مقاله پژوهشی
مجله دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان
دوره ۱۲، اسفند ۱۳۹۲، ۱۰۲۴-۱۰۱۵

اثر ضد قارچی عصاره‌های آبی و متانولی برگ گیاه حرا (*Avicennia marina*) بر آلترناریا آلترناتا و پنی‌سیلیوم سیترینوم

بهروز علیزاده بهبهانی[۱]، فریده طباطبایی‌یزدی[۲]، فخری شهیدی[۳]، محبت محبی[۲]

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

چکیده

زمینه و هدف: خانواده *Avicenniaceae* یکی 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 متانولی برگ گیاه حرا علیه قارچ آلترناریا آلترناتا 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 *Alternaria alternata* PTCC 5224 و *Penicillium citrinum* PTCC 5304 مورد بررسی قرار گرفت. حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (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 متانولی اثر بازدارندگی داشت. در روش تمام ظرف عصاره متانولی 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 متانولی برگ حرا برای پنی‌سیلیوم ۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و برای آلترناریا ۱۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود، در حالی که MIC عصاره آبی برای پنی‌سیلیوم ۳۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و برای آلترناریا ۶۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. MFC عصاره متانولی برگ حرا برای پنی‌سیلیوم ۱۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و برای آلترناریا ۳۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود در حالی که MFC عصاره آبی برای پنی سیلیوم ۶۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و برای آلترناریا ۲۵۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود.

نتیجه‌گیری: عصاره متانولی برگ 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 متانولی، اثرضد قارچی

۱- (نویسنده مسئول) دانشجوی کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
تلفن: ۸۷۶۳۴۲-۰۵۱۱، دورنگار: ۸۷۶۳۴۲-۰۵۱۱، 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

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1392.12.12.5.1]

مقدمه

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 با تشخیص سریع آثار زیان بار آن‌ها بر زندگی، سبب گرایش به استفاده مجدد از گیاهان دارویی گردید [۱]. امروزه، تخمین زده شده ست که بیش از ۸۰٪ از مردم هنوز به درمان‌های سنتی تکیه دارند. در سال‌های اخیر، تحقیات بسیاری برای ارزیابی آثار ضد میکروبی انواع اسانس‌ها 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 می‌باشد. گیاهان دارویی، اسانس‌ها و عصاره‌های آن‌ها درجات متنوعی از فعالیت بیولوژیکی را دارا هستند و فعالیت ضد میکروبی تعداد زیادی از آن‌ها نشان داده شده ست [۲].

گیاه حرا به عنوان یکی از غالب‌ترین گونه‌های گیاهی اکوسیستم مانگرو دارای توانایی‌های بالقوه‌ای می‌باشد.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 مرداب‌های ساحلی مصر و عربستان، باتلاق‌ها و مرداب‌های ساحلی دریای سرخ، دریای عربی از سواحل پاکستان تا بمبئی در هندوستان می‌باشد [٤].

عنصر اصلی سازنده جنگل‌های مانگرو گونه‌ای به نام *Avicennia marina* است که از مقاوم‌ترین گونه‌های مانگرو موجود در جهان است. از ویژگی‌های درختان حرا شیرین کردن آب دریا و مصرف آن و ترشح نمک از طریق برگ‌ها است. این گیاه دارای انواع ترکیبات فعال نظیر انواع فیتوالکسین‌ها، استروئیدها و اسیدهای کربوکسیلیک، تانین‌ها، فلاونوئیدها، ایریدوئیدها و تری‌ترپن‌ها می‌باشد در طب سنتی از این گیاه جهت درمان آبله و زخم‌ها استفاده می‌شود [۵].

تاکنون تنها برخی از ترکیبات گیاه حرا که خاصیت ضد میکروبی دارند شناسایی شده‌اند، از جمله این ترکیبات می‌توان به 2-Benzoxazolin اشاره نمود این ترکیب دارای خصوصیات ضد تبی، خواب‌آوری و شل‌کنندگی عضلانی می‌باشد. مشتقات ریبوزاین ترکیب را می‌توان به عنوان عوامل ضد سرطانی و ضد ویروسی بکار برد [۶]. ماده روتنون از جمله ترکیبات بیواکتیو بسیار فعال در گیاهان مانگرو می‌باشد، این ترکیب به فراوانی در گونه‌های گرمسیری نظیر Lonchocarpus، Derris Tephrosia یافت می‌شود [۷].

