

فعالیت ضد قارچی اسانس آویشن باغی (*Thymus vulgaris*) بر روی قارچ‌های جداشده از پوست ماهی کوی (*Cyprinus carpio* var. *Koi*)

عبدالرحیم پذیرا^{۱*}

۱- گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه آزاد اسلامی، بوشهر، ایران

تاریخ دریافت: ۲۸ آبان ۱۳۹۵

تاریخ پذیرش: ۲۱ فروردین ۱۳۹۶

چکیده

در این مطالعه فعالیت ضد قارچی اسانس آویشن باغی (*Thymus vulgaris*) بر روی قارچ‌های جداشده از پوست ماهی کوی (*Cyprinus carpio* var. *Koi*) مورد بررسی قرار گرفت. از پوست این ماهی قارچ‌های آسپرژیلوس فلاوس، آسپرژیلوس فومگاتوس، آسپرژیلوس نایجر و ساپروولگنیا پارازیتیکا جداسازی و به روش اسلاید کالچر کشت شد. با استفاده از اسانس آویشن باغی حداقل غلظت مهارکنندگی رشد قارچ (MIC) گونه‌های آسپرژیلوس نایجر، آسپرژیلوس فومگاتوس و آسپرژیلوس فلاوس غلظت ۲۵ میکرولیتر بر میلی‌لیتر به دست آمد، لیکن MIC گونه ساپروولگنیا پارازیتیکا متفاوت بوده و در غلظت ۵۰ میکرولیتر بر میلی‌لیتر به دست آمد. حداقل غلظت کشندگی قارچ (MFC) نیز در گونه آسپرژیلوس نایجر و آسپرژیلوس فومگاتوس در غلظت ۱۰۰ میکرولیتر بر میلی‌لیتر و در گونه آسپرژیلوس فلاوس در غلظت ۲۵ میکرو لیتر بر میلی‌لیتر به دست آمد. برای گونه ساپروولگنیا پارازیتیکا نیز MFC در غلظت ۲۰۰ میکرو لیتر بر میلی‌لیتر مشاهده شد. بیش‌ترین اثر مهارکنندگی اسانس آویشن باغی بر روی آسپرژیلوس فلاوس و کم‌ترین اثر مهارکنندگی این اسانس بر روی ساپروولگنیا پارازیتیکا به دست آمد. بر اساس نتایج به‌دست‌آمده اسانس آویشن باغی می‌تواند به‌عنوان جایگزین داروهای ضد قارچی تجاری در صنعت آبی‌پروری استفاده گردد.

کلمات کلیدی: آویشن باغی، آسپرژیلوس فلاوس، آسپرژیلوس فومگاتوس، آسپرژیلوس نایجر و ساپروولگنیا پارازیتیکا.

مقدمه

در سال‌های اخیر استفاده از داروهای گیاهی مورد توجه قرار گرفته است زیرا مواد مؤثره موجود در داروهای گیاهی به دلیل همراه بودن با مواد دیگر، پیوسته از یک حالت تعادل بیولوژیک برخوردار هست، بنابراین در بدن انباشته نشده و اثرات جانبی به بار نمی‌آورند. از این رو برتری قابل ملاحظه‌ای نسبت به داروهای شیمیایی دارند. در دو دهه اخیر استفاده از داروهای با پایه گیاهی به‌منظور پیشگیری و درمان بیماری‌های صنعت آبی‌پروری در سطح جهان و ایران روند رو به رشدی را داشته است. عدم موفقیت در درمان بسیاری از بیماری‌های مزمن و حاد، اثرات جانبی مضر داروهای شیمیایی گرایش محققین را نسبت به مطالعه در زمینه استفاده از اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی به دلیل تأثیرگذاری بهتر و عوارض جانبی کم‌تر در صنعت تکثیر و پرورش کشور افزایش داده است.

از جمله این گیاهان آویشن باغی^۱ است که یکی از شناخته‌شده‌ترین گیاهان دارویی و از تیره نعنا^۲ می‌باشد. آویشن باغی، درختچه‌ای کوتاه و پر شاخه است که برگ‌های نازک و متقابل دارد، دارای گل‌هایی سفید و چتری و منفرد است و گونه‌های مختلفی از آن در کوهستان‌های ایران می‌روید. آویشن در طب سنتی ایران و اروپا، مصرف داروئی دارد. این گیاه علفی و معطر، دارای خواص داروئی بسیاری است و از آن در صنایع غذایی، داروئی، بهداشتی و آرایشی استفاده‌های متنوعی می‌شود. قسمت‌های داروئی این گیاه، سرشاخه‌های آن و برگ خشک شده آن (اندام‌های هوایی) است (نقادی‌بادی، ۱۳۸۲). ترکیبات مؤثر

ضدمیکروبی در عصاره آویشن باغی حاوی فلاونوئیدهایی مانند اپی‌ژنین، نارینژین، لوتولین و روغن‌های فرار محتوی تیمول و کارواکرول می‌باشد (Behnia *et al.*, 2008). فعالیت ضد میکروبی و ضد قارچی گیاهان مختلف و ترکیبات فراری مشتقات آن‌ها به‌طور مکرر گزارش شده است. Soković و همکاران (۲۰۰۹) فعالیت ضدمیکروبی اسانس گونه‌های مختلف آویشن را گزارش کردند. Mohammadpour و همکاران (۲۰۱۱) اثر آویشن شیرازی، آویشن کوهی مازندران و آویشن دنايي بر روی کاندیدا آلیکنس مورد بررسی قرار دادند. در مطالعات مختلف فعالیت ضد باکتریایی (Navarrete *et al.*, 2010) و ضد قارچی (خسروی و همکاران، ۲۰۱۲) آویشن نیز بررسی شده است.

