مطالعات علوم زیستی و زیست فناوری
دوره ۱۰، شماره ۱، بهار ۱۴۰۳
صفحات ۱۳۵-۱۲۵

Online ISSN: ۴۴۹۳-۲۴۷۶
Print ISSN: ۲۰۲۰-۲۵۳۸
www.irijournals.com

مقایسه اثرات عصاره های آبی و الکلی برگ مریم گلی روی *آسپرژیلوس فلاووس* و *مالاسزیا فورفور* و داروهای فلوکونازول و کلوتریمازول

فاطمه منفرد[۱]، فاطره رضایی[۲]، عیسی غلامپور عزیزی[۳]*

[۱]دانش آموخته دانشکده پیراپزشکی، واحد بابل، دانشگاه آزاد اسلامی، بابل، ایران
[۲] استادیار گروه بیولوژی، دانشکده پیراپزشکی، واحد بابل، دانشگاه آزاد اسلامی، بابل، ایران
[۳]استادیار گروه قارچ شناسی دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، واحد بابل، دانشگاه آزاد اسلامی، بابل، ایران (نویسنده مسئول مکاتبات)

چکیده

گیاهان برای هزاران سال به عنوان دارو برای درمان بیماری های مختلف توسط اکثر تمدن ها مورد استفاده قرار گرفته اند. مریم گلی بزرگترین جنس گیاهان در خانواده Lamiaceae است. یکی از گیاهان دارویی است که از نظر غنای اسانس و ترکیبات فعال بیولوژیکی متعدد آن مورد توجه قرار گرفته است. هدف از این مطالعه مقایسه اثرات عصاره های آبی و الکلی (متانولی و اتانولی) برگ مریم گلی (سالویا) روی *آسپرژیلوس فلاووس* و *مالاسزیا فور فور* و مقایسه آن با داروهای فلوکونازول و کلوتریمازول به دو روش دیسک و چاهک مورد بررسی قرار گرفت. حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MFC) با استفاده از روش رقت لوله ای تعیین شدند. نتایج نشان می دهد که MIC برای *آسپرژیلوس فلاووس* و *مالاسزیا فور فور* در عصاره آبی ۲۰، ۲۰، برای عصاره متانولی ۲۰، ۱۰ و برای عصاره اتانولی ۲۰ و ۱۰ (میکروگرم در سی سی) بدست آمد. MFC برای *آسپرژیلوس فلاووس* و *مالاسزیا فور فور* در عصاره آبی ۳۰،۳۰، برای عصاره متانولی ۳۰، ۲۰ و برای عصاره اتانولی ۳۰ و ۲۰ (میکروگرم در سی سی) بدست آمد. نتیجه گیری می شود که عصاره های آبی و هیدرو الکلی مریم گلی اثر مهاری بر روی قارچ های مورد مطالعه داشت.

واژه های کلیدی: مریم گلی، *آسپرژیلوس فلاووس*، *مالاسزیا فور فور*، فلوکونازول، کلوتریمازول

۱-مقدمه

به دلیل افزایش بیماری ها و مقاومتی که میکروارگانیسمهای بیماریزا نسبت به داروهای شیمیایی به مرور زمان از خود نشان داده اند و از سوی دیگر با توجه به عوارض جانبی و هزینه های درمانی بالایی که داروهای شیمیایی و سنتزی بر جوامع بشری تحمیل می کنند، در دهه های اخیر استفاده از گیاهان دارویی با منشأ طبیعی رایج شده است. با وجود تنوع و گسترش بسیار زیادی که گیاهان دارویی در ایران و سایر کشورهای جهان دارند، مطالعات فراوانی در زمینه بررسی اثرات آنتی اکسیدانی و ضدمیکروبی این گیاهان همچنان ادامه دارد (Maliki, et al., 2021).

