

بررسی اثرات ضدقارچی آسپرژیلوس‌های جدا شده از مرکبات روی کاندیدا/آلبیکنس

محسن اکبری^۱، عیسی غلامپور عزیزی^{۲*}

^۱ دانش آموخته دانشکده دامپزشکی، واحد بابل، دانشگاه آزاد اسلامی، بابل، ایران
^۲ استادیار گروه قارچ شناسی دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، واحد بابل، دانشگاه آزاد اسلامی، بابل، ایران
*مسئول مکاتبات

چکیده

امروزه اثرات ضد میکروبی متابولیت‌های ثانویه قارچ‌ها مورد توجه قرار گرفته است. برخی متابولیت‌ها برای بشر و حیوانات سمی هستند و برخی در رشد و متابولیسم گیاهان نقش دارند و برخی دیگر دارای خواص ضد قارچی و میکروبی می‌باشند. از این جهت تحقیق حاضر با هدف بررسی اثرات ضد قارچی آسپرژیلوس‌های جدا شده از مرکبات روی کاندیدا/آلبیکنس صورت پذیرفت. نتایج بدست آمده در حاکی از آن است که متابولیت‌های ثانویه قارچ‌های آسپرژیلوس جدا شده از پوست پرتقال، دارای اثرات ضد میکروبی هستند به طوری که MIC و MFC/اسپرژیلوس فلاووس بر روی کاندیدا/آلبیکنس به ترتیب ۲۵۰ و ۵۰۰ میکرولیتر بر میلی لیتر تعیین گردید. همچنین MIC و MFC/اسپرژیلوس نایجر ایزوله ۱ بر روی کاندیدا/آلبیکنس به ترتیب ۲۵۰ و ۵۰۰ میکرولیتر بر میلی لیتر بود.

واژه‌های کلیدی: متابولیت ثانویه، اسپرژیلوس فلاووس، اسپرژیلوس نایجر، کاندیدا/آلبیکنس

۱- مقدمه

آسپرزیلوس قارچی هوازی با قابلیت الیگوتروفی است. پراکندگی جغرافیایی جهانی دارد و بیشتر در زیستگاه‌های زمینی از خاک، گیاهان، سایر موجودات و بسترهای ساخت بشر وجود دارند. این قارچ، به صورت رشته‌ای است. این رشته‌ها در آب، خاک، هوا، گیاهان و مواد غذایی پوسیده شده یافت می‌شود. این قارچ، اگر در حالت طبیعی (محیط‌های گسترش ذکر شده) حاضر باشد؛ غیر بیماری‌زا است (میرهندی و همکاران، ۲۰۰۲). آسپرزیلوس در حال حاضر به منظور پاکسازی زیستی آرسنیک، جذب زیستی، تلقیح زیستی و همچنین در تشخیص یون‌های آرسنیک به عنوان حسگرهای زیستی در حال مطالعه و استفاده است (Coello et al., 2003). آسپرزیلوس نایجر یکی از مهم‌ترین میکرو ارگانیسم‌های مورد استفاده در بیوتکنولوژی است. چندین دهه است که برای تولید آنزیم‌های خارج سلولی (غذایی) و اسید سیتریک استفاده می‌شود. در واقع، اسید سیتریک و بسیاری از آنزیم‌های آسپرزیلوس نایجر توسط سازمان غذا و داروی ایالات متحده در نظر گرفته می‌شوند. علاوه بر این، آسپرزیلوس نایجر برای تبدیل زیستی و تصفیه زباله مورد استفاده قرار می‌گیرد. در دو دهه گذشته، آسپرزیلوس نایجر به عنوان یک میزبان تبدیل مهم برای بیان بیش از حد آنزیم‌های غذایی توسعه یافته است؛ مانند سایر قارچ‌های رشته‌ای، باید با دقت درمان شود تا از تشکیل گرد و غبار اسپور جلوگیری شود. با این حال، در مقایسه با سایر قارچ‌های رشته‌ای، به عنوان یک مشکل خاص در مورد آلرژی یا آسیب شناسی قارچی برجسته نمی‌باشد. چند مورد پزشکی، به عنوان مثال: عفونت ریه گزارش شده است، اما همیشه در بیماران به شدت نقص ایمنی بوده است. در مناطق گرمسیری، عفونت گوش (اتومیکوزیس) به دلیل تهاجم آسپرزیلوس نایجر به کانال گوش خارجی رخ می‌دهد، اما ممکن است در اثر آسیب مکانیکی سد پوستی ایجاد شود. سویه‌های آسپرزیلوس نایجر یک سری متابولیت‌های ثانویه تولید می‌کنند که با این محدودیت‌ها نتیجه گیری می‌شود که آسپرزیلوس نایجر یک ارگانیسم تولیدی ایمن است (Schuster et al., 2002).

