

بررسی مقایسه‌ای اثرات ضدقارچی اسانس‌های آویشن شیرازی، زیره سبز و میخک هندی در مقایسه با فرمالین بر قارچ مولد آفلاتوکسین

Aspergillus parasiticus

نرجس سنجولی^{۱*}، مصطفی غفاری^۲، احمد قرایی^۳

چکیده

خطرات استفاده از داروهای شیمیایی و نگهدارنده‌های صنعتی مواد غذایی، افزایش عفونت‌های میکروبی مقاوم به پادزیست‌ها، توجه به بیماری‌های حائز اهمیت قارچی همچون آسپرژیلوزیس و مایکوتوکسیکوزیس و هم چنین فساد کپکی محصولات کشاورزی و از سوی دیگر، ظرفیت اسانس‌ها در مقابله با میکروارگانیسم‌ها بستر مناسبی را برای تحقیق فراهم نموده است. برای این منظور، فعالیت ضد قارچی اسانس ۳ گیاه آویشن شیرازی، زیره سبز و میخک هندی در مقایسه با فرمالین بر قارچ آسپرژیلوس پارازیتیکوس (*Aspergillus parasiticus*) مورد مطالعه قرار گرفت. برای تعیین حداقل غلظت بازدارندگی اسانس‌ها و میانگین قطر هاله رشد قارچ و درصد بازدارندگی اسانس‌ها، روش مسموم کردن محیط کشت جامد استفاده شد. نتایج نشان داد که اسانس‌های مورد آزمایش در تمام غلظت‌ها دارای اثر بازدارندگی بوده و توانایی مهار رشد قارچ اسانس‌ها بیشتر از قارچ کش شیمیایی (فرمالین) بود. بیشترین و کمترین قطر هاله رشد برای غلظت ۱۲۵ μL/L پس از ۸ روز انکوباسیون مربوط به فرمالین و میخک هندی به ترتیب با ۶۲/۸ و ۱۴/۱ میلی متر بود. میخک هندی و زیره سبز با غلظت ۲۵۰ μL/L و آویشن شیرازی و فرمالین با غلظت ۵۰۰ μL/L قادر به مهار کامل رشد قارچ آسپرژیلوس پارازیتیکوس شدند. بنابراین اسانس‌های میخک هندی و زیره سبز با درصد بازدارندگی بالا به ترتیب به عنوان بهترین اسانس‌ها برای کنترل رشد قارچ آسپرژیلوس پارازیتیکوس به جای استفاده از قارچ کش‌های شیمیایی، توصیه می‌شوند.

واژگان کلیدی: آسپرژیلوس پارازیتیکوس، MIC، اثرات ضد قارچی، اسانس گیاهی

تاریخ دریافت: ۹۴/۲/۱ تاریخ پذیرش: ۹۴/۷/۱۰

مقدمه

قارچ‌ها از عوامل مهم فساد مواد غذایی در طول انبارداری و ذخیره مواد غذایی محسوب می‌شوند که از یک طرف باعث کاهش کیفیت و کمیت آنها شده و از طرف دیگر به علت

پتانسیل تولید مایکوتوکسین باعث ایجاد خطرات برای مصرف کننده می‌شوند و تقریباً حدود ۴۵-۲۰ درصد از غلات دنیا به مایکوتوکسین‌های تولید شده توسط قارچ‌های انباری آلوده هستند (۱۲). قارچ کپکی آسپرژیلوس جنس بزرگی را با بیش از ۲۰۰ گونه تشکیل می‌دهد که انسان به طور دائم در مواجهه با آنها قرار دارد (۶). گونه‌های جنس آسپرژیلوس عمدتاً جزء کپک‌های انباری قلمداد می‌شوند و رشد و نمو قارچ‌های انباری و تولید متابولیت ثانویه آنها مشکل جهانی برای کشاورزی، صنایع غذایی و صنایع تولید خوراک دام می‌باشد (۱). گونه‌هایی از آسپرژیلوس، مانند آسپرژیلوس فلاووس (*flavus Aspergillus*) و آسپرژیلوس پارازیتیکوس (*Aspergillus parasiticus*) با تولید سموم قارچی مانند آفلاتوکسین از اهمیت خاصی برخوردارند، این سموم می‌توانند باعث بروز اثراتی شامل سمیت حاد و مزمن، سمیت عصبی، اثرات سرکوب‌کنندگی سیستم ایمنی، ناقص‌الخلقه‌زایی، جهش‌زایی و سرطانی‌زایی در انسان و حیوانات شوند (۱۹). بیوسنتز آفلاتوکسین در قارچ‌های مولد با مشارکت واحدهای استات و مالونات شروع می‌شود و چندین دسته ژنی در تنظیم و کنترل آنزیم‌های مسیر بیوسنتز سم دخالت دارند (۸).

