CORE
Metadata, citation and similar papers at core.ac.uk
Provided by Aquatic Commons

اثرات ضد قارچی عصاره‌های آبی و فلاونوئیدی کلی گیاه مورد (*Myrtus communis L.*) بر دو قارچ بیماری‌زای ساپرولگنیا و فوزاریوم جدا شده تخم قزل‌آلای رنگین کمان در شرایط *in vitro*

فرشته سلیمیان ناغانی[۱]، مهرداد فتح اللهی *[۱]، امین نعمت الهی[۲]، فرزانه نیکوخواه [۱]، نواز خرازیان[۳]

۱. گروه شیلات دانشگاه شهرکرد
۲. گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی دانشگاه شهرکرد
۳. گروه زیست شناسی دانشگاه شهرکرد

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۱۱/۱۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۹/۲۹

شناسه دیجیتال (DOI) : 10.22113/jmst.2017.12041

چکیده

در این تحقیق، اثر ضد قارچی غلظت‌های مختلف عصاره‌های به دست آمده از گیاه دارویی مورد (*Myrtus communis* L.) بر روی رشد دو عامل بیماری‌زای قارچی ساپرولگنیا (*Saprolegnia sp.*) و فوزاریوم (*Fusarium sp.*) جدا شده از تخم‌های لقاح‌یافته ماهیان قزل‌آلای‌رنگین‌کمان مورد بررسی قرارگرفت. عصاره برگ‌ها بعد از جمع‌آوری از رویش‌گاههای طبیعی آن در استان چهارمحال و بختیاری در خرداد ماه به روش استخراج فلاونوئید و خیساندن (Maceration) استخراج شد. برای بررسی اثر ضد قارچی عصاره، از روش تست انتشار از دیسک (Disk diffusion) و تست انتشار از چاهک (Well diffusion) استفاده‌شد. براساس نتایج به دست آمده در این مطالعه مشخص شد که مقدار ۵۰ mg/ml عصاره به دست آمده به روش استخراج فلاونوئید و همچنین مقدار ۱۰۰ mg/ml عصاره آبی گیاه مورد به دست آمده به روش خیساندن روی قارچ ساپرولگنیا اثر کشندگی داشته‌است. همچنین تنها اثر عصاره کلی و آبی به‌دست‌آمده روی قارچ فوزاریوم اثر بازدارندگی با MIC برابر ۱۲/۵ و ۲۵ mg/ml به ترتیب با روش‌های تست انتشار دیسک و چاهک بوده‌است. بر اساس نتایج به دست آمده مشخص شد که عصاره گیاه مورد اثر بخشی بهتری در جلوگیری از رشد قارچ ساپرولگنیا نسبت به قارچ فوزاریوم داشت. این مطالعه نشان دهنده وجود ترکیب‌های ضد قارچی در عصاره‌های مختلف گیاه مورد است که با مطالعه در مقیاس گسترده‌تر می‌توان از آن به عنوان داروی مناسب جهت درمان بیماری‌های قارچی در آبزی‌پروری‌استفاده‌کرد.

واژگان کلیدی: گیاه مورد، ساپرولگنیا، فوزاریوم، ضد قارچی، قزل آلای رنگین کمان

* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: mehrdad.fatollahi@nres.sku.ac.ir

۱. مقدمه

در کارگاه‌های پرورش ماهیان قزل آلای رنگین کمان به طور معمول انکوباسیون تخم قزل‌آلا به صورت مصنوعی در انکوباتورها انجام می‌شود. یکی از مشکلات اساسی تولید در کارگاه‌های تکثیر و پرورش قزل‌آلای رنگین کمان، عارضه قارچ‌زدگی است که تخم‌ها، لاروها، ماهیان پرورشی و مولدین را آلوده نموده و باعث ایجاد تلفات در آن‌ها می‌شود . ساپرولگنیا مهم‌ترین عامل بیماری قارچی ماهیان آب شیرین و تخم آن‌ها است و از طریق چسبیدن و نفوذ به دیواره سلول‌های مرده و نیز از طریق تخم‌های مرده به تخم‌های سالم سرایت می‌کند (Abtahi *et al.*, 2005). در فوزاریوم علاوه بر تاثیر مستقیم و ایجاد عفونت‌های جلدی، احشایی و چشمی در آبزیان، نقش توکسین‌زایی آن‌ها نیز شناخته‌شده‌است (Woo and Bruno, Firouzbakhsh *et al.*, 2014; 2011).

مالاشیت گرین، فرمالین، پراکسید هیدروژن، کلرید سدیم و کلسیم، سولفات مس، یدوفورها، پرمنگنات پتاسیم، متیلن آبی و تانن از جمله مواد شیمیایی مورد استفاده برای درمان تخم‌های لقاح یافته و ماهی‌ها بوده‌اند. اثرات مخرب تعدادی از مواد شیمیایی ذکر شده، مشخص شده‌است که کاربرد آنها را تا حد زیادی متوقف ساخته، سایر مواد یا دارای ملاحظات زیستی بوده، یا از خاصیت قارچ‌کشی موثری برخوردار نبوده‌اند. بنابراین تلاش برای یافتن جایگزین‌های دیگری که علاوه بر داشتن اثر درمانی مفید، از لحاظ تاثیرات جنبی ایمن باشد، مورد توجه قرار گرفته است. از جمله این جایگزین‌ها می‌توان به گیاهان دارویی اشاره کرد (Woo and Bruno, 2011). گیاهان طی متابولیسم ثانویه، گروه‌های متعددی از فراورده‌های طبیعی از قبیل آلکالوئیدها، ترکیبات پلی فنولی، تریپنوئیدها و کومارین‌ها را تولید می‌کنند، که صرف نظر از نقش آن‌ها در خود گیاه، در درمان بیماری‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند (Dehghan *et al.*, 2013). گیاهان دارویی نسبت به داروهای شیمیایی، اثرات زیست محیطی زیان‌آور کم‌تری برای محیط زیست دارند و از لحاظ اقتصادی به صرفه‌تر هستند. از جمله مطالعاتی که روی اثر ضد قارچی عصاره‌های گیاهی در آب‌زی‌پروری انجام شده‌است می‌توان به برگ‌های اوکالیپتوس (Ebrahimzadeh Mousavi *et al.* 2006)، اسانس شمعدانی (Rohani *et al.*, 2006) و آویشن شیرازی (Soltani *et al.*, 2009) اشاره‌کرد که تاثیر آن‌ها در کنترل آلودگی-های قارچی تخم قزل‌آلای رنگین کمان بررسی و مشخص شده است و در نوع خود جزء اولین مطالعات در این زمینه در ایران محسوب می‌شوند.

گیاه مورد (*Myrtus communis* L.) که جز فلورگیاهان ایرانی است، به دلیل داشتن خواص درمانی فراوان از زمان‌های قدیم مورد توجه قرار گرفته‌است و خواص ضد عفونی کننده، ضد باکتری و ضد ویروس آن مشخص شده‌است (Zargarii 1983; Hosseinzadeh *et al.* 2000). با وجود سابقه دیرین این گیاه در درمان و بهبود بیماری‌های میکروبی در انسان، تاکنون اثر ضد قارچی آن در آب‌زی پروری مورد بررسی قرارنگرفته‌است. در این مطالعه نتایج بررسی اثرات ضد قارچی عصاره های فلاونوئیدی کلی استخراج شده گیاه مورد به روش استخراج فلاونوئید و عصاره آبی استخراج شده به روش خیساندن (Maceration) بر رشد دو قارچ ساپرولگنیا (*Saprolegnia spp.*) و فوزاریوم (*Fusarium spp.*) که از سالنهای انکوباسیون پرورش ماهیان قزل آلای رنگین کمان جداسازی شدند، ارائه شده است.

