اثر اسانس‌های آویشن شیرازی و مرزه و مواد تیمول و کارواکرول بر *Fusarium graminearum* و داکسی نیوالنول*

EFFECT OF *Zataria multiflora* AND *Satureja hortensis* ESSENTIAL OILS, THYMOL AND CARVACROL ON GROWTH OF *Fusarium graminearum* ISOLATES AND DEOXYNIVALENOL PRODUCTION

عزیز لاهوجی [۱]، منصوره میرابوالفتحی [۱]** و روح الله کرمی اسبو [۲]

(تاریخ دریافت: ۱۳۸۸/۵/۲۶؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۸/۱۲/۵)

چکیده

اسانس‌ها علاوه بر خاصیت ضد میکروبی دارای خواص ضد تولید توکسین نیز می‌باشند. گیاه آویشن شیرازی با نام علمی *Zataria multiflora* در ایران انتشار نسبتاً وسیعی دارد. گیاه مرزه نیز با نام علمی *Satureja hortensis* نیزگیاهی است علفی که در اکثر مناطق ایران می روید، تیمول و کارواکرول نیز از اجزای اصلی اسانس‌های گیاهان فوق هستند. اثر اسانس‌های آویشن شیرازی و مرزه، و مواد تیمول و کارواکرول بر رشد ده جدایه *Fusarium graminearum* به روش اختلاط غلظت‌های مختلف آنها با محیط‌های کشت PDA و PDB و اندازه‌گیری میزان رشد هیف تیمارها در محیط نیمه جامد و وزن خشک توده میسلیومی در محیط مایع و مقایسه آنها با شاهد آزمایش محاسبه گردید. اثر مواد نام برده بر میزان داکسی نیوالنول تولید شده توسط جدایه‌های مذکور، با اندازه‌گیری میزان داکسی نیوالنول تولید شده در محیط PDB حاوی غلظت‌های مختلف مواد فوق و مقایسه آنها با شاهد عاری از مواد فوق با روش IAC HPLC + محاسبه شد. نتایج این بررسی نشان داد که اسانس‌ها و مواد مذکور دارای فعالیت قارچ ایستایی و بازدارندگی از تولید داکسی نیوالنول هستند. غلظت لازم برای بازداری کامل از رشد جدایه‌های مورد استفاده در یکصد میلی‌لیتر محیط کشت PDA به ترتیب برای اسانس‌های آویشن شیرازی و مرزه برابر ۱۶و ۳۱/۵ میکرولیتر و برای مواد تیمول و کارواکرول ۷۰ و ۱۵ میکرولیتر برآورد گردید. غلظت مذکور در محیط مایع PDB برای آویشن شیرازی و مرزه به ترتیب ۱۶ و ۳۰ و برای تیمول و کارواکرول به ترتیب ۷۰ و ۲۰ میکرولیتر بود. بیشترین و کمترین کاهش وزن خشک میسلیوم در محیط کشت مایع حاوی اسانس‌ها و مواد مؤثره فوق الذکر به ترتیب مربوط به جدایه‌های شماره ۶ و ۵۰ بود. میزان داکسی نیوالنول تولید شده در محیط مایع حاوی تیمارهای آویشن شیرازی، مرزه، تیمول و کارواکرول به ترتیب ۸۴، ۸۹/۱، ۹۵ و ۸۶/۶ درصد نسبت به شاهد بدون اسانس کاهش یافت. هم‌چنین در هر میلی‌گرم ماده خشک میسلیوم در شاهد و تیمارهای تیمول، کارواکرول، آویشن و مرزه به ترتیب ۳۵۳/۹، ۱۷/۹، ۲۷/۵، ۹۲/۶ و ۹۴/۲ نانوگرم داکسی نیوالنول ردیابی گردید، که این نتایج گویای تأثیر مستقیم اسانس‌ها و مواد مؤثر مورد مصرف بر ساختار داکسی نیوالنول بود. علاوه بر این، مواد مذکور به سبب دارا بودن ویژگی قارچ ایستایی با بازداری از رشد قارچ به طور غیر مستقیم نیز بر کاهش تولید داکسی نیوالنول مؤثر بودند.

واژه‌های کلیدی: اسانس، آویشن شیرازی، مرزه، تیمول، کارواکرول، داکسی نیوالنول، *Fusarium graminearum*

---

*: بخشی از پایان‌نامه کارشناسی ارشد نگارنده اول، ارایه شده به دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان

**: مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: mmirab2000@yahoo.com

۱. استادیار بیماری‌شناسی گیاهی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان

۲. عضو هیئت علمی آزمایشگاه تحقیقات مایکوتوکسین‌ها، مؤسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور

مقدمه

در سال‌های اخیر به دلیل افزایش علاقه مردم به مصرف مواد طبیعی و نیز شیوع بیماری‌های گوارشی، تنفسی و انواع سرطان‌ها، تحقیقات گسترده‌ای برای استفاده از اسانس‌ها انجام گرفته است. اسانس‌ها علاوه بر خاصیت ضد میکروبی دارای خواص ضد انگلی و ضد تولید توکسین نیز هستند که این ویژگی‌ها در ارتباط با نوع ماده مؤثره موجود در اسانس است (Burt, 2004). گیاه آویشن شیرازی با نام علمی *Zataria multiflora* گیاهی پایا با بوته‌هایی به ارتفاع ۸۰-۴۰ سانتی‌متر، سبز متمایل به سفید و معطر، با ساقه‌های متعدد، محکم و مقاوم، با پوست خاکستری متمایل به سفید یا کمی متمایل به قهوه‌ای است، برگ آویشن شیرازی کوچک و دارای دمبرگ کوتاه است. گیاه آویشن شیرازی انتشار نسبتاً وسیعی در ایران دارد و در بخش‌های مرکزی، جنوب و جنوب شرقی ایران، بخش مرکزی نجف آباد اصفهان، یزد، خور میز در پانزده کیلومتری مهریز، دزفول در خوزستان، فیروز آباد در فارس، خور موج نزدیک بوشهر، مناطق جنوب شرقی ایران بین کرمان و زرند، علی آباد، حاجی‌آباد بندر عباس، گهر، ارتفاعات گنو، آب گرم گنو، تا بلوچستان دیده می‌شود (Zargari 1370).

گیاه مرزه با نام علمی *Satureja hortensis* گیاهی است علفی، یک ساله و دارای ساقه منشعب به طول ۱۰-۳۰ سانتی‌متر که به دلیل دارا بودن ظاهری به رنگ سبز خاک آلود متمایل به خاکستری، ازگونه‌های مشابه قابل تشخیص می‌باشد. برگ‌های آن باریک و بلند است. در ایران گیاه مرزه در نواحی شمال غربی، تبریز، خوی، ارسباران و نواحی مختلف خراسان کشت می‌گردد (زرگری، ۱۳۷۰).