قارچ‌ها موجوداتی یوکاریوت و هتروتروف بوده و قادر به تولید مواد غذایی برای مصرف خودشان نیستند، سلول‌های قارچ در اطراف خود آنزیم‌های گوارشی ترشح کرده و باعث تغییر در مواد آلی درون محیط شده و آن‌ها را به مواد غذایی قابل جذب تبدیل می‌نمایند (ابراهیم‌زاده موسوی و همکاران، ۲۰۱۲). کنترل قارچ‌ها معمولاً با استفاده از داروهای تجاری انجام می‌شود، اما این مواد در اغلب موارد دارای اثرات جانبی مثل سرطان‌زایی و تراوتوژنیستی ناشی از باقی‌مانده آن‌ها هستند (گندمی نصرآبادی و همکاران، ۱۳۸۷).

بسیاری از بیماری‌های قارچی در آبی‌پروری توسط داروهای ضد قارچی مانند مالاویت گرین و فرمالین کنترل می‌شود. با این حال، استفاده مداوم از این داروها منجر به مقاومت در برابر عوامل بیماری‌زا و افزایش جهش‌های ژنتیکی می‌گردد. به‌طوری‌که در محیط‌زیست و بدن ماهی تجمع می‌یابد و بدین صورت

¹ *Thymus vulgaris*

² Lamiaceae

جداسازی نمونه‌های قارچی: آلودگی‌های قارچی که به صورت کرک‌های پنبه‌ای بود (شکل ۱) از پوست ماهی کوی برداشته و بر روی محیط کشت سیب‌زمینی دکستروز آگار^۱ (PDA) کشت داده شد. سپس به مدت ۵ الی ۷ روز در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در انکوباتور نگهداری شدند، جهت به‌دست آوردن کلنی‌های خالص قارچ، نمونه‌های کشت داده شده مجدداً در محیط سیب‌زمینی دکستروز آگار کشت داده شدند (James and Natalie, 2001).



شکل ۱: ماهی کوی دارای آلودگی شدید قارچی

اسلاید کالچر: ۱۵ میلی‌لیتر از محیط کشت سابرو دکستروز آگار درون پلت خالی استریل ریخته شد و پس از سفت شدن این محیط، توسط تیغ بیستوری استریل به قطعات ۱×۱ سانتی‌متری تقسیم شد. پس از استریل کردن پلت یک‌تکه از محیط کشت چهارگوش بریده شده را در شرایط استریل بر روی لام درون پلت قرار داده و وسط آن با انس استریل چند پرگنه قارچ موردنظر تلقیح شد. برای اطمینان از چسبیدن پرگنه‌ها به سطح آگار با کمی فشار، یک لامل استریل را بر روی محیط کشت تلقیح شده گذاشته و

خطر بزرگی را برای مصرف‌کنندگان و محیط‌زیست به دنبال دارد (Akhlaghi and Keshavarzi, 2002 ; Akhlaghi and Mahjoor, 2000). قابلیت جایگزینی اسانس‌های آویشن شیرازی، مریم‌گلی، اکالیپتوس و نعناع فلفلی به‌جای مالاشیت‌گرین در تفریخگاه قزل‌آلای رنگین‌کمان توسط ابراهیم زاده موسوی و همکاران (۱۳۸۸) مورد بررسی قرار گرفته است.

امروزه با توجه به بیماری‌های ایجادشده توسط قارچ‌ها در آبزیان و اهمیت استفاده از گیاهان، رویکردهای جدیدی نسبت به استفاده از گیاهان دارویی از جمله اثرات ضد میکروبی آنها ایجاد شده است. عوارض جانبی داروهای ضد قارچی از جمله ایجاد مقاومت‌های قارچی، مشکلات زیست‌محیطی، تخریب فلور آب و روده، گرانی و مشکلات اجرایی باعث گرایش بیش‌تر به استفاده از گیاهان دارویی به‌عنوان جایگزینی مناسب برای داروهای ضد قارچی شده است به‌طوری‌که امروزه سیاست داروسازی نوین در طی دو دهه اخیر به شکل قابل توجهی به‌سوی گیاهان دارویی و درمان با داروهای گیاهی و طبیعی پیش رفته است، طبیعتاً با توجه به نتایج به دست آمده، از اسانس این گیاه می‌توان به‌عنوان جایگزین داروهای صنعتی در جامعه پزشکی، دامپزشکی، داروسازی و دام‌پروری استفاده کرد.

