

مقاله پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان
دوره ، اسفند

اثر ضد قارچی عصاره‌های آبی و مтанولی بر گیاه حرا (*Avicennia marina*) بوم ینوم

بهروز علیزاده بهبهانی^۱، فریده طباطبایی‌یزدی^۲، فخری شهیدی^۳

دریافت مقاله: ۹۱/۱۰/۵ ارسال مقاله به نویسنده جهت اصلاح: ۹۱/۱۱/۴ پذیرش مقاله: ۹۲/۱/۲۴ دریافت اصلاحیه از نویسنده: ۹۲/۲/۴

چکیده

زمینه و هدف: خانواده Avicenniaceae کی از اعضای گیاهان مانگرو حقیقی است که دارای یک جنس، یازده گونه و چند زیرگونه می‌باشد. با توجه به وجود ترکیبات بیولوژیکی فعال و استفاده‌هایی که از این گیاه در طب سنتی به عمل می‌آید، به نظر می‌رسد این گیاه دارای اثرات ضد قارچی قابل ملاحظه‌ای باشد. هدف از این مطالعه، بررسی اثر ضد قارچی عصاره‌های آبی و مтанولی بر گیاه حرا علیه قارچ آلتناریا آلتنتانا و پنی‌سیلیوم سیترینوم می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش آزمایشگاهی، اثر ضد قارچی عصاره به دو روش تمام ظرف و روش انتشار در آگار بر میکروارگانیسم‌های 5224 *Penicillium citrinum* PTCC 5304 و *Alternaria alternata* PTCC 5224 مورد بررسی قرار گرفت. حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشنندگی (MFC) با استفاده از روش رقت لوله‌ای تعیین شد. تجزیه و تحلیل نتایج با استفاده از آزمون آنالیز واریانس (ANOVA) انجام شد.

یافته‌ها: در روش انتشار در آگار همه غلظت‌های عصاره مтанولی اثر بازدارندگی داشت. در روش تمام ظرف عصاره مтанولی در غلظت ۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر اثر بازدارندگی داشت، اما عصاره آبی در غلظت ۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر فاقد اثر ضد قارچی مشخصی بود. MIC عصاره مтанولی بر گ حرا برای پنی‌سیلیوم ۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و برای آلتناریا ۱۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود، در حالی که MIC عصاره آبی برای پنی‌سیلیوم ۳۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و برای آلتناریا ۶۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. MFC عصاره مтанولی بر گ حرا برای پنی‌سیلیوم ۱۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و برای آلتناریا ۳۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. MFC عصاره آبی برای پنی‌سیلیوم ۶۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و برای آلتناریا ۲۵۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود.

نتیجه‌گیری: عصاره مтанولی بر گیاه حرا در مقایسه با عصاره آبی در شرایط آزمایشگاهی اثر بازدارندگی بیشتری بر روی سویه‌های مورد مطالعه داشت.

واژه‌های کلیدی: گیاه حرا، عصاره آبی و مтанولی، اثر ضد قارچی

۱- (نویسنده مسئول) دانشجوی کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
تلفن: ۰۵۱۱-۸۷۶۳۴۲، دورنگار: ۰۵۱۱-۸۷۶۳۴۲، پست الکترونیکی: behrooz66behbahani@gmail.com

۲- دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

۳- استاد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

مقدمه

برگ‌ها است. این گیاه دارای انواع ترکیبات فعال ظلیر انواع فیتوالکسین‌ها، استروئیدها و اسیدهای کربوکسیلیک، بن‌ها، فلاونوئیدها، ایریدوئیدها و تری در از این گیاه درمان آبله و زخم‌ها استفاده شود [۲].

تاکنون تنها برخی از ترکیبات گیاه حرا که خاصیت ضد میکروبی دارند شناسایی شده‌اند، از جمله این ترکیبات ۲-Benzoxazolin اشاره نمود این ترکیب دارای خصوصیات ضد تبی، خواب‌آوری و شل باشد. مشتقات ریبوزاین ترکیب را می‌توان به عنوان عوامل ضد سلطانی و ضد ویروسی بکار برد [۴]. ماده روتونون از جمله ترکیبات بیواکتیو بسیار فعال در گیاهان مانگرو می‌باشد، این ترکیب به فراوانی در گونه‌های

Derris Tephrosia Lonchocarpus گرم‌سیری نظیر شود [۵].

