اثر آنتی باکتریال عصاره الکلی و آبی بره موم استان کردستان بر باکتری *Ralstonia solanacearum* عامل پوسیدگی قهوه‌ای سیب‌زمینی

فایقه اطمینانی[1]، ادیبه اطمینانی[2]

۱- گروه بیماری شناسی گیاهی، گرایش باکتری شناسی عضو باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، دانشگاه آزاد اسلامی، سنندج، ایران
۲- گروه زراعت، عضو باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان دانشگاه آزاد اسلامی، سنندج، ایران

تاریخ دریافت: دی ۹۵ **تاریخ پذیرش**: فروردین ۹۶

رایانامه: agriculture.student@yahoo.com

چکیده:

پوسیدگی قهوه‌ای سیب‌زمینی با عامل بیماری *Ralstonia solanacearum* از مهم‌ترین و خطرناک‌ترین بیماری‌های باکتریایی سیب‌زمینی است. مبارزه با این باکتری به دلیل دامنه میزبانی گسترده و نیز انتشار وسیع آن در خاک های مناطق مختلف و انتقال آن از طریق آب آبیاری و غده هایی که آلودگی پنهان دارند، مشکل است. این باکتری در اکثر نقاط کشور پراکنده است و موجب کاهش عملکرد کمی و کیفی سیب زمینی در مزارع می گردد.

هدف از این تحقیق، تعیین فعالیت ضد میکروبی عصاره پروپولیس روی سویه باکتریایی *Ralstonia solanacearum* در شرایط آزمایشگاهی است. پس از جمع‌آوری بره موم از مناطق مختلف استان کردستان و تهیه عصاره‌های الکلی وآبی، حداقل غلظت مهارکنندگی MIC و غلظت کشندگی MBC روی سویه‌های باکتری مورد ارزیابی قرار گرفت. برای آنالیز آماری، از نرم‌افزار SPSS و آزمون آماری DUNCAN استفاده گردید.

میانگین قطر هاله عدم رشد عصاره الکلی (با استفاده از دو حلال اتانول ۷۰ درصد و دی متیل سولفواکسید) به صورت معنی‌داری بیش از عصاره آبی بره موم بود ($p<0/05$) حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) عصاره الکلی اتانولی، دی متیل سولفوکسید و عصاره آبی بره موم برای باکتری بیماری زای گیاهی *Ralstonia solanacearum* به ترتیب برای ۰/۶۵۶، ۱/۳۱ و ۲/۶۲ میلی گرم بر میلی لیتر و هم‌چنین حداقل

غلظت کشندگی (MBC) برای باکتری مذکور به ترتیب ۰/۶۵۶، ۱/۳۱ و ۵/۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تعیین گردید. از آن جا که این بیماری با ایجاد پژمردگی و پوسیدگی قهوه ای به عنوان خطری بالقوه ، محصول سیب زمینی کشور را تهدید می کند و مبارزه با آن مشکل است، بنابراین این پژوهش که برای کنترل این بیماری انجام پذیرفت و نشان داد که عصاره الکلی و آبی بره موم قادر به کنترل باکتری مذکور در شرایط آزمایشگاهی است.

واژه های کلیدی: بره موم، سیب زمینی، عصاره آبی، عصاره الکلی

مقدمه:

سیب‌زمینی گیاهی یک ساله با نام علمی *Solanumtuberosum* L. از تیره *Solanaceae* است. سیب‌زمینی از جمله محصولات غده‌ای است که نقش مهمی در تغذیه مردم جهان دارد. بیماری پژمردگی باکتریایی سیب‌زمینی (پوسیدگی قهوه‌ای سیب‌زمینی) از مهم‌ترین و گسترده‌ترین بیماری‌های گیاهی در دنیا است که اولین بار در سال ۱۸۹۰ روی سیب‌زمینی و سپس توتون، گوجه‌فرنگی و بادام‌زمینی در آسیا، جنوب آمریکا و ایالات متحده گزارش گردید. در سال ۱۸۹۶ توسط اسمیت در مزارع سیب‌زمینی آفریقای جنوبی شناسایی و با نام *Bacillus solanacearum* نامگذاری شد و بعداً *Ralstonia solanacearum* نام گرفت. این باکتری از مخرب‌ترین باکتری‌های گیاهی است که در سراسر جهان به بیش از ۵۰ خانواده گیاهی حمله می‌کند. خسارت مستقیم بیماری در محصولات سیب‌زمینی، به خصوص مناطق گرمسیری قابل توجه است.

