فصلنامه گیاه‌پزشکی
(دانشگاه آزاد اسلامی شیراز)
۱۳۹۷- ۹(۱): ۴۵-۵۸

مهار دو گونه قارچ فوزاریوم توسط اسانس گیاهان دارویی

هادی سالک معراجی[۱*]، میثم محمدی[۲]، کاظم سالک سیفی[۳]، سعید حزبئی پور[۴]، محسن مرادی[۵]

۱- گروه زراعت، فیزیولوژی گیاهان زراعی، دانشگاه زنجان
۲- گروه علوم باغبانی، فیزیولوژی و اصلاح گیاهان زینتی، دانشگاه زنجان
۳- گروه علوم باغبانی، گیاهان دارویی، دانشگاه زنجان
۴- گروه زراعت، زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه زنجان
۵- گروه علوم باغبانی، فیزیولوژی پس از برداشت، دانشگاه زنجان

چکیده

استفاده از ترکیبات موثره گیاهان دارویی در مهار بیماری‌های گیاهی، سبب کاهش اثرات نامطلوب سموم شیمیایی می‌گردد. به منظور بررسی اثر اثر اسانس گیاهان دارویی بر مهار دو قارچ بیماری‌زای گیاهی آزمایشی به صورت فاکتوریل سه‌عاملی در قالب طرح کاملا تصادفی با چهار تکرار در شرایط آزمایشگاهی اجرا گردید. تیمارهای آزمایش شامل اسانس چهار گیاه دارویی (اسطوخودوس، رزماری، دارچین و اوکالیپتوس) در پنج غلظت (صفر، ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۱۵۰۰ و ۲۰۰۰ میکرولیتر در لیتر) بر مهار قارچ *Fusarium oxysporum* و *Fusarium solani* بود. با افزایش غلظت اسانس، رشد میسیلیوم قارچ کاهش یافت. اسانس دارچین در همه غلظت‌ها توانست به طور کامل(۱۰۰٪) از رشد قارچ *F. solani* جلوگیری نماید ولی رشد قارچ *F. oxysporum* را فقط در غلظت‌های ۱۵۰۰ و ۲۰۰۰ میکرولیتر بر لیتر به طور کامل مهار نمود. کمترین و بیشترین درصد بازدارندگی اسانس اسطوخودوس (۸۸/۵ و ۱۰۰ ٪) به ترتیب در قارچ *F. oxysporum* و *F. solani* مشاهده گردید. بالاترین درصد مهار قارچ *F. solani* و *F. oxysporum* توسط اسانس رزماری به ترتیب ۱۰۰ و ۴۶/۶ درصد بود. اسانس اوکالیپتوس کمترین تأثیر را در مهار قارچ‌ها از خود نشان داد. غلظت ۲۰۰۰ میکرولیتر در لیتر اسانس اوکالیپتوس با ۱۸ و ۴۹ درصد به ترتیب از رشد قارچ *F. solani* و *F. oxysporum* جلوگیری کرد. به طور میانگین، بیشترین و کمترین درصد بازدارندگی از رشد قارچ *F. solani* به ترتیب در اسانس دارچین و اوکالیپتوس و در قارچ *F. oxysporum* به ترتیب در اسانس دارچین و رزماری مشاهده گردید. سینامالدئید موجود در اسانس دارچین بازدارنده بسیار قوی بوده و می‌توان در مهار قارچ‌های بیماری‌زای گیاهی از آن بهره‌مند شد.

واژه‌های کلیدی: *Fusarium oxysporum*، *Fusarium solani* ، اسانس، گیاهان دارویی، مهار

---

*مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: h.salek228@gmail.com
تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۱/۲۲ ، تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۸/۲۲

مقدمه

استفاده بی رویه از سموم و ترکیبات شیمیایی، اثرات نامطلوبی را بر محیط‌زیست و محصولات کشاورزی گذاشته که همین عامل، ضرورت استفاده از روش‌های غیرشیمیایی و ترکیبات سازگار با طبیعت را افزایش داده است (Alpsoy, 2010). یکی از سیستم‌هایی که در آن از ترکیبات شیمیایی به وفور استفاده می‌گردد صنعت کشاورزی است. استفاده از سموم شیمیایی در مهار آفات و بیماری‌های گیاهی بخش اعظمی از مشکلات زیست محیطی را موجب شده است (Carvalho, 2006). پژوهش‌گران سال‌ها در پی کشف ترکیباتی بودند که کمترین آثار سوء را بر محیط زیست داشته باشد (Proksch *et al.*, 2003). در همین راستا، تحقیقات گسترده‌ای را انجام و دریافتند که استفاده از متابولیت‌های ثانویه گیاهان دارویی در مهار عوامل بیماری‌زای گیاهی نقش موثری دارد (Hashem *et al.*, 2010). ترکیبات موجود در اسانس‌ها و عصاره گیاهان دارویی منبع عظیمی از ترکیبات سازگار با محیط زیست محسوب می‌شوند (Tripathi *et al.*, 2008). بیماری‌های گیاهی از جمله عواملی هستند که به طور گسترده توسط سموم شیمیایی مهار می‌گردند ولی این ترکیبات معمولا در طبیعت به کندی تجزیه شده و اثرات نامطلوبی روی موجودات زنده و محیط زیست می‌گذارد (Osée Muyima *et al.*, 2004). قارچ‌های بیماری‌زا عامل کاهش۲۰ درصدی عملکرد محصولات کشاورزی بوده که سبب اختلال در رشد و نمو گیاهان و حتی دوره انبارداری می‌شوند (Agrios, 2004).

