دوفصلنامه تحقیقات بیماری‌های گیاهی
سال سوم، شماره دوم، پاییز و زمستان 1394
صص 68-57

اثر بازدارندگی اسانس گیاه دارویی رزماری و رازیانه بر قارچ *Fusarium oxysporum*

هادی سالک معراجی[*1]، روح اله سالک نقدی [2]، سید خشایار تفرشی [3]
تاریخ دریافت: 93/9/15 تاریخ پذیرش:93/12/7

چکیده

استفاده از اسانس گیاهان دارویی در مهار بیماری‌های گیاهی توسط پژوهش‌گران زیادی در سراسر جهان مورد توجه قرار گرفته است. گونه *Fusarium oxysporum* بیماری‌های بسیاری را در گیاهان مختلف ایجاد می‌کند. به منظور بررسی اثر ترکیبی و جداگانه اسانس گیاه دارویی رازیانه و رزماری بر مهاراین قارچ، آزمایشی در قالب طرح کاملا تصادفی با پنج تکرار انجام شد. در این آزمایش از روش اختلاط اسانس با محیط کشت استفاده گردید. اسانس رزماری نسبت به اسانس رازیانه از مهار کنندگی بیشتری برخوردار بود. علاوه بر این،کاربرد توأم اسانس‌ها نسبت به کاربرد جداگانه آنها، بازدارندگی بیشتری از رشد قارچ را سبب شد و توانست رشد آن را به طور کامل متوقف نماید. درصد بازدارندگی اسانس رازیانه و رزماری در بالاترین غلظت به ترتیب 49/2 و 68/7% بود. با ترکیب اسانس این دو گیاه، درصد بازدارندگی در بالاترین غلظت به 100% رسید. ترکیب اسانس چند گیاه با یکدیگر اثر مهار کنندگی آن را افزایش می‌دهد. از همین رو می‌توان با کاربرد غلظت‌های کم اسانس، درصد مهار عامل بیماری‌زایی را افزایش داد.

واژه‌های کلیدی: اسانس، ضد میکروبی، رازیانه، رزماری، *Fusarium oxysporum*.

[1]- دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران.
[2]- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تاکستان، تاکستان، ایران.
[3]- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه باغبانی، رشته گیاهان دارویی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساوه، ساوه، ایران.
[**]- نویسنده مسئول مقاله: salek_art1367@yahoo.com

مقدمه

قارچ *Fusarium oxysporum* در گیاهان مختلف سبب ایجاد پژمردگی آوندی می‌شود. پوسیدگی ریشه و طوقه نیز از دیگر خسارت‌های این قارچ به محصولات کشاورزی می‌باشد (Saremi, 1998). امروزه استفاده از آفت‌کش-های شیمیایی به عنوان روش مؤثر و معمول در مهار آفات و بیماری‌های گیاهی شناخته می‌شود. با این وجود به علت عواملی چون آلودگی محیط زیست، کاهش کیفیت محصولات، اثرات نامطلوب بر موجودات سودمند، مقاومت آفات و بیماری‌ها و به مخاطره افتادن بهداشت و سلامت عمومی، استفاده از آفت‌کش‌هایی با منشأ طبیعی، به عنوان یک راهکار نوین در دراز مدت مورد توجه قرار گرفته است (Rai and Carpinella, 2006). ترکیبات موجود در عصاره و اسانس گیاهان به عنوان منبع ترکیبات ضد باکتریایی، ضد قارچی و حشره‌کشی شناخته شده است. به نظر می‌رسد استفاده از متابولیت‌های گیاهی جهت آفت‌کشی به عنوان یکی از بهترین راهکارها باشد چرا که این گونه ترکیبات منشأ طبیعی داشته و نسبت به آفت‌کش‌های شیمیایی، اثرات نامطلوب کمتری را بر سلامت جوامع بشری و محیط زیست می‌گذارند (Varma and Dubey, 1999). گیاهان دارویی به عنوان یک منبع طبیعی و ارزشمند می-تواند جهت تولید آفت‌کش‌هایی با منشأ طبیعی مورد استفاده قرار گیرند (Hostettman, 1997; Balandrin *et al*., 1985). اثرات ضد میکروبی متابولیت‌های ثانوی گیاهان دارویی توسط پژوهش‌گران مورد بررسی قرار گرفته است (Tepe *et al*., 2004). مشخص شده است که اغلب اسانس‌های گیاهی استخراج شده از گیاهان دارویی دارای خواص ضد قارچی، ضد انگلی، ضد باکتریایی و ضد ویروسی می‌باشند (Kordali *et al*., 2005).

رزماری یا اکلیل کوهی با نام علمی *Rosmarinus officinalis*، گیاهی است علفی، از خانواده نعناعیان، دارای ساقه چوبی و برگ‌های دائمی سبز رنگ و معطر می‌باشد. رنگ گل‌های آن آبی روشن بوده و بومی مدیترانه می‌باشد (Zargari, 1993).

