اثر ضد قارچی عصاره های آبی و اتانولی میوه درخت کاج تهران (Pinuselderica) برآسپرژیلوس نیجر و کاندیدا آلبیکنس

هانیه کاشانی [۱]، فریده طباطبایی یزدی[۲]*، سید علی مرتضوی[۳]، فخری شهیدی[۳]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
۲- دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
۳ – استاد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

***نشانی برای مکاتبه:** تلفن همراه:۰۹۱۶۸۷۲۹۶۱۹ ، دورنگار: ۸۷۶۳۴۲- ۰۵۱۱، tabatabai@um.ac.ir

دریافت مقاله: مهر نود و سه پذیرش برای چاپ: بهمن نود و سه

چکیده

مقدمه و هدف: *در دهه های اخیر عفونت های ناشی از قارچ های فرصب طلب سبب افزایش چشمگیری در میزان بروز بیماری ها شده است، همچنین وجود محدودیت هایی در درمان بیماری های قارچی از قبیل کمبود و گرانی داروهای ضد قارچی،عوارض جانبی آن‌ها و نیز مقاومت دارویی موجب توجه پژوهشگران به داروهای ضد قارچی جدید خصوصا داروهای گیاهی شده است. بنابراین هدف از این پژوهش بررسی اثر ضد قارچی عصاره های آبی و اتانولی میوه درخت کاج تهران بر دو سویه قارچی آسپرژیلوس نیجرو کاندیداآلبیکانس می‌باشد .*

روش کار: *در این مطالعه تجربی اثرات ضد قارچی عصاره های آبی و الکلی میوه درخت کاج تهران توسط دو روش دیسک دیفیوژن آگار در ۴ غلظت (۵ ، ۳۰ ، ۵۵ و ۸۰ میلی گرم بر میلی لیتر)و کشت آمیخته انجام شد. سپس حداقل غلظت مهار کنندگی و حداقل غلظت کشندگی تعیین گردید. در نهایت داده ها با نرم افزار آماری SPSS 16 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند و مقایسه میانگین ها در سطح اطمینان $p \leq ۰/۰۵$ با آزمون آنالیز واریانس (ANOVA) انجام شد .*

یافته ها: *MIC عصاره اتانولی برای آسپرژیلوس نیجر، ۳۲ میلی گرم بر میلی لیتر و MFC عصاره اتانولی نیز در مورداین قارچ، ۱۲۸میلی گرم بر میلی لیتر بود. از طرفیMIC عصاره آبی و اتانولی در مورد کاندیدا آلبیکانس به ترتیب برابر ۳۲ و ۸ میلی گرم بر میلی لیتر و MFC نیز در مورد این قارچ ۱۲۸ و ۶۴ میلی گرم بر میلی لیتر به دست آمد. در روش انتشار درآگار همه غلظت های عصاره اتانولی اثر بازدارندگی داشت. در روش کشت آمیخته آسپرژیلوس نیجر بیشترین مقاومت را در برابر عصاره اتانولی و آبی میوه درخت کاج تهران نشان داد.*

نتیجه گیری: *یافته های این پژوهش نشان می دهد که عصاره آبی و مخصوصا اتانولی میوه درخت کاج تهران دارای اثرات ضد کاندیدایی می باشد، بنابراین می توان امیدوار بود که در آینده با جایگزینی این عصاره به جای داروهای ضد قارچی شیمیایی که همواره دارای اثرات جانبی زیادی می باشد بتوان عفونت های قارچی را کنترل کرد .*

کلید واژه ها: میوه درخت کاج تهران/ اثر ضد قارچی/ آسپرژیلوس نیجر / کاندیدا آلبیکنس

مقدمه

افزایش عفونت های قارچی در افراد مبتلا به بیماری های وخیم و بیمارانی که به علت بیماری های زمینه ای از جمله لوسمی یا سندروم نقص ایمنی اکتسابی یا افرادی که به جهت شیمی درمانی یا پیوند اعضا دچار نقص ایمنی هستند به عنوان یکی از مهمترین عوامل مرگ و میر به شمار می رود (۱). عفونت های قارچی اگر چه در گذشته شیوع کمتری نسبت به عفونت های ویروسی و باکتریایی داشته اند ولی در چند دهه اخیر مسئول افزایش چشمگیری در بروز بیماری ها بوده اند . در بررسی های انجام شده مابین سالهای ۱۹۷۹ تا ۲۰۰۰میلادی در آمریکا بروز عفونت های قارچی ۲۰۷ درصد افزایش یافته است(۲) .

