اثر ضدقارچی چند اسانس گیاهی بر قارچ عامل برق‌زدگی نخود *Ascochyta rabiei* در شرایط آزمایشگاهی و گلخانه‌ای

The antifungal effect of several essential oils on *Ascochyta rabiei,* the causal agent of chickpea Ascochyta blight in vitro and greenhouse conditions

محمد ثمری[۱]، مژده ملکی[۲*]، داریوش شهریاری[۳] و ندا خردپیر[۴]

دریافت: ۱۴۰۰/۷/۲۴ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۱/۰۵

چکیده

بلایت آسکوکیتایی ناشی از *Ascochyta rabiei* یکی از مهمترین عوامل کاهش‌دهنده عملکرد نخود در سراسر دنیاست. به‌علت اهمیت این بیماری و همچنین با هدف کاهش اثرات مخرب زیست‌محیطی ناشی از روش‌های مبارزه شیمیایی متداول، اسانس‌های گیاهی با خاصیت ضدقارچی می‌توانند گزینه مناسبی برای مدیریت بیمارگر باشند. در این تحقیق، اثر بازدارندگی اسانس هشت گیاه آویشن، زیره، مرزه، پونه، نعنا، ترخون، زنیان و رازیانه در پنج غلظت در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار مورد بررسی قرار گرفتند. صفاتی از قبیل درصد بازدارندگی از رشد میسلیوم، حداقل غلظت بازدارندگی از رشد، سرعت رشد کلنی پس از تیمار در شرایط آزمایشگاهی و درصد شدت بیماری در شرایط گلخانه‌ای مطالعه شدند. برای آزمایش گلخانه‌ای از اسانس‌هایی که بهترین بازدهی را در شرایط آزمایشگاهی نشان دادند، در مقایسه با قارچ‌کش رورال‌تی‌اس و شاهد آلوده و سالم استفاده شد. نتایج نشان داد که رازیانه بیشترین درصد بازدارندگی را در بین گیاهان مورد بررسی داشت. در شرایط گلخانه نیز تیمار دو گیاه آویشن و رازیانه پایین‌ترین شاخص بیماری را در گیاهان میزبان ایجاد نمودند. بنابر نتایج این تحقیق می‌توان محتمل دانست که اسانس و عصاره دو گیاه رازیانه و آویشن گزینه‌های مناسب‌تری برای کاربرد در برنامه مدیریت این بیماری در مقایسه با شش گیاه مورد بررسی بودند.

واژگان کلیدی: نخود، بلایت، برق زدگی، اسانس گیاهی، بازدارندگی

۱ و ۲- به ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و استادیار، گروه بیماری‌شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ورامین-پیشوا، ورامین، ایران

۳- استادیار، بخش تحقیقات گیاه‌پزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان تهران، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، ورامین، ایران

۴- استادیار، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ورامین-پیشوا، ورامین، ایران

نویسنده مسئول مکاتبات: mojdehmaleki@yahoo.com

مقدمه

برق‌زدگی نخود، Ascochyta blight، یکی از مهم‌ترین بیماری‌های نخود معمولی در ایران و تقریباً تمام کشورهای تولیدکننده نخود است که در اثر قارچ بیمارگر *Didynella rabiei* (Kovachevski) Von.Arx (آنامورف*Ascochyta rabiei* (Pass.) Labrouse) ایجاد می‌شود. این قارچ به‌طور اختصاصی به نخود معمولی حمله کرده و در بقایای گیاهی و بذر آلوده زنده می‌ماند (Kanouni *et al.*, 2011). از آنجا که تشخیص قارچ عامل بیماری، درون یا روی بذر بسیار مشکل است، بنابراین بذر می‌تواند منبع بسیار خوبی برای گسترش این بیماری باشد (Traperocasas and Kaiser, 1992؛ Bahr *et al.*, 2015). این قارچ علاوه بر نخود معمولی، توانایی محدودی برای بقا بر روی میزبان‌های واسط از جمله علف‌های هرز مانند تاج‌خروس، شبدر سفید، و نیز تعدادی از بقولات مانند عدس و نخودفرنگی دارد (یونسی و همکاران، ۱۳۸۲). این بیماری تقریباً از سراسر جهان گزارش شده و در کشورهای پاکستان، تونس، اسپانیا، سوریه، آرژانتین، کانادا، استرالیا و ایالات متحده آمریکا حالت فراگیر داشته و خسارت‌های قابل ملاحظه‌ای ایجاد کرده است (Mmbaga, 1997؛ Bahr *et al.*, 2015). در ایران نیز، در سال زراعی ۷۴-۱۳۷۳ این بیماری باعث از بین رفتن کل محصول نخودفرنگی در استان کرمانشاه گردید (یونسی، ۱۳۷۵) و علاوه بر آن از استان‌های فارس، آذربایجان، مازندران، استان مرکزی، خوزستان و زنجان نیز گزارش شده است و خسارت آن به‌طور متوسط ۶۰۰۰ تن در سال برآورد شده است (نوراللهی و همکاران، ۱۳۸۸).

