مقایسه‌ی اثرات ضد باکتریایی عصاره‌ی گال بلوط ایرانی روی چند باکتری گرم مثبت و گرم منفی بیماری‌زای گیاهی

شیوا صفرپور کپورچالی[۱]، علی علیزاده علی‌آبادی[۲]، ابوالقاسم قاسمی[۲] و سیدابراهیم صادقی[۳]

۱- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ورامین-پیشوا

۲- مؤسسه‌ی تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور، تهران

۳- مؤسسه‌ی تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، تهران

مسئول مکاتبات: شیوا صفرپور کپورچالی، shiva.safarpour99@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۰۲/۰۴ ۴۰-۲۷ (۲) ۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۱۱/۲۸

چکیده

امروزه استفاده ازگال‌های مختلف در مبارزه با بیمارگرهای گیاهان به‌ویژه باکتری‌ها به‌عنوان یک هدف مهم توسط محققین مختلف دنبال می‌شود. این گال‌ها که به‌واسطه‌ی تغذیه‌ی برخی از آفات به‌خصوص حشرات به‌وجود می‌آیند، دارای میزان بالایی از تانن هستند.. در این تحقیق، فعالیت ضدباکتریایی عصاره‌های آبی، استونی و متانولی گال‌های تولیدی توسط زنبور *Aphelonyx persica* روی بلوط ایرانی جنگل‌های زاگرس به ترتیب روی باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت بیماری‌زای گیاهی *Xanthomonas translucens* pv. *cerealis* عامل بیماری نواری باکتریایی گندم، *Ralstonia solanacearum* عامل بیماری پژمردگی باکتریایی سیب‌زمینی، *Rathayibacter tritici* عامل بیماری خوشه‌ی صمغی گندم و *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* عامل بیماری شانکر باکتریایی گوجه‌فرنگی بررسی شد. ارزیابی خواص ضد باکتریایی عصاره‌ها به دو صورت اندازه‌گیری قطر هاله‌ی بازدارنده در روش نشت در آگار و دیسک‌های کاغذ صافی در غلظت‌های ۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر حلال‌ها انجام شد. نتایج نشان داد که باکتری‌های گرم مثبت *C. m.* subsp. *michiganensis* و *R. tritici* در مقایسه با باکتری‌های گرم منفی *X. translucens* pv. *cerealis* و *R. solanacearum* از حساسیت بیشتری نسبت به غلظت‌های عصاره‌ی گال به‌صورت آبی، استونی و متانولی برخوردار بودند. دلیل آن احتمالاً به‌علت وجود لایه‌ی لیپوپلی‌ساکارید (LPS) Lipopolysaccharide در باکتری‌های گرم منفی است که در لایه‌ی خارجی خود آب‌گریزی بالایی دارند که نقش یک لایه‌ی قوی در برابر مولکول‌های آب‌گریز را ایفا می‌کند. توانایی عبور از میان دیواره‌ی سلولی باکتری گرم مثبت آسان‌تر از باکتری گرم منفی است، زیرا دیواره‌ی سلولی باکتری گرم مثبت شامل پپتیدوگلیکان و فاقد لایه‌ی دیواره‌ی خارجی می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: گال بلوط، اثرضد باکتریایی عصاره، کنترل بیولوژیک، باکتری گرم مثبت، باکتری گرم منفی

مقدمه

سابقه‌ی شناخت خواص دارویی و صنعتی گیاهان شاید بیرون از حافظه‌ی تاریخ باشد با این حال شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهد چینی‌ها و مصری‌ها در زمره‌ی اولین جوامع بشری بوده‌اند که در حدود ۲۷ قرن قبل از میلاد مسیح، به‌کشت و کار گیاهان با اهداف دارویی و صنعتی روی آورده‌اند. در قرن هشتم تا دهم میلادی، دانشمندان ایرانی مانند ابوعلی‌سینا، محمد ذکریای‌رازی و دیگران به دانش درمان با گیاهان رونق زیادی دادند و گیاهان زیادی در این رابطه معرفی کردند. در قرن حاضر، داروهایی با مواد موثره‌ی طبیعی حاصل از تحقیقات گسترده روی گیاهان دارویی افق‌های جدیدی را برای جامعه‌ی پژوهشگران گشوده‌است (Hasanloo, & Salehi, 2009).

اخیراً مطالعات بسیاری برای معرفی ترکیبات ضدمیکروبی با منشاء طبیعی انجام شده‌است. این ترکیبات در گیاهان بومی با خاصیت پزشکی و دارویی شناخته

شده‌اند. در جهان، عصاره‌های گیاهان مختلف برای فعالیت‌های ضدباکتریایی، ضد قارچی و ضد ویروسی مورد مطالعه و بررسی قرار گرفته‌اند. در حقیقت، گیاهان به‌دلیل داشتن تعداد زیادی از مولکول‌های فعال زیستی، به یک منبع قوی از انواع مواد دارویی و صنعتی تبدیل شده‌اند. اسانس و عصاره‌ی قسمت‌های مختلف برخی از گیاهان، حاوی مواد و ترکیبات مفید و مؤثری است که می‌توانند به شکل‌های گوناگون در بهداشت و درمان بیماری‌های انسانی، دامی و گیاهی کاربرد داشته‌باشند. خاصیت ضدمیکروبی این مواد مهم‌ترین ویژگی‌ای است که به‌دلیل نیاز بشر، موضوع اصلی بیشتر مطالعات و بررسی‌های محققین درحال حاضر می‌باشد.

گال‌های گیاهی در واقع ناهنجاری‌ها یا برجستگی‌هایی هستند که در رشد غیرطبیعی بافت‌های گیاهی در اثر فعالیت پارازیت‌های گیاهی یا جانوری ایجاد می‌شوند. زنبورهای خانواده‌ی Cynipidae گروهی از مهم‌ترین حشرات گال‌زا هستند که در جوامع جنگلی بلوط فعالیت می‌کنند. این حشرات روی گونه‌های مختلف بلوط فعالیت و گال‌های متنوع و زیادی روی آن ایجاد می‌کنند. تاکنون ۷۸ نوع گال ناشی از زنبورهای گال‌زای این خانواده از روی گونه‌های مختلف بلوط در ایران جداسازی و شناسایی شده است (Sadeghi *et al.*, 2010). براساس نتایج پژوهش‌های انجام شده، ترکیات موجود در اسانس برخی از این گال‌ها خواص دارویی جالبی از خود نشان داده‌اند (Basri & Khairon, 2012.). بررسی توان ضدباکتریایی عصاره‌های آبی و استونی گال‌های *Q. infectoria* از طریق MIC و MBC روی تعدادی از باکتری‌ها مانند *Escherichia coli*، *Salmonella typhimurium*، *Pseudomonas aeruginosa*، *Staphylococcus aureus*، *Staphylococcus epidermidis* و *Bacillus subtilis* نشان داده است که عصاره‌ی استونی و آب‌دوست به‌دست آمده از گال بلوط، اثر ضد باکتریایی خوبی روی باکتری‌های مذکور داشته و به‌عنوان منابع مناسبی برای تهیه‌ی ترکیبات آنتی‌باکتریال مطرح هستند. از بین این شش گونه‌ی آزمایش‌شده، *S. aureus* بیش‌ترین حساسیت را به عصاره‌ی فوق نشان داده است (Basri & Fan, 2005).