در مطالعه Sharaf و همکاران بر روی گونه Avicennia marina دو ترکیب جدید فلاونوئیدی از عصاره متابولی برگ این گیاه جداسازی شد این محققان اثر ضد میکروبی و ضد سلطانی این دو ترکیب را تأیید کردند [۶]. در Taherzadeh و همکاران اثر د ویروسی گیاه حرا ویروس پولیو در ت سلولی مورد بررسی قرار گرفت، نتایج مطالعه مذکور نشان داد که غلظت / میکروگرم بر میلی‌لیتر از عصاره برگ گیاه حرا بر ۰٪ از سلول‌ها اثر سمی دارد [۷].

قارچ نی‌سیلیوم می‌توانند اثرات زیان‌باری بر سلامت انسان داشته باشند و منجر به بروز عفونت، آلرژی و حتی عوارض توکسیک ناشی از تماس با این عوامل گردد [۵]. آلترناریا بک قارچ سیاه و گندرو اجباری خاک و بیماری‌زا در عین حال گزارش ، های انسانی آن از های چشمی، مخاط

استفاده از گیاهان دارویی به منظور درمان با تاریخ زندگی انسان هم زمان بوده است، اما در نیم قرن گذشته استفاده از داروهای شیمیایی و سنتزی به شدت رواج یافت، ولی ب سریع آثار زیان بار آن‌ها بر زندگی سبب گرایش به استفاده مجدد از گیاهان دارویی گردید [۱]. امروزه، تخمین زده شده است که از مردم هنوز ۹ درمان‌های سنتی تکیه دارند. در سال‌های اخیر تحقیقات بسیاری برای ارزیابی آثار ضد میکروبی انواع انسان‌ها و عصاره‌ها صورت گرفته است که حاکی از قدرت و توانایی این ترکیبات در ممانعت از رشد دامنه وسیعی از میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا و عامل فساد در مواد غذایی شد. گیاهان دارویی، اسانس‌ها و عصاره‌های آن درجات متنوعی از فعالیت بیولوژیکی را دارا هستند و فعالیت ضد میکروبی تعداد زیادی از آن‌ها نشان داده شده است [۸].

گیاه حرا ه عنوان ، از اکوسیستم مانگرو دارای توانایی‌های بالقوه‌ای د. گیاه مانگرو به اجتماعات جنگلی سازگار با آب و خاک شور ساحل دریا اطلاق می‌شود [۳]. انتشار گیاه حرا در ایران به نواحی حاشیه خلیج فارس همچون بلوچستان، بندر خمیر، جزیره قشم، لافت، بندر گواتر و بندر دیر محدود می‌شود. انتشار جهانی این گیاه در سواحل و مرداب‌ی ساحلی مصر و عربستان، باتلاق‌ها و مرداب‌های ساحلی دریای سرخ، دریای عربی از سواحل پاکستان تا بمبهی در هندوستان می [۹].

عنصر اصلی سازنده جنگل‌های مانگرو نهای به نام Avicennia marina است نه از مقاوم ، های مانگرو موجود در جهان است. از ویژگی‌های درختان حرا شیرین کردن آب دریا و مصرف آن و ترشح نمک از طریق

میکروبیولوژی (۰٪ میکرونی) حت شرایط اسپتیک (استریل) عبور داده شد. برای به دست آوردن عصاره متنالوی، مخلوط حاصل به مدت ۱ ساعت در دمای آزمایشگاه نگهداری و هر چند ساعت یکبار با یک میله نهایی به هم زده شد. مخلوط آبی نیز به مدت دقیقه روی شعله قرار گرفت تا مایع کرم رنگی به دست آمد. مایع رویی پس از جمع‌آوری با دور rpm بدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد سپس از صافی / میکرونی عبور داده و در ادامه از دستگاه روتاری (تقطیر در) حذف حلال استفاده گردید، در و منظور جلوگیری از اثر نور و در ظرفی استریل ورق آلومینیوم ازمان آزمایش در دمای یخچال نگهداری گردید [-].

تعیین وزن خشک عصاره برگ گیاه حرا: ابتدا وزن یک لوله آزمایش تعیین و پس از آن بتر از عصاره‌های آبی و متنالوی در آن ریخته شد، سپس محتوی لوله در دمای اتاق خشک گردید. بعد از خشک شدن عصاره، وزن لوله آزمایش مجددًا تعیین شد. اختلاف وزن لوله معادل با وزن را از عصاره‌های آبی و متنالوی است. میانگین سه بار تکرار، به عنوان وزن خشک عصاره تعیین شد. میزان استحصال عصاره متنالوی ۴٪ و عصاره آبی ۰٪ بود.

