دوفصلنامه تحقیقات بیماری‌های گیاهی
سال چهارم، شماره اول، بهار و تابستان 1395
صص 42-31

بازدارندگی اسانس و عصاره اتانولی پونه‌آبی (*Mentha aquatica*) بر چند گونه قارچ بیماری‌زای گیاهی در شرایط آزمایشگاهی

فاطمه نخعی*[1]

تاریخ دریافت: 93/11/27 تاریخ پذیرش: 94 /2/17

چکیده

اخیراً به دلیل بروز مقاومت در عوامل بیماری‌زا به آفتکش‌های شیمیایی، استفاده از اسانس و عصاره‌های گیاهی برای مبارزه با آلودگی‌های قارچی از اهمیت زیادی برخوردارشده است. اسانس‌ها مواد ضد قارچی جدیدی هستند که تجدید شونده و سازگار با محیط زیست می‌باشند. در این تحقیق اسانس گیاه پونه‌آبی به روش تقطیر با بخار و عصاره قسمت‌های هوایی گیاه با حلال اتانول استخراج گردید واثر بازدارندگی غلظت‌های 0، 100، 200 و 300 پی‌پی‌ام در ظروف پتری 9 سانتی‌متری، به روش‌های تدخینی و تماسی در مورد اسانس و روش انتشار عصاره در محیط کشت، بر رشد قارچ‌های *Botrytis cinerea*، *Fusarium oxysporum*، *Rhizoctonia solani* و *Phytophthora capsici* به‌صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی بررسی گردید. قارچ‌ها حساسیت متفاوتی به اسانس و عصاره پونه آبی نشان دادند. هیچکدام از غلظت‌های اسانس و عصاره پونه‌آبی اثر بازدارنده معنی‌داری بر رشد *F. oxysporum* نداشتند اما همه غلظت‌های اسانس و عصاره پونه‌آبی بطور معنی‌داری درصد بازدارندگی رشد قارچ‌های *R. solani* ، *B. cinerea* و *P. capsici* را افزایش دادند و با افزایش غلظت درصد بازدارندگی افزایش معنی‌دار یافت. بیشترین درصد بازدارندگی مربوط به غلظت‌های 200 و 300 پی‌پی-ام در قارچ *R. solani* (91/06% و 97/77% به ترتیب) و غلظت 300 پی‌پی‌ام در قارچ *P. capsici* (91/89%) بود. پس اسانس و عصاره پونه‌آبی می‌تواند بعنوان قارچ‌کش طبیعی جهت کنترل قارچ‌های بیماری‌زا مورد توجه باشد.

واژه‌های کلیدی: انتشار در محیط کشت، تدخینی، تقطیر با بخار.

[1]- استادیار، گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، واحد بیرجند، دانشگاه آزاد اسلامی، بیرجند، ایران.
*- نویسنده مسئول مقاله: nakhaei90@yahoo.com