عوامل قارچی فرصت طلب به فراوانی در محیط زندگی وجود دارند و می‌توانند باعث آلوده شدن مواد غذایی و دارویی شوند. قارچ‌ها از عوامل بیولوژیک مهم آلوده کننده خوراک دام بوده و با ترشح آنزیم‌ها و متابولیت‌های مختلف می‌توانند نه تنها باعث فساد و از بین بردن غلات از جمله گندم شوند؛ بلکه می‌توانند با تولید سموم مختلف از جمله آفلاتوکسین از عوامل تهدید کننده جدی سلامت انسان از جمله در کشور ما باشند (رنجبر و همکاران، ۲۰۱۱). آسپرزیلوس یکی از مهم‌ترین قارچ‌های تولید کننده آفلاتوکسین بوده و می‌توانند در چندین فرآورده گیاهی از جمله ادویه جات، ترشی جات، غلات و دانه‌های روغنی وجود داشته باشد (Khanafari et al., 2007).

کاندیدا/آلبیکنس قارچی است که دو مورفولوژی اصلی از آن به خوبی شناخته شده است: شکل مخمر تخم مرغی و جوانه زده و فرم هایف رشته ای. شایع ترین پاتوژن قارچی کومنسال و یکی از اعضای میکروفلور مخاطی از جمله دهان، واژن و دستگاه گوارش می‌باشد. این پاتوژن فرصت طلب می‌تواند در بیماران مستعد، بسته به نوع ضعف آن‌ها باعث ایجاد عفونت مخاطی تا سیستمیک شود. هم‌چنین شایع ترین ارگانیسم قارچی ایجاد کننده سپتی سمی با مرگ و میر ۱۰۰٪-۵۰ بوده و عامل ۸۰٪ عفونت اوروفارنژیال پیشرفته و برفک در افراد HIV مثبت است. کاندیدایازیس پوستی در سگ‌ها، گربه‌ها، خوک‌ها و اسب‌ها گزارش شده است (Sudbery, 2011). گاستریت میکوتیک در گونه‌های گاوی، در درجه اول در حیوانات توصیف و گزارش شده است. بیشترین عوامل مشترک در گوساله‌های جوان درگیر، کاندیدا/آلبیکنس و فایکومیسیت‌ها هستند که علائم بالینی کمی وجود دارد یا اصلاً وجود ندارد. کاندیدایازیس در طیور به دلیل بیماری معمولاً پس از یک موقعیت مستعد رخ می‌دهد و تحت شرایط مزرعه علائم بالینی بیماری زمینه‌ای دیده خواهد شد. علائم غیر اختصاصی مانند: کوتاه قدی، افسردگی و پره‌ای ژولیده دیده می‌شود. عفونت روده ای که مایکوزیس چینه دان نامیده می‌شود، تنها نشانه بالینی بیماری نیست که توسط گونه های کاندیدا ایجاد می‌شود. کاندیدایازیس پوستی و کاندیدایازیس تاج نیز مهم بوده و می‌تواند منجر به ریزش پر شوند و عوارض قابل توجه‌ای ایجاد کنند (Ibrahim et al., 2015).

