



اثر بازدارندگی اسانس روغنی چند گیاه دارویی بر قارچ پنی سیلیوم جدا شده از پرتقال

حامد شیرزادی^۱، عبدالحسین ابوطالبی جهرمی^{۲*}

^۱ کارشناس ارشد، گروه باغبانی، واحد جهرم، دانشگاه آزاد اسلامی، جهرم، ایران، ^۲ دانشیار گروه باغبانی، واحد جهرم، دانشگاه آزاد اسلامی، جهرم، ایران.

چکیده

امروزه منابع گیاهی به عنوان جانشین مواد شیمیایی در داروها و مواد غذایی مورد توجه روز افزون قرار گرفته اند. بدون شک استفاده از عصاره و اسانس گیاهان می تواند جایگزین بسیار مناسبی باشد. چرا که ثابت شده است اسانس برخی گیاهان دارای خاصیت ضد میکروبی است. این مطالعه به منظور تعیین اثر ضد قارچی اسانس های روغنی گیاهان دارویی آویشن، زیره، مرزه و میخک در غلظت های مختلف روی گونه ای از قارچ پنی سیلیوم جداسازی شده از میوه پرتقال صورت گرفت. اثر ضد قارچی اسانس های یاد شده با روش آمیختگی با محیط کشت سیب زمینی دکستروز آگار، در غلظت های ۲۵۰، ۵۰۰ و ۷۵۰ میکرولیتر در لیتر بررسی شد. میزان رشد قطر کلنی قارچ پس از ۸ روز در حرارت ۲۵ درجه سلیسیوس اندازه گیری گردید و داده ها توسط نرم افزار MSTAT-C آنالیز شدند. در این مطالعه، اسانس همه گیاهان در تمام غلظت ها با اختلاف معنی دار در سطح یک درصد نسبت به شاهد خاصیت بازدارندگی رشد قارچ از خود نشان دادند. اما فعالیت ضد قارچی اسانس ها با گذشت زمان با کاهش همراه بود. اسانس آویشن در تمام غلظت ها و اسانس میخک در غلظت های ۵۰۰ و ۷۵۰ میکرولیتر بالاترین اثر ضد قارچی را داشتند. نتایج نشان داد که اسانس های آویشن و میخک اثر بازدارندگی مناسبی بر قارچ پنی سیلیوم دارند.

واژگان کلیدی: قارچ پنی سیلیوم، اسانس روغنی، گیاهان دارویی، آویشن، میخک.

دریافت مقاله: دی ماه ۹۶ پذیرش برای چاپ: اسفند ماه ۹۶

مقدمه

اهمیت خاصی برخوردار است. بدون شک استفاده از عصاره و اسانس گیاهان جایگزین می تواند بسیار مناسب باشد. عصاره های گیاهی دارای موادی هستند که می توانند علیه بسیاری از میکروارگانیسم ها به کار روند. این اثرات ضد میکروبی بر روی بسیاری از باکتری ها، مخمرها و قارچ ها به اثبات رسیده است (۳).

راهبرد استفاده از مواد شیمیایی بیشتر بر روی حفاظت محصول در برابر آلودگی یا توقف رشد بیمارگر در آلودگی های اولیه متمرکز شده است. اما متأسفانه برخی از بیمارگرهای قارچی و باکتریایی به این ترکیبات متحمل شده اند. اسانس های روغنی ممکن است به عنوان یک راه حل برای کنترل قارچ بیماری زای گیاهی و همچنین در دوره آماده سازی به منظور تقاضای مصرف کننده برای طبیعی بودن و سلامت میوه ها استفاده

قارچ ها غالباً در مواد غذایی حضور داشته به نحوی که رشد و تکثیر آنها سبب کاهش مرغوبیت و فساد محصول می گردد. متابولیت های ثانویه ناشی از فعالیت قارچ های مختلف علاوه بر تخریب بافت میوه ممکن است به صورت ترکیبات سمی در داخل مواد غذایی نیز تجمع یابد (۱ و ۲).

