

Comparing the in vitro antifungal activity of various *Aloe vera* leaf extracts on *Aspergillus flavus* growth and aflatoxin B1 production

Babaei A^{1*}, Tavafi H¹, Manafi M², Fahimifar A³

1- Department of Biology, Faculty of Sciences, Malayer University, Malayer, I. R. Iran.

2- Department of Animal Sciences, Faculty of Natural Sources, Malayer University, Malayer, I. R. Iran.

3- Faculty of Psychology and Education, Allameh Tabatabaei University, Tehran, I. R. Iran.

Received August 18, 2012; Accepted October 31, 2013

Abstract:

Background: Due to the wide spread of *Aspergillus flavus* contamination on the food stuff, its complete growth inhibition is inevitable. *Aloe vera* has anti-microbial compounds that have significant antifungal and antibacterial activities. The aim of this study was to compare the antifungal activity of acetonic, ethanolic and aqueous extracts of *Aloe vera* on *A. flavus* growth and aflatoxin B1 production.

Materials and Methods: In this study, the antifungal activity of acetonic, ethanolic, and aqueous extracts of *Aloe vera* was evaluated using the agar plate diffusion method. Extracts were tested at different concentrations (0, 10², 10³, 10⁴ and 10⁵ microliters /liter). To evaluate the effect of the extract on aflatoxin B1 production, the acetonic extract of *Aloe vera* was used and the amount of toxin produced was measured using the HPLC method.

Results: The maximum antifungal activity (100%) was observed in 10⁵ microliters /liter of acetonic extract. The inhibition percentages of aflatoxin B1 production at 2,000 and 2 microliters /liter concentrations in 50 ml of culture medium were 40.94% and 18.14%, respectively.

Conclusion: The acetonic extract of *Aloe vera* can be more effective than the other solvents to prevent *A. flavus* growth and it can also reduce the production of aflatoxin B1 by *A. flavus*.

Keywords: *Aspergillus flavus*, Aflatoxin B1, Antifungal activity, *Aloe vera*, HPLC

* Corresponding Author.

Email: arash_babaei@yahoo.com

Tel: 0098 918 851 2622

Fax: 0098 851 235 5404

Conflict of Interests: *No*

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences January, 2014; Vol. 17, No 6, Pages 537-544

Please cite this article as: Babaei A, Tavafi H, Manafi M, Fahimifar A. Comparing the in vitro antifungal activity of various *Aloe vera* leaf extracts on *Aspergillus flavus* growth and aflatoxin B1 production. *Feyz* 2014; 17(6): 537-44.

مقایسه فعالیت ضد قارچی عصاره‌های مختلف برگ گیاه صبر زرد بر میزان رشد قارچ آسپرژیلوس فلاووس و تولید آفلاتوکسین B₁ در شرایط آزمایشگاهی

آرش بابایی^{۱*}، حدیث طوافی^۲، میلاد منافی^۳، آمنه فهیمی فر^۴

خلاصه:

سابقه و هدف: با توجه به آلودگی وسیع قارچ آسپرژیلوس فلاووس بر مواد غذایی، مهار کامل رشد آن اجتناب ناپذیر است. گیاه صبر زرد به دلیل دارا بودن ترکیب‌های ضد میکروبی، فعالیت‌های ضد قارچی و ضد باکتریایی را نشان می‌دهد. هدف از این مطالعه، مقایسه فعالیت ضد قارچی عصاره‌های استونی، اتانولی، متانولی و آبی گیاه صبر زرد بر رشد آسپرژیلوس فلاووس و ارزیابی اثر عصاره بر میزان تولید آفلاتوکسین B₁ می‌باشد.

مواد و روش‌ها: فعالیت ضد قارچی عصاره‌های استونی، اتانولی، متانولی و آبی گیاه صبر زرد به روش Agar Plate Diffusion بررسی شد. عصاره‌ها در غلظت‌های ۰، ۱۰^۲، ۱۰^۳، ۱۰^۴ و ۱۰^۵ میکرولیتر بر لیتر مورد آزمایش قرار گرفتند. به منظور ارزیابی اثر عصاره بر میزان تولید آفلاتوکسین B₁، از عصاره‌ی استونی استفاده گردید و به کمک روش HPLC میزان سم تولیدی اندازه‌گیری شد. نتایج: بیشترین فعالیت ضد قارچی (۱۰۰ درصد)، در غلظت ۱۰^۵ میکرولیتر بر لیتر عصاره استونی دیده شد. میزان مهار تولید آفلاتوکسین در غلظت ۲۰۰۰ میکرولیتر بر ۵۰ میلی‌لیتر محیط کشت، ۴۰/۹۴ درصد و در غلظت ۲ میکرو لیتر بر ۵۰ میلی‌لیتر، ۱۸/۱۴ درصد گزارش شد.

