E-ISSN: 2538-2187 | P-ISSN: 2251-7901

The Quarterly Scientific Journal of Applied Biology

https://jab.alzahra.ac.ir/
Vol. 37, No.4. (2024) Winter, 54-64
https://doi.org/10.22051/jab.2024.48402.1648

Paper Type: Original Article

Evaluation of the Effect of Essential Oil of Some Chemotypes of *Zataria multiflora* and *Salvia mirzayanii* on the Control of *Aspergillus niger*

Zeynab Moradzadeh[1], Somayeh Rastegar*[1], Ali Reza Yavari[1]

[1]Department of Horticulture, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Hormozgan, Bandar Abbas, Iran;(Associate Professor: Corresponding author: rastegarhort@gmail.com).*

Citation:

Moradzadeh, Z., Rastegar, S. & Yavari, A. R. (2024). Evaluation of the effect of essential oil of some chemotypes of *Zataria multiflora* and *Salvia mirzayanii* on the control of *Aspergillus niger*. *The quarterly scientific journal of applied biology, Volume* 37 (Issue No. 4), PP. 54-64

Received: 2023.09.13 Accepted: 2024.10.02

Abstract

Introduction: In recent years, the use of secondary metabolites of some medicinal plants to prevent the growth of fungi has been considered. The purpose of this study was to investigate the antifungal effects of two essential oils of *Zataria multiflora* and *Salvia mirzayanii* with two methods of smoking and mixed culture (mixing essential oil with culture medium) in controlling *Aspergillus niger* in laboratory conditions.

Methods: In this research, during two separate experiments, the effect of different chemotypes of *Zataria multiflora* essential oil with concentrations of 50, 100, 200, 400 µL and *Salvia mirzayanii* with concentrations of 100, 200, 400 microliters per liter, on growth control *Aspergillus niger* were evaluated by two cultivation methods (smoked and mixed) in laboratory conditions.

Results: Based on the results of the first experiment, in the investigation of preventing the growth of *Aspergillus niger*, the Isfahan Nasrabad chemotype was placed in one statistical group, the Bushehr and Tashk Fars chemotypes were in one statistical group, and the other chemotypes were in another statistical group. No significant difference was observed between different mushroom cultivation methods. By increasing the concentration of essential oil, its effect in preventing halo growth increased. In the second experiment, at a concentration of 400 µL, the greatest effect of bitter gourd essential oil in preventing the growth of *Aspergillus niger* was observed in Hormozgan Bastak chemotype, which showed a significant difference compared to other gourd chemotypes. In this experiment, no significant difference was observed between the two mushroom cultivation methods.

Conclusion: In general, the essential oils used showed an effective role in controlling the growth of *Aspergillus niger*, however, a significant difference was observed between the different ecotypes of the two essential oils, thyme, and Salvia.

Keywords: Essential oil, Fungus, Salvia, Thyme

فصلنامه علمی زیست‌شناسی کاربردی دانشگاه الزهرا(س)
دوره ۳۷، شماره ۴، پیاپی ۸۲، زمستان ۱۴۰۳، صفحات ۶۴-۵۴
https://jab.alzahra.ac.ir
https://doi.org/10.22051/jab.2024.48402.1648

نوع مقاله: پژوهشی

بررسی تاثیر اسانس برخی از کموتیپ‌های آویشن شیرازی و مورتلخ بر کنترل قارچ *آسپرژیلوس نایجر*

زینب مرادزاده[۱]، سمیه رستگار[۲*]، علیرضا یاوری[۲]
[۱]دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه باغبانی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران.
[۲]دانشیار گروه باغبانی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران.
(*نویسنده مسئول: *rastegarhort@gmail.com*)

تاریخ دریافت : ۱۴۰۲/۰۶/۲۲ تاریخ پذیرش : ۱۴۰۳/۰۷/۱۱

چکیده

مقدمه: در سال‌های اخیر استفاده از متابولیت‌های ثانویه برخی گیاهان دارویی در جلوگیری از رشد قارچها مورد توجه قرار گرفته است. هدف از این پژوهش بررسی اثرات ضد قارچی دو اسانس آویشن شیرازی و مورتلخ با دو روش کشت تدخینی و ترکیبی (اختلاط اسانس با محیط کشت) در کنترل قارچ *Aspergillus niger* در شرایط آزمایشگاهی بود.

روش‌ها: در این پژوهش طی دو آزمایش جداگانه تاثیرکموتیپ‌های مختلف اسانس آویشن‌شیرازی با غلظت های ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰ میکرولیتر در لیتر و مورتلخ با غلظت های۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰ میکرولیتر در لیتر، بر کنترل رشد قارچهای *آسپرژیلوس نایجر* به دو روش کشت قارچ (تدخینی و ترکیبی) در شرایط آزمایشگاهی مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها: براساس نتایج آزمایش اول، در بررسی جلوگیری از رشد قارچ *آسپرژیلوس نایجر*، کموتیپ نصرآباد اصفهان در یک گروه آماری، کموتیپ‌های بوشهر و طشک فارس در یک گروه آماری و سایر کموتیپ‌ها در گروه آماری دیگر قرار گرفتند. تفاوت معنی‌داری بین روش‌های مختلف کشت قارچ مشاهده نشد. با افزایش غلظت اسانس، تاثیر آن درجلوگیری از رشد هاله افزایش یافت. در آزمایش دوم، در غلظت ۴۰۰ میکرولیتر در لیتر، بیشترین تاثیر اسانس مورتلخ در جلوگیری از رشد قارچ *آسپرژیلوس نایجر* در کموتیپ بستک هرمزگان مشاهده شد که نسبت به سایر کموتیپ‌های مورتلخ تفاوت معنی‌داری نشان داد. در این آزمایش نیز تفاوت معنی‌داری بین دو روش کشت قارچ مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری: بطور کلی اسانس‌های استفاده شده نقش موثری در کنترل رشد قارچ *آسپرژیلوس نایجر* نشان دادند البته تفاوت معنی‌داری بین کموتیپ‌های مختلف دو اسانس آویشن‌شیرازی و مورتلخ مشاهده شد.

