Nova Biologica Reperta 6(4): 446-453 (2020)
Print ISSN: 2423-6330/Online ISSN: 2476-7115
https://nbr.khu.ac.ir; Kharazmi University Press; DOI: 10.29252/nbr.6.4.446

یافته‌های نوین در علوم زیستی
جلد ۶، شماره ۴، صفحات ۴۴۶ الی ۴۵۳ (۱۳۹۸)
انتشارات دانشگاه خوارزمی

اثر ضد میکروبی عصاره آبی سه گونه مریم‌گلی بر باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس، اشرشیا کولی و سودوموناس آئروجینوزا

اصغر مصلح آرانی[۱]، نوید نعمتی[۱]، هنگامه زندی[۲] و مصطفی نادری[۳]

[۱]دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه یزد، یزد، ایران؛ [۲]دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران؛ [۳]دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران
مسئول مکاتبات: اصغر مصلح آرانی، amosleh@yazd.ac.ir

چکیده. در این مطالعه اثر عصاره آبی سه گونه *Salvia perspolitana*، *S. palaestina* و *S. bracteata* بر باکتری‌های بیماری‌زای *Staphylococcus aureus*، *Escherichia coli* و *Pseudomonas aeroginosa* تحت مطالعه قرار گرفت. جهت بررسی خاصیت ضدمیکروبی عصاره این گیاهان از روش‌های انتشار چاهک-پلیت و حداقل غلظت بازدارندگی رشد (MIC) استفاده شد. نتایج نشان داد که فقط عصاره *S. bracteata* در پلیت *Staphylococcus aureus* هاله عدم رشد به قطر ۹ میلی‌متر تشکیل داد. عصاره هر سه گیاه در *Escherichia coli* و *Pseudomonas aeroginosa* هاله عدم رشد تشکیل دادند. تاثیر عصاره *S. bracteata* با تشکیل هاله عدم رشد به قطر ۱۰ میلی‌متر از سایر گونه‌ها مؤثرتر بود. نتایج MIC نشان داد که عصاره *S. perspolitana* اثر ضعیفی بر باکتری *Staphylococcus aureus* داشت و اثر بازدارندگی در غلظت µg/ml ۱۰۲۴ مشاهده شد. عصاره این گونه، همچنین در غلظت µg/ml ۲۵۶ بر باکتری‌های *Escherichia coli* و *Pseudomonas aeroginosa* اثر بازدارندگی داشت. بیش‌ترین اثر برای *S. bracteata* به دست آمد به‌طوری که اثر بازدارندگی عصاره این گیاه برای *Staphylococcus aureus*، µg/ml ۶۴ و برای دو باکتری دیگر برابر با µg/ml ۱۲۸ به‌دست آمد. عصاره *S. palaestina* اثر ضعیفی بر باکتری *Staphylococcus aureus* داشت و اثر بازدارندگی در غلظت µg/ml ۱۰۲۴ مشاهده شد. عصاره این گونه، همچنین در غلظت µg/ml ۵۱۲ بر باکتری‌های *Escherichia coli* و *Pseudomonas aeroginosa* اثر بازدارندگی داشت. بنابراین نتیجه‌گیری شد که گونه *S. bracteata* می‌تواند به منزله گونه‌ای مناسب جهت استفاده ضد باکتریایی تحت مطالعه بیشتر قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی. ایلام، تیره نعنائیان، روش انتشار چاهک، غلظت بازدارندگی، ضد باکتری

The antibacterial activity of the water extracts of three species of *Salvia* on *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*

Asghar Mosleh Arany[1], Navid Nemati[1], Hengame Zandi[2] & Mostafa Naderi[3]

[1]Natural resources faculty Office, Yazd University, Yazd, Iran; [2]Faculty of Medical Sciences, Shahid Sadoughi University of Yazd, Yazd, Iran; [3]Faculty of Natural Resources office, Ilam University, Ilam, Iran
Correspondent author: Asghar Mosleh Arany, amosleh@yazd.ac.ir

Abstract. The aim of this study was to evaluate the antibacterial activity of the water extracts of three species of *Salvia* (*S. perspolitana*, *S. palaestina*, *S. bracteata*) on *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeroginosa*. The antibacterial activity of water extracts of the studied species on the bacterial strains was examined using well diffusion method and minimum inhibitory concentration (MIC). Results showed that only *S. bracteata* formed growth inhibitory zone (9 mm) on *Staphylococcus aureus*. The extracts of all three plants formed growth inhibitory zone on *E.coli* and *P. aeroginosa*. The extract of *S. bracteata* was more effective than that of the other species. Results for MIC also showed that the extracts of *S. perspolitana* had the lowest effect on *St. aureus* and its MIC was observed in a concentration of 1024 µg/ml. The extracts of this species had the inhibitory effect in a concentration of 256 µg/ml. The uppermost inhibitory effect was provided by the extract of *S. bracteata*, since the minimum inhibitory concentration of

Received 27.02.2017/ Revised 21.10.2019/ Accepted 02.11.2019/ Published 10.01.2020
دریافت: ۱۳۹۵/۱۲/۰۸/ اصلاح: ۱۳۹۸/۰۷/۲۹/ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۸/۱۱/ انتشار: ۱۳۹۸/۱۰/۲۰

[Downloaded from ndea10.khu.ac.ir on 2024-11-10]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1398.6.4.3.4]
[DOI: 10.29252/nbr.6.4.446]

this species for *S. aureus* was equal to 64 µg/ml; and for the other two bacteria, it was equal to 128 µg/ml. The extracts of *S. palaestina* had the lowest effect on *S. aureus* and its MIC was observed in a concentration of 1024 µg/ml. The extracts of this species had an MIC equal to 512 µg/ml for the other two bacteria. It was concluded that *S. bracreata* could be considered a suitable species with anti-bacterial activities in future researches.

