بررسی تاثیر برخی از عصاره‌های گیاهی بر روی بیماری ساق زخم توتون

The study of some plant extracts on tobacco Sore Shin disease

سید افشین سجادی[1*]، هدی عاصمی[1]، محمدرضا نجفی[1] و غلامرضا مرادی[2]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱/۲۲ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۴/۲۸

چکیده

عامل بیماری ساق زخم توتون، *Rhizoctonia solani* از عوامل مهم بیماری‌زای توتون است، که در تمام نقاط دنیا پراکنده بوده و می‌تواند موجب خسارت محصول در کشورهای تولیدکننده توتون گردد. یکی از روش‌های نوین کنترل بیماری‌های گیاهی استفاده از عصاره‌های گیاهی است. این طرح با هدف بررسی فعالیت ضد قارچی عصاره‌های گیاهی بر روی قارچ عامل ساق زخم توتون در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۷ تیمار و ۴ تکرار در مرکز تحقیقات و آموزش تیرتاش در سال ۱۳۹۳ اجرا شد. تیمارها شامل عصاره‌های نعناع گربه‌ای، توتون ارقام بارلی۲۱، کا۳۲۶ و باسما ۲-۱۷۸ با غلظت دو در هزار، نیکوتین با غلظت یک در هزار، قارچ‌کش تیوفانات متیل با غلظت ۲۵ گرم در ۱۰۰ لیتر آب و شاهد محلول‌پاشی با آب بود. نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر عصاره‌های گیاهی بر درصد کنترل قارچ عامل ساق زخم توتون در سطح احتمال ۱ بین تیمارهای مورد استفاده اختلاف معنی‌داری داشته است. مقایسه میانگین تیمارها نشان داد که قارچ‌کش تیوفانات متیل، عصاره‌های نعناع گربه‌ای و توتون رقم بارلی۲۱ به ترتیب با ۸۴/۹۵، ۷۸/۳۲ و ۷۳/۳ درصد کنترل بیش‌ترین تأثیر را در کنترل بیماری داشتند. بنابراین، عصاره گیاهان نعناع گربه‌ای و توتون می‌توانند به عنوان قارچ‌کش طبیعی جهت کنترل قارچ عامل بیماری ساق زخم توتون مورد کاربرد قرار گیرند.

واژگان کلیدی: *Rhizoctonia solani*، توتون، عصاره گیاهی

۱- محققین گروه گیاه‌پزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش تیرتاش، بهشهر، ایران

۲- محقق گروه شیمی مرکز تحقیقات و آموزش تیرتاش، بهشهر، ایران

نویسنده مسئول مکاتبات: sajjadi_a@yahoo.com

مقدمه

توتون (*Nicotiana tabacum* L.) از خانواده بادمجانیان و یکی از مهم‌ترین گیاهان زراعی است. سطح زیر کشت توتون سیگارت در سال ۱۳۹۳ در ایران برابر با ۶۱۰۰ هکتار و تولید برگ خشک آن ۱۱۰۰۰ تن بوده است (Anonymous, 2012). قارچ عامل بیماری ساق زخم توتون، *Rhizoctonia solani* از عوامل محدودکننده کشت توتون در تمام مناطق دنیا می‌باشد. این عامل بیماری‌زا با آلودگی ریشه، ساقه و برگ در هر مرحله از رشد گیاه سبب نکروز ریشه، پژمردگی، کلروز، زخم ساقه و کوتولگی گیاه می‌شود (Lucas, 1975). این قارچ ازگروه قارچ‌های ناقص دئوترومیست‌ها (Deuteromycetes) است و کنیدی تولید نمی‌کند (Mycelia Sterilia). علائم بیماری ابتدا بصورت لکه‌های آبسوخته کوچک در طوقه مشاهده شده و به سرعت قهوه‌ای تیره و فرورفته می‌شود. لکه می‌تواند کوچک مانده یا به طور کامل ساقه را احاطه کند. انشعابات ریسه‌ها (پیکر قارچ) قائم و در محل انشعابات ریسه‌ها فرورفتگی وجود دارد. ریسه‌ها درشت و دارای دیوار عرضی هستند. کلنی قارچ ابتدا سفید رنگ بوده ولی تدریجاً به رنگ کرم و سرانجام به رنگ قهوه‌ای تبدیل می‌شود. این قارچ به صورت ریسه درون مواد آلی خاک و یا اسکلروت (عضو مقاوم در شرایط نامساعد) زمستان‌گذرانی می‌کند (Lucas, 1975). کنترل این عامل بیماری‌زا با استفاده از آفت‌کش‌ها، تناوب زراعی، ارقام مقاوم، کنترل بیولوژیک، استفاده از عصاره‌های گیاهی و روغن‌ها و غیره انجام می‌شود؛ که در این میان استفاده از عصاره‌های گیاهی برای مدیریت این بیماری بر سایر روش‌ها ارجحیت دارد، هزینه بالای مبارزه شیمیایی و اثرات جانبی کاربرد آنها بخصوص آلودگی‌های زیست محیطی منجر به جایگزینی راهکارهای دیگر مدیریتی برای این بیماری شده است.

