

بررسی ترکیب‌های شیمیایی و اثرات ضد میکروبی عصاره‌ی متانولی دانه‌ی سویا

حشمت اله علی نژاد^{۱*}، سمیه قهاری^۲، قربانعلی نعمت زاده^۳، محمود تاجبخش^۴ و ربابه بهارفر^۵

چکیده

سویا گیاهی صنعتی و دارویی است که از دانه‌ی آن روغن خوراکی و از کنجاله‌ی آن غذای دام و طیور تهیه می‌شود. از خواص دارویی سویا می‌توان به اثرات ضد سرطانی آن اشاره کرد. در این تحقیق علاوه بر آنالیز عصاره‌ی متانولی دانه‌های سویا بوسیله‌ی دستگاه GC/MS، اثرات ضد باکتریایی و ضد قارچی آن نیز مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل از GC/MS، تعداد ۴۷ ترکیب را با اولویت حجمی؛ (Z,Z)-۱۲-۹-اکتادکانوئیک اسید (۴۴/۸۹ درصد)، ۹-اکتادکانوئیک اسید متیل استر (۱۳/۵۸ درصد)، هگزادکانوئیک اسید متیل استر (۱۱/۳۴ درصد)، متیل لینولنات (۶/۸۱ درصد)، اکتادکانوئیک اسید متیل استر (۳/۶۹ درصد) و n-هگزادکانوئیک اسید (۲/۶۱ درصد) نشان داد. عصاره‌ی متانولی این گیاه با غلظت ۰/۵ گرم بر میلی‌لیتر دی متیل سولفوکسید اثرات بازدارندگی بسیار خوبی بر علیه باکتری‌های گرم مثبت استافیلوکوکوس ائورئوس، باسیلوس سوبتیلیس، رتای باکتر توکسیکوس و باکتری گرم منفی سودوموناس سیرینجای نشان داد. علاوه بر این در مهار قارچ پریکولاریا اریزا، عامل بیماری بلاست برنج نیز تاثیر خوبی داشت.

واژه‌های کلیدی: آنالیز GC/MS، اثرات ضد باکتریایی، اثرات ضد قارچی، عصاره‌ی متانولی دانه‌ی سویا

*۱- استاد گروه شیمی آلی، دانشکده شیمی، دانشگاه مازندران، heshmat@unz.ac.ir

۲- دانشجوی دکتری گروه شیمی آلی، دانشکده شیمی، دانشگاه مازندران

۳- استاد پژوهشکده ژنتیک و زیست فناوری کشاورزی طبرستان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

۴- استاد گروه شیمی آلی، دانشکده شیمی، دانشگاه مازندران

۵- دانشیار گروه شیمی آلی، دانشکده شیمی، دانشگاه مازندران

مقدمه

(Glyceollins) استخراج شده از دانه‌ی سویا را علیه

قارچ‌های *Fusarium Oxysporum*، *Botrytis sclerotiorum cinerea* و *Phytophthora capsici*

مورد بررسی قرار دادند. دهارشینی و همکاران (2013) ترکیبات فعال زیستی عصاره اتانولی سویا را با دستگاه GC/MS مورد بررسی قرار دادند. خطیری و همکاران (۱۳۹۲) نقش باکتری‌های اندوفیتیک جدا شده از گیاه سویا را در کنترل برخی قارچ‌های بیماری‌زای گیاهی تایید نمودند. بنابراین گیاهان نه تنها می‌توانند بعنوان منبع غذایی مورد استفاده قرار گیرند بلکه می‌توانند به عنوان یک منبع مهم دارای ترکیبات فعال زیستی برای کنترل بیماری‌های گیاهی و انسانی به عنوان عوامل ضد ویروس، ضد باکتری و ضد قارچ نیز استفاده شوند (Mahesh and Satish, 2008; Erdogru, 2002; Zgoda and Porter, 2001)

هدف از این تحقیق علاوه بر شناسایی ترکیبات عصاره‌ی گیاه سویا از طریق دستگاه GC/MS، بررسی ظرفیت عصاره‌ی متانولی آن در مهار و یا کشندگی برخی از باکتری‌های گرم مثبت، گرم منفی و قارچ پریکولاریا اریزا، عامل بیماری بلاست برنج بوده است.

مواد و روش‌ها

تهیه عصاره‌ی گیاهی

این تحقیق طی تابستان ۱۳۹۴ در آزمایشگاه پژوهشکده‌ی ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری انجام پذیرفت. عصاره‌ی متانولی گیاه به روش ماسراسیون تهیه گردید. دانه‌های روغنی سویا از مزرعه‌ی دانشگاه تهیه و به دور از نور خورشید خشک، توسط آسیاب برقی به صورت پودر درآمده، سپس به مدت ۴۸ ساعت در دمای اتاق و در حلال متانول توسط شیکر با هم مخلوط تا عصاره‌گیری انجام شود. مخلوط حاصل با استفاده از کیف شیشه‌ای، صاف و با دستگاه تبخیر کن در حلال با حرارت ۴۰ درجه‌ی سانتیگراد خشک گردید. عصاره‌ی نهایی با فیلتر ۰/۲۲ میکرومتر (ساخت شرکت