قارچ‌های جنس فوزاریوم از شایع‌ترین پاتوژن‌های گیاهی بوده که بیماری‌های بسیاری را در گیاهان زراعی و باغی ایجاد می‌کنند (Langner *et al.*, 2009). پژمردگی فوزاریومی از مهمترین بیماری‌های قارچی بوده که توسط گونه‌های مختلف فوزاریوم در گیاهان مختلف ایجاد خسارت می‌کند. گونه‌های این قارچ می‌توانند روی ترکیبات آلی موجود در خاک کلونی تشکیل داده و در صورت نبود گیاه میزبان حساس، بصورت کلامیدوسپور و اسکلروت در خاک زنده بمانند. کلامیدسپور غیر فعال شده و در صورت وجود دمای مناسب، زمانی که ترشحاتی از ریشه گیاه میزبان حساس دریافت نماید شروع به جوانه‌زنی می‌کند (Stewart *et al.*, 2006). یکی از این گونه‌ها که به گیاهان خانواده سیب زمینی خسارت زیادی وارد می‌کند قارچ *F. solani* می‌باشد (Ingle *et al.*, 2007). قارچ *F. oxysporum* نیز در گیاهان مختلفی سبب ایجاد پژمردگی آوندی می‌شود. پوسیدگی ریشه و طوقه نیز از دیگر خسارت‌های این قارچ‌ها به محصولات کشاورزی می‌باشد (Langner *et al.*, 2009).

امروزه کاربرد ترکیبات شیمیایی به عنوان ارزان‌ترین و متداول‌ترین روش مهار بیماری‌های گیاهی مورد توجه است. اما این مواد معمولا در طبیعت به کندی تجزیه می‌شوند و به همین دلیل سبب ایجاد اثرهای نامطلوبی روی موجودات زنده می‌شوند (Osée Muyima *et al.*, 2004). استفاده از روش‌های شیمیایی در مهار بیماری‌های گیاهی علاوه بر تخریب محیط-

زیست، منجر به مقاومت نسبی بعضی از گونه‌های فوزاریوم به سموم شده و مهار آنها را با مشکل مواجه کرده است (Rebib *et al.*, 2012). بسیاری از اسانس‌های گیاهی دارای اثرات بازدارندگی قابل توجهی بر میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا هستند (Marino *et al.*, 2001) که می‌تواند به عنوان یک رویکرد جدید در مدیریت بیماری‌های گیاهی و تهیه فرمولاسیون سموم با منشأ گیاهی در نظر گرفته شود (Isman *et al.*, 2007). در این راستا پژوهش‌گران زیادی به مطالعه اثرات ضد باکتریایی، ضد قارچی و حشره‌کشی اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی پرداخته‌اند (Osée Muyima *et al.*, 2004; Alam *et al.*, 2007; Chuang *et al.*, 2007; Batish *et al.*, 2008).

اسطوخودوس گیاهی است از خانواده نعناعیان[1] که در بیشتر نقاط دنیا به حالت خودرو می‌روید (Samsam Shariat, 2007). اسانس اسطوخودوس از تقطیر گل و سرشاخه‌های گلدار گیاه بدست می‌آید که حاوی از ترکیبات مختلفی مانند لینالیل استات، اسید بوتیریک، اسید پروپیونیک و اسید والریک، لینالول و ژرامبول می‌باشد(Upson, 2004). بیشترین ترکیب موجود در گیاه اسطوخودوس لینالول بوده و خواص ضد میکروبی آن را عمدتاً به لینالول نسبت می‌دهند (Cavanagh *et al.*, 2002).

رزماری گیاهی علفی با ساقه چوبی بوده و دارای برگ‌های دائمی و معطر با گل‌های کوچک آبی روشن می‌باشد (Samsam Shariat, 2007). رزماری دارای ۱ تا ۱/۵ درصد اسانس بوده که اسانس آن حاوی بورنئول، لیمونن، کامفن، ۱و ۸ سینئول، کامفور و آلفا- پینن است (Lee *et al.*, 2004). اسانس رزماری دارای خاصیت ضد میکروبی می‌باشد. همچنین خواص آنتی اکسیدانی، ضد اسپاسم، کاهش استرس، تسکین درد و اثر ضد سرطانی آن در پژوهش‌های متعددی به اثبات رسیده است (Hamedo *et al.*, 2009; Moghtader, 2009).

اوکالیپتوس گیاهی است متعلق به خانواده مورد[2] بوده که از اسانس برگ‌های این گیاه برای درمان بیماری‌های ریوی استفاده می‌شود (Adeniyi *et al.*, 2006). اسانس اوکالیپتوس حاوی ماده اوکالیپتول بوده و خواص دارویی این گیاه به علت وجود همین ماده می‌باشد. عصاره و اسانس برگ این گیاه دارای خواص ضد سرطانی، ضد التهابی، ضد درد، آنتی اکسیدانی، ضد ازدیاد قند خون، ضد مالاریا، ضد قارچی و ضد ویروسی است (Siddiqui *et al.*, 2004).

دارچین درختی است همیشه سبز به ارتفاع ۱۵-۱۰ متر از خانواده برگ بو[3] دارای ۵/. تا ۱ درصد اسانس می‌باشد. ترکیبات اصلی اسانس دارچین سینامیک اسید، سینامالدئید و سینامات است. از دیگر ترکیب‌های موجود در آن می‌توان به ال بورنیل، کاریوفیلن، الفا توجن اشاره نمود. دارچین دارای خواص آنتی اکسیدانی، ضد میکروبی، ضد دیابت، ضد التهابی و ضد درد می