نتیجه‌گیری: عصاره‌ی استونی گیاه صبر زرد می‌تواند به‌عنوان عامل ضد قارچی موثرتری بر مهار رشد آسپرژیلوس فلاووس نسبت به حلال‌های دیگر باشد. همچنین، این عصاره باعث کاهش تولید آفلاتوکسین B₁ توسط قارچ آسپرژیلوس فلاووس می‌شود.

واژگان کلیدی: آسپرژیلوس فلاووس، آفلاتوکسین B₁، فعالیت ضد قارچی، گیاه صبر زرد، HPLC

دو ماه‌نامه علمی-پژوهشی فیض، دوره هفدهم، شماره ۶، بهمن و اسفند ۱۳۹۲، صفحات ۵۴۴-۵۳۷

مقدمه

گیاهان دارویی به دلیل تولید برخی از متابولیت‌های ثانویه معمولاً به‌عنوان منبع غنی از عوامل ضد میکروبی محسوب می‌شوند که می‌توان از آنها به‌عنوان داروهای ضد میکروبی استفاده کرد [۲،۱]. صبر زرد، گیاهی است از خانواده‌ی لاله (Liliaceae)، که دارای برگ‌های ضخیم، آبدار و درشت می‌باشد و حاشیه و وسط برگ‌ها را ژلی شفاف با ویسکوزیته‌ی بالا پر کرده است [۳]. گیاه صبر زرد شامل ترکیب‌های متنوعی از جمله ترکیب‌های فنولی، ساپونین‌ها و آنتروکوئینون‌ها می‌باشد. این ترکیب‌ها از جمله عوامل ضد عفونی کننده به‌شمار می‌آیند و دارای فعالیت‌های ضد باکتریایی، ضد ویروسی و ضد قارچی می‌باشند [۴].

^۱ استادیار، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه ملایر

^۲ دانشجوی دکتری میکروبیولوژی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه ملایر

^۳ استادیار، گروه علوم دامی، دانشکده منابع محیط زیست، دانشگاه ملایر

^۴ کارشناس ارشد مشاور خانواده، دانشکده روانشناسی و علوم تربیتی، دانشگاه علامه طباطبائی

* نشانی نویسنده مسئول:

ملایر، دانشگاه ملایر، دانشکده علوم پایه، گروه زیست شناسی

تلفن: ۰۹۱۸ ۸۵۱۲۶۲۲ | دورنویس: ۰۸۵۱ ۲۳۵۵۴۰۴

پست الکترونیک: arash_babaei@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۹۱/۵/۲۸ | تاریخ پذیرش نهایی: ۹۱/۸/۱۰

قارچ‌ها از جمله میکروارگانیسم‌های دخیل در فساد مواد غذایی (به‌خصوص مواد غذایی انباری) هستند و باعث کاهش ارزش مواد غذایی می‌شوند. از جمله قارچ‌هایی که به‌صورت غالب بر روی محصولات انباری رشد می‌کنند، گونه‌های مختلف جنس آسپرژیلوس، فوزاریوم و پنسیلیوم‌ها هستند [۵]. آسپرژیلوس فلاووس (*Aspergillus flavus*) و آسپرژیلوس پارازیتیکوس (*Aspergillus parasiticus*) از جمله قارچ‌های رشته‌ای هستند که دارای توزیع جهانی‌اند و بر روی انواع زیادی از مواد آلی فاسد شدنی یافت می‌شوند. قارچ‌های نام برده متابولیت ثانویه سمی و کارسینوژنی به‌نام آفلاتوکسین تولید می‌کنند که برای سلامتی انسان و حیوان مضر است [۶]. بنابراین، این نگرانی سبب شده است که محدودیت‌های تنظیمی بر روی رشد این قارچ‌ها و به‌مراتب بر تولید آفلاتوکسین توسط آنها اتخاذ شود. آفلاتوکسین‌ها متابولیت‌های ثانویه‌ی پلی کتیدالی هستند که به‌طور عمده توسط سویه‌های توکسین‌زای آسپرژیلوس فلاووس و آسپرژیلوس پارازیتیکوس تولید می‌شوند [۸،۷]. مصرف مواد غذایی آلوده به آفلاتوکسین‌ها باعث بیماری‌های حاد و یا مزمن مانند سرطان کبد می‌شوند و اگر در مقادیر بسیار مصرف شوند، منجر به مرگ می‌گردند [۹]. در میان ۱۸ نوع آفلاتوکسین تولید شده توسط قارچ‌ها آفلاتوکسین B₁ بیشتر از سایر میکروتوکسین‌ها مورد توجه قرار