در بین آفلاتوکسین‌ها، چهار گروه بزرگ شامل آفلاتوکسین B₁، B₂ و G₁، G₂ که به توتال آفلاتوکسین‌ها نیز معروف هستند، از اهمیت بیشتری برخوردارند. چرا که برای همه موجودات از جمله انسان و آبزیان به ویژه قزل‌آلای رنگین کمان جوان بسیار سمی هستند (۱)

^{۱*} - مربی، گروه شیلات، پژوهشگاه تالاب بین المللی هامون، دانشگاه زابل، زابل، ایران. (sanchoolin@yahoo.com)

^۲ - دانشیار گروه بهداشت و بیماری‌های آبزیان، دانشکده علوم دریایی-دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، چابهار، ایران.

^۳ - دانشیار گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی و پژوهشگاه تالاب بین المللی هامون، دانشگاه زابل، زابل، ایران

کنونی می‌باشند(۴). کنترل قارچ‌ها معمولاً با استفاده از نگه‌دارنده‌های سنتزی انجام می‌شود اما این مواد در اغلب موارد دارای اثرات جانبی مثل سرطان‌زایی و تراوتوژنیستی ناشی از باقی‌مانده آن‌ها هستند، این موضوع از یک طرف و افزایش تقاضای مصرف‌کنندگان برای غذاهای تازه با حداقل فرآوری و فاقد نگه‌دارنده‌های شیمیایی از طرف دیگر باعث شده در سال‌های اخیر تحقیقات روی استفاده از ترکیبات طبیعی به ویژه اسانس‌ها جهت جلوگیری از رشد قارچ‌ها و تولید توکسین متمرکز شود(۱۸). بنابراین استفاده از ترکیب‌های ضد میکروبی طبیعی برای حفظ مواد غذایی و کنترل بیماری‌های میکروبی در انسان و حیوانات مهم می‌باشد(۷). برای این منظور، فعالیت ضد قارچی اسانس گیاهان دارویی آویشن شیرازی، زیره سبز و میخک هندی در مقایسه با فرمالین بر قارچ اسپرژیلوس پارازیتیکوس مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد و روش کار

تهیه قارچ، اسانس‌ها و فرمالین

اسانس گل میخک با استفاده از غنچه‌های خشک شده درخت میخک (*Eugenia caryophyllata*) توسط پژوهشکده گیاهان دارویی دانشگاه زابل تهیه شد. اسانس میوه زیره سبز و اسانس برگ آویشن شیرازی از شرکت باریج اسانس کاشان تهیه و سویه استاندارد *Aspergillus parasiticus* PTCC 5018 به صورت آمپول لیوفیلیزه از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران (مرکز کلکسیون قارچ‌ها و باکتری‌های ایران) خریداری شد. فرمالین مورد استفاده از نوع فرمالدئید ۳۷٪ ساخت شرکت مرک آلمان بود.

تهیه سوسپانسیون اسپوری

برای تهیه سوسپانسیون اسپوری (جهت استفاده در تعیین حداقل غلظت بازدارندگی) مقدار ۵ml آب مقطر استریل به محیط کشت (پوتیتو دکستروز آگار (PDA)) ۷ روزه قارچ اسپرژیلوس پارازیتیکوس اضافه شده، با یک قلم موی

