بررسی اثرات ضد قارچی اسانس مرزه بختیاری، دارچین و رازیانه بر رشد سه گونه قارچ بیماری زای گیاهی در شرایط آزمایشگاهی

افسانه علی اران[۱*] ، خشنود نوراللهی[۲] ، زهرا مهدی شاهی وند [۳]

تاریخ دریافت: ۹۵/۰۱/۲۹
تاریخ تصویب: ۹۵/۰۹/۲۹

چکیده

متابولیت های ثانویه گیاهی، به دلیل داشتن خواص ضدمیکروبی و آنتی اکسیدانی جایگاه ویژه ای در کنترل عوامل بیماری زا گیاهی دارند. در همین راستا اثر ضدقارچی سه اسانس مرزه بختیاری (Satureja bachtiarica) ، دارچین (Cinamomum zeylancium) و رازیانه (Foeniculum vulgare) بر رشد سه گونه قارچ مهم بیماری زای گیاهی Fusarium oxysporum و Fusarium solani و Pyrenephora graminea مورد مطالعه قرار گرفت. بعد از خشک شدن گیاهان در سایه، اسانس روغنی نمونه ها به روش تقطیر با آب و با استفاده از دستگاه کلونجر جداسازی شد. اثرات ضد قارچی اسانس های مذکور در غلظت های ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ پی پی ام (ppm) بر روی قارچ ها در شرایط آزمایشگاه آزمون شد. نتایج نشان داد که در کلیه اسانس ها، بهترین غلظت برای توقف رشد پرگنه جدایه های F. oxysporum و F. solani، غلظت ۴۰۰ پی پی ام بود. از طرفی در رابطه با قارچP. graminea ، مهار کامل رشد پرگنه قارچ توسط اسانس دارچین در تمامی غلظت ها مشاهده شد در صورتی که اسانس مرزه فقط در دو غلظت ۳۰۰

*۱- کارشناس ارشد بیماری شناسی گیاهی، گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام
(نویسنده مسئول: Aliaran8791@gmail.com)
۲- استادیار، گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام
۳- کارشناس ارشد، گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام

و ۴۰۰ پی پی ام منجر به مهار کامل رشد میسیلیومی قارچ شده، نتایج این پژوهش نشان داد اسانس هر سه گیاه نقش موثری در کنترل عوامل بیماری زای قارچی داشته و می توانند در کنترل بیولوژیک آنها مورد استفاده قرار گیرند.

واژه های کلیدی: اسانس، Fusarium oxysporum، Fusarium solani،Pyrenephora graminea

مقدمه

یکی از عوامل مهم کاهش بازده محصولات کشاورزی، عوامل بیماری زای گیاهی به ویژه قارچ ها بوده که به تنهایی عامل کاهش ۲۰ درصدی عملکرد محصولات غذایی عمده در دنیا می باشند (Agrios, 2000). در بین قارچ های بیمارگر گیاهی جنس فوزاریوم[۱] یکی از مهم ترین قارچ های خاکزی است که از اهمیت اقتصادی ویژه ای برخوردار است. بسیاری از گونه های این جنس بیماری زا بوده و بیماری های متعددی در گیاهان ایجاد می کنند (Nelson et al., 1981). جمعیتی از این جنس عامل بیماری انسداد آوندی (Beckman, 1987) و جمعیتی مولد بیماری پوسیدگی ریشه، طوقه و سایر اندام های زیرزمینی گیاهان می باشند (Nelson, 1981). در بین عوامل مولد انسداد آوندی، گونه schlecht *Fusarium oxysporum* عامل اصلی پژمردگی آوندی در بسیاری از گیاهان است (Alexander et al., 1993). برای نمونه این قارچ یکی از مهم ترین عوامل زردی و پژمردگی گیاه نخود است، کاهش عملکرد سالیانه نخود در اثر این بیمار ی از ۱۰ تا ۱۵ درصد متغیر است(Navaz-Cortéz, 1998) . گونه *Fusarium* (mart.) sacc. *solani* عامل اصلی پوسیدگی سیاه ریشه است و روی گیاهانی مانند نخود، گوجه فرنگی و بادمجان خسارات جدی وارد می سازد (Navaz-Cortéz, 1998). هر دو گونه *F. oxysporum* و *F. solani* از مهم ترین عوامل بیماری زای خاک زی اند که دارای دامنه میزبانی بسیار وسیعی هستند. قارچ *Pyrenephora graminea* عامل بیماری لکه نواری جو ، یکی از مهم ترین قارچ های بیمارگر گیاهی می باشد که عامل کاهش عملکرد ۷۵ تا ۸۰ درصدی محصول جو است (Shahbazi, 2013).

امروزه متداول ترین و ارزان ترین روش کنترل بیماری های گیاهی کاربرد ترکیبات شیمیایی است که این مواد معمولا در طبیعت به کندی تجزیه می شوند و به همین دلیل باعث ایجاد مسمومیت برای انسان و سایر موجودات زنده می شوند (Karaman et al., 1982).

۱-Fusarium

لذا این امر دانشمندان را بر آن داشته تا به تولید مواد جدید ضدقارچی تجدید شونده که توانایی سازگاری با محیط زیست را دارند و به آسانی قابل تهیه می باشند، روی آورند (Hayes et al., 1991). وجود ترکیب های شیمیایی گوناگون در اسانس گیاهان دارویی باعث شده است که از این گیاهان در درمان بیماری های مختلف استفاده شود. گزارش های متعددی وجود دارد که نشان دهنده خواص ضدمیکروبی و ضدقارچی اسانس ها است. ترکیب-هایی همچون سینئول[۱] ،کامفور[۲] ، لینالول[۳] ، آلفا پینن[٤]، بتا پینن[٥] ، برنئول[٦] ، کارون[۷] ، لیمونن[۸] ، کارواکرول[۹] ، سیمن[۱۰] ، کامفن[۱۱] و آلفا ترپ ینئول[۱۲] که در اسانس اندام های مختلف گیاهی وجود دارند دارای خواص ضدمیکروبی و ضدقارچی هستند (Soltani pour, 2002).

