Archive of SID

فصلنامه‌ی فیزیولوژی و تکنولوژی پس از برداشت فرآورده‌های باغی
سال اول، شماره‌ی سوم، ۱۳۹۱
صص ۱۰۶-۹۱

بررسی اثرات ضد قارچی اسانس چند گیاه دارویی در بازدارنگی از رشد قارچ‌های عامل بیماری پس از برداشت انگور در استان خراسان شمالی

حجت اله ربانی نسب*
استاد یار مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی خراسان شمالی

سید احمد موسوی
دانش آموخته بیماری شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان

ناهید حیدر زاده
عضو هیات علمی دانشگاه آزاد اسلامی واحد بجنورد

چکیده

در این تحقیق اثر ضد قارچی اسانس ۵ گیاه دارویی برازمبل، (*Peroveskia abrotanoides*) بادرنجبویه (Mellissa officinalis)، بادرنجبویه پرپر(*Dracocephalum kotschyi*)، کاکوتی کوهی (*Ziziphora clinopodioides*) و مرزن‌جوش (*Origanum vulgar*) روی رشد قارچ‌های عامل بیماری‌های پس از برداشت انگور در استان خراسان شمالی مورد بررسی قرار گرفت. جهت انجام این تحقیق در تابستان و زمستان ۱۳۹۰ از تاکستان‌ها وسردخانه‌های استان خراسان شمالی نمونه‌برداری بر اساس علایم بیماری‌های پس از برداشت انجام شد و پس از کشت در شرایط آزمایشگاهی قارچ‌های گونه‌های جنس‌های *Alternaria* و *Penicillium*، *Aspergillus*، *Rhizopus*، *Botrytis* شناسایی گردیدند. آزمایش به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کامل تصادفی و در سه تکرار انجام شد. اسانس‌ها از تمام قسمت‌های گیاهان خشک شده دارویی تهیه شده و با توئین ۸۰ به نسبت یک به یک رقیق شدند. نتایج مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن نشان داد که همه اسانس‌ها در غلظت‌های ۲۰۰ و ۳۰۰ میکرو لیتر در ۱۰۰ میلی لیتر محیط کشت اثر معنی‌داری در بازدارندگی از رشد همه قارچ‌های فوق داشتند. اسانس مرزنجوش موثرترین اثر بازدارندگی از رشد قارچ‌های پس از برداشت را دارا بود، بطوریکه بیشترین میانگین رشد قارچ در غلظت صفر درصد و کمترین میانگین رشد در

* نویسنده مسئول: h.rabbani@areo.ir

تاریخ دریافت ۱۳۹۲/۹/۳ تاریخ پذیرش ۱۳۹۲/۱۱/۱۸

www.SID.ir

Archive of SID

غلظت‌های ۲۰۰ و ۳۰۰ میکرو لیتر در ۱۰۰ میلی لیتر محیط کشت از اسانس مرزنجوش مشاهده شد. این در حالیست که کاکوتی کوهی در غلظت‌های فوق کمترین اثر بازدارندگی از رشد قارچ‌های موصوف را داشته است. نتایج بررسی اثر متقابل اسانس‌ها با گونه‌های قارچی نشان داد که بیشترین تاثیر بر قطر پرگنه را اسانس گیاه مرزن‌جوش روی قارچ‌های *Aspergillus niger* ، *Botrytis cinerea*، *Rhizopus stolonifer*، *Penicillium solitum*، *Penicillium expansum*، *Penicillium citrinum* و *Alternaria alternate*؛ و اسانس گیاه بادرنجبویه روی قارچ *Botrytis cinerea* داشت.

کلیدواژه ها: بیماریهای پس از برداشت انگور، گیاهان دارویی، اسانس، اثر ضد قارچی

مقدمه

بیماری های پس از برداشت را اساساً تعداد کمی از آسکومیست ها، قارچ‌های ناقص، معدودی از گونه‌های اامیست‌ها[1]، زیگومیست‌ها[2]، بازیدیومیست‌ها[3] و باکتری‌ها[4] ایجاد می‌کنند. مهمترین پوسیدگی‌ها ناشی از قارچ‌های *Mucor piriformis* و *Pencillium expansum* است، زیرا این دو قارچ موجب فساد میوه در سردخانه و انبار می‌شوند؛ بعضی ازگونه‌های *Aspergillus* نیز ممکن است موجب تولید قارچ زهر[5] در میوه‌های آلوده شوند. دو قارچ *A.niger* و *Gilberella persicaria* به میوه‌های انبار شده در دمای بالا حمله می‌کنند.

نگهداری میوه در انبار به مدت طولانی، شدت این بیماری را افزایش می‌دهد. میوه‌هایی که برای خشک کردن در نظر گرفته شده‌اند در خلال دوره‌ی رسیدگی میوه و یا در حین نگهداری آنها در انبارهای بدون سیستم سرد کننده، مورد حمله ی این قارچها قرارگرفته و آلوده می‌شوند (Agrios, 2005).

روشهای مختلف شیمیایی و غیر شیمیایی برای کنترل بیماریهای پس از برداشت وجود دارد. گیاهان دارویی دارای ترکیباتی هستند که آنها را درکنترل برخی از قارچها توانمند ساخته است. گیاهان دارویی متعلق به خانواده های نعناعیان و چتریان غنی از ترکیبات ضد میکروبی وآنتی اکسیدانی هستند (Faleiro *et al.*, 1995; Farzaneh *et al.*, 2006 ; Hadian *et al.*, 2007).