در مطالعات مختلفی اثرات ضدقارچی اسانس‌های گیاهی برای مدیریت این بیماری مورد بررسی قرار گرفته است. در مطالعه‌ای اثر بازدارندگی عصاره متانولی گیلاس زمستانی *Withania somnifera* بر روی *A. rabiei* بررسی گردید و نتایج نشان داد که این علف هرز ترکیبات مؤثری برای کنترل بلایت نخودفرنگی دارد (Javaid *et al.*, 2020). در مطالعه مشابهی بر روی فعالیت ضدباکتریایی و ضدقارچی عصاره میوه *W. somnifera* بر بیمارگرهای قارچی و باکتریایی، نشان داده شد که این گیاه به دلیل وجود ترکیبات فنلی، کافئین و فلاونوئیدها انتخاب مناسبی برای مدیریت بیماری‌های قارچ‌زاد و باکتری‌زاد گیاهی است (El-Hefny *et al.*, 2020). همچنین اثربخشی عصاره دو گونه گیاه مریم‌گلی *Salvia officinalis* و *Salvia tomentosa* بر علیه قارچ عامل بلایت اسکوکیتایی اثبات گردید (Yilar and Bayar, 2019). عصاره متانولی گیاه سلمک *Chenopodium album* نیز ۶۸ درصد بازدارندگی از رشد قارچ در غلظت ۷٪ نشان داد؛ آنالیز مواد تشکیل دهنده عصاره سلمک نشان‌دهنده وجود ۱۳ ترکیب مؤثر بر رشد قارچ بیمارگر بود (Sherazi *et al.*, 2016). در مطالعه دیگری، ریشه و برگ گیاه سلمک جهت بازدارندگی از رشد قارچ *D. rabiei* استفاده گردید و برگ‌های این گیاه اثربخشی معنی‌داری در مقایسه با ریشه بر علیه قارچ بیمارگر نشان داد (Jabeen *et al.*, 2014). اسانس دو گیاه درختچه چای *Mealeuca alternifolia* و آویشن *Thymus vulgaris* نیز به‌طور مشخص سبب کاهش رشد قارچ شدند؛ آویشن مؤثرتر از چای تشخیص داده شد (Riccioni and Orzali, 2011).

در مطالعه دیگری، اثر اسانس‌های رزماری *Rosemarinus officinalis*، آویشن کوهی *Thymus kotschyanus*، شوید *Anethum graveolens*، رازیانه *Foeniculum vulgare*، ترخون *Artemisia dracunculus* و زینان *Carum capticum* در شرایط آزمایشگاهی بر رشد و میزان اسپورزایی *Alternaria solani* مورد بررسی قرار گرفت و نتایج نشان داد که اسانس‌های زینان و آویشن کوهی دارای قدرت بازدارندگی بیشتری بودند (نورابنجار، ۱۳۹۲). همچنین اثربخشی اسانس‌های آویشن *T. vulgaris*، نعنا فلفلی *Mentha piperita* و مرزه خوزستانی *Satureja khuzestanica* بر علیه رشد *Botrytis cinerea* و *Fusarium solani* نیز مورد مطالعه قرار گرفت و مرزه خوزستانی بالاترین سطح بازدارندگی از رشد قارچ *F. solani* را نشان داد (حسینی، ۱۳۹۲).

روش‌های رایج برای کنترل بلایت آسکوکیتایی نخود، بر مبنای مبارزه شیمیایی و استفاده از ارقام مقاوم می‌باشند که علی‌رغم کنترل اثربخش این بیماری به کمک قارچ‌کش‌ها، به دلیل آلودگی زیست‌محیطی و معضل باقیمانده سموم می‌بایست از روش‌های سازگارتری با اکولوژی محصول استفاده شود. در این راستا، نیاز به انجام تحقیقات در زمینه

به‌کارگیری اسانس‌های گیاهی برای مدیریت این بیماری احساس می‌شود. این تحقیق در جهت بررسی و مقایسه اثربخشی چند اسانس گیاهی بر بیماری‌زایی قارچ *A. rabiei* انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

نمونه قارچ *Ascochyta rabiei* از گیاهان نخود آلوده در مزارع استان کرمانشاه در سال ۱۳۹۵ جمع‌آوری گردید. جهت جداسازی، خالص‌سازی و نگهداری نمونه‌ها از محیط کشت PDA (Potato Dextrose Agar) و CSA (Chickpea Saccharose Agar) و CDA (Chickpea Dextrose Agar) استفاده گردید. نمونه‌های متعلق به جدایه‌های جمع‌آوری شده پس از جداسازی و خالص‌سازی، با استفاده از کلید Sutton (1980) شناسایی و تأیید گردید. جدایه‌ها بر روی محیط کشت CSA به مدت ۱۴ روز در شرایط انکوباتور نگهداری و سپس به شرایط تاریکی و دمای ۸ درجه سلسیوس منتقل شدند.