تهیه سوسپانسیون قارچی: برای تهیه سوسپانسیون قارچی نیاز به کشت تازه از هر گونه قارچ می‌اشد. بنابراین ۷۲ ساعت قبل از انجام آزمایش، از کشت ذخیره به محیط نت شبدار سابرودکستروزآگار (SDA) تلقیح انجام پس از رشد کشت مربوطه سطح آن توسط محلول رینگر شسته شد و سوسپانسیون غلیظ قارچی تهیه گردید. آنگاه مقداری از این سوسپانسیون قارچی در لوله استریل درب دار حاوی محلول رینگر استریل ریخته شد و

، ضایعات جلدی اونیکومیکوز و عفونت ریوی این گونه قارچ خصوصاً آلترناریا آلترنانا موجود است []. بسیاری از قارچ‌ها از جمله پنی‌سیلیوم سیترینوم و آلترناریا آلترنانا مواد سمی (مایکوتوكسین) یکنند. برخی از این سموم جهش‌زا و سرطان‌زا می‌باشند و بعضی نسبت به اندام مشخصی خاصیت سمی نشان می‌دهند [].

هدف از این مطالعه، بررسی اثرات ضد قارچی عصاره برگ گیاه حرا علیه قارچ آلترناریا آلترنانا و پنی‌سیلیوم سیترینوم می‌باشد، تا بتوان با استفاده از عصاره برگ گیاه حرا در مکان‌هایی همانند درمانگاه‌ها، استخرها، کارخانجات مواد غذایی و ... از شیوع بیماری‌های تنفسی و آرلزی جلوگیری نمود.

مواد و روش

مواد اولیه: این پژوهش آزمایشگاهی در آزمایشگاه میکروبیولوژی صنعتی و فناوری‌های نوین گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد انجام پذیرفته است. ویهای میکروبی توسط دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد اهدا گردید. برگ‌های تازه گیاه حرا در شهریورماه سال ۱۴۰۲ از جزیره برگ‌ها با همکاری هرباریوم و آزمایشگاه سیستماتیک گیاهی دانشکده علوم پایه و پژوهشکده علوم دانشگاه فردوسی مشهد شناسایی گردید و در نهایت، برگ‌های حرا در شرایط مناسب و در خشک و جهت تهیه عصاره با آسیاب مدل WARING پودر شد.

تهیه عصاره الکلی و آبی برگ گیاه حرا: برای تهیه عصاره از روش خیساندن استفاده شد. به این ترتیب که به گرم از پودر برگ گیاه حرا، مقدار متنالوی ۹۶ درجه یا آب مقطر اضافه گردید. جهت حذف آلودگی میکروبی، عصاره‌های حاصل از فیلترهای

سانتی‌گراد با استفاده از خط کش به طور دقیق قطر هاله دم رشد بر حسب میلی‌متر اندازه ییری شد.

آزمایشات با ۳ تکرار انجام گرفت] - [.

(Minimum) تکننده از رشد

Inhibitory Concentration) با استفاده از روش رقت لوله‌ای حداقل غلظت مهارکننده رشد عصاره‌های آبی و مтанولی برگ گیاه حرا تعیین گردید. برای تعیین MIC برای هر عصاره از یک سری ۷ تایی لوله آزمایش استریل استفاده شد، ۶ لوله برای آزمایش رقت‌های مختلف (و میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) هر عصاره و یک لوله هم به عنوان کنترل بکار رفت. س از کشت تمام لوله‌های آزمایش به مدت ساعت در دمای ۲ درجه گراد گرم گذاری شد. س از طی زمان گرم گذاری لوله‌ها از نظر کدورت ناشی از رشد قارچ‌های تلقيق شده مورد بررسی قرار گرفتند این روش برای هر دو عصاره آبی و مtanولی و هر قارچ بار تکرار شد [.

(Minimum Fungicidal) کشنده‌گی

Concentration) با استفاده از روش رقت ای حداقل غلظت مهارکننده رشد عصاره‌های آبی و مtanولی برگ گیاه حرا تعیین گردید. برای تعیین MFC برای هر عصاره از ۹ تایی لوله آزمایش استریل استفاده شد برای آزمایش رقت‌های مختلف (و میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) هر عصاره و یک لوله هم به عنوان کنترل به کار رفت. س از کشت تمام لوله‌های آزمایش به مدت ساعت در دمای ۲ درجه گراد گرم گذاری شدند. این روش برای هر دو عصاره آبی و مtanولی و هر قارچ ۳ بار تکرار شد [.