میزبان‌های مهم اقتصادی این باکتری عبارتند از سیب‌زمینی، گوجه‌فرنگی، فلفل، شمعدانی، توتون، زنجبیل، موز و اکالیپتوس است (Elphinstone et al., 2005). این بیماری در مناطق وسیع جغرافیایی از جمله کشورهای آفریقایی، آسیایی و آمریکایی به صورت اپیدمی تبدیل شده است و خسارت اقتصادی آن در بیش از ۸۰ کشور جهان معادل ۹۵۰ میلیون دلار بر آورد شده است. کاهش ۵۰ تا ۱۰۰ درصدی محصول در اثر این بیماری، این باکتری را به عنوان تهدید جدی برای غده‌های سیب‌زمینی تبدیل نموده است (Floyd et al., 2007). مبارزه با باکتری عامل بیماری دشوار است و سالانه به میزان زیادی برای کنترل آن، از سموم شیمیایی استفاده می‌گردد. مصرف سموم در کنار، اتلاف سرمایه، تحمیل هزینه مضاعف به کشاورزان و در نهایت اضافه شدن قیمت محصول برای مصرف‌کننده، مشکلات جانی و زیست‌محیطی به مراتب خطرناک‌تری را به دنبال دارد که امروزه این مشکلات بر همگان محرز است. بنابراین باید به دنبال یافتن ترکیبات طبیعی با خاصیت ضد میکروبی بود تا از آن‌ها در کنترل باکتری‌های بیماری‌زای گیاهی استفاده نمود. بره‌موم، ماده‌ای شبیه موم است که توسط زنبورعسل از صمغ درختان و گیاهان اطراف کندو جمع‌آوری می‌گردد.

به طور معمول بره موم از ۳۰ درصد موم، ۵۰ درصد صمغ، ۱۰ درصد چربی، ترکیبات آروماتیک، مواد معطر گیاهی و ۵ درصد دانه گرده تشکیل شده است (Freitas et al., 2011). این ترکیب چسبناک در واقع به عنوان ماده‌ای موثر در ضدعفونی کندوها به شمار می‌روند هم‌چنین زنبورها از آن‌ها برای تقویت شانه‌ها، مومیایی کردن اجساد، مقابله در برابر مهاجمین، تنظیم دمای داخلی کندو استفاده می‌نمایند (Antunez et al., 2008).

استفاده از بره‌موم از دیر باز برای مصارف درمانی مورد توجه بوده است و خواص ضد باکتریایی آن علیه باکتری‌های بیماری‌زای انسانی مورد مطالعه قرار گرفته است، که اخیراً به نقش این ماده طبیعی در کنترل بیمارگرهای گیاهی پرداخته شده است (Basim et al., 2006). از آن‌جا که ماهیت و خاصیت ضد میکروبی بره موم، بسته به پوشش گیاهی و موقعیت جغرافیایی محل و نوع حلال به‌کار رفته برای عصاره‌گیری متفاوت است (Bassani-Silvaetal., 2007). لذا این پژوهش به منظور بررسی اثر عصاره بره موم استان کردستان بر باکتری عامل پوسیدگی سیب‌زمینی *(Ralstonia solanacearum)* در شرایط آزمایشگاهی انجام پذیرفت.

اقدامات انجام شده :

فعال‌سازی و کشت باکتری‌ها:

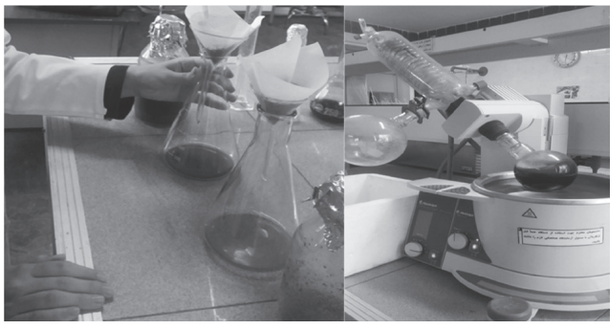
برای فعال‌سازی سویه‌های باکتری، از محیط‌کشت‌های نوترینت براث و تریپتون سویا براث استفاده گردید و لوله‌های آزمایش محتوی سوسپانسون باکتری در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت در گرم‌خانه Memmert نگه‌داری گردیدند. ۲۴ ساعت پس از فعال‌سازی نمونه‌ها، باکتری‌ها در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد، در زیر هود لامینار، کنار شعله چراغ الکلی و در شرایط استریل با استفاده از لوپ میکروبی بر محیط‌کشت نوترینت آگار به صورت خطی (streak) کشت شد (شکل ۱) (Schaad, 2001).

