

اثر ضد قارچی عصاره هیدروالکلی جفت گیاه بلوط بر روی قارچ ساپروولگنیا

اصغر شریفی^۱، رضا گرجی پور^۲، عین الله گرجی پور^۳، مرجان سردسیری^۴، رضا محمدی^۵، عباس جبارنژاد^۶

^۱ دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، دانشکده پزشکی، گروه میکروپزشناسی، ^۲ دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، دانشکده پزشکی، کمیته تحقیقات دانشجویی، ^۳ مرکز تحقیقات شیلات استان کهگیلویه و بویر احمد، ^۴ دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، دانشکده پرستاری و مامایی، ^۵ دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، دانشکده پزشکی، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، ^۶ دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، دانشکده پزشکی، گروه دروس عمومی

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۷/۲۸ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۱۰/۱۵

چکیده

زمینه و هدف: با توجه به اثبات خواص ضد میکروبی گیاه بلوط روی تعدادی از میکروارگانیسم‌ها، هدف این مطالعه بررسی اثر ضد قارچی عصاره هیدروالکلی جفت گیاه بلوط بر روی قارچ ساپروولگنیا بود.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی بعد از جمع‌آوری بلوط و جدا کردن پوسته روی میوه آن که جفت نام دارد، عصاره هیدروالکلی آن تهیه و حداقل غلظت کشندگی این عصاره روی قارچ ساپروولگنیا اندازه‌گیری شد. سپس عدم رشد این قارچ در غلظت‌های متفاوت عصاره جفت اندازه‌گیری و با مالاشیت گرین به عنوان یک داروی استاندارد ضد قارچ مقایسه شد.

یافته‌ها: عصاره جفت بلوط خاصیت ضد قارچی علیه ساپروولگنیا از خود نشان داد. این اثر ضد قارچی وابسته به غلظت بوده و همراه با افزایش غلظت عصاره، خاصیت ضد قارچی آن افزایش یافت. حداقل غلظت کشندگی این عصاره معادل ۳۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود.

نتیجه‌گیری: عصاره هیدروالکلی جفت گیاه بلوط می‌تواند از رشد قارچ ساپروولگنیا جلوگیری کند و در مقایسه با داروی ضد قارچی مالاشیت گرین اثر ضد قارچی خوبی از خود نشان دهد.

واژه‌های کلیدی: جفت، بلوط، ضد قارچ، ساپروولگنیا

* نویسنده مسئول: رضا گرجی پور، یاسوج، دانشگاه علوم پزشکی، دانشکده پزشکی، کمیته تحقیقات دانشجویی

Email: rz_bavi@yahoo.com

مقدمه

گیاه بلوط مصارف دارویی بسیاری از جمله؛

اثر ضد عفونی کنندگی و درمان اسهال دارد. این اثرات به دلیل وجود تانن‌ها در ترکیبات آن است. همچنین از گل‌های آن برای سوختگی و درمان زخم استفاده می‌شود (۳). از ترکیبات موجود در میوه بلوط می‌توان به مواد روغنی، قندهای مختلف، کوئرسیت، نیتوزان و آمیدان اشاره کرد. پوست داخلی میوه (جفت) تأثیر بسیار زیادی در درمان بیماری‌های باکتریایی و ویروسی مانند آفت مخاط دهان دارد (۳).

یک گونه از قارچ ساپروولگنیا به نام ساپروولگنیا پارازیتیکا مهم‌ترین گونه ساپروولگنیا است که موجب عفونت قارچی به نام ساپروولگنیا زیس در تخم ماهیان قزل‌آلا می‌شود (۳):

مولیاوان و همکاران^(۱) (۲۰۰۶) در مطالعه‌ای ثابت نمودند که عصاره متانولی میوه درخت بلوط اثر مهاری قابل توجه روی همانند سازی ویروس نوع ۲ تب استخوان دارد (۶). در مطالعه‌ای که ابراهیمی و همکاران (۲۰۰۸) بر روی سه باکتری استاف اورئوس، استاف اپیدرمیدیس، استاف ساپروفیتیکوس و اشرشیاکولی انجام دادند، ثابت شد که اثر عصاره بلوط بر روی باکتری‌ها وابسته به غلظت بوده و بلوط ایرانی دارای ترکیباتی با خواص ضد باکتریایی است (۳). در مطالعه‌ای که خسروی و بهزادی (۲۰۰۰) انجام دادند، روشن شد که عصاره جفت دانه بلوط در برخی غلظت‌ها دارای تأثیر بیشتر یا مشابهی نسبت