Cinnamomum zeylanicum Blume که به عنوان دارچین[۱۳] شناخته می شود گیاه بومی سریلانکا[۱٤] است.(Ranasingh et al., 2002) اسانس این گیاه توسط محققین زیادی به عنوان منبع مناسبی از ترکیبات ضدقارچی و باکتریایی شناخته شده است(Gurib-fakim, 2006; Ranasingh et al., 2002). جنس مرزه بختیاری با نام علمی *Satureja bachtiarica* Bunge اغلب در مناطق مدیترانه ای پراکندگی دارد و بومی ایران نیز می-باشد که در ایران ۱۵ گونه از آن شناخته شده است (Ghahreman, 1999). رازیانه با نام علمی *Foeniculum vulgare* .L نیز از گیاهان دارویی مشهور است که از دیرباز خواص میکروب زدایی آن مورد توجه بوده است .(Soylu et al., 2009)

مطالعات متعددی در رابطه با اثرات ضدقارچی اسانس و عصاره های گیاهان دارویی در حوزه بیماری های گیاهی صورت گرفته، به عنوان نمونه در مطالعه عبدالملکی و همکاران (2008)، اثرات ضد قارچی عصاره خام گیاه دارچین بر سه قارچ *Rhizoctonia solani* Kuhn، *Phytophthora drechsleri* Tucker، *Bipolaria sorokiniana* (Sacc.) Shoemaker

۱-Cineole
۲-Camphor
۳-Linalool
٤-Alfa-pynn
٥-Beta-pinene
٦-Brnyvl
۷-Karun
۸-Limonene
۹-carvacrol
۱۰-semen
۱۱-camphene
۱۲-alpha-Trp Ynyvl
۱۳-Cinnamon
۱٤-Seri Lanka

و مطالعه قرار دادند. افشاری و همکاران (۲۰۱۳)، اثر اسانس رازیانه بر رشد قارچ *Aspergillus flavus* Link را مورد بررسی و آزمایش قرار دادند. طی مطالعات دیگری اثر قارچ کشی اسانس گیاه زنیان روی قارچ *F. oxysporum* کاهش معنی داری روی تولید بیوماس و اسپورزایی قارچ مذکور نشان داد، به همین دلیل اسانس گیاه زنیان به عنوان یک قارچ کش زیستی که توانایی مقابله با بیمارگر های عامل پژمردگی را دارد معرفی گردید (Siripornavisal, 2010). راد و همکاران (۲۰۱۱)، اسانس مرزه و آویشن را به منظور مهار رشد قارچ *Aspergillus parasiticus* مورد استفاده قرار دادند. مطالعات بهاردواج (۲۰۱۲)، نشان داد که عصاره برخی از گیاهانی مانند حنا (*Lawsonia alba* Lam.) و اقاقیا (*Acacia catechu* (L.) Willd) در ممانعت از رشد میسلیوم قارچ *F. solani* بسیار موثرند. بهرامی نژاد و همکاران (۲۰۱۳)، اثرات ضد قارچی عصاره خام ۳۲ گونه گیاهی از ۲۱ خانواده انتخاب شده از مناطق غرب کشور بر سه قارچ بیمارگر گیاهی از جمله *Phytophthora drechsleri, Pythium aphanidermatum* و *Rhizoctonia solani* مورد بررسی قرار دادند. ال قربان و همکاران (۲۰۱۵)، اثر اسانس پیاز و اکالیپتوس را بر جوانه زنی دو قارچ *F. oxysporum* و *F. solani* مورد مطالعه و بررسی قرار دادند. در بررسی تحت عنوان، مطالعه اثر ضدقارچی برخی عصاره های گیاهی در کنترل *F. solani* عامل پوسیدگی خشک در شرایط آزمایشگاهی و طبیعی، نتایج نشان داد عصاره (*Artemisia*)، و سپس اکالیپتوس بیشترین میزان کنترل قارچ را از خود نشان دادند (Masih et al., 2014). با توجه به اهمیت استفاده از اسانس ها و عصاره های گیاهی موثر در کنترل بیولوژیک عوامل بیمارگر گیاهی، تحقیق حاضر با هدف زیست سنجی و بررسی تغییرات کمی رشد قارچ های *F. solani*، *F. oxysporum* و *P. graminea* در محیط کشت مصنوعی با استفاده از اسانس سه گیاه مرزه بختیاری، دارچین و رازیانه، طراحی گردید تا در صورت موثر بودن آنها در شرایط آزمایشگاهی بتوان آنها را به عنوان کاندیدایی برای کنترل بیولوژیک این عوامل در شرایط واقعی پیشنهاد و به کار گرفت.

مواد و روش ها

نمونه برداری

نمونه برداری از گیاهان مرزه و رازیانه، در مرحله گلدهی کامل از مزرعه گیاهان دارویی دانشگاه ایلام صورت گرفت. ساقه ها از پنج سانتی متری بالای سطح خاک قطع شدند و نمونه ها در سایه و در دمای اتاق خشک شدند. ماده گیاهی خشک شده پس از توزین، توسط آسیاب برقی دارای الک با منافذ به قطر دو میلی متر پودر شد. سپس

نمونه های گیاهی تا زمان اسانس گیری در محلی خنک نگه داری شدند. پوست خشک گیاه دارچین از بازار محلی کرمانشاه خریداری شد. و مراحل توزین خشک و آسیاب کردن به همان ترتیبی که برای دو گیاه قبلی گفته شد صورت گرفت.

اسانس گیری و تهیه محلول اسانس

استخراج اسانس به روش تقطیر با آب[۱] و با استفاده از دستگاه کلونجر[۲] انجام شد. برای این کار ۱۰۰ گرم از نمونه آسیاب شده در یک بالون ته گرد یک و نیم لیتری ریخته و حدود دو سوم حجم بالون به آن آب مقطر اضافه گردید، سپس اسانس موجود در آن ۳ ساعت بعد از انجام عمل تقطیر، جمع آوری شد و در ظرف تیره رنگ دور از نور و در یخچال در دمای ٤ درجه سانتیگراد نگه داری گردید (British pharmacopoeia, 1988).