مریم گلی بزرگترین جنس گیاهان در خانواده Lamiaceae است. مریم گلی معمولی (*Salvia officinalis* L.) یک گیاه معطر و دارویی است که به دلیل خواص دارویی آن به خوبی شناخته شده است. یک درختچه چند ساله همیشه سبز است، با ساقه های چوبی، برگ های مایل به خاکستری و گل های آبی تا ارغوانی و بومی منطقه مدیترانه است، اگرچه در بسیاری از نقاط جهان طبیعی شده است. درختچه ای برون گذری و چند ساله تا ۶۰ سانتی متر ارتفاع. ساقه ها به صورت ایستاده یا برآمده با شاخه های متعدد سبز تیره مودار هستند. برگها دمبرگ، دراز، متقابل، ساده، گاهی دارای لوب قاعده ای (به ویژه در گیاه جوان)، با حاشیه دندانه دار، سطح ناهموار و کم و بیش منقبض در قاعده هستند (صفایی و همکاران، ۱۳۸۹). بسیاری از گونه های مریم گلی بومی اروپای مدیترانه ای هستند و به طور سنتی برای درمان طیف وسیعی از مشکلات از جمله اختلالات گوارشی و گردش خون، برونشیت، سرفه، آسم، مشکلات حافظه، آنژین صدری، التهاب دهان و گلو، افسردگی و تعریق بیش از حد مورد استفاده قرار می گیرند. گیاه مریم گلی به طور سنتی به دلیل اثرات آنتی اکسیدانی و توانایی آنها در بهبود عملکرد سر و مغز، بهبود حافظه، تسریع حواس و به تاخیر انداختن زوال شناختی مرتبط با سن مورد توجه قرار می گیرند (Miraj & Kiani, 2016). این گیاه ضد درد، آرامبخش، ضد التهاب، قابض، ضد باکتری، ضد عرق، پایین آورنده قند خون می باشد و در التهابات دهان و گلو به صورت غرغره مورد استفاده قرار می گیرد. مریم گلی در درمان زخمهایی که بر اثر واریس بوجود می آید بسیار موثر است. جوشانده غلیظ مریم گلی جهت دردهای مفصلی، رماتیسم و حتی راشیتیسم کودکان بسیار مفید و موثر است (علیی، ۱۴۰۰). در طب سنتی به منظور درمان سرماخوردگی، برونشیت، ناراحتی های گوارشی و سل مورد استفاده قرار گرفته است (Kazemizadeh et al., 2010). مطالعات متعدد بر روی گونه های مختلف جنس سالویا (مریم گلی) حاکی از خواص ضد با کتریایی، ضد قارچی، ضد توموری، آنتی اکسیدانی و ضد التهابی آن است (سلیم پور و همکاران، ۱۳۹۲). گیاهان مریم گلی منبع غنی از ترکیبات پلی فنل با بیش از ۱۶۰ پلی فنل شناسایی شده، شامل مجموعه ای از اسیدهای فنولیک و فلاونوئیدها هستند. این ترکیبات فنلی شامل کافئیک اسید و مشتقات آن، رزمارینیک اسید، سالویانولیک اسید، ساژکومارین، اسیدهای لیتوسپرمیک، اسید ساگرنیک و اسیدهای یونانئیک می باشد. رایج ترین فلاونوئیدها شامل لوتئولین، آپیژنین، هیسپیدولین، کامفرول و کوئرستین می باشد (Maliki, et al., 2021). فعالیت ضد میکروبی اسانس‌ها و عصاره‌های متانولی مریم گلی برای فعالیت‌های بالقوه ضد میکروبی و مهار رادیکال مورد بررسی قرار گرفتند. اسانس ها فعالیت ضد میکروبی از خود نشان دادند و از رشد میکروارگانیسم های بیماری زا جلوگیری کردند؛ بنابراین می توانند برای استفاده به عنوان عوامل ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی در صنایع غذایی مناسب باشند (Tepe et al., 2004). اسانس های هر دو گونه فعالیت های باکتریواستاتیک و باکتری کش قابل توجهی را علیه *باسیلوس سرئوس، باسیلوس مگاتریوم، باسیلوس سوبتلیس، آئروموناس هیدروفیلا، آئروموناس سوبریا و کلبسیلا اکسیتوکا* از خود نشان دادند (Delamare et al., 2007). عصاره ای از برگ مریم گلی فعالیت ضد میکروبی در برابر انتروکوک های مقاوم به وانکومایسین نشان داد. همچنین فعالیت ضد میکروبی در برابر *استرپتوکوک پنومونیه و استافیلوکوک اورئوس* مقاوم به متی سیلین نشان دادند. این ترکیبات فعالیت باکتری کشی را در برابر انتروکوک های مقاوم به وانکومایسین حداقل به مدت ۴۸ ساعت به صورت وابسته به دوز نشان دادند (Horiuchi et al., 2007). اسانس های رزماری و مریم گلی برای فعالیت های ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی آن ها مورد سنجش قرار گرفتند. مهمترین فعالیت ضد باکتریایی هر دو اسانس روی *اشریشیا کلی، سالمونلا تیفی، استافیلوکوکوس انتریتیدیس و شیگلا سونئی* بیان شد. فعالیت ضد قارچی و فعالیت آنتی اکسیدانی [ظرفیت مهار رادیکال آزاد، همراه با اثر بر پراکسیداسیون لیپیدی] اسانس مریم گلی به نمایش گذاشته شد (Mimica-Dukic and Bozin, 2008).

عمل اسانس مریم گلی، بخش های هیدروکربنی و اکسیژن دار آن، و اجزای اصلی آن، α-و-β توجون، ۱،۸-سینئول و کافور، بر روی سویه ای از *Botrytis cinerea* Pers مورد آزمایش قرار گرفت و فعالیت قارچ کشی را به صورت وابسته به دوز نشان دادند (Miraj & Kiani, 2016).

آسپرژیلوس فلاووس یک کپک از خانواده بزرگ آسپرژیلوس است که در حیوانات بیماری آسپرژیلوزیس را ایجاد میکند. این بیماری در حیوانات جوان مانند جوجه و نوزاد حیوانات قادر به ایجاد بیماری تنفسی شدید و با احتمال مرگ و میر بالا است. سایر بیماریهایی که توسط این قارچ ایجاد میشوند عبارتند از درماتیت گانگرنوز یا نکروتیک، انسفالومیلیت به دنبال آسپرژیلوس ریوی با علائم عدم تعادل و پیچش گردن، استئومایکوزین پس از فرم ریوی در استخوان و افتالمیت با ایجاد پلاک های کازئوز در روی قرنیه (فانی مکی و همکاران، ۱۳۹۴). از طرف دیگر *آسپرژیلوس فلاووس* و *آسپرژیلوس پارازیتیکوس* با تولید سموم قارچی مانند آفلاتوکسین از این نظر اهمیت بالایی دارند (سنچولی و همکاران، ۱۳۹۴). آفلاتوکسین ها ترکیبات بسیار سمی، موتاژنی، تراتوژنیستی و سرطانزا هستند که به عنوان متابولیت های ثانویه توسط گونه های قارچی آسپرژیلوس تولید میشوند. این سموم قارچی به واسطه شرایط دمایی و رطوبتی حضور گستردهای در مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری دارند (Bhat et al., 2010). قارچهای مهم مولد آفلاتوکسین *A. flavus and A. parasiticus* هستند (Frisvad et al., 2005).

