

استفاده از اسانس گیاهان جنس *Thymus* (آویشن) به منظور تهیه قارچکش های ارگانیک

جلال خرمايي (۱)، فرزانه بهادري (۲)، عبدالخالد خرمايي (۳)، يوسف رضا نصيرايي (۴)

۱- دانشجوی کارشناسی تولید و بهره برداری از گیاهان دارویی و معطر مرکز آموزش سمنان، ۲- عضو هیأت علمی مرکز تحقیقات منابع طبیعی و امور دام سمنان، ۳- کارشناس ارشد تولیدات گیاهی مدیریت جهاد کشاورزی آزادشهر، ۴- کارشناس ارشد بیماریهای گیاهی مدیریت جهاد کشاورزی آزادشهر

با توجه به اینکه بقایای سموم شیمیایی در محصولات کشاورزی برای حیوانات و انسان مضر است بهتر است در ساخت سموم از اسانس ها و عصاره های گیاهان استفاده شود که به عنوان روشی بیولوژیک در چند سال اخیر مطرح گردیده است. اسانس های حاصل از گونه های مختلف آویشن (*Thymus*) دارای ترکیبات ضد باکتریایی و ضد قارچی هستند، لذا این اسانس ها بر قارچ کش های شیمیایی ارجحیت دارند. در این بررسی فعالیت ضد قارچی اسانس گونه های مختلف آویشن شامل *Thymus vulgaris*، *Thymus daenensis*، *Thymus kotschyanus* روی رشد قارچ *Fozariom spp* و *Aspergillus spp* در شرایط آزمایشگاه به روش اختلاط اسانس با محیط کشت PDA در قالب طرح کاملا تصادفی با آزمایش فاکتوریل در ۵ غلظت و ۳ تکرار مورد آزمایش قرار گرفتند. نتایج نشان داد که این اسانس ها دارای فعالیت ضدقارچی بود، به طوریکه اسانس *T. daenensis* به ترتیب با غلظتهای ۳۰۰ و ۴۰۰ میکرو لیتر در لیتر رشد میسلیم قارچ اسپرژیلوس و فوزاریوم را ۱۰۰٪ کنترل نمود. اسانس *T. vulgaris* در ۵۰۰ میکرو لیتر در لیتر به اثر مهارکنندگی ۸۰ درصد رشد میسلیم هر دو قارچ رسید. اسانس *T. kotschyanus* با کمترین اثر مهار کنندگی در بالاترین غلظت خود (۵۰۰ میکرو لیتر در لیتر) ۲۰ درصد خاصیت مهارکنندگی از خود نشان داد.

مقدمه

از آنجا که سموم شیمیایی باعث آلودگی های زیست محیطی می شود و همچنین قارچ کش هایی که پس از برداشت میوه ها، جهت کنترل پوسیدگی آنها در انبار مورد استفاده قرار می گیرد، محدودیت هایی را از نظر قانونی، اقتصادی و بیولوژیکی به همراه دارند و بهتر است در ساخت سموم از اسانس ها و عصاره های گیاهان استفاده شود. فرزانه و همکاران (۴) فعالیت ضد قارچی *Artemisia khorasanica* را روی برخی از قارچ های خاکزی بیماری زای گیاهی به اثبات رساندند. افشار منش و همکاران (۱) پتانسیل ضد قارچی اسانس گیاهی (اسطوخودوس، میخک هندی، زیره سبز و نعناع گربه ای) در کنترل قارچ *Rhizopus stolonifer* را گزارش کردند. بررسی های دیگری نیز در مورد فعالیت ضدقارچی اسانس و عصاره گیاهان انجام گرفته که بهنام و همکاران (۲) و شاکرمی و همکاران (۳) و آلواریز کاستیلانوس و همکاران (۷) همگی به این نتیجه رسیده اند که اسانس گیاهان فعالیت ضدقارچی قابل قبولی دارند. هدف در این آزمایش، بررسی فعالیت ضد قارچی اسانس گونه های مختلف آویشن شامل آویشن باغی (*Thymus vulgaris*)، آویشن دنايي (*Thymus daenensis*)، آویشن کوچیانوس (*Thymus kotschyanus*) روی رشد قارچ فوزاریوم (*Fozariom spp*) و اسپرژیلوس (*Aspergillus spp*) در شرایط آزمایشگاه جهت جایگزینی این اسانس ها بجای ترکیبات شیمیایی در قارچ کش ها و یا به عنوان مدلی برای ساخت ترکیبات قارچ کش جدید می باشد.