به‌منظور اثبات بیماری‌زایی جدایه‌های جمع‌آوری شده قارچ *A. rabiei* هر یک از جدایه‌های خالص قارچ کدگذاری و تکثیر شدند و سپس در دمای ۲۲-۱۵ درجه سلسیوس بر روی رقم حساس به بیماری (بیونیج) مایه‌زنی گردید تا بیماری‌زا بودن تمام جدایه‌ها به اثبات رسانده شود. از حاشیه کشت‌های تک اسپور شده قارچ، قطعاتی به قطر ۰/۵ سانتی‌متر جدا و با ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر، سوسپانسیون غلیظی تهیه گردید. پس از ظهور پیکنیدیوسپورهای قارچ طی ۱۲ روز، سوسپانسیون اسپور با رقت $۱۰^{۶}\times۲$-۱ اسپور در میلی‌لیتر، با اضافه نمودن آب مقطر استریل و مالش سوزن بر روی سطح محیط کشت تهیه شد. سپس گیاهچه‌های ۱۴ روزه نخود با ۵ میلی‌لیتر سوسپانسیون هر یک از جدایه‌های قارچ به‌طور یکنواخت با استفاده از اسپری دستی، اسپورپاشی شدند. گلدان‌ها در محفظه‌ای پلاستیکی در دمای ۲۲-۱۸ درجه سلسیوس و ۱۴-۱۲ ساعت روشنایی و رطوبت نسبی ۹۵ ٪ نگهداری شدند. در روز سوم، پوشش پلاستیکی برداشته شد و دما و رطوبت طبیعی در اختیار گیاه قرار داده شد.

در این تحقیق از ۸ گیاه نعنا *Mentha piperita* L.، آویشن *Thymus vulgaris* L.، مرزه *Satureja hotensis* L.، ترخون *Artemisia dracunculus* L.، زنیان *Carum copticum* Heirn، رازیانه *Foeniculum vulgare* L.، پونه *Mentha pulegium* L. و زیره *Cuminum cyminum* استفاده گردید. مواد گیاهی مورد استفاده از مناطق مختلف استان تهران و مازندران به‌صورت تازه جمع‌آوری شد. برای استخراج اسانس گیاهان از روش تقطیر آب با دستگاه کلونجر استفاده شد (فیضی و همکاران، ۱۳۹۱). اسانس‌ها پس از استخراج در دمای ۴-۳ درجه سلسیوس نگهداری شدند. علاوه بر اسانس‌های گیاهی از تیمار قارچ‌کش شامل رورال‌تی‌اس پودر وتابل ۳۵/۵٪ به میزان ۱/۵ در هزار و تیمار شاهد حاوی آب استریل استفاده شد. از دیسک‌های به قطر ۵ میلی‌متر برای این آزمایش استفاده شد.

در شرایط آزمایشگاهی، به منظور تعیین درصد بازدارندگی از رشد میسلیوم MGI (Mycelial Growth Inhibition) و حداقل غلظت بازدارندگی از رشد IMC (Inhibitory Minimum Concentration)، عصاره گیاهان مورد مطالعه به نسبت ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰، ۴۰۰ و ۵۰۰ میکرولیتر با محیط کشت PDA حاوی آنتی‌بیوتیک استرپتومایسین و نئومایسین مخلوط گردید. سپس دیسک‌هایی به قطر ۵ میلی‌متر از کشت ۷ روزه قارچ در مرکز تشتک پتری قرار داده و در دمای ۲۲ درجه سلسیوس نگهداری گردید.

آماربرداری از قطر کلنی در تیمارها ۲۱ روز پس از کشت انجام و میزان بازدارندگی از رشد بر اساس رابطه $(C-T)\times100/C$ (Riccioni and Orzali, 2011)؛ C و T به ترتیب میانگین قطر کلنی در شاهد و تیمار بودند. این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار برای هر جدایه انجام شد و نتایج با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد طبقه بندی شدند.

به منظور تعیین سرعت رشد کلنی، نیز قطر کلنی‌ها روی محیط‌های حاوی اسانس از روز ۱۴ تا ۲۱ اندازه‌گیری شدند و تفاضل آنها به‌عنوان سرعت رشد کلنی ثبت و سپس میانگین اختلاف قطر به‌دست آمده برای هر جدایه با استفاده از آزمون دانکن طبقه‌بندی شد تا موفق‌ترین اسانس گیاهی مشخص گردد.