در تحقیقی قارچ‌های *R. solani*، *Fusarium oxysporum* f.sp *nicotianae*، *Phytophthora nicotianae*، *Macrophomina phaseolina*، *Pythium aphanidermatum* و *P. ultimum* را به ترتیب با فراوانی ۳۴/۹۲، ۳۱/۲۲، ۴/۲۲،۶۵/۷۹، ۲/۲ و ۲/۲ درصد از مزارع توتون استان گلستان جداسازی و شناسایی شدند. قارچ *R. solani* عامل بیماری ساق زخم گونه غالب قارچ بیماری‌زای مزارع توتون در استان گلستان می‌باشد (Sajjadi and Assemi, 2012).

یکی از روش‌های نوین جهت کنترل بیماری‌های گیاهی استفاده از مواد و ترکیبات طبیعی با منشا گیاهی است. اهمیت ترکیبات طبیعی گیاهان در کنترل انواع بیماری‌های گیاهی از جمله بیماری‌های قارچی، باکتریایی، ویروسی و نماتدها بسیار بارز و برجسته است. از یک سو برای تعدادی از عوامل بیماری‌زای خاکزاد و بذرزاد روش کنترل موثر و پایداری در دسترس نیست و از سوی دیگر، پیدایش پدیده مقاومت به انواع سموم سنتزی، مسمومیت‌های ناشی از مصرف سموم شیمیایی در جانوران، آبزیان و حشرات مفید و نیز اثرات منفی باقیمانده‌های سموم، مشکلات زیادی را برای سلامت انسان و محیط زیست فراهم آورده است. مزیت استفاده از خانواده جدید ترکیبات طبیعی بر علیه عوامل بیماری‌زای گیاهی، امکان سم‌پاشی در مراحل مختلف رشد و تجزیه سریع آن‌ها توسط عوامل بیولوژیک است. ماهیت ضدمیکروبی، افزایش توان دفاعی گیاه و جلوگیری از آلودگی‌های محیطی از دیگر مزایای مواد طبیعی جدید است (Hasanzadeh, 2005). ترکیب CH100 به‌عنوان یک فرمولاسیون تجاری محتوی عصاره‌های برگ توتون و کلم، برای کنترل تعدادی از بیماری‌های گیاهی از جمله سفیدک پودری خیار به ثبت رسیده است (Huang, 1994). در تحقیقی بیماری بلاست برنج با استفاده از اسید دی‌کلروایزونیکوتینیک عصاره برگ توتون، کنترل شد (Thieron *et al*., 1995). در پژوهشی گزارش شد که عصاره‌های گیاهی نعناع گربه‌ای (*Nepeta cataria*)، توتون و آویشن کوهی (*Thymus pubescens*) بر روی قارچ‌های بیماری‌زای توتون (*Rhizoctonia solani*، *Phytophthora nicotianae*) اثر بازدارندگی ۱۰۰ درصد در سطح آزمایشگاهی دارند. بیش‌ترین اثر بازدارندگی مربوط به عصاره استخراجی با حلال متانول بود. حداقل غلظت بازدارندگی عصاره متانولی توتون، نعناع گربه‌ای، آویشن کوهی بر قارچ‌های بیماری‌زای خاکزی توتون به ترتیب ۱/۵، ۱/۵ و ۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود (Sajjadi and Assemi, 2014).

در تحقیق دیگری با بررسی خواص ضدقارچی ۱۰ گونه گیاهی بر روی عامل ساق زخم توتون، گزارش گردید که چهار گونه گیاهی حنا (*Lawsonia inermis*)، فلفل (*Piper betel*)، شمعدانی (*Pelargonium graveolens*) و گیاه *Polyalthia longifolia* به‌خوبی قارچ *R. solani* را کنترل نمودند (Seema *et al*., 2011). اوبونگویت وهمکاران (۲۰۱۰) اثرات عصاره‌های گیاهان چریش (*Azadirachta indica*)، توتون، جعفری مکزیکی (*Tagetes minuta*)، پروانش (*Vinca rosa*) را بر روی قارچ خاکزی بیماری‌زای لوبیا (*Fusarium oxysporum* f.sp *phaseolina*) را در کنیا بررسی نمودند؛ عصاره گیاه نیم با ۶۰ درصد بیش‌ترین اثر و گیاه پروانش با ۳۰ درصد کم‌ترین اثر را در بازدارندگی رشد این قارچ نشان دادند (Obongoya *et al*., 2010).

