

بررسی اثرات ضد قارچی اسانس چند گیاه دارویی در بازدارندگی از رشد قارچ‌های عامل بیماری پس از برداشت انگور در استان خراسان شمالی

حجت اله ربانی نسب*

استاد یار مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی خراسان شمالی

سید احمد موسوی

دانش آموخته بیماری شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان

ناهید حیدر زاده

عضو هیات علمی دانشگاه آزاد اسلامی واحد بجنورد

چکیده

در این تحقیق اثر ضد قارچی اسانس ۵ گیاه دارویی برازمیل، (*Peroveskia abrotanoides*) بادرنجبویه (*Melissa officinalis*)، بادرنجبویه پریپر (*Dracocephalum kotschy*)، کاکوتی کوهی (*Ziziphora clinopodioides*) و مرزن جوش (*Origanum vulgare*) روی رشد قارچ‌های عامل بیماری‌های پس از برداشت انگور در استان خراسان شمالی مورد بررسی قرار گرفت. جهت انجام این تحقیق در تابستان و زمستان ۱۳۹۰ از تاکستان‌ها و سردخانه‌های استان خراسان شمالی نمونه‌برداری بر اساس علایم بیماری‌های پس از برداشت انجام شد و پس از کشت در شرایط آزمایشگاهی قارچ‌های گونه‌های جنس‌های *Alternaria* و *Botrytis*، *Rhizopus*، *Aspergillus*، *Penicillium* شناسایی گردیدند. آزمایش به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کامل تصادفی و در سه تکرار انجام شد. اسانس‌ها از تمام قسمت‌های گیاهان خشک شده دارویی تهیه شده و با توئین ۸۰ به نسبت یک به یک رقیق شدند. نتایج مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن نشان داد که همه اسانس‌ها در غلظت‌های ۲۰۰ و ۳۰۰ میکرو لیتر در ۱۰۰ میلی لیتر محیط کشت اثر معنی‌داری در بازدارندگی از رشد همه قارچ‌های فوق داشتند. اسانس مرزنجوش موثرترین اثر بازدارندگی از رشد قارچ‌های پس از برداشت را دارا بود، بطوریکه بیشترین میانگین رشد قارچ در غلظت صفر درصد و کمترین میانگین رشد در

* مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی h.rabbani@areo.ir

غلظت‌های ۲۰۰ و ۳۰۰ میکرو لیتر در ۱۰۰ میلی لیتر محیط کشت از اسانس مرزنجوش مشاهده شد. این در حالیست که کاکوتی کوهی در غلظت‌های فوق کمترین اثر بازدارندگی از رشد قارچ‌های موصوف را داشته است. نتایج بررسی اثر متقابل اسانس‌ها با گونه‌های قارچی نشان داد که بیشترین تاثیر بر قطر پرگنه را اسانس گیاه مرزنجوش روی قارچ‌های *Aspergillus niger*، *Botrytis cinerea*، *Penicillium citrinum*، *Penicillium expansum*، *Penicillium solitum*، *Rhizopus stolonifer* و *Alternaria alternate*؛ و اسانس گیاه بادرنجبویه روی قارچ *Botrytis cinerea* داشت.

کلیدواژه‌ها: بیماری‌های پس از برداشت انگور، گیاهان دارویی، اسانس، اثر ضد قارچی

مقدمه

بیماری های پس از برداشت را اساساً تعداد کمی از آسکومیست ها، قارچ‌های ناقص، معدودی از گونه‌های امیست‌ها^۱، زیگومیست‌ها^۲، بازیدیومیست‌ها^۳ و باکتری‌ها^۴ ایجاد می‌کنند. مهمترین پوسیدگی‌ها ناشی از قارچ‌های *Mucor piriformis* و *Pencillium expansum* است، زیرا این دو قارچ موجب فساد میوه در سردخانه و انبار می‌شوند؛ بعضی از گونه‌های *Aspergillus* نیز ممکن است موجب تولید قارچ زهر^۵ در میوه‌های آلوده شوند. دو قارچ *A.niger* و *Gilberella persicaria* به میوه‌های انبار شده در دمای بالا حمله می‌کنند. نگهداری میوه در انبار به مدت طولانی، شدت این بیماری را افزایش می‌دهد. میوه‌هایی که برای خشک کردن در نظر گرفته شده‌اند در خلال دوره‌ی رسیدگی میوه و یا در حین نگهداری آنها در انبارهای بدون سیستم سرد کننده، مورد حمله‌ی این قارچ‌ها قرار گرفته و آلوده می‌شوند (Agrios, 2005).

روشهای مختلف شیمیایی و غیر شیمیایی برای کنترل بیماری‌های پس از برداشت وجود دارد. گیاهان دارویی دارای ترکیباتی هستند که آنها را در کنترل برخی از قارچها توانمند ساخته است. گیاهان دارویی متعلق به خانواده های نعنائیان و چتریان غنی از ترکیبات ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی هستند (Faleiro et al., 1995; Farzaneh et al., 2006 ; Hadian et al., 2007).