قارچ ها دسته ای میکرو ارگانیسم های عامل عفونت و بیماری به شمار می روند. از بین قارچ های متعدد قارچ های چون کاندیداآلبیکانس و آسپرژیلوس نیجر از جمله عوامل عفونی بیماری زا در انسان هستند .

کپک آسپرژیلوس نیجربه طور گسترده در طبیعت پراکنده شده است بدون آن که علائم ظاهری بیماری را نشان دهند، آسپرژیلوس نیجردر ایجاد اوتیت و یا عفونت گوش خارجی و همچنین در بروز آندوفتالمیت که نوعی بیماری نادر است و درموارد تزریق نامناسب دارویی،اندوکاردیت و در افرادی با عضو پیوندی به وجود می آید(۳). از طرفی به علت وجود آنزیم های تجزیه کننده در این قارچ ها،آنها می توانند درجه بالایی از فساد را هنگامی که بر روی یا داخل غذا قرار دارند موجب شود و این رو سلامتی انسان و حیوان را مورد تهدید قرار می دهد(۴).

مخمر کاندیدا آلبیکانس نیز جزئی از فلور طبیعی سطوح مخاطی حفره دهانی،دستگاه گوارش و واژن است، این قارچ در سطوح مخاطی تجمع و رشد می کند و بنابراین بیشتر عفونت های درون زاد از این نواحی ایجاد می شود(۵و ۶). علاوه بر این گونه های کاندیدا به عنوان چهارمین عامل از عوامل مرگ و میر ناشی از عفونت های دستگاه گردش خون به حساب آمده و ۳۵ درصد از موارد عفونت های خونی منجر به مرگ را شامل می شود(۷) .

از آنجایی که قارچ های بیماری زا یوکاریوت هستند درمان با داروهای ضد قارچی شیمیایی ممکن است سلول های بافت بیمار را هم تحت تاثیر قرار دهد. با توجه به این موضوع می توان از عصاره های گیاهی به عنوان داروی با عوارض جانبی کمتر،ارزان ،مقرون به صرفه و غیر مضر برای انسان و محیط زیست استفاده نمود(۸). در حال حاضر تعداد زیادی از گیاهان دارویی برای درمان عفونت های میکروبی و قارچی به ویژه در مناطق روستایی ایران که هنوز طب سنتی به عنوان روش اصلی برای درمان بیماری های مزمن می باشد،استفاده می شوند.

یکی از این گیاهان دارویی که از زمان های گذشته تا کنون درمانی و اثر بخش در مقابله با بیماری های مختلف داشته است میوه درخت کاج تهران) (Pinuseldericaمی باشد که زیر گونه ای از جنس*Pinus*است،این جنس متعلق به تیره کاج یاPinaceaeو راستهPinalاست که برخی از گیاه شناسان آن را یک گونه مستقل شناخته وعده ای دیگر آن را یکی از شکل های جغرافیایی کاج بروسیا یا واریته ای از کاج حلب دانسته اند(۹) ،این گونه بومی دشت الدار در جمهوری آذربایجان است.(۱۰) تاریخ ورود احتمالی این درخت به ایران بیش از ۸۰۰ سال پیش و در عهد صفویه تخمین زده می شود،در حالی که برخی دیگر قدمت آنرا در ایران به زمان هخامنشیان می رسانند(۹)، میوه مخروطی کاج تهران به شکل تخم مرغی واژگون،نامتقارن و گاهی در قسمت نوک کمی خمیده است. ۵ تا ۶ سانتیمترطول و ۳ تا ۴ سانتیمتر پهنا دارد. معمولا ۲-۳ عدد با هم بر روی پایکی کوتاه،به حالت راست،افقی و گاهی آویزان قرار دارند(۱۰) .

در متون طبی کهن ایران از قسمت های مختلف انواع رده کاج به خصوص صمغ آن برای درمان زخم های کهنه استفاده می شده است(۱۱). همچنین در طب سنتی ژاپن از مخروط کاج برای درمان سرطان معده و نیز به عنوان یک ماده محرک سیستم ایمنی در افراد مبتلا به لوسمی و نیز یک ماده ضد تومور استفاده می شده است، علاوه بر این مخروط کاج برخی از گونه های کاج برای سالهای بسیاری در درمان بیماری هایی نظیر آسم، برونشیت، سرفه و بیماری های دیگر در طب سنتی چین استفاده می شده است(۱۲). مخروط درخت کاج دارای انواع ترکیبات فعال نظیر پلی ساکارید ها،تانن ها،لیگنین ها و انواع مختلفی از ترکیبات فنلی و ترپنوئیدی می باشد.