Aspergillus parasiticus قارچی است که توانایی آلوده کردن مواد غذایی انسان و حیوانات را دارد، رشد چنین قارچ‌هایی روی مواد غذایی حیوانات و انسان باعث ایجاد ضایعات و کاهش ارزش کیفی مواد غذایی می‌شود و این گونه قارچ علاوه بر آفلاتوکسین نوع B تولید آفلاتوکسین نوع G هم می‌کند و همه سویه‌های شناخته شده آن مولد آفلاتوکسین هستند و همچنین کوجیک اسید (Kojic acid) و اسپرژیلیک اسید (Asperjilic acid) هم تولید می‌کند و بعضی از سویه‌های آن تولید آفلاتوکسین نوع M₁ و M₂ نیز می‌کنند و این گونه قارچ بیشتر روی بادام زمینی یافت می‌شود(۲۰). اسانس‌ها موادی هستند معطر، دارای بو و رایحه قوی که از نظر شیمیایی حاوی حلقه‌های آروماتیک یا بنزنی و به طور عمده متشکل از مواد فنلی یا اکسیژن دار می‌باشند و به علاوه اسانس‌های طبیعی و اجزاء متشکله آنها موثرترین عوامل ضد میکروبی هستند که به علت خلوص بالا در هنگام تهیه نقش ارزنده‌ای در کنترل ریز جاندارها به عهده دارند و از نظر ساختار شیمیایی اسانس‌ها مخلوطی از استرها، آلدئیدها، الکل‌ها، کتونها و ترپنوئیدها می‌باشند که بسته به نوع گیاه اجزای آنها متفاوت‌اند. به علاوه این مواد در قسمت‌های مختلف گیاه مثل پوست، ریشه، برگ، ساقه، میوه، دانه و گل‌های گیاه یافت می‌شوند(۱۶). فکور و همکاران (۱۳۸۶) اثرات ضد قارچی اسانس آویشن شیرازی و آویشن کرکی را روی قارچ اسپرژیلوس پارازیتیکوس مطالعه کردند و نتایج حاکی از قدرت فوق‌العاده اسانس‌های فوق به عنوان ترکیب قارچ‌کش قارچ مولد آفلاتوکسین و نگهدارنده ایمن مواد غذایی بود(۲). مسکوکی و همکاران (۱۳۸۸) تأثیر اسانس‌های ۶ گیاه آویشن، مرزه، نعناع، لیمو، باریجه و اوکالپیتوس را بر قارچ اسپرژیلوس پارازیتیکوس مطالعه کردند نتایج نشان داد که اسانس آویشن و مرزه قابلیت جلوگیری از رشد قارچ‌های آلوده کننده محصولات غذایی و محصولات باغی و زراعی را دارا بوده و قادر به جایگزینی به جای مواد ضد قارچ شیمیایی

تعیین حداقل غلظت بازدارندگی

میزان حداقل غلظت بازدارندگی عبارت بود از حداقل غلظتی از اسانس یا ماده مؤثره که در آن جدایه قارچی پس از طی دوره انکوباسیون هیچگونه رشدی نداشت (۴).

تعیین درصد بازدارندگی از رشد قارچ

درصد بازدارندگی غلظت‌های مختلف اسانس با بهره‌گیری از فرمول ارائه شده توسط پندی و همکاران انجام شد (۱۷).

$$\% \text{GI} = (dc - dt / dc) \times 100$$

GI = Growth Inhibition باز دارندگی از رشد (میلی متر)

dc = diameter control میانگین قطر رشد قارچ در تیمار شاهد

dt = diameter treatment میانگین قطر رشد قارچ در تیمار

مورد بررسی (میلی متر)

تجزیه و تحلیل آماری

آنالیز آماری با استفاده از نرم‌افزار Spss نسخه ۱۶ انجام شد و آنالیز واریانس یک طرفه (One way Anova) و آزمون Duncan برای مقایسه میانگین قطر هاله رشد قارچ توسط تیمارها استفاده شد.