زمانی که حدود ۰/۵ میلی لیتر از PBS در بخش بالای آنتی بادی ستون باقی بود، ۶۰ میلی لیتر PBS داخل مخزن ریخته شده و ۱۰ میلی لیتر از محلول صاف شده شفاف به دست آمده را به آن اضافه نموده و محتویات مخزن با یک قاشق خوب بهم زده شد. عصاره فوق با سرعت ۲ تا ۳ میلی لیتر در دقیقه بدون فشار خارجی از ستون عبور داده شد. ستون با ۱۰ میلی لیتر آب شسته شده و به مدت ۵ تا ۱۰ ثانیه با عبور هوا از ستون به کمک فشار مثبت خشک شد.

تزریق آفلاتوکسین به ستون

ابتدا ۰/۵ میلی لیتر متانول به داخل ستون ریخته شد و بدون فشار خارجی و با استفاده از نیروی ثقل از ستون عبور داده شد. محلول خارج شده در یک بالن ژوژه ۳ میلی لیتری جمع شد. بعد از یک دقیقه، ۰/۷۵ میلی لیتر متانول به ستون منتقل شد. محلول خارج شده از ستون در همان بالن ژوژه اولیه جمع آوری شده و محلول باقیمانده در ستون را نیز تحت فشار خارجی در بالن ژوژه جمع نموده و تا نشانه، بالن ژوژه را با آب پر کرده و محلول هم زده شد. محلول شفاف مستقیماً در آنالیز HPLC به کار گرفته شد. در نهایت مقدار ماده با آشکار ساز فلورسانس تعیین شد.

نتایج

فعالیت ضد قارچی عصاره‌های مختلف صبر زرد بر رشد *آسپرژیلوس فلاووس*

بر اساس نتایج حاصل از این تحقیق بیشترین اثر مهار کنندگی عصاره گیاه صبر زرد مربوط به عصاره استونی با غلظت 10^0 میکرو لیتر (۱۰۰ درصد) و کمترین اثر ضد قارچی متعلق به عصاره‌ی متانولی با غلظت 10^2 میکرو لیتر (۶/۲۵ درصد) بود (جدول شماره ۱). نتایج نشان دادند که عصاره‌ی استخراج شده از استون در غلظت 10^0 میکرو لیتر مهار رشد ۱۰۰ درصد را بر قارچ *آسپرژیلوس فلاووس* نشان داده است و در کمترین غلظت استفاده شده از عصاره‌ی استونی (10^2 میکرو لیتر) مهار رشد ۵۱/۷۲ درصد گزارش شد. ممانعت رشد قارچ در بیشینه غلظت عصاره-های اتانولی، آبی و متانولی به ترتیب برابر با ۵۸/۳، ۷۶/۷۲ و ۳۷/۵ درصد و در کمینه غلظت از عصاره‌ها (10^2 میکرو لیتر) به ترتیب برابر ۳۵/۳۴، ۲۸/۳۳ و ۶/۲۵ درصد دیده شد. (جدول شماره ۱ و نمودارهای شماره ۱ و ۲).