آنالیز آماری: برای تجزیه و تحلیل داده ا از نرم‌افزار آماری SPSS ۱۱ استفاده شد. از آزمون آنالیز

کدورت آن توسط اسپکتروفوتومتر در طول موج نانومتر اندازه‌گیری شد و تا هنگام برابر شدن کدورت محلول با کدورت ۵٪ محلول استاندارد مک فارلن، توسط محلول رینگر رقیق شد. سوسپانسیون تولیدی بایستی حاوی Colony Forming Unit (CFU) / ml × [.

بررسی فعالیت ضد قارچی: بررسی اثر ضدقارچی عصاره‌های مtanولی و آبی برگ گیاه حرا با استفاده از دو روش اضافه نمودن عصاره به محیط کشت (تمام ظرف) و روش انتشار در آگار به کمک دیسک بررسی شد. در روش تمام ظرف ۲٪ گرم از عصاره مtanولی به لیتر آب مقطر استریل اضافه گردید و برای یکنواخت شدن به کمک دستگاه ورتکس هم زده شد. این محلول به ظرف‌های پتری استریل اضافه گشت غلظت نهایی عصاره در پلیت میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود [. از افزودن عصاره، محیط کشت استریل سابروکستروزآگار (مرک آلمان) در دمای اتاق (۲ درجه نی‌گراد) به ظرف‌های پتری اضافه گشت. یک لوب از کشت استاندارد هر سوش بر روی این محیط‌ها کشت داده شد و به مدد ۷ ساعت در دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. از محیط دارای عصاره و بدون قارچ نیز به عنوان کنترل استفاده شد [۱۶]. در روش انتشار در آگار به کمک دیسک، ابتدا یک لوب از کشت استاندارد هر سوش بر روی این محیط‌ها کشت داده شد. های میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به وسیله آب مقطر استریل تهیه و دیسک‌های کاغذی (واتمن و به قطر نر) با آن آغشته گشت و توسط پنس استریل در سطح محیط کشت قرار داده شد و با کمی فشار بر روی محیط کشت ثابت گردید. بعد از ساعت در دمای درجه گرم

عصاره آبی روی *Alternaria alternata* PTCC 5224 و *Penicillium citrinum* PTCC 5304 مؤثر نبوده، و فقط میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره آبی برگ گیاه حرا اثر بازدارندگی را نشان داد.

ایج حاصل از حداقل غلظت بازدارندگی عصاره‌های آبی و میانولی برگ گیاه حرا در جدول ۲ آورده شده است. نتایج نشان می‌دهد MIC عصاره میانولی برگ گیاه حرا برای قارچ پنی میلیوم میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و برای قارچ آلتنتاریا میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود، در حالی که MIC عصاره آبی برای قارچ پنی سیلیوم میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و برای قارچ آلتنتاریا میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود.

نتایج حاصل از حداقل غلظت کشنده‌گی عصاره‌های آبی و میانولی برگ گیاه حرا در جدول ۳ آورده شده است. نتایج نشان می‌دهد MFC عصاره میانولی برگ گیاه حرا برای قارچ پنی میلیوم میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و برای قارچ آلتنتاریا میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود در حالی که MFC عصاره آبی برای قارچ پنی سیلیوم میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و برای قارچ آلتنتاریا میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود.

واریانس یک طرفه (ANOVA) از آزمون Tukey جهت بررسی اختلاف بین میانگین استفاده گرد .
 $p < 0.05$ در نظر گرفته .

نتایج حاصل از بررسی اثر ضد قارچی عصاره آبی و میانولی برگ گیاه حرا به روش تمام ظرف نشان می‌دهد که عصاره میانولی در *Penicillium* و *Alternaria alternata* PTCC 5224 روی *Penicillium citrinum* PTCC 5304 کاملاً مؤثر بوده و از رشد آن وی محیط کشت جلوگیری به عمل آورد.

