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

***امیر عزیزی[۱]، عبدالمجید عزیزی[۲] و غلامرضا عزیزی[۳]**

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 وعصاره 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 و GC-MS شناسایی شدند. ۲۳ ترکیب از مجموع ۹۸/۲۳ درصد وزنی اسانس استخراج شده قابل شناسایی بود. ۱و۸- سینئول با ۲٤/۷۸ 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 و۰/۵ 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 مهار کنندگی(MIC) و حداقل غلظت کشند (MBC) تعیین گردید. تاثیر عصاره گیاه 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 و٦۰ درصد تهیه شده از اسانس و رقت‌های ۲۰ و ۸۰ درصدی از عصاره گیاه علیه باکتری مورد مطالعه به ترتیب غلظت هایی 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، ترکیبات اسانس، عصاره الکلی، *Salvia multicaulis*، استان مرکزی

مقدمه

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

*email:zeaodin@ yahoo.com

گزارشات متعددی درباره خواص ضدمیکروبی و ضدقارچی اسانس‌ها منتشر شده است. ترکیباتی مانند سینئول، کامفور، آلفا- پینن، بتا- پینن، سابینن و آلفا- ترپینئول 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 ضدمیکروبی بسیار مورد توجه می‌باشد. برای مثال غربالگری ضدمیکروبی، عصاره گیاه *S.palaestina* ضدمیکروبی بالایی علیه استافیلوکوک آرئوس، استافیلوکوک اپیدرمیدیس و اشرشیا کلی نشان دادند (میسکی و همکاران، ۲۰۰۰).

اسانس گیاه S.*ringens* که درصد بالای از ۱و۸- سینئول و آلفا- پینن دارد، علیه ٦ 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 ۱و۸- سینئول (۱۷درصد)، 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 ضدمیکروبی داشه است (آلوبولن و همکاران، ۱۹۹٤).

اسانس *S.desoleana* و S.*sclarea* به ترتیب دارای بالاترین درصد منوترپن‌های استری و منوترپن‌های الکلی می‌باشند که در حیوانات آزمایشگاهی اثر ضدمیکروبی بهتری علیه عفونت‌های ناشی از استافیلوکوک طلایی، اپیدرمیدیس و کاندیدا نشان داده‌اند (پنا و همکاران، ۱۹۹۹). نتابج بررسی اثر ضدمیکروبی دو گیاه S.*atropatana* و S.*mirzayanii* در مقایسه با سایر گیاهان 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 ۱و۸- سینئول، توجن و کامفور دارای خاصیت ضدمیکروبی و ضدسرطان است (Piccaglha و همکاران، ۱۹۹۷؛ کاراتا و همکاران، ۱۹۹٦). جنس *Salvia* دارای ترکیب‌های بیولوژیکی فعالی هستند ترکیب‌های جدا شده از ریشه‌های گیاه *S.miltiorrhiza* موجب مهار آدنیلات سیکلاز می‌شود که تنظیم کننده مهم هورمونی و 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 ـ توجن، بتا- پینن و آلفا- هومولن می‌باشد (آبروش و همکاران، ۱۳۸۳).

سیوروپولو و همکاران (۱۹۹۷) دریافتند که اسانس گیاه *S.fructicosa* تجزیه شده به وسیله GC/MS نشان می‌دهد که میزان ۱و۸- سینئول، توجون و کامفور در تمام ترکیب‌های اسانسی بیشترین مقدار را داشته و ترکیب‌های ۱و۸- سینئول 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.multicalisVahl* را به روش دیسک و چاهک‌گذاری علیه باکتری باسیلوس سرئوس، اشرشیاکلی آزمایش کردند و مشاهده نمودند که اسانس و عصاره متانولی این دو گونه اثر ضدباکتریایی مثبتی از خود نشان دادند. وجود ترکیب‌هایی مانند آلفا ـ پینن، بورنئول، ۱و۸- سینئول و کامفور در این دو گونه و همچنین گونه *S.officinalis* L.

