

## شناسایی مواد موثره اسانس و بررسی اثر ضدباکتریال اسانس و عصاره گیاه *Salvia multicaulis* Vahl علیه باکتری *Xanthomonas translucens* pv. *Cerealis*

\*امیر عزیزی<sup>۱</sup>، عبدالمجید عزیزی<sup>۲</sup> و غلامرضا عزیزی<sup>۳</sup>

۱. مدیر گروه کشاورزی و صنایع شیمیایی آموزشکده فنی و حرفه ای سما اراک و عضو باشگاه پژوهشگران جوان دانشگاه آزاد اسلامی
۲. کارشناس ارشد موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، استان مرکزی
۳. کارشناس مبارزه بیولوژیک سازمان حفظ نباتات استان مرکزی

### چکیده

گیاه *Salvia multicaulis* Vahl از گونه‌های مهم دارویی است که خواص درمانی آن از گذشته مورد توجه مردم جنوب شرق آسیا و منطقه مدیترانه بوده، به همین خاطر اثر ضد باکتریایی اسانس و عصاره الکلی برگ گیاه بر رشد باکتری *Xanthomonas translucens* pv. *Cerealis* با استفاده از روش‌های دیسک دیفیوژن، چاهک و تعیین MIC مورد مطالعه قرار گرفت. گونه مورد مطالعه در اواخر خرداد ماه از کوه‌های اطراف اراک در مرحله گلدهی جمع‌آوری و اسانس‌گیری به روش تقطیر با بخار آب (طرح کلونجر) انجام شد. عصاره اتانلی گیاه توسط سوکسله و ترکیب‌های موجود در اسانس با استفاده از دستگاه‌های GC-MS و GC شناسایی شدند. ۲۳ ترکیب از مجموع ۹۸/۲۳ درصد وزنی اسانس استخراج شده قابل شناسایی بود. ۸۰۱- سینئول با ۲۴/۷۸ درصد و کامفور با ۱۷/۹۵ درصد بیشترین ترکیبات اسانس بودند. در این بررسی محلول‌های مادر استاندارد به ترتیب از حل کردن ۰/۵ میلی لیتر و ۰/۵ گرم اسانس و عصاره برگ گیاه سالویا مولتی کولیس هرکدام در ۲۵ میلی لیتر آب تهیه شد. با توجه به رقت‌های مختلف استفاده شده در آزمایش مقادیر حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشند (MBC) تعیین گردید. تاثیر عصاره گیاه علیه باکتری *Xanthomonas translucens* pv. *Cerealis* در غلظت‌های بکار رفته منجر به ایجاد هاله‌های عدم رشد با قطر میانگین ۱۲/۵ میلی‌متر در روش‌های دیسک و چاهک مشاهده گردید. رقت‌های ۲۰ و ۶۰ درصد تهیه شده از اسانس و رقت‌های ۲۰ و ۸۰ درصدی از عصاره گیاه علیه باکتری مورد مطالعه به ترتیب غلظت‌هایی بودند که باعث MIC و MBC شدند. قطر هاله‌های عدم رشد با افزایش غلظت محلول‌های تهیه شده از عصاره و اسانس گونه بررسی شده کاهش معنی‌داری نشان می‌دادند.

**کلمات کلیدی:** باکتری *Xanthomonas translucens* pv. *Cerealis*، ترکیبات اسانس، عصاره الکلی، *Salvia multicaulis*

استان مرکزی

### مقدمه

می‌باشند. وجود ترکیبات شیمیایی مختلف در اسانس‌ها باعث گردیده که گیاهان معطر در درمان بیماری‌های گوناگون مورد استفاده واقع شوند.

گیاهان دارویی و معطر به واسطه داشتن ترکیب‌های موثره دارویی از دیر باز در درمان بیماری‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند. اسانس‌ها دارای اثرات بیولوژیکی فراوان

جنس *Salvia* حاکی از این است که اکثر اسانس‌های گیاهان مذکور روی سودوموناس آئروژینوزا اثر قابل ملاحظه‌ای ندارند. در عین حال اثر اسانس مریم گلی ایرانی علیه کلبسیلاپنومونیه و سودومونس آئروژینوزا بر خلاف سایر گونه‌ها قابل ملاحظه است، هرچند که اثری علیه استافیلوکوک اپیدرمیدیس ندارد (مصحفی و همکاران، ۱۳۸۳).

در سال‌های اخیر همچنین گزارش شده است که اسانس مریم گلی به خصوص برخی ترکیب‌های موجود در آن از جمله ۸و۱- سینثول، توجن و کامفور دارای خاصیت ضد میکروبی و ضدسرطان است (Piccaglia و همکاران، ۱۹۹۷؛ کاراتا و همکاران، ۱۹۹۶). جنس *Salvia* دارای ترکیب‌های بیولوژیکی فعالی هستند ترکیب‌های جدا شده از ریشه‌های گیاه *S. multiorrhiza* موجب مهار آدنیلات سیکلاز می‌شود که تنظیم کننده مهم هورمونی فرستنده عصبی می‌باشد (کودا و همکاران، ۱۹۹۰). تجزیه و شناسایی اسانس سرشاخه گیاه *S. officinalis* L. نشان می‌دهد که عمده ترین ترکیب‌های اسانس عبارتند از کامفن، آلفا- پینن، آلفا - توجن، بتا- پینن و آلفا- هومولن می‌باشد (آبروش و همکاران، ۱۳۸۳).