با توجه به اینکه در مورد استفاده از عصاره‌های گیاهی با خاصیت ضدقارچی و کنترل کنندگی عوامل بیماری‌زای توتون در سطح مزرعه تحقیقی صورت نگرفته است، لذا بررسی فعالیت ضدقارچی عصاره‌های گیاهی نعناع گربه‌ای و توتون که در سطح آزمایشگاه و گلدان اثر کنترل‌کنندگی خوبی نشان داده اند، ضروری به نظر می‌رسد. هدف از این تحقیق بررسی فعالیت ضدقارچی عصاره‌های گیاهی نعناع گربه‌ای و توتون بر روی عامل ساق زخم توتون می‌باشد.

مواد و روش‌ها

تهیه و آماده‌سازی بافت گیاهی

مطابق با جدول ۱ نمونه‌های گیاهی در خرداد ۱۳۹۳جمع‌آوری و به آزمایشگاه بخش شیمی مرکز تحقیقات و آموزش تیرتاش منتقل و بلافاصله اقدام به عصاره‌گیری شد. نمونه‌های گیاهی ابتدا شستشوی سطحی شده و سپس به مدت ۵ دقیقه با هیپوکلـریت سدیم ۲ درصد ضدعفونی و سپس با آب مقطر استریل سه مرتبه شسته شدند. نمونه‌ها در شرایط آزمایشگاه و دور از تابش نور مستقیم آفتاب خشک شدند. سپس اندام‌های هوایی به وسیله آسیاب پودر شده و از الک یک مش عبور داده شدند (Abdulaziz and Younes, 2010).

جدول ۱- گونه‌های گیاهی جمع آوری شده

Table 1. Plant species collected

اندام گیاهی Plant organs	محل جمع آوری Collected location	خانواده Family	نام علمی Scientific name	نام فارسی Persian name
برگ	مرکز تحقیقات و آموزش تیرتاش	Solanaceae	*Nicotiana tabaccum*	توتون
leaf	Tirtash Research and Education Centre	Solanaceae	*Nicotiana tabaccum*	Tobacco
برگ و گل	ارتفاعات نیالا تا سرخگریوه	Laminaceae	*Nepeta cataria*	نعناع‌گربه‌ای
Leaf and flower	Nyala elevations to Sorkhgeriveh	Laminaceae	*Nepeta cataria*	Catmint

عصاره‌گیری با متانول

پنج گرم از بافت آسیاب شده گیاه را همراه با ۱۰۰ میلی‌لیتر متانول به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۰ درجه سلسیوس بر روی شیکر قرار گرفته و سپس ۷۵ میلی‌لیتر از محلول برداشته شد و ۲۵ میلی‌لیتر آب مقطر استریل به آن اضافه گردید تا حجم آن به ۱۰۰ میلی‌لیتر برسد؛ سپس هم حجم آن، هگزان اضافه شد. این مخلوط دو ساعت روی شیکر قرار گرفت.، پس از این مرحله، اجزاء مختلف به کمک دکانتور جدا شده و بخش متانولی جهت تبخیر متانول و استحصال عصاره زیر هود قرار گرفت (Bahraminejad *et al*., 2011).

تهیه مایه تلقیح

جدایه R24 قارچ *R. solani* از کلکسیون بخش گیاه‌پزشکی مرکز تحقیقات و آموزش تیرتاش تهیه و بر روی محیط کشت سیب‌زمینی‌دکستروز آگار کشت داده شد. تشتک‌های پتری در دمای ۲۵ درجه سلسیوس برای رشد قارچ‌ها نگهداری شدند. برای تهیه مایه تلقیح حدود ۲۵۰ گرم دانه گندم داخل ارلن نیم لیتری ریخته و پس از اضافه کردن ۱۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر، دو بار، هر بار به مدت ۳۰ دقیقه به فاصله ۲۴ ساعت در دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس

و فشار ۱/۱ اتمسفر سترون گردید. تحت شرایط سترون زیر هود، قطعاتی از حاشیه کشت ۷ روزه جدایه R24 قارچ *R. solani* به ارلن‌های حاوی گندم اتوکلاو شده اضافه شد. ارلن‌ها به مدت ۲۱ روز در انکوباتور با دمای ۲۴ درجه سلسیوس نگهداری شدند و هر چند روز یکبار تکان داده تا مایه قارچ درون ارلن‌ها به صورت توده بهم چسبیده تبدیل نشود. برای مایه‌زنی، ۵ گرم دانه گندم حاوی قارچ در محل طوقه بوته‌های توتون قرار داده شد (Sajjadi and Assemi, 2012).

