



(بررسی تاثیر استفاده از اسانس نعنای فلفلی بر کنترل قارچ (*Aspergillus flavus*) در شرایط درون شیشه ای)



حمید سلیمانی^{۱*}، یونس موستوفی

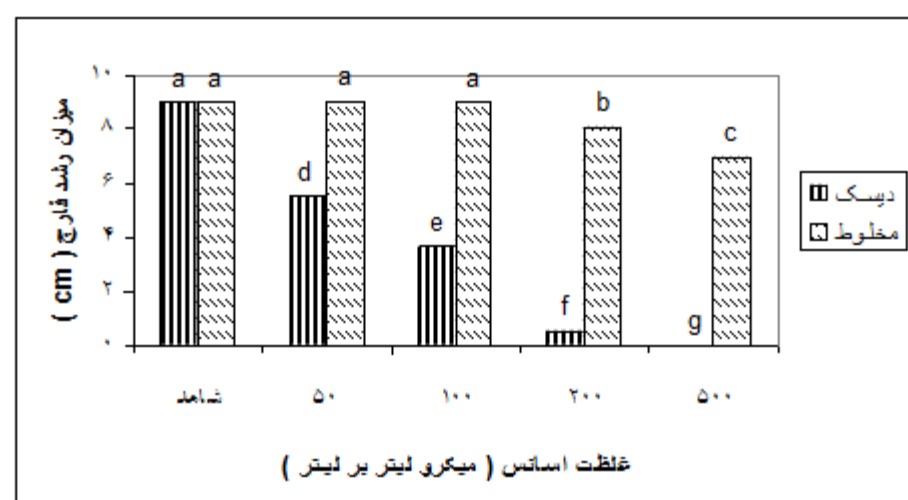
^{۱*} دانشجوی دکتری (باغبانی، دانشگاه زنجان، زنجان-ایران) و پژوهشگر (موسسه تحقیقات فنی و مهندسی کشاورزی، کرج-ایران)

^۲ استاد سابق (باغبانی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج-ایران)

*نویسنده مسئول: gh.a.soleymani@gmail.com

نتایج و بحث

نتایج نشان داد که اسانس نعنای فلفلی در روش ترکیب با محیط کشت در غلظت های ۵۰ و ۱۰۰ میکرو لیتر تأثیری بر رشد قارچ ندارد (شکل ۱). همچنین نتایج نشان داد روش استفاده از دیسک کاغذی در مقایسه با شاهد بطور قابل ملاحظه‌ای از رشد قارچ جلوگیری می‌نماید. نتایج نشان می‌دهد که با افزایش غلظت اسانس در هر دو روش اعمال تیمار اثر بازدارندگی بیشتر می‌شود. بطوری که در غلظت ۵۰۰ میکرو لیتر بر لیتر در روش استفاده از دیسک کاغذی ۱۰۰ در صد باز دارندگی دارد. به طور کلی نتایج حاصل از بررسی اثر بازدارندگی اسانس‌های نعنای فلفلی بر رشد قارچ *Aspergillus flavus* در شرایط درون شیشه‌ای نشان می‌دهد که روش اعمال تیمار اثر قابل ملاحظه‌ای بر کارایی اسانس در بازدارندگی از رشد قارچ دارد (جدول ۱) به طور کلی خاصیت ضد قارچی و ضد باکتریایی اسانس‌ها در نتیجه فعالیت سینترژیستی ترکیبات موجود در آن می‌باشد. اسانس‌ها از نظر شیمیایی ترکیبات پیچیده هستند که اغلب انواع مختلف مواد شیمیایی در ترکیب آن‌ها وجود دارد که شامل هیدروکربن‌ها، الکل‌ها، کتون‌ها، آلدئیدها، اترها، فنل‌ها، و غیره می‌باشد که در هر اسانس یک یا چند گروه از این مواد نقش اصلی را در خواص اسانس بازی می‌کند (Bood and Zebatakis, 2002) میزان فعالیت ضد قارچی ترکیبات فنلی بستگی به گروه هیدروکسیل و محل قرار گرفتن آن‌ها روی ساختار فضایی شان دارد (Dorman and Deans, 2000). گیاهان ترکیبات معطر زیادی تولید می‌کنند که بیشتر فنل و یا مشتقاتی از فنل می‌باشند. بیشتر این ترکیبات مسئول عطر و طعم در گیاهانی هستند که به عنوان غذا و یا دارو توسط انسان مصرف می‌شوند. اسانس‌های گیاهی فراوانی از گونه‌های مختلف در برابر پاتوژن‌های گیاهی مورد ارزیابی قرار گرفته و اثرات سودمند آن‌ها در کنترل پاتوژن‌های گیاهی به اثبات رسیده است. اسانس پونه کوهی باعث تغییر در شیب pH در باکتری‌هایی که تحت تیمار با آن می‌گردد و تعادل pH مربوط به اثرات ضد میکروبی این ترکیبات قویاً به تراوش یون‌های ویژه بستگی دارد (Holyoak et al., 1996). به نظر می‌رسد اثر کنترل‌کنندگی اسانس‌ها علاوه بر اثر مستقیم اسانس‌ها روی قارچ به اثر اسانس‌ها در تحریک پاسخ‌های دفاعی گیاهان هم مربوط باشد.



