**دوفصلنامه تحقیقات بیماری‌های گیاهی**
**سال سوم، شماره اول، بهار و تابستان 1394**
**صص 62-47**

# اثر ضد قارچی عصاره‌های گیاهی بر قارچ عامل پژمردگی فوزاریومی توتون*

سید افشین سجادی**[1]، هدی عاصمی[2]
تاریخ دریافت: 93/6/26 تاریخ پذیرش: 93/9/7

## چکیده

بیماری پژمردگی فوزاریومی توتون، از بیماری‌های عمده توتون در دنیا است که می‌تواند خسارات زیادی را موجب شود. مهاراین بیماری باعصاره‌های گیاهی یکی از روش‌های امن و دوستدار محیط زیست به شمار می‌رود. هدف از این تحقیق تعیین فعالیت ضد قارچی عصاره چند گیاه بر قارچ عامل پژمردگی فوزاریومی توتون (*Fusarium oxysporum* f.sp. *nicotianae*) تهیه شده با حلال‌های مختلف بود. در این تحقیق عصاره‌های نه گونه گیاهی شامل نعناع گربه‌ای، توتون، آویشن کوهی، رازیانه، زوفا، بادرنجبویه پُرپر، بادرنجبویه، پونه کوهی ومریم گلیبا با استفاده از حلال‌های آب، استون، هگزان، اتانول و متانول با روش خیساندن استخراج و فعالیت ضد قارچی آنها در شرایط آزمایشگاه روی قارچ عامل بیماری بررسی شد. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه عامل گیاه، حلال و غلظت و پنج تکرار انجام شد. بررسی حداقل غلظت بازدارندگی عصاره‌های گیاهی با استفاده از روش اختلاط با محیط کشت انجام شد. گیاهان نعناع گربه‌ای، توتون، آویشن کوهی، رازیانه، زوفا و بادرنجبویه پُرپر اثر بازدارندگی قابل توجهی بر رشد میسلیومی قارچ مورد بررسی در این مطالعه داشتند. بیشترین تاثیر بازدارندگی مربوط به عصاره استخراجی با حلال متانول بود. بهترین غلظت بازدارندگی مربوط به غلظت 2000 قسمت در میلیون بود. حداقل غلظت بازدارندگی عصاره متانولی توتون، نعناع گربه‌ای، آویشن کوهی، رازیانه، بادرنجبویه پُرپر و زوفا بر قارچ بیماری‌زای مورد بررسی 1/5، 1/5، 2، 3، 3 و 3 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. نتایج این تحقیق نشان از پتانسیل بالای عصاره متانولی توتون، نعناع گربه‌ای و آویشن کوهی در مهار زیستی قارچ عامل پژمردگی فوزاریومی توتون دارد.

**واژه‌های کلیدی**: مهار زیستی، ترکیبات طبیعی گیاهی، *Fusarium oxysporum* f.sp. *nicotianae*.

---

* این مقاله قسمتی از طرح مصوب با شماره 2-301-91 که در مرکز تحقیقات و آموزش تیرتاش اجرا شده است.

[1]- مربی، بخش گیاهپزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش تیرتاش، بهشهر، ایران.

[2]- استادیار، بخش گیاهپزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش تیرتاش، بهشهر، ایران.

** - نویسنده مسئول مقاله: sajjadi_a@yahoo.com

**مقدمه**

توتون (*Nicotiana tabacum* L.)، گیاهی از خانواده بادمجانیان، یکی از مهمترین گیاهان زراعی است. سطح زیر کشت توتون سیگارت در ایران در سال 1391 برابر با 7865 هکتار و تولید برگ خشک برابر با 6697 تن بوده است (Anonymous, 2012).

یکی از روش‌های نوین در جهت مهار بیماری‌های گیاهی استفاده از مواد و ترکیبات طبیعی با منشا گیاهی است. در این بین اهمیت ترکیبات طبیعی گیاهان در مهار انواع بیماری‌های گیاهی از جمله بیماری‌های قارچی، باکتریایی، ویروسی و نماتدها بسیار بارز و برجسته است، زیرا از یک سوی برای تعدادی از عوامل بیماری‌زای خاکزاد و بذرزاد روش مهارمؤثر و پایداری وجود ندارد (Hasanzadeh, 2005) از سوی دیگر، پیدایش پدیده مقاومت به انواع سموم شمیایی، مسمومیت‌های ناشی از مصرف آنها در جانوران، آبزیان و حشرات مفید و نیز اثرات منفی باقیمانده‌های سموم، مشکلات زیادی را برای سلامت انسان و محیط زیست فراهم آورده است (Abdolmaleki *et al*., 2011; Gupta and Tripata, 2011). از این رو بسیاری از کشورها با استفاده از فن‌آوری جدید تهیه و فرمولاسیون سموم غیر شیمیایی از جمله آفت کش‌ها با پایه و منشا گیاهی مبادرت به کنترل تلفیقی بیماری‌های مهم گیاهی نموده اند (Amadioha, 2000). در حال حاضر چند سم تجاری با منشا طبیعی در دنیا معرفی شده است. در ایران نیز یک باکتری‌کش گیاهی علیه بیماری آتشک گلابی، به ثبت رسیده است. حجم تحقیقات انجام شده و در دست اجرای کشورها موید وجود یک تحول جدید در امر تامین بهداشت و سلامت تولیدات محصولات کشاورزی است (Hasanzadeh, 2005). ماهیت ضدمیکروبی، تحریک برای مصونیت گیاه و جلوگیری از آلودگی‌های محیطی از دیگر مزایای مواد طبیعی جدید است (Aye and Matsumoto, 2010).

در تحقیقی قارچ‌های *Rhizoctonia solani*، *Fusarium oxysporum* f.sp. *nicotianae*، *Phytophthora nicotianae*، *Macrophomina phaseolina*، *Pythium aphanidermatum* و *Pythium ultimum* var. *ultimum* به ترتیب با فراوانی 34/92، 31/22، 22/79، 6/6، 4/65، 2/2 و 2/2 درصد از مزارع توتون استان گلستان جداسازی و شناسایی شدند (Sajjadi and Assemi, 2012). قارچ عامل پژمردگی فوزاریومی توتون (*F. oxysporum* f.sp. *nicotianae*)، عامل بیماری‌زای گیاهی با اهمیتی می‌باشد که در تمام نقاط دنیا پراکنده بوده و می‌تواند موجب خسارت محصول در کشورهای تولید کننده توتون گردد. مهار این عامل بیماری‌زا با استفاده از آفت‌کش‌ها، تناوب زراعی، ارقام مقاوم، کنترل بیولوژیک،عصاره‌های گیاهی برای مدیریت این عامل بیماری ارجحیت دارد، زیرا سموم شیمیایی گران قیمت بوده و مصرف آن‌ها آلودگی زیست محیطی به همراه دارند (Sajjadi and Assemi, 2012).