متابولیت های ثانویه محصولات طبیعی با وزن مولکولی کم هستند که اغلب ویژگی های زیست فعال را نشان می دهند و از پیش سازها ناشی از متابولیسم اولیه تولید می شوند. متابولیت های ثانویه طبق تعریف، برای ارگانیسم تولید کننده ضروری نیستند و در بیشتر موارد بر اساس تأثیر آنها مشخص می شوند. فعالیت های متابولیت های ثانویه قارچی در شیمی و فعالیت های زیستی آن ها در مورد سلامت انسان و حیوان بسیار متنوع هستند، مثل منابعی از ترکیبات درمانی مفید مانند پنی سیلین ها و لوواستاتین و همچنین سموم مضر مانند آفلاتوکسین و فومونیزین ها. مزایای تکاملی تولید، جداسازی و ترشح متابولیت های ثانویه های فعال زیستی توسط قارچ ها انجام شده است. متابولیت های ثانویه در پاسخ به محیط هایشان که از آنها پخش می شوند؛ اکثراً نقش های مهم بیولوژیکی دارند مانند: عوامل بیماریزا، عوامل دفاعی شیمیایی، جاذب حشرات، محافظت در برابر غیر زنده عوامل استرس زا، تنظیم کننده های رشد و به عنوان سیگنال های شیمیایی برای ارتباط با سایر موجودات. تعدادی از متابولیت های ثانویه آسپرژیلوس ها خواص ضد قارچی را نشان داده اند (Cary et al., 2018). در این پژوهش به بررسی اثرات ضد قارچ شامل کشندگی و محدودکنندگی رشد متابولیت قارچ های *آسپرژیلوس فلاووس* و *آسپرژیلوس نایجر* بر روی قارچ *کاندیدا آلبیکنس* پرداخته شده است.

۲- مواد و روش ها

جداسازی قارچ: با نمونه برداری از سطح پرتقال های کپک زده و کشت در محیط سابرو دکستروز آگار و قرار دادن در انکوباتور ۲۵-۳۰ درجه سانتی گراد بعد ۷ روز قارچ ها رشد نموده است.

تهیه متابولیت های قارچی: در این مرحله، نمونه قارچ در ارلن حاوی محیط کشت سابرو دکستروز براث منتقل شده و با انکوبه کردن در انکوباتور تکان دهنده به مدت ۱۴ روز متابولیت تهیه شد. در گام بعدی برای جداسازی متابولیت های ثانویه هر نمونه به صورت ۳ مرتبه با فاصله زمانی ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ انجام شده و در مرحله بعد فیلتراسیون محلول حاوی هر نمونه با استفاده از فیلتر های سر سرنگی انجام گرفت.

تهیه کاندیدا آلبیکنس: برای بررسی قدرت متابولیت های ثانویه جدا شده از *آسپرژیلوس*، *کاندیدا آلبیکنس* با ATCC 10231 و PTCC 5027 استفاده گردید.

تعیین MIC متابولیت آسپرژیلوس ها روی کاندیدا آلبیکنس: ابتدا ۱۱ لوله آزمایش استریل در نظر گرفته شده و به لوله های مورد نظر ۱ سی سی از محیط کشت سابرو دکستروز براث افزوده و اتوکلاو انجام شد. سپس برای تهیه رقت های یک دوم با سمپلر ۱۰۰۰ μ l از متابولیت تهیه شده به لوله شماره ۱ افزوده شده و آن را کامل شیک کرده و به این طریق رقت یک دوم از متابولیت مورد نظر در لوله ۱ تهیه شده و بر همین اساس مقدار متابولیت در لوله اول ۵۰۰ میکرولیتر بر میلی لیتر بدست آمده و سپس با استفاده از سمپلر ۱۰۰۰ μ l از لوله شماره ۱ برداشته شده و به لوله شماره ۲ افزوده شد و این عمل تا لوله شماره ۱۰ تکرار شده و در لوله شماره ۱۰ مقدار ۱۰۰۰ μ l برداشته و محلول اوت شد. سپس مقدار ۱۰ میکرولیتر (معادل ۱۰ لاند) از سوسپانسیون قارچی *کاندیدا آلبیکنس* تهیه شده به لوله های شماره یک تا یازده افزوده شد. لوله شماره ۱۱ نیز به عنوان لوله کنترل یا شاهد که حاوی محیط کشت و سوسپانسیون قارچی می باشد در نظر گرفته شد. سپس تمام لوله ها در انکوباتور ۳۰ درجه سانتیگراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شد و پس از آن، لوله ها برای تعیین MIC بررسی شده اند. لوله ای که دارای کمترین غلظت از متابولیت آسپرژیلوس بوده و در آن کدورتی دیده نشد به عنوان حداقل غلظت مهارکنندگی تعیین شد.

