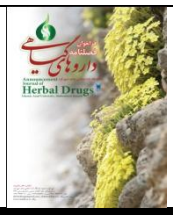


فصل‌نامه‌ی داروهای گیاهی

journal homepage: www.journal.iaushk.ac.ir

تأثیر تعدادی از عصاره های گیاهی بر روی رشد دو گونه از قارچ *آسپرژیلوس*

سیما یحیی آبادی[۱*]، الناز زیبانژاد[۲]، منیر دودی[۳]

۱. استادیار گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد فلاورجان، اصفهان، ایران ؛

*** مسئول مکاتبات (Email: *Yahya-abadi@iaufala.ac.ir*)**

۲. کارشناس ارشد گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد فلاورجان، اصفهان، ایران ؛

۳. استادیار گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد فلاورجان، اصفهان، ایران؛

شناسه مقاله

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۰/۰۴/۱۰

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۰/۷/۲۰

نوع مقاله: پژوهشی

موضوع: کنترل و بهداشت مواد غذایی

کلید واژگان :

- ✓ *آسپرژیلوس*
- ✓ *حداقل غلظت کشندگی*
- ✓ *ساپروفیت*
- ✓ *عصاره*

چکیده

مقدمه و هدف: در سال های اخیر استفاده از فرآورده های گیاهی در ممانعت عوامل بیماری‌زا از جمله ویروس‌ها، باکتری-ها، قارچ ها و انگل ها به‌طور گسترده مورد توجه قرار گرفته است. برخی از قارچ ها از جمله عوامل بیماری‌زا هستند که می-توانند در انسان، جانوران و گیاهان مختلف ایجاد اختلال نمایند. عصاره های گیاهی از جمله موادی هستند که به عنوان فرآورده های ضد قارچی مورد استفاده قرار گرفته اند. هدف از این مطالعه بررسی اثرات ضد قارچی عصاره های آبی شوید (*Anethum graveolens*)، آویشن (*Thymus vulgaris*)، گشنیز (*Coriandrum sativum*) و گل محمدی (*Rosa damascena*) برروی سویه های استاندارد و جداسازی شده‌ی (*آسپرژیلوس فلاووس*) و (*آسپرژیلوس فومیگاتوس*) است.

روش تحقیق: از روش چاهک جهت بررسی ممانعت از رشد عصاره های گیاهی استفاده شد و هاله ی عدم رشد غلظت های مختلف عصاره ها به طور جداگانه مورد بررسی قرار گرفت. حداقل غلظت مهارکنندگی رشد قارچ ها (MIC) به روش رقت سازی تعیین شد و در نهایت اثرات عصاره های آبی گیاهان نام‌برده با اثرات نیستاتین مقایسه گردید.

نتایج و بحث: نتایج این تحقیق نشان داد که در مورد *آسپرژیلوس فلاووس* استاندارد (PTCC 5006)، نیستاتین، عصاره های آبی شوید، آویشن و گشنیز به میزان برابر و در نهایت گل محمدی دارای بیشترین اثرات ضد قارچی بودند. در مورد سویه ی جداسازی شده‌ی این قارچ از محیط، نیستاتین، عصاره های آبی آویشن، گشنیز و سپس عصاره ی آبی شوید و در نهایت گل محمدی بیشترین اثرات ضد قارچی را داشتند. در مورد *آسپرژیلوس فومیگاتوس* استاندارد (PTCC 5009)، موثرترین ترکیبات ضد قارچی بررسی شده به ترتیب شامل نیستاتین، عصاره های آبی شوید، آویشن، گل محمدی و گشنیز بودند. در مورد سویه ی جداسازی شده ی این قارچ، موثرترین ترکیبات ضد قارچی به ترتیب شامل نیستاتین، عصاره های آبی شوید، آویشن، گشنیز و در نهایت گل محمدی بود. نتایج این تحقیق نشان داد که در تمامی موارد عصاره ها موجب کاهش رشد کلنی قارچ ها گردید که در این میان با افزایش غلظت عصاره های آبی شوید، آویشن، گشنیز و گل محمدی این اثر افزایش می یابد.

توصیه کاربردی/ صنعتی: با اثبات اثر بخش بودن عصاره های آبی برگ گیاهان شوید، آویشن، گشنیز و گل گیاه گل محمدی بر روی رشد دو گونه از قارچ آسپرژیلوس شامل *آسپرژیلوس فلاووس* و *آسپرژیلوس فومیگاتوس*، می توان امیدوار بود که بتوان در آینده با تخلیص ماده ی موثر گیاهان فوق و انجام تحقیقات بیشتر، به تولید صنعتی ترکیبی با اثرات ضد قارچی قابل قبول و عوارض جانبی کم برای درمان عفونت های قارچی دست یافت.

۱. مقدمه

شوید (*Anethum graveolens*)، گیاهی یک ساله است به ارتفاع ۳۰ سانتی متر تا یک متر که دارای ریشه ی راست، مخروطی شکل و به رنگ سفید می باشد. برگ های تازه و خشک شده ی این گیاه، معطر می باشند و برای طعم دهی در خیلی از غذاها به

کاربرده می شوند. اسانس برگ شوید دارای اثرات ضدباکتریایی می-باشد و از این لحاظ مانند سیر عمل می کند (Gurinde & Daljit, 2010). از متابولیت های ثانویه ی این گیاه می توان به آلکالوئیدها (۴/۲۳-۲/۸۰ ٪) ، فلاونوئیدها (۱۵/۰۶- ۸/۵۸ ٪) و تانن ها (۲۷/۷۷- ۱۹/۷۱٪) اشاره کرد (Kaur & Arora, 2009). هم چنین اسانس برگ های شوید دارای فلاندرن (۴۶٪) ، لیمونن (۲۱٪) ، آنتوفوران (۲۴٪) ، کاروون به مقدار ناچیز و ترپن است (Olle & Bender, 2010).

گل محمدی (*Rosa damascena*)، درختچه ای پر پشت، دارای خارهای ریز، زیاد و فشرده، پهن ، قلابی شکل و یکنواخت است. گل های آن صورتی (گاهی سرخ) و معطر است. از خواص دارویی گل‌برگ های گل محمدی، ضد اضطراب ، ضد باکتری و ویروس ، تقویت کلیه و قلب و ضد التهاب بودن را می توان بر شمرد (Nikbakht *et al*., 2005). از عصاره ی آن سه فلاونول گلیکوزید جداسازی شده است که عبارت از کوئرستین – ۳ – O – گلیکوزید، کائمفرول – ۳ – ۵ – هامنوزید و کائمفرول – ۳ – O – آرابینوزید می باشد. هم چنین گزارش شده است که اسانس گل محمدی و ترکیبات آن(سیترونلول، ژرانیول و نرول) خواص ضد میکروبی قوی در برابر برخی از باکتری ها و قارچ ها دارند (Yassa *et al*., 2009).

گشنیز (*Coriandrum sativum*)، گیاهی علفی، یک ساله و سبز است که ارتفاع آن تا ۸۰ سانتی متر نیز می رسد. برگ های آن به دو شکل ظاهر می شود، آن هایی که در قاعده ی ساقه وجود دارند به شکل دندانه دار و دیگری در طول ساقه که باریک و نخی شکل می باشند (Silva *et al*., 2008). خاصیت معطر بودن گشنیز به علت وجود لینالول در آن است. اسانس این گیاه حاوی ژرانیول، ژرانیل استات، دسیل استات، دکانال، تیمول و برخی از ترپن هاست (Olle & Bender, 2010).

