

علمی پژوهشی

بررسی اثر ضدقارچی اسانس مورت بر پنیسیلیوم دیجیتاتوم و پنیسیلیوم ایتالیکوم (کپک‌های سبز و آبی میوه پرتقال)

مصطفی رحمتی جنیدآباد^{۱*}، بهروز عزیزاده بهبهانی^۲

۱- استادیار، گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملائانی، ایران
۲- استادیار، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملائانی، ایران

(تاریخ دریافت: ۹۹/۰۳/۲۲ تاریخ پذیرش: ۹۹/۰۶/۰۱)

چکیده

قارچ‌کشهای شیمیایی زیادی برای کنترل عفونتهای قارچی استفاده میشوند. با این وجود، تعدادی از این قارچ‌کشها برای سلامتی انسان مضر هستند. امروزه، استفاده از مواد طبیعی مانند اسانسهای روغنی و عصاره‌های گیاهی با کمترین عوارض جانبی مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته است. مورت یا مورد (*Myrtus communis*) متعلق به خانواده Myrtaceae است که به طور وسیعی در ایران رشد میکند. هدف از این پژوهش، بررسی فعالیت اسانس مورت سبز برای کنترل سویه‌های قارچی پنیسیلیوم دیجیتاتوم و پنیسیلیوم ایتالیکوم در شرایط آزمایشگاهی بود. ارزیابی فعالیت ضدقارچی اسانس مورت سبز به روشهای کربی-بوئر، چاهک آگار، رقت لوله ای (ماکروداپلوشن براث) و حداقل غلظت کشندگی بررسی شد. نتایج نشان داد که قطر هاله عدم رشد (روش کربی-بوئر) برای سویه‌های قارچی پنیسیلیوم دیجیتاتوم و پنیسیلیوم ایتالیکوم به ترتیب ۱۰/۶۰ و ۹/۷۰ میلی‌متر بود. قطر هاله عدم رشد (روش چاهک آگار) برای سویه‌های قارچی پنیسیلیوم دیجیتاتوم و پنیسیلیوم ایتالیکوم به ترتیب ۱۲/۳۰ و ۱۰/۵۰ میلی‌متر بود. حداقل غلظت مهارکنندگی برای سویه‌های قارچی پنیسیلیوم دیجیتاتوم و پنیسیلیوم ایتالیکوم به ترتیب ۶۴ و ۱۲۸ میلی‌گرم بر میلیلیتر بود. حداقل غلظت کشندگی اسانس مورت سبز نیز به ترتیب ۵۱۲ و ۵۱۲ میلی‌گرم بر میلیلیتر بود.

کلید واژگان: مورت سبز، پنیسیلیوم دیجیتاتوم، پنیسیلیوم ایتالیکوم، فعالیت ضدقارچی.

۱- مقدمه

در حال حاضر از بین رفتن محصولات کشاورزی در اثر حمله عوامل بیماری‌زای میکروبی (به ویژه قارچ‌ها) پس از برداشت محصول و هنگام انبارمانی توجه بسیاری از پژوهشگران در عرصه صنعت غذا را به خود جلب کرده است. به طوری که در سالیان اخیر تعداد زیادی از سازمان‌های بین‌المللی همانند سازمان خواربار و کشاورزی ملل متحد (فائو)، کاهش ضایعات پس از برداشت محصولات کشاورزی و غذایی را به عنوان هدف اصلی و اساسی پیگیری می‌کنند. سازمان‌های بین‌المللی بر این عقیده می‌باشند که هزینه کاهش ضایعات محصول به مراتب بسیار پایین‌تر از بالا بردن میزان تولید محصولات است [۱ و ۲]. در کشور ایران تولید مرکبات در میان مهمترین محصولات باغی رتبه دوم را به خود اختصاص داده است. میوه پرتقال رتبه نخست تولید در بین محصولات مرکبات در کشور ایران می‌باشد و تمایل به مصرف این محصول رو به افزایش است [۳]. متأسفانه به دلیل شرایط نامناسب نگهداری مرکبات (به ویژه پرتقال) در حین انبارداری بخش زیادی از این محصول با ارزش به دلیل فساد ناشی از سویه‌های قارچی همانند پنی سیلیوم و آلترناریا از بین می‌رود و خسارات مادی و اقتصادی بالایی را ایجاد می‌کنند. حمله عوامل بیماری‌زا به محصولات کشاورزی در تمامی مراحل رشد و نمو محصول و تا هنگام مصرف آن (نگهداری در انبارها و سردخانه‌های محصولات غذایی) می‌تواند اتفاق بیفتد [۴].

