مجله تحقیقات دامپزشکی، ۱۳۹۱، دوره ۶۷، شماره ۴، ۳۱۲-۳۰۷

مهار رشد و تغییرات مورفولوژیکی پنی سیلیوم سیترینوم در پاسخ به اسانس آویشن شیرازی

فاطمه اکرمی مهاجری[۱] علی میثاقی[۱*] افشین آخوند زاده بستی[۱] حمید رضا قیصری[۲] علیرضا خسروی[۳] حسن گندمی[۱] هادی ابراهیم نژاد[۲]

۱) گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذائی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.
۲) گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذائی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز، شیراز - ایران.
۳) گروه قارچ شناسی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، تهران - ایران.

(دریافت مقاله: ۲۰ بهمن ماه ۱۳۹۰ ، پذیرش نهایی: ۳۰ فروردین ماه ۱۳۹۱)

چکیده

زمینه مطالعه: توجه و علاقه فزاینده به جایگزینی نگهدارنده‌های شیمیایی با انواع طبیعی منجر به انجام مطالعات زیادی بر روی اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی شده است. **هدف:** هدف از این مطالعه، ارزیابی اثر اسانس بر روی رشد، درصد مهار رشد و مورفولوژی پنی سیلیوم سیترینوم می‌باشد. **روش کار:** در این مطالعه اثر غلظت‌های مختلف اسانس آویش شیرازی روی رشد، اسپورزایی و مرفولوژی کپک پنی سیلیوم سیترینوم مورد مطالعه قرار گرفت. **نتایج:** تمام غلظت‌های مورد بررسی دارای اثر معنی‌داری بر روی رشد و اسپورزایی پنی سیلیوم سیترینوم بودند. میزان MIC و MFC، ۴۰۰ppm به دست‌آمد. در بررسی میکروسکوپ الکترونی، اسپورزایی شدید گروه کنترل در مقابل اسپورزایی اندک گروه تیمار مشاهده شد. هم چنین در گروه تیمار تغییرات مرفولوژی شامل چین خوردگی و فرو رفتگی سطح و از بین رفتن شفافیت و یکنواختی سطح هایف مشاهده شد. **نتیجه‌گیری نهایی:** به طور کلی چنین نتیجه‌گیری می‌شود که اسانس آویشن شیرازی به عنوان یک طعم دهنده طبیعی گیاهی اثر حفاظتی علیه کپک‌ها دارد و می‌تواند برای برخی از مواد غذائی به عنوان نگه دارنده استفاده شود.

واژه‌های کلیدی: اسانس آویشن شیرازی، پنی سیلیوم سیترینوم، رشد، تولید اسپور.

مقدمه

اسانس‌های گیاهی که روغن‌های فرار یا روغن‌های اتری نیز نامیده می‌شوند، ترکیبات روغنی آروماتیکی مایعی هستند که از قسمت‌های مختلف گیاهان مانند گل، برگ، دانه، چوب، میوه و... بدست می‌آیند (۴). اسانس‌های گیاهی به طور عمده از ۹۵-۶۷ از اجزای تریپنی تشکیل شده‌اند(۱۵،۱۹)که با روش‌های مختلفی مانند تقطیر، عصاره گیری و فشار استخراج می‌شوند (۴،۱۹). اگر چه ادویه‌ها به خاطر بو، طعم و خواص نگهدارندگی از زمان‌های باستان مصرف می‌شدند اما اسانس‌های گیاهی به معنای امروزی اولین بار توسط مصری‌ها و رومی‌های قدیم نام برده شدند (۴،۱۳). مصریان باستان از روغن‌های مانند دارچین و شبدر برای مومیایی مردگان استفاده می‌کردند(۱۳). مدت زمان زیادی است که که خاصیت ضد باکتریایی بعضی از اسانس‌های گیاهی مشخص شده است (۴،۵،۱۳). اخیراً تمایل مصرف کننده‌ها به جایگزینی نگهدارنده شیمیایی با انواع طبیعی، منجر به افزایش مطالعات در این زمینه شده است که علاوه بر خاصیت ضد باکتریایی اسانس‌های گیاهی و یا ترکیبات آنها، خاصیت ضد ویروس، ضد قارچی، ضدانگل، ضد سمی و حشره کشی آنها نیز مشخص شده است (۴).