[1] Lamiaceae
[2] Myrtaceae
[3] Lauraceae

باشد (Matan *et al.*, 2006). پژوهش‌گران متعددی اثرات اسانس گیاهان دارویی را بر مهار قارچ *F. solani* و *F. oxysporum* مورد مطالعه قرار داده‌اند. (Basem *et al.* (2007 گزارش کردند که عصاره بومادران بر قارچ *F. oxysporum* اثر بازدارندگی داشته و با افزایش غلظت اسانس، درصد بازدارندگی افزایش می‌یابد. اسانس بادرنجبویه (Tavalaei *et al.*, 2012)، مرزه و اوکالیپتوس(Kohanmoo & Jamali, 2013) بر مهار قارچ *F. oxysporum* نیز گزارش گردیده است. عصاره آبی، الکلی و فنلی دانه سورگوم بر قارچ *F. solani* و *F. poae* گزارش گردید که اثر ضد قارچی علاوه بر غلظت به نوع گونه قارچ نیز بستگی دارد (Ataei Azimi *et al.*, 2007). گزارش گردیده که عصاره میخک بیشترین و عصاره زنجبیل کمترین درصد بازدارندگی را بر قارچ *F. solani* داشت (Dwivedi *et al.*, 2012). خاصیت ضد قارچی اسانس و عصاره گیاهان علاوه بر گونه گیاهی، به نوع قارچ عامل بیماری‌زا نیز بستگی دارد (Jalander *et al.*, 2012). این آزمایش به منظور بررسی اثرات چهار اسانس گیاه دارویی (اسطوخودوس، رزماری، دارچین و اوکالیپتوس) در پنج غلظت (صفر، ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۱۵۰۰ و ۲۰۰۰ میکرولیتر در لیتر) بر مهار قارچ *F. oxysporum* و *F. solani* تحت شرایط آزمایشگاهی، طراحی و اجرا گردید.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی اثر ضد قارچی چهار گیاه دارویی(اسطوخودوس، رزماری، دارچین و اوکالیپتوس) در پنج غلظت (صفر، ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۱۵۰۰ و ۲۰۰۰ میکرولیتر در لیتر) بر مهار قارچ *F. oxysporum* و *F. solani* آزمایشی به صورت فاکتوریل سه‌عاملی در قالب طرح کاملا تصادفی با چهار تکرار در شرایط آزمایشگاهی اجرا گردید. ابتدا از برگ و سرشاخه‌های گلدار گیاهان رزماری، اسطوخودوس، برگ‌های اوکالیپتوس و پوست درخت دارچین نمونه‌های گیاهی تهیه و پس از شستشو، در سایه خشک و آسیاب گردید. برای اسانس‌گیری ۱۰۰ گرم از نمونه آسیاب شده داخل دستگاه کلونجر[1] ریخته شد و به آن ۵۰۰ میلی لیتر آب مقطر اضافه گردید. پس از گذشت ۴ ساعت اسانس بدست آمده در داخل میکرو تیوب‌هایی ریخته شده و در فویل آلومینیومی پیچیده شد تا به دور از تابش نور باشد. اسانس‌های استخراج شده با سولفات سدیم آبگیری و تا زمان استفاده، در دمای ۴ 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 ۱۰ متر و قطر ۰/۱ میلی‌متر بود که ضخامت لایه فاز ساکن در آن ۰/۴ میکرومتر بود. برنامه ریزی حرارتی ستون از ۶۰ درجه سلسیوس شروع شده و به تدریج به ۲۸۵ دجه سلسیوس رسید.

Clevenger

[2] Gas Chromatography (GC), (Model Thermo-UFM"(Ultera Fast Model).Made in Thermo Co. ITALY)

[3] Gas Chromatography–Mass Spectrometry (GC/MS), (Model Varian Star-3400 cx. J&W Scientific Inc.,Rancho Cordova, CA, USA.)

دمای محفظه تزریق و دتکتور در دمای ۲۸۰ درجه سلسیوس تنظیم شد. دتکتور از نوع FID [۱] بود. و از گاز هلیوم ۹۹ ٪ به عنوان گاز حامل استفاده شد که با سرعت ۰/۵میلی‌متر 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 ۳۰ متر و قطر ۰/۲۵ میلی متر و ضخامت لایه فاز ساکن ۰/۲۵ میکرومتر استفاده شد. برنامه ریزی حرارتی ستون دستگاه مشابه با برنامه‌ریزی دستگاه قبلی بود. گاز هلیوم با سرعت ۳۲ سانتی‌متر بر ثانیه حرکت می‌کرد. شناسایی ترکیبات موجود در اسانس‌ها با استفاده از اندیس‌های بازداری و پیشنهادهای کتابخانه‌ای رایانه دستگاه و مقایسه آنها با ترکیبات استاندارد انجام شد (Davies, 1990) .

برای انجام آزمایش به روش اختلاط اسانس با محیط کشت، ابتدا محیط کشت سیب زمینی دکستروز آگار [۲] آماده گردید و پس از اتوکلاو شدن در دمای محیط قرار داده شد تا دمای آن کاهش یابد. اسانس‌های مورد نظر با توئین [۳] ۲۰ (۰/۰۵ درصد) رقیق شد و با همزن خوب هم زده شد تا محلول یکنواختی بدست آید. زمانی که دمای محیط کشت سیب زمینی دکستروز آگار به زیر ۳۰ درجه سلسیوس کاهش یافت غلظت‌های مورد نظر از اسانس‌ها (صفر، ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۱۵۰۰ و ۲۰۰۰ میکرولیتر در لیتر [۴]) به محیط کشت اضافه شد و با همزن هم زده شد. سپس به مقدار ۲۰ میکرو لیتر محیط کشت سیب زمینی دکستروز آگار داخل هر پتری۱۰ سانتی متری اضافه گردید. پس از جامد شدن محیط کشت سیب زمینی دکستروز آگار، قرص-های میسیلیومی از قارچ‌های مورد نظر، به قطر پنج میلی‌متر با چوب پنبه سوراخ کن [۵] جدا گردید و در وسط هر پتری قرار داده شد و بلافاصله دور پتری‌ها پارافیلم کشیده شد.