---

[1] - *Oomysetes*

[2] - *Zygomycets*

[3] - *Basidiomycets*

[4] - *Bacterial*

[5] - Mycotoxin

www.SID.ir

Archive of SID

عنصر اصلی اسانس در تعدادی از گیاهان خانواده نعناعیان از جمله کاکوتی، پولگون[1] است. پولگون دارای خاصیت ضدباکتریایی و ضدقارچی بوده و بویژه روی ایزوله‌های مختلف سالمونلا[2] موثر است (Amiri, 2009 ; Sajjadi,*et al*., 2003). استفاده از اسانس‌های گیاهی در کنترل بیماری‌های پس از برداشت میوه به عنوان روشی جدید در چند سال اخیر مطرح شده است (Ranjbar *et al*., 2008). پژوهش‌های Defrea وهمکاران (2002) نشان داد که ترکیبات ضد میکروبی حاصل از گیاهان آویشن و مرزنجوش در غلظت ۳۰۰- ۸۵ میلی گرم در لیترباعث کنترل قارچ *Botrytis cinerea* شده است. Chebli و همکاران (2004) گزارش کردند که اسانس بدست آمده از گل داوودی با غلظت ۱۵۰میلی گرم در لیتر دارای خاصیت آنتاگونیستی علیه *Botrytis cinerea* بود.

مطالعات مختلفی انجام شده که در آن اثرات ضد میکروبی اسانس‌های آویشن[3]، مرزنجوش[4]، مرزه[5] و اکالیپتوس[6] به تنهایی روی میکروارگانیسم‌های مختلف بررسی شده است است (Marino *et al*., 1999). در مطالعات دیگر برای نگه‌داری میوه ها، غوطه ور نمودن آنها در پودر میخک و نمک پیشنهاد شده است (Prasad *et al*., 1929). درگزارش دیگری اثبات شد که ادویه‌ها می‌توانند به عنوان عوامل ضد میکروبی در نگه داری موادغذایی و جلوگیری از رشد میکروارگانیزمهای عامل فساد موثر باشند (Frazier, 1967). بر اساس منابع و فرضیه‌های موجود هدف از این تحقیق بررسی تأثیر اسانس‌ها ی چند گیاه دارویی مرزنجوش، برازمبل، بادرنجبویه، کاکوتی کوهی و بادرنجبویه پرپر که در استان‌های شمالی کشور می‌رویند، بر کنترل قارچ های انباری میوه انگور در شرایط نگه داری میوه پس از برداشت در استان خراسان شمالی است تا در صورت حصول نتا یج مطلوب، بتوان از آنها به عنوان یکی از جایگزین‌های قارچکش‌های شیمیایی در کاهش ضایعات پس از برداشت میوه انگور استفاده نمود.

---

1 - *pologon*
2 - *salmonella*
3 -*Zataria multiflora*
4 -*Origanum majorana*
5 -*Satureja hortensis*
6 -*Eucalyptus globules*

www.SID.ir

Archive of SID

مواد و روشها

جداسازی و خالص سازی قارچها:

نمونه های آلوده به صورت تصادفی وبراساس علایم بیماری از سردخانه ها وسایر مکان های نگهداری میوه جات در نقاط مختلف سطح استان خراسان شمالی جمع آوری و بـه آزمایشـگاه انتقال یافت. از نقاط آلوده میوه، ریز نمونه هایی تهیه شدند تا پس از ضد عفونی با هیپوکلریت سدیم ۱٪ به مدت ۲تا۳ دقیقه و سه بار شستشو با آب مقطر استریل، در داخـل تشـتک هـای حاوی محیط کشت سیب زمینی – دکستروزآگار[1] کشت و به انکوباتور با دمای ۲۵- ۲۸ درجـه سلسیوس منتقل گردیدند. پس از بررسی نمونه ها و رشد آنها بر اسـاس شـکل پرگنـه قـارچ و تهیه اسلایدها ی میکروسکوپی با استفاده از کلیدهای موجود قارچ ها شناسایی گردیدند. برای خالص سازی از محیط کشت آب- آگار استفاده شد. برای خـالص سـازی از روش تـک اسـپور کردن استفاده شد. جهت تشخیص جنس و گونه های قارچ های خالص سازی شده از از کلیـد شناسـایی موجـود در سـایت www.mycobank.org اسـتفاده شـد (Backhaus, 1984; Dabinett *et al.*, 1973 ; Haubroken *et al.*, 2007; Simons, 2007). برای اثبات بیماریزایی قارچ های مورد آزمایش میوه های کاملاً سالم انگور با هیپوکلریت سـدیم ۱٪ بـه مـدت ۲تـا۳ دقیقه ضدعفونی سطحی شـدند. درمحـیط سـترون بـا کمـک سـوزن ضـد عفـونی شـده سـه شیارعرضی موازی در پوست میوه ها ایجاد وقسمت کوچکی از پرگنـه قـارچ جـدا شـده مـورد نظربه داخل زخم ها ا نتقال داده شد. هریک ازمیوه های آلوده وشـاهد در۱۰تکـرار بـه صـورت انفرادی در داخل کیسه های پلاستیکی وانکوبـاتور ۲۵- ۲۸ درجـه سـانتیگراد قرارگرفتنـد. در میوه های آلوده شده ازمحل ظهور علایم مجدداً نمونه برداری وخالص سازی قارچ انجام شد که نتایج بدست آمده بیانگر صحت تشخیص عوامل بیماریزا در قسمت قبـل بودنـد (Lane *et al.*, 2010).