حضور رشد قارچ‌ها در روی مواد غذائی می‌تواند موجب کاهش کمی و کیفی ماده غذائی شود(۱۱،۱۲). رشد قارچ‌ها همچنین می‌تواند باعث ایجاد خطراتی برای سلامتی انسان شوند زیرا بعضی از گونه‌های قارچ‌ها قادر به تولید مایکوتوکسین‌ها می‌باشند (۶،۱۸). مایکوتوکسین‌ها ترکیباتی هستند که که از متابولیت‌های ثانویه گونه‌های مختلف قارچ‌ها منشأ می‌گیرند و می‌توانند مواد غذائی و غلات را آلوده کنند که خوردن این متابولیت اثرات زیان آوری در حیوان و انسان دارد. سیترینین یک متابولیت ثانویه سمی است که اولین بار از قارچ پنی سیلیوم سیترینوم جدا شد (۹،۱۷،۱۸). سیترینین دارای خاصیت نفروتوکسیک می‌باشد و یک فاکتور مطرح در نفروپاتی اندمیک بالکان می‌باشد (۹،۱۷،۱۸).

در پی آگاهی عمومی از عوارض سرطان زائی، فیتوتوکسیستی و تراتورژنیستی مواد ضد قارچی نگهدارنده‌های که برای کنترل قارچ‌ها در مواد غذائی مورد استفاده قرار می‌گیرد، تقاضا برای غذاهای سالم با مواد تازه یا حداقل فراوری شده در حال افزایش است و این موضوع باعث تحقیقات فراوانی برای شناسائی ترکیبات طبیعی به ویژه اسانس برای جلوگیری از رشد قارچ‌ها و تولید توکسین شده است(۱۰،۱۲،۱۴).

آویشن شیرازی یک گیاه معطر ادویه‌ای متعلق به خانواده لامیاسه بوده که در ایران، پاکستان و افغانستان رشد می‌کند(۱). اجزای اصلی این گیاه ترکیبات فنولی مثل کارواکرول و تیمول است (۳). هدف از این مطالعه، ارزیابی اثر اسانس بر روی رشد، درصد مهار رشد و مورفولوژی پنی سیلیوم سیترینوم توکسین‌زا ATCC ۱۱۳۵۶ می‌باشد.

*)نویسنده مسؤول: تلفن: ۰۲۱-۶۱۱۱۷۰۴۰ نمابر: ۰۶۱-۶۶۹۳۳۲۲۲ Email: a_misaghi@hotmail.com

مواد و روش کار

تهیه اسانس و آنالیز آن: گیاه آویشن شیرازی از استان فارس در فصل تابستان جمع آوری و توسط گیاه شناس پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی نام علمی آن تایید شد. پس از تهیه اسانس گیاه از سر شاخه‌های هوایی گیاه، به روش تقطیر با بخار آب، آنالیز اسانس توسط دستگاه کروما توگرافی گازی ـ طیف نگار جرمی (GC-MS) انجام شد. دستگاه GC-MS از نوع Thermoquest Finnigan با ستون موئینه به طول ۳۰m و قطر داخلی ۲۵۰μm بود. برنامه دمائی ۵۰ تا ۲۶۵ با افزایش تدریجی ۲/۵ در هر دقیقه و نگهداری ستون در $۲۶۵^{o}C$ به مدت ۳۰ دقیقه استفاده شد. دمای اتاقک تزریق $۲۵۰^{o}C$ و گاز حامل هلیم با سرعت ۱/۵mm در دقیقه بود. از شناساگر EI با انرژی یونیزاسیون ۷۰eV و دمای منبع یونیزاسیون ۲۵۰ جهت تشخیص اجزای اسانس استفاده شد (۸).