علاوه بر خسارات قابل توجهی که آفات و بیماری‌های گیاهی به محصولات کشاورزی وارد می‌نمایند، تاثیر بسیار نامطلوبی هم بر کیفیت آن‌ها خواهند داشت. حفظ و نگهداری محصولات کشاورزی در برابر آفات و بیماری‌های گیاهی، از اهداف مهم و ضروری کشاورزی مدرن محسوب می‌شود. بنابراین باید به گونه‌ای منطقی و درست در جهت مهار آفات و بیماری‌های گیاهی حرکت نمود تا خسارات ایجاد شده را کم و تحت کنترل در آورده و از این طریق زمینه‌ی افزایش محصولات کشاورزی با کیفیت بهتر را فراهم ساخت (Zanini, Martins et al., 2012). محصولات طبیعی گیاهی و مشتقات آن‌ها منبع مهمی از مواد شیمیایی جدید در حوزه‌ی کشاورزی هستند که برای کنترل بیماری‌های گیاهی و آفات کشاورزی مورد استفاده قرار می‌گیرند (Amadioha, 2000). اخیراً محققان نشان دادند که مواد شیمیایی طبیعی می‌توانند به عنوان منبع غیر سمی، سیستمیک و تجزیه پذیر، جایگزین آفت‌کش‌های سنتزی موجود در بازار شوند (Amadioha, 2000). علاوه بر این، آفت‌کش‌های حاصل از منابع گیاهی ارزان بوده، به راحتی قابل دسترس می‌باشند و هزینه‌ی مصرف این سموم در کشورهای در حال توسعه که در آن قارچ‌کش‌های سنتزی برای کشاورزان، کمیاب و گران قیمت هستند بسیار کمتر می‌باشد.

سویا *Glycine max* (L.) Merrill، گیاهی از خانواده‌ی حبوبات و بومی شرق آسیا است و به طور گسترده در سراسر جهان کشت می‌شود. سویا منبع نسبتاً ارزانی از پروتئین با کیفیت بالا بوده و روغن موجود در دانه‌ی آن در مواد غذایی، خوراک و صنعت مورد استفاده قرار می‌گیرد (Sharma et al., 2014).

دی و آگاروالا فعالیت ضد باکتریایی روغن سویا را علیه دو باکتری باسیلوس سوبتیلیس و اشیشیالکی مورد بررسی قرار دادند (De and Agarwala, 2014). کیم و همکاران (2010) فعالیت ضد قارچی گلایسولین

و *Escherichia coli* PTCC 1330 مورد بررسی قرار گرفت (Ghahari et al., 2015).

سویه‌های باکتریایی لیوفیلیزه از گروه میکروبیولوژی دانشگاه مازندران تهیه و از سوسپانسیون میکروبی کشت شده و جوان، چند کلنی به محیط کشت مولر هینتون براث منتقل تا، کدورت حاصله مشابه کدورت لوله ۰/۵ مک فارلند ($10^8 \times 1/5$) باکتری در هر میلی لیتر) گردد. برای این کار، ابتدا غلظت‌های ۰/۰۱، ۰/۰۳، ۰/۰۶، ۰/۱۲، ۰/۲۵ و ۰/۵۰ گرم دریک میلی لیتر دی متیل سولفوکسید از عصاره تهیه و دیسک‌های بلانک استریل (قطر ۶ میلی متر) را با ۲۵ میکرولیتر از غلظت‌های مختلف تهیه شده از عصاره‌ی گیاهی آغشته و بر روی سطح محیط کشت آغشته با سوسپانسیون میکروبی قرار گرفتند. پلیت‌ها برای سویه‌های استاندارد در حرارت ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد و برای باکتری‌های گیاهی در حرارت ۲۷ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱۸-۱۶ ساعت در انکوباتور قرار گرفتند. پس از گذشت زمان مورد نظر قطر هاله‌های عدم رشد با استفاده از کولیس بر حسب میلی-متر اندازه‌گیری گردیدند. از آنتی‌بیوتیک‌های شناخته شده‌ی جنتامایسین ($10 \mu\text{g}/\text{disc}$) و کلرامفنیکل ($30 \mu\text{g}/\text{disc}$) نیز به عنوان کنترل مثبت و دی متیل سولفوکسید ($30 \mu\text{L}/\text{disc}$) به عنوان کنترل منفی استفاده گردید. فعالیت‌های ضد باکتریایی در چهار تکرار، با اندازه‌گیری قطر هاله‌ی عدم رشد (بر حسب میلی متر) در سطح پلیت‌ها و با نرم افزار SPSS و به صورت میانگین \pm انحراف معیار (mean \pm SD) مورد بررسی قرار گرفتند.

سنجش فعالیت ضد قارچی

سویه قارچ *Pyricularia oryzae* از مرکز تحقیقات برنج آمل تهیه و فعالیت ضد قارچی عصاره نیز با استفاده از روش انتشار از دیسک مورد بررسی قرار گرفت. برای تکثیر این قارچ از محیط پوتو دکستروز آگار (PDA) استفاده گردید.

ساتریوس آلمان) استریل گردید. ترکیبات موجود در عصاره خشک با استفاده از دستگاه گازکروماتوگرافی متصل به طیف سنج جرمی (GC/MS) آنالیز و در ادامه فعالیت ضد باکتریایی و ضد قارچی آن نیز طبق روش انتشار از دیسک (Kirby-Bauer (Chia and Yap, 2011) مورد بررسی قرار گرفت.

آنالیز GC/MS

آنالیز GC/MS با استفاده از کروماتوگراف گازی (7890A) متصل شده به طیف سنج جرمی (EI/CI MSD) (5975C-inert XL) و با ستون DB-5 (J&W Scientific)، و بر طبق برنامه حرارتی 50°C - 240°C با سرعت $5^\circ\text{C}/\text{min}$ و دمای محفظه تزریق $250^\circ\text{C}/\text{min}$ و با استفاده از زمان بازداری ترکیب‌ها (tR)، شاخص بازداری (RI)، طیف جرمی و مقایسه‌ی این پارامترها با ترکیب‌های استاندارد و یا با اطلاعات موجود در کتابخانه انجام گردید. درصد کمی این ترکیب‌ها نیز با محاسبه سطوح زیرمنحنی در کروماتوگرامها برآورد شد.