بیماری‌های عفونی از مهم‌ترین بیماری‌های شایع در جهان هستند که بار مالی فراوانی به جامعه بشری تحمیل می‌کنند. آنتی‌بیوتیک‌های شیمیایی در دهه‌های گذشته هر چند توانسته‌اند نقش مهمی را در درمان بیماری‌های عفونی ایفا نمایند، اما مشکلاتی که در رابطه با بروز مقاومت‌های میکروبی به وجود آمده است، باعث شده تا به مصرف هر چه بیشتر گیاهان دارویی گرایش پیدا شود (۲ و ۱). طبیعت ایران دارای انواع گونه‌های گیاهی می‌باشد که بسیاری از آنها دارای خواص صنعتی و دارویی می‌باشند. در صنایع غذایی از این گیاهان به عنوان نگهدارنده، آنتی‌اکسیدان و مولدهای طعم استفاده می‌شود (۲ و ۱).

بلوط ایرانی درختی به ارتفاع ۲۰ متر با تاج کروی بزرگ از خانواده چتریان می‌باشد. برگ‌های آن پهن، یکنواخت، تخم مرغی شکل و با حاشیه دنداندار می‌باشد و کرک‌های ستاره‌ای شکل و انبوه روی برگ و کرک‌های نرم و خزی زرد رنگ پشت آن را فرا گرفته است. میوه آن کشیده، بیضی شکل و در پیاله‌ای سفیدرنگ، مخملی و مخروطی شکل قرار گرفته است. میوه درخت بلوط که آکرون نامیده می‌شود در پیاله‌ای به نام گلاند قرار گرفته است. قسمت‌های مورد استفاده آن پوست، برگ، ریشه و میوه آن است. پوست نازک روی میوه بلوط که جفت نام دارد، مصارف طبی و صنعتی دارد. برگ‌های این درخت را در تابستان و میوه آن را در پاییز می‌چینند (۳).

1-Muilawan et al

به آنتی‌بیوتیک‌های نالیدیکسیک اسید و کوتریموکسازول است (۷).

در مطالعه دیگری که بر روی خصوصیت ضد باکتریایی عصاره آبی جفت بلوط روی میکروارگانیزم‌ها انجام شد، مشخص شد که عصاره آبی این گیاه روی تعدادی از میکروارگانیزم‌ها در مقایسه با آنتی‌بیوتیک‌های استاندارد اثر مطلوبی از خود نشان داد (۸). با توجه به موارد پیش گفت، هدف این مطالعه بررسی اثر ضد قارچی عصاره هیدروالکی جفت گیاه بلوط بر روی قارچ ساپروولگنیا بود.

روش بررسی

این مطالعه تجربی طی سال‌های ۱۳۹۰-۱۳۸۹ در دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج و مرکز تحقیقات ماهیان سردابی شهید مطهری یاسوج انجام شد.

۲۰ کیلو گرم بلوط در فصل پاییز از کوه‌های بویر احمد تهیه شد و پوسته روی آن که جفت نام دارد جدا گردید و پس از تمیز کردن و شستشو روی پارچه تمیزی در مجاورت هوا و در سایه خشک شد. سپس به وسیله آسیاب برقی به پودر تبدیل شده و در کیسه‌های پلاستیکی فاقد هوا نگهداری شد.

