

ارزیابی آزمایشگاهی اثر ضد قارچی عصاره آویشن (*Thymus vulgaris*) و مرزنجوش (*Origanum vulgare*) بر روی قارچ ساپروولگنیای جدا شده از ماهی قزل آلائی رنگین کمان مجتمع تکثیر و پرورش شهید مطهری یاسوج

علیرضا گلچین منشادی^{۱*}، سجاد جرکانی بیات^۲ و محمد ترحمی^۳

^۱گروه بهداشت و بیماری‌های آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کازرون، کازرون، ایران

^۲دانش آموخته دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کازرون، کازرون، ایران

^۳گروه بهداشت و بیماری‌های آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کازرون، کازرون، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۲/۲/۲۱؛ تاریخ پذیرش: ۹۳/۷/۸

چکیده

این تحقیق جهت بررسی اثرات ضدقارچی عصاره آویشن و مرزنجوش بر روی قارچ ساپروولگنیای در مجموعه تکثیر و پرورش سردآبی شهید مطهری یاسوج انجام گردید. بدین منظور به‌طور تصادفی از ۵۰ ماهی قزل‌آلائی رنگین‌کمان نمونه‌های قارچی از باله، آبشش و سطح پوست آنها اخذ و در محیط ساپرو دکسترو آگار کشت شد و جهت کارهای آزمایشگاهی به دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون منتقل گردید. نمونه‌های رشد یافته در محیط گرمخانه با استفاده از کلید شناسایی از جنس ساپروولگنیای تشخیص داده شده و از محیط تریپتون سوی براث جهت کشت مجدد استفاده گردید. عصاره‌گیری با استفاده از روش غوطه‌وری در متانول ۹۶ درصد انجام شد و عصاره متانولی به‌دست آمد. جهت بررسی اثر ضدقارچی عصاره‌های گیاهی از روش رقت‌های متوالی در لوله جهت تعیین حداقل غلظت بازدارنده (MIC) و تعیین حداقل غلظت کشنده (MFC) استفاده گردید. نتایج به‌دست آمده نشان داد که حداقل غلظت بازدارنده عصاره آویشن در غلظت‌های ۴۰، ۵۰، ۶۰، ۷۰ و ۸۰ درصد به‌ترتیب ۱۶، ۱۶، ۸، ۴ و ۲ میلی‌گرم بر لیتر و حداقل غلظت بازدارنده (MIC) عصاره مرزنجوش در غلظت‌های ۴۰ درصد، ۵۰ درصد، ۶۰ درصد، ۷۰ درصد و ۸۰ درصد به‌ترتیب ۱۶، ۸، ۴ و ۲ میلی‌گرم بر لیتر بوده است. حداقل غلظت کشنده قارچ (MFC) عصاره آویشن در غلظت‌های ۶۰ درصد، ۷۰ درصد و ۸۰ درصد به‌ترتیب ۱۶، ۱۶، ۸ و ۴ میلی‌گرک بر لیتر و حداقل غلظت کشنده (MFC) عصاره مرزنجوش در غلظت‌های ۶۰ درصد، ۷۰ درصد و ۸۰ درصد به‌ترتیب ۱۶، ۱۶، ۸ میلی‌گرم بر لیتر بوده است. هر دو عصاره آویشن و مرزنجوش بر روی قارچ ساپروولگنیای اثر دارند و از نظر غلظت رابطه معنی‌داری بین غلظت عصاره‌ها و تأثیر آنها با توجه به آزمون آماری آنالیز واریانس دو طرفه نیز وجود دارد ($P \leq 0.05$).

واژه‌های کلیدی: آویشن، اثر ضدقارچی، قزل‌آلائی رنگین کمان، مرزنجوش

مقدمه

از بیماری‌های شایع در کارگاه‌های تکثیر و پرورش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، بیماری قارچی ساپروولگنیازیس می‌باشد که تخم‌ها، لاروها و ماهیان پرورشی و مولد را درگیر کرده و باعث ایجاد تلفات بین آنها می‌شود و در کشور ما نیز این کارگاه‌ها هزینه و کار زیادی را صرف مبارزه با این بیماری می‌کنند (Lartseva, ۱۹۸۶).