سنجش فعالیت ضد باکتریایی

فعالیت‌های ضد باکتریایی عصاره‌ی متانولی دانه‌ی روغنی سویا در شرایط آزمایشگاهی با استفاده از روش انتشار از دیسک Kirby-Bauer (Chia and Yap, 2011) سنجش شد. غلظت‌های ۰/۰۱، ۰/۰۳، ۰/۰۶، ۰/۱۲، ۰/۲۵ و ۰/۵۰ گرم در یک میلی لیتر دی متیل سولفوکسید از دانه‌های خشک تهیه و سپس با استفاده از فیلتر ۰/۲۲ میکرومتر (ساخت شرکت ساتریوس آلمان) استریل شدند. فعالیت ضد باکتریایی عصاره در برابر سه باکتری گرم مثبت *Rathayibacter toxicus* (ICMP 9525)، *Staphylococcus aureus* PTCC 1431 و *Bacillus subtilis* PTCC 1023 و پنج باکتری گرم منفی *Xanthomonas campestris* pv. ICMP13، *Pseudomonas aeruginosa* Campestris PTCC 1074، *Pseudomonas syringae* subsp. *syringae* ICMP 5089، *Pseudomonas viridiflava* ICMP 2848

مشخص گردد. از دی متیل سولفوکسید به عنوان کنترل منفی و از پتری دیش حاوی قارچ و فاقد عصاره به عنوان شاهد استفاده گردید. فعالیت‌های ضد قارچی در چهار تکرار با اندازه گیری قطر هاله عدم رشد (بر حسب میلی‌متر) در سطح پلیت‌ها و با نرم افزار SPSS و به صورت نتایج \pm انحراف معیار (mean \pm SD) مورد بررسی قرار گرفتند.

نتایج و بحث

ترکیبات شناسایی شده

۴۷ ترکیب مختلف به شرح زیر از عصاره‌ی متانولی دانه‌ی روغنی سویا شناسایی شدند (جدول ۱).

دیسک‌های کاغذی به قطر ۶ میلی متر تهیه و استریل شدند. دیسک‌ها را با ۲۵ میکرولیتر از غلظت‌های مختلف (۰/۰۱، ۰/۰۳، ۰/۰۶، ۰/۱۲، ۰/۲۵ و ۵۰/۰ گرم در یک میلی‌لیتر دی متیل سولفوکسید) تهیه شده از عصاره‌ی دانه‌ی سویا آغشته و با پنس بر سطح آگار پتری دیش قرار داده و به آرامی به سمت پایین فشار داده تا دیسک کاملاً با سطح آگار تماس داشته باشد. هیف قارچ بلاست را به اندازه‌های یکسان برش داده و برش‌ها را با لوپ برداشته و به صورت برعکس در وسط پتری دیش‌ها قرار داده و سپس پتری دیش‌ها را در انکوباتور و در دمای ۲۸ درجه‌ی سانتیگراد قرار داده تا وضعیت رشد قارچ بلاست بعد از گذشت ۱۲-۱۴ روز

جدول ۱- ترکیبات شناسایی شده از عصاره‌ی متانولی دانه‌ی روغنی سویا با استفاده از دستگاه GC/MS.

درصد زیر پیک	فرمول مولکولی	جرم مولکولی	نام ترکیب	زمان بازداری	پیک
۰/۶۸	C ₄ H ₁₂ O ₂ Si	۱۲۰/۲۲	Dimethyldimethoxysilane	۵/۷۴۴ min	۱
۰/۰۷	C ₂ H ₃ NS	۷۳/۱۲	Thiocyanic acid, methyl ester	۷/۱۶۲ min	۲
۰/۱۱	C ₄ H ₈ N ₂	۸۴/۱۲	Dimethylaminoacetonitrile	۷/۸۷۰ min	۳
۰/۰۳	C ₅ H ₇ N	۸۱/۱۲	Methallyl cyanide	۸/۴۰۰ min	۴
۰/۱۱	C ₆ H ₁₀ O	۹۸/۱۴	2,4-Pentadien-1-ol, 3-methyl-, (Z)-	۹/۱۵۴ min	۵
۰/۰۴	C ₆ H ₁₈ O ₃ Si ₃	۲۲۲/۴۶	Hexamethylcyclotrisiloxane	۹/۴۶۷ min	۶
۰/۰۷	C ₈ H ₁₀	۱۰۶/۱۷	m-Xylene	۱۰/۸۱۰ min	۷
۰/۱۰	C ₈ H ₁₀	۱۰۶/۱۷	p-Xylene	۱۱/۴۰۷ min	۸
۰/۱۱	C ₇ H ₈ O ₂	۱۲۴/۱۴	Phenol, 2-methoxy-	۱۵/۹۶۵ min	۹
۰/۰۴	C ₈ H ₈ O ₂	۱۳۶/۱۵	Benzoic acid, methyl ester	۱۶/۰۴۷ min	۱۰
۰/۲۰	C ₆ H ₆ O ₃	۱۲۶/۱۱	Maltol	۱۶/۴۴۲ min	۱۱
۰/۰۴	C ₁₀ H ₃₀ O ₅ Si ₅	۳۷۰/۷۷	Decamethylcyclopentasiloxane	۱۶/۹۲۷ min	۱۲
۰/۰۳	C ₁₂ H ₂₆	۱۷۰/۳۳	Dodecane	۱۷/۹۷۹ min	۱۳
۰/۸۲	C ₁₂ H ₃₆ O ₆ Si ₆	۴۴۴/۹۲	Dodecamethylcyclohexasiloxane	۱۹/۱۲۱ min	۱۴
۰/۰۲	C ₁₂ H ₂₀ O	۱۸۰/۲۹	2,4-Dodecadial, (E,E)-	۲۰/۲۴۰ min	۱۵
۰/۱۱	C ₉ H ₁₀ O ₂	۱۵۰/۱۷	2-Methoxy-4-vinylphenol	۲۰/۳۲۹ min	۱۶
۰/۲۳	C ₈ H ₁₀ O ₃	۱۵۴/۱۶	2,6-Dimethoxyphenol	۲۰/۹۴۹ min	۱۷
۰/۰۲	C ₁₄ H ₃₀	۱۹۸/۳۹	Tetradecane	۲۱/۶۳۵ min	۱۸
۱/۵۴	C ₁₄ H ₄₂ O ₇ Si ₇	۵۱۹/۰۸	Tetradecamethylcycloheptasiloxane	۲۳/۰۹۷ min	۱۹
۰/۰۵	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	۱۹۴/۱۸	1,4-Benzenedicarboxylic acid, dimethyl ester	۲۳/۷۴۶ min	۲۰
۰/۰۱	C ₆ H ₁₂ O ₆	۱۸۰/۱۶	D-Allose	۲۳/۸۵۸ min	۲۱
۰/۰۸	C ₁₀ H ₁₂ O ₃	۱۸۰/۲۰	2,6 - dimethyl - 3 - (methoxymethyl) - p - benzoquinone	۲۴/۹۵۵ min	۲۲

