

مطالعه اثر برخی اسانس‌های گیاهی بر دو عامل قارچی پوسیدگی ریشه لویبا *Rhizoctonia solani* و *Fusarium solani* در استان زنجان

شیوا زندگی^۱، رقیه همتی^{۲*}، سعید رضائی^۲ و مرتضی موحدی فاضل^۴

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه بیماری‌شناسی گیاهی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲- نویسنده مسئول، دانشیار، گروه گیاه‌پزشکی، دانشگاه زنجان، ایران، پست الکترونیک: rhemati@znu.ac.ir #rhemati2001@gmail.com

۳- استادیار، گروه بیماری‌شناسی گیاهی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۴- دانشیار، گروه گیاه‌پزشکی، دانشگاه زنجان، ایران

تاریخ پذیرش: اسفند ۱۳۹۵

تاریخ اصلاح نهایی: دی ۱۳۹۵

تاریخ دریافت: شهریور ۱۳۹۵

چکیده

اثر بازدارندگی اسانس چهار گیاه دارویی شامل آویشن شیرازی (*Zataria multiflora* Boiss.)، نعنا فلفلی (*Mentha piperita* L.)، رازیانه (*Foeniculum vulgare* Miller.) و اکالیپتوس (*Eucalyptus camadulensis* Dehnh.) علیه دو عامل اصلی بیماری پوسیدگی ریشه و طوقه لویبا (*Rhizoctonia solani* و *Fusarium solani*) در استان زنجان بررسی شد. برای این منظور شاخص ضدقارچی (AI) اسانس‌های مذکور علیه قارچ‌های بیماری‌زا در چهار غلظت ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ ppm و پنج تکرار برای هر تیمار به روش "ظرف پتری معکوس" بررسی شد. براساس نتایج، اسانس آویشن شیرازی در هر چهار غلظت علیه هر دو بیمارگر و اسانس نعنا فلفلی در چهار غلظت علیه *R. solani* و در غلظت ۴۰۰ ppm *F. solani* بیشترین اثر بازدارندگی (بازدارندگی کامل، AI=100%) را در سطح معنی‌داری ۵٪ داشتند. برای بررسی اثرات سینرژیستی بین اسانس آویشن شیرازی و نعنا فلفلی، شش نسبت اختلاط از این دو اسانس ارزیابی شدند. نتایج این بخش نشان‌دهنده وجود اثر سینرژیستی بین دو اسانس علیه قارچ *F. solani* بود. برای بررسی اثر اسانس‌ها و مخلوط آنها بر کنترل بیماری در شرایط گلخانه، خاک گلدان‌ها با هر دو بیمارگر به‌طور همزمان آلوده شده و بعد بذرها لویبا قرمز رقم ناز پس از تیمار با غلظت‌های مختلف اسانس‌های آویشن شیرازی و نعنا فلفلی و مخلوط آنها در این گلدان‌ها کشت شدند. غلظت‌ها شامل ۲۰۰، ۴۰۰، ۶۰۰، ۸۰۰، ۱۰۰۰، ۱۵۰۰، ۲۰۰۰، ۲۵۰۰، ۳۰۰۰ و ۳۵۰۰ ppm بوده و چهار تکرار برای هر تیمار بکار رفت. تیمار بذرها با اسانس‌ها موجب کاهش معنی‌دار بیماری در گلخانه شد. مؤثرترین نسبت‌های تلفیقی بر کنترل بیماری شامل دو نسبت ۴۰:۶۰ آویشن به نعنا فلفلی و نسبت ۲۰:۸۰ آویشن به نعنا فلفلی بود. مؤثرترین تیمار در آزمون گلخانه‌ای که بیماری را به‌طور قابل توجهی کنترل کرد، تیمار ۴۰:۶۰ آویشن به نعنا فلفلی در غلظت ۱۵۰۰ ppm بود (P=0.05).

واژه‌های کلیدی: اسانس گیاهی، پوسیدگی قارچی ریشه و طوقه، حبوبات، کنترل بیولوژیک.

مقدمه

پوسیدگی قارچی ریشه و طوقه لوبیا از بیماری‌های مهم این گیاه بود و در استان زنجان به‌عنوان مهمترین بیماری لوبیا به‌شمار می‌رود. دو قارچ *Fusarium solani* و *Rhizoctonia solani* به‌عنوان مهمترین عوامل ایجادکننده این بیماری در استان زنجان به‌شمار می‌روند (Naseri & Moradi, 2007). تاکنون روش مدیریتی مؤثری علیه این بیماری وجود نداشته و رایج‌ترین روش اتخاذ شده توسط کشاورزان در منطقه استفاده از قارچ‌کش‌ها در خاک و همراه با آب آبیاری بوده‌است. این قارچ‌کش‌ها نه تنها کنترل رضایت‌بخشی به همراه نداشته‌اند بلکه مخاطرات زیست محیطی کاربرد این مواد شیمیایی در خاک نیز نباید نادیده گرفته شود (Kamangar et al., 2014). اخیراً کاربرد اسانس‌ها برای مهار بیماری‌های گیاهی به‌دلیل عدم سمیت گیاهی و زیست تخریب‌پذیری مورد توجه قرار گرفته‌است. تولید اسانس‌ها به کمک گیاه، سازوکاری دفاعی در برابر عوامل بیمارگر و آفات قلمداد می‌شود (Zini et al., 2011). در سال‌های اخیر تحقیقات زیادی روی گیاهان دارویی و تأثیر آنها روی عوامل بیماری‌زای گیاهی انجام شده‌است (Singh et al., 2007). کارآیی اسانس گیاه کاسیا (*Cassia floribunda*) و میخک (*Dianthus caryophyllus*) در کاهش آلودگی‌های بذر ذرت ناشی از قارچ‌های *Chaetomium indicum* و *Aspergillus flavus* اثبات شده‌است (Chatterjee, 1990). تحقیقات متعددی در رابطه با کاربرد اسانس‌ها علیه دو بیمارگر *R. solani* و *F. solani* انجام شده‌است. در ایران Shakarami و همکاران (۲۰۰۶) اثر ضدقارچی اسانس ۵ گیاه شامل درمنه کوهی، مورت، آویشن دنايي، پنج انگشت و پونه را بر روی چهار قارچ از جمله *R. solani* مطالعه کردند که پونه و آویشن دنايي روی این قارچ اثر صددرصد مهارکنندگی داشتند. Dhingra و همکاران (۲۰۰۴) با استفاده از اسانس خردل تأثیر متوسطی را روی *R. solani* مشاهده کردند. Hoseini (۲۰۱۳) اثر بازدارندگی نعنا فلفلی و مرزه خوزستانی را روی *F. solani* مطالعه کرده و گزارش کرد که مرزه