پژوهش‌های دیگری نشان داده‌اند که عصاره‌های آبی، اتانولی، استونی و هگزانی از گال‌های *Q. persica* در مقابل باکتری‌های *P. aeroginosa*,*K. pneumonia* و *E. coli* دارای خواص ضدباکتریایی می‌باشند و تعدادی از گونه‌ها مانند *Q. persica* اگرچه ممکن است بی‌استفاده و بی‌فایده به‌نظر برسند، اما مواد فعال بیولوژیکی زیادی دارند. مقایسه‌ی بین دو گونه‌ی بومی *Q. persica* و گونه‌ی غیربومی *Q. ilex* مشخص کرده است که *Q. persica* خاصیت باکتری‌کشی بیشتری دارد (Teimouri *et al.*, 2004). در حال حاضر تحقیقات گسترده‌ای در موسسه‌ی تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور در زمینه‌ی بررسی خواص حشره‌کشی، اندازه‌گیری تانن، خواص قارچ‌کشی و نیز بررسی خواص ضدباکتریایی آن در حال انجام است. در این پژوهش بررسی تأثیر عصاره‌های این گال بر باکتری‌های بیمارگر گیاهی زیر مورد بررسی قرار گرفت:

باکتری *Xanthomonas translucens* pv. *cerealis* که عامل بیماری نواری باکتریایی گندم می‌باشد. این بیماری یکی از مهم‌ترین بیماری‌های باکتریایی گندم درکشورهای مختلف جهان محسوب می‌شود. برای اولین‌بار علائم این بیماری در ایران، در بهار ۱۹۸۳ در برخی از مزارع استان کرمان مشاهده شد (Alizadeh & Rahimian, 1989). علائم این بیماری به‌صورت نقاط آب‌سوخته و روشنی که به‌راحتی در زیر نور به‌حالت شفاف دیده می‌شوند، روی برگ ظاهر و به‌تدریج توسعه می‌یابند. عامل این بیماری زمستان را در بذر، روی کاه و کلش و نیز روی گیاهان چندساله و گرامینه به‌سر می‌برد. انتقال باکتری عامل این بیماری از طریق بذور آلوده، آب، حشراتی چون تریپس‌ها و شته‌ها، باران و شبنم و بقایای آلوده گیاهی از محلی به محل دیگر انجام می‌شود.

باکتری *Ralstonia solanacearum* عامل بیماری پژمردگی سیب‌زمینی که اولین بار توسط بوریل در سال ۱۸۹۰ مورد توجه قرار گرفت و در سال ۱۸۹۶ توسط اسمیت توصیف شد. پژمردگی شبیه کمبود آب و یا ابتلا به‌عوامل بیماری‌زای دیگر مانند فوزاریوم و ورتیسلیوم، کوتولگی و زرد شدن برگ‌ها در اندام‌های هوایی سیب‌زمینی از جمله

علایم بیماری می‌باشد که ممکن است در هرمرحله‌ای از رشد گیاه ظاهر گردد (Elphinstone *et al.*, 2001). مشخص‌ترین علایم در اندام‌های زیرزمینی مربوط به غده‌ها است. چشم‌های موجود روی غده‌ی سیب‌زمینی گل‌آلود می‌شوند که به‌دلیل چسبیدن خاک به لعاب یا ترشحات باکتری خارج شده از چشم‌هاست (Bahar. & Danesh, 1989). زمستان‌گذرانی باکتری، در خاک، بقایای به‌جای مانده از محصول سال قبل، مسیرهای آب و در داخل ریشه‌های علف‌های هرز دائمی مانند *Solannum dulcamara* که در مسیرهای آبیاری رشد می‌کنند، صورت می‌گیرد (Pradhanang, *et al.*, 2000).

باکتری *Rathayibacter tritici* عامل بیماری خوشه‌ی صمغی گندم که اولین بار سال ۱۹۱۷ توسط Hutchinson از هندوستان و سپس از کشورهای دیگر نظیر مصر، یونان، قبرس، چین، استرالیا و ایران گزارش گردید. اصلی‌ترین علامت و نشانه‌ی بیماری ظهور تراوشات و صمغ نارنجی روی خوشه‌های آلوده در اغلب نقاط آلوده است. پوشش بذر و حتی ریشک‌ها نیز به صمغ آغشتگی داشته و داخل بذور به‌جای تشکیل بافت بذر فقط توده‌ی صمغ باکتری دیده می‌شود. گاهی نیز خوشه‌ها از غلاف خارج نشده و به‌صورت پیچ خورده، بدشکل یا رشدنیافته در آن باقی‌می‌مانند. بوته‌های آلوده اصولاً رشد کمتری دارند و گاهی برگ پرچم نیز به‌رنگ سبز روشن درآمده و رگبرگ‌ها در آن شفاف به‌نظر می‌رسند (Rahimian & Babayizad, 2003).

باکتری *C. m.* subsp. *michiganensis* عامل بیماری شانکر باکتریایی گوجه‌فرنگی برای اولین بار در سال ۱۹۰۹ میلادی، درگلخانه‌ای واقع درایالت میشیگان آمریکا مشاهده و درسال ۱۹۰۹ توسط اسمیت (Erwin F. Smith) گزارش گردید (Smith, 1910). اغلب بذور آلوده در ابتدا سالم به نظر می رسند، علائم زمانی بروز می‌کند که گیاه بزرگ و بالغ شده باشد. علاوه بر شانکر علائم متعددی را می‌توان در بیماری شانکر باکتریایی گوجه‌فرنگی مشاهده نمود. زمانی که آلودگی ازطریق منافذ طبیعی مانند روزنه‌های آبی Hidathods باشد، علائم موضعی مانند نکروز حاشیه‌ی برگ‌ها و لکه‌برگی روی برگ‌ها و دیگر اندام‌های هوائی بروز می‌کند. علائم سیستمیک آلودگی از طریق بذر یا زخم‌های مستقیم درون بافت آوندی منجر به پژمردگی و در نهایت خشکیدن بوته‌ها می‌شود. مشکل عمده در این بیماری، آلودگی آوندی است که به‌صورت سیستمیک می‌باشد (Strider, 1969).