بروز این بیماری به صورت ثانویه می‌باشد، زیرا عواملی نظیر آسیب‌های فیزیکی، بیماری‌های ویروسی، کمپلکس‌های بین آنها و هر بیماری که به نحوی در سطوح ماهی ایجاد زخم کرده باشد یا باعث کاهش قدرت ایمنی گشته و از آن طریق زمینه را برای بروز بیماری‌های باکتریایی یا انگلی فراهم نماید می‌تواند به‌طور ثانویه زمینه را برای بیماری‌های قارچی فراهم نماید (Kiziewicz و Czeczuga, ۱۹۹۹).

تاکنون تحقیقات زیادی در جهت پیشگیری، کنترل و درمان قارچ زدگی تخم‌ها و ماهیان صورت گرفته است و داروها و راه‌کارهای متعددی برای این منظور از جمله داروهای شیمیایی مانند مالاشیت سبز، فرمالین، کلرید سدیم، پراکسید هیدروژن، مس و یدوفورها و همچنین عصاره‌های گیاهی ضد قارچ، کنترل بیولوژیکی و اشعه‌های ماوراء بنفش معرفی شده‌اند (Hussein و همکاران، ۲۰۰۱). در این رابطه، استفاده از مالاشیت سبز به‌عنوان دارویی که دارای بیشترین اثر بر ضد عامل این بیماری است و هیچ دارو یا راهکار معرفی شده دیگر در این زمینه مؤثرتر از آن نبوده است و به همین دلیل در ایران و بسیاری از کشورهای دیگر در کارگاه‌های تکثیر و پرورش ماهی رایج شده است اما خطرات و یا مضرات آن به خصوص اثرات ناقص الخلقه‌زایی و جهش‌زایی آن در آبزیان و سرطان‌زا بودن آن برای انسان و کارگرانی که در کارگاه‌ها با آن سروکار دارند و یا از طریق آب

خروجی کارگاه‌ها و باقی‌مانده‌های آن در محیط و حتی محصولات کشاورزی آبیاری شده با آب این کارگاه‌ها ممکن است آنرا دریافت کنند غیرقابل اجتناب است. این امر باعث شده است که امروزه بسیاری از کشورها از اثرات قوی ضد قارچی آن صرف‌نظر کنند و استفاده از آن را ممنوع کرده و یا تقلیل دهند به همین دلیل تلاش در جهت جایگزین کردن آن و دیگر داروهای شیمیایی خطرناک نظیر فرمالین با داروها و روش‌های بی‌خطر و مؤثر از اهمیت زیادی برخوردار شده است (Fiegerd و Grandes, ۱۹۹۷).

اخیراً مطالعات زیادی بر روی اثرات ضد میکروبی گیاهان دارویی انجام گرفته است. آویشن و مرزنجوش از جمله گیاهان خانواده نعنائیان هستند و دو ماده تیمول و کارواکرول اصلی‌ترین ترکیبات مؤثره گیاهان جنس نعنائیان از جمله آویشن و مرزنجوش می‌باشد. و مطالعات زیادی با استفاده از اسانس و عصاره‌های آبی و الکلی آنها بر روی میکروب‌های مختلف انجام شده است (ابراهیم‌زاده موسوی و همکاران، ۱۳۸۶؛ Barazandeh, ۲۰۰۰؛ Chorianopoulos و همکاران، ۲۰۰۴؛ Manohar و همکاران، ۲۰۰۱؛ Marino و همکاران، ۱۹۹۹). بر این اساس این تحقیق به‌منظور معرفی و جایگزین کردن دارویی مؤثر، ارزان و بی‌خطر برای درمان بیماری‌های ساپروولگنیوز و جایگزین کردن آن به جای مواد شیمیایی نظیر مالاشیت سبز، فرمالین، پرمنگنات پتاسیم به انجام رسیده است.

مواد و روش‌ها

نمونه‌گیری: نمونه‌گیری از مرکز تکثیر و پرورش شهید مطهری یاسوج انجام گرفت، بدین ترتیب که از ماهیان پنج استخر به‌صورت تصادفی از محل پوست، باله و آبشش آنها با سواب استریل نمونه‌گیری انجام

شد و بر روی محیط ساابود کستروز آگار کشت داده شد. سپس محیط‌های کشت تلقیح شده به آزمایشگاه دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون منتقل و جهت رشد قارچ در دمای ۱۵ تا ۲۵ درجه سانتی‌گراد انکوباسیون گردید.