ادامه جدول ۱- ترکیبات شناسایی شده از عصاره‌ی متانولی دانه‌ی روغنی سویا با استفاده از دستگاه GC/MS.

درصد زیر پیک	فرمول مولکولی	جرم مولکولی	نام ترکیب	زمان بازداری	پیک
۰/۱۱	C ₁₅ H ₃₀ O ₂	۲۴۲/۴۰	Methyl Myristate (or Methyl tetradecanoate)	۲۷/۷۱۵ min	۲۳
۰/۰۳	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	۲۲۸/۳۷	Tetradecanoic acid	۲۸/۴۱۷ min	۲۴
۰/۰۳	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	۲۵۶/۴۲	Pentadecanoic acid, methyl ester	۲۹/۶۱۰ min	۲۵
۰/۰۷	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	۲۷۸/۳۴	1,2-Benzenedicarboxylic acid, bis(2-methylpropyl) ester (Diisobutyl phthalate)	۳۰/۶۲۵ min	۲۶
۰/۱۷	C ₁₇ H ₃₂ O ₂	۲۶۸/۴۳	9-Hexadecenoic acid, methyl ester (or Methyl palmitoleate)	۳۱/۰۸۰ min	۲۷
۱۱/۳۴	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	۲۷۰/۴۵	Hexadecanoic acid, methyl ester	۳۱/۵۵۰ min	۲۸
۲/۶۱	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	۲۵۶/۴۲	n-Hexadecanoic acid	۳۲/۰۰۵ min	۲۹
۰/۲۸	C ₂₀ H ₆₀ O ₁₀ Si ₁₀	۷۴۱/۵۴	Eicosamethylcyclodecasiloxane	۳۲/۳۹۳ min	۳۰
۰/۰۶	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	۲۸۴/۴۸	Hexadecanoic acid, ethyl ester	۳۲/۷۲۹ min	۳۱
۴۴/۸۹	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	۲۸۰/۴۴	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-	۳۲/۸۲۶ min	۳۲
۰/۱۰	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	۲۸۴/۴۸	Heptadecanoic acid, methyl ester	۳۲/۳۳۳ min	۳۳
۱۳/۵۸	C ₁₉ H ₃₆ O ₂	۲۹۶/۴۹	9-Octadecenoic acid, methyl ester	۳۵/۰۰۴ min	۳۴
۶/۸۱	C ₁₉ H ₃₂ O ₂	۲۹۲/۴۶	9,12,15-Octadecatrienoic acid, methyl ester, (Z,Z,Z)- (or methyl linolenate)	۳۵/۰۵۶ min	۳۵
۰/۱۱	C ₁₉ H ₃₆ O ₂	۲۹۶/۴۹	cis-13-Octadecenoic acid, methyl ester	۳۵/۲۰۶ min	۳۶
۳/۶۹	C ₁₉ H ₃₈ O ₂	۲۹۸/۵۰	Octadecanoic acid, methyl ester (or Methyl stearate)	۳۵/۳۸۵ min	۳۷
۱/۸۹	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	۲۸۲/۵۲	9-Octadecenoic acid, (E)-	۳۵/۷۸۸ min	۳۸
۱/۸۹	C ₁₈ H ₃₂ O	۲۶۴/۴۵	9,17-Octadecadienal, (Z)-	۳۵/۸۵۵ min	۳۹
۰/۷۷	C ₂₀ H ₃₆ O ₂	۳۰۸/۴۹	9,12-Octadecadienoic acid, ethyl ester (or Ethyl linoleate)	۳۶/۲۰۵ min	۴۰
۰/۰۵	C ₁₅ H ₂₈	۲۰۸/۳۸	7-Pentadecyne	۳۸/۲۶۴ min	۴۱
۰/۲۴	C ₁₂ H ₂₀	۱۶۴/۲۹	Cyclododecyne	۳۸/۴۸۱ min	۴۲
۰/۴۱	C ₉ H ₁₄	۱۲۲/۲۱	1,4-Cyclononadiene	۳۹/۳۰۹ min	۴۳
۰/۱۱	C ₁₈ H ₃₀ O ₂	۲۷۸/۴۳	Methyl 8,11,14-heptadecatrienoate	۳۹/۴۴۳ min	۴۴
۰/۶۱	C ₂₁ H ₄₀ O ₂	۳۲۴/۵۴	cis-13-Eicosenoic acid, methyl ester	۳۹/۸۹۱ min	۴۵
۰/۳۴	C ₂₁ H ₄₂ O ₂	۳۲۶/۵۶	Eicosanoic acid, methyl ester	۴۰/۶۲۲ min	۴۶
۰/۱۰	C ₁₈ H ₃₅ NO	۲۸۱/۴۸	9-Octadecenamide, (Z)- (or Oleamide)	۴۲/۰۱۷ min	۴۷