*عبدالملکی و همکاران* (Abdolmaleki *et al*., 2008) حداقل غلظت بازدارندگی[1] عصاره‌های گیاه دارچین[2] بر قارچ‌های بیماری‌زای گیاهی مانند *R. solani*، *F. oxysporum*، *Phytophthora drechsleri* و *Bipolaris sorokiniana* با استفاده از دو روش دیسک کاغذی و اختلاط با محیط کشت را بررسی و اثر قارچ‌ایستایی قابل توجه این گیاه بر رشد قارچ‌های مورد بررسی را گزارش نمودند. *بهرامی نژاد و همکاران* (Bahraminejad et al.,

[1].MIC (Minimum Inhibitory Concentration)
[2]. *Cinnamomum zeylanicum*

2011) تفاوت معنی‌داری بین عصاره های آبی، متانولی، اتانولی و استونی خارخسک برای جلوگیری از رشد میسلیومی قارچ *B. sorokiniana* نیافتند. *پیراجنو و همکاران* (2004) با استفاده از اسانس گیاهان برگ بو[1]، نعناع فلفلی[2] و سداب[3] توانستند قارچ‌های *R. solani* و *F. oxysporum* را تا 100 درصد مهار نمایند. *لی و همکاران* (2007) اثر اسانس 39 گونه گیاهی بر قارچ‌های بیماری‌زای خاکزی و انباری گیاهی را بررسی و 4 گونه گیاهی (مرزنگوش[4]، اکالیپتوس لیمویی[5]، آویشن[6] و زیره[7]) را دارای خاصیت ضد قارچی یافتند. مرزنگوش در شرایط آزمایشگاهی توانست قارچ‌های *Botrytis cinerea*، *Colletotrichum gloesporioides*، *F. oxysporum*، *R. solani* و *P. ultimum* را تا 55، 78، 70، 68 و 93 درصد و اکالیپتوس لیمویی عامل قارچ کپک خاکستری سیب را در انبار تا 70 درصد مهار نماید.

با توجه به اینکه در مورد استفاده از عصاره‌های گیاهی با خاصیت ضد قارچی و مهار عوامل بیماری‌زای توتون تحقیقی صورت نگرفته است، بنابراین بررسی فعالیت ضد قارچی عصاره‌های گیاهی بر روی برخی از عوامل بیماری‌زای توتون ضروری به نظر می رسد. هدف از این تحقیق تعیین فعالیت ضد قارچی عصاره‌های گیاهی بر پژمردگی فوزاریومی توتون و انتخاب حلال مناسب برای عصاره‌گیری بود.

## مواد و روش‌ها

### تهیه و آماده سازی نمونه های گیاهی

در اواخر خرداد 1391 برگ گیاهان توتون رقم بارلی 21 از مرکز تحقیقات و آموزش تیرتاش و بذر رازیانه[8] و زوفا[9] از ارتفاعات علمده در غرب مازندران و برگ آویشن کوهی[10]، پونه کوهی[11]، مریم گلی بنفش[12]، نعناع گربه‌ای[13]، بادرنجبویه[14]، بادرنجبویه پُرپر[15] از ارتفاعات کوهستانی البرز حد فاصل نیالا تا سرخگریوه جمع آوری و به آزمایشگاه بخش شیمی مرکز تحقیقات و آموزش تیرتاش منتقل شد (جدول 1). گیاهان بعد ازشستشوی سطحی با هیپوکلریت سدیم 2% به مدت 5 دقیقه ضدعفونی و سپس با آب مقطر سترون سه مرتبه شسته شده (Alam *et al*., 2011; Al-Rahmah *et al*., 2011) و در شرایط آزمایشگاه، دور از تابش نور مستقیم آفتاب خشک شدند. اندام‌های گیاهی به تفکیک به وسیله آسیاب پودر و از الک 1مش عبور داده شدند (Al-Askar and Rashad, 2010).

---

[1]. *Laurus nobilis*
[2]. *Mentha piperita*
[3]. *Ruta graveolens*
[4]. *Origanum vulgare*
[5]. *Eucalyptus citriodora*
[6]. *Thymus vulgaris*
[7]. *Cuminum cuminum*
[8]. *Foeniculum vulgare*
[9]. *Hyssopus angustifolius*
[10]. *Thymus pubescens*
[11]. *Menth apulegium*
[12].*Salvia verticilata*
[13]. *Nepeta cataria*
[14]. *Melissa officinalis*
[15]. *Dracocephalum kotschyi*

جدول 1- گونه‌های گیاهی جمع آوری شده و استفاده شده در این تحقیق

| نام فارسی | نام علمی | خانواده | محل جمع آوری | اندام مورد بررسی |
|---|---|---|---|---|
| توتون | *Nicotiana tabaccum* | Solanaceae | مرکز تحقیقات تیرتاش | برگ |
| رازیانه | *Foeniculum vulgare* | Apiaceae | ارتفاعات علمده | بذر |
| آویشن کوهی | *Thymus pubescens* | Laminaceae | ارتفاعات نیالا تا سرخگریوه | برگ |
| پونه کوهی | *Mentha pulegium* | Laminaceae | ارتفاعات نیالا تا سرخگریوه | برگ |
| مریم گلی بنفش | *Salvia verticilata* | Laminaceae | ارتفاعات نیالا تا سرخگریوه | برگ و گل |
| نعناع گربه‌ای | *Nepeta cataria* | Laminaceae | ارتفاعات نیالا تا سرخگریوه | برگ و گل |
| بادرنجبویه | *Melissa officinalis* | Laminaceae | ارتفاعات نیالا تا سرخگریوه | برگ و گل |
| بادرنجبویه پرپر | *Dracocephalum kotschyi* | Laminaceae | ارتفاعات نیالا تا سرخگریوه | برگ |
| زوفا | *Hyssopus angustifolius* | Laminaceae | ارتفاعات علمده | برگ و گل |

**استخراج عصاره‌های گیاهی**

برای تهیه عصاره آبی، 5 گرم از بافت آسیاب شده در 100 میلی لیتر آب مقطر مخلوط و به مدت 1ساعت در حمام آب گرم قرار داده شد. این مخلوط به مدت 24 ساعت در محیط آزمایشگاه نگهداری و پس از اختلاط مجدد، عصاره استحصالی با استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره 1 صاف شده و به منظور تبخیر آب در آون در دمای 55/5 درجه سلسیوس قرار داده شد (Azimi *et al*., 2006). جهت تهیه عصاره استونی و هگزان، 5گرم از بافت آسیاب شده در 100 میلی لیتر استون یا هگزان ریخته شده و به مدت 24 ساعت در دمای 20 درجه سلسیوس روی شیکر قرار داده شد. عصاره‌ها جهت جدا شدن حلال به مدت 24 ساعت در زیر هود قرار داده شده و سپس در دمای 20 درجه سلسیوس نگهداری شدند (Shariff *et al*., 2006). برای تهیه عصاره متانولی، 5 گرم از بافت آسیاب شده در 100 میلی لیتر متانول به مدت 24 ساعت در دمای 20 درجه سلسیوس روی شیکر قرار داده شده و سپس 75 میلی لیتر از محلول را برداشته، 25 میلی لیتر آب مقطر سترون به آن اضافه شد تا حجم آن به 100 میلی لیتر برسد، سپس هم حجم با آن هگزان اضافه شد. این مخلوط به مدت 2ساعت روی شیکر قرار داده شده و بخش‌های مختلف به کمک دکانتور جدا و بخش متانولی جهت تبخیر متانول و استحصال عصاره در زیر هود قرار داده شد. برای تهیه عصاره اتانولی، از همان روش عصاره‌گیری با متانول استفاده شد با این تفاوت که در این مورد از هگزان استفاده نشد (Bahraminejad *et al*., 2011).