پس از اینکه قارچ‌ها در محیط ساابودکستروز آگار رشد کردند، ابتدا هر پرگنه قارچی را شماره‌گذاری کرده، سپس مقداری از هر پرگنه را بر روی لام قرار داده و یک قطره نفتوفتالین کاتن بلو بر روی آن ریخته و لامل را روی آن گذاشته و با بزرگ نمایی ۱۰۰ قارچ‌ها در حد جنس شناسایی شد (ابراهیم‌زاده موسوی و همکاران، ۱۳۸۶).

تلقیح قارچ: ابتدا ۵ لوله آزمایش شفاف و استریل انتخاب و به هر کدام ۵ میلی‌لیتر محیط کشت تریپتون سوی برات (Trypton Soy Broth) اضافه گردید. سپس به‌وسیله لوپ استریل چند کلونی از کشت خالص شده قارچ مورد نظر به لوله‌های حاوی محیط کشت اضافه گردید و به مدت ۲۴ ساعت در گرمخانه با دمای ۱۵ تا ۲۵ درجه نگهداری شد تا لوله‌های حاوی قارچ که به کدورت مک فارلن (۵/۵ cfu/10x1) برسند. برای استفاده در هر آزمایش ۲۰ میکرولیتر از لوله‌های حاوی قارچ که به کدورت مک فارلن رسیده‌اند را برداشته و به همه لوله‌های حاوی محیط کشت و عصاره اضافه شد (Elmer, ۱۹۹۴).

عصاره‌گیری: گیاهان آویشن شیرازی و مرزنجوش پس از تهیه به تایید موسسه تحقیقاتی گیاهان دارویی میمندفارس رسیده سپس خشک و آسیاب شدند و عصاره آنها به روش پركولاسیون استخراج گردید. در پایان، تمام عصاره‌های به‌دست آمده با روش تقطیر در خلاء تغلیظ و بعد از خشک کردن تا زمان انجام آزمایشات در یخچال نگهداری شدند (Ghasemi, Dehkordi, ۱۹۹۲).

سنجش حساسیت به روش تهیه رقت‌های متوالی در

لوله و تعیین MIC عصاره‌های گیاهی: برای به‌دست آوردن حداقل غلظت بازدارنده عصاره‌های گیاهی، برای هر عصاره ۸ سری (غلظت‌های ۱۰ تا ۸۰ درصد) ۱۲ تایی لوله آزمایش تهیه شد. ابتدا به تمام لوله‌ها محیط کشت تریپتون سوی برات اضافه گردید سپس در لوله‌های اول هر سری ۱ میلی‌لیتر عصاره با غلظت‌های ۱۰ تا ۸۰ درصد ریخته شد و ۱ میلی‌لیتر از لوله اول برداشته و به لوله دوم اضافه گردید و این کار را تا لوله ۱۰ ادامه یافت و در نهایت ۱ میلی‌لیتر از لوله ۱۰ برداشته و به بیرون ریخته شد. لوله ۱۱ شامل محیط کشت بدون عصاره و لوله ۱۲ شامل محیط کشت با عصاره به‌عنوان شاهد در نظر گرفته شد. در مرحله بعد به همه لوله‌ها جز لوله ۱۲، ۲۰ میکرولیتر سوسپانسیون قارچ که به کدورت مک‌فارلن رسیده و به نسبت ۱:۱۰۰ رقیق شده اضافه و در گرم‌خانه ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴-۴۸ ساعت قرار داده شد و لوله‌ها پس از خروج از گرم‌خانه مورد بررسی قرار گرفت. به این ترتیب در هر سری از لوله‌ها، لوله‌ای که قارچ در آن رشد نکرده باشد و کدورت نداشته باشد، غلظت عصاره گیاهی آن به‌عنوان MIC در نظر گرفته می‌شود. لوله ۱۱ باید رشد کند و لوله ۱۲ نباید رشد کند (Elmer, ۱۹۹۴).