در این تحقیق با توجه به احتمال وجود برخی ترکیبات ضد باکتریایی در عصاره‌ی استخراج شده از گال‌های ناشی از تغذیه‌ی زنبورهای گال‌زا روی درختان بلوط، اثر این ترکیبات روی برخی از باکتری‌های مهم بیماری‌زای گیاهی فوق مورد بررسی و ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

۱- باکتری‌های مورد بررسی

باکتری‌های مورد بررسی در این تحقیق از آزمایشگاه تحقیقات پروکاریوت‌های موسسه‌ی تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور تهیه شدند که مشخصات آن‌ها در جدول ۱ آمده است.

جدول ۱- نام علمی باکتری‌های مورد مطالعه به‌همراه نام بیماری‌های ناشی از آن‌ها

Table 1- Bacterial scientific name and the diseases caused by them.

Scientific name	Name of disease
Xanthomonas translucens pv. *cerealis*	Bacterial leaf streak of wheat
Ralstonia solanacearum	Bacterial wilt of Potato
Rathayibacter tritici	Wheat gumosis
Clavibacter michiganensis subsp. *michiganensis*	Bacterial canker of tomato

۲- جمع‌آوری گال‌ها

گال‌های مورد بررسی توسط پژوهشگران مؤسسه‌ی تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور از روی درختان بلوط ایرانی *Quercus persica* در جنگل‌های زاگرس طی سال‌های ۱۳۸۸ و ۱۳۸۹ از نواحی یاسوج (سروک)، دنا (سی سخت)، شلالدون (گردنه‌ی شلالدون) و میمند (ده شیخ و دلی بهرام بیگی) جمع‌آوری و به آزمایشگاه منتقل شدند.

۳- عصاره‌گیری از گال‌ها با استفاده از متانول، استون و آب

ابتدا گال‌های جمع‌آوری شده در آزمایشگاه خشک و سپس آسیاب شدند. برای تهیه‌ی عصاره‌ی محلول در استون و الکل گال‌ها، طبق روش (Basri & Fan, 2005)، مقدار ۱۰۰ گرم از گال‌های آسیاب شده به‌مدت ۲۴ ساعت درون ۵۰۰ میلی لیتر استون یا الکل خیسانده و به مدت ۲۰ دقیقه با دستگاه سونیکاتور بهم زده و محلول حاصل فیلتر شد. سپس، عصاره‌های فیلتر شده توسط دستگاه تقطیر تغلیظ و خشک شدند. جهت استخراج عصاره‌ی محلول در آب طبق روش بصری و فن ۲۰۰۵، گال‌های پودر شده و خرد شده به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴۵ درجه‌ی سانتی‌گراد در آب مقطر استریل نگهداری و سپس در دمای ۴ درجه‌ی سلسیوس با دورrpm ۳۰۰۰ سانتریفوژ شدند. آنگاه محلول رویی از فیلتر عبور و خشک گردید. این بخش از تحقیق در مؤسسه‌ی تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور انجام شد.

٤- اندازه‌گیری قطر هاله‌ی بازدارنده با استفاده از روش نشت در آگار Agar well diffusion assay

٤-١- تهیه‌ی تشتک‌های پتری حاوی سوسپانسیون غلیظ باکتری‌ها

ابتدا سوسپانسیون غلیظ (10^8 CFU/ml) از کشت ۲۴ ساعته‌ی هریک از باکتری‌ها تهیه و به‌صورت یکنواخت در سطح محیط کشت آگار غذایی (Nutrient Agar) در داخل تشتک پتری پخش شد و سپس به‌وسیله‌ی چوب پنبه سوراخ کن حفره‌هایی به قطر ۵ میلی‌متر در محیط کشت آگار غذایی ایجاد شد.

٤-٢- تهیه‌ی رقت‌های مختلف از عصاره‌ها و ریختن آن‌ها در چاهک‌ها

ابتدا رقت‌های ۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر حلال از هر یک از عصاره‌ها تهیه و سپس مقدار ۲۰ میکرولیتر از هر یک در چاهک‌ها (حفره‌ها) ریخته شد. برای هر رقت ۳ تکرار در نظر گرفته‌شد. از آب مقطر و حلال‌های استون و متانول به‌عنوان شاهد استفاده‌شد. سپس، تشتک‌های پتری به‌مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور نگهداری و پس از آن قطر هاله‌ی بازدارندگی از رشد باکتری اندازه‌گیری‌شد.

۵- اندازه‌گیری قطر هاله‌ی بازدارنده با استفاده از دیسک‌های آغشته به غلظت‌های مختلف عصاره

دیسک‌های کوچک کاغذ صافی استریل به‌قطر ۰/۵ سانتی‌متر در درون رقت‌های مختلف عصاره‌ی گال (رقت‌های ۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) غوطه‌ور و پس از خشک‌شدن در شرایط استریل، به فواصل منظم روی محیط کشت حاوی سوسپانسیون یکنواخت غلیظ باکتری قرار داده شدند. برای هر رقت ۳ تکرار در نظر گرفته شد. از دیسک‌های غوطه‌ور شده در آب مقطر، استون و متانول به عنوان شاهد استفاده شد. سپس، تشتک‌های پتری به‌مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور نگهداری و پس از این مدت، قطر هاله‌ی بازدارنده اندازه‌گیری شد.