جدایه های قارچی

قارچ های مورد مطالعه در این آزمایش در آزمایشگاه بیماری های گیاهی دانشگاه ایلام جداسازی و خالص سازی شدند. ابتدا در آزمایشگاه نمونه های آلوده به منظور حذف آلودگی سطحی زیر جریان ملایم آب شتشو داده شدند، بافت های آلوده پس از خشک شدن به قطعات کوچکتر به طول تقریبی یک سانتی متر از حدفاصل بافت سالم و آلوده تقسیم شدند. جداسازی قارچ *F. oxysporum* و *F. solani* با میزبان نخود از بافت ریشه صورت گرفت بدین ترتیب که برای ضدعفونی بافت آلوده به این دو قارچ از هیپوکلریت سدیم ۰/۵ درصد به مدت یک تا دو دقیقه و سه بار شستشو با آب مقطر سترون استفاده گردید، اما در مورد قارچ *P. graminea* با میزبان جو به منظور جداسازی از بافت برگ استفاده شد که برای ضدعفونی آن اتانول ۷۰ درصد به مدت ۵۰ ثانیه و محلول هیپوکلریت سدیم ۵ درصد به مدت ۳۰ ثانیه به کار برده شد. کلیه نمونه ها به منظور جداسازی قارچ در محیط کشت PDA کشت داده شدند، خالص سازی دو قارچ اول از طریق روش های تک اسپور کردن و نوک ریسه ولی در مورد قارچ سوم فقط از روش نوک ریسه استفاده گردید.(Choi et al., 1999) شناسایی قارچ فوزاریوم خالص شده بر اساس مشخصات قارچ در محیط کشت های شناسایی قارچ اعم از محیط محیط کشت برگ میخک آگار[۳] و محیط کشت مواد غذایی خاص[٤] انجام گرفت (Leslie, 2006). این مشخصات شامل شکل ماکروکنیدی ها، میکروکنیدی ها، تعداد کلامیدوسپور ها و از همه مهم تر شکل فیالید ها بود، در قارچ *F. oxysporum*

۱-Hydrodistilation

۲-Clavanger

۳-Carnation Leaf-Piece Agar(CLA)

٤-Special Nutrient Agar (SNA)

ماکروکنیدی ها قایقی شکل، کلامیدوسپورها به صورت تکی یا زنجیره های دوتایی و فیالیدها به شکل کوتاه و بدون انشعاب اند (Leslie, 2006). تشخیص گونه *F. oxysporum* از *F. solani* کمی مشکل است اما وجود فیالیدهای کوتاه، این گونه را از *F. solani* که فیالیدهای طویل تولید می کند متمایز می سازد (Saremi, 2005). به منظور شناسایی جنس و گونه های عامل این بیماری از کتاب The Fusarium Laboratory Manual استفاده شد (Leslie, 2006).

به منظور شناسایی قارچ *P. graminea* از کلید شناسایی *Celomycetes* استفاده شد به این ترتیب که با استفاده از خصوصیات میکروسکوپی شامل شکل و رنگ کنیدی، اندام های جنسی و غیر جنسی قارچ و تطبیق این خصوصیات با خصوصیات جنس و گونه مورد نظر در کتاب، شناسایی قارچ صورت گرفت (Sutton, 1980).

ارزیابی تاثیر ضدقارچی اسانس ها در شرایط آزمایشگاه

آزمایش با سه تیمار قارچی و با سه اسانس در چهار غلظت و سه تکرار انجام شد. در ابتدا محلول پایه تهیه شده[۱] از اسانس مذکور به عنوان غلظت ۱۰۰درصد اسانس در نظر گرفته شد و بر اساس آن غلظت های ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰، ٤۰۰ پی پی ام از آن با استفاده از روش رقیق سازی پی در پی[۲] تهیه گردید. برای بررسی اثر ضد میکروبی اسانس ها از روش اختلاط اسانس با محیط کشت استفاده شد. برای این منظور از اسانس های مرزه بختیاری، دارچین و رازیانه غلظت های ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰، ٤۰۰ پی پی ام در ۱۰۰ سی سی محیط کشت PDA تهیه شد. سپس این محیط کشت ها در درون پتری های سترون نه سانتی متری در سه تکرار برای هر غلظت ریخته شد. دیسک های قارچی فعال به قطر ۱۵ میلی متر در مرکز پتری حاوی محیط کشت قرار داده شد. سپس پتری ها در انکوباتور با دمای ۲۵ درجه سانتی گراد، قرار داده شدند و قطر پرگنه قارچ ها روی محیط کشت پس از پرشدن پتری های شاهد طی مدت زمان ٦ روز، با استفاده از کولیس و برحسب میلی متر اندازه گیری و سپس میانگین رشد قطر کلنی قارچ در هر تکرار و برای هر تیمار اندازه گیری و با استفاده از فرمول زیر فرمول زیر محاسبه شد (Di : میزان رشد هاله قارچ و Ti: زمان) (Abbott, 1925):

$$\text{میانگین رشد هالهٔ قارچ} = \sum_i \frac{[[D_i + D_i - ۱] \times (T_i - T_i - ۱)]}{۲}$$

تجزیه واریانس داده های این آزمایش توسط نرم افزار SAS در قالب طرح فاکتوریل بر

۱-stoke solution

۲-Serial dilution

پایه بلوک کامل تصادفی (تعداد سه تیمار قارچی تحت سه اسانس در چهار غلظت و سه تکرار و در سه زمان) و با رویه *PROC ANOVA* انجام شد و جهت مقایسه میانگین داده ها از آزمون LSD استفاده شد.

نتایج

نتایج حاصل از بررسی اثرات ضد قارچی اسانس گیاهان مرزه بختیاری، دارچین و رازیانه در این آزمایش نشان داد که غلظت های مختلف اسانس ها بر رشد قارچ های *F. oxysporum, F. solani* و *P. graminea* اثر بازدارندگی بالایی داشته و بین افزایش غلظت اسانس با میزان بازدارندگی رشد قارچ رابطه مستقیمی وجود دارد (نمودار۱،۲،۳)؛ در بین اسانس ها، به طور متوسط بهترین اسانس کنترل کننده رشد پرگنه قارچ ها، اسانس دارچین بوده و دو اسانس مرزه بختیاری و رازیانه به ترتیب در مراتب بعدی قرار گرفتند.