¹ - Oomycetes

² - Zygomycetes

³ - Basidiomycetes

⁴ - Bacterial

⁵ - Mycotoxin

عنصر اصلی اسانس در تعدادی از گیاهان خانواده نعنائیان از جمله کاکوتی، پولگون^۱ است. پولگون دارای خاصیت ضدباکتریایی و ضدقارچی بوده و بویژه روی ایزوله‌های مختلف سالمونلا^۲ موثر است (Amiri, 2009 ; Sajjadi, et al., 2003). استفاده از اسانس‌های گیاهی در کنترل بیماری‌های پس از برداشت میوه به عنوان روشی جدید در چند سال اخیر مطرح شده است (Ranjbar et al., 2008). پژوهش‌های Defrea و همکاران (2002) نشان داد که ترکیبات ضد میکروبی حاصل از گیاهان آویشن و مرزنجوش در غلظت ۳۰۰-۸۵ میلی گرم در لیتر باعث کنترل قارچ *Botrytis cinerea* شده است. Chebli و همکاران (2004) گزارش کردند که اسانس بدست آمده از گل داوودی با غلظت ۱۵۰ میلی گرم در لیتر دارای خاصیت آنتاگونیستی علیه *Botrytis cinerea* بود.

مطالعات مختلفی انجام شده که در آن اثرات ضد میکروبی اسانس‌های آویشن^۳، مرزنجوش^۴، مرزه^۵ و اکالیپتوس^۶ به تنهایی روی میکروارگانیسم‌های مختلف بررسی شده است (Marino et al., 1999). در مطالعات دیگر برای نگهداری میوه‌ها، غوطه‌ور نمودن آنها در پودر میخک و نمک پیشنهاد شده است (Prasad et al., 1929). در گزارش دیگری اثبات شد که ادویه‌ها می‌توانند به عنوان عوامل ضد میکروبی در نگه‌داری مواد غذایی و جلوگیری از رشد میکروارگانیسم‌های عامل فساد موثر باشند (Frazier, 1967). بر اساس منابع و فرضیه‌های موجود هدف از این تحقیق بررسی تأثیر اسانس‌های چند گیاه دارویی مرزنجوش، برازمبل، بادرنجبویه، کاکوتی کوهی و بادرنجبویه پرپر که در استان‌های شمالی کشور می‌رویند، بر کنترل قارچ‌های انباری میوه انگور در شرایط نگه‌داری میوه پس از برداشت در استان خراسان شمالی است تا در صورت حصول نتایج مطلوب، بتوان از آنها به عنوان یکی از جایگزین‌های قارچکش‌های شیمیایی در کاهش ضایعات پس از برداشت میوه انگور استفاده نمود.

¹ - pologon

² - salmonella

³ -Zataria multiflora

⁴ -Origanum majorana

⁵ -Satureja hortensis

⁶ -Eucalyptus globules

مواد و روشها

جداسازی و خالص سازی قارچها:

نمونه های آلوده به صورت تصادفی و براساس علایم بیماری از سردخانه ها و سایر مکان های نگهداری میوه جات در نقاط مختلف سطح استان خراسان شمالی جمع آوری و به آزمایشگاه انتقال یافت. از نقاط آلوده میوه، ریز نمونه هایی تهیه شدند تا پس از ضد عفونی با هیپوکلریت سدیم ۱٪ به مدت ۳ تا ۲ دقیقه و سه بار شستشو با آب مقطر استریل، در داخل تشتک های حاوی محیط کشت سیب زمینی - دکستروز آگار^۱ کشت و به انکوباتور با دمای ۲۵-۲۸ درجه سلسیوس منتقل گردیدند. پس از بررسی نمونه ها و رشد آنها بر اساس شکل پرگنه قارچ و تهیه اسلایدها ی میکروسکوپی با استفاده از کلیدهای موجود قارچ ها شناسایی گردیدند. برای خالص سازی از محیط کشت آب- آگار استفاده شد. برای خالص سازی از روش تک اسپور کردن استفاده شد. جهت تشخیص جنس و گونه های قارچ های خالص سازی شده از کلید شناسایی موجود در سایت www.mycobank.org استفاده شد (Backhaus, 1984; Dabinett *et al.*, 1973; Haubroken *et al.*, 2007; Simons, 2007). برای اثبات بیماریزایی قارچ های مورد آزمایش میوه های کاملاً سالم انگور با هیپوکلریت سدیم ۱٪ به مدت ۳ تا ۲ دقیقه ضد عفونی سطحی شدند. در محیط سترون با کمک سوزن ضد عفونی شده سه شیار عرضی موازی در پوست میوه ها ایجاد و قسمت کوچکی از پرگنه قارچ جدا شده مورد نظریه داخل زخم ها انتقال داده شد. هریک از میوه های آلوده و شاهد در ۱۰ تکرار به صورت انفرادی در داخل کیسه های پلاستیکی وانکوباتور ۲۵-۲۸ درجه سانتیگراد قرار گرفتند. در میوه های آلوده شده از محل ظهور علایم مجدداً نمونه برداری و خالص سازی قارچ انجام شد که نتایج بدست آمده بیانگر صحت تشخیص عوامل بیماریزا در قسمت قبل بودند (Lane *et al.*, 2010).