هدف از مطالعه حاضر تعیین اثرات ضد قارچی میوه درختکاج تهران Pinuselderica بر ضد قارچ های آسپرژیلوس نیجر و کاندیدا آلبیکانس در شرایط آزمایشگاهی می باشد.

روش کار

در این مطالعه تجربی پس از تهیه میوه درخت کاج تهران جنس و گونه این گیاه در مرکز هرباریوم پژوهشکده گیاهی مشهد تعیین و تایید گردید. میوه ها قبل از آسیاب کردن در هوای آزاد و در سایه کاملا خشک گردید تا عمل خرد کردن آنها راحتتر صورت گیرد.

برای تهیه عصاره های آبی و اتانولی از روش خیساندن استفاده شد. دلیل استفاده از روش خیساندن عدم آسیب به تمام مواد موجود در در عصاره تهیه شده در گیاهان می باشد. جهت تهیه عصاره آبی و اتانولی به طور جداگانه به پودر گیاهی حاصل با رعایت نسبت ۱:۵ حلال (آب و اتانول)اضافه گردید. مخلوط حاصله به مدت ۴۸ ساعت و در دمای اتاق در انکوباتور شیکردار نگه داری گردید تا ترکیبات موثر موجود در گیاه استخراج شود.محلول صاف شده به مدت ۱۰ دقیقه با دور۳۰۰۰rpmسانتریفوژ گردید،در مرحله بعد به کمک دستگاه روتاری با دمای ۳۷ درجه سانتی گراد عصاره حاصله را تغلیظ نموده ودر ادامه در آون با همین درجه حرارت عصاره را خشک نمودیم(۱۳).

برای تعیین درصد استخراج عصاره ها ابتدا وزن یک پلیت آزمایشگاهی خالی را تعیین کرده و سپس ۱۵ میلی لیتر از عصاره های آبی و اتانولی را در آن ریخته،سپس محتوی پلیت ها را در دمای اتاق خشک گردید. پس از خشک شدن عصاره ها پلیت ها را مجددا وزن نموده و از وزن پلیت خالی کم نمودیم،میانگین سه بار تکرار را به عنوان وزن خشک و یا درصد استخراج عصاره در نظر گرفته شد(۱۴) .

قارچ های مورد استفاده در این طرح سوش های *Aspergillusniger*PTCC 5021 و *Candida albicans*PTCC5027 بودند،که طبق دستور العمل بعد از رشد آنها در محیط کشت تریپتون سویا در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد به مدت ۴۸ ساعت،روی محیط سابروز دکستروز آگار کشت داده شد و سپس از کلنی های رشد کرده سوسپانسیون قارچی تهیه گردید. برای این کار سطح کلنی رشد کرده در محیط سابروز دکستروز آگار را توسط نرمال سالین ۰/۹٪شسته و سوسپانسیون غلیظی از قارچ ها را تهیه می کنیم. سپس توسط پیپت استریل مقدار کمی از این سوسپانسیون را داخل لوله های استریل ریخته و با افزودن مقدار اضافه نرمال سالین و مقایسه آن با محلول ۰/۵مک فارلند سوسپانسیونی با غلظت 10^8CFU/ml ×۱/۵از قارچ به دست آوردیم(۱۵).

در این پژوهش بررسی اثرات ضد قارچی عصاره ها ی حاصل با دو روش کشت آمیخته و دیسک دیفیوژن آگار و نیز تعیین حداقل غلظت مهار

کنندگی(*Minimum Inhibitory Concentration;MIC*)و حداقل غلظت کشندگی(*Minimum Fungicide Concentration ; MFC*) انجام شد.

در روش کشت آمیخته، ۰/۲ گرم از عصاره های آبی و اتانولی به پنج میلی لیتر آب مقطر استریل اضافه گردید و به منظور یکنواخت شدن، عصاره ها به کمک دستگاه ورتکس هم زده شدند، سپس یک میلی لیتر از این محلول به پتری های استریل اضافه و غلظت نهایی عصاره در این حالت به ۲ میلی گرم بر میلی لیتررسید. در مرحله بعد محیط کشت استریل سابرود دکستروز آگار به پتری ها اضافه شده و در دمای اتاق زیر هود قرار گرفت، تا اینکه محیط کشت ها ببندد.سپس یک لوپ از کشت استاندارد هر سوش قارچی کشت داده شد و به مدت ۴۸ ساعت در انکوباتوربا دمای ۲۵ درجه سانتی گراد قرار گرفت. از محیط دارای عصاره و بدون قارچ نیز به عنوان کنترل استفاده گردید(۱۶و ۱۷).