اثر عصاره‌ی استونی صبر زرد بر تولید آفلاتوکسین B1 به وسیله‌ی *آسپرژیلوس فلاووس*

به استناد جدول شماره ۲، عصاره گیاه صبر زرد بر کاهش تولید آفلاتوکسین B1 حاصل از قارچ *آسپرژیلوس* اثر معنی دار

جدا تحت تاثیر غلظت‌های ۰، ۲، ۲۰، ۲۰۰ و ۲۰۰۰ میکرو لیتر بر ۵۰ میلی لیتر از عصاره‌ی صبر زرد قرار داشتند، تلقیح شدند و در دمای ۲۸ درجه‌ی سانتی گراد به مدت ۷ روز انکوبه گردیدند. از هر کدام از غلظت‌ها ۳ تکرار تهیه شد. بعد از ۷ روز میسیلیوم-های رشد کرده بر سطح محیط کشت خارج شدند و با آب مقطر استریل شستشو داده شدند و به منظور بررسی ایندکس رشد قارچی، بعد از خشک شدن وزن شدند. محیط کشت بعد از گذراندن از تنظیف، از کاغذ واتمن شماره‌ی ۱ نیز پاساژ داده شد و برای آنالیز به وسیله‌ی HPLC به آزمایشگاه مرجع سنجش آفلاتوکسین فرستاده شد. بعد از پاک‌سازی، نمونه‌ها به روش KHA-S001 مطابق با رفرنس موجود در استاندارد ملی ۶۸۷۲ مورد آنالیز قرار گرفتند.

اساس آزمایش

سم موجود در نمونه‌ها بعد از پاک‌سازی از محیط کشت با استفاده از حلال متانول آب (۸:۲) از نمونه استخراج شد و عصاره به دست آمده با حجم مشخصی از آب در بالن ژوژه تا رسیدن به یک غلظت معین رقیق گردید. عصاره رقیق شده از ستون‌های ایمونوآفینیتی دارای آنتی بادی‌های ویژه آفلاتوکسین-های گروه‌های B عبور داده شد. با عبور عصاره رقیق شده از ستون سم موجود در عصاره (آنتی ژن) به آنتی بادی‌های درون ستون متصل می‌گردد. سم متصل شده به آنتی بادی در درون ستون توسط عبور متانول از داخل ستون شسته شده و درون ویال جمع آوری گردیده و با آب رقیق گردید. تعیین مقدار با استفاده از روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا انجام گرفت.

استخراج

به ۵۰ میلی لیتر آزمودنی ۵ گرم کلرور سدیم و ۳۰۰ میلی لیتر متانول- آب اضافه گردید و به مدت ۳۰ ثانیه تکان داده شد. عصاره استخراجی از نمونه از کاغذ صافی عبور داده شد. هم‌چنین، ۱۰ میلی لیتر از عصاره صاف شده با استفاده از کاغذ صافی از جنس فیلتر شیشه‌ای عبور داده شد.

آماده‌سازی ستون و تخلیص

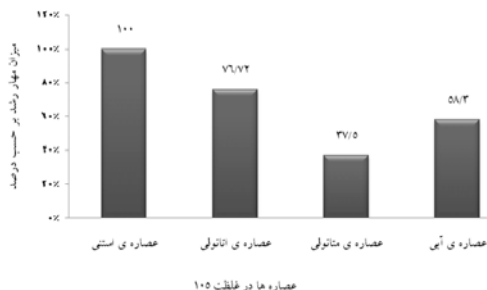
مخزن نمونه به ستون ایمونوآفینیتی متصل گردید و بعد از اینکه دمای ستون به دمای اتاق نزدیک شد، ۱۰ میلی لیتر PBS به مخزن متصل به ستون ریخته شده و اجازه داده شد با سرعت ۲ تا ۳ میلی لیتر در دقیقه بدون فشار خارجی از ستون عبور نماید.

تولید شده به ترتیب ۵۹/۸ و ۵۲/۶ نانوگرم بر گرم گزارش شد. وزن خشک میسلیوم‌های ایجاد شده توسط قارچ در محیط YES مایع در غلظت‌های ۰، ۲، ۲۰، ۲۰۰، ۲۰۰۰ میکرولیتر بر ۵۰ میلی‌لیتر به- ترتیب: ۳/۵۸، ۳/۰۲، ۲/۸۶، ۲/۴۳ و ۱/۹۳ گرم بود. نتایج نشان می‌دهد که در محیط YES رشد قارچ در غلظت ۲۰۰۰ میکرولیتر به‌طور کامل مهار نشده است، در صورتی‌که بر محیط PDA در این غلظت مهار رشد ۱۰۰ درصد دیده شد.