شکل -۱کشت سویه باکتری و تهیه نیم مک فالند

تهیه عصاره‌های الکلی و عصاره آبی بره موم:

بره موم جمع‌آوری شده از کندوهای مختلف در سطح استان کردستان در اواخر شهریور سال ۱۳۹۵ در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری گردیدند. برای تهیه پودر آن از نیتروژن مایع کمك گرفته شد. مقدار ۲۰گرم از پودر با استفاده از ترازوی دیجیتالی BEL با دقت ده هزارم گرم توزین و در ۱۰۰ میلی‌لیتر اتانول ۷۰ درصد حل گردید. محلول حاصل در یك ظرف استریل در بسته ریخته شد و در اتاقی تاریك با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد برای دو هفته نگه‌داری شد. سپس محلول از کاغذ واتمن No_4 و پروپولیس از کاغذ واتمن No_1.

برای تصفیه آن‌ها عبور داده شد. برای تبخیر حلال و تخلیص هرچه بیش‌تر بره موم از دستگاه روتاری اواپراتور EV311 Lab Tech با سرعت ۱۰۰ دور در دقیقه و دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد استفاده گردید. عصاره خالص شده در دمای ۲۰-درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت نگه‌داری شد و برای خشك کردن، به دستگاه فریز درایر مدل (CHRIST ALPHA2-4 LD plus) انتقال داده شد. یك شبانه روز پس از آن، به صورت پودر خشك شده در دمای ۲۰-درجه سانتی‌گراد در حالی‌که با فویل آلومینیومی پوشانده شده بود، نگه‌داری گردید، این کار برای عصاره آبی به همین صورت انجام گرفت (شکل ۲). (Jafarzadeh et al., 2011).



شکل-۲ تهیه عصاره‌های الکلی و آبی پروپولیس

تعیین قطر هاله عدم رشد:

مطابق با استانداردهای آزمایشگاهی و کلینیکی ([1] CLSI) پروتکل M۴۵-A برای تعیین قطر هاله عدم رشد از روش دیسك دیفیوژن استفاده گردید. در واقع دراین روش، ۵/۲۵ میلی‌گرم از عصاره خشك شده بره موم حاصل از حلال الکلی و عصاره آبی، وزن گردید و در ۱ میلی‌لیتر الکل ۹۶ درصد حل گردید. سپس بر روی دستگاه شیکر به مدت ۲ ساعت نگه‌داری شد. محلول حاصل را از فیلتر میکروبی ۰/۲۲ میکرون عبور داده شد تا سترون شود. دیسك‌های بلانك سترون را به محلول اضافه گردید و در فور memmert ۳۰ درجه سانتی‌گراد برای ۲۴ ساعت نگه‌داری گردید تا کاملا خشك شود. بعد از آن از کشت تازه باکتری‌ها، سوسپانسیونی با غلظت نیم‌مك فارلند ($۱/۵ \times ۱۰^{۸}$ باکتری در میلی‌لیتر) درمحیط تریپتون سویا براث (اسیدیته ۰/۰۲± ۷/۱ Merck) تهیه شد و کاملاً به صورت چمنی در سطح محیط‌کشت مولر هینتون آگار پخش گردید، دیسك بر روی محیط با پنس سترون قرار داده شد. برای کنترل منفی، دیسك‌های بلانك سترون در اتانول ۹۶ درصد قرار داده شد. برای کنترل مثبت هم از دیسك‌های استاندارد آنتی بیوتیك تتراسایکلین، اریترومایسین، جنتامایسین، نالیدیکسیک اسید، پلی‌میکسین،کلیندامایسین و سم اکسی کلرور مس استفاده گردید. و سپس پلیت حاوی باکتری‌ها و دیسك‌ها برای ۲۴ ساعت در گرم‌خانه Memmert، ۲۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. میانگین قطر هاله عدم رشد توسط کولیس برحسب میلی‌متر اندازه‌گیری گردید، این آزمون در سه تکرار انجام پذیرفت (Schaad et al., 2001).