مقدمه

امروزه استفاده از مواد شیمیایی به‌عنوان متداول‌ترین روش مهار بیماری‌های گیاهی به علت دوره تجزیه طولانی یا در بعضی موارد غیر قابل تجزیه بودن آن‌ها، آلودگی محیط زیست، باقی مانده‌های سمی و سایر اثرات‌شان روی مواد غذایی و سلامتی انسان‌هامحدود شده است (Sokovic *et al.*, 2009; Tripathi and Dubay, 2004). کاربرد مواد شیمیایی مصنوعی برای مهار آلودگی‌های قارچی سبب بروز انواع سرطان، جهش‌زایی و آسیب‌های ژنتیکی در پستانداران می‌گردد. باقی‌مانده‌ی این مواد اثرات مضری بر تعدادی از سامانه‌های زیستی، مانند اعصاب و غدد درون ریز دارند و به این دلیل استفاده از تعدادی از آنها در بسیاری از کشورها ممنوع شده است. ترکیبات طبیعی گیاهان برای مهار قارچ‌های گیاهی از کارایی ویژه‌ای برخوردار می‌باشند و اثرات زیان‌آور مواد شیمیایی را ندارند (Tripathi *et al.*, 2007). در دو دهه اخیر، مقاومت به قارچکش‌های شیمیایی به طور قابل توجهی افزایش یافته و از این رو استفاده از تولیدات طبیعی گیاهان به‌عنوان یکی از روش‌های کارآمد مطرح شده است (Saharkhiz *et al.*, 2012) و در حال حاضر، محصولات سازگار با محیط زیست با تقاضای زیادی همراه شده است. کاربرد ترکیبات طبیعی مثل اسانس‌و عصاره گیاهی می‌تواند به‌عنوانیک روش امن به‌طور گسترده مورد استفاده قرار گیرد (Kalemba and Kunika, 2003). اهمیت عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی در مهار آفات و بیماری‌های گیاهی به‌وسیله پژوهشگران زیادی تأیید شده است. گزارش‌های زیادی از اثر بازدارندگی اسانس‌های گیاهی به‌ویژه جنس ***Mentha*** از خانواده نعناعیان بر رشد قارچهای بیماری‌زای گیاهی و انسانی وجود دارد. نعناع فلفلی ***Menthapiperita*** اثر بازدارنده بر رشد قارچ‌های ***Candida spp***. (Samber *et al.*, 2014)، ***Aspergillus*** *niger* (Moghtader, 2013) و ***Aspergillus*** spp. و ***Candida*** spp. (Saharkhiz *et al.*, 2012) داشته است. سینگ *یاداو و همکاران* گزارش کردند اسانس نعناع سبز ***Mentha spicata*** اثر بازدارنده بر رشد قارچ‌های ***Aspergillus*** و ***Penicillium*** داشته است (Singh Yadav *et al.*, 2006). *ریچلینگ و همکاران* (Reichling *et al.*, 2009) و *جاکووینکو و وجسیک-استوپسزینسکا* (Jakowienko and Wojcik-stopczynska, 2010) نیز اثر بازدارنده اسانس گونه‌های مختلف جنس ***Mentha*** را بر رشد قارچ‌های مختلف گزارش کرده‌اند. *وصال طلب و غلامی* (Vesaltalab and Gholami, 2010) اثرات ضد قارچی عصاره و اسانس اکلیل کوهی و میخک را بر رشد قارچ ***Botrytis cinerea*** گزارش کردند. پونه آبی (***Mentha aquatica***) متعلق به خانواده نعناعیان، به صورت خودرو در زمین‌های مرطوب اطراف رودخانه‌ها و چشمه‌ها رشد کرده و بسیار معطر می‌باشد. اسانس در غده‌های مویی که در سطح اندام‌های هوایی آن وجود دارند ساخته‌می‌شود (Marrin *et al.*, 2007). این پژوهش با هدف تعیین فعالیت ضد قارچی عصاره اتانولی و اسانس پونه آبی بر رشد قارچ‌های بیماری‌زای گیاهی ***Botrytis cinerea***، ***Fusarium oxysporum***، ***Rhizoctonia solani*** و ***Phytophthora capsici*** انجام گردید.

مواد و روش ها

تهیه اسانس و عصاره پونه¬آبی

گیاهان پونه‌آبی در مرحله گلدهی از اطراف قنات روستای قیصار واقع در شهرستان خوسف استان خراسان جنوبی جمع‌آوری و پس از شناسایی دقیق، در سایه به مدت 10 روزخشک گردیدند. اسانس گیاه به روش تقطیر با بخار از برگ‌ها و سرشاخه‌های گلدار (80 گرم برای هر باراسانس‌گیری) با استفاده از دستگاه کلونجراستخراج شد. برای تهیه عصاره 80 گرم از پودر برگ‌ها و سرشاخه‌های گلدار گیاهان در 1200 میلی‌لیتر اتانول به مدت 48 ساعت در دمای 30 درجه سلسیوس در تاریکی خیسانیده شد. سپس با استفاده از کاغذ صافی و قیف بوخنر[1] بقایای پودر گیاه از محلول جدا و با دستگاه تغلیظ در خلأ چرخان[2] در دمای 50 درجه سلسیوس حلال از عصاره جدا شد. اسانس و عصاره حاصل تا زمان استفاده در ظروف شیشه‌ای در بسته، در شرایط تاریکی در یخچال 4 درجه سلسیوس نگهداری گردیدند و هنگام استفاده با اتانول 75 درصد رقیق گردیدند.

تهیه قارچ های مورد مطالعه

قارچ‌های *Botrytis cinerea*، *Fusarium oxysporum*، *Rhizoctonia solani* و *Phytophthora capsici* که به ترتیب از میزبان‌های گیاهی پیاز، زیره سبز، چغندرقند و فلفل دلمه‌ای جدا شده بودند از آزمایشگاه گیاه پزشکی سازمان جهاد کشاورزی استان خراسان جنوبی تهیه و درظروف پتری با قطر دهانه 9 سانتی‌متر روی محیط کشت سیب زمینی دکستروز آگار کشت و در دمای 25 درجه سلسیوس نگهداری شدند.

