

کاربرد اسانس های گیاهی در کنترل پوسیدگی های ناشی از قارچ های *Rhizopus* و *Botrytis cinerea* در شرایط درون شیشه ای

سمانه محمدی (۱)، حسین آروبی (۲)، وحید جهانبخش (۳)

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد رشته باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد، ۲- استادیار گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد، ۳- مربی گروه گیاهپزشکی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد

در این بررسی فعالیت ضد قارچی اسانس های چند گونه گیاهی شامل رازیانه (*Foeniculum vulgare*)، زیره سیاه (*Corum carvi*)، آویشن (*Thymus vulgaris*) و نعناع فلفلی (*Mentha piperita*) علیه کپک خاکستری (*Botrytis cinerea*) و پوسیدگی نرم (*Rhizopus stolonifer*) توت فرنگی مورد مطالعه قرار گرفت. اسانس رازیانه علیه قارچ *R. stolonifer* در غلظت بیشتر از $600 \mu\text{lit/lit}$ و اسانس زیره سیاه علیه قارچ *B. cinerea* در غلظت $400 \mu\text{lit/lit}$ به طور کامل از رشد کلونی قارچ در محیط کشت حاوی PDA جلوگیری کردند. مقایسه آماری میانگین ها نشان داد که با افزایش غلظت اسانس های گیاهی، فعالیت ضد قارچی آنها بر علیه هر دو کلونی قارچ افزایش می یابد. به طوری که رازیانه با $76/29$ درصد و زیره سیاه با $74/85$ درصد بیشترین درصد بازدارندگی رشد قارچ به ترتیب علیه رایزوپوس و بوتریتیس را دارا بودند. درصد جوانه زنی اسپور قارچ نیز در محیط کشت حاوی اسانس رازیانه و زیره سیاه کمترین و در محیط کشت حاوی آویشن بیشترین مقدار بود. طبق نتایج به دست آمده از آنالیز GC و GC/MS نشان داده شد که ترکیب غالب اسانس زیره سیاه کومین آلدهید و اسانس رازیانه آنتول بوده که این ترکیبات دارای فعالیت ضد قارچی فوق العاده ای می باشند.

کلمات کلیدی: اسانس های گیاهی، کپک خاکستری، پوسیدگی نرم، آنتول و کومین آلدهید

مقدمه

امروزه مطالعات بسیاری در زمینه بررسی مکانیسم های موجود در گیاهان دارویی و نحوه تاثیر اسانس های استخراجی آنها در ممانعت رشدی میکروارگانیزم ها انجام می گیرد. از زمان شناخت ترین های موجود در اسانس های گیاهان دارویی به عنوان فاکتورهای ضد میکروبی اولیه، مکانیسم عملی مشابه این ترکیبات به آنها نسبت داده شد. گزارش سالانه ی آکادمی بین المللی علوم (NAS) در سال ۱۹۸۶ در مورد بقایای آفت کش ها در مواد غذایی نشان داد که قارچ کش ها در مقایسه با علف کش ها و حشره کش ها در ایجاد بیماری های سرطانی خطرناک تر می باشند. با توجه به اینکه مدت زمان بین برداشت تا مصرف توت فرنگی بسیار کوتاه است بنابراین کاربرد قارچ کش ها برای کنترل بیماری ها و حفظ کیفیت آن باید با دقت بیشتری صورت گیرد تا هیچ بقایای شیمیایی مضر در آن باقی نماند (۱). Skine و همکاران (۲۰۰۷) در آزمایشی اثر ضد قارچی ترکیبات زیره ی سیاه و ۵۲ نمونه ی گیاه دارویی و ادویه ای را بررسی کردند مشخص شد که زیره ی سیاه و به دنبال آن زیره ی سبز و هل اثرات بازدارندگی قوی علیه قارچ های فیتوپاتوزنی خاکزی بخصوص *Fusarium oxysporum* را دارا هستند. با توجه به پتانسیل بالای اسانس گیاهان دارویی به عنوان ترکیباتی که دارای خواص ضد قارچی بالایی هستند این تحقیق با ۴ اسانس گیاهی رازیانه، آویشن، نعناع فلفلی و زیره سیاه علیه دو قارچ بیماری زای پوساننده میوه در شرایط درون شیشه ای انجام گرفت.

مواد و روش ها

بعد از اسانس گیری با دستگاه کلونجر ترکیبات آن با استفاده از دستگاه GS/MS آنالیز شد. مدل دستگاه شیمادزو A9 ساخت ژاپن بود. این آزمایش به صورت اختلاط با اسانس در محیط کشت PDA انجام شد. بدین منظور اسانس ها در

غلظت های ۰، ۲۰۰، ۴۰۰، ۶۰۰ و ۸۰۰ میکرولیتر در لیتر بعد از اتوکلاو و استریل محیط کشت و پتری ها به محیط کشت اضافه شد و از آن امولسیون یکنواخت تهیه شد. سپس با استفاده از چوب پنبه سوراخ کن دیسک هایی به قطر ۵mm از میسیلیوم خالص قارچ برداشته و به صورت معکوس روی محیط کشت قرار داده شد و بلافاصله دور پتری پارافیلیم کشیده شد. بعد از تهیه سوسپانسیون اسپور یک قطره کوچک از آن به وسط ظروف پتری حاوی غلظت های مختلف اسانس ها انتقال یافت و بوسیله یک لام شیشه ای استریل در سطح محیط پخش شد.