نتایج

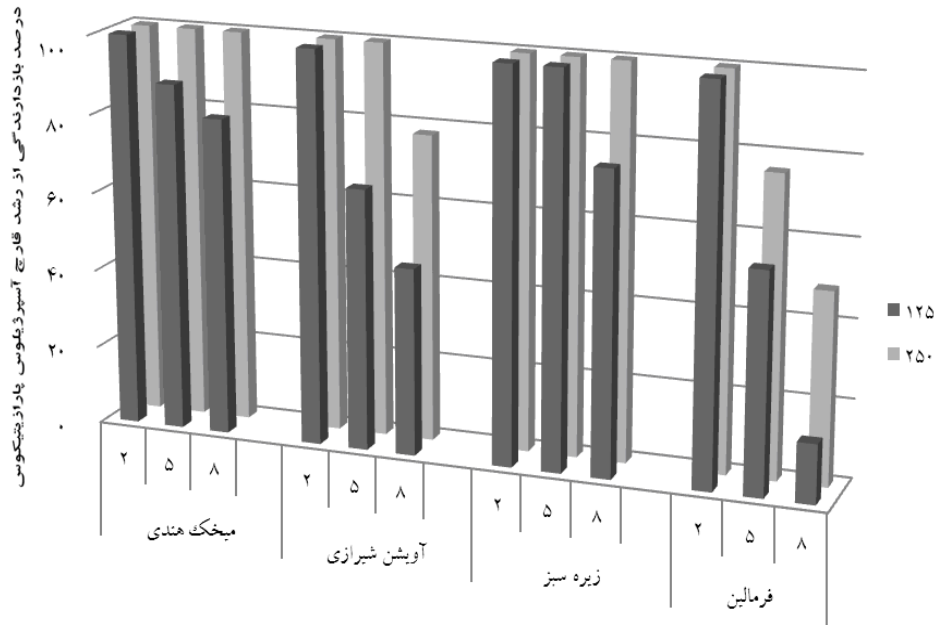
مقادیر درصد بازدارندگی دو غلظت ۱۲۵ و ۲۵۰ میکرولیتر در لیتر تیمارها از رشد قارچ اسپرژیلوس پارازیتیکوس در ۳ روز ۲ و ۵ و ۸ در نمودار ۱ نشان داده شده است. در روز دوم تمامی تیمارها ۱۰۰٪ بازدارندگی را نشان دادند و بیشترین درصد بازدارندگی غلظت ۱۲۵ $\mu\text{L/L}$ در روز پنجم و هشتم به ترتیب مربوط به اسانس زیره سبز و میخک هندی با ۱۰۰ و ۸۰/۶۳٪ بوده است و کمترین درصد بازدارندگی در دو غلظت پایین تیمارها در دو روز پنجم و هشتم مربوط به تیمار فرمالین بود. دو اسانس میخک هندی و زیره سبز با غلظت ۲۵۰ میکرولیتر در لیتر ۱۰۰٪ بازدارندگی از رشد قارچ اسپرژیلوس پارازیتیکوس را در هر سه روز نشان دادند و همه تیمارها از غلظت ۵۰۰ میکرولیتر در لیتر به بعد ۱۰۰٪ بازدارندگی را نشان دادند به همین علت مقایسه بین دو غلظت ۱۲۵ و ۲۵۰ میکرولیتر در لیتر صورت گرفت.

استریل یا یک میله شیشه‌ای استریل سطح محیط کشت به آرامی تراشیده شد و سوسپانسیون مذکور در یک پتری دیش استریل ریخته شده و غلظت سوسپانسیون تهیه شده به کمک لام هموسایتومتر در هر میلی لیتر تعیین و سپس با استفاده از آب مقطر استریل، سوسپانسیون اسپوری به غلظت موردآزمایش 1×10^7 conidia/ml رسانده شد (۱۰).

بررسی اثر بازدارندگی اسانس‌ها بر قارچ *Aspergillus parasiticus*

برای بررسی فعالیت ضدقارچی اسانس‌ها در محیط کشت از روش مسموم کردن محیط کشت استفاده شد (۱۰). برای این کار ابتدا استوک اسانس $10000 \mu\text{L/L}$ برای هر یک از اسانس‌ها در حلال استون تهیه شد و رقت مناسب برای غلظت‌های ($1250, 250, 500, 1000$) محاسبه گردید و سپس محیط کشت جامد پتیتو دکستروز آگار (PDA) تهیه شده، پس از سرد شدن نسبی محیط کشت (۴۰-۳۵ درجه سانتی‌گراد) ۱۰ ml از محیط کشت را در ارلن ریخته و سپس رقت مناسب از هر غلظت (۱/۲، ۱/۴، ۱/۸) به آن اضافه شد و به مدت ۱ دقیقه مخلوط شد و سپس محیط‌های کشت حاوی غلظت‌های مورد آزمایش اسانس در پتری دیش‌های ۸ سانتی متری ریخته شده و پس از بستن کامل محیط کشت مقدار $10 \mu\text{L}$ از سوسپانسیون 1×10^7 conidia/ml اسپوری از قارچ اسپرژیلوس پارازیتیکوس، به صورت یک قطره به قطر تقریبی ۶mm در وسط پتری دیش، روی سطح محیط کشت قرار داده شد، به دلیل فرار بودن اسانس‌ها اطراف پتری دیش‌ها با پارافیلیم کاملاً پوشانده شد و در انکوباتور در دمای $28 \pm 2^\circ\text{C}$ به مدت ۸ روز نگهداری گردید. در این مدت رشد و عدم رشد قارچ‌ها در مقایسه با شاهد مثبت (فاقد اسانس) در روزهای ۲، ۵ و ۸ مورد بررسی قرار گرفت اندازه‌گیری قطر هاله رشد قارچ در دو جهت عمود بر هم در این ۳ روز اندازه‌گیری و به صورت میلی متری ثبت گردید. برای این منظور ۳ تکرار برای هر غلظت از تیمارها و ۳ تکرار برای شاهد مثبت (محیط کشت PDA حاوی قارچ بدون حلال) و شاهد منفی (محیط کشت PDA حاوی قارچ با حلال استون) در نظر گرفته شد (۴).