مخمر مالاسزیا یکی از مهمترین قارچ های فرصت طلب و ساپروفیت است که به صورت طبیعی روی پوست انسان و حیوان خون گرم ساکن است و اهمیت آن در زمانی است که یک یا چند عامل نظیر ضعف سیستم ایمنی بدن در انواع لوسمی ها ترشح بیش از حدموم و چربی در کانال گوش، مصرف طولانی آنتی بیوتیک ها وجود دارند و زمینه ساز بیماری زایی این مخمرند، که در سال های اخیر نقش آن در بیماری های مزمن پوست بصورت زئونوز اهمیت پیدا کرده است (یزدان پرست، ۱۳۸۵). از طرفی گونه های مالاسزیا گاهی اوقات به عنوان عواملی کشنده همچون عفونت خون در نوزادان نارس (عفونت سیستمیک) تحت درمان با امولسیون چربی گزارش شده اند (Mantilla et al., 2021). مالاسزیا به طور طبیعی بر روی سطوح پوست بسیاری از حیوانات از جمله انسان یافت می‌شود. گاه به گاه در عفونت‌های فرصت‌طلب، برخی از گونه‌ها می‌توانند باعث کمبود رنگ یا هیپرپیگمانتاسیون در تنه و مکان‌های دیگر در انسان شوند. تست حساسیت برای این قارچ در دسترس است. در برخی منابع نیز مخمر لیپوفیل مالاسزیا را با ایجاد ضایعات پوستی بیماری پسوریازیس مرتبط دانسته اند، ولی هنوز نقش قطعی آن مشخص نشده است (جاویدی و همکاران، ۱۳۸۵). بیماری دیگری که توسط این قارچ ایجاد میشود عبارت است از پتریازیس؛ پتریازیس ورسیکالر که اغلب تینهآ ورسیکالر نامیده میشود، عفونت مزمن، عود کننده و معمولاً بدون علامت لایه شاخی پوست میباشد که یکی از دلایل آن *مالاسزیا فور فور* است. ضایعات به رنگهای کرم، قهوه ای تیره، قهوه ای کمرنگ یا بیرنگ و گاهاً سیاه دیده میشوند. البته به طور کلی ضایعات به دو شکل روشن تر از پوست (هیپوپیگمانته) اغلب در افراد با رنگ پوست تیره و پررنگتر از پوست (هایپرپیگمانته) غالباً در افراد با رنگ پوست روشن دیده میشوند (Pramanik et al., 2015; Gupta et al., 2008).

یکی از دغدغه ها و نگرانی ها در علوم زیستی و پزشکی، مقاومت باکتریایی و قارچی است تا جایی که میزان مقاوت برخی از این باکتری ها به داروهای شیمیایی بیش از ۹۰ درصد است در حال حاضر در مواردی که مقاومت دارویی ایجاد میشود با تغییر دارو به مقابله با باکتری ها و قارچ های بیماری زا پرداخته میشود. از سوی دیگر، طی سالیان متمادی داروهای طبیعی به خصوص گیاهان دارویی اساس و حتی در برخی موارد تنها وسیله درمان محسوب میشدند و در عین حال مواد اولیه آنها در صنعت داروسازی مورد استفاده قرار میگرفت (Esmaeili et al., 2007). لذا بهره گیری از داروهای گیاهی به عنوان جایگزین داروهای شیمیایی و آنتی بیوتیک ها مورد بررسی قرار گرفت. در این تحقیق خصوصیات ضد قارچی عصاره آبی و الکلی برگ مریم گلی بر روی *آسپرژیلوس فلاووس* و *مالاسزیا فور فور* مورد بررسی قرار گرفتند.

۲-روش تحقیق

تهیه گیاه و عصاره ها: بعد جمع آوری و عصاره گیری گیاه به روش سوکسوله عصاره های آبی، و اتانولی و متانولی تهیه گردید و به نسبت ۱ به ۴ د ی متیل سولفوکساید رقیق شدند.

تعیینMIC عصاره روی قارچها (حداقل غلظت مهار کننده رشد): برای هر عصاره به طور جداگانه ۱۱ لوله در نظر گرفته و یک سی سی محیط کشتSbouaud Dextrose Broth را به تمام لوله ها ریخته، بعد یک سی سی از عصاره مورد نظر را بارقت ۰/۱ به لوله اول وارد شده بنابراین مقدار ماده موثر در لوله اول ۵×۱۰^{۴} میکروگرم بر میلی لیتر بوده و رقت های ۱/۲ از آن در لوله های بعدی تهیه شدند. بدین صورت که با یک سرسمپلر استریل ۱۰۰۰ لاندا یا یک سی سی از محتویات لوله اول گرفته به لوله دوم وارد می کنیم. تیتر یا مقدارماده موثر در لوله دوم به ۲۵×۱۰^{۳} میکروگرم بر میلی لیترخواهد رسید. سپس مقدار ۱۰ لاندا از کونیدی قارچ وارد لوله ها شدند. سپس لوله های مربوطه در دمای ۲۰ تا ۳۰ درجه سانتیگراد به مدت چند روز انکوبه شده و بعد از این مدت انکوباسیون، ایجاد کدورت در لوله ها با لوله یازدهم مقایسه و در ارتباط با نتیجه بررسی میشود. لوله یازدهم فاقد عصاره می باشد، در نتیجه قارچ در آن رشد می کند و کدورت ایجاد می شود. هر چه به سمت لوله با شماره کمتر می رویم، چون غلظت عصاره بیشتر است، اثر بخشی آن نیز بیشتراست و کدورت ایجاد شده کمتر است. تیتر ماده ی موثر در آخرین لوله ی فاقد کدورت، به عنوان MIC عصاره درنظر گرفته می شود (Espinel-Ingroff, et al., 2010).