آزمون بازدارندگی ترکیبات فرار اسانس و عصاره اتانولی پونه‌آبی بر رشد قارچ‌ها

برای بررسی اثر اسانس پونه‌آبی بر رشد قارچ‌ها به روش تدخینی، 20 میلی‌لیتر محیط کشت آماده شده سیب زمینی دکستروز آگار در ظروف پتری با قطر دهانه 9 سانتی‌متر ریخته شد. پس از انعقاد محیط کشت، دیسک‌هایی به قطر 5 میلی‌متراز حاشیه کشت 7 روزه قارچ‌های مورد بررسی به‌طور جداگانه به محیط کشت منتقل شد. به منظور اجتناب از تماس اسانس با حلقه میسلیومی از قرار دادن دو تشتک پتری یکسان روی یکدیگر استفاده شد. در مرکزظرف پتری رویی کاغذ صافی به ابعاد 2×1/5 سانتی‌متر چسبانده شد. مقدار 10 میکرولیتر ازغلظت‌های 100، 200 و 300 پی‌پی‌ام اسانس روی کاغذ صافی ریخته شده و سپس برای جلوگیری از خروج ترکیبات اسانس، دو ظرف پتری با استفاده از پارافیلم مسدود و به یکدیگر متصل شدند. ظروف پتری شاهد 10 میکرولیتر اتانول 75% (بدون اسانس) دریافت کردند (Vesaltalab and Gholami, 2010). برای بررسی اثر ضدقارچی اسانس پونه آبی به روش تماسی (اختلاط با محیط کشت) و عصاره به روش انتشار در محیط کشت غلظت‌های 100، 200 و 300 پی-پی‌ام اسانس و عصاره برای هر ظرف پتری بلافاصله بعداز خنک شدن و قبل از انجماد محیط کشت سیب زمینی دکستروز آگار به آن اضافه گردید. همچنین اتانول 75 درصد به عنوان تیمار شاهد در نظر گرفته شد. پس از انعقاد محیط کشت، دیسک‌هایی به قطر 5 میلی‌متراز حاشیه کشت 7روزه قارچ‌ها به محیط کشت منتقل شد (Teymoori

[1]- buchner
[2]- rotary vacuum evaporator

and Rahnama, 2012; Tripathi *et al*., 2008). همه این مراحل زیر هود و در شرایط سترون انجام شد. پتری‌های کشت شده در دمای 25 درجه سلسیوس نگهداری و هنگام پر شدن ظروف پتری شاهد از میسلیوم قارچ، قطر میسلیوم بر حسب میلی‌متر در تمامی تیمارها اندازه گیری شد. این آزمایش به صورت فاکتوریل با سه عامل مواد فیتوشیمی در سه سطح (اسانس تدخینی، اسانس تماسی و عصاره) قارچ در چهار سطح (*Botrytis cinerea*، *Fusarium oxysporum*، *Rhizoctonia solani* و *Phytophthora capsici*) و غلظت در چهار سطح (0، 100، 200 و 300 پی‌پی‌ام) در قالب طرح کامل تصادفی در سه تکرار (هر تکرار شامل یک ظرف پتری) انجام شد. برای محاسبه درصد بازدارندگی رشد میسیلیوم قارچ‌ها از فرمول زیر استفاده شد که در آن C قطر رشد میسیلیوم قارچ در پتری شاهد و T قطر رشد قارچ در تیمار حاوی اسانس یا عصاره و I درصد بازدارندگی رشد میسیلیوم قارچ در تیمار مربوطه را نشان می‌دهد (Tripathi *et al*., 2008).

$$I = \frac{(C-T)}{C} \times 100$$

داده‌ها با نرم افزار SAS 9/1 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند و مقایسه میانگین از روش دانکن انجام گردید.

نتایج و بحث

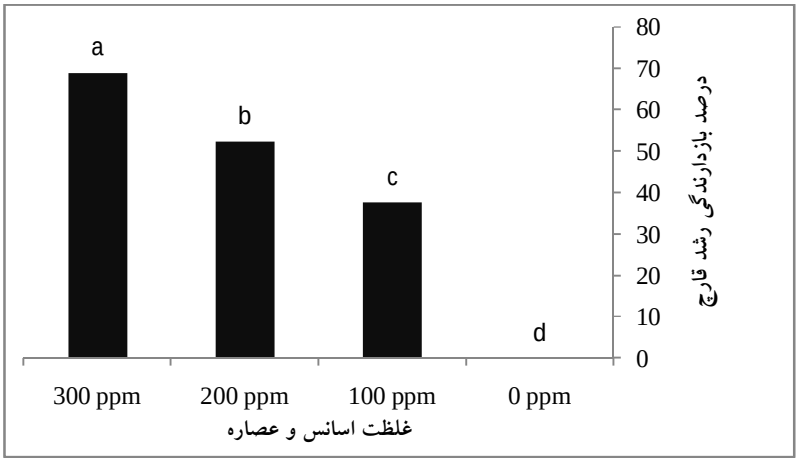
تجزیه واریانس اثر مواد فیتوشیمیایی، اثر متقابل مواد فیتوشیمیایی و نوع قارچ، اثر متقابل مواد فیتوشیمیایی و غلظت و اثر متقابل مواد فیتوشیمیایی و نوع قارچ و غلظت بر درصد بازدارندگی رشد قارچ‌ها معنی‌دار نشد (جدول 1).