Keywords. antibacteria, Ilam, inhibitory concentration, Lamiaceae, well diffusion method

مقدمه

گیاه‌درمانی در بیماری‌ها و به‌ویژه بیماری‌های عفونی در سال‌های اخیر روند رو به رشدی پیدا کرده است. متخصصین عفونی تمایل زیادی به استفاده از این داروها جهت درمان عفونت‌ها دارند، زیرا عوارض این داروها در مقایسه با داروهای شیمیایی به‌طور قابل ملاحظه‌ای پایین است (Sharafati-chaleshtori *et al*., 2010). به‌عبارت دیگر، به‌علت بروز مقاومت‌های میکروبی به آنتی‌بیوتیک‌های شیمیایی، استفاده از گیاهان و ترکیبات آن‌ها به‌مثابه جایگزینی برای آنتی‌بیوتیک‌های شیمیایی مورد توجه قرار گرفته است. با پیدایش مقاومت‌های روزافزون میکروب‌ها به آنتی‌بیوتیک‌ها، انجام تحقیقات بیشتر در این زمینه ضرورت دارد (Pirnia *et al*., 2014). بسیاری از گیاهان توانایی بالایی علیه پاتوژن‌های باکتریایی و قارچی از خود نشان داده‌اند. در صنایع غذایی به علت گرایش منفی مردم به مصرف غذاهای با نگهدارنده‌های شیمیایی، از منابع گیاهی به‌عنوان طعم‌دهنده و نیز از عوامل ضدمیکروبی استفاده می‌شود (Burt, 2004). باکتری‌هایی نظیر استافیلوکوکوس اورئوس، اشرشیاکولی و سودوموناس آئروجینوزا در مسمومیت‌های غذایی نقش بسیار مهمی ایفا می‌کنند. استافیلوکوکوس اورئوس به دلیل تولید رنگدانه کارتنوئیدی به نام استافیلوزانتین، کلنی‌های زرد رنگی ایجاد می‌کند که این پیگمان در بیماری‌زایی نقش دارد، زیرا به‌عنوان ماده آنتی‌اکسیدان عمل کرده و موجب در امان ماندن باکتری در برابر رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌شود (Clauditz *et al*., 2006). اشرشیاکولی یکی از پاتوژن‌های فرصت‌طلب بیمارستانی و همچنین شایع‌ترین عامل باکتریایی است که از عفونت انسانی جدا شده است. مقاومت این باکتری نسبت به داروها در درمان بیماران بستری در بیمارستان‌ها اهمیت زیادی دارد. بیشترین علت مقاومت کسب پلاسمیدهایی است که کدکننده بتالاکتامازهای وسیع هستند. مقاومت ضدمیکروبی در اشرشیاکولی در سراسر دنیا گزارش شده است و سرعت افزایش مقاومت در این باکتری نگرانی‌های زیادی در کشورهای در حال توسعه و توسعه یافته ایجاد کرده است (Formisano *et al*., 2007). سودوموناس آئروجینوزا یک باکتری گرم منفی است که بیش‌تر در پیرامون ما یافت می‌شود. این موجود زنده در آب، خاک و جاهای نمناک وجود دارد. سودوموناس آئروجینوزا یک بیماری‌زای فرصت‌طلب است. این باکتری از سیستم ایمنی ناتوان افراد استفاده کرده و در آن‌ها عفونت و سموم مضر برای بافت‌ها ایجاد می‌کند. این باکتری سبب عفونت‌های مجاری ادراری، سیستم تنفسی، التهاب و آماس پوست، عفونت‌های بافت‌های نرم، باکتریمی (وجود باکتری در خون)، عفونت‌های استخوان و مفاصل، عفونت‌های معده‌ای و روده‌ای می‌شود (Abbasi *et al*., 2007). اصولا این باکتری یک پاتوژن بیمارستانی است. این ارگانیسم بیش‌تر از راه میوه‌ها، گیاهان و سبزی‌ها منتقل می‌شود. علاوه بر بیماری‌زا بودن، این باکتری احتیاجات تغذیه‌ای کمی دارد و شرایط فیزیکی متنوعی را تحمل می‌کند. همچنین به خوبی برای زندگی و بقاء در محیط‌هایی با غلظت بالای حلال‌های آلی سازگار است و نیز قادر به رشد در دماهای بالا و قادر به زنده ماندن در شرایط سخت است.

سرده *Salvia* متعلق به تیره نعنائیان (Lamiaceae)، با بیش از ۹۰۰ گونه در سرتاسر جهان، به‌ویژه در مناطق گرمسیری و معتدل، رویشی وسیع دارد. بزرگترین منطقه رویش گونه‌های این سرده آمریکا و جنوب غربی آسیا است (Walker & Sytsma, 2007). این سرده در ایران با نام فارسی مریم‌گلی، ۵۸ گونه گیاه علفی یکساله و چند ساله دارد که در سرتاسر کشور پراکنده‌اند و ۱۷ گونه آن انحصاری ایران هستند. بقیه گونه‌ها علاوه بر ایران در سایر مناطق به خصوص آسیا و آفریقا می‌رویند (Mozaffarian, 1996).

با توجه به تاثیر اسانس گونه‌های مختلف مریم‌گلی بر روی میکروب‌ها، تحقیق حاضر تأثیر عصاره آبی سه گونه مریم‌گلی (*Salvia perspolitana* Boiss., *S. palaestina* Benth., *S. bracteata* Banks & Sol.) را بر باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس، اشرشیاکولی و سودوموناس آئروجینوزا مورد بررسی قرار می‌دهد.

مواد و روش‌ها

گیاهان تحت مطالعه

گونه *Salvia palaestina* گیاهی چندساله بوته‌ای و پوشیده از کرک است. با ساقه‌هایی به ارتفاع ۲۰ تا ۸۰ سانتی‌متر که در برخی از مناطق ایران از جمله استان مازندران، آذربایجان و گیلان پراکنش دارد (Hedge, 1982).