تعیین حداقل غلظت کشنده قارچ (MFC): مراحل تعیین MFC با لوله‌های مایع حاوی عصاره آویشن و مرزنجوش، لوله‌های شفاف مانده به روش رقیق کردن در لوله جهت تعیین MFC روی محیط ساابودکستروز آگار کشت مجدد داده شد و در گرمخانه ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴-۴۸ ساعت قرار گرفت. کمترین غلظتی که هیچ‌گونه قارچی روی محیط کشت رشد نکرده بود، به‌عنوان کمترین غلظت کشنده قارچ یا MFC محسوب گردید (Elmer, ۱۹۹۴).

نتایج

نتایج آزمایش MIC عصاره آویشن به شرح زیر است: عصاره آویشن بر روی قارچ ساپروولگنیا در غلظت های ۴۰ درصد، ۵۰ درصد، ۶۰ درصد، ۷۰ درصد و ۸۰ درصد مانع رشد قارچ ساپروولگنیا گردیده

است و در غلظت های کمتر از ۴۰ درصد قارچ کرده است و عصاره توان بازدارندگی نداشته است. حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) عصاره آویشن برای مهار رشد قارچ ساپروولگنیا در جدول ۱ مشاهده می شود.

جدول ۱- کمترین غلظت مهار کنندگی (MIC) عصاره آویشن بر روی قارچ ساپروولگنیا

شماره لوله	رقت های عصاره آویشن	مقدار ماده موثر	غلظت های عصاره آویشن					
			%۱۰	%۲۰	%۳۰	%۴۰	%۵۰	
۱	۲/۱	۱۶	+	+	+	-	-	-
۲	۴/۱	۸	+	+	+	+	-	-
۳	۸/۱	۴	+	+	+	+	+	-
۴	۱۶/۱	۲	+	+	+	+	+	+
۵	۳۲/۱	۱	+	+	+	+	+	+
۶	۶۴/۱	۰/۵	+	+	+	+	+	+
۷	۱۲۸/۱	۰/۰۲۵	+	+	+	+	+	+
۸	۲۵۶/۱	۰/۰۱۲۵	+	+	+	+	+	+
۹	۵۱۲/۱	۰/۰۰۶۲۵	+	+	+	+	+	+
۱۰	۱۰۲۴/۱	۰/۰۰۳۱۲۵	+	+	+	+	+	+
۱۱	کنترل		+	+	+	+	+	+
۱۲	شاهد		-	-	-	-	-	-

+ رشد قارچ ساپروولگنیا؛ - عدم رشد قارچ ساپروولگنیا

نتایج MFC عصاره آویشن به شرح زیر است: عصاره آویشن بر روی قارچ ساپروولگنیا در غلظت های ۶۰ درصد، ۷۰ درصد و ۸۰ درصد اثر کشندگی داشته است و قارچ در غلظت های

کمتر از ۶۰ درصد (۵۰ و ۴۰ درصد) رشد کرده و عصاره فاقد اثر کشندگی بوده است. حداقل غلظت کشندگی (MFC) آن در جدول ۲ نشان داده شده است.

جدول ۲- کمترین غلظت کشندگی (MFC) عصاره آویشن بر روی قارچ ساپروولگنیا

شماره لوله	رقت های عصاره آویشن	مقدار ماده موثر (میلی گرم بر میلی لیتر)	غلظت های عصاره آویشن		
			%۴۰	%۵۰	%۶۰
۱	۲/۱	۱۶	+	+	-
۲	۴/۱	۸			+
۳	۸/۱	۴			-
۴	۱۶/۱	۲			+

+ رشد قارچ ساپروولگنیا؛ - عدم رشد قارچ ساپروولگنیا

غلظت‌های کمتر از ۵۰ درصد قارچ رشد کرده است و عصاره توان بازدارندگی نداشته است. حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) عصاره مرزنجوش برای مهار رشد قارچ ساپروولگنیا در جدول ۳ مشاهده می‌شود.

