"مقاله پژوهشی"

اثرات ضد قارچی عصاره الکلی گیاه آویشن باغی در مقایسه با مالاشیت گرین بر عوامل قارچی جداسازی شده از هچری تاس ماهی سیبری (*Acipenser baerii*)

مسعود شهرانی[۱]، قباد آذری تاکامی[۲*]، مصطفی شریف روحانی[۳]، عباسعلی مطلبی[۴]، محمد علی یزدانی ساداتی[۵]

۱.گروه تخصصی دامپزشکی، واحد علوم وتحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲. گروه تخصصی بهداشت و بیماری های آبزیان، واحد علوم وتحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۳. موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش وترویج کشاورزی، تهران ، ایران

۴. گروه بهداشت و مواد غذایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۵. موسسه تحقیقات بین‌المللی تاسماهیان دریای خزر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رشت، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۱/۱۶ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۳/۱۸

چکیده

با توجه به خسارت اقتصادی ناشی از آلودگی قارچی در پرورش تاس ماهیان و خاصیت سرطان زایی از مالاشیت‌گرین در مصرف کننده واثرات مضر بر محیط زیست معرفی و جایگزینی مواد طبیعی ضروری است. هدف از این تحقیق مقایسه اثر ضدقارچی عصاره آویشن باغی با مالاشیت‌گرین روی قارچ‌های جداسازی شده از تخم تاس ماهیان سیبری بوده است. بدین منظور طی فصل تکثیر ۱۳۹۶ از تخم های قارچ زده ماهیان موسسه تحقیقات تاس ماهیان دکتر دادمان گیلان نمونه برداری صورت گرفت، نمونه‌ها در محیط کشت سابورو دکستروز آگار و گلوکز- پپتون آگار کشت داده شدند و در درجه حرارت ۲۵ درجه سانتیگراد به مدت ۷-۵ روزگرم خانه گذاری و سپس مورد شناسایی قرارگرفتند. سپس اثر ضد قارچی عصاره الکلی آویشن باغی به روش دیسک دیفیوژن ارزیابی و حداقل غلظت بازدارندگی از رشد (MIC) و حداقل غلظت کشندگی قارچ‌ها (MFC) اندازه‌گیری شد. در این مطالعه گونه‌های قارچی ساپرولگنیا (*Saprolegnia*)، فوزاریوم (*Fusarium*)، رودوتورلا (*Rhodotorula*)، پنیسیلیوم (*Penicilium*)، تریکودرما (*Trichoderma*)، کریسوسپوریوم (*Chrysosporium*) و هایف استریل (*Strile hyphae*) از تخم‌های آلوده به قارچ جداسازی و شناسایی شد. با توجه به نتایج تحقیق، عصاره آویشن باغی تاثیر معنی داری برعوامل قارچی جداسازی شده از تخم تاس ماهی سیبری داشتند ($P<۰/۰۵$)، اما بیشترین تاثیر بر قارچ ساپرولگنیا و کمترین تاثیر آن بر گونه‌های قارچی فوزاریوم و تریکودرما مشاهده‌شد. مقادیر غلظت ممانعت‌کنندگی رشد عصاره‌ی الکلی برای قارچ ساپرولگنیا، فوزاریوم، رودوتورلا، پنیسیلیوم، تریکودرما، کریسوسپوریوم و هایف استریل به ترتیب ۰/۷۵≤، ۳، ۱/۵، ۱/۵، ۰/۷۵≤، ۱/۵ و ۰/۷۵≤ میلی‌گرم در میلی‌لیتر و مقادیر حداقل غلظت کشندگی هم برای قارچ‌های فوق به ترتیب ۱/۵≤، ۳≤، ۳، ۳، ۱/۵، ۳ و ۱/۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر تعیین شد. با توجه نتایج، عصاره آویشن باغی می‌تواند جایگزین مناسبی برای مالاشیت گرین به منظور کاهش آلودگی قارچی در مرحله تکثیر تاس ماهی سیبری باشد.

کلمات کلیدی: تاس ماهی سیبری، آویشن باغی، اثرات ضد قارچی، مالاشیت گرین

* عهده‌دار مکاتبات (✉). takami85@hotmail.com

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-05-17]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1400.15.1.3.8]

[DOI: 10.52547/aqudev.15.1.19]

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-05-17]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1400.15.1.3.8]

[DOI: 10.52547/aqudev.15.1.19]

مقدمه

تاس ماهی سیبری (*Acipenser baerii*) یکی از شاخص‌ترین اعضای خانواده تاس ماهیان بوده که علی رغم وارداتی بودن آن، می‌توان به مزیت‌هایی همچون سازگاری راحت با شرایط پرورشی، مقاوم بودن به تغییرات محیطی، سرعت رشد بالا، پذیرش طیف وسیعی از مواد خوراکی، استعداد فراوان برای رشد در شرایط مطلوب، سن بلوغ کم و خاویاردهی سریع آن اشاره نمود (سرافراز و اکبریان، ۱۳۸۴). در سال‌های اخیر توسعه سریع صنعت پرورش ماهی و هم چنین بروز مشکلات ناشی از آلودگی قارچی باعث گردید که به نقش مهم قارچ ها در زندگی ماهیان توجه شود. قارچ ها در بهداشت آبزیان از اهمیت خاصی برخوردارند و به عنوان یک عامل اساسی در تعیین وضعیت بهداشتی کارگاه های تکثیر ماهیان مدنظر قرارگیرند. یکی از مهمترین عوامل زیان آور در صنعت آبزی پروری بیماری های قارچی می‌باشند، که از لحاظ درجه اهمیت بعد از بیماری‌های ویروسی و باکتریایی قراردارند. این بیماری ها از مشکلات جدی دوره انکوباسیون تخم بسیاری از گونه از جمله تخم تاس ماهیان به حساب می‌آیند (قیاسی، ۱۳۸۷).