به منظور انجام آزمایش گلخانه‌ای از اسانس‌های گیاهی منتخب در مرحله آزمایشگاهی استفاده گردید. در شرایط گلخانه طبق روش اثبات بیماری‌زایی، ابتدا اینوکلوم قارچ تهیه گردید و برای شاهد از آب مقطر استفاده شد. این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار در دو مرحله انجام شد: مرحله اول اسپری اسپور قارچ بر روی گیاهچه‌های نخود به میزان $۱-۲\times۱۰^{۶}$ اسپور در میلی‌لیتر و مرحله دوم پاشش اسانس بر روی گیاه پس از گذشت پنج روز از تیمار اولیه؛ گلدان‌ها در شرایط دمایی ۲۱ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۹۸٪ نگهداری شدند.

تیمارهای مورد بررسی در آزمایش گلخانه‌ای به شرح زیر بودند:

۱- شاهد سالم: بدون هیچ آلودگی

۲- شاهد آلوده: فقط اینوکلوم قارچ بدون اسانس

۳- اسانس‌های گیاهی منتخب از مرحله آزمایشگاهی با غلظت ۰/۵ در هزار

۴- اسانس‌های گیاهی منتخب از مرحله آزمایشگاهی با غلظت ۱ در هزار

۵- قارچ‌کش رورال‌تی‌اس (اپیرودیون-کاربندازیم، WP 35.5%) با غلظت ۱/۵ در هزار

آماربرداری از درصد شدت بیماری زمانی انجام شد که ۹۰٪ گیاهچه‌های رقم حساس بیونیج مرگ کامل نشان دادند. بر این اساس، علائم بیماری روی نخود با تیپ‌های آلودگی ۱ تا ۹ طبق روش Reddy and Singh (1984) اصلاح شده توسط Benzohra *et al.* (2011) یادداشت‌برداری شدند (جدول ۱).

جدول ۱- شاخص درجه‌بندی شدت آلودگی گیاهچه‌های نخود در اثر قارچ *A. rabiei* (Benzohra *et al.*, 2011)

Table 1. the infection index of chickpea plants due to *A. rabiei* (Benzohra *et al.*, 2011)

درجه شدت آلودگی The infection index	علائم Symptoms	
1	بدون علائم	No symptom
2	لکه‌ها کم، کوچک، غیرواضح حدود ۲ میلی‌متر روی بعضی قسمت‌ها	Spots, little, small, unclear, about 2 mm diameter on some parts
3	لکه‌ها کم، پراکنده، بزرگ‌تر، واضح، تا ۵ میلی‌متر	Spots little, scattered, partially larger, clear, up to 5 mm diameter
4	لکه‌ها بر روی قسمتی یا تمام گیاه، قطر بیش از ۵ میلی‌متر، شروع خمیدگی	Spots on some parts or whole the plants, more than 5 mm diameter, bending starts
5	لکه‌ها معمولی، اندازه‌ها متغیر، بر روی تمام قسمت‌ها، خمش، شکستگی شاخه‌ها کم	Spots normal, different sizes, on the whole plant, bending, a few branches broken
6	علائم مشابه با ۵، بعضی گیاهان از بین رفته‌اند	Symptoms similar to 5, some plants die
7	علائم مشابه با ۵، ۲۵ درصد گیاهان از بین رفته‌اند	Symptoms similar to 5, 25 % of plants die
8	علائم مشابه با ۷، ۵۰ درصد گیاهان از بین رفته‌اند	Symptoms similar to 7, 50% of plants die
9	علائم مشابه با ۷، ۱۰۰ درصد گیاهان از بین رفته‌اند	Symptoms similar to 7, 100% of plants die.

پس از تعیین تیپ آلودگی، با استفاده از رابطه زیر درصد شدت آلودگی محاسبه گردید؛ n_i، تعداد نمونه‌ها با درجه آلودگی مشابه، v_i، درجه بیماری مربوط به هر نمونه، N، تعداد کل نمونه‌های مربوط به هر تکرار و V، حداکثر درجه آلودگی در نظر گرفته شد.

$$\text{درصد شدت آلودگی} = \frac{\sum nixvi}{\mathrm{NxV}}$$

نتایج حاصل از بررسی درصد شدت آلودگی در قالب طرح کاملاً تصادفی مورد تجزیه واریانس قرار گرفت و مقایسه میانگین‌ها به کمک آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ انجام شد. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار آماری MSTATC استفاده شد.