خوزستانی در غلظت ۵۰۰ میکرولیتر در لیتر محیط کشت، موجب صددرصد بازدارندگی شد. Amini و همکاران (۲۰۱۲) اثر اسانس آویشن شیرازی، آویشن کوهی و آویشن باغی را روی چند قارچ بیماری‌زای گیاهی از جمله *R. solani* مطالعه کرده و در غلظت ۲۰۰ میکرولیتر بر لیتر محیط کشت اثر صددرصد بازدارندگی را مشاهده کردند. Kamangar و همکاران (۲۰۱۴) اثرات بازدارندگی عصاره‌های هگزانی، کلروفرمی، دی‌اتیل اتری و اتانولی هفت گونه گیاهی را بر دو قارچ بیماری‌زای مورد مطالعه این تحقیق بررسی کردند و فاز هگزانی عصاره‌های گیاهان آویشن کوهی و پونه را به‌عنوان مؤثرترین عصاره‌ها علیه هر دو بیمارگر گزارش کردند. گرچه اثرات سینرژیستی اسانس‌ها روی برخی قارچ‌های بیماری‌زای گیاهی بررسی شده اما چنین مطالعاتی روی دو بیمارگر مذکور انجام نشده‌است. Salekmeraji و همکاران (۲۰۱۵) اثر ضد قارچی اسانس گیاه اسطوخودوس را بر روی *F. solani* مطالعه کردند که در غلظت ۲۰۰۰ ppm اثر صددرصد بازدارندگی داشت. Sorkhzaei و همکاران (۲۰۱۴) اثر ضد قارچی اسانس گیاهان دارچین، زیره سبز و نعنا را روی قارچ *F. solani* مطالعه کردند که اسانس دارچین و نعنا بیشترین بازدارندگی را داشتند. Khaledi و همکاران (۲۰۱۵) اثرات ضد قارچی اسانس‌های زیره سیاه و آویشن را با قارچ‌کش‌های کربوکسین و تیاپندازول روی *R. solani* مطالعه کردند که آویشن اثر بازدارندگی بیشتر نسبت به زیره سیاه و قارچ‌کش‌ها داشت. البته تاکنون اثرات سینرژیستی اسانس‌های گیاهی روی دو بیمارگر مذکور مطالعه نشده‌است. Yaghoubi و همکاران (۲۰۱۵) اثر ضد قارچی اسانس‌های آویشن شیرازی و رازیانه و نیز تلفیق این دو اسانس در نسبت‌های مختلف را بر قارچ *Alternaria alternata* با روش پتری‌پلیت معکوس مورد ارزیابی قرار دادند و در برخی نسبت‌های تلفیقی اثرات سینرژیستی مشاهده کردند. Sukatta و همکاران (۲۰۰۸) اثرات تلفیق اسانس دو گیاه میخک و دارچین را بر روی چندین قارچ بیماری‌زای گیاهی مطالعه کرده و اثرات سینرژیستی بین این

ظروف پتری به صورت وارونه در دمای اتاق (۲۴ درجه سانتی‌گراد) قرار گرفتند. پس از یک و دو هفته وقتی که میسلیم قارچ در ظرف پتری‌های شاهد به حاشیه ظرف پتری رسید، ارزیابی اثر اسانس‌ها انجام شد. در این مرحله اسانس‌ها غربال شدند و بهترین اسانس‌ها برای ادامه کار انتخاب شدند. تمامی آزمون‌ها با پنج تکرار برای هر تیمار انجام شد و شاخص ضد قارچی (Antifungal index) به درصد (AI%) با فرمول زیر محاسبه شد (Sukatta et al., 2008):

$$AI = (D_c - D_t) / D_c \times 100$$

که در آن D_t قطر کلونی در تیمار مورد نظر و D_c قطر کلونی شاهد به میلی‌متر بود. آنالیز واریانس و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن برای داده‌های هر هفته در نرم‌افزار SAS ver. 9.1 انجام شد. طرح مورد استفاده طرح کاملاً تصادفی با پنج تکرار در قالب آزمون فاکتوریل بود که فاکتورها شامل نوع اسانس در چهار سطح و غلظت اسانس‌ها در چهار سطح (غلظت‌های ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ ppm) بود.

بررسی اثرات سینرژیستی بین مؤثرترین اسانس‌ها برای بررسی اثرات سینرژیستی بین دو اسانس (آویشن شیرازی و نعنا فلفلی) که مؤثرتر از بقیه اسانس‌ها بودند، این دو اسانس در نسبت‌هایی به شرح جدول ۱ به صورت مخلوط با هم بکار رفتند. روش کار مشابه با روش بکار رفته برای غربال اسانس‌ها در قسمت قبل و به روش "ظرف پتری معکوس" بود. با این تفاوت که به جای استفاده از اسانس‌های خالص، اسانس‌ها به صورت مخلوط با هم بکار رفتند. مقادیر و غلظت‌های مورد استفاده برای مخلوط اسانس‌ها مشابه قسمت قبل بود. به این ترتیب در این قسمت، اسانس‌ها در شش نسبت مختلف با هم مخلوط شده و در چهار حجم ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ میکرولیتر از اسانس خالص (برابر با ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ ppm) برای هر ظرف پتری روی کاغذ صافی واتمن شماره یک در درب ظرف پتری بکار رفتند (حجم فضای داخل ظرف پتری ۵۰ میلی‌لیتر بود).

دو اسانس را به اثبات رساندند. هدف از انجام این پژوهش، بررسی فعالیت ضد قارچی اسانس‌های آویشن شیرازی، نعنا فلفلی، رازیانه و اکالیپتوس در غلظت‌های مختلف روی دو بیمارگر مهم لوبیا در شرایط آزمایشگاه و بعد بررسی اثرات تلفیق مؤثرترین اسانس‌ها، بر مهار بیماری در گلخانه بود.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق از جدایه‌های متعلق به قارچ‌های *F. solani* و *R. solani* که در کلکسیون قارچ‌شناسی گروه گیاه‌پزشکی دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان موجود بودند، استفاده شد (کد جدایه‌های مربوط به *F. solani*: J2D2 و J30A, J8B و کد جدایه مربوط به *R. solani*: Rh8 (CB)). اسانس آماده گیاه آویشن شیرازی با نام علمی *Zataria multiflora* نعنا فلفلی با نام علمی *Mentha piperita* رازیانه با نام علمی *Foeniculum vulgare* و اکالیپتوس با نام علمی *Eucalyptus camadulensis* از شرکت داروسازی باریج اسانس خریداری شد.

آزمون‌های زیست‌سنجی آزمایشگاهی

غربال اولیه اسانس‌ها

فعالیت ضد قارچی اسانس‌ها بر اساس روش "ظرف پتری معکوس" انجام شد (Singh et al., 2007). بدین منظور ابتدا در ظروف پتری به قطر دهانه ۹ سانتی‌متر، مقدار ۲۰ cc PDA ریخته شده و پس از منعقد شدن آن، یک دیسک ۵ میلی‌متری از کشت پنج تا هفت روزه هر گونه قارچی از محیط کشت PDA برداشته شده و در وسط محیط کشت مذکور قرار گرفت. سپس مقدارهای حجمی ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ میکرولیتر از اسانس خالص هر گیاه به طور مجزا بر روی دیسکی مربعی به ابعاد ۱/۲ سانتی‌متر از کاغذ صافی واتمن شماره ۱ با میکروبییت ریخته شده و این دیسک داخل درب ظرف پتری قرار گرفت، به طوری که با تقسیم مقدار حجمی بکار رفته بر حجم فضای فعال داخل ظروف پتری، به ترتیب غلظت‌های ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ ppm بدست آمد. دور ظروف پتری با پارافیلیم پوشانده شده و

جدول ۱- نسبت‌های اختلاط دو اسانس برای تعیین اثرات سینرژیستی (به درصد)

اسانس آویشن	۱۰۰	۸۰	۶۰	۴۰	۲۰	۰
اسانس نعنا	۰	۲۰	۴۰	۶۰	۸۰	۱۰۰

آزمون‌های گلخانه‌ای

در آزمون‌های گلخانه‌ای از روش تیمار بذری با اسانس استفاده شد. این آزمون طی دو مرحله شامل آزمون مقدماتی و نهایی انجام شد.