کلیدواژه‌ها: اسانس، آویشن، درون شیشه، قارچ، مورتلخ

مقدمه

پوسیدگی‌های پس‌از برداشت باعث افزایش ضایعات باغبانی می‌شوند. حمله میکروارگانیزم‌ها در هر مرحله از رشد و نمو محصول تا آخرین مرحله نگهداری آن در انبار اتفاق می‌افتد. در دو دهه اخیر مقاومت به قارچکش‌های شیمیای به طور قابل توجهی افزایش یافته و از این رو استفاده از متابولیت های طبیعی گیاهان به عنوان یکی از روش‌های کارآمد مطرح شده است [1]. بنابراین امروزه نیاز به جایگزین‌های امن با امکان مصرف آسان و سازگار با محیط زیست بیشتر احساس می‌شود. اثرات ضد میکروبی متابولیت‌های ثانویه گیاهان دارویی توسط پژوهشگران مختلفی مورد بررسی قرارگرفته است [2]. در سال‌های اخیر تحقیقات گسترده‌ای آغاز گردیده که نشان می دهد متابولیت‌های ثانویه برخی گیاهان دارویی در جلوگیری از رشد قارچها موثر بوده و جایگزین مناسبی برای سموم شیمیایی هستند [3]. اگرچه استفاده از قارچ‌کش‌های شیمیایی در کنترل بیماری‌های گیاهان موثر است، اما کاربردهای مداوم آن‌ها ممکن است تعادل اکوسیستم را مختل کند و باعث توسعه پاتوژن‌های مقاوم نسبت به سموم، تجمع مواد مضر در خاک و آب شود و گاهی اوقات باعث می‌شود مواد شیمیایی بالاتر از حد مجازشان در زنجیره‌های غذایی ذخیره شوند [4]. به علاوه، مواد باقی‌مانده از سموم دفع‌آفات در مواد غذایی خطر سرطان‌زایی بیش‌تری نسبت به حشره‌کش‌ها و علف‌کش‌ها دارند [5]. به همین دلیل مقررات سختگیرانه‌ای توسط کشورهای واردکننده محصولات‌کشاورزی در رابطه با حداقل میزان باقی‌مانده قارچ‌کش‌ها در محصولات کشاورزی اجرا می‌شود [6] که این امر صادرات میوه را به کشورهای اروپایی محدود می‌کند [7]، [8]. بنابراین استفاده هرچه بیش‌تر از سموم دفع آفات برابر با اثرات مخرب زیست محیطی است [9]. نگرانی روز افزون مصرف‌کنندگان محصولات تازه در مورد استفاده از قارچ‌کش‌های مصنوعی و اثرات سمی احتمالی آن‌ها بر سلامت انسان وجود دارد. بنابراین جستجوی محصولات طبیعی در سراسر جهان عمدتاً به دلیل این مشکلات افزایش یافته است و محصولات باغی امروزه به جایگزین‌های نوآورانه و پایدار نیاز دارد که میوه‌ها و سبزیجات را از آسیب قارچ‌ها کنترل و محافظت کند و همزمان، از افزایش مقاومت در برابر بیماری و وابستگی به قارچ کش‌های شیمیایی نیز جلوگیری شود [7]، [10]. در سال های اخیر استفاده از فن‌آوری‌ها و جایگزین های طبیعی برای کنترل بیماری‌های گیاهی در مقایسه با دیگر مواد شیمیایی کشاورزی مانند قارچ‌کش‌ها رایج شده‌اند [11]، [12]. محصولات طبیعی به سبب کم خطر بودن برای محیط زیست و سلامتی انسان و هزینه کم برتری دارند و همچنین به دلیل اینکه ترکیبات طبیعی گیاهان از مواد شیمیایی مصنوعی ایمن‌تر هستند، گزینه‌ای مناسب برای مدیریت بیماری‌های گیاهی هستند [13]، [14]. استفاده از محصولات کم‌خطر در کنترل بیماری های گیاهی برای دستیابی به پایداری در اکوسیستم‌های کشاورزی ضروری است در بین محصولاتی که به طور گسترده برای این منظور مورد آزمایش قرارگرفته است اسانس‌های استخراج شده از گیاهان معطر هستند که مواد اولیه آن‌ها به راحتی قابل دستیابی، تولید آنها کم هزینه و در کنترل بسیاری از بیماری‌های قارچی موثر هستند [15]، [16]. اعتقاد بر این است که تولید اسانس‌ها توسط گیاهان به عنوان یک مکانیسم دفاعی در برابرعوامل بیماری‌زا و آفات انجام می‌شود [17] و در واقع اسانس‌ها دارای خاصیت ضد میکروبی و ضد قارچی هستند [18]، [19]. اسانس‌ها و اجزای آن‌ها به علت وضعیت نسبتا ایمن استقبال گسترده‌ای توسط مصرف‌کنندگان به دست آورده‌اند [20]، [21]. اسانس‌ها قادر به کاهش روند آلودگی هستند و از این طریق از تخریب اولیه میوه و سبزیجات جلوگیری می‌کنند [22]، [23]، [24].

تا کنون تحقیقی از تاثیر کموتیپ‌های مختلف این دو اسانس انجام نشده است. بنابراین این پژوهش با هدف بررسی تاثیر اسانس برخی از کموتیپ‌های آویشن شیرازی و مورتلخ بر کنترل قارچ *Aspergillus niger* صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

تمام آزمایشات در سه تکرار و به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی اجرا شد. فاکتورهای هر آزمایش شامل کموتیپ‌های مختلف (آویشن‌شیرازی شامل (۱- خنج‌فارس ۲- نصرآباد اصفهان ۳- رودخانه زیارتعلی ۴- بوشهر ۵- تنگ زاغ ۶- طشک فارس ۷- فاریاب رودان) و مورتلخ شامل(۱- بَستک هرمزگان ۲- سَرچاهان هرمزگان ۳- دِق فینو هرمزگان ۴- خُنج فارس)، روش کشت مختلف قارچ (روش تدخینی و اختلاط اسانس با محیط کشت PDA) و غلظت‌های مختلف اسانس (۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰ میکرولیتر در لیتر اسانس آویشن و ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰ میکرولیتر در لیتر اسانس مورتلخ) بودند. در زمان گلدهی گیاه اقدام به نمونه‌برداری از سرشاخه‌های گل‌دار شد که با انتقال به آزمایشگاه در دمای محیط و سایه خشک شد. استخراج اسانس براساس فارماکوپه بریتانیا و با استفاده از دستگاه کلونجر انجام شد.

روش اختلاط

پس از تهیه محیط‌کشت و سرد شدن، قبل از جامد شدن، با استفاده از کموتیپ‌های اسانس آویشن شیرازی با غلظت‌های ۲۵،۵۰،۱۰۰،۲۰۰ و ۴۰۰ میکرولیتر در لیتر و مورتلخ با غلظت‌های ۱۰۰،۲۰۰ و ۴۰۰ میکرولیتر در لیتر تهیه و سپس در پلیت‌های ۸ سانتی متری ریخته شد و در زیر هود لامینار قرار داده شد برای جلوگیری از خروج ترکیبات اسانس پتری‌ها با پارافیلم مسدود و به یکدیگر متصل شدند. به منظور اندازه‌گیری میانگین قطر کلنی قارچ‌های مورد آزمایش در تیمارهای مختلف، به طور روزانه دو قطر عمود بر هم کلنی با خط‌کش تا روز ۱۰ اندازه‌گیری شد برای هر تیمار ۳ تکرار در نظر گرفته شد [7]، [16]، [25].