این گیاه دارای 1 تا 1/5% اسانس بوده که حاوی ترکیباتی چون بورنئول[1]، لیمونن[2]، کامفن[3]، 1و8 سینئول[4]، کامفور[5]و آلفا- پینن[6] است که درصد آنها با محل و شرایط کشت ارتباط دارد (Samsam, 2006). اسانس رزماری دارای خاصیت ضد میکروبی،خواص آنتی اکسیدانی، برطرف کننده گرفتگی عضلات، کاهش اضطراب،تسکین درد و اثر ضد سرطانی آن طی تحقیقات متعددی به اثبات رسیده است (Shahidi, 1992; Hamedo *et al*., 2009; Moghtader *et al*., 2009).

رازیانه گیاهی علفی و چند ساله با نام علمی *Foeniculum vulgare*، یکی از قدیمی‌ترین گیاهان دارویی تیره چتریان است. تمام اندام‌های گیاهی رازیانه حاوی اسانس است و مقدار اسانس در قسمت‌های مختلف متفاوت است. در برگها 1 تا 1/5 %، ریشه 0/6 تا 0/7% می‌باشد در حالی که مقدار اسانس در دانه به 2 تا 6% هم می‌رسد. اسانس رازیانه بیش از 30 نوع ترکیب ترپنی یا ترپنوئیدی تشکیل یافته است که مهمترین ترکیب‌های آن عبارتند از:

[1] borneol
[2] limonene
[3] camphene
[4] 1, 8 - cineole
[5] camphor
[6] α- pinene

انتول[1]، فنکون[2]، استراگول[3]، متیل کاویکول[4]. تمام قسمت‌های گیاه رازیانه خاصیت درمانی دارد اما بیشترین قسمت مورد استفاده آن بذر است. انتول مهمترین ترکیب موجود در بذر به شمار می‌آید (Omidbigi, 2003). پژوهش‌گران متعددی اثرات اسانس گیاهان دارویی را بر مهار قارچ *F. oxysporum* مورد مطالعه قرار داده‌اند. در آزمایشی *باسم و همکاران* (Basem *et al*., 2007) گزارش کردند که عصاره بومادران برقارچ *Rhizoctonia solani* و *F. oxysporum* اثر بازدارندگی دارد و با افزایش غلظت درصد بازدارندگی بیشتر می گردد. *قربانی و همکاران* اثر فرآورده‌های گیاهی را بر قارچ *F. oxysporum* بررسی و گزارش نمودند که عصاره خوردانه و اسطوخودوس بیشترین اثر ضد میکروبی را دارا می‌باشند (Ghorbani et al., 2010). *تولایی و همکاران* اثر اسانس بادرنجبویه روی قارچ*F. oxysporum* بررسی و گزارش نمودند که غلظت‌های بالای اسانس رشد قارچ را کاهش می‌دهد (Tavalaei *et al*., 2012).

درآزمایشی دیگر، *کهن مو و جمالی* اثر اسانس چند گیاه بر روی قارچ*F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* را بررسی و گزارش کردند که اسانس گیاه مرزه و اوکالیپتوس بیشترین اثر بازدارندگی را روی قارچ دارد (Kohanmoo and Jamali, 2013). *سالک معراجی و همکاران* (2015)، اثر اسانس رزماری و اسطوخودوس را بر مهار قارچ *F. oxysporum* امتحان کرده و گزارش کردند که اسانس اسطوخودوس نسبت به اسانس رزماری از بازدارندگی بیشتری برخوردار بود. *تیموری و رهنما* (2013) اثر اسانس رازیانه، آویشن و نعناع را بر مهار قارچ عامل پوسیدگی ساقه کلزا (*Sclerotiorum sclerotinia*) بررسی و گزارش کردند که اسانس رازیانه از مهار کنندگی بیشتری برخوردار بود.

سورندر اثر چند عصاره گیاهی را بر قارچ بیماری‌زای *F. solani* بررسی و گزارش نمود که عصاره ترکیبی برگ حنا و ساقه آکاسیا نسبت به کاربرد جداگانه عصاره‌ها اثر بازدارندگی بیشتری بر رشد میسلیوم قارچ داشت (Surender, 2012). از آنجا که تاکنون گزارشی مبنی بر اثر ترکیبی اسانس گیاهان دارویی بر مهار قارچ بیماری‌زای *F. oxysporum* گزارش نگردیده است، هدف از انجام این آزمایش بررسی اثرات جداگانه و ترکیبی اسانس گیاه دارویی رازیانه و رزماری بر مهار قارچ *F. oxysporum* بود. تا بتوان از این طریق هم درصد بازدارندگی اسانس‌ها را در غلظت‌های اندک بهبود بخشید و هم مقاومت قارچ‌ها در مقابل عوامل کنترل کننده را از بین برد.