acid (Z,Z)- با طیف گسترده فعالیت بیولوژیکی در عصاره متانولی سویا دارای بیشترین غلظت (۴۴/۸۹ درصد) می‌باشد و در مقابل n-Hexadecanoic acid غلظت ۲/۶۱ نیز دارای طیف گسترده‌ای از فعالیت بیولوژیکی است.

علاوه بر شناسایی ترکیبات دانه سویا در عصاره متانولی به کمک دستگاه GC/MS، فعالیت زیستی برخی از ترکیبات اصلی شناخته شده که در منابع آمده نیز، در جدول ۲ نشان داده شده است. همانگونه که ملاحظه می‌شود ترکیب 9,12-Octadecadienoic

جدول ۲- فعالیت زیستی ترکیبات اصلی شناخته شده در عصاره‌ی متانولی دانه‌ی سویا، بر اساس منابع مختلف

نام ترکیب	خانواده ترکیب	فعالیت‌های بیولوژیکی	منابع
9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)- (Linoleic Acid)	Linoleic acid	Antioxidant, Pesticide, Anti-inflammatory, Hypocholesterolemic, Cancer preventive Hepatoprotective, Nematicide, Insectifuge, Antihistaminic, Antieczemic Antiacne, 5-Alpha reductase inhibitor, Antiandrogenic, Antiarthritic, Anticoronary expression of cyclooxygenase-2 inhibition of NF- κB11, Antioxidant, Antifungal,	(Sethi et al., 2013; Jegadeeswari et al. 2012)
Hexadecanoic acid, methyl ester (palmitic acid)	Fatty acid ester	hypocholesterolemic, Flavor, Pesticide, 5-Alpha reductase inhibitor, Lubricant, Antiandrogenic, nematicide, pesticide, haemolytic, potent antimicrobial activity	(Sethi et al., 2013; Omotoso Abayomi et al., 2014)
n-Hexadecanoic acid	Palmitic acid (Fatty Acid)	Antifungal, Anti-inflammatory, Antioxidant, Pesticide, Hypocholesterolemic, Nematicide, Lubricant, Anti-androgenic, Flavor, Hemolytic, 5-Alpha reductase inhibitor, potent antimicrobial agent, antimalarial and antifungal	(Sethi et al., 2013; Thamphy et al., 2014; Omotoso Abayomi et al., 2014)
9-Octadecenoic acid, methyl ester	Oleic acid	Anti-inflammatory, Anti-androgenic, Cancer preventive, Dermatitigenic, Anemiagenic, Hypocholesterolemic, Flavor, 5-Alpha reductase inhibitor, Insectifuge, Anti-carcinogenic	(Asghar et al. 2011)
9,12,15-Octadecatrienoic acid, methyl ester, (Z,Z,Z)- (or methyl linolenate)	Linolenic acid ester	Antiinflammatory, Hypocholesterolemic, Cancer preventive, Hepatoprotective, Nematicide, Insectifuge, Antihistaminic, Antieczemic, Antiacne, 5-Alpha reductase inhibitor Antiandrogenic, Antiarthritic, Anticoronary, Insectifuge	(Banu and Nagarajan, 2013)

ضد باکتریایی را علیه باکتری استافیلوکوکوس اورئوس به عنوان باکتری استاندارد نشان داده است. در میان باکتری‌های گیاهی نیز بیشترین فعالیت ضد باکتریایی را در غلظت ۰/۵ گرم بر میلی‌لیتر علیه باکتری گرم منفی سودوموناس سیرینجای نشان می‌دهد. نتایج حاصل از عصاره‌ی متانولی برای سویه‌های استاندارد نشان می‌دهد که در غلظت ۰/۵ گرم بر میلی‌لیتر با کنترل‌های مثبت از جمله کلرامفنیکل و جنتامایسین قابل رقابت می‌باشد. در مقابل، منطقه بازدارندگی دی متیل سولفوکسید به عنوان کنترل منفی نیز صفر بود. یعنی هیچ اثری بر روی همه‌ی میکروارگانیسم‌های تست شده نداشته است.

مقایسه‌ی تطبیقی نتایج بدست آمده از عصاره‌ی متانولی دانه‌ی سویا (لینولئیک اسید، اولئیک اسید، پالمیتیک اسید و غیره) با ترکیبات شناخته شده‌ی گیاهی و نقش فعالیت بیولوژیکی آنها نشان می‌دهد که از دانه‌ی سویا می‌توان به عنوان یک منبع غنی گیاهی برای برخی از فعالیت‌های ضد باکتریایی و ضد قارچی استفاده نمود.