نمونه‌ها در داخل انکوباتور با دمای ۲±۲۵ درجه سلسیوس نگهداری گردید و هر ۴۸ 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 ۱۰ روز به طول انجامید. پتری‌های شاهد هم حاوی همان میزان از محلول ۰/۰۵ درصد از توئین ۲۰ وآب مقطر استریل حل شده در محیط کشت سیب زمینی دکستروز آگار بودند. در این آزمایش برای هر تیمار چهار تکرار در نظر گرفته شده بود. درصد بازدارندگی غلظت‌های مختلف اسانس با استفاده از فرمول ابوت محاسبه گردید (Abbott, 1925):

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

IP = درصد بازدارندگی

C = میانگین قطر هاله قارچ در تیمار شاهد

[1] Flame Ionization Detector(FID)
[2] Potato Dextrose Agar(PDA)
[3] Tween"20
Part Per Million (PPM)
[5] Cork borer

T = میانگین قطر هاله قارچ در تیمار مورد نظر

همچنین میانگین رشد هاله قارچ در هر تکرار و برای هر تیمار هر ۴۸ ساعت یکبار به مدت ۱۰ 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

داده‌های مربوط به درصد بازدارندگی اسانس و میانگین رشد قارچ‌ها توسط آزمون چند دامنه‌ای دانکن و به کمک نرم افزار SAS در سطح احتمال یک درصد مورد بررسی و تجزیه و تحلیل قرار گرفت. رسم نمودارها نیز به کمک Excel انجام شد.

نتایج

نتایج شناسایی ترکیبات تشکیل دهنده اسانس توسط دستگاه کروماتوگراف گازی متصل به طیف نگار جرمی (GC/MS) در جدول(۱) آمده است.

جدول ۱- ترکیبات شناسایی شده اسانس گیاهان بکار برده شده توسط دستگاه کروماتوگراف گازی متصل به طیف نگار جرمی(GC/MS)

Table 1. Determined Compounds by Gas Chromatography–Mass Spectrometry (GC/MS) in used of essential oils

Rosemary		Lavender		Eucalyptus		Cinnamon	
Compound	**%**	**Compound**	**%**	**Compound**	**%**	**Compound**	**%**
pineneα -	25.4	linalool	51.8	α-Pinene	3.2	Terpinen-4-ol	0.4
- pineneβ	4.2	Lavandulyl acetate	14.8	O-Cymene	1.7	1,8- cineole	0.6
- myrceneβ	2.8	Terpineol	6.9	Limonene	28.8	Linalool	3.6
P - cimene	4.5	Neryl acetate	6.7	1,8-cineole	5.3	- terpineolα	0.7
Tricyclene	1.4	α- Terpineol	4.5	α-Terpinolene	9.4	Caryophyllene	3.2
Comphene	8.2	Cis- ocimene	3.6	Beta-citronellal	8	Cinnamaldehyde	78.1
1,8- cineole	22.6	β - caryophyllene	3.4	Z-Citral	10.7	Eugenol	4.2
Comphor	4.8	Geranyl- acetat	2.4	Trans-geraniol	4.2	Cinnamyl acetate	6.2
Borneol	12.4	Cis- β- franesen	1.5	E-Citral	14.1	Coumarin	0.7
Verbenone	8.4	Myrcene	1.6	Methyl geranate	3.6	Unknown Compounds	3
Borneol acetate	7.5	Borneol	1.5	Geraniol acetate	3.8		
Linalool	4.7	Unknown Compounds	1.3	Unknown Compounds	7.2		
1- limonene	2.8						
4 - terpineol	3.2						
Chrysanthenone	2						
Unknown Compounds	2.3						
Total	100		100		100		100

بیشترین ترکیب تشکیل دهنده اسانس رزماری آلفا پینین(۲۵/۴ درصد)، ۱ و ۸- سینئول(۲۲/۶ درصد) و بورنئول (۱۲/۴ درصد) بود. لینالول با ۵۱/۸ و لواندولیل استات با ۱۴/۸ درصد، بیشترین ترکیب اسانس اسطوخودوس را تشکیل داده بود. لیمونن و E- سیترال به ترتیب با

۲۸/۸۲ و ۱۴/۶ درصد، عمده‌ترین ترکیبات تشکیل دهنده اسانس اوکالیپتوس بود. همچنین بیشترین ترکیب موجود در اسانس دارچین سینامالدئید (۷۸/۱۰ درصد) بود (جدول ۱).

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها بیانگر تأثیر معنی‌دار اسانس‌های بکار برده شده بر مهار قارچ *F. solani* و *F. oxysporum* در سطح یک درصد بود (جدول ۲). اثر متقابل قارچ در اسانس، قارچ در غلظت، اسانس در غلظت، قارچ در اسانس و غلظت‌های بکار برده شده، در سطح احتمال یک درصد با یکدیگر اختلاف معنی‌داری از خود نشان دادند (جدول ۲).

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس داده‌های کاربرد اسانس بر مهار قارچ *F. solani* و *F. oxysporum*

Table 2. Results of data analysis of variance in essential oil used on control of *F. solani* and *F. oxysporum* fungi

Source of Variable	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F Value
Repeat	3	1429.05	784.33	78**
Fungi (F)	1	3485.31	3485.31	7.01**
Essential oil (E)	3	49314.51	16438.17	3.3**
Concentration (C)	4	118158.59	29539.64	5.94**
F × E	3	7398.53	2466.17	4.96**
F × C	4	4965.48	1241.37	2.5**
E × C	12	21705.46	1808.78	3.64**
F × E × C	12	14913.76	1242.81	2.5**
Error	117	---	---	---
Total	159	219941.68		

معنی‌داری در سطح یک درصد (1% Statistical difference at)