روش تهیه اسانس:

پس از جمع آوری و تهیه گیاهان کل پیکره رویشی گیاهان دارویی، بادرنجبویه^۲، بادرنجبویه پریپ^۳، برازمیل^۴، کاکوتی کوهی، مرزن جوش در سایه و دمای مناسب خشک شده

¹ - Potato Dextrose Agar

² - *Melissa officinalis*

³ - *Deracocephalum kotschy*

⁴ - *Peroveskia abrotanoides*

سپس توسط آسیاب پودر گردیدند. استخراج اسانسها به روش تقطیر با آب^۱ به مدت ۲ ساعت با دستگاه کلونجر (مدل دارونامه^۲ بریتانیا) انجام شد به این منظور مقدار ۱۰۰ گرم گیاه پودر شده به داخل بالن ژوژه دستگاه اسانس گیری ریخته و ۷۰۰ میلی لیتر آب مقطر اضافه شد، تا به مدت دو ساعت جریان تقطیر انجام شد. پس از اتمام اسانس گیری، اسانس در شیشه رنگی ریخته تا زمان استفاده در یخچال در دمای ۴- نگهداری شد (Salehi *et al.*, 2005 ; Samson *et al.*, 1992).

بررسی فعالیت ضد قارچی در شرایط آزمایشگاه:

هریک از اسانس ها در توین ۸۰ به نسبت یک به یک حل شدند. برای بدست آوردن حداقل غلظت موثر و تعیین حد آستانه حداقل مهار رشد قارچ در یک آزمایش مقدماتی غلظتهای ۲۰، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میکرولیتر در ۱۰۰ میلی لیتر محیط کشت PDA مورد آزمایش قرار گرفت و بر اساس نتایج این آزمایش غلظت های ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰ میکرولیتر اسانس در ۱۰۰ میلی لیتر محیط کشت PDA برای انجام آزمایش انتخاب شد. پس از اضافه کردن اسانس به محیط کشت استریل و ولرم PDA محیط کشت مزبور خوب هم زده شد. پس از مخلوط شدن اسانس مورد نظر و محیط کشت، محتویات ارلنها به تشتکهای استریل انتقال یافتند. با استفاده از یک چوب پنبه سوراخ کن سترون به قطر ۸ میلیمتر، حلقه هایی از کشت ۴ روزه قارچ ها تهیه شد و در وسط تشتک های محتوی محیط کشت قرار گرفت. تشتک ها به مدت ۵ روز در انکوباتور با درجه حرارت ۲۵-۲۸ درجه سانتیگراد و شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی قرار گرفتند. در روزهای متوالی قطر پرگنه های قارچ در دو جهت عمود بر هم اندازه گیری واز میانگینهای حاصله در تفسیر نتایج آزمایش استفاده شد. سپس درصد ممانعت از رشد میسلیم قارچ های مورد نظر در هر یک از غلظت های آزمایشی محاسبه گردید. آزمایش به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کامل تصادفی با ۳ تکرار برای هر تیمار و شاهد که فقط شامل اضافه شدن توین ۸۰ به محیط کشت بود انجام شد. اطلاعات در نرم افزار اکسل ثبت شده و سپس با نرم افزار Mstac مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. مقایسه میانگین ها با آزمون دانکن انجام شد.

^۱ - Hydrodistillation

نتایج و بحث

جداسازی و شناسایی قارچها

نتایج حاصل از شناسایی قارچها نشان داد که ۷ گونه *Penicillium citrinum*، *Rhizopus stolonifer*، *Aspergillus niger*، *solitum*، *Penicillium expansum*، *Alternaria alternata* و *Botrytis cinerea* بیشترین فراوانی را در ایجاد بیماریهای پس از برداشت انگور در استان خراسان شمالی داشته در این تحقیق استفاده شدند.

تجزیه و تحلیل داده ها:

تجزیه واریانس داده ها نشان داد که بین اسانسهای گیاهان دارویی مختلف و غلظتهای مختلف در بازدارندگی از رشد قارچ در سطح احتمال یک درصد اختلاف معنی دار وجود دارد (جدول ۱).