**ارزیابی اثر بازدارندگی از رشد قارچ**

جدایه Fo32 قارچ *Fusarium oxysporum* f.sp. *nicotianae* از کلکسیون بخش گیاهپزشکی مرکز تحقیقات و آموزش تیرتاش تهیه شد. جهت ارزیابی اثر ضد قارچی عصاره‌های استحصال شده با استفاده از روش اختلاط با محیط کشت مورد استفاده قرار گرفت. غلظت‌های مختلف شامل 0، 1000 و 2000 قسمت در میلیون از عصاره‌های گیاهان مذکور تهیه و به محیط کشت سیب‌زمینی دکستروز آگاراضافه شد. قطر پرگنه قارچ تا زمانی که سطح محیط

کشت در تشتک‌های شاهد اشغال شود در ساعات معین (8 و 16) اندازه‌گیری شد (Yanar *et al.*, 2011). درصد بازداری از رشد قارچ با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد (Anil Sehajpal *et al.*, 2009; Dissanayake and Kumari, 2012).

$$\text{درصد بازدارندگی} = \frac{\text{قطر پرگنه تیمار} - \text{قطر پرگنه شاهد}}{\text{قطر پرگنه شاهد}} \times 100$$

آزمایش با 135 تیمار در قالب طرح کاملاً تصادفی به روش فاکتوریل با 3 عامل گونه گیاهی، حلال و غلظت در پنج تکرار انجام شد. حداقل غلظت قارچ ایستایی عصاره‌های گیاهی توتون، نعناع گربه‌ای، آویشن کوهی، رازیانه، بادرنجبویه پُرپر و زوفا از رشد قارچ طبق روش مارچتی و همکاران[1] (2000) محاسبه شد. همچنین غلظتی که باعث باعث 50 درصد بازدارندگی[2] رشد میسیلیومی قارچ می‌شود با بهره‌گیری از آنالیز پروبیت[3] نرم افزار SPSS ver. 16 محاسبه گردید.

به منظور بررسی ویژگی قارچ‌کشی[4] عصاره‌های گیاهی، دیسک قارچی تیمارهایی که رشد قارچی در آنها مشاهده نگردید به محیط کشت سیب زمینی دکستروز آگار واکشت شد و رشد یا عدم رشد قارچ پس از یک هفته بررسی گردید.

**شناسایی ترکیبات عمده عصاره‌های گیاهی مورد آزمایش**

خالص‌سازی عصاره گیاهان مورد بررسی با روش تقطیر در خلا انجام شده و با استفاده از روش کروماتوگرافی گازی کوپل شده با دتکتور جرمی ترکیبات مؤثر بر عوامل مورد نظر شناسایی شدند. به این منظور عصاره گیاهان به دستگاه GC-MS (Shimadzu-GC/MS-SP 2010, Japan) تزریق شده و طیف جرمی ترکیب‌ها بر اساس شاخص بازداری[5] و مقایسه طیف جرمی آنها با ترکیب‌های پیشنهادی کتابخانه دستگاه انجام گرفت. درصد هر ترکیب با توجه توجه به سطح زیر منحنی آن در طیف کروماتوگرام حاصل از دستگاه کروماتوگرافی گازی با روش نرمال کردن سطح منحنی و بدون محاسبه عامل تصحیح صورت گرفت (Adams, 1995).

## نتایج و بحث

**اثر بازدارندگی عصاره‌های گیاهی بر رشد میسیلیومی پرگنه قارچ**

نتایج تجزیه واریانس قطر پرگنه قارچ عامل پژمردگی فوزاریومی توتون تحت تأثیر عصاره های مختلف گیاهی نشان داد که بین تیمارها اختلاف معنی‌داری وجود دارد (جدول 2). مقایسه میانگین اثرات متقابل عصاره‌های گیاهی، حلال و غلظت بر درصد بازدارندگی از رشد میسیلیوم قارچ فوزاریوم نشان داد(جدول 3) که عصاره نعناع گربه‌ای

[1]. Marchetti *et al*.
[2]. EC50: Half Maximal Effective Concentration
[3]. probit
[4]. Fungicide
[5]. Retention index

در غلظت‌های 1000 و 2000 قسمت در میلیون عصاره‌گیری شده توسط همه حلال‌ها و عصاره‌های توتون و آویشن کوهی با حلال‌های هگزان، اتانول و متانول در غلظت‌های 1000 و 2000 قسمت در میلیون با 100درصد کنترل بیشترین و عصاره آبی پونه کوهی و مریم گلی با غلظت‌های 1000 قسمت در میلیون با 13 درصد کمترین اثر بازدارندگی را داشت. در اکثر غلظت‌ها و حلال‌های مشابه، اثر بازدارندگی زوفا از بادرنجبویه‌پرپر و رازیانه بیشتر بود.

جدول 2-خلاصه تجزیه واریانس قطر هاله بازدارنده رشد قارچ *Fusarium oxysporum* f.sp. *nicotianae* در اثر اعمال عصاره‌های گیاهی

| منابع تغییرات | درجه آزادی | میانگین مربعات |
|---|---|---|
| عصاره‌های گیاهی | 8 | 27015** |
| حلال | 4 | 1958** |
| غلظت | 2 | 300795** |
| گیاه× حلال | 32 | 461** |
| گیاه× غلظت | 16 | 6777** |
| غلظت × حلال | 8 | 496** |
| گیاه× حلال× غلظت | 64 | 118** |
| خطای آزمایشی | 540 | 1/4 |
| کل | 674 | |
| ضریب تغییرات (درصد) | | 2/8 |

**معنی دار در سطح احتمال 1 درصد

عصاره متانولی توتون با غلظت 1000 قسمت در میلیون اثر بازدارندگی بیشتری نسبت به عصاره استونی و آبی با غلظت 2000 قسمت در میلیون داشت. برای عصاره متانولی گیاهان رازیانه، بادرنجبویه‌پرپر، زوفا، پونه کوهی، بادرنجبویه و مریم گلی هم به همین ترتیب بود. همچنین عصاره اتانولی گیاهان رازیانه، بادرنجبویه‌پرپر، زوفا، پونه کوهی، بادرنجبویه و مریم گلی با غلظت 1000 قسمت در میلیون اثر بازدارندگی بیشتری نسبت به عصاره هگزانی، استونی و آبی با غلظت 2000 قسمت در میلیون داشت. این موضوع بیانگر اثر بیشتر حلال‌ها نسبت به غلظت می-باشد.