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 معمولا یک ساله، پایا، ایستاده اند، ساقه‌ها عموما 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، ۳٦۹).

باکتری pv *Xanthomonas translucens* از پاتوژن‌های مهم گیاهی در سراسر دنیا شناخته شده است که دست کم علیه ۱۲٤ گونه از گیاهان تک لپه‌ای متعلق به ۱۱ تیره، ۷۰ جنس و ۲٦۸ 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 زانتا موناس‌ها 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 قبلا برای این جنس در منابع آمده است داشتن رنگدانه زرد می‌باشد. یکی از مهمترین گونه‌های زانتاموناس *Xanthomonas pv translucens* می‌باشد که بسته به دامنه میزبانی پاتودارهای مختلف را در نظر گرفته‌اند، ولی همگی روی انواع غلات وگرامینه فعالند. این باکتری گرم منفی، هوازاد، میله‌ای با یک تاژک قطبی و تولید کننده‌های ضعیف اسید از قند عمدتاً متحرکند (خانجانی، ۱۳۸٤).

در خصوص خاصیت ضدمیکروبی و ضدباکتریایی اسانس گیاهان دارویی تاکنون تحقیقات متعددی صورت گرفته و شواهد زیادی وجود دارد که اسانس‌ها خاصیت ضدمیکروبی قوی دارند که ضرورت بهره‌مندی از این گیاهان در درمان بیماری‌ها مستلزم بررسی‌های بیشتر در مورد گونه‌های مختلف باکتری‌ها وقارچ‌ها 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

نمونه‌برداری از گیاه از یکی از رویشگاهای 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 درگرمترین 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 وتهیه عصاره باروش تقطیر با بخار آب انجام گرفت.

ب: اسانس‌گیری وتهیه 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 ٦۰ درصد انجام گرفت ودر نهایت حلال توسط دستگاه روتاری جدا، عصاره خشک تهیه و بازده اسانس تعیین گردید. اسانس بدست آمده پس از آب گیری با سولفات سدیم، توسط دستگاه GC/MS تجزیه شد و با استفاده از محاسبه ضرایب بازداری هریک از اجزای تفکیک شده، طیف جرمی و مقایسه با استاندارد، ترکیبات تشکیل دهنده

اسانس شناسایی شد (Adams, 2004). به دلیل غیرقابل حل بودن اسانس در اب از یک ماده بی اثر در سنجش‌های زیستی استفاده شد (نوعی صمغ) و پس از هموژن 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 ۱۰۰درصد درنظر گرفته شد. همچنین برای تهیه محلول مادر استاندارد از عصاره تهیه شده از گیاه مقدار ۰,۵ گرم از عصاره خشک در حجم ۲۵ میلی‌لیتر آب حل گردید. سپس بر اساس این محلول‌ها رقت‌های ۲۰، ٤٠، ٦٠ و۸۰ درصد نسبت به اسانس و عصاره از این محلول‌ها تهیه گردید (سلطانی پور و همکاران، ۱۳۸۳).

مشخصات دستگاه‌های مورد استفاده

دستگاه کروماتوگرافی گازی از نوع Hp مدل ٦٨٩٠ با ستونی به طول ۳۰ متر،قطر داخلی ۰/۲۵ میلیمتر و ضخامت لایه۰/۲۵ میکرومتر. تزریق بصورت شکافته با نسبت ۲۰:۱. دمای ابتدایی آون ٦٠ درجه سانتی گراد سرعت تغییر ٦ درجه در هر دقیقه،افزایش دما تا ۲۵۰ درجه سانتی گراد،از گاز هلیم با سرعت جریان ۱ میلی لیتر در دقیقه به عنوان گاز حامل استفاده شد.برای تفکیک طیف‌های جرمی از طیف بین جرمی مدل ۵۹۷۳ HP با ولتاژیونیزاسیون۷۰ الکترون ولت و منبع یونیزاسیون ۲٤٠ درجه استفاده شد.