تیمول و کارواکرول از اجزای اصلی اسانس‌های خانواده نعناعیان هستند. این دو ترکیب از نظر شیمیایی بسیار به هم شبیه‌اند و فقط جایگاه گروه هیدروکسیل در آنها متفاوت است. تیمول و کارواکرول از اجزای ضد میکروبی بسیار مؤثر در اسانس‌ها هستند(Buchanan & Sheferd, 1981). اثر ضد میکروبی آنها به دلیل نفوذپذیر نمودن غشای سلول توسط آنهاست که می‌توانند با کاتیون‌های سطح غشا کلاته شده و فعالیت‌های حیاتی را مختل کنند (Ultee *et al*. 1999).

داکسی نیوالنول مایکوتوکسینی از گروه تریکوتسین‌هاست. این مایکوتوکسین متابولیت ثانویه قارچ *Fusarium graminearum* است که وجود آن در ذرت، گندم، جو، یولاف و برنج از آمریکا، کانادا و ژاپن گزارش شده است (Pestka *et al*. 1985). داکسی نیوالنول (DON) می‌تواند موجب نشت الکترولیت‌ها گردیده و این امر سبب تأمین بستر غذایی مناسب جهت گسترش عامل بیماری‌زا می‌گردد. هم‌چنین قارچ به صورت گندرو در بستر غذایی و درون میزبان گسترش می‌یابد (Desjardins *et al*. 1993).

مواد غذایی آلوده به داکسی نیوالنول در غلظت‌های پایین سبب بروز علائم متعددی شامل کم خونی، تهوع، خونریزی، کاهش ایمنی و کم اشتهایی در حیوانات (Persica *et al*. 1999)و اختلالات استروژنیک، سرطان مری و کاهش ایمنی در انسان می‌شوند (Lou *et al*. 1990).

در ترکیه اثر اسانس گیاه مرزه روی قارچ‌های *Alternaria mali* و *Botrytis cinerea* بررسی و نشان داده شده که غلظت‌های ۱، ۳ و ۵ میکرو لیتر در۶۰ میلی‌لیتر آن پس از هفت روز به ترتیب سبب ممانعت از رشد ۵۰، ۷۵ و ۸۷ درصد قارچ *A.mali* و ۷۵، ۸۷ و ۸۷ درصد قارچ *B.cinerea* شده است (Ozcan & Boyraz, 2006). اثر

اسانس آویشن *Zataria multiflora* Boiss بر رشد، تولید اسپور و آفلاتوکسین جدایه ATTCC15546 *Aspergillus flavus* در محیط کشت و پنیر سفید ایرانی درآب نمک بررسی شده است (Gandomi *et al*. 2009)، غلظت بیشتر از ppm ۴۰۰ اسانس مذکور در محیط کشت PDA رشد قارچ را کاملا بازداری نموده است، غلظت ppm ۲۰۰ نیز میزان رشد شعاعی و تولید اسپور را به ترتیب ۷۹/۴ و ۹۲/۵ درصد کاهش داده است، کمینه غلظت قارچکشی اسانس ppm ۱۰۰۰ بوده است. رشد میسلیوم و تولید آفلاتوکسین در همه غلظت‌های به کار گرفته شده اسانس در محیط مایع سرکوب شده است به طوری‌که غلظت ppm ۱۵۰ آن رشد میسلیوم و تولید آفلاتوکسین را به ترتیب ۹۰ و ۹۹/۴ درصد کاهش داده است، همه غلظت‌های به کار برده شده اسانس رشد شعاعی قارچ و تولید آفلاتوکسین به وسیله *Aspergillus flavus* در پنیر را ممانعت نمود. اما هیچ غلظتی از آن در پنیر رشد قارچ و تولید آفلاتوکسین را کاملاً بازداری ننمود. بررسی اثر اسانس گیاهان مرزه و آویشن بر *Aspergillus parasiticus* نشان داده که حداقل غلظت باز دارندگی با استفاده از آویشن ۱۰ میکرولیتر در میلی‌لیتر و برای مرزه ۲۰ میکرولیتر در میلی‌لیتر بوده است (مسکوکی و مرتضوی، ۱۳۸۳). نتایج تحقیقات *سرداری و همکاران* گویای اثر ضد قارچی بالای عصاره‌های گیاهان *Diplotaenia damavandica, Heracleum persicum, Sanguisorba minor,* و *Zataria multiflora* بر چندین گونه از قارچ‌های جنس *Aspergillus, Candida* و *Cryptococcus* می باشد (Sardari *et al*. 1998). اسانس گیاه *Zataria multiflora* سبب بازداری چشمگیری در قارچ‌های *Aspergillu falvus, Candida aibicans* و *Aspergillu niger* شده است و حداقل غلظت بازدارندگی آن برای تمام قارچ‌ها برابر با ppm ۰,۱۲۵ بوده است (Rahimifard *et al*. 1998). اسانس گیاه آویشن شیرازی روی دو جدایه استاندارد *Salmonella typhimorium* مورد بررسی قرار گرفته و مشخص شده که غلظت‌های ۱، ۲/۵ و ۵ درصد آن به ترتیب باعث هاله عدم رشدی معادل ۰- ۸، ۸/۶- ۹/۳ و ۱۵/۶- ۲۱/۶ میلی‌متر شده است (*سفیدکن و همکاران*، ۱۳۸۵). اسانس گیاه آویشن شیرازی در غلظت ۱۰ میکرولیتر در ۳۰ میلی‌لیتر روی جدایه *Escherichia coli* ATCC 25922 باعث ۴۲ میلی‌متر هاله عدم رشد شده است (مصحفی و همکاران، ۱۳۸۵).

اسانس‌های آویشن و مرزه و مواد کارواکرول و تیمول در غلظت ۰/۰۵ مولار در محیط کشت به ترتیب به میزان ۶ ،۵ و۷ میلی‌متر سبب هاله بازداری از رشد باکتری *Erwinia amylovora* شده‌اند (Karami- Osboo *et al*, 2010).