تعیین MFC متابولیت آسپرژیلوس ها روی کاندیدا آلبیکنس: در مرحله بعد جهت تعیین MFC با توجه به نتایج MIC پلیت های حاوی سابرو دکستروز آگار تهیه و تقسیم بندی شده و از لوله ی MIC و یک لوله قبل و بعد از آن توسط

سمپلر به میزان ۱۰ لاند نمونه گرفته شده و به پلیت‌ها منتقل و از آن کشت خطی تهیه شد. سپس این پلیت‌ها در انکوباتور ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شدند و آن دسته از مواردی که تعداد کلنی قارچ کمتر از ۱۰ عدد و همچنین کمترین غلظت متابولیت ثانویه قارچ را شامل می شدند؛ به عنوان MFC تعیین شدند.

۳- یافته‌های تحقیق

MIC و MFC آسپرژیلوس فلاووس بر روی کاندیدا آلبیکنس به ترتیب ۲۵۰ و ۵۰۰ میکرولیتر بر میلی لیتر بوده است. همچنین MIC و MFC آسپرژیلوس نایجر ایزوله ۱ بر روی کاندیدا آلبیکنس به ترتیب ۲۵۰ و ۵۰۰ میکرولیتر بر میلی لیتر اندازه گیری شد. شایان توجه است که MIC آسپرژیلوس نایجر ایزوله ۲ بر روی کاندیدا آلبیکنس ۵۰۰ میکرولیتر بر میلی لیتر بوده است (جدول ۱).

جدول ۱: نتایج MIC و MFC آسپرژیلوس‌ها

p-Value	<i>Aspergillus niger</i> 2	<i>Aspergillus niger</i> 1	<i>Aspergillus flavus</i>	
<0.001	500±0.00 ^b	250±0.00 ^a	250±0.00 ^a	MIC
1		500±0.00	500±0.00	MFC

۴- بحث و نتیجه‌گیری

قارچ‌های رشته‌ای عناصر مختلفی از متابولیت‌های ثانوی را تولید می‌کنند. بسیاری از قارچ‌ها متابولیت‌هایی تولید می‌کنند که در نتایج رقابتی نقش دارند. این ترکیبات همراه با آنزیم‌های هضم خارج سلولی تولید شده و نقش بسیاری از آن‌ها در محیط طبیعی هنوز به طور کامل مشخص نمی‌باشد (Jiang et al., 2022). برخی از این متابولیت‌ها توسط بسیاری از قارچ‌ها تولید می‌شوند در حالی که برخی فقط در یک یا چند گونه یافت می‌شوند. برخی متابولیت‌ها برای بشر و حیوانات سمی هستند و برخی در رشد و متابولیسم گیاهان نقش دارند و برخی دیگر دارای خواص ضد قارچی و میکروبی می‌باشند. مایکوتوکسین‌ها گروه بزرگی از متابولیت‌های ثانویه قارچی هستند که خواص فیزیکی و شیمیایی متفاوتی دارند. تعداد زیادی از متابولیت‌های ثانویه آسپرژیلوس دارای خواص ضد میکروبی می‌باشند (Li et al., 2012) و چنانچه که در مطالعه حاضر نیز مشخص شد؛ متابولیت‌های آسپرژیلوس‌های جدا شده از پوست پرتقال دارای اثرات ضد میکروبی بر روی کاندیدا آلبیکنس هستند. نتایج این مطالعه نیز از نظر خواص ضد باکتریایی متابولیت‌های ثانویه قارچ‌های آسپرژیلوس، با یافته‌های مطالعه حاضر همخوانی دارد؛ چرا که در مطالعه حاضر نیز مشخص شد که MIC و MFC آسپرژیلوس نایجر ایزوله ۱ بر روی کاندیدا آلبیکنس به ترتیب ۲۵۰ و ۵۰۰ میکرولیتر بر میلی لیتر می‌باشد. شایان توجه است که MIC آسپرژیلوس نایجر ایزوله ۲ بر روی کاندیدا آلبیکنس ۵۰۰ میکرولیتر بر میلی لیتر بود. Mehedi و همکاران در مطالعه‌ای با بررسی اثر ضد باکتریایی Pseurotin A که نوعی ماده در متابولیت آسپرژیلوس فومیگاتوس می باشد، متابولیت را بر باکتری‌هایی هم چون /شریشیا کولی، شیکلا بویدی، شیکلا شیکا بیان نمودند که متابولیت مذکور فعالیت ضد باکتریایی در برابر این باکتری‌ها دارد. نتایج با دیسک‌های با غلظت ۲۰۰ میکرولیتر به ترتیب ۱۴، ۱۷ و ۱۶ میلی متر بود (Mehedi et al., 2010). Padhi و همکاران (۲۰۲۰) در مطالعه‌ای با بررسی اثر متابولیت‌های ثانویه جدا شده از آسپرژیلوس بر کاندیدا بیان نمودند که آسپرژیلوس فعالیت ضد قارچی انتخابی قوی در برابر کاندیدا با MIC ۵۲ میکروگرم در میلی لیتر نشان داد. دو متابولیت ثانویه اوراسپرون A و پیروفن فعالیت ضد میکروبی متوسط تا قوی نشان دادند که هفت گونه کاندیدا آزمایشی مختلف را مهار می‌کند؛ اثر پیروفن فعال با IC_{۵۰} در محدوده ۳۵ تا ۹۷ میکروگرم بر میلی لیتر است. شایان توجه است که خاصیت ضد میکروبی متابولیت‌های ثانویه به دلیل اجزای