برای عصاره‌گیری از روش سوکسیله استفاده شد. در این روش ۲۰۰ گرم پودر جفت با ۵۰۰ سی‌سی آب مقطر و الکل اتیلیک ۹۶ درجه به نسبت مساوی به روش خیساندن مخلوط شده و در تاریکی نگهداری

شد. مدت نگهداری آن دو روز بود و هر روز به مدت زمان ۲۰ دقیقه محتویات ارلن به هم زده می‌شد. بعد از آن به وسیله کاغذ صافی واتمن صاف شد. مایع صاف شده با دستگاه روتاری اوپوراتور در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد و در شرایط خلاء عصاره‌گیری شد. عصاره غلیظ موجود در دستگاه عصاره‌گیر در پتری دیش‌های استریل قرار داده شد. جهت تبخیر هر چه بیشتر آب و الکل، پتری دیش‌ها در درجه حرارت ۴۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. میزان عصاره ی به دست آمده مجموعاً ۵۶ گرم بود.

روش Pure plate یکی از روش‌های معمول برای ارزیابی مواد ضد میکروبی است که نام دیگر آن رقت لوله‌ها است. در این روش ابتدا محیط کشت سابورود دکستروز آگار تهیه می‌شود و به کمک اپلیکاتور از محیط کشت پایه قارچی سابورود دکستروز آگار که قبلاً روی آن قارچ ساپروولگنیا کشت داده شده است قارچ را برداشته و سوسپانسیون معادل لوله ۱ مک فارلند که برای کشت باکتری‌ها استفاده می‌شود تهیه نموده و سپس مقدار ۱۰ میکرو لیتر از این سوسپانسیون را روی این محیط سابورود دکستروز آگار زمانی که درجه حرارت آن به ۴۵ درجه سانتی‌گراد رسید، اضافه نموده و همچنین عصاره هیدروالکی تهیه شده از پوسته بیرونی میوه بلوط (جفت) در غلظت‌های ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰، ۲۵۰، ۳۰۰، ۴۰۰، ۸۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر همراه با شاهد به این محیط کشت اضافه می‌شوند. برای کنترل مثبت از مالاشیت گرین و برای

بر میلی‌متر رشد این قارچ کاملاً متوقف شد. لازم به ذکر است، در محیط کشتی که از محلول آب و الکل به محیط کشت همراه با قارچ اضافه گردید پس از مدت ۴۸ ساعت رشد این قارچ شروع شد و بعد از یک هفته به طور کامل در تمامی قسمت‌های این محیط کشت پخش گردید، همچنین در غلظت ۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر عصاره هم، همین نتیجه مشاهده شد و این عصاره از غلظت ۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر توانست اثر ضد قارچی روی این قارچ از خود نشان دهد، یعنی تعداد کلنی‌ها کاهش یافت. این آزمایش‌ها در سه نوبت و در غلظت‌های مختلف انجام گرفت.

نتایج نشان داد که اثر ضدقارچی عصاره جفت وابسته به غلظت بوده و همراه با افزایش غلظت عصاره تعداد کلنی‌های قارچ ساپروولگنیا کاهش یافت. غلظت بالاتر از ۲۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر عصاره جفت بیشتر از داروی ضد قارچی مالاشیت گرین در همین غلظت بر روی این قارچ مذکور مؤثر بود.

حداقل غلظت کشندگی عصاره جفت بر روی قارچ ساپروولگنیا به روش رقت لوله‌ای و Pure plate با استفاده از محیط کشت سابورود دگستروز مایع و جامد معادل ۳۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود.

بحث

آنتی‌بیوتیک‌های ساختگی در دهه گذشته هر چند توانسته‌اند نقش مهمی را در درمان بیماری‌های عفونی ایفا نمایند، اما مشکلاتی که در رابطه با بروز مقاومت‌های میکروبی آنتی‌بیوتیک‌ها به وجود آمد،

کنترل منفی از محلول آب و الکل استفاده می‌شود. تمامی این موارد هم‌زمان در داخل پتری دیش ریخته شده و مخلوط می‌شوند، سپس این محیط کشت‌ها را در درجه حرارت اطاق قرار داده و روزانه به مدت ۱۰ روز بررسی نموده و اگر پس از این مدت قارچ روی این محیط کشت‌ها رشد نکرد، نشان‌دهنده این است که عصاره توانسته است روی این قارچ مؤثر باشد.

