



دانشگاه گنبد کاووس

نشریه "پژوهش‌های ماهی‌شناسی کاربردی"

دوره دوم، شماره چهارم، زمستان ۹۳

<http://jair.gonbad.ac.ir>

ارزیابی فعالیت ضد قارچی اسانس‌های زولنگ، زیره سبز، اناریجه و سیر روی فوزاریوم سولانی جداسازی شده از ماهیان آکواریومی زینتی

میلاد عادل^{۱*}، رضا صفری^۲، امین نعمت الهی^۳، مریم قیاسی^۴، ایمان نافیان دهکردی^۵

^۱ دانش آموخته دکتری تخصصی بهداشت و بیماری‌های آبزیان، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، تهران، ایران

^۲ مربی، گروه بیوتکنولوژی، پژوهشکده اکولوژی خزر، ساری، ایران

^۳ دانشیار، گروه بهداشت و بیماری‌های آبزیان، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

^۴ استادیار، گروه بهداشت و بیماری‌های آبزیان، پژوهشکده اکولوژی خزر، ساری، ایران

^۵ دانش آموخته دکتری حرفه‌ای، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

تاریخ ارسال: ۹۳/۱۱/۶ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۴/۱/۱۸

چکیده

افزایش روز افزون مقاومت‌های اکتسابی گونه‌های فوزاریوم نسبت به داروهای ضد قارچی لزوم استفاده از ترکیبات گیاهی دارای خاصیت ضد قارچی را ضروری ساخته است. در این مطالعه اثر ضد قارچی اسانس‌های زولنگ، اناریجه، زیره سبز و سیر بر سویه فوزاریوم سولانی جداسازی شده از ماهیان زینتی آکواریومی بررسی شد. صد گرم از برگ گیاهان زولنگ، اناریجه، زیره سبز خشک و آسیاب شد و به وسیله دستگاه کلونجر اسانس آنها تهیه شد. رقت‌های سریالی از هر یک از اسانس‌ها در میکروپلیت‌های ۹۸ خانه‌ای تهیه شد. حداقل غلظت مهار کنندگی (MIC) و قطر هاله مهار به ترتیب با دو روش رقت‌سازی در محیط کشت مایع و دیسک‌گذاری در آگار ارزیابی شد و حداقل غلظت کشندگی قارچ (MFC) تعیین شد. مقادیر حداقل غلظت ممانعت کنندگی رشد برای اسانس‌های زولنگ، اناریجه، زیره سبز و سیر به ترتیب ۰/۱۲، ۰/۵، ۰/۵ و ۰/۰۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر، حداقل غلظت کشندگی این اسانس‌ها به ترتیب برابر با ۰/۵، ۱ و ۰/۱۲ میکروگرم در میلی‌لیتر و قطر هاله رشد به ترتیب ۲۱/۵ ± ۱/۲، ۱۸ ± ۰/۶، ۱۷/۸ ± ۰/۷ و ۲۵/۲ ± ۱/۸ میلی‌متر تعیین شد. در این بررسی اسانس‌های سیر و زولنگ فعالیت ضد قارچی مناسبی علیه سویه فوزاریوم سولانی از خود نشان دادند. در نتیجه این اسانس‌های گیاهی پس از انجام مطالعات تکمیل‌تر می‌تواند جایگزین مناسبی برای داروی کتوکنازول برای درمان عفونت‌های قارچی ناشی از فوزاریوم سولانی باشند.

واژه‌های کلیدی: اثرات ضد قارچی، اسانس‌های گیاهی، فوزاریوم سولانی، کتوکنازول.