عفونت‌های قارچی ماهیان دارای پراکنش جهانی بوده و از اغلب گونه‌های وحشی و پرورشی جداسازی و گزارش شده‌اند (Alderman, 1982). در ایران نیز مطالعات متعددی در زمینه آلودگی‌های قارچی تخم، اندام‌های سطحی و داخلی ماهیان مختلف صورت گرفته است، که می‌توان به آلودگی قارچی تخم ماهی سفید، آلودگی قارچی لارو بچه ماهیان و اندام‌های سطحی تاس ماهی ایرانی، آلودگی قارچی تخم ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، آلودگی قارچی کپور ماهیان پرورشی اشاره‌نمود (قیاسی، ۱۳۸۷; Hussein and Hatai, 2002 ; Jalilpour *et al*.,2006; فیروزبخش و همکاران، ۱۳۸۸; کوهپایه و همکاران، ۱۳۸۶). حضور این عوامل بیماری‌زا در منابع آبی و در شرایطی از قبیل تراکم، دستکاری و استرس‌های دوران تکثیر زمینه‌ساز بروز عفونت‌های قارچی در ماهیان و تخم آنها شده-است.گونه‌های مختلف گیاه آویشن باغی (*Thymus vulgris*) متعلق به تیره نعناع (Lamiasceae) درکوهستان‌های ایران می‌روید. این گیاه در طب سنتی و در صنایع غذایی، دارویی، بهداشتی و آرایشی استفاده های متنوعی می‌شود. اثرات ضد قارچی این گیاه در مدل‌های آزمایشگاهی (اکبری، ۱۳۸۵) و حیوانی (Soković *et al*., 2008) به اثبات رسیده است. ترکیبات موثر ضدمیکروبی در عصاره آویشن باغی حاوی فلاونوئیدهایی مانند اپی ژنین، نارینژین، لوتئولین و روغن‌های فرار محتوی کارواکرول (Carvacrol) و تیمول (Thymol) می‌باشد (Soković *et al*., 2008).

در ایران نیز تحقیقات دیگری در خصوص بررسی تاثیر برخی از گیاهان دارویی به عنوان جایگزین مالاشیت گرین و فرمالین در کنترل و نابودی عوامل قارچی آلوده کننده تخم های ماهیان در مرحله انکوباسیون صورت پذیرفته است، که در این خصوص می‌توان به تحقیقات انجام شده توسط عادل و همکاران (۱۳۹۳)، کیخا و همکاران (۱۳۹۴) و شفیعی و همکاران (۱۳۹۵) در ارتباط با معرفی جایگزین مالاشیت گرین در مزارع سردآبی اشاره نمود.

یکی از مهمترین عوامل تلفات تخم در هچری ماهیان خاویاری و استخوانی آلودگی تخم به قارچ‌ها به ویژه ساپرولگنیا است که در صنعت آبزی‌پروری کشور ضررهای اقتصادی زیادی را به دنبال داشته است.

بسیاری از گونه‌های ساپرولیگنیا به عنوان عوامل مهاجم ثانویه فرصت طلب مطرح بوده‌اند که به دنبال بروز شرایط استرس زا و شرایط نامطلوب محیطی از قبیل کیفیت پایین آب، جابه جایی و تعویض ضعیف و دیر هنگام آب، اکسیژن محلول پایین و آمونیاک زیاد، زیاد بودن میزان مواد آلی، تراکم بالا، تغییرات دما و بلوغ جنسی یا تخم ریزی موجب بروز تلفات در ماهی‌ها و تخم آنها می‌گردند (قیاسی، ۱۳۸۷). بنابراین شناسایی فلور قارچی تخم ماهیان خاویاری از نظر عوامل بیماریزای احتمالی و بروز تلفات در تخم آنها از اهمیت ویژه‌ای برخوردار می‌باشد.

هدف از این بررسی شناسایی عوامل قارچی مسئول بروز تلفات تخم در هچری تاس ماهی سیبری و نیز مقایسه اثر ضدقارچی عصاره الکلی آویشن باغی با مالاشیت‌گرین روی قارچ های جدسازی شده از تخم تاس‌ماهیان سیبری بوده می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این تحقیق که در فصل بهار ۱۳۹۶ در موسسه تحقیقات بین‌المللی تاس‌ماهیان دریای خزر واقع در سد سنگر استان گیلان انجام گرفت. برای هر تیمار سه تکرار در نظر گرفته‌شد. ۲/۵ کیلوگرم تخم تاس‌ماهی سیبری انتخاب گردید و پس از لقاح با اسپرم ها به تعداد ۱۵ انکوباتور کالیفرنیایی منتقل‌گردید. با شروع فصل تکثیر تاس ماهی سیبری طی سه مرحله (ابتدا، وسط و انتهای مرحله انکوباسیون) و در هر مرحله تعداد ۵۰ عدد تخم قارچ زده با پنس استریل بصورت تصادفی از انکوباتورها برداشته شد و به لوله های در پیچ دار محتوی آب مقطر استریل منتقل گردید.

پس از نمونه‌برداری لوله‌های حاوی تخم های قارچ زده به آزمایشگاه منتقل و در پتری دیش های استریل تخلیه گردید، سپس تخم‌های قارچ زده سه بار با آب مقطر استریل شستشو داده‌شد و قسمتی از کلونی قارچ به همراه تخم بر روی محیط کشت سابورودکستروز آگار (SDA) و محیط کشت اختصاصی قارچ ساپرولگنیا (گلوکز- پپتون آگار) منتقل‌گردید. به منظور جلوگیری از رشد عوامل باکتریایی در محیط‌های کشت فوق از دو آنتی بیوتیک پنی سیلین جی و استرپتومایسین به میزان ۲۵۰ میلی گرم در لیتر استفاده‌شد. پس از آن محیط‌های کشت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵-۷ روز گرم خانه گذاری شدند و روزانه الگوی رشد قارچ‌ها بررسی‌شد (شریف روحانی، ۱۳۸۳).

پس از کامل شدن رشد پرگنه‌ها جهت بررسی میکروسکوپی، قسمتی از پرگنه‌های رشد یافته بر روی لام حاوی لاکتوفنل–کاتن بلو قرار داده شد و در زیر میکروسکوپ نوری با بزرگ نمایی‌های مختلف مورد بررسی قرار گرفت. شناسایی قارچ‌ها با استفاده از کلید شناسایی و براساس منابع موجود (Beakes *et al*., 1994; Khulbe, 2001) صورت‌گرفت.