آزمون مقدماتی

تهیه مایه تلقیح قارچ‌ها: برای تهیه مایه تلقیح قارچ *R. solani* جدایه Rh8 (CB) ابتدا در محیط کشت PDA کشت داده شد. آنگاه بذرهای گندم به مدت ۲۰ ساعت در آب خیس شدند و بعد آب آنها خالی شده و در ظروف دربسته به مدت ۲۰ دقیقه سه روز متوالی تحت فشار ۱ اتمسفر و دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد اتوکلاو، سترون شدند. بذرهای اتوکلاو شده گندم در ظرف پتری‌های استریل توزیع شدند و در هر ظرف پتری پنج دیسک میسلیومی از کشت یک هفته‌ای جدایه مذکور قرار گرفت. سپس ظرف پتری‌ها به انکوباتور با دمای ۲۴ درجه سانتی‌گراد منتقل شده و به مدت ۲۰ روز در آنجا نگهداری شدند تا میسلیوم قارچ تمام بذرهای پتری را دربرگیرد. برای تهیه مایه تلقیح *Fusarium* نیز از روش مشابه استفاده شد. ابتدا جدایه‌های J8B، J30A و J2D2 از گونه *Fusarium solani* که بیماری‌زایی بالای آنها روی لوبیا قبلاً به اثبات رسیده بود (Safarloo & Hemmati, 2011)، در محیط کشت PDA به صورت مخلوط کشت شدند و بعد بقیه مراحل به شرح بالا انجام شد.

آماده‌سازی سوسپانسیون اسانس‌ها: در این مرحله لازم بود اسانس آویشن شیرازی و نعنا فلفلی به تنهایی و نیز به صورت تلفیقی در غلظت‌ها و نسبت‌های تلفیقی مختلف در گلخانه بکار روند. با توجه به متفاوت بودن شرایط گلخانه و ظروف پتری، حجم‌ها یا غلظت‌های مورد استفاده در ظرف پتری برای تیمارهای گلخانه مناسب نبوده و لازم بود که

سپس حداقل غلظت بازدارندگی MIC (Minimal Inhibitory Concentration) و نیز غلظت بازدارندگی کسری یا FIC_{index} (Fractional Inhibitory Concentration) برای این دو اسانس بدست آمد.

MIC عبارت است از: کمترین غلظت مورد استفاده از یک اسانس یا مخلوط دو اسانس که موجب صددرصد بازدارندگی شده است. برای محاسبه شاخص FIC یا FIC_{index} ابتدا مقدار FIC یا غلظت بازدارندگی یک اسانس در حضور اسانس دیگر محاسبه شده و بعد FIC مربوط به هر اسانس با دیگری جمع بسته شد (به شرح سه فرمول زیر):

$$FIC(A) = \frac{MIC A \text{ (in the presence of } N)}{MIC A}$$

$$FIC(N) = \frac{MIC N \text{ (in the presence of } A)}{MIC N}$$

$$FIV(index) = FIC(A) + FIC(N)$$

توضیح: MICA در حضور N = سهم اسانس A در نسبت تلفیقی مورد نظر × کمترین غلظت بازدارندگی (MIC) آن نسبت تلفیقی. منظور از A آویشن شیرازی و منظور از N نعنا فلفلی می‌باشد.

بدین ترتیب برای هر نسبت از غلظت‌های جدول فوق، FIC_{index} محاسبه شد. در صورتی که این عدد کوچکتر از یک باشد نشان‌دهنده اثر سینرژیستی بین دو اسانس در غلظت بکار رفته می‌باشد. در صورتی که این شاخص برابر با یک شود نشان‌دهنده اثر افزایشی و در صورتی که بیشتر از یک باشد نشان‌دهنده اثر آنتاگونیستی بین اسانس‌هاست (Sukatta et al., 2008). داده‌های مربوط به شاخص ضدقارچی تلفیق اسانس‌ها در نسبت‌های مختلف برای هفته اول و دوم به‌طور جداگانه در نرم‌افزار SAS آنالیز شدند.

گندم به *R. solani* در سطح خاک گلدان قرار گرفته و روی آن با لایه نازکی از خاک پوشانده شد. سپس بذرها تیمار شده لویبا به تعداد دو عدد در هر گلدان قرار گرفته و با لایه‌ای از خاک پوشانده شدند. به این ترتیب آزمون مقدماتی گلخانه در ۲۴ تیمار شامل شش نسبت تلفیقی از دو اسانس و چهار غلظت مختلف انجام شد. بذرها کشت شده در گلدان‌های شاهد در سوسپانسیون آب، صمغ عربی و توئین ۸۰ فاقد اسانس تیمار شدند. در گلدان‌های شاهد سالم از مایه تلقیح قارچ استفاده نشد. شاهد آلوده دارای تیمار قارچ‌ها و فاقد تیمار اسانس بود. این آزمایش به صورت طرح کاملاً تصادفی در قالب آزمون فاکتوریل با دو فاکتور شامل نسبت تلفیق در شش سطح و غلظت (در چهار سطح) و چهار تکرار برای تیمار انجام شد.

ارزیابی بیماری و ثبت داده‌ها: پس از گذشت سه هفته از کشت گیاهان، علائم بیماری و فاکتورهای رشدی مورد ارزیابی قرار گرفتند. فاکتورهای اندازه‌گیری شده شامل طول ریشه، طول اندام هوایی، وزن تر ریشه، وزن تر اندام هوایی و طول زخم نکروزه بود. تجزیه واریانس (ANOVA) و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در نرم‌افزار SAS ver. 9.1 انجام شد. نتایج این آزمون برای طراحی آزمون نهایی استفاده شد.