گونه مریم‌گلی پرسپولیسی (*Salvia perspolitana*) گونه‌ای انحصاری در استان ایلام است. این گیاه از پراکنش بسیار محدودی

[Downloaded from ndea10.khu.ac.ir on 2024-11-10]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1398.6.4.3.4]
[DOI: 10.29252/nbr.6.4.446]

برخوردار است و در مناطق گنجوان به هلاله، تنگ‌بینا، بین میش-خاص و کلم، بین کلم و بدره، دینار کوه، صالح آباد، ریکا و گردنه سرزنان در استان ایلام رویش دارد. این گونه چند ساله، قویاً معطر، ساقه‌ها ایستاده با ارتفاع حدود ۴۰-۲۰ سانتی‌متر، کرک‌پوش متشکل از کرک‌های بلند تخت شده، سفید، غده‌دار و دارای کرک-های کوتاه‌تر غده‌دار و پرزهای غده‌دار گل‌آذین پانیکول، برگه‌ها تخم‌مرغی پهن به طول حدود ۱۲-۱۰ وعرض ۱۶-۱۲ میلی‌متر، فندقه کم و بیش کروی و خاکستری با رگه‌های سیاه است (Mozaffarian, 2008).

گونه *Salvia bracteata* گیاهی چند ساله با قاعده کم و بیش خشبی، بالا رونده، کاملا پوشیده با کرک‌های غده‌دار، برگ‌ها شانه-ای بخش، گل‌آذین ساده یا با شاخه‌های کوتاه، جام گل قرمز تا ارغوانی و فندقه کم و بیش کروی است. این گونه در ایلام، بالای تونل رنو، گردنه قلاجه، کوه قلعه اسماعیل خان، تنگ دالاب، میمه، و بین گوراب و تختان پراکنش دارد (Mozaffarian, 2008).

روش بررسی

گونه‌های مریم‌گلی در تحقیق حاضر از استان ایلام در بهار ۱۳۹۴ جمع‌آوری شد. عصاره آبی گیاهان تحت مطالعه از برگ این گیاهان تهیه شد. برای این منظور در فصل بهار، زمانی که گیاهان در رشد کامل رویشی و زایشی بودند، نمونه‌برداری شدند و سپس خشک و در نهایت عصاره‌گیری شدند. برای انجام عصاره‌گیری از روش سوکسله استفاده شد. در این روش ابتدا برگ گیاه مورد نظر از شاخه‌ها جدا شد و سپس با استفاده از آسیاب برقی، برگ‌ها را خرد کرده و مقدار ۴۰ گرم از آن توزین شد. بالن دستگاه حاوی ۳۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر بود و پس از اتمام مراحل عصاره‌گیری ۲۰۰ میلی‌لیتر محلول داخل بالن باقی ماند. عصاره به دست آمده سپس توسط کاغذ صافی فیلتر شد و وارد دستگاه روتاری شد. سپس یک گرم از رسوب خشک حاصله به ۵ سی‌سی از حلال دی‌متیل‌سولفاکساید (DMSO) اضافه کرده و توسط سرنگ میلی‌پور با فیلترهای به قطر ۰/۲۲ میکرومتر فیلتر، و در نهایت غلظت‌های مورد نظر تهیه شد (Haghighati *et al*., 2003).

تهیه سویه‌های باکتریایی

سویه‌های استاندارد استافیلوکوکوس اورئوس (ATCC25923)، اشریشیاکلی (ATCC25922)، و سودوموناس آئروجینوزا (ATCC27853) از آزمایشگاه میکروب‌شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد تهیه شد. سویه‌ها از استوک گلیسرول ۱۵درصد در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد خارج و در محیط کشت تریپتیکازسوی‌براث (Merck, Darmstadt, Germany) تلقیح شده و با گرمخانه‌گذاری در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت احیاء شدند. سپس پرگنه‌های در محیط تریپتیکازسوی آگار (Merck, Darmstadt, Germany) جهت اثبات خلوص باکتری‌ها کشت داده شدند.

تهیه سوسپانسیون باکتریایی

از پرگنه‌های خالص سویه‌های باکتریایی، یک کشت تازه شبانه (۲۴ ساعته) روی محیط تریپتیکازسوی آگار تهیه شد. سپس چند پرگنه به لوله محتوی ۵ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی استریل تلقیح و با لوله استاندارد ۰/۵ مک‌فارلند مقایسه شد تا سوسپانسیون میکروبی، کدورتی معادل کدورت لوله ۰/۵ مک‌فارلند پیدا کند.

تعیین فعالیت ضدمیکروبی عصاره به روش چاهک-آگار

جهت بررسی فعالیت ضد میکروبی عصاره از روش چاهک-پلیت استفاده شد و عصاره تهیه شده با غلظت ۲۰ درصد در حلال DMSO (دی‌متیل‌سولفوکسید) به درون چاهک ریخته شد. بدین منظور با استفاده از سواپ پنبه‌ای استریل از سوسپانسیون باکتریایی معادل کدورت ۰/۵مک‌فارلند در پلیت حاوی محیط مولر-هینتون آگار به صورت چمنی کشت داده شد. چاهک‌هایی به قطر ۶ میلی‌متر در پلیت ایجاد شد و مقدار µl ۱۰۰ از عصاره، به چاهک‌ها ریخته شد. پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شد. سپس قطر هاله عدم رشد باکتری در اطراف چاهک به وسیله خط‌کش با مقیاس میلی‌متر اندازه‌گیری و ثبت شد. آزمایشات برای هر یک از سویه‌ها به طور جداگانه انجام شد. آزمایشات مشابه جهت کنترل مثبت (شامل پلیت حاوی باکتری و محلول DMSO) و کنترل منفی (شامل پلیت فاقد باکتری حاوی عصاره) انجام شد. تمام آزمایشات ۳ بار تکرار شد و میانگین داده‌ها تعیین شد (Inouya *et al*., 2001).