ارزیابی اثر کنترل کنندگی عصاره‌های گیاهی بر روی قارچ عامل ساق زخم توتون در شرایط مزرعه

توتون رقم K-326 در کرت‌های ۲۰ متر مربعی، نشاکاری شد. یک ماه بعد از انتقال گیاهچه‌ها به زمین، محلول‌پاشی بر روی بوته‌ها با سم‌پاش Matabi پشتی دستی با استفاده از نازل پلی‌جت انجام شد. ۴۸ ساعت بعد از اعمال تیمار، ۵ گرم دانه گندم حاوی قارچ در محل طوقه گیاه توتون قرار داده شد. آزمایش در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با ۷ تیمار و۴ تکرار در شرایط مزرعه در مرکز تحقیقات و آموزش تیرتاش (طول جغرافیایی ۵۳ درجه و ۴۴ دقیقه شرقی و عرض جغرافیایی ۳۶ درجه و ۴۲ دقیقه شمالی و با ارتفاع ۱۴ متر از سطح دریا و میانگین حداقل و حداکثر دمای سالانه به ترتیب ۲ و ۲۴ درجه سلسیوس و میانگین بارندگی سالیانه ۶۹/۵ میلی‌متر با متوسط دمای ۱۸/۶ درجه سلسیوس در بهار و ۲۸/۳ درجه سلسیوس در تابستان) در سال زراعی ۱۳۹۳ اجرا شد. ارزیابی‌ها قبل از اعمال تیمار و بطور هفتگی به روش (Powell *et al.* 1971) بر اساس شدت علائم بیماری صورت گرفت (جدول ۲). تجزیه و تحلیل آماری با نرم افزار MSTAT-C انجام شد. در انتهای فصل هم زمان با ارزیابی بیماری، نمونه از بافت آلوده بوته‌های بیمار در هر کرت، در محیط واتر آگار ۲٪ کشت داده شد، تا از وجود قارچ عامل بیماری‌زای، در بوته‌های آلوده اطمینان حاصل شود. تیمارها شامل:

۱- عصاره نعناع گربه‌ای ۲ در هزار
۲- عصاره توتون ۲ در هزار رقم بارلی۲۱
۳- عصاره توتون ۲ در هزار رقم کا۳۲۶
۴- عصاره توتون ۲ در هزار رقم باسما۲-۱۷۸
۵- نیکوتین استخراج شده توسط بخش شیمی مرکز یک در هزار
۶- تیوفانات متیل(۲۵ گرم در ۱۰۰ لیتر آب) همراه با آب آبیاری (Sajjadi and Assemi, 2014)
۷- شاهد محلول‌پاشی با آب

جدول ۲- ارزیابی شدت بیماری بر اساس روش پاول و همکاران

Table 2. Evaluation of disease severity based on Powell *et al.*(1971) method

درجه بیماری Disease scale	علائم Symptoms
۱	گیاه سالم
1	Healthy plant
۲	برگ‌های پایینی بوته زرد رنگ
2	Bottom leaves turn light yellow
۳	برگ‌های پایینی و میانی بوته زرد رنگ
3	Bottom and middle leaves are yellow
۴	کل برگ‌های بوته زرد رنگ و ساقه قهوه‌ای
4	Plant are damping off, all leaves are yellow and stems are brown
۵	مرگ بوته
5	Plant death

نتایج

ارزیابی اثر کنترل کنندگی عصاره‌های گیاهی بر روی قارچ عامل ساق زخم توتون در شرایط مزرعه

نتایج تجزیه واریانس تأثیر عصاره‌های گیاهی بر قارچ عامل ساق زخم توتون (جدول ۳) نشان داد که بین تیمارها اختلاف معنی‌داری وجود داشت. مقایسه میانگین تأثیر عصاره‌های گیاهی بر قارچ عامل ساق زخم توتون نشان داد که قارچ‌کش تیوفانات متیل با غلظت ۲۵ گرم در ۱۰۰ لیتر آب، عصاره‌های نعناع گربه‌ای و توتون رقم بارلی۲۱ با غلظت دو در هزار به ترتیب با ۸۴/۹۵، ۷۸/۳۲ و ۷۳/۳ درصد کنترل بیش‌ترین تاثیر را در کنترل بیماری داشتند. نیکوتین با غلظت یک در هزار عصاره‌های توتون ارقام باسما ۲-۱۷۸ و کا۳۲۶ با غلظت دو در هزار به ترتیب با ۶۲، ۷۱ ۶۶/۶ و ۶۳/۳ درصد کنترل بیماری در رتبه‌های بعدی قرار داشتند (شکل ۱ تا ۴؛ جدول ۴). در تیمار شاهد همه بوته‌های مایه‌زنی شده با قارچ *R. solani* علائم بیماری را نشان دادند (شکل ۵). در هیچکدام از تیمارهای محلول-پاشی شده با عصاره‌های گیاهی و نیکوتین علائم سوختگی یا دفرمه شدن برگ مشاهده نگردید.