آزمون نهایی

براساس نتایج آزمون مقدماتی در گلخانه، آزمون نهایی گلخانه با تعیین غلظت‌های جدیدی از اسانس‌ها انجام شد. به عبارت دیگر ابتدا چهار غلظت (۱۰۰۰، ۵۰۰، ۱۰۰ ppm و ۱۰۰۰۰) با فاصله‌های زیاد در آزمون مقدماتی گلخانه انتخاب شدند که هدف از انتخاب این غلظت‌ها تعیین حدود غلظت‌های نهایی بود. دو غلظت ۵۰۰ و ۱۰۰۰ غلظت‌های موفق این آزمون بودند. بنابراین باید غلظت‌های بینابینی آنها در آزمون نهایی مورد آزمون قرار گیرند. این غلظت‌های جدید در دو دامنه به شرح زیر انتخاب شدند؛ دامنه اول: غلظت‌های کمتر یا مساوی با ۱۰۰۰ میکرولیتر بر لیتر (ppm) شامل غلظت‌های

غلظت‌های مناسبی بدین منظور بکار روند. با توجه به اینکه کار مشابهی در منابع علمی یافت نشد، از این رو لازم بود که این حجم‌ها با استفاده از یک آزمون مقدماتی در گلخانه بدست آیند. در این مرحله از چهار حجم با فاصله نسبتاً زیاد از هم استفاده شد و مقرر گردید براساس نتایج حاصل حجم مناسب انتخاب شده و در آزمون اصلی و نهایی گلخانه حجم‌های نزدیک به این حجم مناسب مورد آزمون قرار گیرند. این حجم‌ها عبارت بودند از: ۱۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۰۰۰ میکرولیتر اسانس در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر (به ترتیب برابر با غلظت‌های ۱۰۰۰، ۵۰۰، ۱۰۰ و ۱۰۰۰۰). تمام نسبت‌های تلفیق دو اسانس به شرح جدول ۱ در حجم‌های مذکور تهیه شدند. سوسپانسیون اسانس‌ها همچنین حاوی ۱٪ صمغ عربی (یک گرم صمغ عربی بر ۱۰۰ میلی‌لیتر سوسپانسیون) و ۰/۲٪ توئین ۸۰ (۰/۲ میلی‌لیتر برابر با ۲۰۰ میکرولیتر توئین ۸۰ در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب) بود.

آماده‌سازی بذرها و تیمار بذرها با سوسپانسیون‌های مختلف اسانس‌ها: بذرها لویبا قرمز (*Phaseolus vulgaris*) رقم ناز ابتدا به مدت ۴ دقیقه در محلول هیپوکلریت سدیم ۵٪ ضدعفونی سطحی شدند و بعد به خوبی آبکشی و خشک شدند. سپس در هر یک از ظروف حاوی نسبت‌ها و غلظت‌های مختلف اسانس‌ها بذرها لویبای مربوط به هر تیمار به‌طور جداگانه به مدت سه ساعت در داخل سوسپانسیون اسانس‌ها قرار گرفتند. پس از سپری شدن زمان مورد نیاز، بذرها از داخل سوسپانسیون خارج شده و به مدت دو ساعت در معرض هوا قرار گرفته و خشک شدند و به شرح زیر در گلدان‌ها کشت گردیدند (El-Mougy et al., 2012).

آزمون بیماری‌زایی: در این بخش از گلدان‌هایی به حجم ۲۰۰ میلی‌لیتر استفاده شد. در هر گلدان مخلوطی از خاک مزرعه و ماسه به نسبت ۲ به ۱ بکار رفت. مخلوط خاک و ماسه در یک دوم پایین گلدان ریخته شد. سپس پنج عدد بذر آلوده گندم به *Fusarium* و پنج عدد بذر آلوده

بیشترین شاخص ضد قارچی را دارا بود (شکل ۱ و ۲).

نتایج محاسبه MIC و FIC

کمترین غلظت بازدارندگی کامل (MIC) اسانس خالص آویشن شیرازی، اسانس خالص نعنا فلفلی و تمام نسبت‌های مختلف تلفیقی بکار رفته دو اسانس علیه قارچ *R. solani* غلظت ۱۰۰ ppm بود. غلظت بازدارندگی کسری (FIC) نیز در تمام نسبتها علیه این بیمارگر برابر با یک بود، بنابراین اثرات تلفیقی این دو اسانس علیه این بیمارگر در نسبت‌های مورد استفاده آنتاگونیستی یا سینرژیستی نبوده بلکه خنثی بوده است. در مورد قارچ *Fusarium* نتایج متفاوتی بدست آمد، به طوری که در تمام نسبت‌های تلفیقی این دو اسانس علیه *F. solani* شاخص FIC پس از گذشت یک و دو هفته عددی کمتر از یک بود که این نتیجه نشان‌دهنده اثر سینرژیستی بین دو اسانس بود. کمترین غلظت بازدارندگی در مورد این بیمارگر در تمام نسبت‌ها برابر با ۱۰۰ ppm بود، در حالیکه در کاربرد نعنا فلفلی خالص، این غلظت برابر با ۲۰۰ ppm در اولین زمان ارزیابی نتایج یعنی هفته اول بعد از کشت و ۴۰۰ ppm در دومین زمان ارزیابی نتایج یعنی هفته دوم بعد از کشت بود (جدول ۲).

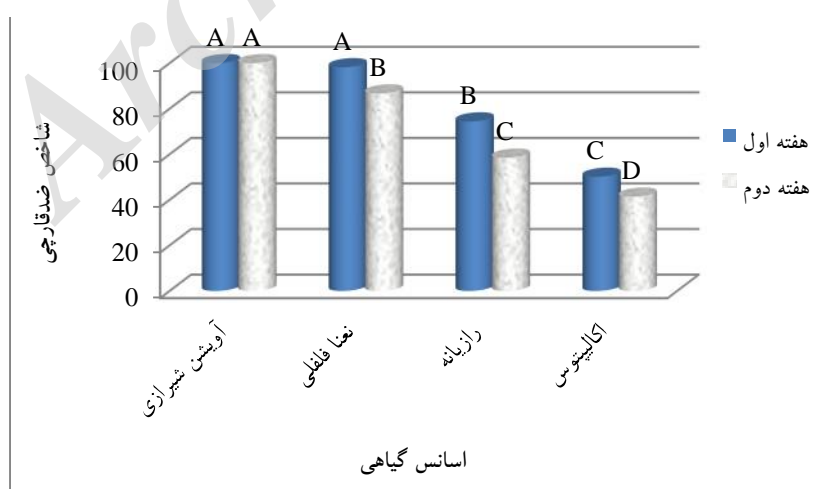
۲۰۰، ۴۰۰، ۶۰۰، ۸۰۰ و ۱۰۰۰ دامنه دوم: غلظت‌های بیش از ۱۰۰۰ میکرولیتر بر لیتر شامل غلظت‌های ۱۵۰۰ ppm، ۲۰۰۰، ۲۵۰۰، ۳۰۰۰ و ۳۵۰۰.

در این مرحله تنها دو نسبت که بهترین نتایج را در مرحله قبل داشتند شامل نسبت نعنا ۲۰٪، آویشن ۸۰٪ و نسبت نعنا ۶۰٪ و آویشن ۴۰٪ به‌عنوان نسبت‌های منتخب بکار رفتند. این آزمون نیز به‌صورت طرح کاملاً تصادفی در قالب آزمون فاکتوریل انجام شد که فاکتورها شامل نسبت تلفیق در ۲ سطح و غلظت در ۱۰ سطح بودند. داده‌های حاصل از این آزمون نیز در نرم‌افزار SAS ver. 9.1 آنالیز شدند.

