

فعالیت ضد باکتریایی رزین و بره‌موم صنوبر *Populus deltoides*



مریم نشوه^۱، سنبل ناظری^{۱*} و دوستمراد ظفری^۲

^۱ همدان، دانشگاه بوعلی سینا، گروه بیوتکنولوژی کشاورزی

^۲ همدان، دانشگاه بوعلی سینا، گروه گیاهپزشکی

تاریخ دریافت: ۹۴/۱۰/۱۹ تاریخ پذیرش: ۹۵/۱۲/۲۳

چکیده

بره‌موم ترکیبی است که زنبور عسل با جمع‌آوری رزین درختان و اختلاط آن با موم تولید می‌کند. این ماده خمیری شکل به دلیل دارا بودن فنل و فلاونوئید یکی از قوی‌ترین مواد طبیعی با خاصیت ضد باکتریایی است، که زنبور عسل توسط آن از کندو در برابر مهاجمان محافظت می‌کند. هدف از این مطالعه، بررسی خاصیت ترکیبات شیمیایی و ضد باکتریایی رزین درخت صنوبر و بره‌موم (تولید شده توسط زنبور عسل) آن است. در این مطالعه، اثر عصاره‌های اتانولی و اتیل استاتی بره‌موم و رزین بر روی سه باکتری بیماری‌زای انسانی و دو باکتری بیماری‌زای گیاهی بررسی شده است. فعالیت ضد باکتریایی عصاره‌ها توسط روش چاهک سنجیده شد. ترکیبات عصاره به صورت کیفی بررسی شد. نتایج نشان داد که عصاره‌های اتانولی و اتیل استاتی بره‌موم و رزین دارای فعالیت ضد باکتریایی بر ضد باکتری‌های بیماری‌زای گیاهی و انسانی می‌باشند، هرچند عصاره رزین فعالیت ضد میکروبی بیشتری نسبت به عصاره بره‌موم نشان داد. اما از طرف دیگر باکتری‌های بیماری‌زای گیاهی حساسیت بیشتری نسبت به باکتری‌های بیماری‌زای انسانی در مقابل عصاره‌ها از خود نشان دادند. این اولین گزارش از خاصیت ضد باکتریایی بره‌موم و رزین صنوبر بر روی باکتری‌های بیماری‌زای گیاهی در ایران است.

واژه‌های کلیدی: آنالیز فیتوشیمیایی، باکتری‌های بیماری‌زا، بره‌موم، خاصیت آنتی‌باکتریال، رزین

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۸۳۱۹۱۵۶۵، پست الکترونیکی: Snblnazeri@yahoo.com

مقدمه

بره‌موم (Propolis)، یک نام عمومی برای مواد صمغی جمع‌آوری شده توسط زنبور عسل از جوانه منابع گیاهی متنوع است (۱۴). زنبور با اختلاط رزین (بالزام) جمع‌آوری شده با موم و هیدرولیز آن توسط آنزیم بتاگلوکوزیداز ترشح شده خود، بره‌موم را تولید می‌کند و از این ماده برای بستن سوراخ‌های شانه عسل، صاف کردن دیواره خارجی و حفاظت از دریچه پرواز در برابر مهاجمان استفاده می‌کند (۶). بره‌موم همچنین سرشار از ویتامین‌ها و اسیدهای آمینه می‌باشد (۱۴).

گیاهان فعالیت‌های بیولوژیکی متنوعی دارند و به همین دلیل عصاره بسیاری از آنها در درمان بیماری‌های مختلف

مورد استفاده قرار می‌گیرد. با توجه به تغذیه زنبور عسل از گیاهان، محصولات زنبور عسل (علاوه بر ویژگی غذایی آن) بصورت محصولات دارویی نیز مورد استفاده قرار می‌گیرند. در این میان، بره‌موم به‌عنوان یکی از مهمترین ترکیبات، بعلاوه خصوصیات ضد باکتریایی آن بسیار مورد توجه قرار گرفته است (۹، ۱۴ و ۶). مطالعات زیادی در مورد خواص و عملکردهای مختلف بره‌موم صنوبر انجام شده است. در طب سنتی نیز خواص درمانی بره‌موم، از دوران کهن شناخته شده است و امروزه این ماده در ترکیب با سایر گیاهان برای درمان بیماری‌های عفونی مانند گلودرد مورد استفاده قرار می‌گیرد. ترکیبات شیمیایی مسئول فعالیت‌های بیولوژیکی بره‌موم شامل فلاونوئید (فلاون‌ها،