پنی سیلیوم متعلق به رده دترومیست^۱ (قارچ‌های ناقص) است. قارچ پنی سیلیوم دارای بیش از ۱۵۰ گونه می‌باشد. قارچ پنی سیلیوم به عنوان بزرگترین گروه از قارچ‌ها در خاکه‌ستند و تعیین نقش آن‌ها در طبیعت بسیار مشکل است. این قارچ یک از مهم‌ترین قارچ‌های فساد مواد غذایی به شمار می‌رود. میسیلیوم آن دیواره دار است و کونیدی‌های آن به رنگ سبز تیره می‌باشد. دمای مناسب برای رشد این قارچ بازه ۲۲ تا ۲۷ درجه سانتی‌گراد است. دو گونه مهم این جنس شامل پنی سیلیوم دیجیتاتوم و پنی سیلیوم ایتالیکوم می‌باشد که به ترتیب به عنوان کپک‌های سبز و آبی در مرکبات شناخته می‌شود. این دو گونه پنی سیلیوم نقش مخربی در از بین رفتن مرکبات داشته و باعث فساد و پوسیدگی آن‌ها در حین انبارمانی می‌شوند. روش‌های متعددی تاکنون برای

کنترل از رشد این دسته از قارچ‌ها انجام شده است [۵ و ۶]. یکی از رایج‌ترین روش‌های به کار گرفته شده استفاده از ترکیبات شیمیایی ضدقارچی همانند ایمازلیل، تیابندازول و ترکیبات گوگردی آلی و معدنی و مواد اکسیدکننده است. امروزه با توجه به آگاهی مصرف کنندگان مواد غذایی به اثرات مضر ترکیبات شیمیایی، تمایل به استفاده از چنین ترکیباتی جهت نگهداری و افزایش عمر انبارمانی محصولات شدیداً کاهش یافته است. استفاده از ترکیبات طبیعی همانند اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی با کم‌ترین اثر جانبی بسیار مورد توجه پژوهشگران و محققین صنعت غذا قرار گرفته است [۷].

مورت یا مورد با نام علمی *Myrtus communis* از خانواده Myrtaceae است. از نظر گیاه‌شناسی مورت درختچه‌ای همیشه سبز و معطر است که برگ‌های آن حدود ۱/۵ تا ۲ درصد اسانس دارند. این درختچه در مناطق گرمسیری ایران و نواحی مدیترانه ای و به ندرت در نواحی معتدل می‌روید. اثر ضد ویروسی، ضدباکتری و ضدقارچی این گیاه در مطالعات پیشین به اثبات رسیده است. از مورت در طب سنتی جهت درمان عفونت‌های حاد و مزمن دستگاه تنفسی استفاده می‌شود [۸-۱۰].

به دلیل نگرانی و دغدغه‌هایی همانند تهدید سلامتی انسان و محیط زیست در اثر استفاده از سموم و ترکیبات سنتزی و شیمیایی و از سویی دیگر افزایش تقاضا برای مصرف محصولات طبیعی تلاش می‌شود تا از برخی ترکیبات طبیعی و گیاهی همانند اسانس‌ها و عصاره‌ها استفاده کرد. هدف از این پژوهش آزمایشگاهی، ارزیابی فعالیت ضدقارچی اسانس مورت به روش‌های متنوع کیفی و کمی (کربی-بوئر، چاهگ آگار، رقت لوله‌ای و حداقل غلظت کشندگی) بر سویه‌های پنی سیلیوم دیجیتاتوم و پنی سیلیوم ایتالیکوم (کپک‌های سبز و آبی میوه پرتقال) در شرایط آزمایشگاهی بود.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- تهیه و آماده‌سازی گیاه مورت و عمل

اسانس‌گیری

برگ مورت در فصل بهار (اواخر اردیبهشت ماه) از شهرستان بهبهان (خوزستان) جمع آوری شد. بعد از تایید اسم علمی گیاه مورت، ابتدا برگ‌های جمع آوری شده پاک گردیده و گرد و خاک موجود در سطح برگ‌ها توسط آب سرد زدوده شد. جهت

1. Food and agriculture organization (FAO)
2. Deuteromycetes

میزان ۲۰ میکرولیتر به سطح دیسک‌های کاغذی با قطر ۶ میلی‌متر (توسط اتوکلاو استریل شده بودند) که روی محیط کشت قرار گرفته بودند به آرامی ریخته شد به نحوی که اسانس مورت پخش نگردد و جذب دیسک کاغذی استریل شود. در نهایت پتری‌دیش‌های میکروبی در دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۲ ساعت انکوبه شد. پس از گذشت ۷۲ ساعت، محیط‌های کشت میکروبی در زیر هود آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفت و قطر هاله عدم رشد میکروبی با استفاده از خط‌کش اندازه‌گیری شد و نتایج آن بر حسب میلی‌متر گزارش گردید [۱۳].