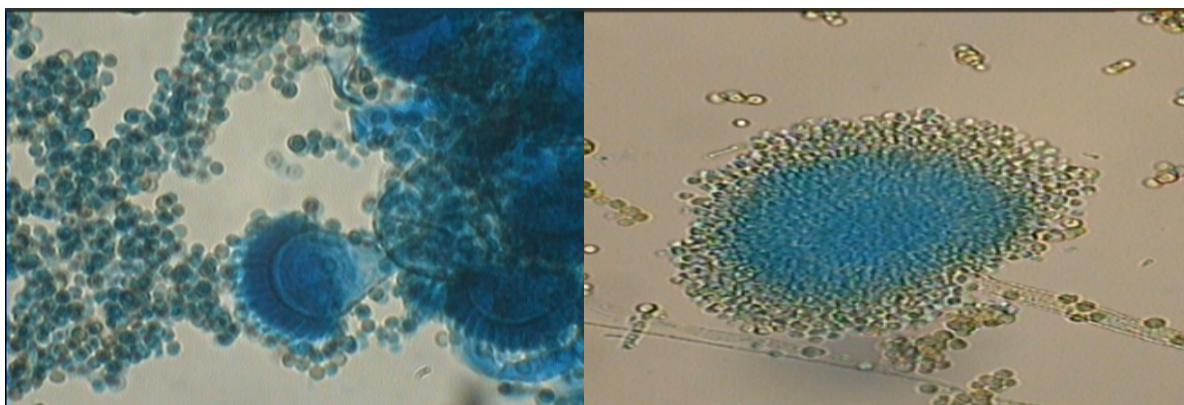
مواد روش‌ها

تهیه اسانس: گیاه آویشن باغی به‌صورت خشک و خرد شده از عطاری در استان تهران تهیه و به آزمایشگاه منتقل شد. اسانس به روش تقطیر با بخار آب به‌وسیله دستگاه کلونجر از گیاه تهیه شد (حقیرالسادات و همکاران، ۱۳۸۹).

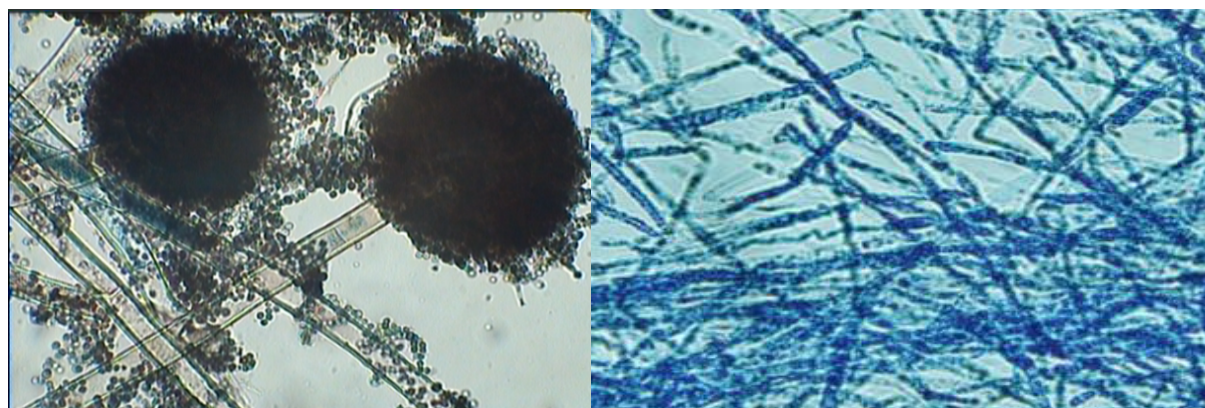
^۱ Potato Dextrose Agar

قرار داده و یک قطره دیگر از لاکتوفنل کاتن بلو بر روی لامل ریخته و با لامل دیگری سطح آن پوشانده شد. در مرحله آخر لام‌های مزبور در زیر میکروسکوپ بررسی شدند (James and Natalie, 2001).

سپس پلت‌های موردنظر در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. بعد از گذشت ۴۸ ساعت به آرامی و توسط پنس، لاملی را که در اطراف آن قارچ رشد نموده از سطح محیط برداشته و بر روی یک لام تمیز که قبلاً یک قطره لاکتوفنل کاتن بلو در آن ریخته شده بود،



شکل ۲: قارچ آسپرژیلوس فلاوس با بزرگ نمای x40 شکل ۳: قارچ آسپرژیلوس فومگاتوس با بزرگ نمای x40



شکل ۴: قارچ ساپرولتیگیا پارازیتیکا با بزرگ نمای x40 شکل ۵: قارچ آسپرژیلوس نیجر با بزرگ نمای x40