فعالیت ضد باکتریایی عصاره متانولی دانه‌ی روغنی سویا

نتایج فعالیت ضد باکتریایی عصاره متانولی دانه‌ی روغنی سویا در جداول ۳،۴ و نیز شکل ۱ نشان داده شده است. همانطور که در جداول فوق مشاهده می‌شود، عصاره‌ی متانولی دانه‌ی روغنی سویا بیشترین فعالیت

نتایج فعالیت ضد قارچی

شده است. نتایج نشان می‌دهند که در غلظت ۰/۵ گرم بر میلی لیتر اثرات ضد قارچی بسیار خوبی بر روی قارچ *Pyricularia oryzae* داشته است.

نتایج اثرات ضد قارچی عصاره‌ی متانولی دانه‌ی روغنی سویا در جدول ۵ و شکل ۱ تا ۴ نشان داده

جدول ۳- فعالیت ضد باکتریایی عصاره‌ی متانولی دانه‌ی روغنی سویا علیه باکتری‌های استاندارد

غلظت (g/ml)	گرم مثبت		گرم منفی	
	<i>B. subtilis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>
۰/۵۰	۱۸/۵ ± ۰/۵۰	۲۵/۰ ± ۰/۰۰	۹/۶ ± ۰/۱۵	-
۰/۲۵	۱۸/۰ ± ۰/۰۰	۲۳/۹ ± ۰/۱۰	۹/۵ ± ۰/۰۰	-
۰/۱۲	۱۷/۸ ± ۰/۲۰	۲۱/۸ ± ۰/۲۰	۹/۳ ± ۰/۲۰	-
۰/۰۶	۱۴/۳ ± ۰/۱۵	۲۰/۶ ± ۰/۳۵	۹/۲ ± ۰/۱۰	-
۰/۰۳	۱۲/۵ ± ۰/۰۵	-	-	-
۰/۰۱	۱۰/۴ ± ۰/۱۵	-	-	-
دی متیل سولفوکسید	-	-	-	-
جنتامایسین (10 µg/disk)	۲۶/۰ ± ۱/۷۰	۲۰/۳ ± ۱/۵۰	۱۹/۶ ± ۱/۱۰	۱۵/۶ ± ۰/۵۰
کلرامفنیکل (30 µg/disk)	۲۲/۳ ± ۱/۲۰	۲۱/۷ ± ۰/۶۰	۲۰/۷ ± ۱/۵۰	-

مقدار ۳۰ میکرولیتر از هر غلظت و دی متیل سولفوکسید بر روی دیسک ریخته شد

جدول ۴- فعالیت ضد باکتریایی عصاره‌ی متانولی دانه‌ی روغنی سویا علیه باکتری‌های گیاهی

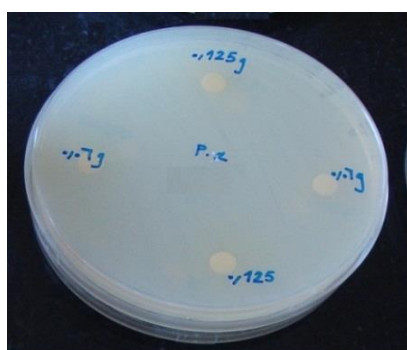
غلظت(g/ml)	گرم مثبت		گرم منفی	
	<i>R. toxicus</i>	<i>P. syringae</i>	<i>P. viridiflava</i>	<i>X. C. campestris</i>
۰/۵۰	۳۶/۰ ± ۰/۵۰	۳۶/۴ ± ۰/۱۰	-	-
۰/۲۵	۳۵/۹ ± ۰/۱۰	۳۲/۹ ± ۰/۱۵	-	-
۰/۱۲	۳۵/۳ ± ۰/۱۵	۳۲/۴ ± ۰/۱۰	-	-
۰/۰۶	۹/۵ ± ۰/۵۰	۲۶/۳ ± ۰/۱۵	-	-
۰/۰۳	۹/۳ ± ۰/۲۰	۱۰/۰ ± ۰/۰۰	-	-
۰/۰۱	۹/۰ ± ۰/۰۰	۹/۶ ± ۰/۱۵	-	-
دی متیل سولفوکسید	-	-	-	-

مقدار ۳۰ میکرولیتر از هر غلظت و دی متیل سولفوکسید بر روی دیسک ریخته شد

جدول ۵- اثر ضد قارچی عصاره‌ی متانولی دانه‌ی روغنی سویا علیه قارچ *Pyricularia oryzae* عامل بیماری بلاست برنج

غلظت* (g/ml)	اثر بر روی قارچ <i>P. oryzae</i>
۰/۵۰	$35/8 \pm 0/15$
۰/۲۵	-
۰/۱۲	-
۰/۰۶	-
۰/۰۳	-
۰/۰۱	-
دی متیل سولفوکسید	-

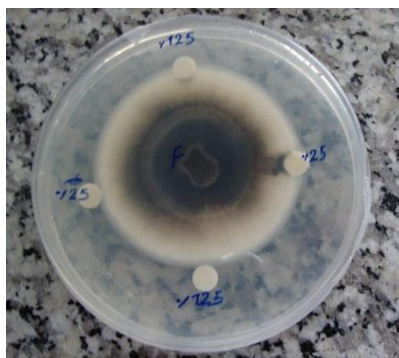
* ۳۰ میکرولیتر از هر غلظت و دی متیل سولفوکسید بر روی دیسک ریخته شد



شکل ۲- فعالیت ضد باکتریایی عصاره سویا بر علیه باکتری گرم منفی سودوموناس آئروژینوزا در غلظت های مختلف