داشته است. بیشترین اثر مهارکنندگی در تولید آفلاتوکسین مربوط به غلظت ۲۰۰۰ میکرولیتر بر ۵۰ میلی‌لیتر از عصاره (۴۰/۹۴ درصد) و کمترین فعالیت مهارکنندگی عصاره در غلظت ۲ میکرولیتر بر ۵۰ میلی‌لیتر (۱۸/۱۴ درصد) گزارش شد. این در حالی است که در نمونه شاهد (بدون تاثیر عصاره) میزان آفلاتوکسین تولید شده ۷۷/۲ نانوگرم بر گرم بود. در غلظت‌های ۲۰ و ۲۰۰ میکرولیتر بر ۵۰ میلی‌لیتر از عصاره میزان آفلاتوکسین

جدول شماره ۱- تاثیر عصاره‌های صبر زرد بر رشد اسپرژیلوس فلاووس در دمای ۲۸ درجه‌ی سانتی گراد به مدت ۷ روز

عصاره‌ها	غلظت‌ها $\mu\text{L/L}$	میانگین ابعاد میسلیوم cm	میزان مهار رشد بر حسب (درصد)
عصاره استونی	۰	۵/۸	۰
	۱۰ ^۲	۲/۸	۵۱/۷۲
	۱۰ ^۳	۲/۳	۶۰/۳۴
	۱۰ ^۴	۱/۶	۷۲/۴
	۱۰ ^۵	۰	۱۰۰
عصاره اتانولی	۰	۵/۸	۰
	۱۰ ^۲	۳/۷۵	۳۵/۳۴
	۱۰ ^۳	۳/۲۵	۴۴
	۱۰ ^۴	۲/۲۵	۶۱/۲
	۱۰ ^۵	۱/۳۵	۷۶/۷۲
عصاره متانولی	۰	۴	۰
	۱۰ ^۲	۳/۷۵	۶/۲۵
	۱۰ ^۳	۳/۲۵	۱۸/۷۵
	۱۰ ^۴	۲/۷۵	۳۱/۲۵
	۱۰ ^۵	۲/۵	۳۷/۵
عصاره آبی	۰	۶	۰
	۱۰ ^۲	۴/۳	۲۸/۳۳
	۱۰ ^۳	۳/۷۵	۳۷/۵
	۱۰ ^۴	۳/۲۵	۴۵/۸
	۱۰ ^۵	۲/۵	۵۸/۳



نمودار شماره ۱- درصد مهار رشد اسپرژیلوس فلاووس در غلظت ۱۰^۵ عصاره‌های استونی، اتانولی، متانولی و آبی

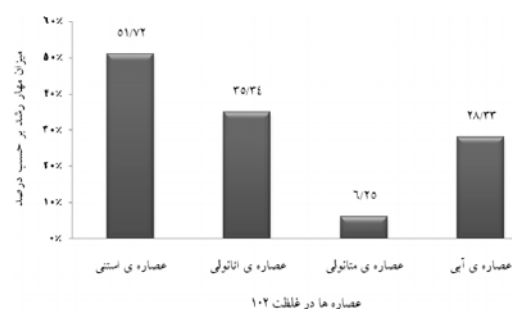
جدول شماره ۲- ارزیابی عصاره‌ی استونی صبر زرد بر بیوماس میسلیومی (g) و میزان تولید آفلاتوکسین حاصل از اسپرژیلوس

فلاووس در محیط YES			
غلظت عصاره‌ها $\mu\text{L}/50\text{ml}$	وزن خشک میسلیوم (g)	آفلاتوکسین B1 ng/g	میزان مهار تولید آفلاتوکسین %
۰	۳/۵۸	۷۷/۲	۰
۲	۳/۰۲	۶۳/۲	۱۸/۱۴
۲۰	۲/۸۶	۵۹/۸	۲۲/۵۴
۲۰۰	۲/۴۳	۵۲/۶	۳۱/۸۷
۲۰۰۰	۱/۹۳	۴۵/۶	۴۰/۹۴