با توجه به خسارت‌های بالای باکتری‌های بیماری‌زای گیاهی به محصولات کشاورزی، مبارزه توسط عوامل طبیعی ضروری بنظر می‌رسد. شانکر یا پژمردگی باکتریایی گوجه فرنگی بر اثر کلایوباکتر *Mycobacterium michiganensis* ایجاد می‌شود. بیماری بصورت بروز لکه‌هایی روی برگ، ساقه و میوه و پژمردگی برگ‌ها و شاخه‌های گوجه فرنگی ظاهر می‌شود. سرانجام تمامی گیاه پژمرده می‌شود و از بین می‌رود. این بیماری در بسیاری از مناطق دنیا موجب خسارت‌های قابل توجهی می‌شود. بیماری پژمردگی باکتریایی گیاهان تیره سولاناسه، بر اثر *Ralstonia solanacearum* سولاناسه آروم (*Ralstonia solanacearum*)، موجب خسارت‌های شدید در توتون، گوجه فرنگی، سیب زمینی و بادنجان می‌شود (۱).

هدف از این مطالعه، بررسی خاصیت ضد باکتریایی رزین و برهموم تولید شده توسط زنبور عسل و بررسی کیفی ترکیبات شیمیایی این مواد است. این تحقیق اولین گزارش از خاصیت ضد باکتریایی رزین بر روی باکتری‌های بیماری‌زای انسانی و گیاهی در دنیا و برهموم بر روی باکتری‌های بیماری‌زای گیاهی در ایران می‌باشد.

مواد و روشها

جمع‌آوری نمونه و عصاره‌گیری: برهموم، از کندوهای زنبورعسل و رزین، از جوانه‌های درخت صنوبر با شماره هرباریومی (۶۹/۵۵) *Populus deltoides* واقع در جنگل-های شهرستان رشت، استان گیلان جمع‌آوری گردید. عصاره‌گیری با استفاده از روش Fatoni و همکاران (۲۰۰۸)، با کمی تغییر انجام شد (۸). ۱۵ گرم برهموم در ۷۵ میلی‌لیتر حلال‌های آلی (اتانولی ۷۰ درصد و اتیل استاتی) حل شد و ظروف محتوی عصاره سه شبانه روز در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد تکان داده شدند. بعد از سانتریفیوژ، با شدت ۹۰۰۰ دور در دقیقه، جداسازی مایع روئی و بعد حلال بوسیله دستگاه بن‌ماری در دمای ۶۵

فلاونول‌ها، فلاونون‌ها و دی‌هیدروفلاونول‌ها) و دیگر فنل-هاست، به‌ویژه اثر این ترکیبات در خواص ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی آن در مطالعات مختلف به خوبی مستند شده است (۱۴ و ۴). در سال‌های اخیر خاصیت ضد باکتریایی قوی برهموم بر روی برخی باکتری، قارچ و ویروس انسانی نیز اثبات شده است (۲۰).

ترشحات جوانه صنوبر و رزین یکی از منابع اصلی زنبور-عسل برای جمع‌آوری برهموم صنوبر است. این ترکیب در درمان‌های خانگی مورد استفاده قرار گرفته و حضور ترکیباتی مانند فلاونوئیدها و اسیدهای فنلی وابسته در رزین به اثبات رسیده است (۱۴).

بیماری‌های عفونی از علل اصلی مرگ و میر در سراسر جهان، به‌ویژه در کشورهای توسعه نیافته و در حال توسعه می‌باشد. استفاده بیش از حد از آنتی‌بیوتیک‌ها و افزایش مقاومت به داروها در میکروارگانیسم‌ها، که بعلت توانایی ژنتیکی باکتری‌ها برای بدست آوردن مقاومت به ترکیبات دارویی و انتقال آن ایجاد شده است، به یک نگرانی جدی جهانی تبدیل شده است. این مسئله سبب شده که نیاز به جستجو برای منابع طبیعی جدید، ارزان، مؤثر و غیر سمی با خاصیت ضد باکتریایی، که امکان ایجاد مقاومت به آنها کمتر باشد، احساس گردد (۲۲ و ۲).

از طرف دیگر استفاده از مواد و ترکیبات طبیعی با منشأ میکروبی و گیاهی، از روش‌های نوین برای کنترل آفات و بیماری‌های گیاهی (در جهت تولید محصولات ارگانیک)، است. زیرا از یکسو برای تعدادی از عوامل بیماری‌زای خاک‌زاد و بذرزاد روش کنترل مؤثر و پایداری وجود ندارد و از سوی دیگر پیدایش پدیده‌های مقاومت به انواع سموم سنتتیک (به‌ویژه آنتی‌بیوتیک‌ها) و نیز مسمومیت‌های ناشی از مصرف سموم شیمیایی در جانوران، آبزیان و حشرات مفید و به‌ویژه اثرات سوء حاصل از باقی‌مانده‌های سموم، مشکلات عدیده‌ای را برای سلامت انسان و محیط زیست فراهم آورده‌اند (۱۰).