اثر اسانس گیاه *Origanom syriacum* حاوی تیمول و کارواکرول بر قارچ‌های *Aspergillus niger*، *Fusarium oxysporum* و *Penicillium* sp. نشان داده که کمترین غلظت بازدارندگی آن ۰/۱µl در میلی‌لیتر بوده است (Daouk *et al*.1995). در سوئیس اثر ماده مؤثره تیمول بر باکتری‌های *Porphyromonas gingivalis* OMZ 309، *Selenomonas artemidis* OMZ317 و *Streptococcus sobrinus* OMZ 176 نشان داده که کمترین غلظت بازدارندگی آنها به ترتیب برابر ۲/ ۲ و ۲/۷ میلی مولار بوده است و نیز مشخص گردیده که غلظت‌های ذکر شده در هر سه باکتری دارای خاصیت باکتری ایستایی بوده است نه باکتری کشی (Shapiro & Guggenheim, 1995).

کمترین غلظت باز دارندگی ماده مؤثره کارواکرول بر قارچ *Penicillium expansum* برابر ۲۴/۶ میکرولیتر در ۲۰

میلی‌لیتر بوده که در این غلظت کارواکرول خاصیت قارچ ایستایی داشته است و نه قارچ کشی(Neri *et al*. 2006). در فرانسه کمترین غلظت بازدارندگی کارواکرول بر *P. fluorescens*، *B.subtilis* و *S. cervisiae* به ترتیب ۱، ۰/۲۵ و ۰/۲۵ گرم بر لیتر بوده است که در غلظت‌های یاد شده کارواکرول خاصیت باکتری ایستایی داشته است نه باکتری کشی(Ben arfa *et al*.2006). در آلبانی اثر مواد مؤثره تیمول و کارواکرول روی دو باکتری *Escherichia coli* O157:H7 و *Salmonella enterica* آزمایش شده است که کارواکرول در غلظت ۱۰۴µl/ml به ترتیب ۷۰ و ۶۸ درصد بازداری رشد و تیمول در غلظت ۲۹/۹ µl/ml به ترتیب سبب ۹۸ و۶۷ درصد بازداری رشد باکتری‌های فوق الذکر شده‌اند (Friedman *et al*.2006).

در چین اثر مواد مؤثره تیمول و کارواکرول و مخلوط آن دو بر باکتری *Salmonella typhimorium* بررسی شده است. کمترین غلظت بازدارندگی برای کارواکرول یا تیمول ۴۰۰ µl/l و برای مخلوط این دو ۱۰۰µl/l بوده است (Zhou *et al* 2007). در عمان اسانس گیاه *Plectranthus cylindraceus* که حاوی ۴۶/۸٪ کارواکرول است روی قارچ‌های *Bipolaris* sp.، *Alternaria alternata*، *Fusarium oxysporum*، *Curvularia lunata* و *Stemphyllum solani* بررسی شده و نشان داده که غلظت ۱۲۵ میکرولیتر در ۱۴۹ میلی‌لیتر آن به ترتیب ۷۴/۱، ۷۰/۶، ۱۰۰، ۷۷/۷ و ۸۴/۶ در صد بازدارندگی و غلظت ۲۵۰ میکرولیتر در ۱۴۹ میلی‌لیتر آن سبب ۱۰۰٪ بازداری تمامی قارچ‌های مورد استفاده شده است (Marwah *et al*.2007).

هدف از این تحقیق بررسی اثر اسانس‌های آویشن شیرازی، مرزه و مواد مؤثره تیمول و کارواکرول بر رشد جدایه‌های مختلف قارچ *Fusarium graminearum* و کاهش تولید داکسی نیوالنول بود.

مواد و روش

۱ - اسانس‌ها و مواد مؤثره مورد استفاده

اسانس‌های آویشن شیرازی و مرزه از شرکت باریج اسانس کاشان که با روش تقطیر با آب و در مقیاس صنعتی به دست آمده بودند، تهیه گردید. اسانس‌های به دست آمده در شیشه‌های تیره در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد درون یخچال تا زمان استفاده نگهداری شد. تیمول (Thymol) با خلوص ۹۹٪ و کارواکرول (Carvacrol) با خلوص ۹۷٪ از پژوهشکده گیاهان و مواد اولیه دارویی دانشگاه شهید بهشتی تهیه گردید.

۲ – جدایه‌های قارچی

جدایه‌های قارچی مورد استفاده در این تحقیق شامل جدایه‌های استاندارد *F. graminearum* با کدهای F.g.N6، F.g.N7، F.g.N11، F.g.N24، F.g.N32، F.g.N36، F.g.N43، F.g.N44، F.g.N50 و F.g.N56 بودند که در مجموعه کشت‌های قارچی آزمایشگاه تحقیقات مایکو توکسین‌ها، مؤسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور نگهداری می‌شوند.

۳- بررسی بازداری از رشد

اثر بازداری اسانس‌های آویشن شیرازی و مرزه و مواد مؤثره تیمول و کارواکرول بر رشد جدایه‌های شماره ۶، ۷، ۱۱، ۲۴، ۳۲، ۳۶، ۴۳، ۴۴، ۵۰ و ۵۶ قارچ *F. graminearum* به روش اختلاط با محیط‌های کشت PDA (Potato Dextrose Agar) و (Potato Dextrose PDB Broth) مورد ارزیابی قرار گرفت.

۳- ۱- در محیط کشت PDA

اثر ضد قارچی اسانس‌های آویشن شیرازی و مرزه و مواد مؤثره تیمول و کارواکرول بر جدایه‌های مختلف قارچ *Fusarium graminearum* به روش اختلاط با محیط کشت (Grover & Moore 1962) بررسی شد. به این منظور ابتدا ۲۵ میکرو لیتر توئین بیست به ۵۰ میلی‌لیتر(۰/۵درصد) و از هر یک از اسانس‌ها افزوده شد. تیمول (۰/۱۵ گرم) در حلال تولوئن (۵۰۰ میکرولیتر) حل شد و ماده مؤثره کارواکرول به صورت خالص استفاده شد. هم¬چنین توئین بیست (۰/۵درصد) و حلال تولوئن هر یک به تنهایی به عنوان تیمارهای شاهد در آزمایش منظور شد. فلاسک‌های حاوی محیط کشت PDA پس از اتوکلاو شدن در دمای اتاق قرار داده شدند تا به دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد تنزل یابند. ابتدا جهت تعیین حداقل غلظت‌های مؤثر، اثر ضد قارچی غلظت‌های ۰، ۱۰، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میکرولیتر اسانس‌های آویشن شیرازی و مرزه و مواد مؤثره تیمول و کارواکرول در۱۰۰ میلی‌لیتر محیط کشت بر جدایه شماره ۶ *Fusarium graminearum* بررسی شد، سپس گستره‌ای از حداقل غلظت‌های مؤثر هر یک از ترکیبات به شرح: غلظت‌های ۱۴، ۱۴/۵، ۱۵، ۱۵/۵، ۱۶ میکرولیتر از آویشن شیرازی، ۲۷/۵، ۳۰، ۳۰/۵، ۳۱/۳۱،۵ میکرولیتر از مرزه، ۴۰، ۴۵، ۵۰، ۵۵، ۶۰، ۶۵ و ۷۰ میکرولیتر تیمول و ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۲۵ میکرولیتر کارواکرول در ۱۰۰ میلی‌لیتر محیط کشت PDA انتخاب، به محیط اضافه و به آرامی به هم زده شد تا محیط یک‌نواختی تهیه گردد. محیط‌های حاصل بلافاصله درون ظروف پتری ۹ سانتی‌متری توزیع و در دمای آزمایشگاه منعقد شدند. سپس یک دیسک قارچی به قطر ۵ میلی‌متر از لبه کلنی ۷ روزه هریک از ده جدایه در محیط کشت PDA به کمک چوب پنبه سوراخ کن برداشته و در مرکز هر یک از تشتک‌های پتری گذاشته شد، پتری‌های مایه‌زنی شده در انکوباتور ۲۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. پس از گذشت ۵ روز قطر رشد هر جدایه اندازه‌گیری شد. در انجام این آزمایش برای هر تیمار ۴ تکرار در نظر گرفته و آزمایش‌ها دو بار تکرار گردید.