جدول ۳- تجزیه واریانس تأثیر عصاره‌های گیاهی بر درصد کنترل بیماری ساق زخم توتون

Table 2**.** Variance analysis of effect of plant extracts on the control percentage of tobacco Sore Shin disease

S.O.V	منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات
		df.	MS
Block	بلوک	3	7.1
Treatment	تیمار	5	246.5**
Error	خطا	15	9.2
CV (%) = 4.1		درصد ضریب تغییرات= ۴/۱	

** معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد

**Significant at 1% probability level

جدول ۴- مقایسه میانگین تأثیر عصاره‌های گیاهی بر درصد کنترل بیماری ساق زخم توتون

Table 3. Mean comparison of effect of plant extracts on the control percentage of tobacco Sore Shin disease

درصد کنترل	تیمارها
control percent	Treatments
۸۴/۹۵[a]	تیوفانات متیل با غلظت ۲۵ گرم در ۱۰۰ لیتر آب
84.95[a]	Thiophanate methyl with concentration 25g in 100L water
۷۸/۳۲ [b]	عصاره نعناع گربه‌ای ۲ در هزار
78.32 [b]	Catmint extracts with concentration 2 in 1000
۷۳/۳[bc]	عصاره توتون ۲ در هزار رقم بارلی۲۱
73.3b [c]	Tobacco varieties Burley 21extract with concentration 2 in 1000
۷۱/۶۲[cd]	نیکوتین یک در هزار
71.62 [cd]	Nicotine with concentration 1 in 1000
۶۶/۶[de]	عصاره توتون ۲ در هزار رقم باسما ۲-۱۷۸
66.6 [de]	Tobacco varieties Basma 178-2 extract with concentration 2 in 1000
۶۳/۳[e]	عصاره توتون ۲ در هزار رقم کا ۳۲۶
63.3 [e]	Tobacco varieties K326 extract with concentration 2 in 1000

در هر ستون میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۱٪ ندارند.

Means followed by same letter in each column are not significantly different at 1% probability level according to DMRT.

شکل ۱- تیمار عصاره توتون کا ۳۲۶ دو در هزار

Fig 1. Tobacco varieties K326 extract of treatment with concentration 2 in 1000

شکل ۲- تیمار عصاره توتون باسما ۲-۱۷۸ دو در هزار

Fig 2. Tobacco varieties Basma 178-2 extract of treatment with concentration 2 in 1000

شکل۳- تیمار نیکوتین یک در هزار

Fig 3. Nicotine treatment with concentration 1 in 1000

شکل۴- عصاره توتون بارلی ۲۱ دو در هزار

Fig 4. Tobacco varieties Burley 21 extract of treatment with concentration 2 in 1000

شکل ۵- علائم بیماری ساق زخم توتون در تیمار شاهد

Fig 5. The disease symptoms of Tobacco sore shin of in control treatment

بحث

علیرغم وجود ترکیبات ضدقارچی در گیاه توتون، همچنان این گیاه مورد حمله بیماری‌های قارچی مختلف قرار می‌گیرد که می‌توان سه دلیل را برای این امر در نظر گرفت:

الف) مواد ضدقارچی در گیاهان بصورت نمک یا ترکیب با عناصر و مواد دیگر قرار دارند و با عصاره‌گیری آزاد می‌شوند (Abad *et al*., 1996).

ب) غلظت مواد ضدقارچی در گیاه به اندازه‌ای نمی‌باشد که موجب جلوگیری از ورود قارچ بیماری‌زا گردد و با عصاره‌گیری غلظت بیش‌تری از آن به‌دست می‌آید (Abad *et al*., 1996).