جدول 1- تجزیه واریانس تأثیر غلظت‌های مختلف اسانس و عصاره پونه آبی بر درصد بازدارندگی رشد چند نوع قارچ بیماری‌زای گیاهی.

منبع تغییرات	مجموع مربعات	درجه آزادی	میانگین مربعات	مقدار F
مواد فیتوشیمی	21/04	2	10/52	0/64
قارچ	60360/82	3	20120/27	1233/66**
غلظت	93169/72	3	31056/57	1904/21**
مواد فیتوشیمی و قارچ	9/25	6	1/54	0/095
مواد فیتوشیمی و غلظت	18/81	6	3/11	0/191
قارچ و غلظت	26794/05	9	2977/11	182/540**
مواد فیتوشیمی و قارچ و غلظت	21/02	18	16/1	0/072
خطا	1533/08	94	16/30	

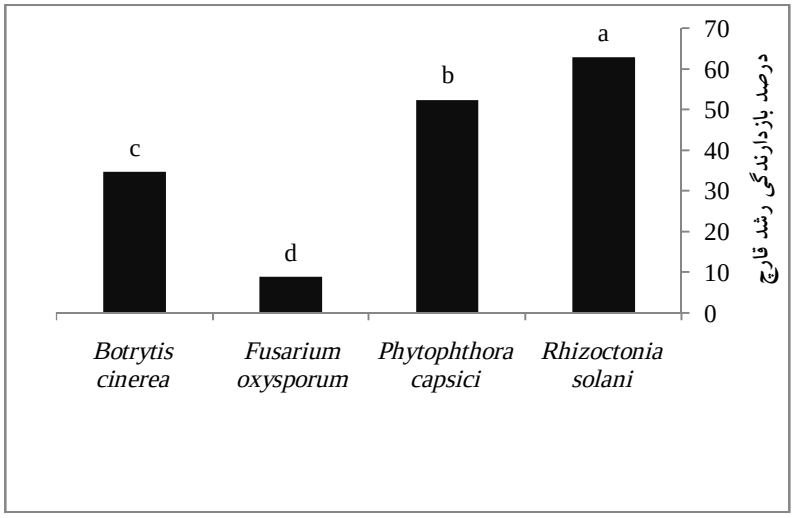
** اختلاف معنی دار در سطح 1%

پس می‌توان نتیجه گرفت کاربرد اسانس به روش‌های تدخینی و تماسی و عصاره به روش انتشار در دیسک تاثیر یکسانی بر درصد بازدارندگی رشد هر یک از قارچ‌ها داشته و هیچکدام از این مواد بر دیگری در بازدارندگی رشد قارچ‌های مورد بررسی برتری نداشته‌اند. همچنین کاربرد هر کدام از این مواد فیتوشیمیایی در غلظت‌های مشابه تأثیر یکسانی بر درصد بازدارندگی رشد قارچ‌های مورد بررسی داشته است. تجزیه واریانس اثرنوع قارچ، غلظت و همچنین اثر متقابل نوع قارچ و غلظت بر درصد بازدارندگی رشد قارچ‌ها معنی‌دار شد (جدول 1). تمامی غلظت‌های اسانس و عصاره پونه آبی بر درصد بازدارندگی رشد قارچ‌ها اثر معنی‌داری در سطح یک درصد نسبت به تیمار شاهد بر جای گذاشتند و با افزایش غلظت درصد بازدارندگی رشد قارچ‌ها بطور معنی‌داری بیشتر شد. بیشترین درصد بازدارندگی (68/82%) مربوط به بالاترین غلظت 300 پی‌پی‌ام بود (شکل1).



شکل 1- مقایسه میانگین تأثیر غلظت های مختلف اسانس و عصاره پونه آبی بر درصد بازدارندگی رشد چند قارچ بیماری-زای گیاهی. ستون‌های دارای حروف متفاوت بر اساس آزمون دانکن در سطح 1% دارای اختلاف معنی‌دار هستند.

همچنین درصد بازدارندگی اسانس و عصاره اتانولی پونه‌آبی بر رشد میسیلیوم بستگی به نوع قارچ داشت. اسانس و عصاره اثر بازدارنده‌ی معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد بر درصد رشد قارچ‌های *R. solani*، *P. capsici* و *B. cinerea* (به ترتیب 34/66%، 52/36% و 62/85%) نسبت به *F. oxysporum* (8/80%) داشتند. بیشترین تاثیر بازدارندگی (62/85%) مربوط به قارچ *R. solani* و کمترین تاثیر بازدارندگی (8/80%) مربوط به قارچ *F. oxysporum* بود. پس از رایزوکتونیا بیشترین اثر بازدارندگی مربوط به *P. capsici* و *B. cinerea* (52/36% و 34/66% به ترتیب) بود. پس رشد میسلیومی فوزاریوم بیشترین مقاومت و رایزوکتونیا بیشترین حساسیت را در برابر اسانس و عصاره پونه آبی از خود نشان دادند (شکل2).