در روش دیسک دیفیوژن آگار میزان هاله عدم رشد از طریق اندازه گیری قطر هاله انجام می گردد،به این صورت که غلظت های ۵ ، ۳۰ ،۵۵ و ۸۰ میلی گرم بر میلی لیتر از عصاره ها تهیه شد و پس از قرار دادن حجم مشخصی از این محلول ها بر روی هر دیسک،در کنار شعله دیسک ها خشک گردیدند سپس یک لوپ از کشت استاندارد هر سوش روی محیط کشت سابروز دکستروز آگار کشت داده شد و دیسک ها در جای مشخص شده و با رعایت فاصله مناسب قرار گرفتند و تاثیر آنها بر رشد قارچ ها بررسی و قطر هاله عدم رشد تعیین گردید.سپس محیط ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد گرمخانه گذاری شدند،پس از این مدت میانگین قطر هاله های عدم رشد برحسب میلی متر گزارش شد(۱۸) .

حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد(MIC)عصاره ها با استفاده از روش رقت – لوله تعیین گردید،بدین صورت که غلظت های مختلفی از عصاره ها (صفر به عنوان شاهد ،۲، ۴ ، ۸ ،۱۶ ،و ۳۲ میلی گرم بر میلی لیتر) در محیط مایع سابروز دکستروز براث تهیه و با ۰/۱میلی لیتر از سوسپانسیون قارچی CFU/ml $10^8 \times 1/5$تلقیح و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد گرمخانه گذاری شدند. پس از طی این زمان لوله ها از نظر کدورت ناشی از رشد قارچی با لوله شاهد مقایسه شدند .در ادامه حداقل غلظت کشندگی قارچی(MFC با استفاده از عدم رشد قارچی به دنبال تلقیح مجدد از غلظت های دو یا چهار برابر غلظت هایی که به عنوان(MIC) در نظر گرفته شده بود به محیط سابروز دکستروز آگار فاقد عصاره تعیین گردید(۱۹) .

برای تجزیه و تحلیل داده های حاصل و مقایسه میانگین ها از نرم افزار آماری SPSS 16و آزمون آنالیز واریانس (ANOVA) استفاده گردید و اختلاف بین میانگین ها با آزمون Tukeyدر سطح اطمینان $p \leq ۰/۰۵$ درصد انجام شد.

یافته ها

در روش آمیخته هر دو ارگانسیم *آسپرژیلوس نیجر و کاندیدا آلبیکنس* به غلظت ۲ میلی گرم بر میلی لیتر عصاره های آبی میوه درخت کاج تهران مقاومت نشان دادند ولی *کاندیدا آلبیکنس* به همین غلظت عصاره اتانولی حساس بود.

عصاره آبی میوه درخت کاج تهران در هیچ غلظتی روی *آسپرژیلوس نیجر موثر نبود.همین عصاره در غلظت ۵ میلی گرم بر میلی لیتر اثری روی کاندیدا آلبیکنس نداشت ولی* میانگین قطر هاله عدم رشد این ارگانیسم در برابر غلظت های ۳۰ ، ۵۵، و ۸۰ میلی گرم بر میلی لیتر عصاره آبی به ترتیب ۷ ±۰/۲ ، ۱۵ /۰ ±۷/۸ ، و ۲۵ /۰ ± ۸/۶ میلی متر بود. اختلاف مشاهده شده از نظر آماری معنی دار نبود.

میانگین قطر هاله عدم رشد آسپرژیلوس نیجر و کاندیدا آلبیکنس بر حسب میلی متر در حضور عصاره اتانولی میوه درخت کاج تهران در جدول ۱ نشان داده شده است. اختلاف مشاهده شده در مقادیر در هیچ موردی از نظر آماری معنی دار نبود.