۲-۳-۲- تعیین قطر هاله عدم رشد اسانس مورت سبز به روش چاهک آگار

روش دیگری که برای تعیین هاله عدم رشد میکروبی انجام گردید روش چاهک آگار بود. در این روش به طور خلاصه تعداد ۳ عدد چاهک در اطراف محیط کشت و یک عدد چاهک در وسط (کنترل منفی) به قطر ۶ میلی‌متر توسط پی‌پت پاستور ایجاد شد. لازم به ذکر است از آنجا که ضخامت محیط کشت در نتایج مشاهده شده اثر گذار می‌باشد به همین دلیل برای تمامی پتری‌دیش‌ها میزان ۲۰ میلی‌متر از محیط کشت سابروز دکستروز آگار توسط پی‌پت استریل برداشته و در پتری‌دیش ۸ سانتی-متری ریخته شد. میزان ۲۰ میکرولیتر از اسانس استریل و خالص مورت سبز توسط سمپلر درون ۳ چاهک تعبیه شده در اطراف ریخته شد. قبل از آن نیز عمل کشت سطحی مطابق با روش کربی-بوئر (در قسمت ۲-۳-۲ ذکر شده است) برای هر یک از سویه‌های قارچی انجام شد. در نهایت پتری‌دیش‌های میکروبی در دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۲ ساعت انکوبه شد. پس از گذشت ۷۲ ساعت، محیط‌های کشت میکروبی در زیر هود آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفت و قطر هاله عدم رشد میکروبی با استفاده از خط‌کش اندازه‌گیری شد و نتایج آن بر حسب میلی‌متر گزارش شد [۱۴].

۲-۳-۳- تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی اسانس مورت سبز به روش رقت لوله‌ای (ماکرودایلوشن برات)

برای تعیین حداقل غلظت ممانعت از رشد سویه‌های قارچی پنی‌سیلیوم دیجیتاتوم و پنی‌سیلیوم ایتالیکوم از روش رقت لوله‌ای (ماکرودایلوشن برات) استفاده شد. در این روش از ۱۲ لوله آزمایشگاهی استریل با حجم ۹ میلی‌لیتر استفاده شد. ۱۰ لوله آزمایشگاهی شامل غلظت‌های مختلف اسانس مورت سبز بود. ۲

انجام عمل اسانس‌گیری از برگ مورت، از دستگاه کلونجر و روش تقطیر با آب استفاده شد. ۵۰ گرم از برگ مورت سبز با ۷۵۰ میلی‌لیتر آب مخلوط شد. عمل اسانس‌گیری به مدت ۳ ساعت انجام شد. پس از استحصال اسانس مورت و حذف آب موجود در اسانس با استفاده سولفات سدیم بی‌آب، راندمان استحصال اسانس نیز تعیین شد [۱۱].

۲-۲- تهیه سویه‌های قارچی

از دو سویه استاندارد قارچی شامل پنی‌سیلیوم دیجیتاتوم (ATCC 48113) و پنی‌سیلیوم ایتالیکوم (ATCC 48814) که به صورت لیوفیلیزه تهیه شده بود استفاده شد. برای فعال‌سازی سویه‌های قارچی در شرایط استریل در زیر هود میکروبی ویال سویه میکروبی شکسته و عمل انتقال از ویال به محیط کشت سابروز دکستروز برات انجام شد. پس از تلقیح هر یک از سویه‌های قارچی به محیط کشت مایع، عمل انکوباسیون در دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۲ ساعت انجام شد. سپس از محیط مایع عمل انتقال به محیط کشت سابروز دکستروز آگار انجام گردید و مجدداً عمل گرمخانه‌گذاری طبق شرایط ذکر شده در بالا انجام شد. پس از اطمینان از خلوص سویه‌های قارچی میزان ۱۰^۶ کلنی از هر یک از سویه‌های قارچی طبق استاندارد برای انجام آزمون‌های ضدقارچی تهیه شد [۱۲].