عصاره آبی در میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بروی هر دو گونه قارچی مؤثر نبود. نتایج حاصله از بررسی اثرات ضد قارچی عصاره آبی و میانولی برگ گیاه حرا به روش انتشار در آگار در جدول آورده شده است. این نتایج نشان دهد که عصاره میانولی برگ گیاه حرا در تمامی (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) *Penicillium* و *Alternaria alternata* PTCC 5224 *Penicillium citrinum* PTCC 5304 دارای اثر بازدارندگی بود. میلی‌گرم بر میلی‌لیتر،

جدول ۱- میانگین قطره‌الله عدم رشد قارچ آلتنتاریا آلتنتاریا و پنی سیلیوم سیترینوم بر حسب میلی‌متر در حضور عصاره‌های میانولی و آبی برگ گیاه حرا (انتشار در آگار)

غلظت عصاره برگ گیاه حرا (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)

نوع عصاره	میکروارگانیسم	آلتنتاریا آلتنتاریا				
آبی	۰/۵۰±۷/۵۰	۰/۵۷±۸/۹۰	۰/۲۸±۱۰/۶۰	۰/۵۷±۱۲/۷۰	۰/۲۸±۱۴/۷۰	۰/۲۸±۷/۶۰
آبی	-	-	-	-	-	۰/۲۸±۸/۱۰

• علامت (-) نشان دهنده عدم وجود فعالیت ضد قارچی عصاره آبی برگ گیاه حرا می‌باشد.

جدول ۲- نتایج حداقل غلظت مهارکنندگی رشد (MIC) عصاره‌های مтанولی و آبی عصاره برگ گیاه حرا بر آلترناریا آلترناتا و پنی‌سیلیوم سیترینوم

نوع عصاره	میکروارگانیسم	غلظت عصاره برگ گیاه حرا (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)							کنترل
		-	-	-	+	+	+	-	
آبی	آلترناریا آلترناتا	-	-	-	+	+	+	-	
	وم ینوم	-	-	+	+	+	+	-	
	آلترناریا آلترناتا	-	-	-	-	-	+	-	
	وم ینوم	-	-	-	-	+	+	-	

+: عدم رشد -: رشد

جدول ۳- نتایج حداقل غلظت کشندگی (MFC) عصاره‌های مтанولی و آبی عصاره برگ گیاه حرا بر آلترناریا آلترناتا و پنی‌سیلیوم سیترینوم

نوع عصاره	میکروارگانیسم	غلظت عصاره برگ گیاه حرا (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)							کنترل
		-	-	-	-	+	+	+	
آبی	آلترناریا آلترناتا	-	-	-	-	+	+	+	
	وم ینوم	-	-	-	+	+	+	+	
	آلترناریا آلترناتا	-	-	-	-	-	-	+	
	وم ینوم	-	-	-	-	+	+	+	

+: عدم رشد -: رشد

ضد میکروبی را دارند [۲۲]. نتایج حاصل از بررسی اثر ضد قارچی عصاره مтанولی و آبی برگ گیاه حرا به روش انتشار در آگار نشان داد، از نظر تئوری قطر هاله عدم رشد عکس‌العملی از غلظت ماده مؤثره موجود در گیاه است. این پدیده یک ارتباط خطی بین اندازه هاله و لگاریتم غلظت ماده مورد آزمایش می‌[۲].

آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) نشان داد که با افزایش غلظت عصاره مтанولی برگ گیاه حرا قطر هاله عدم رشد به طور معنی‌داری در سطح $p < 0.05$ افزایش یافت. همچنین، نتایج مقایسه دو به دو میانگین همه نشان داد که بین مقایسه میانگین تها تفاوت نی‌دار می‌باشد به طوری که می‌توان نتیجه گرفت که با افزایش غلظت عصاره مtanولی برگ گیاه حرا، میزان قطر هاله عدم رشد افزایش پیدا کرد.

با توجه به نتایج حاصل از مطالعه حاضر می‌توان بیان نمود که عصاره مtanولی در مقایسه با عصاره آبی م تر بوده و دارای قدرت بازدارندگی بیشتری است که علت آن ممکن است استخراج بیشتر مواد مؤثر در برگ گیاه حرا به وسیله مtanول باشد، که این نتیجه با یافته‌های Mahasneh بر روی قطربی این گیاه انجام می‌گیرد [۲]. و مشخص گردید که عصاره آبی این گیاه نه اثر ضد میکروبی قابل ملاحظه‌ای بوده و عصاره آن، قادر مهار سودوموناس اثروژینوزا د هم خوانی دارد [۳].

Tian و همکاران در بررسی اثرات ضد میکروبی Galla chinesis (نوعی گیاه دارویی بومی چین)، گزارش دادند که عصاره‌های استراج شده توسط لاله‌ای اتیل‌استات، اتانول و آب به ترتیب بیشترین اثر

به علاوه، باکتری‌های موجود در خاک و مخمرها منجر به تجزیه و غیرفعال کردن این ماده در محیط می‌شوند لذا از اثرات مخرب و سمی این ترکیب در محیط جلوگیری به می‌آورند.