جدول۱: میانگین قطر هاله عدم رشد آسپرژیلوس نیجر و کاندیدا آلبیکنس بر حسب میلی متر در حضور عصاره اتانولی میوه درخت کاج تهران

غلظت عصاره اتانولی (میلی گرم بر میلی لیتر)	۵	۳۰	۵۵	۸۰
Aspergillusniger	–	۷±۰/۱ ^{a}	۸/۲± ۰/۵ ^{a}	**۹/۱± ۰/۳ ^{a}**
Candida albicans	۷± ۰/۲ ^{a}	۷/۶ ± ۰ /۱ ^{a}	۸/۴± ۰/۵ ^{a}	**۹/۷± ۰/۳ ^{a}**

* علامت (-) نشان دهنده ی عدم وجود فعالیت ضد قارچی عصاره های آبی و اتانولی میوه درخت کاج می باشد.
* حروف مشابه در یک ردیف نشان دهنده عدم وجود تفاوت معنی دار در سطح $p \leq ۰,۰۵$ است.

MICعصاره اتانولی برای *Aspergillus niger* و *Candida albicans*به ترتیب ۳۲و ۸ میلی گرم بر میلی لیتر بدست آمد، در حالی که مقادیر MIC عصاره آبی برای *Candida albicans* ۳۲ میلی گرم بر میلی لیتر بود. عصاره آبی در هیچ غلظتی قادر به مهار رشد *Aspergillus niger* نبود(جدول ۲).

میزان حداقل غلظت کشندگی (MFC) عصاره اتانولی برای آسپرژیلوس نیجر ۱۲۸ میلی گرم بر میلی لیتر، میزان حداقل غلظت کشندگی عصاره آبی و اتانولی برای کاندیدا آلبیکنس نیز ۱۲۸ و ۶۴ میلی گرم بر میلی لیتر بدست آمد(جدول ۳).

جدول۲: نتایج حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) عصاره های اتانولی و آبی عصاره میوه کاج تهران بر *آسپرژیلوس نیجر* و *کاندیدا آلبیکنس*

نوع عصاره	سویه های قارچی	غلظت های بکار رفته از عصاره های میوه کاج(میلی گرم بر میلی لیتر)						
اتانولی		۲	۴	۸	۱۶	۳۲	۶۴	کنترل
	Aspergillus niger	–	–	–	–	+	+	–
	Candida albicans	–	–	+	+	+	+	–
آبی								
	Aspergillus niger	–	–	–	–	–	–	–
	Candida albicans	–	–	–	–	+	+	–

+ : عدم رشد – : رشد

جدول ۳ : نتایج حداقل غلظت کشندگی (MFC) عصاره های اتانولی و آبی میوه کاج تهران بر آسپرژیلوس نیجر و کاندیدا آلبیکنس

نوع عصاره	سویه قارچی	غلظت های بکار رفته از عصاره های میوه کاج تهران(میلی گرم بر میلی لیتر)								
اتانولی		۲	۴	۸	۱۶	۳۲	۶۴	۱۲۸	۲۵۶	کنترل
	Aspergillus niger	–	–	–	–	–	–	+	+	–
	Candida albicans	–	–	–	–	–	+	+	+	–
آبی										
	Aspergillus niger	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	Candida albicans	–	–	–	–	–	–	+	+	–

+ : عدم رشد – : رشد

بحث

عوامل مستعد کننده ای مانند استفاده وسیع و طولانی مدت ازآنتی بیوتیک ها ،کورتون ها ،داروهای سرکوب گر ایمنی و بیماری های زمینه ای چون دیابت ،ایدز و ... سبب شده است که میزان شیوع عفونت های قارچی نسبت به گذشته رو به افزایش باشد(۲)، بنابراین امروزه استفاده از گیاهان و ترکیبات گیاهی در درمان بیماری ها از جمله عفونت های قارچی به عنوان منبع کشف نشده ای برای تولید داروهای جدید صورت می گیرد.عصاره های آبی و اتانولی میوه درخت کاج تهران اثر ضد قارچی قابل توجهتری در سطح اطمینان ۰/۰۵ ≥p بر *کاندیدا آلبیکنس* نسبت به *آسپرژیلوس نیجر* نشان می دهد و از رشد آن در غلظت های کمتری جلوگیری می کند.