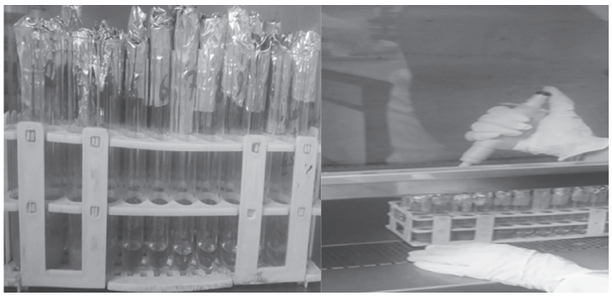
تعیین MIC [2]

به این منظور ۵/۲۵ میلی‌گرم از عصاره الکلی بره موم پودر شده را در ۱۰۰۰ میکرولیتر الکل ۹۶ درصد، دی متیل سولفوکسید و عصاره آبی پروپولیس (همان طور که روش تهیه آن در بالا ذکر شده است) قرار داده شد و به مدت ۲ ساعت در دستگاه شیکر گذاشته شد تا کاملاً حل شود. سپس عصاره فراهم شده از فیلتر میکروبی ۰/۲۲ میکرون عبور داده شد (Jafarzadeh Kashi et al., 2011). مطابق دستورالعمل موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران شماره ۵۸۷۵ (نگه‌دارنده‌ها-تعیین حداقل غلظت بازدارنده (MIC) ۱۳ لوله آزمایش برای هر سویه، در فور با دمای ۱۶۰ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری گردید تا کاملاً سترون شود. سپس در لوله‌های شماره ۲ تا ۱۰، ۱۰۰۰ میکرولیتر از تریپتون سویا براث (اسیدیته ۰/۰۲±۷/۱ Merck) توزیع شد.

1- Clinical and Laboratory Standards Institute

2- minimum inhibitory concentration

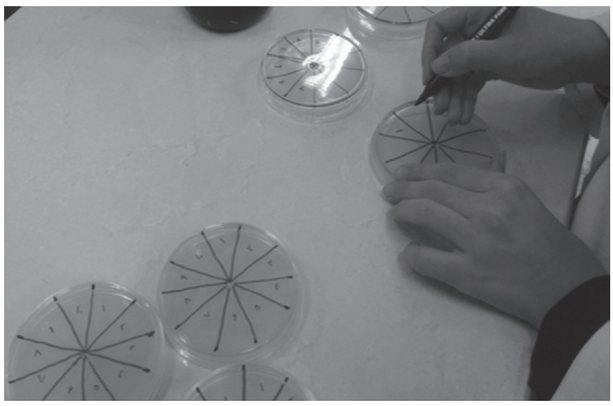
لوله‌ها در اتوکلاو با دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد ۱۵ دقیقه سترون شدند. سپس درون لوله‌ی شماره ۱، ۱۰۰۰ میکرولیتر از عصاره الکلی بره موم خالص ریخته شد و در لوله شماره ۲، ۱۰۰۰ میکرولیتر عصاره خالص اضافه گردید. بعد از حل شدن کامل از لوله شماره ۲، ۱۰۰۰ میکرولیتر برداشته و به لوله شماره ۳ منتقل گردید تا رقت ۱:۴ حاصل گردد. این کار تا لوله شماره ۱۰ تکرار گردید. در نهایت از لوله شماره ۱۰، ۱۰۰۰ میکرولیتر بیرون ریخته شد تا حجم تمام لوله‌ها مشابه باشد. در نهایت برای هر سه باکتری رقت‌های زیر فراهم گردید. به تمام لوله‌ها ۱۰۰۰ میکرولیتر از باکتری با غلظت نیم‌مک فارلند ($1/5\times10^8$) CFU/ml اضافه گردید تا شرایط برای تمام تیمارهای آزمایش مشابه باشد، این آزمایش برای هر سه تکرار به همین صورت انجام پذیرفت (شکل ۳)(JafarzadehKashi et al., 2011).