مواد و روش‌ها

ابتدا ازبرگ و سرشاخه‌های گلدار رزماری و دانه رازیانه کشت شده در استان ایلام نمونه برداری انجام شد. نمونه‌ها پس از شستشو، در سایه خشک و آسیاب شدند. قارچ مورد آزمایش از آزمایشگاه بیماری شناسی گیاهی دانشگاه ایلام که توسط دکتر نوراللهی شناسایی شده بود، تهیه گردید. این قارچ از اندام آلوده گیاه نخود مزارع استان کرمانشاه جدا شده بود. برای تهیه پرگنه تازه، ابتدا قارچ روی محیط سیب زمینی دکستروز آگار[5] کشت داده شد و به به مدت 12 روز در دمای 27 درجه سلسیوس نگهداری شد. برای اسانس‌گیری 100 گرم از نمونه آسیاب شده داخل

[1] anethole
[2] phencone
[3] estragol
[4] methyle cavicole
[5] Potato Dextrose Agar (PDA)

دستگاه کلونجر[1] ریخته شد و به آن 500 میلی لیتر آب مقطر اضافه گردید. پس از گذشت 4 ساعت اسانس بدست آمده در داخل میکرو تیوب‌هایی ریخته شده و در فویل آلومینیومی پیچیده شد تا به دور از تابش نور باشد. اسانس-های استخراج شده با سولفات سدیم آبگیری و تا زمان استفاده، در دمای 4 درجه سلسیوس نگهداری شدند.

اسانس‌های به دست آمده توسط دستگاه کروماتوگرافی گازی[2] و کروماتوگراف گازی متصل به طیف نگار جرمی[3] بررسی گردید. دستگاه گاز کروماتوگراف مجهز به ستونی به طول 10 متر و قطر 0/1 میلی‌متر بود که ضخامت لایه فاز ساکن در آن 0/4 میکرومتر بود. برنامه ریزی حرارتی ستون از 60 درجه سلسیوس شروع شده و به تدریج به 285 درجه سلسیوس رسید. دمای محفظه تزریق و دتکتور در دمای 280 درجه سلسیوس تنظیم شد. دتکتور از نوع FID[4] بود و از گاز هلیوم 99 % به عنوان گاز حامل استفاده شد که با سرعت 0/5میلی‌متر در دقیقه در طول ستون عبور می‌کرد. از گاز کروماتوگراف متصل شده با طیف سنج جرمی از نوع تله یونی مجهز به ستونی به طول 30 متر و قطر 0/25 میلی متر و ضخامت لایه فاز ساکن 0/25 میکرومتر استفاده شد. برنامه ریزی حرارتی ستون دستگاه مشابه با برنامه‌ریزی دستگاه قبلی بود. گاز هلیوم با سرعت 32 سانتی‌متر بر ثانیه حرکت می‌کرد. شناسایی ترکیبات موجود در اسانس‌ها با استفاده از اندیس‌های بازداری و پیشنهادهای کتاب خانه‌ای رایانه دستگاه و مقایسه آنها با ترکیبات استاندارد انجام شد (Shibamoto, 1987; Davies, 1990) .

برای انجام آزمایش به روش اختلاط اسانس با محیط کشت، ابتدا محیط کشت سیب زمینی دکستروز آگار آماده گردید وپس از اتوکلاو شدن در دمای محیط قرار داده شد تا دمای آن کاهش یابد. اسانس‌های مورد نظر با توئین[5] 20 (0/05 درصد) رقیق شد و با همزن خوب هم زده شد تا محلول یکنواختی بدست آید. جهت بررسی اثر ترکیبی (توأم) اسانس گیاهان رزماری و رازیانه، ابتدا اسانس این دو گیاه به نسبت یک به یک (یک میکرو لیتر از هر اسانس) با یکدیگر مخلوط شدند و سپس مورد آزمایش قرار گرفتند. زمانی که دمای محیط کشت سیب زمینی دکستروز آگار به زیر 30 درجه سلسیوس کاهش یافت غلظت‌های مورد نظراز اسانس‌ها (صفر، 25، 50، 75، و100 قسمت در میلیون[6]) به محیط کشت اضافه شد (نسبت غلظت‌ها بر حسب میکرولیتر اسانس در لیتر محیط کشت محاسبه گردید) و با همزن هم زده شد. سپس به مقدار 20 میکرولیتر محیط کشت سیب زمینی دکستروز آگار داخل هر پتری 10 سانتی متری اضافه گردید. پس از جامد شدن محیط کشت سیب زمینی دکستروز آگار، قرص‌های میسیلیومی از قارچ *F. oxysporum*، به قطر 5 میلی متر با چوب پنبه سوراخ کن جدا گردید و در وسط هر پتری قرار داده شد و بلافاصله دور پتری‌ها پارافیلم کشیده شد.