سنجش حداقل غلظت بازدارندگی رشد (MIC) با استفاده از روش آگار دایلیوشن

سنجش حداقل غلظت بازدارندگی رشد باکتری به روش آگار دایلیوشن براساس پروتکل استاندارد M27-A3, Third CSLI (Edition, 2008) برای عصاره‌هایی که در روش قبلی هاله عدم رشد داشته‌اند، انجام شد. در این روش محلول استوک عصاره در DMSO تهیه شد. از استوک عصاره، سریال‌های رقت دو برابر در محیط مولر-هینتون‌براث تهیه شد (برای هر عصاره ده رقت سریال بین µg/mL ۲- µg/mL ۱۰۲۴). سپس دو میلی‌لیتر از هر یک از رقت‌ها به‌طور جداگانه به ۱۸ میلی‌لیتر محیط مولر-هینتون آگار استریل سرد شده تا ۵۰ درجه سانتی‌گراد اضافه شد و در پلیت‌هایی با قطر ۸ سانتی‌متر ریخته شد. قبل از تلقیح باکتری‌های تحت بررسی پلیت‌های حاوی محیط کشت جامد شده به مدت نیم‌ساعت در انکوباتور و در دمای ۳۷ نگهداری شد تا رطوبت سطح محیط از بین برود. در مرحله بعد از کشت تازه

[Downloaded from ndea10.khu.ac.ir on 2024-11-10]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1398.6.4.3.4]
[DOI: 10.29252/nbr.6.4.446]

باکتری، سوسپانسیونی با کدورت لوله ۰/۵ مک‌فارلند تهیه شده با انجام رقت به $۱/۵\times۱۰^{۵}$ باکتری رسانده شد و به وسیله سمپلر به مقدار ۱۰۰ µl به صورت نقطه‌ای بر سطح محیط‌های کشت حاوی رقت‌های مختلف عصاره تلقیح شد. نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شد. اولین پلیت حاوی رقتی از عصاره که در آن رشد باکتری دیده نمی‌شد و یا فقط یک یا دو پرگنه از باکتری وجود داشت به عنوان MIC تعیین شد. جهت کنترل منفی از پلیت محیط مولرهینتون‌آگار حاوی باکتری و DMSO و جهت کنترل مثبت از پلیت‌های حاوی عصاره و فاقد باکتری استفاده شد. آزمایشات با سه بار تکرار برای هر عصاره به طور جداگانه انجام شد (National Committee for Clinical Laboratory Standard 1990).

نتایج

بررسی یافته‌های حاصل از آزمون چاهک-پلیت

نتایج حاصل از عصاره *S. perspolitana* در آزمون چاهک-پلیت روی باکتری‌های مورد نظر نشان داد که در مورد باکتری استافیلوکوکوس اورئوس هاله عدم رشد تشکیل نشد در نتیجه عصاره مورد نظر بر این باکتری اثر بازدارندگی نداشت.

در مورد باکتری‌های اشرشیاکلی و سودوموناس آئروجینوزا قطر هاله عدم رشد حاصل از تست عصاره گیاه مورد نظر ۹ میلی‌متر بود، که نشان می‌دهد تأثیر نسبتاً خوبی بر باکتری‌های مورد نظر برای جلوگیری از رشد آن‌ها داشته است. این نتایج نشان می‌دهد که عصاره این گیاه بر باکتری‌های گرم منفی که شامل اشرشیاکلی و سودوموناس آئروجینوزا است، اثر مثبت داشته است ولی در مورد باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس است، اثر بازدارندگی نداشته است.

نتایج حاصل از عصاره *S. bracteata* نشان داد که قطر هاله عدم رشد در مورد باکتری استافیلوکوکوس اورئوس ۹ میلی‌متر بود و در مورد باکتری‌های اشرشیاکلی و سودوموناس آئروجینوزا قطر هاله عدم رشد ۱۰ میلی‌متر اندازه‌گیری شد که نشان دهنده این است که تأثیر عصاره این گیاه نیز بر باکتری‌های گرم منفی بیش‌تر از باکتری گرم مثبت است (شکل ۱).

نتایج حاصل از عصاره *S. palaestina* نشان داد که در مورد باکتری استافیلوکوکوس اورئوس هاله عدم رشد تشکیل نشد که نشان می‌دهد عصاره این گیاه بر باکتری فوق اثر بازدارندگی نداشته است. در مورد باکتری‌های اشرشیاکلی و سودوموناس آئروجینوزا قطر هاله عدم رشد ۷ میلی‌متر بود که نشان می‌دهد که عصاره این گیاه تأثیر ضعیفی بر دو باکتری فوق داشته است (جدول ۱).

یافته‌های حاصل از تست MIC

نتایج حاصل از عصاره *S. perspolitana* در تست MIC روی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس نشان داد که ۱۰۲۴ µg/ml حداقل غلظت بازدارندگی رشد باکتری مورد نظر در پلیت‌ها بود. در مورد باکتری‌های اشرشیاکلی و سودوموناس آئروجینوزا مشخص شد که عصاره مورد نظر در غلظت ۲۵۶ µg/ml بر هر دو باکتری اثر بازدارندگی داشت. نتایج به‌دست آمده از این روش نیز مطابق نتایج حاصل از روش چاهک-پلیت نشان داد که عصاره *S. perspolitana* بر باکتری‌های گرم منفی شامل اشرشیاکلی و سودوموناس آئروجینوزا اثر بازدارندگی از رشد داشت، اما بر باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس اثری نداشت (شکل ۲).