شکل2 - مقایسه میانگین اثراسانس و عصاره پونه آبی بر درصد بازدارندگی رشد چند قارچ بیماری‌زای گیاهی. ستون‌های دارای حروف متفاوت بر اساس آزمون دانکن در سطح 1% دارای اختلاف معنی‌دار هستند.

مقایسه میانگین اثرات متقابل معلوم کرد که هیچکدام از غلظت‌های اسانس و عصاره بر درصد بازدارندگی رشد *F. oxysporum* اثر معنی‌داری در سطح احتمال 5 درصد نداشتند. اما تمامی غلظت‌ها درقارچ‌های *R. solani*، *P. capsici* و *B. cinerea* سبب افزایش معنی‌دار درصد بازدارندگی رشد نسبت به شاهد گردیدند و با افزایش غلظت، درصد بازدارندگی در قارچ‌های ذکر شده افزایش معنی‌دار یافت. ولی هیچکدام از غلظت‌ها به طور کامل از رشد این قارچ‌ها جلوگیری نکردند. تمامی غلظت‌های اسانس و عصاره در قارچ‌های *P. capsici*، *R. solani* و *B. cinerea* سبب افزایش معنی‌دار درصد بازدارندگی رشد قارچ نسبت به تمامی غلظت‌های اسانس و عصاره در قارچ *F. oxysporum* شدند. پس رشد میسلیومی فوزاریوم بیشترین مقاومت را در برابر اسانس و عصاره پونه آبی از خود نشان داد. درقارچ‌های رایزوکتونیا، فیتوفترا وبوتریتیس بیشترین درصد بازدارندگی مربوط به غلظت 300 پی‌پی‌ام اسانس و عصاره (به ترتیب 97/77%، 89/91% و 76/63%) و کمترین درصد بازدارندگی مربوط به غلظت 100 پی-پی‌ام (به ترتیب 61/35%، 49/97% و 32/04%) بود. در مجموع بالاترین درصد بازدارندگی مربوط به غلظت‌های 200 و 300 پی‌پی‌ام در قارچ رایزوکتونیا (به ترتیب 91/06% و 97/77%) و غلظت 300 پی‌پی‌ام در فیتوفترا (91/89%) بود (جدول 2). در تحقیقات متعددی فعالیت ضد قارچی اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی خصوصا" گیاهان جنس *Mentha* از خانواده نعناعیان به اثبات رسیده است. *ال یوسف*(2013)، سحر خیز *و همکاران* (2012)، سمبر *و همکاران* (2014)، *جاکووینکو و وجسیک-استوپسزینسکا* (2010) و *مقتدر* (2013) مشابه با نتایج این آزمایش گزارش کردند که تأثیر بازدارنده اسانس *M. piperita* بستگی به نوع قارچ و غلظت اسانس داشته است و اسانس این گیاه اثر بازدارنده بر رشد قارچ‌های بوتریتیس سینرا، آسپرژیلوس و کاندیدا داشته است. همانند نتایج این آزمایش میزان بازدارندگی در غلظت10 میکرولیتر در پتری به طور معنی‌داری بیشتر از 5 میکرو لیتر در پتری بود. فعالیت ضد قارچی قوی این اسانس بخاطر مقدار بالای ترکیبات منتول و منتون در آنها می‌باشد. همچنین *ریچلینگ و همکاران*

(2009)، *سوکوویچ و همکاران* (2009)، *فردس و یونگورانیو* (Ferdes and Ungureanu, 2012) و *میکینی و همکاران* (Mickiene *et al*., 2011) گزارش کردند گونه‌های دیگر *Mentha* مانند *M. spicata* و *M. arvensis* بازدارنده رشد تعداد زیادی از قارچ‌ها بوده‌اند و به عنوان نگهدارنده و قارچ‌کش طبیعی می‌توانند به کار روند.

جدول 2- مقایسه میانگین اثر متقابل نوع قارچ و غلظت اسانس و عصاره بر درصد بازدارندگی رشد چند نوع قارچ بیماری‌زای گیاهی.

نوع قارچ	غلظت (ppm)	درصد بازدارندگی رشد قارچ
Rhizoctonia solani	0	%0 g
	100	%61/35 c
	200	%91/06 a
	300	%97/77 a
Phytophthora capsici	0	%0 g
	100	%49/97 d
	200	%68/36 c
	300	%91/89 a
Fusarium oxysporum	0	%0 g
	100	%14/54 f
	200	%14/82 f
	300	%13/27 f
Botrytis cinerea	0	%0 g
	100	%32/04 e
	200	%46/49 d
	300	%76/63 b

اعداد دارای حروف مشابه بر اساس آزمون دانکن در سطح 1% اختلاف معنی داری ندارند.