ج) تفاوت در محل تولید ترکیبات ضدقارچی در گیاه و محل حمله قارچ‌های بیماری‌زا منجر به عدم کارایی ترکیبات ضدقارچی درون گیاه خواهد شد، برای مثال نیکوتین در ریشه گیاه ساخته می‌شود. همچنین در تحقیقی مشخص شد با عصاره‌گیری، پروتئین‌ها و مواد تحریک‌کننده القا مقاومت نیز در عصاره دیده مش وند که با پاشش بر روی گیاه منجر به افزایش مقاومت گیاه نسبت به عوامل بیماری‌زا خواهد شد. (Abad *et al*., 1996) با بررسی اثرات ضدقارچی پروتئین اسموتین برگ توتون رقم ویسکونسین ۳۸ نسبت به ۱۸ قارچ بیماری‌زا، گونه‌های مختلف قارچ‌های *Phtophthora* spp، *Fusarium* spp و *Bipolaris* spp را حساس گزارش کردند و مکانیزم عمل را افزایش نفوذپذیری غشاء پلاسمایی قارچ معرفی نمودند.

میزان حساسیت گونه‌های قارچی بسته به نوع عصاره‌ها و غلظت‌های گوناگون آن متغیر است. تفاوت درفعالیت ضدقارچی عصاره‌های گیاهی به ترکیب آن‌ها نیز بستگی دارد. یک ترکیب ممکن است به تنهایی یا با اثر تشدیدکنندگی همراه با سایر ترکیبات منجر به بروز فعالیت ضدقارچی عصاره شود (Plotto*et al*., 2003). (Suleiman, 2011) در نیجریه گزارش نمود که عصاره برگ توتون و چریش (*Azadirachta indica*) بر قارچ‌های بیماری‌زای گوجه‌فرنگی اثر بازدارندگی داشته و عصاره توتون در مقایسه با چریش، قارچ‌های آسپرژیلوس و پنی‌سیلیوم را بهتر کنترل می‌کند در حالی‌که در مورد قارچ رایزوپوس برعکس بود.

خاصیت ضدقارچی عصاره گیاهی توتون را می‌توان به ترکیبات نیکوتین (۲/۹۱٪)، سایلن (۱/۷٪)، فیتول (۲/۶۸٪)، ایمیدازول (۱/۵) و گلوبولول (۱۸/۱٪) نسبت داد. در تحقیقی گزارش شد که عصاره گیاهان نعناع گربه‌ای و توتون با غلظت ۲ در هزار به‌صورت محلول‌پاشی یا همراه با آب آبیاری به ترتیب با ۸۰ و ۷۵ درصد کنترل اثر ضدقارچی مطلوبی بر روی قارچ‌های خاکزی بیماری‌زای توتون دارند (Sajjadi and Assemi, 2014). در تحقیقی اثرات ۴ عصاره گیاهی جهت کنترل بیماری پوسیدگی ریشه لوبیا چشم بلبلی توسط *Pythium aphanidermatum*، گزارش گردید که زنجبیل با غلظت ۴۰٪ در شرایط آزمایشگاهی و مزرعه به ترتیب ۱۰۰ و ۵۰ درصد بیماری را کنترل کرد (Suleiman and Emua, 2009).

برخی از عصاره‌های گیاهی به جهت خاصیت آب گریزی و ترکیبات موجود در آن‌ها موجب مهارکنندگی قارچ‌ها می‌شوند. این خاصیت موجب نفوذ این ترکیبات در غشای دیواره سلولی قارچ و میتوکندری و در نتیجه اختلال در ساختار آن‌ها گردیده و در نهایت موجب نشت یونی به خارج سلولی و در نهایت مرگ آن شوند (Burt, 2004). گروهی از محققان بر این باورند که ترکیبات ضدمیکروبی روغن‌های اسانس موجود در عصاره‌های گیاهی با عبوراز غشای سلولی و در تعامل با آنزیم‌ها وپروتئین‌های غشایی، موجب نشت پروتون به سمت بیرون سلول شده که باعث تغییر درسلول و در نهایت مرگ آن‌ها خواهد شد (Al-Rahmah *et al*., 2011). ترکیبات فنولی از گروه فرآورده‌های ثانویه گیاهی هستند که با خاصیت آنتی‌اکسیدانی که در مواجه گیاهان با گونه‌های فعال اکسیژن تولید می‌شود. اثر ضدقارچی گیاه به واسطه وجود ترکیبات آنتی‌اکسیدانی می‌تواند از طریق آسیب به DNA، میتوکندری، آسیب به دیواره سلولی و نهایتاً مرگ میکروارگانسیم باشد (Yahya-abadi *et al*., 2011).

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

نیکوتین جزء ترکیبات آلی قلیایی است که در توتون به‌شکل نمک مالیک اسید یافت می‌گردد و مقدار آن نسبت به رقم توتون از ۰/۵ تا ۵٪ درصد متغیر است و به‌طور استثناء تا حدود ۲۰٪ وزن ماده خشک در نمونه‌هایی از توتون (بعضی از ارقام اصلاح شده گونه *Nicotiana rostica*) تجمع پیدا می‌کنند. در مقایسه ارقام، میزان نیکوتین در گونه *Nicotiana rostica* بیش از مقدار آن در گونه *Nicotiana tabacum* است (Sajjadi and Assemi, 2014).