جدول 3-درصد بازدارندگی قطر پرگنه قارچ *Fusarium oxysporum* f.sp. *nicotianae* تحت تاثیر غلظت‌های مختلف از عصاره تهیه شده با چند حلال گیاهان مورد بررسی

| گیاه | حلال با غلظت (قسمت در میلیون) | درصد بازدارندگی | گیاه | حلال با غلظت (قسمت در میلیون) | درصد بازدارندگی |
|---|---|---|---|---|---|
| | عصاره متانولی 2000 | 100[a] | | عصاره متانولی 2000 | 71/6[gh] |
| | عصاره اتانولی 2000 | 100[a] | | عصاره اتانولی 2000 | 61/2[k] |
| | عصاره هگزانی 2000 | 100[a] | | عصاره هگزانی 2000 | 57[lm] |
| | عصاره استونی 2000 | 100[a] | | عصاره استونی 2000 | 53[mn] |
| | عصاره آبی 2000 | 100[a] | | عصاره آبی 2000 | 47[p] |
| | عصاره متانولی 1000 | 100[a] | | عصاره متانولی 1000 | 64[j] |
| | عصاره اتانولی 1000 | 100[a] | | عصاره اتانولی 1000 | 60/2[kl] |
| نعناع گربه ای | عصاره هگزانی 1000 | 100[a] | رازیانه | عصاره هگزانی 1000 | 56/6[lm] |
| | عصاره استونی 1000 | 100[a] | | عصاره استونی 1000 | 52[mn] |
| | عصاره آبی 1000 | 100[a] | | عصاره آبی 1000 | 42[q] |
| | عصاره متانولی 0 | 0[z] | | عصاره متانولی 0 | 0[z] |
| | عصاره اتانولی 0 | 0[z] | | عصاره اتانولی 0 | 0[z] |
| | عصاره هگزانی 0 | 0[z] | | عصاره هگزانی 0 | 0[z] |
| | عصاره استونی 0 | 0[z] | | عصاره استونی 0 | 0[z] |
| | عصاره آبی 0 | 0[z] | | عصاره آبی 0 | 0[z] |
| | عصاره متانولی 2000 | 100[a] | | عصاره متانولی 2000 | 77[de] |
| | عصاره اتانولی 2000 | 100[a] | | عصاره اتانولی 2000 | 72/8[g] |
| | عصاره هگزانی 2000 | 100[a] | | عصاره هگزانی 2000 | 67[i] |
| | عصاره استونی 2000 | 88/8[b] | | عصاره استونی 2000 | 57[lm] |
| | عصاره آبی 2000 | 88[b] | | عصاره آبی 2000 | 51/4[no] |
| | عصاره متانولی 1000 | 100[a] | | عصاره متانولی 1000 | 76[def] |
| توتون | عصاره اتانولی 1000 | 100[a] | بادرنجبویه- | عصاره اتانولی 1000 | 71/6[gh] |
| | عصاره هگزانی 1000 | 100[a] | پرپر | عصاره هگزانی 1000 | 61/2[k] |
| | عصاره استونی 1000 | 87/2[b] | | عصاره استونی 1000 | 56/4[lm] |
| | عصاره آبی 1000 | 83[c] | | عصاره آبی 1000 | 51/4[no] |
| | عصاره متانولی 0 | 0[z] | | عصاره متانولی 0 | 0[z] |
| | عصاره اتانولی 0 | 0[z] | | عصاره اتانولی 0 | 0[z] |
| | عصاره هگزانی 0 | 0[z] | | عصاره هگزانی 0 | 0[z] |
| | عصاره استونی 0 | 0[z] | | عصاره استونی 0 | 0[z] |
| | عصاره آبی 0 | 0[z] | | عصاره آبی 0 | 0[z] |

ادامه جدول 3

| گیاه | حلال با غلظت (قسمت در میلیون) | درصد بازدارندگی | گیاه | حلال با غلظت (قسمت در میلیون) | درصد بازدارندگی |
|---|---|---|---|---|---|
| زوفا | عصاره متانولی 2000 | 78/4$^{d}$ | پونه‌کوهی | عصاره متانولی 2000 | 38$^{rs}$ |
| | عصاره اتانولی 2000 | 76/4$^{def}$ | | عصاره اتانولی 2000 | 27/2$^{t}$ |
| | عصاره هگزانی 2000 | 64/8$^{j}$ | | عصاره هگزانی 2000 | 24/4$^{u}$ |
| | عصاره استونی 2000 | 61/2$^{k}$ | | عصاره استونی 2000 | 19/2 $^{w}$ |
| | عصاره آبی 2000 | 56/6$^{lm}$ | | عصاره آبی 2000 | 15/2$^{xy}$ |
| | عصاره متانولی 1000 | 77$^{de}$ | | عصاره متانولی 1000 | 33/2$^{st}$ |
| | عصاره اتانولی 1000 | 74$^{f}$ | | عصاره اتانولی 1000 | 27/2$^{t}$ |
| | عصاره هگزانی 1000 | 64$^{j}$ | | عصاره هگزانی 1000 | 23/6$^{uv}$ |
| | عصاره استونی 1000 | 58/2$^{l}$ | | عصاره استونی 1000 | 17 $^{x}$ |
| | عصاره آبی 1000 | 56/6$^{lm}$ | | عصاره آبی 1000 | 13$^{y}$ |
| | عصاره متانولی 0 | 0$^{z}$ | | عصاره متانولی 0 | 0$^{z}$ |
| | عصاره اتانولی 0 | 0$^{z}$ | | عصاره اتانولی 0 | 0$^{z}$ |
| | عصاره هگزانی 0 | 0$^{z}$ | | عصاره هگزانی 0 | 0$^{z}$ |
| | عصاره استونی 0 | 0$^{z}$ | | عصاره استونی 0 | 0$^{z}$ |
| | عصاره آبی 0 | 0$^{z}$ | | عصاره آبی 0 | 0$^{z}$ |
| بادرنجبویه | عصاره متانولی 2000 | 67$^{i}$ | مریم‌گلی | عصاره متانولی 2000 | 29$^{t}$ |
| | عصاره اتانولی 2000 | 61/2$^{k}$ | | عصاره اتانولی 2000 | 26/6$^{tu}$ |
| | عصاره هگزانی 2000 | 39/8$^{r}$ | | عصاره هگزانی 2000 | 24/4$^{u}$ |
| | عصاره استونی 2000 | 37/4$^{rs}$ | | عصاره استونی 2000 | 22/6$^{uv}$ |
| | عصاره آبی 2000 | 33/2$^{st}$ | | عصاره آبی 2000 | 17 $^{x}$ |
| | عصاره متانولی 1000 | 67$^{i}$ | | عصاره متانولی 1000 | 27/2$^{t}$ |
| | عصاره اتانولی 1000 | 58/2$^{l}$ | | عصاره اتانولی 1000 | 26/6$^{tu}$ |
| | عصاره هگزانی 1000 | 37/4$^{rs}$ | | عصاره هگزانی 1000 | 22/6$^{uv}$ |
| | عصاره استونی 1000 | 35$^{s}$ | | عصاره استونی 1000 | 20/6$^{w}$ |
| | عصاره آبی 1000 | 32$^{st}$ | | عصاره آبی 1000 | 13$^{y}$ |
| | عصاره متانولی 0 | 0$^{z}$ | | عصاره متانولی 0 | 0$^{z}$ |
| | عصاره اتانولی 0 | 0$^{z}$ | | عصاره اتانولی 0 | 0$^{z}$ |
| | عصاره هگزانی 0 | 0$^{z}$ | | عصاره هگزانی 0 | 0$^{z}$ |
| | عصاره استونی 0 | 0$^{z}$ | | عصاره استونی 0 | 0$^{z}$ |
| | عصاره آبی 0 | 0$^{z}$ | | عصاره آبی 0 | 0$^{z}$ |

