



ارزیابی فعالیت ضدقارچی ترکیبات فرار چند اسانس گیاهی روی قارچ *Rhizopus stolonifer*

کیوان فری، کمال آرژه، مریم خضری*

گروه گیاه پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه

نویسنده مسئول: m.khezri@urmia.ac.ir

چکیده

پوسیدگی نرم ناشی از قارچ *Rhizopus stolonifer* یک بیماری مهم پس از برداشت است که باعث فساد قابل توجه انواع مختلف سبزیجات و میوه‌ها می‌گردد. در سال‌های اخیر، ایده استفاده از ترکیبات طبیعی مانند عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی در کاهش خسارات ناشی از عوامل بیماری‌زای پس از برداشت مطرح شده است. در این تحقیق، اثر فاز فرار چند اسانس گیاهی روی کاهش رشد قارچ عامل پوسیدگی نرم مورد ارزیابی قرار گرفت. بر اساس نتایج این تحقیق، اسانس‌های زیره سبز، مرزنجوش، نعنا فلفلی و آویشن باغی به طور کامل از رشد قارچ بیماری‌زا ممانعت نمودند. پس از آن، بیشترین ممانعت از رشد مربوط به اسانس‌های پونه و رزماری به ترتیب با ۷۸٪ و ۶۵٪ کاهش رشد قارچ بود. اسانس بذر گلپر ایرانی با ۲۰٪ کاهش رشد قارچ، کمترین تاثیر را در کنترل رشد میسلیم قارچ نشان داد. پلاک‌های قارچ رایزوپوس در تیمارهایی که رشد قارچ به طور کامل ممانعت شده بود، واگشت شدند. پرگنه قارچ در همه تیمارها رشد نمود که نشان‌دهنده اثر قارچ‌ایستایی ترکیبات فرار اسانس‌های مورد مطالعه می‌باشد. بر اساس یافته‌های این تحقیق، ترکیبات فرار موجود در اسانس‌های آویشن باغی، زیره سبز، نعنا فلفلی و مرزنجوش قابلیت بالایی در کاهش رشد میسلیم‌های قارچ رایزوپوس دارند و می‌توانند به عنوان جایگزینی مناسب به جای سموم شیمیایی در نظر گرفته شوند.

کلمات کلیدی: پوسیدگی نرم، زیره سبز، مرزنجوش، آویشن باغی، نعنا فلفلی.

مقدمه

بیماری‌های پس از برداشت یکی از مهم‌ترین عوامل کاهش کمی و کیفی محصولات کشاورزی هستند. پوسیدگی نرم ناشی از قارچ *Rhizopus stolonifer* از مهم‌ترین بیماری‌های قارچی پس از برداشت در سبزیجات و میوه‌ها می‌باشد که در مراحل حمل و نقل و انبارداری توسعه می‌یابد. به طور معمول برای کنترل بیماری‌های پس از برداشت از سموم بنزیمیدازول، ایمازالیل و ترکیبات آلی و معدنی مسی استفاده می‌شود. این ترکیبات موجب آلودگی‌های اکوسیستم‌های طبیعی و مخاطرات متعدد برای سلامت انسان و سایر موجودات زنده می‌گردند و محدودیت‌هایی از نظر قانونی، بیولوژیکی و اقتصادی در کاربرد آن‌ها وجود دارد (Narayanasamy, 2006).

در سال‌های اخیر، توجه زیادی به ترکیبات موجود در عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی که خاصیت ضد میکروبی دارند، معطوف شده است. این ترکیبات علاوه بر قابلیت‌های ضد میکروبی، دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی بوده و در طول دوره انبارداری موجب حفظ کیفیت محصولات کشاورزی و افزایش زمان انبارداری می‌گردند. از آنجایی که اسانس‌های گیاهی دارای خاصیت تدخینی هستند و در حالت گاز نیز قادر به کاهش رشد عوامل بیماری‌زای گیاهی می‌باشند، گزینه‌های مناسبی در کنترل بیماری‌های پس از برداشت هستند. تحقیقات فراوانی در زمینه قابلیت‌های ضدقارچی ترکیبات فرار اسانس‌های گیاهی انجام شده است (Tripathi et al., 2008).