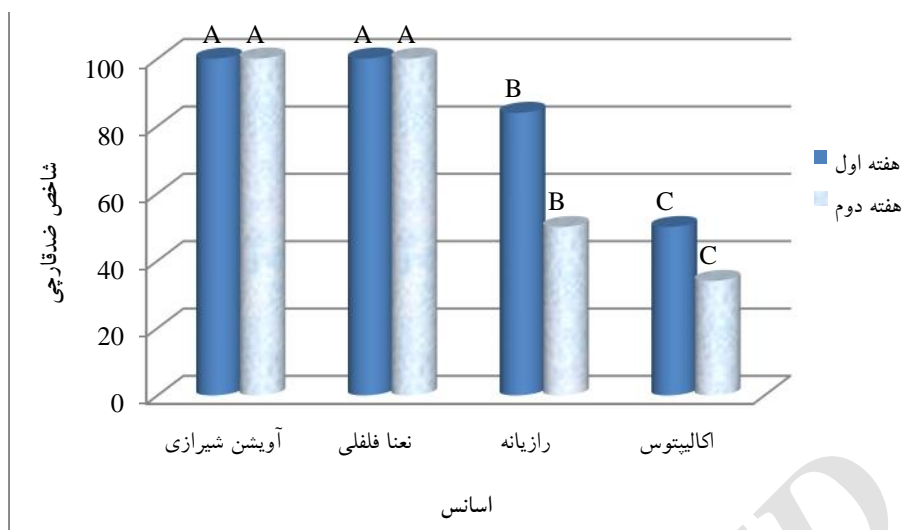
نتایج

نتایج غربال اولیه اسانس‌ها

بررسی‌های اولیه زیست‌سنجی چهار اسانس گیاهی بر روی دو گونه بیمارگر نشان داد که اسانس‌های آویشن شیرازی و نعنا فلفلی به علت درصد بازدارندگی بالا در حجم‌های کم دارای بهترین اثر بازدارندگی بر رشد میسلیومی هر دو گونه قارچی بودند. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که بین اسانس‌های چهار گیاه، اختلاف معنی‌داری از نظر اثر بازدارندگی بر هر دو قارچ در سطح معنی‌داری ۵٪ وجود داشت، به طوری که در مورد هر دو قارچ، آویشن شیرازی



شکل ۱- گروه‌بندی اسانس‌های گیاهی بر اساس اثر ضدقارچی آنها علیه قارچ *Fusarium solani*



شکل ۲- گروه‌بندی اسانس‌های گیاهی براساس اثر ضدقارچی آنها علیه قارچ *Rhizoctonia solani*

جدول ۲- کمترین غلظت بازدارندگی کامل (MIC) و غلظت بازدارندگی کسری (FIC) اسانس‌های نعنا فلفلی و

آویشن شیرازی در نسبت‌های مختلف اختلاط علیه قارچ *Rhizoctonia solani* و *Fusarium solani*

در هفته‌های اول و دوم پس از کشت

نسبت اختلاط اسانس (%)	MIC (هفته اول)	MIC (هفته دوم)	FIC (هفته اول)	FIC (هفته دوم)
<i>Rhizoctonia solani</i>				
آویشن ۱۰۰ / نعنا ۰	۱۰۰	۱۰۰	۱	۱
آویشن ۸۰ / نعنا ۲۰	۱۰۰	۱۰۰	۱	۱
آویشن ۶۰ / نعنا ۴۰	۱۰۰	۱۰۰	۱	۱
آویشن ۴۰ / نعنا ۶۰	۱۰۰	۱۰۰	۱	۱
آویشن ۲۰ / نعنا ۸۰	۱۰۰	۱۰۰	۱	۱
آویشن ۰ / نعنا ۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱	۱
<i>Fusarium solani</i>				
آویشن ۱۰۰ / نعنا ۰	۱۰۰	۱۰۰	۱	۱
آویشن ۸۰ / نعنا ۲۰	۱۰۰	۱۰۰	۰/۸۵	۰/۹
آویشن ۶۰ / نعنا ۴۰	۱۰۰	۱۰۰	۰/۷	۰/۸
آویشن ۴۰ / نعنا ۶۰	۱۰۰	۱۰۰	۰/۵۵	۰/۷
آویشن ۲۰ / نعنا ۸۰	۱۰۰	۱۰۰	۰/۴	۰/۶
آویشن ۰ / نعنا ۱۰۰	۲۰۰	۴۰۰	۱	۱

※: ستون سوم و چهارم مقادیر MIC با واحد ppm می‌باشد.

نتایج آزمون مقدماتی گلخانه

از آنجایی که نتایج این آزمون فقط برای تصمیم‌گیری در مورد غلظت‌ها و نسبت‌های مورد استفاده برای آزمون نهایی گلخانه لازم بود، از این رو نتایج این بخش به صورت کلی و مختصر بدون آوردن جزئیات جدول‌های تجزیه واریانس ذکر می‌شود.

از نظر طول زخم طوقه بین تیمارها اختلاف معنی‌داری در سطح ۵٪ مشاهده شد و براساس آزمون دانکن تیمارها در چهار گروه آماری قرار گرفتند. شاهد آلوده در گروهی جداگانه با بیشترین طول زخم طوقه قرار گرفت. همچنین تیمارها از نظر وزن تر اندام هوایی براساس آزمون دانکن در ۱۳ گروه آماری قرار گرفتند که شاهد آلوده با کمترین وزن تر اندام هوایی در یک گروه جداگانه واقع شد. از نظر سایر فاکتورهای مورد ارزیابی نیز بین تیمارها اختلاف معنی‌داری در سطح ۵٪ وجود داشت ولی شاهد آلوده با برخی تیمارها در یک گروه آماری قرار گرفت. از بین چهار غلظت مورد استفاده در آزمون مقدماتی، غلظت ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکرولیتر بر لیتر به عنوان غلظت‌های مطلوب ارزیابی شدند. با توجه به اینکه بیشترین تعداد بذرهای جوانه زده در غلظت ۱۰۰۰۰ میکرولیتر بر لیتر مشاهده گردید، از این رو این غلظت به عنوان نامناسب‌ترین غلظت تشخیص داده شد. همچنین از بین شش نسبت مختلف، نسبت آویشن ۸۰/نعنا ۲۰ و آویشن ۴۰/نعنا ۶۰ بهترین نسبت‌ها بوده و برای آزمون نهایی انتخاب شدند. بیشترین تعداد تیمارهای ازدست‌رفته در اثر عدم جوانه‌زنی بذر، مربوط به نسبت آویشن ۱۰۰ و نعنا صفر بود.