یکی از روش های کنترل میکروارگانیسم های بیماری زا استفاده از نگهدارنده های شیمیایی ساخت بشر است. با این وجود، همواره استفاده از این گونه مواد شیمیایی در غذا باعث نگرانی مردم شده است. زیرا اعتقاد عمومی بر آن است که مواد شیمیایی ضد میکروبی ممکن است سلامتی آنها را تهدید نماید. به همین دلیل استفاده از مواد طبیعی به جای مواد شیمیایی از

(* آدرس برای مکاتبه: فارس، جهرم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم.

شود (۴).

باکتری دارند (۹).

حبیبیان (Habibian) و همکاران گزارش کردند که اسانس‌های آویشن، نعناع، واسطوخدوس با دژنره کردن هایف های قارچ در ارتباط می باشد (۱۰). در گزارش پزیرا (Pazira) آمده است که اسانس آویشن باغی می تواند به عنوان جایگزین داروهای ضد قارچی در صنعت آبی‌زی پروری استفاده گردد (۱۱).

صدرنیا (Sadria) نیز گزارش کرده است که اسانس دو گیاه مرزه و پونه در غلظت های پایین توانایی ممانعت از رشد قارچ *آسپریژیلوس فلاوس* و کنترل تولید افلاتوکسین B1 را دارند (۱۲).

باتوجه به اثرات زیان بار باقی مانده سموم برای محیط زیست و مصرف کنندگان این پژوهش به منظور تعیین اثر ضد قارچی اسانس‌های روغنی گیاهان دارویی آویشن، زیره، مرزه و میخک در غلظت‌های مختلف روی قارچ پنی‌سیلیوم صورت گرفت.

مواد و روش ها

در این مطالعه به منظور بررسی خواص ضد قارچی اسانس‌های آویشن، زیره، مرزه و میخک از قارچ پنی‌سیلیوم استفاده شد. این جدایه از میوه پرتقال جداسازی و خالص سازی گردیده بود. در ابتدا اسانس‌ها در غلظت‌های ۲۵۰، ۵۰۰ و ۷۵۰ میکرولیتر در لیتر به محیط کشت سیب زمینی دکستروز آگار (مرک، آلمان) اضافه شدند. سپس قارچ پنی‌سیلیوم در سه نقطه به محیط کشت‌ها مایه کوبی و به مدت ۸ شبانه روز در دمای ۲۵ درجه سلیسیوس نگهداری گردیدند. روزانه قطر هاله قارچ اندازه‌گیری شد و با تیمار شاهد که هیچ گونه اسانسی به آن اضافه نشده بود مقایسه گردید. این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار برای هر تیمار صورت گرفت. در نهایت داده‌های به دست آمده با استفاده از نرم افزار MSTAT-C تجزیه و تحلیل شد و میانگین‌ها با آزمون دانکن مقایسه گردید (۱۳).

یافته ها

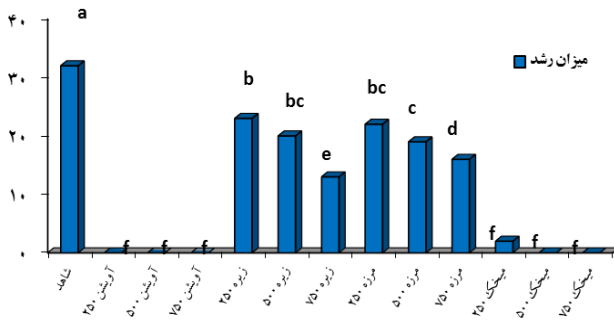
تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که بین تیمارها از نظر میزان رشد قارچ پنی‌سیلیوم در محیط کشت PDA اختلاف معنی دار