سیوروپولو و همکاران (۱۹۹۷) دریافته‌اند که اسانس گیاه *S. fruticosa* تجزیه شده به وسیله GC/MS نشان می‌دهد که میزان ۸و۱- سینثول، توجن و کامفور در تمام ترکیب‌های اسانسی بیشترین مقدار را داشته و ترکیب‌های ۸و۱- سینثول و توجن درمقابل باکتری *E. coli* به روش دیسک فعالیت ضد باکتری دارند. توپا و همکاران (۲۰۰۳) فعالیت ضداسانس و عصاره‌های دو گونه *S. cryptantha* و *S. multicalis Vahl* را به روش دیسک و چاهک‌گذاری علیه باکتری باسیلوس سرئوس، اثرشیاکلی آزمایش کردند و مشاهده نمودند که اسانس و عصاره متانولی این دو گونه اثر ضدباکتریایی مثبتی از خود نشان دادند. وجود ترکیب‌هایی مانند آلفا - پینن، بورنثول، ۸و۱- سینثول و کامفور در این دو گونه و همچنین گونه *S. officinalis* L.

گزارشات متعددی درباره خواص ضد میکروبی و ضدقارچی اسانس‌ها منتشر شده است. ترکیباتی مانند سینثول، کامفور، آلفا- پینن، بتا- پینن، سابینن و آلفا- ترپینثول در اسانس اندام‌های هوایی گیاهان وجود دارد که دارای اثر ضد میکروبی و ضد قارچی در این گیاهان است (سلطانی پور، ۱۳۸۱). گیاهان تیره نعناع و به خصوص جنس *Salvia* (مریم گلی) به سبب وجود ترکیبات ترپنوئیدی گوناگون، اسانس، ترکیبات فنلی و فلاونوئیدها از لحاظ اثرات ضد میکروبی بسیار مورد توجه می‌باشد. برای مثال غربالگری ضد میکروبی، عصاره گیاه *S. palaestina* ضد میکروبی بالایی علیه استافیلوکوک آرتوس، استافیلوکوک اپیدرمیدیس و اثرشیا کلی نشان دادند (میسکی و همکاران، ۲۰۰۰).

اسانس گیاه *S. ringens* که درصد بالای از ۸و۱- سینثول و آلفا- پینن دارد، علیه ۶ سوش میکروبی معمول و ۳ سوش قارچ بیماری زا اثرات ضد میکروبی قابل توجهی نشان داده است (تزاکو و همکاران، ۲۰۰۱). اسانس *S. tomentosa* با دارا بودن درصد بالایی از ۸و۱- سینثول (۱۷ درصد)، علیه باکتری‌های معمول گرم مثبت و گرم منفی غیر از سودوموناس آئروژینوزا، اثرات مهار رشد قابل ملاحظه ای ظاهر ساخته است (هازنداروغلو و همکاران، ۲۰۰۱). ترکیبات مختلف موجود در عصاره استونی گونه *S. sclarea* شامل اسانس و دی ترپن، علیخ استافیلوکوک طلایی، کاندیدا آلبیکنس و پروتئوس میرابلیس، اثر ضد میکروبی داشته است (آلبولن و همکاران، ۱۹۹۴).

اسانس *S. desoleana* و *S. sclarea* به ترتیب دارای بالاترین درصد منوترپن‌های استری و منوترپن‌های الکلی می‌باشند که در حیوانات آزمایشگاهی اثر ضد میکروبی بهتری علیه عفونت‌های ناشی از استافیلوکوک طلایی، اپیدرمیدیس و کاندیدا نشان داده‌اند (پنا و همکاران، ۱۹۹۹). نتایج بررسی اثر ضد میکروبی دو گیاه *S. atropatana* و *S. mirzayanii* در مقایسه با سایر گیاهان

در خصوص خاصیت ضد میکروبی و ضدباکتریایی اسانس گیاهان دارویی تاکنون تحقیقات متعددی صورت گرفته و شواهد زیادی وجود دارد که اسانس‌ها خاصیت ضد میکروبی قوی دارند که ضرورت بهره‌مندی از این گیاهان در درمان بیماری‌ها مستلزم بررسی‌های بیشتر در مورد گونه‌های مختلف باکتری‌ها و قارچ‌ها می‌باشد (محمدی، ۱۳۷۸). در این تحقیق هدف بررسی اثر اسانس سالویا مولتی کولیس یکی از جنس‌های لابیاته با توجه به اجزای سازنده اسانس و عصاره الکلی گیاه علیه باکتری *Xanthomonas translucens* pv. *Cerealis* مد نظر بوده است که با توجه به بررسی‌های انجام شده مطالعه‌ای با این عنوان در ایران گزارش نگردیده است.