همسو با یافته‌های ما، *شاکرمی و همکاران* (Shakarami *et al*., 2006) نیز گزارش نمودند اسانس پونه آبی جمع‌آوری شده از رویشگاه طبیعی منطقه الشتر خرم آباد اثر بازدارنده بر رشد قارچ‌های مختلف بیماری‌زای گیاهی از جمله فوزاریوم و رایزوکتونیا داشته و باافزایش غلظت اسانس درصد بازدارندگی رشد میسیلیوم قارچ‌ها افزایش

یافته و بیشترین تأثیر مربوط به بالاترین غلظت بوده است. اما در این آزمایش اسانس و عصاره اتانولی پونه آبی تأثیر بازدارنده‌ای بر رشد قارچ فوزاریوم نداشتند. همچنین بر خلاف نتیجه این پژوهش *عقیل و همکاران* (Agil *et al.*,2000)، *اگاروال و همکاران* (Agarwal *et al.*, 2008)، *ونوورن و همکاران* (Vanvuuren *et al.*, 2009) و *ایگیت و همکاران*(Yigit *et al.*, 2009) گزارش کردند اسانس نعناع و *کرانوز- بارانوزکا* (Krauze-Baranowska, 2002) گزارش کرد اسانس گونه‌های مختلف کاج سبب مهار رشد فوزاریوم گردیده‌اند. *کالمبا و کونیکا* (2003) همسو با یافته‌های این آزمایش گزارش کردند فعالیت اسانس‌ها در مقابل میکروارگانیسم‌ها بسته به نوع اسانس و نژاد میکروبی متفاوت است. اما همیشه به مقدار اسانس بستگی دارد. در این آزمایش فعالیت ضد قارچی اسانس پونه آبی در روش تدخینی نسبت به روش تماسی برتری معنی‌داری نداشت اما بر خلاف نتایج این آزمایش، *سویلو و همکاران* (Soylu *et al.*, 2006) و *وصال طلب و غلامی* (2010) برتری فعالیت ضد قارچی اسانس رزماری در روش تدخینی نسبت به تماسی را گزارش کرده‌اند. مکانیسم عمل اسانس‌ها علیه میکرو ارگانیسم‌ها پیچیده است و هنوز کاملا مشخص نشده است.

اسانس‌ها به علت تعداد زیاد ترکیبات سازنده، احتمالا بیش از یک مکان عمل دارند (*تریپاتی و همکاران*، 2008؛ Bakkali *et al.*, 2008). *کالمباوکونیکا* (2003) تغییرات مورفولوژیکی قارچ هنگام کاربرد اسانس‌ها را به عمل این ترکیبات روی تعدادی از آنزیم‌های دیواره سلولی نظیر کیتینازها و گلوکانازها نسبت داده‌اند. *سویلو و همکاران* (2006) نیز پیشنهاد کردند، تغییرات مورفولوژیک میسیلیوم می تواند به علت نقص در دیواره سلولی باشد، که به دنبال آن نفوذ پذیری غشای سلولی اتفاق می‌افتد. اگر چه اثرات فوق ممکن است پاسخگوی کاهش نرخ رشد میسلیومی باشد، با این وجود مکانیسم عمل این ترکیبات بخوبی روشن نیست. خسارت به دیواره سلولی و غشا می-تواند منجر به نشت ماکرومولکول ها و زوال سلول شود. به نظر می‌رسد زنجیره فعل وانفعالات از دیواره یا غشای خارجی سلول شروع شده و تمام غشاهای اندامک‌های متفاوت مثل پراکسی‌زوم ها و میتوکندری را شامل می‌شود. نفوذپذیری غشای داخلی و غشای خارجی میتوکندری منجر به مرگ سلول از طریق آپوتسیس و نکروسیس می‌شود. اسانس‌ها به چربی‌ها و پروتئین‌ها نیز می‌توانند خسارت وارد کنند (*باکالی و همکاران*، 2008)، همچنین از ساخت DNA و RNA، پروتئین و پلی‌ساکاریدها در سلول‌های قارچ‌ها جلوگیری می‌کنند (*کالمبا و کونیکا*، 2003). *سحرخیز و همکاران* (2012) گزارش کردند اسانس *M. piperita* اثرات ضد قارچی مشابهی بر علیه نژادهای مقاوم و حساس به داروهای آزولی دارد این نشان دهنده متفاوت بودن مکانیسم عمل اسانس با مکانیسم عمل سموم شیمیایی می‌باشد. آب‌گریزی یکی از خواص مهم اسانس‌ها می‌باشد که آنها را قادر می‌سازد در غشاهای سلولی وارد و سبب اضمحلال آنها گردند. *ترومبتا و همکاران* (Trombetta *et al.*, 2005) و *یولتی و همکاران* (Ultee *et al.*, 2002) نیز اضمحلال غشای سلولی توسط اسانس‌ها را تأیید کرده‌اند. *دبیلربک و همکاران* (De billerbeck *et al.*, 2001)، *هلال و همکاران* (Helal *et al.*, 2006) و *پاوار و تاکر* (Pawar and Thaker, 2006) گزارش کردند اسانس لمون گراس از جوانه زدن و رشد هیف *A. niger* جلوگیری و سبب اضمحلال غشای سلولی گردیده و ساختمان میتوکندری را تخریب کرده است. *شرما و تریپاتی* (Sharma and Tripathi, 2008)کاهش سیتوپلاسم هیف