همچنین مقایسه میانگین ها نشان داد که توانایی بازدارندگی اسانس گیاهان دارویی مختلف از رشد پرگنه قارچهای مورد آزمایش نسبت به هم متفاوت بوده است (جدول ۲).
براین اساس غلظت های صفر (شاهد) با میانگین ۶/۱۱ سانتی متر قطر پرگنه کمترین بازدارندگی را به خود اختصاص داده است. این در حالی است غلظت ۳۰۰ با میانگین ۶۳٪ بازدارندگی از رشد بیشترین تاثیر را در بین غلظت های مورد آزمایش به خود اختصاص داد و می توان بعنوان بهترین غلظت در نظر گرفت (عکس ۱). در بین تمام گیاهان دارویی آزمایش شده مرزنجوش با میانگین ۷۷ درصد بازدارندگی از رشد بیشترین اثر کنترل کنندگی را داشته بطوریکه میانگین قطر پرگنه تیمار شده با اسانس این گیاه ۱/۳۶ بود. همچنین مرزنجوش در غلظت ۳۰۰ میکرولیتر در ۱۰۰ میلی لیتر محیط کشت با ۸۵ درصد بازدارندگی از رشد پرگنه قارچ بهترین عملکرد را در بین همه تیمارها داشته است (عکس ۲). نتایج نشان داد که بین اسانسهای مختلف اختلاف معنی داری وجود داشت و پس از گیاه مرزنجوش به ترتیب اسانس های گیاهان بادرنجبویه، بادرنجبویه پرپر و برازمیل با ۵۶، ۵۳ و ۴۶ درصد کنترل کنندگی نسبت به شاهد در رتبه های بعدی قرار گرفتند. از طرف دیگر اسانس کاکوتی کوهی با میانگین ۴۰ درصد کنترل کنندگی کمترین توانایی را در کنترل قارچهای آزمایش شده در این تحقیق داشته و رشد پرگنه قارچ در حضور غلظت ۳۰۰ میکرولیتری اسانس به ۳/۶۷ رسیده است (عکس ۳). بر اساس جدول ۲ بین اسانسهایی که قطر پرگنه متناظر با آنها حرف یکسانی را به خود اختصاص داده اند در سطح یک درصد اختلاف معنی داری مشاهده نشد.

همچنین نتایج نشان می دهد که غلظت ۳۰۰ میکرولیتر اسانس در ۱۰۰ میلی لیتر محیط کشت با ۶۳ درصد بازدارندگی از رشد قارچها بهترین اثربخشی را داشته اند و غلظت های ۲۰۰ و ۱۰۰ با ۴۷ و ۴۳ درصد به ترتیب در جایگاههای بعدی قرار گرفتند.

اثر متقابل قارچ واسانسها بر قطر پرگنه:

نتایج تجزیه واریانس اثر متقابل اسانس گیاهان دارویی بر رشد پرگنه قارچهای مختلف نشان داد که اختلاف معنی داری بین اثرات تیمارهای گیاهی و همچنین اثرپذیری قارچهای مختلف وجود داشت (جدول ۳). مرزنجوش بیشترین تاثیر را روی قارچهای *A. Alternata* و *R. stolonifer* داشته و میانگین قطر پرگنه قارچ پس از ۵ روز در هر سه غلظت آزمایشی ۰/۹ سانتیمتر بوده است. به عبارت دیگر موثرترین کنترل کنندگی را در بین همه گیاهان دارویی آزمایشی اسانس مرزنجوش نسبت به دو قارچ *A. Alternata* و *R. stolonifer* داشتند. کمترین اثر کنترل کنندگی نیز مربوط به اثر اسانس برازمیل روی قارچ *R. stolonifer* است. در مجموع نتایج نشان می دهد که قارچ *A. Alternata* یک قارچ حساس به اکثر گیاهان دارویی است. از طرف دیگر اسانس کاکوتی کوهی کمترین اثر کنترل کنندگی را نسبت به همه قارچها داشته است. نتایج مقایسه میانگین اثرات متقابل اسانس و گونه های قارچی بر قطر پرگنه دارای اثرات متفاوتی است. بطوریکه بیشترین تاثیر بر قطر پرگنه را اسانس گیاه مرزن جوش روی قارچ های *Aspergillus niger*، *Botrytis cinerea*، *Rhizopus stolonifer*، *Penicillium expansum*، *Penicillium citrinum* و *Alternaria alternata*؛ و اسانس گیاه بادرنجبویه روی قارچ *Botrytis cinerea* داشته که همگی این قارچها در غلظت های $200 \mu\text{l}$ در ۱۰۰ میلی لیتر محیط کشت با میانگین قطر پرگنه دو و کمتر از دو سانتیمتر داشته و همچنین اسانس گیاه بادرنجبویه پرپر روی قارچ های *Rhizopus stolonifer* و *Penicillium citrinum*؛ و اسانس گیاه بادرنجبویه روی قارچ های *Aspergillus niger*، *Botrytis cinerea*، *Penicillium expansum*، *Penicillium citrinum* و *Alternaria alternata* همگی در غلظت های $300 \mu\text{l}$ در ۱۰۰ میلی لیتر محیط کشت بیشترین تاثیر را در کنترل قارچها داشته اند.

پژوهش های Defera و همکاران (2002) نشان داد که ترکیبات ضد میکروبی حاصل از گیاه آویشن و مرزن جوش در غلظت ۳۰۰-۸۵ میلی گرم در لیتر باعث کنترل قارچ *Botrytis cinerea* شد. در این تحقیقات روی اثر بازدارندگی اسانسها و ترکیبات

مختلف از جمله مرزنجوش، آویشن و دیکتاموس و کارواکرول، تیمول و آلفاترپینول روی کپک پنی سیلیوم دیجیتاتوم^۱ مشخص شد که تمام این اسانس ها در غلظت ۲۵۰ پی پی ام (ppm) تولید اسپور را به شدت کاهش داده است. این نتایج با یافته‌های این تحقیق مبنی بر توانایی بازدارندگی اسانس گیاه مرزنجوش از قارچ پنسیلیوم همخوانی دارد. محققین دیگری ترکیبات شیمیایی روغن فرار دو گیاه آویشن شیرازی و مرزنجوش را شناسایی کردند. نتایج بیانگر آن است که ۸۵/۳۳ درصد ترکیبات روغن فرار گیاه آویشن شیرازی و ۶۰/۳ درصد روغن فرار مرزنجوش را ترپنوئیدهای اکسیژنه تشکیل داده است (Khanvy et al., 2009).