* نویسنده مسئول: miladadel85@yahoo.com

مقدمه

آلودگی‌های قارچی یکی از علل بروز تلفات و خسارات در صنعت آبزی‌پروری محسوب می‌شود (Ebrahimzadeh Mousavi *et al.*, 2009). حضور بسیار گسترده ارگانسیم‌های قارچی در منابع آبی و حضور عوامل مستعد کننده از قبیل کیفیت نامطلوب آب، تراکم، حمل و نقل و دستکاری‌های بی‌مورد از جمله عوامل بروز عفونت‌های قارچی در ماهیان محسوب می‌شود (Ebrahimzadeh Mousavi *et al.*, 2009). گونه‌های جنس فوزاریوم عمدتاً از دسته قارچ‌های ناقص هستند. گونه‌های مختلفی از این جنس در ماهی و میگو ایجاد بیماری و تلفات می‌کنند. عفونت ناشی از فوزاریوم از لاک‌پشت‌های دریایی، ماهی آزاد اطلس، کپور ماهیان و گربه‌ماهی کانال گزارش شده است (Booth, 1971; Hose *et al.*, 1984). فوزاریوم سولانی (*Fusarium solani*) از جمله عوامل قارچی فرصت طلب بیماریزا در ماهیان گرمابی، سردابی و عامل ایجاد کننده بیماری آبشش سیاه (Black gill disease) در میگوهای خانواده پنائیده می‌باشد که با تلفات شدیدی نیز همراه است (Bian and Egusa, 1981). مقاومت‌های دارویی روز افزون این قارچ و افزایش دوز مصرفی داروهای متداول از یک سو و افزایش عوارض جانبی استفاده از این داروها از سوی دیگر، موجب شده است تا در سال‌های اخیر بیشترین توجه به‌عواملی با پایه طبیعی مانند گیاهان دارویی معطوف شود که دارای حداقل اثرات سوء ذکر شده می‌باشند.

زولنگ با نام علمی *Eryngium campestre* از خانواده چتریان (Apiaceae) از گیاهان بومی استان مازندران می‌باشد (Sun *et al.*, 2007). اسانس برگ این گیاه حاوی مشتقات متیله فنیل پروپانویید، اوژنول، متیل ایزواوژنول و بنزالدهید است. در طب سنتی از این گیاه برای درمان سیاه سرفه، عفونت‌های ادراری، افزایش ترشح ادرار و از بین بردن سنگ‌های کلیوی استفاده می‌شود (Flamini *et al.*, 2007). زیره سبز با نام علمی *Cuminum cyminum* گیاهی بومی، یک ساله، معطر با ارتفاع حدود ۶۰ سانتی‌متر و از خانواده چتریان می‌باشد (Zargari, 1997). دامنه انتشار این گیاه در ایران مربوط به استان‌های کرمان، یزد، مشهد، سبزوار، سمنان، دامغان و... می‌باشد. زیره سبز دارای تانن، روغن رزین و اسانس است. از این گیاه آروماتیک به‌منظور طعم‌بخشی به‌غذا، تسهیل کننده هضم غذا، تهیه عطرها و در پزشکی به‌عنوان ضد نفخ، ضد اسپاسم و در درمان بیماری‌های ریوی استفاده می‌شود (Zargari, 1997).

اناریجه با نام علمی *Pimpinella affinis* گیاهی دو ساله با ارتفاع ۱۱۰-۲۰ سانتی‌متر از خانواده چتریان و از گیاهان بومی مرکز و شمال ایران می‌باشد (Gulcin *et al.*, 2003). در طب سنتی از این گیاه به‌عنوان ضد نفخ، اشتهاآور، ضد عفونی کننده، ضد اسپاسم، ادرار آور، آرام‌بخش و افزایش دهنده ترشح شیر استفاده شده است. از جمله خواص اناریجه می‌توان به‌خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدباکتریایی آن اشاره داشت (Tabanca *et al.*, 2007).

گیاه سیر با نام علمی *Allium sativum* از خانواده چتریان دارای ترکیبات متنوعی از انواع اسیدهای آمینه، مواد معدنی، ویتامین ها، فلاونوئیدها، ترکیبات فرار و غیرفرار با ارزش دارویی و درمانی قابل توجه است (Sivam, 2001). اسانس سیر مایع قهوه ای مایل به زرد با خواص ضد میکروبی و قارچی، بهبود دهنده شاخص های تغذیه ای، رشد و محرک سیستم ایمنی و دارای اثرات آنتی اکسیدانی و متعادل کننده فشار خون می باشد (Whitemore and Naidu, 2000; Abd-Elallatif and Ebraheem, 1996). این مطالعه به منظور بررسی اثرات ضد قارچی اسانس های گیاهی زولنگ، اناریجه، زیره سبز و سیر بر سویه فوزاریوم سولانی جداسازی شده از ماهیان آکواریومی زینتی در مقایسه با داروی شیمیایی کتوکونازول صورت گرفت.