آویشن باغی (*Thymus vulgaris*)، گیاه چند ساله بوده و تا ارتفاع ۴۰ سانتی متر رشد می کند و بر روی شاخه های کوچک و چوبی‌اش، برگ های نوک تیز به رنگ سبز تیره می رویند. از برگ-های بسیار خوش عطر آن اغلب به عنوان ادویه و دارو استفاده می-شود. از عصاره های آبی، آبی– الکلی آن در تهیه ی شامپو، کرم، پماد و غیره استفاده‌ی فراوان می شود (Pina – vaz *et al*., 2004). روغن فنلی آویشن ازموثرترین اسانس‌هاست که از خواص آن می توان به خاصیت ضد باکتریایی، ضد قارچی، محافظت در برابر آسیب های ناشی از توکسین ها، نگهدارنده طبیعی مواد غذایی و به تأخیر انداختن بلوغ در پستانداران اشاره کرد. تیمول و کارواکرول از متابولیت‌های ثانویه‌ی آویشن هستند (Azza *et al*., 2009).

ظهور گونه های مختلف قارچی مقاوم به ترکیبات ضد قارچی از جمله *کاندیدا*، انواع قارچ های درماتوفیت و *کریپتوکوکوس نئوفورمنس* پژوهشگران را به گسترش روش های درمانی جدید در مبارزه با قارچ ها، وادار می کند (Hasper *et al*., 2004). نتایج تحقیقات انجام گرفته نشان داده است که برخی از عصاره های گیاهی می توانند موجب کاهش رشد و یا مهار کامل رشد قارچ ها گردند. برای نمونه در تحقیقی (Amin & Kapadnis, 2005) تأثیرات ضد قارچی و ضد باکتریایی عصاره های موسیر ، سیر و پیاز ارزیابی شد و مشخص شد که گونه های قارچی در مقایسه با باکتری ها نسبت به عصاره ی موسیر حساسیت بیشتری دارند. مقادیر MIC عصاره خشک شده ی موسیر در سه گونه ی *آسپرژیلوس فلاووس، آسپرژیلوس فومیگاتوس و آسپرژیلوس نیجر* ۲۰ میلی گرم در میلی لیتر به دست آمد.

در مطالعه ای دیگر (Yin & Tsao, 1999) اثرات ضد قارچی ۷ گونه گیاه جنس آلیوم را بر روی سه گونه *آسپرژیلوس* نشان دادند (Shams Ghahfarokhi *et al*., 2003). طبق تحقیقی متوجه شدند که عصاره های آبی سیر و پیاز بر روی رشد و فعالیت کراتیناز قارچ *Trichophyton mentagrophytes* می تواند اثر بازدارندگی داشته باشد. مسکوکی و هم‌کاران (۱۳۸۳) طبق پژوهشی نشان داده اند که رشد قارچ *آسپرژیلوس پارازیتیکوس* توسط اسانس های طبیعی ممانعت می گردد. یحیی آبادی و هم-کاران (۱۳۸۶) اثرات ضد قارچی عصاره های آبی سیر و پیاز را بر روی گونه هایی از قارچ *آسپرژیلوس* مورد بررسی قرار دادند. از آن-جایی که گونه های *آسپرژیلوس* در ایجاد عفونت های درونی، زیرجلدی، جلدی و ضایعات گوش، چشم و ناخن نقش اساسی دارد و از طرف دیگر فرآورده های سمی حاصله از گونه های این قارچ نیز غالباً منجر به ایجاد واکنش های آلرژیک در انسان می گردد، امید

است که این تحقیق بتواند در آینده در جهت کاهش رشد و حذف این قارچ ها از بیماران استفاده شود. هم چنین یکی ازآلودگی های شایع در فضای آزمایشگاه ها دو قارچ *آسپرژیلوس فومیگاتوس* و *آسپرژیلوس فلاووس* می باشند که ازطریق گرد و غبار موجود در هوا باعث آلوده ساختن محیط های کشت باکتریایی می شوند، لذا این تحقیق می تواند در آینده در جهت حذف این آلودگی ها از محیط های نام‌برده در آزمایشگاه های تحقیقاتی مورد استفاده واقع شود البته به شرطی که این عصاره ها هیچ تأثیری بر روی رشد باکتری ها نداشته باشند.

۲. مواد و روش ها

۲-۱. تهیه ی عصاره های آبی گیاهان مورد آزمایش

جهت تهیه عصاره های آبی ابتدا گیاهان شوید، گشنیز، آویشن و گل محمدی از مرکز تحقیقات کشاورزی استان اصفهان تهیه گردید. برگ های گیاهان شوید ، آویشن ، گشنیز و گل گیاه گل محمدی را در سایه خشک کرده و به وسیله آسیاب برقی به صورت پودر در آورده شد. سپس قبل از گرفتن عصاره ، پودر گیاهان مورد نظر را با استفاده از دستگاه هود لامینار[1] و تحت تأثیر اشعه UV کاملاً استریل شد. جهت عصاره گیری از روش جوشاندن استفاده شد که منطبق با مصرف سنتی گیاه در منطقه می باشد. بدین منظور ۱۰ گرم پودر گیاه را با ۲۰۰ میلی لیتر آب مقطر جوش مخلوط کرده و به مدت ۲۰ دقیقه ضمن به هم زدن دائم آن ، عمل حرارت دادن ادامه یافت. سپس مخلوط، در ظرف درب پوش دار در دمای اتاق نگهداری شد. مخلوط از صافی با بافت ریز عبور داده شد. سپس محلول عصاره صاف شده به مدت ۱۵ دقیقه با ۳۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شده و محلول بالایی در معرض هوا بر روی شیشه صاف قرار داده تا زمانی که حلال به طور کامل تبخیر شده و پودر عصاره به دست آمد. عصاره های به دست آمده، به طور جداگانه در داخل بشر کاملاً استریل ، جهت از بین بردن عوامل زنده باکتریایی ، ویروسی و قارچی به مدت ۱۰ دقیقه تحت تأثیر اشعه UV قرار گرفتند. از دی متیل سولفوکساید ۵ درصد به عنوان حلال برای تهیه رقت استفاده گردید. عصاره های آبی با غلظت های ۱۰۰ ، ۲۵۰ ، ۵۰۰ و ۷۵۰ میلی گرم بر میلی لیتر به طور جداگانه تحت شرایط کاملاً استریل تهیه گردید (حسینی، ۱۳۸۸؛ یحیی آبادی و هم‌کاران، ۱۳۸۶). همه مراحل در شرایط کاملاً استریل و در زیر دستگاه هود لامینار کنار شعله انجام شد.