تهیه سوسپانسیون اسپورقارچ: قارچ مورد بررسی پنی سیلیوم سیترینوم ATCC ۱۱۳۵۶ بود که از بخش قارچ‌شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران تهیه شد. ابتد قارچ در محیط پوتیتودکستروز آگار (PDA) شیب دار به مدت ۱۰-۷ روز در $۲۶^{o}C$ گرمخانه‌گذاری شده تا اسپور تولید شود. ۱۰ mL محلول ۵ ٪ توویین ۸۰ اضافه کرده و با میله شیشه‌ای خمیده استریل سطح کشت جهت برداشت اسپور به آرامی خراش داده شد. به منظور حذف قطعات میسلیوم، سوسپانسیون با استفاده از پشم شیشه فیلتر شد. تعداد اسپوربه وسیله هموسیتومتر شمارش شده و غلظت اسپور توسط محلول ۵ ٪ توویین ۸۰ به ۱۰۶ اسپور در هر میلی لیتر رسانده شد.

ارزش فعالیت‌های ضد قارچی در محیط اگار: محیط مذاب پوتیتو دکستروز آگار استریل حاوی غلظت‌های ۰ppm، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰، ۶۰۰، ۱۰۰۰ از اسانس آویشن شیرازی آماده شده و به ازای هر غلظت در ۳ پلیت توزیع شد. یک دیسک ۵mm کاغذ واتمن شماره ۱ در مرکز پلیت قرار داده و با ۱۰mL سوسپانسیون اسپور تلقیح کردیم و پلیت‌ها به مدت ۱۱ روز در $۲۶^{o}C$ گرمخانه‌گذاری شده و قطر کلونی روزانه اندازه‌گیری شد تا موقعی که در گروه کنترل تمام قطر پلیت توسط قارچ پوشانده شد. در مورد پلیت‌های که رشدی نشان ندادند دیسک‌ها به محیط فاقد اسانس انتقال داده شد تا اثر بازدارندگی یا کشندگی مشخص شود. کل آزمایش ۳ بار تکرار شد.