غلظت های مورد استفاده در این آزمایش ۴۰۰,۳۰۰,۲۰۰,۱۰۰ پی پی ام در ۱۰۰ میلی لیتر محیط کشت PDA می باشد. به طور متوسط در بین غلظت ها، بهترین غلظت از نظر کنترل رشد پرگنه قارچ غلظت ۴۰۰ پی پی ام بوده به استثناء قارچ *P. graminea* که بازدارندگی رشد پرگنه قارچ برای دو اسانس مرزه و دارچین در کمترین غلظت (غلظت ۱۰۰ پی پی ام) نیز به صورت چشمگیری مشاهده می شود.

با توجه به نتایج تجزیه واریانس داده ها تمامی اثرات ساده و متقابل در سطح احتمال پنج درصد معنی دار بوده اند. نتایج حاصل از اثر غلظت های مختلف اسانس های گیاهان مرزه بختیاری، دارچین و رازیانه بر روی میانگین رشد پرگنه قارچ های *F. oxysporum, F. solani* و *P. graminea* به ترتیب در نمودار شماره یک، دو و سه و همچنین در جدول دو نیز به مقادیر مقایسه میانگین آن ها اشاره شده است.

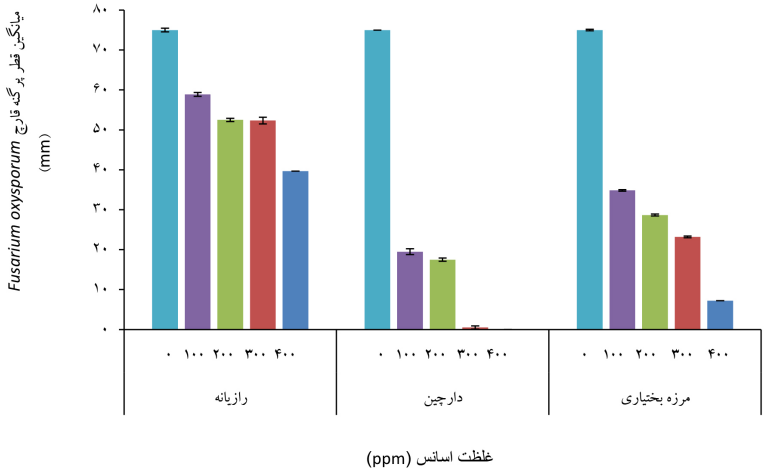
طبق نمودار شماره یک و دو که بررسی اثر غلظت های مختلف سه اسانس مرزه بختیاری، دارچین و رازیانه بر میانگین رشد پرگنه قارچ*F. oxysporum* و *F. solani* را نشان می دهد بیشترین میزان بازدارندگی برای تمامی اسانس ها مربوط به غلظت ۴۰۰ پی پی ام بوده، اسانس دارچین بیشترین کارایی و رازیانه کمترین کارایی را در مهار رشد میسیلیومی قارچ داشته است. بر اساس نمودار شماره سه که بررسی اثر غلظت های مختلف سه اسانس مرزه بختیاری، دارچین و رازیانه بر میانگین رشد پرگنه قارچ *P. graminea* را نشان داده است، مهار کامل رشد پرگنه قارچ توسط اسانس دارچین در تمامی غلظت ها مشاهده شده در صورتی که اسانس مرزه فقط در دو غلظت ۳۰۰ و ۴۰۰ پی پی ام منجر به مهار کامل رشد میسیلیومی قارچ شده و در غلظت ۱۰۰ و ۲۰۰ پی

پی ام شاهد رشد قارچ بوده ایم. در اسانس رازیانه کاهش رشد پرگنه را شاهد بودیم ولی مهار کامل را نداشتیم. نهایتاً حساس ترین قارچ در این بررسی در کلیه اسانس ها قارچ *P. graminea* بود و قوی ترین اسانس به لحاظ مهار پرگنه قارچ اسانس دارچین بوده است.

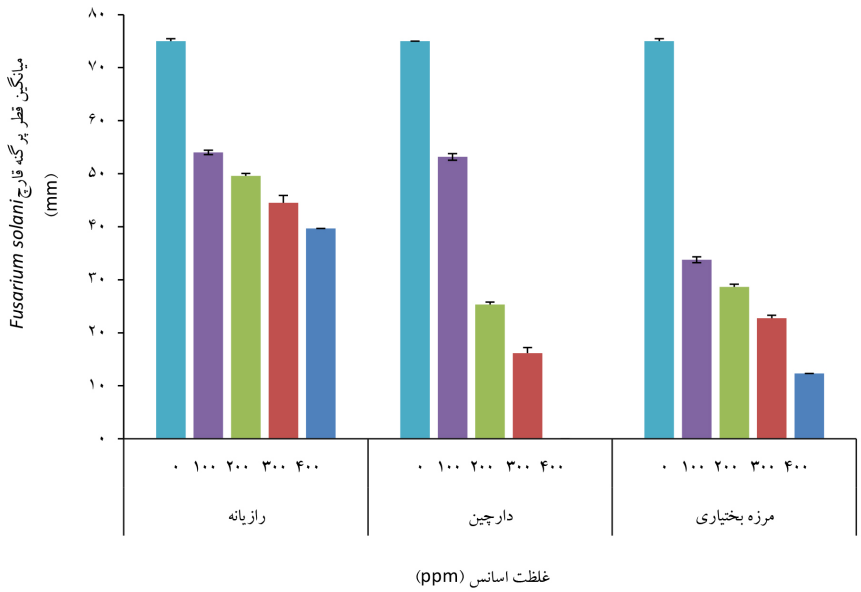
جدول ۱: مقایسه میانگین رشد میسلیومی *F. solani* ، *F. oxysporum* و *P. graminea* در غلظتهای مختلف اسانس های مورد مطالعه پس از شش روز