۲-۲. تهیه ی سوسپانسیون از قارچ های مورد مطالعه

ابتدا در محیط کشت PDA شیب دار، قارچ به مدت ۷-۵ روز در دمای ۲۶ درجه ی سانتی گراد نگهداری شد. سپس از کلنی رشد کرده سوسپانسیون قارچی تهیه گردید. برای این کار به سطح کلنی رشد کرده در محیط PDA ، مقداری سرم فیزیولوژی اضافه و بعد از مدتی با پیپت پاستور به آرامی از سطح محیط برداشته شد (Fateh *et al.*, 2010). از آن‌جایی که میسلیوم ها در محیط کشت ایجاد اختلال کرده و باعث کاهش تأثیر عصاره ها می شوند ، جهت حذف آن‌ها از سوسپانسیون قارچی ، سوسپانسیون با استفاده از پشم شیشه فیلتر گردید (گندمی نصرآبادی و هم‌کاران، ۱۳۸۷). بعد از شیکر کردن آن، با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۳۰ نانومتر میزان عبور نور سوسپانسیون ، مورد سنجش قرار گرفت (میزان عبور نور ۹۰٪ برای به دست آوردن سوسپانسیونی با تقریبا 10^6 اسپور قارچی در هر میلی لیترمورد نیاز است) (Fateh *et al.*, 2010).

۲-۳. تعیین حداقل غلظت مهار کننده رشد قارچ (MIC) و یا کشنده ی قارچ (MFC)

برای تعیین MIC از روش رقت سازی (ماکرودایلوشن براث) استفاده گردید. بدین ترتیب که ابتدا یک سی سی از محیط کشت SDB استریل را به هرکدام از ۱۲ لوله ی استریل اضافه کرده و سپس یک سی سی از عصاره ی آبی رقیق شده ی گیاه مورد نظر را (با رقت مشخص) به لوله ی شماره ۱ ، اضافه نمودیم. بعد از شیکر کردن محتوای لوله، یک سی سی از آن را به لوله ی شماره ۲ ، انتقال دادیم. به همین طریق تا لوله شماره ۱۰ ، سریال رقت تهیه و سپس محتوای هر لوله را شیکر کردیم. لوله های شماره ۱۱ و ۱۲ به عنوان شاهد (کنترل) در نظر گرفته شدند. لوله‌ی شماره ۱۱ به عنوان شاهد برای عصاره‌ی گیاهی مورد آزمایش یا نیستاتین (حاوی سوسپانسیون قارچ مورد آزمایش و فاقد عصاره ی گیاهی یا

[1]- Laminar air flow

نیستاتین) و لوله ی شماره ۱۲ به عنوان شاهد بـرای محـیط کشـت (فاقد سوسپانسیون قارچ و عصاره ی گیاهی مورد آزمایش) بودند. بـا اضافه کردن ۵۰ میکرولیتر از سوسپانسیون قارچی به لوله های رقت سریال و گرماگذاری لوله ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۰ درجه-ی سانتی گراد، حداقل غلظت مهار کننده ی رشد قارچ هر عصاره بر روی هر قارچ به روش چشمی تعیین گردید. جهـت تعیـین حـداقل غلظت کشنده ی قارچ، مقدار ۱۰ میکرولیتر از هر کدام از لوله هایی که رشد و کدورتی در آن ها مشاهده نشده بود، بر روی پتری دیـش های استریل حاوی SDA کشت و به مدت زمان کافی در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد در انکوباتور قرار دادیم. کمترین غلظت کـه در آن رشدی مشاهده نشد ، به عنوان MFC منظور گردیـد (Fateh *et al*., 2010).

۲-۴. نحوه ی اجرای روش چاهک

در شرایط کاملاً استریل در کنار شعله، در محیط کشـت PDA چاهک هایی ایجاد و از رقت های مختلف عصاره هـای آبـی گیاهـان (۱۰۰ ، ۲۵۰ ، ۵۰۰ و ۷۵۰ میلـی گـرم بـر میلـی لیتـر)، بـه درون چاهک ها تلقیح شد. سپس یک دیسک ۵ میلی متری کاغذ واتمـن شماره ۱ در مرکز پلیت قرار داده شد و در نهایت با ۱۰ میکـرو لیتـر سوسپانسیون قارچ مربوطه تلقیح گردید (گندمی نصـرآبادی و هـم-کاران، ۱۳۸۷). پس از تلقیح نمونه های قارچی ، پتری دیش هـا در دمـای ۱± ۲۵ درجـه سـانتی گـراد در انکوبـاتور قـرار داده شـدند (شـــیرکیانی و هـــم‌کـــاران، ۱۳۸۰؛ مســـکوکی و هـــم‌کـــاران، ۱۳۸۳؛ Setamou *et al*., 1997). درنهایت به عنوان مقایسه ی تأثیر عصاره های فوق با داروهای شیمیایی از نیستاتین و به عنوان شـاهد دی متیل سولفوکساید ۵ درصد استفاده گردید (NCCLS, 1998).

۲-۵. اندازه گیری قطر هاله ی عدم رشد قارچ ها

قطر هاله‌ی عدم رشد قارچ ها در پتری دیش ها بعد از طـی ۴۸ ساعت ، بـا اسـتفاده از خـط کـش در چنـد جهـت انـدازه گیـری و میانگین آن‌ها محاسبه گردید. در مورد هر پتری‌دیـش ایـن کـار بـه طور جداگانه انجام شد. بدین ترتیب محیط ها از نظر رشد و یا عـدم رشد قـارچ هـا مـورد بررسـی قـرار گرفـت (Serikaya & Latish, 1997).

۲-۶. تجزیه و تحلیل آماری

برای تجزیه آماری داده ها ، از آزمون تجزیه واریانس یک طرفـه در قالب طرح آماری کاملاً تصادفی در چهار تکـرار بـا اسـتفاده نـرم افزار آماری SPSS ver۱۶ استفاده شد و نمودارها با برنامه نرم افزاری Excel رسم گردید (Johnson & Wichern, 1992).

۳. نتایج و بحث

طبـق بررسـی انجـام شـده، در مـورد *آسـپرژیلوس فـلاووس* استاندارد (PTCC 5006)، بعـد از نیسـتاتین ، عصـاره هـای آبـی شوید، آویشن و گشنیز دارای اثرات ضد قارچی بیشتری نسـبت بـه عصاره ی آبی گل محمـدی هسـتند. در مـورد سـویه ی جداسـازی شده‌ی این قارچ ، بعد از نیستاتین، موثرترین عصـاره هـای آبـی بـه ترتیب شامل ، عصاره های آبی آویشن و گشنیز و سـپس عصـاره ی آبی شوید و در نهایت عصاره ی آبی گل محمدی می باشد. در مورد سویه ی استاندارد *آسـپرژیلوس فـلاووس* (PTCC 5006) مقـادیر MIC و MFC عصاره ی آبی گشنیز برابر بوده که نشان مـی دهـد این عصاره اثرات مهارکنندگی رشد خود را از طریق کشتن این قارچ اعمـال مـی کنـد. در بـین دو سـویه ی مـورد آزمـایش، سـویه ی *آسپرژیلوس فلاووس* جداسازی شده ی مورد بررسی در مقابل اثرات کشندگی و مهارکنندگی رشد عصـاره هـای آبـی شـوید ، آویشـن ، گشنیز و گل محمـدی نسـبت بـه سـویه ی *آسـپرژیلوس فـلاووس* استاندارد (PTCC 5006) حساس تر بود (جـداول ۱ و ۲) کـه بـه نظر می رسد این امر به علت تفاوت‌های ژنتیکـی حاصـل از محـیط های اکولوژیک متفاوت این دو سویه باشد.