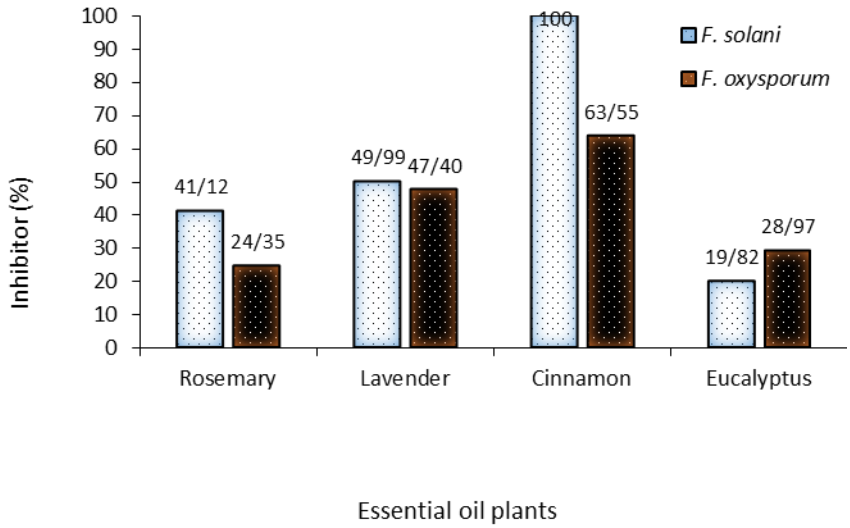
با افزایش غلظت اسانس‌ها، درصد مهار از رشد قارچ‌ها نیز افزایش یافت. بالاترین درصد بازدارندگی از رشد قارچ *F. solani* و *F. oxysporum* توسط اسانس رزماری به ترتیب ۱۰۰ و ۴۶/۶ درصد بود. درصد مهار اسانس رزماری بر قارچ *F. solani* به استثنای غلظت ۱۵۰۰ میکرو لیتر، در سایر غلظت‌ها بیشتر از قارچ *F. oxysporum* بود(جدول ۳). چنین حالتی در اسانس اسطوخودوس (غلظت ۱۰۰۰ میکرو لیتر) نیز مشاهده گردید. بیشترین و کمترین درصد مهار توسط اسانس اسطوخودوس(۱۰۰ و ۸۸/۵ درصد) به ترتیب در قارچ *F. solani* و *F. oxysporum* مشاهده گردید. فعالیت ضد قارچی اسانس اسطوخودوس در غلظت‌های مختلف، بر مهار قارچ *F. solani* و *F. oxysporum* بسیار نزدیک به یکدیگر بود(جدول ۳). اسانس دارچین توانست در همه غلظت‌ها به طور کامل (۱۰۰ درصد) از رشد قارچ *F. solani* جلوگیری نماید ولی فقط در غلظت ۱۵۰۰ و ۲۰۰۰ میکرو لیتر رشد قارچ *F. oxysporum* را به طور کامل متوقف نمود. که این می‌تواند به علت مقاومت بالای قارچ نامبرده به عامل بازدارنده باشد(جدول ۳). اسانس اوکالیپتوس کمترین تأثیر را در مهار قارچ‌ها از خود نشان داد. غلظت ۲۰۰۰ میکرولیتر در لیتر اسانس اوکالیپتوس با ۴۸ و ۴۹ درصد به ترتیب از رشد قارچ *F.*

solani و *F. oxysporum* جلوگیری کرد. اسانس اوکالیپتوس در تمام غلظت‌های مورد استفاده در مهار قارچ *F. oxysporum* موفق‌تر از قارچ *F. solani* بود (جدول ۳).

جدول۳- مقایسه میانگین اسانس‌های استفاده شده بر مهار قارچ *F. solani* و *F. oxysporum* در غلظت-های مختلف

Table 3. Mean (±SE) comparisons of used essential oil on control of *F. solani* and *F. oxysporum* fungi in different concentrations

	0 µL/L		500 µL/L		1000 µL/L		1500 µL/L		2000 µL/L	
	F. S	*F. O*	*F. S*	*F. O*	*F. S*	*F. O*	*F. S*	*F. O*	*F. S*	*F. O*
Rosemary	0^{h}	0^{h}	15.71^{f}	8.1^{g}	23.57^{e}	12.7^{f}	25.23^{e}	30^{e}	100^{a}	46.6^{d}
Lavender	0^{h}	0^{h}	16.7^{f}	11.1^{f}	20.94^{e}	30.3^{e}	62.35^{c}	59.7^{c}	100^{a}	88.5^{b}
Eucalyptus	0^{h}	0^{h}	100^{a}	6.2^{g}	100^{a}	48^{d}	100^{a}	100^{a}	100^{a}	100^{a}
Cinnamon	0^{h}	0^{h}	1.88^{g}	3.9^{g}	12^{f}	28^{e}	17.41^{f}	$35d^{e}$	48^{d}	49^{d}

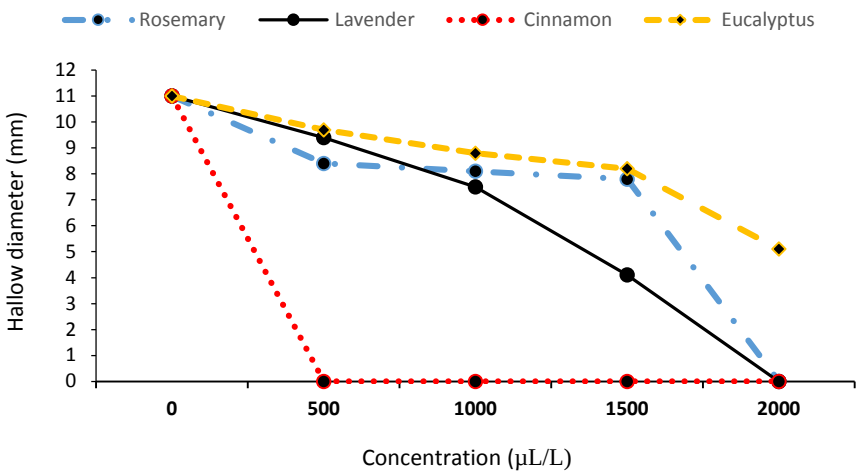


شکل۱- میانگین کل اسانس‌های بکار برده شده بر مهار قارچ *F. solani* و *F. oxysporum*

Figure 1. Total mean of used essential oils on control of *F. solani* and *F. oxysporum* fungi