اسانس‌ها	غلظت برحسب پی‌پی‌ام(ppm) ۰	۱۰۰	۲۰۰	۳۰۰	۴۰۰
Fusarium oxysporum					
مرزه بختیاری	۷۵±۰*	۳۴/۸۵±۰/۲۱	۲۸/۶۷ ±۰/۲۴	۲۳/۲۲±۰/۱۸	۷/۲۳±۰/۲۱
دارچین	۷۵±۰	۱۹/۵۰±۰/۴۱	۱۷/۵۰±۰/۴۱	۰/۵±۰/۷۱	۰±۰
رازیانه	۷۵±۰	۵۸/۹۰±۰/۸۳	۵۲/۵۰±۰/۴۱	۵۲/۳۳±۰/۴۷	۳۹/۶۷±۰/۴۷
Fusarium solani					
مرزه بختیاری	۷۵±۰	۳۳/۷۷±۰/۵۶	۲۸/۶۷±۰/۴۷	۲۲/۷۷±۰/۵۶	۱۲/۳۳±۰/۴۷
دارچین	۷۵±۰	۵۳/۱۷±۱/۰۳	۲۵/۳۳±۰/۴۷	۱۶/۱۷±۰/۶۲	۰±۰
رازیانه	۷۵±۰	۵۴±۱/۴۱	۴۹/۶۰±۰/۴۳	۴۴/۵۰±۰/۴۱	۳۹/۶۷±۰/۴۷
Pyrenephora graminea					
مرزه بختیاری	۷۵±۰	۱۹/۴۰±۰/۴۳	۱۲/۵۰±۰/۴۱	۰±۰	۰±۰
دارچین	۷۵±۰	۰±۰	۰±۰	۰±۰	۰±۰
رازیانه	۷۵±۰	۳۸±۱/۴۱	۳۱±۱/۴۱	۱۲/۵۰±۰/۴۱	۹/۸۳±۰/۶۲

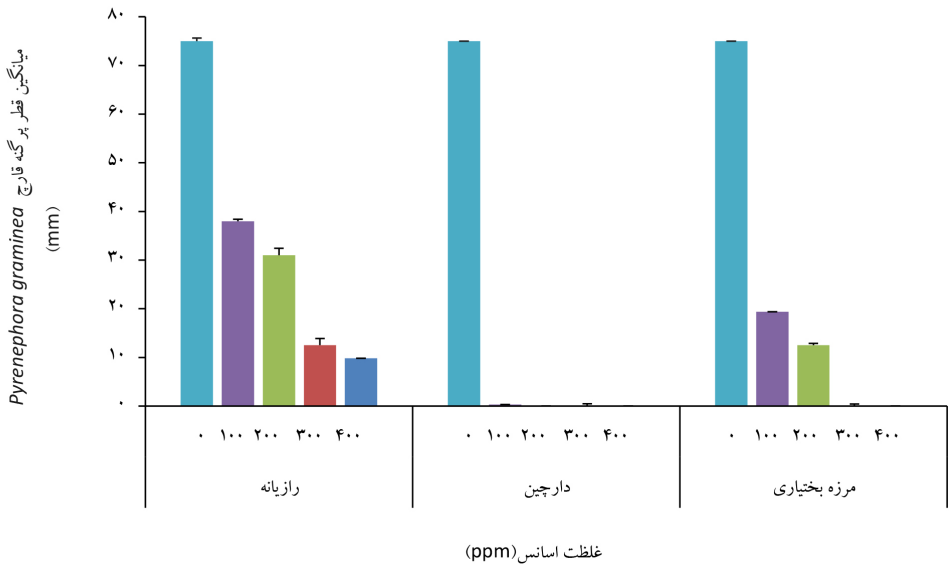
* میانگین قطر پرگنه قارچ برحسب میلی‌متر ± خطای معیار



نمودار ۱: میانگین (±SE) قطر پرگنه قارچ *F.oxysporum* در برابر غلظت های مختلف اسانس مرزه بختیاری، دارچین و رازیانه بعد از شش روز (F-LSD<0/05).



نمودار ۲: میانگین (±SE) قطر پرگنه قارچ *F.solani* در برابر غلظت های مختلف اسانس مرزه بختیاری، دارچین و رازیانه بعد از شش روز (F-LSD<0/05).



نمودار ۳: میانگین (±SE) قطر پرگنه قارچ *P. graminea* در برابر غلظت های مختلف اسانس مرزه بختیاری، دارچین و رازیانه بعد از شش روز (F-LSD<0/05).

بحث

وجود ترکیبات ثانویه در گیاهان دارویی سبب شده است که در سال های اخیر توجه ویژه ای به سمت این گیاهان معطوف گردد. در بررسی های به عمل آمده توسط محققین در رابطه با اسانس گیاهان معطر نشان داده شد که این ترکیبات دارای مواد فراری هستند که ماده اصلی تشکیل دهنده آن ها هیدروکربن ها، آلدهید ها، کتون ها، الکل ها، فنل-ها، اترها، استر با منشأ فنولیک و ترپنیک هستند(Dadfar et al., 2013; Hara-Kudo et al., 2004). شناخت بهترین گونه از گیاهان دارویی و استخراج ماده مؤثره خالص آن ها خواهد توانست راه را برای تولید انبوه آفت کش های طبیعی کارآمد با حداقل اثرات سوء مواد شیمیایی هموار سازد.

حساسیت گونه های قارچی بسته به نوع اسانس و غلظت های گوناگون آن متفاوت است. تفاوت در فعالیت ضدقارچی اسانس های گیاهی به ترکیب آن ها بستگی دارد. یک ترکیب ممکن است به تنهایی یا به صورت تشدیدکنندگی با سایر ترکیب ها باعث فعالیت ضدقارچی اسانس شود(Plotto et al., 2003).

در مطالعه حاضر با وجود اینکه قارچ های مورد بررسی در دو جنس مختلف قرار داشتند و دارای ویژگی های سلولی و فیزیولوژیکی متفاوتی بودند، با این حال اسانس های گیاهی به کار رفته همه گونه های مورد بررسی را تحت تاثیر قرار دادند. این نتایج در واقع بیانگر طیف وسیع اثر بازدارندگی ترکیبات موجود در اسانس گیاهان مذکور می باشد در این مطالعه، اسانس گیاه دارچین بیشترین اثر بازدارندگی را علیه قارچ های مورد مطالعه نشان داده است. تنوع جالب توجهی نیز در پاسخ قارچ های استفاده شده در این بررسی نسبت به اسانس های گیاهی مشاهده شد، به طوری که مقاومت بالای قارچ های *F. oxysporum , F. solani* و حساسیت بالای *P. graminea* در پاسخ به اسانس گیاهان دارویی مورد استفاده دیده شد که این امر نیز می تواند ناشی از قرارگیری قارچ ها در گروه های مختلف طبقه بندی قارچ ها باشد.