یافته‌ها

نتایج نشان داد که قارچ ساپروولگنیا بیشترین حساسیت در برابر عصاره هیدروالکلی جفت را با غلظت ۳۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر و کمترین حساسیت را با غلظت ۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از خود نشان داد و در غلظت ۲۵ میلی‌گرم کاملاً مقاوم بود. تمامی غلظت‌ها با کنترل منفی که از محلول آب و الکل و همچنین کنترل مثبت که محلول مالاشیت گرین بود، مقایسه شدند. در همه موارد همراه با افزایش غلظت عصاره، خاصیت ضد میکروبی نیز افزایش پیدا کرد و در غلظت بالا اثر ضد میکروبی عصاره مشابه یا حتی بهتر از برخی آنتی‌بیوتیک‌ها است.

در غلظت‌های ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰، ۲۵۰ و ۳۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر به ترتیب رشد کلنی‌ها کمتر شد، به طوری که در غلظت ۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر این عصاره هیچ‌گونه اثری روی این قارچ مشاهده نشد و مانند کنترل منفی بود. از غلظت ۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر خواص ضد قارچی این عصاره در مقایسه با کنترل شروع و در غلظت ۳۰۰ میکروگرم

باعث شد تا به مصرف هر چه بیشتر داروهای گیاهی گرایش پیدا شود (۲ و ۱). هدف این مطالعه بررسی اثر ضد قارچی عصاره هیدروالکی جفت گیاه بلوط بر روی قارچ ساپروولگنیا بود.

نتایج این مطالعه نشان داد، عصاره هیدروالکی جفت گیاه بلوط می‌تواند از رشد قارچ ساپروولگنیا جلوگیری نماید. احتمالاً فعالیت ضد میکروبی بلوط به خاطر تانن‌های موجود در عصاره باشد، زیرا تانن‌ها از ترکیبات مهم در درختان بلوط هستند و اهمیت این درختان بیشتر به خاطر تاننی است که در اجزای مختلف آنها یافت می‌شود. تانن‌ها دارای خواص مختلف می‌باشند که از جمله می‌توان به اثر ضد قارچی آنها اشاره نمود. تانن‌ها می‌توانند برای باکتری‌ها، مخمرها و قارچ‌های رشته‌ای و حتی ویروس‌ها توکسیک و سمی باشند. تانن‌ها با رسوب پروتئین‌های میکروبی مانع از رشد آنها می‌شوند. تانن‌ها می‌توانند باعث شوند که پروتئین‌های غذایی در دسترس میکروب‌ها قرار نگیرند و یا از طریق مکانیسم به دام انداختن آهن، باند شدن هیدروژن و پراکنش اختصاصی با پروتئین‌های حیاتی مانند آنزیم‌ها ایفای نقش کنند. تانن‌ها حتی قادرند با مهار آنزیم ترانس کریپتاز معکوس در ویروس‌های انسانی مانع از تکثیر آنزیم آنها شوند (۹).

یافته‌های این پژوهش نشان داد که عصاره جفت با افزایش غلظت باعث عدم رشد قارچ ساپروولگنیا شد که با مطالعه صفری و معتمدی (۲۰۰۹)

که بر روی اثر آنتی‌باکتریال یک گونه از گیاه بلوط علیه ۸ پاتوژن شایع به روش دیسک دیفیوژن انجام شد و افزایش قطر هاله متوقف‌کنندگی عدم رشد متناسب با افزایش غلظت عصاره متانولی بلوط بود، هم‌خوانی دارد (۱۰). در مطالعه دیگری که در خصوص نقش عصاره متانولی برگ گیاه بلوط به روش انتشار دیسک بر روی تعدادی از باکتری‌ها انجام شد، قطر هاله عدم رشد بعد از ۲۴ ساعت اندازه‌گیری شد و در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر این عصاره روی تعدادی از میکروارگانیسم‌ها مؤثر بود (۱۱).

نتیجه‌گیری

این مطالعه نشان داد که عصاره هیدروالکی جفت گیاه بلوط اثر ضد قارچی مناسبی بر روی قارچ ساپروولگنیا دارد و این اثر وابسته به غلظت بوده و با افزایش غلظت عصاره اثر ضد قارچی آن نیز افزایش می‌یابد. پیشنهاد می‌شود در مطالعات آتی ترکیبات مؤثره ضد قارچی جفت گیاه بلوط بررسی و شناسایی شوند تا زمینه برای کاربرد دارویی آن فراهم شود.