شکل-۳ مراحل انجام آزمون MIC

تعیین MBC [3]

برای تعیین MBC، بعد از تهیه محیط‌کشت مولر هینتون آگار در پلیت‌های ۱۰ سانتی‌متری توزیع گردید و هر کدام از پلیت‌ها به ده قسمت مساوی تقسیم شد. سپس از لوله شماره ۱ تا لوله شماره ۱۰ MIC، عصاره الکلی و عصاره آبی، ۱۰ میکرولیتر را برداشته و به پلیت اضافه شد و در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد در انکوباتور نگه‌داری گردید، این آزمایش در سه تکرار انجام پذیرفت (شکل ۴)(JafarzadehKashi et al., 2011).



شکل -۴ انجام آزمون MBC

تجزیه و تحلیل آماری:

برای آنالیز آماری داده‌ها از نرم افزار SPSS V.20 و آزمون آماری DUNCAN استفاده شد.

یافته ها:

میانگین قطر هاله عدم رشد عصاره‌های بره موم، آنتی‌بیوتیک نتایج مربوط به قطر هاله عدم رشد در جدول ۱ نشان داده شده است. بیش‌ترین قطر هاله عدم رشد مربوط به عصاره الکلی (با اتانول ۹۶ درصد)، دی متیل سولفوکسید و عصاره آبی به ترتیب با مقادیر ۷/۶۶±۰/۵۸، ۶/۳۳ ± ۰/۵۸ و ۵/۶۶±۰/۵۸مشاهده شد. آنالیز آماری نشان داد که میانگین قطر هاله عدم رشد، عصاره الکلی (با حلال اتانول ۹۶ درصد و دی متیل سولفواکساید) به صورت معنی‌داری بیش‌تر از عصاره آبی است ($P<0.05$).

جدول -۱ میانگین قطر هاله عدم رشد دیسک‌های حاوی عصاره‌هایآبی و الکلی بره‌موم بر باکتری *Ralstonia solanacearum*

مواد/ قطر هاله عدم رشد(میلی‌متر)	باکتری *Ralstonia solanacearum*
عصاره آبی	۵۸/۰±۶۶/۵
عصاره الکلی (اتانول ۹۶ درصد)	۵۸/۰±۶۶/۷
عصاره الکلی (دی متیل سولفواکسید)	۵۸/۰± ۳۳/۶
آب مقطر استریل	*
اتانول ۹۶ درصد	*
دی متیل سولفواکسید	*

* فاقد هاله عدم رشد

هم‌چنین طبق جدول CLSI نشان داده شده (جدول ۲)، که باکتری *Ralstonia solanacearum* نسبت به

3- minimum bactericidal concentration

آنتی‌بیوتیک‌های تتراسایکلین، جنتامایسین به ترتیب با قطر هاله ۲۴، ۲۳ میلی‌متر حساس می‌باشند اما به آنتی‌بیوتیک‌های اریترومایسین، نالیدیک اسید و کلیندامایسیون به ترتیب با قطر هاله ۱۰، ۱۰ و ۱۲ میلی‌متر مقاوم تعیین شد. و نسبت به سم اکسی کلرور مس ۱ در هزار قطر هاله ۲۱ میلی متر ملاحظه شد. دیسک‌های حاوی حلال (اتانول ۹۶ درصد، دی متیل سولفواکسید) به عنوان کنترل منفی هیچ هاله عدم رشدی را نشان ندادند.

جدول -۲ میانگین قطر هاله عدم رشد دیسک‌های حاوی آنتی‌بیوتیک‌های مختلف روی باکتری *Ralstonia solanacearum*

دیسک آنتی بیوتیک	نام باکتری	CLSI		
		R	I	S
تتراسایکلین	Ralstonia solanacearum	≤۱۴	۱۵-۱۸	≥۱۹
اریترومایسین	۲۴	≤۱۱	۱۲-۱۴	≥۱۵
جنتامایسین	۱۰	≤۱۲	۱۳-۱۴	≥۱۵
نالیدیکسیک‌اسید	۲۳	≤۱۴	۱۵-۲۰	≥۲۱
کلیندامایسین	۱۰	≤۱۳	۱۴-۲۲	≥۲۳
	۱۲			

حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) عصاره الکلی اتانولی، دی متیل سولفوکسید و عصاره آبی بره موم برای باکتری *Ralstonia solanacearum* به ترتیب برابر برای ۰/۶۵۶، ۱/۳۱ و ۲/۶۲ و هم‌چنین حداقل غلظت کشندگی (MBC) برای باکتری مذکور به ترتیب ۰/۶۵۶، ۱/۳۱ و ۵/۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تعیین گردید (جداول ۴ و۵).