نتایج نشان مـی دهـد کـه در مـورد *آسـپرژیلوس فومیگـاتوس* استاندارد (PTCC 5009) بعد از نیستاتین، موثرترین عصـاره هـای آبی بررسی شده به ترتیب شامل عصاره های آبی شـوید ، آویشـن ، گل محمدی و گشنیز می باشند. در مورد سویه ی جداسازی شده‌ی این قارچ، بعد از نیستاتین ، موثرترین عصاره هـای آبـی بـه ترتیـب شامل ، عصاره های آبی شوید ، آویشن ، گشنیز و در نهایت عصاره‌ی آبی گل محمدی می باشد (جداول ۳ و ۴) که به نظر می رسد ایـن امر به علت تفاوت های ژنتیکـی حاصـل ازمحـیط هـای اکولوژیـک متفاوت این دو سویه باشد.

جدول-۱. حداقل غلظت مهارکنندگی رشد عصاره های آبی گیاهان مورد بررسی بر دو سویه از قارچ *آسپرژیلوس فلاووس* (استاندارد و جداسازی شده)

عصاره گیاهی	حداقل غلظت مهارکنندگی رشد (میلی گرم بر میلی لیتر)	
	آسپرژیلوس فومیگاتوس استاندارد (PTCC ۵۰۰۹)	*آسپرژیلوس فومیگاتوس* جداسازی شده از محیط های آلوده
شوید	۳۸۷/۵ ± ۳۲/۲۷	۲۰۰ ± ۱۰/۲
آویشن	۳۸۷/۵ ± ۳۲/۲۷	۱۵۱/۵۶ ± ۶۳/۴
گل محمدی	۴۳۷/۵ ± ۸۷/۸	۲۵۰ ±۱۰/۲
گشنیز	۳۸۷/۵ ± ۳۲/۲۷	۱۵۱/۵۶ ± ۶۳/۴
نیستاتین	۴۸/۴۳ ± ۴ /۰۳	۲۳/۲۸ ± ۴/۸

MFC به صورت چشمی تعیین شد که میانگینی از ۴ مرتبه آزمایش برای هر عصاره ی گیاهی و هر سویه ی قارچی می باشد.

جدول-۲. حداقل غلظت کشندگی عصاره های آبی گیاهان مورد بررسی بر دو سویه از قارچ *آسپرژیلوس فلاووس* (استاندارد و جداسازی شده)

عصاره گیاهی	حداقل غلظت کشندگی(میلی گرم بر میلی لیتر)	
	آسپرژیلوس فومیگاتوس استاندارد (PTCC ۵۰۰۹)	*آسپرژیلوس فومیگاتوس* جداسازی شده از محیط های آلوده
شوید	۲۹۶/۸۷ ± ۳۱/۵	۳۰۳/۱۲ ± ۳۰/۲۵
آویشن	۲۹۶/۸۷ ± ۳۱/۵	۲۵۴/۷ ± ۲۴/۳۲
گل محمدی	۵۰۰ ±۲۰ /۴۱	۵۰۰ ±۲۰ /۴۱
گشنیز	۳۸۷/۵ ± ۳۲/۲۷	۲۰۰ ± ۱۰/۲۱
نیستاتین	۹۶/ ۸۷± ۸/۰۷	۳۱/۸۳ ± ۵/۱۶

MFC به صورت چشمی تعیین شد که میانگینی از ۴ مرتبه آزمایش برای هر عصاره ی گیاهی و هر سویه ی قارچی می باشد.

جدول-۳. حداقل غلظت مهارکنندگی رشد عصاره های آبی گیاهان مورد بررسی بر دو سویه از قارچ *آسپرژیلوس فومیگاتوس* (استاندارد و جداسازی شده)

عصاره گیاهی	حداقل غلظت مهارکنندگی رشد (میلی گرم بر میلی لیتر)	
	آسپرژیلوس فومیگاتوس استاندارد (PTCC ۵۰۰۹)	*آسپرژیلوس فومیگاتوس* جداسازی شده از محیط های آلوده
شوید	۱۰۰ ± ۵/۱	۹۶/۸۷ ± ۳/۶۱
آویشن	۲۲۱/۸۷± ۳۲/۸۷	۲۰۰±۱۰/۲۱
گل محمدی	۲۵۰±۱۰/۲۱	۵۰۰ ±۲۰/۴۱
گشنیز	۴۰۰±۲۰/۴۱	۳۸۱/۲۵ ± ۳۷/۵
نیستاتین	۲۹/۳±۴	۲۵ ± ۱/۲۷

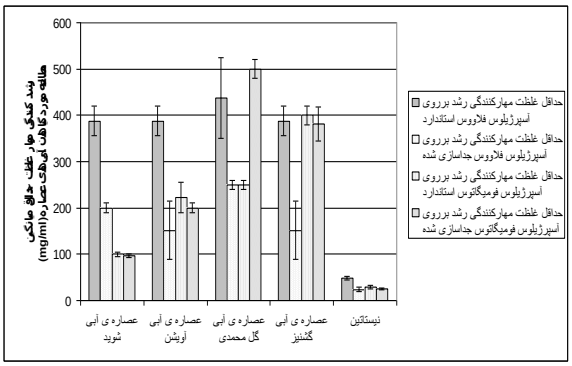
MFC به صورت چشمی تعیین شد که میانگینی از ۴ مرتبه آزمایش برای هر عصاره ی گیاهی و هر سویه ی قارچی می باشد.

بر اساس نتایج به‌دست آمده، بین میانگین های حداقل غلظت مهارکنندگی رشد (MIC) و هم‌چنین میانگین های حداقل غلظت کشندگی(MFC) در تمام عصاره های مورد آزمایش ، تفاوت کاملاً معنی داری در سطح یک درصد وجود دارد که این امر می‌تواند به علت تفاوت در نوع و میزان متابولیت های ثانویه ی هرگیاه باشد (شکل ۱).

جدول-۴. حداقل غلظت کشندگی عصاره های آبی گیاهان مورد بررسی بر دو سویه از قارچ *آسپرژیلوس فومیگاتوس* (استاندارد و جداسازی شده)

حداقل غلظت کشندگی (میلی گرم بر میلی لیتر)		
عصاره گیاهی	***آسپرژیلوس فومیگاتوس* استاندارد (PTCC ۵۰۰۹)**	***آسپرژیلوس فومیگاتوس* جداسازی شده از محیط های آلوده**
شوید	۱۵۱/۵۶ ± ۳۱/۲۷	۲۰۰±۱۰/۲۱
آویشن	۴۰۰±۲۰/۴۱	۳۹۳/۷۵±۲۳/۹۳
گل محمدی	۴۷۵± ۲۵ /۱۸	۵۰۰ ±۲۰/۴۱
گشنیز	۴۰۰±۲۰/۴۱	۴۰۰±۲۰ / ۴۱
نیستاتین	۵۸/۶±۷/۸۱	۵۱/۵۶±۱/۸

MFC به صورت چشمی تعیین شد که میانگینی از ۴ مرتبه آزمایش برای هر عصاره ی گیاهی و هر سویه ی قارچی می باشد.