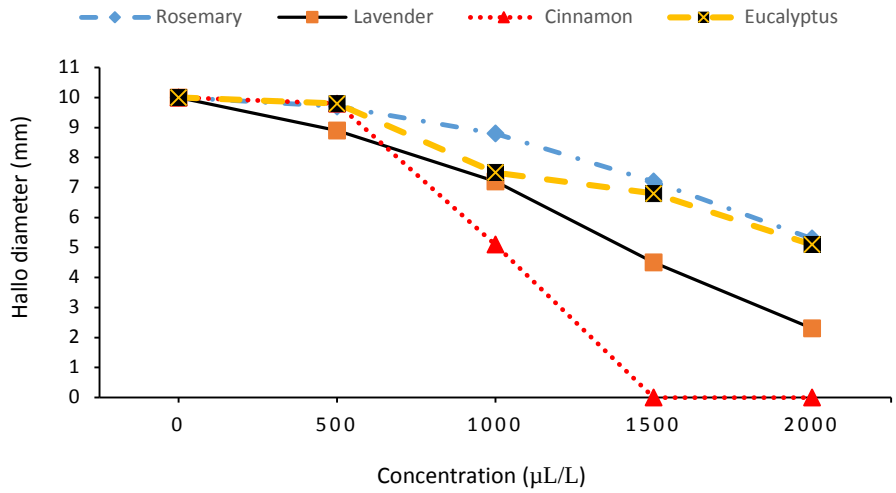
به‌طور میانگین کل، اسانس دارچین و اوکالیپتوس به ترتیب با ۱۰۰ و ۱۹/۸۲ درصد، بیشترین و کمترین اثر را در مهار رشد میسلیوم قارچ *F. solani* داشتند. در قارچ *F. oxysporum*، اسانس رزماری با ۲۴/۳۵ درصد، کمترین و اسانس دارچین با ۶۳/۵۵ درصد، بیشترین اثر را از خود نشان دادند (شکل ۱). اسانس دارچین، اسطوخودوس و رزماری در مهار قارچ *F. solani* عملکرد مطلوبی داشتند ولی اسانس اوکالیپتوس در مهار قارچ *F. oxysporum* عملکرد بهتری را از خود نشان داد(شکل ۱). با افزایش غلظت اسانس، از میانگین رشد هاله قارچ کاسته گردید.

بیشترین رشد قارچ در غلظت صفر (شاهد) و کمترین آن در غلظت ۲۰۰۰ میکرولیتر اسانس‌ها مشاهده گردید (شکل ۲ و ۳).



شکل ۲-.میانگین رشد هاله قارچ *F. solani* تحت کاربرد اسانس‌های گیاهی در غلظت‌های مختلف

Figure 2. Mean growth hallow of *F. solani* fungus under applied of essential oils in different concentrations



شکل ۳- میانگین رشد هاله قارچ *F. oxysporum* تحت کاربرد اسانس‌های گیاهی در غلظت‌های مختلف

Figure 3. Mean growth hallow of *F. oxysporum* fungus under applied of essential oils in different concentrations

بحث

اثرات ضد قارچی اسانس‌های رزماری، اسطوخودوس، دارچین و اوکالیپتوس در پژوهش‌های متعددی به اثبات رسیده است. از آنجایی که اسانس‌ها ماهیت آب‌گریزی دارند و به صورت یک کاتالیزور عمل می‌کنند در اثر فعالیت مشترک و همپوشانی ترکیب‌های مختلف، سبب تخریب دیواره و غشاء سلولی پاتوژن ها شده و نفوذپذیری و نشت یونی سلول‌ها افزایش می‌یابد. در پی تجزیه لیپیدهای دیواره سلولی، میتوکندری‌ها و پروتئین‌های غشاء و نیز لخته شدن سیتوپلاسم و تخلیه نیروی محرکه پروتون سلول‌های آسیب دیده از اسانس دچار مرگ سلولی می‌شوند (Burt, 2004). القای مقاومت سیستمیک[1] در گیاهان، تجزیه شدن و عدم دسترسی قارچ‌ها به آب مورد نیاز جهت رشد در سطح اندام‌های گیاهان، از دیگر مکانیسم‌های شناخته شده اسانس‌ها در مهار بیماری‌ها می‌باشد (Burt, 2004). اسانس گیاه رزماری بر قارچ عامل لکه موجی برگ خیار اثر بازدارندگی دارد و با افزایش غلظت اسانس، درصد بازدارندگی نیز افزایش می یابد (Nosrati *et al.*, 2012). در سایر تحقیقات، اثرات ضد قارچی اسانس اوکالیپتوس، مرزنجوش، مرزه و آویشن نیز مورد بررسی قرار گرفته که اسانس اوکالیپتوس به دلیل کم بودن ماده موثره تیمول، کمترین فعالیت ضد میکروبی را دارا بوده و ترکیب تیمول و کارواکرول نسبت به اوکالیپتول دارای اثرات ضد میکروبی بیشتری می‌باشد (Mahboubi & Feizabadi, 2009). در آزمایش حاضر نیز، اسانس اوکالیپتوس کمترین اثر را بر مهار قارچ‌ها داشت اما عمده‌ترین ترکیب تشکیل دهنده اسانس اوکالیپتوس در این پژوهش، لیمونن(۱۸/۸۲ درصد) بود ولی اثر بازدارندگی مطلوبی را از خود نشان نداد که از این نظر با نتایج سایر پژوهش‌ها متفاوت می باشد. در تحقیقات پیشین مشخص شد اسانس اسطوخودوس نسبت به رزماری از بازدارندگی مطلوب‌تری در مهار قارچ *F. oxysporum* برخوردار است (Salek Mearaji *et al.*, 2012) که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد. که ممکن است به دلیل بالا بودن لینالول موجود در اسطوخودوس(۵۱/۸ درصد) نسبت به اسانس رزماری(۴/۷ درصد) باشد.