#### مواد و روش‌ها

##### الف: نمونه برداری

نمونه برداری از گیاه از یکی از رویشگاه‌های طبیعی در ۱۵۰ کیلومتری جنوب شهرستان اراک در مرحله گلدهی انجام گرفت. این منطقه دارای اقلیم معتدله بوده و از نظر زمین‌شناسی دارای خاک‌های آهکی می‌باشد. نمونه برداری در اواخر خرداد ماه و در گرمترین ساعت روز صورت گرفت. پس از تمیز کردن برگ‌ها، گیاه در طی چندین روز در سایه پهن شد تا کاملاً خشک و پس از آسیاب کردن برگ‌های خشک شده اسانس‌گیری و تهیه عصاره باروش تقطیر با بخار آب انجام گرفت.

##### ب: اسانس‌گیری و تهیه عصاره

اسانس‌گیری از برگ گیاه با کلونجر به روش تقطیر با بخار آب به مدت ۳ ساعت انجام شد. و برای تهیه عصاره از روش سوکسوله و استخراج توسط حلال متانول ۶۰ درصد انجام گرفت و در نهایت حلال توسط دستگاه روتاری جدا، عصاره خشک تهیه و بازده اسانس تعیین گردید. اسانس بدست آمده پس از آب‌گیری با سولفات سدیم، توسط دستگاه GC/MS تجزیه شد و با استفاده از محاسبه ضرایب بازدارندگی هر یک از اجزای تفکیک شده، طیف جرمی و مقایسه با استاندارد، ترکیبات تشکیل دهنده

نشان می‌دهد که اثر ضدباکتریایی را می‌توان به این ترکیب‌ها نسبت داد. گونه سالویا مولتی کولیس متعلق به تیره Lamiaceae می‌باشد که از پراکندگی فراوانی در سراسر جهان و به طور خاص در منطقه مدیترانه برخوردار است و از جمله رویشگاه‌های طبیعی این گونه کشور ایران می‌باشد. گیاهان این تیره معمولاً یک ساله، پایا، ایستاده اند، ساقه‌ها عموماً چهارگوش و برگ‌ها متقابل و دارای پهنکی ضخیم و چوبی، پوشیده از کرک‌های بسیارند. گل‌ها به صورت منفرد، ارغوانی و در کنار برگ‌ها یافت می‌شوند (قهرمان، ۱۳۷۳). از روغن اسانسی این گیاهان در موارد گوناگون استفاده می‌شود. در طب سنتی ایران در درمان بیماری‌ها به عنوان داروهای ضد باکتریایی و ضد عفونی کننده، همچنین در برخی موارد به عنوان طعم دهنده و ادویه در غذاها مورد استفاده قرار می‌گیرد (زرگری، ۳۶۹).

##### باکتری *Xanthomonas translucens* pv

پاتوژن‌های مهم گیاهی در سراسر دنیا شناخته شده است که دست کم علیه ۱۲۴ گونه از گیاهان تک لپه‌ای متعلق به ۱۱ تیره، ۷۰ جنس و ۲۶۸ گونه از گیاهان دو لپه‌ای متعلق به ۵۷ تیره و ۱۷۰ جنس به عنوان عامل بیماری‌زایی شناسایی و جداسازی شده‌اند، در صورتی که هیچ رابطه بیماری‌زایی بین آنها و آنزیوسپرم دیده نشده است. برخی از زانتاموناس‌ها دارای دامنه میزبانی بسیار گسترده و برخی دارای دامنه محدود هستند. این باکتری عامل بیماری‌های مختلف از جمله لکه برگی، نکروز و بیماری‌های آوندی هستند. توصیفی که قبلاً برای این جنس در منابع آمده است داشتن رنگدانه زرد می‌باشد. یکی از مهمترین گونه‌های زانتاموناس *Xanthomonas translucens* pv می‌باشد که بسته به دامنه میزبانی پاتودارهای مختلف را در نظر گرفته‌اند، ولی همگی روی انواع غلات و گرامینه فعالند. این باکتری گرم منفی، هوازاد، میله‌ای با یک تازک قطبی و تولید کننده‌های ضعیف اسید از قند عمدتاً متحرکند (خانجانی، ۱۳۸۴).

میکرو پیپت پاستور مقدار ۱۲ میکرو لیتر محلول اسانس روی دیسکها ریخته شد. پلیتها به انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتیگراد منتقل و پس از سپری شدن زمان لازم (۱۵ ساعت) قطر هاله عدم رشد با کولیس اندازه گیری گردید (وندن و همکاران، ۱۹۹۱).

#### ب: روش چاهک

درون ظرفهای شیشه ای مخصوص که حاوی باکتری و محیط کشت بود به وسیله پیپت استریل چاله هایی به قطر ۲/۵ میلی متر ایجاد کرده و یک قطره از محلولهای تهیه شده از برگ گیاه سالویا مولتی کولیس به آن اضافه گردید. پس از ۱۵ ساعت انکوبه شدن در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد قطر هاله عدم رشد با کولیس اندازه گیری گردید.