نتایج و بحث

پس از خالص‌سازی نمونه‌های به‌دست آمده از استان کرمانشاه، اثبات بیماری‌زایی روی رقم حساس بیونیج تأیید گردید و علائم بیماری ۷ روز پس از مایه‌زنی به‌صورت لکه‌های مدور تا بیضی زرد مایل به قهوه‌ای روشن یا حاشیه قهوه‌ای تیره به همراه پیکنیدیوم‌های تیره در زمینه لکه‌های رویـی برگ‌ها مشاهده شد؛ همچنین لکه‌های کشیده قهوه‌ای روی ساقه یا شاخه‌ها با پیکنیدیوم‌های فراوان دیده شد که در شدت‌های بالای بیماری، موجب شکسته شدن ساقه گردید. نتایج حاصل از آنالیز واریانس داده‌های تعیین درصد بازدارندگی (احتمال=۱۴۲/۷۹۱، درجه آزادی=۱۲۰) و سرعت رشد قارچ (احتمال=۵۲۶/۷۱۵، درجه آزادی=۱۲۰) نشان داد که تمام تیمارها در سطح احتمال ۱٪ دارای اختلاف معنی‌دار بودند و در مقایسه میانگین‌ها نیز این اختلاف بین تیمارها مشاهده گردید.

جدول ۲- میانگین درصد سرعت رشـد و بازدارندگی از رشد کلنی قارچ *A. rabiei* با استفاده از اسانس‌های گیاهی در غلظت‌های مختلف

Table 2. mean of growth rate and inhibitory of *A. rabiei* colonies by plant extracts in different concentrations.

میانگین سرعت رشد (میلی متر در روز) Mean of growth rate (mm/day)	میانگین بازدارندگی از رشد (٪) MGI (%)	غلظت (پی پی ام) Concentration (ppm)	گیاه plants
1.89 n	13.13 ij	100	آویشن Thyme
1.80 o	15 i	200	
1.61 p	21.25 gh	300	
1.54 q	26.25 de	400	
1.46 r	32.5 c	500	
2.22 g	12.5 ij	100	نعنا Mint
2.12 i	20 h	200	
2.06 kl	25 def	300	
2.01 lm	27.5 d	400	
1.84 no	31.25 c	500	
2.52 a	3.75 lmn	100	زیره Cumin
2.39 cd	5.62 dm	200	
2.29 e	10.63 jk	300	
2.12 ijk	14.38 ij	400	
1.98 m	20 h	500	
1.90 n	13.13 ij	100	رازیانه Fennel
1.81 o	20 h	200	
1.63 p	26.88 de	300	
1.42 r	38.75 c	400	
1.14 s	51.25 b	500	
2.42 c	3.75 lmn	100	ترخون Tarragon
2.34 de	6.25 lm	200	
2.14 ij	10.63 jk	300	
2.10 ijk	13.75 ij	400	
1.98 m	20.63 gh	500	
2.39 cd	3.12 mn	100	زینان Ajwain
2.28 ef	6.25 lm	200	
2.12 ij	14.38 ij	300	
2.06 jkl	19.38 h	400	
1.84 no	21.25 gh	500	
2.48 ab	4.37 lmn	100	پونه Pennyroyal
2.43 bc	13.75 ij	200	
2.23 g	19.38 h	300	
2.13 i	23.75 efg	400	
1.98 m	26.25 de	500	
2.41 cd	4.37 lmn	100	مرزه Savory
2.29 e	7.50 kl	200	
2.19 gh	13.75 ij	300	
1.96 m	21.88 fgh	400	
1.78 o	31.88 c	500	
0.08 t	91 a	1000	قارچ‌کش Fungicide

میانگین‌ها با حروف مشابه در هر ستون فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ هستند.

Means with similar letters in each column had no significant difference at 1% level.

در این بررسی، چهار اسانس برتر که کمترین سرعت رشد را در قارچ ایجاد کردند، به ترتیب رازیانه با ۱/۱۴ میلی‌متر در روز، آویشن با ۱/۵۴ میلی‌متر در روز، مرزه با ۱/۷۸ میلی‌متر در روز و نعنا با ۱/۸۱ میلی‌متر در روز بودند که برای آزمایشات بعدی انتخاب شدند. در بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف اسانس روی سرعت رشد کلنی قارچ مشخص گردید که با افزایش غلظت از ۱۰۰ به ۵۰۰ پی‌پی‌ام، سرعت رشد قارچ در فاصله زمانی ۱۲ به ۱۸ روز در تمام اسانس‌ها کاهش یافت (جدول ۲).