تعیین MFC عصاره روی قارچ ها (حداقل غلظت کشندگی قارچ ها): حداقل غلظت کشندگی قارچ به معنای حداقل غلظت از داروی ضد قارچ است که سبب کشتن ۹۹/۹درصد سلول های قارچ می شود یا به عبارتی حداقل غلظتی که فقط به۰/۱ درصد، سلول های قارچ اجازه ی رشد می دهد. جهت تعیینMFC مقدار ۱۰ لاندا از لولهMIC و سایر لوله های فاقد کدورت برداشته و در محیط کشت سابرو دکستروز آگار به صورت سفره ای و با سوآپ استریل کشت داده می شود و پس از آن ۲ تا ۳روز پلیتها را در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتیگراد قرار گرفت. کمترین غلظتی که در آن رشدی مشاهده نشد را به عنوان MFC در نظر گرفته شد.

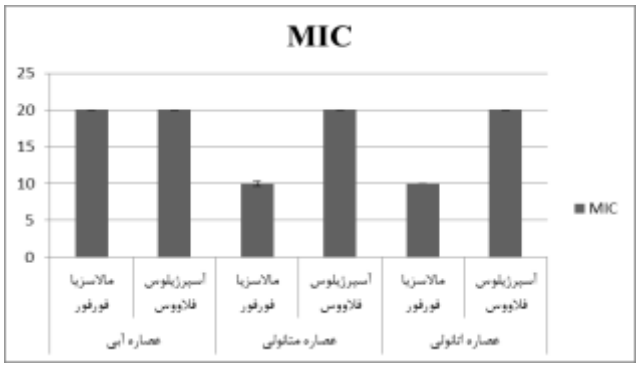
تست تعیین حساسیت قارچ ها با استفاده از روش دیسک: جهت این کار، ابتدا مقادیر ۵۰،۴۰،۳۰،۲۰،۱۰ لاندا عصاره ها را به طور جداگانه در دیسک های استاندارد وارد نموده، آن ها را در فور ۴۵ درجه سانتی گراد قرار داده تا رطوبت اضافی آن خشک شده، بتوان از آن ها استفاده نمود. در مرحله بعد، این دیسک ها را به فواصل مشخص و معینی از همدیگر در سطح محیط کشت سابورو دکستروز آگار قرار داده، ابتدا از نمونه سوسپانسیون قارچی به میزان ۱۰ لاندا در تمام سطح محیط کشت سابورو دکستروز آگار بصورت فشرده بوسیله سوآپ کشت داده و در فواصل معینی دیسک ها را قرار داده و در دمای ۳۰-۲۵ درجه سانتی گراد به مدت چند روز انکوبه نموده، بعد از مدت انکوب اسیون، ایجاد یا عدم ایجاد هاله ممانعت از رشد قارچ در اطراف دیسک ها بررسی خواهد شد (Darshit & Pandya, 2018).

تست تعیین حساسیت قارچ ها با استفاده از روش چاهک: برای این کار، ابتدا در محیط کشت سابورو دکستروز آگار، چاهک هائی ایجاد نموده و ۱۱۰،۱۰۰،۹۰،۸۰ لاندا از عصاره ها را وارد نموده، بعد از وارد نمودن عصاره به چاهک به مدت چند ساعت صبر نموده تا عصاره به طور کامل در محیط کشت نفوذ نموده، سپس نمونه قارچ را کشت داده در دمای ۳۰-۲۵ درجه سانتی گراد به مدت چند روز انکوبه نموده و بعد از انکوباسیون، ایجاد یا عدم ایجاد هاله ممانعت از رشد قارچ در اطراف چاهک بررسی خواهد شد.

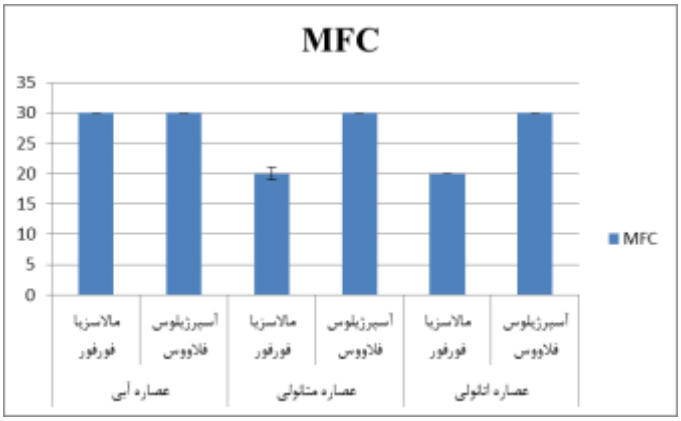
آنالیز آماری: میانگین نتایج با استفاده از نرم افزار SPSS و آزمون واریانس یک طرفه مورد ارزیابی قرار گرفتند.

۳- یافته های تحقیق

در این بررسی، اثر عصاره های هیدروالکلی متانولی، هیدروالکلی اتانولی و آبی برگ مریم گلی، بر روی قارچ *آسپرژیلوس فلاووس* و *مالاسزیا فورفور* با روشهای دیسک، چاهک، تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی رشد (MIC) و حداقل غلظت کشندگی قارچ (MFC) مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج نشان می دهد که MIC برای *آسپرژیلوس فلاووس* و *مالاسزیا فور فور* در عصاره آبی ۲۰، ۲۰، برای عصاره متانولی ۲۰، ۱۰ و برای عصاره اتانولی ۲۰ و ۱۰ (میکروگرم در سی سی) بدست آمد. MFC برای *آسپرژیلوس فلاووس* و *مالاسزیا فور فور* در عصاره آبی ۳۰،۳۰، برای عصاره متانولی ۳۰، ۲۰ و برای عصاره اتانولی ۳۰ و ۲۰ (میکروگرم در سی سی) بدست آمد (نمودار ۱و۲).