میانگین‌هایی که دارای حروف مشابه هستند در سطح احتمال 1 درصد اختلاف معنی دار ندارند

عصاره‌های آبی توتون در غلظت‌های 2/5 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر (2500 قسمت در میلیون) و بالاتر و نعناع-گربه‌ای در غلظت 2 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر (2000 قسمت در میلیون) و بالاتر وآویشن‌کوهی، رازیانه، بادرنجبویه پرپر و زوفا در غلظت 3 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر (3000 قسمت در میلیون) به طور کامل از رشد میسیلیوم قارچ فوزاریوم جلوگیری کرد (جدول 4) حداقل غلظت بازدارندگی عصاره‌های استونی توتون و نعناع گربه‌ای بر قارچ بیماری‌زای مورد بررسی 2/5 و 1/5میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و حداقل غلظت بازدارندگی عصاره اتانولی و متانولی توتون و نعناع گربه‌ای بر قارچ بیماری‌زای مورد بررسی 1/5 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. حداقل غلظت بازدارندگی عصاره متانولی آویشن کوهی بر قارچ مورد بررسی 2 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و رازیانه، زوفا و بادرنجبویه پرپر 3 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. *سلیمان* در سال 2011 در نیجریه گزارش کرد که عصاره برگ توتون و چریش روی قارچ‌های بیماری‌زای گوجه‌فرنگی اثر بازدارندگی دارد و عصاره توتون در مقایسه با چریش، قارچ‌های *Aspergillus viridae* و *Penicillium digitatum* را بهتر مهار می‌کند در حالی‌که در مورد قارچ رایزوپوس برعکس می‌باشد (Suleiman, 2011).

جدول4-حداقل غلظت بازدارندگی کامل عصاره‌های گیاهی (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) بر رشد پرگنه قارچ

| گیاه | آب | استون | هگزان | اتانول | متانول |
|---|---|---|---|---|---|
| توتون | 2/5 | 2/5 | 2/5 | 1/5 | 1/5 |
| نعناع گربه‌ای | 2 | 1/5 | 1/5 | 1/5 | 1/5 |
| آویشن کوهی | 3 | 3 | 2 | 2 | 2 |
| رازیانه | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| بادرنجبویه پرپر | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| زوفا | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 |

عصاره هگزانی، اتانولی و متانولی نعناع گربه‌ای و عصاره متانولی و اتانولی توتون در جلوگیری از رشد قارچ فوزاریوم، کمترین بازدارندگی 50 درصد رشد میسیلیومی قارچ را داشته و عصاره همه حلال‌های زوفا روی قارچ مورد بررسی، بازدارندگی 50 درصد رشد میسیلیومی بیشتری نشان داد (جدول 5).

نتایج به دست آمده از واکشت دیسک‌های قارچی که در تیمارهای عصاره‌های گیاهی رشد قارچی نداشتند نشان داد که در غلظت‌های مورد نظر عصاره‌های گیاهی نعناع گربه‌ای و توتون، رشد نکردند که این حالت نشان دهنده فعالیت قارچکشی عصاره‌های گیاهی نعناع‌گربه‌ای و توتون می‌باشد ولی در خصوص عصاره آویشن‌کوهی، با توجه به رشد قارچ، نشان‌دهنده خاصیت قارچ ایستایی بود.

جدول 5- غلظت عصاره‌های گیاهی (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) برای بازدارندگی 50 درصد رشد میسیلیومی (EC50) قارچ در شرایط آزمایشگاه

| گیاه | آب | استون | هگزان | اتانول | متانول |
|---|---|---|---|---|---|
| توتون | 0/7 | 0/7 | 0/6 | 0/5 | 0/5 |
| نعناع گربه‌ای | 0/7 | 0/6 | 0/6 | 0/5 | 0/5 |
| آویشن کوهی | 0/9 | 0/9 | 0/9 | 0/7 | 0/7 |
| رازیانه | 1/1 | 1/1 | 1/1 | 1/1 | 1/1 |
| بادرنجبویه پرپر | 1/8 | 1/8 | 1/8 | 1/8 | 1/8 |
| زوفا | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 |

*اوبونگویا و همکاران* در سال 2010 اثرات عصاره‌های گیاهان چریش[1]، توتون[2]، جعفری مکزیکی[3] و پروانش[4] را بر روی قارچ خاکزی بیماری‌زای لوبیا[5] در کنیا بررسی نمودند. عصاره گیاه چریش بیشترین اثر و گیاه پروانش کمترین اثر را در بازدارندگی رشد قارچ داشتند. یک فرمولاسیون تجاری CH100 محتوی عصاره‌های برگ توتون و کلم برای کنترل تعدادی از بیماری‌های گیاهی از جمله سفیدک پودری خیار به ثبت رسیده است (Huang, 1994).

**ترکیبات عمده عصاره‌های گیاهی مورد آزمایش**

حساسیت گونه‌های قارچی بسته به نوع عصاره‌هاوغلظت‌های گوناگون آن متفاوت است. تفاوت در فعالیت ضد قارچی عصاره‌های گیاهی به ترکیب آن‌ها بستگی دارد. یک ترکیب ممکن است به تنهایی یا به صورت تشدید کنندگی با سایر ترکیب‌ها فعالیت ضد قارچی عصاره را باعث شود (Plotto *et al.*, 2003). ترکیبات منتانول و منتول به ترتیب با 36/2% و 32/4% بیشترین میزان متابولیت ثانویه موجود در عصاره گیاهی نعناع گربه‌ای می‌باشند. با توجه به اینکه این ترکیبات خاصیت ضدقارچی دارند (Abdolmaleki *et al.*, 2011) بنابراین می‌توان این ترکیبات را به تنهایی و یا در تعامل با یکدیگر به عنوان عامل مؤثر در خاصیت ضدقارچی نعناع گربه‌ای مورد بررسی قرار داد. ترکیبات شیمیایی در عصاره آویشن کوهی شامل: تیمول (38/73%)، آنتول ترانس (4/5%)، نوننال (1/1%) و کارواکرول (2/03%) بود (جدول 6). کارواکرول موجب آشفتگی در غشای پلاسمایی، نشت درون سلولی ATP و یون‌های پتاسیم و در نهایت مرگ سلول بیمارگر می‌شود (Foroughi *et al.*, 2013) بنابراین شاید بتوان فعالیت‌های آنتی اکسیدانی و ضدمیکروبی عصاره آویشن کوهی را به حضور این ترکیبات نسبت داد. وجود ترکیبات ثانویه از دسته مونو و سسکویترپن‌ها مانند تیمول، کارواکرول و گاما-تریپنن موجب خاصیت ضدقارچی عصاره‌های گیاهی می شود (Mahboubi *et al.*, 2007) که در این تحقیق آویشن کوهی با 38/73% بیشترین مقدار تیمول را در بین عصاره‌های گیاهی دارا بود.