بررسی اثرات ضد باکتریال اسانس وعصاره سالویا مولتی کولیس علیه باکتری زانتاموناس ترانسلوسنس

الف: روش دیسک گذاری

در این روش از دیسک‌های کاغذی سفید رنگ استفاده شد.دیسک گذاری در شرایط کاملا استریل انجام گرفت. فاصله دیسک‌ها از دیوارهای پلیت حداقل ۱۰ میلی متر و از یکدیگر ۳۰ میلی متر تعین 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 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 (۱۵ساعت) قطر هاله عدم رشد با کولیس اندازه‌گیری 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 میلی‌متر 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 هاله‌های عدم رشد بعد از سه بار تکرار ثبت شد.

روش تعیین MIC

برای این منظور از روش رقتهای متوالی استفاده شد. بدین ترتیب که رقت‌های ۲۰، ٤٠، ٦٠، ۸۰ و ۱۰۰ درصد از محلولهای اسانس و عصاره تهیه گردید. تیمار شاهد در این بررسی محلول حلال خالص که برای هموژن کردن اسانس استفاده شده بود (نوعی صمغ) و تیمار ۱۰۰ درصد یعنی محلول‌های 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 میلی‌لیتر از تیمار آزمایشی، ۲ میلی لیتر محیط کشت میکروبی و ۲ میلی لیتر باکتری اضافه گردید. لوله‌ها به انکوباتور منتقل شده و ۱۵ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد قرار داده شد. سپس محتویات لوله‌های آزمایشی روی پلیت‌های 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

درنظر 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.multicalis Vahl* نشان می‌دهد بازده اسانس جمع آوری شده از منطقه خنداب شهرستان اراک، ۳/٤ درصد بود که شامل ۲۳ ترکیب می‌باشد و در مجموع ۹۸/۲۳ درصد از وزن اسانس را تشکیل می‌دهند. ۱و ۸- سینئول(۲٤/۷۸ درصد) و کامفور (۱۷/۹۵ درصد) بیشترین ترکیب‌های اسانسی در برگ گیاه بودند. ترکیب‌های شاخص بالای ٤ درصد آلفا- پینن (۷/٤٦ درصد)، بتا - پینن (٤/٤۱ درصد)، آلفا- ترپینئول (۷/۱٤ درصد) و لینالول (۷/۹۸ درصد) می‌باشند. طبق نتایج این پژوهش فعالیت ضدباکتریایی اسانس گیاه *Salvia multicaulis Vhal.* علیه باکتری *Xanthomonas translucens pv. Cerealis* می‌تواند به کامفور، ۱و۸- سینئول، توجن و مشتقات بورنئول نسبت داده شود. یا اینکه اثر سینرژیسمی مجموعه یا بخشی از تشکیل دهنده‌های 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 روش‌های چاهک و دیسک کاغذی کاملا بی تاثیر بود و هیچ اثری روی رشد باکتری برجای نگذاشت. نتایج نشان داد که محلول‌های استاندارد مادر برگ گیاه سالویا مولتی کولیس بر روی باکتری مورد مطالعه به روش چاهک ودیسک کاغذی باعث ایجاد MIC شد و نتایج تقریبا مشابه ای در هر دو روش مشاهده گردید واختلاف معنی‌داری قابل تمیز دادن نبود. باکتری *Xanthomonas translucens* pv. Cerealis در روش چاهک هاله ای به قطر میانگین ۸ میلیمتر ودر روش دیسک کاغذی هاله ای به قطر متوسط ۹ میلیمتر 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 شده به روش چاهک و دیسک کاغذی به ترتیب ۱۲ و۱۳ میلی متر مشاهده گردید. نتایج جمع آوری شده بیانگر آن است که نتایج بررسی به روش دیسک و چاهک کاملا نزدیک و تصدیق کننده همدیگر می‌باشند و عصاره الکلی قدرت وتوانایی 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 می‌شد (MIC) و محلول با غلظت ٦۰ درصد اسانس غلظتی بود که باعث مرگ باکتری‌ها شد (MBC) و در مورد محلول تهیه شده از عصاره برگ گیاه رقت‌های ۲۰و۸۰ درصد محلول تهیه شده غلظت هایی بودند که به ترتیب اثر MIC و MBC داشتند (جدول ۲).