این تحقیق با هدف بررسی قابلیت فاز فرار چند اسانس گیاهی در کاهش رشد قارچ مهم و سریع‌الرشد *R. stolonifer* که خسارات کمی و کیفی فراوانی به سبزیجات و میوه‌ها وارد می‌آورد، انجام شد.

مواد و روش‌ها

قارچ بیماری‌زا



یک سویه قارچ بیماری‌زای گیاهی گونه *R. stolonifer* از کلکسیون قارچ‌های بیماری‌زای گیاهی گروه گیاه‌پزشکی دانشگاه ارومیه دریافت شد. جهت انجام آزمایش، کشت فعال سویه قارچ روی محیط سیب‌زمینی دکستروز آگار (PDA)^۱ تهیه شد.

گیاهان دارویی

قطعات گیاهی مورد استفاده جهت تهیه اسانس شامل اندام هوایی گیاهان مرزنجوش (*Origanum vulgare*)، پونه (*Mentha pulegium*)، آویشن باغی (*Thymus vulgaris*)، نعنا فلفلی (*Mentha piperita*)، رزماری (*Rosemary officinalis*)، بذر زیره سبز (*Cuminum cyminum*) و بذر گلپر ایرانی (*Heracleum persicum*) بودند.

اسانس‌های گیاهی

تهیه اسانس با روش تقطیر با آب به مدت ۴ ساعت و در دستگاه کلونجر در آزمایشگاه گروه گیاه‌پزشکی انجام شد. برای هر تکرار ۵۰ گرم ماده گیاهی استفاده شد. آگیری اسانس‌ها با سولفات سدیم بدون آب انجام شد. جهت سترون نمودن اسانس‌ها از میکروفیلتر ۰/۲۲ میکرون استفاده شد و اسانس‌ها در ظروف شیشه‌ای تیره در یخچال با دمای ۴ درجه سلسیوس نگه‌داری شدند.

اثر ممانعت‌کنندگی از رشد قارچ بیمارگر توسط ترکیبات فرار^۲ اسانس

محلول اسانس گیاهان دارویی در توپین ۸۰ (۰/۰۵٪) تهیه شد. مقدار ۱۵ میکرولیتر از امولسیون هر اسانس روی کاغذ صافی سترون قرار داده شد و کاغذ صافی روی سطح داخلی درب تشتک پتری قرار داده شد. یک پلاک ۶ میلی‌متری از حاشیه پرگنه قارچ در حال رشد، روی محیط کشت PDA قرار داده شد و درب تشتک پتری با پارافیلیم کاملاً مسدود گردید. اندازه‌گیری قطر پرگنه‌های قارچ پس از پر شدن سطح تشتک پتری شاهد از پرگنه قارچ انجام شد. در تیمار شاهد فقط از توپین ۸۰ استفاده شد. تاثیر بازدارندگی از رشد قارچ رایزوپوس توسط فاز فرار اسانس‌های مورد مطالعه، با استفاده از فرمول زیر مورد بررسی قرار گرفت (Alizadeh-Salteh et al., 2010).

$$IP = C - T / C \times 100$$

IP: (Inhibitory percentage) درصد بازدارندگی از رشد قارچ بیمارگر

C: (Control) میانگین قطر پرگنه قارچ در تیمار شاهد (mm)

T: (Treatment) میانگین قطر پرگنه قارچ در تیمار غلظت‌های مختلف اسانس (mm)

پرگنه قارچ در تیمارهایی که هیچ‌گونه رشدی مشاهده نشد، مجدداً روی محیط PDA واگشت شد. پس از ۴ روز تشتک‌های پتری از نظر رشد قارچ بیمارگر مورد ارزیابی قرار گرفتند. آزمایش‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. برای هر تیمار ۳ تکرار در نظر گرفته شد.