شکل-۱. مقایسه ی میانگین های حداقل غلظت مهارکنندگی رشد عصاره های آبی گیاهان آزمایش شده بر روی قارچ های مورد مطالعه

نتایج به‌دست آمده نشان داد که در تمامی غلظت های مورد بررسی به استثنای غلظت های مربوط به تأثیر عصاره ی آبی شوید بر روی قارچ *آسپرژیلوس فلاووس* جداسازی شده ، برای هر یک از عصاره ها (غلظت هریک از عصاره ها بطور جداگانه) در مقایسه با گروه شاهد از نظر آماری در سطح یک درصد کاملاً معنی دار گزارش گردید. به نظر می رسد در مورد تمام عصاره های بررسی شده (به استثنای شوید) با افزایش غلظت، تأثیر عصاره بر روی این قارچ ها افزایش یابد (جداول ۵ و ۶) که این امر می تواند به علت افزایش میزان متابولیت های ثانویه در عصاره باشد (یحیی آبادی و هم‌کاران، ۱۳۸۶).

اما با افزایش غلظت، تأثیر عصاره ی آبی شوید بر روی قارچ *آسپرژیلوس فلاووس* جداسازی شده تغییر چندانی نشان نداد که احتمال می رود این امر به علت تفاوت های ژنتیکی و محیطی گونه-ها و سویه های قارچی مورد بررسی و هم چنین تفاوت در نوع و میزان متابولیت‌های ثانویه‌ی عصاره ها باشد. در واقع اثر غلظت و نوع عصاره بر روی رشد قارچ های بررسی شده ، در سطح یک درصد بسیار معنی دار می باشند. هم چنین در کلیه ی رقت ها (۱۰۰ ، ۲۵۰ ، ۵۰۰ و ۷۵۰ میلی گرم بر میلی لیتر)، قطر هاله‌ی عدم رشد سویه ی *آسپرژیلوس فلاووس* جداسازی شده بسیار کمتر از قطر هاله ی حاصل از عدم رشد سویه ی *آسپرژیلوس فلاووس* استاندارد مورد بررسی مشاهده گردید (جدول۵).

یکی از اصلی ترین عوامل موثر در بیماری‌زایی قارچ *آسپرژیلوس فومیگاتوس*، قدرت تولید و ترشح فسفولیپازهای گروه B است که باعث ایجاد آسیب های بافتی و تخریب غشای سیتوپلاسمی سلول های مورد تهاجم می شود (Denning, 1991)، زیرا فسفولیپیدها در ساختار غشای سیتوپلاسمی سلول های حیوانی سهم عمده ای دارند (Ghannoum *et al.*, 1998; Songer, 1997). به عنوان مثال وجود رگه های خون در خلط افراد مبتلا به آسپرژیلوس ریوی مهاجم به علت تخریب بافتی بسیار چشمگیر است (Denning, 1996). هم چنین ترکیبات و اجزای حاصل از تأثیر فسفولیپازهای گروه B بر روی غشای سیتوپلاسمی و تخریب آن به عنوان

واسطه های شیمیایی و پیامبران ثانویه درون سلولی ، تعادل فیزیولوژیک سلول و بافت مورد تهاجم را به هم می زنند (Dennis *et al.*, 1991, Serhan *et al.*, 1996)، به عنوان نمونه با تولید و فعال کردن پروتئین کیناز C ، اینترلوکین‌ها، پروستاگلاندین ها ، اسید آراشیدونیک ، نظم متابولیکی سلول را به هم می ریزند (Eckmann *et al.*, 1995; Oishi *et al.*, 1988). تحقیقات متعددی در مورد ایفای نقش موثر به وسیله فسفولیپازها در ویرولانس میکروارگانیسم هایی نظیر *کریپتوکوکوس نئوفرمنس*، *کاندیدا آلبیکانس*، *کلستریدیوم پرفرنژنس*، *کلستریدیوم نویه*، *کلستریدیوم سپتیکوم*، *آنتامبا هیستولیتیکا*، *سودوموناس آئروژینوزا*، جنس مایکوباکتریوم، *باسیلوس سرئوس* ، *مالاسزیا فورفور* (Gilmore *et al.*, 1989; Leidich *et al.*,1998) صورت گرفته که اهمیت این آنزیم ها را نشان می دهد، به طوری که اخیراً استفاده از آن‌ها برای تهیه ی واکسن یا شاخص های آزمایشگاهی تشخیص عفونت مورد توجه واقع شده است (Ghannoum *et al.*, 2000; Williamson & Titball, 1993). از طرف دیگر ، بیماری-زایی قارچ *آسپرژیلوس فلاووس* به واسطه عوارض حاصل از آفلاتوکسین ها می باشد. بسیاری از قارچ ها ترکیبات سمی بنام مایکوتوکسین تولید می کنند.

در قارچ ها و سایر موجودات متابولیت های اولیه ترکیباتی هستند که جهت رشد و تکثیر ضروری می باشند و متابولیت های ثانویه در انتهای رشد تشکیل می شوند و اهمیت مشخصی در رشد و یا متابولیسم ندارند. به طور معمول این ترکیبات هنگامی که مقادیر زیادی از پیش سازهای متابولیکی اولیه نظیر اسیدهای آمینه، پیرووات و غیره تولید شوند و تجمع پیدا کنند، تشکیل می گردند. بنابراین مایکوتوکسین ها ، جزء متابولیت های ثانویه محسوب می شوند. در بین مایکوتوکسین ها ، ۱۴ نوع سرطان زا می‌باشند که در این میان آفلاتوکسین ها از نظر سرطان زایی قوی ترین ترکیبات می باشند. آفلاتوکسین ها توسط قارچ *آسپرژیلوس فلاووس* تولید می شوند. آفلاتوکسین در گروه وسیعی از مواد غذایی نظیر خوراک دام و طیور ، شیر ، آرد گندم ، سویا ، کشمش ، پنیر ، ماست ، گوشت های فرآوری شده و غیره مشاهده می شود. تاکنون مطالعات زیادی برروی مواد شیمیایی ازجمله سولفیت ها و بی سولفیت ها انجام شده تا به طریقی آفلاتوکسین ها را که از سموم مترشحه از گونه های آسپرژیلوس می باشند ، ازمواد غذایی جذب و حذف نمایند (آلکسوپولوس و هم‌کاران، ۱۳۸۱؛ امامی و کردبچه، ۱۳۷۷؛ چلبیان و مجد، ۱۳۸۲؛ شادزی، ۱۳۶۵) .

از آنتی اکسیدان های گیاهی رایج می توان به توکوفرول ها ، فلاونوئیدها و ترکیبات مربوطه مثل کومارین ها ، مشتقات سینامیک اسید ، دی ترپن های فنولیک و اسید فنولیک اشاره کرد. تعدادی از ترکیبات با خواص آنتی اکسیدانی به عنوان فرآورده های ثانویه توسط گیاهان ساخته می شود که از جمله‌ی می توان به ترکیبات فنلی اشاره نمود که در مواجه گیاهان با گونه های فعال اکسیژن تولید می شود. فرآیند اثر ضد قارچی گیاه به واسطه ترکیبات آنتی اکسیدان ، می تواند از طریق آسیب به DNA ، میتوکندری ، آسیب به دیواره سلولی و نهایتاً مرگ میکروارگانیسم باشد. امروزه آنتی اکسیدان های طبیعی که از گیاهان و ادویه جات به‌دست می آید ، به منظور خواص آنتی اکسیدانی شان به طورگسترده مورد ارزیابی قرارمی گیرند (عیوقی و هم‌کاران ، ۱۳۸۸). حضور فلاونوئیدها و سایر ترکیبات فنولیک در عصاره های گیاهان شوید ، آویشن ، گل محمدی و گشنیز گزارش شده است. سیادت (۱۳۸۰) گزارش داد که اسانس های آویشن و شوید به علت دارا بودن ترکیبات فنلی بر روی باکتری *هلیکوباکتر پیلوری* دارای اثرات ضد میکروبی است. نتایج مطالعه‌ی مهرابیان (۱۳۸۰) نشان داد که گل محمدی با درجه اسانس های متفاوت بر روی برخی از باکتری های آلوده کننده ی مواد غذایی و آرایشی دارای اثرات ضد باکتریایی است.