٦-اندازه‌گیری حداقل غلظت بازدارندگی عصاره‌ی Minimum Inhibitory Concentration (MIC)

به‌منظور اندازه‌گیری حداقل غلظت بازدارندگی عصاره‌ی گال، از سه غلظت ۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر از عصاره‌ها استفاده شد. در این مرحله از روش سری رقت (Serial dilution) استفاده شد. به این ترتیب که ابتدا سوسپانسیونی به غلظت 10^8 CFU/ml از کشت ۲۴ ساعته‌ی هر باکتری در لوله‌های آزمایش استریل تهیه شد. در مرحله‌ی بعد رقت‌های ۱۰و ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر در آب مقطر استریل از هریک از عصاره‌ها در لوله‌های آزمایش استریل آماده شد. سپس یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون باکتری و یک میلی‌لیتر از هر یک از عصاره‌ها درون لوله‌ی دیگری ریخته‌شد، پس از گذشت یک ساعت، حجم نهایی محلول به ۱۰ میلی‌لیتر رسانده‌شد. در این مرحله برای هر لوله‌ی حاوی سوسپانسیون باکتری و عصاره، پنج لوله‌ی دیگر برای تهیه‌ی رقت سریالی درنظر گرفته‌شد. به‌این‌صورت که یک میلی‌لیتر از هر محلول برداشته‌شده، درون لوله‌ی بعدی ریخته و حجم آن لوله با آب مقطر استریل به ۱۰ میلی‌لیتر رسانده‌شد. به عبارت دیگر، محتویات لوله‌ی اول شامل سوسپانسیون باکتری و عصاره، پنج مرتبه رقیق شد. شاهد آزمایش که دارای سوسپانسیون باکتری بود

نیز پنج مرتبه رقیق شد. کمترین غلظت عصاره که هیچ‌گونه رشد باکتری در آن دیده نشد، به‌عنوان حداقل غلظت بازدارنده MIC در نظر گرفته‌شد. نتایج بررسی اثرات عصاره‌ها بر رشد باکتری‌های یادشده با نرم افزار آماری Statistical Analysis System (SAS) تجزیه و تحلیل گردید.

نتایج

در این تحقیق، اثرات ضد باکتریایی عصاره‌های آبی، استونی و متانولی از گال‌های ناشی از تغذیه زنبورهای گال‌زا روی بلوط، با غلظت‌های ۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر حلال روی باکتری‌های گرم منفی و مثبت مهم بیماری‌زای گیاهی مورد بررسی و ارزیابی قرار گرفت. نتایج حاصل در زیر به تفکیک آورده‌شده‌است.

اندازه‌ی قطر هاله‌ی بازدارندگی در روش نشت در آگار

نتایج اثرات ضد باکتریایی عصاره‌های آبی، استونی و متانولی گال‌ها در سه غلظت ۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر حلال به روش نشت در آگار روی باکتری‌های گرم منفی *Xanthomonas translucens* pv. *cerealis* و *Ralstonia solanacearum* و باکتری‌های گرم مثبت *Rathayibacter tritici* و *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* در شکل ۱ و جدول ۲ نشان داده شده است. نتایج اندازه‌گیری قطر هاله‌ی بازدارنده در باکتری *Xanthomonas translucens* pv. *cerealis* عامل بیماری نواری باکتریایی گندم نشان داد که با وجود اختلاف عددی بین تیمارها، تفاوت معنی‌دار آماری بین آن‌ها وجود نداشت. در باکتری *Ralstonia solanacearum* عامل بیماری پژمردگی باکتریایی سیب‌زمینی با افزایش غلظت همه انواع عصاره‌ها، قطر هاله‌ی بازدارنده نیز افزایش یافت. در باکتری *Rathayibacter tritici* عامل بیماری خوشه‌ی صمغی گندم و باکتری *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* عامل بیماری شانکر باکتریایی گوجه‌فرنگی نتایج نشان داد که غلظت‌های بالای عصاره‌ها (۱۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر حلال) مؤثرترین غلظت‌های مورد استفاده بودند (جدول ۲).

اندازه‌گیری قطر هاله‌ی بازدارندگی با استفاده از دیسک‌های آغشته به عصاره

در بررسی اثر ضد باکتریایی انواع عصاره‌های گال روی باکتری‌های مورد نظر، از روش اندازه‌گیری قطر هاله‌ی بازدارندگی با استفاده از دیسک‌های آغشته به عصاره نیز استفاده شد (شکل ۲). نتایج نشان داد که در باکتری *Xanthomonas translucens* pv. *cerealis* عامل بیماری نواری باکتریایی گندم با وجود اختلاف عددی بین تیمارها، تفاوت معنی‌دار آماری بین آن‌ها وجود نداشت. در مورد باکتری *Ralstonia solanacearum* عامل بیماری پژمردگی باکتریایی سیب‌زمینی، غلظت‌های بالای عصاره‌ها (۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر حلال) مؤثرترین غلظت‌های مورد استفاده بودند. در رابطه با باکتری *Rathayibacter tritici* عامل بیماری خوشه‌صمغی گندم با افزایش غلظت همه انواع عصاره‌ها، قطر هاله‌ی بازدارنده نیز افزایش یافت. در مورد باکتری *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* مشخص گردید که بین افزایش غلظت همه‌ی انواع عصاره‌ها و قطر هاله‌ی بازدارندگی، رابطه‌ی مستقیم وجود دارد (جدول ۳).

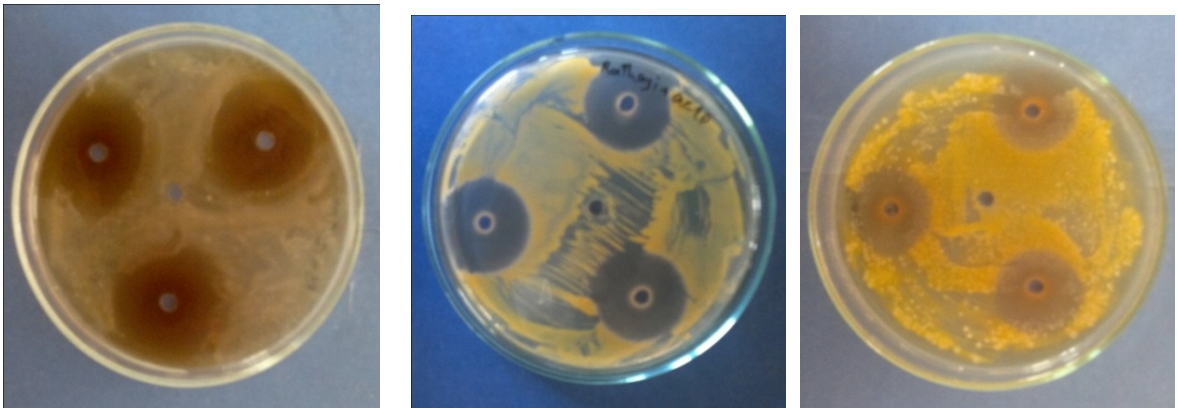
نتایج آزمون MIC

به‌منظور اندازه‌گیری حداقل غلظت بازدارندگی عصاره‌ی گال بلوط ایرانی، از سه غلظت ۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر از عصاره‌ها استفاده شد. نتایج این بررسی نشان داد که در باکتری *X. translucens* pv. *cerealis* هر سه عصاره‌ی آبی، استونی و متانولی در غلظت ۵۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر، (حداقل غلظت) بازدارنده از رشد بودند و در مورد باکتری *R. solanacearum* هر سه عصاره در بالاترین غلظت (۱۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر آب مقطر)، بازدارنده از رشد بودند. در رابطه با باکتری *Rathayibacter tritici*، غلظت ۱۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر هر سه عصاره‌ی آبی، استونی و متانولی بازدارنده بود، در حالی که در باکتری *C. m.* subsp. *michigsnensis* حداقل غلظت بازدارنده از رشد برای عصاره‌ی آبی، غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر و برای عصاره‌های استونی و متانولی، غلظت ۵۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر مشخص شد (جدول ۴).