دقیقه با پیپت پاستور به آرامی از سطح محیط برداشته می‌شود. از آنجایی که میسلیوم‌ها در محیط کشت ایجاد اختلال کرده و باعث کاهش تأثیر عصاره‌ها می‌شوند، جهت حذف آن‌ها از سوسپانسیون قارچی، سوسپانسیون با استفاده از پشم شیشه فیلتر گردید. بعد از شیکر کردن آن، با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۳۰ نانومتر میزان عبور نور سوسپانسیون، موردسنجش

تهیه سوسپانسیون از قارچ‌های مورد مطالعه: در محیط کشت سیب‌زمینی دکستروز آگار PDA شیب‌دار، قارچ به مدت ۷-۵ روز در دمای ۲۶ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. سپس از کلنی رشد کرده سوسپانسیون قارچی تهیه گردید. برای این کار به سطح کلنی رشد کرده در محیط سیب‌زمینی دکستروز آگار PDA، مقداری سرم فیزیولوژی اضافه و بعد از چند

بیشترین غلظت در گوده اول معادل ۲۰۰ و کمترین غلظت در گوده دهم برابر با ۰/۳۹ میکروگرم در هر میلی‌لیتر بود. این پلت‌ها در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شدند. بعد از گذشت این زمان میکرو پلت‌ها را از انکوباتور خارج کرده و هم به صورت چشمی و هم توسط دستگاه الیزا ریدر در طول موج ۴۹۰ نانومتر قرائت شد. گوده‌های که مانع رشد قارچ شده بودند به عنوان MIC در نظر گرفته شد (Clinical and Laboratory Standards Institute) (2002).

برای تعیین MFC با استفاده از سمپلر، از گوده حاوی غلظت MIC و گوده قبل و بعد از آن MIC مقدار ۱۰ میکرولیتر برداشت و به روی محیط سیب‌زمینی دکستروز آگار (PDA) ریخته شد و بعد از کشت به مدت ۳۰ ساعت انکوبه شد. بعد از گذشت این زمان هر رقتی که در پلت مانع رشد کامل قارچ شده بود یا کم‌تر از ۳ کلونی (تقریباً معادل ۹۹-۹۵/۹۹ درصد فعالیت کشندگی) در آن وجود داشت به عنوان MFC در نظر گرفته شد. در صورتی که اختلاف مقدار MFC و MIC زیاد باشد (Clinical and Laboratory Standards Institute 2002).

نتایج

جداسازی نمونه‌های قارچی: بر اساس نتایج به‌دست‌آمده از جداسازی قارچ‌ها از پوست ماهی کوی قارچ‌های آسپرژیلوس فلاوس، آسپرژیلوس فومگاتوس، آسپرژیلوس نایجر و ساپروولگنیا پارازیتیکا جداسازی بر اساس فنوتیپ و شکل هایف با استفاده از کتاب رفرنس (medically important fungi) شناسایی شدند.

قرار گرفت. با عبور دادن نور ۹۰٪ سوسپانسیون تقریباً ۱۰^۶ اسپور قارچی در هر میلی‌لیتر به دست آمد. در انتها هاگ‌های داخل سوسپانسیون (شکل ۲ تا ۵) با استفاده از لام نئوبار شمارش شدند (Guarro et al., 1998).

تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی قارچ (MIC) و حداقل غلظت کشندگی قارچ (MFC): برای تعیین MIC به هر یک از چاهک‌های پلِت ۹۶ خانه به وسیله سمپلر هشت کاناله به میزان ۱۰۰ میکرو لیتر از محیط ۲ درصد RPMI1640 اضافه شد. اسانس آویشن باغی با ۴ درصد DMSO (dimethylsulfoxide) حل شد و در رقت‌های سریالی در میکروپلت‌های مسطح ۹۶ خانه‌ای به میزان ۱۰۰ میکرولیتر در هر چاهک ریخته شد، بدین صورت که به گوده اول از سمت چپ اضافه و به خوبی با محیط مخلوط کرده و در ادامه از گودال اول به میزان صد میکرو لیتر برداشت کرده و به گودال دوم منتقل و به همین ترتیب رقت ۱/۲ از اسانس در هر گوده تهیه و در نهایت از گوده دهم ۱۰۰ میکرو لیتر اسانس خارج کردیم. در این روش چاهک اول دارای بیشترین و چاهک دهم حاوی کمترین غلظت بود. گوده‌های ۱۱ و ۱۲ عاری از محلول اسانس بودند. سپس به هر یک از گوده‌ها به میزان ثابت ۱۰۰ میکرو لیتر از سوسپانسیون استاندارد شده اضافه نموده تا حجم نهایی محلول برابر با ۲۰۰ میکرولیتر شود که با غلظت‌های اسانس آن متفاوت بود. گوده ۱۱ حاوی ۱۰۰ میکرو لیتر محیط و ۱۰۰ میکرو لیتر سوسپانسیون قارچی به عنوان کنترل مثبت یا GC (Growth control) و گوده ۱۲ که فقط حاوی محیط کشت است به عنوان کنترل منفی یا SC (Sterility control) در نظر گرفته شد. این آزمون برای هر جدایه قارچی در ردیف افقی مجزا به صورت سه بار تکرار شد. در این آزمون

در خصوص MFC به دست آمده نیز مشاهده گردید که MFC گونه‌های آسپرژیلوس نایجر و آسپرژیلوس فومگاتوس در غلظت ۱۰۰ میکرولیتر بر میلی‌لیتر و MFC گونه آسپرژیلوس فلاوس در غلظت ۲۵ میکرولیتر بر میلی‌لیتر به دست آمد. برای گونه ساپروولگنیا پارازیتیکا نیز MFC در غلظت ۲۰۰ میکرولیتر بر میلی‌لیتر به دست آمد.