روش تهیه اسانس:

پـس از جمـع آوری و تهیـه گیاهـان کـل پیکـره رویشـی گیاهـان دارویـی، بادرنجبویـه[2]، بادرنجبویه پرپر[3]، برازمبل[4] ، کاکوتی کوهی، مرزن جوش در سایه و دمای مناسب خشک شـده

1 - *Potato Dextrose Agar*
2 - *Melissa officinalis*
3 - *Deracocephalum kotschyi*
4 - *Peroveskia abrotanoides*

www.SID.ir

Archive of SID

سپس توسط آسیاب پودر گردیدند. استخراج اسانسها به روش تقطیر با آب[1] به مدت ۲ ساعت با دستگاه کلونجر(مدل دارونامه° بریتانیا) انجام شد به این منظور مقدار ۱۰۰ گرم گیاه پودرشده به داخل بالن ژوژه دستگاه اسانس گیری ریخته و ۷۰۰ میلی لیترآب مقطر اضافه شد، تا به مدت دوساعت جریان تقطیر انجام شد. پس از اتمام اسانس گیری، اسانس در شیشه رنگی ریخته تا زمان استفاده دریخچال در دمای۴- نگهداری شد(Salehi *et al.*, 2005 ; Samson *et al.*, 1992).

بررسی فعالیت ضد قارچی در شرایط آزمایشگاه:

هریک از اسانس ها در توین ۸۰ به نسبت یک به یک حل شدند. برای بدست آوردن حداقل غلظت موثر و تعیین حد آستانه حداقل مهار رشد قارچ در یک آزمایش مقدماتی غلظتهای ۲۰، ۵۰ ، ۷۵ و ۱۰۰ میکرولیتر در ۱۰۰ میلی لیتر محیط کشت PDA مورد آزمایش قرار گرفت و بر اساس نتایج این آزمایش غلظت های ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میکرولیتر اسانس در ۱۰۰ میلی لیتر محیط کشت PDA برای انجام آزمایش انتخاب شد. پس از اضافه کردن اسانس به محیط کشت استریل و ولرم *PDA* محیط کشت مزبور خوب هم زده شد. پس از مخلوط شدن اسانس مورد نظرومحیط کشت، محتویات ارلنها به تشتکهای استریل انتقال یافتند. با استفاده از یک چوب پنبه سوراخ کن سترون به قطر ۸ میلیمتر، حلقه هایی از کشت۴ روزه قارچ ها تهیه شد و در وسط تشتک های محتوی محیط کشت قرارگرفت.تشتک ها به مدت ۵ روزدر انکوباتور با درجه حرارت ۲۸-۲۵ درجه سانتیگراد و شرایط ۱۲ساعت روشنایی و۱۲ساعت تاریکی قرارگرفتند.

درروزهای متوالی قطر پرگنه های قارچ در دو جهت عمود بر هم اندازه گیری واز میانگینهای حاصله در تفسیرنتایج آزمایش استفاده شد. سپس درصد ممانعت از رشد میسلیوم قارچ های مورد نظر درهریک از غلظت های آزمایشی محاسبه گردید. آزمایش به صورت فاکتوریل و درقالب طرح کامل تصادفی با ۳ تکرار برای هر تیمار و شاهد که فقط شامل اضافه شدن توین ۸۰ به محیط کشت بود انجام شد. اطلاعات در نرم افزار اکسل ثبت شده و سپس با نرم افزار Mstatc مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. مقایسه میانگین ها با آزمون دانکن انجام شد .

1 - *Hydrodistilation*

www.SID.ir

Archive of SID

نتایج و بحث

جداسازی و شناسایی قارچها

نتـایج حاصـل از شناسـایی قارچهـا نشـان داد کـه ۷ گونـه *Penicillium citrinum*، *Penicillium expansum*، *Penicillium solitum*، *Aspergillus niger*، *Rhizopus stolonifer*، *Alternaria alternata* و *Botrytis cinerea* بیشترین فراوانی را در ایجاد بیماریهای پـس از برداشت انگور در استان خراسان شمالی داشته در این تحقیق استفاده شدند.

تجزیه و تحلیل داده ها:

تجزیه واریانس داده ها نشان داد که بین اسانسهای گیاهـان دارویـی مختلـف و غلظتهـای مختلف در بازدارندگی از رشد قارچ در سطح احتمال یک درصد اختلاف معنی دار وجود دارد (جدول۱).

همچنین مقایسه میانگین ها نشان داد که توانـایی بازدارنـدگی اسـانس گیاهـان دارویـی مختلف از رشد پرگنه قارچهای مورد آزمایش نسبت به هم متفاوت بوده است (جدول ۲).