نتایج آزمایش MIC عصاره مرزنجوش به شرح زیر است: عصاره مرزنجوش بر روی قارچ ساپروولگنیا در غلظت‌های ۵۰ درصد، ۶۰ درصد، ۷۰ درصد و ۸۰ درصد مانع رشد قارچ ساپروولگنیا گردیده است و در

جدول ۳- کمترین غلظت مهارکنندگی (MIC) عصاره مرزنجوش بر روی قارچ ساپروولگنیا

شماره لوله	رقت‌های عصاره مرزنجوش	مقدار ماده موثر (میلی گرم بر میلی لیتر)	غلظت‌های عصاره مرزنجوش							
			%۸۰	%۷۰	%۶۰	%۵۰	%۴۰	%۳۰	%۲۰	%۱۰
۱	۲/۱	۱۶	-	-	-	-	-	+	+	+
۲	۴/۱	۸	-	-	-	-	+	+	+	+
۳	۸/۱	۴	-	-	-	+	+	+	+	+
۴	۱۶/۱	۲	-	+	+	+	+	+	+	+
۵	۳۲/۱	۱	+	+	+	+	+	+	+	+
۶	۶۴/۱	۰/۵	+	+	+	+	+	+	+	+
۷	۱۲۸/۱	۰/۰۲۵	+	+	+	+	+	+	+	+
۸	۲۵۶/۱	۰/۰۱۲۵	+	+	+	+	+	+	+	+
۹	۵۱۲/۱	۰/۰۰۶۲۵	+	+	+	+	+	+	+	+
۱۰	۱۰۲۴/۱	۰/۰۰۳۱۲۵	+	+	+	+	+	+	+	+
۱۱	کنترل		+	+	+	+	+	+	+	+
۱۲	شاهد		-	-	-	-	-	-	-	-

+ رشد قارچ ساپروولگنیا؛ - عدم رشد قارچ ساپروولگنیا

درصد رشد کرده و عصاره فاقد اثر کشندگی بوده است. حداقل غلظت کشندگی (MFC) آن در جدول ۴ نشان داده شده است.

نتایج آزمایش MFC عصاره مرزنجوش به شرح زیر است: عصاره آویشن بر روی قارچ ساپروولگنیا در غلظت‌های ۶۰ درصد، ۷۰ درصد و ۸۰ درصد اثر کشندگی داشته است و قارچ در غلظت ۵۰

جدول ۴- کمترین غلظت کشندگی (MFC) عصاره مرزنجوش بر روی قارچ ساپروولگنیا

شماره لوله	رقت‌های عصاره مرزنجوش	مقدار ماده موثر mg/ml	غلظت‌های عصاره مرزنجوش			
			%۸۰	%۷۰	%۶۰	%۵۰
۱	۲/۱	۱۶	-	-	-	+
۲	۴/۱	۸	-	-	+	
۳	۸/۱	۴	+	+	+	
۴	۱/۱۶	۲	+			

+ رشد قارچ ساپروولگنیا؛ - عدم رشد قارچ ساپروولگنیا

همکاران، ۲۰۱۳). اخیراً استفاده از ترکیباتی که به طور کلی بی ضرر تلقی می شوند و به GRAS معروف هستند، توجه زیادی را به خود معطوف کرده اند. ترکیبات طبیعی فعال بیولوژیکی مشتق از گیاهان از جمله مهمترین ترکیبات GRAS می باشند زیرا مواد حاصل از اسانس و عصاره های گیاهان را می توان جهت حفظ و نگهداری مواد غذایی و داروسازی و به عنوان عوامل درمانی جایگزین علیه بیماری ها و عفونت های میکروبی به کار برد. با این وجود در حال حاضر حدود ۲۰-۵۰ درصد از داروهای رایج با منشاء گیاهی در دنیا مصرف می شود. از آنجایی که روز به روز بر تعداد باکتری های بیماری زای مقاوم به آنتی بیوتیک رایج افزوده می شود، لذا جهت کنترل و از بین بردن عفونت های میکروبی مقاوم خصوصاً عفونت های بیمارستانی، کشف عوامل درمانی جدید یک نیاز ضروری می باشد (Kumar و همکاران، ۲۰۰۳). آویشن و مرزنجوش از جمله گیاهان خانواده نعنائیان هستند و مطالعات زیادی با استفاده از اسانس و عصاره های آبی و الکلی گیاه آویشن و مرزنجوش بر روی میکروب های مختلف انجام گرفته است. دو ماده تیمول و کارواکرول اصلی ترین ترکیبات موثره گیاهان جنس نعنائیان از جمله آویشن و مرزنجوش می باشد. مارینو و همکاران نشان دادند که اسانس آویشن فعالیت باکتری کشی بسیار بالایی داشته و بیشترین تأثیر را بر روی اشیریشیا کولی عامل اسهال دارد (Marino و همکاران، ۱۹۹۹). مانوهار و همکاران (۲۰۰۱) اثر مهارکنندگی اسانس مرزنجوش بر روی اسپریتیلوس، هنسولا و قارچ های در ماتوفیت رشته ای مانند تریکوفایتون روبروم و کاندیدا آلبیکنس را نشان دادند. آنها دریافتند که روغن آویشن رشد کاندیدا آلبیکنس را در غلظت ۰/۲۵ میلی گرم در لیتر کاملاً مهار می کند (Manohar و همکاران، ۲۰۰۱). در مطالعه دیگری گندمی نصرآبادی