نتایج و بحث

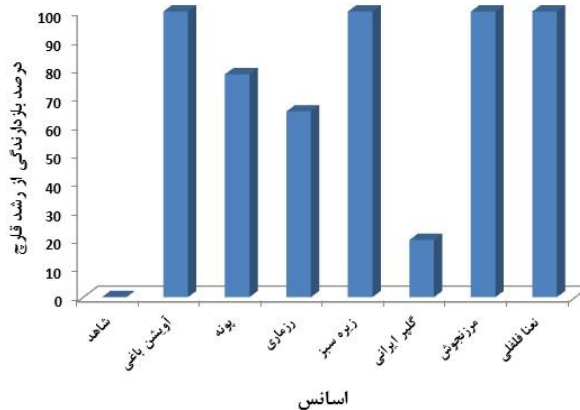
کاربرد وسیع سموم و کودهای شیمیایی موجب آلودگی‌های فراوانی در اکوسیستم‌های کشاورزی شده است و نگرانی‌های فراوانی در خصوص سلامت انسان و محیط زیست ایجاد نموده است. ترکیبات ضد میکروبی موجود در منابع گیاهی به عنوان گزینه‌های جایگزین یا در کنار سایر روش‌های مدیریت بیماری مورد توجه محققان قرار دارد. در سال‌های اخیر مطالعات وسیعی روی جنبه‌های آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی این ترکیبات انجام شده است (Patharakorn et al., 2010). در این تحقیق، قابلیت ترکیبات فرار موجود در اسانس‌های رزماری، زیره سبز، گلپر ایرانی، مرزنجوش، پونه، نعنا فلفلی و آویشن باغی در کاهش رشد قارچ بیمارگر پس از برداشت *R. stolonifer* مورد ارزیابی قرار گرفت. بر اساس نتایج این

¹ Potaro dextrose agar

² Volatile compounds



تحقیق، بیشترین اثر بازدارندگی از رشد مربوط به اسانس‌های زیره سبز، مرزنجوش، نعنا فلفلی و آویشن باغی بود. هیچ گونه رشدی در پرگنه قارچ کشت شده در تشتک‌های پتری حاوی این اسانس‌ها دیده نشد (شکل ۱). پس از چهار اسانس فوق، اسانس پونه با میانگین قطر پرگنه ۲/۲ میلی‌متر و ۷۸٪ کاهش رشد مسلسیوم‌های قارچ و اسانس رزماری با میانگین قطر پرگنه ۳/۵ میلی‌متر و کاهش ۶۵٪ رشد قارچ، بیشترین تاثیر را در کاهش رشد میسلیوم‌های قارچ رایزوپوس نشان دادند. کمترین تاثیر مربوط به اسانس گلپر ایرانی با میانگین قطر پرگنه ۸ میلی‌متر و ۲۰٪ کاهش رشد قارچ بود (شکل ۱).



شکل ۱- درصد بازدارندگی از رشد قارچ *R. stolonifer* با استفاده از اسانس‌های مختلف

در مطالعاتی مشابه، کاربرد اسانس‌های مختلف در کاهش خسارت قارچ‌های بیماری‌گر پس از برداشت *Botrytis* Bhaskara *et al.*, 1998 ; Farzaneh *et al.*, 2007;) موثر گزارش شده است (Tripathi *et al.*, 2008). از مهم‌ترین ترکیبات موجود در اسانس‌ها که محققان خاصیت قارچ‌کشی اسانس‌ها را به آن‌ها مربوط می‌دانند می‌توان به کاروکرول، تیمول، منتول و سینام‌آلدهید اشاره نمود (Cimanga *et al.*, 2002).

در آزمون واکنش پلاک‌های قارچ رایزوپوس روی محیط کشت PDA بدون اسانس، پس از ۴ روز در همه تیمارها، رشد قارچ مشاهده شد. گرچه رشد میسلسوم‌های قارچ نسبت به شاهد کندتر صورت گرفت ولی به دلیل رشد قارچ روی محیط بدون اسانس، اثر اسانس‌های زیره سبز، مرزنجوش، نعنا فلفلی و آویشن باغی به صورت قارچ‌ایستایی^۳ تعیین گردید.