نتیجه‌گیری:

در تحقیق حاضر عصاره الکلی بره موم بر باکتری *Ralstonia solanacearum* عامل پوسیدگی قهوه ای سیب‌زمینی مورد ارزیابی قرار گرفت. مهم‌ترین خواص دارویی بره‌موم، اثرات آنتی‌بیوتیکی ضدقارچی، ضدویروسی وضدباکتریایی آن است.

جدول -۴ مقدار MIC و MBC عصاره الکلی (با اتانول ۹۶ درصد) بره موم برای باکتری *Ralstonia solanacearum*

سری رقت	غلظت (mg/ml) پروپولیس	*Ralstonia solanacearum* MBC	MBC
۱/۱	۵/۲۵	-	-
۱/۲	۲/۶۲	-	-
۱/۴	۱/۳۱	-	-
۱/۸	۰/۶۵۶	-	-
۱/۱۶	۰/۳۲۸	+	+
۱/۳۲	۰/۱۶۴	+	+
۱/۶۴	۰/۰۸۲	+	+
۱/۱۲۸	۰/۰۴۱	+	+
۱/۲۵۶	۰/۰۲	+	+
۱/۵۱۲	۰/۰۱	+	+

جدول -۵ مقدار MIC و MBC عصاره الکلی (با دی متیل سولفوکسید) بره موم برای باکتری *Ralstonia solanacearum*

سری رقت	غلظت (mg/ml) پروپولیس	*Ralstonia solanacearum* MBC	MBC
۱/۱	۵/۲۵	-	-
۱/۲	۲/۶۲	-	-
۱/۴	۱/۳۱	-	-
۱/۸	۰/۶۵۶	-	-
۱/۱۶	۰/۳۲۸	+	+
۱/۳۲	۰/۱۶۴	+	+
۱/۶۴	۰/۰۸۲	+	+
۱/۱۲۸	۰/۰۴۱	+	+
۱/۲۵۶	۰/۰۲	+	+
۱/۵۱۲	۰/۰۱	+	+

جدول -۶ مقدار MIC و MBC عصاره آبی بره موم برای باکتری *Ralstonia solanacearum*

سری رقت	غلظت (mg/ml) پروپولیس	*Ralstonia solanacearum* MBC	MBC
۱/۱	۵/۲۵	-	-
۱/۲	۲/۶۲	-	-
۱/۴	۱/۳۱	-	-
۱/۸	۰/۶۵۶	-	-
۱/۱۶	۰/۳۲۸	+	+
۱/۳۲	۰/۱۶۴	+	+
۱/۶۴	۰/۰۸۲	+	+
۱/۱۲۸	۰/۰۴۱	+	+
۱/۲۵۶	۰/۰۲	+	+
۱/۵۱۲	۰/۰۱	+	+

فعالیت ضد میکروبی پروپولیس ممکن است به واسطه‌ی اثر مستقیم بر میکروارگانیسم‌ها، و یا غیر مستقیم از طریق تحریك سیستم ایمنی است. Takaisi و همکاران (۱۹۹۴)، این خاصیت ضد میکروبی را به مکانیسم اثر بره موم بر تقسیم سلولی، تغییر ماهیت سیتوپلاسمی و غشای باکتری مرتبط می‌دانند. البته نقش بره موم بر فعالیت آنزیم‌های RNA پلی‌مرازهای وابسته به DNA و گلوکز ترانس فراز باکتری اثر می‌گذارد که احتمالاً بی ارتباط با خاصیت ضد میکروبی بره موم بر باکتری‌ها باشد.