به منظور افزایش دقت و حساسیت، هر آزمایش سه بار تکرار و میانگین قطر هاله های عدم رشد بعد از سه بار تکرار ثبت شد.

#### روش تعیین MIC

برای این منظور از روش رقتهای متوالی استفاده شد. بدین ترتیب که رقت های ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰ درصد از محلولهای اسانس و عصاره تهیه گردید. تیمار شاهد در این بررسی محلول حلال خالص که برای هموزن کردن اسانس استفاده شده بود (نوعی صمغ) و تیمار ۱۰۰ درصد یعنی محلول های استاندارد مادر تهیه شده به ترتیبی که قبلاً ذکر گردید در نظر گرفته شد (بیکی و همکاران، ۱۳۸۳). در طی آزمایش لوله هایی تهیه شد که در هر یک از آنها یک میلی لیتر از تیمار آزمایشی، ۲ میلی لیتر محیط کشت میکروبی و ۲ میلی لیتر باکتری اضافه گردید. لوله ها به انکوباتور منتقل شده و ۱۵ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد قرار داده شد. سپس محتویات لوله های آزمایشی روی پلیت های حاوی نوترونیت آگار به طور یکنواخت پخش گردید و پلیتها دوباره به انکوباتور انتقال یافت و پس از سپری شدن مدت انکوباسیون، حداقل غلظتی که توانسته بود از رشد باکتری جلوگیری کند به عنوان MIC

اسانس شناسایی شد (Adams, 2004). به دلیل غیر قابل حل بودن اسانس در اب از یک ماده بی اثر در سنجش های زیستی استفاده شد (نوعی صمغ) و پس از هموزن ۰٫۵ میلی لیتر از اسانس توسط حلال مناسب محلول توسط آب مقطر به حجم ۲۵ میلی لیتر رسانده شد. محلول تهیه شده بدین ترتیب به عنوان محلول استاندارد مادر و غلظت آن ۱۰۰ درصد در نظر گرفته شد. همچنین برای تهیه محلول مادر استاندارد از عصاره تهیه شده از گیاه مقدار ۰٫۵ گرم از عصاره خشک در حجم ۲۵ میلی لیتر آب حل گردید. سپس بر اساس این محلول ها رقت های ۲۰، ۴۰، ۶۰ و ۸۰ درصد نسبت به اسانس و عصاره از این محلول ها تهیه گردید (سلطانی پور و همکاران، ۱۳۸۳).

#### مشخصات دستگاه های مورد استفاده

دستگاه کروماتوگرافی گازی از نوع Hp مدل ۶۸۹۰ با ستونی به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلیمتر و ضخامت لایه ۰/۲۵ میکرومتر. تزریق بصورت شکافته با نسبت ۱:۲۰. دمای ابتدایی آون ۶۰ درجه سانتی گراد سرعت تغییر ۶ درجه در هر دقیقه، افزایش دما تا ۲۵۰ درجه سانتی گراد، از گاز هلیوم با سرعت جریان ۱ میلی لیتر در دقیقه به عنوان گاز حامل استفاده شد. برای تفکیک طیف های جرمی از طیف بین جرمی مدل HP ۵۹۷۳ با ولتاژ یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت و منبع یونیزاسیون ۲۴۰ درجه استفاده شد.

#### بررسی اثرات ضد باکتریال اسانس و عصاره سالویا

مولتی کولیس علیه باکتری زانتاموناس ترانسلوسنس

#### الف: روش دیسک گذاری

در این روش از دیسک های کاغذی سفید رنگ استفاده شد. دیسک گذاری در شرایط کاملاً استریل انجام گرفت. فاصله دیسک ها از دیوارهای پلیت حداقل ۱۰ میلی متر و از یکدیگر ۳۰ میلی متر تعیین شد. دیسکهای تهیه شده را توسط پنس استریل روی سطح پلیت آلوده به باکتری قرا داده و بعد از تماس کامل با محیط کشت با

شده به روش چاهک و دیسک کاغذی به ترتیب ۱۲ و ۱۳ میلی متر مشاهده گردید. نتایج جمع آوری شده بیانگر آن است که نتایج بررسی به روش دیسک و چاهک کاملاً نزدیک و تصدیق کننده همدیگر می باشند و عصاره الکلی قدرت و توانایی بیشتری در کنترل رشد و فعالیت باکتری مورد مطالعه در مقایسه به اسانس روغنی دارد (جدول ۳). محلول با رقت ۲۰ درصد تهیه شده از اسانس گیاه علیه باکتری مورد مطالعه به عنوان غلظتی تعیین شد که منجر به مهار رشد باکتری می شد (MIC) و محلول با غلظت ۶۰ درصد اسانس غلظتی بود که باعث مرگ باکتری ها شد (MBC) و در مورد محلول تهیه شده از عصاره برگ گیاه رقت های ۲۰ و ۸۰ درصد محلول تهیه شده غلظت هایی بودند که به ترتیب اثر MIC و MBC داشتند (جدول ۲).