در تحقیقات عبدالملکی و همکاران اثرات ضدقارچی عصاره گیاهان بابونه، اکالیپتوس، فرفیون، مارچوبه و گلرنگ وحشی علیه چهار گونه قارچ بیماری زای گیاهی شامل *R. solani*، *P. drechsleri*، *B. sorokiniana* و *F. oxysporum* مورد بررسی قرار گرفت، با وجود آنکه قارچ های مورد مطالعه از لحاظ طبقه بندی متعلق به گروه های مختلف قارچی بودند اما عصاره های مذکور همه گونه های مورد بررسی را تحت تاثیر قرار دادند (Abdolmaleki et al., 2008). بررسی های تیموری و همکاران نشان داد که اسانس

رازیانه روی رشد قارچ *S. sclertiorum* اثر مهارکنندگی دارد و در شرایط آزمایشگاه می توان از اسانس رازیانه به عنوان قارچ کش طبیعی جهت کنترل *S. sclertiorum* ، عامل پوسیدگی سفید ساقه کلزا استفاده نمود (Teimori et al., 2013). نتایج حاصل از بررسی-های فروغی و همکاران نشان داد که عصاره مرزه بختیاری در غلظت ۵۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر بیشترین اثر مهار-کنندگی رشد بر روی قارچ *R. solani* را داشته است (Foroghi et al., 2012).

بازدارندگی از رشد قارچ بر اثر اسانس در آثار محققان دیگر نیز گزارش شده است از جمله خاصیت قارچ کشی اسانس گیاه زنیان روی قارچ *F. oxysporum* که در این بررسی بهترین غلظت قارچ کشی اسانس گیاه مذکور بین ۱۲/۵ و ۲۵ میکرولیتر گزارش شد به طوری که کاهش معنی داری روی تولید بیوماس و اسپورزایی قارچ مذکور نشان داد (Siripornavisal, 2010). در طی بررسی هایی که بر روی خواص ضدباکتریایی و ضدقارچی اسانس گونه هایی از جنس آویشن (Thyme) و دو اکوتیپ کاکوتی و مرزه بختیاری انجام گرفت اسانس مرزه بختیاری بیشترین خاصیت ضدباکتریایی و ضدقارچی را در مقایسه با اسانس های دیگر گیاهان مورد آزمایش نشان داد(Mohamad poor et al., 2010). اثر پنج گونه گیاه دارویی مورد، پونه، پنج انگشت، آویشن و درمنه کوهی بر رشد میسلیومی قارچ های بیماری-زای گیاهی *Geumanomyces* ،*Fusarium* ،*Rhizoctonia* و *Pytium* نشان داد که اسانس گیاهان آویشن و پونه باعث ۱۰۰ درصد مهار رشد میسلیومی قارچ های مذکور شدند (Shakarami et al., 2006).

در بررسی دیگری تاثیر بالای بازدارندگی اسانس گیاهان آویشن، زنیان و پونه بر رشد میسلیوم های قارچ *F. oxysporum* مشخص گردید، به طوری که در غلظت ٤۰۰ و ۳۰۰ پی پی ام از اسانس گیاه آویشن، مهار کامل رشد میسلیوم قارچ مشاهده شد. ضمناً در هر سه نمونه اسانس با افزایش غلظت اسانس رشد قارچ *F. oxysporum* کاهش یافت (Lotfi, 2010). اثرات ضدقارچی عصاره خام گیاه دارچین بر رشد قارچ های *P. drechsleri* ,*R. solani* ,*B. sorokiniana* و *F. oxyporum* مورد مطالعه قرار گرفته است، در این بررسی عصاره استونی دارچین در غلظت ۱۰ میلی گرم در میلی لیتر مهار کامل رشد *R. solani* ، *P. drechsleri* و *B. sorokiniana* و در غلظت ۳۰ میلی گرم در میلی لیتر به طور کامل از رشد *F. oxyporum* جلوگیری کرده است (Abdolmaleki et al., 2008). اثرات ضدقارچی پنج عصاره گیاهی آویشن دنایی، بومادران، آویشن شیرازی، مرزه و کاکوتی بر قارچ *R. solani* نشان داد عصاره آویشن دنایی و مرزه در غلظت ۵۰۰ میکرو

گرم بر میلی لیتر و آویشن شیرازی در غلظت های ۵۰۰ و ۲۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر دارای بیشترین اثر مهارکنندگی رشد روی قارچ *R. solani* می باشند (Bhardwaj, 2012). اثرات ضدقارچی عصاره آبی گیاه نعنا فلفلی بر روی قارچ های بیماری زای *P. drechsleri, R. solani, F. oxysporum* و *B. sorokiniana* نشان داد در غلظت ۵۰۰پی پی ام از عصاره مذکور، رشد *P. drechsleri* و در غلظت ۱۰۰۰پی پی ام، رشد *B. sorokinana* به طور کامل متوقف شد حال آن که رشد دو قارچ *F. oxysporum* و *R. solani*. حتی در غلظت ۲۰۰۰ پی پی ام نیز به طور کامل متوقف نشد (Abdolmaleki et al., 2011). راد و همکاران نشان دادند که اسانس مرزه و آویشن به ترتیب با غلظت ٤۰۰ و ۲۰۰ پی پی ام موفق به مهار رشد قارچ *Aspergillus parasiticus* از طریق اندازه گیری وزن خشک شد (Rad et al., 2011). مطالعات نشان داده اند که عصاره برخی از گیاهانی مانند حنا (*Lawsonia alba*) و اقاقیا (*Acacia catechu*) در ممانعت از رشد میسلیوم قارچ *F. solani* بسیار موثرند (Bhardwaj, 2012).

نتایج تحقیقات افشاری و همکاران (۲۰۱٤)، در راستای بررسی اثرات اسانس رازیانه بر رشد قارچ *Aspergillus flavus* نشان داد که این اسانس در غلظت ٦۰۰ پی پی ام دارای بیشترین قدرت بازدارندگی رشد قارچ *A. flavus* بوده است.