مواد و روش ها :

آویشن باغی و آویشن دنیایی از مزرعه تحقیقاتی مهدیشهر در منطقه شهرمیرزاد از ارتفاع ۱۸۰۰ متری و آویشن کوچیانوس از منطقه جاشلوار با ارتفاع ۲۶۰۰ متری جمع آوری و پس از خشک کردن عملیات اسانس گیری با دستگاه کیزر به روش تقطیر با آب و بخار انجام شد. قارچ فوزاریوم از گلخانه های آلوده خیار درختی و قارچ اسپرژیلوس از محصولات انباری آلوده جداسازی و در داخل پتری دیش های استریل روی محیط کشت PDA پرورش و تکثیر داده شدند. اسانس گونه های مختلف آویشن به کمک سمپلر (مقدار ۲۰۰، ۳۰۰، ۴۰۰ و ۵۰۰ میکرو لیتر در لیتر) به صورت مستقیم بر روی محیط کشت سترون شده اضافه و قارچ ها بر روی آنها کشت داده شدند. قطر رشد قارچ ها هر روز اندازه گیری و ثبت گردید. این آزمایش در قالب طرح کاملا تصادفی با آزمایش فاکتوریل در سه تکرار انجام شد. برای محاسبه درصد مهار رشد قارچ ها از فرمول: $I = [(C-T)/C]*100$ استفاده شد که در آن C قطر رشد قارچ در پتری شاهد و T قطر رشد قارچ در تیمار حاوی اسانس و I درصد مهار رشد قارچ را نشان می دهد. داده ها با استفاده از نرم افزار MSTATC تجزیه و تحلیل و در صورت معنی دار بودن با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح ۰.۰۵٪، مقایسه میانگین ها انجام شد.

جدول ۱: جدول تجزیه واریانس درصد مهارکنندگی رشد قارچ

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات
نوع قارچ (A)	۱	718.710**
نوع اسانس (B)	۲	25592.692**
قارچ × نوع اسانس (AB)	۲	328.529**
غلظت اسانس (C)	۳	9460.331**
قارچ × غلظت اسانس (AC)	۳	195.021**
نوع اسانس × غلظت اسانس (BC)	۶	3070.915**
قارچ × غلظت اسانس × نوع اسانس (ABC)	۶	669.543**
خطای آزمایشی	۴۸	45.22
CV%		16.97%

نتایج و بحث:

با توجه به جدول تجزیه واریانس (جدول ۱) درصد مهارکنندگی برای اثر نوع قارچ، اثر نوع اسانس، اثرات متقابل نوع قارچ و نوع اسانس، اثر غلظت های مختلف اسانس، اثرات متقابل نوع قارچ و غلظت های مختلف اسانس، اثرات متقابل نوع اسانس و غلظت های مختلف اسانس و همچنین اثرات متقابل نوع قارچ و نوع اسانس و غلظت های مختلف اسانس در سطح $p \leq 0/01$ معنی دار شدند. با توجه به نتایج حاصل از مقایسه میانگین ها (جدول ۲) اثرات متقابل نوع اسانس و غلظت های مختلف اسانس و نوع قارچ بر درصد مهار کنندگی اسانس ها نشان داد که اسانس گونه های مختلف آویشن، در حالیکه خاصیت مهار کنندگی قارچی دارند اما اثرات مهارکنندگی آنها با هم متفاوت است. به طوریکه اسانس *T. daenensis* با غلظت ۳۰۰ میکرو لیتر در لیتر رشد میسلیم قارچ اسپرژیلوس و در غلظت ۴۰۰ میکرو لیتر در لیتر رشد میسلیم قارچ فوزاریوم را ۱۰۰٪ کنترل نمود (که این غلظت ها مربوط به خاصیت قارچ ایستایی این اسانس می باشد) و فعالیت قارچ کشی اسانس *T. daenensis* در غلظت ۵۰۰ میکرو لیتر در لیتر بود. اسانس *T. vulgaris* در ۵۰۰ میکرو لیتر در لیتر به اثر مهارکنندگی ۸۰ درصد رشد میسلیم هر دو قارچ رسید و

فعالیت قارچ کشی اسانس *T. vulgaris* در غلظت ۷۵۰ میکرو لیتر در لیتر بود. اسانس *T. kotschyanus* با کمترین اثر مهار کنندگی در بالاترین غلظت خود (۵۰۰ میکرو لیتر در لیتر) ۲۰ درصد خاصیت مهار کنندگی از خود نشان داد. که در مورد اثرات ضد قارچی اسانس آویشن نتایج بدست آمده با یافته های شاکرمی و همکاران (۱۳۸۵) (۳) در مورد اثرات ضد قارچی *Thymus daenensis* بر رشد میسلومی قارچ بیماری زای گیاهی *Fusarium oxysporum* و همچنین با یافته های مسکوکوی و همکاران (۱۳۸۳) (۶) در رابطه با اثرات ضد قارچی اسانس گیاه آویشن بر روی سویه خالص قارچ اسپرژیلوس پارازیتوکس و با بررسی که فکور و همکاران (۱۳۸۶) (۵) بر روی اثر ضد قارچی اسانس های آویشن شیرازی و آویشن کرکی بر مهار رشد قارچ اسپرژیلوس پارازیتوکس انجام دادند و همچنین با یافته های جیوردانی و همکاران (۲۰۰۴) (۸) در مورد اثرات ضد قارچی اسانس آویشن باغی روی کاندیدا آلبیکنس مطابقت دارد. با توجه به اثرات قارچ کشی قابل توجه اسانس های گیاهی، همچنین کم خطر بودن ترکیبات گیاهی برای انسان و دوام کم آن ها در محیط زیست به نظر می رسد که پژوهش روی ترکیبات گیاهی به منظور دسترسی به ترکیبات قارچ کش برای کنترل عوامل بیماری زای گیاهی و یا به عنوان مدلی برای ساخت ترکیبات قارچ کش جدید ضروری می باشد.