ها در نتیجه نازک شدن قابل توجه آنها را هنگام کاربرد اسانس لمون گراس گزارش کردند. یکی از اهداف مهم صنعتی، کاهش نگهدارنده‌های شیمیایی در محصولات است. اسانس‌ها بخاطر دارا بودن خواص ضدمیکروبی و ضد قارچی به عنوان منابع طبیعی برای نگهداری و افزایش طول عمر تولیدات می‌توانند به کار روند. به عبارت دیگر اسانس‌ها برای توسعه ترکیباتی که برای مهار آلودگی‌های قارچی بکار می‌روند باید مورد توجه قرار گیرند. با توجه به نتایج به دست آمده اسانس و عصاره پونه‌آبی می‌تواند بعنوان قارچ‌کش طبیعی جهت کنترل برخی از قارچ‌های بیماری‌زا مورد توجه باشد.

References

1. Agarwal V, Lal P and Pruthi V. 2008. Prevention of *Candida albicans* biofilm by plant oils. Mycopathologia 165: 13–19.
2. Aqil F, Beng A and Ahmad I. 2000. In vitro toxicity of plant essential oils against soil fungi. Journal of Medicinal and Aromatic Plant Sciences 23: 177–181.
3. Al Yousef SA. 2013. Antifungal activity of volatiles from lemongrass (*Cymbopogon citrates*) and Peppermint (*Mentha piperita*) oils against some respiratory pathogenic species of *Aspergillus*. International Journal of Current Microbiology Applied Sciences 2: 261–272.
4. Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D and Idaomar M. 2008. Biological effects of essential oil-A review. Food Chemistry Toxicology 46: 446–475.
5. Debillerbeck VG, Roques CG, Bessiere JM, Fonvieille JL and Dargent R. 2001. Effects of *Cymbopogon nardus* (L.) W. Watson essential oil on the growth and morphogensis of *Aspergillus niger*.Canadian Journal of Microbiology 47: 9–17.
6. Ferdes M and Ungureanu C. 2012. Antimicrobial activity of essential oils against four food–borne fungal strains. UPB Scientific Bulletin Series B 74: 87–98.
7. Helal GA, Sarhan MM, Abushahla AN and Abou El-Khair EK. 2006. Effects of *Cymbopogon citrates* L. essential oil on the growth, lipid content and morphogenesis of *Aspergillus niger* ML2-strain. Journal Basic Microbiology 46: 456–469.
8. Jakowienko P and Wojcik-stopcynska B. 2010. Influence of essential oils from different varities of peppermint (*Mentha piperita* L.) on growth of some filamentous fungi. Herla Nolohica 56: 60–70.
9. Kalemba D and Kunicka A. 2003. Antibacterial and antifungal properties of essential oils. Current Medicinal Chemistry 10: 813–829.
10. Krauze-Baranowska M ,Mardarowicz M, Wiwart M, Poblocka L and Dynowska M. 2002. Antifungal activity of the essential oils from some species of the Genus *Pinus*. Zeitschrift Naturforsch 57: 478–482.
11. Marrin M, Koko V, Duletic-Lausevic S, Marin Pd, Rancic D and Dajic-Stevanovi C. 2007. Glandular trichomes on the leaves of *Rosmarinus officinalis*: morphology, sterology and histochemistry. South Arican Journal of Botany 72: 378–382.
12. Miciene R, Ragazinskiene O and Bakutis B. 2011. Antimicrobial activity of *Mentha arvensis* L. and *Zingiber officinal* essential oils. Biologija 57: 92–97.
13. Moghtader, M. 2013. In vitro antifungal effects of the essential oil of *Mentha piperita* L. and its comparison with synthetic menthol on *Aspergillus niger*. African Journal of Plant Science 7: 521–527.
14. Pawar VC and Thaker VS. 2006. In vitro efficacy of 75 essential oils against *Aspergillus niger*. Mycoses 49: 316–323.
15. Reichling J, Schnitzler P, Suschke U and Saller R. 2009. Essential oils of aromatic plants with antibacterial, antifungal, antiviral, and cytotoxic properties- an overview. Forch Komplementmed 16: 79–90.
16. Samber N, Varma A and Mansoor N. 2014. Evalution of *Mentha piperita* essential oil and its major constituents for antifungal activity in *Candida* spp. International Journal of Innovative Research in Science, Engineering and Technology 3: 9404–9411.
17. Saharkhiz MJ, Motamedi M, Zomorodian K, Pakshir K, Miri R and Hemyari K. 2012. Chemical composition, antifungal and antibiofilm activities of the essential