دادالهی (۱۳۸۴) اشاره کرد که عصاره ی متانولی گشنیز بر روی *میکروکوکوس لوتئوس* ، *سودوموناس آئروژینوزا* و *استافیلوکوک طلائی* موثر است که بیشترین هاله عدم رشد متعلق به *میکروکوکوس لوتئوس* می باشد. نتایج بررسی جوانمرد و رمضان (۱۳۸۸) نشان داد که به کارگیری عصاره ی آویشن شیرازی در ترکیب پوشش های خوراکی برای کنترل رشد قارچ *آسپرژیلوس*

فلاووس و در نهایت جلوگیری از تولید توکسین در غذاها مفید می باشد.

مطالعات انجام گرفته بر روی تأثیر سایر عصاره های گیاهی به منظور جلوگیری از رشد پاتوژن های قارچی و باکتریایی نیز دارای نتایج مشابهی بوده است(فئید و هم‌کاران، ۱۳۸۳؛ مسکوکی و هم-کاران، ۱۳۸۳؛ Mie-chin & Shih-ming, 1999). با وجود آن‌که تعداد زیادی از ترکیبات شیمیایی مختلف در عصاره های گیاهی وجود دارند و دارای فعالیت ضد میکروبی مشابه هستند اما یک فرآیند اختصاصی ندارند بلکه چندین هدف در سلول دارند. سه بخش اصلی برای بر هم‌کنش مواد ضد میکروبی دیواره سلول، غشای سیتوپلاسمی و سیتوپلاسماست(Brenes & Roura, 2010; Denyer & Stewart, 1998).

به نظر می رسد فرآیند اثر ضد قارچی گیاه از طریق آسیب به DNA ، میتوکندری ، آسیب به دیواره سلولی و نهایتاً مرگ میکروارگانیسم باشد (ممبینی و هم‌کاران، ۱۳۸۷). در تحقیق حاضر نیز ممکن است مکانیسم تأثیرات گیاهان مورد مطالعه بر روی سویه های استاندارد و جداسازی شده ی قارچ های *آسپرژیلوس فلاووس* و *آسپرژیلوس فومیگاتوس* از طریق تأثیر بر روی رادیکال های آزاد و ایجاد آپوپتوزیس[۲] باشد.

این نتایج اشاره دارد به این‌که از این گیاهان به عنوان یک عامل ضد میکروبی می توان استفاده نمود (Kennedy et al., 2004). هم چنین به نظر می رسد که عصاره های آبی شوید ، آویشن ، گل محمدی و گشنیز به علت دارا بودن آنتی اکسیدان های طبیعی زیاد، با تأثیر بر فسفولیپازهای گروه B و آفلاتوکسین های مترشحه از قارچ ها به ترتیب از بیماری‌زایی *آسپرژیلوس فومیگاتوس* و *آسپرژیلوس فلاووس* جلوگیری می‌کنند.

۴. نتیجه گیری

با اثبات اثر بخش بودن عصاره های آبی برگ گیاهان شوید، آویشن، گشنیز و گل گیاه گل محمدی بر روی رشد سویه های استاندارد و جداسازی شده ی قارچ های *آسپرژیلوس فلاووس* و *آسپرژیلوس فومیگاتوس*، می توان امیدوار بود که در آینده با تخلیص ماده ی موثر گیاهان فوق و انجام تحقیقات بیشتر ، بتوان به ترکیبی با اثرات ضد قارچی قابل قبول و عوارض جانبی کم برای درمان عفونت های قارچی دست یافت، اما در این زمینه انجام تحقیقات گسترده تر در شرایط مدل حیوانی (*In-vivo*) برای بررسی اثرات فارماکوکینتیک بر روی عصاره های نام‌برده ، ضروری به نظر می رسد. هم چنین با توجه به این‌که یکی از آلودگی های شایع در فضای آزمایشگاه ها ، قارچ *آسپرژیلوس* می باشد که از طریق گرد و غبار موجود در هوا باعث آلوده کردن محیط های کشت می شوند لذا این تحقیق می تواند در آینده در جهت حذف این آلودگی ها از محیط های نامبرده استفاده گردد.

۵. سپاس گزاری

از سرکار خانم دکتر مدنی، مدیریت محترم تحصیلات تکمیلی گروه میکروبیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان به جهت هم‌کاری در زمینه ی تهیه ی سویه ی جداسازی شده ی قارچ *آسپرژیلوس فلاووس* سپاس‌گزاری می شود. درضمن این مقاله حاصل یک پایان نامه ی کارشناسی ارشد به شماره‌ی ۱۷۲۳۰۵۰۷۸۹۲۰۰۵ مصوب دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان می باشد.

[2]- Apoptosis

جدول- ۵. هاله ی عدم رشد حاصل از تأثیر عصاره های آبی گیاهان مورد بررسی بر دو سویه از قارچ *آسپرژیلوس فلاووس* (استاندارد و جداسازی شده)

رقت های عصاره گیاهی (میلی گرم بر میلی لیتر)	هاله‌ی عدم رشد (میلی متر)	
	آسپرژیلوس فلاووس **استاندارد (PTCC: 5006)**	***آسپرژیلوس فلاووس*** **جداسازی شده از محیط های آلوده**
شوید ۱۰۰	۳۳/۵±۳	۲۲/۵±۳/۴۱
شوید ۲۵۰	۳۶/۵±۱/۹۱	۲۲±۳/۶۵
شوید ۵۰۰	۴۲ /۵±۱/۹۱	۲۳/۵±۲/۵۲
شوید ۷۵۰	۵۱±۲/۵۸	۲۷±۴/۷۶
آویشن ۱۰۰	۳۹±۳/۴۶	۲۵/۵±۱/۹۱
آویشن ۲۵۰	۴۳±۲/۵۸	۳۴±۵/۶۵
آویشن ۵۰۰	۴۳/۵±۵/۲۶	۳۵±۴/۱۶
آویشن ۷۵۰	۴۵±۲/۵۸	۴۰/۵±۳/۴۱
گل محمدی ۱۰۰	۳۷/۵±۱/۹۱	۲۷/۵±۱/۹۱
گل محمدی ۲۵۰	۴۵±۲/۵۸	۳۳±۴/۷۶
گل محمدی ۵۰۰	۴۸±۱/ ۶۳	۴۴±۱/۶۳
گل محمدی ۷۵۰	۵۱/۵±۴/۴۳	۴۷/۵±۳/۴۱
گشنیز ۱۰۰	۲۹/۵±۴/۴۳	۲۳/۵±۱/۹۱
گشنیز ۲۵۰	۳۴± ۲/۸۳	۲۵/۵±۱/۹۱
گشنیز ۵۰۰	۳۸/۵± ۵/۷۴	۳۴±۵/۸۸
گشنیز ۷۵۰	۴۷± ۵/۲۹	۴۱/۵±۴/۴۳
نیستاتین ۱۰۰	۶۵/۳۲±۳/۰۴	۶۲/۲۲±۱/۸۶
نیستاتین ۲۵۰	۶۷/۳۷±۳/۰۴	۶۶/۳۲±۱/۸۸
نیستاتین ۵۰۰	۶۹/۶۷±۳/۳۶	۷۱±۱/۸۲
نیستاتین ۷۵۰	۷۹±۱/۸۲	۷۴/۰۵±۲/۹۹
DMSO(شاهد)	۰	۰