جدول ۲- قطر هاله‌ی بازدارندگی از رشد باکتری‌ها در غلظت‌های مختلف عصاره‌ها در روش چاهک.

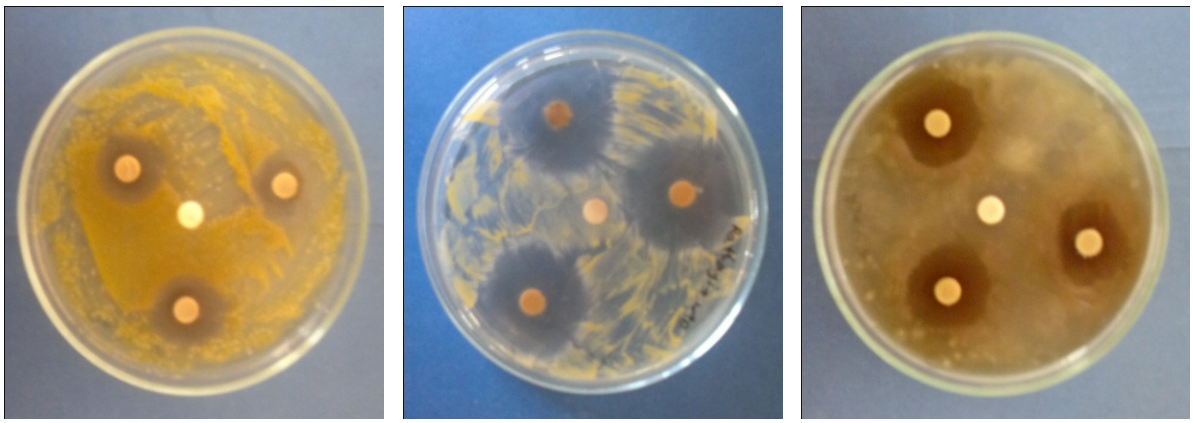
Table 2- Inhibition zone of bacterial pathogens growth induced by diffrent concentrations of gall extracts in agar well diffusion method.

Solvent	Concentration (mg/ml)	Diameter of inhibition zone (mm)
X. translucens pv. *cerealis*		
Aqueous	10	19/6
	50	24/6
	100	27/3
Acetone	10	22/3
	50	23/3
	100	24/3
Methanol	10	23
	50	23/3
	100	23/3
Gentamicine		19
R. solanacearum		
Aqueous	10	12/3
	50	23/6
	100	29/6
Acetone	10	21
	50	26/6
	100	27/3
Methanol	10	19/6
	50	24/3
	100	27/6
Gentamicine		17
Rathayibacter tritici		
Aqueous	10	19/3
	50	32/3
	100	33/6
Acetone	10	24
	50	29/3
	100	35/6
Methanol	10	27/3
	50	31
	100	41
Gentamicine		15
C. m. subsp. *michiganensis*		
Aqueous	10	14
	50	16/6
	100	21/6
Acetone	10	20/6
	50	21/3
	100	22
Methanol	10	15/3
	50	19
	100	24/6
Gentamicine		17
Control (Aqueous, Acetone and Methanol solvents)		0



شکل ۱- قطر هاله‌ی بازدارنده از رشد باکتری‌های *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (راست)، *Rathayibacter tritici* (وسط) و *Ralstonia solanacearum* (چپ) در تیمار با عصاره‌ی استونی ۱۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر حلال (سه چاهک اطراف، سه تکرار از عصاره و چاهک وسط شاهد استون)

Fig. 1- Inhibition zone of the growth of pathogenic bacteria including *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (right), *Rathayibacter tritici* (middle) and *Ralstonia solanacearum* (left) caused by acetone extract at 10 mg/ml.



شکل ۲- قطر هاله‌ی بازدارنده از رشد باکتری‌های *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (راست)، *Rathayibacter tritici* (وسط) و *Ralstonia solanacearum* (چپ) در روش استفاده از دیسک‌های آغشته به عصاره‌ی آبی و متانولی گال.

Fig. 2- Inhibition zone of the growth of pathogenic bacteria including *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (right), *Rathayibacter tritici* (middle) and *Ralstonia solanacearum* (left) in using aquous and methanol gall extracts method

جدول۳- قطر هاله‌ی بازدارندگی از رشد باکتری‌های بیماری‌زا در غلظت‌های مختلف عصاره‌ها در روش دیسک کاغذ صافی.

Table 3- Inhibition zone of pathogenic bacterial growth induced by diffrent concentrations of gall extracts in disc diffusion method.

Solvent	Concentration (mg/ml)	Diameter of inhibition zone (mm)
	X. translucens pv. *cerealis*	
Aqueous	10	17/3
	50	17/3
	100	18/3
Acetone	10	15/6
	50	15/6
	100	15/6
Methanol	10	15
	50	15/3
	100	16/6
Gentamicine		19
	R. solanacearum	
Aqueous	10	11/6
	50	21/3
	100	22/3
Acetone	10	14/6
	50	19
	100	20/3
Methanol	10	15/6
	50	21/3
	100	23
Gentamicine		17
	Rathayibacter tritici	
Aqueous	10	23/6
	50	24/3
	100	27
Acetone	10	13/6
	50	20/3
	100	22
Methanol	10	12
	50	15
	100	22/6
Gentamicine		15
	C. m. subsp. michiganensis	
Aqueous	10	13/6
	50	16/6
	100	19/3
Acetone	10	16
	50	16/6
	100	20/3
Methanol	10	17
	50	18/3
	100	21/6
Gentamicine		17
Control (Aqueous, Acetone and Methanol)		0

جدول ۴- اندازه‌گیری حداقل غلظت بازدارندگی عصاره‌ها از رشد باکتری‌های مورد آزمایش.

Table 4- Determination of minimum growth inhibitory concentration of the extracts.