براین اساس غلظت های صفر (شاهد) با میانگین ۶/۱۱ سانتی متـر قطـر پرگنـه کمتـرین بازدارنگی را به خود اختصاص داده است. ایـن در حـالی اسـت غلظـت۳۰۰ بـا میـانگین ۶۳٪ بازدارندگی از رشد بیشترین تاثیر را در بین غلظت های مورد آزمایش به خود اختصـاص داد و می توان بعنوان بهترین غلظت در نظر گرفت (عکس ۱). در بین تمام گیاهان دارویـی آزمـایش شده مرزنجوش با میانگین ۷۷ درصد بازدارندگی از رشد بیشترین اثر کنترل کنندگی را داشته بطوریکه میانگین قطر پرگنه تیمار شده با اسانس این گیاه ۱/۳۶ بود. همچنین مرزنجوش در غلظت ۳۰۰ میکرولیتر در ۱۰۰ میلی لیتر محیط کشت با ۸۵ درصد بازدارندگی از رشد پرگنـه قارچ بهترین عملکرد را در بین همه تیمارها داشته است (عکس۲). نتـایج نشـان داد کـه بـین اسانسهای مختلف اخـتلاف معنـی داری وجـود داشـت و پـس از گیـاه مرزنجـوش بـه ترتیـب اسانس‌های گیاهان بادرنجبویه ، بادرنجبویـه پرپـر و برازمبـل بـا ۵۶، ۵۳ و ۴۶ درصـد کنتـرل کنندگی نسبت به شاهد در رتبه های بعدی قرار گرفتند. از طرف دیگر اسانس کاکوتی کوهی با میانگین ۴۰ درصد کنترل کنندگی کمترین توانایی را در کنترل قارچهای آزمـایش شـده در این تحقیق داشته و رشد پرگنه قـارچ در حضـور غلظـت ۳۰۰ میکرولیتـری اسـانس بـه ۳/۶۷ رسیده است (عکس ۳). بر اساس جدول ۲ بین اسانسهایی که قطر پرگنه متناظر با آنها حـرف یکسانی را به خود اختصاص داده اند در سطح یک درصد اختلاف معنـی داری مشـاهده نشـد.

www.SID.ir

Archive of SID

همچنین نتایج نشان می دهد که غلظت ۳۰۰ میکرولیتر اسانس در ۱۰۰ میلی لیتر محیط کشت با ۶۳ درصد بازدارندگی از رشد قارچها بهترین اثربخشی را داشته اند و غلظت های ۲۰۰ و ۱۰۰ با ۴۷ و ۴۳ درصد به ترتیب در جایگاههای بعدی قرار گرفتند.

اثر متقابل قارچ واسانسها بر قطر پرگنه:

نتایج تجزیه واریانس اثر متقابل اسانس گیاهان دارویی بر رشد پرگنه قارچهای مختلف نشان داد که اختلاف معنی داری بین اثرات تیمارهای گیاهی و همچنین اثرپذیری قارچهای مختلف وجود داشت (جدول ۳). مرزنجوش بیشترین تاثیر را روی قارچهای *A.Alternata* و *R.stolonifer* داشته و میانگین قطر پرگنه قارچ پس از ۵ روز در هر سه غلظت آزمایشی ۰/۹سانتیمتر بوده است. به عبارت دیگر موثرترین کنترل کنندگی را در بین همه گیاهان دارویی آزمایشی اسانس مرزنجوش نسبت به دو قارچ *A.Alternata* و *R.stolonifer* داشتند. کمترین اثر کنترل کنندگی نیز مربوط به اثر اسانس برازمبل روی قارچ *R.stolonifer* است. در مجموع نتایج نشان می‌دهد که قارچ *A.Alternata* یک قارچ حساس به اکثر گیاهان دارویی است. از طرف دیگر اسانس کاکوتی کوهی کمترین اثر کنترل کنندگی را نسبت به همه قارچها داشته است. نتایج مقایسه میانگین اثرات متقابل اسانس و گونه های قارچی بر قطر پرگنه دارای اثرات متفاوتی است. بطوریکه بیشترین تاثیربرقطر پرگنه را اسانس گیاه مرزن جوش روی قارچ های *Aspergillus niger* ، *Botrytis cinerea*، *Rhizopus stolonifer*، *Penicillium solitum*، *Penicillium expansum*، *Penicillium citrinum* و *Alternaria alternata*؛ واسانس گیاه بادرنجبویه روی قارچ *Botrytis cinerea* داشته که همگی این قارچها درغلظت‌های ۲۰۰µl در ۱۰۰ میلی لیتر محیط کشت با میانگین قطر پرگنه دو و کمتر از دو سانتیمتر داشته و همچنین اسانس گیاه بادرنجبویه پرپر روی قارچ های *Rhizopus stolonifer* و *Penicillium citrinum* ؛ و اسانس گیاه بادرنجبویه روی قارچهای *Aspergillus niger* ، *Botrytis cinerea*، *Penicillium expansum*، *Penicillium citrinum* و *Alternaria alternate* همگی درغلظت های ۳۰۰µl در ۱۰۰ میلی لیتر محیط کشت بیشترین تاثیر را در کنترل قارچها داشته‌اند.

پژوهش‌های Defera و همکاران (2002) نشان داد که ترکیبات ضد میکروبی حاصل از گیاه آویشن و مررزن جوش در غلظت ۳۰۰- ۸۵ میلی گرم در لیتر باعث کنترل قارچ *Botrytis cinerea* شد. در این تحقیقات روی اثربازدارندگی اسانس‌ها و ترکیبات

www.SID.ir

Archive of SID

مختلف از جمله مرزنجوش، آویشن ودیکتاموس وکارواکرول، تیمول و آلفاترپینول روی کپک پنی سیلیوم دیجیتاتوم[1] مشخص شد که تمام این اسانس ها در غلظت ۲۵۰ پی پی‌ام (*ppm*) تولید اسپور را به شدت کاهش داده است. این نتایج با یافته‌های این تحقیق مبنی بر توانایی بازدارندگی اسانس گیاه مرزنجوش از قارچ پنیسیلیوم همخوانی دارد. محققین دیگری ترکیبات شیمیایی روغن فرار دو گیاه آویشن شیرازی و مرزنجوش را شناسایی کردند. نتایج بیانگر آن است که ۸۵/۳۳ درصد ترکیبات روغن فرار گیاه آویشن شیرازی و ۶۰/۳درصد روغن فرار مرزنجوش را ترپنوئیدهای اکسیژنه تشکیل داده است (Khanvy *et al.*, 2009).