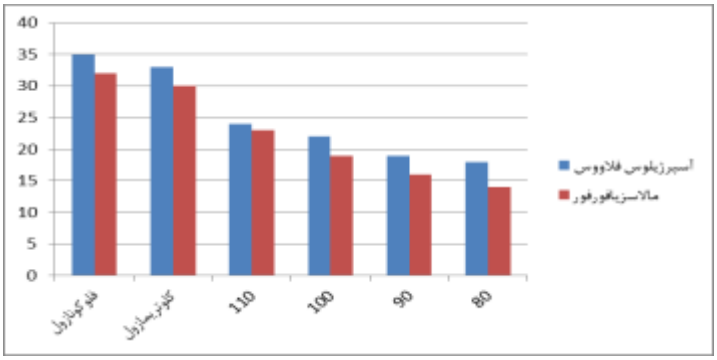


نمودار ۱- MIC عصاره های متانولی، اتانولی و آبی برگ مریم گلی روی *آسپرژیلوس فلاووس و مالاسزیا فورفور*



نمودار ۲- MFC عصاره های متانولی، اتانولی و آبی برگ مریم گلی روی *آسپرژیلوس فلاووس و مالاسزیا فورفور*

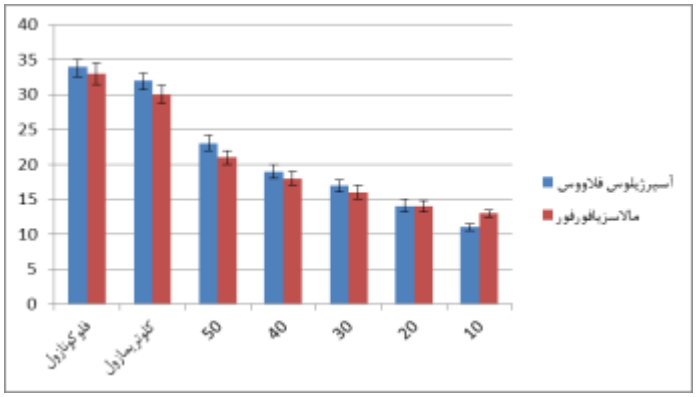
با توجه به نتایج به دست آمده MIC و MFC عصاره های آبی در مقایسه با اتانولی و متانولی برگ مریم گلی بر روی قارچ *مالاسزیا فورفور* تفاوت معنی داری با یکدیگر داشتند ($p<0.05$)؛ اما MIC عصاره اتانولی و متانولی برگ مریم گلی بر روی قارچ *مالاسزیا فورفور* تفاوت معنی داری با یکدیگر نداشتند ($p>0.05$). در قارچ *آسپرژیلوس فلاووس* MIC عصاره های آبی، اتانولی و متانولی برگ مریم گلی بر روی قارچ *مالاسزیا فورفور* تفاوت معنی داری با یکدیگر نداشتند ($p>0.05$).



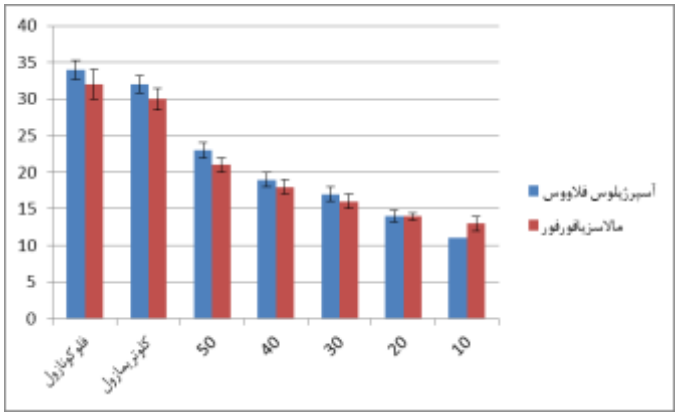
نمودار ۳ - میانگین قطر هاله عدم رشد (بر حسب میلی متر) *آسپرژیلوس فلاووس و مالاسزیافورفور* اطراف چاهکهای حاوی مقادیر مختلف عصاره اتانولی برگ مریم گلی در مقایسه با دارو های ضد قارچ

در هر سه عصاره ی اتانولی، متانولی و آبی هاله عدم رشد روند افزایشی با تغییرات حجم مورد استفاده نشان داد، ولی این تغییرات معنی دار نبود؛ به عبارت دیگر تمام غلظتها اثر یکسانی داشتند. مقایسه عصاره های اتانولی، متانولی و آبی بر هاله عدم رشد در هر کدام از حجم ها نشان می دهد که هیچکدام از عصاره ها در حجمهای مختلف از نظر هاله ی عدم رشد تفاوت معنی داری با یکدیگر نشان ندادند (جهت مقایسه این که در هر کدام از حجم ها کدام عصاره بیشترین اثر قارچ کشی را دارد). در تست تعیین حساسیت قارچ ها به داروی ضد قارچ به روش چاهک، هاله عدم رشد بیشتری در اطراف چاهکها نسبت به عصاره های مریم گلی مشاهده شد (نمودار ۳، ۴و۵).

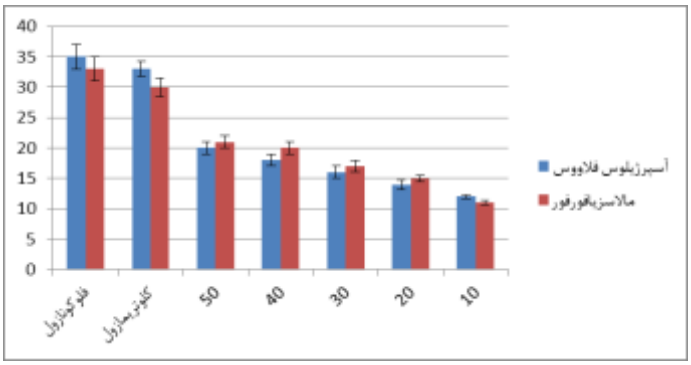
.