مواد و روش ها

تهیه و آماده سازی اسانس های گیاهی: در این مطالعه ۱۰۰ گرم از قسمت های هوایی گیاهان پس از جمع آوری از رویشگاه های طبیعی در استان مازندران (اناریجه و زولنگ) و کرمان (زیره سبز) و پس از تایید توسط بخش گیاه شناسی دانشکده کشاورزی دانشگاه ساری، در محیط خشک و تاریک (به دور از نور خورشید) و در جریان هوا خشک شد و سپس آسیاب و به صورت پودر در آمد. پودر به دست آمده در بالن یک لیتری ریخته و به آن ۶۰۰ میلی لیتر آب مقطر استریل افزوده شد. اسانس ها با استفاده از دستگاه کلونجر (Clevenger) استخراج و توسط فیلتر استریل ۰/۴ میلی لیتری صاف و تا زمان استفاده در یخچال (دمای ۴ درجه سانتی گراد) نگهداری شدند (Adams, 2001). در این مطالعه اسانس سیر به صورت آماده از شرکت باریج اسانس کاشان خریداری گردید.

تهیه و آماده سازی سوسپانسیون قارچ فوزاریوم سولانی: در این مطالعه از قارچ فوزاریوم سولانی جداسازی شده از آبشش ماهیان زینتی (گویی و آنجل) استفاده شد. شناسایی و تأیید تشخیص قارچ، توسط بخش بهداشت و بیماری آبزبان پژوهشکده اکولوژی خزر و بر مبنای مشاهده ریشه ها و ماکروکونیادیوم های قایقی شکل صورت گرفت. سپس قارچ روی محیط سابورودکستروز آگار (Sabouraud Dextrose Agar: SDA) کشت و به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد گرمخانه گذاری شد. پس از طی مدت زمان گرمخانه گذاری و رشد قارچ، از آن سوسپانسیون تهیه شد. در این مطالعه، در ابتدا با استفاده از آنس استریل مقدار کمی از کلنی قارچی رشد یافته در محیط SDA در ۵۰۰ میکرولیتر بافر فسفات سالین (PBS) مخلوط شد و پس از مخلوط شدن قارچ در بافر، با استفاده از لام نتوبار تعداد سلول های قارچ در زیر میکروسکوپ نوری شمارش و از آن سوسپانسیون سلولی با تراکم 1×10^7 سلول در میلی لیتر تهیه شد (Zhang et al., 2006).

تعیین حداقل غلظت ممانعت کنندگی (Minimum Inhibitory Concentration: MIC) و کشندگی (Minimum Fungicidal Concentration: MFC) قارچ فوزاریوم سولانی توسط اسانس‌ها: برای انجام این کار از میکروپلیت‌های ۹۶ خانه‌ای استفاده شد. بدین‌منظور در هر چاهک از این پلیت‌ها، ۲۰۰ میکرولیتر از محیط سابورو دکستروز براث به‌همراه ۲۰ میکرولیتر از سوسپانسیون قارچ با تراکم 1×10^7 سلول در میلی‌لیتر و مقادیر مختلف (شامل ۰/۰۰۱۷، ۰/۰۰۳۵، ۰/۰۰۷، ۰/۰۱۵، ۰/۰۳، ۰/۰۶، ۰/۱۲، ۰/۲۵، ۰/۵، ۱ و ۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر) از اسانس‌های محلول در حلال دی‌متیل سولفوکساید (DMSO) اضافه شد (برای هر اسانس، سه تکرار در نظر گرفته شد). در این آزمایش شاهد مثبت حاوی محیط کشت، حلال DMSO و اسپور قارچ و شاهد منفی حاوی محیط کشت و حلال DMSO بدون اسپور قارچ بود. پلیت‌های مورد نظر در انکوباتور شیکردار (Shaking Incubator) در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد (Zhang *et al.*, 2006). برای ارزیابی و تعیین MFC محتوی تمام چاهک‌ها روی محیط کشت SDA کشت داده شد. بدین‌ترتیب ۵ میکرولیتر از محلول درون هر یک از چاهک‌ها با سمپلر استریل برداشت و به پلیت‌های حاوی SDA منتقل و به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد گرم‌خانه‌گذاری شد. کمترین غلظت مورد استفاده از هر اسانس که مانع رشد قارچ فوزاریوم سولانی روی محیط کشت SDA شد به‌عنوان MIC در نظر گرفته شد (Hellio *et al.*, 2000). همچنین برای تعیین MFC، رقت‌های MIC و بالاتر از آن به‌میزان ۱۰ میکرولیتر روی محیط کشت SDA به‌مدت ۴۸ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد گرم‌خانه‌گذاری شد و کمترین غلظتی از اسانس که رشد قارچ فوزاریوم سولانی به‌طور کامل مهار شد و در آن کدورتی مشاهده نشد (شفاف بود) به‌عنوان MFC در نظر گرفته شد (Galgiani *et al.*, 1992).