شکل ۱ مقایسه اثر باز دارندگی غلظت های مختلف اسانس نعنای فلفلی

بررشد قارچ *Aspergillus flavus* در شرایط درون شیشه ای

جدول ۱- جدول تجزیه واریانس فعالیت ضد قارچی روش‌های مختلف اسانس

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات	SS	F (α = ۰/۵)
اسانس	۲۰	۱۴/۵۴۳۳۱۷	۲۹۰/۸۸۶۳۴۹	۴۰۰/۱۳ *
روش اعمال	۱	۱۰۵۹/۰۸۰۰۷۹	۱۰۵۹/۰۸۰۰۷۹	۲۹۱۳۶/۳ *
اسانس× روش اعمال	۲۰	۷/۸۸۴۰۷۹	۱۵۷/۶۸۱۵۸۷	۲۱۶/۹۰ *
خطا	۸۴	۰/۰۳۶۳۴۹		

ضریب تعیین R=0.99، ضریب تغییرات C.V=3.35

مقایسه تیمار ها بر اساس روش LSD انجام شده است.

منابع

- اسماعیلی، م، گلی، ا، ح. و شاکر اردکانی، احمد. ۱۳۹۷. تأثیر استفاده از اسانس نعنای فلفلی (*Mentha piperita*) بر مدت زمان ماندگاری روغن پسته. علوم و فن‌آوری پسته. ۲: ۹۴-۱۰۶.
- توکلی‌پور، ح، زبرجانی، ل. و جوانمرد داخلی، م. ۱۳۹۵. مقایسه تأثیر عصاره مریم گلی و زیره سبز در جلوگیری از توکسین‌زایی قارچ آسپرژیلوس فلاووس در مغز پسته. نشریه‌ی نوآوری در علوم و فناوری غذایی. ۳۷: ۳۸-۴۲.
- Bood, K.G., Zebatakis, I., 2002. The biosynthesis of strawberry flavor (II): biosynthetic and molecular biology studies. Journal of Food Science, 67:1-8.
- Dorman H. Deans, S. 2000. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. Journal of Applied Microbiology, 88: 308-316.
- Holyoak, C. D., Stratford, M., McMullin, Z., Cole, M.B., Crimmins, K., Brown, A. J. P., Coote, P. J. 1996. Activity of the plasma membrane -ATPase and optimal glucolytic flux are required for rapid adaptation and growth of *Saccharomyces cerevisiae* in the presence of the weak-acid preservative ascorbic acid. Applied and Environmental Microbiology, 62: 3158-3164.
- Lanciotti, R., Gianotti, A., Patrignani, F., Belletti, N., Guerzoni, M.E., Gardini, F. 2004. Use of natural aroma compounds to improve shelf life and safety of minimally processed fruits. Journal of Science and Technology, 15: 201-208.
- Plaza, P., Torres, R., Lamarca, N., Vines, I. 2004. Evaluation of plant essential oils as commercial postharvest application of essential oils to control citrus decay. Journal of Horticulture Science and Biotechnology, 79: 935-940.

چکیده :

افلاتوکسین‌ها سمومی هستند که بوسیله تعدادی از قارچ‌ها که بر روی مواد غذایی رشد می‌کنند و می‌توانند بیماری افلاتوکسیکوزیس را در انسان و حیوانات اهلی ایجاد کنند در این راستا به منظور استفاده از روش-های غیر شیمیایی برای کنترل زهرابه آفلاتوکسین ناشی از قارچ آسپرژیلوس فلاووس در شرایط درون شیشه ای، از اسانس طبیعی حاصل از گیاه دارویی نعنای فلفلی در این تحقیق استفاده گردید. کلیه مراحل پژوهش در آزمایشگاه قارچ شناسی و کنترل بیولوژیک گروه گیاه پزشکی پردیس کشاورزی و منبع طبیعی دانشگاه تهران در سال ۱۳۸۷ انجام گرفت و ۴ غلظت (۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۵۰۰ میکرولیتر بر لیتر) از اسانس نعنای فلفلی به دو روش دیسکی و ترکیب اسانس مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل از بررسی اثرات ضد قارچی اسانس در شرایط درون شیشه‌ای نشان داد که توانایی اسانس نعنای فلفلی در کنترل عوامل بیماری‌زای گیاهی به غلظت بکار رفته و مهمتر از آن به روش اعمال تیمار بستگی دارد. در پژوهش حاضر مشخص شد که غلظت ۵۰۰ میکرولیتر بر لیتر بیشترین اثربخشی را در کنترل قارچ آسپرژیلوس داشته است و روش استفاده از دیسک کاغذی در غلظت ۵۰۰ میکرو لیتر بر لیتر بطور کامل از رشد قارچ *Aspergillus flavus* جلوگیری نموده ولی در روش ترکیب اسانس با محیط کشت، اثر کنترل‌کنندگی آن به غلظت بکار رفته بستگی داشت.