برگ گیاه خشک شده آویشن باغی را پودرکرده، سپس ۱۵۰ گرم از پودر حاصل برای عصاره‌گیری استفاده شد. هر ۵۰ گرم پودر آویشن باغی با ۴۰۰ میلی لیتر اتانول ۸۰ درصد مخلوط شده و این مخلوط به مدت ۱۲ ساعت بر روی شیکر با دور ۱۰۰rpm در دمای محیط خیسانده شد. بعد از گذشت این زمان، مخلوط حاصل توسط پمپ خلا صاف شد. سپس محلول زیر صافی را در روتاری تحت خلاء در دمای ۴۳ درجه سانتی‌گراد تغلیظ شده و محلول تغلیظ شده در پلیت‌های شیشه‌ای ریخته شد تا حلال اتانول بطور کامل تبخیر

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-05-17]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1400.15.1.3.8]
[DOI: 10.52547/aqudev.15.1.19]

شود (Salaby and Razin, 1992) و عصاره حاصل تا زمان مصرف در یخچال (۴ درجه سانتی‌گراد) نگهداری‌شد. مالاشیت گرین مورداستفاده در این مطالعه نیز از شرکت مرک آلمان از مراکز معتبر تهیه‌گردید.

به منظور بررسی تاثیر اثر ضد قارچی عصاره الکلی آویشن باغی و مالاشیت گرین در ابتدا سوسپانسیون قارچی از هر کدام کشت‌های خالص عوامل قارچی جداسازی شده از تخم‌های قارچ زده تاس‌ماهی سیبری تهیه‌گردید. سوسپانسیون‌های قارچی تهیه شده دارای کدورت ۰/۵ مک فارلند بوده و دارای تعداد ۱×۱۰^{۶} سلول قارچی در هر میلی‌لیتر بودند.

پس از تهیه سوسپانسیون های قارچی مطابق با کدورت استاندارد ۰/۵ مک فارلند ، یک سواب استریل را آغشته به سوسپانسیون قارچی تهیه شده کرده و در سطح محیط کشت سابرودکستروز آگار که قبلاً به دمای اتاق رسیده به طور یکنواخت تلقیح شد. سپس پلیت ها مدت ۳ تا ۵ دقیقه در محل مناسبی قرار داده تا مایع اضافی آن جذب شده و به درون آگار نفوذ کند.

دیسک های مورد استفاده در این مطالعه عاری از هرگونه ماده دارویی بوده و با مقادیر ۵۰۰، ۷۵۰، ۱۰۰۰ و ۱۲۵۰ ppm از عصاره آویشن باغی آغشته شدند. دیسک مالاشیت گرین (۱ ppm) نیز به صورت جداگانه تهیه شد. در این مطالعه از دیسک آغشته به آب مقطر به عنوان شاهد منفی استفاده شد. در مرحله بعد دیسک-های تهیه شده با غلظت مشخص در کنار شعله توسط پنس استریل در سطح پلیت که در مرکز آن سوسپانسیون‌های قارچی مشخص، قرار داده شده بودند، قرار داده شد. سپس محیط کشت‌های مربوطه به مدت ۹۶ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد گرم خانه گذاری شدند. به فاصله زمانی ۲۴ ساعته میزان رشد قارچ از مرکز پتری دیش پلیت اندازه‌گیری و تغییرات مشاهده و قطر هاله عدم رشد با خط کش استاندارد اندازه گیری و ثبت شد.

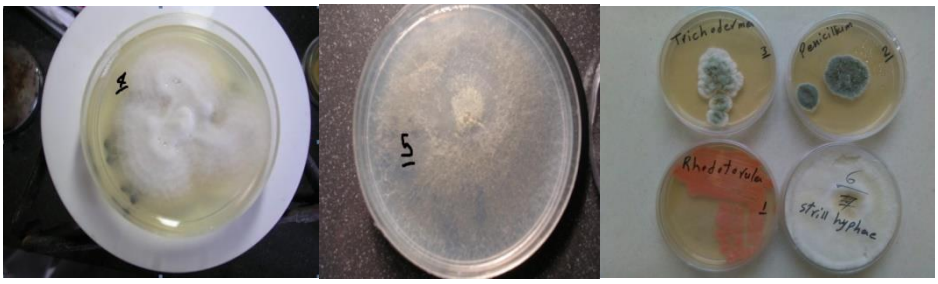
حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد عصاره ها با استفاده از روش رقت سنجی تعیین‌گردید. بدین صورت که رقت‌های متوالی از عصاره الکلی آویشن باغی (صفر به عنوان شاهد، ۲، ۴، ۸، ۱۶ و ۳۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) در محیط مایع سابورو دکستروز براث افزوده شده و به آن ۰/۱ میلی لیتر از سوسپانسیون قارچی ۱×۱۰^{۶} CFU/ml تلقیح شد و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شدند. پس از طی این زمان لوله‌ها از نظر کدورت ناشی از رشد قارچی با لوله شاهد مقایسه‌گردید و کمترین غلظت آویشن باغی که مانع رشد قارچ شده و کدورتی در لوله مشاهده نشده بود، به عنوان MIC در نظر گرفته شد (Hellio *et al.*, 2000). همچنین برای تعیین MFC، رقت‌های MIC و بالاتر از آن به میزان ۱۰ میکرولیتر با سمپلر برداشته شده و بر روی محیط کشت SDA به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد گرم‌خانه‌گذاری شد و کمترین غلظتی از عصاره که رشد قارچ را به طور کامل مهار کرد و در آن کدورتی مشاهده نشد (شفاف بود) به عنوان MFC در نظر گرفته‌شد (Hellio *et al.*, 2000; شریف روحانی، ۱۳۸۴).

پس از شمارش و ثبت تخم‌های قارچ زده نسبت به تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها اقدام گردید. تجزیه و تحلیل داده‌های مربوط به نتایج تحقیق با استفاده از نرم افزار SPSS ویرایش ۲۰، از طریق آنالیز واریانس یک طرفه و برای مقایسه بین میانگین‌ها آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد صورت گرفت ($P \leq ۰/۰۵$).