در تحقیقی فعالیت ضد قارچی اسانس‌های آویشن، میخک، مورد و باریجه در غلظت‌های مختلف روی قارچ *آسپریژیلوس فلاوس* (*Aspergillus flavus*) مورد ارزیابی قرارگرفت. نتایج نشان داد که قدرت بازدارندگی همه اسانس‌ها معنی دار می باشد. به طوری که با افزایش غلظت، اثر اسانس‌ها به مقدار زیادی افزایش یافت (۵). نتایج اثر اسانس‌های آویشن و مرزه و مواد تیمول و کارواکول بر *فوزاریوم گرامیناروم* (*Fusarium graminearum*) و داکسی نیوالنول نشان داد که اسانس‌ها و مواد یاد شده دارای اثر بازدارندگی رشد قارچ و بازدارندگی از تولید داکسی نیوالنول هستند. غلظت لازم برای بازداری کامل از رشد جدایه‌های مورد استفاده در ۱۰۰ میلی‌لیتر محیط کشت PDA به ترتیب برای اسانس‌های آویشن شیرازی و مرزه برابر ۱۶ و ۳۱/۵ میکرولیتر و برای مواد تیمول و کارواکول ۷۰ و ۱۵ میکرولیتر بر آورد گردید (۶).

به منظور بررسی اثرات اسانس‌های گیاهان آویشن، ریحان، و رزماری در کنترل بیماری کپک خاکستری میوه‌های گلابی، دو آزمایش جداگانه یکی در شرایط درون شیشه‌ای و دیگری در شرایط نگهداری میوه‌های گلابی در سردخانه انجام گرفت. نتایج آزمایش‌های درون شیشه‌ای نشان داد که اسانس گیاهان رزماری و آویشن به ترتیب کمترین و بیشترین تاثیر را در جلوگیری از رشد قارچ داشته‌اند (۷).

یحیی‌زاده (Yahyazadeh) و همکاران نتیجه گرفتند که حداکثر فعالیت ضد قارچی تنها به وسیله تماس مستقیم اسانس آویشن به طیف‌های ۴۰ و ۶۰ میکرولیتر در لیتر با اضافه شدن به محیط کشت (PDA) موجود در هر ظرف پتری‌دیش به دست می‌آمد در حالی که اسانس مریم گلی فاقد هر گونه بازدارندگی روی رشد قارچ فوق بود (۸).

آدیگوزل (Adiguzel) و همکاران خاصیت ضد میکروبی عصاره اتانولی، متانولی و هگزان گرفته شده از ریحان را بر روی ۱۴۶ ارگانیسیم میکروبی متعلق به ۵۵ گونه باکتری و ۴ قارچ بررسی کردند. نتایج آنها نشان داد که هیچ کدام از این سه نوع عصاره خاصیت قارچ‌کشی ندارند اما خاصیت ضد



نمودار ۱: مقایسه تیمارها از نظر میزان رشد قارچ پنی سیلیوم در محیط کشت PDA.

قارچ‌کشی و بازدارندگی اسانس‌ها به صورت آویشن، میخک، زیره و مرزه بود.

بحث

علاوه بر کاربرد گسترده گیاهان دارویی در طب سنتی و مصارف صنعتی و خوراکی و یا استفاده از آنها به عنوان چاشنی، طعم دهنده و حتی نگهدارنده، امروزه توجه خاصی به این گیاهان و مشتقات آنها به منظور استفاده‌های درمانی و مکمل‌های درمانی در بیماری‌های مختلف شده است (۱۴ و ۱۵). این نیاز در سال‌های اخیر با ظهور میکروارگانیسم‌های مقاوم به چند دارو نمایان‌تر شده است (۱۶).

با توجه به مباحث و نتایج ذکر شده و همچنین ارزیابی کلی که صورت گرفت به نظر می‌رسد که تیمار آویشن در غلظت‌های ۲۵۰، ۵۰۰ و ۷۵۰ میکرولیتر در لیتر و تیمار میخک هندی ۵۰۰ و ۷۵۰ میکرولیتر در لیتر بهترین نتیجه را از نظر عدم هاله رشد قارچ دارا بودند.

در غلظت ۲۵۰ میکرولیتر در یک لیتر از محیط PDA، پس از آویشن به ترتیب میخک، زیره و مرزه بیشترین خاصیت قارچ‌کشی و بازدارندگی را داشتند. مهمترین ماده موثره اسانس آویشن باغی تیمول و مهمترین ماده موثره اسانس میخک، اوژنول است، که ممکن است اثر ضد قارچی این اسانس‌ها ناشی از این مواد باشد. این مطالب حاکی از این است که همه مواد فنلی به طور نسبی خاصیت ضد قارچی دارند. اما اسانس‌های خاص مانند میخک و آویشن دارای مواد موثره با

در سطح یک درصد وجود دارد (جدول ۱). بر اساس نتایج مقایسه میانگین داده‌ها بیشترین قطر کلنی قارچ پنی سیلیوم در تیمار شاهد (۳۲ میلی متر) و کمترین آن در همه غلظت‌های تیمار آویشن و میخک ۵۰۰ و ۷۵۰ میکرولیتر در لیتر (بدون رشد) بود.