نمودار ۱. درصد بازدارندگی غلظت‌های ۱۲۵ و ۲۵۰ میکرولیتر در لیتر تیمارها از رشد قارچ آسپرژیلوس پارازیتیکوس در روزهای دوم و پنجم و هشتم



شیرازی و فرمالین ۵۰۰ میکرولیتر در لیتر بعد از پایان دوره انکوباسیون (در روز هشتم که در تیمار شاهد تمامی فضای پلت با رشد قارچ آسپرژیلوس پارازیتیکوس پر شده بود) به دست آمد.

نتایج مقایسه میانگین اثر غلظت‌های مختلف اسانس‌ها و قارچ‌کش شیمیایی روی رشد قارچ *Aspergillus parasiticus* در روزهای ۵ و ۸ به ترتیب در جداول ۱ و ۲ نشان داده شده است. در روز دوم هیچ یک از تیمارها رشدی را نشان ندادند. بیشترین و کمترین قطر هاله رشد قارچ در روز پنجم در پایین‌ترین غلظت تیمارها (۱۲۵ $\mu\text{L/L}$) مربوط به تیمار فرمالین و زیره سبز به ترتیب با میانگین قطر هاله رشد ۲۷/۸ و ۰ میلی متر بوده است و بیشترین و کمترین قطر هاله رشد در روز هشتم در پایین‌ترین غلظت تیمارها مربوط به فرمالین و اسانس میخک هندی به ترتیب با میانگین رشد ۶۲/۸ و ۱۴/۱ میلی متر بوده است. نتایج نشان داد که اسانس‌های مورد استفاده در مقایسه با تیمار فرمالین قطر هاله رشد کمتری را نشان داده و دارای درصد بازدارندگی بالاتری بودند. میزان حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) اسانس‌های میخک هندی و زیره سبز ۲۵۰ میکرولیتر در لیتر و برای اسانس آویشن

جدول ۱- اثرات غلظت‌های مختلف تیمارها روی میانگین رشد (mm) قارچ *Aspergillus parasiticus* در روز پنجم

غلظت‌ها(μL/L)	۱۰۰۰	۵۰۰	۲۵۰	۱۲۵	۰
میخک هندی	۰	۰	۰	۷/۳±۰/۱	۶۳/۱۶± ۱/۰۱
زیره سبز	۰	۰	۰	۰	۶۳/۱۶± ۱/۰۱
آویشن شیرازی	۰	۰	۰	۲۱/۳±۲/۶	۶۳/۱۶± ۱/۰۱
فرمالین	۰	۰	۱۵/۱±۰/۴	۲۷/۸± ۰/۶	۶۳/۱۶± ۱/۰۱

*میانگین داده‌ها ± انحراف معیار حاصل از سه بار تکرار آزمایش

 جدول ۲- اثرات غلظت‌های مختلف تیمارها روی میانگین رشد (mm) قارچ *Aspergillus parasiticus* در روز هشتم

غلظت‌ها(μL/L)	۱۰۰۰	۵۰۰	۲۵۰	۱۲۵	۰
میخک هندی	۰	۰	۰	۱۴/۱±۰/۶	۷۵/۱۶± ۰/۶
زیره سبز	۰	۰	۰	۱۷/۱±۲/۵	۷۵/۱۶± ۰/۶
آویشن شیرازی	۰	۰	۱۶/۳±۲/۲	۳۸/۸±۳/۶	۷۵/۱۶± ۰/۶
فرمالین	۰	۰	۳۸/۰±۱/۵	۶۲/۸±۲/۱	۷۵/۱۶± ۰/۶