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-05-17]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1400.15.1.3.8]
[DOI: 10.52547/aqudev.15.1.19]

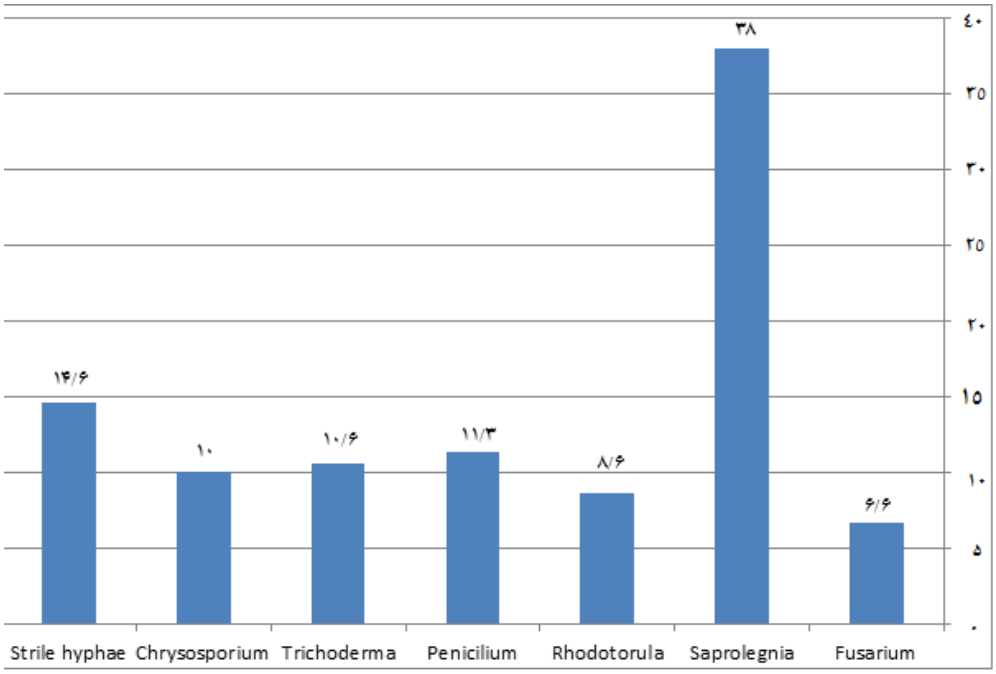
نتایج

در این مطالعه گونه‌های قارچی ساپرولگنیا (*Saprolegnia*)، فوزاریوم (*Fusarium*)، رودوتورلا (*Rhodotorula*)، پنیسیلیوم (*Penicilium*)، تریکودرما (*Trichoderma*)، کریسوسپوریوم (*Chrysosporium*) و هایف استریل (*Strile hyphae*) از نمونه تخم‌های لقاح یافته تاس ماهی سیبری با استفاده از کلید شناسایی و بر اساس منابع موجود (Beakes *et al.*, 1994؛ Khulbe, 2001) صورت گرفت (شکل۱). نتایج حاصل از بررسی درصد فراوانی تخم‌های قارچ زده لقاح یافته تاس ماهی سیبری در شکل ۲ نشان داده شده است. همانطور که در این شکل مشاهده می‌شود بیشترین وکمترین درصد فراوانی، به ترتیب مربوط به گونه ساپرولگنیا و فوزاریوم بوده است.



شکل ۱: قارچ های جداسازی شده

۱.رودوتورلا (*Rhodotorula*) ۲.پنیسیلیوم (*Penicilium*) ۳.تریکودرما (*Trichoderma*)، ۴.فوزاریوم (*Fusarium*)، ۵. ساپرولگنیا (*Saprolegnia*)، ۶.استریل هایفه (*Strile hyphae*)۷.کریسوسپوریوم (*Chrysosporium*)



شکل ۲: درصد فراوانی قارچ های جدسازی شده

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-05-17]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1400.15.1.3.8]
[DOI: 10.52547/aqudev.15.1.19]

نتایج حاصل از ارزیابی درصد تخم‌های قارچ زده در هر تیمار جهت بررسی اثر نوع تیمار بر درصد تخم-های قارچ در جدول ۱ ارائه شده است. با توجه به نتایج حاصل شده، در کلیه گونه‌های قارچی مورد بررسی، نوع تیمار اثر معنی‌داری بر تعداد قارچ‌های موجود در تخم‌های لقاح یافته تاس‌ماهی سیبری داشته است (P<۰/۰۵). نتایج مطالعه حاضر نشان دهنده آن است که غلظت‌های ۱۰۰۰ و ۱۲۵۰ ppm آویشن باغی اثرات مشابه مالاشیت گرین در کنترل گونه‌های قارچی مورد مطالعه داشته است و تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشته است (P≥۰/۰۵). از سوی دیگر تفاوت معنی-داری بین تیمار ۵۰۰ و ۷۵۰ ppm آویشن باغی با تیمار شاهد در اکثر گونه‌های قارچی مورد مطالعه مشاهده-نشده است (P≥۰/۰۵). بیشترین تاثیر نوع تیمار بر قارچ ساپرولگنیا و کمترین تاثیر آن بر گونه‌های قارچی فوزاریوم و تریکودرما بود.