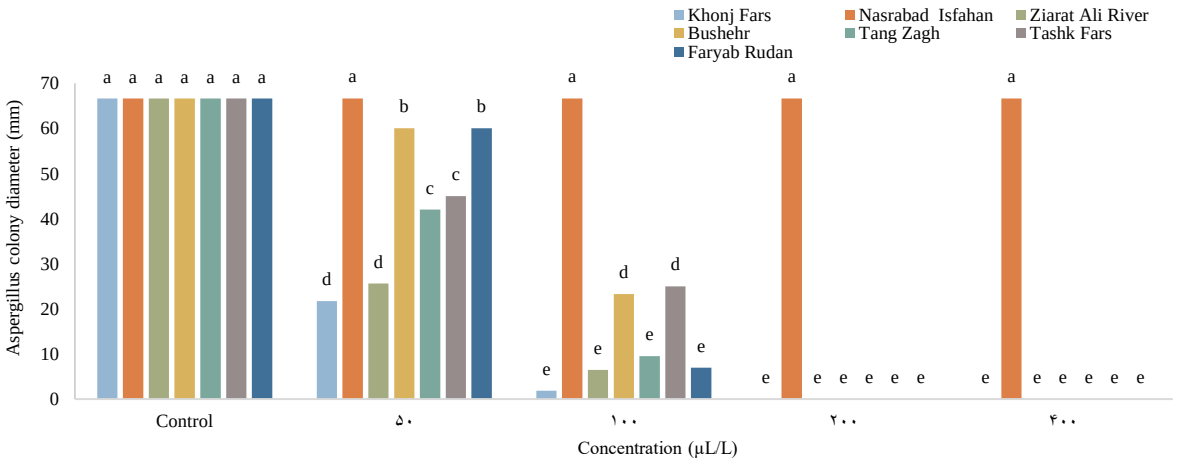
روش تدخینی

محیط‌کشت PDA تهیه شده و سپس در پلیت‌های ۸ سانتی‌متری توزیع شد و پس از انعقاد محیط‌کشت، ۱۰میکرولیتر در لیتر از اسپور قارچ در شرایط سترون در مرکز پلیت بر روی آگار قرار داده شد سپس با کمک سمپلر دوزهای (۲۵،۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰) میکرولیتر در لیتر ازکموتیپ‌های اسانس آویشن و مورتلخ با دوزهای (۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰) میکرولیتر در لیتر بر روی کاغذ صافی فیکس‌شده در درب پلیت به طور جداگانه ریخته شد در پایان برای جلوگیری از خروج ترکیبات اسانس پتری‌ها با پارافیلم مسدود شد [26]، [27]، [28]. به منظور تجزیه آماری داده‌ها از نرم افزار آماری SPSS استفاده گردید. بررسی مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح احتمال ۱ درصد انجام شد.

نتایج و بحث

آزمایش اول

بررسی مقایسه میانگین‌ها نشان داد که در کموتیپ‌های مختلف (بجز نصرآباد اصفهان)، با افزایش غلظت اسانس آویشن، قطر کلنی قارچ *آسپرژیلوس نایجر* بطور معنی‌داری کاهش یافت. به‌طوری‌که در غلظت‌های ۲۰۰ و ۴۰۰ میکرولیتر در لیتر به طور کامل از رشد قارچ جلوگیری شد. در غلظت ۱۰۰ میکرولیتر در لیتر کموتیپ‌های بوشهر و طشک فارس در یک گروه آماری و کموتیپ نصرآبادی اصفهان در گروه دیگر و سایر کموتیپ‌ها در گروه آماری دیگر قرارگرفتند (**شکل ۱**).

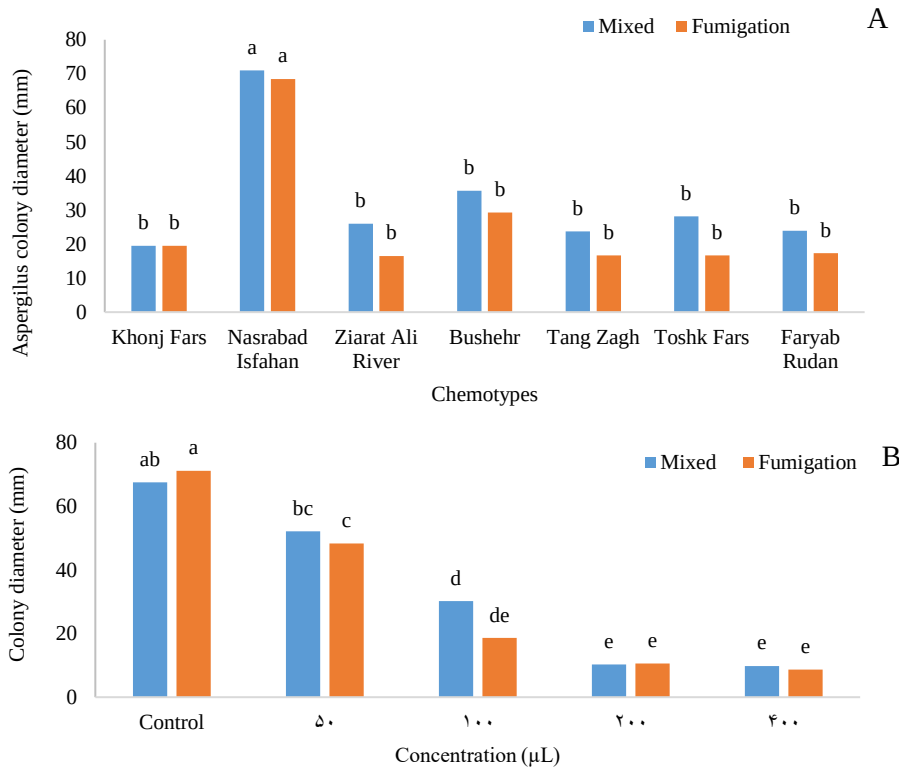


شکل ۱- تاثیر غلظت‌ها و کموتیپ‌های مختلف اسانس آویشن شیرازی بر قطر هاله (میلی‌متر) قارچ *آسپرژیلوس نایجر*

Figure 1- The effect of different concentrations and chemotypes of Shirazi thyme essential oil on the colony diameter (mm) of *Aspergillus niger*

بررسی مقایسه میانگین‌ها نشان داد که در کموتیپ‌های مختلف تفاوت معنی‌داری بین روش‌های مختلف کشت *آسپرژیلوس نایجر* مشاهده نشد. کموتیپ نصرآباد اصفهان نسبت به سایر کموتیپ‌ها تفاوت معنی‌داری نشان داد و بالاترین قطر کلنی در هر دو روش کشت قارچ را نشان داد (**شکل ۲ A**).

بررسی مقایسه میانگین نشان داد که با افزایش غلظت اسانس آویشن تا ۲۰۰ میکرولیتر در لیتر، قطر کلنی قارچ *آسپرژیلوس نایجر* بطور معنی‌داری کاهش یافت. تفاوت معنی‌داری بین غلظت‌های ۲۰۰ و ۴۰۰ میکرولیتر در لیتر مشاهده نشد. در هر غلظت تفاوت معنی‌داری بین روش‌های مختلف کشت قارچ مشاهده نشد (**شکل ۲ B**).