مهم‌ترین مواد تشکیل دهنده برگ توتون عبارتند ازترکیبات ازت‌دار، کربوهیدرات، اسید آلی، تانن‌ها، مواد رنگی و اسانس. مهم‌ترین آلکالوییدهای توتون عبارتند از نورنیکوتین، آنابازین، نیکوتئین و از همه مهم‌تر نیکوتین. این مواد مؤثره در ریشه ساخته شده و به برگ منتقل و در آن ذخیره می‌شوند (Sajjadi and Assemi, 2014).

توتون به علت داشتن نیکوتین از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. نیکوتین، آلکالوئیدی است با فرمول $C_{10}H_{14}N_2$ که در ریشه توتون ساخته شده و در همهٔ قسمت‌های گیاه، به جز بذر رسیده، دیده می‌شود. مقدارآن در برگ‌ها از سایر اعضای گیاه بیش‌تر است. مقدار نیکوتین در واریته‌ها و گونه‌های مختلف توتون متغیر است. آلکالوئیدهای توتون، حاصل بهم پیوستن چند زنجیر اسید آمینه می‌باشند، که آلکالوئیدهای اصلی و شناخته شده توتون از اتصال حلقه ازت‌دار نیکوتینیک اسید به حلقه پیرولیدین یا حلقه پی‌پریدین در تولید نیکوتین و یا آنابازین بدست می‌آیند. نیکوتین و سایر آلکالوئیدهای توتون در تهیه آفت‌کش‌ها، قارچ‌کش‌های طبیعی، سیتریک اسید، ویتامین B_6 کاربرد دارند. در صنایع داروسازی از مواد مؤثر این گیاه، داروهای مسکن، آرام بخش، داروهای ضدآلزایمر و ضد پارکینسون همچنین داروهایی برای ترک سیگار تهیه می‌شود (Sajjadi and Assemi, 2014).

امروزه توتون تنها به عنوان یک ماده دودزا مطرح نیست بلکه به عنوان گیاهی با خصوصیات ویژه مورد استفاده قرار می‌گیرد. با توجه به اینکه مقدار پروتئین و اسیدهای آمینه موجود در توتون بسیار بالاتر از سویا بوده و با پروتئین کازئین شیر برابری می‌کند، می‌توان از این گیاه برای تهیه پروتئین‌های مخصوص تولید انرژی بهره گرفت (Sajjadi and Assemi, 2014).

توتون بارلی منبع مناسبی برای نیکوتین می‌باشد و مقدار آن از عصاره دو رقم دیگر استفاده شده در این طرح بیش‌تر است به همین علت در این تحقیق رقم عصاره توتون رقم بارلی ۲۱ از عصاره توتون ارقام باسما ۲-۱۷۸ و کا ۳۲۶ اثر کنترل‌کنندگی بیش‌تری داشت. حلقه ایمیدازول بخش مهمی در بسیاری از داروها از جمله داروهای ضدفشار خون و داروهای ضدقارچی و قارچ‌کش می‌باشد. ایمیدازول‌ها خصوصاً ۱– ایمیدازول -۱- ایل-۳- متیل بوت -۲-اِن-۱-اُن فعالیت آنتی‌باکتریال، ضدقارچی و ضدانگلی دارد. بسیاری از فنیل ایمیدازول‌ها دارای اثرات ضدقارچی گسترده بر علیه مخمرها و قارچ‌های رشته‌ای بوده و همچنین در درمان بسیاری از بیماری‌های موضعی و سیستمیک ناشی از این عوامل به کار می‌روند. ترکیب تیابندازول بعنوان یک ضدانگل یک ایمیدازول می‌باشد که دارای خاصیت ضدقارچی نیز هست (Sajjadi and Assemi, 2014).