نمونه‌ها در داخل انکوباتور با دمای 2±25 درجه سلسیوس نگهداری گردید و هر 48 ساعت یکبار قطر هاله قارچ رشد یافته تا زمانی که پتری‌های شاهد بطورکامل توسط قارچ پوشانده شود، اندازه‌گیری شد. مدت زمان پر شدن پتری‌های شاهد توسط قارچ 10 روز به طول انجامید. پتری‌های شاهد هم حاوی همان میزان از محلول 0/05

1 Clevenger
[2]Gas Chromatography (GC), (Model Thermo-UFM (Ultera Fast Model). Made by Thermo Co. Italy)
[3]Gas Chromatography–Mass Spectrometry (GC/MS), (Model Varian Star-3400 cx. J & W Scientific Inc., Rancho Cordova, CA, USA.)
[4]Flame Ionization Detector(FID)
[5]Tween20
[6] part per million (PPM)

درصد از توئین 20 وآب مقطر استریل حل شده در محیط کشت سیب زمینی دکستروز آگار بودند. در این آزمایش برای هر تیمار 5 تکرار در نظر گرفته شده بود. درصد بازدارندگی غلظت‌های مختلف اسانس با استفاده از فرمول *ابوت*[1] محاسبه گردید:

$$IP=\frac{C-T}{C}\times 100$$

IP=درصد بازدارندگی

C=میانگین قطر هاله قارچ در تیمار شاهد

T=میانگین قطر هاله قارچ در تیمار مورد نظر

همچنین میانگین رشد هاله قارچ در هر تکرار و برای هر تیمار هر 48 ساعت یکبار به مدت 10 روز با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید:

$$\text{میانگین رشد هاله قارچ} = \sum i \ \frac{[(Di+Di-1)\times (Ti-Ti-1)]}{2}$$

Di = میزان رشد هاله و Ti = زمان

نتایج این آزمایش به صورت فاکتوریل تجزیه و تحلیل گردید اما میانگین‌ها در قالب طرح کاملا تصادفی با هم مقایسه گردیدند. داده‌های مربوط به میانگین رشد قارچ (پنج تکرار) با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن و به کمک نرم افزار SAS version 9.1.3 در سطح احتمال 5% مورد بررسی و تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه داده‌های درصد بازدارندگی و میانگین رشد قارچ نشان داد که بین تیمارها اختلاف معنی داری در سطح 1% و 5% وجود دارد (جدول1). با افزایش غلظت اسانس رزماری رشد قارچ کاهش یافت به طوری که درصد بازدارندگی اسانس در کمترین و بیشترین غلظت به ترتیب 12/6 و 68/7% بود. درصد بازدارندگی اسانس گیاه رازیانه در بالاترین غلظت برابر با 49/2% و در پایین‌ترین غلظت 7/5% بود (شکل 1). بازدارندگی از رشد قارچ به صورت ترکیب دو اسانس گیاه رزماری و رازیانه نسبت به کاربرد جداگانه آنها در غلظت های مختلف، از شدت بیشتری برخودار بود به طوری که در دو غلظت 75 و 100 قسمت در میلیون از ترکیب اسانس‌ها، رشد قارچ به طور کامل متوقف گردید. این درحالی است که با کاربرد جداگانه اسانس رزماری و رازیانه، رشد قارچ در هیچ غلظتی از اسانس‌ها به طور کامل متوقف نشد (شکل1). رشد میسیلیوم قارچ با افزایش غلظت اسانس، کاهش یافت و حداکثر رشد میسیلیوم قارچ در پایین‌ترین غلظت اسانس (25 قسمت در میلیون) حاصل شد. کمترین رشد میسیلیوم قارچ در