در پژوهشی مشابه که با استفاده از چند اسانس گیاهان انجام شد، غلظت‌های ۲۵۰، ۵۰۰ و ۷۵۰ از اسانس‌های مورد استفاده موجب کاهش چشمگیر رشد قارچ *B. cinerea* شدند. بیشترین میزان بازدارندگی از رشد قارچ با استفاده از فاز فرار در اسانس‌های زیره سبز، دارچین، زنیان و پونه دیده شد (Behdani *et al.*, 2012).

بر اساس نتایج این پژوهش، اسانس‌های زیره سبز، نعنا فلفلی، مرزنجوش و آویشن باغی به عنوان ترکیباتی موثر در کاهش رشد قارچ *R. stolonifer* تعیین شدند و به عنوان جایگزین‌های سموم شیمیایی در کاهش خسارت قارچ می‌توانند مورد استفاده قرار گیرند.

منابع

- Alizadeh-Salteh, S., Arzani, K., Omidbeigi, R. and Safaie, N. 2010. Essential oils inhibit mycelial growth of *Rhizopus stolonifer*. *European Journal of Horticultural Science*, 75 (6): 278-282.
- Behdani, M., Pooyan, M. and Abbasi, S. 2012. Evaluation of Antifungal Activity of some medicinal plants essential oils against *Botrytis cinerea*, causal agent of postharvest apple rot, *in vitro*. *International Journal of Agriculture and Crop Sciences*, 4(14): 1012-1016.

³ Fungistatic



- Cimanga, K., Kambu, K., Tona, L., Apers, S., de Bruyne, T. and Hermans, N. 2002. Correlation between chemical composition and antibacterial activity of essential oils of some aromatic medicinal plants growing in the Democratic Republic of Congo. *Journal of Ethnopharmacology*, 79: 213-220.
- Farzaneh, M., Ranjbar, H., Hadian, J. and Mirjalili, M. H. 2007. Biological control of some postharvest diseases of strawberry fruit by essential oils. 59th international symposium on crop protection, Ghent University, Belgium, p273.
- Narayanasamy, P. 2006. Postharvest pathogens and disease management. John Wiley and Sons Inc. Hoboken, New Jersey.
- Omidbeygi, M. 2007. Antifungal Activity of thyme, summer savory and clove essential oils against *Aspergillus flavus* in liquide medium and tomato paste. *Food Control*, 118: 1518-23.
- Patharakorn, T., Arpornsuwan, T., Wetprasit, N., Promboon, A. and Ratanapo, S. 2010. Antibacterial activity and cytotoxicity of the leaf essential oil of *Morus rotunbiloba* Koidz. *Journal of Medicinal Plant Research*, 4: 837-843.
- Tripathi, P., Dubey, N. K. and 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: 39-46.

Evaluation of antifungal activity by volatile compounds of some essential oils on *Rhizopus stolonifer*

Kayvan Farri, Kamal Arzheh, Maryam Khezri*

Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia.

*Corresponding Author: m.khezri@urmia.ac.ir

Abstract

Soft rot caused by *Rhizopus stolonifer* is an important postharvest disease that contributes to considerable spoilage of a great variety of vegetables and fruits. In recent years, the idea of using natural compounds such as plant extracts and essential oils has been proposed to reduce the damage caused by post-harvest pathogens. In this research, the effect of volatile phase of some essential oil was evaluated on the growth of soft rot fungal agent. Based on the results, essential oils of cumin, oregano, peppermint and thyme were completely prevented the pathogenic fungi growth. After that, the highest fungi growth inhibitory effects was observed in pennyroyal and rosemary essential oils with 78% and 65% fungi growth reduction, respectively. The essential oil of Persian hogweed with a 20% decreasing in fungal growth showed the least control effect. *Rhizopus* plaques were re-cultured in all treatments that fungal growth was inhibited completely. Fungal colonies were grew in all treatments, indicating the effect of all volatile compound were fungistatic. According to the findings of this research, the volatile compounds of thyme, cumin, peppermint and oregano essential oils have a high ability in reducing the growth of *Rhizopus* mycelia and can be considered as an appropriate alternative to chemical pesticides.

Keywords: Soft rot, Cumin, Oregano, Thyme, Peppermint.