[1]. *Azadirachta indica*
[2]. *Nicotiana tabacum*
[3]. *Tagetes minuta*
[4]. *Vincarosa*
[5]. *Fusarium oxysporum* f.sp. *Phaseoli*

جدول 6- نوع و درصد ترکیبات شیمیایی در عصاره‌های گیاهی

| Compound | RI* | Plant extracts | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Tobacco توتون | Fennel رازیانه | Thyme آویشن کوهی | Catmint نعناع گربه ای | Badrashbi بادرنجبویه پرپر | Hyssop زوفا |
| | | percentage, % | | | | | |
| *Alfa*-thujone | 926 | - | 4/3 | 0/5 | - | - | 0/09 |
| *Alfa*-pinene | 934 | - | - | 2/95 | - | - | 0/32 |
| β-pinene | 937 | - | - | 1/97 | 0/4 | - | 6/14 |
| sabinene | 961 | - | - | 0/76 | - | - | 0/48 |
| myrcene | 981 | - | 0/1 | 2/5 | 0/1 | - | 1/26 |
| limonen | 1039 | 0/81 | 3/1 | - | 0/3 | 15/8 | 0/71 |
| fenchone | 1071 | - | 7/2 | - | - | - | - |
| linalool | 1089 | - | 0/29 | 0/6 | - | - | - |
| Silane | 1098 | 1/7 | 2/2 | 3/5 | 3/4 | 1/1 | - |
| nonenal | 1103 | - | - | 1/1 | 0/9 | 1/2 | - |
| camphor | 1151 | - | 0/4 | - | 0/4 | - | - |
| menthol | 1152 | - | - | - | 32/4 | - | - |
| pinocamphene | 1161 | - | 3 | - | - | - | 10/4 |
| ninenal | 1162 | - | - | - | 0/32 | - | - |
| menthanol | 1180 | - | - | - | 36/2 | - | - |
| neral | 1221 | - | - | - | - | 3/1 | - |
| estragol | 1224 | - | 3 | - | - | - | - |
| geraniol | 1226 | - | - | 4/6 | - | 2/7 | - |
| carvacrol | 1245 | - | - | 2/03 | 0/5 | 2/9 | - |
| Anisaldehyde | 1256 | - | 0/5 | - | - | - | - |
| pipertenone | 1266 | - | - | - | 1/7 | - | - |
| Anethole trans | 1279 | - | 75/8 | 4/5 | - | - | - |
| thymol | 1294 | - | - | 38/73 | 2/3 | 10/5 | - |
| nicotine | 1367 | 2/91 | - | - | - | - | - |
| Caryophyllen | 1424 | - | - | - | 0/4 | 11/3 | 5/17 |
| Globulol | 1518 | 18/1 | - | - | - | 6/1 | - |
| Anthracene | 1797 | 0/06 | - | - | - | 2/1 | - |
| Thunbergol | 2066 | 0/52 | - | - | - | - | - |
| phytol | 2124 | 2/68 | - | - | - | - | - |

***:** Retention index

تعدادی از ترکیبات با خواص آنتی اکسیدانی به عنوان فرآورده‌های ثانویه توسط گیاهان ساخته می شود که از جمله می توان به ترکیبات فنولی اشاره نمود که در مواجه گیاهان با گونه‌های فعال اکسیژن تولید می‌شود. فرایند اثر ضدقارچی گیاه به واسطه ترکیبات آنتی اکسیدانی می‌تواند از طریق آسیب به DNA، میتوکندری، آسیب به دیواره سلولی و نهایتاً مرگ میکروارگانسیم باشد (Yahya-abadi *et al*., 2011).

ترپن‌ها با فرمول عمومی $(C_5H_8)_n$ ترکیب غالب یا ماده موثره اکثر اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی می‌باشند. ترپن‌ها خود به چندین گروه مونوترپن‌ها ($C_{10}H_{16}$)، سزکوئی‌ترپن‌ها ($C_{15}H_{24}$)، دی‌ترپن‌ها ($C_{20}H_{32}$)، تری‌ترپن‌ها ($C_{30}H_{64}$)، و تتراترپن‌ها ($C_{40}H_{64}$) تقسیم می‌شوند که ترکیبات مهمی چون تیمول، اوگنول[1] و کارواکرول جزو فنل-های مونوترپن[2] محسوب می‌شوند. ساختمان شیمیایی ترکیبات اخیر مرکب از 10 کربن و ماهیت ضد میکروبی آنها به سبب گروه هیدروکسیل در ساختمان شیمیایی آنها است. نوع استقرار گروه هیدروکسیل روی حلقه فنلی موجب شده است ترکیبات کارواکرول، تیمول و ... از یکدیگر متمایز گردند. مواد مذکور به طور ملایم سمی هستند (Hasanzadeh, 2005). بنابراین می‌توان خاصیت ضدقارچی عصاره گیاهان نعناع گربه‌ای، آویشن کوهی و بادرنجبویه‌پرپر را به این ترکیبات نسبت داد.

مشتقات ترپن‌ها نظیر ژرانیول، منتول و کامفور را ترپنویید[3] می‌گویند. این ترکیبات جزو متابولیت‌های ثانویه گیاهان و دارای ساختمان الکلی هستند (Hasanzadeh, 2005). منتول به فراوانی در نعناع گربه‌ای (32/4%) وجود دارد.

خاصیت ضدقارچی عصاره گیاهی توتون را می‌توان به ترکیبات نیکوتین (2/91%)، سایلن (1/7%)، فیتول (2/68%) و گلوبولول (18/1%) نسبت داد. در تحقیقی با محلول‌پاشی نیکوتین به نسبت یک در هزار به بوته‌های توتون موجب مهار 71/62% روی قارچ‌های خاکزی بیماری‌زای توتون (*Rhizoctonia solani* و *Phytophthora nicotianae*) شدند (Sajjadi *et al*., 2014). در تحقیقی دیگر خواص ضدقارچی اکالیپتوس در مهار *Aspergillus flavus* به حضور گلوبولول و سایلن و سایرترکیبات شیمیایی نسبت داده شده است (Al-Rahmah *et al*., 2011). در تحقیقی با بررسی اثرات ضدقارچی پروتئین اسموتین[4] برگ توتون رقم Wisconsin 38 نسبت به 18 قارچ بیماری‌زا، گونه‌های مختلف قارچ‌های *Phytophthora* spp.، *Fusarium* spp. و *Bipolaris* spp. را حساس گزارش کردند و مکانیزم عمل را افزایش نفوذپذیری غشا پلاسمایی قارچ معرفی نمودند (Abad *et al*., 1995).