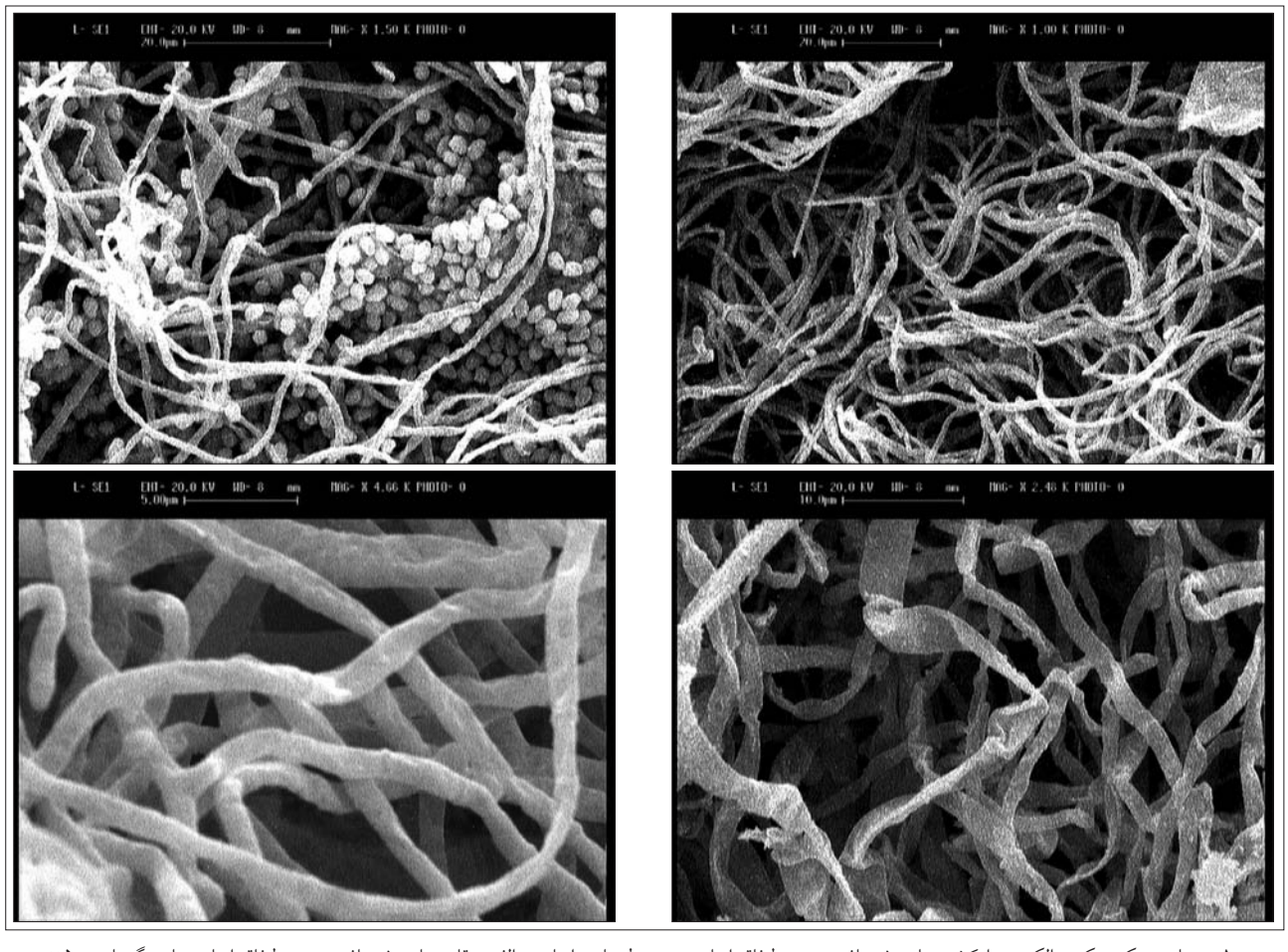
ارزیابی تولید اسپور: ۰/۱ml سوسپانسیون اسپور در پلیت‌های پوتیتو دکستروز آگار حاوی غلظت‌های مختلف اسانس تلقیح شده و در تمام سطح پلیت پخش شد. پلیت‌ها در $۲۶^{o}C$ به مدت ۱۰ روز گرمخانه گذاری شدند. کل توده میسلیوم تولید شده در هر پلیت به یک فلاسک حاوی ۵۰ml آب مقطر انتقال داده و به شدت تکان داده شده. اسپور به وسیله هموسیتومتر شمارش شده و به صورت تعداد اسپور در هر سانتیمتر مربع از پلیت محاسبه شد. به ازای هر غلظت ۵ پلیت استفاده شد.

میکروسکوب الکترونی اسکنینگ: در این مرحله از کشت‌های ۷ روزه رشد داده شده در محیط پوتیتودکستروز آگار بدون اسانس و محیط حاوی ۲۰۰ ppm اسانس استفاده شد. قطعات چند سانتیمتری از آگار به دقت بریده شد و در پلیت قرار داده شد. یک بشر کوچک حاوی نترا کسید از میوم ۴٪ در کنار کشت قرار داده شد و درب پلیت توسط پارافیلم به طور کامل بسته شد و فیکس کردن کشت‌ها به مدت ۴۸ ساعت با بخار تترا کسید ازمیوم انجام شد. بعد از فیکس کردن قطعات $۱cm^{2}$ از کشت‌ها تهیه شده و توسط چسب مخصوص روی پایک آلمینیوم قرار گرفت. نمونه به مدت ۳ دقیقه با طلا پوشانده شد و توسط میکروسکوپ الکترونی مدل 2300 Obducte com scan MV مشاهده شد.

تحلیل آماری: ابتدا از تجزیه واریانس یک‌طرفه جهت مقایسه میانگین‌ها استفاده شد و در مواردی که بین میانگین‌ها اختلاف معنی‌داری وجود داشت، از تست Tukey جهت جدا کردن آنها استفاده شد. میانگین‌ها در سطح اعتماد ۹۵٪ از لحاظ آماری متفاوت قلمداد شدند آنالیز آماری با استفاده از برنامه SPSS 10 انجام شد.