گرم مثبت استفاده شد، همچنین از آنتی‌بیوتیک جنتامایسین (۱۰ میکروگرم) و آموکسی‌سیلین (۲۵ میکروگرم) که هر دو گروه را بطور وسیعی کنترل می‌کند، استفاده گردید. سنجش خواص ضد باکتریایی برای تمام عصاره‌ها در سه تکرار انجام شد. اندازه قطر هاله‌های بازدارندگی رشد باکتری در اطراف چاهک بر حسب میلی‌متر اندازه‌گیری شد.

بررسی کیفی ترکیبات فیتوشیمیایی در عصاره‌ها شامل: آلکالوئیدها، استروئیدها و ترپن‌ها، فلاون و کینون‌ها، فلاونوئیدها، ترپنوئیدها و رزین بروش Jayalakshmi و همکاران (۲۰۱۱) و Chethana و همکاران (۲۰۱۳) انجام شد (۷ و ۱۱).

آلکالوئیدها: دو قطره لگول به یک میلی‌لیتر عصاره افزوده شد، تشکیل رسوب قهوه‌ای رنگ وجود آلکالوئیدها را اثبات می‌کند.

استروئیدها و ترپن‌ها: ابتدا دو میلی‌لیتر اسید استیک به دو میلی‌لیتر اسید سولفوریک غلیظ اضافه شد. سپس دو میلی‌لیتر کلروفرم به ترکیب فوق افزوده و یک میلی‌لیتر از مخلوط نهایی به عصاره اضافه گردید. بعد از گذشت یک دقیقه رنگ تولید شده بررسی گردید؛ رنگ صورتی در محلول، نشانه وجود ترپن‌ها و رنگ سبز تا آبی نشانه وجود استروئیدهاست.

فلاون‌ها و کینون‌ها: یک میلی‌لیتر اسید سولفوریک غلیظ به یک میلی‌لیتر عصاره اضافه شد. ظهور رنگ قرمز تیره نشان دهنده حضور فلاون و کینون در عصاره است.

فلاونوئیدها: با اضافه کردن دو میلی‌لیتر هیدروکسید سدیم (۲٪) به عصاره، تولید رنگ زرد تیره (که بعد از مدتی از بین می‌رود) نشان دهنده حضور ترکیبات فلاونوئیدی است.

ترپنوئیدها: یک میلی‌لیتر کلروفرم به یک میلی‌لیتر اسید سولفوریک اضافه گردید و بعد ۲۰۰ میکرولیتر از آن به

درجه سانتی‌گراد تخییرگردید. عصاره تغلیظ شده تا زمان استفاده در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. برای عصاره‌گیری رزین، ۱۵ گرم جوانه صنوبر (جمع‌آوری شده در فصل بهار، حاوی رزین و چسبناک) را در ۷۵ میلی‌لیتر اتانول ۷۰ درصد حل و پس از دو روز حلال جدا شد و بعد حلال اتیل استاتی به آن اضافه گردید و با روش بره-موم عصاره‌گیری انجام شد.

میکروارگانیزم‌ها: برای آزمون خاصیت ضد باکتریایی بره-موم، از میکروارگانیزم‌های بیماری‌زای انسانی (سویه‌های بیمارستانی) گرم مثبت *Staphylococcus aureus* PTCC (1189)، گرم منفی *Escherichia coli* PTCC (1399) و *Salmonella typhi* PTCC (1690) و گرم منفی *Ralstonia solanacearum* و گرم مثبت *Clavibacter michiganensis* (اهدا سخاوت‌مندانه توسط آقای دکتر خداکرمیان، آزمایشگاه باکتری‌شناسی دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا)، استفاده گردید.