در تیمار اسانس‌های مرزه و زیره رشد قارچ وجود داشت. اما اندازه هاله قارچ با اختلاف معنی‌دار کمتر از تیمار شاهد بود. در تیمارهای زیره، مرزه و میخک با افزایش غلظت اسانس، رشد قارچ کاهش معنی‌داری یافت (جدول ۲، نمودار ۱).

نتایج نشان داد که اسانس آویشن خاصیت ضد قارچی قوی‌تری نسبت به سایر اسانس‌ها دارد. در غلظت ۲۵۰ میکرولیتر اسانس در یک لیتر از محیط PDA ترتیب خاصیت

جدول ۱: تجزیه واریانس اثر غلظت‌های مختلف اسانس در کنترل رشد قارچ پنی سیلیوم در شرایط آزمایشگاهی.

منابع تغییر	درجات آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	ارزش فیشتر	ضریب تغییرات
تیمار	۱۲	۴۶۹۴/۳۱	۳۹۱/۱۹	۲۳۱/۲**	
خطا	۲۶	۴۴/۰۰	۱/۶۹۲		۱۱/۵٪
کل	۳۸	۴۷۳۸/۳۱	-		

** معنی‌دار در سطح ۱٪

جدول ۲: مقایسه میانگین‌های قطر رشد قارچ پنی سیلیوم در تیمارهای مختلف اسانس روغنی گیاهان دارویی در شرایط آزمایشگاهی.

تیمار	میزان رشد قارچ پنی سیلیوم (میلی متر)
شاهد	۳۲/۰ ^a
آویشن ۲۵۰ میکرولیتر در لیتر	۴/۰
آویشن ۵۰۰ میکرولیتر در لیتر	۴/۰
آویشن ۷۵۰ میکرولیتر در لیتر	۴/۰
زیره ۲۵۰ میکرولیتر در لیتر	۲۳/۰ ^b
زیره ۵۰۰ میکرولیتر در لیتر	۲۰/۰ ^{bc}
زیره ۷۵۰ میکرولیتر در لیتر	۱۳/۰ ^c
مرزه ۲۵۰ میکرولیتر در لیتر	۲۲/۰ ^{bc}
مرزه ۵۰۰ میکرولیتر در لیتر	۱۹/۰ ^c
مرزه ۷۵۰ میکرولیتر در لیتر	۱۶/۰ ^d
میخک ۲۵۰ میکرولیتر در لیتر	۲/۰ ^f
میخک ۵۰۰ میکرولیتر در لیتر	۴/۰
میخک ۷۵۰ میکرولیتر در لیتر	۴/۰

میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، در سطح ۱٪ آزمون دانکن اختلاف معنی‌داری با هم ندارند.

به طور کلی با توجه به نتایج تحقیقات متعدد انجام شده که نقش ضد میکروبی اسانس‌ها را تأیید می‌کنند و همچنین این بررسی، لازم است که تحقیقات بیشتری در مورد اسانس گیاهان دارویی با استفاده از میکروب‌ها و قارچ‌های متنوع انجام پذیرد تا منجر به استفاده از ترکیباتی مانند اسانس‌های گیاهی که از نظر شیمیایی برای سلامت انسان خطرات کمتری دارند، به جای استفاده از سموم، حشره کش و میکروب‌کش‌های شیمیایی گردد. ضمن آنکه اثر ترکیب‌های موجود در اسانس جداگانه مورد بررسی قرارگیرد تا مشخص شود کدام ترکیب موجب جلوگیری و یا بازدارندگی بیشتر از رشد قارچ‌ها و باکتری‌ها می‌شود. با توجه به تأثیر مثبت آویشن باغی و میخک، پیشنهاد می‌گردد اثرات غلظت‌های مختلف مواد مؤثره جداشده از هر کدام از ترکیبات یاد شده در پژوهش‌های تکمیلی مورد ارزیابی قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله مراتب سپاس و قدردانی را از معاون پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم به دلیل حمایت‌های اجرایی اعلام می‌دارند.