جدول- ۶. هاله ی عدم رشد حاصل از تأثیر عصاره های آبی گیاهان مورد بررسی بر دو سویه از قارچ *آسپرژیلوس فومیگاتوس* (استاندارد و جداسازی شده)

رقت های عصاره گیاهی (میلی گرم بر میلی لیتر)	هاله ی عدم رشد (میلی متر)	
	آسپرژیلوس فومیگاتوس **استاندارد (PTCC 5009)**	***آسپرژیلوس فومیگاتوس*** **جداسازی شده از محیط های آلوده**
شوید ۱۰۰	۴۰± ۰/۸۲	۴۷±۴/۰۸
شوید ۲۵۰	۴۸ ±۲/۹۴	۴۸±۲ /۹۴
شوید ۵۰۰	۵۰±۲/۹۴	۵۴± ۰/۸۲
شوید ۷۵۰	۵۸±۰/۸۲	۵۸±۲/۹۴
آویشن ۱۰۰	۴۵±۴ /۰۸	۴۶±۲/۹۴
آویشن ۲۵۰	۴۸±۲/۹۴	۵۱±۱ /۸۲
آویشن ۵۰۰	۵۰±۲ /۹۴	۵۶±۲ /۹۴
آویشن ۷۵۰	۵۵±۱/۸۲	۶۶±۲ /۹۴
گل محمدی ۱۰۰	۴۵±۴/08	47±1/82
گل محمدی ۲۵۰	۵۰±۲/۹۴	۴۹±۱/۸۲
گل محمدی ۵۰۰	۵۳±۱/ ۸۲	۵۱±۱/۸۲
گل محمدی ۷۵۰	۶۰± ۵/۲۳	۶۱±۴/۰۸
گشنیز ۱۰۰	۴۴±۰/۸۲	۴۴±۰/۸۲
گشنیز ۲۵۰	۵۱±۴/۰۸	۴۹ ±۴/۰۸
گشنیز ۵۰۰	۵۵±۱/۸۲	۵۶±۰/۸۲
گشنیز ۷۵۰	۵۹±۱/۸۲	۶۱ ±۱/۸۲
نیستاتین ۱۰۰	61/25±3/23	62/15±4/24
نیستاتین ۲۵۰	۶۷/۳۵ ± ۰/۹۱	۶۵ /۳ ±۳
نیستاتین ۵۰۰	۶۸ / ۶۷±۲/۲۵	۷۰ / ۶۷±۴/۴
نیستاتین ۷۵۰	۷۳ ±۱/۸۲	۷۳ ± ۳
DMSO(شاهد)	۰	۰

DMSO : Dimethylsulfoxide

۶. منابع

آلکسوپولوس، سی. جی.، میمس، اچ. و مردیت، ب.، ترجمه صارمی، ح.، پیغامی، ۱.، پژوهنده، م. ۱۳۸۱. *اصول قارچ شناسی*. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد، صفحه ۶۹۶.

امامی، م. و کردبچه، پ. ۱۳۷۷. *قارچ شناسی پزشکی جامع*. انتشارات دانشگاه تهران، صفحه ۵۷۰.

جوانمرد ، م. و رمضان، ی. ۱۳۸۸. به کارگیری پوشش خوراکی حاوی عصاره الکلی آویشن شیرازی در جلوگیری از رشد قارچ

آسپرژیلوس فلاووس بر روی مغز پسته. *مجله گیاهان دارویی* ، ۶۱ -۶۴: ۳.

چلبیان، ف. و مجد، ا. ۱۳۸۲. *تالوفیت ها*. انتشارات آییژ، صفحه ۲۵۶.

حسینی، ه. ۱۳۸۸. بررسی اثرات ضد باکتریایی عصاره آبی گیاه شبدر ترشک و مقایسه اثر آن با آنتی بیوتیک های متداول دردرمان عفونت های ناشی از *استافیلوکوک اورئوس* و *اشرشیاکلی*. *مجله گیاهان دارویی*، ۱: ۱۰۷-۱۰۳.

داداللهی ، س. ۱۳۸۴. بررسی اثرات ضد میکروبی گیاهان گشنیز، توتون و تخم مرزه. پایان نامه دانشگاه علوم پزشکی کرمان. کرمان، ایران.

سیادت ، د. ۱۳۸۵. ارزیابی اثرات ضد میکروبی اسانس های آویشن و شوید بر روی باکتری *هلیکو باکتر پیلوری*، مجموعه خلاصه مقالات چهارمین کنگره میکروب شناسی با گرایش باکتری شناسی، دانشگاه شاهد، دانشکده پزشکی، تهران، ایران.

شادزی، ش. ۱۳۶۵. *قارچ شناسی پزشکی*. انتشارات گلبهار، صفحه ۳۶۵.

شیرکیانی، ع.، روزبهان، ی.، فضائلی، ح. و عزیزی، آ. ۱۳۸۰. بررسی رشد و تاثیر کشت چهار گونه قارچ پلوروتوس بر کاه گندم غنی شده با اوره. *مجله پژوهش و سازندگی در امور دام و آبزیان*، ۴: ۲۷-۲۱.

عیوقی، ف.، برزگر، م.، سحری، م. و نقدی بادی، ح. ۱۳۸۸. بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس شوید در روغن سویا و مقایسه آن با آنتی اکسیدان های شیمیایی. *مجله گیاهان دارویی*، ۳۰: ۷۴-۷۱.

فئید، م.، احمدنژاد، م. و خطیب حقیقی، س. ۱۳۸۳. تأثیر ضد میکروبی عصاره آبی سیر و پیاز بر روی پاتوژن های مهم. خلاصه مقالات دومین کنگره بیولوژی کاربردی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد.

گندمی نصرآبادی، ح.، میثاقی، ع.، آخوند زاده بستی، ا.، خسروی، ع.ر.، بکایی، س. و عباسی فر، آ. ۱۳۸۷. اثر اسانس آویشن شیرازی روی *آسپرژیلوس فلاووس*. *مجله گیاهان دارویی*، ۳: ۵۱-۴۵.

مسکوکی، ع.، مرتضوی، ع. و راد، س. ۱۳۸۳. کنترل رشد قارچ *آسپرژیلوس پارازیتیکوس توسط اسانس های طبیعی درمحیط کشت مصنوعی*. *مجله* علوم پزشکی کشاورزی و منابع طبیعی، ۳: ۶۴-۶۱.

ممبینی، ت.، ممبینی، م. و آقایی، م. ۱۳۸۷. بررسی آثار فارماکولوژیک جنس مرزنجوش. *مجله گیاهان دارویی*، ۸: ۳۵-۱۸.

مهرابیان ، ص. ۱۳۸۰. بررسی اثر ضد باکتریایی گل محمدی با درجه اسانس های متفاوت بر روی برخی از باکتری های آلوده کننده ی مواد غذایی و آرایشی ، مجموعه خلاصه مقالات چهارمین کنگره ی میکروب شناسی با گرایش باکتری شناسی، دانشگاه شاهد، دانشکده پزشکی.