۲-۳- ارزیابی فعالیت ضدقارچی اسانس مورت سبز در شرایط آزمایشگاهی

برای تعیین فعالیت ضدقارچی اسانس مورت سبز از ۴ روش کربی-بوئر، چاهک آگار، رقت لوله‌ای و حداقل غلظت کشندگی استفاده شد. در زیر به طور خلاصه روش‌های انجام شده ذکر شده است.

۲-۳-۱- تعیین قطر هاله عدم رشد اسانس مورت سبز به روش کربی-بوئر

برای تعیین قطر هاله عدم رشد بازدارندگی اسانس مورت سبز بر سویه‌های قارچی مورد بررسی ابتدا میزان ۲۰ میلی‌لیتر از محیط کشت استریل سابروز دکستروز آگار در پتری‌دیش ۸ سانتی‌متری ریخته شد. بعد از بسته شدن محیط کشت از سویه‌های قارچی میزان ۱۰۰ میکرولیتر بر سطح محیط سابروز دکستروز آگار کشت سطحی انجام شد و با میله ال شکل استریل به طور کامل در سرتاسر پتری‌دیش پخش گردید. اسانس خالص مورت سبز به

لوله آزمایشگاهی نیز به عنوان کنترل منفی و کنترل مثبت در نظر گرفته شدند. غلظت‌های ۱، ۲، ۴، ۸، ۱۶، ۳۲، ۶۴، ۱۲۸، ۲۵۶ و ۵۱۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر اسانس مورت سبز خالص استریل شده تهیه شد. به هر یک از لوله‌های آزمایشگاهی از سوسپانسیون قارچی استاندارد تلقیح شده و سپس عمل گرمخانه گذاری در دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۲ ساعت انجام گردید. پس از گذشت ۷۲ ساعت، لوله‌های آزمایشگاهی در زیر هود آزمایشگاهی توسط چشم مورد بررسی قرار گرفت. چنانچه در هر یک از لوله‌های آزمایشگاهی رشد قارچی صورت گرفته باشد عمل رشد به صورت کدورت در لوله قابل تشخیص است. اولین لوله‌ای که در آن کدورت مشاهده نشد غلظت آن لوله به عنوان حداقل غلظت مهارکنندگی در نظر گرفته شد [۱۲]. این روش برای هر یک از سویه‌های قارچی حداقل ۳ مرتبه جهت اطمینان از نتایج تکرار گردید.

۲-۳-۴- تعیین حداقل غلظت کشندگی اسانس مورت سبز به روش کشت سطحی

برای تعیین حداقل غلظت کشندگی اسانس مورت از لوله‌های آزمایشی که در آن کدورت مشاهده نشد (لوله حداقل غلظت مهارکنندگی و غلظت‌های بالاتر) بر سطح محیط کشت سابروز دکستروز آگار کشت سطحی انجام گردید. در نهایت پتری‌دیش‌های میکروبی در دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۲ ساعت انکوبه شد. پس از گذشت ۷۲ ساعت، محیط‌های کشت میکروبی در زیر هود آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفت. اولین پتری‌دیش که در آن کلتی مشاهده نشد به عنوان حداقل غلظت کشندگی اسانس مورت سبز در نظر گرفته شد [۱۲ و ۱۵].

۲-۴- آنالیز آماری

داده‌ها توسط نرم افزار SPSS^۱ نسخه ۱۸ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. میانگین داده‌های به دست آمده با آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد مقایسه شد.

۳- نتایج و بحث

میزان راندمان اسانس استحصالی از مورت سبز برابر با ۱ درصد بود. نتایج حاصل از اثر اسانس مورت سبز بر پنی سیلیوم