نتایج

بازده اسانس ۱/۶۶٪ (V/W) بود. نتیجه آنالیز اسانس در جدول ۱ آمده است. همان گونه که از جدول پیداست کارواکرول مهم‌ترین جزء این اسانس را تشکیل می‌دهد. نتایج اثر غلظت‌های مختلف اسانس آویشن شیرازی روی رشد پنی سیلیوم سیترینوم در جدول ۲ آمده است. تمام غلظت‌های مورد استفاده دارای اثر مهار کنندگی معنی‌داری روی رشد کپک بودند ($p<۰/۰۵$). نتایج حاصل نشان می‌دهد این اثر دارای الگوی وابسته به دوز بوده و با افزایش غلظت اسانس اثر مهار کنندگی افزایش می‌یابد، به طوری که در غلظت ۲۰۰ppm مهار رشد به ۹۰٪ رسید. در غلظت ۲۰۰ppm تا روز ۹ هیچ رشدی مشاهده نشد و بعد از آن هم سرعت رشد نسبت به نمونه کنترل بسیار کم تر بود. غلظت ۴۰۰ ppm دارای ۱۰۰٪ اثر مهار کنندگی روی رشد بوده و در طول ۱۱ روز هیچ رشدی مشاهده نشد. حداقل غلظت مهار کنندگی اسانس و حداقل غلظت کشنده ۴۰۰ppm به دست آمد. نتایج حاصل در تولید اسپور نشان می‌دهد که اسانس روی اسپورزایی هم اثر بازدارنده داشته و این اثر در تمام غلظت‌های مورد بررسی معنی‌دار است ($p<۰/۰۵$). این اثر هم وابسته به دوز بوده و بیش ترین اثر بازدارندگی در غلظت ۲۰۰ppm دیده می‌شود (۱۰۰٪). نتایج حاصل از میکروسکوپ الکترونی در تصویر ۱ آورده شده است. تصویر الف ساختار کلی قارچ رشد کرده در محیط فاقد اسانس را نشان می‌دهد. کلنی رشد کرده در محیط فاقد اسانس به شدت اسپورزایی کرده و ساختار تشکیل دهنده اسپور تمام سطح کلنی را پوشانده است. تصویر ب کلونی رشد یافته در حضور ۲۰۰ ppm اسانس را نشان می‌دهد. کلونی‌ها فاقد اسپور بوده و میسیلیوم قارچ به خوبی قابل رویت است. تصویر ج و د مورفولوژی هیفای قارچی در محیط بدون اسانس و محیط حاوی اسانس را نشان می‌دهد. در تصویر ج، کپک نمونه کنترل دارای هایفای سالم با سطح صاف می‌باشد. در هایفهای



تصویر ۱ ـ تصاویر میکروسکوپ الکترونی از کشت‌های رشد یافته در محیط فاقد اسانس و محیط حاوی اسانس، الف ـ قارچ‌های رشد یافته در محیط فاقد اسانس با بزر گنمایی ۵۰۰×، ب ـ قارچ‌های رشد یافته در محیط حاوی اسانس با بزر گنمایی ۵۰۰×، ج ـ قارچ‌های رشد یافته در محیط فاقد اسانس با بزر گنمایی ۲۵۰۰×، د ـ قارچ‌های رشد یافته در محیط حاوی اسانس با بزر گنمایی ۲۵۰۰×.

جدول۱ـ ترکیب اسانس آویشن شیرازی که به روش گاز کروماتوگرافی ـ طیف سنج جرمی شناسایی شده است.