تعیین فعالیت ضد باکتریایی بروش انتشار در آگار: بعد از تهیه عصاره‌های مختلف، ۲۵ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری (با کدورت نیم مک فارلند) روی پتری‌دیش‌های حاوی محیط کشت‌های مولر هینتون و نوترین آگار، به‌ترتیب برای کشت باکتری‌های بیماری‌زای انسانی و باکتری‌های بیماری‌زای گیاهی، منتقل و با سوآپ استریل بصورت یکنواخت بر روی محیط پخش شد. چاهک‌هایی به قطر پنج میلی‌متر ایجاد و ۲۵ میکرولیتر از هر یک از عصاره‌ها به داخل چاهک‌ها ریخته شد. برای جذب مناسب عصاره در محیط، پتری‌دیش‌ها ابتدا یک ساعت در دمای آزمایشگاه نگهداری و بعد باکتری‌های انسانی در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و باکتری‌های گیاهی در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردیدند. از حلال‌های اتانول و اتیل استات به‌عنوان کنترل منفی و از دیسک‌های آنتی‌بیوتیک کانامایسین (۳۰ میکروگرم) و وانکومایسین (۳۰ میکروگرم) به‌عنوان کنترل مثبت به‌ترتیب برای باکتری‌های گرم منفی و

عصاره‌ها بخوبی از رشد باکتری‌های بیماری‌زا جلوگیری نمودند، اما میزان این بازدارندگی در نمونه‌ها و حلال‌های مختلف متفاوت بود. هاله عدم رشد کنترل منفی (حلال) در کشت باکتری‌ها مشاهده نگردید.

با توجه به نتایج جدول تجزیه واریانس، اختلاف معنی‌داری بین میانگین بازدارندگی عصاره‌های مختلف در سطح ۰/۰۱ وجود دارد. بر اساس نتایج بدست آمده، فعالیت ضد باکتریایی عصاره اتیل استاتی رزین بالاتر از دیگر عصاره‌ها بود، عصاره‌های اتانولی رزین و اتیل استات بره‌موم اختلاف معنی‌داری با هم نداشته و عصاره اتانولی بره‌موم از دیگر عصاره‌ها بازدارندگی کمتری در برابر باکتری‌های بیماری‌زا از خود نشان داد. حروف یکسان از نظر آماری در سطح یک درصد اختلاف معنی‌داری با هم ندارند (شکل ۱).

عصاره اضافه شد. تشکیل رنگ خاکستری نشان از وجود تریپتوئیدها دارد.

رزین: دو میلی‌لیتر آب اسیدی (آب مقطر حاوی چند قطره اسید کلریدیک ۴٪) به یک میلی‌لیتر عصاره اضافه شد. بوجود آمدن کدورت نشان از حضور رزین در عصاره دارد.

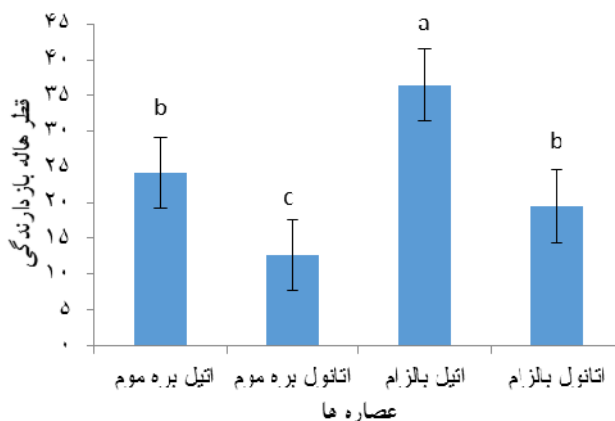
آنالیز آماری: تجزیه و تحلیل واریانس (ANOVA) با استفاده از طرح بلوک کامل تصادفی در نرم افزار SAS ۹/۲، مقایسه میانگین با آزمون دانکن در سطح احتمال ۱ درصد و خطای استاندارد آنها گزارش گردید.

نتایج

فعالیت ضد باکتریایی عصاره‌های اتانولی و اتیل استاتی بره‌موم و رزین بر ضد باکتری‌های بیماری‌زای گیاهی و انسانی در جدول ۱ نشان داده شده است.

جدول ۱- میانگین قطر هاله بازدارندگی (میلی‌متر) عصاره‌های مختلف و آنتی‌بیوتیک‌ها در کشت باکتری‌های بیماری‌زای انسانی و گیاهی. میانگین قطر هاله بازدارندگی (میلی‌متر)

باکتری	عصاره				آنتی‌بیوتیک			
	اتیل بره‌موم	اتانول بره‌موم	اتیل بالزام	اتانول بالزام	آموکسی‌سیلین	وانکومايسين	کانامایسین	جتنامایسین
رالستونیا سولاناسه آروم	۲۳/۵	۱۱	۴۸	۱۸/۳۳	۰	۱۵	۰	۰
کلایبیاکتر میشیگانسیز	۳۵	۱۹	۶۰	۲۶/۵	۳۰	۲۷	۱۰	۱۳
استافیلوکوکوس اروئوس	۱۴	۱۱	۲۴/۵	۱۹	۱۷	۱۵	۱۵	۲۲
اشرشیا کلای	۱۶/۵	۱۱	۳۰/۵	۱۹	۱۶	۱۶	۱۳	۲۳
سالمونلا تیفی	۱۴	۱۰	۲۰	۱۶	۱۲	۱۵	۱۶	۲۰



شکل ۱- میانگین بازدارندگی هر عصاره

عصاره اتیل استاتی رزین در برابر باکتری کلاویباکتر میشیگانسیز با ۶۰ میلی‌متر تشکیل شد.