جدول ۱: میانگین تعداد قارچ تخم های لقاح یافته تاس ماهی سیبری در هر تیمار

قارچ	تیمار					
	۵۰۰ ppm آویشن باغی	۷۵۰ ppm آویشن باغی	۱۰۰۰ ppm آویشن باغی	۱۲۵۰ ppm آویشن باغی	۱ ppm مالاشیت گرین	شاهد
رودوتورلا	۱/۳۳۳±۰/۵۷۷^{a}	۱/۰۰±۰/۵۷۷^{ab}	۰/۰۰±۰/۰۰^{b}	۰/۰۰±۰/۰۰^{b}	۰/۰۰±۰/۰۰^{b}	۲/۰۰±۱/۰۰^{a}
پنیسیلیوم	۱/۶۶۶±۱/۱۵۴^{ab}	۱/۰۰±۰/۰۰^{b}	۰/۰۰±۰/۰۰^{c}	۰/۰۰±۰/۰۰^{c}	۰/۰۰±۰/۰۰^{c}	۳/۰۰±۱/۰۰^{a}
تریکودرما	۱/۳۳۳±۰/۵۷۷^{ab}	۱/۰۰±۰/۰۰^{ab}	۰/۶۶۷±۰/۵۷۷^{b}	۰/۳۳۳±۰/۱۵۷^{c}	۰/۳۳۳±۰/۱۵۷^{c}	۱/۶۶۶±۰/۵۷۷^{a}
ساپرولگنیا	۳/۳۳۳±۱/۵۲۷^{b}	۲/۳۳±۲/۳۰۹^{bc}	۰/۰۰±۰/۰۰^{d}	۰/۰۰±۰/۰۰^{d}	۰/۶۶۷±۰/۵۷۷^{c}	۱۲/۶۶±۳/۵۱۱^{a}
کریسوسپوریوم	۱/۰۰±۰/۵۷۷^{b}	۰/۶۶۶±۰/۵۷۷^{b}	۰/۰۰±۰/۰۰^{c}	۰/۰۰±۰/۰۰^{c}	۰/۰۰±۰/۰۰^{c}	۳/۳۳۳±۱/۵۲۷^{a}
فوزاریوم	۱/۰۰±۰/۵۷۷^{ab}	۰/۶۶۶±۰/۵۷۷^{ab}	۰/۰۰±۰/۰۰^{b}	۰/۰۰±۰/۰۰^{b}	۰/۰۰±۰/۰۰^{b}	۱/۶۶۶±۰/۵۷۷^{a}
استریل هایفه	۱/۰۰±۰/۵۷۷^{b}	۱/۰۰±۱/۰۰^{b}	۰/۶۶۶±۰/۵۷۷^{b}	۰/۳۳۳±۰/۱۵۷^{c}	۰/۳۳۳±۰/۱۵۷^{c}	۴/۰۰±۱/۷۳۲^{a}

*حروف غیرمشابه کوچک در هر نوع قارچ، نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها است.

مقایسه میانگین تعداد هر یک از قارچ‌ها در تیمارهای مختلف با استفاده از آزمون تکمیلی دانکن صورت پذیرفت. نتایج حاصل از این بررسی نشان داد دهد که کارایی بالاتر غلظت‌های ۱۰۰۰ و ۱۲۵۰ ppm

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-05-17]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1400.15.1.3.8]
[DOI: 10.52547/aqudev.15.1.19]

آویشن باغی و مالاشیت گرین در مقایسه با تیمار ۵۰۰ و ۷۵۰ ppm آویشن باغی با تیمار شاهد بوده‌است (P<۰/۰۵).

نتایج MIC و MFC

نتایج حاصل از بررسی حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MFC) عصاره الکلی آویشن باغی بر روی گونه‌های قارچی جداسازی شده از تخم تاس ماهی سیبری در جدول ۲ نشان داده شده است. مقادیر غلظت ممانعت کنندگی رشد عصاره‌ی الکلی برای قارچ ساپرولگنیا، فوزاریوم، رودوتورلا، پنیسیلیوم، تریکودرما، کریسوسپوریوم و استریل هایفه به ترتیب ۰/۷۵≤، ۳، ۱/۵، ۱/۵، ۰/۷۵≤، ۱/۵ و ۰/۷۵≤ میلی‌گرم در میلی‌لیتر و مقادیر حداقل غلظت کشندگی هم برای قارچ‌های فوق به ترتیب ۱/۵≤، ۳≤، ۳، ۳، ۱/۵، ۳ و ۱/۵ میلی گرم در میلی‌لیتر تعیین شد.

جدول ۲: MIC و MFC عصاره الکلی آویشن باغی بر روی گونه‌های قارچی جداسازی شده از تخم تاس ماهی سیبری

نوع قارچ مورد مطالعه	MIC (میلی گرم/میلی لیتر)	MFC (میلی گرم/میلی لیتر)
رودوتورلا	۱/۵	۳
پنیسیلیوم	۱/۵	۳
تریکودرما	۰/۷۵≤	۱/۵
ساپرولگنیا	۰/۷۵≤	۱/۵≤
کریسوسپوریوم	۱/۵	۳
فوزاریوم	۳	۳≤
استریل هایفه	۰/۷۵≤	۱/۵

بحث

آلودگی‌های قارچی از جمله عوامل بروز خسارت در صنعت آبزی پروری کشور و به عنوان یک شاخص تعیین کننده وضعیت بهداشتی مزارع پرورشی محسوب می‌شوند. از جمله عوامل موثر در بروز تلفات در سیستم هچری ماهیان خاویاری و دیگر ماهیان استخوانی، آلودگی تخم های لقاح یافته به قارچ‌ها به خصوص ساپرولگنیا است که ضررهای زیادی را متوجه صنعت آبزی پروری می‌کند (Shahbazian *et al.*,2010).

نتایج این تحقیق نشان داد که بیشترین درصد فراوانی مربوط به قارچ ساپرولگنیا و کمترین درصد فراوانی مربوط به جنس فوزاریوم بوده است. این موضوع بیانگر این حقیقت است که قارچ ساپرولگنیا در آلودگی قارچی تخم تاس ماهیان سیبری از اهمیت زیادی برخوردار بوده و علی رغم شرایط متغییر محیطی و مدیریتی مزارع، دارای دامنه آلودگی وسیعی نسبت به سایر اعضای این گونه است.