گزارش گردیده که اسانس دارچین غنی از ترکیب سینامالدئید است که به شدت الکترومنفی است. که با فرآیندهای بیولوژیکی دخیل در انتقال الکترون تداخل دارند. بنابراین، می‌توانند با ترکیبات حاوی نیتروژن مثل پروتئین ها و اسیدهای نوکلئیک واکنش نشان دهند و از این طریق مانع رشد میکروارگانیسم‌ها می‌شوند (Gupta *et al.*, 2008). اسانس دارچین ترکیبات زیادی داشته که در بین این ترکیبات سینامالدئید، آلدئیدی معطر و خوشبو است که مانع از فعالیت اسید آمینه دی کربوکسـیلاز می شود و به شدت الکترومنفی است به همین دلیل فعالیت ضدمیکروبی فراوانی دارد (Tajkarimi *et al.*, 2010). نتایج شناسایی GC/MS اسانس دارچین مورد استفاده نشان داد که عمده‌ترین ترکیب را سینامالدئید(۷۸/۱۰ درصد) تشکیل

[1] Systemic Acquired Resistance (SAR)

داده بود. به‌نظر می‌رسد سینامالدئید موجود در اسانس دارچین، مهمترین عامل ضد قارچی بودن اسانس دارچین باشد. نتایج آزمایش نشان داد که خاصیت ضد قارچی اسانس‌های گیاهی علاوه بر مقدار غلظت، به گونه قارچ نیز بستگی دارد که با نتیجه دیگر پژوهش‌ها مطابقت دارد (Ataei Azimi *et al.*, 2007).

منابع

Abbott, W. S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*, 18(2):265-7.

Adeniyi, B. A., Odufowoke, R. O., & Olaleye, S. B. 2006. Antibacterial and gastroprotective properties of *Eucalyptus torelliana* [Myrtaceae] crude extracts. *International Journal of Pharmacology*, 2:362-5.

Agrios, G. N. 2004. Losses caused by plant diseases. *Plant Pathology*. Elsevier, Oxford, UK. 29-45.

Alma, M. H., Ertas, M., Nitz, S., & Kollmannsberger, H. 2007. Chemical composition and content of essential oil from the bud of cultivated Turkish clove (*Syzygium aromaticum*). *BioResources*, 2 (2): 265-269.

Alpsoy, L. 2010. Inhibitory effect of essential oil on aflatoxin activities. *African Journal of Biotechnology*, 9(17): 2474-2481.

Ataei Azimi, A., Delnavaz Hashemloian, B., & Mansoorghanaei, A. 2007. Antifungal Effects of Water, Alcoholic and Phenolic Extracts of Seeds and Leaves of *Sorghum bicolor* (L.) Moench on *Fusarium solani* and *F. poae*. *Journal of Medicinal Plants*, 1(21): 26-32. (In Persian with English summary).

Batish, D. R., Singh, H. P., Kohli, R. K., & Kaur, S. 2008. Eucalyptus essential oil as a natural pesticide. *Forest Ecology and Management*, 256 (12): 2166-2174.

Burt, S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94(3): 223-253.

Carvalho, F. P. 2006. Agriculture, pesticides, food security and food safety. *Environmental Science & Policy*, 9 (7-8): 685-692.

Cavanagh, H. M. A., & Wilkinson, J. M. 2002. Biological activities of lavender essential oil. *Phytotherapy Research*. 16(4): 301-308.

Chuang, P. H., Lee, C. W., Chou, J. Y., Murugan, M., Shieh, B. J., & Chen, H. M.2007. Anti-fungal activity of crude extracts and essential oil of *Moringa oleifera* Lam. *Bioresource Technology*, 98(1): 232-236.

Dababneh, B. F., & Khalil, A. 2007."The inhibitory effect of extracts from Jordanian medicinal plants against phytopathogenic fungi. *Plant Pathology Journal*, 6(2): 191-194.

Davies, N. W. 1990. Gas chromatographic retention indices of monoterpenes and sesquiterpenes on methyl silicon and Carbowax 20M phases. *Journal of Chromatography*, A. 503:1-24.

Dwivedi, S. K., & Dwivedi, N. 2012. Antifungal activity of some plant extracts against guava wilt pathogen. *International Journal of Environmental Sciences*, 3(1):412-420.

Gupta, C., Garg, A. P., Uniyal, R. C., & Kumari, A. 2008. Comparative analysis of the antimicrobial activity of cinnamon oil and cinnamon extract on some food-borne microbes. *African Journal of Microbiology Research*, 2(9):247-251.

Hamedo, H. A., & Abdelmigid, H. M. 2009. Use of antimicrobial and genotoxicity potentiality for evaluation of essential oils as food preservatives. *The Open Biotechnology Journal*. 3 (1).

Hashem, M., Moharam, A. M., Zaied, A. A., & Saleh, F. E. M. 2010. Efficacy of essential oils in the control of cumin root rot disease caused by Fusarium spp. *Crop Protection*, 29 (10): 1111-1117.

Ingle, A., Rai, M., Gade, A., & Bawaskar, M. 2009. *Fusarium solani*: a novel biological agent for the extracellular synthesis of silver nanoparticles. *Journal of Nanoparticle Research*, 11 (8): 2079.

Isman, M. B., Machial, C. M., Miresmailli, S., & Bainard, L. D. 2007. *Essential oil-based Pesticides: new insights from old chemistry*. Wiley-VCH, Weinheim, Germany.

Jalander, V., & Gachande, B. D. 2012. Effect of aqueous leaf extracts of *Datura sp*. against two plant pathogenic fungi. *International Journal of Food, Agriculture and Veterinary Sciences*, 2(3): 131-134.

Kohan Moo, M.A. & 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 (1): 27-33. (In Persian with English summary).

Langner, S., Staber, P. B., & Neumeister, P. 2008. Posaconazole in the management of refractory invasive fungal infections. *Therapeutics and Clinical Risk Management*. 4 (4):747.

Lee, J. Y., Hwang, W. I., & Lim, S. T. 2004. Antioxidant and anticancer activities of organic extracts from Platycodon grandiflorum A. De Candolle roots. *Journal of Ethnopharmacology*, 93(2-3): 409-415.

Mahboubi, M. & Feizabadi, M. 2009. The Antimicrobial Activity of Thyme, Sweet Marjoram, Savory and Eucalyptus oils on *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Aspergillus niger* and *Aspergillus flavus*. *Journal of Medicinal Plants*, 2 (30): 137-144. (In Persian with English summary).