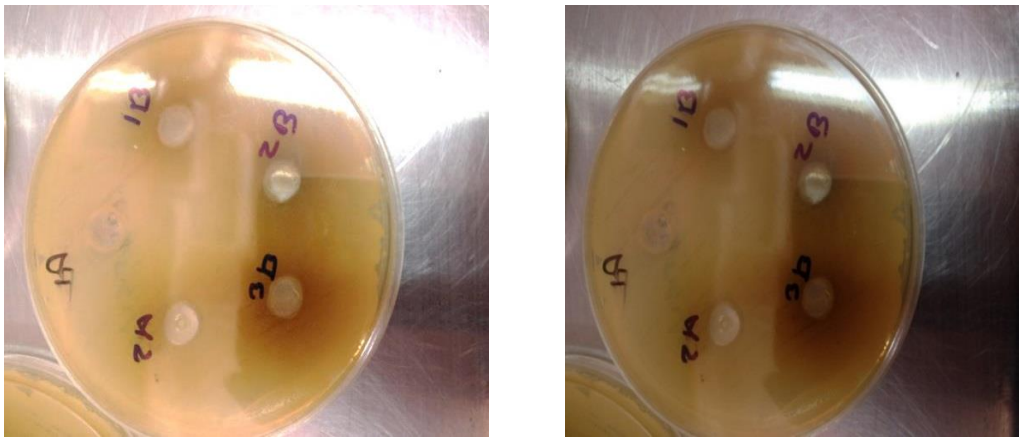
نتایج نشان داد که عصاره گیاه *S. bracteata* تأثیر بسیار خوبی در جهت جلوگیری از رشد باکتری‌های تحت بررسی داشت. در مورد باکتری استافیلوکوکوس اورئوس عصاره این گیاه در غلظت ۶۴ µg/ml از رشد باکتری مورد نظر در پلیت جلوگیری کرد و همچنین در مورد باکتری‌های اشرشیاکلی و سودوموناس آئروجینوزا در غلظت ۱۲۸ µg/ml اثر بازدارندگی داشت. نتایج حاصله همچنین نشان داد که بر خلاف روش چاهک-پلیت، تأثیر عصاره مورد نظر بر باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس بیشتر از باکتری‌های گرم منفی است (شکل ۲). نتایج نشان داد که اثر عصاره گیاه *S. palaestina* بر باکتری استافیلوکوکوس اورئوس مشابه نتایج به دست آمده از گیاه *S. perspolitana* بود. اما در مورد باکتری‌های اشرشیاکلی و سودوموناس آئروجینوزا، عصاره گیاه فوق در غلظت ۵۱۲ µg/ml بر هر دو باکتری اثر بازدارندگی داشت (شکل ۲).

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج تحقیق نشان داد که هاله عدم رشد در باکتری استافیلوکوکوس اورئوس، فقط توسط عصاره گیاه *S. bracteata* حاصل شد. از طرفی دیگر در دو باکتری اشرشیاکلی و سودوموناس آئروجینوزا، عصاره هر سه گیاه هاله عدم رشد تشکیل دادند اما قطر آن در عصاره گیاه *S. bracteata* بیش‌تر از دو گیاه دیگر بوده است.

این تأثیر بر دو باکتری گرم منفی اشرشیاکلی و سودوموناس-آئروجینوزا به صورت *S. bracteata* > *S. perspolitana* > *S. palaestina* بود. مطالعات متعددی نشان می‌دهد که ترکیبات مؤثره گیاهان نقش مؤثری در خاصیت ضد میکروبی ایفا می‌کند. در ارزیابی ترکیبات شیمیایی اسانس گونه *S. palaestina* نشان داده شد که Z-Caryophyllene با ۱۳/۱ درصد، Germacern با ۱۲/۷ درصد، Dihydrocareol با ۱۲/۲ درصد، Linalool با ۱۱/۱ درصد مهم‌ترین ترکیبات این گونه را تشکیل می‌دهد (Fattahi *et al*., 2014).

[Downloaded from ndea10.khu.ac.ir on 2024-11-10]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1398.6.4.3.4]
[DOI: 10.29252/nbr.6.4.446]



شکل ۱- قطر هاله عدم رشد حاصل از تست عصاره گیاهان مطالعه شده.

Fig. 1. Growth inhibitory zone resulted from water extracts of the studied plants**.**

جدول ۱- قطر هاله عدم رشد حاصل از تست عصاره گیاهان مورد نظر.

Table 1. Growth inhibitory zone resulted from the water extracts from the studied plants.

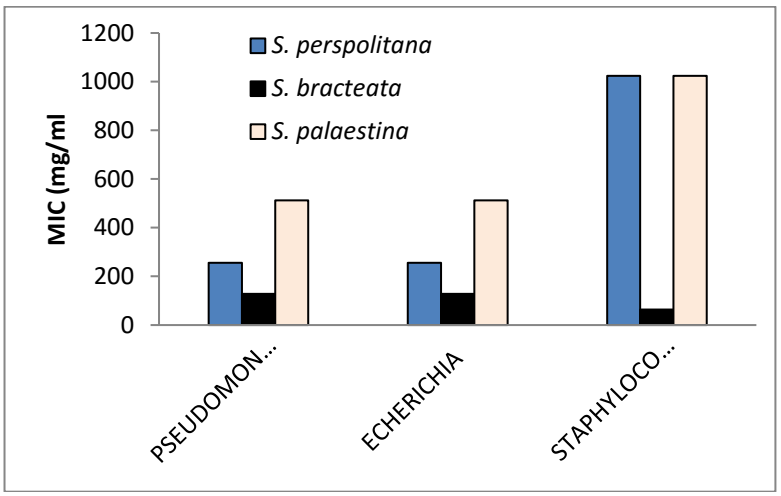
گیاه	استافیلوکوکوس اورئوس	اشرشیاکولی	سودوموناس‌آئروجینوزا
Salvia perspolitana	-	۹	۹
S. bracteata	۹	۱۰	۱۰
S. palaestina	-	۷	۷

** واحد اندازه‌گیری قطر هاله عدم‌رشد میلی‌متر است.

** The measurement for growth inhibitory zone is mm.

شکل ۲- حداقل غلظت بازدارندگی عصاره آبی سه گونه مریم‌گلی بر سه باکتری تحت مطالعه.