قیاسی (۱۳۸۷) موفق به شناسایی قارچ ساپرولگنیا پارازیتیکا از تخمهای آلوده ماهیان خاویاری و سفید در هچری‌های استان مازندران با روش‌های مورفولوژیک و مولکولی شد. همچنین این قارچ توسط Czeczuga و همکاران (۱۹۹۵) از تخم چند گونه ماهی خاویاری جداسازی و شناسایی شد. نتایج مطالعه فعلی و مطالعات

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-05-17]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1400.15.1.3.8]
[DOI: 10.52547/aqudev.15.1.19]

قبلی نشان دهنده آن است که جنس ساپرولیگنیا گونه قارچی بیماریزای غالب در تخم ماهیان خاویاری در سیستم هچری و عامل اصلی بروز تلفات در تخم این ماهیان محسوب می‌شود. با توجه به نقش مهم عوامل استرس‌زا در بروز ساپرولیگنیازیس، کاهش شرایط استرس زا از طریق بهبود شرایط محیطی و مدیریتی از قبیل کیفیت مناسب آب و تعویض به موقع آن، کاهش بار مواد آلی، اجتناب از تراکم بیش از حد ماهی و دستکاری‌های بی‌مورد و استفاده از ضدعفونی کننده-های مناسب در هچری‌ها می‌تواند در کنترل و کاهش تلفات و ضررهای اقتصادی ناشی از این بیماری مفید واقع شود (قیاسی، ۱۳۸۷).

نتایج مطالعه حاضر نشان دهنده آن است که غلظت-های ۱۰۰۰ و ۱۲۵۰ ppm آویشن باغی اثرات مشابه مالاشیت گرین در کنترل گونه‌های قارچی مورد مطالعه داشته است و تفاوت معناداری با مالاشیت گرین نداشته-است ($P \geq ۰/۰۵$). با توجه به این نکته می‌توان گفت با توجه به فراوانی بالای قارچ ساپرولگنیا در تخم تاس-ماهیان سیبری عصاره آویشن باغی می‌تواند جایگزین خوبی برای کاهش فراوانی ساپرولگنیا و خسارات قابل توجه ناشی از آن باشد. از جمله ترکیبات اصلی گیاه آویشن باغی تیمول وکارواکرول هستند که می‌توان خاصیت ضد قارچی این گیاه را به آن نسبت داد. کارواکرول ایزوتیمولی است که با مهار فعالیت آنزیم *ATPase* موجب افزایش نفوذپذیری غیراختصاصی غشای سلولی میکروارگانیسم‌ها و در نتیجه آن افزایش حساسیت آنها نسبت به گیاهان و ترکیبات ضدمیکروبی می‌شود (Najib Zade *et al.*, 2009).

براساس مطالعه Sharifian و همکاران (۲۰۰۹) خاصیت ضد قارچی کارواکرول در سایر گیاهان مانند مورت و مرزه خوزستانی به اثبات رسیده‌است. پذیرا (۱۳۹۶) به بررسی فعالیت ضد قارچی آویشن باغی بر روی قارچ‌های آسپرژیلوس نیجر، آسپرژیلوس فلاوس، آسپرژیلوس فومگاتوس، آسپرژیلوس نایجر و ساپرولگنیا پارازیتیکا جداسازی شده از پوست ماهی کوی پرداخت. بر اساس نتایج به دست آمده بیشترین اثر مهار کنندگی اسانس آویشن باغی بر روی آسپرژیلوس فلاوس و کم ترین اثر مهار کنندگی آن بر روی ساپرولگنیا پارازیتیکا مشاهده شد. *Mousavi* و Raftos در سال ۲۰۱۲، اثرات ضد قارچی و سمیت اسانس روغنی ترکیبی از گیاهان آویشن باغی (*Thmus vulgaris*) ، مریم گلی (*Salvia officinali*)، اکالیپتوس نیلی (*Eucalyptus globules*) و نعناع فلفلی (*Mentha piperita*) در ماهی‌قزل‌آلای رنگین‌کمان در مقایسه با مالاشیت‌گرین مورد بررسی قراردادند، که نتایج نشان داد ترکیب چهار اسانس گیاه ذکر شده می‌تواند به‌عنوان یک ترکیب ضدقارچی در هچری‌ها و مراکز تکثیر ماهیان سردآبی مورد استفاده قرار گیرد. *Ceneto* و همکاران در سال ۲۰۱۰، اثر ضد قارچی عصاره گیاهان رزماری و آویشن باغی را بر قارچ‌های آسپرژیلوس فلاووس و آسپرژیلوس اونکرانسئوس بررسی کردند که نتایج آن نشان داد هر دو عصاره در غلظت‌های پایین می‌توانند اثرضد قارچی قابل توجهی بر این دو گونه داشته باشند که همسو با مطالعه حاضر است.

مطابق با نتایج تحقیق حاضر، کلیه گونه‌های قارچی مورد بررسی تحت تاثیر اثرات بازماندگی عصاره الکلی آویشن باغی قرار گرفتند که این مسئله بیانگر

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-05-17]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1400.15.1.3.8]
[DOI: 10.52547/aqudev.15.1.19]