۱، آورده شده است. نتایج نشان داد که قطر هاله عدم رشد برای سویه‌های قارچی پنی سیلیوم دیجیتالوم و پنی سیلیوم ایتالیکوم به ترتیب ۱۰/۶۰ و ۹/۷۰ میلی‌متر بود. نتایج حاصل از اثر اسانس مورت سبز بر پنی سیلیوم دیجیتالوم و پنی سیلیوم ایتالیکوم به روش چاهک آگار در جدول ۱، آورده شده است. نتایج نشان داد که قطر هاله عدم رشد برای سویه‌های قارچی پنی سیلیوم دیجیتالوم و پنی سیلیوم ایتالیکوم به ترتیب ۱۲/۳۰ و ۱۰/۵۰ میلی‌متر بود. مقایسه آماری میان دو روش انجام شده نشان داد در سطح معنی‌داری ۵ درصد برای سویه قارچی پنی سیلیوم دیجیتالوم اختلاف معنی‌داری مشاهده شد، در حالی که برای سویه قارچی پنی سیلیوم ایتالیکوم اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. Amensour و همکاران (۲۰۰۹)، وجود ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه مورت را مورد تایید قرار دادند [۱۶]. به نظر می‌رسد بخشی از فعالیت ضدقارچی مشاهده شده توسط اسانس مورت را می‌توان به ترکیبات فنلی موجود در اسانس آن نسبت داد. ترکیبات فنولی موجود در اسانس قادر به ایجاد صدمات شدید به غشای میکروارگانیسم از طریق اختلالات مستقیم و متابولیکی می‌باشند. تغییر عملکرد طبیعی میتوکندری، ممانعت از سنتز ATP در میتوکندری و تجمع گونه‌های فعال اکسیژن در سلول نیز به عنوان مکانیسم‌های ضدقارچی اسانس‌ها گزارش شده‌اند که در نهایت منجر به آپوپتوزیس^۲ سلول می‌شوند [۱۷]. مقایسه نتایج هاله عدم رشد در دو روش کربی-بوئر و چاهک آگار نشان داد که قطر هاله عدم رشد میکروبی در روش چاهک آگار بیشتر از کربی-بوئر است. عزیزاده بهبهانی و همکاران (۲۰۲۰) [۱۸]، عزیزاده بهبهانی و همکاران (۲۰۱۹) [۱۹] و نوشاد و همکاران (۲۰۱۸) [۱۴] نیز به نتایج مشابه دست یافتند. این پژوهشگران تماس مستقیم اسانس با سویه میکروبی را دلیل بالاتر بودن قطر هاله عدم رشد مشاهده شده گزارش کردند. از نظر فیزیولوژیکی قارچ‌ها از نظر نیاز به اکسیژن جز دسته هوازی می‌باشد. بنابراین این دسته از میکروارگانیسم در سطح محیط کشت رشد می‌کنند. از آنجایی که اسانس‌های گیاهی دارای ترکیبات فرار با وزن مولکولی پایین هستند بنابراین تجمع بخار اسانس در سطح پتری‌دیش به خوبی می‌تواند بر رشد قارچ‌ها اثر گذار باشد و از رشد آن‌ها روی محیط کشت جلوگیری کند [۲۰].

۲-۳-۴- تعیین حداقل غلظت کشندگی اسانس مورت

سبز به روش کشت سطحی

برای تعیین حداقل غلظت کشندگی اسانس مورت از لوله‌های آزمایشی که در آن کدورت مشاهده نشد (لوله حداقل غلظت مهارکنندگی و غلظت‌های بالاتر) بر سطح محیط کشت سابروز دکستروز آگار کشت سطحی انجام گردید. در نهایت پتری‌دیش‌های میکروبی در دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۲ ساعت انکوبه شد. پس از گذشت ۷۲ ساعت، محیط‌های کشت میکروبی در زیر هود آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفت. اولین پتری‌دیش که در آن کلتی مشاهده نشد به عنوان حداقل غلظت کشندگی اسانس مورت سبز در نظر گرفته شد [۱۲ و ۱۵].

۲-۴- آنالیز آماری

داده‌ها توسط نرم افزار SPSS^۱ نسخه ۱۸ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. میانگین داده‌های به دست آمده با آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد مقایسه شد.

۳- نتایج و بحث

میزان راندمان اسانس استحصالی از مورت سبز برابر با ۱ درصد بود. نتایج حاصل از اثر اسانس مورت سبز بر پنی سیلیوم

2. Apoptosis

1. Statistical package for the social sciences

Table 1 Mean inhibition zone diameter (mm) of *Myrtus communis* essential oil on *Penicillium digitatum* and *Penicillium italicum*

Method Microorganism	<i>Penicillium digitatum</i>	<i>Penicillium italicum</i>
Kirby-Bauer	10.60 ± 0.29 ^b	9.70 ± 0.37 ^a
well diffusion	12.30 ± 0.32 ^a	10.50 ± 0.48 ^a

Values are expressed as mean ± standard deviations, $n = 3$; different letters (a, and b) in each column show significant difference at $p \geq 0.05$.

مورت سبز بر سویه‌های قارچی پنی‌سیلیوم دیجیتاتوم و پنی-سیلیوم ایتالیکوم در جدول ۳، آورده شده است. نتایج نشان داد که حداقل غلظت کشندگی برای سویه‌های قارچی پنی‌سیلیوم دیجیتاتوم و پنی‌سیلیوم ایتالیکوم به ترتیب ۵۱۲ و ۵۱۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود.