در یک مطالعه آزمایشگاهی نصیری کاشانی و همکاران (۱۳۸۸) اثرضد قارچی عصاره های آبی و الکلی موسیر ایرانی بر روی ۵ گونه قارچ ساپروفیت (آسپرژیلوس فومیگاتوس،آ.فلاووس،آ.نایجر، پنیسیلیوم کریزوژنوم وآلترناریا)و۲ گونه درماتوفیت (ترایکوفیتونمنتاگروفیتیس،میکروسپورومکنیس) مورد بررسی قرار دادند، که نتایج نشان دادکه آسپرژیلوس نیجر مقاوم ترین گونه نسبت به اثرات عصاره ها ی آبی و اتانولی موسیر ایرانی می باشد(۸).همچنین در بررسی صالحی و همکاران (۲۰۱۱) در مورد اثر عصاره متانولی بذر گیاه خار مریم

(*Silybummarianum*) بر قارچ های درماتوفیت و ساپروفیت در مقایسه با کلوتریمازول، اثر ضد قارچی قابل توجهی از عصاره متانولی دانه های خار مریم بر رشد قارچ های ساپروفیت به خصوص آسپرژیلوس نیجرگزارش نشد و این نتایج مشابه نتایجی بود که از کار ما به دست آمد(۲۰) .

در حالی که در مطالعه ی جلالی و همکاران (۱۳۸۶) فعالیت ضدمیکروبی عصاره های هیدروالکلی و هگزانی گیاه سگ دندان خاردار(*PycnocyclaSpinosaDecne*) بر روی دو گونه قارچی آسپرژیلوس نیجر و کاندیداآلبیکنس مورد بررسی قرار گرفت و نتایج نشان داد که *آسپرژیلوس نیجر* حساسیت بیشتری به هر دو نوع عصاره هیدروالکلی و هگزانی داشت. به طوری که حداقل غلظت بازدارندگی عصاره هیدروالکلی برای *آسپرژیلوس نیجر* برابر۱۵ میلی گرم بر میلی لیتر بود و قطر هاله مهار رشد برابر ۰/۶۶± ۷/۱ میلی متر ایجاد نمود، در صورتی که این عدد برای کاندیدا آلبیکنسبرابر۶۰ میلی گرم بر میلی لیتر بود که قطر هاله ای برابر با ۰/۱۴± ۶/۹میلی متر ایجاد نمود(۱۵). همچنین در مطالعه ای دیگر ایواناو و همکاران (۲۰۰۹) به ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی و ضدمیکروبی عصاره های تهیه شده با اعمال اولتراسوند و به روش کلاسیک از گیاه *Echinaceapurpurea L.*پرداخته و مشاهده نمودند،که در غلظت ۲۰ میلی گرم بر میلی لیتراز عصاره های ایجاد شده باروش اولتراسوند و کلاسیک، قطر هاله عدم رشد برای گونه کاندیدا آلبیکانسبه ترتیب ۰/۳ ± ۱۸/۲ و ۰/۱±۲۱ بود ، در حالی که در همین غلظت از عصاره ها در مورد گونه آسپرژیلوس نیجر هیچگونه هاله ای ایجاد نشد(۲۱).

همچنین در این بررسی آزمایشگاهی نتایج حاصل از بررسی وزن خشک دو عصاره اتانولی و آبی نشان داد که درصد استخراج (وزن خشک) عصاره اتانولی میوه درخت کاج تهران در مقایسه با عصاره آبی بیشتر،و همچنین اثر ضدمیکروبی عصاره اتانولی در غلظت های مختلف به مراتب بیشتر و موثر تر از عصاره آبی بوده است،احتمالا دلیل این امر می توان ناشی از این باشد که ترکیبات مهم و تاثیرگذار در فعالیت ضدمیکروبی خصوصا ضد قارچی، نیمه قطبی یا غیرقطبی بوده که در حلال غیرقطبی مانند اتانول حلالیت بیشتری دارند(۲۲).سدابی(۲۰۰۶) نیز در یک مطالعه، فعالیت ضد قارچی بعضی از گیاهان عربستان از جمله *Peganumharmala*را بر ضد قارچ های *آسپرژیلوس فلاووس، آسپرژیلوس فومیگاتوس، آسپرژیلوس نیجر* و *کاندیدا آلبیکنس* نشان داد. در این بررسی نیز، سه نوع عصاره(آبی ومتانولی و کلروفرمی) مورد استفاده قرار گرفت که عصاره متانولی موثرتراز سایر عصاره ها از جمله عصاره آبی بود(۲۳). همچنین در مطالعه ای که علیزاده بهبهانی و همکاران(۱۳۹۲)انجام دادند، دریافتند که عصاره اتانولی برگ گیاه حرا در مقایسه با عصاره آبی آن دارای اثر بازدارندگی بیشتری بر سوش های آلترناریا سیترینوم و پنی سلیوم دیجیتاتوم است که به علت استخراج بیشتر مواد موثر در برگ گیاه حرا توسط حلال اتانول است(۲۴). امادر مطالعه دیگری هواسیان و همکاران (۱۳۹۱)اثر مهاری عصاره آبی و الکلی گیاه تشنه داری(*Scrophulariastriata*)روی قارچ کاندیدا آلبیکانس در شرایط آزمایشگاهی بررسی کردند و به این نتیجه رسیدند که عصاره الکلی این گیاه هیچ تاثیری بر روی این قارچ در تمام غلظت های به کار رفته در این آزمایش نداشت. اما عصاره آبی آن در بالاترین غلظت دارای اثر مهاری ضعیفی می باشد که بر خلاف نتایج به دست آمده ما می باشد(۲۵).