خاصیت ضدقارچی عصاره گیاهی رازیانه را می‌توان به ترکیبات آنتول‌ترانس (75/8%)، سایلن (2/2%)، فنچون (7/2%)، لمونن (3/1%) و استراگول (3%) نسبت داد. در تحقیقی خواص ضدمیکروبی، ضدقارچی و آنتی‌اکسیدانی رازیانه به حضور آنتول‌ترانس (61%)، فنچون (9/2%)، لمونن (5/1%) و استراگول (12%) و سایر ترکیبات شیمیایی نسبت داده شده است (Shahat *et al*., 2011).

---

[1]. Eugenol (2-methoxy-4-(2-propenyl)phenol)
[2].monoterpenic phenols
[3].terpenoid
[4]. Osmotin

خاصیت ضدقارچی عصاره گیاهی زوفا را می‌توان به ترکیبات پینوکامفن (10/4%)، سابینن (0/48%)، میرسن (1/26%)، لمونن (0/71%) و بتاپینن (6/14%) نسبت داد. در خصوص ترکیبات غیر فنلی چون لمونن فعالیت‌های ضدمیکروبی آن‌ها به سبب وجود گروه آلکالیل است (Hasanzadeh, 2005). لمونن در عصاره گیاهان نعناع گربه‌ای، توتون، رازیانه، بادرنجبویه‌پرپر و زوفا وجود داشت که بیشترین مقدار در بادرنجبویه‌پرپر با 15/8% بود. در تحقیقاتی بیان شد که برخی از عصاره‌های گیاهی به جهت خاصیت آب گریزی و ترکیباتی که در آن‌ها موجود است موجب مهارکنندگی قارچ‌ها می‌شوند. این خاصیت موجب می‌شود که آن‌ها بتوانند در غشای دیواره سلولی قارچ و میتوکندری نفوذ کنند و اختلال در ساختار آن‌ها شده و موجب نشت یونی به خارج سلولی و در نهایت مرگ آن شوند (Burt, 2004). گروهی از محققان اعتقاد دارند که ترکیبات ضدمیکروبی روغن‌های اسانس موجود در عصاره-های گیاهی با عبور از غشای سلولی و در تعامل باآنزیم‌ها وپروتئین‌های غشایی، موجب نشت پروتون به سمت بیرونی سلول شده که باعث تغییر درسلول و در نهایت مرگ آن‌ها می‌شود (Al-Rahmah *et al*., 2011).

نتایج این تحقیق نشان از پتانسیل بالای عصاره متانولی توتون، نعناع گربه‌ای و آویشن کوهی در مهار زیستی قارچ عامل پژمردگی فوزاریومی توتون دارد. امید است این عصاره‌ها به عنوان ترکیبات دوستدار طبیعت جایگزین سموم شیمیایی گردد تا محصول سالم‌تر به دست مصرف‌کننده برسد.

**سپاسگزاری**

بدین وسیله از مدیریت و معاونت محترم پژوهشی مرکز تحقیقات و آموزش تیرتاش به خاطر مساعدت در اجرای طرح نهایت قدردانی و تشکر می شود و همچنین از زحمات سایر همکاران تقدیر و تشکر می‌شود.

**References**


1. Abad LR, DUrzo MP, Liu D, Narasimban ML, Reuveni, M, Zhu JK, Niu, X, Singh NK, Hasegawa PM and Bressan RA. 1996. Antifungal activity of tobacco osmotin has specificity and involves plasma membrane permeabilization. Plant Science 118:11–23.
2. Abdolmaleki M, Salari M, Bahraminejad S, Abbasi S and Panjehkeh N. 2008. Antifungal activity of cinnamon (*Cinnamum zelanicum*) crude extracts against some phytopathologenic fungi. Iranian Journal of Plant Pathology 44 (3): 255–261.
3. Abdolmaleki M, Bahraminejad S, Salari M, Abbasi S and Panjehkeh N. 2011. Study of antifungal effect *Mentha piperita* L. on plant pathogen fungi. Medical Plants 38: 26–34.
4. Abdolmaleki M, Bahraminejad S and Abbasi S. 2011. Study of antifungal effects of some of plant extracts for four plant pathogen fungi. Medical Plants 38: 148–155.
5. Al-Askar AA and Rashad YM. 2010. Efficacy of some plant extracts against *Rhizoctonia solani* on Pea. Journal of Plant Protection Research 50(3): 239–243.
6. Adams RP. 1995. Identification of essential oil components by gas chromatography/ mass spectroscopy. Allured Publishing. Carol Stream, 404p.
7. Alam A, Tripathi A, Vats S, Behera KK and Sharma V. 2011. *In vitro* antifungal efficacies of aqueous extract of *Dumortiera hirsuta* (Swaegr.) Nees against sporulation and growth of postharvest phytopathogenic fungi. Archive for Bryology 103: 1–9.
8. Al-Rahmah N, Mostafa A and Abdel-Megeed A. 2011. Antifungal and antiaflatoxigenic activities of some plant extracts. African Journal of Microbiology Research 5(11):1342–1348.
9. Amadioha, AC. 2000. Controlling rice blast *in vitro* and *in vivo* with extracts of *Azadirachta indica*. Crop Protection 19(1): 287–290.
10. Anonymous. 2012. Statistical repertoire of Iranian Tobacco Company. 52 p. (In Persian).
11. Aye SS and Matsumoto M. 2010. Effect of some plant extracts on *Rhizoctonia* spp. and *Sclerotium hydrophilum*. Journal of Medicinal Plants Research 5(16): 3751–3758.
12. Azadbakht M. 1999. Taxonomy of Medical Plants. Tehran: Teymorzadeh Publications Institute. 401 pp
13. Azimi AA, Delnavaz HB and Mansour GA. 2006. Antifungal effect of aqueous alcoholic and phenolic extracts of seed and leaves of *Sorghum bicolour* against *Fusarium solani*, *Fusarium poa* in Persian. Medical Plants 6(1): 26–32.
14. Bahraminejad S, Abbasi S and Fazlali M. 2011. *In vitro* antifungal activity of 63 Iranian plant species against three different plant pathogenic fungi. African Journal of Biotechnology 10(72): 16193–16201.
15. Burt S. 2004. Essential oils: their antimicrobial properties and potential applications in foods- a review. International Journal of Food Microbiology 94(1): 223–253.
16. Dissanayake MLMC and Kumari WKMT. 2012. Efficacy of various plant extracts to control *Fusarium* wilt of *Polyscias balfouriana* variety Marginata, Asian Journal Experimental Biological Science 3(1): 129–135.
17. Foroughi M, Mohammadi S and Ghasemi A. 2013. Antifungal activity of five medical herbs on the plant pathogenic fungus *Rhizoctonia solani*. Journal of microbial World 5(3): 115–121.
18. Gupta SK and Tripathi SC. 2011. Fungitoxic activity of *Solanum torvum* against *Fusarium sacchari*. Plant Protection Science 47(3): 83–91.
19. Hasanzadeh N. 2005.Technological implication of natural products in plant diseases management with special emphasis on fire blight. Agriculture Science 1: 53–68.