بحث

در ارتباط با تیره نعنا می‌توان به بررسی اثر اسانس مریم گلی (*S.officinalis* L.) علیه رشد باکتری‌های *Escherichia coli* و *Staphylococcos aureus* که توسط رضایی (۱۳۷۹) صورت گرفته اشاره کرد که نتایج نشان دادند این اسانس از رشد باکتری‌های ذکر شده جلوگیری می‌کند و اسانس تا دو ماه پس از اسانس‌گیری نیز خاصیت ضدمیکروبی خود را حفظ می‌کند. همچنین (مجد و همکاران، ۱۳۸۰) اشاره داشتند که عصاره آبی دو گونه مریم گلی *Salvia officinalis* و *Salvia scarea* اثر مهار رشد علیه باکتری *Staphylococcos aureus* دارند و عصاره‌های متانولی علیه باکتری *Proteus vulgaris* و *Aeruginosa eudomonas* و قارچ *Aspergilus niger* موثر بوده و باکتری‌های گرم مثبت نسبت به باکتری‌های گرم منفی حساسیت بیشتری نسبت به عصاره‌ها نشان داده‌اند. در مطالعه‌ای دیگر (توپا و همکاران، ۲۰۰٤) 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 باکتری‌های *Staphylococcos aureus* و *Streptococcos*

peneumoniae موجـود در فـراورده‌هـای غـذایی دارد. همچنین بررسی دیگری کـه توسـط (تزاکـو و همکـاران، ۲۰۰۱) انجام گرفته به مطالعه اجـزاء سـازنده و خاصـیت آنتی میکروبی اسانس گیاه *Salvia ringens* پرداخته است. مطالعات پژوهشگران درباره ترکیب هایی کـه در اسـانس گیاهان وجود دارد نشان می‌دهد که این ترکیب‌ها به طـور جداگانه فعالیت بیولـوژیکی نـسبتا خـوبی از خـود بـروز مـی‌دهنـد. وجـود بورنئـول در اسـانس رزمـاری موجـب جلـوگیری از رشـد قـارچ و تولیـد آفلاتوکـسین توسـط *Aspergillus parasiticus* مـی‌شـود. آلفـا- ترپینئـول اثـر ضـدباکتریایی شـدیدی علیـه *Staphylococcos aureus* و *Aeruginosa eudomonas* نـشان مـی‌دهـد (وندیوسـفی، ۱۳۷٤). خواص ضد باکتریـایی و ضـد میکروبـی *Salvia scalared* علیه باکتری استافیلوکوکوس اورئوس به اثبـات رسیده است (کازما و همکاران، ۲۰۰۷).