شکل ۲- تاثیرکموتیپ‌ها (A) و غلظت های (B) مختلف اسانس آویشن شیرازی و روش‌های مختلف کشت قارچ بر قطرکلنی (میلی‌متر) قارچ *آسپرژیلوس نایجر*

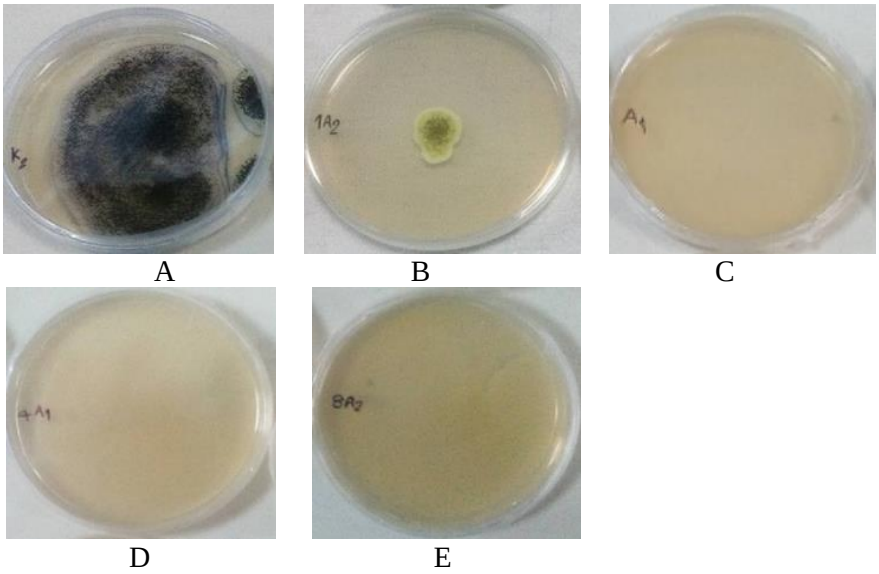
Figure 2- The effect of different chemotypes (A) and concentrations (B) of Shirazi thyme essential oil and different methods of mushroom culture on the diameter (mm) of *Aspergillus niger*

بررسی مقایسه‌ای میانگین‌ها نشان داد که بیشترین تاثیراسانس کموتیپ‌های مختلف (به جز نصرآباد اصفهان) در غلظت ۲۰۰ و ۴۰۰ میکرولیتر در لیتر در هر دو روش کشت قارچ مشاهده شد. کموتیپ نصرآباد اصفهان در غلظت‌های مختلف و در روش‌های مختلف کشت تفاوت معنی‌داری با شاهد نشان نداد (**جدول ۱**). نمونه ای از جلوگیری از رشد قارچ *آسپرژیلوس نایجر* توسط غلظت های مختلف کموتیپ رودخانه زیاتعلی اسانس آویشن شیرازی در **شکل ۳** نشان داده شده است.

جدول ۱- تاثیر برهمکنش کموتیپ‌ها، غلظت‌های مختلف اسانس و روش‌های مختلف کشت بر قطر کلنی (میلی‌متر) *آسپرژیلوس نایجر*

Table 1- The effect of the interaction of chemotypes, different concentrations of essential oils and different cultivation methods on the halo diameter (mm) of *Aspergillus fungus*

	Mixed method					Fumigation method				
Thyme chemotypes	Control	50	100	200	400	Control	50	100	200	400
Khonj Fars	7a.64	22.5ef	3.7jk	0k	0k	68.5a	21e-g	0k	0k	0k
Nasrabad Isfahan	7a.64	64a	64a	64a	64a	68.5a	68.5a	68.5a	68.5a	68.5a
Rudkhaneyeh Ziarat Ali	7a.64	38.6d	13g-j	0k	0k	68.5a	12.7gj	0k	0k	0k
Bushehr	7a.64	72a	27.1e	0k	0k	68/5a	52.1b	19.5eh	0k	0k
Tang Zagh	7a.64	41.1cd	10.5hk	0k	0k	68.5a	43b-d	8.5i-k	0k	0k
Tashk Fars	7a.64	41.1cd	50bc	0k	0k	68/5a	47.1b-d	0k	0k	0k
Faryab Rodan	7a.64	2a.70	14f-i	0k	0k	68.5a	49.5bc	0k	0k	0k

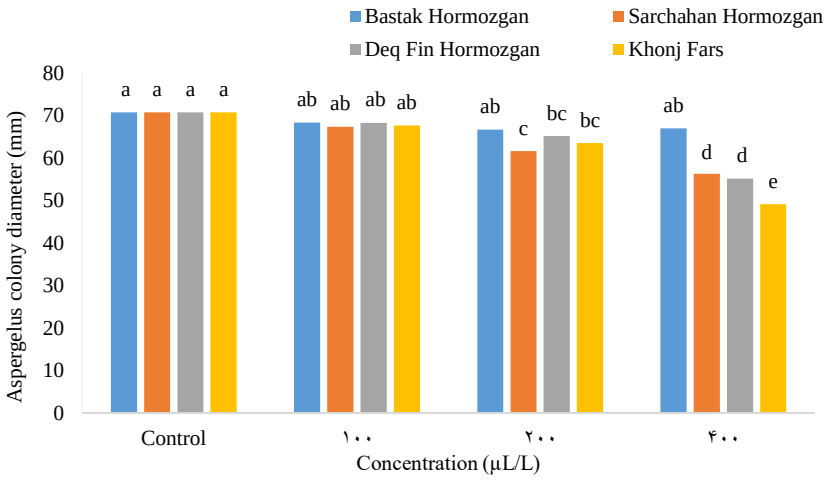


شکل ۳- اثر مهارکنندگی فاز ترکیبی کموتیپ رودخانه زیاتعلی اسانس آویشن شیرازی بر قارچ *آسپرژیلوس نایجر* بعد از ۱۰ روز انکوباسیون (A) بدون اسانس، (B) غلظت ۵۰ میکرولیتر بر لیتر، (C) غلظت ۱۰۰ میکرولیتر برلیتر، (D) غلظت ۲۰۰ میکرولیتر بر لیتر (E) غلظت ۴۰۰ میکرولیتر بر لیتر

Figure 3- The inhibitory effect of Rudkhaneyeh Ziarat Ali chemotype compound phase of Shirazi thyme essence on *Aspergillus niger* after 10 days of incubation. (A) without essential oil, (B) concentration of 50 µL/L, (C) concentration of 100 µL/L, (D) concentration of 200 µL/L (E) concentration of 400 µL/L