نتایج حداقل غلظت مهارکنندگی اسانس مورت بر پنی‌سیلیوم دیجیتاتوم و پنی‌سیلیوم ایتالیکوم به روش رقت لوله‌ای (ماکرو دایلوژن برات) در جدول ۲، آورده شده است. نتایج نشان داد که حداقل غلظت مهارکنندگی برای سویه‌های قارچی پنی‌سیلیوم دیجیتاتوم و پنی‌سیلیوم ایتالیکوم به ترتیب ۶۴ و ۱۲۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. نتایج حداقل غلظت کشندگی اسانس

Table 2 The minimum inhibitory concentration (MIC) of *Myrtus communis* essential oil on *Penicillium digitatum* and *Penicillium italicum*

Concentration (mg/mL) Microorganism	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512
<i>Penicillium digitatum</i>	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
<i>Penicillium italicum</i>	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-

+, grow; -, not grow; $n = 3$.

Table 3 The minimum fungicidal concentration (MFC) of *Myrtus communis* essential oil on *Penicillium digitatum* and *Penicillium italicum*

Concentration (mg/mL) Microorganism	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512
<i>Penicillium digitatum</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
<i>Penicillium italicum</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-

+, grow; -, not grow; $n = 3$.

رشد قارچ از خود نشان دادند. اما فعالیت ضدقارچی اسانس‌ها با گذشت زمان کاهش همراه بود [۲۲].

رسولی و همکاران (۲۰۱۰)، گزارش دادند که ترکیبات اصلی موجود در اسانس مورت سبز شامل آلفا-پنین، لیمونین، اکالیپتول و لینالول است. بنابراین بخشی از فعالیت ضدقارچی مشاهده شده در اسانس مورت را نیز می‌توان به ترکیبات مشاهده شده نسبت داد [۲۳]. این ترکیبات با روش‌های مختلفی همانند اختلال در سنتز پروتئین و ممانعت از سنتز ATP در میتوکندری باعث مهار رشد سویه‌های قارچی می‌گردند. تاکنون مکانیسم واحد و مشخصی جهت تاثیر اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی بر سویه‌های قارچی ذکر نشده است و در بیشتر مطالعات تاثیر چندین عامل از جمله اختلال در سنتز پروتئین و ممانعت از سنتز ATP در

گلشن تفتی و همکاران (۱۳۹۸)، اثر ضدقارچی چندین اسانس گیاهی (زیره سبز، آویشن شیرازی و نعناع) را بر پوسیدگی ناشی از پنی‌سیلیوم دیجیتاتوم و پنی‌سیلیوم ایتالیکوم (کپک‌های سبز و آبی) را بر میوه پرتقال مورد بررسی قرار دادند. این پژوهشگران تاثیر مثبت استفاده از اسانس‌های گیاهی را در کاهش میزان پوسیدگی میوه پرتقال در اثر سویه‌های قارچی مذکور را تایید کردند [۲۱]. شیرزادی و همکاران (۱۳۹۷)، اثر بازدارندگی اسانس چندین گیاه دارویی (آویشن، زیره، مرزه و میخک) را در غلظت‌های مختلف بر سویه قارچی پنی‌سیلیوم جدا شده از پرتقال را در شرایط برون‌تنی مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج این پژوهشگران نشان داد که اسانس همه گیاهان در تمام غلظت‌ها با اختلاف در سطح یک درصد نسبتبه شاهد خاصیت بازدارندگی

African journal of agricultural research, 5(14), 1876-1880.