#### بحث

در ارتباط با تیره نعنا می توان به بررسی اثر اسانس مریم گلی (*S. officinalis* L.) علیه رشد باکتری های *Escherichia coli* و *Staphylococcus aureus* که توسط رضایی (۱۳۷۹) صورت گرفته اشاره کرد که نتایج نشان دادند این اسانس از رشد باکتری های ذکر شده جلوگیری می کند و اسانس تا دو ماه پس از اسانس گیری نیز خاصیت ضد میکروبی خود را حفظ می کند. همچنین (مجد و همکاران، ۱۳۸۰) اشاره داشتند که عصاره آبی دو گونه مریم گلی *Salvia officinalis* و *Salvia scarea* اثر مهار رشد علیه باکتری *Staphylococcus aureus* دارند و عصاره های متانولی علیه باکتری *Proteus vulgaris* و *Aspergillus niger* و قارچ *Aeruginosa eudomonas* موثر بوده و باکتری های گرم مثبت نسبت به باکتری های گرم منفی حساسیت بیشتری نسبت به عصاره ها نشان داده اند. در مطالعه ای دیگر (توپا و همکاران، ۲۰۰۴) اثر ضدباکتریال اسانس و عصاره متانولی دو گیاه *Salvia multicaulis* و *Salvia cryptantha* بررسی شده که نتایج حکایت از اثر ضدباکتریایی زیاد اسانس در کلونی باکتری های *Staphylococcus aureus* و *Streptococcus*

در نظر گرفته شد و حداقل غلظتی که منجر به مرگ شده بود به عنوان غلظت MBC محسوب گردید (Mangera, 1999; Vanden, 1991).

#### نتایج

آنالیز و تجزیه شیمیایی اسانس گیاه *S. multicaulis* Vahl نشان می دهد بازده اسانس جمع آوری شده از منطقه خنداب شهرستان اراک، ۳/۴ درصد بود که شامل ۲۳ ترکیب می باشد و در مجموع ۹۸/۲۳ درصد از وزن اسانس را تشکیل می دهند. او ۸- سینئول (۲۴/۷۸ درصد) و کامفور (۱۷/۹۵ درصد) بیشترین ترکیب های اسانسی در برگ گیاه بودند. ترکیب های شاخص بالای ۴ درصد آلفا- پینن (۷/۴۶ درصد)، بتا- پینن (۴/۴۱ درصد)، آلفا- ترپینئول (۷/۱۴ درصد) و لینالول (۷/۹۸ درصد) می باشند. طبق نتایج این پژوهش فعالیت ضدباکتریایی اسانس گیاه *Salvia multicaulis* Vahl. علیه باکتری *Xanthomonas translucens* pv. *Cerealis* می تواند به کامفور، او ۸- سینئول، توچن و مشتقات بورنئول نسبت داده شود. یا اینکه اثر سینرژیک مجموعه یا بخشی از تشکیل دهنده های آن ممکن است موجب اثرات میکروبیولوژیکی آن گردد (جدول ۱). محلول صمغ خالص که به عنوان حلال به محیط کشت باکتری اضافه شده بود با روش های چاهک و دیسک کاغذی کاملاً بی تاثیر بود و هیچ اثری روی رشد باکتری برجای نگذاشت. نتایج نشان داد که محلول های استاندارد مادر برگ گیاه سالویا مولتی کولیس بر روی باکتری مورد مطالعه به روش چاهک و دیسک کاغذی باعث ایجاد MIC شد و نتایج تقریباً مشابه ای در هر دو روش مشاهده گردید و اختلاف معنی داری قابل تمیز دادن نبود. باکتری *Xanthomonas translucens* pv. *Cerealis* در روش چاهک هاله ای به قطر میانگین ۸ میلی متر و در روش دیسک کاغذی هاله ای به قطر متوسط ۹ میلی متر ایجاد شد زمانی که از محلول تهیه شده از اسانس استفاده گردید. و هنگامی که از نمونه محلول تهیه شده از عصاره برگ گیاه استفاده شد میزان قطر هاله ایجاد

میکروبی بالا می‌باشند (پتنایک و همکاران، ۱۹۹۷؛ تزاکو و همکاران، ۲۰۰۱). بر اساس یک گزارش آلفا - پینن (هیدروکربن منوترپن) و بورنتول (اکسژنات منوترپن) فعالیت کندی در مقابل میکرو ارگانسیم‌ها دارند (دورمن، ۲۰۰۰). اثرات ضد میکروبی مشتقات بورنتول همچنین در تحقیقات دیگر نیز گزارش شده است (تابانکا، ۲۰۰۱؛ کنولوچ، ۱۹۸۹). با توجه به اجزاء شناسایی شده برای اسانس *Salvia multicaulis* Vhal می‌توان خاصیت آنتی باکتریالی را برای ترکیب‌های مونوترپنی حدث و استنباط کرد.