۳- ۲- در محیط کشت PDB

چگونگی افزودن اسانس‌ها و مواد مؤثر به محیط PDB مشابه روش کاربرد آن در محیطPDA بود. فلاسک های ۲۵۰ میلی‌لیتری حاوی ۵۰ میلی‌لیتر محیط کشت PDB پس از اتوکلاو شدن در دمای اتاق قرار داده شدند تا سرد گردد. سپس به ترتیب مقادیر ۱۶، ۳۰، ۶۰ و ۲۰ میکرولیتر در۱۰۰ میلی‌لیتر ار هر یک از اسانس‌های آویشن و مرزه و مواد مؤثره تیمول و کارواکرول به فلاسک‌های حاوی محیط کشت PDB اضافه و به آرامی تکان داده شد. سپس دیسک‌های قارچی به قطر ۵ میلی‌متر توسط چوب پنبه سوراخ کن ازکشت‌های جوان جدایه‌های قارچ *F.graminearum* تهیه و ۳ دیسک قارچی به هر فلاسک محتوی محیط کشت PDB اضافه شد. فلاسک‌های مایه‌زنی شده در انکوباتور با دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. پس از گذشت ۷ روز محتوی فلاسک‌ها با استفاده از پمپ خلا از کاغذ صافی واتمن ۱ عبور داده شد و وزن خشک میسلیوم به جا مانده بر روی کاغذ صافی پس از خشک کردن آن به مدت ۲ ساعت در آون ۶۰ درجه سانتی‌گراد تعیین شد. در این آزمایش برای هر تیمار۳ تکرار در نظر گرفته شد و آزمایش‌ها دو بار تکرار گردید.

۳- ۳- تعیین حداقل غلظت بازدارندگی

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

۳- ۴ - درصد بازدارندگی از رشد

درصد بازدارندگی غلظت‌های مختلف اسانس و مواد مؤثره با بهره‌گیری از فرمول ارائه شده توسط *پندی و همکاران* (Pandey *et al*, 1982) انجام شد.

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

GI = Growth Inhibition باز دارندگی از رشد (میلی‌متر)

dc = diameter control میانگین قطر رشد قارچ در تیمار شاهد (میلی‌متر)

dt = diameter treatment میانگین قطر رشد قارچ در تیمار مورد بررسی (میلی‌متر)

۳- ۵- تعیین خاصیت قارچ ایستایی یا قارچ کشی اسانس و مواد مؤثره

برای تفکیک اثر قارچ ایستایی از قارچ کشی اسانس‌ها و مواد مؤثره از روش ارائه شده توسط تامسون (Thomson 1989) استفاده شد. بدین منظور قطعه محیط کشت حاوی قارچ که در تیمار اسانس و یا ماده مؤثره هیچ گونه رشدی نداشت به محیط کشت PDA عاری از اسانس و مواد مؤثره منتقل شد، در صورتی‌که قطعه مذکور پس از هفت تا ده روز در محیط فاقد مواد فوق الذکر رشد می کرد این امر به عنوان ویژه گی قارچ ایستایی ماده مذکور ارزیابی می‌گردید.

۴- تأثیر اسانس‌ها و مواد مؤثره بر تولید داکسی نیوالنول

اثر اسانس‌های آویشن و مرزه و مواد مؤثره تیمول و کارواکرول روی توکسین زایی جدایه شماره *F.graminearum*۴۴ که توکسین زایی بالاتر آن در بین سایر جدایه‌ها قبلا اثبات شده بود بررسی گردید و میزان بازداری از تولید داکسی نیوالنول در تیمارهای مختلف با استفاده از نسبت میزان DON تولید شده در تیمارهای اسانس و مواد مؤثره به میزان DON تولید شده در شاهد فاقد اسانس یا ماده مؤثره و کاستن آن از عدد یک محاسبه شد.

۴-۱- استخراج داکسی نیوالنول ازتوده‌های قارچی تیمار شاهد

بدین منظور ابتدا جدایه توکسین زا به روش بند ۳-۳ در محیط کشت مایع کشت شد و توده های قارچی استحصال شده در آون ۵۰ درجه سانتی‌گراد خشک و همراه ۱۵ میلی‌لیتر آب دو بار تقطیر درون هاون، در شرایط سترون به خوبی سائیده و به مدت ۳۰ دقیقه در دستگاه شیکر با ۱۰۰ تکان در دقیقه قرار داده شد. سپس با استفاده از کاغذ صافی واتمن ۱ و پمپ خلا فیلتر و عصاره آن استخراج گردید. نهایتاً ۲/۵ میلی‌لیتر ازعصاره استخراج شده جهت مراحل بعدی اندازه‌گیری داکسی نیوالنول استفاده شد.

۴- ۲- استخراج داکسی نیوالنول از توده‌های قارچی تیمار اسانس‌ها و مواد مؤثره

بدین منظور هر یک از توده‌های قارچی که با اسانس¬ها یا مواد تیمول و کارواکرول تیمار شده بودند پس از خشک شدن در آون در داخل لوله‌های اپندورف (مینی تیوب) همراه ۱ میلی‌لیتر آب دو بار تقطیر سائیده شده و سپس به مدت ۷ دقیقه ورتکس و ۰/۷ میلی‌لیتر از هر یک از

عصاره‌های استخراج شده جهت مراحل بعدی اندازه‌گیری داکسی نیوالنول استفاده شد.