جهت آنالیز آماری نتایج به دست آمده از آزمون واریانس دو طرفه به منظور ارزیابی رابطه بین غلظت عصاره های آویشن و مرزنجوش و تأثیر آنها استفاده گردید. آنالیزهای آماری با استفاده از نرم افزار SPSS 18 انجام گردید. نتایج نشان داد رابطه معنی داری بین غلظت عصاره های آویشن و مرزنجوش و تأثیر آنها نیز وجود دارد ($P \leq 0/05$). میانگین ماده موثره آویشن و مرزنجوش برای مهار رشد قارچ ساپروولگنیا به ترتیب ۶/۹ و ۶/۸ میلی گرم / میلی لیتر و میانگین ماده موثره آویشن و مرزنجوش برای کشندگی قارچ ساپروولگنیا به ترتیب ۵/۵ و ۳/۷۵ میلی گرم / میلی لیتر است.

بحث

به طور کلی یکی از مهمترین و بزرگترین دلایل ضررهای اقتصادی در کارگاه های تکثیر و پرورش ماهی بیماری می باشد. عفونت های قارچی بعد از عفونت های باکتریایی از لحاظ اقتصادی در پرورش ماهی در درجه دوم قرار دارند که یکی از مهمترین آنها ساپروولگنیوزیس می باشد (Hussein و همکاران، ۲۰۰۱). به طوری که در مطالعه ای که شهبازیان و همکاران (۲۰۰۹) انجام دادند نشان دادند که از ۱۷ نوع قارچ جدا شده از تخم قارچ زده ماهیان ۵ تای آنها مربوط به خانواده ساپروولگنیا می باشد (۱۸). در مطالعه ای توسط ابراهیم زاده و همکاران (۲۰۰۷) در مازندران انجام داد نشان داده شد که از ۱۲ نوع قارچی که از تخم قارچ زده ماهیان جدا کرده بودند، سه تای آنها مربوط به خانواده ساپروولگنیا می باشد (ابراهیم زاده موسوی و همکاران، ۱۳۸۶). Czczuga و Kiziewicz (۱۹۹۹) بزرگترین مشکل قارچی ماهیان را ساپروولگنیا عنوان نمودند (Czczuga و Kiziewicz، ۱۹۹۹) که البته از نظر Hussein و همکاران (۲۰۰۱) مهمترین گونه بیماری زای ساپروولگنیا، ساپروولگنیا فراکس می باشد (Hussein و

تنها عصاره تام متانولی آویشن توانایی مهار رشد ایزوله‌های مقاوم به فلوکونازول را داشت (اکبری، ۱۳۸۵). *Vidua-materus* و همکاران (۲۰۰۷) نشان دادند که اسانس آویشن باعث کاهش رشد میسلیم اسپرژیلوس در مقادیر ۲، ۴ و ۶ میلی‌لیتر و همچنین مهار رشد در مقدار ۸ میلی‌لیتر می‌شود (*-Viuda Martos* و همکاران، ۲۰۰۷). اخیراً شریفی و همکاران (۱۳۹۱) نشان دادند که عصاره هیدروالکلی جفت گیاه بلوط بر روی قارچ ساپروولگنیا اثر مهاری دارد حداقل مقدار ماده موثر مهاری آن ۵۰ میلی‌گرم / میلی‌لیتر است (شریفی و همکاران، ۱۳۹۱). در مطالعه دیگری که ابراهیم‌زاده و همکاران (۱۳۸۵) انجام دادند نشان دادند که اسانس اکالیپتوس در درمان قارچ‌زدگی تخم قزل‌آلا موثر است و در دوزهای ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ پی.پی.ام باعث مهار رشد قارچ می‌شود و این در حالی است که در مطالعه ما حداقل غلظت مهاری آویشن مرزنجوش بر روی قارچ ساپروولگنیا در مورد آویشن در حداقل آن که غلظت ۴۰ درصد بود، ۱۶ میلی‌گرم/میلی‌لیتر است و در مورد مرزنجوش در حداقل غلظت که ۵۰ درصد بود، ۸ میلی‌گرم/میلی‌لیتر است و حداکثر غلظت آنها که ۸۰ درصد بود، ۲ میلی‌گرم/میلی‌لیتر است و نشان‌دهنده این است که این دو گیاه به نسبت اثر قوی تری نسبت به اکالیپتوس و جفت گیاه بلوط دارند. البته برای اثبات این نظریه نیاز به تحقیق و مطالعه بیشتری نیز می‌باشد (ابراهیم‌زاده موسوی و همکاران، ۱۳۸۵).