۲. مواد و روش‌ها

برگ گیاه مورد *Myrtus communis* L. در بهترین زمان جمع آوری برگ‌های گیاه از اواسط بهار تا اواسط تایستان (Najib Zadeh *et al.*, 2011) در خرداد ماه ۱۳۹۲ در استان چهارمحال و بختیاری جمع‌آوری و برگ‌های سالم در شرایط مناسب دمای اتاق و سایه خشک شدند. با استفاده از روش‌های استخراج فلاونوئید، عصاره کلی و خیساندن عصاره

آبی از برگ‌های گیاه مورد (*Myrtus communis* L) انجام گرفت. عصاره کلی ۱۵ گرم برگ پودر شده قرارداده شده در ۱۵۰ سی‌سی متانول بعد از قرار دادن غیر مستقیم در گرمای ۷۰ درجه و خنک کردن، و جداسازی حلال متانول با استفاده از روتاری، طی دو مرحله جداسازی با کاغذ صافی و قیف دکانتور برای به کار بردن روی قارچهای کشت داده شده تهیه شد (Markham, 1982; Ciesla, 2010; Caruana *et al.*, 2012).

محلول حاصل از ۱۰ گرم از پودر برگ خیسانده شده در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر استریل بعد از فیلتراسیون با کاغذ صافی و فیلتر بیولوژیک به عنوان عصاره آبی به کار گرفته شد (Moradi *et al.*, 2011). به منظور تهیه حجم‌های یکسان از عصاره که حاوی غلظت‌های متفاوتی باشند، بر اساس روش رقت سریالی، غلظت‌های متوالی به دست آمد.

اسپورهای حاصل از قارچ‌های داخل سوآپ‌های نمونه برداری شده از تخم‌های لقاح یافته‌ی‌سالن‌های انکوباسیون نقاط مختلف استان، پس از کشت در سابارودکستروز آگار حاوی آنتی‌بیوتیک کلرامفنیکل، پس از رشد به منظور جداسازی و خالص‌سازی پرگنه-های قارچی در کنار شعله و زیر هود پاساژداده و نمونه‌های رشد کرده جداگانه مورد شناسایی و جداسازی قرار گرفتند (Ebrahimzadeh Mousavi *et al.*, 2007).

برای بررسی اثر ضد قارچی عصاره‌ها از روش تست انتشار از دیسک و تست انتشار از چاهک استفاده‌شد (Ataei Azimi *et al.*, 2007; Abdoualeki *et al.* 2007 a. and b.) و کم‌ترین غلظت از عصاره که بعد از گذشت ۲۰ ساعت توانست رشد قارچ را مهار کند به عنوان MIC و کم‌ترین غلظت از عصاره که طی ۸۰ ساعت توانست به طور کامل از رشد قارچ ممانعت کند به عنوان MFC تعیین شد (Osorio *et al.*, ; Svecova *et al.*, 2013; Abou-Jawdah *et al.*, 2002;2010). برای روش انتشار از دیسک با انتقال ماده ضد قارچ با حجم تا ۲۵ میکرولیتر بر روی دیسک‌های کاغذی که در محیط کشت قارچ قرار گرفت و با تشکیل هاله عدم رشد قارچ در اطراف آن، خاصیت ضد قارچی عصاره ارزیابی شد. در این آزمایش بر روی هر دیسک کاغذی (۶ میلی متر قطر) حجم مشخصی (۲۵ میکرولیتر) از غلظت‌های مختلف عصاره اضافه گردید، سپس فاصله-ی اولیه و رشد کرده قارچ تا دیسک پس از انتقال عصاره روی دیسک‌ها اندازه‌گیری شد. از نیستاتین به عنوان کنترل مثبت و آب/متانول (بسته به نوع عصاره) به عنوان شاهد منفی استفاده و ۲۰ ساعت بعد از کشت، حداقل غلظت بازدارندگی عصاره بر روی قارچ با مشاهده هاله‌های به وجود آمده و جهت بررسی اثر کشندگی عصاره روی قارچ، هاله عدم رشد تا ۸۰ ساعت بعد از ریختن عصاره روی دیسک‌ها تعیین گردید. تست انتشار از چاهک جهت بررسی اثر کشندگی عصاره ها بر قارچها به منظور به کار بردن حجم‌های بالاتر از عصاره (۵۰ میکرولیتر) برای تست اثر عصاره‌هایی که در روش اولیه ی انتشار دیسک تنها تا حد بازدارندگی بروز کرده بودند به کار گرفته شد؛ زیرا در صورت استفاده از روش انتشار از دیسک استفاده از حجم‌های بیش‌تر عصاره احتمال پخش شدن آن به اطراف دیسک و در نهایت خطا در انجام آزمایش وجود دارد. در این آزمایش چاهک‌هایی به قطر ۶ میلی‌متر در هر پتری دیش ایجاد و درون هر چاهک حجم مشخصی (۵۰ میکرولیتر) از غلظت‌های مختلف عصاره ریخته شد. اندازه کیری فاصله‌ی قارچ تا چاهک پس از انتقال عصاره روی چاهک‌ها صورت گرفت. شاهدها و محاسبات MIC و MFC به مانند روش انتشار دیسک انجام شد. در تمام مراحل آزمایش‌های انجام شده برای هر قارچ، نتایج حاصل از سه تکرار درست همزمان و کامل از رشد قارچها به عنوان مشاهده در نظر گرفته شدند و در غیر این‌صورت آزمایش‌ها دوباره تکرار می شد.

تجزیه و تحلیل داده‌های آماری به دست آمده و رسم نمودارهای مربوط و نتایج با استفاده از نرم افزارهای *Spss Statistics Version 22* و *2010* اکسل

صورت پذیرفت. ارائه میانگین داده‌ها به صورت میانگین ± خطای معیار انجام شد. مقایسه میانگین داده‌ها و تیمارها با استفاده از آزمون‌های آنالیز واریانس یک طرفه و دانکن صورت گرفت.

۳. نتایج

اثر غلظت‌های مختلف عصاره کلی بر قارچ ساپرولگنیا، میزان MIC در غلظت ۱۲/۵ mg/ml از عصاره کلی مورد (جدول۱) و میزان MFC در غلظت ۱۰۰mg/ml از این عصاره (شکل۱) را نشان داده است. به جز شعاع هاله های به وجود آمده ناشی رشد در ناحیه‌ی دیسک‌های مربوط به نیستاتین، غلظت ۵۰ و۱۰۰ mg/ml از عصاره که با گذشت زمان در مقداری ثابت متوقف ماند. این توقف، بیان کننده توقف آهنگ رشد قارچ در مقابل غلظت‌های به کار برده شده برای جلوگیری از رشد قارچ است (شکل ۱)، در بقیه غلظت‌های عصاره کلی، شعاع فاصله قارچ تا دیسک کاهش یافت و در روز دوم به صفر رسید (رشد قارچ به روی دیسک مشاهده شد). اثر فزاینده بازدارندگی رشد به ازای افزایش غلظت عصاره کلی در تیمارها بعد از ۸۰ ساعت، کشندگی بهتری از غلظت mg/ml ۱۰۰ را نسبت به شاهد نیستاتین ($P<0/05$) نشان داد (جدول۱) و اثر غلظت mg/ml ۵۰ و نیستاتین (شاهد مثبت) با هم تفاوت معنی‌داری نداشتند ($P<0/05$).