تعیین حساسیت فوزاریوم سولانی نسبت به اسانس‌های گیاهی به‌روش دیسک‌گذاری در آگار (دیسک دیفیوژن) در مقایسه با داروی کتوکونازول: برای بررسی حساسیت قارچ فوزاریوم سولانی نسبت به اسانس‌های زولنگ، اناریجه، زیره سبز و سیر و داروی شیمیایی کتوکونازول، ابتدا فوزاریوم سولانی در محیط کشت SDA به‌روش پورپلت کشت داده شد. بعد از آماده‌سازی پلیت‌های محتوی محیط کشت، مقدار ۲۰ میکرولیتر از سوسپانسیون تهیه شده از قارچ با تراکم 1×10^7 سلول در میلی‌لیتر به پلیت‌های مذکور تلقیح شد. سپس ۵ میکرولیتر از اسانس‌های رقیق نشده به دیسک‌های فیلتر استریل (قطر ۶ میلی‌متر) افزوده شد و به‌همراه دیسک‌های کتوکونازول (کنترل مثبت) روی محیط کشت SDA قرار داده شد (Sharif Rohani *et al.*, 2013). همچنین به‌عنوان کنترل منفی ۵ میکرولیتر از DMSO ۴٪ به دیسک‌های فیلتر اضافه شد و پس از گذشت زمان ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، قطر منطقه مهار رشد در مقایسه با شاهد (دیسک فاقد اسانس) اندازه‌گیری شد (برای هر

اسانس، سه تکرار در نظر گرفته شد). مقایسه آماری داده‌ها بر اساس آزمون t-test و در سطح احتمال ۵ درصد تعیین گردید ($P < 0.05$).

نتایج

غلظت و وزن خشک اسانس‌های زولنگ، اناریجه، زیره سبز و سیر به ترتیب ۲۳، ۲۶، ۲۸ و ۳۰ میلی گرم در میلی لیتر تعیین شد. نتایج اندازه‌گیری قطره هاله مهاری نشان داد که قطر هاله مهاری کتوکونازول $0.6 \pm$ میلی متر و اسانس‌های زولنگ، اناریجه، زیره سبز و سیر به ترتیب $1.2 \pm 2.1/5$ ، 0.6 ± 1.8 ، $0.7 \pm 1.7/8$ و $1.8 \pm 2.5/2$ میلی متر تعیین شد (جدول ۱). بر اساس نتایج، اندازه منطقه مهار رشد جدایه فوزاریوم سولانی تحت تأثیر اسانس‌های زولنگ و سیر به طور معناداری در سطح بالاتری بیشتر از کتوکونازول بود ($P < 0.05$). از طرف دیگر اندازه منطقه مهار رشد جدایه فوزاریوم سولانی تحت تأثیر اسانس‌های اناریجه و زیره در سطح بالاتری نسبت به کتوکونازول بود، با این وجود تفاوت مشاهده شده اختلاف معناداری را نشان نداد. از سوی دیگر ۴٪ DMSO اضافه شده به دیسک‌های فیلتر (به عنوان کنترل منفی) سبب مهار رشد هیچ کدام از جدایه‌های فوزاریوم سولانی نشد. نتایج به دست آمده از بررسی MIC این اسانس‌ها در جدول ۱ آمده است. MIC اسانس زولنگ برای فوزاریوم سولانی 0.12 میکروگرم بر میلی لیتر، برای اناریجه 0.5 میکروگرم بر میلی لیتر و برای زیره سبز و سیر به ترتیب 0.5 و 0.06 میکروگرم بر میلی لیتر بدست آمد. همچنین مقادیر MFC برای اسانس‌های زولنگ، اناریجه، زیره سبز و سیر به 0.5 ، 1 و 0.12 میکروگرم بر میلی لیتر محاسبه شد. این در حالی است که مقدار MIC و MFC کتوکونازول برای سویه فوزاریوم سولانی به ترتیب 0.5 و 1 میکروگرم بر میلی لیتر تعیین شد (جدول ۱).