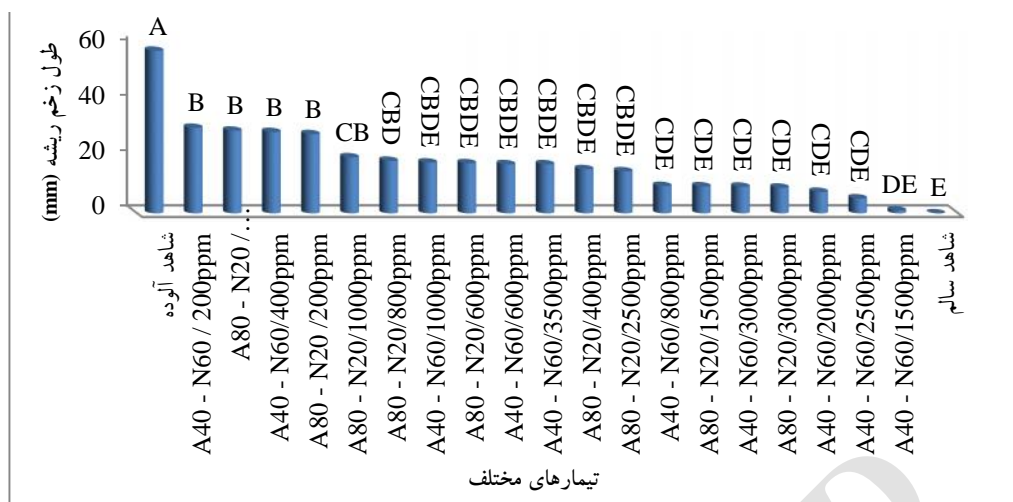
نتایج آزمون نهایی گلخانه

بین تیمارها با هم و با تیمار شاهد آلوده در سه فاکتور مورد ارزیابی شامل طول زخم طوقه، طول ریشه و وزن اندام هوایی تفاوت معنی‌دار در سطح ۵٪ مشاهده شد.

البته بین دو نسبت بکار رفته در آزمون نهایی یعنی نسبت (آویشن ۸۰/نعنا ۲۰) و (آویشن ۴۰/نعنا ۶۰) ارتباط معنی‌داری در سطح ۵٪ وجود نداشت. حال آنکه غلظت‌های مختلف تأثیرات مختلفی بر فاکتورهای اندازه‌گیری شده گیاهان داشته و اثر غلظت معنی‌دار بود. برخی غلظت‌ها مانع از ظهور گیاهان در یک یا چند عدد از تکرارهای تیمارها شدند که از بین آنها غلظت ۳۵۰۰ ppm، بیشترین میزان ممانعت از ظهور گیاهان را داشت، به طوری که از چهار تکرار مربوط به نسبت آویشن ۴۰/نعنا فلفلی ۶۰ در این غلظت تنها یک گیاه ظاهر شد و در نسبت دیگر (آویشن ۸۰/نعنا فلفلی ۲۰٪) از این غلظت هیچ گیاهی رشد نکرد.

طول زخم طوقه

بین تیمارها از نظر طول زخم طوقه تفاوت معنی‌دار با هم و با تیمار شاهد در سطح ۵٪ وجود داشت و بر این اساس تیمارها در شش گروه قرار گرفتند ($P=0.002$) (شکل ۳). کمترین طول زخم طوقه مربوط به تیمار آویشن ۴۰/نعنا فلفلی ۶۰٪ در غلظت ۱۵۰۰ میکرولیتر بر لیتر و بیشترین آن مربوط به تیمار آویشن ۴۰/نعنا فلفلی ۶۰٪ در غلظت ۲۰۰ میکرولیتر بر لیتر بود. در تیمارهای مربوط به غلظت ۳۵۰۰ میکرولیتر بر لیتر در نسبت آویشن ۸۰/نعنا ۲۰٪ هیچ گیاهی رشد نکرد. براساس تجزیه واریانس داده‌ها مشخص شد که بین نسبت‌های تلفیق به تنهایی اختلاف معنی‌دار وجود نداشته ولی بین غلظت‌ها اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ وجود داشت. از آنجایی که در غلظت ۳۵۰۰ میکرولیتر بر لیتر اغلب گیاهان رشد نکرده بودند، بنابراین برای جلوگیری از ایجاد خطا در نتایج، این غلظت در آنالیز فاکتورهای رشدی حذف شد.



شکل ۳- گروه‌بندی تیمارهای مختلف بذر با اسانس‌ها بر اساس تأثیر بر طول ریشه طوقه لوبیا (A: آویشن شیرازی، N: نعنا فلفلی)

طول ریشه

بین تیمارها از نظر اثر بر طول ریشه، تفاوت معنی‌دار با هم و با تیمار شاهد وجود داشت، بر این اساس تیمارها در شش گروه قرار گرفتند ($P=0.04$). کمترین طول ریشه مربوط به تیمار آویشن ۴۰٪ نعنا فلفلی ۶۰٪ در غلظت ۸۰۰ ppm (میانگین طول: ۷/۳۱ میلی‌متر) و بیشترین آن مربوط به تیمار آویشن ۸۰٪ نعنا فلفلی ۲۰٪ در غلظت ۲۰۰ ppm (میانگین طول: ۲۴/۵ میلی‌متر) بود.

وزن اندام هوایی

بین تیمارها از نظر اثر بر وزن اندام هوایی، تفاوت معنی‌دار با تیمار شاهد وجود داشت، بر این اساس تیمارها در پنج گروه قرار گرفتند ($P=0.03$). کمترین وزن اندام هوایی مربوط به تیمار آویشن ۴۰٪ نعنا فلفلی ۶۰٪ در غلظت ۲۰۰۰ میکرولیتر بر لیتر و بیشترین آن مربوط به تیمار آویشن ۴۰٪ نعنا فلفلی ۶۰٪ در غلظت ۶۰۰ میکرولیتر بر لیتر بود. بقیه فاکتورهای رشدی ارزیابی شده (وزن ریشه و طول اندام هوایی) بین تیمارهای مختلف و شاهد اختلاف معنی‌داری را در سطح معنی‌داری ۵٪ نشان ندادند.

بحث

در این تحقیق نشان داده شد که نوع اسانس و غلظت‌های مختلف آن به تنهایی و نسبت‌های مختلف تلفیق آنها در میزان بازدارندگی از رشد میسلیمی قارچ نقش کلیدی و مهم دارد. در این تحقیق از میان چهار اسانس آویشن شیرازی (*Z. multiflora*)، رازیانه (*F. vulgare*)، نعنا فلفلی (*M. piperita*) و اکالیپتوس (*Eucalyptus camadulensis*) در شرایط آزمایشگاهی، اسانس آویشن شیرازی از سایر اسانس‌ها بهتر بود و بعد از آن نعنا فلفلی و رازیانه بهترین اثر بازدارندگی را داشتند. به طوری که بیشترین فعالیت را در کمترین غلظت نشان دادند. اسانس آویشن شیرازی در بازدارندگی از رشد هر دو بیمارگر به‌عنوان مؤثرترین اسانس شناخته شد. در تحقیقات دیگر نیز خاصیت ضدقارچی بالای اسانس این گیاه اثبات شده‌است. به‌عنوان مثال Yaghoubi و همکاران (۲۰۱۵) در غربال هشت اسانس گیاهی علیه قارچ *Alternaria alternata* اسانس آویشن شیرازی را به‌عنوان بهترین اسانس هم از نظر بازدهی استحصال اسانس از توده گیاهی و هم مؤثرترین اسانس ارزیابی کردند. یکی از مهمترین چالش‌ها در کاربرد اسانس‌ها هزینه تمام شده برای آنهاست. با توجه به اینکه این اسانس در حجم بسیار کم نیز مؤثر واقع شد، بنابراین توانایی کاربرد با صرفه اقتصادی را دارا می‌باشد. گیاه

بیمارگرهای مورد مطالعه (*R. solani*) اثرات سینرژیستی نداشته و در مورد بیمارگر دیگر (*Fusarium*) اثرات سینرژیستی داشتند که این نتیجه نیز تأثیر نوع بیمارگر قارچی بر اثرات متقابل دو اسانس را نشان می‌دهد.