تیمول[2] وکارواکرول[3] از اجزای اصلی اسانس های خانواده نعناعیان هستند. این دو ترکیب از نظر شیمیایی بسیار به هم شبیه‌اند و فقط جایگاه گروه هیدروکسیل در آنها متفاوت است. تیمول وکارواکرول از اجزای ضد میکروبی بسیار موثر در اسانس ها هستند (Davis *et al.*, 1998). کمترین غلظت بازدارندگی ماده کارواکرول بر قارچ *Penicillium expansum* برابر ۲۴/۶ میکرولیتر در ۲۰میلی لیتر بوده که در این غلظت کارواکرول خاصیت قارچ ایستایی داشته است ونه قارچ‌کشی (Nery *et al.*, 2006). در تحقیق حاضر بعد از اسانس مرزن جوش اسانس‌های بادرنجبویه، بادرنجبویه پرپر و برازمبل به ترتیب بیشترین تاثیر برقارچ‌های *Aspergillus niger*، *Rhizopus stolonifer*، *Botrytis cinerea*، *Alternaria alternate*، *Penicillium solitum*، *Penicillium expansum* و *Penicillium citrinum* را داشته که اسانس بادرنجبویه توانسته در غلظت ۳۰۰µl در محیط کشت جامد باعث بازدارندگی از رشد قارچ‌های *Alternaria alternate*، *Botrytis cinerea*، *Penicillium expansum* و *Penicillium citrinum* و تاثیر آن بر روی قارچ‌های *Penicillium solitum*، *Aspergillus niger* و *Rhizopus stolonifer* به مراتب کمتر است. از آنجا که قارچ *R.stolonifer* یکی از مهمترین قارچهای پس از برداشت است، بر اساس نتایج بدست آمده بجز مرزنجوش سایر گیاهان دارویی توفیق چندانی در کنترل این قارچ نداشتند. هرچند تحقیقات Behdad و همکاران (2011) نشان داد که برای کنترل قارچ فوق عامل بیماری پوسیدگی نرم توت فرنگی اسانس گساهان دارویی مرزه و زنیان به ترتیب در غلظت های ۳۰۰ و ۵۰۰ پی پی ام قارچ را

1 - *Penicillium digitatom*

2 - *Tymol*

3 - *caroacral*

www.SID.ir

Archive of SID

بطور کامل مهار نمودند (Behdad *et al.*, 2011). در آزمایش دیگری اثر ضد قارچی اسانس بذرهای باریجه[1] مربوط به شهرهای کاشان، ایلام و سمنان بر روی دو قارچ بیماری زای گیاهی *Botrytis cinerea* و *Rhizopus stolonifer* بررسی شد. نتایج آزمون چند دامنه‌ای دانکن نشان داد که میانگین رشد قارچ *B. cinerea* در هر سه نمونه اسانس با افزایش غلظت اسانس کاهش می یابد، به طوری که کمترین و بیشترین میزان رشد این قارچ به ترتیب در غلظتهای ۱۲۰۰ و صفر میکرولیتر بر لیتر اسانس مشاهده گردید. در مقابل، تأثیر غلظت‌های مختلف اسانس بر روی قارچ *R. stolonifer* نشان داد که در هر سه نمونه اسانس با افزایش غلظت، تقریباً میزان رشد قارچ افزایش یافته است و در حقیقت افزایش غلظت، تأثیر تشدید کننده بر رشد قارچ را داشته است. نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که افزایش غلظت اسانس می‌تواند تأثیر متفاوتی بر روی قارچ‌های گیاهی داشته باشد و اینگونه نیست که با افزایش غلظت اثر بخشی بیشتری مشاهده شود (Jahansooz *et al.*, 2008). گروهی از محققین در تحقیق دیگری در خصوص اثرات ضد قارچی گیاهان دارویی تاثیرضد قارچی ۱۶گروه اسانس گیاهی وسه گروه ترکیبات ضد قارچی را بر روی ۷ گروه قارچی*A.flavus*، *A.parasiticus*، *A.ochraceus*، *P.roqueforti*، *P.patulum*، *P.citrinum* و *Penicillium sp M* 46 تولید کننده توکسین مورد بررسی قرار دادند. از میان ترکیبات مورد آزمایش، کاربرد اسانس های میخک، دارچین، خردل، فلفل فرنگی، سیرو پونه کوهی ممانعت کامل رشدی قارچ ها رابمدت ۲۱ روز به همراه داشت، ترکیبی از سطوح مختلف رسوبات پتاسیم و اسانس میخک، دارای اثر تشدید کننده در جلوگیری از رشد قارچ های مورد آزمایش داشتند (Bullerman *et al.*, 1982). تیمول در غلظت ۲۴/۵ میکرولیتر در۲۰ میلی لیتر به میزان ۱۰۰٪ باعث جلوگیری از رشد قارچ *P.expansum* شده است (Neri *et al.*, 2006). در ترکیه اثر اسانس گیاه مرزه روی قارچ‌های *Alternaria mali* و *Botrytis cinerea* بررسی و نشان داده شده که غلظت‌های ۱، ۳ و ۵ میکرو لیتر آن پس از هفت روز به ترتیب سبب ممانعت از رشد ۵۰، ۷۵و۷۸ درصد قارچ *A.mali* و ۷۵، ۸۷ و۸۷ درصد قارچ *B.cinerea* شده است (Boyraz, 2006). آنها همچنین نشان دادند که غلظت ۵ میکرولیتر در ۶۰ میلی لیتر از اسانس مرزه به میزان ۷۸٪ باعث کنترل *Alternaria mali* و *Botrytis cinerea* شده