جدول ۱- فعالیت ضدقارچی اسانس‌های زولنگ، اناریجه، زیره سبز و سیر بر فوزاریوم سولانی در مقایسه با کتوکونازول

اسانس مورد مطالعه	میانگین منطقه مهار رشد (میلی متر)		MFC (میکروگرم/میلی لیتر)	MIC (میکروگرم/میلی لیتر)	اسانس
	کنترل مثبت (کتوکونازول)	کنترل منفی (DMSO/۴)			
زولنگ	1.1 ± 0.6^a	-	0.5	0.12	زولنگ
اناریجه	1.7 ± 0.3^a	-	>1	0.5	اناریجه
زیره سبز	1.7 ± 0.3^a	-	1	0.5	زیره سبز
سیر	1.7 ± 0.4^a	-	0.12	0.06	سیر

اعدادی که در هر ردیف با حروف متفاوت مشخص شده‌اند، نشان دهنده اختلاف معنی داری در سطح 0.05 می‌باشند ($P < 0.05$)

بحث و نتیجه‌گیری

در دو دهه اخیر استفاده از داروهایی 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 و آنتی‌بیوتیک‌ها و مقاومت روز افزون میکروارگانیسم‌های مختلف و از جمله قارچ فوزاریوم سولانی در برابر بسیاری از داروها به‌ویژه آنتی‌بیوتیک‌ها گرایش محققین را نسبت به مطالعه در زمینه استفاده از اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی به‌دلیل تأثیرگذاری بهتر و عوارض جانبی کمتر در صنعت تکثیر و پرورش کشور افزایش داده است. در این خصوص آثار ضد قارچی گیاهان مختلف از قبیل آویشن شیرازی (Sharif Rohani *et al.*, 2013)، اکالیپتوس (Khosravi *et al.*, 2012)، بومادران (Amjad *et al.*, 2012) در سال‌های اخیر علیه قارچ‌های بیماری‌زای آبزیان گزارش شده است. خاصیت ضد میکروبی گیاهان عموماً به‌دلیل وجود ترکیبات فنولی، ساپونین، تانن و فلاونوئیدهای موجود در ساختارهای آنها می‌باشد که با تأثیر بر روی غشای پلاسمایی و غشای سلولی میکروارگانیسم‌ها و یا با مهار آنزیم‌های ساختاری غشای سلولی آنها خاصیت ضد میکروبی خود را اعمال می‌نمایند (Zargari, 1997).

نتایج حاصل از مطالعه حاضر بر روی چهار اسانس گیاهی زولنگ، اناریجه، زیره سبز و سیر نشان داد که اسانس سیر دارای بیشترین اثر مهارکنندگی روی فوزاریوم سولانی است. مهمترین جزء مؤثر سیر ترکیب آلی سولفورداری به‌نام آلیسین (Allicin) می‌باشد که خواص ضد قارچی گیاه سیر بر روی باکتری‌ها و قارچ‌ها از جمله فوزاریوم سولانی را می‌توان به آن نسبت داد. خواص ضد میکروبی و ضد قارچی سیر در مطالعات دیگر نیز به اثبات رسیده است (Harris *et al.*, 2001). بررسی حسین و همکاران (Hussein *et al.*, 2011) نشان داد که گیاه سیر دارای اثرات ضد باکتریایی بر علیه باکتری استرپتوکوکوس اینیایی و گونه‌های آئروموناس در ماهی نیل تیلپا می‌باشد. ونوگوپال و همکاران (Venugopal *et al.*, 1995) فعالیت ضد قارچی سیر را علیه ۸۸ سویه بالینی درماتوفیت بررسی کردند که نتایج نشان‌دهنده آن بود که سیر می‌تواند به‌عنوان یک ترکیب ضد درماتوفیتی مؤثر مورد استفاده قرار گیرد، این نتایج مشابه مطالعه حاضر تأیید کننده اثرات ضدقارچی قوی سیر می‌باشد. بررسی رازق پرست و همکاران (Razagh Parast *et al.*, 2009) نشان دهنده اثرات ضدقارچی قوی عصاره آبی سیر بر علیه مخمرهای بیماری‌زای کاندیدا آلبیکنس، کریپتوکوکوس نئوفرمنس و مالاسزیا فورفور بود. میزان MIC در مخمرهای مورد مطالعه در محدوده ۰/۶۴-۰/۲۵ میکروگرم در میلی‌لیتر تعیین شد، این در حالی است که در مطالعه فعلی میزان MIC اسانس سیر برای فوزاریوم سولانی ۰/۰۶ میکروگرم در میلی‌لیتر تعیین شد.