از میان غلظت‌های مختلف عصاره آبی استخراج شده، تیمارهای با غلظت mg/ml ۱۰۰ و mg/ml ۵۰ در ۲۰ ساعت اول اثرات بازدارنده رشد بر قارچ های کشت شده نشان داده‌اند (جدول ۲) و تیمارهای با غلظت‌های دیگر از این عصاره هیچ تاثیر ضد قارچی نشان ندادند. به این ترتیب غلظت mg/ml ۵۰ عصاره آبی برگ گیاه مورد به عنوان MIC برای مهار رشد قارچ ساپرولگنیا تعیین شد. در تست انتشار دیسک با به کارگیری ۲۵ میکرولیتر از عصاره آبی اثر کشندگی از غلظت‌های مختلف تیمارها مشاهده نشد.

با به کارگیری تیمارهای مختلف در تست انتشار چاهک با حجم ۵۰ میکرولیتر از عصاره آبی گیاه مورد، غلظت حداقل mg/ml ۱۰۰ از عصاره (MFC) همانند شاهد مثبت نیستاتین توانست رشد قارچ را متوقف نماید. در این تست mg/ml ۲۵ عصاره آبی به عنوان MIC اثر بازدارندگی این عصاره را بر روی رشد قارچ ساپرولگنیا بروز داده است (شکل۲).

جدول ۱: نتایج حاصل از به کارگیری غلظت‌های مختلف عصاره کلی گیاه مورد بر روی رشد قارچ ساپرولگنیا در ۲۰ ساعت اول کشت

غلظت عصاره (mg/ml)	شعاع هاله (mm)
۶/۲۵	۰^{e}
۱۲/۵	۵±۰/۲۲^{d}
۲۵	۶±۰/۲^{c}
۵۰	۷/۳±۰/۳۳^{b}
۱۰۰	۸/۷±۰/۳۳^{a}
نیستاتین	۷/۷±۰/۳۳^{b}
متانول	۰^{e}

حروف نشان دهنده مرتبه معنی‌داری گروه‌های مقایسه شده هستند.
شعاع هاله: فاصله توقف رشد قارچ تا مرکز دیسک حاوی عصاره

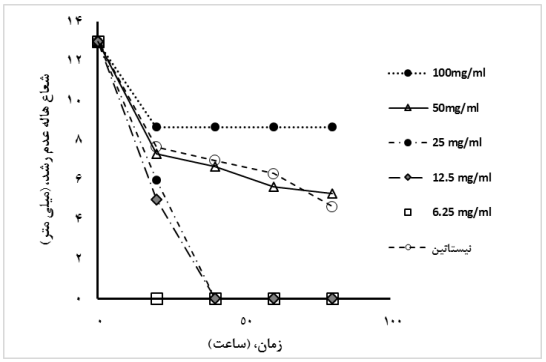
جدول ۲: نتایج حاصل از به کارگیری غلظت‌های مختلف عصاره آبی گیاه مورد بر روی رشد قارچ ساپرولگنیا در ۲۰ ساعت اول کشت

غلظت عصاره (mg/ml)	شعاع هاله (mm)
۱۲/۵	۰^{d}
۲۵	۰^{d}
۵۰	۴±۰/۲۸^{c}
۱۰۰	۵/۵±۰/۲۸^{b}
نیستاتین	۷±۰/۵۷^{a}
آب	۰^{d}

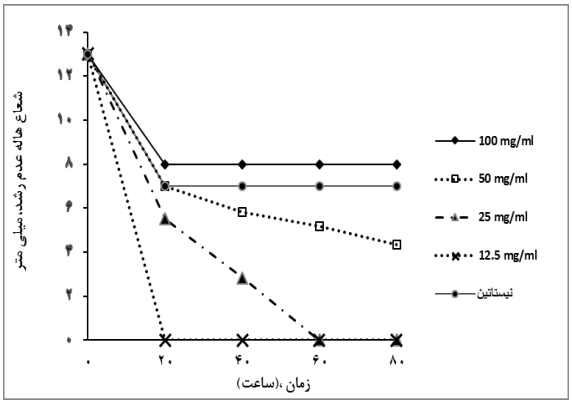
حروف نشان دهنده مرتبه معنی‌داری گروه‌های مقایسه شده هستند.
شعاع هاله: فاصله توقف رشد قارچ تا مرکز دیسک حاوی عصاره

اثر بازدارندگی غلظت‌های مختلف عصاره گیاه مورد بر قارچ فوزاریوم نشان داد که غلظت‌های ۱۰۰mg/ml، ۵۰ mg/ml و ۲۵ mg/ml از عصاره کلی گیاه مورد بعد از ۲۰ ساعت اثر بازدارندگی مشابه بر روی رشد قارچ فوزاریوم نشان دادند و این آثار به طور معنی‌داری از نظر هاله‌ی به وجود آمده از اثر

نیستاتین به کار رفته کم‌تر بوده (P<۰/۰۵) و غلظت ۲۵mg/ml به عنوان MIC عمل نموده است.



شکل ۱: نمودار اثر کشندگی عصاره کلی گیاه مورد بر قارچ ساپرولگنیا در تست انتشار از دیسک



شکل ۲: اثر کشندگی عصاره آبی گیاه مورد بر قارچ ساپرولگنیا، در تست انتشار از چاهک

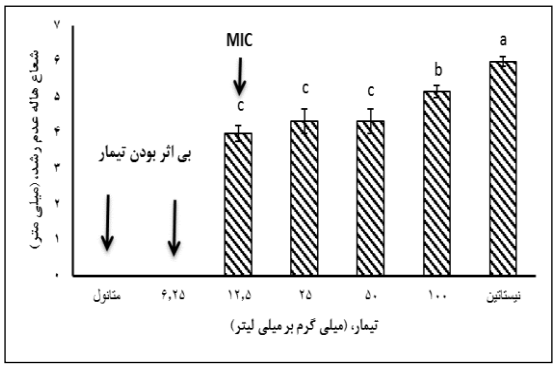
در تست انتشار دیسک هیچ‌کدام از غلظت‌های به کار رفته اثر کشندگی بر روی قارچ را نشان نداده‌اند. با به کار گیری حجم بالاتر (۵۰ میکرولیتر) از عصاره‌های کلی به روش انتشار چاهک در بیست ساعت اول از رشد قارچ فوزاریوم نیز عملکرد بهتر شاهد نیستاتین در ایجاد هاله‌های توقف رشد با شعاع بزرگ‌تر در برابر غلظت ۱۰۰ mg/ml ، ۵۰ mg/ml، ۲۵ mg/ml و ۱۲/۵ mg/ml کاملا معنی دار بوده‌است (P <۰/۰۵، تست توکی).

در روش تست انتشار چاهک غلظت ۱۲/۵ mg/ml به عنوان MIC عصاره کلی برگ گیاه مورد بر قارچ فوزاریوم تعیین شد (شکل۳). در روش انتشار چاهک نیز اثرات کشنده از تیمارهای به کار گرفته شده بر روی قارچها مشاهده نشد(شکل۳).