۱ - *Ferula gummosa* Boiss

www.SID.ir

Archive of SID

است. در این تحقیق *A.alternata* حساسترین قارچ به اسانس‌های گیاهان دارویی شناخته شد. مجموعه تحقیقات موجود و پژوهش حاضر نشان می‌دهد که استفاده از اسانس یا عصاره گیاهان دارویی به عنوان یک پتانسیل برای کنترل قارچ‌های بیماری‌های گیاهی بسیار مورد توجه است و کارایی آن به اثبات رسیده است. با توجه به مکانیسم استفاده از این اسانس‌ها کنترل بیماری‌های پس از برداشت می‌تواند یک حوزه مناسب برای این فعالیت باشد. به نظر می‌رسد اولویت بعدی که باید در دستور کار محققین قرار گیرد ضمن شناسایی مواد موثره این اسانس‌ها دستیابی به یک فرمولاسیون مناسب برای کاربرد فراگیر آن باشد.

سپاسگزاری:

این پژوهش با حمایت مالی دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان انجام شده است و بدین وسیله مراتب سپاسگزاری نویسندگان را اعلام می دارد. از جناب آقای مهندس اکبرزاده عضو هیات علمی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی مازندران نیز به خاطر تامین برخی از نمونه های گیاهی تشکر می شود.

منابع

Agrios, G. N., (2005). Plant Pathology. 5th edition. Elsevier Academic Press, USA.

Amiri, H., (2009). Composition and antioxidant activity of the essential oil and methanolic extract of *Ziziphora clinopodioides Lam* in preflowering stage. Journal of Kerman University of Medical Sci.16 (1), pp. 79-86. (in Persian with English abstract).

Backhaus, D., (1984). Taxonomy and Morphogenesis of *Borytis* species, pp. 308.

Behdad, M., Etemadi, N., and Zeinali, H., (2011). Investigation of antifungal activity of essential oils of some medicinal plants in controlling soft rot fungus, *Rhizopus stolonife* on strawberry fruits. Quarterly of Research of Medicinal and Aromatic Plants of Iran. Volume 29, Issue 2, 399 to 411. (in Persian with English abstract).

Boyraz, N., and Ozcan, M., (2006). Inhibition of phytopathogenic fungi by essential oil, hydrosol, ground material and extract of summer savory *(Satureja hortensis* L.) growing wild in Turkey. International Journal of Food Microbiology.Volume 107, Issue 3.

www.SID.ir

Archive of SID

Bullerman, L. B., Lieu, Y., and Seier, S. A., (1982). Inhibition of growt and aflatoxin production by cinnamon and glove oils, clinic aldehyde and eugenol. Journal of Food sci.42 (4), pp. 1107-1116.

Chebli, B., Hmamouchi, M., Achouri, M., and Idrissi- Hassani, L. M., (2004). Composition and invitro fungitoxic activity of 19 essential oils against two postharvest pathogens. Journal of Essential Oils Res. 16, pp. 507-511.

Dabinett, P. E., and Welman, A. M., (1973). Numerical Taxonomy of the genus *Rhizopus.* Vol. 51, No.11, pp. 2053-2064.

Defera, D. J., Zigas, B. N., and Polission, M. G., (2002). The effectiveness of plant essential oils on the growth of *Botrytis cinerea, Fusarium spp.* and Clavibater michiganensis subsp. Michiganensis. Crop Protection 22, pp. 39-44.

Faleiro, L., G. M., Miguel, C. A. C., Guerrero, J. M., and Brito, C., (1997). Antimicrobial activity of essential oils of Rosmarinus officinalis L., *Thymus mastichina* (L) L. SSP mastichina and *Thymus albicans* Pages, pp. 45–48 in Proc. 2nd WOCMAP Congr. Med. Aromatic Plants. Part 2: Pharmacognosy, Pharmacology, Phytomedicine, Toxicology, Mendoza, Argentina.

Farzaneh, M., Ahmadzadeh, M., Hadian, J., and Sharifi- Tehrani, A., (2006). Chemical composition and antifungal activity of the essential oils of three species of artemisia on some soil- borne phytopathogens. Comm Appl. Biol. Sci., Ghent University, 71/3b, pp. 1327-1333. (in Persian with English abstract).

Frazier, W. C., (1967). Food Microbiology, McGraw Hill book Company. NewYork, pp. 537.

Hadian, J., Farzaneh, M., Ghorbani, M., and Mirjalili, M. H., (2007). Chemical composition and antifungal activity of the essential oil of Artemisia khorasanica on soil- born phytopathogens. J. Esse.Oil Res. 10 (1), pp. 53-58. (in Persian with English abstract).

Haubroken, J., Due, J., Meiger, M., Frisvad, J. C., and Samson, A. R., (2007). Studies in mycology. Polyphasic taxonomy of *Aspergillus* section ust. Vol. 59, pp. 107-128.

Jahansooz, P., Ebrahimzadeh, H., Najafi, A., Taghavi, M., And Farzaneh, H., (2008). Investigation of the positive and negative effects of different samples of Galbanum essential oil on two fungal plant pathogens. Quarterly of Research of Medicinal and Aromatic Plants of Iran. Volume 29, Issue 1, 10 to 17. (in Persian with English abstract).