جدول ۳- غلظت EC50 اسانس های مختلف بر اساس میزان بازدارندگی از رشد قارچ طبق میانگین رشد قطر کلنی قارچ تحت تأثیر اسانس های مختلف

Table 3. EC50 of different extracts according to the inhibitory of mycelial growth rate due the colony diameter growth under the effect of extract

درصد قطر کلنی نسبت به شاهد (٪) Rate of colony diameter (%)	میانگین قطر کلنی (میلی متر) Mean of colony diameter (mm)	غلظت (پی پی ام) Concentration (ppm)	گیاه plants
86.9	34.75	100	آویشن Thyme
85	34	200	
78.7	31.5	300	
72.7	29.5	400	
67.5	27	500	
86.8	34.75	100	رازیانه Fennel
80	32	200	
73.7	29.25	300	
61.25	24.5	400	
48.8	19.5	500	
96.2	38.5	100	زیره Cumin
93.7	37.75	200	
89.4	35.75	300	
85.6	34.25	400	
80	32	500	
96.8	38.75	100	زینان Ajwain
93.7	37.5	200	
85.6	34.25	300	
80.6	32.25	400	
78.2	31.25	500	
96.6	38.25	100	پونه Pennyroyal
86.2	34.5	200	
80.6	32.25	300	
76.2	30.5	400	
73.8	29.5	500	
96.2	38.5	100	ترخون Tarragon
93.7	37.5	200	
89.4	35.75	300	
86.2	34.5	400	
79.4	31.75	500	
87.5	35	100	نعنا Mint
80	32	200	
75	30	300	
72.5	29	400	
68.7	27.5	500	
95.6	38.25	100	مرزه Savory
94.4	37.75	200	
89.2	35.25	300	
83.2	33.25	400	
68.2	27.25	500	
100	40	0	شاهد آب water

در آزمایش گلخانه‌ای، علائم بیماری یک هفته پس از تلقیح ظاهر شدند و تجزیه واریانس داده‌های به‌دست آمده بر اساس شاخص شدت بیماری نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ بین تیمارهای مختلف بود. (احتمال=۱۱۲۲/۴۲۹؛ درجه آزادی=۳۰). نتایج این بررسی نشان داد که اسانس‌های آویشن و رازیانه به ترتیب با

شاخص ۳۹/۲ و ۳۹/۹ با قرار گرفتن در گروه e نزدیک‌ترین شاخص به تیمار قارچ‌کش با شاخص ۲۰/۲۱ در گروه آماری f بودند. در این آزمایش، شدت بیماری در شاهد آلوده بدون تیمار ۹۵/۸۵ بود (جدول ۴).

نتایج به‌دست آمده از آزمایش گلخانه نشان داد ترکیبات اسانس‌ها به‌ویژه آویشن و رازیانه با شاخص بیماری ۳۹/۹۰ درصد بعد از قارچ‌کش، کمترین میزان بیماری را ایجاد کردند. آویشن به دلیل وجود منابع غنی از ترپنوئیدهای فنلی و کارواکرول موجب آشفتگی در غشای پلاسمایی، نشت درون سلولی ATP و یون‌های پتاسیم و در نهایت مرگ سلول بیمارگر می‌شود (Pank *et al.*, 2004). پیش از این نیز در تحقیقات مشابه از دو گیاه آویشن معمولی و درختچه چای جهت مدیریت *A. rabiei* استفاده گردید و مشاهده شد که برگ‌های آویشن اثر بازدارندگی معنی‌داری بر روی کلنی این قارچ داشته است که با نتایج حاصل از این تحقیق مطابقت دارد (Riccioni and Orzali, 2011).

جدول ۴- میانگین شاخص شدت بیماری بلایت اسکوکیتایی نخود تیمار شده با چهار اسانس منتخب

Table 4. Mean of pathogenicity index of chickpea blight under the treatment of four extract

تیمار	Treatment	غلظت Concentration	شاخص بیماری Pathogenicity index
آویشن	Thyme	0.5 per 1000	43.15 d
		1 per 1000	39.20 e
رازیانه	Fennel	0.5 per 1000	43.15 d
		1 per 1000	39.90 e
مرزه	Savory	0.5 per 1000	45.83 bc
		1 per 1000	42.83 d
نعنا	Mint	0.5 per 1000	46.85 b
		1 per 1000	44.17 cd
قارچ‌کش	Fungicide	1.5 per 1000	21.20 f
شاهد سالم	intact control	-	11.10 g
شاهد آلوده	infected control	-	95.85 a

میانگین‌ها با حروف مشابه در هر ستون فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱ ٪ هستند.

Means with similar letters in each column had no significant difference at 1% level.

در مطالعات مشابهی بر روی اثربخشی عصاره رازیانه برای مدیریت بیماری‌های گیاهی قارچی، تأثیر بازدارندگی عصاره رازیانه برعلیه *Fusarium solani* بر روی باقلا به اثبات رسید (Khaleil *et al.*, 2021). همین تحقیق نشان داد که عصاره رازیانه به دلیل وجود D-لیمونن، منتول، استراگول و ۲-دکانول می‌تواند تا ۶۱٪ مانع از رشد کلنی *F. solani* شود، که با نتایج حاصل از این تحقیق در خاصیت بازدارندگی رازیانه مطابقت دارد. تاکور و همکاران نیز در تحقیق خود فعالیت ضدقارچی عصاره رازیانه را برعلیه قارچ‌های بیمارگر *Alternaria alternaria*، *Mucor rouxii* و *Aspergillus flavus* نشان دادند (Thakur *et al.*, 2013). در همین تحقیق اثربخشی آویشن بر روی شش گونه قارچ بیمارگر بذرزاد دیگر نیز به اثبات رسیده بود؛ بنابر نتایج این تحقیق می‌توان آویشن و رازیانه را با غلظت ۱ در هزار به عنوان گزینه‌هایی برای تلفیق در برنامه مدیریت این بیماری پیشنهاد نمود.