نمودار ۴-مقایسه میانگین قطر هاله (بر حسب میلی متر) *آسپرژیلوس فلاووس و مالاسزیافورفور* اطراف دیسک های عصاره اتانولی برگ مریم گلی در مقایسه با دارو های ضد قارچ



نمودار ۵-میانگین قطر هاله (بر حسب میلی متر) *آسپرژیلوس فلاووس و مالاسزیافورفور* اطراف دیسکهای عصاره متانولی برگ مریم گلی در مقایسه با دارو های ضد قارچ



نمودار ۶- میانگین قطر هاله (بر حسب میلی متر) آسپرژیلوس *فلاووس و مالاسزیافورفور* اطراف دیسک های عصاره آبی برگ مریم گلی در مقایسه با دارو های ضد قارچ

در هر سه عصاره ی اتانولی، متانولی و آبی هاله عدم رشد روند افزایشی با تغییرات حجم مورد استفاده نشان داد، ولی این تغییرات معنی دار نبود؛ به عبارت دیگر تمام غلظتها اثر یکسانی داشتند. مقایسه عصاره های اتانولی، متانولی و آبی بر هاله ی عدم رشد در هر کدام از حجم ها نشان می دهد که هیچکدام از عصاره ها در حجمهای مختلف از نظر هاله ی عدم رشد تفاوت معنی داری با یکدیگر نشان ندادند جهت مقایسه این که در هر کدام از حجم ها کدام عصاره بیشترین اثر قارچ کشی را دارد. در تست تعیین حساسیت قارچ ها به داروی فلوکونازول و کلوتریمازول به روش دیسک، هاله ی عدم رشد بیشتری در اطراف چاهکها نسبت به عصاره های مریم گلی مشاهده شد (نمودار ۶،۷و۸).

۴-بحث و نتیجه گیری

با توجه به رشد سریع قارچ ها بر روی محصولات غذایی و خسارت هایی که در زمینه صنایع غذایی، سلامتی و اقتصادی ایجاد می کند، بنابراین مهار رشد این قارچ می تواند کمک شایانی به سلامت جامعه کند. نتایج حاصل از این مطالعه می تواند اطلاعات پایه ای در زمینه کارایی و اثر بخشی عصاره های مختلف برگ مریم گلی به منظور کاهش رشد قارچ *آسپرژیلوس فلاووس و مالاسزیا فورفور* و فعالیت ضد قارچی این گیاه در اختیار قرار دهد.

در این تحقیق اثرات ضدقارچی عصاره های هیدروالکلی متانولی، اتانولی و آبی برگ مریم گلی بر روی قارچ *آسپرژیلوس فلاووس و مالاسزیا فورفور* مورد بررسی قرار گرفت. مطالعاتی در زمینه فعالیت ضد قارچی گیاه مریم گلی توسط محققین انجام گرفته است. توکلی پور و همکاران جهت ارزیابی فعالیت ضد قارچی عصاره هیدروالکلی مریم گلی بر قارچ *آسپرژیلوس فلاووس* انجام دادند،

نشان دادند که عصاره مریم گلی دارای خاصیت ضد قارچی بوده و توانست از رشد این قارچ جلوگیری نماید که با نتایج مطالعه ما مبنی بر خواص ضد قارچی گیاه مریم گلی مطابقت دارد (توکلی پور و همکاران، ۱۳۹۷). مطهری نیا و همکاران جهت ارزیابی فعالیت ضد قارچی عصاره هیدروالکلی مریم گلی بر قارچ *مالاسزیا فورفور* انجام دادند، نشان دادند که عصاره مریم گلی دارای خاصیت ضد قارچی بوده و توانست از رشد این قارچ جلوگیری نماید که با نتایج مطالعه ما مبنی بر خواص ضد قارچی گیاه مریم گلی مطابقت دارد. هم چنین مطالعات نشان داد که کتوکونازول در مقایسه با این عصاره گیاه دارای تاثیر ضد قارچی بیشتری بر *مالاسزیا فورفور* می باشد که در مطالعه ما فلوکونازول بیشترین اثر ضد قارچی را داشته است (مطهری نیا و همکاران، ۱۳۹۰). در سال ۲۰۲۱ در پژوهشی که Abomuti و همکاران جهت ارزیابی فعالیت ضد قارچی عصاره هیدروالکلی مریم گلی بر قارچ *کاندیدا آلبیکنس* انجام دادند، نشان دادند که عصاره مریم گلی دارای خاصیت ضد قارچی بوده و توانست از رشد این قارچ جلوگیری نماید که با نتایج مطالعه ما مبنی بر خواص ضد قارچی گیاه مریم گلی مطابقت دارد (Abomuti et al., 2021). در سال ۲۰۲۰ در پژوهشی که Mehani و همکاران جهت ارزیابی فعالیت ضد قارچی عصاره هیدروالکلی مریم گلی بر قارچ *کاندیدا آلبیکنس* انجام دادند، نشان دادند که عصاره مریم گلی دارای خاصیت ضد قارچی بوده و توانست از رشد این قارچ جلوگیری نماید که با نتایج مطالعه ما مبنی بر خواص ضد قارچی گیاه مریم گلی مطابقت دارد (Mehani et al., 2020).

یک همبستگی قوی بین محتوای ترکیبات مختلف عصاره های گیاه و قدرت ضد میکروبی وجود دارد که به محققان اجازه می دهد تحقیقات خود را به سمت مطالعه ساختار مولکولی ترکیبات فیتوشیمیایی گیاهی هدایت کنند. مکانیسم عمل برخی از ترکیبات فیتوشیمیایی، به ویژه ترکیبات فنلی را می شناسند (El Ouadi et al., 2015). از یافته های حاصل از این تحقیق می توان نتیجه گرفت که عصاره های هیدرومتانولی، هیدرواتانولی و آبی برگ گیاه مریم گلی دارای عملکرد مناسب ضد قارچی علیه قارچ *آسپرژیلوس فلاووس و ملاسزیا فورفور* هستند و امکان استفاده از آنها به منظور کاربرد در امور پزشکی، داروسازی، دامپزشکی و صنایع غذایی به صورت دارو و عناصر ضد قارچی وجود دارد.