*میانگین داده‌ها ± انحراف معیار حاصل از سه بار تکرار آزمایش

بحث

میزان حداقل غلظت بازدارندگی برای اسانس زیره سبز و میخک هندی ۲۵۰ میکرولیتر در لیتر و برای اسانس آویشن شیرازی و فرمالین ۵۰۰ میکرولیتر در لیتر به دست آمد. نتایج به دست آمده در این پژوهش نشان داد که اسانس‌های گیاهی مورد مطالعه دارای خاصیت ضد قارچی بالایی هستند و در تمام غلظت‌های مورد مطالعه اثرات بازدارندگی را نشان دادند همانگونه که قبلاً گزارش‌هایی از خواص ضد قارچی اسانس گیاهان مربوطه ارائه گردیده است (۱۵، ۳، ۲) و هم چنین اثر بازدارندگی قوی اسانس‌های میخک هندی و زیره سبز را روی قارچ اسپرژیلوس پارازیتیکوس اثبات می‌کند. هر سه اسانس دارای اثر بازدارندگی قوی تری نسبت به قارچ کش شیمیایی (فرمالین) بودند. اثر اسانس‌ها روی قارچ اسپرژیلوس پارازیتیکوس باعث ایجاد تغییراتی در ریخت‌شناسی شامل چین خوردگی و فرورفتگی سطح در تیمار گل میخک و آویشن شیرازی و رشد غیر کروی در تیمار زیره سبز و همچنین تیمار فرمالین شد و اثر اسانس‌ها

اثرات ضد قارچی اسانس ادویه‌ها و گیاهان معطر در بررسی‌های بسیاری ثابت شده است. نتایج حاصل از این تحقیق نشانگر اثر مهار کنندگی اسانس‌های آویشن شیرازی، زیره سبز و میخک هندی روی رشد و اسپورزایی قارچ *Aspergillus parasiticus* بود. نتایج این تحقیق حاکی از بازدارندگی رشد بیشتر اسانس‌های مورد مطالعه در مقایسه با فرمالین بود و در بین اسانس‌ها، اسانس میخک هندی دارای بازدارندگی بیشتر و قوی تر پس از اتمام دوره انکوباسیون (روز هشتم) بود. مقایسه درصد بازدارندگی بین تیمارها نشان داد که اسانس میخک هندی در کمترین غلظت مورد آزمایش دارای بازدارندگی بیشتری نسبت به سایر تیمارها بوده و اسانس میخک هندی و زیره سبز با غلظت ۲۵۰ میکرولیتر در لیتر ۱۰۰٪ بازدارندگی و اسانس آویشن شیرازی و هم چنین کنترل (فرمالین) با غلظت ۵۰۰ میکرولیتر در لیتر ۱۰۰٪ بازدارندگی را نشان دادند بنابراین

از مقدار به دست آمده در پژوهش فکور و همکاران در سال ۱۳۸۶ (۲) و گندمی و همکاران در سال ۱۳۸۷ (۳) می‌باشد. در مطالعه مسکوکی و مرتضوی در سال ۱۳۸۳ غلظت ۲۰۰ میکرولیتر در ۲۰ میلی لیتر از اسانس آویشن باغی را بر *Aspergillus parasiticus* موثر دانسته اند (۴). به علاوه نتایج این تحقیق در مورد اثر ضد قارچی اسانس زیره سبز موافق با نتایج به دست آمده توسط مینوئیان حقیقی و همکاران در سال ۱۳۸۸ (۵) روی قارچ آسپرژیلوس فلاووس و آسپرژیلوس فومیگاتوس می‌باشد. اسانس‌ها از ساخت DNA, RNA، پروتئین‌ها و پلی ساکاریدها در سلول‌های قارچی و باکتریایی جلوگیری می‌کنند و این مواد تغییراتی مشابه اثرات ناشی از فعالیت پادزیست را در قارچ‌ها موجب می‌شوند. بسیاری از محققین به عملکرد ضد میکروبی اسانس‌ها توجه دارند و بعضی از اجزای مختلف اسانس‌ها و ترکیبات آنها را به منظور یافتن تاثیرات هم افزایی احتمالی مورد آزمایش قرار می‌دهند (۱۱). عمل متوقف سازی رشد توسط اسانس‌ها به دلیل واکنش گروه آلدئیدی با گروه‌های سولفیدریل موثر در رشد قارچ‌ها صورت می‌گیرد و مستعد بودن قارچ‌ها برای اثر متوقف کنندگی رشد توسط آلدئیدها به میزان زیادی متغیر است و به نوع کشت و سن قارچ بستگی دارد و کشت‌های مسن‌تر نسبت به هاگ‌ها حساس‌ترند (۱۳).