در رابطه با دو بیمارگر مورد مطالعه در این تحقیق تاکنون تحقیق مشابهی انجام نشده است. Kamangar و همکاران (۲۰۱۴) اثر فازهای مختلف عصاره‌گیری از گیاهان مختلف را علیه این دو بیمارگر در لوبیا در آزمایشگاه و گلخانه بررسی کردند و فاز هگزانی عصاره گیاهان آویشن کوهی و پونه را در غلظت ۱۰۰۰ ppm به‌عنوان بهترین و مؤثرترین عصاره‌ها علیه بیماری معرفی کردند. این محققان از آویشن شیرازی در تحقیق خود استفاده نکرده بودند. اگرچه عصاره‌ها به دلیل ثبات و عدم فرار بودن معتبرتر از اسانس‌ها می‌باشند اما کاربرد آنها در گلخانه به‌ویژه در فازهای غیرقابل حل در آب مشکلات تکنیکی خاص خود را داراست. از این‌رو در این تحقیق همان پاتوسیستم (لوبیا - *F. solani* و *R. solani*) مورد هدف قرار گرفت اما به جای کاربرد عصاره از اسانس‌ها استفاده شد. در این تحقیق برخلاف تحقیق Kamangar و همکاران (۲۰۱۴) که عصاره هگزانی در خاک بکار رفت، اسانس‌ها در خاک بکار رفته و به‌صورت تیمار بذری استفاده شدند. با این حال تیمار بذری نیز موجب کاهش پوسیدگی ریشه گردید. البته تاکنون تحقیقات گسترده‌ای در رابطه با کاربرد اسانس‌ها برای کنترل بیماری‌های گیاهی در گلخانه انجام نشده است. با توجه به نتایج گلخانه، مشخص شد که در هر دو آزمون گلخانه‌ای مقدماتی و نهایی، غلظت‌های بالا، مانع از جوانه‌زنی بذر و ظهور گیاهچه در برخی تیمارها شدند. از سوی دیگر این غلظت‌های بالا، موجب کاهش فاکتورهای رویشی گیاهان شدند. براساس نتایج آزمون نهایی گلخانه، غلظت‌های مختلف تأثیرات مختلفی بر فاکتورهای اندازه‌گیری شده گیاهان داشته و اثر غلظت معنی‌دار بود. برخی غلظت‌ها مانع از ظهور گیاهان در یک یا چند عدد از تکرارهای تیمارها شدند که از میان آنها غلظت ۳۵۰۰ ppm بیشترین نرخ ممانعت را از ظهور گیاهان داشت، به‌طوری که از چهار تکرار مربوط به نسبت آویشن ۴۰٪/نعنا فلفلی ۶۰٪ در این غلظت تنها یک گیاه ظاهر شد و در نسبت دیگر (آویشن ۸۰٪/

مؤثر دیگر، نعنا فلفلی بود. این گیاه در هر دو هفته اول و دوم بر روی قارچ *R. solani* بازدارندگی کامل داشت، در حالی که بر روی قارچ *Fusarium* در هفته دوم در غلظت ۱۰۰ ppm اثر بازدارندگی کاملی نداشت.

در تلفیق دو اسانس آویشن شیرازی و نعنا فلفلی دیده شد که این دو اسانس علیه قارچ *R. solani* اثرات تجمعی داشتند، بدین مفهوم که تلفیق این دو اسانس نه اثر سینرژیستی و نه اثرات آنتاگونیستی داشت. این نتیجه نشان می‌دهد که تلفیق یا عدم تلفیق این دو اسانس از نظر اثرات بازدارندگی و نیز کاهش حجم بازدارندگی مورد نیاز اسانس‌ها علیه قارچ *R. solani* تفاوتی ندارند. در حالیکه نتایج مربوط به FIC برای قارچ *F. solani* متفاوت بوده و کاربرد تلفیق این دو اسانس اثرات تشدیدکنندگی یا سینرژیستی بر بازدارندگی از رشد این قارچ داشت. بیشترین اثر سینرژیستی در مورد قارچ *F. solani* مربوط به نسبت آویشن ۲۰٪/نعنا ۸۰٪ بود که در این نسبت شاخص FIC کمترین مقدار را دارا بود. در سایر نسبت‌ها نیز شاخص FIC همواره عددی کمتر از یک بود که نشان از اثرات سینرژیستی داشت. Yaghoubi و همکاران (۲۰۱۵) اثرات تلفیق دو اسانس آویشن شیرازی و رازیانه را بر روی قارچ *A. alternata* بررسی کرده و اثرات سینرژیستی بین این دو اسانس در هفته‌های دوم، سوم و چهارم را بعد از تیمار مشاهده کردند. در تحقیق این محققان، نسبت آویشن ۴۰٪/رازیانه ۶۰٪ بیشترین اثر سینرژیستی را داشتند. در برخی نسبت‌ها بین این دو اسانس، اثرات آنتاگونیستی و افزایشی نیز مشاهده شد. Sukatta و همکاران (۲۰۰۸) اثرات تلفیق اسانس دو گیاه میخک و دارچین را بر روی چندین قارچ بیماری‌زای گیاهی مطالعه کرده و اثرات سینرژیستی بین این دو اسانس را به اثبات رساندند. اما نکته قابل توجه در تحقیق این محققان این بود که نسبت‌های مختلف تلفیق برای تمام قارچ‌های بیماری‌زای مورد مطالعه یکسان عمل نکردند، به‌طوری که یک نسبت خاص در مورد برخی بیمارگرها رابطه سینرژیستی بین دو اسانس را نشان می‌داد و در مورد برخی بیمارگرهای دیگر این رابطه آنتاگونیستی بود. چنین نتیجه‌ای در این تحقیق نیز مورد تأیید است، زیرا نسبت‌های مورد استفاده در مورد یکی از