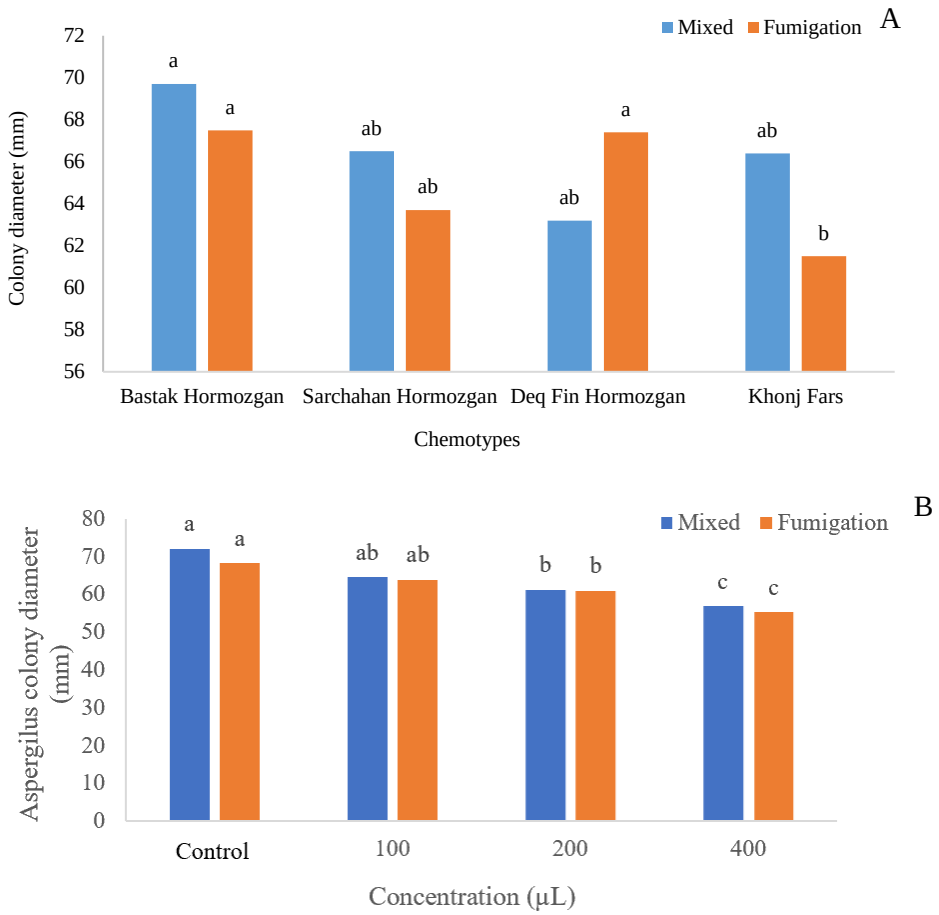
آزمایش دوم

بررسی مقایسه میانگین‌ها نشان داد که در غلظت ۱۰۰ میکرولیتر بر لیتر تفاوتی بین شاهد و کموتیپ‌ها مشاهده نشد. در غلظت ۲۰۰ میکرولیتر بر لیتر سرچاهان هرمزگان بطور معنی‌داری نسبت به شاهد قطرکلنی *آسپرژیلوس نایجر* را کاهش داد. در غلظت ۴۰۰ میکرولیتر بر لیتر تفاوت معنی‌داری بین کموتیپ‌ها (بجز بستک هرمزگان) و شاهد مشاهده شد (**شکل ۴**). همانطور که در **شکل ۵** مشاهده می شود، در روش ترکیبی تفاوت معنی داری بین کموتیپ ها مشاهده نشد اما در روش تدخینی، کموتیپ خنج فارس نسبت به دق فینو و بستک هرمزگان رشد کمتری را نشان داد.



شکل ۴- تاثیر غلظت‌ها و کموتیپ‌های مختلف اسانس مورتلخ بر قطر کلنی (میلی متر) قارچ *آسپرژیلوس نایجر*

Figure 4- The effect of different concentrations and chemotypes of Salvia essential oil on the halo diameter (mm) of *Aspergillus niger*



شکل ۵- تاثیر کموتیپ (A) و غلظت های (B) مختلف اسانس مورتلخ و روش‌های مختلف کشت بر قطر کلنی (میلی‌متر) *آسپرژیلوس نایجر*

Figure 5- The effect of different chemotypes (A) and concentrations (B) of Salvia essential oil and different cultivation methods on the colony diameter (mm) of *Aspergillus niger*

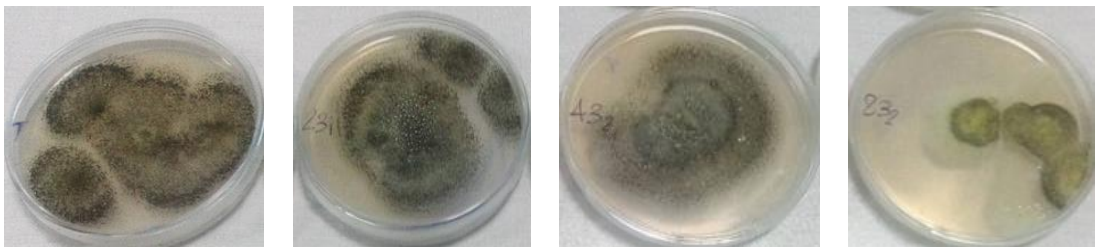
مقایسه میانگین‌ها نشان داد اگرچه غلظت های ۲۰۰و ۴۰۰ میکرولیتر بر لیتر نسبت به شاهد تفاوت معنی داری در رشد قطر کلنی *آسپرژلوس نایجر* نشان دادند اما تفاوت معنی‌داری بین روش‌های مختلف کشت در غلظت‌های مختلف مشاهده نشد (**شکل ۵ ب**).

بررسی مقایسه میانگین‌ها نشان داد که با افزایش غلظت اسانس، قطر کلنی قارچ کاهش یافت. گرچه کموتیپ بستک هرمزگان در این غلظت تفاوت معنی‌داری با شاهد نشان نداد. در روش ترکیبی کمترین قطرکلنی قارچ در غلظت ۴۰۰ میکرولیتر بر لیتر در کموتیپ دق فینو هرمزگان و در روش تدخینی در کموتیپ خنج فارس مشاهده شد (**جدول ۲**). نمونه ای از تاثیر کموتیپ دِق‌فینو اسانس مورتلخ بر *آسپرژیلوس نایجر* در **شکل ۶** نشان داده شده است.

جدول ۲- تاثیر برهمکنش کموتیپ‌ها ، اسانس‌های مختلف مورتلخ و روش‌های مختلف کشت بر قطر کلنی قارچ *آسپرژیلوس نایجر*

Table 2- The effect of the interaction of ecotypes, different essential oils of Salvia and different cultivation methods on the halo diameter of *Aspergillus niger*

Chemotypes	**Fumigation method**				**Mixed method**			
	Control	100	200	400	Control	100	200	400
Bastak Hormozgan	5a.71	2a-d.68	1a-e.67	5a-e.67	70ab	3a-c.68	2b-e.66	5a-e.66
Sarchahan Hormozgan	5a.71	5ab.69	7ef.62	6gh.57	70ab	2b-f.65	5fg.60	55h
Deq Fino Hormozgan	5a.71	2b-e.66	1c-f.64	47i	70ab	2ab.70	2b-e.66	2d-f.63
Khonj Fars	5a.71	5a-c.68	2d-f.63	56h	70ab	7a-e.66	7c-f.63	2j.42



A B C D

شکل ۶- اثر مهارکنندگی فاز ترکیبی کموتیپ دِق‌فینو اسانس مورتلخ بر قارچ *آسپرژیلوس نایجر* بعد از ۱۰ روز انکوباسیون .(A) بدون اسانس، (B) غلظت ۱۰۰ میکرولیتر در لیتر، (C) غلظت ۲۰۰ میکرولیتر در لیتر، (D) غلظت ۴۰۰ میکرولیتر در لیترغلظت

Figure 6- The inhibitory effect of the mixed phase of the deq-fino chemotype of Salvia essential oil on the *Aspergillus niger* fungus after 10 days of incubation. (A) without essential oil, (B) concentration of 100 µL/L, (C) concentration of 200 µL/L, (D) concentration of 400 µL/L