پس از اسانس سیر، اسانس زولنگ دارای خاصیت ضد قارچی مناسبی نسبت به اسانس زیره سبز و اناریجه روی فوزاریوم سولانی بود. آنالیز ترکیبات شیمیایی اسانس زولنگ نشان داد که اسانس تهیه شده

از بخش های هوایی آن دارای مقادیر قابل توجه لیمونن (Limonene) و بورنیل استات (Bornyl acetate) بوده که خواص ضدقارچی نسبتاً قوی این اسانس را می توان به این ترکیبات نسبت داد (Tabanca *et al.*, 2007). در مطالعه حاضر مقادیر MIC اسانس زولنگ برای فوزاریوم سولانی ۰/۱۲ میکروگرم بر میلی لیتر به دست آمد، این در حالی است که این مقدار در گیاه زولنگ، گونه *E. palmatum* بر قارچ کاندیدا آلبیکنز ۷/۸ میکروگرم بر میلی لیتر بود (Marčetić *et al.*, 2014).

در مطالعه حاضر، قطر هاله بازدارندگی رشد زیره سبز برای سویه فوزاریوم سولانی $17/8 \pm 0/7$ میلی متر تعیین شد، که از قدرت قارچ کشی کمتری نسبت به اسانس سیر و زولنگ برخوردار بود و تفاوت معنی داری را با داروی کتوکونازول نشان نداد. در بررسی اثر ضد قارچی اسانس زیره سبز علیه قارچ های کاندیدا آلبیکنز (*Candida albicans*) و آسپرژیلوس نیجر (*Aspergillus niger*) قطر هاله بازدارندگی رشد این دو قارچ به ترتیب ۱۴ و ۱۵ میلی متر محاسبه شد (Erturk, 2006). نتایج مطالعه حاجلایی و همکاران (Hajlaoui *et al.*, 2010) نشان دهنده اثرات ضد قارچی مناسب اسانس زیره سبز علیه گونه های کاندیدا بود که در بین گونه های مورد مطالعه، بیشترین فعالیت قارچی علیه کاندیدا گلابراتا (*Candida glabrata*) با قطر هاله بازدارندگی رشد $22/7 \pm 0/6$ میلی متر گزارش شد. تفاوت مقادیر مشاهده شده در مطالعات مختلف، ممکن است مربوط به ترکیبات تشکیل دهنده متفاوت اسانس های گیاهی بر حسب منطقه جغرافیایی رویش، رقم، سن گیاه در هنگام تهیه اسانس، شرایط محیطی و فصلی، نوع کشت، زمان برداشت، روش خشک کردن و استخراج اسانس، نوع اندام مورد اسانس گیری، تفاوت ژنتیکی و در نهایت متفاوت بودن سویه های میکروبی مورد مطالعه باشد. محققین اثر ضد میکروبی اسانس زیره سبز را بیشتر به حضور ترکیب های تریپونین و کومین آلدئیدی آن نسبت می دهند (Zargari, 1997).