حساسیت بیشتر کاندیدا آلبیکنس می تواند به علت متفاوت بودن درصد ترکیبات و نوع ترکیبات دیواره سلولی و غشای قارچی و فاکتورهای ویرولانسی مربوط باشد که احتمالا در کاندیدا آلبیکنس به مراتب کمتر از آسپرژیلوس نیجر می باشد(۲۶). نتایج حاصل از بررسی اثر ضد قارچی عصاره های اتانولی و آبی میوه درخت کاج به روش انتشار در آگار نشان داداز نظر تئوری قطر هاله عدم رشد عکس العملی از غلظت مواد موثره موجود در گیاه است.نتایج نشان می دهد که که با افزایش غلظت عصاره های آبی و اتانولی میوه درخت کاج قطر هاله عدم رشد به طور معنی داری افزایش یافته است.

نتیجه گیری

نتایج این مطالعه نشان داد عصاره اتانولی میوه درخت کاج دارای فعالیت ضد قارچی است . لذا با توجه به این موضوع می توان میدوار بود در آینده بتوان از این گیاه در درمان بیماری های منسوب به قارچ های مورد آزمایش بهره جست.علاوه بر این پیشنهاد می شود اثر ضد قارچی این گیاه علیه سایر گونه های قارچی بررسی شود و نیز جهت استفاده بالینی از عصاره این گیاه انجام تحقیقات بیشتری همچون بررسی فعالیت عصاره در دامنه PH های مختلف،تغییرات حاصل از حرارت دادن عصاره هاو یافتن مواد شیمیایی موثر در آنهارا توصیه نمود .

سپاس و قدردانی

بدین وسیله از زحمات جناب آقای مهندس بهروز علیزاده بهبهانی، خانم مهندس شهناز افشاریان و خانم مهندس مطهره پیرنیا که در انجام آزمایش ها ما را یاری نمودند، صمیمانه قدردانی می شود. مقاله علمی - پژوهشی حاضر مستخرج از پایان نامه دانشجویی با عنوان بررسی اثرات ضدمیکروبی عصاره های آبی و اتانولی میوه درخت کاج تهران علیه میکروارگانیسم های عامل عفونت و مسمومیت مواد غذایی در شرایط آزمایشگاهی با کد ۳/۳۰۱۰۷ در گروه مهندسی علوم و صنایع غذایی دانشگاه فردوسی مشهد می باشد. لذا نویسندگان مقاله بر خود لازم می دانند که از معاونت پژوهشی دانشگاه فردوسی مشهد جهت یاری رساندن در انجام طرح صمیمانه سپاسگذاری نمایند.

REFERENCES

1. FalahatiM ,Fateh R , Kiani J . [Antifungal effects of Peganumhermala L]. QUMJ 2011; 5(3):14-17.
2.Anaissie E, McGinnis M, Pfdla M. Clinical Mycology: 1st Ed. The Curtis Center, Independence Square West Philadelphia, USA,: 2003, 443 - 448, 195 - 225.

3.RM SD. Candida biofilms in medical devices: evolving trends. 2007.

4.Sayyah M. Moaied S. Kamalinejad M Anticonvulsant activity of Heracleumpersicum seed, J.Ethnopharmacol. 2005, Apr 8; 98 (1 - 2)209 - 11.

۵.Perumal P, Mekala S, Chaffin WL. Role for cell density in antifungal drug resistance in Candida albicans biofilms.Antimicrob Agents Chemother 2007; 51: 2454–63.

6.Seneviratne CJ, Jin LJ, Samaranayake YH, Samaranayake LP. Cell density and cell aging as factors modulating antifungal resistance of Candida albicans biofilms.Antimicrob Agents chemother.2008; 52: 3259-66.

7.Panácek A, Kolár M, Vecerová R, Prucek R, Soukupová J, Krystof V, et al. Antifungal activity of silver nanoparticles against Candida spp. Biomaterials.2009; 30: 6333-40.