در مطالعه Sharaf و همکاران بر روی گونه *Avicennia marina*، دو ترکیب جدید فلاونوئیدی از عصاره متانولی برگ این گیاه جداسازی شد این محققان اثر ضد میکروبی و ضد سرطانی این دو ترکیب را تأیید کردند [۸]. در مطالعه Taherzadeh و همکاران اثر ضد ویروسی گیاه حرا بر ویروس پولیو در کشت سلولی مورد بررسی قرار گرفت، نتایج مطالعه مذکور نشان داد که غلظت ۵۷۵۰/۹۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر از عصاره برگ گیاه حرا بر ۵۰٪ از سلول‌ها اثر سمی دارد [۹].

قارچ‌هایی همانند پنی‌سیلیوم می‌توانند اثرات زیان‌باری بر سلامت انسان داشته باشند و منجر به بروز عفونت، آلرژی و حتی عوارض توکسیک ناشی از تماس با این عوامل گردند [۵]. آلترناریا یک قارچ سیاه و گندرو اجباری خاک و بیماری‌زا می‌باشد، در عین حال گزارش‌هایی از عفونت‌های انسانی آن از جمله عفونت‌های چشمی، مخاط

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1392.12.12.5.1]

بینی، ضایعات جلدی اونیکومیکوز و عفونت ریوی به علت این گونه قارچ خصوصاً آلترناریا آلترناتا موجود ست [۱۰]. بسیاری از قارچها از جمله پنی‌سیلیوم سیترینوم و آلترناریا آلترناتا مواد سمی (مایکوتوکسین) تولید می‌کنند. برخی از ین سموم جهش‌زا و سرطان‌زا می‌باشند و بعضی نسبت به اندام مشخصی خاصیت سمی نشان می‌دهند [۱۱].

هدف از این مطالعه، بررسی اثرات ضد قارچی عصاره برگ گیاه حرا علیه قارچ آلترناریا آلترناتا و پنی سیلیوم 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 آلرژی جلوگیری نمود.

مواد و روش‌ها

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. سویه‌های میکروبی توسط دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد اهدا گردید. برگ‌های تازه گیاه حرا در شهریورماه سال ۱۳۹۱ از جزیره قشم جمع‌آوری شد. سپس، نمونه برگ‌ها با همکاری هرباریوم و آزمایشگاه سیستماتیک گیاهی دانشکده علوم پایه و پژوهشکده علوم دانشگاه فردوسی مشهد شناسایی گردید و در نهای ، 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 ۵۰ گرم از پودر برگ گیاه حرا، مقدار ۲۵۰ میلی‌لیتر متانول ۹۶ درجه یا آب مقطر اضافه گردید. جهت حذف آلودگی میکروبی، عصاره‌های حاصل از فیلترهای میکروبیولوژی (۰/۴۵ میکرونی) تحت شرایط اسپتیک (استریل) عبور داده شد. برای به دست آوردن عصاره متانولی، مخلوط حاصل به مدت ۲۴ ساعت در دمای آزمایشگاه نگهداری و هر چند ساعت یکبار با یک میله شیشه‌ای به هم زده شد. مخلوط آبی نیز به مدت ۲۰ دقیقه روی شعله قرار گرفت تا مایع کرم رنگی به دست آمد. مایع رویی پس از جمع‌آوری با دور ۳۰۰۰rpm به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد سپس از صافی ۰/۴۵ میکرونی عبور داده و در ادامه از دستگاه روتاری (تقطیر در خلا) جهت حذف حلال استفاده گردید، در نهایت و به منظور جلوگیری از اثر نور و گرما در ظروفی استریل با پوشش ورق آلومینیوم تا زمان آزمایش در دمای یخچال نگهداری گردید [۱۳-۱۲].