تیمول^۲ و کارواکرول^۳ از اجزای اصلی اسانس های خانواده نعناعیان هستند. این دو ترکیب از نظر شیمیایی بسیار به هم شبیه‌اند و فقط جایگاه گروه هیدروکسیل در آنها متفاوت است. تیمول و کارواکرول از اجزای ضد میکروبی بسیار مؤثر در اسانس ها هستند (Davis et al., 1998). کمترین غلظت بازدارندگی ماده کارواکرول بر قارچ *Penicillium expansum* برابر ۲۴/۶ میکرولیتر در ۲۰ میلی لیتر بوده که در این غلظت کارواکرول خاصیت قارچ ایستایی داشته است و نه قارچ‌کشی (Nery et al., 2006). در تحقیق حاضر بعد از اسانس مرزن جوش اسانس‌های بادرنجبویه، بادرنجبویه پرپر و برازمبل به ترتیب بیشترین تاثیر بر قارچ‌های *Aspergillus niger*، *Rhizopus stolonifer*، *Botrytis cinerea* و *Alternaria alternata* را داشته که اسانس بادرنجبویه توانسته در غلظت ۳۰۰ μl محیط کشت جامد باعث بازدارندگی از رشد قارچ‌های *Alternaria alternata*، *Botrytis cinerea*، *Penicillium expansum* و *Penicillium citrinum* و تاثیر آن بر روی قارچ‌های *Penicillium solitum*، *Aspergillus niger* و *Rhizopus stolonifer* به مراتب کمتر است. از آنجا که قارچ *R. stolonifer* یکی از مهمترین قارچ‌های پس از برداشت است، بر اساس نتایج بدست آمده بجز مرزنجوش سایر گیاهان دارویی توفیق چندانی در کنترل این قارچ نداشتند. هرچند تحقیقات Behdad و همکاران (2011) نشان داد که برای کنترل قارچ فوق عامل بیماری پوسیدگی نرم توت فرنگی اسانس گساهان دارویی مرزه و زنیان به ترتیب در غلظت های ۳۰۰ و ۵۰۰ پی پی ام قارچ را

^۱ - *Penicillium digitatum*

^۲ - *Tymol*

^۳ - *caroacral*

بطور کامل مهار نمودند (Behdad *et al.*, 2011). در آزمایش دیگری اثر ضد قارچی اسانس بذرهای باریجه^۱ مربوط به شهرهای کاشان، ایلام و سمنان بر روی دو قارچ بیماری زای گیاهی *Botrytis cinerea* و *Rhizopus stolonifer* بررسی شد. نتایج آزمون چند دامنه‌ای دانکن نشان داد که میانگین رشد قارچ *B. cinerea* در هر سه نمونه اسانس با افزایش غلظت اسانس کاهش می‌یابد، به طوری که کمترین و بیشترین میزان رشد این قارچ به ترتیب در غلظتهای ۱۲۰۰ و صفر میکرولیتر بر لیتر اسانس مشاهده گردید. در مقابل، تأثیر غلظت‌های مختلف اسانس بر روی قارچ *R. stolonifer* نشان داد که در هر سه نمونه اسانس با افزایش غلظت، تقریباً میزان رشد قارچ افزایش یافته است و در حقیقت افزایش غلظت، تأثیر تشدید کننده بر رشد قارچ را داشته است. نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که افزایش غلظت اسانس می‌تواند تأثیر متفاوتی بر روی قارچ‌های گیاهی داشته باشد و اینگونه نیست که با افزایش غلظت اثر بخشی بیشتری مشاهده شود (Jahansooz *et al.*, 2008). گروهی از محققین در تحقیق دیگری در خصوص اثرات ضد قارچی گیاهان دارویی تاثیر ضد قارچی ۱۶ گروه اسانس گیاهی و سه گروه ترکیبات ضد قارچی را بر روی ۷ گروه قارچی *A.ochraceus*، *A.parasiticus*، *A.flavus*، *P.citrinum*، *P.patulum*، *P.roqueforti* و *Penicillium sp M 46* تولید کننده توکسین مورد بررسی قرار دادند. از میان ترکیبات مورد آزمایش، کاربرد اسانس های میخک، دارچین، خردل، فلفل فرنگی، سیرو پونه کوهی ممانعت کامل رشدی قارچ‌ها را بمدت ۲۱ روز به همراه داشت، ترکیبی از سطوح مختلف رسوبات پتاسیم و اسانس میخک، دارای اثر تشدید کننده در جلوگیری از رشد قارچ‌های مورد آزمایش داشتند (Bullerman *et al.*, 1982). تیمول در غلظت ۲۴/۵ میکرولیتر در ۲۰ میلی لیتر به میزان ۱۰۰٪ باعث جلوگیری از رشد قارچ *P.expansum* شده است (Neri *et al.*, 2006). در ترکیه اثر اسانس گیاه مرزه روی قارچ‌های *Botrytis cinerea* و *Alternaria mali* بررسی و نشان داده شده که غلظت‌های ۱، ۳ و ۵ میکرو لیتر آن پس از هفت روز به ترتیب سبب ممانعت از رشد ۵۰، ۷۵ و ۷۸ درصد قارچ *A.mali* و ۷۵، ۸۷ و ۸۷ درصد قارچ *B.cinerea* شده است (Boyras, 2006). آنها همچنین نشان دادند که غلظت ۵ میکرولیتر در ۶۰ میلی لیتر از اسانس مرزه به میزان ۷۸٪ باعث کنترل *Botrytis cinerea* و *Alternaria mali* شده