Fig. 2. Minimum inhibitory concentration of the water extracts of the *Salvia* species on the studied bacteria.



مطالعات مشابه بر روی ترکیبات شیمیایی اسانس این گونه نتایج نسبتا متفاوتی را نشان داد به‌طوری‌که Caryophyllene oxide با ۱۶/۱ درصد، Terpineol-4 با ۴ درصد، Pulegone با ۴/۱ درصد، Farnesyl acetone با ۳/۱، E-Carophyllene با ۴/۵ درصد و α-Copaene با ۳ درصد مهمترین ترکیبات این گونه را تشکیل می‌دهند (Cursoy *et al.*, 2012). اختلاف مشاهده شده در مورد ترکیبات شیمیایی و فعالیت ضد میکروبی اسانس‌ها در مطالعات مختلف بین تأثیر بر دو باکتری گرم منفی اشرشیاکلی و سودوموناس‌آئروجینوزا به صورت *S. >S. palaestina* *S. bracteata >perspolitana* بود.

[Downloaded from ndea10.khu.ac.ir on 2024-11-10]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1398.6.4.3.4]
[DOI: 10.29252/nbr.6.4.446]

مطالعات متعددی نشان می‌دهد که ترکیبات مؤثره گیاهان نقش مؤثری در خاصیت ضد میکروبی ایفا می‌کند. در ارزیابی ترکیبات شیمیایی اسانس گونه *S. palaestina* نشان داده شد که *Z*-*Caryophyllene* با ۱۳/۱ درصد، Germacern با ۱۲/۷ درصد، Dihydrocareol با ۱۲/۲ درصد، Linalool با ۱۱/۱ درصد مهمترین ترکیبات این گونه را تشکیل می‌دهد (Fattahi *et al*., 2014). مطالعات مشابه بر روی ترکیبات شیمیایی اسانس این گونه نتایج نسبتا متفاوتی را نشان داد به‌طوری‌که Caryophyllene oxide با ۱۶/۱ درصد، Terpineol-4 با ۴ درصد، Pulegone با ۴/۱ درصد، Farnesyl acetone با ۳/۱، *E*-Carophyllene با ۴/۵ درصد و α-Copaene با ۳ درصد مهمترین ترکیبات این گونه را تشکیل می‌دهند (Cursoy *et al*., 2012). اختلاف مشاهده شده در مورد ترکیبات شیمیایی و فعالیت ضد میکروبی اسانس‌ها در مطالعات مختلف را می‌توان به تفاوت در فصل برداشت گیاه، شرایط آب و هوایی، منطقه جغرافیایی رویش، روش و مدت زمان استخراج اسانس ربط داد. ترکیبات اسانس گونه دیگر تحت مطالعه در این تحقیق، *S. bracteata* نیز ترکیبات نسبتا متفاوتی از گونه قبل داشت. مهمترین ترکیبات این گونه شامل α- pinene با ۲۹/۶ درصد، β-pinener با ۶/۵ درصد، Myrcene با ۹/۷ درصد، limonene با ۷/۱، Camphor با ۴/۳ درصد، germacrene-D با ۵/۹۶ درصد اندازه‌گیری شد (Amiri *et al*., 2006). خاصیت ضد میکروبی گونه *S. officinalis* چند دهه قبل شناخته شد و اثر آن به ترکیبات 1.8-cineole, thujone و camphor که از ترکیبات اصلی این گیاه بودند نسبت داده شد. به همین ترتیب ممکن است اثر ضد میکروبی نسبتا مؤثر گونه *S. bracteata* در این مطالعه مربوط به ترکیبات اصلی که در بالا اشاره شد باشد. ولی مطالعات نشان می‌دهد که اثر ترکیباتی با غلظت کم ممکن است با اثرات برهم‌کنش با ترکیبات دیگر بر روی میکروب‌ها اثر داشته باشد. بنابراین تمام ترکیبات اسانس می‌تواند در خاصیت ضد میکروبی آن مؤثر باشد (Burt, 2004). اما به‌طور ویژه در مورد ترکیبات اصلی موجود در گیاهان تحت مطالعه نشان داده شده که هر کدام به تنهایی نیز اثرات ضد میکروبی دارند. به عنوان مثال مطالعات نشان می‌دهد که ترکیب Caryophyllene (Azaz *et al*., 2002)، ترکیب Caryophyllene oxide (Magiatis *et al*., 2002)، ترکیبات Terpineol-4، Pulegone و α- pinene موجود در سرده گیاه *Salvia* sp. و همچنین موجود در گیاهان تحت مطالعه اثرات ضد میکروبی مؤثری دارند (Dorman & Deans, 2000). یکی از مهمترین دلایل اثر ضدمیکروبی اسانس‌های گیاهی وجود خاصیت آبگریزی در آن‌ها است که باعث نفوذ آن‌ها به لیپیدهای غشا و میتوکندری باکتری‌ها می‌شود و باعث ایجاد اختلال در عملکرد آن‌ها می‌شود. این اختلال می‌تواند سبب ایجاد نفوذپذیری بیشتر غشاء و در نهایت خروج یون‌ها و سایر محتویات داخلی سلولی باکتری‌ها شود (Burt, 2004). چندین مطالعه تاثیر اسانس یا عصاره گیاهان سرده مریم‌گلی را بر روی میکروب‌ها تحت مطالعه قرار داده است. در بررسی تاثیر اسانس مریم گلی کبیر بر رشد لیستریا مونوسیتوژنز و آسپرژیاوس فلاووس در پنیر سفید ایرانی نشان داده شد که حداقل غلظت مهارکنندگی رشد (MIC) و حداقل غلظت باکتری‌کشی (MBC) اسانس مریم‌گلی به‌ترتیب معادل ۰/۰۱۵ و ۰/۰۲ درصد برای لیستریا بود. MIC و حداقل غلظت قارچ‌کشی (MFC) در برابر آسپرژیلوس برای اسانس مریم-گلی معادل ۰/۵ و ۰/۶۵ درصد به دست آمده است. غلظت ۰/۳۵ درصد اسانس مریم‌گلی از تولید اسپور توسط قارچ در محیط کشت جلوگیری کرده است. اسانس مریم‌گلی در غلظت ۱ درصد طی دوره نگهداری پنیر از رشد آسپیرژیلوس به‌طور کامل جلوگیری کرده و جمعیت لیستریا را نسبت به شاهد کاهش داده است (Azizkhani *et al*., 2016). در بررسی اثر مقایسه خواص ضد-باکتریایی اسانس چهار گونه مریم گلی نشان داده شد که اسانس این گیاهان بر روی همه باکتری‌های مورد آزمایش در این پژوهش اثر ممانعت‌کننده داشت که به‌ترتیب بیشترین اثر مربوط به اسانس ٪۵ بود. *S. aetiopis* بر روی اشرشیاکولی و گونه *S. oligophylla* بر روی کاندیدا آلبیکانس و گونه *S. macrosiphon* بر روی کلبسیلا نومونیا بیشترین اثر مهارکنندگی را داشتند (Salimpour *et al*., 2014). یکی از عوامل مؤثر در خواص ضد میکروبی گیاهان، انتخاب محلولی است که برای استخراج مواد مؤثره از آن استفاده می‌شود. تقریبا همه ترکیبات ضد میکروبی شناخته‌شده گیاهی، آروماتیک یا ترکیبات آلی هستند و بیشتر از طریق حلال‌های اتانولی و متانولی استخراج می‌شوند. اگرچه از عصاره‌های آبی نیز استفاده می‌شود، اما تحقیقات نشان می‌دهد عصاره‌های تهیه شده با حلال‌های آلی، اثر ضد میکروبی پایدارتر و بیشتری دارند، زیرا بیشتر ترکیبات فعال ضد میکروبی شناخته شده در آب نامحلول هستند و بنابراین عصاره‌های حاصل از حلال‌های آلی برای استخراج ترکیبات ضد میکروبی توانمندی بیشتری دارند (Giner *et al*., 2000; Safavi *et al*., 2013). یکی از دلایل تاثیر کم عصاره آبی برخی از گونه‌های سالویا تحت مطالعه ممکن است نوع استخراج مواد مؤثره آن باشد. نتایج در گیاه میمونی سازویی نشان داد که هاله عدم رشد توسط هیچکدام از عصاره‌های کلروفرمی مشاهده نشد، در صورتی‌که میانگین قطر هاله‌های به-دست‌آمده از عصاره متانولی، نشان‌دهنده اثر مهار این عصاره بر هر سه باکتری تحت مطالعه بود (Sharafati-Chaleshtori *et al*., 2010).