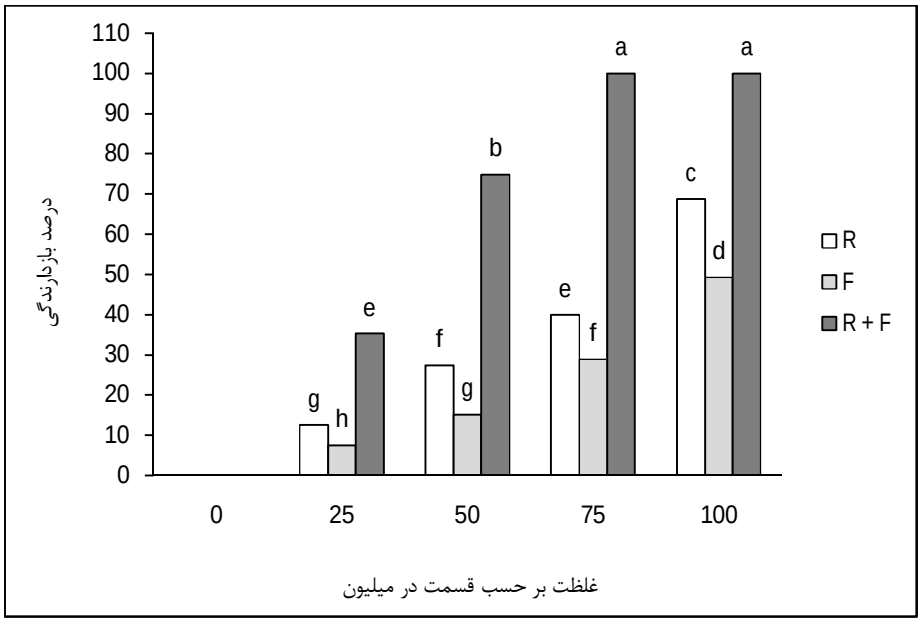
[1] Abbott formula, 1925

بالاترین غلظت اسانس‌ها (100 قسمت در میلیون) مشاهده شد. میانگین رشد روزانه میسیلیوم قارچ در بالاترین و پایین‌ترین غلظت اسانس رازیانه به ترتیب برابر 6 و 9/4 میلی‌متر بود (شکل2). در اسانس رزماری میانگین رشد روزانه میسیلیوم قارچ در بالاترین غلظت اسانس 4/5 میلی‌متر و در پایین‌ترین غلظت 8/6 میلی‌متر بود (شکل2). در حالی که با ترکیب دو اسانس رازیانه و رزماری، میانگین رشد روزانه میسیلیوم قارچ در بالاترین و پایین‌ترین غلظت به ترتیب برابر با صفر و 6/2 میلی‌متر بود (شکل2). آنالیز آماری در سطح اطمینان 95 درصد نشان داد که بین میانگین رشد قارچ و افزایش سطوح غلظت اسانس‌ها اختلاف معنی‌داری وجود دارد (شکل2).

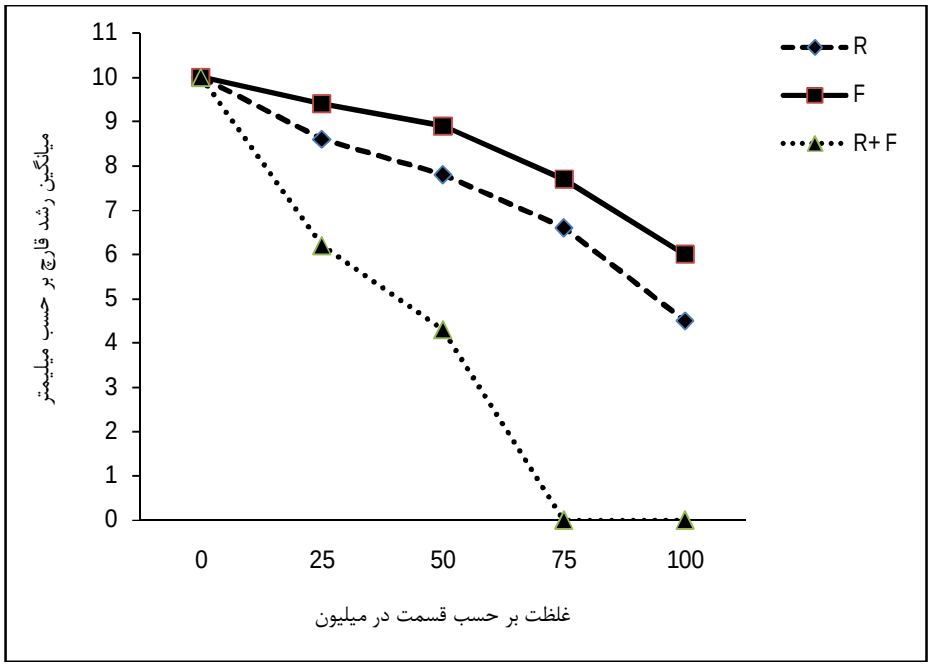
جدول 1- مقایسه مجموع مربعات میانگین درصد بازدارندگی اسانس ها و میانگین رشد قارچ در غلظت‌های مختلف

تیمار	درجه آزادی	درصد بازدارندگی	میانگین رشد قارچ
اسانس	2	768/920**	572/432**
غلظت	4	532/581*	405/954 *
اسانس × غلظت	8	947/702**	955/977**
کل	14	885/590	787/330

* و ** به ترتیب معنی داری در سطح 5% و 1% می‌باشد



شکل 1- درصد بازدارندگی اسانس رزماری (R)، رازیانه(F) و ترکیب اسانس رزماری و رازیانه(R + F)در غلظت‌های مختلف، روی رشد قارچ *Fusarium oxysporum*



شکل 2- میانگین رشد روزانه قارچ *Fusarium oxysporum* در غلظت‌های مختلف اسانس رزماری (R)، رازیانه(F) و ترکیب اسانس رزماری و رازیانه (R + F).