نتایج و بحث

۱- نتایج حاصل از قطر هاله رشد کلنی و درصد بازدارندگی از رشد کلنی قارچ *R.stolonifer* و *B.cinerea* نتایج آنالیز واریانس نشان داد که اثر نوع اسانس بر میانگین قطر هاله رشد کلنی در سطح یک درصد معنی دار است (جدول ۱ و ۲). نتایج نشان داد که در محیط کشت حاوی اسانس زیره سیاه (۲.۶۳۸cm) کمترین میزان رشد هاله علیه قارچ *B.cinerea* و در محیط کشت حاوی اسانس آویشن (۳.۷۲۵ cm) بیشترین قطر هاله رشد کلنی این قارچ مشاهده شد (نمودار ۱) و علیه قارچ *R.stolonifer* در محیط کشت حاوی اسانس رازیانه کمترین رشد (۲.۵۱۵ cm) و در محیط کشت حاوی آویشن (۵.۰۰۵ cm) بیشترین رشد دیده شد.

۲- نتایج حاصل از تاثیر اسانس های گیاهی مورد آزمایش در جوانه زنی اسپور قارچ *R.stolonifer* و *B.cinerea* در تیمار با تمامی غلظت های اسانس های مورد آزمایش اختلاف معنی داری با شاهد از نظر جوانه زنی اسپورهای قارچ مذکور در سطح ۰.۰۱ درصد مشاهده گردید (نمودار ۲). به طوری که اسانس رازیانه و زیره سیاه بیشترین بازدارندگی را علیه جوانه زنی به ترتیب اسپور قارچ های *R.stolonifer* و *B.cinerea* را دارا هستند و در محیط کشت حاوی اسانس آویشن بیشترین درصد جوانه زنی اسپور قارچ ها مشاهده شد.

نتایج بدست آمده از بررسی اثر ضد قارچی اسانس ها روی رشد قارچ نشان می دهد که به طور کلی اسانس زیره سیاه و رازیانه نسبت به دو اسانس دیگر خاصیت ضد قارچی بیشتری نشان دادند و اسانس آویشن دارای کمترین تاثیر می باشد. ترکیب غالب اسانس زیره سیاه کومین آلدهید، اسانس رازیانه آنتول، آویشن تیمول و اسانس نعناع فلفلی منتول می باشد که این ترکیبات طبق گزارشات قبلی دارای خاصیت ضد قارچی بالایی هستند (۲ و ۳). سکین و همکاران (۲۰۰۷) نشان دادند که در بین ۵۲ نمونه اسانس گیاه دارویی و ادویه ای که استفاده کردند زیره سیاه بیشترین فعالیت ضد قارچی را علیه فوزاریوم نشان دادند. بیان کردند که این فعالیت ضد قارچی مربوط به ترکیب کومین آلدهید در زیره سیاه می باشد (۳) که با نتایج بدست آمده مطابقت دارد.

نتیجه ای که از این پژوهش می توان گرفت این است که اسانس زیره سیاه و رازیانه بازدارنده رشد قارچ های عامل کپک خاکستری و پوسیدگی نرم توت فرنگی بوده و می تواند جایگزین قارچ کش های مصنوعی در کنترل این قارچ های بیماری زای مهم روی اکثر محصولات میوه که به مصرف مستقیم انسان می رسند، بشود.

جدول ۱- تجزیه واریانس قطر هاله رشد، بازدارندگی از رشد و درصد جوانه زنی اسپور قارچ *R.stolonifer*

میانگین مربعات				
منبع تغییرات	درجه آزادی	قطر هاله رشد کلنی	بازدارندگی از رشد قارچ	درصد جوانه زنی اسپور قارچ
نوع اسانس E	۳	۲۶.۱۲۷**	۳۶۲۹.۸۰**	۱۴۴۳۹.۱۵**
غلظت C	۴	۱۸۱.۳۹۵**	۲۵۱۰۰.۴۴**	۱۷۲۲۲.۰۳**
اثر متقابل E×C	۱۲	۶.۱۷۱**	۸۵۷.۱۳۵**	۱۴۱۹.۰۱**
خطا	۶۰	۰.۰۳۸**	۵.۲۷۲**	۲.۳۵**
کل	۷۹			