[Downloaded from ndea10.khu.ac.ir on 2024-11-10]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1398.6.4.3.4]
[DOI: 10.29252/nbr.6.4.446]

در آزمایش حاضر اثر عصاره گیاهان تحت مطالعه بیشتر بر باکتری-های گرم منفی مشاهده شد. مشابه این نتایج نشان داده شده است که خواص ضد میکروبی گیاهان بر باکتری‌های گرم منفی بیشتر است، مگر آنکه از غلظت‌های بالاتری استفاده شود (Kluytmans *et al*., 1997; Safavi *et al*., 2013).

نتیجه‌گیری

نتایج نشان داد که فقط عصاره *S. bracteata* در پلیت *Staphylococcus aureus* هاله عدم رشد تشکیل داد. اگرچه عصاره هر سه گیاه بر روی دو باکتری دیگر (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*) هاله عدم رشد تشکیل دادند، اما مجددا تاثیر عصاره *S. bracteata* بیش‌تر بود. نتایج در آزمایش سنجش حداقل غلظت بازدارندگی عصاره این گیاهان بر رشد باکتری‌ها نیز نشان داد که عصاره گیاه *S. bracteata* در غلظت-های پایین نیز باعث عدم رشد باکتری‌های مورد مطالعه شد در حالیکه حداقل غلظت بازدارندگی رشد باکتری در دو گیاه دیگر بالاتر بود. بنابراین نتیجه‌گیری شد که تحت شرایط این آزمایش عصاره گیاه *S. bracteata* نسبت به عصاره دو گیاه *S. perspolitana*، *S. palaestina* اثرات ضد میکروبی بیش‌تری دارد و می‌تواند به‌عنوان ماده ضد میکروبی مورد توجه قرار گیرد.

سپاسگزاری

بدینوسیله از زحمات کارشناسان آزمایشگاه دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد که نویسندگان را در انجام این تحقیق یاری کردند، قدردانی می‌شود.

REFERENCES

Abbasi, N., Azizi Jalilian, F., Abdi, M. and Saifmanesh, M.A. 2007. Comparative study of the antimicrobial effect of *Scrophularia striata* Boiss: extract and selective antibiotics against *Staphylococcus aureus* and *Pesudomonas aeroginosa*. – J. Med. Plants 1: 10-18.

Amiri, H., Meshkat, A.l., Sadat, M.H., Lari Yazdi, H. and Goodarzi, A. 2006. Essential oil composition of *Salvia reuterana* Boiss. – Iran. J. Medl. Arom. Plants 22: 270-275.

Azaz, D., Demirci, F., Satil, F., Kurkcuoglu, M. and Baser. K.H.C. 2002. Antimicrobial activity of some *Satureja essential* oils. – Nature 57: 817-821.