جدول ۳: نتایج حاصل از به کارگیری غلظت‌های مختلف عصاره کلی گیاه مورد بر روی رشد قارچ فوزاریوم در ۲۰ ساعت اول کشت

غلظت عصاره (mg/ml)	شعاع هاله (mm)
۶/۲۵	۰^{c}
۱۲/۵	۰^{c}
۲۵	۴±۰/۴^{b}
۵۰	۴±۰/۵^{b}
۱۰۰	۴/۳±۰/۳۳^{b}
نیستاتین	۶±۰/۲۸^{a}
متانول	۰^{c}

حروف نشان دهنده مرتبه معنی‌داری گروه‌های مقایسه شده هستند.
شعاع هاله: فاصله توقف رشد قارچ تا مرکز دیسک حاوی عصاره



شکل ۳ : نمودار اثر بازدارندگی عصاره کلی گیاه مورد بر فوزاریوم، در ۲۰ ساعت بعد از کشت، در تست انتشار از چاهک

نتایج آزمایش با استفاده از به کارگیری حجم ۲۵ میکرولیتر از عصاره در تست انتشار دیسک، به جز در دیسک حاوی شاهد نیستاتین در سایر تیمارهای به کار گرفته‌شده، عصاره آبی گیاه مورد اثر ضد قارچی بر قارچ فوزاریوم از خود نشان نداد و رشد قارچها در محیط کشت و بر روی همه ی دیسک‌های به کار برده شده بدون بازدارندگی و توقف مشاهده شد. نتایج حاصل از به کار بردن حجم بیشتر عصاره (۵۰ میکرولیتر) در تست انتشار چاهک با غلظت‌های تعیین شده نشان داد که غلظت‌های مختلف به کار برده شده عصاره آبی به دست آمده از برگ‌های گیاه

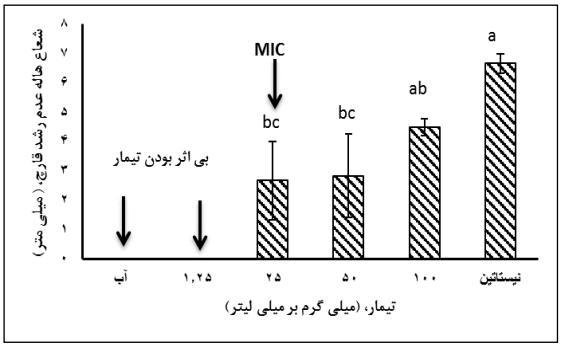
مورد روی رشد قارچ فوزاریوم اثرات بازدارنده داشته‌اند (شکل۴). اختلاف هاله‌های ایجاد شده و بیش‌تر بودن شعاع هاله‌های مربوط به بازدارندگی رشد نشان می‌دهد که افزایش غلظت در عصاره‌های به کار گرفته شده قدرت بازدارندگی رشد قارچ را نیز افزایش داده است. غلظت ۲۵ mg/ml به عنوان MIC بدست آمد. بعد از گذشت ۴۰ ساعت تنها از گروه شاهد آثار کشندگی قارچ مشاهده شده است.

با توجه به مشاهدات صورت گرفته از همه نمونه‌های قارچی رشد داده‌شده در محیط کشت، فعالیت‌های ضد قارچی عصاره‌های استخراج شده از برگ‌های گیاه مورد با استفاده از حلال‌های مختلف با دو روش تست انتشار دیسک و تست انتشار چاهک به صورت جدول ۴ بوده است.

جدول ۴ : نتایج نهایی به دست آمده از اثر عصاره‌های برگ گیاه مورد *Myrtus communis* L. بر قارچ‌های جدا شده از تخم های لقاح یافته ماهیان قزل آلای رنگین کمان

تاثیر عصاره ها بر رشد قارچها در تست انتشار دیسک و چاهک				
قارچ	تست انتشار دیسک		تست انتشار چاهک	
	عصاره آبی	عصاره کلی	عصاره آبی	عصاره کلی
ساپرولگنیا	بازدارنده	کشنده	کشنده	-*
فوزاریوم	بی اثر	بازدارنده	بی اثر	بازدارنده

* به دلیل ظهور اثرات کشندگی از این عصاره‌ها در تست قبلی، انتشار چاهک این عصاره انجام نشده است.



شکل ۴: اثر بازدارندگی عصاره آبی گیاه مورد بر قارچ فوزاریوم، در ۲۰ ساعت بعد از کشت، در تست انتشار از چاهک

۴. بحث و نتیجه‌گیری

دو گونه ی جداشده از قارچ‌های بیماریزا از سالن‌های انکوباسیون استان از مهمترین قارچ‌های بیماری‌زای گزارش شده توسط محققین مختلف می‌باشند. گونه‌های ساپرولگنیا می‌توانند تخم‌های مرده را با چسبیدن و نفوذ به غشای تخم آلوده کنند و سپس با خاصیت کموتاکسیک مثبت به سمت تخم‌های زنده بروند. در این روند سیگنال‌های شیمیایی از تخم‌های زنده باعث می‌شوند تا قارچ‌ها به سمت آن‌ها حرکت کنند (Bruno and Woo, 1994). فوزاریوم‌ها نیز عامل بیماری‌های مهمی در آبزیان مانند بیماری آبشش سیاه (Firouzbakhsh *et al.*, 2005)، (Souheili et al., 1999) است. گونه‌های مختلفی از فوزاریوم سولانی، فوزاریوم مونیلیفورم (*Fusarium moniliforme*) و فوزاریوم اکسی‌سپروم (*Fusarium oxysporum*) از ضایعات آبشش کپور ماهیان پرورشی جدا شده‌است (Firouzbakhsh *et al.*, 2005). فیروز بخش و همکاران در سال ۱۳۸۸ قارچ‌های سطحی تاس ماهی ایرانی پرورشی و صید شده از دریایی خزر بررسی کرده و فوزاریوم هم در بین سیزده نوع قارچ جداسازی شده بوده است (Firouzbakhsh *et al.*, 2009). فوزاریوم سولانی، فوزاریوم مونیلیفورم و فوزاریوم تریکینتم پاتوژن‌های فرصت طلبی هستند که ممکن است منجر به مرگ و میر بالای ۹۰٪ شوند. بیماری درحوضچه‌هایی که کیفیت آب پایین است، رخ می‌دهد (Ramaiah, 2006).

مدیریت بهداشتی نامناسب در کارگاه‌های پرورش و عواملی چون تراکم بالای تخم در هچری‌ها و کیفیت متغییر فیزیکی و شیمیایی آب مانند تغییرات دمایی و آلودگی آب، خطای کارگر و پیش مولدین یا مولدین نارس از عوامل زمینه‌ساز بیماری‌های قارچی در آبزیان به شمار می‌روند (Ebrahimzadeh Mousavi *et al.*, 2007). داروهای شیمیایی با تمام کارایی، اثرات نامطلوب فراوانی به همراه دارند و کمتر ماده خالصی وجود دارد که دارای اثرات سوء نباشد (Velag and Studla, 2005). با توجه به عوارض نامطلوب مواد

شیمیایی، مقررات سخت‌گیرانه‌ای در جهت محدودیت استفاده از مواد شیمیایی در آبزی پروری ایجاد شده است؛ بنابراین جست و جو و به کار بردن دارویی که ضمن کارایی مطلوب، دارای حداقل اثرات سمی باشد و برای گونه‌های پرورشی نیز واجد حداقل عارضه باشد همواره در جهت مبارزه با بیماری‌های قارچی از اهمیت بالایی برخوردار است (Abtahi *et al.*, 2005.). از آن جایی که گیاهان دارای متابولیت‌های ثانویه متفاوت و متنوعی هستند؛ می‌توان خواص بازدارندگی یا خواص قارچ ایستایی آن‌ها را در این ترکیبات متنوع جست‌وجو کرد. در مطالعه ابراهیم زاده موسوی و همکاران اولین بررسی در نوع خود در زمینه کاربرد مواد طبیعی و گیاهی در زمینه کنترل آلودگی‌های قارچی تخم آبزیان انجام شد (Ebrahimzadeh Mousavi *et al.*, 2006.). در این مطالعه اثر اسانس اکالیپتوس (*Ecaliptus camaldolensis* Dehnh.) در کنترل آلودگی‌های قارچی تخم ماهی قزل‌آلای رنگین کمان مورد ارزیابی بالینی و کارگاهی قرار گرفت. شریف روحانی و همکاران نیز با بررسی اثر اسانس شمعدانی (*Geranium herbarum*) نقش موثر آن را بر آلودگی‌های قارچی تخم قزل‌آلای رنگین کمان بیان کردند (Rohani *et al.*, 2006.). Rai و همکاران (۲۰۰۲) نیز کارایی اسانس روغنی ۵ گیاه خانواده آستراسه، *Blumea balsamifera*، *Blumea mollis*، *Eupatorium triplinerve*، *Tagetes erecta* و *Guizotia abyssynic* را در برابر قارچ ساپرولگنیا فراکس جدا شده از ماهی گزارش کرده اند.