ترکیبات	شاخص بازداری	(٪)
توجن	۹۳۰	۰/۱۹
آلفا پینن	۹۳۷	۴/۲۶
بتا پنین	۹۷۶	۰/۴۳
بتا میرسن	۹۸۵	۰/۸۵
آکالیپتول	۱۰۲۴	۳/۳۷
گاما ترپینن	۱۰۵۵	۳/۳۴
لینا لول	۱۰۹۰	۰/۶۸
تیمول متیل اتر	۱۲۳۶	۰/۴۷
کارواکرول متیل اتر	۱۲۴۳	۰/۴۶
کارواکرول	۱۲۹۹	۷۱/۱۲
ترانس کاریوفیلن	۱۴۱۸	۰/۴۱
گلوبولول	۱۵۸۲	۲/۳۲
مجموع		۹۱/۹

تیمار یافته یا ۲۰۰ppm اسانس تغییر مورفولوژی دیده می‌شود که شامل چین خوردگی، فرو رفتگی سطح و از بین رفتن شفافیت و یکنواختی سطح‌هایفاست.

بحث

اثرات ضد قارچی اسانس، ادویه‌ها و گیاهان معطر در بررسی‌های بسیاری ثابت شده است. نتایج حاصل از این تحقیق نشان گر اثر مهارکنندگی اسانس آویش شیرازی روی رشد و اسپورزایی پنی سیلیوم سیترینوم است که از الگوی وابسته به دوز پیروی می‌کند. Yahyazadeh و همکاران در سال ۲۰۰۸ اثر رازیانه، میخک، آویشن و مریم گلی را روی رشد پنی سیلیوم دیجتاتوم بررسی کردند و نشان دادند که در غلظت ۶۰۰ ppm، آویشن و میخک به طور کامل رشد قارچ را مهار کردند. رازیانه و مریم گلی فاقد اثر مهار کنندگی بر روی این قارچ بوده‌اند. در بررسی میکروسکوپیک چین خوردگی و بد شکلی هایف مشاهده شده است (۱۹) که این تغییرات می‌توانند در اثر تداخل بین ترکیبات اسانس‌های گیاهی و آنزیم‌های سنتز کننده دیواره سلولی اتفاق بیفتد (۷،۱۹). Lee و همکاران در سال ۲۰۰۹ اثر ۴۰ اسانس گیاهی روی رشد و مورفولوژی سم قارچ یا توژن گیاهی بررسی کردند و مشاهده کردند که بعضی از این اسانس‌ها اگر چه اثر ضد قارچی نداشتند یا این اثر معنی دار نبوده است ولی بر روی ساختار میکروسکوپیک

جدول ۲ ـ اثر غلظت‌های مختلف اسانس آویشن شیرازی روی رشد و تولید اسپور پنی سیلیوم سیترینوم در محیط پوتیتو دکستروز آگار، ۱-- ±SD قطر کلونی: که SD انحراف معیار ۳ آزمایش مجزا با ۳ تکرار در هر بار آزمایش است. ۲-±SD قطر کلونی: که SD انحراف معیار با ۵ تکرار در یک آزمایش است. a: غلظت معادل MIC Inhibition Concentration) MFC (Minimum Fetal Concentration), (Minimum حروف غیر مشابه در هر ستون نشانه اختلافات آماری معنی‌داری است (p<۰/۰۵).

غلظت اسانس (ppm)	قطر کلونی (mm)	مهار رشد (٪)	تعداد اسپور (Cm^2)	مهار تولید اسپور (٪)
۰	۷/۸۶±۰/۱۶[b]	۰	(۱/۲۵۰/۲)×۱۰[۷b]	۰
۵۰	۳/۶۵±۰/۱۵[c]	۵۳/۹۶	(۱/۲۲۰/۱)×۱۰[۶c]	۹۰/۲۴
۱۰۰	۲/۳±۰/۴۶[d]	۷۲/۳۷	(۸/۲۰/۷۷)×۱۰[۵d]	۹۳/۴۴
۲۰۰	۰/۷۸±۰/۱۱[e]	۹۰	عدم تولید اسپور	۱۰۰
۴۰۰[a]	f بدون رشد	۱۰۰	-	-
۶۰۰	f بدون رشد	۱۰۰	-	-
۱۰۰۰	f بدون رشد	۱۰۰	-	-