اسانس میخک هندی و زیره سبز با درصد بازدارندگی بالا و هاله رشد کمتر قارچ نسبت به تیمار فرمالین به ترتیب به عنوان بهترین اسانس‌ها برای کنترل رشد قارچ آسپرژیلوس پارازیتیکوس معرفی می‌گردند و غلظت ۲۵۰ میکرولیتر در لیتر برای هر دو اسانس به عنوان غلظت مناسب در مهار رشد قارچ مذکور جهت استفاده در مواد غذایی انسان و حیوانات برای کنترل آلودگی قارچی توصیه می‌گردد و برای اطمینان بیشتر تحقیق دیگری برای تعیین غلظت‌های بین ۱۲۵ تا ۲۵۰ میکرولیتر در لیتر برای هر دو اسانس پیشنهاد می‌گردد و با توجه به قدرت مهارتی بیشتر این اسانس در

روی اسپورزایی قارچ مذکور بیشتر از اثر روی رشد آن مشاهده شد. به طوری که در تیمارهای اسانس در مقایسه با تیمار کنترل (فرمالین) و شاهد هیچگونه رشد اسپوری مشاهده نشد که با نتایج به دست آمده توسط گندمی و همکاران در سال ۱۳۸۷ (۳) مطابقت دارد. بعضی محققین عقیده دارند که تنظیم سنتز آفلاتوکسین و تولید اسپور به یکدیگر پیوسته بوده و علت عدم تولید آفلاتوکسین در سویه‌های آسپرژیلوس پارازیتیکوس را به تغییرات ریخت‌شناسی کندی‌ها و یا عدم توانایی تولید کندی نسبت داده اند (۱۸). اثرات ضد قارچی میخک هندی، زیره سبز و آویشن شیرازی به ترتیب مربوط به ترکیباتی چون یوگنول (۱۵)، کومین آلدئید (۱۴) و تیمول و کارواکرول می‌باشد (۳) که این ترکیبات درصد بالاتر و فعالیت ضد میکروبی بیشتری را نسبت به سایر ترکیبات ثانویه موجود در این اسانس‌ها به خود اختصاص داده اند. با توجه به فعالیت قوی تر اسانس میخک هندی بر گونه قارچی مورد آزمایش در مقایسه با اسانس‌های زیره سبز و آویشن شیرازی ممکن است فعالیت این روغن‌ها مربوط به ترکیبات مختلف، فرم ساختمانی، اجزای تشکیل دهنده و گروه‌های عامل آنها و احتمالاً عملکرد هم افزایی بین اجزای آنها باشد (۹). Lopez و همکاران (۲۰۰۵) فعالیت ضد قارچی بالای اسانس میخک را بر قارچ آسپرژیلوس فلاووس نشان دادند (۱۵) که مطابق با نتایج به دست آمده می‌باشد و حداقل غلظت بازدارندگی اسانس میخک را روی قارچ آسپرژیلوس فلاووس $17/5 \mu\text{L/L}$ ثبت کرده که کمتر از مقدار به دست آمده در این پژوهش می‌باشد. نتایج به دست آمده در این پژوهش نشان دهنده اثر ضد قارچی اسانس آویشن شیرازی روی قارچ آسپرژیلوس پارازیتیکوس می‌باشد که با نتایج به دست آمده توسط فکور و همکاران در سال ۱۳۸۶ (۲) و گندمی و همکاران در سال ۱۳۸۷ (۳) روی قارچ آسپرژیلوس فلاووس مطابقت داشته و حداقل غلظت مهارتی به دست آمده در این پژوهش برای اسانس آویشن شیرازی $500 \mu\text{L/L}$ بود که بیشتر

7. Baratta, T.M., Dorman, D.J.H., Deans, G.S., Figueiredo, C.A., Barroso, G.J., Ruberto, G. (1998): Antimicrobial and antioxidant properties of some commercial oils. *Flav. Fragr. J.* 13(4): 235-244.
8. Brown, M.P., Brown-Jenco, C.S., Payne, G.A. (1999): Genetic and molecular analysis of aflatoxin biosynthesis. *Fungal Genet. Biol.* 26(2):81-98.
9. Dorman, H.G.D., Deans, S.G. (2000): Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *J. Appl. Microbiol.* 88(5): 308-316.
10. Grover, R.K., Moore, J.D. (1962): Toxicometric studies of fungicides against brown rot organisms *Sclerotinia fructicola* and *S. laxa*. *Phytopathol.* 52(3): 876-880.
11. Kalemba, D., Kunicka, A. (2003): Antibacterial and antifungal properties of essential oils (A review article). *Curr. Med. Chem.* 10(10): 813-829.
12. Kumar, R., Mishra, A.K., Dubey, N.K., Tripathi, Y.B. (2006): Evaluation of *Chenopodium ambrosioides* as a potential source of antifungal, antiaflatoxic and antioxidant activity. *Int. J. Food Microbiol.* 115(2): 159 - 164.
13. Kurita, N., Miyaji, M., Kurane, R., Takahara, Y., Ichimura, K. (1979): Antifungal activity and molecular orbital energies of aldehyde compounds from oils of higher plants. *Agric. Biol. Chem.* 43(7):2365-2371.
14. Li, R., Jiang, Z.T. (2004): Chemical composition of the essential oil of *Cuminum cyminum* L. from china. *Flav. Fragr. J.* 19(4): 311-313.
15. Lopez, P., Snchez, C., Batle, R., Nern, C. (2005): Solid- and vapor- phase antimicrobial activities of six essential oils: susceptibility of selected foodborne bacterial and fungal strains. *J. Agric. Food Chem.* 53(17): 6939-6946.
16. Marjorie, M. (1999): Plant production as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews.* 12(4):564-582.
17. Pandey, D.K., Tripathi, N.N., Tripathi, R.D., Dixit, S.N. (1982): Fungitoxic and phytotoxic properties of essential oil of *Hyptis suaveolens*. *J. plant. dis.* 89(6):344-349.