طیف گستره اثر ضد قارچی عصاره الکلی آویشن باغی است. مقادیر غلظت ممانعت کنندگی رشد عصاره‌ی الکلی برای قارچ ساپرولگنیا، فوزاریوم، رودوتورلا، پنیسیلیوم، تریکودرما، کریسوسپوریوم و استریل هایفه به ترتیب ۰/۷۵≤، ۳، ۱/۵، ۱/۵، ۰/۷۵≤، ۱/۵ و ۰/۷۵≤ میلی‌گرم در میلی‌لیتر و مقادیر حداقل غلظت کشندگی هم برای قارچ‌های فوق به ترتیب ۱/۵≤، ۳≤، ۳، ۳، ۱/۵، ۳ و ۱/۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر تعیین شد. Vidua-materus و همکاران (۲۰۰۷) نشان دادند که اسانس آویشن باعث کاهش رشد میسلیوم آسپرژیلوس در مقادیر ۲ تا ۸ میلی لیتر می‌شود. Moghtader در سال ۲۰۱۲، مقایسه اثر ضد قارچی اسانس آویشن باغی با تیمول مصنوعی در قارچ آسپرژیلوس نیجیر بررسی کردند که نتایج آن نشان داد که اسانس روغنی گیاه آویشن باغی در رقت های ۱، ۱/۲ و ۱/۴ فعالیت ضد قارچی قوی تر از استرپتومایسین سولفات (۷۲ درصد) و آنتی بیوتیک جنتامایسین ۸ میلی گرم در میلی‌لیتر داشت که در مقایسه با تیمول سنتتیک در رقت ۱۰ درصد قوی تر بود. اکبری (۱۳۸۵) اثرات ضد قارچی گیاه آویشن و مرزنجوش علیه ایزوله‌های بالینی کاندیدا آلبیکنس مقاوم و حساس به فلوکونازول رامورد بررسی قرار داد که نتایج این تحقیق نشان داد که اسانس و عصاره هر دو گیاه قادر به مهار رشد این ایزوله ها بوده، که از بین این عصاره ها، آویشن بیشترین اثر ضد قارچی را (۱۲۵-۰/۴۹ میلی گرم در میلی‌لیتر) داشت و پس از آن به ترتیب اسانس مرزنجوش و عصاره آبی آویشن و مرزنجوش در رده های بعدی قرارداشتند. Giordani در سال ۲۰۰۴، در مطالعه فعالیت ضد قارچی آمفوتریسین B با اسانس آویشن باغی در قارچ کاندیدا آلبیکنس مشاهده کردند که اسانس این گیاه فعالین ضد قارچی مشابهی با آمفوتریسین B دارد و برای درمان بیماری های قارچی نیز می‌توان از آن استفاده کرد.

علت تفاوت در مقادیر MIC و MFC در مطالعات مختلف را می‌توان به تفاوت در میکروارگانیسم‌ها، تفاوت در ترکیبات موجود در عصاره‌ها، تفاوت در غلظت‌های مورد استفاده از هر عصاره، تفاوت در نوع محیط کشت و ویسکوزیته عصاره و عوامل محیطی دانست (عادل و همکاران، ۱۳۹۳).

با توجه به سوابق استفاده از گیاهان دارویی در مزارع پرورش ماهی جهت کنترل و پیگشیری از بیماری‌های قارچی در دوره انکوباسیون که یکی از مهمترین عوامل زیان‌ده در صنعت تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری است و اثرات قوی عصاره الکلی آویشن باغی با غلظت ppm ۱۰۰۰ به بالاتر جایگزینی آن با مالاشیت گرین به منظور کاهش عوارض ناشی از مصرف آن در صنعت آبزی پروری و مصارف انسانی در اولویت کار قرار گیرد. لذا توصیه می‌شود در مطالعات آتی، ترکیبات موجود در عصاره آویشن باغی خالص سازی شده و ترکیبات موثر ضد قارچی مورد بررسی‌قرار بگیرد تا زمینه برای کاربرد دارویی آن علیه قارچ‌های بیماریزا به ویژه ساپرولگنیا در سیستم هچری فراهم شود. از طرفی با توجه به ارزیابی اقتصادی تحقیق حاضرو تهیه و عصاره گیری گیاه آویشن باغی و شرایط داشت و برداشت آسان این گیاه و مقایسه آن با مالاشیت گرین می‌توان چنین نتیجه گیری‌کرد که جایگزینی عصاره آویشن باغی درمقایسه با مالاشیت گرین از نظر اقتصادی به صرفه می باشد.

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-05-17]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1400.15.1.3.8]
[DOI: 10.52547/aqudev.15.1.19]

سپاسگزاری

نویسندگان مقاله کمال تقدیر و تشکر خود را ازموسسه تحقیقات بین المللی تاس‌ماهیان دریای خزر و جناب آقای دکتر مهدی معصوم‌زاده رئیس محترم بخش بهداشت و بیماریهای آن موسسه دارند.

منابع

۱. اکبری، پ.، ۱۳۸۵. بررسی اثرات ضد قارچی عصاره‌های گیاهی آویشن و مرزنجوش علیه ایزوله‌های بالینی کاندیدا البیکنس مقاوم و حساس به فلوکونازول. فصلنامه گیاهان دارویی، ۳(۱)، ۶۲-۵۳.

۲. پذیرا، ع.، ۱۳۹۶. فعالیت ضد قارچی اسانس آویشن باغی بر روی قارچ‌های آسپرژیلوس نیجر،آسپرژیلوس لاوس، آسپرژیلوس فومگاتوس، آسپرژیلوس نایجر و ساپرولگنیا پارازیتیکا جداسازی شده از پوست ماهی کوی (*Cyprinus carpio Koi*). نشریه توسعه آبزی پروری، ۱۱(۲) ، ۲۲-۱۳.

۳. سرفراز، ژ.، اکبریان، م.ع.، ۱۳۸۴. بر بیولوژی ماهیان خاویاری دریای خزر. انتشارات نقش مهر، ۱۱۰ صفحه.

۴. شریف روحانی، م.، ۱۳۸۳. بررسی کاربرد برخی اسانس‌های گیاهی در کنترل آلودگی‌های قارچی تخم قزل‌آلای رنگین‌کمان به عنوان جایگزین احتمالی مالاشیت گرین در شرایط کارگاهی. پایان نامه دکترای تخصصی بهداشت و بیماری‌های آبزیان، ۱۹۳ صفحه.

۵. شفیعی، ف.، داودی، ر.، باقری، د.، جمالی، ف.، نوریزدان، ح.، ۱۳۹۵. بررسی عملکرد عصاره سیر بر قارچ ساپرولگنیای جداسازی شده از تخم ماهی قزل-آلای رنگین‌کمان در مقایسه با مالاشیت گرین و برونوپول. نشریه پژوهش‌های ماهی شناسی کاربردی، ۴(۳) ، ۱۰۵-۹۳.

۶. کیخا، س.، قرایی، ا.، میردار هریجانی، ج.، غفاری، م.، راهداری، ع.، ۱۳۹۴. بررسی اثر ضدقارچی عصاره متانولی میوه سماق طی دوره انکوباسیون تخم ماهی سفیدک سیستان. مجله تحقیقات دامپزشکی، ۷۰(۲) ، ۱۳۷-۱۳۱.