Khanvy, M., Norouzi, M., Tabatabae, H., Salehi Novdeh, A., Barzegar safavi S., and Shafiee, A., (2009). Identification of volatile oil components of *Zataria multiflora* and *Origaunum majorana* and antiviral effects of them. Quarterly of medicinal plants, pp. 128-137. (in Persian with English abstract).

www.SID.ir

Archive of SID

Lane, W., Spotts, R. A., Visagie, C. M., Jacobs, K., Smit, F. J., and McLeod, A., (2010). *Penicillium* Species Associated with Preharvest Wet Core Rot in South Africa and Their Pathogenicity. Plant dis., Vol. 94, No. 6, pp. 666-975.

Marino, M., and Spiewak, R., (1999). Antimicrobial activity of essential oil of Thymus vulgaris J. Food Prot; 62, pp. 1017 – 23.

Neri, F., Mari, M., Menniti, A. M., Brigati, S., and Bertolini, P., (2006). Control of *Penicillium expansum* in pears and apples by Trans- 2- hexanal vapours. Postharvest Biology and tech. 41, pp.101- 108.

Prasad, H., and N. Joshi., (1929). The pereservative Value of spices used in pickling raw fruits in india Agric. J. Ind. 24, pp. 98-102.

Ranjbar, H., Hadian, J., M*irj*alili, M., and Sharifi, R., (2008). Fungitoxic effect of some plant extracts on post- harvest diseases of strawberry fruits. Pazhohesh- va- Sazandegi 81, pp. 46-60. 504.

Sajadi, S., E., Ghasemi Dehkordi, N., Baloochi, M., (2003). Volatile Constituents of *Ziziphora clinopodioides* Lam. Journal of Pajoohesh va Sazandeghi. 8, pp. 1-9. (in Persian with English abstract).

Salehi, P., Sonboli, A., Eftekhar, F., Nejad- Ebrahimi, S., Yousefzadi, M., (2005). Essential oil composition, antibacterial and antioxidant activity of the oil and various extracts of *Ziziphora clinopodioides* subsp. rigida (BOISS). RECH. F. from Iran. Biol. Pharm. Bull. 28, pp. 1892-1896.

Samson, R. A., and Gams, W., (1984). The taxonomy situation in hyphomycetes genera *Penicillium, Aspergillus* and *Fusarium.* Antonie van leeuwenhock. No. 50, pp. 815-824.

Simons, E. G., (2007). *Alternaria*: an Identification manual, pp. 775.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول۱- نتایج تجزیه واریانس اسانس های مختلف گیاهان در غاظت های مختلف بر رشد پرگنه قارچ ها

Table 1: Variance Analysis Results of the essential oils of various plants on growth of fungal **colonies**

growth of fungal colonies	d.f	S.O.V
576.49**	3	concentration (A)
65.93**	4	essential (B)
3.42**	12	A × B
5.163**	6	fungal (C)
2.31**	18	B × C
2.32**	24	A × C
0.541**	72	A × B × C
0.082**	280	Error
10.31		C. V (%)

* و ** به ترتیب معنی داری در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد nsعدم معنی داری می باشد.

ns, * and ** are non- significant and significant at 0.05 and 0.01 of probability level respectively.

جدول۲- میانگین قطر کلنی قارچها در غلظت های ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میکرولیتر اسانس در ۱۰۰ میلی لیتر محیط کشت PDA

Table 2: Average of diameter of fungal colonies at concentrations of 100, 200 and 300 ml oil per 100 ml PDA medium

growth of fungal colonies (cm) after 5 days							
Average impact 3 percent concentration	*Zizophora clinopodioides*	*Peroveskia abrotanoides*	*Deracocephalum kotschyi*	*Melissa officinalis*	*Origanum majorana*	control	concentration
43	4.9e	4.6e	4.15de	4.15de	1.8ab	6.31	100
47	3.4d	3c	2.93bc	0.6b	1.4ab	6.12	200
63	2.7b	1.3ab	1.6ab	1.4ab	0.9a	6.11	300
51	3.67e	3.33d	2.89c	2.67b	1.36a	6.11	میانگین
	40	46	53	56	77	.	Percent inhibition compared to control

www.SID.ir

Archive of SID

جدول۳- میانگین قطر پرگنه ۷ قارچ آزمایشی در تقابل با غلظت های مختلف ۵ اسانس گیاهان دارویی

Table 3: Average diameter of fungal colonies against 5 different concentrations of essential oils from medicinal plants