نتایج آنالیز مقدماتی فیتوشیمیایی عصاره‌ها بصورت حضور و عدم حضور در جدول ۳ آمده است. نتایج نشان از حضور آلکالوئیدها، استروئیدها، ترپنوئیدها، فلاونوئیدها، فلاون‌ها، کینون‌ها، رزین‌ها و ترپن‌ها در عصاره‌های مختلف بره‌موم داشت و در عصاره رزین وجود ترکیبات آلکالوئیدها، فلاونوئیدها، فلاون‌ها، کینون‌ها، رزین‌ها و ترپن‌ها به اثبات رسید.

همچنین باکتری‌های بیماری‌زای گیاهی حساسیت بیشتری در مقایسه با باکتری‌های بیماری‌زای انسانی در مقابل عصاره‌ها از خود نشان دادند (شکل ۲). حروف مشابه نشان دهنده عدم اختلاف معنی‌دار و حروف غیر مشابه نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در بین نمونه‌ها می‌باشد.

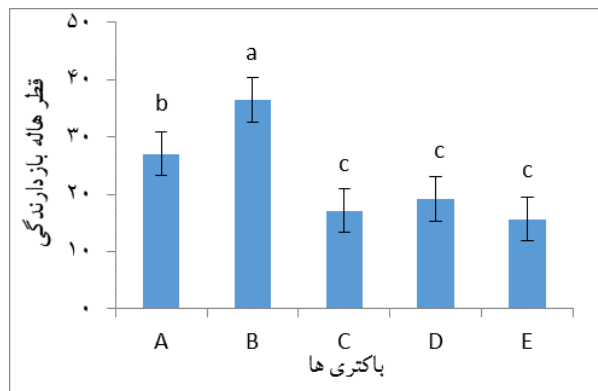
حساسیت باکتری‌های بیماری‌زای انسانی در برابر عصاره‌ها اختلاف معنی‌داری با هم نداشت. در مقابل، باکتری گیاهی کلاویباکتر میشیگانسیز بیشترین حساسیت را در برابر تمام عصاره‌ها نشان داد. بیشترین هاله مهارکنندگی توسط

جدول ۲- جدول تجزیه واریانس میانگین بازدارندگی عصاره‌های مختلف در سطح ۰/۰۱

منبع تغییرات	DF	Mean Square	F Value	Pr > F
عصاره	۳	۱۵۰۶/۳۵۵	۴۳/۶۳	<۰/۰۰۰۱
باکتری	۴	۹۰۲/۱۰۸	۲۶/۱۳	<۰/۰۰۰۱
خطای آزمایشی	۵۲	۳۴/۵۲۷		

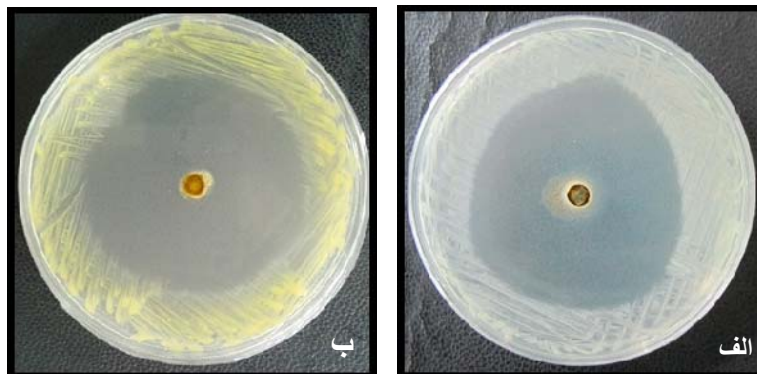
جدول ۳- ترکیبات فیتوشیمیایی موجود در عصاره‌های بره‌موم و بالزام

ترکیبات فیتوشیمیایی		بره‌موم		رزین
		اتانول	اتیل استات	اتانول
آلکالوئید		+	+	+
استروئید		-	+	-
ترپنوئید		-	-	-
فلاونوئید		+	+	+
فلاون		+	+	+
کینون		+	+	+
رزین		+	+	+
ترپن		-	+	+



شکل ۲- میانگین حساسیت هر باکتری در برابر عصاره

A: باکتری کلاویباکتر میشیگانسیز، B: رالستونیا سولاناسه آروم، C: استافیلوکوکوس اورئوس، D: اشرشیا کلی، E: سالمونلا تیفی.