این قارچ‌ها تأثیر داشته‌اند و باعث بی نظمی، چین خوردگی، در سطح قارچ‌ها شده است (۷). در بررسی Tzortzakis و همکاران در سال ۲۰۰۷ در مطالعه‌ای اثر غلظت‌های مختلف گیاه گربه دشتی روی قارچ‌های پاتوژن گیاهی را بررسی و مشاهده کردند که این اسانس‌ها دارای اثر بازدارندگی معنی‌داری روی رشد و تولید اسپور در تمام قارچ‌های مورد بررسی است (۱۶). نتایج بررسی حاضر بیانگر اثر مهار کنندگی اسانس آویشن شیرازی روی رشد پنی سیلیوم سیترینوم در محیط آزمایشگاهی می‌باشد اما برای این استفاده عملی از این اسانس در مواد غذایی به‌عنوان جایگزین نگهدارنده‌های شیمیایی باید مطالعات بیشتری در رابطه با اثرات ضد قارچی و باکتریایی خصوصاً در مواد غذایی صورت گیرد.

تشکر و قدردانی

این پژوهش با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه تهران انجام شده و مولفین مراتب تقدیر و تشکر خود را از این معاونت اعلام می‌دارند.

References

1. Ali, M.S. Saleem. M., Ali, Z., Ahmad, V.U. (2000) Chemistry of *Zataria multiflora* (lamiaceace). Phytochemistry. 55: 993-997.
2. Bennet, J.W., Klich, M. (2003) Mycotoxins. Clin. Microbiol. Rev. 16: 497-516.
3. Bullerman, L.B., Lieu, F.Y., Seier, S.A. (1977) Inhibition nof growth and aflatoxin production by cinnamon and cloves oil ,cinnamic aldehyde and eugenal. J. Food Prot. 42: 1107-1109.
4. Burt, S. (2004) Essential oils their antibacterial properties and potential application in foods-a review. Int. J. Food Microbiol. 94: 223-253.
5. Daferera, D.G., Ziogos, B.N., Polissiou, M.G. (2000) GC-MS analysis of essential oil from some greek aromatic plants and their fungitoxicity on penicillium digitatum.J. Agric. Biol. Chem. 6: 2576-81.
6. Kure, C.F., SKaar, I. (2000) MouId growth on norwegian semi-hard cheese norvegia and jarlsberg. Int. J. Food Microbiol. 63: 133-137.
7. Lee, Y.S., Kim, J., Lee, S.G., OH, E. (2009) Effect of plant essential oils and components from oriental sweet gum (*Liquidambar orientalis*) on growth and morphogenesis of three phytopathogenic fungi. Pestic. Biochem. Physiol. 93: 138-143.
8. Misaghi, A., Akhondzade Basti, A. (2007) Effect of *Zataria multiflora* boiss essential oil and nisin on *Bacillus cereus* ATCC 11778. Food Control. 18:1043- 9.
9. Patkar, k., Ushea, C., Shety, H., Paster, N., lacey. (1993) Effect of spice essential olis on growth and aflatoxin B1 production by *Aspergillus flavus*. Lett. Appl. Microbiol. 17: 49-51.
10. Rasooli, I., Rezaei, M.B., Allameh, A. (2006) Growth inhibition and morphological alterations of *Aspergillus niger* by essential oils from thymus eriocalyx and thymus x-porlok. Food Control. 17: 359-64.
11. Razaghi-abyaneh, M., Shams-Ghab Farokh, M., Kawachi, M., Eslamifar, A. (2006) Ultrstructual evidence of growh inhibitory effect of anovel biocid akacid on an aflatoxigenic *Aspergillus parasiticus*. Toxicon. 48:1075-1082.
12. Sanchez, E., Heredia, N., Garcia, S. (2005) Inhibiton of growth and mycotoxin production of Aspergillus fIavus and *Aspergillus parasitican* by extract of agave species. Int. J. Food Microbiol. 98: 271- 279.
13. Singh, G., Maury, S., Lampason, M.P., Catalan, C. (2006) Chemical constituent, antifungal and anti-oxidative potential of foeniculum vulgare volatile and

its acetone extract. Food control. 17: 745-52.