با تجزیه ترکیبات تشکیل دهنده اسانس مشخص گردید که بیشترین ترکیب تشکیل دهنده اسانس رزماری را به ترتیب آلفا پینن با 25/4%، 1 و 8 ـ سینئول با 22/6% و بورنئول با 12/4% تشکیل داده بود (جدول2). اِنتول ترانس با 75/8%، بیشترین ترکیب تشکیل دهنده اسانس دانه رازیانه بود (جدول3). پژوهش‌گران خاصیت ضد میکروبی اسانس رازیانه را به وجود ترکیب انتول ترانس نسبت داده‌اند که در آزمایش‌های مختلفی توانسته از رشد چندین قارچ عامل بیماری‌زای گیاهی و انسانی جلوگیری کند (Mimica -Duki *et al*., 2003; Paster *et al*., 1995; Soylu *et al*., 2006). در پژوهش‌های دیگری گزارش گردیده است که بیشترین ترکیب تشکیل دهنده اسانس رازیانه اِنتول ترانس می‌باشد که حضور همین ترکیب سبب خواص ضد میکروبی، ضد قارچی و آنتی اکسیدانی اسانس رازیانه گردیده است (Shahat *et al*., 2011).خواص ضد میکروبی اسانس رزماری مربوط به دو ترکیب اصلی آن یعنی آلفا پینن و بورنئول می‌باشد (Panizzi *et al*., 1993; Angioni *et al*., 2004; Soylu *et al*., 2006; El-Mougy and Abdel-Kader, 2007). ترکیب 1 و 8 ـ سینئول موجود در اسانس رزماری به دلیل این که از گروه اترها می‌باشد فعالیت ضد قارچی ضعیفتری دارد (Kalemba and Kunicka, 2003). در آزمایش‌های دیگری گزارش گردیده که اصلی‌ترین ترکیب تشکیل دهنده اسانس رزماری آلفا پینن می‌باشد و خاصیت ضد میکروبی این گیاه عمدتا به دلیل وجود آلفا پینن موجود در اسانس آن است (Jamshidi *et al*., 2009; Moghtader and Afzal, 2009).

جدول2- ترکیبات شناسایی شده در اسانس رزماری توسط دستگاه کروماتوگراف گازی متصل به طیف نگار جرمی.

ترکیبات شناسایی شده اسانس	درصد ترکیبات اسانس
α-pinene	25/4
β - pinene	4/2
β- myrcene	2/8
P - cimene	4/5
Tricyclene	1/4
Comphene	8/2
1,8- cineole	22/6
Comphor	4/8
Borneol	12/4
Verbenone	8/4
Borneol acetate	7/5
Linalool	5
1- limonene	3/8
4 - terpineol	3/2
chrysanthenone	3

جدول3- ترکیبات شناسایی شده در اسانس دانه رازیانه توسط دستگاه کروماتوگراف گازی متصل به طیف نگار جرمی

ترکیبات شناسایی شده اسانس	درصد ترکیبات اسانس
α-Thujone	4/3
α-phellandrene	4/6
β- pinene	0/4
β - phellandrene	1/9
Anethole tranc	75/8
P - cymene	0/3
Y- terpinene	0/5
estragol	3

پژوهشگران زیادی اثرات ضد قارچی اسانس رزماری و رازیانه را در مهار قارچ *F. oxysporum* مورد بررسی قرار داده‌اند (Basem *et al*., 2007; Qorbani *et al*., 2010; Teymoori and Rahnama, 2013; Tavalaei *et al*., 2012; Kohanmoo and Jamali, 2013; Salekmearaji *et al*., 2015). وجه مشترک تمام تحقیقات نام برده شده

این است که با افزایش غلظت اسانس، رشد عوامل بیماری‌زا کاهش می‌یابد. در رابطه با اثر ترکیبی اسانس‌های گیاهی تاکنون گزارشی ارائه نشده است و یک گزارش مربوط به اثر ترکیبی عصاره گیاهی است (Surender, 2012). نتایج این آزمایش نشان داد که اسانس رزماری و رازیانه رشد میسیلیوم قارچ را کاهش داد اما به طور کامل نتوانست از رشد قارچ جلوگیری نمایند. کاربرد ترکیبی دو اسانس رزماری و رازیانه در دو غلظت 75 و 100 قسمت در میلیون رشد قارچ را به طور کامل متوقف نمود. مزیت ترکیب دو یا چند اسانس گیاهی با یکدیگر به علت اثر تشدید کنندگی ترکیبات می‌باشد که سبب می‌شود با کاربرد غلظت‌های کم، اثرات بازدارندگی اسانس را به طور قابل توجهی افزایش داد. همچنین مقاومت قارچ‌ها در مقابل عوامل مهار کننده را از بین برد. هرچند ممکن است ترکیب اسانس‌ها با یکدیگر می‌تواند در برخی مواقع اثر ناسازگار داشته باشد (Surender, 2012).