تعیین وزن خشک عصاره برگ گیاه حرا: ابتدا وزن یک لوله آزمایش تعیین و پس از آن ۱ میلی‌لیتر از عصاره‌های آبی و متانولی در آن ریخته شد، سپس محتوی لوله در دمای اتاق خشک گردید. بعد از خشک شدن عصاره، وزن لوله آزمایش مجدداً تعیین شد. اختلاف وزن لوله معادل با وزن ۱ میلی‌لیتر از عصاره‌های آبی و متانولی است. میانگین سه بار تکرار، به عنوان وزن خشک عصاره محاسبه شد. میزان استحصال عصاره متانولی ۱۱% و عصاره آبی ۸٪ بود.

تهیه سوسپانسیون قارچی: برای تهیه سوسپانسیون قارچی نیاز به کشت تازه از هر گونه قارچ می‌باشد. بنابراین ۷۲ ساعت قبل از انجام آزمایش، از کشت ذخیره به محیط ست شیب‌دار سابرودکستروزآگار (SDA) تلقیح انجام شد. 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

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1392.12.12.5.1]

کدورت آن توسط اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۳۰ نانومتر اندازه‌گیری شد و تا هنگام برابر شدن کدورت محلول با کدورت ۰/۵ محلول استاندارد مک فارلند، توسط محلول رینگر رقیق شد. سوسپانسیون تولیدی بایستی حاوی $1/5\times10^{8}$ Colony Forming Unit (CFU) /ml باشد [۱۵-۱۴].

بررسی فعالیت ضد قارچی: بررسی اثر ضدقارچی عصاره‌های متانولی 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 ۰/۲ گرم از عصاره متانولی به ۵ میلی‌لیتر آب مقطر استریل اضافه گردید و برای یکنواخت شدن به کمک دستگاه ورتکس هم زده شد. سپس، ۱ میلی‌لیتر از این محلول به ظرف‌های پتری استریل اضافه گشت غلظت نهایی عصاره در پلیت ۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود [۱۶].

از افزودن عصاره، محیط کشت استریل سابرودکستروزآگار (مرک آلمان) در دمای اتاق (۲۵ درجه سانتی‌گراد) به ظرف‌های پتری اضافه گشت. یک لوپ از کشت استاندارد هر سوش بر روی این محیط‌ها کشت داده شد و به مد ۷۲ 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 لوپ از کشت استاندارد هر سوش بر روی این محیط‌ها کشت داده شد. غلظت‌های ۲۰، ۴۰، ۶۰ و ۸۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به وسیله آب مقطر استریل تهیه و دیسک‌های کاغذی (جنس صافی واتمن و به قطر ۶ میلی‌متر) 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 گرم‌خانه به مد ۷۲ ساعت در دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد با استفاده از خط کش به طور دقیق قطر هاله رشد بر حسب میلی‌متر اندازه گیری شد. تمامی آزمایشات با ۳ تکرار انجام گرفت [۱۸-۱۷].

تعیین حداقل غلظت ممانعت‌کننده از رشد (Minimum Inhibitory Concentration): با استفاده از روش رقت لوله‌ای حداقل غلظت مهارکننده رشد عصاره‌های آبی و متانولی 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 (۲، ۴، ۸، ۱۶، ۳۲ و ۶۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) هر عصاره و یک لوله هم به عنوان کنترل بکار رفت. پس از کشت، تمام لوله‌های آزمایش به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد گرم‌خانه‌گذاری شد. پس از طی زمان گرم‌خانه‌گذاری لوله‌ها از نظر کدورت ناشی از رشد قارچ‌های تلقیح شده مورد بررسی قرار گرفتند این روش برای هر دو عصاره آبی و متانولی و هر قارچ ۳ بار تکرار شد [۱۹].