تقدیر و تشکر

این مطالعه با همکاری دانشکده پزشکی یاسوج و مرکز تحقیقات ماهیان سردابی شهید مطهری یاسوج انجام شد.

REFERENCES:

1. Cawan MM. Plant products as antimicrobial agents. Clin Microbial Rev 1999; 12(4): 564 –82.
2. Ayfetr DTurgay O. Antimicrobial activities of various medicinal and commercial plant extract. Turk J Boil 2003; 27: 157–62.
3. Ebrahimi A, Khiabani M. Antimicrobial effect of Iranian oak by Disk diffusion method ,medical plant seasonal. 2008. 26 -34.
4. Bruno DW, Woo BP. Fish dis. & disorders. CABI Publishing 1994; 3: 559- 99.
5. Beakes A. The main fungal pathogen of salmonids . Pickering and Willoughby 2000.
6. Muliawan Y, Shamala SY, Hashimo D, Yusof R. Inhibitory potential of quercus usitanica extract on dengue virus type 2 replication. Southeast Asian. J Trop Med Public Health 2006; 37(3); 132-5.
7. Khosravi A, Behzady A. Diffrentiated of oak methanolic extract with standard antibiotic in infection treatment. Arak J Medical University (rah Avard Danesh) spring 2000; 18: 1-6.
8. Sharifi A, Taghavi SS. Antimicrobiological effect of *Quercus infectoria gall (Oak)* on some microorganisms Md Thesis. Yasuj: Yasuj University of Medical Sciences, 1390.
9. Nair R, Kalariya T, Chanada S. Antibacterial activity of some plant extracts used in folk medicine. J Herb Pharmacother 2007; 7: 191-201.
10. Safari A, Motamedi H. A preliminariry study on antibacterial activity om *Querqus brantii* against bacterial pathogens. I J Botani 2009; 5(2): 176 -80.
11. Kharazmi L, Mrouh M. The rol of methanolic extract of *Querqus infectoria* bark in lipemia & glysemia & gastric ulcer & bacterial growth. J Med Res 2009; 2(4): 224-30.

Antifungal Effect of Quercus Infectoria Gall (Oak) on Saprolegnia Fungi

Sharifi A¹, Gorjipour R^{2*}, Gorjipour AA³, sardsiri M⁴, Mohammadi R⁵, Jabarnejad A⁶

¹Department of Microbiology,, Faculty of Medicine, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran,

²Student Research Committee, Faculty of Medicine, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran,

³Fisheries Research Center of Kohgiluyeh & Boyerahmad Province, ⁴School of Nursing & Midwifery, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran, ⁵ Medicinal Plant Research Center, Faculty of Medicine, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran, ⁶Department of Public Courses, Faculty of Medicine, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran,

Received: 18 Oct 2011 Accepted: 02 Jan 2012

Abstract

Background & Aim: Quercus infectoria gall (Oak) has a long history of use as a medicinal plant; therefore, the present investigation aims to study the antifungal properties of Quercus infectoria gall (Oak) on Saprolegnia fungi.

Methods: In the present experimental study, the hydroalcoholic extract of Quercus infectoria gall (Oak), was studied against saprolegnia. Minimal Inhibitory Concentration (MIC) and minimum lethal concentration were evaluated for this extract. The antimicrobial potent of Quercus infectoria gall (Oak) extract with malachite green as commercial antifungi reagent were compared.

Results: Findings of this study demonstrated the antifungal properties of the extract. This antifungal effect was dose dependent where its effect was increased with increasing the extract concentration. The MIC and MLC which, was determined by the tube serial dilution method, was 300 microgram per milliliter.

Conclusion: Hydro alcoholic extract of oak placenta can help to prevent fungal growth in comparison with anti-fungal activity of Malachite green.

Key words: Quercus infectoria gall (Oak), Antifungi, Saprolegnia

* **Corresponding Author: Gorjipour R**, Student Research Committee, Faculty of Medicine, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran
Email: rz_bavi@yahoo.com