Marino, M., Bersani, C., & Comi, G. 2001. Impedance measurements to study the antimicrobial activity of essential oils from Lamiaceae and Compositae. *International Journal of Food Microbiology*, 67 (3):187-195.

Matan, N., Rimkeeree, H., Mawson, A. J., Chompreeda, P., Haruthaithanasan, V., & Parker, M. 2006. Antimicrobial activity of cinnamon and clove oils under modified atmosphere conditions. *International Journal of Food Microbiology,* 107 (2): 180-185.

Moghtader, M., & Afzali, D. 2009. Study of the antimicrobial properties of the essential oil of Rosemary. *American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Science*, 5 (3): 393-397. (In Persian with English summary).

Nosrati, S., Esmailzadeh Hosseini, S. A. & Sarpole, A. 2012. The effects of antifungal essential oils of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) on the *Alternaria* sp. on cucumber leaves in Yazd province under greenhouse conditions. *5th National Conference on New Ideas in Agriculture*. (In Persian).

Osée Muyima, N. Y., Nziweni, S., & Mabinya, L. V. 2004. Antimicrobial and antioxidative activities of *Tagetes minuta*, *Lippia* javanica and *Foeniculum vulgare*

essential oils from the Eastern Cape Province of South Africa. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 7(1): 68-78.

Proksch, P., Ebel, R., Edrada, R. A., Schupp, P., Lin, W. H., Wray, V., & Steube, K. 2003. Detection of pharmacologically active natural products using ecology. Selected examples from Indopacific marine invertebrates and sponge-derived fungi. *Pure and Applied Chemistry*. 75 (2-3): 343-52.

Rebib, H., Hedi, A., Rousset, M., Boudabous, A., Limam, F., & Sadfi-Zouaoui, N. 2012. Biological control of Fusarium foot rot of wheat using fengycin-producing Bacillus subtilis isolated from salty soil. *African Journal of Biotechnology*, 11 (34): 8464-8475.

Salek Mearaji, H., Salek Naghdi, R. & Tafreshi, Kh. 2014. Investigation effect of *Rosmarinus officinalis* and *Lavandula angustifolia* against *Fusarium oxysporum. 2nd international Conference on Applied Researches in Agriculture Sciences*. (In Persian).

Samsam Shariat H. 2007. *Collection of medicinal herbs*. Vol.1, Mani Publications, Esfahan, Iran.

Siddiqui, B. S., Sultana, I., & Begum, S. 2000. Triterpenoidal constituents from Eucalyptus camaldulensis var. obtusa leaves. *Phytochemistry*, 54 (8): 861-865.

Stewart, J. E., Kim, M. S., James, R. L., Dumroese, R. K., & Klopfenstein, N. B. 2006. Molecular characterization of *Fusarium oxysporum* and Fusarium commune isolates from a conifer nursery. *Phytopathology*, 96 (10): 1124-1133.

Tajkarimi, M. M., Ibrahim, S. A., & Cliver, D. O.2010. Antimicrobial herb and spice compounds in food. *Food Control*, 21(9): 1199-1218.

Tavalaei, F.Z., Hosseini, M. & Abadi, H. 2012. Antifungal effect (*Officinalis melissa*) on the *Fusarium oxysporum* f. sp. *watermelon* fungus. *National Conference Medicinal Plants*, Yasouj.

Tripathi, P., Dubey, N. K., & Shukla, A. K. 2008. Use of some essential oils as post-harvest botanical fungicides in the management of grey mould of grapes caused by *Botrytis* cinerea. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 24 (1): 39-46.

Upson, T., & Andrews, S. 2004. Genus *Lavandula*. *Botanical Magazine Monograph. Andrews–//Royal Botanic Gardens*, Kew.

Plant Protection Journal
(Islamic Azad University, Shiraz Branch)
2018 – 9(1): 45-58

Control of two species of fusarium fungi by medicinal plants

Hadi SALEK MERAJI[1*], Meisam MOHAMMADI[2], Kazem SALEK SEYFI[3], Saeed HAZBIPOUR[4], Mohsen MORADI[5]

1. Plant Breeding and Agronomy, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran (Corresponding author, Email: h.salek228@gmail.com)
2. Department of Horticultural Science,Physiology and Breeding Ornamental Plants, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran
3. Department of Horticultural Science, medicinal plants, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran
4. Plant Breeding and Agronomy, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran
5. Department of Horticultural Science, physiology and technology of post-Harvest, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran

Abstract

Using medicinal plants essential oils to control or suppress plant diseases causing reduce of undesirable chemical pesticides. In order to study the effect of essential oils on control of two plant pathogens, an experiment was conducted as a three factorial experiment based on randomized complete block design with four replications carried out In-Vitro condition. The factors were including four essential oils of medicinal plants (Lavender, Rosemary, Cinnamon and Eucalyptus) in five concentration (0, 500, 1000, 1500 and 2000 µL/ L) on control of *Fusarium oxysporum* and *Fusarium solani* fungi. The results showed that essential oil of Cinnamon can wholly control (100 %) mycelium growth of *F. solani* fungi in all concentrations, but in *F. oxysporum* fungi, only in 1500 and 2000 µL/ L of essential oil can control growth of fungus. The least and most of essential oil of lavender (88/5 and 100 %) observed in *F. oxysporum* and *F. solani* respectively. The highest of control in *F. solani* and *F. oxysporum* by Rosemary was 100 and 46/6 % respectively. The eucalyptus essential oil was the lowest effect on control of fungi. The highest of eucalyptus concentration can with 48 and 49 % inhibitor growth mycelium of *F. solani* and *F. oxysporum* respectively. On average, the maximum and minimum control of *F. solani* fungus observed respectively in cinnamon and eucalyptus essential oils, and in *F. oxysporum* was in cinnamon and rosemary essential oils. Cinnamaldehyde in cinnamon essential oil is a very strong inhibitor and can be used to control plant fungi.

Keywords: *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, Essential oils, Medicinal plants, Control.