ترکیبات جداسازی شده از گیـاه *Salvia jaminana* قادر به مهار رشد بـاکتری باسـیلوس، اسـتافیلوکوکوس و استرپتو کوکوس می‌باشند (کـابوچی و همکـاران، ۲۰۰۵). مشاهده می‌شود که برخی ترکیبات اشاره شـده در بخـش مقدمه در اسانس گیاه سالویا مـولتی کـولیس وجـود دارد. بنابراین اثر ضدباکتریایی این اسانس را می‌توان بـه وجـود ترکیباتی نظیر کامفور، ۱و۸- سینئول، آلفا- پینن، بتا -پینن و آلفـا- ترپینئـول نـسبت داد. ۱و۸- سـینئول و کـامفور ترکیبات شیمیایی معروفـی هـستند کـه دارای تـوان ضـد میکروبی بالا می‌باشند (پتنایک و همکاران، ۱۹۹۷؛ تزاکو و همکاران، ۲۰۰۱). بـر اسـاس یـک گـزارش آلفـا ـ پیـنن (هیدروکربن منـوترپن) و بورنئـول (اکـسژنات منـوترپن) فعالیت کندی در مقابل میکرو ارگانیسم‌ها دارند (دورمـن، ۲۰۰۰). اثرات ضدمیکروبی مشتقات بورنئول همچنـین در تحقیقات دیکر نیز گـزارش شـده اسـت (تابانکـا، ۲۰۰۱؛ کنوبلوچ، ۱۹۸۹). با توجه به اجزاء شناسـایی شـده بـرای اسانس *Salvia multicaulis* Vhal می‌توان خاصـیت آنتـی باکتریالی را برای ترکیب‌های مونوترپنی حدث و اسـتنباط کرد.

نتیجه‌گیری نهایی

به طور کلی با توجه به نتایج تحقیقات متعدد انجـام شده که نقش ضدمیکروبی اسانس‌هـا را تائیـد مـی‌کنـد و همچنین این بررسی لازم است که تحقیقـات بیـشتری در مورد اسانس گیاهان با استفاده از میکروب‌ها و قارچ‌هـای متنوع انجام پذیرد تا منجر بـه اسـتفاده از ترکیبـاتی نظیـر اسانس‌های گیاهی که از نظر شیمیایی برای سلامت انسان خطرات کمتری دارد، به جای استفاده از سموم، حـشره و میکـروب‌کـش‌هـای شـیمیایی گـردد. ضـمن آنکـه اثـر ترکیب‌های موجود در اسانس جداگانه مورد بررسی قـرار گیرد تا مشخص شود کدام ترکیب باعث جلـوگیری و یـا جلوگیری بیشتر از رشد قارچ‌ها و باکتری‌ها می‌شود.

جدول ۱: ترکیبات شیمیایی متشکله روغن اسانسی برگ گیاه *Salvia multicaulI Vahl*

NO	COMPONET	PRECEANTATION	RI
1	santolina triene	0.27	910
2	α- thujene	0.35	927
3	α- pinen	8.46	934
4	camphene	1.75	945
5	sabinene	8.63	967
6	β-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	β-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*

غلظت‌های محلول / نوع محلول	MBC/MIC	٪۲۰	٪٤۰	٪٦۰	٪۸۰	٪۱۰۰
اسانس	MIC	+	+	-	-	-
	MBC	-	-	+	+	+
عصاره	MIC	+	+	+	-	-
	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

غلظت‌های محلول / نوع محلول	روش	٪۲۰	٪٤۰	٪٦۰	٪۸۰	٪۱۰۰
اسانس	چاهک	۱۰- ۱/٤۱	۹/۲۵ -۰/۸۸	۸/۳ - ۰/۲۱	٦/۸ - ۰/۸٤	۵/۹ -۱/٤۸
	دیسک	۱۱/۲- ۲/۲٦	۸/۹ -۰/٦۳	۸ -۰/۰۰	٦/۵ -۱/۰٦	۵/۷ -۱/٦۲
عصاره	چاهک	۱٤/۹ - ۱/٦۹	۱۳/۷ -۰/۸٤	۱۲/۲ -۰/۲۱	۱۱/۹- ۰/٤۲	۹/٦ -۲/۰
	دیسک	۱٤/۷ - ۱/۵۵	۱٤- ۱/۰٦۲	۱۱/۹ -۰/٤۲	۱۱/۵ -۰/۷۰	۱۰/۲ -۱/٦۲

منابع

آبروش،ز، (۱۳۸۳). اثـر فعالیـت ضـدباکتریایی اسـانس *S.officinalis* L. فصلنامه پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر جلد ۲۰. صفحه٤٦٨-٤٥٧.