نتایج تحقیقات لطفی و همکاران (۲۰۱۰)، نشان داد استفاده از اسانس گیاهان آویشن، زنیان و پونه اثرات بازدارندگی بالایی بر رشد میسلیوم های قارچ *F. oxysporum* دارند به نحوی که در غلظت ٤۰۰ و ۳۰۰ پی پی ام از اسانس گیاه آویشن رشد میسلیوم قارچ *F. oxysporum* به طور کامل مهار شد و در هر سه نمونه اسانس با افزایش غلظت اسانس رشد قارچ *F. oxysporum* کاهش یافت.

نتایج تحقیقات نیکان و همکاران (۲۰۱٤)، نشان داد که تمامی غلظت های عصاره الکلی شاهی آبی (*Nasturtium officinale*) می توانند به طور معنی داری از رشد میسیلیوم قارچ *F. solani* ممانعت به عمل آورند. که بیشترین میزان بازدارندگی از رشد مسیلیوم قارچ در غلظت ٦۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر بود، بین غلظت های ۵۰۰ و ٤۰۰ و حتی ٤۰۰ و ۳۰۰ از نظر میزان بازدارنگی رشد قارچ تفاوت معنی داری مشاهده نشد.

در سال ۲۰۱۵ آزمایشی تحت عنوان اثر ضد قارچی اسانس اکالیپتوس بر قارچ های مهم بیماری زای گیاهی انجام گرفت، نتایج این آزمایشات حاکی از آن بود که در بین ۱۱ قارچ مهم بیماری زای گیاهی (قارچها شامل:، *Alternaria alternata*، *Aspergillus flavus*، *A. niger*، *F. oxysporum*،*Fusarium oxysporum* f. sp. *Laginariae*، *F. solani (gub05)*،

F. solani(gub06)، *Rhizopus oryzae*، *Rhizoctonia solani*، *Sarocladium oryzae*، *Sclerotium hydrophilum*). از نظر میزان بازدارندگی رشد قارچ، *F. oxysporum* دومین قارچی بود که بیشترین ناحیه بازدارنگی رشد را از خود نشان داد (Patel et al., 2015). در بررسی دیگری که در سال ۲۰۱۵ تحت عنوان فعالیت ضد قارچی برخی اسانس های گیاهی در شرایط آزمایشگاه صورت گرفت نتایج نشان داد که اسانس *Allium cepa* به طور کامل از جوانه زنی قارچ های *F. oxysporum* و *F. solani* ممانعت به عمل آورده همچنین دراین بررسی اسانس اکالیپتوس به طور کامل از جوانه زنی *F. Solani* و با درصد بالایی حدود ۹۸ درصد از جوانه زنی *F. oxysporum* جلوگیری کرد (Elgorban et al., 2015).

برخی از نتایج این آزمایش ها با این تحقیق هم خوانی دارد و باتوجه به اثرات قابل توجه و چشمگیری که در این مطالعه برای اسانس گیاهان دارچین، رازیانه و مرزه بختیاری گزارش گردید، پیشنهاد می شود تا بررسی های بیشتر و جامع تر در زمینه اثرات این گیاهان برگزیده بر روی سایر قارچ های بیماری زای گیاهی صورت گیرد آزمایشات گلخانه ای برای آزمون تاثیر بالقوه بازدارندگی از رشد اسانس های این گیاهان برای این قارچ ها توصیه می شود و قطعاً با همکاری مراکز مربوط می توان انتظار داشت تا تحقیقات جامع تری در این زمینه به مرحله اجرا در آید.

سپاسگزاری

بدین وسیله از اساتید گرانقدر دکتر حمیدرضا پوریان استادیار گروه گیاهپزشکی دانشکده کشاورزی دانشگاه رازی کرمانشاه و دکتر زهرا طهماسبی استادیار گروه زراعت دانشکده کشاورزی دانشگاه ایلام به خاطر راهنمایی های ارزنده شان تشکر و قدردانی می گردد.

منابع

Abdolmaleki, M., Salari, M., Bahrami Nejad, S., Panjeh Keh, N., Abasi, S. (2008) Antifungal activity of cinnamon *(Cinnamomum zelanicum)* crude extracts against some phytopathogenic fungi. Journal of Plant Disease 44(3): 255-261 (in Persian.)

Abdolmaleki, M., Bahrami Nejad, S., Salari, M., Abasi, S., Panjeh Keh, N. (2011) Evaluation of Peppermint plant (*Mentha piperita* L.) antifungal effect against plant pathogenic fungi. Journal of Medicinal Plants 10(38): 26-34 (in Persian.)

Abbott, W.S. (1925) A method of computing the effectiveness of an insecticide. Jour-

nal Economic Entomol 18: 265-267.

Afshari, H., Ziveai, F., Bagheri, G., Afshari, M., Zadehbagheri, M. (2013) Study the antifungal effects of plant medicinal essences on growth of *Aspergillus flavus* and Aflatoxin B1 in Pistachio (*Pistacia vera* L.). Journal of Rostamineh 5(3): 16-23 (in Persian).

Agrios, G.N. (2000) Significance of plant diseases. Academic Press, London. 952 p.

Alexander, L.J., Hoover, M.M. (1993) Disease resistance in wild species of tomato. Ohio Agricultural experimental station research balltin 752.

Bahraminejad, S., Amiri, R., Ghasemi, S., Fathi, N. (2013) Inhibitory effect of some Iranian plant species against three plant pathogenic fungi. International Journal of Agriculture and Crop Sciences 9(5): 1002-1008.

Beckman, C.H. (1987) The nature of wilt diseases of plants. APS Press, Minnesota.

Bhardwaj, S.K. (2012) Evaluation of plant extracts as antifungal agents against Fusarium solani (Mart.) Sacc. World Journal of Agricultural Sciences 8(4): 385-388.

British pharmacopoeia. (1988) British pharmacopoeia vol 20, London. Hmso 137-138.

Choi, Y.W., Hyde, K.D., Ho, W.H. (1999) Single spore isolation of fungi. Fungal Diversity 3: 29-38.

Dadfar, sh., Ghasemi Pirbalouti, A., Mirlohi, M., Hojjatoleslami, M., Hamedi, B. (2013) Essence Antibacterial Activity of Some Iranian Exclusive Medicinal Plants against Isolated Pseudomonas Aeruginosa from Meat. Herbal Drugs, 3(1): 35-40 (in Persian).