20. Huang JW. 1994. Control of Chinese leek rust with a plant nutrient formulation. Plant Pathology 3(1): 9–17.
21. Joseph B, Ahmad Dar M and Kumar V. 2008. Bioefficacy of plant extracts to control *Fusarium solani* f.sp. *melongenae* incident of Brinjal Wilt. Global Journal of Biotechnology 3(2): 56–59.
22. Lee SO, Choi GJ, Jang KS, Lim HK, Cho KY and Kim JC. 2007. Antifungal activity of five plant essential oils as fumigant against postharvest and soilborne plant pathogenic fungi. Plant Pathology Journal 23(2): 97–102.
23. Lucas GB. 1975. Disease of Tobacco, 3rd edition, Biological consulting Associates, Releight, North Carolina. 621 p.
24. Mahboubi M, Feizabadi MM, Haghi K and Hossini H. 2007. Antimicrobial activity and chemical metabolites' of essential oil from *Oliveria decumbens* Vent. Iranian Journal of Medical and Aromatic Plants 24(1): 56–65 (In Persian).
25. Obongoya BO, Wagai SO and Odhiambo G. 2010. Phytotoxic effect of selected crude plant extracts on soil-borne fungi of common bean. African crop science Journal 18(1): 15–22.
26. Pirajno G, Scarito G and Salamone A. 2004. Fungistatic activity of essential oils of *Laurus nobilis, Mentha piperita*, and *Ruta graveolens* against *Rhizoctonia solani* Kuhn and *Fusarium oxysporum* (L) De Bary. Journal of Plant Pathology 84(4): 329–337.
27. Plotto A, Roberts D and Roberts R G. 2003. Evaluation of plant essential oils as natural postharvest disease control of Tomato (*Lycopersicon esculentum*). Acta Horticulturae 628: 737–745.
28. Sajjadi A and Assemi H. 2012. Evaluation of *Trichoderma* isolates for biocontrol of tobacco collar *Sclerotinia* rot in Golestan province. Iranian Journal of Applied plant protection 1(2): 73–84.
29. Sajjadi A, Hosseininejad A and Assemi H. 2012. Determination of damage of root knot nematode (*Meloidogyne incognita*) on some of tobacco commercial cultivar. Iranian Journal of Plant Pathology 80 (1): 13–22.
30. Sajjadi A and Assemi H. 2012. Identification of pathogenic soil-borne fungi of tobacco in Golestan province fields. Applied Plant Protection 1(3): 233–248.
31. Sajjadi A, Assemi H, Najafi M R and Moradi G. 2014. Study of effect some of plant extrctes on tobacco soilborne pathogen fungi. Annual Report, Tirtash Research and Education Center. 149–170.
32. Sehajpal A, Arora S and Kaur P. 2009. Evaluation of plant extracts against *Rhizoctonia solani* causing sheath blight of rice. The Journal of Plant Protection Sciences 1(1): 25–30.
33. Shahat A, Ibrahim A Y, Hendawy S F, Omer E A, Hammouda F M, Abdel-Rahman F H and Saleh M A. 2011. Chemical composition, Antimicrobial and Antioxidant activities of essential oil from organically cultivated fennel cultivars. Molecules, 16(1): 1366–1377.
34. Shariff N, Sudarshana M S, Umesha S and Hariprasad P. 2006. Antimicrobial activity of *Rauvolfia tetraphylla* and *Physalis minima* leaf and callus extracts. African Journal of Biotechnology 5(10): 946–950.
35. Suleiman MN. 2011. Antifungal properties of leaf extract of neem and tobacco on three fungal pathogens of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill). Advances in Applied Science Research 2 (4): 217–220.

36. Yanar Y, Gokce A, Kadioglu I, Cam H and Whalon, M. 2011. In vitro antifungal evaluation of various plant extracts against early blight disease (*Alternaria solani*) of potato. African Journal of Biotechnology 10(42): 8291–8295.
37. Yahya-abadi S, Zeabanejad E and Doudi M. 2011. Effect of plant extracts on growth of *Aspergillus* fungi. Journal of Herbal Drugs 2(1): 69–81.

# Study of antifungal activity of plant extracts on tobacco *Fusarium* wilt agent

A. Sajjadi*[1], H. Assemi[2]

Abstract

Tobacco *Fusarium* wilt is one of the most important tobacco diseases in the world being able to impose heavy losses. The disease control using plant extracts was considered as a safe and green method. The purpose of current research was to determine the antifungal activity of some plant extracts against *Fusarium oxysporum* f.sp. *nicotianae* prepared with different solvents. In this study, crude extracts of nine plant species including catmint (*Nepeta cataria*), tobacco (*Nicotiana tabacum*), thyme (*Thymus pubescens*), fennel (*Foeniculum vulgar*), hyssop (*Hyssopus officinalis*), Badrashbi (*Dracocephalum kotschyi*), Balm (*Melissa angustifolious*), Nepeta (*Mentha pulegium*) and Salvia (*Salvia verticilata*) was extracted by maceration method using water, acetone, hexane, ethanol, and methanol as solvents. These extracts were tested *in vitro* for antifungal activity against tobacco *Fusarium* wilt. The experiment was performed in factorial arrangement based on completely randomized design with three factors of plant, solvent and concentration and five replications. The minimum inhibitory concentration of each extract was determined by medium mixing method. The crude extracts of tobacco, catmint, thyme, fennel, hyssop and badrashbi had remarkable inhibitory effect on mycelial growth of fungus. The maximum inhibitory effect was observed in methanolic extracts. The most inhibitory concentration was 2000 ppm. The minimum inhibitory concentration of methanol extract of tobacco, catmint, thyme, fennel, badrashbi, and hyssop the fungus was 1.5, 1.5, 2, 3, 3, and 2.5 mg/ml, respectively. The results showed the high potential of the methanol extract of tobacco, catmint and thyme which could be used as a biological product against tobacco *Fusarium* wilt.

**Key words:** natural herbal products, biocontrol, *Fusarium oxysporum* f.sp. *nicotianae*.

[1] - Research Instructor, Department of Plant Protection, Tirtash Research and Education Center, Behshahr, Iran.

[2] - Research Associate Professor, Department of Plant Protection, Tirtash Research and Education Center, Behshahr, Iran.

*Corresponding author: sajjadi_a@yahoo.com