قدرت بیشتر هستند که می‌توانند با بررسی‌های بیشتر به صورت تجاری مورد استفاده قرار گیرند.

این مطالعه نشان داد که اسانس آویشن باغی دارای اثرات ضد قارچی بر قارچ پنی‌سیلیوم می‌باشد. این یافته‌ها با نتایج محبوبی (Mahboubi) و فیض آبادی (Feizabadi) (۱۷) و نیز نتایج دیکباس (Dikbas) و کوتان (Kotan) (۱۸) هم خوانی دارد. گزارش اکرمی مهاجرى (Akrami Mohajeri) و همکاران نیز حاکی از اثر مهارکنندگی اسانس آویشن شیرازی روی رشد برخی گونه‌های پنی‌سیلیوم در شرایط آزمایشگاهی می‌باشد (۱۹).

همسو با این نتایج، مسکوکى (Maskouki) و مرتضوی (Mortazavi) گزارش کرده اند که اسانس آویشن در غلظت ۲۰۰ میکروگرم درلیتر تأثیر به‌سزایی در کنترل آلودگی قارچی گلابی در انبار دارد (۲۰). در رابطه با میخک نیز نتایج حبیبیان (Habibian) و همکاران حاکی از اثر ضد قارچی عصاره آبی میخک روی پنی‌سیلیوم بوده که همسوبا نتایج این پژوهش می‌باشد (۱۰).

نتیجه‌گیری

References

1. Ayazpour K, Hassanzadeh H, Arabzadegan MS. Evaluation of the control of citrus nematode (*Tylenchulus semipenetrans*) by leaf extracts of many plants and their effects on plant growth. *Afric J Agric Res.* 2010; 5(14): 1876-1880.
2. Mitter R, Bachmann H, Poppenberger B, Safa N, Adam G. Develop application of yeast-based bioassay for the *Mycotox zearlenone*. *Mycot Res.* 2003; 19: 69-72.
3. Thuille N, Fille M, Nagl M. Bactericidal activity of herbal extracts. *Int J Hyg Environ Health.* 2002; 206(3): 217-221.
4. Marandi JR. Improving postharvest quality of table Grape cv. "Rish baba" using *Thymus kotschyanus* and *Carum copitatum* essential oils. *J Food Safety.* 2011; 31(1): 132-139.
5. Ardalan F. Study on the effect of some essential oils on growth inhibitory of *Aspergillus flavus*. *Golparak.* 2010; 9(10): 34-41. [In Persian]
6. Lahoji A, Mirabolfathi M. Effect of *Zataria multiflora* and *Satureja hortensis* essential oils, Thymol and Carvacrol on growth of *Fusarium graminearum* isolated and Deoxynivalenol production. *Iran J Plant Pathol.* 2010; 46(1) 11-13.