نتایج بررسی حاضر نشان داد که اسانس اناریجه دارای کمترین اثر مهارکنندگی روی فوزاریوم سولانی در بین چهار اسانس مورد مطالعه بود. مقدار MIC اناریجه برای سویه فوزاریوم سولانی ۰/۵ میکروگرم بر میلی لیتر تعیین شد. این در حالی است که در مطالعه صورت گرفته توسط وردیان - ریزی (Verdian-Rizi, 2008) میزان MIC این اسانس برای کاندیدا آلبیکنز و ساکارومایس سرویزیه ۲ میلی گرم در میلی لیتر بدست آمد که در مقایسه با مطالعه حاضر از قدرت کمتری برخوردار بود. در بررسی یزدانی و همکاران (Yazdani *et al.*, 2009) میزان MIC عصاره اناریجه برای قارچ های آسپرژیلوس نیجر، تریکوفیتون منتاگروفیتیس (*Trichophyton mentagrophytes*) و میکروسپوروم کنیس (*Microsporum canis*) ۱۶ میلی گرم در میلی لیتر محاسبه شد. در مطالعه ال - ساید و گودر (El-Said and Goder, 2014) اثرات ضد قارچی اناریجه بر روی ۹۰ گونه مختلف قارچی مورد ارزیابی قرار گرفت و اثرات ضد قارچی مناسب این گیاه بر روی ۱۰ قارچ مختلف از جمله فوزاریوم سولفوروم (*Fusarium sulphureum*) به اثبات رسید. بیشترین خواص ضد

میکروبی اناریجه به‌حضور ترکیبات لیمونن، جیجرین (Geijerene) و جرماسرین دی (Germacrene D) نسبت داده می‌شود (Verdian-Rizi, 2008).

در پایان با توجه به نتایج حاصل از این مطالعه می‌توان بیان نمود که اسانس‌های گیاهان سیر و زولنگ دارای اثرات ضد قارچی مناسبی روی قارچ فوزاریوم سولانی در شرایط *In vitro* (آزمایشگاهی) می‌باشند. در ادامه لازم است که مطالعات وسیع‌تر و دامنه‌دارتری در شرایط *In vivo* (بالینی) بر روی ماهیان زینتی و پرورشی صورت گیرد و در نهایت این دو اسانس گیاهی به‌عنوان مواد ضد میکروبی طبیعی و جدید به صنعت آبی‌پروری کشور معرفی و جایگزین داروهای ضدقارچ مقاوم و داروهای شیمیایی مضر گردند.

تشکر و قدردانی

نگارندگان مقاله بدین وسیله از کارکنان بخش بهداشت آبزیان، پژوهشکده اکولوژی خزر که در مراحل مختلف این پژوهش همکاری نموده‌اند، سپاسگزاری می‌نمایند.

منابع

- Abd-Elallatif A., Ebraheem K. 1996. Studies on the effects of *Hibiscus subdariffa*, *Allium sativum* and *Negella sativa* on some bacterial isolates of chickens. Egypt University Journal, 17: 245-251.
- Adams R.P. 2001. Identification of essential oil components by Gas Chromatography and mass spectroscopy. Allured Carol Stream IL, USA.
- Amjad L., Mousavidehmourdi K., Saghadzadeh M. 2012. Antifungal potential of *Achillea welhelmsii* flowers methanolic extract on different strains of *Candida albicans*. International Journal of Biology and Medical Research, 3(3): 2107-2110.
- Bian B.Z., Egusa S. 1981. Histopathology of black gill disease caused by *Fusarium solani* (Martius) infection in the Kuruma prawn, *Penaeus japonicus* Bate. Journal of Fish Diseases, 4: 195-201.
- Booth C. 1971. The Genus *Fusarium*. Commonwealth Mycological Institute, Surrey, England.
- Ebrahimzadeh Mousavi H.A., Hoosseinifard S.M., Khosravi A.R., Soltani M., Yosefian M. 2009. Isolation and identification of parasite and saprophyte fungi from fungal affected eggs of the Rainbow trout *Onchorhynchus mykiss* in Mazandaran Province. Journal of Veterinary Research, 62: 163-168.
- El-Said A.H.M., Goder E.H. 2014. Antifungal activities of *Cuminum cyminum* and *Pimpinella anisum* essential Oils. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences, 3(3): 937-944.