- [5] Ghaemmaghami, S. S., Balali, G. R. (2013). Using pectic zymogram technique to identify interspecies variation of some *Penicillium* species. *Journal of Molecular and Cellular Research*, 26(4), 524-531. [Full text in Persian].
- [6] Hadian, S., Hasanzadeh, N., aghajani, M., Pordeli, h., & Cirvillari, G. (2019). Evaluation and comparison of the antifungal effect of essential oil of four medicinal plants and molecular identification antagonistic bacteria against fungi decay cause of orange post-harvest by *Penicillium digitatum*. *Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants*, 7(3), 64-76.
- [7] Swamy, M. K., & Sinniah, U. R. (2015). A comprehensive review on the phytochemical constituents and pharmacological activities of *Pogostemon cablin* Benth.: an aromatic medicinal plant of industrial importance. *Molecules*, 20(5), 8521-8547.
- [8] Yadegarinia, D., Gachkar, L., Rezaei, M. B., Taghizadeh, M., Astaneh, S. A., & Rasooli, I. (2006). Biochemical activities of Iranian *Mentha piperita* L. and *Myrtus communis* L. essential oils. *Phytochemistry*, 67(12), 1249-1255.
- [9] Cherrat, L., Espina, L., Bakkali, M., Garcia - Gonzalo, D., Pagán, R., & Laglaoui, A. (2014). Chemical composition and antioxidant properties of *Laurus nobilis* L. and *Myrtus communis* L. essential oils from Morocco and evaluation of their antimicrobial activity acting alone or in combined processes for food preservation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94(6), 1197-1204.
- [10] Alizadeh Behbahani, B., Yazdi, F. T., Noorbakhsh, H., Riazi, F., Jajarmi, A., & Yazdi, F. T. (2016). Study of the antibacterial activity of methanolic and aqueous extracts of *Myrtus communis* on pathogenic strains causing infection. *Zahedan Journal of Research in Medical Sciences*, 18(2), 1-7.
- [11] Alizadeh Behbahani, B., & Imani Fooladi, A. A. (2018). Development of a novel edible coating made by Balangu seed mucilage and Feverfew essential oil and investigation of its effect on the shelf life of beef slices during refrigerated storage through intelligent

میتوکندری را عامل فعالیت ضدقارچی اسانسها و عصاره‌های گیاهی ذکر کرده‌اند [۱۷].

۴- نتیجه گیری

به طور کلی نتایج پژوهش حاضر نشان داد که اسانس مورت سبز دارای فعالیت ضدقارچی خوبی بر سویه‌های آلوده کننده و عامل فساد میوه پرتقال داشت. تاثیر اسانس مورت سبز بر سویه پنی سیلیوم دیجیتاتوم بیشتر از سویه پنی سیلیوم ایتالیكوم بود. پیشنهاد می‌گردد در پژوهش‌های آینده اثر اسانس مورت سبز به صورت روش غوطه‌وری و همچنین پوشش و لفاف برای میوه پرتقال انجام گرفته تا در صورت مناسب بودن نتایج در ماده غذایی بتوان از پتانسیل اسانس مورت به عنوان نگهدارنده طبیعی در انبارهای نگهداری استفاده کرد.

۵- تقدیر و تشکر

نویسندگان مقاله بر خود لازم می‌دانند از معاونت پژوهشی و فناوری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان به دلیل حمایت‌های مادی و معنوی صمیمانه تشکر و قدردانی نمایند.

۶- منابع

- [1] Sinclair, W. B. (1984). *Biochemistry and physiology of the lemon and other citrus fruits*: University of California, Division of Agriculture and Natural Resources. pp: 946.
- [2] Aboutaleb Jahromi, A. (2005). Study on the effect of heat treatment on controlling decay of citrus fruits. National symposium on loss of agricultural product. [Full text in Persian].
- [3] Pourmir, S.Y., Sadeghi Mahoonak, A.R., Fattahi Moghaddam, J., Maghsoudlo, Y., Ghorbani, M. (2015). Physical characteristics, quantitative-qualitative properties and antioxidant materials of local orange (*Citrus sinensis* cv. Siavaraz) at harvesting times, during processing and storage. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 11(5), 665-676. [Full text in Persian].
- [4] Ayazpour, K., Hasanzadeh, H., Arabzadegan, M. S., & African, S. (2010). Evaluation of the control of citrus nematode (*Tylenchulus semipenetrans*) by leaf extracts of many plants and their effects on plant growth.