آنتی بیوتیک آنها نظیر اوراسپرون، آسپرپرون، فونسیسون، کربنارون و پیروفن می‌باشد (Padhi et al., 2020). Irobi و همکاران (۲۰۰۰) در مطالعه ای اثر متابولیت‌های ثانویه آسپرژیلوس جدا شده از غلات کپک زده کشور نیجریه را مورد بررسی قرار دادند و دریافتند که عصاره خام روغن‌زدایی شده با اثر نفت این قارچ دارای فعالیت ضدباکتریایی قابل توجهی بر علیه *استافیلوکوکوس اورئوس* با MIC به ترتیب ۱۸ و ۲۰ میلی‌متر بوده است (Irobi et al., 2000).

مطالعات گسترده دهه های اخیر، نقش گونه‌های قارچی آسپرژیلوس از جمله؛ *آسپرژیلوس پارازیتیکوس*، *آسپرژیلوس وایت*، *آسپرژیلوس فلاووس* و *آسپرژیلوس نایجر* را در تخریب میکروارگانسیم‌ها و توکسین‌های پاتوژن ثابت کرده است (Zhang et al., 2019; Zhang et al., 2016). در مطالعه‌ای Doyle و Marth تعیین نمودند با افزودن یک مخلوط میسیلیومی سوپه ۲۹۹۹ NRRL از قارچ *آسپرژیلوس پارازیتیکوس* به مخلوط حاوی توکسین های آفلاتوکسین می‌توان ضمن افزایش میزان تخریب این توکسین‌ها، سطح نهایی آن‌ها را در نمونه کاهش داد، به‌طوری که میزان این تخریب نسبتی مستقیم با اندازه و حجم میسیلیوم‌های تلقیحی دارد (Doyle et al., 1978). در مطالعه ای توسط Lu و همکاران بررسی اثرات ضد قارچی متابولیت‌های *آسپرژیلوس ترئوس* واریته ارئوس، مقدار ۵۰ lc بر روی قارچ‌های *آلترناریا سولانی* با مقدار کمتر از ۰/۱ و بر روی *فوزاریوم اکسی پاروم* با مقدار کمتر از ۰/۱ نشان داده که نشان دهنده‌ی اثر ضد قارچی قوی متابولیت می‌باشد (Lu et al., 2017). در مطالعه‌ای که توسط Jing Liu و همکاران با موضوع بررسی اثرات ضد میکروبی متابولیت‌های *آسپرژیلوس* سیدیوی جدا شده از آب دریا و اثر آن بر روی باکتری‌های *استافیلوکوکوس پنومونیه*، *استافیلوکوکوس اپیدرمیس*، *ایشریشا کولی* انجام گرفت؛ MIC به ترتیب ۴، ۴ و ۲ میکروگرم در میلی لیتر مشاهده شد (Liu et al., 2019). Elsayed و همکاران در مطالعه‌ای اثرات ضد میکروبی و ضد سرطانی آسپرژیلوس‌های جدا شده از گیاه *Tecoma stans* را بررسی کردند که نتایج آن بر روی باکتری *سودوموناس آئروژینوزا* مقدار MIC، ۱۲۵ به دست آمد. همچنین اثرات ضد سرطانی متابولیت‌ها بر روی سلول‌های سرطانی کارسینوما کبد مشاهده شد (Elsayed et al., 2021). در مطالعه‌ای توسط Sadrati و همکاران، اثرات ضد باکتریایی متابولیت‌های *آسپرژیلوس نیوبریجری* جدا شده از *پستاسیکا سپریکوس*، اثر بر روی باکتری‌های *ایشریشا کولی* مقدار MIC و MBC به ترتیب ۳۱۲/۵ و ۲۵۰۰ و بر روی *استرپتوکوکوس پایونز* مقدار MIC و MBC یک مقدار ۳۱۲/۵ به دست آمد (Dalle et al., 2003). در این مطالعه متابولیت‌های ثانویه قارچ‌های آسپرژیلوس جدا شده از پوست پرتقال، دارای اثرات ضد میکروبی بر علیه *کاندیدا آلبیکنس* هستند.