مطالعه حاضر نیز مشاهده شد عصاره‌های الکلی در مقایسه با عصاره‌ی آبی اثر مھاری بیشتری بر رشد قارچ دارند. Jasso و همکارانش نیز فعالیت ضد قارچی عصاره‌ی این گیاه را ارزیابی کردند و گزارش نمودند که عصاره‌ی صبر زرد با غلظت 10^5 میکرولیتر بر لیتر از رشد میسیلیوم‌ها در قارچ‌های فوزاریوم اکسیزپوریوم، ریزوکتوما سولانی و کولکتوتریکوم کوکودس ممانعت می‌کند [26]. در مطالعه‌ی حاضر نیز ممانعت رشد در غلظت 10^5 میکرولیتر از عصاره‌ی استونی دیده شد و در کمترین غلظت استفاده شده، 10^2 میکرولیتر، مهار رشد $51/72$ درصد گزارش شد. مطالعات فراوانی نیز در جهت یافتن روش‌های مناسب برای کنترل آلودگی قارچ‌ها از مواد غذایی صورت گرفته است. در مطالعه‌ای که توسط Horn و همکارانش در سال 1983 انجام شد اثر اسپرژیلوس نایجر، به‌عنوان یک مداخله‌کننده با عملکرد تولید آفلاتوکسین توسط اسپرژیلوس فلاووس، بررسی شد و آنها نتیجه گرفتند که ذرت‌هایی که با اسپرژیلوس نایجر نیز آلوده شده بودند، آفلاتوکسین از آنها جدا نشد. این گروه غلظت آفلاتوکسین را با کمک روش TLC آنالیز کردند و در تیمارهای مختلف دریافتند که pH پایین 3-8/2 تولید آفلاتوکسین را به‌طور کامل متوقف می‌کند [27]. Christiane و همکارانش در سال 2010، اثر روغن گیاه چریش را به‌صورت آزمایشگاهی بر رشد، مورفولوژی و تولید آفلاتوکسین در اسپرژیلوس فلاووس بررسی کردند. اگرچه در غلظت‌های 0/5 تا 4 درصد از روغن تقریباً 95 درصد تولید آفلاتوکسین مهار شده بود، اما رشد قارچ را کاهش نداده بود [28]. Priyanka و همکاران نیز اثر روغن‌های اسانسی دو گیاه *Citrus reticulata* و *Cymbopogon citrates* را بر روی رشد اسپرژیلوس فلاووس بررسی کردند. این تیمارها به‌طور کامل رشد قارچ را در 750 ppm مهار کرده بودند و دو اسانس به‌طور کامل تولید توکسین را در غلظت‌های 750 ppm و 500 ppm مهار کرده بودند [29]. در این مطالعه، در تیمار عصاره‌ی استونی گیاه صبر زرد نسبت به گروه کنترل، میزان مهار تولید آفلاتوکسین در غلظت 2000 میکرو لیتر بر 50 میلی لیتر، 40/94 درصد و در کمترین غلظت از عصاره (2 میکرو لیتر بر 50 میلی لیتر) 18/14 درصد گزارش شد. نتایج نشان می‌دهد که با کاهش رشد قارچ میزان تولید آفلاتوکسین نیز کاهش یافته است.

نتیجه‌گیری

در مجموع می‌توان گفت عصاره استونی برگ گیاه صبر زرد بیشترین فعالیت ضد قارچی خود را در غلظت 10^5 میکرو لیتر بر روی رشد اسپرژیلوس فلاووس نشان می‌دهد. بنابراین، به‌نظر



نمودار شماره 2- درصد مهار رشد اسپرژیلوس فلاووس در غلظت 10^5 عصاره‌های استونی، اتانولی، متانولی و آبی

بحث

با توجه به اینکه قارچ اسپرژیلوس فلاووس توانایی رشد سریعی بر روی محصولات غذایی داشته و می‌تواند خسارت‌هایی در زمینه صنایع غذایی، سلامتی و اقتصادی ایجاد کند، بنابراین مهار رشد این قارچ می‌تواند کمک شایانی به سلامت جامعه نماید. نتایج حاصله از این مطالعه می‌تواند اطلاعات پایه‌ای در زمینه کارایی و اثر بخشی عصاره‌های مختلف گیاه صبر زرد به‌منظور کاهش رشد این قارچ‌ها و فعالیت ضد قارچی این گیاه در اختیار قرار دهد. به‌دلیل انحلال متفاوت ترکیب‌های متنوع موجود در گیاه صبر زرد در هر حلال، ترکیب‌های خاصی از این گیاه جدا می‌شوند، بنابراین عصاره‌های مختلف دارای دامنه‌ای از فعالیت‌های ضد قارچی می‌باشند. مطالعاتی در زمینه‌ی فعالیت ضد قارچی صبر زرد توسط محققین مختلف انجام گرفته است. در سال 2007 Cooposamy و Magwa ثابت کردند که عصاره صبر زرد اثر ضد قارچی بر روی قارچ‌های *کاندیدا آلبیکانس*، *کاندیدا تروپیکالیس*، *تریکوفیتون متاگروفیتس*، *تریکوفیتون روبروم*، اسپرژیلوس فلاووس و اسپرژیلوس گلاوکوس دارد [24]. مشاهدات و نتایج به‌دست آمده توسط Arunkumar و Muthuselvam در سال 2009، بالاترین فعالیت ضد قارچی گیاه صبر زرد در عصاره‌ی استونی آن، بر روی رشد اسپرژیلوس نایجر و اسپرژیلوس فلاووس مشاهده شده است [25]، که این نتایج موافق با نتایجی است که ما در این مطالعه به‌دست آورده‌ایم. در مطالعه حاضر فعالیت ضد قارچی صبر زرد در غلظت 10^5 میکرو لیتر از عصاره استونی اثر مهار کنندگی 10^5 درصد بر رشد اسپرژیلوس فلاووس داشت. Casian و همکاران نیز دریافتند که عصاره‌های آبی-الکلی برگ‌های گیاه صبر زرد اثر مھاری بر رشد میسیلیوم‌های هتروسپوریوم پروتسی، بوتریتیس گلاودیولوروم، فوزاریوم اکسیزپوریوم و پنی سیلیوم گلادیولی دارد [16]. در