شکل ۳- هاله عدم رشد باکتری (الف) *Clavibacter michiganensis* و (ب) *Ralstonia solanacearum* در برابر عصاره اتیل استات

رزین

بحث

این مطالعات نشان داد که این عصاره‌ها حاوی ترکیباتی مانند آلکالوئیدها، استروئیدها، ترپنوئیدها، فلاونوئیدها، فلاون‌ها، کینون‌ها، رزین‌ها و ترپن‌ها هستند. مطالعات دیگر نیز حضور این ترکیبات را در رزین (مانند فلاونوئیدها و اسیدهای فنلی وابسته) و بره موم (مانند پلی‌فنل‌ها، آگلیکون‌های فلاونوئید، فنولیک اسید و دیگر استرهای آن، آلدهیدهای فنلی و کتون‌ها، ترپن‌ها و استرول‌ها) را نشان داده است (۱۴ و ۴). تحقیقات انجام شده بر روی متابولیت‌های ثانویه، فعالیت ضد باکتری این ترکیبات را به اثبات رسانده است (۱۶). به همین دلیل، حضور ترکیباتی مانند فلاونوئیدها، استروئیدها، دی‌ترپن و ترپنوئیدها در عصاره بره‌موم و رزین صنوبر می‌تواند مسئول فعالیت ضد باکتریایی عصاره‌ها باشند.

مطالعات Serra و Escola (۱۹۹۵) فعالیت فراکسیون‌های مختلف بره‌موم برزیلی در برابر *استافیلوکوکوس اورئوس* نشان داد که فعالیت ضد باکتریایی، عمدتاً بدلیل ترکیبات فنلی قطبی موجود در بره‌موم است. همچنین فعالیت ضد میکروبی ترکیبات فنولی ۱۲ نمونه بره‌موم، نشان داد که بین ترکیبات فلاونوئیدی و فعالیت باکتریوستاتیک بره‌موم رابطه مستقیم برقرار است (۲۱). بررسی‌های دیگر نشان داد که خواص ضد باکتریایی بره‌موم بطور عمده مربوط به فلاونوئیدها، پینوسمبرین، گلانگین و پینوبانکسین آن می‌باشد (۶). بنظر می‌رسد ترکیبات مؤثر موجود در بره‌موم

امروزه استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها و سموم شیمیایی بدلیل مقاومت‌های بوجود آمده و خسارت آنها به محیط زیست با مشکل روبرو می‌باشد. گیاهان و محصولات تهیه شده از آنها، به‌عنوان سرچشمه طبیعی ترکیبات ضد باکتری، می‌توانند یک روش مناسب برای مدیریت بیماری‌های گیاهی (بدلیل ماهیت سازگار با محیط زیست خود) و انسانی مورد توجه قرار بگیرند (۵).

مطالعات قبلی این گروه (نشوه و ناظری، ۱۳۹۳) نشان داد که بره‌موم ایرانی دارای ترکیباتی با خاصیت ضد باکتریایی است که می‌تواند از رشد برخی باکتری‌های بیماری‌زای انسانی (به‌ویژه باکتری گرم مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس*) ممانعت کند (۱۷). Kujumgiev و همکاران (۱۹۹۹) نشان دادند که همه نمونه‌های بره‌موم مورد استفاده در آزمایش‌های آنها، در برابر باکتری‌های گرم مثبت فعال بودند (۱۳). پژوهش‌های Castaldo و Capasso (۲۰۰۲) بر روی نمونه‌های بره‌موم نشان داد که این ماده بطور عمده بر ضد باکتری‌های گرم مثبت (*Staphylococcus spp.* و *Streptococcus spp.*) و باکتری‌های گرم منفی (*Escherichia coli*، *Klebsiella pneumoniae* و *Proteus vulgaris* و *Pseudomonas aeruginosa*) خاصیت آنتی‌باکتریایی دارد (۶). مطالعات Santose و همکاران (۲۰۰۲) نیز مؤید این نتایج است (۱۹).