تعیین حداقل غلظت کشندگی (Minimum Fungicidal Concentration): با استفاده از روش رقت لوله‌ای حداقل غلظت مهارکننده رشد عصاره‌های آبی و متانولی برگ گیاه حرا تعیین گردید. برای تعیین MFC برای هر عصاره از یک سری ۹ تایی لوله آزمایش استریل استفاده شد، ۸ لوله برای آزمایش رقت‌های مختلف (۲، ۴، ۸، ۱۶، ۳۲، ۶۴، ۱۲۸ و ۲۵۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) هر عصاره و یک لوله هم به عنوان کنترل به کار رفت. پس از کشت، تمام لوله‌های آزمایش به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد گرم‌خانه‌گذاری شدند. این روش برای هر دو عصاره آبی و متانولی و هر قارچ ۳ بار تکرار شد [۲۰].

آنالیز آماری: برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۱۷ استفاده شد. از آزمون آنالیز

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1392.12.12.5.1]

واریانس یک طرفه (ANOVA) جهت مقایسه میانگین‌ها و از آزمون Tukey جهت بررسی اختلاف بین میانگین‌ها استفاده گردید. سطح معنی‌داری $p<0/05$ در نظر گرفته شد.

نتایج

نتایج حاصل از بررسی اثر ضد قارچی عصاره آبی و متانولی برگ گیاه حرا به روش تمام ظرف نشان می‌دهد که عصاره متانولی در غلظت ۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بر روی *Alternaria alternata* PTCC 5224 و *Penicillium citrinum* PTCC 5304 کاملاً مؤثر بوده و از رشد آن‌ها بر روی محیط کشت جلوگیری به عمل آورد. همچنین، عصاره آبی در غلظت ۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر برروی هر دو گونه قارچی موثر نبود. نتایج حاصله از بررسی اثرات ضد قارچی عصاره آبی و متانولی برگ گیاه حرا به روش انتشار در آگار در جدول ۱ آورده شده است. این نتایج نشان می‌دهد که عصاره متانولی برگ گیاه حرا در تمامی غلظت‌ها (۲۰، ۴۰، ۶۰ و ۸۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) بر *Alternaria alternata* PTCC 5224 و *Penicillium citrinum* PTCC 5304 دارای اثر بازدارندگی بود. همچنین غلظت‌های ۲۰، ۴۰ و ۶۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره آبی روی *Alternaria alternata* PTCC 5224 و *Penicillium citrinum* PTCC 5304 مؤثر نبوده، و فقط غلظت ۸۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره آبی برگ گیاه حرا اثر بازدارندگی را نشان داد.

نتایج حاصل از حداقل غلظت بازدارندگی عصاره‌های آبی و متانولی برگ گیاه حرا در جدول ۲ آورده شده است. نتایج نشان می‌دهد MIC عصاره متانولی برگ گیاه حرا برای قارچ پنی سیلیوم ۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و برای قارچ آلترناریا ۱۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود، در حالی که MIC عصاره آبی برای قارچ پنی‌سیلیوم ۳۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و برای قارچ آلترناریا ۶۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود.

نتایج حاصل از حداقل غلظت کشندگی عصاره‌های آبی و متانولی برگ گیاه حرا در جدول ۳ آورده شده است. نتایج نشان می‌دهد MFC عصاره متانولی برگ گیاه حرا برای قارچ پنی سیلیوم ۱۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و برای قارچ آلترناریا ۳۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود در حالی که MFC عصاره آبی برای قارچ پنی‌سیلیوم ۶۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و برای قارچ آلترناریا ۲۵۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود.

جدول۱- میانگین قطر هاله عدم رشد قارچ آلترناریا آلترناتا و پنی‌سیلیوم سیترینوم بر حسب میلی‌متر در حضور عصاره‌های متانولی و آبی برگ گیاه حرا (انتشار در آگار)

نوع عصاره	میکروارگانیسم	غلظت عصاره برگ گیاه حرا (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)			
		۲۰	۴۰	۶۰	۸۰
متانولي	آلترناریا آلترناتا	۰/۵۰±۷/۵۰	۰/۵۷±۸/۹۰	۰/۲۸±۱۰/۶۰	۰/۵۷±۱۲/۷۰
متانولي	پني‌سيليوم سيترينوم	۰/۲۸±۸/۳۰	۰/۵۷±۹/۹۰	۰/۲۸±۱۱/۲۰	۰/۲۸±۱۴/۷۰
آبی	آلترناریا آلترناتا	-	-	-	۰/۲۸±۷/۶۰
آبی	پني‌سيليوم سيترينوم	-	-	-	۰/۲۸±۸/۱۰