۴- ۳- استخراج داکسی نیوالنول از بستر کشت شاهد و تیمار اسانس‌ها و مواد مؤثره

به این منظور میزان ۱۵ میلی‌لیتر محیط کشت مایع بستر رشد جدایه شماره ۴۴*F. graminearum* از تیمار شاهد و مقدار ۱۵ میلی‌لیتر محیط کشت مایع بستر رشد جدایه فوق‌الذکر که با اسانس‌های آویشن شیرازی و مرزه و مواد تیمول و کارواکرول تیمار شده بود پس از عبور از کاغذ صافی جهت مراحل بعدی اندازه گیری داکسی نیوالنول استفاده شد.

۴- ۴- تصفیه داکسی نیوالنول

میزان ۱۵ میلی‌لیتر از محیط مایع تیمار شاهد و محیط مایع تیمار اسانس‌ها و مواد مؤثره که با فیلتر واتمن ۱ صاف شده بود مجدداً با فیلتر (GF/A glass microfibre) صاف شد و ازستون‌های ایمنوآفینیتی داکسی نیوالنول (DONPREP) با سرعت ۱ قطره در هر ثانیه عبور داده شده و پس از شستشوی ستون با ۵ میلی‌لیتر آب دیونیزه، داکسی نیوالنول موجود در ستون با ۱/۵ میلی‌لیتر متانول از ستون شستشو و ویال‌های محتوی متانول در درون دستگاه تغلیظ کننده قرار داده شدند. پس از ۲/۵ ساعت، ویال‌ها کاملاًخشک شدند و سپس ۲ میلی‌لیتر حلال آب: استونیتریل(به نسبت ۹:۱ حجم به حجم) به هر یک از ویال‌ها اضافه، ورتکس و داکسی نیوالنول در آن حل شد.

۴-۵- اندازه‌گیری داکسی نیوالنول با دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا

بدین منظور ابتدا از استانداردهای ۵۰، ۲۰۰، ۲۵۰، ۵۰۰ و۱۰۰۰ نانوگرم در میلی‌لیتر داکسی نیوالنول برای رسم منحنی کالیبراسیون استفاده شد. سپس ۲۰۰ میکرولیتر از هر نمونه به دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا(HPLC) از کارخانهWaters با پمپ Breeze، دتکتور ۲۴۸۹UV، تزریق کننده خودکار ۷۱۷، ستون فاز معکوس C-18 کارخانه (Waters Milford, MA, USA) با ابعاد 150×3.9 mm و اندازه ذرات 4µm تزریق شد. فاز متحرک آب: استو نیتریل (به نسبت ۹:۱ حجم به حجم) و سرعت جریان 1 ml/min بود. میزان داکسی نیوالنول در طول موج 218 nm، با استفاده ازنرم افزار Breeze و محاسبه سطح زیر منحنی کروماتوگرام داکسی نیوالنول در مقایسه با منحنی کالیبراسیون مختص همان آزمایش محاسبه گردید. برای هر نمونه مدت زمان ۸ دقیقه در نظر گرفته شد.

۵- تجزیه و تحلیل داده‌ها

در این آزمایش از طرح کاملاً تصادفی و آزمایش فاکتوریل (فاکتور A غلظت اسانس‌ها و مواد مؤثره و فاکتور B جدایه‌های مورد بررسی) با طرح پایه کاملاً تصادفی برای بررسی آثار ساده و متقابل استفاده شد. جهت تجزیه واریانس و گروه‌بندی میانگین تیمارها از نرم افزار MSTATC و آزمون چند دامنه‌ای دانکن استفاده گردید (*علیزاده و تاری نژاد*، ۱۳۸۰).

نتایج

نتایج بررسی های اولیه حاصل از تجزیه واریانس و مقایسه میانگین داده های اثر دامنه وسیع غلظت‌ها جهت انتخاب دامنه محدودتری از آنها نشان داد که غلظت‌های کمتر از ۲۵ و بیشتر از ۵۰ میکروگرم در یکصد میلی‌لیتر از اسانس‌های آویشن شیرازی، مرزه و مواد مؤثره تیمول و کارواکرول سبب جلوگیری از رشد جدایه ۶ شده

و دارای فعالیت قارچ ایستایی بودند (جدول ۱).

در بررسی‌های ثانویه، اسانس آویشن شیرازی با غلظت ۱۴µl/100ml- ۱۶ (جدول۲) باعث کاهش رشد ۵۰/ ۸۷- ۱۰۰ در صد در جدایه‌های مختلف *F. graminearum* گردید، غلظت ۱۶ µl/100ml آویشن شیرازی باعث بازداری کامل از رشد همه جدایه‌ها در محیط جامد شد.

هم‌چنین غلظت ۱۶ µl/100ml اسانس آویشن شیرازی باعث کاهش ۹۴- ۹۸ در صدی وزن توده قارچی در محیط مایع شده است (جدول۳).

اسانس مرزه با غلظت ۲۷/۵µl/100ml-۳۱/۵ باعث کاهش رشد۹۲/ ۷۹- ۱۰۰ در صد در جدایه‌های مختلف *F. graminearum* گردید. مرزه با غلظت ۳۱/۵ µl/100ml سبب بازداری کامل رشد همه جدایه‌ها در محیط PDA شد (جدول ۴).

هم‌چنین غلظت ۳۰ µl/100ml اسانس مذکور باعث کاهش ۹۶- ۹۸ در صدی وزن توده قارچی درمحیط مایع گردید (جدول۵).

ماده تیمول با غلظت ۷۰µl/100ml- ۴۰ باعث کاهش رشد۶/ ۸۰- ۱۰۰ در صد در جدایه‌های مختلف *F. graminearum* گردید. تیمول با غلظت ۷۰ µl/100ml سبب بازداری کامل رشد همه جدایه‌ها در محیط PDA شد (جدول ۶)،

هم‌چنین غلظت ۷۰ µl/100ml ماده تیمول باعث کاهش ۹۶/۶- ۹۸/۳ در صدی وزن توده قارچی درمحیط مایع گردید (جدول۷).

ماده کارواکرول با غلظت ۱۵µl/100ml- ۵ باعث کاهش رشد ۸۰- ۱۰۰ در صد در جدایه‌های مختلف *F. graminearum* گردید. کارواکرول با غلظت µl/100ml ۱۵ سبب بازداری کامل رشد همه جدایه‌ها در محیط PDA شد (جدول ۸)،

میزان تأثیر اسانس‌های آویشن شیرازی و مرزه و مواد تیمول و کارواکرول بر رشد جدایه‌های مختلف *F. graminearum* متفاوت بود، هم‌چنین حداقل غلظت لازم برای بازداری کامل از رشد جدایه‌های مختلف در محیط جامد نیز متفاوت بود (جدول ۹).