منابع References

حسینی، م. ۱۳۹۲. بررسی تأثیر اسانس گیاهان آویشن، نعنا فلفلی و مرزه خوزستانی بر بازدارندگی رشد قارچ‌های بیماری‌زای گیاهی *Alternaria solani*، *Botrytis cinerea* و *Fusarium solani*. پایان‌نامه کارشناسی ارشد بیماری-شناسی گیاهی، دانشگاه لرستان. ۹۸ صفحه.

فیضی، پ.، کمالی، ح.، یزدانی، ا. و هاشمی مقدم، ح. ۱۳۹۱. مقایسه روش استخراج کلونجر (تقطیر با آب) و استخراج با حلال برای استخراج اسانس روغنی گیاه آدمک و آنالیز ترکیب مواد با گازکروماتوگرافی- اسپکتروسکوپی جرمی. مجله دانشگاه علوم پزشکی، ویژه نامه فرآورده های طبیعی و گیاهان دارویی ۴(۵ و S۵): ۳۵-۴۱.

نورابنجار، ع. ۱۳۹۲. ارزیابی قارچ کش‌های جدید و اسانس‌های گیاهی در کنترل بیماری لکه‌موجی گوجه‌فرنگی *Alternaria solani* در شرایط آزمایشگاهی و گلخانه‌ای. پایان‌نامه کارشناسی ارشد بیماری‌شناسی گیاهی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مرودشت، ۹۸ صفحه.

نوراللهی، خ.، نیکخواه، م. ج.، نقوی، م. ر. و اخوت، م. ۱۳۸۸. تنوع بیماری‌زایی در قارچ *Didymella rabiei* عامل بیماری برق‌زدگی نخود در استان‌های ایلام و کرمانشاه. نشریه حفاظت گیاهان (علوم و صنایع کشاورزی) ۲۳(۲): ۶۵-۵۶.

نوراللهی، خ.، فلاحتی رستگار، م. و جعفرپور، ب. ۱۳۷۹. تشخیص نژادهای فیزیولوژیک *Ascochyta rabiei*، عامل بیماری برق‌زدگی نخود در چند منطقه کشور. مجله علوم و فنون کشاورزی ۴ (۱): ۱۲۷-۱۳۶.

یونسی، ح. ۱۳۷۵. بررسی آلودگی بذر نخود ایرانی *Cicer arietinum* L. به بیماری برق‌زدگی نخود در استان کرمانشاه. گزارش پژوهشی مرکز تحقیقات کشاورزی کرمانشاه، ۴۳ صفحه.

یونسی، ح.، اخوت، م.، حجارود، ق.، زاد، ج.، طالعی، ع. ر. و زمانی، م. ر. ۱۳۸۲. تنوع بیماری‌زایی جدایه-های *Ascochyta rabiei* روی ارقام نخود در استان کرمانشاه. بیماری‌های گیاهی ۳۹(۳-۴): ۲۱۳-۲۲۸.

Bahr, L., Castelli, M. V., Barolo, M. I., Ruiz Mostaceri, N., Tosello, M. E. and Lopez, S. N. 2015. Ascochyta blight: isolation, characterization, and development of a rapid method to detect inhibitors of the chickpea fungal pathogen *Ascochta rabiei*. Fungal Biology 120 (3): 424-432.

Benzohra, I. E., Bendahmane, B. S., Labdi, M. and Benkada, M. Y. 2011. Identification of pathotypes and physiological races in *Ascochyta rabiei* (Pass.) Lab., the agent of Ascochyta blight in chickpea *Cicer arietinum* in Algeria. World Applied Sciences Journal 15: 978-984.

El-Hefny, M., Salem, M. Z. M., Behiry, S. I. and Ali, H. M. 2020. The potential antibacterial and antifungal activities of wood treated with *Withania somnifera* fruit extract, and the phenolic, caffeine and flavonoid composition of the extract according to HPLC. Processes 8 (1): 113.

Jabeen, K., Sherazi, A. Z. and Igbal, S. 2014. Antifungal potential of *Chenopodium album* L. against chickpea blight. Journal of Agriculture Science and Technology 4: 69-75.