شریفی و همکاران (۲۰۱۲) اثر ضد قارچی غلظت-های مختلف عصاره هیدروالکلی جفت گیاه بلوط را روی قارچ ساپرولگنیا و Mousavi و همکاران (۲۰۰۹) اثر ضد قارچی ترکیب جدیدی از روغن‌های ضروری آویشن (*Thymus vulgaris*)، مریم گلی (*Salvia officinalis* L.)، اکالیپتوس (*Eucalyptus globulus*) و نعناع (*Mentha piperita*) را بر تخم‌های قزل‌آلای رنگین کمان بررسی کردند. بر اساس نتایج به دست آمده اسانس‌های روغنی ترکیبی اثرات ضد قارچی قابل توجهی در مقایسه با مالاشیت گرین نشان داد تا جایی که غلظت ppm ۱۰ آن توانست آلودگی قارچی را کاهش دهد.

مطالعات انجام شده در دنیا بیان‌گر آن است که عصاره بسیاری از گیاهان این توانایی مهار رشد میکروارگانیسم‌ها را دارد و به این لحاظ گیاهان به عنوان عوامل ضد میکروبی کاربردهای زیادی پیدا نموده‌اند (Sukanya *et al.*, 2009). عصاره و اسانس-های گیاهی به دست آمده از گیاهان معطر دارای خاصیت ضد باکتریایی، ضد قارچی، ضد اکسایشی و ضد سرطانی بوده و قادر هستند رشد پاتوژن‌ها و تولید سم توسط ریزسازواره‌ها را کنترل کنند (Tajkarim et al., 2010). در این میان تاثیر گیاه مورد *Myrtus communis* L. بر ضد باکتری‌ها و قارچ‌ها در مطالعات محققین ثابت شده است (Zargarii, 1983; Azadbakht *et al.*, 2003; Abdulaali, 2009; Hashemi *et al.*, 2011)

برگ به کار گرفته گیاه در این تحقیق به عنوان بخش دارویی گیاه دارای ۱/۵ تا ۲ درصد حجمی اسانس است (Omidbaigi, 2005; Mirazadi, 2010). مطالعات نشان داده است که نوع حلال، در استخراج متابولیت‌های فعال گیاه موثر است و عصاره گیاه در حلال‌های مختلف می‌تواند اثرات متفاوتی در کنترل عوامل بیماریزا داشته باشد. در این بررسی حلال آب و متانول برای تهیه عصاره‌های آبی و کلی گیاه مورد استفاده قرار گرفت؛ روش استخراج فلاونوئید با کمک حلال متانول و خیساندن برای عصاره آبی استفاده شد. قطبیت حلال آب بیش‌تر از متانول است و عصاره الکلی می‌تواند شامل مواد مختلف با قطبیت کمتر باشد (Rezaii M., 1985). از سویی بر اساس نتایج تحقیقات پیشین عصاره‌های الکلی میزان بالاتری از مواد موثره گیاه را استخراج می‌کنند (Haghighati, et al., 2016.).

خواص گیاه مورد را می‌توان به ترکیبات موجود در این گیاه از جمله تانن‌ها، فلاونوئیدها و اسانس‌های این گیاه نسبت داد و ترکیبات پلی فنلیک این گیاه

(تانن‌ها و فلاونوئیدها) دارای خواص ضد میکروبی می‌باشند. بر اساس اعلام صالح‌نیا مهم‌ترین ترکیب در اسانس این گیاه سینئول و در عصاره آن تانن و فلاونوئید است که اثر ضد عفونی کننده دارند (Salehnia, 2000). Hosseini Azimi و Mortazavitodashky در سال ۱۹۹۹ بیان کردند که اسانس‌های موجود در عصاره ممکن است دارای اثرات ضد باکتریایی، ضد ویروسی و ضد قارچی بسیار قوی باشند. اثر ضد میکروبی گیاه مورد به درستی و به طور کامل مشخص نشده‌است با این حال بیان شده است که اثرات ضد میکروبی عصاره مورد مربوط به ترکیبی به نام Polyphenolic است که اغلب ضد باکتری بوده و دو ماده به نام میرتوکومولون A و B از آن جدا می‌شود که دارای اثرات ضد میکروبی به خصوص بر روی باکتری‌های گرم مثبت است (Montoro *et al*, 2006; Houshmand *et al.*, 2011).

در مقابل غلظت ۵۰ و ۱۰۰ mg/ml از عصاره‌ی کلی فلاونوئیدی، توقف در رشد قارچها بعد از ۲۰ ساعت مشاهده شد. غلظت ۱۰۰ mg/ml از عصاره حتی نتیجه بهتری از نیستاتین را نشان داده‌است. به نظر می رسد دلایل اصلی اثرات ضد قارچی این عصاره، وجود ترکیبات فلاونوئیدی آن است. Gholamhoseinian و همکاران در سال ۲۰۰۸ در خصوص اثر مهاری تعدادی از عصاره‌های گیاهی ایران مشخص کردند که عصاره‌های متانولی و آبی گیاه مورد بر روی آلفاگلوکوزیداز به میزان بیش از ۷۵ درصد اثر مهاری داشته‌است. در تحقیق جاری عصاره آبی گیاه مورد در حجم ۲۵ میکرولیتر اثرات بازدارنده روی رشد ساپرولگنیا نشان داد و با بالا بردن حجم به کار رفته از عصاره آبی با روش تست انتشار چاهک، مشخص شد که میزان ۱۰۰ mg/ml عصاره آبی بر ساپرولگنیا اثر کشندگی بهتری از نیستاتین شاهد را داشته است. در تحقیق بیدریغ و همکاران نیز اثرات مهاری عصاره آبی گیاه مورد بر روی سویه‌های کلینیکی و استاندارد کاندیدا آلبیکنس در شرایط آزمایشگاهی نسبت به داروی نیستاتین بهتر بوده است (Bidarigh, 2008).

رضایی در سال ۱۳۷۴ با بررسی اثر ضد میکروبی برگ مورد، نشان داد که عصاره آبی آن در شرایط آزمایشگاهی بر کلبسیلا پنومونیه اثر ضد میکروبی خوبی داشته است (Rezaii, 1985). Mansouri در سال ۱۹۹۹ بیان کرد که ۹۹٪ استافیلوکوکوس‌های جدا شده از ناقلین در بیمارستان حساسیت خوبی به عصاره آبی و اتانولی مورد داشته‌اند و Mansouri و همکاران در سال ۲۰۰۱ و AL-Saimary و همکاران در سال ۲۰۰۲ نشان دادند که عصاره آبی گیاه مورد رشد باکتری‌ها را کاهش می‌دهد. مطابق با نتایج تحقیق جاری به کار گیری حلال متانولی در استخراج عصاره کلی، تاثیر بهتری نسبت به عصاره آبی روی قارچ ساپرولگنیا بروز می کند. احتمالا به این دلیل که عصاره متانولی طیف گسترده‌ای از ترکیبات قطبی و غیر قطبی را در خود حل می‌کند این کارایی در عصاره کلی نسبت به عصاره آبی بروز نموده است.