شکل ۱- فعالیت ضد باکتریایی عصاره سویا بر علیه باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس در غلظت های مختلف بعد از چهار تکرار و اندازه گیری محدوده‌ی بازدارندگی



شکل ۴- فعالیت ضد قارچی عصاره‌ی متانولی دانه‌ی روغنی سویا علیه قارچ *P. oryzae*، در غلظت های ۰/۲۵ و ۰/۱۲ گرم بر میلی لیتر



شکل ۳- فعالیت ضد قارچی عصاره‌ی متانولی دانه‌ی روغنی سویا علیه قارچ *P. oryzae*، در غلظت ۰/۵ گرم بر میلی لیتر و اندازه گیری محدوده‌ی بازدارندگی

اثرات ضد باکتریایی نسبتاً خوبی داشته باشد. آرورا و همکاران دو نمونه از دانه‌ی سویا را انتخاب و بعد از عصاره‌گیری، غربالگری فیتوشیمیایی و فعالیت های ضد میکروبی را در غلظت های مختلف مورد سنجش قرار

دی و آگاروالا فعالیت ضد باکتریایی روغن سویا را علیه دو باکتری باسیلوس سوبتیلیس و اشیشیاکلی مورد بررسی قرار دادند و نشان دادند که روغن سویا می‌تواند بر روی این دو باکتری در سبزیجات مختلف

و امراض و مهارکننده التهاب و سرطان نشان می‌دهد که با خالص سازی این ترکیب می‌توان اقدام به تجاری سازی متابولیت‌های ثانویه گیاه سویا پرداخت. لذا می‌توان چنین استنباط نمود که عصاره‌های گیاهی می‌توانند به صورت بالقوه به عنوان عوامل مهار رشد پاتوژن‌ها در حوزه‌ی کشاورزی مورد استفاده قرار گیرند. بدیهی است که می‌توان از ترکیبات فعال زیستی موجود در گیاه و عصاره‌ی گیاهی به عنوان منابع سودمند جدیدی که تاثیرات منفی بسیار کمتری بر سلامت انسان و محیط زیست دارند، استفاده نمود.

در پایان قابل ذکر است که فعالیت ضد میکروبی گیاه تست شده می‌تواند با مطالعات جدیدی همچون به کار بردن حلال‌های مختلف دیگر برای استخراج، باکتری‌ها و قارچ‌های دیگر و استفاده از بخش‌های دیگر گیاه مورد ارزیابی قرار گیرد.

سپاسگزاری

از مجموعه مدیریت پژوهشکده ژنتیک و زیست فناوری کشاورزی طبرستان و همکاران آن حوزه که امکانات مورد نیاز که در اختیار ما قرار دادند صمیمانه تشکر می‌نماییم.

دادند و اثرات نسبتاً خوبی را بر علیه باکتری‌های مورد آزمایش مشاهده نمودند. پونوشا و همکاران فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی سویا را تایید نمودند و نشان دادند که آنتوسیانین‌های موجود در سویا خواص آنتی‌اکسیدانی بسیار خوبی را نشان می‌دهند. کیم و همکاران فعالیت ضد قارچی گلایسولین (Glyceollins) استخراج شده از دانه‌ی سویا را علیه قارچ‌های *Fusarium*, *Botrytis*, *Sclerotinia* و *Phytophthora capsici.oxysporum sclerotiorum cinerea* مورد بررسی قرار دادند و مشخص شد که دانه‌ی سویا در غلظت‌های مشخص، خواص ضد قارچی بسیار خوبی را نشان می‌دهد. دهارشینی و همکاران ترکیبات فعال زیستی عصاره اتانولی سویا را با دستگاه GC/MS مورد بررسی قرار دادند و نشان دادند که 9,12,15-octadecatrienoic acid, (Z,Z,Z)- با فراوانی ۸۰/۲۰ درصد بیشترین سطح زیر پیک را دارد. پلونجارین و همکاران ترکیبات معطر را از عصاره‌ی اسیدی سویا جدا و با دستگاه GC/MS شناسایی نمودند. کامکار و همکاران تأثیر بقایای سویا بر آزدسازی نیترات و آمونیوم در خاک و رابطه آن با پویایی تغییرات جمعیت‌های میکروبی را مورد بررسی قرار دادند. خطیری و همکاران نقش باکتری‌های اندوفیتیک جدا شده از گیاه سویا را در کنترل برخی قارچ‌های بیماری‌زای گیاهی تایید نمودند. در ادامه و در تایید تحقیقات محققان درباره‌ی خواص ضد میکروبی سویا، در پژوهش حاضر، خواص ضد باکتریایی عصاره‌ی متانولی دانه‌ی روغنی سویا بر علیه تعدادی از باکتری‌های استاندارد و باکتری‌های گیاهی و همچنین برای اولین بار بر روی قارچ پریکولاریا اریزا، عامل بیماری بلاست برنج مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این تحقیق کمک خواهد کرد تا ترکیباتی که ممکن است دارای ارزش دارویی و درمانی باشند شناسایی شوند. همچنین با مشاهده نتایج حاصل از GC/MS مشخص شد که نزدیک به ۴۵ درصد از سطوح پیک‌ها متعلق به ترکیب (Z,Z)-۱۲-۹- اکتادکانوئیک اسید می‌باشد که قابلیت بسیار گسترده به عنوان آنتی‌اکسیدان، ضد آفات