یحیی آبادی، س.، رضایتمند، ز. و ولی وند، م. ۱۳۸۶. تأثیر عصاره های آبی سیر و پیاز بر روی روند رشد برخی از قارچ های بیماری‌زا، طرح پژوهشی دانشگاه آزاداسلامی واحد فلاورجان، ۰۴-۱۷۵۳.

Amin, M. and Kapadnis, BP. 2005. Heat Stable Antimicrobial activity of *Allium ascalonicum* against bacteria and fungi. *Indian Journal of Experimental Biology*, 43: 751-754.

Azza, A., Ezz, E.D., Eman, E.A., Hendawy, S.F. and Omer, E.A. 2009. Response of *Thymus vulgaris* to salt stress and alar in newly reclaimed soil. *Journal of Applied Sciences Research*, 5: 2165-2170.

Brenes, A. and Roura, E. 2010. Essential oils in poultry nutrition: Main effects and modes of action. *Animal Feed Science and Technology*, 158: 1–14.

Ghannoum, M.A. 2000. Potential role of phospholipases in virulence and fungal pathogenesis. *Clinical Microbiology Review*, 13: 122.

Gilmore, M.S., Cruz-Rodz, A.L., Leimeister-Wachter, M., Kreft, J. and Goebel, W. 1989. A *Bacillus cereus* cytolytic determinant, Cerolysin AB, which comprises the phospholipase c and sphingomyelinase genes, nucleotide sequence and genetic linkage. *Journal of Bacteriology*, 171: 744-753.

Gurinde, J.K. and Daljit, S.A. 2010. Bioactive potential of *Anethum graveolens, Foeniculum vulgare* and *Trachyspermum ammi* belonging to the family Umbelliferae – current status. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4: 087-094.

Hasper, A., Trindade, L.M., Van der veen, D., Van ooyen, A.J. and Graaff, L.H. 2004. Functional analysis of the transcriptional activator XLnR from *Aspergillus niger*. *Microbiology*, 150: 1367-1375.

Johnson, R.A. and Wichern, D.W. 1992. Applied multivariate statistical analysis. Englewood cliffs, pages 325.

Kaur, G.J. and Arora, D.S. 2009. Antibacterial and phytochemical screening of *Anethum graveolens, Foeniculum vulgar* and *Trachyspermum ammi*. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 9: 30.

Kennedy, D.O., Little, W. and Scoley, A.B. 2004. Attenuation of laboratory-induced stress in humans after acute administration of *Melissa officinalis*. *Journal of Pharmacology*, 56: 677- 681.

Leidich, S.D., Ibrahim, A.S., Fu, Y., Koul, A., Jessup, C. and Vitullo, J. 1998. Cloning and disruption of caPLB1, a phospholipase B

Denning, D.W. 1991. Epidemiology and pathogenesis of systemic fungi infections in the immune compromised host. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, B: 1-16.

Denning, D.W. 1996. Diagnosis and management of invasive Aspergillosis. *Current Clinical Topics In Infectious Diseases*, 16: 277-299.

Dennis, E.A., Rhee, S.G., Billah, M.M. and Hannum, Y.A. 1991. Role of phospholipases in generating lipid second messengers in signal transduction. *FASEB Journal*, 5: 2068-2077.

Denyer, S.P. and Stewart, A.B. 1998. Mechanism of action of disinfectant. *International Biodeterrioration & Bioderadation*, 41: 261-268.

Eckmann, L., Reed, S.L., Smith, J.R. and Kagnoff, M.F. 1995. *Entamoeba histolytica* trophozoites induce an inflammatory cytokine response by cultured human cells through the paracrine action of cytolytically released interleukin-1. *Journal of Clinical Investigation*, 96: 1269-1279.

Fateh, R., Nasiri, M.J., Motevallian, M., Falahati, M. and Yazdanparast, A. 2010. In vitro antifungal activity of *Allium hirtifolium* in comparison with the miconazole. *Medical Journal of the Islamic Republic of Iran*, 24: 17-22.

Ghahfarokhi, S., Razafshar, M., Allamen, A. and Razzagh Abyaneh, M. 2003. Inhibitory effects of aqueous onion and garlic extracts on growth and keratinase activity in *Trichopyton mentagraphytes*. *Iranian Biomedical Journal*, 7: 113-118.

Ghannoum, M. A. 1998. Extracellular phospholipases as universal virulence factor in pathogenic fungi. *Japanese Journal Medical Mycology*, 39: 55-59.

of *Pleurotus ostreatus* on lingnicellulisic material in solid state fermentation systems. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 62: 71-85.

Setamou, M., Cardwell, K.F., Schulthess, F. and Hell, K. 1997. *Aspergillus flavus* infection and aflatoxin contamination of pre-harvest maize in Benin. *Plant Disease*, 81: 1323-1324.

Silva, A.S., Almeida, F., Lima, E., Silva, F.L. and Gomes, J.P. 2008. Dring kinetics of *Coriandrum sativum* leaf and stem. *Journal of Nutrition*, 6: 13-19.

Songer, J.G. 1997. Bacterial phospholipases and their roles in virulence. *Trends Microbiology*, 5: 156-161.

Williamson, E.D. and Titball, R.W. 1993. A genetically engineered vaccine against the alpha-toxin of *Clostridium perfringens* protects mice against experimental gas gangrene. *Vaccine*, 11: 1253-1258.

Yassa, N., Masoomi, F., Rohani, S.E. and Hadjiakhoondi, A. 2009. Chemical composition and antioxidant activity of the extract and essential oil of *Rosa damascena* from Iran, population of Guilan. *Daru*, 3: 175-180.

Yin, M. and Tsao, S. 1999. Inhibitory effect of seven *Allium* plants upon three *Aspergillus* species. *International Food Microbiology*, 49: 49-56.

gene involved in the pathogenicity of *Candida albicans*. *Journal of Biology Chemistry*, 40: 26078-26086.

Mei-chin, Y. and Shih-ming, T. 1999. Inhibitory effect of seven *Allium* plants upon three Aspergillus species. *International Journal of Food Microbiology*, 49: 49-56.

NCCLS document M38-P. 1998. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of condition-forming filamentous fungi. *Approved Standard*, 1: 22 - 29.

Nikbakht, A., Kafi, M., Mirmasoumi, M. and Babalar, M. 2005. Micropropagation of *Rosa damascene* Mill. *International Journal of Agriculture and Biology*, 4: 535-538.

Oishi, K., Raynor, R.L., Charp, P.A. and Kuo, J.F. 1988. Regulation of protein kinase c by lysophospholipids. *Journal of Biology Chemistry*, 263: 6865-6871.

Olle, M. and Bender, I. 2010. The content of oils in Umbelliferous crops and its formation. *Agronomy Research*, 8: 687- 696.

Pina – vaz, C., Goncalves, R. and Pinto, E. 2004. Antifungal activity of *Thymus* oils and their major compounds. *JEADV*, 18: 73-78.

Serhan, C.N., Haeggstrom, J.Z. and Leslie, C.C. 1996. Lipid mediator networks in cell signaling, update and impact of cytokines. *FASEB Journal*, 10: 1147-1158.

Serikaya, A. and Latish, M.A. 1997. An unstructured mathematical model for growth