Elgorban, A.M., Bahkali, A.H., El-Metwally, M.A., Elsheshtawi, M., Abdel-Wahab, M.A. (2015) In vitro antifungal activity of some plant essential oils. International journal of pharmacology 11(1): 56-61.

Foroghi, M., Mohammadi, S., Ghasemi, A. (2012) Antifungal effects of five plant extract on plant pathogenic fungus *Rhizoctonia solani*. Mick world magazine 5: 115-121 (in Persian).

Ghahreman, A. (1999) Flora of iran. Publication of Research Institute of Country Forests and Rangelands, 17th edition, 125pp (in Persian).

Gurib-Fakim, A. (2006) Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. Molecular Aspects of Medicine 27: 1-93.

Hayes, W.J., Laws, E.R. (1991) Handbook of pesticide toxicology. Academic Press, NewYork, 1: 1576.

Johnson, R.H., Metz, S.G., Riesselman, J.H. (1982) Seed treatment for control of Pyrenophora leaf stripe of barley. Journal Plant Disease 66: 1122-1124.

Karaman, S., Digrak, M., Ravid, U., Ilcim, A. (2001) Antibacterial and antifungal activity of the essential oil of *Thymus revolutus* Celak from Thrkey. Journal Ethnopharmacol 76: 183-186.

Leslie, J.F., Summerell, B.A. (2006) The Fusarium Laboratory Manual. Iowa: Ames.

Lotfi, A., Jafarpour, M., Etemadi, N., Tahmores poor, A. (2010) Evaluation effects of essential oil plants Thyme, ajowan and Pennyroyal on plant phytopathogenic fungi *Fusarium oxysporum*. Fifth National Conference New Ideas In Agriculture, Faculty of Science Medicine, Khorasgan (Isfahan) Islamic Azad University, 16-17.(in Persian).

Masih, H., Peter, J.K., Tripathi, P. (2014) A comparative evaluation of antifungal activity of medicinal plant extracts and chemical fungicides against four plant pathogens. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences 3(5): 97-109.

Mohamad Poor, Gh., Majd, A., Satari, T., Mehrabian, S., Hossein Zadeh Kelagar, A. (2010) Evaluation of antibacterial and antifungal activity of essential oils of thyme species and the two ecotype *Ziziphora tenuior* and species *Satureja bachtiarica*. Journal of Sciences, Islamic Azad University 20(78): 111-120 (in Persian).

Navaz-Cortéz, J.A., Hau, B., Jiménez-Díaz, R.M. (1998) Effect of sowing date, host cultivar and race of *Fusarium oxysporum* f. sp. ciceris on development of Fusarium wilt of chickpea. Journal of Phytopathology 88: 1346-1388.

Nelson, P.E. (1981) Life cycle and epidemiology of *Fusarium oxysporum*. Fungol Wilt Dieases of Plantes, (eds. M.E. Mace, A.A. Bell & C.H. Bekman). Academic Press, New York, 1: 51-80.

Nelson, P.E., Toussoun, T.A., Cook, R.J. (1981b) Fusarium: Diseases, Biology and Taxonomy. The Penssylvania State University Press, University Park and London.

Nikan, J., Khavari, H. (2014) In vitro anti-fungal activity of watercress (Nasturtium officinale) extract against *Fusarium solani*, the causal agent of potato dry rot. Journal of Herbal Drugs 5(1): 19-24.

Patel, R.M., Jasrai, Y.T. (2015) Antifungal potency of *Eucalyptus globules* labill essential oil against important plant pathogenic fungi. CIBTech, Journal of Microbiology 4(1): 42-52.

Plotto, A., Roberts, D., Roberts, R.G. (2003) Evaluation of plant essential oils as natural postharvest disease control of Tomato (*Lycopersicon esculentum*). Acta Horticulturae 628: 737-745.

Rad, S., Afshari, H., Hokmabadi, H., Tahmasbi, S. (2011) Study of antifungal effects of herbal essenses on *Aspergillus parasiticus*, a producer of aflatoxin in Pistachio. Journal of Medicinal Plant Research 5(20): 5155-5159.

Ranasingh, L., Jayawardena, B., Abeywickrama, K. (2002) Fungicidal activity of essential oils of *Cinnamomum zeylanicum* (L.) and *Syzygium aromaticum* (L.) Merr et L.M.Perry against crown rot and anthracnose pathogens isolated from banana. Letters in Applied Microbiology 35: 208-211.

Saremi, H. (2005) Fusarium ecology and taxonomy biology. Mashhad: Jahad University Press.

Shahbazi M (1392) study of genetic diversity on *Pyrenophora graminea* isolation from barley causal agent of leaf diseasesin ilam province ,M.Sc. Thesis, Ilam University, Ilam, (in Persian).

Shakarami, J., Bazgir, A., Feizian, M. (2006) Effect of five species of plant for mycelial growth four species pathogenic fungi in vitro. Journal of Agricultural Science and Technology 3(37): 497-503 (in Persian).

Siripornvisal, S. (2010) Antifungal activity of Ajowan oil against *Fusarium oxysporum*. KMITL Science and Technology Journal 10(2): 45-51.

Soltani Pour, M.A. (2002) The Comparison of collected essence combinations of Majdae (Zhameria)'s Leaf at different growth stages from different parts of hor-

mozgan and the evaluation of allelopathic potential and antimicrobial properties of extracted essence. MA Student's Thesis of Plant Science, Faculty of Science, Shiraz University (in Persian).

Soylu., S, Soylu., E.M., Evrendilek., G.A. (2009) Chemical composition and antibacterial activity of essential oils of bitter fennel (*Foeniculum vulgare*) and dill (*Anethum graveolens*) against the growth of food-borne and seed-born pathogenic bacteria. Italian Journal Food Science 21(3): 347-355.

Sutton, B.C. (1980) The Coleomycet, Fungi impperfecti with pycnidia, Acervuli and Stromata. CMI. England, 696p.

Teimori, S., Rahnama, K. (2013) Evaluation antifungal effects some of essential oils on the growth of *Sclerotinia sclerotiorum* agent of canola stem white rot in vitro condition. Plant Pathology Research 1(3): 23-30.