مطابق با نتایج تحقیق، اثر غلظت‌های مختلف عصاره کلی مورد مطالعه در حجم ۲۵ و ۵۰ میکرولیتر در دو روش تست انتشار دیسک و چاهک روی قارچ فوزاریوم بیان‌گر اثرات بازدارنده عصاره کلی گیاه مورد روی این قارچ بود و عصاره آبی روی رشد این قارچ اثر بازدارنده و کشنده نداشته‌است. به کار گیری روش تست چاهک برای بالابردن حجم عصاره مورد استفاده در کشت قارچها بود که با افزایش حجم عصاره آبی نیز اثرات بازدارندگی رشد قارچها بروز نکرد. سطح اثر ضد قارچی اسانس کاملا به روش مورد استفاده در آزمایش بستگی دارد (Anthony *et al.*, 2004). Kalemba و Kunicka در سال ۲۰۰۳ بیان کردند که فعالیت اسانس‌ها در مقابل میکروارگانیسم‌ها بسته به نوع اسانس و نژاد میکروبی متفاوت است؛ اما همیشه با مقدار و غلظت آنها در ارتباط است. Tripathi و همکاران (۲۰۰۴) و Bakkali و همکاران (۲۰۰۸) بیان نمودند که مکانیسم عمل اسانس‌ها علیه میکروارگانیسم‌ها پیچیده است و هنوز کاملا مشخص

نیست. اسانس‌ها به علت تعداد زیاد ترکیبات سازنده احتمالا بیش از یک مکان عمل دارند. قارچ‌های مورد بررسی در این مطالعه از نظر قارچ شناسی به گروه-های مختلف تعلق داشته و قرابت چندانی با یکدیگر ندارند. فوزاریوم از شاخه دتروماسیت‌ها بوده و ساپرولگنیا متعلق به شاخه زیگومیست‌ها است. با این توصیف، قارچ‌های مورد مطالعه از نظر طبقه بندی قارچ‌شناسی و به تبع آن ویژگی‌های سلولی و فیزیولوژیکی فاصله بسیاری با یکدیگر دارند و نهایتا اثر عصاره روی قارچ‌ها نیز متفاوت بوده‌است. اثر بهتر عصاره‌ها بر ساپرولگنیا نسبت به فوزاریوم از سوی گروه تحقیقاتی ابراهیم زاده موسوی و همکاران نیز روی اثر ضدقارچی اسانس اکالیپتوس بر ساپرولگنیا و فوزاریوم مشاهده و گزارش‌شده‌است (Ebrahimzadeh Mousavi *et al.*, 2006). در این زمینه Bonjar و همکاران (۲۰۰۴) به بررسی اثرات ضد میکروبی گروهی از گیاهان دارویی از جمله مورد پرداختند و نشان دادند که در حالی‌که اسانس این گیاه بر باکتری‌هایی مانند اشرشیاکلی، کلبسیلا، بوردتلا و استاف آرئوس و قارچ‌هایی چون کاندیدا آلبیکنس و کاندیدا اوتیلیس مؤثر بوده است، اثر چندانی بر ضد قارچ ساکارومیسس سرویسیه ندارد. . در مطالعه Martinetz و همکاران (۱۹۹۸) نیز عصاره گیاه مورد دارای اثرات مهارکنندگی بر قارچ فوزاریوم و فاقد این اثر بر پنیسلیوم بوده است. Curini و همکاران (۲۰۰۴) نیز بیان کردند که روغن مورد فعالیت ضد قارچی ضعیفی در برابر رایزوکتونیا سولانی، فوزاریوم سولانی و کلتوتریکم لینه له موتیانم (*Colletotrichum linelemuthianum*) نشان می‌دهد.

بر اساس نتایج تحقیق جاری معلوم شده‌است که عصاره کلی فلاونوئیدی و آبی استخراج شده از گیاه مورد می تواند بر روی قارچ ساپرولگنیا به عنوان شایع ترین قارچ ساپرولگنیازیس در تخم‌های ماهیان اثر کشنده و بر روی قارچ فوزاریوم اثر بازدارندگی رشد داشته باشد. بر اساس آنچه در ابتدای بحث ارائه شده است، بر پایه گزارش‌های محققین قارچ‌های فوزاریوم در محیط‌های پرورشی گرم‌تر و ماهیان و آبزیان آب‌های گرم شایع بوده و از این نظر کارایی عصاره گیاه مورد در مبارزه با بیماری ساپرولگنیاریس قزل آلای رنگین کاملا می تواند مورد تایید قرار گیرد و با توجه به این آثار، گیاه مورد می‌تواند یک گزینه مورد تحقیق بیشتر برای یافتن یک منبع طبیعی جایگزین کاملا موثر به جای مواد شیمیایی ضد قارچ در پرورش ماهی قزل آلای رنگین کمان باشد. از آنجا که که عصاره متانولی طیف گسترده‌ای از ترکیبات قطبی و غیر قطبی را در خود حل می‌کند کارایی بهتر عصاره کلی فلاونوئیدی گیاه مورد نسبت به عصاره آبی در این آزمایش بروز نموده است. انتظار بر این است که به کارگیری حلال‌های ساده دیگر به خصوص هیدروالکلی وافزایش بیشتر طیف حلالیت نیز اثر کشنده بهتری را بر روی قارچ‌های جداشده از سالن‌های انکوباسیون قزل آلای رنگین کمان بروز دهد.

منابع

Abdolmaleki M., Bahraminejad S., Salari M., Abbasi S., Panjeke N., 2011. Antifungal Activity of Peppermint (Mentha piperita L.) on Phytopathogenic Fungi. *Journal of Mediciene Plants* 38(2): , 26-34. (in persian).

Abdulaali N.I., 2009. Effect of Carrot Extracts on *Pseudomonas aeruginosa*, Pakistan Journal of Nutrition 8 (4): 6-373.

Abou-Jawdah Y., Sobh H., Salameh A., 2002. Antimycotic activities of selected plant flora, growing wild in Lebanon, against phytopathogenic fungi, Journal of Agricultural and Food Chemistry 50 (11): 3208-3213.

Abtahi B., Nazari R.M., Rasuli A., 2005. Comparison of antifungal therapeutic indices of formalin, malachite green and potassium permanganate on Persian sturgeon in farming conditions of north of Iran (Sari). *Pajouhesh va Sazandegi* 67: 42-49. (in persian).

AL-Saimary I.E., Bakr S.S., Jaffar T., Al-Saimary A.E., Salim H., Al-Muosawi R., 2002. Effects of some plant extracts and antibiotics

on *pseudomonas aeruginosa* isolated from various burn cases, Saudi Med J 23(7): 5-802.

Anthony S., Abeywickrama K., Dayananda R., Wijeratnam S.W., and Arambewela L., 2004. Fungal pathogens associated with banana fruit in Sri Lanka and their treatment with essential oils, Mycopathologia 157: 91-97.

Ataei Azimi A., Delnavaz Hashemloian B., Mansoorghanaei A., 2007. Antifungal Effects of Water, Alcoholic and Phenolic Extracts of Seeds and Leaves of Sorghum bicolor (L.) Moench on Fusarium solani and F. poae**.** *Journal of Mediciene Plants* 3 (1): 26-32. (in persian).

Azadbakht M., Ziai H., Abdollahi F., Shabankhani B., 2003. Effect of essential oils of *Artemisia. Zataria* and *Myrtus communis* on Trichomonas vaginalis. *Journal of Medicine Plants* 4 (8):35-40. (in persian).

Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D. and. Idaomar M., 2008. Biological effects of essential oils-A review, Food Chemistry Toxicology 46: 446–475.