از جمله اولین ضروریات ساختمانی برای آزول‌های ضد قارچی، وجود حلقه بازی ضعیف ایمیدازول یا ۱،۲،۴ تریازول است که از طریق ازت به بقیه ساختمان مولکول وصل می‌شود. در واقع اکثر آزول‌های ضد قارچی دارای اسکلت N- فنیل اتیل آزول هستند که کربن شماره ۲ زنجیره اتیل دارای استخلاف الکل، اتر و یا دی اکسولان بوده و حلقه‌های فنیل آن‌ها اکثراً دارای یک یا دو اتم هالوژن هستند. ایمیدازول‌ها جزو قارچ‌کش‌هایی هستند که از بیوسنتز ارگوسترول جلوگیری کرده و مانع از حذف گروه متیل از روی کربن شماره۱۴a(از پیش ماده ارگوسترول) می‌شوند. ارگوسترول مهم‌ترین و عمده‌ترین استرول در قارچها بوده ودر ساختار و وظایف سلول نقش حیاتی دارد. بیوسنتز استرول از استیل کوآنزیم A آغازشده و طی پروسه‌ای در نهایت به ساخته شدن ارگوسترول می‌انجامد. کمبود استرول سبب تخریب غشاء، به هم ریختگی دیواره سلولی قارچ، نفوذ الکترولیت‌ها به داخل و خارج آن، جلوگیری از رشد میسیلیوم و در نهایت مرگ قارچ می‌شود. به علاوه این ترکیبات قادرند به کوتیکول گیاه و پوشش بذر نفوذ کرده و اغلب از طریق آوندهای چوب به سمت بالا حرکت کنند (Sajjadi and Assemi, 2014).

عصاره گیاهان نعناع گربه‌ای و توتون با غلظت ۲ در هزار بصورت محلول‌پاشی اثر ضدقارچی مطلوبی بر روی قارچ عامل ساق زخم توتون داشت. پیشنهاد می‌گردد اثرات عصاره گیاهی نعناع گربه‌ای و توتون بر روی خصوصیات کمی و کیفی برگ خشک توتون بررسی گردد. امید است به منظور تولید محصول سالم این عصاره‌ها به عنوان ترکیبات دوستدار طبیعت جایگزین سموم شیمیایی گردند.

References

Abad, L. R., DÚrzo, M. P., Liu, D., Narasimban, M. L. Reuveni, M., Zhu, J. K. Niu, X., Singh, N. K. Hasegawa, P. M., and Bressan, R. A. 1996. Antifungal activity of tobacco osmotin has specificity and involves plasma membrane permeabilization. Plant Science 118: 11-23.

Abdulaziz, A. Al-Askar and Younes, M. Rashad. 2010. Efficacy of some plant extracts against *Rhizoctoniasolani* on Pea. Journal of Plant Protection Research 50 (3): 239-243.

Al-Rahman, 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.

Anonymous. 2012. Statistical repertoire of Iranian Tobacco Company. 52pp.

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

Burt, S. 2004. Essential oils: their antimicrobial properties and potential applications in foods- a review. International Journal of Food Microbiology 94(1): 223-253.

Lucas, G. B. 1975. Disease of tobacco, 3rd edition, Biological Consulting Associates, Releight, North Carolina. 621pp.

Hasanzadeh, N. 2005. Technological implication of natural products in plant diseases management with special emphasis on fireblight. Agriculture Science 1: 53-68.

Huang, J. W. 1994. Control of chinese leek rust with a plant nutrient formulation. Plant Pathology 3: 9-17.

Obongoya, B. O., Wagai, S. O. 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.

Powell, N. T., Meléndez, P. L. and Batten, C. K. 1971. Disease complexes in tobacco involving *Meloidogyne incognita* and certain soil-borne fungi. Phytopathology 61: 1332-7.

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.

Sajjadi, A. and Assemi, H. 2012. Identification of pathogenic soilborne fungi of tobacco in Golestan province fields. Applied Plant Protection 1(3): 233-248.

Sajjadi, A. and Assemi, H. 2014. Antifungal activity of plant extracts of Catmint, Tobacco, Thyme on pathogens fungal of tobacco. Biological Control of Pests and Plant Diseases 3(1): 41-52.

Seema, M., Sreenivas, S. S., Rekha, N. D. and Devaki, N. S. 2011. In vitro studies of some plant extracts against *Rhizoctonia solani* Kunn infecting FCV tobacco in Karnataka light soil, Karnataka, India. Journal of Agricultural Technology 7(5): 1321-1329.

Suleiman, M. N. 2011. Antifungal properties of leaf extract of neem and tobacco on three fungal pathogens of tomato (*Lycopersicone sculentum* Mill). Advances in Applied Science Research 2(4): 217-220.

Suleiman, M. N. and Emua, S. A. 2009. Efficacy of four plant extracts in the control of root rot disease of cowpea (*Vigna unguiculata* [L.] walp). African Journal of Biotechnology 8(16): 3806-3808.

Thieron, M., Reisener, H. J. and Scheinpflug, H. 1995. Systemic acquired resistance in rice: Regulation of host defense reaction. **Proceeding of 11th International Reinhardsbrum Symposium, Friedrichroda, Thuringia, Germany**. pp. 493-502.

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.