- khuzistanica) essential oils on the main pathogens of strawberry fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 109, 145-151.
- [18] Alizadeh Behbahani, B., Falah, F., Lavi Arab, F., Vasiee, M., & Tabatabaei Yazdi, F. (2020). Chemical composition and antioxidant, antimicrobial, and antiproliferative activities of *Cinnamomum zeylanicum* bark essential oil. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2020, 1-8.
- [19] Alizadeh Behbahani, B., & Shahidi, F. (2019). Melissa officinalis essential oil: Chemical compositions, antioxidant potential, total phenolic content and antimicrobial activity. *Nutrition and Food Sciences Research*, 6(1), 17-25.
- [20] Alizadeh Behbahani, B., Shahidi, F., Yazdi, F. T., Mortazavi, S. A., & Mohebbi, M. (2017). Antioxidant activity and antimicrobial effect of tarragon (*Artemisia dracunculoides*) extract and chemical composition of its essential oil. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 11(2), 847-863.
- [21] Golshan Tafti, A., & Baradaran, G. (2019). Study of the effect of essential oils in controlling of blue and green molds rot in orange fruit. *Journal of Food Microbiology*, 6(3), 12-21. [Full text in Persian].
- [22] Shirzadi, H., & Abotalebi Jahromi, A. (2018). Inhibitory effect of medicinal plant essential oils on the growth of *Penicillium* sp. isolated from sweet orange. *Journal of Microbial World*, 11(3), 288-293. [Full text in Persian].
- [23] Rasooli, I., Moosavi, M., Rezaee, M., Jaimand, K. (2010). Susceptibility of microorganisms to *Myrtus communis* L. essential oil and its chemical composition. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 4, 127-33.
- modeling. *Journal of Food Safety*, 38(3), e12443.
- [12] Alizadeh behbahani, B., Tabatabaei Yazdi, F., Shahidi, F., & Mohebbi, M. (2014). Antifungal effect of aqueous and methanolic *Avicennia marina* leaves extracts on *Alternaria alternata* and *Penicillium citrinum*. *Journal of Rafsanjan University of Medical Sciences*, 12(12), 1015-1024.
- [13] Barzegar, H., Mehrnia, M.A., Alizadeh Behbahani, B. (2018). Determination of the chemical composition, antioxidant activity and the antimicrobial effect of *Heracleum Lasiopetalum* on infection and food poisoning microorganisms. *Journal of Applied Microbiology in Food Industry*, 4(4), 15-28. [Full text in Persian].
- [14] Noshad, M., Hojjati, M., & Alizadeh Behbahani, B. (2018). Black Zira essential oil: Chemical compositions and antimicrobial activity against the growth of some pathogenic strain causing infection. *Microbial Pathogenesis*, 116, 153-157.
- [15] Alizadeh behbahani, B., Noshad, M., Falah, F. (2019). Investigation of antimicrobial activity of Fennel essential oil on some pathogenic microorganisms causing infection and food poisoning and its interaction with kanamycin antibiotic. *Food Science and Technology*, 16 (91), 233-241. [Full text in Persian].
- [16] Amensour, M., Sendra, E., Abrini, J., Bouhdid, S., Pérez-Alvarez, J. A., & Fernández-López, J. (2009). Total phenolic content and antioxidant activity of myrtle (*Myrtus communis*) extracts. *Natural product communications*, 4(6), 819-924.
- [17] Farzaneh, M., Kiani, H., Sharifi, R., Reisi, M., & Hadian, J. (2015). Chemical composition and antifungal effects of three species of *Satureja* (*S. hortensis*, *S. spicigera*, and *S.*

Investigation of the antifungal effect of *Myrtus communis* essential oil on *Penicillium digitatum* and *Penicillium italicum* (the green and blue fungi of orange)

Rahmati-Joneidabad, M.^{1*}, Alizadeh Behbahani, B.²

1. Assistant Professor, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran.
2. Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran.

(Received: 2020/06/11 Accepted: 2020/08/22)

Much chemical fungicides are used to control fungal infections. However, several of these fungicides are detrimental for human health. Today, the use of natural ingredients such as essential oils and extracts plant with the least side effects has been of great interest to researchers. Myrtle (*Myrtus communis* L.) is a belongs to Myrtaceae family and a herb widely growing in Iran. The aim of this study was to examine the Myrtle essential oil to control the fungi (*Penicillium digitatum* and *Penicillium italicum*) "in vitro". Evaluation of the antifungal activity of *Myrtus communis* essential oil was investigated by Kirby-Bauer, well agar, macro broth dilution and minimum fungicidal concentration methods. The results showed that the inhibition zone diameter (Kirby-Bauer method) for the fungal strains of *Penicillium digitatum* and *Penicillium italicum* was 10.60 and 9.70 mm, respectively. The results showed that the inhibition zone diameter (well agar method) for the fungal strains of *Penicillium digitatum* and *Penicillium italicum* was 12.30 and 10.50 mm, respectively. The minimum inhibitory concentration for *Penicillium digitatum* and *Penicillium italicum* was 64 and 128 mg/mL, respectively. The minimum fungicidal concentration was 512 and 512 mg/mL, respectively.

Keywords: *Myrtus communis*, *Penicillium digitatum*, *Penicillium italicum*, Antifungal activity.

* Corresponding Author E-Mail Address: Rahmati@asnrkh.ac.ir