Bidarigh S., Khoshkholgh-pahlaviani M.R., Masiha A.R., Issazadeh KH., Giahei M., 2008. Comparision of the minimum inhibiting concentration (MIC) of the extracts of *Myrtus communis* and Nystatin against clinical isolates of Candida albicans invitro.*Journal of Biological sciences*. 2 (4): 27-35. (in persian).

Bonjar G.H.S., Nik A., Aghighi S., 2004. Antimicrobial and antifungal survey in plants used in indigenous herbal-medicine of south east regions of Iran, Journal of Biological Science13: 10-405.

Bruno D.W., Woo P.B., 1994. Saprolegnia and other oomycets. Fish Disease CABI pub, UK pp.599-659.

Caruana S., Yoon G.H., Freeman M.A., Mackie J.A., Shinn A.P., 2012. The efficacy of selected plant extracts and bioflavonoids in controlling infections of Saprolegnia australis (Saprolegniales; Oomycetes). Aquaculture 358-359 : 146–154. Available at: www.elsevier.com/locate/aqua-online

Ciesla L.M., Waksmundzaka-Hajnos M., 2010. Application of thin layer chromatography for the quality control and screening the free radical scavenging activity of selected pharmaceutical preparations containing *S. officinalis* extract, Acta Poloniae pharmaceutica 67: 481-485.

Curini M., Bianchi A., Epifano F., Bruni R., Torta L., Zambonelli A., 2004. Composition and in-vitro antifungal activity of essential oils of *Erigeron canadensis* and *Myrtus communis* from France, Chem.Nat.Compd39:191–194.

Dehghan G., Zarrini G., Hajizadeh M., 2013. Phytochemical investigation and antimicrobial, antifungal and synergistic activities of chloroform fractions of the root of *Ferula szovitsiana. Journal of Shahrekord University Mediciene Scienses*. 15 (6) :10-17. (in persian).

Ebrahimzadeh Mousavi H., Rohani M.S., Khowsravi A., Mehrabi Y., Basti A., 2006. The Evaluation of *Eucaliptus camaldolensis* Dehnh. esscence application in control of fungal pollution of rainbowtrout eggs. *Journal of Medicine Plants* 4 (20):42-47. (in persian).

Ebrahimzadeh Mousavi H.A., Hosseinifard S.M., Khosravi A.R., Soltani M., Yosefian M., 2007. Isolation and identification of parasite and soprophite fungi from fungal affected eggs of the rainbowtrout (*Onchorynchus mykiss*) in Mazandaran Provience. *Journal of Veterinary Reearches* 62(3): 163-168.(in persian).

Firouzbakhsh F., Afsarian M.S., Hooshangi S., Badali H., 2014. Evaluation of *in vitro* antifungal activity of Foeniculum, *Achillea, Satureja,* Cinnamomum *and* Artemisia against *Saprolegnia parasitica.* Arak Medical University Journal. 17(86): 60-69. (in persian).

Firouzbakhsh F., Ebrahimzadeh Mousavi H., Khosravi A.R., 2005. Isolation and identification of pathogenic and saprophytic fungi from gill lesion in cultivated cyprinids (common carp, silver carp and grass carp). *Journal of Veterinary Reearches* 60 (1): 15-19. (in persian).

Firouzbakhsh F., Kazemi R., Kazemi M., Khosravi A.R., Jalilpour J., Ebrahimzadeh Mousavi H., 2009. Identification of Flora in Cultivated and Wild Caspian Sea *Acipenser persicus* . *Journal of Veterinary Reearches* 64(4): 271-355. (in persian).

Gholamhoseinian A., Shakibaei M., Jamali Z., 2005. [Mechanisem of Antibacterial Activity of Methanolic Extract of *Myrtus communis* L. on *E.coli* K 12 HB101], Journal of Rafsenjan university of Medical Sciences 4 (4): 7-220.

Haghighati F., Jafari Sh.; Momen Beitollahi J., 2016. Comparison of antimicrobial effects of ten Herbal extracts with chlorhexidine on three different oral pathogens; an in vitro study. *Hakim Health Sys. Research* 19(2): 64-68. (in persian).

Hashemi A., Shams S., Barati M., Samedani A., 2011. Antibacterial effects of methanolic extracts of *Zataria multiflora*, *Myrtus communis* and *Peganum harmala* on *Pseudomonas aeruginosa* producing ESBL. *Arak Medical University Journal* 14(57): 104-112. (in persian).

Hosseini azimi S., Mortazavitodashky A., 1999. Effect of *Myrtus communis* in mouth diseases therapy, Weekly Medical Science Todayespecially herbs 312: 1-3.

Hosseinzadeh H., Ramezani M., Salmani G., 2000. Antinociceptive, anti-inflammatory and acute toxicity effects of *Zataria multiflora* Boiss extracts in mice and rats, J Ethnopharmacol 73 (3): 379-850.

Houshmand B., Mortazavi H.,Alikhani Y., Abdolsamadi H.R., Ahmadi Motemayel F., ZareMahmoudabadi R., 2011. *In Vitro* Evaluation of Antibacterial Effect of Myrtus Extract with Different Concentrations on Some Oral Bacteria. *journal of Dental Faculty of Medicine University of Mashhad* 35(2): 123-130

Kalemba D., Kunicka A., 2003. Antibacterial and antifungal properties of essential oils, Current Medicinal Chemistry 10: 813-829.

M Abdolmaleki *, S Bahraminejad, M Salari, S Abbasi. 2011. Antifungal Activity of some Plant Crude Extracts on Four Phytopathogenic Fungi. M Abdolmaleki , S Bahraminejad, S Abbasi. *Journal of Mediciene Plants* 38(2): , 148-155. (in persian).

Mansouri S., 1999. inhibition of *staphylococcus aureus* mediated by extracted by extracts of Iranian Plants, J. Pharmaceutical Biology37 (1): 1-3.

Mansouri S., Foroumadi A., Ghanei T., Gholamhosseinian Najar A., 2001. Antibacterial activity of the crude extracts and fractionated constituents of *Myrtus communis*, Pharmaceutical Biol 39: 399-401.

Markham K., 1982. Techinques of flavonoid indentification, New York: Academic Press. 85 p.

Martinetz H., Johnson M., Phillips B., 1998. Antimicrobial effects of *Myrtus communis* L. essential oil on cilinical isolates of *Fusarium* and *Penicillum*, Med Plant 34 (6): 9-85.

Mirazadi Z., Pilehvar B. , Meshkat Alsadat M.H, Karamian R.**,** 2010**.** Site quality and essential oil composition of Myrtus Communis L. (case study: Cham moord site in Lorestan province. *Journal of Agricultural Biotechnology*. 2(3): 71-79. (in persian).

Montoro P., Braca A., Pizza C., De Tommasi N., 2005. Structure antioxidant activity relationships of flavonoids isolated from different plants species. Food Chemistry 92: 349-55.

Moradi M.T., Karimi A., Rafieian M., Kheiri S., Saedi M. 2011. The inhibitory effects of myrtle (*Myrtus communis*) extract on *Herpes simplex* virus-1 replication in Baby Hamster Kidney cells. *Journal of Shahrekord University of Medical Sciences* 12(4) (Suppl 1): 54-61. (in persian).

Mousavi S.M., mirzargar S.S., Ebrahim Zadeh Mousavi H., Omid Baigi R ., Khosravi A., Bahonar A., Ahmadi M.R., 2009. Journal Fisheries and Aquatic Science 4 (2): 103-110.

Najib – Zadeh T., Yadegari M.N., Naghdi Badi H., Salehnia A., 2011. Antifungal Efficiency of *Myrtus communis* Essential Oils on Oral Candidiasis in Immunosupressed Rats. *Journal of Mediciene Plants*. 2(2):102-116. (in persian).