مجموع میزان داکسی نیوالنول تولید شده در توده میسلیومی و بستر کشت شاهد ۸۶۲/۴ نانوگرم در میلی‌گرم و در تیمارهای آویشن شیرازی، مرزه، تیمول و کارواکرول به ترتیب با غلظت‌های ۱۶ و ۳۰ و ۷۰ و ۲۰ میکرولیتر در یکصد میلی‌لیتر ۱۳۸/۱، ۹۴/۲، ۴۳/۶ و ۱۱۶/۱ نانوگرم در میلی‌گرم بر آورد گردید. بنابراین به ترتیب ۸۴، ۸۹/۱، ۹۵ و ۸۶/۶ درصد کاهش میزان تولید داکسی نیوالنول را سبب شدند (جداول ۱۰ و ۱۱).

بحث

نتایج نشان می‌دهد که اسانس‌های آویشن شیرازی با غلظت ۱۶ µl/100ml، مرزه با غلظت ۳۱/۵ µl/100ml، تیمول با غلظت ۷۰ µl/100ml و کارواکرول با غلظت ۱۵ µl/100ml سبب بازداری کامل از رشد تمامی جدایه‌های *F. graminearum* در محیط PDA شده‌اند. *مسکوکی و مرتضوی* (۱۳۸۳) غلظت ۲۰۰ میکرولیتر در ۲۰ میلی‌لیتر از اسانس آویشن را بر *Aspergillus parasiticus* مؤثر دانسته‌اند. آنها هم‌چنین غلظت ۴۰۰ میکرولیتر در۲۰ میلی‌لیتر از اسانس مرزه را بر کنترل کامل *Aspergillus parasiticus* مؤثر دانسته‌اند. از طرفی غلظت۱۰ میکرولیتر در میلی‌لیتر اسانس آویشن شیرازی به میزان ۱۵ میلی‌متر از رشد کلنی باکتری *E.coli* جلوگیری نموده

جدول ۱. اثر غلظت‌های مختلف اسانس‌ها و مواد مؤثره بر میزان رشد (mm) جدایه شماره ۶ قارچ *F. graminearum* در محیط PDA

Table 1. The effect of different concentrations of essential oils and their two main components on the growth rate of the No 6 isolate of *F. graminearum* in PDA medium.

Mean of inhibition growth میانگین بازداری از رشد ٪±SE	Carvacrol کارواکرول (mm) growth	Thymol تیمول (mm) growth	*Satureja hortensis* مرزه (mm) growth	*Zataria multiflora* آویشن شیرازی (mm) growth	Concentration غلظت (µl/100ml)
0±0	40	40	45	45*	0
78±16.4	1	12	17	8	10
87.8±4.7	0	6	5	0	25
97.5±4.3	0	1	0	0	50
100	0	0	0	0	100

میلی‌متر میزان رشد جدایه شماره ۶ *F.graminearum* در تیمارهای مختلف اسانس‌ها، مواد موثر و شاهد فاقد آنها n=4

جدول۲. بازداری رشد (٪) جدایه‌های مختلف *F. graminearum* در اثر غلظت‌های مختلف آویشن شیرازی در محیط PDA

Table 2. Inhibition growth rate (%) of *F. graminearum* isolates affected by Zataria multiflora essential oil concentrations in PDA medium.

56	50	44	43	36	32	24	11	7	6	شماره جدایه Isolate No Concentration غلظت (µ l/100ml)
90±6.9 i	87.5±8.6 j	92.2±5.1 gh	92.8±4.7 fg	90±6.9 i	95±3.4 de	90±9.6 i	93.1±5.1 f	92.8±4.7 fg	95.6 ±3.4 cd	14
92.5±5.1 fgh	90±6.9 i	94.8±3.4 de	94.8± de	92.5±5.1 fgh	97.5±1.7 b	92.5±4.7 fgh	95.4±3.4 cd	94.8±3.4 de	100 a	14.5
95±3.4 de	92.5±5.1 fgh	97.4±1.7 b	97.4±1.7 b	95±3.4 de	100 a	95±3.4 de	97.7±1.7 b	97.4±1.7 b	100 a	15
97.5±1.7 b	95±3.4 de	100 a	100 a	97.5± b	100 a	97.5±1.7 b	100 a	100 a	100 a	15.5
100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	16

* حروف غیر مشابه نشان دهنده اختلاف معنی داری در سطح آماری ۵ درصد می باشد (Mean±SE) n=4

است (*مصحفی و همکاران*، ۱۳۸۵).

اوزجان و بویراز در سال ۲۰۰۶ در ترکیه نشان دادند که غلظت ۵ میکرولیتر در۶۰ میلی‌لیتر از اسانس مرزه به میزان ۸۷٪ باعث کنترل *Alternaria mali* و *Botrytis cinerea* شده است.

غلظت ۲۰۰ میکرولیتر در لیتر از تیمول به میزان ۹۸/۱٪ باعث بازداری از رشد باکتری *Salmonella typhiporium* شده است (Si *et al*. 2006). غلظت ۲۹/۹ میکرولیتر در ۵۰ میلی‌لیتر از تیمول باعث بازداری از رشد *Salmonella enterica* به میزان ۶۷٪ گردیده است (Friedman *et al*. 2006). این ماده در غلظت ۲۴/۵ میکرولیتر در ۲۰ میلی‌لیتر به میزان ۱۰۰٪ باعث جلوگیری از

جدول۳. در صد بازداری رشد جدایه‌های مختلف *F .graminearum* در غلظت µl/100ml ۱۶ اسانس آویشن شیرازی در محیط PDB

Table 3. The Inhibition growth rate of *F. graminearum* isolates (%) affected by *Zataria multiflora* essential oil (16 µl/100ml) in PDB medium.

شماره جدایه Isolate No	6	7	11	24	32	36	43	44	50	56
± میانگین SE Mean±SE درصد بازداری Inhibition(%)	0.04±97.9	0.05±97.3	0.03±97.1	0.02±96.8	0.02±96.7	0.02±96.5	0.03±96.1	0.03±96.5	0.03±96.8	0.03±96.4
گروه Groupe	a	b	b	c	c	c	d	d	c	d

*: حروف غیر مشابه نشان دهنده اختلاف معنی داری در سطح آماری ۵ درصد می باشد(n=3).

جدول ۴. در صد بازداری رشد جدایه‌های مختلف *F. graminearum* درغلظت های مختلف اسانس مرزه در محیط PDA

Table 4. The inhibition growth rate of *F. graminearum* isolates (%) affected by *Satureja hortensis* essential oil concentrations in PDA medium.