نتایج تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی قارچ (MIC) و حداقل غلظت کشندگی قارچ (MFC): نتایج مرتبط با تعیین MIC و MFC گونه‌های مختلف قارچی در جدول ۱ ذکر شده است. بر طبق نتایج به دست آمده، MIC گونه‌های آسپرژیلوس نایجر، آسپرژیلوس فومگاتوس و آسپرژیلوس فلاوس در غلظت ۲۵ میکرولیتر بر میلی‌لیتر به دست آمد، لیکن MIC گونه ساپروولگنیا پارازیتیکا متفاوت بوده و در غلظت ۵۰ میکرولیتر بر میلی‌لیتر به دست آمد.

جدول ۱: تأثیر اسانس آویشن باغی بر روی قارچ‌های جدا شده از پوست ماهی کوی

۳/۱۲۵	۶/۲۵	۱۲/۵	۲۵	۵۰	۱۰۰	۲۰۰	غلظت (میکرو لیتر بر میلی لیتر)
				MIC		MFC	ساپروولگنیا پارازیتیکا
			MIC		MFC		آسپرژیلوس نایجر
			MIC		MFC		آسپرژیلوس فومگاتوس
MIC			MFC				آسپرژیلوس فلاوس

MIC و MBC به ترتیب برابر با ۴۰۰ و ۱۰۰۰ ppm به دست آمد. گونه آویشن مورد استفاده در این مطالعه با مطالعه حاضر تفاوت داشته و به نظر می‌رسد علت اصلی تفاوت در مقادیر MIC و MBC به دست آمده نیز همین مورد است.

ساختار دیواره سلولی قارچ‌ها به طور کلی شامل گلوکان، کیتین، کیتوزان، گالاکتان و مانان می‌باشد که اختلافات ساختار دیواره در میان جنس‌ها و گونه‌های قارچی قابل ملاحظه است. در خصوص MFC به دست آمده در این مطالعه نیز مشاهده گردید که MFC گونه‌های آسپرژیلوس نایجر و آسپرژیلوس در غلظت ۱۰۰ میکرو لیتر بر میلی لیتر و MFC گونه آسپرژیلوس فلاوس در غلظت ۲۵ میکرو لیتر بر میلی لیتر به دست آمد. برای گونه ساپروولگنیا پارازیتیکا

بحث

در مطالعه حاضر فعالیت ضد قارچی اسانس آویشن باغی (*Thymus vulgaris*) در شرایط آزمایشگاهی بر روی قارچ‌های جدا شده از پوست ماهی کوی (*Cyprinus carpio var. Koi*) مورد بررسی قرار گرفت. بر طبق نتایج به دست آمده، MIC گونه‌های آسپرژیلوس نایجر، آسپرژیلوس فومگاتوس و آسپرژیلوس فلاوس در غلظت ۲۵ میکرو لیتر بر میلی لیتر به دست آمد، لیکن MIC گونه ساپروولگنیا پارازیتیکا متفاوت بوده و در غلظت ۵۰ میکرو لیتر بر میلی لیتر به دست آمد.

گندمی نصرآبادی و همکاران (۱۳۸۷) اثر اسانس آویشن شیرازی را بر روی آسپرژیلوس فلاوس مورد مطالعه قرار دادند. طبق نتایج به دست آمده از این مطالعه

قارچی قابل توجهی در مقایسه با مالاشیت گرین داشت و می‌تواند جایگزین خوبی برای آن باشد. همچنین Caruana و همکاران (۲۰۱۲) اثر عصاره‌های ۱۲ گیاه دارویی و بیوفلانوتیدی را در شرایط *in vitro* بر قارچ ساپروولگنیا بررسی کردند و نشان دادند که تمامی گیاهان دارویی استفاده‌شده پتانسیل جایگزینی با مالاشیت گرین را دارند ولی باید در شرایط *in vivo* نیز مورد ارزیابی قرار بگیرند. ابراهیم‌زاده موسوی و همکاران (۱۳۸۸) به بررسی اثر اسانس اکالیپتوس بر قارچ ساپروولگنیا و فوزاریوم در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان پرداخته و دوزهای ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر اثر ضد قارچی نسبتاً مناسبی نشان دادند. قاسمی پیربلوطی و همکاران (۱۳۸۸) نیز اثر ۵ گیاه دارویی را بر قابلیت رشد قارچ ساپروولگنیا در شرایط آزمایشگاهی مورد بررسی قرار دادند و نتیجه گرفتند که اسانس مرزه دنیایی و مرزه خوزستانی بیش‌ترین قدرت را در مهار این قارچ از خود نشان می‌دهند.