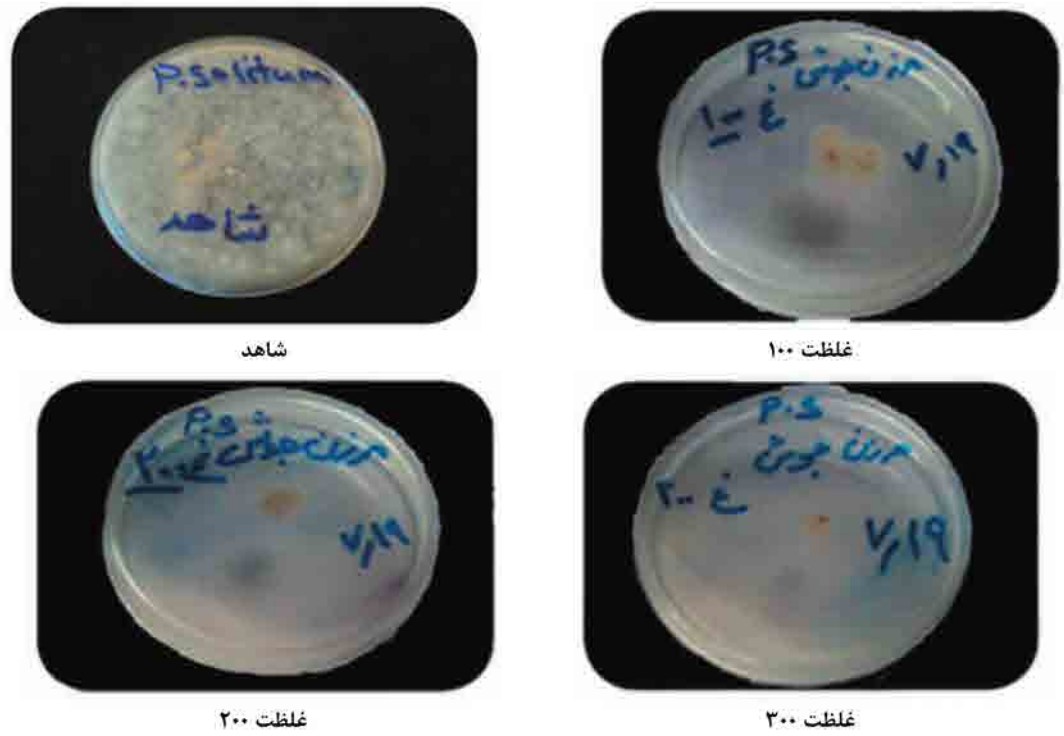
Average of diameter of fungal colonies (cm)							
Alternaria alternata	*P.citrinum*	*P.expansum*	*Penicillium solitum*	*Rizopus stolomifer*	*Botrytis cinerea*	*Aspergillus nigra*	
0.9a	1.4bc	1.4bc	1.5c	0.9a	1.3e	1.3e	*Origanum vulgar*
2.7e-g	3.3jk	3.3jk	3.4k	4.56m	3f-i	3.1h-j	*Peroveskia abrotanoides*
1.7 d	2.4 e	2.25 Ef	3.2 h-k	3.25Kj	2 d	3h-j	*Melissa officinalis*
2.8 e-h	2.1 d	2.82 e-h	2.8 e-h	3 g-j	3.25 k	2.8 e-h	*Deracocephalum kotschyi*
2.75 e-g	3.25 i-k	3.25 i-k	3.8 l	3.8 l	4.36 m	4.41 m	*Zizophora clinopodioides*

عکس۱- اثر اسانس بادرنجبویه پرپر در کنترل *A.altrnata* در غلظت ۳۰۰ میکرولیتر در ۱۰۰ میلی لیتر محیط کشت PDA

Photo 1: The effect of *Melissa officinalis* essential oil on control of *A.altrnata* at concentrations of 300 ml in 100 ml of PDA medium.

www.SID.ir

Archive of SID



عکس۲- تاثیر اسانس مرزن جوش در رشد قطری *Penicillium solitum* در غلظت های مختلف

Photo 2: The effect of of *Origanum majorana* essential oil on growth of *Penicillium solitum* in different concentrations.

عکس۳- تاثیر اسانس کاکوتی کوهی در رشد قطری *Rhizopus stolonifer* در غلظت های مختلف

Photo 3: The effect of of *Ziziphora tenuior* essential oil on growth of *Rhizopus stolonifer* in different concentrations.

www.SID.ir

Archive of SID

Postharvest Physiology and Technology of Horticultural Crops
Year 1, No.3, 2012: 91-106

Study of Antifungal effects of some medicinal plants effect on suupression of growth of post harvest disease fungal agent of grape in north khorassan

H. Rabbani nasab, S. A. Mousavi, and N. Heidarzadeh

Abstract

In this research antifungal effects of 6 medicinal plant essence, salvia verticilata, Melissa officinalis, Deracocephalum kotschyi, Peroveskia abrotanoides, Zizophora clinopodioides and Origanum vulgar on growth of post harvest disease agents of grape in north khorassan were studied. Samples were collected from cold rooms and grape gardens in 2011 and 2012 according to symptoms of post harvest disease. The main isolated fungi were some species of Alternaria, Penicillium, Aspergillus, Rhizopus and Botrytis genus. Experiment was carried out in completely randomized design with three replications. Essential oils were extracted from All parts of dried medicinal plants and were diluted by Tween 80 to a ratio of one to one. Comparison of means by Duncan's test showed that all the oils at concentrations of 200 and 300 micro-liters per 100 ml of culture medium caused a significant inhibition of the growth of all fungi. Origanum vulgar essential oil caused the most inhibition of post harvest disease fungi growth as the most average growth of fungi happened in Zero concentration and the Lowest growth was observed in concentrations of 200 and 300 micro-liters essential oil of Origanum vulgar per 100 ml of medium. On the other hand Ziziphora had the lowest growth in above concentration Results of Interaction experiment of essential oils against fungi species showed that Origanum vulgar had the most inhibition effect on Aspergillus niger, Botrytis cinerea, Rhizopus stolonifer, Penicillium solitum, Penicillium expansum, Penicillium citrinum and Alternaria alternata; However Melissa officinalis had the most inhibition effect on Botrytis cinerea. Most of the colonies as the most effective essential oil Tasyrbrqtr Marzan pimple fungus Aspergillus niger, Botrytis cinerea, Rhizopus stolonifer, Penicillium solitum, Penicillium expansum, Penicillium citrinum and Alternaria alternata; Vasans Melissa officinalis is the fungus Botrytis cinerea .

Keywords: Postharvest diseases of grapes, Medicinal plants, Essential oils, Anti-fungal effect

www.SID.ir