شماره جدایه Isolate No / غلظت Concentration µl/100ml	6	7	11	24	32	36	43	44	50	56
27.5	97.7±1.7 b	79.9±11.6 n	86.6±8.6 jk	84.6±8.6 lm	88.1±8.2 j	86.1±8.6 kl	83.7±10.8 m	83.3±8.6 m	81.3±12.1 n	83.2±9 m
30	100 a	91.1±5.1 hi	97.5±1.7 b	93.8±3.4 e	95.6±3 cd	94.4±3.4 de	92.2±5.1 fgh	90±5.1 i	89.9±6.4 i	91.2±4.7 hi
30.5	100 a	94±3.4 e	100 a	96.9±1.7 bc	97.5±1.7 b	97.2±1.7 bc	100 a	93.2±3.4 efg	92±5.1 gh	93.6±3.4 ef
31	100 a	97±1.7 bc	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	96.6±1.7 bc	97.3±1.7 b	96.8±1.7 bc
31.5	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a

* : حروف غیر مشابه نشان دهنده اختلاف معنی‌داری در سطح آماری ۵ درصد می باشد (Mean±SE)n=4

رشد قارچ *Penicillium expansum* شده است (Neri *et al.* 2006). *فریدمان و همکاران* در سال ۲۰۰۶ دریافتند که ماده مزبور در غلظت ۱۰۴ میکرولیتر در ۵۰ میلی‌لیتر به میزان ۷۰٪ سبب کاهش رشد کلنی باکتری *E.coli* شده است. با توجه به نتایج به دست آمده در مورد اسانس‌ها در مطالعه حاضر می‌توان نتیجه گرفت که اسانس آویشن شیرازی به سبب دارا بودن هر دو ماده مؤثر تیمول و کارواکرول بهتر از اسانس مرزه که فقط کارواکرول دارد عمل نموده است. مقایسه مواد موثره کارواکرول و تیمول نشان می‌دهد که کارواکرول به مراتب بهتر از تیمول عمل نموده است. با توجه به منابع، هر دوی این مواد جزء ترکیبات فنلی، دارای ساختمان شیمیایی یکسان و از عوامل

جدول۵. بازداری رشد(٪) جدایه‌های مختلف *F. graminearum* درغلظت ۳۰ µl/100ml اسانس مرزه در محیط PDB.

Table 5. The Inhibition growth rate of *F. graminearum* isolates (%) affected by *Satureja hortensis* essential oil (30µl/100ml) in PDB medium.

جدایه قارچ Isolate No	6	7	11	24	32	36	43	44	50	56
میانگین ± SE Mean±SE	±.02 98.1	97.5±.01 .01	±97.7 .02	97.4±.02 .03	97.3±.02	97.1±.02	96.6±.01 .01	96.2±.02	96.8±.02	96.9±.02
گروه Groupe	a	b	b	b	b	c	d	d	d	d

*: حروف غیر مشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌داری در سطح آماری ۵ درصد می‌باشد n=3

جدول۶. در صد بازداری رشد جدایه‌های مختلف *F. graminearum* در غلظت‌های مختلف تیمول در محیط PDA.

Table 6. The inhibition growth rate of *F. graminearum* isolates (%) affected by the Thymol concentrations in PDA medium.

شماره جدایه Isolate No / غلظت Concentration µl/100ml	6	7	11	24	32	36	43	44	50	56
40	93.1±4.7 f	85±7.7 m	82.4±12.5 p	87.5±8.6 k	81.8±7.7 q	88±9 j	88.3±7.27 j	84.1±8.2 n	80.6±13.8 r	82.8±10.8 p
45	94.4±3.8 e	86.6±6.9 l	86.1±9 l	90±5.1 i	91.4±5.6 h	91.3±5.6 h	91.6±5.6 h	86.6±6.9 l	83.1±11.6 o	86.2±8.6 l
50	96.3±2.5 c	90±5.1 i	87.8±8.6 k	92.5±5.1 g	93.1±3.4 f	93.1±5.1 f	94.2±3.8 e	90.8±4.7 h	85.6±9 m	88.3±9.9 j
55	97.7±1.7 b	93.3±3.4 f	90.3±6.9 i	95±3.4 d	96±2.5 c	95.6±3.4 d	96.8±2.5 c	93.3±3.4 f	87.5±8.2 k	91±5.5 h
60	100 a	96.6±1.7 c	95.1±3.4 de	100 a	97.7±1.7 b	97.7±1.7 b	97.4±1.7 b	96.6±1.7 c	93.1±4.7 f	94.8±3.4 e
65	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	96.9±2.1 bc	97.2±1.7 b
70	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a

*: حروف غیر مشابه نشان دهنده اختلاف معنی‌داری در سطح آماری ۵ درصد (Mean±SE) n=4

جدول۷. بازداری از رشد (%) جدایه‌های مختلف *F. graminearum* در غلظت ۷۰µl/100ml تیمول در محیط PDB

Table 7. The Inhibition growth rate of *F. graminearum* isolates (%) affected by Thymol (70 µl/100ml) in PDB medium

شماره جدایه Isolate No	6	7	11	24	32	36	43	44	50	56
میانگین ± SE Mean±SE	98.3±.02	97.7±.01	97.6±.01	97.5±.03	97.2±.03	97.6±.03	97.2±.03	97.1±.03	96.6±.02	96.8±.01
گروه Groupe	a	b	b	b	c	c	c	c	d	d

*: حروف غیر مشابه نشان دهنده اختلاف معنی‌داری در سطح آماری ۵ درصد می‌باشد n=3

جدول ۸ . بازداری رشد(٪) جدایه‌های *F.graminearum* در غلظت‌های مختلف کارواکرول در محیط PDA

Table 8. The inhibition growth rate of *F. graminearum* isolates (%) affected by the Carvacrol concentrations in PDA medium.