مقایسه با قارچ کش شیمیایی در این صورت می‌توان به جای استفاده از ترکیبات ضد قارچی مصنوعی و سنتزی که همگی اثرات سوء برای مصرف‌کنندگان و محیط زیست داشته از اسانس‌های طبیعی که اثرات سوء کمتری دارند استفاده نمود.

تشکر و سپاسگزاری

از دوستان عزیز سرکار خانم مهندس اسماء یاراحمدی و آقای مهندس مصیب سیدی آب الوان که در مراحل انجام این پژوهش ما را یاری دادند، تقدیر و تشکر می‌شود.

فهرست منابع

۱. علوی، س. ا. (۱۳۸۴): میکوتوکسین‌ها در کشاورزی و امنیت غذایی، (ترجمه)، تالیف: کوشال کی، س. و دیپاک ب، جلد اول، انتشارات نشر علوم کشاورزی کاربرد، تهران، ایران، ۳۸۶-۳۸۰.
۲. فکور، م. ه.، علامه، ع. ا.، رسولی، الف.، مظاهری، م. (۱۳۸۶): اثر ضد قارچی اسانس‌های *Thymus eriocalyx* (Ronniger) و *Jalas Zataria multiflora* Boiss. بر قارچ مولد آفلاتوکسین اسپرژیلوس پارازیتیکوس، فصلنامه علمی - پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، ۲۳(۲): ۲۷۷-۲۶۹.
۳. گندمی نصرآبادی، ح.، مینافی، ع.، آخوندزاده‌بستی، الف.، خسروی، ع. ر.، بکالی، س.، عباسی‌فر، آ. (۱۳۸۷): اثر اسانس اویشن شیرازی روی اسپرژیلوس فلاووس، مجله گیاهان دارویی، ۶۰(۲): ۵۰-۴۵.
۴. مسکوکی، ع.، مرتضوی، ع.، راد، س. (۱۳۸۳): کنترل رشد قارچ اسپرژیلوس پارازیتیکوس توسط اسانس‌های طبیعی در محیط کشت مصنوعی، مجله علوم پزشکی کشاورزی و منابع طبیعی، ۱۳(۱): ۷۰-۶۱.
۵. مینوئیان حقیقی، م. ح.، خسروی، ع. ر. (۱۳۸۸): اثرات اسانس‌های گیاهی بر دو گونه ی مهم اسپرژیلوس، افق دانش؛ فصلنامه‌ی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی گناباد، ۵(۴): ۵-۱۶.
6. Anaissie, E.J., Ginnis, M.R., Pfaller, M.A. (2009): *Clinical Mycology* 2nd edn. Churchill Livingstone, New York. 161-197.

18. Rasooli, I., Rezaei, M. B., Allameh, A. (2006): Growth inhibition and morphological alterations of *Aspergillus niger* by essential oils from *Thymus eriocalyx* and *Thymus x-porlok*. Food Control. 17(5): 359 - 364.
19. Razzaghi-Abyaneh, M., Shams-Ghahfarokhi, M., Yashinari, T., Rezaee, M.B., Jaimand, K., Nagasawa, H. (2008): Inhibitory effects of *Satureja hortensis* L. essential oil on growth and aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus*. Int. J. Food. Microbiol. 123(3): 228-233.
20. Varga, J., Frisvad, J. C., Samson, R. A. (2009): A reappraisal of fungi producing aflatoxin. World Mycotoxin J. 2(3): 263- 277.