Azizkhani, M., Tooryan, F. and Boreiri, M. 2016. Effects of *Ocimum basilicum* and *Salvia sclarea* essential oils on *Listeria monocytogenes* and *Aspergillus flavus* in Iranian white cheese. – Iranian Food Sci. Technol. Res. J. 12: 286-295.

Burt, S. 2004. Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods. – Int. Food Microbiol. 94: 223-25.

Clauditz, A., Rescch, A., Wieland. K.P., Peschel, A. and Gotz, F. 2006. Staphyloxanthin plays a role in the fitness of *Staphylococcus aureus* and its ability to cope with oxidative stress. – Infect. Immun. 74: 4950-4953.

Cursoy, N., Tape, B. and Akpulat, H.A. 2012. Chemical composition and antioxidant activity of the essential oils of *Salvia palaestina* and *S. ceratophylla*. – Rec. Nat. Prod. 6: 278-287.

Dorman, H.J.D. and Deans, S.G. 2000. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. – J. Appl. Microbiol. 88: 308-316.

Fattahi, B., Nazeri, V., Kalantari, S. and Bonfill, M. 2014. Identification of compounds in the essential oil and quantification of flavonoids and rosmarinic acid in *Salvia reuterana* and *Salvia palaestina* Benth. – Iranian J. Medl. Arom. Pants 30: 463-475.

Formisano, C., Senatore, F., Arnold, N.A., Piozzi, F. and Rosselli, S. 2007. GC and GC/MS analysis of the essential oil of *Salvia hierosolymitana* growing wild in Lebanon. – Nat. Prod. Com. 2: 181-184.

Giner, R.M., Villalba, M.L., Recio, M.C., Mañez, S., Cerdá Nicolás, M. and Ríos, J.L. 2000. Anti-inflammatory glycoterpenoids from *Scrophularia auriculata*. – Eur. J. Pharmacol. 389: 243-52.

Haghighati, F., Jafari, S. and Momen Beitollahi, J. 2003. Comparison of antimicrobial effects of ten herbal extracts with chlorhexidine on three different oral pathogens; an in vitro study. – Hakim Med. J. 6: 6-71.

Hedge, I.C. 1982. *Salvia* L. – In: Rechinger, K.H. (ed.), Flora Iranica 150: 403-476. Akademische Druck und Verlagsanstalt, Graz.

Inouya, S., Takizawa, T. and Yamaguchi, H. 2001. Antibacterial activity of essential oils and their major constituents against respiratory tract pathogens by gaseous contact. – J. Antimicrobial Chem. 47: 565-573.

Kluytmans, J., Van Belkum, A. and Verbrugh, H. 1997. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus*: epidemiology, underlying mechanisms, and associated risks. – J. Clin. Micrbiol. 3: 505-520.

[Downloaded from ndea10.khu.ac.ir on 2024-11-10]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1398.6.4.3.4]
[DOI: 10.29252/nbr.6.4.446]

Magiatis, P., Skaltsounis, A., Chinou, I. and Haroutounian, S.A. 2002. Chemical composition and invitro antimicrobial activity of the essential oil of three Greek *Achillea* species. – Nature 57: 287-290.

Mozaffarian V. 2008. Flora of Ilam. Farhang Moaser Publication, Tehran. 671pp.

Mozaffarian V. 1996. Dictionary of Iranian plant names. Farhang Moaser Publication, Tehran. 700pp.

National Committee for Clinical Laboratory Standard. 1990. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. – Approved Standard Order M7-A2: 1-31.

Pirnia, M., Edalatian Dovom, M.R., Tabatabaee Yazdi, F., and Shahidi, F. 2014. The antibacterial effects of the Aqueous and Ethanolic extracts of *Cordia myxa* fruit on *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* and *Salmonella typhi*. – Qom Univ. Medl. Sci. J. 9: 39-48.

Safavi, F., Ebrahimi, P. and Mighani, H. 2013. In vitro anti-bacterial activity of root and aerial parts of *Scrophularia striata* on *Escherichia coli*, S*taphylococcus aureus* and *Bacillus cereus*. – YUMSJ 18: 603-614.

Salimpour, F., Moazooji, A., Mazhar, F. and Barzin, G. 2014. Comparative study of antibacterial properties of four species of *Salvia* L. as a medicinal plant. – J. Res. Medl. Sci. 37: 205-210.

Sharafati-chaleshtori, R., Sharafati-chaleshtori, F., Sharafati-chaleshtori, A. and Ashrafi, K. 2010. Antimicrobial effects and evaluation of total phenols, flavonoids and flavonols contents of ethanolic extracts of *Scrophularia striata*. – J. Shahrekord Univ. Medl. Sci. 11: 32-37.

Walker, J.B. and Sytsma, K.J. 2007. Stamina evolution in the genus *Salvia* molecular phylogenetic evidence for multiple origins of the lever. – Ann. Bot. 100: 375-391.

*****

How to cite this article:

Mosleh Arany, A., Nemati, N., Zandi, H. and Naderi, M. 2020. Antibacterial activity of water extracts of three species of *Salvia* on *Staphylococcus aureas*, *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*. – Nova Biologica Rep. 6: 446-453. (In Persian)

مصلح آرانی، ا.، نعمتی، ن.، زندی، ه. و نادری، م. ۱۳۹۸. بررسی اثر ضد میکروبی عصاره آبی سه گونه مریم‌گلی بر باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس، اشرشیا کولی و سودوموناس آئروجینوزا. – یافته‌های نوین در علوم زیستی ۶: ۴۵۳-۴۴۶.

[Downloaded from ndea10.khu.ac.ir on 2024-11-10]

[DOR: 20.1001.1.24236330.1398.6.4.3.4]

[DOI: 10.29252/nbr.6.4.446]