باکتری‌های گیاهی *Ralstonia solanacearum* و *Clavibacter michiganensis* داشتند. عصاره بالزام و بره-موم بدلیل داشتن ترکیباتی مانند فنل و فلاونوئید دارای خاصیت ضد باکتریایی می‌باشند. تاکنون تحقیقات بسیاری بر روی ترکیبات بره‌موم و خواص ضد باکتریایی آن انجام شده است ولی گزارشی از خواص ضدباکتریایی رزین (ماده اولیه تولید کننده بره‌موم) ارائه نشده است. با توجه به اینکه رزین درخت صنوبر، یکی از مهمترین منابع برای تولید بره‌موم با خاصیت ضدباکتریایی است و اینکه در ایران فقط از چوب این درخت، بدلیل سریع‌الرشد بودن، استفاده می‌شود، این تحقیق پیشنهاد می‌دهد که این گیاه قابلیت‌های بیشتری برای استفاده، به‌ویژه در کشاورزی و پزشکی دارد.

سپاسگزاری

از همکاری آقای مهندس رفعت‌اله قاسمی (عضو هیئت علمی مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور) برای شناسایی گونه صنوبر، همچنین آقای مهندس حامد حسین-زاده که در تهیه نمونه‌ها با این گروه همکاری کردند، صمیمانه سپاسگزاری می‌گردد. این مقاله برگرفته از پایان نامه کارشناسی ارشد با عنوان "بررسی خواص ضد باکتریایی و ترکیبات مؤثره عصاره بره‌موم، رزین و اندوفیت‌های درخت صنوبر بر رشد باکتری‌های بیماری‌زا و شناسایی اندوفیت‌های جدا شده" بوده و با حمایت مالی دانشگاه بوعلی سینا انجام شده است.

بر روی غشای سیتوپلاسمی باکتری اثر گذاشته و باعث مهار فعالیت آنزیمی و تحرک باکتریایی می‌شود (۱۵).

با توجه به نتایج جدول تجزیه واریانس، اختلاف معنی-داری بین میانگین بازدارندگی عصاره‌های مختلف در سطح ۰/۰۱ وجود دارد، که نشان دهنده مؤثر بودن نوع حلال و عصاره، در برابر باکتری‌های بیماری‌زا می‌باشد. در این تحقیق مشخص شد که حلال اتیل استات خاصیت ضد باکتریایی بیشتری نسبت به اتانول داشت، این نتایج نشان می‌دهد که هر دو عصاره می‌توانند ترکیبات ضد باکتریایی را از بافت جدا کنند، اما عصاره اتیل استاتی توانایی بیشتری در استخراج این ترکیبات از دو نمونه بره‌موم و بالزام صنوبر داشت. در تحقیقی که توسط Paviani و همکاران (۲۰۱۱) بر روی تکنیک‌های عصاره‌گیری انجام گردید، مشخص شد که حلال‌های مختلف نتایج متفاوتی در استخراج ترکیبات مؤثره بره‌موم دارند (۱۸). در تحقیقات این گروه هر دو عصاره اتیل استات و اتانول به‌عنوان حلال برتر شناخته شدند.

نتیجه‌گیری نهایی

نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که عصاره‌های اتانولی و اتیل استاتی بره‌موم و رزین، دارای فعالیت ضد باکتریایی بر ضد باکتری‌های بیماری‌زای گیاهی و انسانی می‌باشند. عصاره رزین فعالیت ضد میکروبی بیشتری نسبت به عصاره بره‌موم نشان داد. هر چند عصاره بره‌موم و بالزام از رشد تمامی میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا جلوگیری بعمل آورد، اما این عصاره‌ها اثر مهارکنندگی بیشتری در برابر

منابع

1. Agrios, G. N., 2004. *Plant pathology*. Elsevier Academic Press.
2. Aksoy, D. Y. and Unal, S., 2008. New antimicrobial agents for the treatment of Gram-positive bacterial infections. *Clinical Microbiology and Infection*, 14(5): 411-420.
3. Bankova, V., Christov, R., Kujumgiev, A., Marcucci, M. C. and Popov, S., 1995. Chemical composition and antibacterial activity of Brazilian propolis. *Zeitschrift fur Naturforschung c*, 50(3-4): 167-172.
4. Bankova, V. S., de Castro, S. L. and Marcucci, M. C., 2000. Propolis: recent advances in chemistry and plant origin. *Apidologie*, 31(1): 3-16.
5. Bolkan, H. A., and Reinert, W. R., 1994. Developing and implementing IPM strategies to