14. Soliman, K.M., Badeaa, R.I. (2002) Effect of oil extracted from some medicinal plants on different mycotoxigenic fungi. Food. Chem Toxicol.40:1669-70.
15. Tornambe, G., Cornu, A., Verdier- Metz, I., Pradel, P. (2008) Addition of pasture plant essential oil in milk: influence one chemical and sensory properties of milk and cheese. Am. Dairy Sci. Assoc. 91: 58-69.
16. Tzortzakis, N.G., Economakis, C.D. (2007) Anti fungal activity of lemongrass essential oil against postharvest pathogen. Innov. Food Sci. Emerg. Technol. 8: 253-258.
17. Vazquez, B.I., Fente, C., Franco, C.M., Vazqez, M.J. (2001) Inhibitory effect of eugenol and thymol on *Penicillium citrinium* strains in culture media and cheese. Int. J. Food Microbiol. 67: 157-163.
18. Xu, B-J., Xja, X-Q., Gu, L.J., Sang, C.K. (2006) Review on the qualitative and quantitative analysis of the mycotoxin citrinin. Food Control. 17: 271-285.
19. Yahazadeh, M., Omidbaigi, R., Zare, R. ,Taheri, H. (2008) Effect of some essential oil on mycelial growth of *Penicillium digitatam* sacc. World J. Microbiol Biotechnol. 24: 1445-1450.

Growth inhibition and morphological alterations to *Penicellium citrinium* in response to *Zataria multiflora* Boiss. essential oil

Akrami Mohajeri, F .[1], Misaghi, A.[1*], Akhondzadeh, A.[1], Gheisari, H.R.[2], Khosravi, A.R.[3], Gandomi, H.[1], Ebrahimnejad, H.[2]

[1]*Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran-Iran.*

[2]*Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, University of Shiraz, Shiraz -Iran.*

[3]*Department of Mycology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran-Iran.*

(Received 8 February 2012 , Accepted 19 April 2012)

Abstract:

BACKGROUND: The growing interest in substitution of chemical food preservative with natural ones has fostered researches on plant essential oils and extracts. **OBJECTIVES:** The purpose of the current study was to evaluate the effect of *Zataria multiflora* Boiss. essential oil on growth respose, the percent of growth inhibitory and morphology of *Penicellium citrinum*. **METHODS:** Different concentrations of the essential oil (0, 50, 100, 200, 400, 600 ad 1000 ppm) were used in agar dilution method to evaluate growth and spore production parameters. The cultured mold were studied by scanning electron microscope. Values among groups were compared using 1-way ANOVA. **RESULTS:** It was found that the effect of different concentrations of essential oil on radial growth and sporulation was statistically significant ($p<0.05$). The minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum fungicidal concentration (MFC) both were 400ppm. According to scaning electron microscopy the treatment with the oil led to alterations in hyphal morphology. **CONCLUSIONS:** Our results suggest that *Zataria multiflora* Boiss. essential oil can be used as a natural preservative against *Pencillium citrinum* in foods.

Key words: *Zataria multiflora* Boiss. essential oil, *Penicellium citrinium*, growth, spore.

Figure Legends and Tabel Captions

Figure 1. Electron microscope micrographs of *penicellium citrinum* mycelia: (a) untreated (magnification ×500); (b) treated with 100 ppm *Z. multiflora* Boiss. essential oil (magnification ×500); (c) untreated (magnification ×2500); (d) treated with 100 ppm *Z. multiflora* Boiss. essential oil (magnification ×2500).

Table 1. Essential oil composition of *Z. multiflora* Boiss. identified by GC-MS.

Table 2. Effect of *Z. multiflora* Boiss. essential oil on radial growth and spore production by *Penicellium citrinum* on PDA. Figures in each column followed by different letters are significant at 5% Level. NG: no growth.

***Corresponding author's email: a_misaghi@hotmail.com, Tel: 021-61117040, Fax: 021-66933222**