#### نتیجه‌گیری نهایی

به طور کلی با توجه به نتایج تحقیقات متعدد انجام شده که نقش ضد میکروبی اسانس‌ها را تأیید می‌کند و همچنین این بررسی لازم است که تحقیقات بیشتری در مورد اسانس گیاهان با استفاده از میکروب‌ها و قارچ‌های متنوع انجام پذیرد تا منجر به استفاده از ترکیباتی نظیر اسانس‌های گیاهی که از نظر شیمیایی برای سلامت انسان خطرات کمتری دارد، به جای استفاده از سموم، حشره و میکروب‌کش‌های شیمیایی گردد. ضمن آنکه اثر ترکیب‌های موجود در اسانس جداگانه مورد بررسی قرار گیرد تا مشخص شود کدام ترکیب باعث جلوگیری و یا جلوگیری بیشتر از رشد قارچ‌ها و باکتری‌ها می‌شود.

*pneumoniae* موجود در فراورده‌های غذایی دارد. همچنین بررسی دیگری که توسط (تزاکو و همکاران، ۲۰۰۱) انجام گرفته به مطالعه اجزاء سازنده و خاصیت آنتی میکروبی اسانس گیاه *Salvia ringens* پرداخته است. مطالعات پژوهشگران درباره ترکیب‌هایی که در اسانس گیاهان وجود دارد نشان می‌دهد که این ترکیب‌ها به طور جداگانه فعالیت بیولوژیکی نسبتاً خوبی از خود بروز می‌دهند. وجود بورنتول در اسانس رزماری موجب جلوگیری از رشد قارچ و تولید آفلاتوکسین توسط *Aspergillus parasiticus* می‌شود. آلفا- ترپینتول اثر ضدباکتریایی شدیدی علیه *Staphylococcus aureus* و *Aeruginosa eudomonas* نشان می‌دهد (وندیوسفی، ۱۳۷۴). خواص ضد باکتریایی و ضد میکروبی *Salvia scalared* علیه باکتری استافیلوکوکوس اورئوس به اثبات رسیده است (کازما و همکاران، ۲۰۰۷).

ترکیبات جداسازی شده از گیاه *Salvia jaminana* قادر به مهار رشد باکتری باسیلوس، استافیلوکوکوس و استرپتوکوکوس می‌باشند (کابوچی و همکاران، ۲۰۰۵). مشاهده می‌شود که برخی ترکیبات اشاره شده در بخش مقدمه در اسانس گیاه سالویا مولتی کولیس وجود دارد. بنابراین اثر ضدباکتریایی این اسانس را می‌توان به وجود ترکیباتی نظیر کامفور، ۸و۱- سینتول، آلفا- پینن، بتا- پینن و آلفا- ترپینتول نسبت داد. ۸و۱- سینتول و کامفور ترکیبات شیمیایی معروفی هستند که دارای توان ضد

جدول ۱: ترکیبات شیمیایی متشکله روغن اسانس گیاه *Salvia multicauli Vahl*

NO	COMPONENT	PRECEANTATION	RI
1	santolina triene	0.27	910
2	$\alpha$ - thujene	0.35	927
3	$\alpha$ - pinen	8.46	934
4	camphene	1.75	945
5	sabinene	8.63	967
6	$\beta$ -pinene	4.41	970
7	2-dehydro-1,8 cineol	0.37	980
8	a-phellandrene	0.41	1002
9	1,8- cineole	24.78	1019
10	artemisia ketone	3.46	1038
11	terpinene	2.38	1045
12	$\beta$ -phellandrene	0.19	1059
13	trans sabinene hydrate	2.05	1074
14	linalool oxide (cis)	7.96	1076
15	linalool	2.66	1089
16	camphor	17.95	1108
17	pinocarvone	0.7	1118
18	terpine -4-ol	2.86	1129
19	a-terpineol	7.14	1141
20	bornyl acetate	0.74	1204
21	morolin	0.36	1440
22	methel jasmonat	0.05	1447
23	calamene	0.3	1475
Sum		98.23	

RI = Retention Indices

جدول ۲: حداقل غلظت مهار کنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) ورقتهای مختلف اسانس و عصاره سالویا مولتی

کولیس علیه باکتری *Xanthomonas translucens pv. Cerealis*

%۱۰۰	%۸۰	%۶۰	%۴۰	%۲۰	MBC/MIC	غلظت‌های محلول	
						نوع محلول	
-	-	-	+	+	MIC	اسانس	
+	+	+	-	-	MBC		
-	-	+	+	+	MIC	عصاره	
+	+	-	-	-	MBC		

علامت (+) بکار رفته در مورد MIC نشانه اثر کنترلی دز مصرفی بر رشد باکتری و علامت (-) نشانه ایجاد خاصیت کشندگی دز مورد استفاده می‌باشد و در ادامه توضیح جدول بالا علامت (-) در MBC نشانه بدون تاثیر بودن دز مصرفی در کشتن باکتری و علامت (+) یعنی غلظتی که منجر به مرگ باکتری می‌گردد.