در طب سنتی از لاتکس، برای درمان زخم‌ها استفاده شود [۲]. زانتون‌ها از جمله مواد بسیار فعال موجود در این گیاهان می‌نند. این ترکیبات دارای خصوصیاتی نظیر سایتو توکسیستی، خواص ضد توموری، ضد التهابی ضد قارچی، افزایش فعالیت کولین استیل ترانسفراز و مهار آنزیم لیپید پراکسیداز می‌[۳]. لینالول مونوتربینی است که در طب سنتی استفاده‌های فراوانی داشته و در گیاهان مانگرو شود. این ترکیب دارای اثرات ضد باکتریایی و ضد قارچی قابل ملاحظه‌ی [۲۸]. بنابراین، می‌توان فعالیت ضد قارچی عصاره برگ گیاه حرا را به این ترکیبات نسبت داد. شالکون از ملہ ترکیبات فلاونوئیدی در گیاهان مانگرو حساب می‌آیند.

در م ای که Sato و همکاران روی این انجام دادند، از این می‌توان درمان استوماتیت‌های یی استفاده نمود [۴]. دست آمده و تأثیر ضد قارچی عصاره متانولی برگ گیاه حرا می‌توان با استفاده عصاره حاصل از برگ گیاه حرا در مکان‌های همانند درمانگاه‌ها، استخرها، کارخانجات مواد غذایی و ... از شیوع بیماری‌های تنفسی و آرژی جلوگیری نمود.

گیری

با توجه به نتایج حاصل از این پژوهش می‌توان بیان نمود عصاره برگ گیاه حرا در شرایط "In vitro" قارچی ای، های مورد داشته است. در ادامه لازم است مطالعات وسیع‌تر و دامنه‌داری در

پونیکالین و های موجود در گیاه حرا می‌ [۴]. در طی مطالعات آزمایشگاهی که توسط Asres و همکاران انجام گرفت مشخص گردید که گین قادر به مهار رشد مايكوباكتريوم تربوكلوزيس انسانی در غلظت‌های میکروگرم بر میلی‌لیتر و / میلی‌گرم بر میلی‌لیتر است [۲۴]. در طب سنتی از این دو ترکیب برای درمان هپاتیت و درماتیت استفاده می‌شده است. لوپئول و گوزیپول از جمله ترکیبات تری می‌هستند که در گونه Thespesia populnea خصوصیات ضد میکروبی برگ‌های این گونه را وابسته به وجود این دو ترکیب دانسته‌اند [۲۵]. نتایج حاصل از حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشنده‌ی (MFC) نشان داد که هر دو عصاره آبی و متانولی برگ گیاه حرا بر روی پنیسلیوم سیترینوم اثر باز دارندگی بیشتری داشتند.

Tajbakhsh و همکاران اثر ضد باکتری عصاره برگ باه حرا بر استافیلوكوکوس اورئوس، اشرشیاکلی و سودوموناس اتروزینوز را مورد بررسی قرار دادند. MBC از این پژوهش نشان داد صاره برای استا کوکوس اورئوس، اشرشیاکلی و سودوموناس اتروزینوز به ترتیب برابر با / میلی‌گرم بر میلی‌لیتر / میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و / میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. نهنجان، حداقل زمان لازم جهت می‌ MBC عصاره در مورد استافیلوكوکوس اورئوس ر رابطه با اششیاکلی ن و برای سودوموناس اتروزینوز را داشت [۵]. از جمله ترکیبات فعال موجود در این گیاهان لاتکس می‌باشد، اگر چه این ترکیب منجر به بروز آرژی می‌شود ولی از وی دیگر تا حدی از رشد قارچ

ر رابطه با اششیاکلی ن و برای سودوموناس اتروزینوز را داشت [۵]. از جمله ترکیبات فعال موجود در این گیاهان لاتکس می‌باشد، اگر چه این ترکیب منجر به بروز آرژی می‌شود ولی از وی دیگر تا حدی از رشد قارچ

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از خانم مهندس افساریان که در انجام آزمایشات ما را یاری کردند، قدردانی می‌گردد.

شرایط "In vivo" بر روی حیوانات آزمایشگاهی انجام شود ا دوز ر عصاره برگ گیاه حرا مشخص شود و نهایتاً بتوان این عصاره را به عنوان یک ماده سد میکروبی طبیعی و جدید معرفی کرد.