و همکاران (۱۳۸۷) نشان دادند که اسانس آویشن شیرازی بر روی رشد و اسپورزایی اسپرژیلوس فلاووس اثر دارد و بر روی اسپورزایی بیشتر از رشد میسلیم دارد. آنها نشان دادند تمام غلظت‌های مورد بررسی دارای اثر معنی‌داری بر رشد و اسپورزایی این قارچ بودند. میزان MIC MFC به ترتیب ۴۰۰ و ۱۰۰۰ پی پی ام به دست آمد (گندمی نصرآبادی و همکاران، ۱۳۸۷). در مطالعه دیگری محبوبی و فیض آبادی (۱۳۸۸) نشان دادند که اسانس آویشن و مرزنجوش از اسانس اکالیپتوس، اثر ضدقارچی بیشتری دارد. آنها از ترکیبات دوتایی بهره گرفتند میزان MIC و MFC ترکیب آویشن و مرزنجوش به ترتیب ۶۳ و ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر اندازه‌گیری شد (محبوبی و فیض‌آبادی، ۱۳۸۸). اکبری (۱۳۸۵) نشان داد که اسانس و عصاره آویشن و مرزنجوش قادر به مهار رشد کاندیدا البیکنس می‌باشد. بررسی تاثیر عصاره تام متانولی و عصاره آبی، دو گیاه دارویی آویشن و مرزنجوش بر روی ایزوله‌های کاندیدا البیکنس حساس و مقاوم فلوکونازول به روش رقیق سازی در محیط مایع در شرایط آزمایشگاه نشان داد که اسانس و عصاره از هر دو نوع گیاه قادر به مهار رشد ایزوله‌های حساس به فلوکونازول قارچ از طریق وابسته به غلظت بودند که از این میان عصاره تام متانولی آویشن بیشترین اثر ضدقارچی را داشت (محدوده ۱۲۵-۰/۴۹ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) و پس از آن به ترتیب اسانس مرزنجوش و عصاره آبی آویشن و مرزنجوش در رده‌های بعدی قرار داشتند. در حالی که

منابع

ابراهیم‌زاده موسوی، ح.، حسینی‌فرد، س.م.، خسروی، ع.، سلطانی، م.، آخوندزاده یوسفیان، م.، ۱۳۸۶. جداسازی و شناسایی قارچ‌های ساپروفیت از آلودگی قارچی تخم ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در مزارع تکثیر استان مازندران. مجله تحقیقات دامپزشکی، دوره ۶۲، شماره ۳، صفحات ۱۶۳ تا ۱۶۸.

ابراهیم‌زاده موسوی، ح.، شریف‌روحانی، م.، خسروی، ع.، مهرابی، ی.، آخوندزاده بستی، ا.، ۱۳۸۵. ارزیابی کاربرد اسانس اکالیپتوس در کنترل آلودگی‌های قارچی تخم قزل‌آلای رنگین‌کمان. فصلنامه گیاهان دارویی، سال پنجم، شماره بیستم، صفحات ۴۳۷ تا ۴۴۷.

اکبری، س.، ۱۳۸۵. بررسی اثرات ضد قارچی عصاره‌های گیاهی آویشن (*Thymus vulgaris* L.) و مرزنجوش (*Origanum vulgare* L.) علیه ایزوله‌های بالینی کاندیدا البیکنس مقاوم و حساس به فلوکونازول. فصلنامه گیاهان دارویی، سال ششم، شماره ۲۱، صفحات ۵۳ تا ۶۲.