- Naseri, B. and Moradi, P., 2007. Prevalence of fungal causal agents of root rot and their damage to bean in Zanjan. *Iranian Journal of Plant Pathology*, 431: 347.
 - Safarloo, Z. and Hemmati, R., 2011. Comparing different factors for studying of pathogenicity diversity among the isolates of *Fusarium solani* on bean. Abstracts of the First Congress of New Science and Technologies in Agriculture, Iran, 10-12 September: 236-239.
 - Salekmeraji, H., Zare, M.J., Noorollahi, Kh., Saleknaghdi, R. and Tafreshi, S.Kh., 2015. Study on the effect of two medicinal plants, savory and lavender, against *Fusarium solani*. *Biological Control of Plant Pests and Diseases*, 4: 73-76.
 - Shakarami, G., Bazghir, A. and Feizian, M., 2006. Study on in vitro effects of five essential oils on mycelial growth of four plant pathogenic fungal specie. *Journal of Sciences and Technology of Agriculture and Natural Resources*, 10: 497-503.
 - Singh, G., Sumitra, M., de Lampasona, M.P. and Catalan, C., 2007. A comparison of chemical, antioxidant and antimicrobial studies of cinnamon leaf and bark volatile oils, oleoresins and their constituents. *Food and Chemical Toxicology*, 45: 1650-1661.
 - Sorkhzaei, M., Zarin nia, V. and Gholnaraghi, A., 2014. In vitro evaluation of antifungal activity of essential oil from several plants on *Botrytis cinerea*, *Bipolaris oryzae* and *Fusarium solani*. Abstracts of the 21th Plant Protection Congress, Urmia, Iran, 1-4 August: 45.
 - Sukatta, U., Haruthaithanasan, V., Chantarapanont, W., Dilokkunanant, U. and Suppakul, P., 2008. Antifungal activity of clove and cinnamon oil and their synergistic against postharvest decay fungi of grape in vitro. *Kasetsart Journal of Natural Science*, 42: 169-174.
 - Yaghoubi, B., Hemmati, R. and Movahedi Fazel, M., 2015. Synergistic effects between essential oils of Shirazi thyme and fennel against *Alternaria alternate*. Proceedings of the 4th National Congress of Organic and Conventional Agriculture, Ardebil, Iran, 18-19 August: 1.
 - Zini, M., Boukla, M., Majidi, L., Kharchouf, S., Aountini, A., Bouyanzer, A., Hammouti, B., Costa, J. and Al-Deeyba, S.S., 2011. Chemical composition and inhibitory effect of *Mentha spicata* essential oil on the corrosion of steel in molar hydrochloric acid, *International Journal of Electrochemistry Science*, 6: 691-704.
- نمنا فلفلی (۲۰٪) از این غلظت هیچ گیاهی رشد نکرد. بنابراین لازم است از غلظت‌های مساوی یا کمتر از ۳۰۰۰ میکرولیتر بر لیتر برای تیمار بذری استفاده شود. با توجه به تأثیربخشی بسیار بالای اسانس آویشن شیرازی و نیز اثرات سینرژیستی بین دو اسانس علیه یکی از مهمترین عوامل پوسیدگی ریشه و طوقه لوبیا، توصیه می‌شود سایر روش‌های کاربرد تلفیقات اسانسی این تحقیق از جمله روش کاربرد در خاک نیز به تنهایی و نیز در تلفیق با تیمار بذری مورد بررسی قرار گیرد تا به کنترل مؤثرتر و نتایج کاربردی تری دست یافت.
- منابع مورد استفاده**
- Amini, M., Safaie, N., Salmani, M.J. and Shams-Bakhsh, M., 2012. Antifungal activity of three medicinal plant essential oils against some phytopathogenic fungi. *Trakia Journal of Sciences*, 10: 1-8.
 - Chatterjee, D., 1990. Inhibition of fungal growth and infection in maize grains by spice oils. *Letters in Applied Microbiology*, 11: 148-151.
 - Dhingra, O.D., Costa, M.L.N., Silva, J.R.G.J. and Mizubuti, E.S.G., 2004. Essential oil of mustard to control *Rhizoctonia solani* seedling damping off and seedling blight in nursery. *Fitopatologia Brasileira*, 29: 683-686.
 - El-Mougy, N.S., Abdel-Kader, M.M., Aly, M.D.E. and Lashin, S.M., 2012. Application of fungicides alternatives as seed treatment for controlling root rot of some vegetables in pot experiments. *Advances in Life Sciences*, 2: 57-64.
 - Hoseini, M., 2013. Study on the inhibitory effect of essential oils of *Satureja khuzistanica*, *Mentha piperita* and *Thymus vulgaris* against mycelia growth of plant pathogenic fungi *Fusarium solani*, *Botrytis cinerea* and *Alternaria solani*. Ms.C. Thesis Department of Plant Protection, University of Lorestan, Khoramabad.
 - Kamangar, H., Hemmati, R., Yazdinejad, A.R. and Movahedi Fazel, M., 2014. Study on antifungal effects of five plant species extracts against *Fusarium solani* and *Rhizoctonia solani* on bean. *Iranian Plant Protection Science*, 49: 49-58.
 - Khaledi, N., Taheri, P. and Tarighi, S., 2015. Antifunga activity of various essential oils against *Rhizoctonia solani* and *Macrophomina phaseolina* as major bean pathogens. *Journal of Applied microbiology*, 118: 704-717.

Study on the effect of some plant essential oils on two fungal causal agents of bean root rot, *Fusarium solani* and *Rhizoctonia solani* in Zanjan Province

Sh. Zandi¹, R. Hemmati^{2*}, S. Rezaee³ and M. Movahedi Fazel⁴

1- M.Sc. Student, Department of Plant Pathology, Tehran Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

2*- Corresponding author, Department of Plant Pathology, University of Zanjan, Zanjan, Iran

E-mail: rhemati@znu.ac.ir; rhemati2001@gmail.com

3- Department of Plant Pathology, Tehran Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

4- Department of Plant Pathology, University of Zanjan, Zanjan, Iran

Received: August 2016

Revised: January 2017

Accepted: February 2017

Abstract

Inhibitory effect of essential oils from four medicinal plants, shirazi thyme (*Zataria multiflora* Boiss.), pepper mint (*Mentha piperita* L.), eucalyptus (*Eucalyptus camadulensis* Dehnh.) and fennel (*Foeniculum vulgare* Miller.) was investigated against two major causal agents of bean root rot in Zanjan province, *Fusarium solani* and *Rhizoctonia solani*. For this purpose, anti-fungal index (AI) of essential oils against disease causing fungi was investigated by reverse petri dish method in four concentrations of 100, 200, 300 and 400 ppm in five replicates for each treatment. Based on laboratory results, all concentrations of shirazi thyme and peppermint essential oils had the most inhibitory effect (AI = 100%) on *R. solani*, also all concentrations of shirazi thyme as well as one concentration of peppermint (400ppm) had complete inhibitory effect on *F. solani* ($P=0.05$). To investigate the synergistic effect between essential oil of peppermint and thyme, six mixing ratios of them were assessed. The results indicated synergistic effect between two essential oils against *F. solani*. To study the effect of essential oils and their mixtures on disease control under greenhouse conditions, the soil of pots was inoculated with both pathogens simultaneously, then the seeds of red bean cultivar Naz were sown after treatment with different concentrations of essential oils with four replications for each treatment (concentrations: 200, 400, 600, 800, 1000, 1500, 2000, 2500, 3000, 3500 ppm). Seed treatment with essential oils decreased the disease significantly. The most effective combination ratios of thyme and peppermint for disease control were 80:20 and 60:40. The most effective treatment for disease control was 1500 ppm of the combination of thyme and peppermint in the ratio of 60:40 ($P=0.05$).

Keywords: Plant essential oil, fungal root and crown rot, beans, biological control.