در بررسی Daferera و همکاران اثر بازدارندگی اسانس‌ها و ترکیبات مختلف از جمله اسانس مرزنجوش و آویشن و دیکتاموس و کاروکارول، تیمول و آلفاترپینول روی قارچ پنی سلیموم دیجیتاتوم مشخص شد که تمام این اسانس‌ها در غلظت ۲۵۰ ppm تولید اسپور را به‌طور کامل مهار نموده. میزان MIC این ۳ اسانس به ترتیب ۳۰۰، ۲۵۰ و ۳۰۰ ppm و برای کارواکرول و تیمول به ترتیب ۱۶۰ و ۲۰۰ ppm به دست آمد و همچنین Zambonelli و همکاران (۱۹۹۶) گزارش دادند که اسانس‌های آویشن نعنای و اسطوخدوس با دژ نره کردن هایفای قارچ در ارتباط می‌باشد. در این بررسی حداقل غلظت مهارکنندگی اسانس آویشن باغی بر روی گونه‌های آسپرژیلوس

نیز MFC در غلظت ۲۰۰ میکرو لیتر بر میلی لیتر به دست آمد. بر اساس نتایج به دست آمده علاوه بر تفاوت اثر مهارکنندگی و کشندگی اسانس آویشن باغی در سطوح جنس و گونه، اختلافات درون‌گونه‌ای نیز در نوع واکنش به اثر بازدارندگی اسانس آویشن باغی دیده می‌شود که این مهارکنندگی به دلیل مهار فعالیت فسفولیپازی قارچ‌ها می‌تواند باشد، همچنین عواملی مانند اختلافات فیزیولوژیک و تفاوت ساختاری درون‌گونه‌ای، اکتساب مقاومت ژنتیکی و خطاهای آزمایشگاهی می‌تواند باعث اختلاف مقادیر MIC و MBC باشد. Eguchi و همکاران (۲۰۱۶) فعالیت ضد قارچی گیاه آویشن باغی را تحت تأثیر آب گرم در دماهای ۵۰ و ۲۰ درجه سانتی‌گراد بر روی قارچ *Botrytis cinerea* مورد بررسی قرار دادند بر اساس این مطالعه ترکیبات اصلی فرار در گیاه آویشن تیمول، P-cymene و G-terpinene بود که میزان P-cymene و G-terpinene آویشن پس از مواجهه افزایش یافته بود، در حالی که مقدار تیمول هیچ‌گونه تغییری نکرد و همچنین وجود یک مسیر سنتز P-cymene و G-terpinene وابسته به حرارتی در گیاه آویشن وجود دارد که سطح رونوشت ژن G-terpinene پس از ۲۴ ساعت افزایش یافته بود.

اگرچه مطالعات زیادی در رابطه با کاربرد گیاهان دارویی برای مبارزه با بیماری‌های قارچی آبریان گزارش نشده است، اما ابراهیم‌زاده موسوی و همکاران (۱۳۸۸) به ارزیابی قابلیت جایگزینی اسانس‌های آویشن شیرازی، مریم‌گلی، اکالیپتوس و نعنای فلفلی به جای مالاشیت گرین در تفریحگاه قزل‌آلای رنگین کمان پرداختند و نتیجه گرفتند که غلظت ۱۰ میلی‌گرم در لیتر ترکیب این اسانس‌ها قدرت ضد

آسپرژیلوس نیجر (*Aspergillus niger*)، تریکوفیتون متاگروفیتیس (*Trichophyton mentagrophytes*) و میکروسپوروم کنیس (*Microsporium canis*) اثرات ضد قارچی اناریجه میزان MIC ۱۶ میلی‌گرم در میلی‌لیتر محاسبه شد. نتایج این مطالعه با نتایج مطالعه حاضر به دلیل نوع اسانس مغایرت دارد.

در مطالعه Mohammadpour و همکاران (۲۰۱۱) آویشن شیرازی آویشن کوهی مازندران و آویشن دناپی بر روی کاندیدا آلیکنس مورد مطالعه قرار دادند مقادیر MIC به ترتیب برابر با ۱، ۳ و ۰/۸ میکروگرم در میلی‌لیتر گزارش گردید که با مطالعه انجام‌شده در این تحقیق مغایرت دارد. علت مغایرت نتایج مطالعه حاضر به دلیل گونه گیاه آویشن، گونه قارچ مورد مطالعه، روش اسانس‌گیری و مقادیر ماده موثره موجود در گیاه می‌باشد.