تحقیقاتی مرجعان خاتم به‌خاطر همکاری با گروه در خصوص آنالیز آفلاتوکسین در نمونه‌ها تشکر و قدردانی به‌عمل می‌آید. هم- چنین، از جناب آقای دکتر رزاقی (انستیتو پاستور ایران- بخش قارچ شناسی) که در تهیه سویه‌ی استاندارد اسپرژیلوس فلاووس با این گروه همکاری داشتند نیز تشکر می‌گردد.

می‌رسد که عصاره‌ی استونی صبر زرد می‌تواند به‌عنوان عامل ضد قارچی موثرتری نسبت به عصاره‌های دیگر در نظر گرفته شود.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از مسئولین شرکت خدماتی، آموزشی و

References:

[1] Mahesh B, Satish S. Antimicrobial activity of some important medicinal plant against plant and human pathogens. *World J Agri Sci* 2008; 4: 5, 839-43.

[2] Muhammad BI. Anti-microbialeffects of extract leaf, stem and root bark of *Anogeissus leiocarpus* on *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Escherichia coli* and *Proteus vulgaris*. *J Pharma Devpt* 1997; 2: 20- 30.

[3] Surjushe A, Vasani R, Saple DG. Aloe vera: a short review. *Indian J Dermatol* 2008; 53 (4): 163-6.

[4] Thiruppathi S, Ramasubramanian V, Sivakumar T, Thirumalai Arasu V. Antimicrobial activity of *Aloe vera* (L.) Burm. f. against pathogenic microorganisms. *J Biosci Res* 2010; 1(4): 251-8.

[5] Thanaboripat D. Control of Aflatoxins in Agricultural Products using Plant Extracts. *KMITL Sci Tech J* 2011; 11: 1 - 35

[6] Hesseltine CW. A millennium of fungi, food and fermentation. *Mycologia* 1965; 57: 149-97.

[7] Narasaiah KV, Sashidhar RB, Subramanyam C. Biochemical analysis of oxidative stress in the production of aflatoxin and its precursor intermediates. *Mycopathologia* 2006; 162(3): 179-89.

[8] Ehrlich KC, Kobbeman K, Montalbano BG, Cotty PJ. Aflatoxin- producing *Aspergillus* species from Thailand. *Int J Food Microbiol* 2007; 114(2): 153-9.

[9] Sergent T, Ribonnet L, Kolosova A, Garsou S, Schaut A, De Saeger S, et al. Molecular and cellular effects of food contaminants and secondary plant components and their plausible interactions at the intestinal level. *Food Chem Toxicol* 2008; 46(3): 813-41.

[10] Pitt JI, Hocking AD. Fungi and Food Spoilage. 2nd ed. Blackie Academic & Professional, London, United Kingdom; 1977.

[11] Hedayati MT, Pasqualotto AC, Warn PA, Bowyer P, Denning DW. *Aspergillus flavus*: human pathogen, allergen and mycotoxin producer. *Microbiology* 2007; 153(Pt 6): 1677-92.

[12] Moreno-Martinez E, Vazquez-Badillo M, Facio-Parra F. Use of propionic acid salts to inhibit aflatoxin production in stored grains of maize. *Agrociencia* 2000; 34(4): 477-84.