جدول ۳: قطر هاله‌های عدم رشد در رقت‌های مختلف اسانس و عصاره سالویا مولتی کولیس

علیه باکتری *Xanthomonas translucens pv. Cerealis* بر حسب میلی‌متر

%۱۰۰	%۸۰	%۶۰	%۴۰	%۲۰	روش	غلظت‌های محلول	
						نوع محلول	
۵/۹ - ۱/۴۸	۶/۸ - ۰/۸۴	۸/۳ - ۰/۲۱	۹/۲۵ - ۰/۸۸	۱۰ - ۱/۴۱	چاهک	اسانس	
۵/۷ - ۱/۶۲	۶/۵ - ۱/۰۶	۸ - ۰/۰۰	۸/۹ - ۰/۶۳	۱۱/۲ - ۲/۲۶	دیسک		
۹/۶ - ۲/۰	۱۱/۹ - ۰/۴۲	۱۲/۲ - ۰/۲۱	۱۳/۷ - ۰/۸۴	۱۴/۹ - ۱/۶۹	چاهک	عصاره	
۱۰/۲ - ۱/۶۲	۱۱/۵ - ۰/۷۰	۱۱/۹ - ۰/۴۲	۱۴ - ۱/۰۶۲	۱۴/۷ - ۱/۵۵	دیسک		

محمدی، م. (۱۳۷۸). بررسی سمیت حاد و اثرات ضد

دردی و ضدالتهابی عصاره تام *Zhumeria majdae*

بر موش‌های سفید کوچک و بزرگ پایان نامه دکتری

داروسازی دانشگاه علوم پزشکی مشهد. ۱۵۰ صفحه.

مصحفی، م. (۱۳۸۳). بررسی اثرات ضد میکروبی

عصاره‌های مریم گلی ایرانی و مری مگلی آذربایجانی

برشش سوش میکروبی گرم مثبت و گرم منفی. مجله

دانشگاه علوم پزشکی کرمان، دوره یازدهم، صفحه

۱۰۹-۱۱۸.

وند یوسفی، ج. (۱۳۷۴). فعالیت بیولوژیکی گیاه

*Artemisia hausskenchtil* مجله پژوهش

وسازندگی، شماره، ۲۸، ص ۲۸-۳۰.

**Adams, RP. (2004).** Identification of essential oil componets by gas chromatography / Mass sepectroscopy. Al urred publishing corporation illioise.pp65-120.

**Carta, C. (1996).** Activity of the oil of *salvia officinalis*.against botrytis cinerea.J.of Essential oil research, No. 8, 399-404.

**Dorman. H.J.D., and Deans, S.G., (2000).** Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. Journal of Applied Microbiology 88, pp. 308-316.

**Eightpick Index of mass spectra. (1974).** 2<sup>nd</sup> ed, mass spectroscopy data center , Reading, uk.

**Haznedaroglu MZ, Karabay NU and Zeybek, U. (2001).** Antibacterial activity of *Salvia tomentosae* essential oil. Fitoterapia; 72(7): 829-831.

**Kuzmal, Rozalski, M, Walencka, E., Rozalska, B. (2007).** Antimicrobial of diterpenoedis from haivy roots of *Salvia sclareal*, *Salvia pisone* as a potential anti-biofilm agent active against anti-biotic resistant *Staphylocococci phytomedician*. 14(1):31-35.

**Kabouche, A, Butaghane, N, Kabouche, Z. (2005).** Components and antibacterial activity of the roots of *Salvia Jsmianana*. Fitoterapia. 76(5):450-452.

## منابع

آبروش، ز. (۱۳۸۳). اثر فعالیت ضدباکتریایی اسانس

*S.officinalis* L. فصلنامه پژوهشی تحقیقات گیاهان

دارویی و معطر جلد ۲۰. صفحه ۴۶۸-۴۵۷.

بیگی، ف. (۱۳۸۳). بررسی اثرات ضد باکتریایی اسانس

گیاه دارویی *Ecehincphora sibteorplana* و اجزاء

آن روی باکتری *Xanthomonas translucens pv.*

*Cerealis*. خلاصه مقالات شانزدهمین کنگره گیاه

پزشکی ایران-تبریز. صفحه ۵۱۶.

خانجانی، م. (۱۳۸۴). آفات گیاهان زراعی ایران.

انشارات دانشگاه بوعلی سینا همدان.

رضایی، م. (۱۳۷۹). ترکیب شیمیایی و فعالیت

ضدمیکروبی اسانس شوید و مریم گلی اولین همایش

بین المللی طب سنتب و مفردات پزشکی. ۵ صفحه.

زرگری، ع. (۱۳۶۹). گیاهان دارویی. انتشارات دانشگاه

تهران.

سلطانی پور، م. (۱۳۸۱). مقایسه ترکیب‌های اسانس

برگ گیاه مور خوش و بررسی پتانسیل آللوپاتیک و

خواص ضدمیکروبی اسانس استخراج شده. پایان

نامه دانشجویی کارشناسی ارشد دانشگاه شیراز. ۱۲۰

صفحه.

