌های مذکور تأثیری نداشت. دلایل مغایرت نتایج گزارش شده توسط Sagdic و همکاران (۱۷) با پژوهش‌های انجام شده در رابطه با تأثیر فلفل علیه میکروب ها به درستی قابل درک نیست چرا که در اکثر مطالعات انجام گرفته در زمینه فعالیت

Archive of SID

www.SID.ir

ضد میکروبی فلفل، نتایج نشان از اثر بخشی آن در بازدارندگی رشد میکروبی داشته است.

گزارشات بسیار در خصوص اثرات بازدارنده عصاره فلفل و همچنین با بررسی‌های انجام گرفته در این پژوهش می‌توان نتیجه گرفت که وجود ترکیبات بیولوژیکی فعال در این گیاه برای بروز فعالیت موثر آنتی‌باکتریال آن، امری مهم تلقی می‌گردد.

سپاسگزاری

با تشکر از کلیه پرسنل آزمایشگاه دانشگاه پیام نور تهران بخش بیوتکنولوژی و همینطور پرسنل آزمایشگاه میکروبیولوژی ارشد و کارشناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان که در این تحقیق ما را یاری کردند. همین‌طور از مرکز تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی نیزکمال تشکر را داریم.

منابع

۱. صادقی خامنه‌ای تبریزی، س.، ۱۳۸۴. بیماری‌های باکتریایی درختان میوه گیاهان زراعی و زینتی، انتشارات آییژ، چاپ اول، صفحات ۴۰.

۲. میرحیدر، ح.، ۱۳۷۴. معارف گیاهی (کاربرد گیاهان در پیشگیری و درمان بیماری‌ها). دفتر نشر فرهنگ اسلامی، چاپ دوم، صفحات ۱۷۷-۱۷۸.

3. Alfano, J.R. and Collmer, A. 1997. The type III (hrp) secretion pathway of plant pathogenic bacteria: traf®ckingharpins, avr proteins, and death. J Bacteriol179: 5655±5662.
4. Amadioha, A. and Fungitoxic, C., 2000. Effects of some leaf extracts against Rhizopusoryzae causing tuber rot of potato Arch. Phytopathol. Pflan, 0, 1-9.
5. Amadioha, A.C. and Obi, V. I., 1999. Control of Anthracnose disease of cowpea by *Cymbopogoncitratus*and *Ocimum gratissimum*. ActaPhytopathol.Entomol. Hungerica 34 (1-2), 85-89.
6. Barnard, C., Padgitt, M. and Uri, N.D., 1997. Pesticide use and its measurement.International pestcontrol, 39, 161-164.
7. Djarwaningsih and Uji, T., 1992. The utilization of Indonesian traditional medicines for treatment of cattle diseases in three villages of East Java, in: National Seminar and Workshop Proceeding on Ethnobotany, *Ministry of Education and Culture,* Ministry of Agriculture, Indonesian Research Institute, Indonesian National Library, Cisarua -Bogor, 112-115.
8. Kairu, G.M., Nyangena, C.M.S., and Crosse, J.E. 1985. The effect of copper sprays on bacterial blight and coffee berry disease in Kenya.Plant Pathol. 34, 207-213.
9. Kim, K. and Ryeon, K., 1979. A study on content and antibacterial effects of capsaicin from Korean hot pepper. *Report of the national institute of health*, Korea 16, 241-251.
10. Mandavia, M.K., Gajera, H.P., Andharia, J.H., Khandar, R.R. and Paramesh waram, M., 1999.
11. Okigbo, R.N. and Ajalie, A.N., 2005. Inhibition of some human pathogens with tropical plants extracts *Chromolinae naodorata* and *Citrus aurantifolia* and some antibiotics. Int. J. Mol. Med. Adv. Sci.(Pakistan) 1(1) , 34 -40.
12. Okigbo, R.N. and Emoghene, A.O., 2004. Antifungal activity of leaf extracts of some plant species on *Mycosphaerella fijiensis* Morelet, the causal organism of black sigatoka disease of Banana (*Musa acuminata*) KMITL Sci. J, 4, 20-31.
13. Okigbo, R.N., Mbajuka, C. and Njoku, C.O., 2005. Antimicrobial potential of (UDA) *Xylopi aaethopica* and *Ocimum gratissimum*L. On some pathogens of man Int. J. Mol. Med. Adv. Sci. (Pakistan)1(4), 392 –397.
14. Okigbo, R.N. and Nmeka, I.A., 2005. Control of yam tuber with leaf extracts of *Xylopiaae thiopica* and *Zingiberofficinale*. Afr. J. Biotechnol. 4(8), 804 – 807.

Archive of SID
www.SID.ir

15. Qasem, J.R. and Abu-Blan, H.A., 1996. Fungicidal activity of some common weed extracts against different plant pathogenic fungi. J. Phytopathol, 144, 157-161.
16. Parsley, D., (Ed.). 1993. Disease of Fruit crops. Brisbane: Departement of Primary Industiries.
17. Sagdic, O., Karahan, A.G., Ozkan, M. and Ozkan, G., 2003. Effect of some spice extracts on bacterial inhibition. *Food Science and Technology International* 9, 353-358.
18. Soetarno, S., Yulinah, E., 1997. Antimicrobial activities of the ethanol extracts of *Capsicum* fruits with different levels of pungency.*JMS, vol. 2 No. 2, hal*, 57-63.
19. Syamsohidayat, S.S. and Hutapea, J.R., 1991. Inventarization of Indonesian medicinal plants, vol. 1, *Indonesian Ministry of Health*, Jakarta, 112-115.
20. Tewarri, S.N. and Nayak, N., 1991. Activity of four Plant leaf extracts against three fungal pathogens of rice. Trop. Agric. (Trinidad), 68, 373-375.
21. Toroglu, S., Keskin, D., 2011. Studies on Antimicrobial activities of solvent extracts of different spices. Environ. Biol.32: 251-256.

Archive of SID

www.SID.ir