Bacteria	solvent	Concentration (mg/ml)		
		10	50	100
X. translucense* pv. *cerealis	Aqueous	+	-	-
	Acetone	+	-	-
	Methanol	+	-	-
R. solanacearum	Aqueous	+	+	-
	Acetone	+	+	-
	Methanol	+	+	-
Rathayibacter tritici	Aqueous	-	-	-
	Acetone	-	-	-
	Methanol	-	-	-
C. m.* subsp. *michiganensis	Aqueous	+	+	-
	Acetone	+	-	-
	Methanol	+	-	-
Control	Aqueous	+	+	+

+ : رشد باکتری ، - : عدم رشد باکتری

جدول گروه بندی در روش نشت در آگار

X. translucens pv. *Cerealis*			*R. solanacearum*		
Treat	Mean	Ranking	Treat.	Mean	Ranking
3	27.3	A	3	29.6	A
2	24.6	B	11	27.6	B
7	24.3	B	7	27.3	B
11	23.3	BC	6	26.6	B
6	23.3	BC	10	24.3	C
10	23.3	BC	2	23.6	C
9	23	BC	5	21	D
5	22.3	C	9	19.6	D
1	19.6	D	13	17	E
13	19	D	1	12.3	F
4	0	E	4	0	G
8	0	E	8	0	G
12	0	E	12	0	G

بحث

امروزه اهمیت استفاده از گیاهان دارویی در درمان بیماری‌ها و ممانعت از رشد باکتری‌های بیماری‌زا به‌خوبی شناخته شده است. همچنین اثرات ضدقارچی و ضدباکتریایی بسیاری از ترکیبات گیاهی در پژوهش‌های مختلف به اثبات رسیده است. از جمله این تأثیرات مهم می‌توان از اثراسانس گل مریم نخودی روی باکتری‌های *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis* و مخمر *Candida albicans* (Elshazly & Hussein, 2004) اثر عصاره‌ی اتانولی برگ تاتوره برکاهش رشد باکتری *Xanthomonas oryze* pv. *oryze* عامل بیماری لکه‌برگی برنج (Hayes, 1946)، اثرات ضد باکتریایی عصاره‌های زرشک و سیر روی *Agrobacterium tumefaciens* عامل بیماری سرطان طوقه‌ی انگور و *Erwinia amylovora* عامل بیماری آتشک سیب و گلابی (Hayes, 1946) اثر مناسب عصاره‌ی گیاه بابونه رومی و بابونه مجارستانی روی چهار تیپ مختلف باکتری عامل شانکر مرکبات

(Csizinszky, *et al.*, 1993), اثرات ضد باکتریایی اسانس گل رز روی باکتری *X. axonopodis* subsp. *vesicatoria* (Feng *et al.*, 2007)، تأثیر عصاره‌ی سیر و میوه اسپند روی باکتری *P. syringae* (Feng *et al.*, 2007) و قدرت بازدارندگی رشد قارچ *Altarnaria alternata* (Feng *et al.*, 2007) نام برد.

در اواسط قرن نوزدهم میلادی در انگلستان از برخی گال‌های بلوط حاوی مقادیر زیادی از تانن، به‌عنوان دارو نیز استفاده می‌شد. بنابراین می‌توان گفت مدت مدیدی است که خواص درمانی بلوط و گال‌های ایجاد شده بر روی آن مشخص (Muhamad & Mustafa, 1994; Kottakkal, 1995; Bhattacharjee, 2001) و خواص ضدباکتریایی عصاره‌ی حاصل از گال‌های بلوط (Hussein, *et al.*, 2000) در تحقیقات بررسی شده است. بررسی‌های پیشین نشان می‌دهد که عمده‌ترین ماده‌ی موجود در عصاره‌ی اغلب گال‌های بلوط، تانن (به‌میزان ۵۰ تا ۷۰ درصد) و سپس اسید گالیک می‌باشد (Ikram & Nowshad, 1977; Evans, 1996; Wiart & Kumar, 2001). ایجاد مقاومت در آفات و عوامل بیماری‌زای گیاهی (از جمله باکتری‌ها) نسبت به سموم شیمیائی وآثار سوء و زیان‌بار آن‌ها در محیط زیست و بهداشت انسانی، انگیزه‌ای بسیار قوی برای روی آوردن به این‌گونه ترکیبات ضد میکروبی طبیعی ایجاد نموده است. در یک پژوهش انجام شده، فعالیت ضدمیکروبی عصاره‌ی چند گیاه از جمله بلوط *Quercus macrolepis* و گال ایجاد شده روی آن علیه باکتری‌هایی نظیر *Bacillus brevis*، *Bacillus subtilis*، *Bacillus cereus*، *Escherichia coli*، *Pseudomonas aeruginosa*، *Staphylococcus aureus*، *Listeria monocytogenes*، *Micrococcus luteus*، *Klebsiella pneumoniae*، *Mycobacterium smegmatis*، *Proteus vulgaris* مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج این بررسی نشان داد که عصاره‌ی این گونه گیاه بلوط و گال ایجاد شده روی آن به‌واسطه‌ی دارا بودن مقادیر بالای تانن از بالاترین خواص ضد باکتریایی برخوردار هستند (Dgrak, *et al.*, 1999). مطالعات انجام شده روی خصوصیات گال *Q. infectoria* نشان داده است که این گال منبع قوی از اجزای فعال زیستی مانند تانن، ویتامین A, C، کلسیم، آهن، فیبر، پروتئین و کربوهیدرات می‌باشد و دارای خواص ضدمیکروبی، ضدباکتریایی و ضدقارچی می باشد. همچنین اثرات ضدباکتریایی عصاره‌های آبی و متانولی این گال‌ها در برابر باکتری *Cellulosimicrobium cellulans* بررسی شده و ایجاد هاله‌ی بازدارندگی قابل توجهی توسط هر دو عصاره در برابر *C. cellulans* نمایان شد و مشخص گردیده که فعالیت ضدباکتریایی عصاره‌ی متانولی تعامل مهم و قابل توجهی با درجه‌ی حرارت بر ایجاد هاله‌ی بازدارندگی دارد که بهترین دما برای بروز این خواص ضد میکروبی دمای حدود ۳۰ درجه‌ی سلسیوس می‌باشد (Muskhazli *et al.*, 2008). در پژوهش حاضر، در بخش مربوط به تأثیر عصاره‌های آبی، استونی و متانولی گال‌های *Quercus persica* با غلظت‌های مختلف ۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم از عصاره در میلی‌لیترآب مقطر بر تعدادی از مهم‌ترین باکتری‌های بیماری‌زای گیاهی مانند *X. translucens* pv. *cerealis*, *R. tritici*, *R. solanacearum* و *C. m.* subsp. *michiganensis* نتایج نشان داد که در آزمون‌های نشت در آگار و دیسک‌های کاغذ صافی، غلظت‌های بالا از عصاره‌های آبی، استونی و متانولی مؤثرترین غلظت‌های کنترلی بر باکتری‌ها بودند. به‌عنوان مثال در باکتری‌های *X. translucens* pv. *Cerealis*، *R. tritici*, *R. solanacearum* در روش نشت در آگار و در باکتری‌های *R. tritici*, *R. solanacearum*, *C. m.* subsp. *michiganensis* در روش دیسک کاغذ صافی بیش‌ترین قطر هاله‌ی بازدارنده را در غلظت‌های بالا ایجاد کردند. این یافته‌ها با نتایج پژوهش‌های انجام شده توسط (Basri & Fan, 2005) مطابقت داشت که نشان دادندکه عصاره‌های آبی و استونی گال‌های *Q. infectoria* از طریق MIC و MBC روی باکتری‌هایی مانند *Escherichia coli*، *Salmonella typhimurium*، *Pseudomonas aeruginosa*، *Staphylococcus aureus*، *Staphylococcus epidermidis* و *Bacillus subtilis* مؤثر بوده و باعث کاهش رشد آن‌ها شدند.