^۱ - *Ferula gummosa* Boiss

است. در این تحقیق *A.alternata* حساسترین قارچ به اسانس‌های گیاهان دارویی شناخته شد. مجموعه تحقیقات موجود و پژوهش حاضر نشان می‌دهد که استفاده از اسانس یا عصاره گیاهان دارویی به عنوان یک پتانسیل برای کنترل قارچ‌های بیماری‌های گیاهی بسیار مورد توجه است و کارایی آن به اثبات رسیده است. با توجه به مکانیسم استفاده از این اسانس‌ها کنترل بیماری‌های پس از برداشت می‌تواند یک حوزه مناسب برای این فعالیت باشد. به نظر می‌رسد اولویت بعدی که باید در دستور کار محققین قرار گیرد ضمن شناسایی مواد موثره این اسانس‌ها دستیابی به یک فرمولاسیون مناسب برای کاربرد فراگیر آن باشد.

سپاسگزاری:

این پژوهش با حمایت مالی دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان انجام شده است و بدین وسیله مراتب سپاسگزاری نویسندگان را اعلام می‌دارد. از جناب آقای مهندس اکبرزاده عضو هیات علمی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی مازندران نیز به خاطر تامین برخی از نمونه های گیاهی تشکر می‌شود.

منابع

- Agrios, G. N., (2005). Plant Pathology. 5th edition. Elsevier Academic Press, USA.
- Amiri, H., (2009). Composition and antioxidant activity of the essential oil and methanolic extract of *Ziziphora clinopodioides Lam* in preflowering stage. Journal of Kerman University of Medical Sci.16 (1), pp. 79-86. (in Persian with English abstract).
- Backhaus, D., (1984). Taxonomy and Morphogenesis of *Borytis* species, pp. 308.
- Behdad, M., Etemadi, N., and Zeinali, H., (2011). Investigation of antifungal activity of essential oils of some medicinal plants in controlling soft rot fungus, *Rhizopus stolonife* on strawberry fruits. Quarterly of Research of Medicinal and Aromatic Plants of Iran. Volume 29, Issue 2, 399 to 411. (in Persian with English abstract).
- Boyras, N., and Ozcan, M., (2006). Inhibition of phytopathogenic fungi by essential oil, hydrosol, ground material and extract of summer savory (*Satureja hortensis* L.) growing wild in Turkey. International Journal of Food Microbiology. Volume 107, Issue 3.

- Bullerman, L. B., Lieu, Y., and Seier, S. A., (1982). Inhibition of growth and aflatoxin production by cinnamon and clove oils, cinnamaldehyde and eugenol. *Journal of Food Sci.* 42 (4), pp. 1107-1116.
- Chebli, B., Hmamouchi, M., Achouri, M., and Idrissi- Hassani, L. M., (2004). Composition and invitro fungitoxic activity of 19 essential oils against two postharvest pathogens. *Journal of Essential Oils Res.* 16, pp. 507-511.
- Dabinett, P. E., and Welman, A. M., (1973). Numerical Taxonomy of the genus *Rhizopus*. Vol. 51, No.11, pp. 2053-2064.
- Defera, D. J., Zigas, B. N., and Polission, M. G., (2002). The effectiveness of plant essential oils on the growth of *Botrytis cinerea*, *Fusarium spp.* and *Clavibacter michiganensis* subsp. *Michiganensis*. *Crop Protection* 22, pp. 39-44.
- Faleiro, L., G. M., Miguel, C. A. C., Guerrero, J. M., and Brito, C., (1997). Antimicrobial activity of essential oils of *Rosmarinus officinalis* L., *Thymus mastichina* (L) L. *SSP mastichina* and *Thymus albicans* Pages, pp. 45-48 in Proc. 2nd WOCMAP Congr. Med. Aromatic Plants. Part 2: Pharmacognosy, Pharmacology, Phytomedicine, Toxicology, Mendoza, Argentina.
- Farzaneh, M., Ahmadzadeh, M., Hadian, J., and Sharifi- Tehrani, A., (2006). Chemical composition and antifungal activity of the essential oils of three species of artemisia on some soil- borne phytopathogens. *Comm Appl. Biol. Sci.*, Ghent University, 71/3b, pp. 1327-1333. (in Persian with English abstract).
- Frazier, W. C., (1967). *Food Microbiology*, McGraw Hill book Company. New York, pp. 537.
- Hadian, J., Farzaneh, M., Ghorbani, M., and Mirjalili, M. H., (2007). Chemical composition and antifungal activity of the essential oil of *Artemisia khorasanica* on soil- born phytopathogens. *J. Esse.Oil Res.* 10 (1), pp. 53-58. (in Persian with English abstract).
- Haubroken, J., Due, J., Meiger, M., Frisvad, J. C., and Samson, A. R., (2007). Studies in mycology. Polyphasic taxonomy of *Aspergillus* section ust. Vol. 59, pp. 107-128.
- Jahansooz, P., Ebrahimzadeh, H., Najafi, A., Taghavi, M., And Farzaneh, H., (2008). Investigation of the positive and negative effects of different samples of Galbanum essential oil on two fungal plant pathogens. *Quarterly of Research of Medicinal and Aromatic Plants of Iran.* Volume 29, Issue 1, 10 to 17. (in Persian with English abstract).
- Khanvy, M., Norouzi, M., Tabatabae, H., Salehi Novdeh, A., Barzegar safavi S., and Shafiee, A., (2009). Identification of volatile oil components of *Zataria multiflora* and *Origanum majorana* and antiviral effects of them. *Quarterly of medicinal plants*, pp. 128-137. (in Persian with English abstract).