۷. فیروزبخش، ف.، کاظمی، ر.، کاظمی، م.، خسروی، ع.، جلیل‌پور، ج.، ابراهیم‌زاده موسوی، ح.، ۱۳۸۸. بررسی قارچ های سطحی تاس ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) پرورشی و صید شده از دریای خزر. مجله تحقیقات دامپزشکی، ۱۸(۳)، ۲۹۵-۲۹۱.

۸. قیاسی ، م.، ۱۳۸۷. تعیین الگوی مولکولی و پروتئینی قارچ های آبزی (ساپرولگنیا) جدا شده از تخم‌های آلوده ماهیان خاویاری و استخوانی مراکز تکثیر و پرورش استان مازندران. پایان نامه دکتری تخصصی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، ۶۲ صفحه.

۹. عادل، م.، صفری، ر.، نعمت الهی، ا.، قیاسی، م.، نافیان دهکردی، ا.، ۱۳۹۳. ارزیابی فعالیت ضدقارچی اسانس‌های زولنگ، زیره سبز، اناریجه و سیر روی فوزاریوم سولانی جداسازی شده از ماهیان اکواریومی زینتی. نشریه پژوهش‌های ماهی شناسی کاربردی، ۲(۴) ، ۲۳-۳۲.

۱۰. کوهپایه، ع.، رئیسی، م.، حسینی فرد، م.، ۱۳۸۶. شناسائی برخی گونه‌های قارچی جدا شده از تخم ماهیان قزل آلا در استان چهارمحال و بختیاری. مجموعه خلاصه مقالات پنجمین گردهمایی دامپزشکان علوم بالینی ایران، صفحه ۳۰.

11. Alderman, D.J., 1982. Fungal disease of aquatic animal. In: microbial disease of fish. 5nd Edition, Academic press, London, UK, pp. 242.
12. Beakes, G.W., Wood, S.E., Burr, A.W., 1994. Features which characterize Saprolegnia isolates from salmonid fish lesions. A review. In: Salmon Saprolegniasis. Report to Bonneville Power Administration, Portland, pp. 33-66.
13. Centeno, S., Calvo, M.A., Adelantado, C., Figueroa, S., 2010. Antifungal activity of

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-05-17]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1400.15.1.3.8]
[DOI: 10.52547/aqudev.15.1.19]

extracts of Rosmarinus officinalis and Thymus vulgaris against Aspergillus flavus and A. ochraceus. Pakistan Journal of Biological Sciences, 13(9), 452-455.

14. Czeczuga, B., Muszynsko, E., Wussoghi, G., Kamaly A., Kiziewicz, B., 1995. Aquatic faungi growing on the eggs of several species Acipenser fishes. Acta Ichthyologica Et Piscatoria, 15(2), 71-79.
15. Hussein, M.M., Hatai, K., 2002. Pathogenesity of saprolegnia species associated with outbreaks of salmonid saprolegniosis in Japan. Fishery Sciences, 68, 1067-1072.
16. Giordani R, Regli P, Kaloustian J, Mikaïl C, Abou L, Portugal H., 2004. Antifungal effect of various essential oils against Candida albicans. Potentiation of antifungal action of amphotericin B by essential oil from Thymus vulgaris. Phytotherapy Research, 18(12), 990-995.
17. Hellio, C., Bremer, G., Pons, A.M., Le Gal, Y., and Bourgougnon, N., 2000. Inhibition of the development of microorganisms) by extracts of marine algae from Brittany (France). Applied Microbiology and Biotechnology, 54, 543–549.
18. Jalilpour, J., Shenavar Masouleh A., Masoumzadeh, M., 2006. Fungal flora in *Acipenser persicus* eggs with particular emphasis on *Saprolegnia* sp. (Oomycetes) and mortality during mass incubation at Shahid Beheshti hatchery. Journal Applied Ichthyology, 22(1), 265-268.
19. Khulbe, R.D., 2001. A manual of aquatic fungi. 3nd Edition, Academic Press, London, England, pp. 87.
20. Moghtader, M., 2012. Antifungal effects of the essential oil from *Thymus vulgaris* L.and comparison with synthetic thymol on *Aspergillus niger*. Journal of Yeast and Fungal Research, 3(6), 83-88.
21. Mousavi, s.M., Raftos, D., 2012. In vitro antifungal activity of a new combination of essential oils against some filamentous fungi. Journal of Middle East Journal of Scientific Research, 6, 156-161.
22. Salaby AS. Razin AM. , 1992. Dense cultivation and fertilization for higher yield of *Thymus vulgaris*. Journal of Agronomy and Crop Science, 168, 243-248
23. Najib Zade, T., Yadegari, M.H., Naghdi Badi, H., 2009. Evaluation antifungal effects of essential oils 24. *Satureja khuzestanica* and *Myrtus communis*. Presented for the M.Sc, Tarbiat Modares University Tehran, pp. 98.
24. Soković, M., Glamoclija, J., Cirić, A., Kataranovski, D., Marin, P.D., Vukojević, J., Brkić, D., 2008. Antifungal activity of the essential oil of *Thymus vulgaris* L. and thymol on experimentally induced dermatomycoses. Drug Development and Industrial Pharmacy, 34(12), 1388-1393.
25. Shahbazian, N., Ebrahimzadeh Mousavi, H.A., Soltani, M., Khosravi, A.R., Mirzargar, S., Sharifpour, I., 2010. Fungal contamination in rainbow trout eggs in Kermanshah province propagations with emphasis on Saprolegniaceae. Iranian Journal of Fisheries Sciences, 9, 151-160.
26. Sharifian, M., Bolhari, B., Nosrat, A., Aligholi, M., 2009. The effect of carvacerol on *Enterococcus faecalis* as an intracanal medicament-Invitro study. Balkan Journal of Dental Medicine, 1(22), 35-40.
27. Viuda-Martos, M., Ruíz-Navajas, Y., Fernández-López, J. and Pérez Álvarez, J., 2007. Chemical composition of the essential oils obtained from some spices widely used in mediterranean region, Acta Chimica Slovenica, Vol.54, pp. 921–926.

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-05-17]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1400.15.1.3.8]
[DOI: 10.52547/aqudev.15.1.19]