آزمون حداقل غلظت بازدارنده نیز برای تمامی باکتری‌ها و با استفاده از همه‌ی عصاره‌ها انجام شد که نتایج حاصله حاکی از قدرت بالای بازدارندگی عصاره‌های استونی و متانولی (در غلظت ۱۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر حلال) نسبت به آبی (در غلظت ۱۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر حلال آبی) می باشد. در باکتری *C. m.* subsp. *michiganensis* غلظت ۵۰ میلی‌گرم پودر عصاره‌ی استونی و متانولی در میلی‌لیتر از آب مقطر مانع از رشد باکتری گردید در حالیکه حداقل غلظت عصاره‌ی آبی برای جلوگیری از رشد این باکتری‌ها ۱۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود. از هر سه عصاره‌ی آبی، استونی و متانولی در باکتری *X. translucens pv. cerealis* غلظت ۵۰ میلی‌گرم پودر در میلی‌لیتر آب مقطر و در باکتری *R. tritici* غلظت ۱۰ میلی‌گرم پودر در میلی‌لیتر آب مقطر حداقل میزان بازدارندگی از رشد را نشان دادند. نتایج این بخش از پژوهش حاضر نیز در راستای نتایج به‌دست آمده در پژوهش ذکر شده در بالا می باشد (Basri & Fan, 2005).

این موضوع که آیا غشای بیرونی باکتری‌های گرم منفی و یا عدم وجود آن در باکتری‌های گرم مثبت دلیلی بر حساسیت و یا تحمل بیشتر می‌باشد، موضوعی قابل بررسی است که توسط *لی‌لا* و همکاران (Leela *et al.*, 2011) بررسی شده‌است. در این پژوهش، فعالیت ضدمیکروبی عصاره‌ی گال‌های *Q. infectoria* در برابر طیف وسیعی از باکتری‌های بیماری‌زا مورد آزمایش قرارگرفته‌است. نتایج این تحقیق نشان داد که همه‌ی باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی به همه‌ی عصاره‌های آبی حساس بودند و اثرات ضدمیکروبی عصاره‌ی متانولی بیشتر از سایر عصاره‌ها بود. اما مطالعات دقیق‌تر نشان داد که باکتری‌های گرم مثبت نسبت به‌عصاره‌ها در مقایسه با باکتری‌های گرم منفی حساس‌ترند به‌طور مثال در برابر عصاره‌های *Q. infectoria* باکتری *E. coli* مقاومت بیشتری نسبت به باکتری‌های *S. areus* و *B. subtilis* نشان داده که دلیل آن احتمالاً به‌علت وجود لایه‌ی لیپوپلی‌ساکارید Lipopolysaccharide (LPS) در باکتری‌های گرم منفی است که در لایه‌ی خارجی خود آب‌گریزی بالایی دارند که نقش یک لایه‌ی قوی در برابر مولکول‌های آب‌گریز را ایفا می‌کند. توانایی عبور از میان دیواره‌ی سلولی باکتری گرم مثبت آسان‌تر از باکتری گرم منفی است زیرا دیواره‌ی سلولی باکتری گرم مثبت شامل پپتیدوگلیکان و فاقد لایه‌ی دیواره‌ی خارجی می‌باشد. عصاره‌های اتانولی و آبی اثرات ضدمیکروبی قوی‌تری در برابر همه‌ی موجودات مورد آزمایش نشان‌دادند. عصاره‌های کلروفورم و هگزان تهیه شده از گال اثرات کمتری برای جلوگیری از رشد باکتری‌های مورد آزمایش، داشتند.

نتایج کلی تحقیق حاضر نیز یافته‌های فوق را تأیید کرد و مشخص گردید که باکتری‌های *C. m.* subsp. *michiganensis* و *Rathayibacter tritici* به‌عنوان باکتری‌های گرم مثبت در مقایسه با باکتری‌های گرم منفی مورد آزمایش در این تحقیق از حساسیت بیشتری نسبت به هر سه عصاره‌ی آبی، استونی و متانولی با غلظت‌های مذکور برخوردار هستند. براساس نتایج به‌دست آمده در بخش‌های مختلف تحقیق حاضر، می‌توان ادعا نمود که عصاره‌های گیاهی می‌توانند بر رشد تعدادی از باکتری‌های بیماری‌زای گیاهی تأثیر کاهنده داشته و در کنترل بیماری‌های ناشی از آنها مؤثر واقع گردند.

سپاسگزاری

این تحقیق بخشی از طرح مشترک موسسه‌ی تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور و مؤسسه‌ی تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور با عنوان ارزیابی خواص ضدقارچی، ضدباکتریایی و حشره‌کشی ترکیبات استخراجی از گال بلوط *Aphelonyx persica* و امکان استفاده از آن در صنایع رنگ‌رزی در استان کهگیلویه و بویراحمد می‌باشد.

References

Alizadeh, A. & Rahimian, H. 1989. Bacterial Leaf Streak of Graminea in Iran. EPPO Bulletin. Vol. 19, No. 1: 113-117.

Bahar, M. & Danesh, D. 1989. Causing wilt of potatoes in Iran. Plant Disease Journal. 10: 1-24. (In Persian with English summary)

Basri, D. F. & Fan, S. H. 2005. The potential of aqueous and acetone extracts of galls of *Quercus infectoria* as antibacterial agents. Indian Journal of Pharmacology. 37 (1): 26-29.