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

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1392.12.12.5.1]

جدول۲- نتایج حداقل غلظت مهارکنندگی رشد (MIC) عصاره‌های متانولی و آبی عصاره برگ گیاه حرا بر آلترناریا آلترناتا و پنی‌سیلیوم سیترینوم

نوع عصاره	میکروارگانیسم	غلظت عصاره برگ گیاه حرا (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)						
		کنترل	٦٤	٣٢	١٦	٨	٤	٢
متانولي	آلترناريا آلترناتا	-	+	+	+	-	-	-
متانولي	پني‌سيليوم سيترينوم	-	+	+	+	+	-	-
آبی	آلترناريا آلترناتا	-	+	-	-	-	-	-
آبی	پني‌سيليوم سيترينوم	-	+	+	-	-	-	-

+: عدم رشد -: رشد

جدول۳- نتایج حداقل غلظت کشندگی (MFC) عصاره‌های متانولی و آبی عصاره برگ گیاه حرا بر آلترناریا آلترناتا و پنی‌سیلیوم سیترینوم

نوع عصاره	میکروارگانیسم	غلظت عصاره برگ گیاه حرا (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)								
		کنترل	٢٥٦	١٢٨	٦٤	٣٢	١٦	٨	٤	٢	-
متانولي	آلترناريا آلترناتا	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-
متانولي	پني‌سيليوم سيترينوم	-	+	+	+	+	+	-	-	-	
آبی	آلترناريا آلترناتا	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
آبی	پني‌سيليوم سيترينوم	-	+	+	+	-	-	-	-	-	

+: عدم رشد -: رشد

بحث

با توجه به نتایج حاصل از مطالعه حاضر می‌توان بیان نمود که عصاره متانولی در مقایسه با عصاره آبی مؤثرتر بوده و دارای قدرت بازدارندگی بیشتری است که علت آن ممکن است استخراج بیشتر مواد مؤثر در برگ گیاه حرا به وسیله متانول باشد، که این نتیجه با یافته‌های مطالعه‌ای که توسط Mahasneh بر روی گونه قطری این گیاه انجام شد؛ و مشخص گردید که عصاره آبی این گیاه فاقد اثر ضد میکروبی قابل ملاحظه‌ای بوده و عصاره بوتانولی آن، قادر به مهار سودوموناس ائروژینوزا می‌باشد هم‌خوانی دارد [۲۱].

همچنین Tian و همکاران در بررسی اثرات ضد میکروبی Galla chinesis (نوعی گیاه دارویی بومی کشور چین)، گزارش دادند که عصاره‌های استراج شده توسط حلال‌های اتیل‌استات، اتانول و آب به ترتیب بیشترین اثر ضد میکروبی را دارند [۲۲]. نتایج حاصل از بررسی اثر ضد قارچی عصاره متانولی 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 می‌باشد [۲۳]. نتایج تحلیل آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) نشان داد که با افزایش غلظت عصاره متانولی 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 غلظت‌ها نشان داد که بین مقایسه میانگین همه غلظت‌ها تفاوت معنی‌دار می‌باشد به طوری که می‌توان نتیجه گرفت که با افزایش غلظت عصاره متانولی برگ گیاه حرا، میزان قطر هاله عدم رشد افزایش پیدا کرد.