- Erturk O. 2006. Antibacterial and antifungal activity of ethanolic extracts from eleven spice plants. *Biologia Bratislava*, 61(3): 275-278.
- Flamini G., Tebano M., Cion P.L. 2007. Composition of the essential oils from leafy parts of the shoots, flowers and fruits of *Eryngium amethystinum* from Amiata Mount (Tuscany, Italy). *Food Chemistry*, 107(2): 671 - 674.
- Galgiani J.N., Rinadi M.G., Polka A.M. 1992. Standardization of antifungal Susceptibility testing. *Journal of Medicine and Veterinary mycology*, 30(1): 213-7.
- Gulcin I., Oktay M., Kirecci M., Kuşfrevioglu O.I. 2003. Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise (*Pimpinella anisum* L.) seed extracts. *Food Chemistry*, 83: 371-382.
- Hajlaoui H., Mighri H., Noumi E., Snoussi M., Trabelsi N., Ksouri R. 2010. Chemical composition and biological activities of Tunisian *Cuminum cyminum* L. essential oil: a high effectiveness against *Vibrio spp.* strains. *Food and Chemical Toxicology*, 48: 2186–2192.
- Harris J.C., Cottrell S.L., Plummer S., Loyd D. 2001. Antimicrobial properties of *Allium sativum* (garlic). *Applied Microbiology and Biotechnology*, 57(3): 282-286.
- Hellio C., Pons A., Beaupoil M.C., Bourgougnon N., Legal Y. 2000. Antibacterial, antifungal and cytotoxic activities of extracts from fish epidermis and epidermal mucus. *International Journal of Antimicrobial Agent*, 20(3): 214-219.
- Hose J.E., Lightner D.V., Redman R.M., Danald D.A. 1984. Observations on the pathogenesis of the imperfect fungus, *Fusarium solani*, in the California brown shrimp, *Penaeus californiensis*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 44: 292-303.
- Hussein M.M.A., Hamdy Hassan W., Ibrahim Moussa I.M. 2011. Potential use of allicin (garlic, *Allium sativum* Linn, essential oil) against fish pathogenic bacteria and its safety for monosex Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Journal of Food Agriculture and Environment*, 11(1): 696 – 699.
- 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 trout (*Oncorhynchus mykiss*) eggs. *Food Pathogenesis Diseases*, 9(7): 674-679.
- Marčetić M.D., Petrović S.D., Milenković M.T., Niketić M.S. 2014. Composition, antimicrobial and antioxidant activity of the extracts of *Eryngium palmatum* Pančić and Vis. (Apiaceae). *Central European Journal of Biology*, 9(2): 149-155.
- 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.
- Sharif Rohani M., Dashtiannasab A., Ghaednia B., Mirbakhsh M., Yeganeh V., Vahabnezhad A. 2013. Investigation of the possibility use of *Zataria multiflora*

- (Avishan-e Shirazi) essence in control of fungal contamination of cultured shrimp, *Litopenaeus vannamei*. Iranian Journal of Fisheries Sciences, 12(2): 454-464. (In Persian)
- Sivam G.P. 2001. Recent advances on the nutritional effects associated with the use of garlic as supplement. American Society Nutrition Sciences, 131: 1106 -1108.
- Sun T., Xu Z., Wu CT., Janes M., Prinyawiwatkul W., No H.K. 2007. Antioxidant Activities of Different Colored Sweet Bell Peppers (*Capsicum annuum* L.). Journal of Food Science, 72: 98-102.
- Tabanca N., Ma G., Pasco D.S., Bedir E., Kirimer N., Husnu K. 2007. Effect of Essential Oils and Isolated Compounds from *Pimpinella Spp.* on NF-B: A Target for Anti-inflammatory Therapy. Phytotherapeutic Research, 21, 741-745.
- Venugopal P.V., Venugopal T.V. 1995. Antidermatophytic activity of garlic (*Allium sativum*) in vitro. International Journal of Dermatology, 34(4):278-9.
- Verdian-Rizi M. 2008. Chemical composition and antimicrobial activity of *Pimpinella affinis* Ledeb. Essential oil growing in Iran. Research Journal of Biological Science, 3(8): 913-915.
- Whitemore A., Naidu A.S. 2000. Thiosulfinates. In: Naidu, A.S. Natural Food Antimicrobial System, pp: 265–380.
- Yazdani D., Rezazadeh Sh., Amin Gh., Zainal Abidin M.A., Shahnazi S., Jamalifar H. 2009. Antifungal activity of dried extracts of anise (*Pimpinella anisum* L.) and star anise (*Illicium verum* H.) against dermatophyte and saprophyte fungi. Journal of Medicinal Plants, 8(5): 24-29.
- Zargari A. 1997. Handbook of Medical Plants. University of Tehran Press, Iran. (In Persian)
- Zhang H., Chen F., Wang X., Yao H.Y. 2006. Evaluation of antioxidant activity of parsley (*Petroselinum crispum*) essential oil and identification of its antioxidant constituents. Food Research, 39(8): 833-839.