منابع

۱. توکلی پور ح.، زبرجانی ل.، جوانمرد داخلی م. ۱۳۹۷. مقایسه تأثیر عصاره مریم گلی و زیره سبز در جلوگیری از توکسین زایی قارچ آسپرژیلوس فلاووس در مغز پسته. نوآوری در علوم و فناوری غذایی (علوم و فناوری غذایی). دوره ۱۰, شماره ۲; ۳۷ تا ۴۵

۲. جاویدی ز.، ملکی م.، فتا ع.، ناهیدی ی.، اسماعیلی ح.، حسینی ع.۱۳۸۵. پسوریازیس و آلودگی به مالاسزیا. مجله دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی مشهد. دوره ۴۹, شماره ۹۲; ۱۷۳ تا ۱۷۸.

۳. سلیم پور ف.، مازوجی ع.، مظهر س.ف.، برزین گ. ۱۳۹۲. مقایسه خواص ضد باکتریایی اسانس چهار گونه گیاه دارویی مریم گلی .Salvia L.پژوهش در پزشکی. دوره ۳۷, شماره ۴; ۲۰۵ تا ۲۱۰.

۴. سنچولی ن.، غفاری م.، قرایی ا ۱۳۹۴. بررسی مقایسهای اثرات ضدقارچی اسانسهای آویشن شیرازی، زیره سبز و میخ هندی در مقایسه با فرمالین بر قارچ مولد آفالتوکسین. پاتوبیولوژی مقایسه ای. ۱۲(۳): ۱۶۹۱-۱۶۹۸.

۵. طهری نیا ی.، رضایی م. ع.، زندی ف.، حسینی و.، رشیدی ا.، احمدی نیاز م.، امینی پور ا.، رحمانی م. ۱۳۹۰ مقایسه اثر ضد قارچی عصاره ریشه شیرین بیان، گیاه ختمی و کتوکونازول بر مالاسزیا فورفور. ارمغان دانش. دوره ۱۶, شماره ۵ (پی در پی ۶۵); ۵ تا ۴۳۲.

۶. علیی ح (۱۴۰۰) کتاب معجزه ۴۰ گیاه. انتشارات اختر چاپ اول

۷. فانی مکی ا.، امیدی آ.، هاشمی نژاد س. ا. ۱۳۹۴. بررسی اثر اسانسهای آویشن، خارمریم و آلوئه ورا بر رشد قارچ آسرژیلوس فلاووس و تولیدآفلاتوکسین.B1 مجله دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد. ۱۷(۲): ۸۴-۹۲.

۸. کاظمی‌زاده ز.، حبیبی ز.، یوسف‌زادی م.، اصحابی م.، حیدری‌ریکان م. ۱۳۸۸. بررسی ترکیب‌های شیمیایی و خواص ضدباکتری اسانس مریم گلی گل درشت(*Salvia macrochlamys* Boiss. & Kotschy) رویش یافته در استان آذربایجان غربی. فصلنامه گیاهان دارویی; ۹ (۳۳): ۸۲-۷۵.

۹. یزدان پرست س.ا. (۱۳۸۵). نحوه انتقال و حیات گونه های مالاسزیا در محیط و عفونتهای سیستمیک. پژوهش های آسیب شناسی زیستی (علوم پزشکی مدرس). دوره ۹, شماره ۲; ۶۵ تا ۷۳.

10. Abomuti, M.A., Danish, E.Y., Firoz, A., Hasan, N. and Malik, M.A., 2021. Green synthesis of zinc oxide nanoparticles using salvia officinalis leaf extract and their photocatalytic and antifungal activities. *Biology*, *10*(11), p.1075.

11. Bhat R., Rai R. V., Karim A. A. 2010. Mycotoxins in food and feed: present status and future concerns. Compr Rev Food Sci F, 9(1), pp. 57-81.

12. Darshit, R., & Pandya, D. D. (2018). Screening and characteristic study of antimicrobial actinomycetes from near-by soil of medicinal plants. *Int. J. Pharm. Pharma. Sci*, *10*, 66.

13. El Ouadi, Y., Manssouri, M., Bouyanzer, A., Majidi, L., Lahhit, N., Bendaif, H., Costa, J., Chetouani, A., Elmsellem, H. and Hammouti, B., 2015. Essential oil composition and antifungal activity of Salvia officinalis originating from North-East Morocco, against postharvest phytopathogenic fungi in apples. *Der Pharma Chemica*, *7*(9), pp.95-102.

14. Esmaeili, A., Rustaiyan, A., Nadimi, M., Larijani, K., Nadjafi, F., Tabrizi, L., Chalabian, F. and Amiri, H., 2008. Chemical composition and antibacterial activity of essential oils from leaves, stems and flowers of Salvia reuterana Boiss. grown in Iran. *Natural Product Research*, *22*(6), pp.516-520.

15. Espinel-Ingroff, A., Diekema, D. J., Fothergill, A., Johnson, E., Pelaez, T., Pfaller, M. A., ... & Turnidge, J. (2010). Wild-type MIC distributions and epidemiological cutoff values for the triazoles and six Aspergillus spp. for the CLSI broth microdilution method (M38-A2 document). *Journal of clinical microbiology*, *48*(9), 3251-3257.