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1392.12.12.5.1]

پونیکالین و پونیکالاگین از جمله اصلی‌ترین تانین‌های موجود در گیاه حرا می‌باشند [۵]. در طی مطالعات آزمایشگاهی که توسط Asres و همکاران انجام گرفت مشخص گردید که پونیکالاگین قادر به مهار رشد مایکوباکتریوم تربوکلوزیس انسانی در غلظت‌های ۶۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر و ۱/۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر ست [۲۴]. در طب سنتی از این دو ترکیب برای درمان هپاتیت و درماتیت استفاده می‌شده است. لوپئول و گوزیپول از جمله ترکیبات تری‌ترپنوئیدی هستند که در گونه *Thespesia populnea* به فراوانی یافت می‌شود و 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 کشندگی (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 گیاه حرا بر *استافیلوکوکوس‌اورئوس*، *اشرشیاکلی* و *سودوموناس‌ائروژینوزا* را مورد بررسی قرار دادند. نتایج از این پژوهش نشان داد MBC عصاره برای *استافیلوکوکوس‌اورئوس*، *اشرشیاکلی* و *سودوموناس‌ائروژینوزا* به ترتیب برابر با ۷/۹ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، ۱۵/۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و ۳۳/۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. همچنین، حداقل زمان لازم جهت تأثیر MBC عصاره در مورد *استافیلوکوکوس‌اورئوس* ۲۴ ساعت، ر رابطه با اش شیاکلی ۸ ت و برای *سودوموناس‌ائروژینوزا* ۱۲ اعت بود [۲۶]. از جمله ترکیبات فعال موجود در این گیاهان لاتکس می‌باشد، اگر چه این ترکیب منجر به بروز آلرژی می‌شود ولی از وی دیگر تا حدی از رشد قارچ‌ها نیز ممانعت به عمل می‌آورد.

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 عمل می‌آورند.

در طب سنتی از لاتکس، برای درمان زخم‌ها استفاده می‌شود [۲۷]. زانتون‌ها از جمله مواد بسیار فعال موجود در این گیاهان می‌باشند. این ترکیبات دارای خصوصیاتی نظیر سایتوتوکسیسیتی، خواص ضد توموری، ضد التهابی، ضد قارچی، افزایش فعالیت کولین‌استیل ترانسفراز و مهار آنزیم لیپید پراکسیداز می‌باشد [۵]. لینالول نوعی ترکیب مونوترپنی است که در طب سنتی استفاده‌های فراوانی داشته و در گیاهان مانگرو نیز یافت می‌شود. این ترکیب دارای اثرات ضد باکتریایی و ضد قارچی قابل ملاحظه‌ی نیز می‌باشد [۲۸]. بنابراین، می‌توان فعالیت ضد قارچی عصاره برگ گیاه حرا را به این ترکیبات نسبت داد. شالکون‌ها نیز از جمله ترکیبات فلاونوئیدی در گیاهان مانگرو به حساب می‌آیند.

در مطالعه‌ای که Sato و همکاران بر روی این ترکیب انجام دادند مشخص شد که از این ترکیب می‌توان جهت درمان استوماتیت‌های باکتریایی استفاده نمود [۲۹]. با توجه به نتایج به دست آمده و تأثیر ضد قارچی عصاره متانولی برگ گیاه حرا می‌توان با استفاده عصاره حاصل از برگ گیاه حرا در مکان‌هایی همانند درمانگاه‌ها، استخرها، کارخانجات مواد غذایی و ... از شیوع بیماری‌های تنفسی و آلرژی جلوگیری نمود.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج حاصل از این پژوهش می‌توان بیان نمود که عصاره برگ گیاه حرا در شرایط "*In vitro*" فعالیت ضد قارچی قابل ملاحظه‌ای بر سویه‌های مورد مطالعه داشته است. در ادامه لازم است مطالعات وسیع‌تر و دامنه‌داری در

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1392.12.12.5.1]

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

تشکر و قدردانی

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

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 Pollu 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, Najarpyrayh SH. Antibacterial effect of aqueous and alcoholic extracts of eucalyptus on Pseudomonas aeruginosa. *Modares J Med Sci* 1384; 8(1): 19-23. [Farsi].

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1392.12.12.5.1]

[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 microorgan_ isms. *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, Haghighi 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.

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1392.12.12.5.1]

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

B. Alizadeh Behbahani[1], F. Tabatabaei Yazdi[2], F. Shahidi[3], M. Mohebbi[2]

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 medician 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

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1392.12.12.5.1]