- Lane, W., Spotts, R. A., Visagie, C. M., Jacobs, K., Smit, F. J., and McLeod, A., (2010). *Penicillium* Species Associated with Preharvest Wet Core Rot in South Africa and Their Pathogenicity. *Plant dis.*, Vol. 94, No. 6, pp. 666-975.
- Marino, M., and Spiewak, R., (1999). Antimicrobial activity of essential oil of *Thymus vulgaris* J. *Food Prot*; 62, pp. 1017 – 23.
- Neri, F., Mari, M., Menniti, A. M., Brigati, S., and Bertolini, P., (2006). Control of *Penicillium expansum* in pears and apples by Trans- 2- hexanal vapours. *Postharvest Biology and tech.* 41, pp.101- 108.
- Prasad, H., and N. Joshi., (1929). The preservative Value of spices used in pickling raw fruits in india *Agric. J. Ind.* 24, pp. 98-102.
- Ranjbar, H., Hadian, J., Mirjalili, M., and Sharifi, R., (2008). Fungitoxic effect of some plant extracts on post- harvest diseases of strawberry fruits. *Pazhohesh- va- Sazandegi* 81, pp. 46-60. 504.
- Sajadi, S., E., Ghasemi Dehkordi, N., Baloochi, M., (2003). Volatile Constituents of *Ziziphora clinopodioides* Lam. *Journal of Pajoohesh va Sazandegi.* 8, pp. 1-9. (in Persian with English abstract).
- Salehi, P., Sonboli, A., Eftekhari, F., Nejad- Ebrahimi, S., Yousefzadi, M., (2005). Essential oil composition, antibacterial and antioxidant activity of the oil and various extracts of *Ziziphora clinopodioides* subsp. *rigida* (BOISS). *RECH. F. from Iran. Biol. Pharm. Bull.* 28, pp. 1892-1896.
- Samson, R. A., and Gams, W., (1984). The taxonomy situation in hyphomycetes genera *Penicillium*, *Aspergillus* and *Fusarium*. *Antonie van Leeuwenhoek.* No. 50, pp. 815-824.
- Simons, E. G., (2007). *Alternaria: an Identification manual*, pp. 775.

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس اسانس های مختلف گیاهان در غاظت های مختلف بر رشد پرگنه قارچ ها

Table 1: Variance Analysis Results of the essential oils of various plants on growth of fungal colonies

growth of fungal colonies	d.f	S.O.V
576.49**	3	concentration (A)
65.93**	4	essential (B)
3.42**	12	A × B
5.163**	6	fungal (C)
2.31**	18	B × C
2.32**	24	A × C
0.541**	72	A × B × C
0.082**	280	Error
10.31		C. V (%)

* و ** به ترتیب معنی داری در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد ns عدم معنی داری می باشد.

ns, * and ** are non-significant and significant at 0.05 and 0.01 of probability level respectively.