شریفی، ا.، گرجی‌پور، ر.، گرجی‌پور، ع.، سردسیری، م.، محمدی، ر.، جبارنژاد، ع.، ۱۳۹۱. اثر ضد قارچی عصاره هیدروالکلی جفت گیاه بلوط بر روی قارچ ساپروولگنیا ارمغان دانش. مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، دوره ۱۷، شماره ۱، صفحات ۷۸ تا ۸۴.

گندمی نصرآبادی، ح.، مینافی، ع.، آخوندزاده بستی، ا.، خسروی، ع.، بکایی، س.، عباسی‌فر، آ.، ۱۳۸۷. اثر اسانس آویشن شیرازی روی اسپرژیلوس فلاووس. فصلنامه گیاهان دارویی، سال هفتم، دوره سوم، صفحات ۴۵ تا ۵۱.

محبوبی، م.، فیض‌آبادی، م.، ۱۳۸۸. بررسی اثر ضد میکروبی اسانس‌های آویشن، مرزنجوش، مرزه و اکالیپتوس بر باکتری‌های اشریشیاکلی، سالمونلا تیفی موریوم و قارچ‌های اسپرژیلوس نایجر، اسپرژیلوس فلاووس. فصلنامه گیاهان دارویی، سال هشتم، شماره سی‌ام، صفحات ۱۳۷ تا ۱۴۴.

Barazandeh, M.M. 2000. Essential oil composition of *Origanum majorana* L.iran.Med and Aromatic Plants Res. 65-75.

Chorianopoulos, N., Kalpoutzakis, E., Aligiannis, N., Mitaku, S., Nychas, G.J. and Haroutounian, S.A., 2004. Essential oils of *Satureja*, *Origanum*, and *Thymus* species: chemical composition and antibacterial activities against foodborne pathogens. J. Agric. Food. Chem. 52, 8261-8267.

Czeczuga, B. and Kiziewicz, B., 1999. Zoospore fungi growing on the eggs of *Carassius carassius* L. in oligo and eutrophic water. Polish Journal of Environmental Studies, 8: 63-66.

Elmer, W., 1994. Microbial Susceptibility Testing Color Atlas and Text book of Diagnostic Microbiology. 4th ed. Lippincott, Philadelphia, USA, P: 256.

Fiegerd Grandes, J.M., 1997. Pathology of some isolates of *Saprolegnia* spp. In experimental infections of *oncorhynchus mykiss*, VII international conference disease of fish & shellfish, E.F.P.A Scotland.

Ghasemi Dehkordi, N., 1992. Herbal Pharmacopeia of Iran, Research Vice councillor of Ministry of Health of Iran. Tehran, Drug and Food Vise councilor pp: 15-33.

Hussein, M., Hatai, K., and Nomura, T., 2001. Saprolegniosis in salmonid and their egg in Japan. Journal of Wild Disease 37, 204-207.

Kumar, V., Cortan, R.S. and Robbins, S.L., 2003. Robbins Basic Pathol. 7th ed. Saunders, USA, pp: 9-11.

Lartseva, L.V., 1986. Saprolegnia on the spawn of sturgeons and salmons. Hydrobiology Journal 22, 103-107.

Manohar, V., Ingram, C., Gray, J., Talpur, N.A., Echard, B.W., Bagchi, D. and Preuss, H.G., 2001. Antifungal activities of *Origanum* oil against *Candida albicans*. Mol. Cell. Biochem. 228, 111-117.

Marino, M., Bersani, C., and Comi, G., 1999. Antimicrobial activity of the essential oils of *Thymus vulgaris* L. measured using a bioimpedometric method. J. Food. Prot. 62(9), 1017-1023.

Shahbazian N., Ebrahimzadeh Mousavi, H.A., Soltani, M., Khosravi, A.R., Mirzargar, S. and Sharifpour, I., 2010. Fungal contamination in rainbow trout eggs in Kermanshah province propagations with emphasis on Saprolegniaceae, Iranian Journal of Fisheries Sciences 9(1), 151-160.

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 Chim. Slov. 54, 921-926.