oil of *Mentha piperita* L. International Scholarly Research Notices Pharmaceutics, Article ID 718645, 6 pages.
18. Shakarami J, Bazgir E and Feizian M. 2006. Inhibition effects of five plant species essential oils on the in vitro mycelial growth of four plant pathogenic fungi. Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural esources, Water and Soil Science 10: 497–504.
19. Sharma N and Tripathi A. 2008. Effects of *Citrus sinensis* (L.) Osbeck epicarp essential oil on growth and morphogenesis of *Aspergillus niger* (L.) Van Tieghem. Microbiology Research 163: 337–344.
20. Singh Yadav R, Kumar S and Dikshit A. 2006. Antifungal properties of essential oil of *Mentha spicata* L. var. MSS-5. Indian Journal Crop Science 1: 197–200.
21. Sokovic M, Vukojevic J, Marin P, Brkic D, Vais V and Griensven, L. 2009. Chemical composition of essential oil of *Thymus* and *Mentha* Species and their antifungal activity. Molecules 14: 238–249.
22. Soylu EM, Soylu S and Kurt S. 2006. Antimicrobial activities of the essential oils of various plants against tomato late blight disease agent *Phytophthora* infestans. Mycopathologia 161: 119–128.
23. Teymoori S and Rahnama K. 2012. Evaluation of antifungal effect of some essential oils on mycelial growth of *Sclerotinia sclerotiorum* causal agent of white stem rot of rapeseed. Research in plant pathology1: 23–30.
24. Tripathi P, Dubey NK and Shukla AK. 2007. Pharmacological evalution of some fungitoxic essential oils. Asian Journal of Traditional Medicines 2: 239–243.
25. Tripathi P and Dubay NK. 2004. Exploitation of natural products as an alternative sterategy to control postharvest fungal rotting of fruit and vegetables review. Postharvest Biology and Technology 32: 235–245.
26. Tripathi P, Dubey NK and Shukla AK. 2008. Use of some essential oils as post harvest botanical fungicidesin the management of grey mould of grapes caused by *Botrytis cinerea*. World Journal of Microbiology and Biotechnology 24: 39–46.
27. Trombetta D, Castelli F and Sarpietro G. 2005. Mechanisms of antibacterial action of three monoterpenes. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 49: 2474–2478.
28. Ultee M, Bennik J and Moezelar R. 2002. The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus.* Applied and Environmental Microbiology 68: 1561–1568.
29. Van vuuren S, Suliman S and Viljoen AM. 2009. The antimicrobial activity of four commercial essential oils in combination with conventional antimicrobials. Letters in Applied Microbiology 48: 440–446.
30. Vesaltalab Z and Gholami M. 2010. The effect of clove buds and rosemary extracts and essences on control of *Botrytis cinerea*growth. Plant Production Technology11: 2–11.
31. Yigit D and Yigit Nand Ozgen U. 2009. An investigation on the anticandidal activity of some traditional medicinal plants in Turkey. Mycoses 52: 135–140.

Inhibitory effectof essential oils and ethanol extractsof watermint (*Mentha aquatica*) against some plant pathogenic fungi in laboratory condition

F. Nakhaei*[1]

Abstract

In recent years studies on the use of plant essential oils and extracts against pathogenic fungi have attracted much attention because of rising resistance against a large number of chemical pesticides. Essential oils are antifungal materials which are renewable and compatible with environment. In this study, essential oil and ethanol extracts of watermint (*Mentha aquatica*) were obtained from aerial parts using distillation and ethanol solvent methods, respectively. The inhibitory effect of different concentrations (0, 100, 200 and 300 ppm / 9 cm Petri dish) of watermint essential oilswith fumigation and contact methods and their extracts on mycelium growth of *Botrytis cinerea*, *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani*, *Phytophthora capsici* were investigated in a factorial experiment based on completely randomized design. Fungi showed different sensitivity to watermint essential oils and extract. None of watermint concentrations of essential oils and extract had any inhibitory effect on growth of *F. oxysporum* but all concentrations inhibited the growth of *B. cinerea*, *R. solani* and *P. capsici* significantly. Increase in concentration enhanced the inhibitory effect significantly. The highest percentage of inhibition was related to concentrations 200 ppm and 300 ppm in *R. solani* (%91.06 and %97.77 respectively) and also concentration 300 ppm in *P. capsici* (%91.89). Therefore, watermint essential oils and extract can be considered as natural fungicide for control of pathogenic fungi.

Keywords: Disk diffusion, fumigation, water distillation.

[1]- Assistant Professor, Department of Plant Protection, Birjand Branch, Islamic Azad University, Birjand, Iran.

*Corresponding author: nakhaei90@yahoo.com