جدول ۲- میانگین قطر کلنی قارچها در غلظت های ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میکرولیتر اسانس در ۱۰۰ میلی لیتر محیط کشت PDA

Table 2: Average of diameter of fungal colonies at concentrations of 100, 200 and 300 ml oil per 100 ml PDA medium

growth of fungal colonies (cm) after 5 days							
Average impact 3 percent concentration	<i>Zizophora clinopodioides</i>	<i>Peroveskia abrotanoides</i>	<i>Deracocephalum kotschyi</i>	<i>Melissa officinalis</i>	<i>Origanum majorana</i>	control	concentration
43	4.9e	4.6e	4.15de	4.15de	1.8ab	6.31	100
47	3.4d	3c	2.93bc	0.6b	1.4ab	6.12	200
63	2.7b	1.3ab	1.6ab	1.4ab	0.9a	6.11	300
51	3.67e	3.33d	2.89c	2.67b	1.36a	6.11	میانگین
	40	46	53	56	77	.	Percent inhibition compared to control

جدول ۳- میانگین قطر پرگنه ۷ قارچ آزمایشی در تقابل با غلظت های مختلف ۵ اسانس گیاهان دارویی
 Table 3: Average diameter of fungal colonies against 5 different concentrations of essential oils from medicinal plants

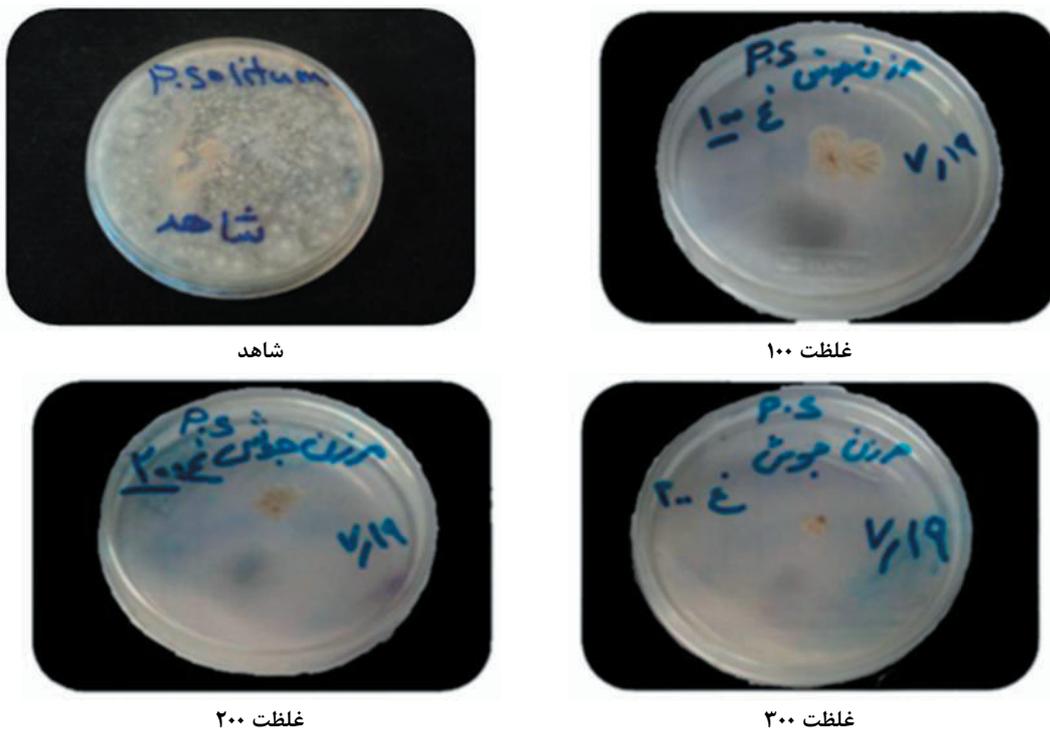
Average of diameter of fungal colonies (cm)							
<i>Alternaria alternata</i>	<i>P.citrinum</i>	<i>P.expansum</i>	<i>Penicillium solitum</i>	<i>Rizopus stolomifer</i>	<i>Botrytis cinerea</i>	<i>Aspergillus nigra</i>	
0.9a	1.4bc	1.4bc	1.5c	0.9a	1.3e	1.3e	<i>Origanum vulgar</i>
2.7e-g	3.3jk	3.3jk	3.4k	4.56m	3f-i	3.1h-j	<i>Peroveskia abrotanoides</i>
1.7 d	2.4 e	2.25 Ef	3.2 h-k	3.25Kj	2 d	3h-j	<i>Melissa officinalis</i>
2.8 e-h	2.1 d	2.82 e-h	2.8 e-h	3 g-j	3.25 k	2.8 e-h	<i>Deraccocephalum kotschy</i>
2.75 e-g	3.25 i-k	3.25 i-k	3.8 l	3.8 l	4.36 m	4.41 m	<i>Zizophora clinopodioides</i>



عکس ۱- اثر اسانس بادرنجبویه پرپر در کنترل *A.altrnata* در غلظت ۳۰۰ میکرولیتر در ۱۰۰ میلی لیتر محیط

کشت PDA

Photo 1: The effect of *Melissa officinalis* essential oil on control of *A.altrnata* at concentrations of 300 ml in 100 ml of PDA medium.



عکس ۲- تاثیر اسانس مرزن جوش در رشد قطری *Penicillium solitum* در غلظت های مختلف

Photo 2: The effect of of *Origanum majorana* essential oil on growth of *Penicillium solitum* in different concentrations.



عکس ۳- تاثیر اسانس کاکوتی کوهی در رشد قطری *Rhizopus stolonifer* در غلظت های مختلف

Photo 3: The effect of of *Ziziphora tenuior* essential oil on growth of *Rhizopus stolonifer* in different concentrations.