فوزاریوم			آسپرژیلوس			نوع قارچ و اسانس غلظت اسانس
<i>T. kotschyanus</i>	<i>T. daenensis</i>	<i>T. vulgaris</i>	<i>T. kotschyanus</i>	<i>T. daenensis</i>	<i>T. vulgaris</i>	
5 G	8.14 G	5 G	5 G	36.75 D	5 G	۲۰۰ میکرو لیتر در لیتر
5 G	100 A	5 G	14.24 FG	66.66 C	29.05 D E	۳۰۰ میکرو لیتر در لیتر
5 G	100 A	8.17 G	39.59 D	100 A	15.55 FG	۴۰۰ میکرو لیتر در لیتر
14.46 FG	100 A	81.81 B	25.09 EF	100 A	76.49 BC	۵۰۰ میکرو لیتر در لیتر

جدول ۲: مقایسه میانگین اثرات متقابل نوع اسانس و غلظت اسانس و نوع قارچ بر درصد مهار کنندگی رشد قارچ

منابع

- ۱- افشارمنش.ح،ج.هادیان،م.فرزانه و م.احمدزاده.۱۳۸۵، پتانسیل ضد قارچی چند اسانس گیاهی در کنترل قارچ *Rhizopus stolonifer*. هفتمین کنگره گیاه پزشکی ایران .
- ۲- بهنام.س.م.فرزانه و م.احمدزاده.۱۳۸۵، ترکیبات شیمیایی و فعالیت ضد قارچی اسانس روغنی گیاه *Mentha piperita* در شرایط آزمایشگاه . هفتمین کنگره گیاه پزشکی ایران .
- ۳- شاکرمی،ج،ع.بازگیر و م.فیضیان . ۱۳۸۵ ، بررسی مقدماتی اثر مهار کنندگی اسانس پنج گونه گیاه بر رشد میسلیموم چهار گونه قارچ بیماریزای گیاهی در شرایط آزمایشگاهی . علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی. سال دهم. شماره سوم (ب)
- ۴- فرزانه،م.ج.هادیان و ع.شریفی تهرانی . ۱۳۸۵ ، شناسایی ترکیبات اسانس گونه گیاهی *Artemisia khorasanica* و بررسی فعالیت ضد قارچی آن روی برخی از قارچ های خاکزی بیماری زای گیاهی . هفتمین کنگره گیاه پزشکی ایران .

- ۵- فکور، م.ه، علامه، ع، رسولی، ا و مظاهری، م. ۱۳۸۶. اثر ضد قارچی اسانس های آویشن شیرازی و آویشن کرکی بر قارچ مولد آفلاتوکسین. تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران. شماره ۲۳(۲) (پیاپی ۳۶). ص ۲۶۹-۲۷۷.
- ۶- مسکوک، ع، مرتضوی، س و راد، س. ۱۳۸۳. کنترل رشد قارچ آسپرژیلوس پارازیتیکوس توسط اسانس های طبیعی در محیط کشت مصنوعی. علوم کشاورزی و منابع طبیعی. شماره ۱۱(۳). ص ۶۱-۷۰.

The use of *thymus* kind plants essential oil for preparing the organic fungicides

Jalal Khormali, Farzaneh Bahadory, Abdolkhaled Khormali , Yousef Reza Nasiraiee

Abstract:

As remains of chemical poisons in agricultural production is harmful for animals and humans it is better that in production of these poisons plants essential oil and extractions will be used and this is propounded as a biologic method during these recent years. Produced essential oil from different kinds of thymus have anti bacterial and anti fungous compositions, so these essential oil are superior to chemical fungicides. In this research anti fungous activity of different kinds of thymus, such as *thymus vulgaris* , *thymus daenensis*, *thymus kotschyanus* on growth of fungus like *Fozariom spp* , *Aspergillus spp* in vitro is examined with the combination of essential oil with the PDA culture medium method in the form of absolutely accidental plan with factorial examination in 5 density and 3 repetition. The results indicated that these essential oil have anti fungus activities, as *T. daenensis* essential oil with 300 , 400 micro liter in liter densities respectively controlled the mycelium growth of *Aspergillus* and *Fozariom* fungus 100%. *T. vulgaris* essential oil in 500 micro liters in liter attains to 80 % restraining effect of mycelium growth in both of these funguses. *T.kotschyanus* essential oil with the fewest restraining effect in its highest density (500 micro liter in liter) showed 20% restraining property from itself

Key words: Thymus essence , fungus , chemical poisons , thymus