نتایج حاصل از بررسی اثر ضد قارچی اسانس آویشن باغی در این مطالعه بر گونه‌های مختلف قارچی متفاوت بود بطوریکه اثر اسانس این گیاه بر گونه‌های آسپرژیلوس نسبت به ساپرو لگنیا پارازیتیکا تأثیر بهتری داشت و همچنین نسبت به داروهای شیمیایی از عوارض جانبی کم‌تری برخوردار بوده و از نظر اقتصادی نیز مقرون به صرفه هستند، لذا ضروری است تا با مطالعات بیش‌تر بر روی خواص ضد قارچی و ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس آویشن باغی بتوان در آینده به نتایج مطلوبی دست‌یافته و اسانس این گیاه را جایگزین داروهای ضد قارچی نمود. این مطالعه در راستای حل مشکلاتی چون اثرات جانبی داروهای ضد قارچی شیمیایی و جایگزینی آن‌ها با داروهای ضد قارچی گیاهی جهت‌گیری شد. به‌عنوان نتیجه‌گیری کلی، با استفاده از نتایج حداقل میزان بازدارندگی اسانس

نایجر، آسپرژیلوس فومگاتوس و آسپرژیلوس فلاوس در غلظت ۲۵ میکرو لیتر بر میلی لیتر به دست آمد، لیکن MIC گونه ساپرو لگنیا پارازیتیکا متفاوت بوده و در غلظت ۵۰ میکرو لیتر بر میلی لیتر به دست آمد.

نائینی و همکاران (۱۳۹۰) نشان دادند که آزمایش دیسک دیفیوژن اسانس گیاهان اسطوخودوس، آویشن شیرازی، آویشن کوهی، درمنه، زیره سبز، مرزه و نعناع دارای اثرات ضد کاندیدایی قوی‌تری (قطر هاله توقف رشد بیش از ۴۰ میلی‌متر) نسبت به داروهای ضد قارچ شیمیایی (آمفوتریسین، کتوکونازول و نیستاتین) می‌باشند.

نتایج حاصل از مطالعه حاضر تأثیر اسانس آویشن باغی را بر روی چهار گونه قارچ آسپرژیلوس نایجر، آسپرژیلوس فومگاتوس، آسپرژیلوس فلاوس و ساپرو لگنیا پارازیتیکا نشان داد که اسانس آویشن دارای بیش‌ترین اثر مهارکنندگی روی بر آسپرژیلوس فلاوس است. مهم‌ترین جزء مؤثر اسانس آویشن را تیمول و کارواکرول می‌باشد که خواص ضد قارچی اسانس آویشن باغی را می‌توان به آن نسبت داد. خواص ضد میکروبی و ضد قارچی آویشن در مطالعات دیگر نیز به اثبات رسیده است (Khosravi et al., 2012).

Razagh Parast و همکاران (۲۰۰۹) اثرات ضد قارچی عصاره آبی سیر علیه مخمرهای بیماری‌های کاندیدا آلیکنس، کریپتوکوکوس نئوفرمنس و مالاسزیا فورفور مورد مطالعه قرار دادند که میزان MIC آن ۶ میکروگرم در میلی‌لیتر تعیین شد، این در حالی است که در مطالعه حاضر محدوده MIC و MFC برای گونه قارچ‌های مورد مطالعه بین ۳/۱۲۵ تا ۲۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر تعیین شد. در بررسی یزدانی و همکاران ۲۰۰۹ عصاره اناریجه برای قارچ‌های

۵. نائینی، ع.، ناصری، م.، کمال نژاد، م.، خوش زبان، ف.، رجیبان، ط.، اسماعیل زاده ن، حسین.، منصور، ص.، زاویه، د.، ۱۳۹۰. بررسی اثرات اسانس ها و عصاره های ۵۰ گیاه دارویی ایران روی سویه ای استاندارد کاندیدا آلیکنس در شرایط آزمایشگاهی. مجله گیاهان دارویی، ۱۰ (۳۸)، ۱۷۲-۱۶۳.

۶. نقدی بادی، ح.، مکی زاده تفتی، م.، ۱۳۸۲. مروری بر گیاه آویشن. فصل نامه گیاهان دارویی، ۲ (۷)، ۱۲-۱.

۷. Akhlaghi, M., Mahjoor, M., 2000. Some histopathological aspects of streptococcosis in cultured rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Bulletin of European Association of FISH Pathologists, 24, 132-136.
8. Akhlaghi, M., Keshavarzi, M., 2002. The occurrence of streptococcosis in the cultured rainbow trout of Fars province. Iranian Journal of veterinary Research, 2, 183-189.
۹. Behnia, M., Haghghi, A., Komeylizadeh, H., Seyyed Tabaei, S.J., Abadi, A., 2008. Inhibitory Effects of Iranian *Thymus vulgaris* Extracts on in Vitro Growth of *Entamoeba histolytica*. Korean Journal of Parasitology, 46 (3), 153-156.
۱۰. Caruana, S., Yoon, G.H., Freeman, M.A., Mackie, J.A., Shinna, A.P., 2012. The efficacy of selected plant extracts and bioflavonoid in controlling infection of *Saprolegnia australis* (*Saprolegniales Oomycetes*). Aquaculture, 358.359, 146-154.
11. Eguchi, Y., Widiastuti, A., Odani, H., Dwi Chinta, Y., Shinohara, M., Misu, H., Kamoda, H., Watanabe, T., Hasegawa, M., 2016. Tatsuo Sato Identification of terpenoids volatilized from *Thymus vulgaris* L. by heat treatment and their in vitro antimicrobial activity, Physiological and Molecular Plant Pathology, (94), 83-89.
12. Guarro, J., Pujol, I., Aguilar, C., Llop, C., Fernandez-Ballart, J., 1998. Inoculum preparation for in-vitro susceptibility testing of filamentous fungi. Antimicrob Chemother, 42 (3), 385-7.
13. James, G.C., Natalie, S., 2001. Microbiology. A laboratory Manual (ed.), 211-223.
14. Khosravi, A.R., Shokri, H., Sharifrohani, M., Ebrahimzadeh Mousavi, H., Moosavi, Z., 2012. Evaluation of the antifungal activity of *Zataria multiflora*, *Geranium herbarium*, and *Eucalyptus camaldolensis* essential oils on *Saprolegnia parasitica*-infected Rainbow