در تحقیق حاضر، عصاره الکلی بره موم به میزان معنی داری بیش از عصاره آبی قادر به کنترل باکتری در شرایط آزمایشگاهی گردید. Basim و همکاران (۲۰۰۶) باکتری Ralstonia را از باکتری های حساس به بره موم گزارش نموده‌اند. در مطالعه‌ی آن‌ها حداقل غلظت بازدارندگی مربوط به ۱/۱۰۰ از دانه گرده و بیش‌ترین آن مربوط به ۱/۱۰۰۰ از عصاره بره موم می‌باشد، خاصیت بازدارندگی بره موم بیش از دانه گرده ملاحظه گردید. در تحقیق حاضر هم عصاره‌های الکلی و آبی بره موم قادر به کنترل باکتری مذکور بودند. به گونه‌ای که بیش‌ترین قطر هاله عدم رشد مربوط به عصاره الکلی (با اتانول ۷۰ درصد)، دی متیل سولفوکسید و عصاره آبی به ترتیب با مقادیر ۰/۵۸±۷/۶۶، ۰/۵۸±۶/۳۳ و ۰/۵۸±۵/۶۶ مشاهده شد. آنالیز آماری نشان داد که میانگین قطر هاله عدم رشد، عصاره الکلی (با حلال اتانول ۷۰ درصد و دی متیل سولفواکساید) به صورت معنی‌داری بیش‌تر از عصاره آبی است ($P<0.005$).

در این مطالعه اثر آنتی بیوتیک های مختلف تتراسایکلین، اریترومایسین، جنتامایسین، نالیدیکسیک اسید و کلیندامایسین بر باکتری *Ralstonia solanacearum* مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که باکتری *Ralstonia solanacearum* نسبت به آنتی‌بیوتیك‌های تتراسایکلین، جنتامایسین به ترتیب با قطر هاله ۲۴، ۲۳ میلی‌متر حساس می‌باشند اما به آنتی‌بیوتیك‌های اریترومایسین، نالیدیک اسید و کلیندامایسیون به ترتیب با قطر هاله ۱۰، ۱۰ و ۱۲ میلی‌متر مقاوم تعیین شد.

verma و همکاران (۲۰۱۴) در مطالعه ای اثر آنتی بیوتیک های مختلفی از قبیل کاسوگامایسین، استرپتومایسین، سفتریوکسون و جنتامایسین بر باکتری *Ralstonia solanacearum* (جداسازی شده از سیب زمینی، بادمجان و فلفل) مورد بررسی قرار دادند. نتایج تحقیقات آن ها حاکی از اثر آنتی بیوتیک های مذکور بر کنترل بیماری در شرایط آزمایشگاهی بود. بیشترین اثر کنترل کنندگی مربوط به جنتامایسین و کم ترین آن به کاسوگامایسین گزارش گردید که نتایج حاصل از مطالعه ی آن ها با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد.

در این پژوهش علاوه بر مطالعه اثر آنتی بیوتیک های مختلف، اثر اکسی کلرور مس بر باکتری عامل پوسیدگی قهوه ای سیب زمینی مورد بررسی قرار گرفت. قطر هاله عدم رشد برای ترکیب اکسی کلرور مس ۲۱ میلی متر اندازه‌گیری شد.

در مقایسه اثر آنتی بیوتیک های مختلف و ترکیب اکسی کلرور مس با اثر بره موم کندوهای عسل، اگرچه اثر آنتی بیوتیک ها و اکسی کلرور مس بهتر از بره موم گزارش گردید، اما به دلیل بحث مقاومت باکتری ها به آنتی بیوتیک ها و ترکیبات مسی کاربرد این گروه از ترکیبات نمی تواند پیشنهاد مناسبی برای کنترل بیمارگرهای گیاهی به شمار آید.

از طرفی استفاده بی رویه از سموم شیمیایی موجب آلودگی های زیست محیطی می شود که با اثر بر زنجیره های غذایی سبب مشکلات جدی در سلامت انسان و محیط زیست می گردد. لذا یافتن ترکیباتی طبیعی (از جمله بره موم) با خاصیت ضد میکروبی، به دلیل ماهیت طبیعی و ایمن بودن آن برای سلامت انسان و محیط زیست امری ضروری است. به نظرمی‌رسدکه با مطالعه‌ی بره موم های حاصل ازکندوهای زنبورعسل درمناطق مختلف وبررسی خواص ضدمیکروبی آن بتوان ازاین ترکیب طبیعی به جای سموم شیمیایی و آنتی‌بیوتیک‌های صنعتی استفاده نمود.