بر اساس مطالعات صورت گرفته تحقیقات اندکی در بررسی تاثیر کموتیپ‌های مختلف اسانس‌های گیاهی در کنترل رشد قارچ مشاهده شده است و این پژوهش با توجه به بررسی کموتیپ‌های مختلف اسانس‌های آویشن شیرازی قابل توجه است. براساس نتایج به دست آمده از آزمایش اول، کموتیپ های رودخانه، خنج فارس و تنگ زاغ بیشترین تاثیر در کنترل قارچ داشتند. در مطالعه قبلی ما ترکیبات این اسانس ها مورد بررسی قرار گرفتند. عمده ترین ترکیب های تشکیل دهنده اسانس کوتیپ رودخانه، تیمول (۶۱ /۸ درصد)، خنج فارس لینالول (۶۱/۸ درصد) و کارواکرول(۸/۸ درصد) و تنگ زاغ تیمول (۲۸/۷ درصد) و کارواکرول (۲۳/۸ درصد) مشخص شدند. کمترین تاثیر کنترل رشد قارچ در کموتیپ نصرآباد اصفهان که دارای ۷۷/۶ درصد لینالول بود مشاهده شد. بنابراین با توجه به اینکه کموتیپ های مختلف تحت تاثیر شرایط مختلف آب و هوایی دارای ترکیبات موثره متفاوتی بودند، تاثیرات مختلفی در جلوگیری از رشد قارچ نشان دادند. به احتمال زیاد ترکیب موثره تیمول و کارواکرول بیشترین و ترکیب لینالول کمترین تاثیر در کنترل قارچ *Aspergillus niger* دارد [29]. در آزمایش دوم، در بالاترین غلظت استفاده شده (۴۰۰ میکرولیتر در لیتر)، کموتیپ بستک هرمزگان تاثیر معنی داری نسبت به شاهد نشان نداد اما سایر کموتیپها نسبت به شاهد تاثیر معنی داری در جلوگیری از رشد قارچ نشان دادند بطوریکه بیشترین تاثیر در کموتیپ خنج فارس مشاهده شد. بر اساس تحقیقات قبلی کموتیپ خنج فارس دارای بیشترین درصد دلتا کادینن و آلفا ترپینیل استات و کموتیپ بستک هرمزگان دارای دلتا کادینن و لینالول و آلفا ترپینیل استات بودند [30].

در تحقیقی اثر اسانس آویشن شیرازی بر *Aspergillus flavus* مورد آزمایش قرارگرفت. تمام غلظت‌های مورد بررسی دارای اثر معنی‌داری بر رشد و اسپورزای *Aspergillus flavus* داشتند. میزان حداقل غلظت بازدارندگی(MIC)، حداقل غلظت کشندگی(MFC) به ترتیب ۴۰۰ و۱۰۰۰ میکرولیتر بر لیتر به دست آمد. اثر اسانس بر اسپورزایی بیشتر از اثر بر رشد میسلیوم بود. نتایج حاصل از این بررسی بیانگر اثرات بازدارندگی این اسانس روی کپک‌ها بوده و این اسانس را به عنوان جایگزینی برای نگه‌دارنده‌های شیمیایی به صنعت غذای معرفی می‌نماید [31]. در پژوهشی نشان داده شد که حداقل غلظت بازدارندگی، حداقل غلظت کشندگی اسانس گل سرخارگل برای قارچ *Aspergillus flavus* در محیط کشت PDA به ترتیب برابر با ۱۰۰۰۰ و ۱۵۰۰۰ میلی گرم در لیتر بود [32].

در مطالعه‌ای، اثرات ضدقارچی اسانس‌های اکالیپتوس، گالبانوم، تیموس و میخک در برابر آسپرژیلوس نایجر در غلظت‌های مختلف (۰، ۲۰۰، ۴۰۰، ۶۰۰ و ۸۰۰ میکرولیتر در لیتر) در شرایط آزمایشگاهی و میوه‌های انار (*Punica granatum*) مورد آزمایش قرارگرفت. نتایج در شرایط آزمایشگاهی نشان داد که رشد *Aspergillus niger* به طور کامل با استفاده از اسانس میخک در غلظت ۴۰۰،۲۰۰، ۶۰۰ و ۸۰۰ میکرولیتر در لیتر در روزهای اول و دهم مهار شد و همچنین کاربرد آویشن با غلظت ۸۰۰ میکرولیتر در لیتر در روز دهم تاثیر معنی‌داری در کنترل قارچ روی میوه انار نشان داد [33]. در پژوهشی اسانس گیاهان مرزه خوزستانی، مرزنجوش و پونه در غلظت ۵۰۰ میکرولیتر در لیتر برای کنترل قارچ *Botrytis cinerea* مورد آزمایش قرار گرفت. براساس نتایج به دست آمده بیشترین درصد بازدارندگی (۵۶/۵) برای رشد قارچ در مرزه خوزستانی مشاهده شد [34].

به طورکلی، اثر ضد قارچی بالقوه اسانس‌ها به ترکیبات اصلی موجود در اسانس‌ها [22] از جمله ترپنوئیدهای فنلی، الکلی و اکسیژن نسبت داده می‌شود [35]. خاصیت ضدقارچی اسانس‌ها احتمالاً ناشی از وجود ترکیبات فنلی در اسانس باشد [18]. در پژوهشی که بر روی ۱۴ میکروارگانیسم مسئول پوسیدگی و سویه‌های قارچی مانند *A. flavus*، *A. niger* و *F. oxysporum* انجام شد نشان داد که

هیدروکربن‌های ترپن و ترکیبات فنلی موجود در اسانس آویشن مسئول فعالیت ضد قارچی بود [36]. مکانیسم عمل فنل‌ها بر روی قارچ‌ها به روشنی مشخص نشده است اما بعضی از محققان به توانایی فنل‌ها بر نفوذ در لیپیدهای غشای سیتوپلاسمی و غشای میتوکندری قارچ‌ها اشاره می‌کنند که باعث اختلال در غشای سلولی و در نتیجه مهار خصوصیات عملکردی سلول و در نهایت باعث نشت محتویات داخلی سلولی می‌شوند [37] و همچنین ترکیبات فنولیک در تغییر نفوذپذیری سلول‌های میکروبی، آسیب رساندن به غشاهای سیتوپلاسمی، ایجاد اختلال در سیستم تولید سلول (ATP) و همچنین اخلال در نیروی حرکتی پروتون نقش دارند [37]، [38]. اسانس‌ها نفوذ پذیری غشای سلول‌های قارچی را تغییر می‌دهند و باعث از بین رفتن محتوای سیتوپلاسمی می‌شود. نفوذ پذیری غشای سلولی برای زنده ماندن کنیدی قارچی ضروری است، آسیب به لایه فسفولیپید ممکن است منجر به نشت مواد سلولی، فروپاشی سلولی و سرانجام مرگ سلول‌های قارچی شود [39]، [40].