منابع

- medicine, *Pharmaceutical Biology*, 40(4): 269–273.
- Ghahari, S., Alinezhad, H., Nematzadeh, G. A. and Ghahari, S. (2015). Phytochemical screening and antimicrobial activities of the constituents isolated from *Koelreuteria paniculata* leaves, *natural product research*, 29(19): 1865-1869.
- Jegadeeswari, P., Nishanthini, A., Muthukumarasamy, S. and Mohan, V.R. (2012). GC-MS analysis of bioactive components of *Aristolochia Krysagathra* (Aristolochiaceae), *Journal of Current Chemical & Pharmaceutical Sciences*, 2(4): 226-232.
- Sharma, S., Kaur, M., Goyal, R. and Gill, B. S. (2014). Physical characteristics and nutritional composition of some new soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) genotypes, *J. Food Sci. Technol.*, 51: 551–557.
- Sethi, A., Prakash, R., Amandeep, S.D., Bhatia, A. and Singh, R.P. (2013). Identification of phytochemical constituents from biologically active pet ether and chloroform extracts of the flowers of *Allamanda violacea* A.DC (Apocynaceae), *Asian Journal of Plant Science and Research*, 3(4): 95-108.
- Thampy, S.V., Ramesh, V. and Vijayakumar, R. (2014). Study on ethanolic extract of Pitchavari: a native medicinal rice from southern peninsular India. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review & Research*, 25(2): 95-99.
- Kim, H. J., Suh, H. J., Lee, C. H., Kim, J. H., Kang, S. C., Park, S. and Kim, J. S. (2010). Antifungal Activity of Glyceollins Isolated from Soybean Elicited with *Aspergillus sojae*. *J. Agric. Food Chem.*, 58: 9483–9487.
- Mahesh, B. and Satish, S. (2008). Antimicrobial activity of some important medicinal plant against plant and human pathogens, *World Journal of Agricultural Sciences*, 4(S): 839-843.
- Omotoso Abayomi, E., Kenneth, E. and Mkpuru, K. I. (2014). Chemometric profiling of methanolic leaf extract of *Cnidioscolus aconitifolius* (Euphorbiaceae) using UV-VIS, FTIR and GC-MS techniques. *Peak Journal of Medicinal Plant Research*, 2 (1): 6-12.
- Ponnusha, B. S., Subramaniyam, S., Pasupathi, P., subramaniyam, B. and Virumandy, R. (2011). Antioxidant and Antimicrobial properties of *Glycine Max*-A کامکار، ب. قربانی نصرآبادی، ر.، عالیمقام، س.م.، و ابراهیمی، ط. (۱۳۸۸). تأثیر بقایای پنبه و سویا بر آزاد سازی نیترات و آمونیوم در خاک و رابطه آن با پویایی تغییرات جمعیت‌های میکروبی، علوم محیطی، ۱: ۱۴۹-۱۶۰. خطیری، ی.، بهادر، ن. و پردلی، ح. ر. (۱۳۹۲). مطالعه باکتری‌های اندوفیتیک جدا شده از گیاه سویا و نقش آن‌ها در کنترل برخی قارچ‌های بیماری‌زای گیاهی، فصلنامه زیست‌شناسی میکروارگانیسم‌ها، ۵: ۵۱-۶۰.
- Amadioha, A. C. (2000). Controlling rice blast in vitro and in vivo with extracts of *Azadirachta indica*. *Crop Protection*, 19: 287-290.
- Arora, M., Singh, S. and Kaur, R. (2013). Phytochemical analysis, protein content & antimicrobial activities of selected samples of *Glycine Max* Linn., *International Journal of Research in Engineering and Technology*, 02 (11): 570-574.
- Asghar, S.F., ur-Rehman, H., Choudahry, M.I. and ur-Rahman, A. (2011). Gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) analysis of petroleum ether extract (oil) and bio-assays of crude extract of *Iris germanica*. *International Journal of Genetics and Molecular Biology*, 3(7): 95 -100. Banu,
- H.R. and Nagarajan, N. (2013). GC-MS determination of bioactive components of *Wedelia chinensis* (Osbeck) Merrill. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 5(4): 279-285.
- Chia, Y.Y. and Yap, W. (2011). In vitro antimicrobial activity of hexane: petroleum ether extracts from fruits of *Momordica charantia* L., *International Journal of Pharmaceutical and Biological Archive*, 2(3): 868-873.
- De, B. and Agarwala, S. (2014). Antimicrobial activity of Soybean and Sunflower oil post frying vegetables from Allium and Brassica family, *International Journal of Nutrition and Agriculture Research*, 1(1): 72 - 82.
- Dharshini Thirunalasundari, T. and Sumayaa, S. (2013). GC-MS determination of bioactive compounds of *Glycine Max*. (Soybean). *International Journal of Medicinal Chemistry & Analysis*, 3(2): 79-82.
- Erdogru, Ö. T. (2002). Antibacterial activities of some plant extracts used in folk

(2012). Physiological and biochemical effects of an aqueous extract of *Koelreuteria paniculata* (Laxm.) seeds on *Anticarsia gemmatalis* (Huebner) (Lepidoptera: Noctuidae), SOAJ of Entomological Studies, 1: 81-93.

Zgoda J. R. and Porter J. R. (2001). A convenient microdilution method for screening natural products against bacteria and fungi., *Pharmaceutical Biology*, 39(3): 221–225.

review, *Int J Cur Bio Med Sci.*, 1(2): 49 – 62.

Plonjarean, S., Phutdhawong, W., Siripin, S., Suvannachai, N. and Sengpracha, W. (2007). Flavour compounds of the Japanese vegetable soybean “Chakaori” growing in Thailand, *Maejo International Journal of Science and Technology*, 01: 1-9.

Zanini Martins, C. H., Machado Freire, M. G., Postali Parra, J. R. and Rodrigues Macedo, M. L.