مقدمه

از جمله روش‌های سالم و بی‌خطر برای کنترل بیماری‌های پس از برداشت، استفاده از ترکیبات طبیعی تحت عنوان عصاره طبیعی یا اسانس‌های گیاهی است (Plotto et al., 2003). ترکیبات فرار (اسانس‌ها) ترکیباتی با فشار بخار بالا در دمای فیزیولوژیکی هستند که نه تنها به شکل مایع بلکه به شکل گاز نیز ارگانیسم‌ها را کنترل می‌کنند (Lanciotti et al., 2004). اسانس‌های گیاهی گستره وسیعی از متابولیت‌های ثانویه را شامل می‌شوند که توسط قسمت‌های مختلف گیاهان ساخته می‌شوند. در بیشتر پژوهش‌های انجام شده در مورد خواص ضد میکروبی ترکیبات شیمیایی نشان داده که فنل‌ها نسبت به الکل‌ها، آلدئیدها و اترها فعالیت ضد قارچی بالایی دارند (Plaza et al., 2004). خصوصیت چربی دوستی اسانس‌ها در بازدارندگی از رشد عوامل بیماری‌زا نقش مهمی دارد (Lanciotti et al., 2004). نتایج نشان می‌دهد که همه اسانس‌ها توانایی جلوگیری از رشد قارچ *Aspergillus flavus* را دارند. اسانس نعنای فلفلی توانایی حفظ ماندگاری روغن پسته می‌گردد (اسماعیلی و همکاران، ۱۳۹۷). لذا با توجه به موارد مذکور در این تحقیق به بررسی تاثیر اسانس نعنای فلفلی بر کنترل قارچ *Aspergillus flavus* پرداخته شد.

مواد و روش ها

کلیه مراحل این پژوهش در آزمایشگاه قارچ شناسی و کنترل بیولوژیک گروه گیاه پزشکی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران در سال ۱۳۸۷ انجام گرفت. اسانس پس از خریداری از شرکت تولید و فراوری گیاهان دارویی زربند جهت هر گونه آلودگی و ناخالصی با استفاده از میکرو فیلتر ۲/۰ میکرون ضد عفونی شده و در درون ظروف شیشه‌ای تیره که با فویل آلومینیومی پیچیده شده بود ریخته و در یخچال در دمای ۴ درجه نگهداری شد. سپس اثر بازدارندگی اسانس در شرایط درون شیشه‌ای به دو روش ترکیب اسانس با محیط کشت قارچ و استفاده از روش دیسک مورد بررسی قرار گرفت. اسانس نعنای فلفلی به نسبت های ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۵۰۰ میکرولیتر بر لیتر به محیط کشت آن اضافه شد. پس از آماده شدن محیط کشت، قارچ کشت شد. طرز تهیه محیط کشت برای اعمال تیمار اسانس‌ها در روش " استفاده از روش دیسک کاغذی" همانند روش قبل بود به استثنای اینکه در این روش اسانس به محیط کشت اضافه نمی‌شود و محیط کشت تنها حاوی ۱۰۰ میکرولیتر بر لیتر استوپتومایسین می‌باشد و اسانس پس از کشت قارچ تیمار می‌شود. قارچ *Aspergillus flavus* که روی محیط کشت PDA تکثیر شده بود برای کشت استفاده شد. به این صورت که با استفاده از چوب پنبه سوراخ کن دیسک‌هایی به قطر ۵/۰ سانتی‌متر از میسلیوم‌های قارچ برداشته و در وسط پتری قرار داده شد و پس از اعمال تیمارها به شرح ذیل، در انکوباتور در دمای ۲۶ درجه سانتیگراد قرار داده شد. در روش ترکیب اسانس‌ها با محیط کشت، زمانی که محیط هنوز گرم و مایع است اسانس‌ها به آن اضافه می‌گردند تا با محیط مخلوط شده و همزمان با سرد شدن و بستن محیط اسانس هم در فاز جامد محیط به دام بیفتند. در روش دیسکی پس از توزیع محیط کشت، فضای خالی پتری دیش محاسبه شد و بر مبنای حجم فضای خالی موجود که قرار است اسانس بعد از تبخیر شدن در آن فضا به غلظت های ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۵۰۰ میکرولیتر بر لیتر برسد، مقدار مورد نظر از اسانس با میکرو پیپت برداشته و روی دیسک‌های کاغذی از جنس کاغذ صافی (واتمن شماره ۱) به قطر ۲۰ میلی‌متر قرار داده شد. پس از قرار دادن کاغذ صافی آغشته به اسانس در داخل تشتک، بلافاصله دور آن پارافیلیم کشیده شد تا از تبخیر اسانس جلوگیری شود.