7. Hasani A, Jalili Marandi R. Control of botrytis cinera on pear fruit by using plant essential oils. Iran J Hortical Sci. 2009; 40(1): 127-135. [In Persian]
8. Yahyazadeh M, Omidbeigi R, Zare R, Taheri H. Effect of thyme and sage essential oils on orange fruit rot reduces, produce by blue mold fungus. 5th Con. Hortic. Sci. 2007; p. 130. [In Persian]
9. Adiguzell A, Gullucel M, Sengul M, Ogutcu H, Gutcu H, Sahin F, Karaman I. Antimicrobial effect of *Ocimum basilicum* (Labiatae) extract. Turk J Boil. 2005; 29: 155-160.
10. Habibian S, Sadeghi H, Rahimi R, Ebrahimi A. The evaluation of antifungal effects of *Althaea officinalis* and *Syzygium aromaticum* aqueous extracts against *Penicillium* spp. and *Aspergillus* spp. isolates. Vet J (Pajouhesh and Sazandegi). 2017; 115: 147-152. [In Persian]
11. Pazira A. Antifungal activity of Thyme essential oil on fungi isolated from Kooi fish. J Aquacul Dev. 2017; 11(2): 13-22. [In Persian]
12. Sadrnia M. Effects of aqueous extracts and essential oils of Mentha and Satureja on the Aflatoxin B1 production by *Aspergillus flavus*. Arak Med Uni J. 2018; 21(130): 63-73. [In Persian]
13. Aboutalebi A, Hassanzadeh Khankahdani H. Application of MSTAT-C software in analysis of agricultural statistical designs. Publication of Islamic Azad University of Jahrom; 2013.
14. Ham S, Li P. Progress of research in antitumor mechanisms with Chinese medicine. China J Integr Med. 2009; 15(4): 316-320.
15. Preuss H, Echard B, Enig M, Brook I, Elliott, T. Minimum inhibitory concentrations of herbal essential oils and Monolaurin for gram-positive and gram-negative bacteria. Mol cell Biochem. 2005; 272(1-2): 29-34.
16. Ruffa M, Ferraro G, Wagner M, Calcagno M, Campos R, Cavallaro L. Cytotoxic effect of Argentine medicinal plant extracts on human hepato-cellular carcinoma cell line. J Ethnopharmacol. 2002; 79(3): 335-339.
17. Mahboubi M, Feiz Abadi M. Antimicrobial effects of essential oils of thyme, marjoram, fennel and eucalyptus on the bacteria *Escherichia coli*, *Salmonella* and fungi *Aspergillus niger* and *Aspergillus flavus*. Medicinal Plant. 2009; 2(30): 34-43. [In Persian]
18. Dikbas N, Kotan R. Control of *Asprgillus flavus* with essential oil and methanol extract of *Satureja hortensis*. Int J Food Mic. 2008; 124: 179-182.
19. Akrami Mohajeri F, Misaghi A, Akhondzadeh Posti A, Qeisari H, Khosravi A, Gandomi H, Ebrahimnejad H. Growth inhibition and morphological alterations to *Penicellium citrinium* in response to *Zataria multiflora* Boiss essential oil. J Vet Res. 2012; 67(4): 307-312. [In Persian]
20. Maskouki AM, Mortazavi A. Inhibitory effects of Thyme and Ajowan oils on growth of *Aspergillus parasiticus* on pear during cold storage. J Sci Tech Agri Nat Resources. 2004; 8(2): 207-215. [In Persian]



Inhibitory effect of medicinal plant essential oils on the growth of *Penicillium* sp. isolated from sweet orange

Hamed Shirzadi¹, Abdolhossein Aboutalebi Jahromi²

¹M.Sc in Horticulture, Department of Horticulture, Jahrom Branch, Islamic Azad University, Jahrom, Iran.

²Associate Professor, Department of Horticulture, Jahrom Branch, Islamic Azad University, Jahrom, Iran

Abstract

Today plant sources as substitutes for chemicals in food and drugs have received increasing attention. The use of essential oils and plant extracts can certainly be a good alternative as antimicrobial effects of some plants oils has proven. This study was aimed to determine the antifungal effects of essential oils of thyme, cumin, savory and cloves in different concentrations on *Penicillium* fungus. The antifungal effects of the medicinal plant (thyme, cumin, savory and cloves) essential oils at concentrations of 250, 500 and 750 μl /L were investigated by pour plate method in potato dextrose agar medium. Fungal growth zone diameter was measured after 8 days at 25 °C and data were analyzed by MSTAT-C software. The essential oils of all plants at all concentrations had significant antifungal effects as compared to the control. But it decreased with increasing the experiment time. Clove oil at all concentrations and thyme oil in 500 and 750 μl /L concentration had the highest anti-fungal effects. The result showed that thyme and clove essential oils have high inhibition effects against *Penicillium* sp.

Keywords: *Penicillium* sp., Essential oils, Medicinal plants, Thyme, Cloves.

Correspondence to: Abdolhossein Aboutalebi Jahromi

Tel: +98 9171912347

E-mail: aa84607@gmail.com

Journal of Microbial World 2018, 11(3): 288-293.