- assist farmers: an industry approach. *Plant Disease*, 78: 545–550.
6. Castaldo, S. and Capasso, F., 2002. "Propolis, an old remedy used in modern medicine. *Fitoterapia* 73: S1-S6.
 7. Chethana, G. S., Hari Venkatesh, K. R., Gopinath, S. M., 2013. Preliminary phytochemical analysis of *Clerodendrum inerme*. *International Research Journal of Pharmacy*, 4(5): 208-209.
 8. Fatoni, A., Artika, I. M., Hasan, A. E. Z. and Kuswandi, K., 2008. Antibacterial Activity of Propolis Produced by *Trigona* spp. Against *Campylobacter* spp. *HAYATI Journal of Biosciences*, 15(4): 161.
 9. Greenaway, W., English, S., May, J. and Whatley, F. R., 1992. Analysis of phenolics of bud exudates of *Populus koreana*, *Populus maximowiczii* and *Populus suaveolens* by GC-MS. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 47 (3-4): 313-317.
 10. Hassanzadeh, N., 2005. Technology using natural herbal ingredients with an emphasis on the management of fire blight. *Agricultural Science*, 11(1): 53-68
 11. Jayalakshmi, B., Raveesha, K. A., and Amruthesh, K. N., 2011. Phytochemical investigations and antibacterial activity of some medicinal plants against pathogenic bacteria. *Pharmaceutical Science* 1 (5): 124-128
 12. Krol, W., Scheller, S., Shani, J., Pietsz, G. and Czuba, Z., 1993. Synergistic effect of ethanolic extract of propolis and antibiotics on the growth of *Staphylococcus aureus*. *Arzneimittelforschung* 43(5): 607–609.
 13. Kujumgiev, A., Tsvetkova, I., Serkedjieva, Yu., Bankova, V., Christov, R., and Popov, S., 1999. Antibacterial, antifungal and antiviral activity of propolis of different geographic origin. *Journal of Ethnopharmacology*, 64(3): 235–240.
 14. Marcucci, M. C., 1995. Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity. *Apidologie*, 26(2): 83-99.
 15. Mirzoeva, O. K., Grishanin, R. N. and Colder, P. C., 1997. Antimicrobial action of propolis and some of its components: the effect on growth, membrane potential and motility of bacteria. *Microbiol Res*, 152(3): 239–246.
 16. Mujeeb, F., Bajpai, P. and Pathak, N., 2014. Phytochemical evaluation, antimicrobial activity, and determination of bioactive components from leaves of *Aegle marmelos*. *BioMed research international*, 1-12.
 17. Nashveh, M., Nazeri, S., 2013. Antibacterial activity of ethanol extract of propolis against human pathogenic bacteria, First National Congress of Biology and Natural Sciences Iran.
 18. Paviani, L., Sacoda, P., Saito, E. and Cabral, F., 2011. Extraction techniques of red and green propolis: extraction yield of phenolic compounds.
 19. Santos, F. A., Bastos, E. M., Uzeda, M., Carvalho, M. A., Farias, L. M., Moreira, E. S. and Braga, F. C., 2002. Antibacterial activity of Brazilian propolis and fractions against oral anaerobic bacteria. *J Ethnopharmacol*, 80(1): 1–7.
 20. Sforcin, J. M., 2007. Propolis and the immune system: a review. *Journal of Ethnopharmacology*, 113(1):1-14.
 21. Serra, J. and Escola, R., 1995. A study on the bacteriostatic activity of propolis. *Deutsche Lebensmittel-Rundschau*, 91(8): 242–246.
 22. Vashist, H. and Jindal, A., 2012. Antimicrobial Activities of Medicinal Plants. *International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences*, 3(1):222-230.

Antibacterial activity of balsam and propolis from *Populus deltoides*

Nashveh M.¹, Nazeri S.¹ and Zafari D.M.²

¹ Biotechnology Dept., Bu-Ali Sina University, Hamedan, I.R. of Iran

² Plant Pathology Dept., Bu-Ali Sina University, Hamedan, I.R. of Iran

Abstract

Propolis is a compound, produced by bees after collection of plant resin and mixing with beeswax. This rubbery material, due to its phenol and flavonoid, is one of the strongest natural materials with antibacterial properties which is used by bees to protect against external invaders. The aim of this study is to investigate chemical analysis and antibacterial activity of poplar resin and propolis (produced by bees) extracts. In this study, the effect of ethanol and ethyl acetate extract of propolis and resin on three human pathogenic bacteria and two plant pathogenic bacteria have been investigated. Antibacterial activity of extracts was estimated by the well diffusion method. The extract compounds were qualitatively investigated. Results showed that, ethanol and ethyl acetate extracts of propolis and resin have antibacterial activity against plant and human pathogenic bacteria, however, antimicrobial effect of resin extract was higher than propolis extract. On the other sides, Plant pathogenic bacteria showed more sensitivity than human pathogenic bacteria to extracts. This is the first report of antibacterial effect of resin and propolis extract of poplar on plant pathogenic bacteria in Iran.

Key words: Phytochemical analysis, Pathogenic bacteria, Propolis, Antibacterial activity, Balsam