References

- [1] Natarajan V, Venugopal P, Menon T. Effect of Azadirachta indica (neem) on the growth pattern of dermatophytes. *Indian J Med Microbiol* 2003; 21(2): 98-101.
- [2] Nguefack J, Budde BB, Jakobsen M. Five essential oils from aromatic plants of Cameroon: their antibacterial activity and ability to permeabilize the cytoplasmic membrane of Listeria innocua examined by flow cytometry. *Let Appl Microbiol* 2004; 39(5): 395-400.
- [3] Field C. Rehabilitation of mangrove ecosystems: an overview. *Marine Pollut Bulletin* 1999; 37(8): 383-92.
- [4] Kathiresan K, Bingham BL. Biology of mangroves and mangrove ecosystems. *Adva Marine Biology* 2001; 40: 81-251.
- [5] Bandaranayake WM. Bioactivities, bioactive compounds and chemical constituents of mangrove plants. *Wet Ecology Manag.* 2002; 10(6): 421-52.
- [6] Minocha P, Tiwari K. A triterpenoidal saponin from roots of Acanthus illicifolius. *Phytochem* 1981; 20(1): 135-7.
- [7] Cunningham ML, Soliman MS, Badr MZ, Matthews H. Rotenone, an anticarcinogen, inhibits cellular proliferation but not peroxisome proliferation in mouse liver. *Cancer Let* 1995; 95(1): 93-7.
- [8] Sharaf M, El-Ansari M, Saleh N. New flavonoids from Avicennia marina. *Fitoterapia* 2000; 71(3): 274-7.
- [9] Taherzadeh M, Zandi K, Yaghoubi R, Tajbakhsh S, Rasteyan Z. Antiviral effects of mangrove plants of polio virus in cell culture. *J Med Plants* 1387; 24(1): 38-46. [Farsi].
- [10] Shadzi Sh. Medical Mycology. 7th ed.; Isfahan: Isfahan University Jahad Unit Publication 2000; pp: 100-2, 245-8. [Farsi].
- [11] Stark AA. Mutagenicity and carcinogenicity of mycotoxins: DNA binding as a possible mode of action. *Annual Rev in Microbiol* 1980; 34(1): 235-62.
- [12] Ahmad I, Mehmood Z, Mohammad F. Screening of some Indian medicinal plants for their antimicrobial properties. *J Ethnopharmacol* 1998; 62(2): 183-93.
- [13] Sattari M, Shahbazi A, Najarparyah SH. Antibacterial effect of aqueous and alcoholic extracts of eucalyptus on Pseudomonas aeruginosa. *Modares J Med Sci* 1384; 8(1): 19-23. [Farsi].

- [14] Naderi Nasab M, Nazem M. Bacteriology laboratory. Astan Gods Razavi Publication 1996; pp: 382-462.
- [15] Valero M, Salmeron M. Antibacterial activity of 11 essential oils against *Bacillus cereus* in tyndallized carrot broth. *Int J Food Microbiol* 2003; 85(1): 73-81.
- [16] Babayi H, Kolo I, Okogun J, Ijah U. The antimicrobial activities of methanolic extracts of *Eucalyptus camaldulensis* and *Terminalia catappa* against some pathogenic microorganisms. *Biokemistri* 2004; 16(2); 106-11.
- [17] Bauer A, Kirby W, Sherris JC, Turck M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Ame J Clini Patholo* 1966; 45(4): 493-6.
- [18] Shariff ZU. Modern herbal therapy for common ailments. Nature pharmacy series In Spectrum Books limited. University of Kingdom 2001; pp: 9-10, 69-80.
- [19] Benger S, Townsend P, Ashford RL, Lambert P. An in vitro study to determine the minimum inhibitory concentration of *Melaleuca alternifolia* against the dermatophyte *Trichophyton rubrum*. *The Foot* 2004; 14(2): 86-91.
- [20] Espinel-Ingroff A, Fothergill A, Peter J, Rinaldi M, Walsh T. Testing conditions for determination of minimum fungicidal concentrations of new and established antifungal agents for *Aspergillus* spp: NCCLS collaborative study. *J Clin Microbiol* 2002; 40(9): 3204-8.
- [21] Mahasneh AM. Screening of some indigenous Qatari medicinal plants for antimicrobial activity. *Phytother Res* 2002; 16(8): 751-3.
- [22] Tian F, Li B, Ji B, Yang J, Zhang G, Chen Y, et al. Antioxidant and antimicrobial activities of consecutive extracts from *Galla chinensis*: The polarity affects the bioactivities. *Food Chem* 2009; 113(1): 173-9.
- [23] Neef H, Declercq P, Laekeman G. Hypoglycaemic activity of selected European plants. *Phytother Res* 1995; 9(1): 45-8.
- [24] Asres K, Bucar F, Edelsbrunner S, Kartnig T, Höger G, Thiel W. Investigations on antimycobacterial activity of some Ethiopian medicinal plants. *Phytother Res* 2001; 15(4): 323-6.
- [25] Sunitha S, Nagaraj M, Varalakshmi P. Hepatoprotective effect of lupeol and lupeol linoleate on tissue antioxidant defence system in cadmium-induced hepatotoxicity in rats. *Fitoterapia* 2001; 72(5): 516-23.
- [26] Tajbakhsh S, Mahmoud pour M, Haghghi MA. Antimicrobial effect of *Avicennia marina* extract on *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *pseudomonas aeruginosa*. *South Med J* 2005; 8(1): 1-7. [Farsi].
- [27] Kathiresan K, Bingham BL. Biology of mangroves and mangrove ecosystems. *Adva Marine Biology* 2001; 40: 81-251.
- [28] Pattnaik S, Subramanyam V, Bapaji M, Kole C. Antibacterial and antifungal activity of aromatic constituents of essential oils. *Microbi* 1997; 89(358): 39-46.
- [29] Sato M, Tsuchiya H, Akagiri M, Takagi N, Iinuma M. Growth inhibition of oral bacteria related to denture stomatitis by anti-candidal chalcones. *Aust Dental J* 2008; 42(5): 343-6.