بیکی، ف. (۱۳۸۳). بررسی اثرات ضد باکتریایی اسـانس گیاه دارویی *Ecehincphora sibteorp*lana و اجـزاء آن روی بـاکتری *Xanthomonas translucens pv. Cereal*is. خلاصه مقالات شـانزدهمین کنگـره گیـاه پزشکی ایران -تبریز.صفحه ٥١٦.

خانجـانی، م. (۱۳۸٤). آفـات گیاهـان زراعـی ایـران. انشارات دانشگاه بوعلی سینا همدان.

رضـــایی، م. (۱۳۷۹). ترکیـــب شـــیمیایی و فعالیـــت ضدمیکروبی اسانس شوید و مریم گلی اولین همایش بین المللی طب سنتب و مفردات پزشکی. ۵ صفحه.

زرگری،ع. (۱۳٦۹). گیاهان دارویـی.انتـشارات دانـشگاه تهران.

سلطانی پور، م. (۱۳۸۱). مقایـسه ترکیـب‌هـای اسـانس برگ گیاه مور خوش و بررسی پتانسیل آللوپاتیـک و خواص ضدمیکروبی اسـانس اسـتخراج شـده. پایـان نامه دانشجوئ کارشناسی ارشد دانشگاه شـیراز.۱۲۰ صفحه.

ســلطانی پــور، م.، رضــایی، م. (۱۳۸۳) بررسـی ضـد میکروبی اسانس گیاه مورخـوش.فـصلنامه تحقیقـات گیاهــان دارویــی و معطــر.جلــد۲۰شــماره ۳ ســال ۱۳۸۳.صفحه ۲۷۷-۲۸۹

قهرمان، ا.، (۱۳۷۳). کور موفیت‌های ایـران. مرکـز نـشر دانشگاهی.

مجد، ا. (۱۳۸۰). بررسی ساختار تـشریحی- تکـوینی و مطالعه سیتوژ نتیکی دو گونه مریم گلـی و برخـی از خواص ضد میکروبی آنها. مجموعه مقـالات دهمـین کنفرانس سراسری زیست شناسی ایران.

محمدی، م. (۱۳۷۸). بررسی سمیت حاد و اثـرات ضـد دردی و ضدالتهابی عـصاره تـام *Zhumeria majdae* بر موش‌های سفید کوچک و بزرگ پایان نامه دکتری داروسازی دانشگاه علوم پزشکی مشهد. ۱۵۰ صفحه.

مــصحفی، م. (۱۳۸۳). بررســی اثــرات ضــدمیکروبی عصاره‌های مریم گلی ایرانی و مری مگلی آذربایجانی برشش سوش میکروبی گرم مثبت و گرم منفی. مجلـهٔ دانشگاه علوم پزشکی کرمـان، دورهٔ یـازدهم، صـفحه ۱۰۹-۱۱۸.

ونــد یوســفی، ج. (۱۳۷٤). فعالیـت بیولـوزیکی گیـاه *Artemisia hausskenchti*l مجلـــه پـــزوهش وسازندگی، شماره، ۲۸، ص ۲۸-۳۰.

Adams, RP. (2004). Identification of essential oil componets by gas chromatography / Mass sepectroscoopy. 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). 2nd ed, mass spectroscopy data center , Reading, uk.

Haznedaroglu MZ, Karabay NU and Zeybek, U. (2001). Antibacterial activity of Salvia tomentosaessential 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 *Staphylococcocci phytomedician*. 14(1):31-35.

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

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 spects 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 antimicrobal effects of essential oils and methanol extracts of *Salvia multicaulis.Vahl* against *Xanthomonas translucens* pv. Cerealis

Azizi, A[1]., Azizi, A.M[2]., Azizi, G[3].

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 applayed 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