Omidbaigi R., 2005. Production and Processing of medicinal plants, Tehran university 283 pp.

Osorio E., Flores M., Hernández D., Ventura J., Rodríguez R., Ahuilar C.N., 2010. Biological efficiency of polyphenolic extracts from pecan nuts shell (Carya Illinoensis),

Pome granate husk (Punica granatum) and creosote bush leaves (Larrea tridentata Cov.) against plant pathogenic fungi. Industrial Crops and Products 31 (1): 153-157.

Rezaii M., 1985. Evaluation of antimicrobial effect of plants *Berberis vulgaris*, *Piper nigrum*, *Origanum majorana* and *Myrtus communis* . PhD. Thesis No. 185 of the Medicien Faculty of Mediciene University of Kerman, Iran. P. 165. (in persian).

Rohani M.S., Ebrahimzadeh Mousavi H., Khowsravi A., Bahonar A., Mirzargar S. , Mehrabi Y., 2006. Evaluation of the effect of *Geranium herbarum* essential oil on the control of rainbow trout (*Oncorhynchus mykis*) eggs fungal pollution. *Journal of Veterinary Reearches*. 61(3): 269-272. (in persian).

Salehnia A., 1989. Explotation and identification of the green Myrtus effective substances and evaluation of their efficiency against the microbial pathogens. A thesis of DPharm degree. Faculty of Pharmacology of

Medicine University of Teran. No. 2676. pp. 58-94.

Salehnia A., 2000. Analysis of Myrtus cummonis components and their effects on Pathogen micro organisms. A thesis of PhD. in Pharmocology. Faculty of Pharmacology of Medicine University of Teran. pp. 31-70.

Sharifi A., Gorjipour R., Gorjipour A.A., Sardsiri M., Mohammadi R., Jabarnejad A. 2012. Antifungal Effect of Quercus Infectoria Gall (Oak) on Saprolegnia Fungi. Medical Sciences Journal. 17(1): 78-84. (in persian).

Soltani M.; Esfandyari M., Khazraiinia S., Sadjadi M., 2009. Evaluation of the Effect of *Zataria multiflora* essential oils on rainbow trout (*Oncorhynchus mykis*) egg hatching rate. *Journal of Veterinary Reearches*. 64(2): 127-134. (in persian).

Souheil H., Very A., Thuet P., Trilles J P., 1999. Pathogenic and toxic effects of *Fusarium oxysporum* on survival and osmoregulatory capacity of *Penaeus Japonicus*. Aquaculture 178: 209-224.

Sukanya S.L., Sudisha J., Hariprasad P., Niranjana S.R., Prakash H.S. and Fathima S.K., 2009. Antimicrobial activity of leaf extracts of Indian medicinal plants against clinical and phyto pathogenic bacteria, African Journal of Biotechnology 8 (23): 6677-6682.

Svecová E ., Proietti S., Caruso C., Colla G., Crinò P., 2013. Antifungal activity of Vitex agnus-castus extract against *Pythium ultimum* in Tomato, Crop Protection 43: 223-230.

Tajkarim M.M., Ibrahim S.A., Cliver D.O., 2010. Antimicrobial herb and spice compounds in food. Food Control, 21: 18-1199.

Tripathi P., Dubey N.K., Shukla A.K., 2008. Use of some essential oils as post-harvest botanical fungicides in the management of grey mould of grapes caused by *Botrytis cinerea*, World Journal of Microbiology and Biotechnology 24: 39–46.

Tuberoso C.I., Barra A., Angiono A., Sarritzu E., Pirisi F. M., 2006. chemical composition of volatiles in Sardinian myrtle (Myrtus communis L.) alcoholic extracts and essential oils, J Agric Food Chem 54 (4): 6-1420.

Velag J., Studlla G., 2005. The Medicinal Plants. Persian Translation by Zaman S. Sixth ed. Tehran. Naghsh Iran publication, pp: 9-10.

Woo P.T.R., Bruno D.W., 2011. Fish diseases and disorders, Vol. 3: viral, bacterial and fungal

Zargarii A'. 1983. Medicine Plants. University of Tehran Vol. 2. 153-155 pp. (in persian).

Antifungal Activity *In Vitro* of Aqueous and Total Flavnoids Extracts of Plant *Myrtus communis* L. against Two Pathogenically Important Fungi, *Saprolegnia* and *Fusarrium* Isolated from Rainbow Trout Eggs

Fereshteh Salimian[1], Mehrdad Fattollahi[1]*, Amin Nematollahi[2], Farzaneh Nikookhah[1], Navaz Kharazian[3]

1. Dep. of Aquaculture – Shahre Kord University
2. Food Hygiene and Quality Control – Shahre Kord University
3. Dep. of Biosystematics and Molecular systematic - Shahre Kord University.

Abstract

In the present study, the efficiency of the flavonoid and aqueous extracts of *M. communis* L. tree leaves, a recognized Iranian medicinal plant, were assessed *in vitro* on the growth of isolated fungi, *Saprolegnia* and *Fusarrium* using the agar disc and well diffusion methods in flat-bottom microplates in the presence of various extract concentrations. The isolated fungi were sampled from the fertilized eggs of rainbow trout fish incubation farms. The leaves were collected from the natural habitats of the province of Chaharmahal-o-Bakhtiary in the early-summer and extrcation took place through maceration methods with water solvent as well as by flavonoid extraction methods with methanol solvent. During the succeeding trials, the antifungal effects of the flavonoid extracts (by the disk diffusion method) and the aqueous extracts (by the well diffusion method) against isolated *Saprolegnia* were revealed by MFC (Minimum Fatal Concentration) values 50 and 100 mg/ml, respectively. The only effect of the methanolic and aqueous extracts of *M. communis* leaves revealed the *in vitro* inhibiting effect on the growth of isolated *Fusarium* by MIC values 25 and 12.5 mg/ml, in disc diffusion and well diffusion methods, respectively. The antifungal effects obtained by the extracts had more effective aspects on isolated *Saprolegnias* in comparison to *Fusariums.* The results of the study indicate that *M. communis* could be considered as a potential candidate for designing effective antifungal extracts suitable for the treatment of the fish eggs fungal infections.

Keywords: *Myrtus communis*, *Saprolegnia*, *Fusarium*, Antifungal, rainbow trout

Table 1: The growth inhibation activity of total flavnoids extract drived from *M. communis* leaf against fungi *Saprolegnia* after 20 hours incubation
Table 2: The growth inhibation activity of aqueous extract drived from *M. communis* leaf against fungi *Saprolegnia* after 20 hours incubation
Table 3: Growth inhibation activity of aqueous extract drived from *M. communis* leaf against fungi *Fusarrium* after 20 hours incubation
Table 4: Final features of antifungal potential of the extracts drived from *M. communis* leaf against fungi *Saprolegnia* and *Fusarrium* isolated from **Rainbow Trout Eggs**
Figure 1: The fatal effects of total flavnoids exctract drived from *M. communis* leaf against fungi Saprolegnia, by disk diffussin test.
Figure 2: The fatal effects of aquaeous exctract drived from *M. communis* leaf against fungi *Saprolegnia*, by well diffussin test.
Figure 3: The growth inhibitory effects of total flavnoids exctract drived from *M. communis* leaf against fungi *Fussarium*, after 20 hours incubation (by well diffussin test).
Figure 4: The growth inhibitory effects of aquaeous exctract drived from *M. communis* leaf against fungi *Fussarium*, after 20 hours incubation (by well diffussin test).

*Corresponding author E-mail: mehrdad.fatollahi@nres.sku.ac.ir