نتیجه گیری کلی

کاربرد اسانس رازیانه و رزماری به صورت جداگانه رشد میسیلیوم قارچ را کاهش داد اما نتوانست به طور کامل متوقف نماید. با افزایش غلظت اسانس‌ها رشد قارچ کاهش یافت. با ترکیب دو اسانس رزماری و رازیانه درصد بازدارندگی اسانس‌افزایش یافت به طوری در غلظت‌های بالاتر رشد قارچ متوقف گردید. با ترکیب اسانس چندین گیاه می‌توان با کاربرد غلظت‌های کمتر اسانس، مهار عوامل بیماری‌زا را به نحو مطلوبی افزایش داد و از سوی دیگر مقاومت عوامل بیماری‌زا را در مقابل عوامل کنترل کننده از بین برد. به همین منظور پیشنهاد می‌گردد که به جای کاربرد اسانس یک گیاه، از ترکیب چندین اسانس گیاهی استفاده گردد.

References

1. Abbott, WS .1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. Journal Economic Entomology 18: 265–267.
2. Angioni A, Barra A, Cereti E, Barile D, Coisson JD, Arlorio M, Dessi S, Coroneo V and Cabras P. 2004. Chemical composition plant genetic differences antimicrobial and antifungal activity investigation of the essential oil of *Rosmarinus officinalis*. Agricultural Food Chemistry 52: 3530–3535.
3. Balandrin MF, Klocke JA, Wurtele ES and Bollinger WH .1985. Natural plant chemicals: Sources of industrial and medicinal materials. Science 228: 1154–1160.
4. Basem FD and Amjad Kh. 2007. The inhibitory effect extracts from Jordanian medicinal plants against phytopathogenic Fungi. Plant Pathology Journal 6: 191–194.
5. Davies NW. 1990. Gas chromatographic retention indices of monoterpens of methyl silicons and carbowax 20m phases. Journal Chromatography 503: 1–24.
6. El-Mougy NS and Abdel-Kader MM. 2007. Antifungal effect of powdered spices and their extracts on growth and activity of some fungi in relation to damping-off disease control. Journal of Plant Protection Research 47: 267–278.
7. Hamedo HA and Abdelmigid HM. 2009. Use of antimicrobial and genotoxicity potentiality for evaluation of essential oils as food preservatives**.** Open Biotechnology Journal 3: 50–56.
8. Hostettmann K and Wolfender J-L. 1997. The search for biological active secondary metabolites. Pesticides Science 51: 471–482.
9. Jamshidi R, Afzali Z and Afzali D. 2009: Chemical composition of hydrodistillation essential oil of rosemary in different origins in Iran and comparison with other countries. American Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences 5: 78–81.
10. Kalemba D and Kunicka A. 2003. Antibacterial and antifungal properties of essential oils. Current Medicinal Chemistry 10: 813–829.
11. Kohanmoo MA and Jamali F. 2013. Antifungal action essential oils multi medicinal plants on the *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* fungi. Biological Control of Pests and Plant Diseases 2: 27–33.
12. Kordali S, Kotan R, Mavi A, Cakir A, Ala A and Yildirim A. 2005. Determination of the chemical composition and antioxidant activity of the essential oil of *Artemisia dracunculus* and of the antifungal and antibacterial activities of Turkish *Artemisia absinthium*, *A. dracunculus*, *Artemisia santonicum* and *Artemisia spicigera* essential oils. Journal of Agricultural and Food Chemistry 53: 9452–9458.
13. Mimica-Dukic N, Kujundzic S, Sokovic M and Couladis M. 2003. Essential oil composition and antifungal activity of *Foeniculum vulgare* Mill obtained by different distillation conditions. Phytotherapy Research 17: 368–371.
14. Moghtader M and Afzali D. 2009: Study of the antimicrobial properties of essential oil of rosemary. American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences 5: 393–397.
15. Omidbigi R .2003. Production and processing of medicinal plants. Tehran, Iran: Behe Nashr publisher. 195 p.
16. Panizzi L, Flamini G, Cioni PL and Morelli I. 1993. Composition and antimicrobial properties of essential oils of four mediterranean labiatae. Journal of Ethnopharmacology 39: 167–70.