غشای قارچی نقش مهمی در حفظ عملکرد طبیعی قارچ دارد و بسیاری از مطالعات نشان داده‌اند که عوامل ضد قارچی مختلف به طور مستقیم یا غیرمستقیم غشای سلولی یا اجزای تشکیل‌دهنده آن را با هدف از بین‌بردن قارچ‌ها مورد حمله قرار می‌دهند [41]. اسانس می‌تواند مورفولوژی قارچ را تغییر دهد و همچنین باعث ظهور وزیکول‌های بزرگ در داخل دیواره سلولی شود [42] علاوه بر این اسانس به مجموعه‌ای از سیستم‌های آنزیمی قارچ‌ها آسیب می‌رساند و بر مؤلفه ساختاری سنتز و تولید انرژی تاثیر می‌گذارد و اسانس وارد ترکیب دیواره سلولی می‌شود و رشد قارچ‌ها را مختل می‌کند [11]. در پژوهشی نشان دادند که اسانس گونه‌های آویشن که مقدار کارواکرول بالاتری دارد خاصیت ضد قارچی قوی‌تری دارد [43]. گزارش شده است که کارواکرول، تیمول و سایر مؤلفه‌های فعال اسانس موجود در آن‌ها باعث ایجاد تغییراتی در مورفولوژی هیفال مانند انعقاد سیتوپلاسمی، تخلیه، ریزش‌هیفال و نشت پروتوپلاست می‌شود [42] بسیاری از کارها تأثیر ترپن فنول‌های ضد قارچی و تیمول و یا کارواکرول را برجسته کرده است. این دو مولکول طیف بسیار گسترده‌ای از فعالیت ضد میکروبی دارند و به طور طبیعی در اکثر گونه‌های آویشن و پونه کوهی وجود دارند.

نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج به دست آمده، تاثیر اسانس‌ها در کنترل رشد قارچ ها، بستگی به نوع و گونه و حتی کموتیپ‌های مختلف آن دارد. بطور کلی کموتیپ‌های مختلف آویشن نسبت به مورتلخ تاثیر بیشتری در کنترل رشد قارچ داشتند. روش کشت در این مطالعه در بیشتر موارد معنی‌دار نبود. بنابراین استفاده از اسانس به عنوان یک ترکیب ارگانیک برای انسان و محیط زیست برای کنترل قارچ‌های مختلف مخصوصا قارچ های پس از برداشت محصولات قابل توصیه است.

اعلام تعارض منافع

نویسندگان مقاله حاضر هیچگونه تعارض منافعی ندارند.

سپاسگزاری

نویسندگان از معاون پژوهشی دانشگاه هرمزگان جهت فراهم آوردن امکانات آزمایشگاهی تقدیر و تشکر می‌نمایند.

منابع

[1] Saharkhiz, M. J., Motamedi, M., Zomorodian, K., Pakshir, K., Miri, R., & Hemyari, K. (2012). Chemical composition, antifungal and antibiofilm activities of the essential oil of *Mentha piperita* L. International Scholarly Research Notices.

[2] Tepe, B., Donmez, E., Unlu, M., Candan, F., Daferera, D., Vardar-Unlu, G., Polissiou, M. & Sokmen, A. (2004). Antimicrobial and antioxidative activities of the essential oils and methanol extracts of *Salvia cryptantha* (Montbret et Aucher ex Benth.) and *Salvia multicaulis* (Vahl). *Food chemistry, 84* (4), 519-525.

[3] Arras, G. & Usai, M. (2001). Fungitoxic activity of 12 essential oils against four postharvest citrus pathogens: chemical analysis of *Thymus capitatus* oil and its effect in subatmospheric pressure conditions. *Journal of Food Protection, 64* (7), 1025-1029.

[4] Lee, Y. S., Kim, J., Shin, S. C., Lee, S. G. & Park, I. K. (2008). Antifungal activity of *Myrtaceae* essential oils and their components against three phytopathogenic fungi. *Flavour and Fragrance Journal, 23* (1), 23-28.

[5] Lee, C. H., Park, J. M., Song, H. Y., Jeong, E. Y. & Lee, H. S. (2009). Acaricidal activities of major constituents of essential oil of *Juniperus chinensis* leaves against house dust and stored food mites. *Journal of food protection, 72* (8), 1686-1691.

[6] Sivakumar, D., & Bautista-Baños, S. (2014). A review on the use of essential oils for postharvest decay control and maintenance of fruit quality during storage. Crop Proteection, 64, 27-37

[7] Da Nóbrega, L. P., da Silva França, K. R., Lima, T. S., de Figueredo Alves, F. M., Ugulino, A. L. N., da Silva, A. M., Cardoso, T.A.L., Rodrigues, A.P.M. & de Mendonça Júnior, A. F. (2019). In vitro fungitoxic potential of copaiba and eucalyptus essential oils on phytopathogens. *Journal of Experimental Agriculture International*, 1-10.

[8] Da Silva, A. C., de Souza, P. E., de Resende, M. L. V., da Silva Jr, M. B., Ribeiro Jr, P. M. & Zeviani, W. M. (2014). Local and systemic control of powdery mildew in eucalyptus using essential oils and decoctions from traditional Brazilian medicinal plants. *Forest Pathology, 44* (2), 145-153.

[9] França, K. R. S., Silva, T. L., Cardoso, T. A. L., Ugulino, A. L. N., Rodrigues, A. P. M. & de Mendonça Júnior, A. F. (2018). In vitro effect of essential oil of peppermint (*Mentha x piperita* L.) on the mycelial growth of *Alternaria alternata*. *Journal of Experimental Agriculture International*, 1-7.

[10] Tripathi, P. & Dubey, N. K. (2004). Exploitation of natural products as an alternative strategy to control postharvest fungal rotting of fruit and vegetables. *Postharvest biology and Technology, 32* (3), 235-245.

[11] Carmo, E. S., Lima, E. D. O. & Souza, E. L. D. (2008). The potential of *Origanum vulgare* L. (*Lamiaceae*) essential oil in inhibiting the growth of some food-related *Aspergillus* species. *Brazilian Journal of Microbiology, 39* (2), 362-367.

[12] Silva, W. J., Dória, G. A. A., Maia, R. T., Nunes, R. S., Carvalho, G. A., Blank, A. F., Alves, P.B., Marçal, R.M. & Cavalcanti, S. C. H. (2008). Effects of essential oils on *Aedes aegypti* larvae: alternatives to environmentally safe insecticides. *Bioresource technology, 99* (8), 3251-3255.

[13] Javaid, A. & Shoaib, A. (2013). Allelopathy for the management of phytopathogens. In Allelopathy (pp. 299-319). Springer, Berlin, Heidelberg.

[14] Abreu, C. L. M., Feres, C. I. M. A., Furtado, E. L., Ming, L. C., Marques, M. O. M., Acáciod, R. S. & Câmara, F. L. A. (2016). Efficient control of conidium germination, mycelial growth, and early blight in tomato in vitro with essential oils under farm conditions. *African Journal of Agricultural Research, 11* (43), 4401-4412.

[15] Barboza, H. S. (2015). Fungitoxic effect of rosemary essential oil in *Alternaria* sp. 2015. 31fls. Course Completion Work (Undergraduate in Agronomy)-Federal University of Semi-Arid, Mossoró.

[16] França, K. R. S., Silva, T. L., Cardoso, T. A. L., Ugulino, A. L. N., Rodrigues, A. P. M., & de Mendonça Júnior, A. F. (2018). In vitro effect of essential oil of peppermint (*Mentha x piperita* L.) on the mycelial growth of *Alternaria alternata*. *Journal of Experimental Agriculture International, 26* (5),1-7

[17] Oxenham, S. K. (2003). Classification of an *Ocimum basilicum* germplasm collection and examination of the antifungal effects of the essential oil of basil. Glasgow (University of Glasgow UK PhD thesis).

[18] Voda, K., Boh, B., Vrtačnik, M. & Pohleven, F. (2003). Effect of the antifungal activity of oxygenated aromatic essential oil compounds on the white-rot *Trametes versicolor* and the brown-rot *Coniophora puteana*. *International biodeterioration & biodegradation, 51* (1), 51-59.