منابع

۱. میرهندی، سیدحسین، غیاثیان، سیدامیر. تهیه آنتی ژن متابولیک آسپرژیلوس فومیگاتوس برای تشخیص سرولوژیک آسپرژیلوس. مجله پزشکی بالینی ابن سینا. ۲۰۰۲. ۱۵;8(4):0-.
۲. رنجبر س، نظری ر، راضیه، نوری. جداسازی و شناسایی مولکولی گونه‌های آسپرژیلوس خوراک دام. نشریه علمی پژوهشی میکروبیولوژی دامپزشکی. ۲۰۱۱. 21;7(1):11-7. Sep
3. Coello R, Charlett A, Ward V, et al. Device-related sources of bacteraemia in English hospitals-opportunities for the prevention of hospital acquired bacteraemia. *J Hosp Infect.* 2003; 53:46-57.
4. Schuster E, Dunn-Coleman N, Frisvad JC, Van Dijck PW. On the safety of *Aspergillus niger*-a review. *Applied microbiology and biotechnology.* 2002 Jan;59(4):426-35.
5. Khanafari A, Soudi H, Miraboulfathi M. Biocontrol of *Aspergillus flavus* and aflatoxin B1 production in corn. *Journal of Environmental Health Science & Engineering.* 2007;4(3):163-8.
6. Dalle F, Dumont L, Franco N, Mesmacque D, Caillot D, Bonnin P, Moiroux C, Vagner O, Cuisenier B, Lizard S, Bonnin A. Genotyping of *Candida albicans* oral strains from healthy