[13] Krishnamurthy YL, Shashikala J. Inhibition of aflatoxin B1 production of *Aspergillus flavus*

isolated from soybean seeds by certain natural plants products. *Lett Appl Microbiol* 2006; 43: 469-74.

[14] Thanaboripat D, Mongkontanawut N, Suvathi Y, Ruangrattamete V. Inhibition of aflatoxin production and growth of *Aspergillus flavus* by citronella oil. *KMITL Sci J* 2004; 4(1): 1-8.

[15] Bullerman LB, Lieu Y, Sieier SA. Inhibition of growth and aflatoxin production by Cinnamon and Clove oils, Cinnamic aldehyde and eugenol. *J Food Sci* 1977; 46: 1107-9.

[16] Casian OR, Parvu M, Vlase L, Tamas M. Antifungal activity of *Aloe vera* leaves. *Fitoterapia* 2007; 78(3): 219-22.

[17] Thanaboripat D, Suvathi Y, Srilohas P, Spripakdee S, Patthanwanitchai O, Chareonsettasilp S. Inhibitory effect of essential oils on the growth of *Aspergillus flavus*. *KMITL Sci J* 2007; 6(1): 18- 24.

[18] Thanaboripat D, Cheunoy W, Petcharat U, Ruangrattamete V, Kraissintu K. Control of aflatoxigenic fungi by Thai neem. *Government Pharmaceutical Organization J* 2000; 21: 41-9.

[19] Masood A, Ranjan KS. The effect of aqueous plant extracts on growth and aflatoxin production by *Aspergillus flavus*. *Lett Appl Microbiol* 1991; 13(1): 32- 4.

[20] Whitaker T, Horwitz W, Albert R, Neshim S. Variability associated with analytical methods used to measure aflatoxin in agricultural commodities. *AOAC Int Mar* 1996; 79(2): 476-485.

[21] Sabino M, Milanez TV, Lamardo LC, Navas SA, Stofér M, Gracia CB. Evaluation of the efficiency of two immunoassay kits for detection of aflatoxin B1 in corn, fish feed, peanuts and its products. *Ciencia E Tecnologia de Alimentos J* 1997; 17(2): 107-10.

[22] Lee LS, Wah JH, Cotty PJ, Bayman P. Integration of enzyme- linked immunosorbent assay with conventional chromatographic procedures for quantitation of aflatoxin in individual cotton bolls, seeds and seed sections. *Anal Chem J* 1990; 73(4): 581-4.

[23] Sitara U, Hassan N, Naseem J. Antifungal activity of *Aloe vera* gel against plant pathogenic fungi. *Pak J Bot* 2011; 43(4): 2231-33.

[24] Coopoosamy RM, Magwa ML. Traditional use, antibacterial activity and antifungal activity of crude extract of *Aloe excelsa*. *Afr J Biotechnol* 2007; 6(20): 2406-10.

- [25] Arunkumar S, Muthuselvam M. Analysis of phytochemical constituents and antimicrobial activities of *Aloe vera* L. against clinical pathogens. *World J Agric Sci* 2009; 5 (5): 572-6.
- [26] Jasso de Rodriguez D, Hernandez-Castillo R, Rodriguez-Gracia JL, Angulo-Sanchez. Antifungal activity in vitro of *Aloe vera* pulp and liquid fraction against plant pathogenic fungi. *Ind Crops Prod* 2005; 21(1): 81-7.
- [27] Horn BW, Wicklow DT. Factor influencing the inhibition of aflatoxin production in corn by *Aspergillus niger*. *Canadian. J Microbiol* 1983; 29: 1087-91.
- [28] Costa CL, Geraldo MRF, Arrotéia CC, Kimmelmeie C. In vitro activity of neem oil [*Azadirachta indica* A. Juss (Meliaceae)] on *Aspergillus flavus* growth, sporulation, viability of spores, morphology and Aflatoxins B1 and B2 production. *Adv Biosci Biotechnol* 2010; 1: 292-9.
- [29] Singh P, Shukla R, Kumar A, Prakash B, Singh S, Dubey NK. Effect of *Citrus reticulata* and *Cymbopogon citratus* essential oils on *Aspergillus flavus* growth and aflatoxin production on *Asparagus racemosus*. *Mycopathologia* 2010; 170(3): 195-202.