شماره جدایه Isolate No / غلظت Concentration µl/100ml	6	7	11	24	32	36	43	44	50	56
5	93.5±5.1 e	90±6.9 h	80.6±13.4 l	89.3±6.9 i	85.7±8.6 j	82.5±12.1 k	88.5±6.9 i	80±13.8 l	84.6±8.6 j	±17.3 75 m
10	97.5±1.7 b	95±3.4 d	92.5±5.1 f	±3.4 94.6 d	91.4±5.1 g	92.5±5.1 f	97.1±1.7 b	90±6.9 h	90.7±5.1 h	90±6.9 h
15	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a
20	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a
25	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a

* : حروف غیر مشابه نشان دهنده اختلاف معنی‌داری در سطح آماری ۵ درصد می باشد. n=4 (Mean±SE)

قوی ضد میکروبی هستند(Buchanan & Sheferd 1981). در تحقیق حاضر کارواکرول به صورت خالص استفاده شد ولی تیمول به علت ساختار بلوری و عدم حلالیت در تولوئن حل شد. در مقایسه اسانس ها و مواد موثره، ماده موثره کارواکرول بهتر از دو اسانس آویشن شیرازی و مرزه عمل کرده است. کرمی اسبو در بررسی اثر اسانس آویشن و مواد مؤثره تیمول و کارواکرول بر باکتری *Erwinia amylovora* به این نتیجه رسید که تیمول قوی‌تر عمل می‌نماید (Karami- Osboo *et al* 2010). در مورد کاهش داکسی نیوالنول، به ترتیب تیمول، اسانس مرزه، کارواکرول و اسانس آویشن شیرازی بیشترین کاهش تولید داکسی نیوالنول را سبب شده‌اند. کاهش داکسی

جدول۹. کمترین غلظت لازم اسانس‌ها و مواد مؤثره (µl/100ml) برای بازداری کامل از رشد جدایه‌های مختلف *F. graminearum*

Table 9. The minimum concentration of essential oils and their two main components for complete inhibition growth of *F. graminearum* isolates

ماده بازدارنده inhibitory compound / جدایه قارچ Isolate No	6	7	11	24	32	36	43	44	50	56
اسانس آویشن شیرازی *Zataria multiflora*	14	15.5	15.5	16	15	16	15.5	15.5	16	16
اسانس مرزه *Satureja hortensis*	27.5	31.5	30.5	31	31	31	31.5	31.5	31.5	31
تیمول Thymol	55	65	65	55	55	65	65	70	70	70
کارواکرول Carvacrol	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15

جدول ۱۰. وزن خشک و میزان داکسی نیوالنول توده میسلیوم *F. graminearum* (ng /mg) در تیمارهای مختلف اسانس و ماده موثره

Table 10. The amount of dried weight (mg) and DON (ng /mg) of *F . graminearum* mycelial mat treated by essential oils and their main components.

ماده بازدارنده inhibitory compound	غلظت Concentration µl /ml	وزن خشک میسلیوم dried weight of mycelial mat mg	میزان داکسی نوالنول DON amount ng /mg	بازداری از تولید توکسین Inhibition of DON (٪) production
اسانس آویشن شیرازی *Zataria multiflora*	16	17.1	18.3	94.8±19.5
اسانس مرزه *Satureja hortensis*	30	13.5	19.8	94.4±18.6
تیمول Thymol	60	12.9	17.9	94.9±22.4
کارواکرول Carvacrol	20	14	17.5	86.5±17.2
شاهد Control	0	231	353.9	0±0

جدول۱۱ . میزان داکسی نیوالنول موجود در ۱۵ ml محیط کشت *F. graminearum* در تیمارهای مختلف اسانس و ماده مؤثره.

Table 11- The amount of DON produced in 15ml of *F. graminearum* medium treated with different essential oils and their two main components.

مواد بازدارنده Inhibitory compound	غلظت Concentration µl /ml	میزان تولید توکسین dried weight of mycelial mat ng /mg	بازداری از تولید توکسین(٪) Inhibition of DON production(%)
اسانس آویشن شیرازی *Zataria multiflora*	16	45.5	91.1±18.7
اسانس مرزه *Satureja hortensis*	30	0	100
تیمول Thymol	60	25.7	94.9±22.4
کارواکرول Carvacrol	20	88.6	82.6 ± 16.9
شاهد Control	0	508.5	0±0

نیوالنول تحت اثر اسانس‌ها و مواد موثره به سبب کاهش میزان رشد قارچ و احتمالاً شکسته شدن ساختار فرمول داکسی نیوالنول می‌باشد. چنان‌که در جدول ۱۰ ملاحظه می‌شود میزان داکسی نیوالنول در هر میلی‌گرم ماده خشک میسلیوم در شاهد و تیمارهای تیمول، کارواکرول، آویشن و مرزه به ترتیب ۳۵۳/۹، ۱۷/۹، ۲۷/۵، ۹۲/۶ و ۹۴/۲ نانوگرم بود. این امر احتمالا گویای تأثیر مستقیم اسانس‌ها و مواد مؤثر آنها بر ساختار داکسی نیوالنول می‌باشد. علاوه بر این، مواد مذکور به سبب دارا بودن ویژه‌گی قارچ ایستایی با بازداری از رشد قارچ به طور غیر مستقیم نیز بر کاهش تولید داکسی نیوالنول مؤثر بودند.

محمود در سال ۱۹۹۴ در بررسی اثر بعضی از اسانس‌های حاوی ترکیبات فنلی بر *Aspergillus flavus* به این نتیجه رسید که کاهش تولید آفلاتوکسین به دلیل کاهش توده میسلیومی قارچ می‌باشد.

ترکیبات فنلی دارای خاصیت بالای ضد میکروبی هستند و در واقع ترکیبات فنلی موجود در اسانس‌های گیاهی بیشترین تأثیر را در ایجاد خاصیت ضد میکروبی دارند. این ترکیبات هم در غشای سلول نفوذ می‌کنند و هم می‌توانند در لخته شدن محتویات سلول نقش داشته باشند (Burl & Coote 1999; Dorman &Dean 2000). در این صورت می‌توان امیدوار بود به جای استفاده از ترکیبات سنتتیک که همگی دارای اثرات سوء برای مصرف کنندگان هستند و ضمن تخریب محیط زیست، سلامت استفاده کنندگان را به خطر می اندازند از اسانس‌های طبیعی که خوشبختانه زمینه مواد اولیه و تولید آنها در کشور قابلیت‌های بسیار بالایی دارد استفاده نمود. از نظر صرفه اقتصادی هر چند اسانس‌ها در رقابت با قارچ‌کش‌های شیمیایی قیمت تمام شده گران‌تری دارند اما غلظت اسانس‌های مورد استفاده بسیار ناچیز بوده و مصرف آنها را توجیه می‌سازد. از طرف دیگر چون داکسی نیوالنول در گندم که غذای اصلی مردم است تولید می‌شود و این اسانس‌ها هم معطر هستند و ذائقه مردم ایران آنها را پذیرفته و به طور معمول از آنها استفاده می‌شود می‌توان آنها را در طبخ انواع نان و خمیرها استفاده نمود. البته ضروری است در تحقیقات آتی امکان تبدیل داکسی نیوالنول به مشتقات آن نیز بررسی شود.

منابع

جهت ملاحظه به صفحات (13-11) متن انگلیسی مراجعه شود.