17. Paster N, Menasherov M, Ravid U and Juven B. 1995. Antifungal activity of oregano and thyme essential oils applied as fumigants against fungi attacking stored grain. Journal of Food Protection 58: 81–85.
18. Qorbani M, Falahati Rastegar M and Jafar Poor B. 2010. Applyed productions some plants for purpose controlling fungi diseases *Fusarium oxysporum* f.sp *cumini.* Journal of Plant Protection Volume 24: 1–7.
19. Rai M and Carpinella M. 2006. Naturally occurring bioactive compounds. Amsterdam: Elsevier. 502 p.
20. Salekmearaji H, Salek Naghdi R and Tafreshi Kh. 2015. Investigate antifungal essential oil *Lavandula angustifoila* and *Rosmarinus officinalis* against disease *Fusarium oxysporum*, Paper presented at: National Conference of Applied Researches in the Science Agriculture; 19-22 September; Tehran, Iran.
21. Samsam Shariat H. 2006. Medicinal plants. Tehran, Iran: Chaharbagh publisher. 150 p.
22. Saremi H. 1998. Ecology and taxonomy of *Fusarium* species. Mashhad, Iran: Jahad-Daneshgahi Press. 131 p.
23. Shahat A, Ibrahim AY, Hendawy SF, Omer EA, Hammouda FM, Abdel-Rahman FH and Saleh MA. 2011. Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of essential oil from organically cultivated fennel cultivars. Molecules 16: 1366–1377.
24. Shahidi F and Wanasundara PD. 1992. Phenolic antioxidants. Critical Reviews in Food Science and Nutrition 32: 67–103.
25. Shibamoto T. 1987. Retention indices in essential oil analysis. pp. 259–275, *In* P. Sandra and C Bicchi (eds). Capillary Gas Chromatography in Essential Oil. New York: Heuthig Verlag.
26. 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.
27. Surender KB. 2012. Evaluation of plant extracts as antifungal agents against *Fusarium solani* (Mart.) Sacc. World Journal of Agricultural Sciences 8: 385–388.
28. Tavalaei FZ, Hosseini M and Heydar Abadi. 2012. Antifungal effect (*Officinalis Melissa*) on the *Fusarium oxysporum* f.sp. *watermelon* fungus. National Conference Medicinal Plants. Yasouj.
29. Tepe B, Donmez E, Unlu M, Candan F, Daferera D and Vardar-Unlu G. 2004. Antimicrobial and antioxidative activities of the essential oils and methanol extracts of *Salvia cryptantha* (montbret et aucher ex benth.) and *Salvia multicaulis* (vahl). Food Chemistry 84: 519–525.
30. Teymoori S and Rahnama K. 2013. Investigation effect some plants essential oils on the sclerotiorum *Sclerotinia* fungus in vitro condition. Journal of Researches in plant Diseases 3: 23–30.
31. Varma J and Dubey NK. 1999. Prospectives of botanical and microbial products as pesticides of tomorrow. Current Science 76: 172–179.
32. Zargari A. 1993. Medicinal plants. 5th ed. Tehran, Iran: Tehran University Publication. 924 p.

Suppressiveness of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) and fennel (*Foeniculum vulgare*) essential oils on *Fusarium* oxy*sporum*

H. Salek Mearaji*[1], R. Salek Naghdi [2], Kh. Tafreshi[3]

Abstract

Using medicinal plants essential oils to control or suppress plant diseases has been considered by researchers all over the world. *Fusarium oxysporum* is one of the more common plant disease agents that affects a broad range of plants. In this study an in vitro experiment was set up to investigate the individual or combined effect of essential oils of rosemary and fennel on control of *F. oxysporum*. Treatments included five concentrations of essential oil of rosemary and fennel at 0, 25, 50, 75 and 100 ppm, using a completely randomized design (CRD) with five replications for each treatment. PDA plates with the desired concentrations of each essential oil were prepared and *F. oxysporum* was cultured on them. Results showed that essential oil of rosemary caused greater inhibition to fungal growth than that of fennel at all of the concentrations tested. Combined application of both essential oils (rosemary and fennel) had higher efficacy than individual application of them. Single application of essential oils of rosemary and fennel, at the highest concentration, inhibited fungal growth by 68/7 and 49/2% respectively, but combination of these essential oils completely restricted *Fusarium* growth (100%). Therefore, it is possible to restrict a pathogen more efficiently by application of lower concentrations of two or more essential oils in combination.

Key words: Antifungal, essential oil, fennel, *Fusarium oxysporum*, rosemary.

[1] - Former MSc Student, Department of Plant Agronomy and Breeding, Faculty of Agriculture, University of Ilam, Ilam, Iran.

[2] - MSc Student, Department of Plant Agronomy and Breeding, Faculty of Agriculture, Takestan Branch, Islamic Azad University, Takestan, Iran.

[3] - MSc Student, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Saveh Branch, Islamic Azad University, Saveh, Iran.

*Corresponding author: salek_art1367@yahoo.com