16. Frisvad, J.C., Skouboe, P. and Samson, R.A., 2005. Taxonomic comparison of three different groups of aflatoxin producers and a new efficient producer of aflatoxin B1, sterigmatocystin and 3-O-methylsterigmatocystin, Aspergillus rambellii sp. nov. *Systematic and applied microbiology*, *28*(5), pp.442-453.

17. Gupta, A.K. and Cooper, E.A., 2008. Dermatophytosis (Tinea) and other superficial fungal infections. In *Diagnosis and treatment of human mycoses* (pp. 355-381). Totowa, NJ: Humana Press.

18. Kazemizadeh Z, Yousefzadi M, Ashabi MA, HeidariRikan M. 2010. Chemical composition and antibacterial properties of the essential oils in Salvia macrochlamysBoiss. andKotschy from West Azerbaijan. J Med Plants. 1, pp. 75- 81.

19. Maliki, I., Moussaoui, A.E., Ramdani, M. and ELBadaoui, K., 2021. Phytochemical screening and the antioxidant, antibacterial and antifungal activities of aqueous extracts from the leaves of Salvia officinalis planted in Morocco. *Moroccan Journal of Chemistry*, *9*(2), pp.9-2.

20. Mantilla, M.J., Cabrera Díaz, C.E., Ariza- Aranguren, G., de Cock, H., Helms, J.B., Restrepo, S., Jiménez, E. and Celis Ramírez, A.M., 2021. Back to the Basics: Two Approaches for the Identification and Extraction of Lipid Droplets from Malassezia pachydermatis CBS1879 and Malassezia globosa CBS7966. *Current Protocols*, *1*(5), p.e122.

21. Mehani, M., Segni, L., Terzi, V., Morcia, C. And Mehani, I., 2020. Antibacterial, antifungal activity and chemical composition study of essential oil of Salvia officinalis from the South Algerian. *Plant Cell Biotechnology and Molecular Biology*, *21*(49-50), pp.87-97.

22. Mimica-Dukic, N. and Bozin, B., 2008. Mentha L. species (Lamiaceae) as promising sources of bioactive secondary metabolites. *Current Pharmaceutical Design*, *14*(29), pp.3141-3150.

23. Pramanik, S.B., Atreyi Chakraborty, A.C., Anita Nandi, A.N., Maitrayee Banerjee, M.B., Rina Ghosh, R.G., Manas Bandopadhyay, M.B. and Debabrata Banerjee, D.B., 2015. A study of

prevalence of different species of Malassezia causing pityriasis versicolor and sites of distribution of lesion in a tertiary care hospital in Kolkata, India.
24. Tepe, B., Donmez, E., Unlu, M., Candan, F., Daferera, D., Vardar-Unlu, G., Polissiou, M. and Sokmen, A., 2004. Antimicrobial and antioxidative activities of the essential oils and methanol extracts of Salvia cryptantha (Montbret et Aucher ex Benth.) and Salvia multicaulis (Vahl). *Food chemistry*, *84*(4), pp.519-525.
25. Delamare, A.P.L., Moschen-Pistorello, I.T., Artico, L., Atti-Serafini, L. and Echeverrigaray, S., 2007. Antibacterial activity of the essential oils of Salvia officinalis L. and Salvia triloba L. cultivated in South Brazil. *Food chemistry*, *100*(2), pp.603-608.
26. Horiuchi, K., Shiota, S., Hatano, T., Yoshida, T., Kuroda, T. and Tsuchiya, T., 2007. Antimicrobial activity of oleanolic acid from Salvia officinalis and related compounds on vancomycin-resistant enterococci (VRE). *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, *30*(6), pp.1147-1149.
27. Miraj, S. and Kiani, S., 2016. A review study of therapeutic effects of Salvia officinalis L. *Der Pharmacia Lettre*, *8*(6), pp.299-303.

Comparing the effects of aqueous and alcoholic extracts of sage leaves on *Aspergillus flavus* and *Malassezia furfur* and fluconazole and clotrimazole drugs

Fatemeh Monfared[1], Fatereh Rezaei[2], Issa Gholampoor Azizi[3*]
[1]*Gradated student, Faculty of Medicine, Babol Branch, Islamic Azad University, Babol, Iran.*

مطالعات علوم زیستی و زیست فناوری

دوره ۱۰، شماره ۱، بهار ۱۴۰۳، صفحات ۱۳۵-۱۲۵

[2]*Department of Biobiology, Faculty of Medicine, Babol Branch, Islamic Azad University Babol, Iran.*
[3*]*Department of Mycology, Faculty of Veterinary Medicine, Babol Branch, Islamic Azad University Babol, Iran*

Abstract

Plants have been used for thousands of years as medicine to treat various diseases by most civilizations. Sage is the largest genus of plants in the Lamiaceae family. It is one of the medicinal plants that has been noticed in terms of the richness of essential oil and its numerous biologically active compounds. The purpose of this study was to compare the effects of aqueous and alcoholic (methanolic and ethanolic) extracts of sage (salvia) leaves on *Aspergillus flavus* and *Malassezia furfur*, and to compare it with fluconazole and clotrimazole drugs by two disc and well methods. The minimum inhibitory concentration (MIC) and the minimum lethal concentration (MFC) were determined using the tube dilution method. The results show that the MIC for *Aspergillus flavus* and *Malassezia furfur* in aqueous extract was 20, 20, for methanolic extract 20, 10 and for ethanolic extract 20 and 10 (µg/cc). MFC for *Aspergillus flavus* and *Malassezia furfur* in aqueous extract was 30, 30, for methanolic extract 30, 20 and for ethanolic extract 30 and 20 (µg/cc). It is concluded that the aqueous and hydroalcoholic extracts of sage had an inhibitory effect on the studied fungi.

Keywords: Salvia, *Aspergillus flavus*, *Malassezia furfur*, fluconazole, clotrimazole