Basri, D. F. and Khairon, R. 2012. Pharmacodynamic interaction of *Quercus infectoria* galls extract in combination with vancomycin against MRSA using microdilution checkerboard and time-kill assay. Evidence-Based complementary and alternative medicine. Article ID 493156, 6 p.

Bhattacharjee, S. K. 2001. Handbook of Medicinal Plants. India: Pointer Publishers.

Csizinszky, A. A., Civerolo, E. I. & Jones, j. B. 1993. Inactivation of *Xanthomonas campestris* pvs*. in vitro* with plant extracts. Acta- Horticulture. 331: 301-305.

Dgrak, M., Alma, M. H., Ilcim, A. & Sen, S. 1999. Antibacterial and antifungal effects of various commercial plant extracts. Pharmaceutical Biology, 37 (3): 216–220.

Elphinstone, J. G. 2001. Monitoring and control of the potato brown rot bacterium in U.K.: A case study. European potato processing conference, Lausanne, Switzerland.

Elshazly, A. & Hussein, K. 2004. Chemical analysis and biological activities of essential oil of *Teucrium leococladom* (Lamiaceae). Biochemical Systematics and Ecology. 32: 665–74.

Evans, W. C. 1996. Pharmacopoeial and Related Drugs of Biological origin. 169-482. In: Trease and Evan's phamacognosy. London: WB Saunders co. Ltd.

Feng, W., Zheng, S. & Xiaodong, E. 2007. Essential oils to control Alternaria alternata in vitro and in vivo. Food. Control. 18: 1126-1130.

Hasanloo, T. & Salehi, M. 2009. The investigation of antibacterial effects of Silybum marianum extract. Agricultural Biotechnology Research Institute of the Technical Services Division. 2-05-05-86007. (In Persian with English summary)

Hayes, L. E. 1946. Survey of higher plants for presence of antibacterial substances. Botanical Gazette. 108: 408-414.

Hussein, G., Miyashiro, H., Nakamura, N., Hattori, M., Kakiuchi, N. & Shimotohno, K. 2000. Inhibitory effects of Sudanese medicinal plant extracts on hepatitis C virus protease. Phytotherapy Research. 14: 510-506.

Hutchinson, C. M. 1917. A bacterial disease of wheat in the punjab. Memoirs of the department of agriculturein India. Bacteriological Series 1: 169-175.

Ikram, M. & Nowshad, F. 1977. Constituents of *Quercus infectoria*. Planta Medica. 31: 286-287.

Kottakkal, A.V. S. 1995. Indian Medicinal Plants. Vol 4. Orient Longman Ltd.

Leela, T. & Satirapipathkhkul, C. 2011. Studies on the antibacterial activity of *Quercus infectoria* galls. International Conference on Bioscience, Biochemistry and Bioinformatics, Singapore. Vol. 5.

Muhamad, Z. & Mustafa A. M. 1994. Traditional Malay Medicinal Plants. Kuala Lumpur: Penerbit Fajar Bakti Sdn Bhd.

Muskhazli, M., Nurhafiza, Y., Nor Azwady, A. A. & Nor Dalilah, E. 2008. Comparative Study on the *in vitro* Antibacterial Efficacy of Aqueous and Methanolic Extracts of *Quercus infectoria* Gall`s Against *Cellulosimicrobium cellulans*. Journal of Biological Sciences, 8(3): 634-638.

Pradhanang, P. M., Elphinstone, J. G. & Fox. R. T. V. 2000. Identification of crop and weed hosts of Ralstonia solanacearum biovar 2 in hills of Nepal. Plant Patholology. 49: 403- 413.

Rahimian, H. & Babayizad, V. A. 2003. Check dispersion characterization of Rathayibacter causal wheat gum and losses evaluationin Iran. The final report of joint research projects and research organization, Mazandaran University, Department of Agricultural Extension and Education Agriculture. (In Persian with English summary)

Sadeghi, S. E., Assareh, M. H. & Tavakoli, M. 2010. Oak galls wasps of Iran. Research Institute of Forests and Rangelands. P. 22.

Smith, E. F. 1910. A new tomato disease of economic importance. (Abstr.). Science (New series) 31: 794-796.

Strider, D. L. 1969. Foliage blight phase of bacterial canker of tomato and survival of *Corynebacterium michiganense* in toxicants and in an air-dried condition. Plant Disease Reporter. 53: 864-868.

Teimouri, M., Korori, S., Moraghebi, F. & Matinizadeh, M. 2004. Comparison antibacterial activity of *Quercus persica* and *Quercus ilex*. 2nd International Congress on Traditional Medicine and Materia Medica, Tehran, Iran. (In Persian with English summary)

Wiart, C. & Kumar, A. 2001. Practical Handbook of Pharmacognosy. Malaysia: Pearson Education Malaysia Sdn. Bhd

Comparing the antibacterial effects of Iranian oak galls extract on some Gram-positive and Gram-negative plant pathogenic bacteria

Shiva Safarpour Kapourchali[1], Ali Alizadeh Aliabadi[2], Abolghasem Ghasemi[2] and Seyed Ebrahim Sadeghi[3]

1- Department of Plant Pathology, Islamic Azad University, Varamin, Iran.

2- Plant Diseases Research Department Iranian Research Institute of Plant Protection, Tehran, Iran.

3- Research Institute of Forests and Rangelands.

Corresponding Author: Shiva Safarpour Kapourchali, shiva.safarpour99@gmail.com

Received: April. 24, 2013 **1 (2) 27-40** **Accepted: Jan. 27, 2014**

Abstract

The antibacterial activities of aqueous, acetonous and methanol extracts of galls caused by *Aphelonyx persica* on *Quercus persica* were compared on some gram positive and gram negative plant pathogenic bacteria including: *Xanthomonas translucens* pv. *cerealis* (cause of bacterial leaf streak of wheat), *Ralstonia solanacearum* (cause of bacterial wilt of potato), *Rathayibacter tritici* (cause of wheat gum) and *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (cause of bacterial canker of tomato). Oak galls were collected in Zagros forests of Iran. Antibacterial properties of extracts at concentrations of 10, 50 and 100 mg/ml were studied as inhibition zone using two methods including agar well diffusion assay and disc diffusion assay. The results showed that gram-positive bacteria including *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* and *Rathayibacter tritici* were more sensitive to the gall extracts compared with gram-negative bacteria such as *Xanthomonas translucens* pv. *cerealis* and *Ralstonia solanacearum* at different concentrations of all three solvents extract (aqueous, acetone and methanol).

Key words: Oak gall, Antibacterial effect of extracts, Biological control, Gram positive bacteria, Gram negative bacteria.