* و **: به ترتیب معنی دار در سطوح احتمال ۵ و ۱ درصد

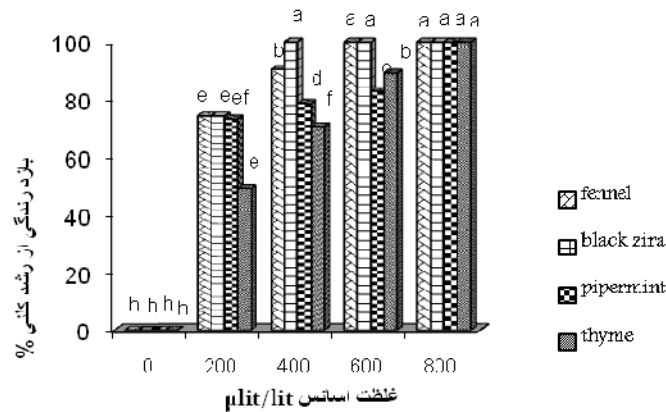
ns: غیر معنی دار

جدول ۲- تجزیه واریانس قطر هاله رشد، بازدارندگی از رشد و درصد جوانه زنی اسپور قارچ *B.cinerea*

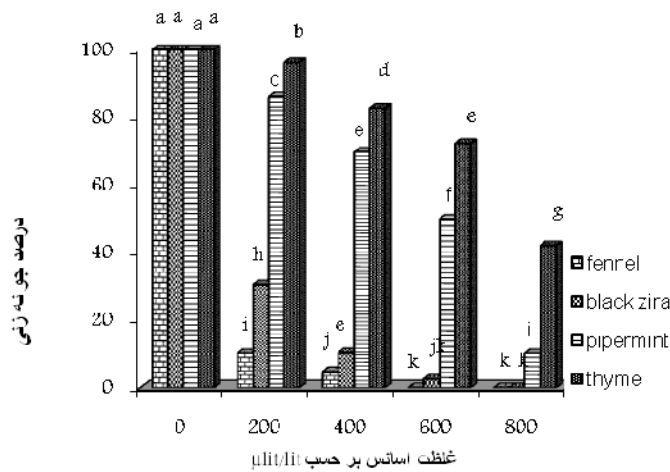
میانگین مربعات				
منبع تغییرات	درجه آزادی	قطر هاله رشد کلنی	بازدارندگی از رشد قارچ	درصد جوانه زنی اسپور قارچ
E نوع اسانس	۳	۵.604**	۳۶۲۹.۸۰**	۵۰۰۷.65**
C غلظت	۴	۱۸۴.98**	۲۵۱۰۰.۴۴**	۲۳۲۴۱.42**
E×C اثر متقابل	۱۲	۱.664**	۸۵۷.۱۳۵**	۷۰۳.37**
خطا	۶۰	۰.024**	۵.۲۷۲**	۲.063**
کل	۷۹			

* و **: به ترتیب معنی دار در سطوح احتمال ۵ و ۱ درصد

ns: غیر معنی دار



نمودار 1- تاثیر غلظت های مختلف اسانس های متفاوت در میانگین بازدارندگی از رشد کلتی قارچ *B. cinerea* بر حسب درصد



نمودار 2- تاثیر غلظت های مختلف اسانس های مختلف بر درصد جوانه زنی اسپور قارچ *R. stolonifer*

منابع

۱- پیغامی آشنایی، س. فرزانه، م. هادیان، ج و م، قربانپور. ۱۳۸۶. بررسی اثر چند اسانس گیاهی در کنترل بیماری کپک . پژوهش کشاورزی: آب، خاک و گیاه در کشاورزی، جلد هفتم. شماره ۳: ۱-۹. *B. cinerea* خاکستری سیب در اثر

2- Bhaskara Reddy, M.V. Angers, P and J, Arul. 1997. Characterization and use of essential oil from *Thymus vulgaris* against *Botrytis cinerea* and *Rhizopus stolonifer* in strawberry fruits. *Photochemistry* 8.1515-1520.

3- Skine, T. Sugano, M and M, Azizi. (2007). Antifungal effects of volatile compounds from Black Zira and other spices and Herbs chem. *Eco* 33.2123-2132.

The study on the effects fungicidal essential oil from several medicinal plants in control *Botrytis cinerea* and *Rhizopus stolonifer* rot fungus postharvest under in vivo conditions.

Abstract

In this study, antifungal activity of some essential oils extracted from *Foeniculum vulgare*, *Carum carvi*, *Thymus vulgaris* and *Mentha piperita* were investigated against gray mold (*Botrytis cinerea*) and smooth rot (*Rhizopus stolonifer*) of strawberry. Fennel essential oil perfectly inhibited growth of *R.stolonifer* fungus colonies at concentration higher than 600 μ liter/liter in PDA medium. Cumin essential oil perfectly inhibited growth of *B.cinerea* fungus colonies at 400 μ liter/liter concentration in PDA medium. Mean separate test (Duncan, $p<0.01$) indicated essential oils of Fennel (76.29%) and Cumin (74.85%) have the higher inhibition percentage of growth *Rhizopus* and *Botrytis* fungus, respectively. Percentage of fungus spur germination was the lowest in medium Fennel and Cumin essential oils contained and was the highest in Thymus ones. As for GS and GS/MS analysis, dominant essential oil in Cumin was comin aldehyde and in fennel was anethol that both have strong antifungal effect.

Key words: plant essential oils, gray mold, smooth rot, comin aldehyde, anethol.