آویشن باغی، بر رشد قارچ های جدا شده از پوست ماهی کوی می توان با تحقیقات بیش تر به صورت فارمی مورد استفاده دارویی قرار گیرد.

سپاسگزاری

در اینجا بر خود لازم می دانیم از زحمات کلیه کسانی که مارا در انجام این تحقیق یاری نمودند سپاسگزاری نمایم.

منابع

۱. ابراهیم زاده موسوی، ح.، شریف روحانی، م.، خسروی، ع.، مهرابی، ی.، آخوندزاده بستی، ا.، ۱۳۸۸. ارزیابی کاربرد اسانس اوکالیپتوس در کنترل آلودگی های قارچی تخم ماهی قزل آلا ی رنگین کمان. مجله گیاهان دارویی، ۵ (۲۰)، ۴۲-۴۷.
۲. حقیرالسادات، ف.، برنارد، ف.، کلانتر، س.، شیخها، م.، حکم الهی، ف.، عظیم زاده، م.، حوری، م.، ۱۳۸۹. بررسی ترکیبات مؤثر و خواص آنتی اکسیدانی اسانس گیاه دارویی زیره سیاه استان یزد. مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، دوره سیزدهم، ۳، ۲۹۱-۲۸۴.
۳. قاسمی پیربلوطی، ع.، پیرعلی، ا.، پیشکار، غ.ر.، جلالی، م.ع.، رئیسی، م.، جعفریان دهکردی، م.، حامدی، ب.، ۱۳۸۸. اثر اسانس چند گیاه دارویی بر سیستم ایمنی قزل آلا ی رنگین کمان *Oncorhynchus mykiss*. مجله گیاهان دارویی، ۲ (۲)، ۱۵۵-۱۴۹.
۴. گندمی نصر آبادی، ح.، میثاقی، ع.، آخوند زاده بستی، ا.، خسروی، ع.، بکایی، س.، عباس فر، آ.، ۱۳۸۷. اثر اسانس آویشن شیرازی روی آسپرژیلوس فلاووس. فصل نامه گیاهان دارویی، ۳، ۳۰-۲۲.

- Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) and bacterial isolates. *Aquaculture Research*, 41, 667-668.
18. Razagh Parast, A., Shams Ghahfarokhi, M., Yadegari, M.H., Razaghi Abiane, M., 2009. Antifungal properties of *Allium sativum* (garlic) in separation and combination with florkonazol, itrakonazol and ketokonazol on yeasts pathogens. *Gorganian Medical Journal*, 11 (1), 49-56.
 19. Soković, M.D., Vukojević, J., Marin, P.D., Brkić, D.D., Vajs, V., Van Griensven, L.J., 2009. Chemical composition of essential oils of thymus and mentha species and their antifungal activities. *Molecules*, 14 (1), 238-249.
 20. Zambonelli, A., d'Aulerio, A.Z., Bianchi, A., Albasini, A., 1996. Effects of essential oils on phytopathogenic fungi in vitro. *Journal of Phytopathology*, 144 (9-10), 491-494.
- Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Eggs. *Food borne Pathogens and Disease*, 9, 674-679.
۱۵. Sokovi, M.D., Vukojevi, J., Marin, P.D., Brki, D.D., Vajs, V., Van Griensven, L.J., 2009. Chemical composition of essential oils of Thymus and Mentha species and their antimicrobial activities, *Molecules*, 14, 238-249.
 16. Mohammadpour, G., Majd, A., Najhadsatari, T., Mehrabian, S., Hossinzadehkalagar, A., 2011. Antibacterial and antifungal effects of three genus of thyme plants and two ecotype of ziziphora and satureja bachtiarica essential oils. *Journal of Sciences (Islamic Azad University)*, 20, 111-122.
 17. Navarrete, P., Toledo, I., Mardones, P., Opazo, R., Espejo, R., Romero, J., 2010. Effect of *Thymus vulgaris* essential oil on intestinal bacterial microbiota of rainbow trout,