[19] Cakir, A., Kordali, S., Kilic, H. & Kaya, E. (2005). Antifungal properties of essential oil and crude extracts of *Hypericum linarioides* Bosse. *Biochemical Systematics and Ecology, 33* (3), 245-256.

[20] Sawamura, M. (2000). Aroma and functional properties of *Japanese yuzu* (Citrus junos Tanaka) essential oil. *Aroma Research, 1* (1), 14-19.

[21] Ormancey, X. (2001). Formulation of essential oils in functional perfumery. *Parfums, Cosmetiques, Actualites, 157*, 30-40.

[22] Xu, L., Tao, N., Yang, W. & Jing, G. (2018). Cinnamaldehyde damaged the cell membrane of *Alternaria alternata* and induced the degradation of mycotoxins in vivo. *Industrial Crops and Products, 112*, 427-433.

[23] Castro, J. C., Endo, E. H., de Souza, M. R., Zanqueta, E. B., Polonio, J. C., Pamphile, J. A., Ueda-Nakamura, T., Nakamura, C.V., Dias Filho, B.P. & de Abreu Filho, B. A. (2017). Bioactivity of essential oils in the control of *Alternaria alternata* in dragon fruit (*Hylocereus undatus* Haw.). *Industrial crops and products, 97*, 101-109.

[24] Al-Reza, S. M., Rahman, A., Ahmed, Y. & Kang, S. C. (2010). Inhibition of plant pathogens in vitro and in vivo with essential oil and organic extracts of *Cestrum nocturnum* L. *Pesticide biochemistry and physiology, 96* (2), 86-92

[25] Ugulino, A. L. N., Mendonça Júnior, A. F., Rodrigues, A. P. M., Santos, A. B., França, K. S., Cardoso, T. A. L. & Prado Júnior, L. D. (2018). Inhibition effect of vegetable oils on the mycelial growth of *Macrophomina phaseolina* (Tassi.). Goid. *Journal of Agricultural Science, 10* (6), 49-56

[26] Nielsen, P. V. & Rios, R. (2000). Inhibition of fungal growth on bread by volatile components from spices and herbs, and the possible application in active packaging, with special emphasis on mustard essential oil. *International Journal of Food Microbiology, 60* (2-3), 219-229.

[27] Inouye, S., Uchida, K., Maruyama, N., Yamaguchi, H. & Abe, S. (2006). A novel method to estimate the contribution of the vapor activity of essential oils in agar diffusion assay. *Nippon Ishinkin Gakkai Zasshi, 47* (2), 91-98

[28] López, P., Sánchez, C., Batlle, R. & Nerín, C. (2007). Vapor-phase activities of cinnamon, thyme, and oregano essential oils and key constituents against foodborne microorganisms. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 55* (11), 4348-4356.

[29] Memari, S., Yavari, A. & Bikdelo, M. (2020). Investigating the genetic diversity of different ecotypes of Shirazi thyme (*Zataria multiflora* Boiss.) using morphological, molecular and phytochemical characteristics. Master's thesis.120 pp.

[30] Binova, S., Yavari, A. & Shekarpour, M. (2021). Investigating the chemical composition of the essential oil of natural populations of *Salvia mirzayanii* in Hormozgan province Rech. f. & Esfand. *Iranian Journal of Horticultural Science, 52* (2).

[31] Gandomi Nasrabadi, H., Mithaghi, A., Akhundzadeh B., Afshin, K., Alireza Bekai, S. & Abbasifar, A. (2008). The effect of Shirazi thyme essential oil on *Aspergillus flavus*. *Medicinal Plants, 7* (27), 45-51.

[32] Malkuti, A., Sharifan, A. & Basiri, A. (2019). Investigating the effect of *Echinacea pupurea* flower essential oil on the growth and ability of mycotoxin production by *Aspergillus flavus*. *Food Microbiology, 7* (1), 62-70.

[33] Jahani, M., Pira, M., & Aminifard, M. H. (2020). Antifungal effects of essential oils against Aspergillus niger in vitro and in vivo on pomegranate (Punica granatum) fruits. Scientia Horticulturae, 264, 109188.

[34] Hassanvand, E., Mohammadi, S. & Basirnia, T. (2021). Effects of Marjoram, wild mint and summer savory essential oils on mycellial growth of *Botrytis cinerea*. *New research in herbal medicine, 10* (1), 21-38.

[35] Tzortzakis, N. G. (2009). Impact of cinnamon oil-enrichment on microbial spoilage of fresh produce. *Innovative Food Science & Emerging Technologies, 10* (1), 97-102.

[36] Tabti, L., Dib, M. E. A., Gaouar, N., Samira, B., & Tabti, B. (2014). Antioxidant and antifungal activity of extracts of the aerial parts of *Thymus capitatus* (L.) Hoffmanns against four phytopathogenic fungi of *Citrus sinensis*. *Jundishapur journal of natural pharmaceutical products, 9* (1), 49.

[37] Bajpai, V. K., Baek, K. H. & Kang, S. C. (2012). Control of *Salmonella* in foods by using essential oils: A review. *Food Research International, 45* (2), 722-734.

[38] Friedly, E. C., Crandall, P. G., Ricke, S. C., Roman, M., O'Bryan, C. & Chalova, V. I. (2009). In vitro antilisterial effects of citrus oil fractions in combination with organic acids. *Journal of food science, 74* (2), M67-M72.

[39] Li, W., Yuan, S., Sun, J., Li, Q., Jiang, W. & Cao, J. (2018). Ethyl p-coumarate exerts antifungal activity in vitro and in vivo against fruit *Alternaria alternata* via membrane-targeted mechanism. *International journal of food microbiology, 278*, 26-35.

[40] Xiang, F., Bai, J., Tan, X., Chen, T., Yang, W. & He, F. (2018). Antimicrobial activities and mechanism of the essential oil from *Artemisia argyi* Levl. et *Van. var. argyi* cv. *Qiai*. *Industrial Crops and Products, 125*, 582-587.

[41] Aziz, Z. A., Ahmad, A., Setapar, S. H. M., Karakucuk, A., Azim, M. M., Lokhat, D., Rafatullah, M., Ganash, M., Kamal, M.A. & Ashraf, G. M. (2018). Essential oils: extraction techniques, pharmaceutical and therapeutic potential-a review. *Current drug metabolism, 19* (13), 1100-1110.

[42] Soylu, E. M., Yiğitbaş, H., Tok, F. M., Soylu, S., Kurt, Ş., Baysal, Ö. & Kaya, A. D. (2005). Chemical composition and antifungal activity of the essential oil of *Artemisia annua* L. against foliar and soil-borne fungal pathogens/Die chemische Zusammensetzung und antimikrobielle Aktivität das ätherischen Öls von *Artemisia annua* L. gegen blatt-und bodenbürtige pilzliche Krankheitserreger. Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz/*Journal of Plant Diseases and Protection*, 229-239.

[43] Gonçalves, M. J., Cruz, M. T., Cavaleiro, C., Lopes, M. C., & Salgueiro, L. (2010). Chemical, antifungal and cytotoxic evaluation of the essential oil of *Thymus zygis* subsp. *sylvestris*. *Industrial crops and products, 32* (1), 70-75.