Javaid, A., Munir, R., Haidar Khan, I. and Shoaib, A. 2020. Control of the chickpea blight, *Ascochyta rabiei*, with the weed plant, *Withania somnifera*. Egyptian Journal of Biological Pest Management 30: 114.

Kanouni, H., Taleei, A. and Okhovat, M. 2011. Ascochyta blight *Ascocgyta rabiei* (Pass.) Lab. of chickpea *Cicer arietinum* L.: breeding strategies for resistance. International Journal of Plant Breeding and Genetics 5: 1-22.

Khaleil, M. M., Alnoman, M. M., Abd Elrazik, E. S., Zagloul, H. and Aly Khalil, A. M. 2021. Essential oil of *Foeniculum vulgare* Mill. As a green fungicide and defense-inducing agent against *Fusarium* root rot disease in *Vicia faba*. Biology 10: 696.

Mmbaga, M. T. 1997. Pathogenic variability of *Ascochyta rabiei* and Ascochyta blight resistance in chickpea. Proceedings of the Symposium on Application of DNA Fingerprinting for Crop Improvement: ICARDA, Aleppo, Syria. P. 23-37.

Panke, F., Pfefferkorn, A. and Kruger, H. 2004. Evaluation of a summer savory collection *Satureja hortensis* L. with regard to morphology, precocity, yield components and essential oil and charcoal content. Zeitschrift for Arznei und Gewurzpflanzen 9(2): 72-78.

Reddy, M. V. and Singh, K. B. 1984. Evaluation of a world collection of chickpea germ plasm accessions for resistance to Ascochyta blight. Plant Disease 68: 900-901.

Riccioni, L. and Orzali, L. 2011. Activity of tea tree *Melaeuca alternifolia* Cheel and thyme *Thymus vulgaris* L. essential oils against some pathogenic seed borne fungi. Journal of Essential Oil Research 23: 43-47.

Sherazi, A. Z., Jabbe, K., Iqbal, S. and Yousaf, Z. 2016. Management of *Ascochyta rabiei* by *Chenopodiu album* extract. Planta Daninha 34(4): 675-680.

Sutton B. C., 1980. Coelomycetes, Fungi Imperfecti with Pycnidia, Acervuli and Stromata. Kew, Surrey, England: Common wealth Mycological Institute, 696 p.

Thakur, N., Sareen, N., Sharma, B. and Jagota, K. 2013. Studies on in vitro antifungal activity of *Foeniculum vulgare* Mill. against spoilage fungi. Global Journal of Bio-Science and Biotechnology 2(3): 427-430.

Traperocasas, A. and Kaiser, W. J. 1992. Development of *Didymella rabiei*, the telemorph of *Ascochyta rabiei*, on chickpea straw. Phytopathology 82: 1261-1266.

Yilar, M. and Bayar, Y. 2019. Antifungal potential of essential oils of *Salvia officinalis* and *Salia tomentosa* plants on six different isolates of *Ascochyta rabiei* (Pass.) Lab. Fresenius Environmental Bulletin 28: 2170-2175.

The antifungal effect of several essential oils on *Ascochyta rabiei*, the causal agent of chickpea Ascochyta blight in vitro and greenhouse conditions

M. Samari[1], M. Maleki[2]*, D. Shahriari[3] and N. Kheradpir[4]

Received: 16 Oct., 2021 Accepted: 25 Jan., 2022

ABSTRACT

One of the greatest biotic stress reducing potential yield in chickpea is Ascochyta blight caused by *Ascochyta rabiei* Pass. (Labr.) which is distributed worldwide. Due to its severity and to decreasing the environmental biological impact of chemical control, research on natural compounds like plant essential oils would be a helpful step in the disease management. In this study, the antifungal efficacy of essential oil of eight plants including thyme, savory, pennyroyal, mint, tarragon, fennel, cumin and ajwain at 5 concentrations in 3 replications under complete random design was evaluated. Characteristics like mycelial growth inhibition (MGI), inhibitory minimum concentration (IMC) and speed of colony growth after treatment were studied under laboratory condition. Pathogenicity index was studied under greenhouse condition by the selected plants through laboratory tests in comparison with the fungicide Rovral-TS and intact and infected controls. Result showed that at greenhouse, thyme and fennel showed the most inhibitory index in comparison with the rest six plants. Fennel showed the most effective MGI against Ascochyta blight at laboratory. The result of the present study show that thyme and fennel would be great options to be considered in the integrated management programs of chickpea Ascochyta blight.

Keywords: chickpea, plant essential oil, Ascochyta blight, inhibitory

1 and 2. Former MSc student and Assistant Professor, respectively, Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran.

3. Assistant Professor, Department of Plant Protection Research, Department, Agricultural and Natural Resources Research and Education Center of Tehran Province, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Varamin, Iran.

4. Assistant Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran.

Corresponding author: mojdehmaleki@yahoo.com