سلطانی پور، م.، رضایی، م. (۱۳۸۳) بررسی ضد

میکروبی اسانس گیاه مورخوش. فصلنامه تحقیقات

گیاهان دارویی و معطر. جلد ۲۰ شماره ۳ سال

۱۳۸۳. صفحه ۲۷۷-۲۸۹

قهرمان، ا. (۱۳۷۳). کور موفیت‌های ایران. مرکز نشر

دانشگاهی.

مجد، ا. (۱۳۸۰). بررسی ساختار تشریحی- تکوینی و

مطالعه سینتوز تئیکی دو گونه مریم گلی و برخی از

خواص ضد میکروبی آنها. مجموعه مقالات دهمین

کنفرانس سراسری زیست شناسی ایران.



- Sivropolulov, A., Skokini, Thlanaros and Arsenakas. M., (1995).** Antimicrobial activity of mint essential oil, j. Agric food chem. 43,2334-2388.
- Tepe, B., Donmez, E., Unlu, M. (2004).** Antimicrobial and anti oxidative activities of the essential oils and methanol extracts of *Salvia. cryptantha* and *Salvia. multiculis*. J.Food chemistry.No.84, 519-525.
- Tzako, O., Pitarokili, D., Harvala, C. (2001).** Composition and antimicrobial activity of essential oil of *Salvia ringens*. Planta medica. No. 67.81-83.
- Tepe, B, Daferera D, Sokmen, A, Polissial M. (2005).** Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and and varies extracts of *Salvia tumentosa* miller.Food chemistry. 90(3): 333-340.
- Ulubelen, A., Topcu, G., Eris, C. (1994).** Terpenoids from *Salvia sclarea*. Phytochemistry; 36(4): 971-974.
- Vanden, D., Vlietinck, A. (1991).** Methods in plant biochemistry: Screening medthods for antibacterial and aktiviral agents from higher plants.Academic press, London: 47-69.
- Knobloch, K., Pauli, A., Iberi, B., Wegand H., and Weis, N., (1989).** Antibacterial and antifungal properties of essential oil components. Journal of Essen. oil Res., 1, pp. 119-128.
- Message C.M. (1984).** Practical A specs of Gas. chromatography / mass spectrometry. wiley new york.
- Miski M, Ulubelen A, Johansson C and Mabry, TJ. (1983).** Antibacterial activity studies of flavonoidsfrom *Salvia palaestina*. *J Nat Prod*; 46(6):874-875.
- Mangena, T.O., Muyima, N. (1999).** Comparative evaluation of the antimicrobial activities of essential oils of *Artemisia afra*, *pteronia incana* and *Rosmarinus* on selected bacteria and yeast strains. *Lett Appl Microbiol*. 28(4):291-296.
- Piccaglha, R., Marithi, M., & Dellaceae ,V., (1997).** Effect of planting density & harvest date on yield & chemical composition of sage oil. *J.Essen. oil Res.*, No 9, 187-191.
- Peana AT, Moretti MD and Juliano C. (1999).** Chemical composition and antimicrobial actionof the essential oils of *Salvia desoleana* and *S.sclerea*. *Planta Med*; 65(8): 752-754.

## Essential oils composition and antimicrobial effects of essential oils and methanol extracts of *Salvia multicaulis Vahl* against *Xanthomonas translucens pv. Cerealis*

Azizi, A<sup>1</sup>., Azizi, A.M<sup>2</sup>., Azizi, G<sup>3</sup>.

1. Islamic Azad University branch (Sama), Arak and Member of young researchers club Islamic Azad University. Arak
2. Institute of standards & Industrial research of Markazi provinces, Arak.
3. Sc. student of Plant protection organization Markazi provinces.

### Abstract

*Salvia multicaulis Vahl.* is one of the important unique medicinal plants the it use has been known from past by native people. Ground parts of plant collected were submitted to water distillation for 3 h using a Clevenger-type apparatus and sample were extracted by using a scxhlet apparatus for about 6 h. Constituents of essential oils and methanolic extracts of *Salvia multicaulis Vahl* were collected from arak and analysed by GC & GC-Mass. Twenty-tree componets representing 98.2% of the oil, were identified. The main constituents of the oil and extracts were 1,8 cyneol (24.78%) and camphor (17.95%). Then the effects of different concentrations of essential oil and methanolic extracts prepared from leaves of *Xanthomonas translucens pv. Cerealis* were tested. In this investigation use of controller and different dilutions of essential and extracted of *Salvia multicaulis Vahl* were treatments. The disc diffusion method was employed for the determination of antimicrobial activites of essential oil and methanolic extracted. At concentration used inhibition zone was 12.5 mm indiameter wholl applyed extracted solution for well and disc method. But inhibition zone was 8 mm indiameter at each two method. The essential oil (60 percent) and the dilutions of methanolic extracts (80 percent) on *Xanthomonas translucens pv. Cerealis* had MBC efficacy. The dilutions of essential oil 20 percent also the dilutions of methanolic extracts 20 percent on *Xanthomonas translucens pv. Cerealis* had MIC efficacy.

**Key Words:** Essential oils, Methanol extracts, *Salvia Multicalis Vahl.* Anti microbial effect, medicinal plant, Markazi Provinces