تشکر و قدردانی:

نویسندگان مقاله مراتب تشکر و قدردانی خود را نسبت به باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان واحد سنندج به دلیل حمایت‌های مادی و معنوی در اجرای این مطالعه ابراز می‌دارند.

منبع ها:

Elphinstone J (2005) The current bacterial wilt situation: a global view. In: Allen, C., Prior, P., Hayward, A.C., Eds., Bacterial Wilt Disease and the *Ralstonia solanacearum*. Species Complex, APS Press, St. Paul 9-28.

Floyd J (2007) New Pest Response Guidelines: *Ralstonia solanacearum* race 3. Biovar 2. USDA-APHIS-PPQ, Emergency and domestic programs, Riverda le, MD, Online.

Freitas J A, Vanat N, Pinheiro JW, Balarin MRS, Sforcins JM, Venancio EJ (2011) The effects of propolis on antibody production by laying hens. Poultry science 90(6): 1227-1233.

Antunez K, Harriet J, Gende LM, Maggi M, Eguaras M, Zunino P (2008) Efficacy of natural propolis extract in the control of American Foulbrood.Veterinary Microbiology 131324-131331.

Basim E, Basim H, Özcan M (2006) Antibacterial activities of Turkish pollen and propolis extracts against plant bacterial pathogens. Journal of Food Engineering 77(4): 992-996.

Bassani-Silva S, Sforcin J M, Amaral AS, Gaspar LF, Rocha NS (2007) Propolis effect in vitro on canine transmissible venereal tumor cells. Revista Portuguesa de CiênciasVeterinrias 102261-102265.

Schaad NW (2001) Initial identification of common genra. Pp. 1-15. In: Schaad N.W., Jones J.B & Chun W (eds). Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria. The American Phytopathological Society.

JafarzadehKashi TS. KasraKermanshahi R, Erfan M, VahidDastjerdi E, Rezaei Y, Tabatabaei FS (2011) Evaluating the In-vitro antibacterial effect of iranian propolis on oral microorganisms. Iranian Journal of Pharmaceutical Research 10(2): 363-368.

Takaisi-Kikuni NBH (1994) Schilcher, Electron microscopic and microcalorimetric investigations of the possible mechanism of the antibacterial action of a defined propolis provenance. Planta Medica 66222- 66227.

Verma R, Dutta A, Choudhary AK, Maurya S. (2014). Control of *Ralstonia Solanacearum* Infection in Tomato, Brinjal and Capsicum by antibiotic sensitivity test. Journal of Advanced Laboratory Research in Biology 3:35-40.

Evaluation of antibacterial properties of alcohol and water extracts of propolis on *Ralstonia solanacearum*

F. Etminani[1], A. Etminani[2]

1,2-Young Researchers and Elite Club, Sanandaj Branch, Islamic Azad University, sanandaj, Iran

Received: 10 July 2016 **Accepted:** 16 November 2016

Abstract

Potato brown rot (the causal agent *Ralstonia solanacearum*) is one of the important and dangerous bacterial diseases. Due to its wide distribution and broad host range and in soil of different regions through irrigation water or latent infected tubers. It is generally difficult to control the damage of of this bacterium. This disease is widely distributed in most part of Iran and which reduce the quality and quantity of potato. This research was conducted to survey antibacterial activity of propolis on *Ralstonia solanacerum*. After propolis collection from different parts of Kurdistan province and propolis extraction and water extraction, Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) activity for bacterial strains were determined. Data analysis was performed using the SPSS software programme and comparison of means was done with Duncan test at 5% level. Use of alcoholic solvent (96% ethanol and dimethyl sulfoxide) resulted in a greater mean diameter of growth inhibitory zone in comparison to water extract ($p<0.05$). Inhibitory concentrations (MICs) of alcoholic, dimethyl sulfoxide and water extract of propolis for *Ralstonia solanacearum* were 0/656, 1/31 and 2/62 and and the MBCs for each of the above mentioned extraction were 0/656, 1/31 and 5.25 mg/ml respectively. This disease by causing wilt and brown rot in potato region, cause serious disease in most potato growing region of Iran. This research for control of this disease conducted. According to the results, Propolis showed significant effect on *Ralstonia solanacearum* in laboratory condition

Keywords: propolis, potato, water extract, alcohol extract

Corresponding Author: F. Etminani

Email: agriculture.student@yahoo.com