- individuals by polymorphic microsatellite locus analysis. *Journal of clinical microbiology*. 2003 May;41(5):2203-5.
7. Sudbery PE. Growth of *Candida albicans* hyphae. *Nature Reviews Microbiology*. 2011 Oct;9(10):737-48.
8. Neitzke JP, Schiefer B. Incidence of mycotic gastritis in calves up to 30 days of age. *The Canadian Veterinary Journal*. 1974 May;15(5):139.
9. Ibrahim S. R. M., Elkhayat E. S., Mohamed G. A., et al. Aspernolides F and G, new butyrolactones from the endophytic fungus *Aspergillus terreus*. *Phytochemistry Letters* . 2015; 14:84–90. doi: 10.1016/j.phytol.2015.09.006.
10. Cary JW, Gilbert MK, Lebar MD, Majumdar R, Calvo AM. *Aspergillus flavus* secondary metabolites: more than just aflatoxins. *Food Safety*. 2018;6(1):7-32.
11. Li XJ, Zhang Q, Zhang AL, Gao JM. Metabolites from *Aspergillus fumigatus*, an endophytic fungus associated with *Melia azedarach*, and their antifungal, antifeedant, and toxic activities. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2012 Apr 4;60(13):3424-31.
12. Padhi S, Masi M, Panda SK, Luyten W, Cimmino A, Tayung K, Evidente A. Antimicrobial secondary metabolites of an endolichenic *Aspergillus niger* isolated from lichen thallus of *Parmotrema ravum*. *Nat Prod Res*. 2020 Sep;34(18):2573-2580. doi: 10.1080/14786419.2018.1544982. Epub 2019 Jan 2. PMID: 30600725.
13. Irobi ON, Gbodi TA, Moo-Young M, Anderson WA. 2000. Antibiotic activity of *Aspergillus quadrilineatus* extracts isolated from a Nigerian cereal. *Pharm Biol*. 38(1):57–60.
14. Jiang Y, Wu J, Kawagishi H, Jiang C, Zhou Q, Tong Z, Tong Y, Wang P. Study on Secondary Metabolites of Endophytic Fungus, *Aspergillus fumigatus*, from *Crocus sativus* L. Guided by UHPLC-HRMS/MS-Based Molecular Network. *Int J Anal Chem*. 2022 May 9; 2022: 7067665. doi: 10.1155/2022/7067665. PMID: 35586120; PMCID: PMC9110225.
15. Mehedi MA, Molla AH, Khondkar PR, Sultana S, Islam MA, Rashid MA, Chowdhury R. Pseurotin A: an antibacterial secondary metabolite from *Aspergillus fumigatus*. *Asian J. Chem*. 2010 Apr 1;22:2611-4.
16. Zhang X., Yang L., Wang W., et al. Flavipesines A and B and asperchalsines E-H: cytochalasans and merocytochalasans from *Aspergillus flavipes*. *Journal of Natural Products* . 2019;82(11):2994–3001./
17. Zhang L.-H., Feng B.-M., Sun Y., et al. Flaviphenalenones A-C, three new phenalenone derivatives from the fungus *Aspergillus flavipes* PJ03-11. *Tetrahedron Letters*. 2016;57(6):645–649. doi: 10.1016/j.tetlet.2015.12.099.
18. Doyle M, Marth E. Aflatoxin is degraded by heated and unheated mycelia, filtrates of homogenized mycelia and filtrates of broth cultures of *Aspergillus parasiticus*. *Mycopathologia*. 1978;64(1):59-62.
19. Lu YH, Jin LP, Kong LC, Zhang YL. Phytotoxic, antifungal and immunosuppressive metabolites from *Aspergillus terreus* QT122 isolated from the gut of dragonfly. *Current microbiology*. 2017 Jan;74(1):84-9.
20. Liu YJ, Zhang JL, Li C, Mu XG, Liu XL, Wang L, Zhao YC, Zhang P, Li XD, Zhang XX. Antimicrobial secondary metabolites from the seawater-derived fungus *Aspergillus sydowii* SW9. *Molecules*. 2019 Dec 16;24(24):4596.
21. Elsayed HE, Kamel RA, Ibrahim RR, Abdel-Razek AS, Shaaban MA, Frese M, Sewald N, Ebrahim HY, Moharram FA. Cytotoxicity, Antimicrobial, and In Silico Studies of Secondary Metabolites From *Aspergillus* sp. Isolated From *Tecoma stans* (L.) Juss. Ex Kunth Leaves. *Frontiers in chemistry*. 2021;9.

Investigation of the antifungal effects of *Aspergillus* isolated from citrus fruits on *Candida albicans*

Akbari M¹, Gholampour Azizi I^{*2}

1. Gradated student, Faculty of Veterinary Medicine, Babol Branch, Islamic Azad University, Babol, Iran.

2. Department of Clinical Science, Faculty of Veterinary Medicine, Babol Branch, Islamic Azad University, Babol, Iran.

*Corresponding author

Abstract

Today, the antimicrobial effects of secondary metabolites of fungi have been considered. Some metabolites are toxic to humans and animals, some play a role in the growth and metabolism of plants, and some have antifungal and antimicrobial properties. Therefore, the present study was conducted with the aim of investigating the antifungal effects of *Aspergillus* isolated from citrus fruits on *Candida albicans*. The results obtained indicate that the secondary metabolites of *Aspergillus* fungi isolated from orange peel have antimicrobial effects, so that the MIC and MFC of *Aspergillus flavus* on *Candida albicans* were determined to be 250 and 500 µl/ml, respectively. Also, the MIC and MFC of *Aspergillus niger* isolate 1 on *Candida albicans* were 250 and 500 µl/ml, respectively.

Keywords: Secondary metabolite, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Candida albicans*