8.Nasiri KashaniMJ,Falahati M,Motevalian M, Yazanparast S.A, FatehR.A.In vitro anti fungul activity of shallot extract and its comparision with miconazole.Qom. University of Medical Sciences.2009;3(3):13-18.

9.Zakizade.Ornamental trees. Gillan University Publication.2011.

10.Zare H. Native and non-native spices of conifers in Iran.1th ed. Research Insituation of Forest and Ranges in Iran.
11. Zargari .Medical Plants.5thed.Tehran:TehranUniversityPress . 1992 ؛3-6

12.Sakagami H.; Kawazoe Y.; Oh-hara, T.; Kitajima K.; Inoue Y.; Tanuma S.; Ichikawa S.; Konno K.. Stimulation of human peripheral blood polymorphonuclear cell iodination by lignin-related substances.J. Leuk. Biol.1991. 49:277

13.Naeini A, Jalayer Naderi N, Shokri H. Analysis and in vitro anti- Candida antifungal activity of Cuminum cyminum and Salvadora persica herbs extracts against pathogenic Candida strains. Journal of Medical Mycology. 2013.

14.AlizadehBehbahani B, TabatabaeiYazdi F, Mortazavi A, Zendeboodi F, Gholian M M , Vasiee A. Effect of aqueous and ethanolic extract of Eucalyptus camaldulensis L. on food infection and intoxication microorganisms “ in vitro” . Journal of Paramedical Science , 2013; 4(3):89- 99

15.Jalali M, Abedi D, Asghari G, Rezaie Z. A study of anti-microbial effect of pycnocycla spinosa's fruit extracts. MMUJ. 2007;17(59):76-86.

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. 2004; 16(2):106-111

17.TabatabaeeYazdi F, AlizadehBehbahani B, HeidariSureshjani M. The comparision of antimicrobial effects of Chevil (Ferulagoangulata) extract with a variety of common therapeutic antibiotic in vitro. AMUJ 2014; 17(84): 35-46

18. Portillo A, Vila R, Freixa B, Adzet T, Cañigueral S. Antifungal activity of Paraguayan plants used in traditional medicine. Journal of Ethnopharmacology. 2001;76(1):93-8.

19. Alizadeh Behbahani B, Tabatabaei Yazdi F, Shahidi F, Mortazavi A. Antimicrobial effects of Lavandula stoechas L. and Rosmarinus officinalis L. extracts on Escherichia coli and Staphylococcus aureus. Scientific Journal of Microbiology. 2013;2(1):15-22.

20.Salehi M., Hasanloo T, Mehrabian S, Farahmand S. Effects of Silybummarianum (L.) Gaertn seeds extract on dermatophytes and saprophytes fungi In vitro compare to clotrimazol. Pharmaceutical Sciences. 2011;16(4): 203-210.

21.Stanisavljevic I , Stojicevic S , Velickovic D , Veljkovic V , Lazic M . Antioxidant and antimicrobial activity of Echinoceapurpurea L. extracts obtained by classical and ultrasound extraction. Chinese Journal of Chemical Engineering. 2009; 17(3):478-483.

22.Ahmadi F , Sadeghi S , Modarresi M , Abiri R , Mikaeli A . Chemichalcomposition , in vitro antimicrobial , antifungal and antioxidant activities of of the essential oil and methanolic extract of HymenocraterlongiflorusBenth of Iran. Food and Chemical Toxicology2010 ; 48: 1137-1144.

23. Saadabi AM. Antifungal activity of some Saudi plants used in traditional medicine. Asian J Plant Sci. 2006;5(5):907-9.

24. AlizadehBehbahani B, TabatabaeiYazdi F, Shahidi F, Mohebbi M. Antifungal effect of aqueous and methanolicAvicennia Marina Leaves extracts on Alternariaalternata and Penicilliumcitrinum . RMUJ 2014; 12(12): 1015-24.

25.Havasian M.R, Panahi J, Pakzad I, Davoodian A, JalilianA,Zamanianazodi M.Inhibitory effect of hydroalcolic extract of Scrophulariastriataon Candida albicans “in vitro”.Journal of Research in Medical Sciences.2012;36(1):19-23.

26.Roudbary M , RoudbarmohammadiSh , Hajimoradi M , Taghizadeharmaki M , Ghasemisakha F, Vahidi M . Evaluation of antifungal activity of alcoholic extract and safranol of Crocus sativum on Candia albicans and Candida dublininsis"growth in vitro".JUMJ2009.