Antifungal Effect of Aqueous and Methanolic *Avicennia Marina* Leaves Extracts on *Alternaria Alternata* and *Penicillium Citrinum*

B. Alizadeh Behbahani¹, F. Tabatabaei Yazdi², F. Shahidi³, M. Mohebbi²

Received: 25/12/2012 Sent for Revision: 23/01/2013 Received Revised Manuscript: 13/04/2013 Accepted: 24/04/2013

Background and Objective: Avicenniaceae family is a member of true mangrove plants which has one genus, 11 species and several sub species. According to biologically active compounds and traditional uses of the leaves in the traditional medicinian it, seems that this plant has significant anti-fungal effects. The aim of this study was evaluation of antifungal effect of aqueous and methanolic extracts of *Avicennia marina* leaves against *Alternaria alternata* and *Penicillium citrinum*.

Materials and Methods: In this labratory study antifungal effect were of extracts evaluated by two methods, "Collins method" and "disk agar diffusion method" on *Alternaria alternata* PTCC 5224 and *Penicillium citrinum* PTCC 5304 microorganisms. The minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum fungicidal concentration (MFC) for both species were determined using "dilution method". Statistical analysis was carried out using analysis of variance (ANOVA) test.

Results: All methanolic extract concentrations had inhibitory effect in the disk agar diffusion method. In "Collins method" 2 mg/ml concentration of methanolic extract could prevent the growth of both strains on medium. The aqueous extract had no antifungal significant effect in 2 mg/ml concentration. The methanolic extract MIC of *Avicennia marina* leaves for *Penicillium citrinum* and *Alternaria alternata* were respectively 8 mg/ml and 16 mg/ml. But the aqueous extracts MIC of *Avicennia marina* leaves for *Penicillium citrinum* was 32 mg/ml and 64 mg/ml for *Alternaria alternata* was. The methanolic extract MFC of *Avicennia marina* leaves for *Penicillium citrinum* and *Alternaria alternata* were respectively 16 mg/ml and 32 mg/ml but the aqueous extracts MFC of *Avicennia marina* leaves for *Penicillium citrinum* was 64 mg/ml and 256 mg/ml for *Alternaria alternata*.

Conclusions: The methanolic extract of *Avicennia marina* leaves had more inhibitory effect than the aqueous extracts on both fungal species.

Keywords: *Avicennia marina*, Aqueous and methanolic extracts, Antifungal effect

Funding: This research was funded by Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad.

Conflict of interest: None declared.

Ethical approval: The Ethics Committee of Ferdowsi University of Mashhad approved the study.

How to cite this article: Alizadeh Behbahani B, Tabatabaei Yazdi F, Shahidi F, Mohebbi M. Antifungal Effect of Aqueous and Methanolic *Avicennia Marina* Leaves Extracts on *Alternaria Alternata* and *Penicillium Citrinum*. *J Rafsanjan Univ Med Sci* 2014; 12(12): 1015-24. [Farsi]

1- MSc. Student, Dept. of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
(Corresponding Author) Tel: (0511) 8763842, Fax:(0511) 8763842, E-mail: behrooz66behbahani@gmail.com

2- Associate Prof., Dept. of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

3- Prof., Dept. of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran