Archive of SID

بررسی آزمایشگاهی اثرات ضد قارچی عصاره‌های چند گیاه روی قارچ Botrytis cinerea عامل بیماری کپک خاکستری انگور

زهرا سادات عسگریان[1*] و طاهره سادات عسگریان[2]

1 و *- نویسنده مسئول و دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم باغبانی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان. mah1252003@yahoo.com

2: کارشناس ارشد بیماری شناسی، آزمایشگاه گیاه‌پزشکی مهر آزما، کاشان.

در این پژوهش کارایی عصاره‌های نعنا، ریحان، اکالیپتوس، اسطوخودوس و ترخون در کنترل بیماری کپک خاکستری انگور بررسی شد. اثر بازدارندگی از رشد عصاره‌های متانولی، استونی و آبی گیاهان در غلظت‌های صفر، 1% و 10% روی رشد رویشی قارچ در شرایط آزمایشگاه به روش دیسک کاغذی روی محیط کشت سیب‌زمینی- دکستروز- آگار مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که اثر بازدارندگی از رشد عصاره‌های گیاهی مختلف، بسته به نوع گیاه، روش عصاره‌گیری و غلظت عصاره مصرفی متفاوت است. از بین گیاهان مورد بررسی اکالیپتوس بیشترین تأثیر را در کنترل قارچ داشت و عصاره‌های استخراج‌شده با استون بیشترین بازدارندگی را نشان دادند.

کلیدواژه‌ها: عصاره‌های گیاهی، کنترل غیر شیمیایی، Botrytis cinerea، اکالیپتوس، ترخون

مقدمه

عصاره‌های برخی از گیاهان منبع غنی از ترکیبات شیمیایی فعال و دارای اثرات ضد قارچی می‌باشند و می‌توانند به‌عنوان جایگزینی برای قارچ‌کش‌ها به شمار روند. ترکیبات فعال از منشأ گیاهی در محیط پایداری کمتری دارند و روی پستانداران و ارگانیزم‌های غیرهدف اثر ندارند و بنابراین امروزه از توجه ویژه‌ای برخوردار می‌باشند (تریودی، 2003). گزارشات زیادی در مورد سمیت عصاره‌های گیاهان عالی علیه جوانه‌زنی اسپور و رشد میسلیوم قارچ‌ها وجود دارد (تریپاتی، 2005). در آزمایشی اثر سه عصاره گیاهی Ocimum gratissimum، Acalypha wilkesiana و A. macrostachya بر روی پاتوژن‌های بعد از برداشت آووکادو بررسی شد (اگبو و ایبو، 2008). در مطالعه دیگری اولئوروپین (Oleuropein) استخراجی از عصاره‌های استونی زیتون در بازداری از رشد پاتوژن‌های قارچی Botrytis cinerea، Alternaria alternata، و گونه‌های Rhizopus موثر شناخته شد (ماوراکیس، 2009).

هدف از انجام این پژوهش، بررسی فعالیت ضدقارچی عصاره‌های متانولی، استونی و آبی برگ نعنا، ریحان، اکالیپتوس، اسطوخودوس و ترخون در کنترل بیماری کپک خاکستری انگور در آزمایشگاه می‌باشد.

مواد و روش‌ها

تهیه عصاره‌ها: برگ‌های نعنا، ریحان، اکالیپتوس، اسطوخودوس و ترخون از کاشان جمع‌آوری و در آزمایشگاه و دور از تابش مستقیم آفتاب خشک شد. سپس به‌وسیله آسیاب خرد گردید و از الک عبور داده شد.

عصاره‌گیری با متانول: 5 گرم از بافت آسیاب شده گیاه در 100 میلی‌لیتر متانول به مدت 24 ساعت در 20 درجه سانتی‌گراد روی شیکر با 350 دور در دقیقه قرار گرفت. پس از این مدت 75 میلی‌لیتر از محلول برداشته، 25 میلی‌لیتر آب مقطر استریل به آن اضافه گردید و حجم آن به 100 میلی‌لیتر رسانده شد، سپس هم حجم با آن هگزان اضافه گردید. این مخلوط 2 ساعت روی شیکر با

www.SID.ir

Archive of SID

همان دور قرار داده شد، سپس بخش‌های مختلف جدا گردید و بخش متانولی برای تبخیر متانول و استحصال عصاره در زیر هود قرار داده شد (عبدالملکی و همکاران، 1386).

عصاره‌گیری با استون: مانند روش عصاره‌گیری با متانول عمل شد ولی در این جا هگزان اضافه نگردید.

عصاره‌گیری با آب: 5 گرم از بافت آسیاب شده با 100 میلی‌لیتر آب مقطر استریل مخلوط و روی همزن مغناطیسی قرار داده شد بعد از به جوش آمدن با کاغذ صافی واتمن شماره 1 صاف گردید و در دمای 50 درجه سانتی‌گراد در آون قرار داده شد.

عصاره‌های به‌دست آمده تا زمان استفاده در دمای 20- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شد.

غلظت‌های صفر (شاهد)، 1% و 10% هر یک از عصاره‌ها برای انجام آزمایش تهیه شد. در مورد عصاره متانولی غلظت‌های مورد نظر با استفاده از متانول 45% به‌دست آمد و در مورد عصاره‌های استونی و آبی برای رقیق کردن از آب استفاده شد. کلیه غلظت‌ها قبل از استفاده در اتاق کشت استریل به‌وسیله فیلتر 0/45 میکروپور سترون شد.

برای انجام آزمایش، در اتاق کشت سترون، از حاشیه پرگنه‌ی یک هفته‌ای قارچ روی محیط‌کشت سیب‌زمینی- دکستروز- آگار، قرص‌هایی به قطر 6 میلی‌متر توسط چوب پنبه سوراخ کن جدا گردید و در یک طرف تشتک پتری 8 سانتی‌متر حاوی محیط‌کشت سیب‌زمینی- دکستروز- آگار قرار داده شد. مجموعه‌ای از 10 عدد دیسک کاغذی (برای افزایش ظرفیت انتقال عصاره) در داخل غلظت مشخصی از عصاره گیاه مورد نظر غوطه‌ور شد تا کاملاً اشباع شود و سپس در طرف دیگر تشتک پتری در فاصله حدود 25 میلی‌متری از قرص قارچ قرار داده شد. برای غلظت‌های مختلف هر عصاره، تشتک‌هایی بدین صورت آماده گردید. در تشتک‌های شاهد از دیسک‌های کاغذی اشباع‌شده با آب مقطر سترون و متانول 45% استفاده شد. تشتک‌ها در دمای 25 درجه‌ی سانتی‌گراد در انکوباتور نگه‌داری شد. با پر شدن تشتک‌های شاهد، شعاع هاله‌ی بازدارندگی از رشد قارچ در اطراف دیسک کاغذی در تیمارهای مختلف یادداشت‌برداری شد. آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در 3 تکرار انجام شد و نتایج حاصله نیز با تکرار مجدد کل آزمایش تثبیت گردید.

داده‌های به‌دست آمده، به علت تعدد عدد صفر بین آن‌ها، قبل از تجزیه‌ی آماری با استفاده از رابطه $\sqrt{X+0.5}$ تبدیل شد. تجزیه‌ی واریانس با کمک نرم‌افزار SAS 9.1 صورت گرفت و مقایسه‌ی میانگین با آزمون LSD با استفاده از نرم‌افزار MSTATC در سطح یک درصد انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج اثرات بازدارندگی غلظت‌های مختلف عصاره‌ها در شکل‌های ا تا 3 ارائه گردیده است. با توجه به نتایج به‌دست آمده، بین شعاع هاله بازدارندگی توسط انواع عصاره‌های مورد مطالعه و غلظت‌های مختلف آن‌ها تفاوت معنی‌داری وجود دارد. در مجموع با افزایش غلظت، میزان شعاع هاله‌ی بازدارندگی افزایش یافت. از طرف دیگر نوع حلال در استخراج ترکیبات ضدقارچ گیاه نیز اهمیت بسیاری دارد. چنان‌که براساس نتایج به‌دست آمده، از بین حلال‌های مورد استفاده، عصاره‌های استخراج شده با استون بیشترین تأثیر را داشته است. در مورد عصاره‌های متانولی و آبی، تنها غلظت 10درصد تهیه شده از اکالیپتوس اثر بازدارندگی روی رشد این قارچ داشت. هیچ یک از عصاره‌های به‌دست آمده از نعنا و ریحان نتوانست از رشد قارچ Botrytis cinerea جلوگیری نماید.

www.SID.ir

Archive of SID

شکل 1: اثر غلظت‌های 1% و 10% عصاره‌متانولی گیاهان روی بازدارندگی رشد میسلیومی قارچ Botrytis cinerea

شکل 2: اثر غلظت‌های 1% و 10% عصاره‌استونی گیاهان روی بازدارندگی رشد میسلیومی قارچ Botrytis cinerea

شکل 3: اثر غلظت‌های 1% و 10% عصاره‌آبی گیاهان روی بازدارندگی رشد میسلیومی قارچ Botrytis cinerea

www.SID.ir

Archive of SID

با توجه به نتایج به‌دست آمده و فعالیت بازدارندگی قابل توجه عصاره‌های گیاهی بررسی شده در این پژوهش و کم خطر بودن آن‌ها نسبت به قارچ‌کش‌های شیمیایی برای انسان و محیط‌زیست، به نظر می‌رسد بتوان در کنترل قارچ‌های بیماری‌زای گیاهی از ترکیبات طبیعی این گیاهان استفاده نمود.

منابع

عبدالملکی م.، ن. پنجه‌که، ص. بهرام‌نژاد، م. سالاری و س. عباسی، 1386. اثرات ضدقارچی عصاره‌ی اندام‌های مختلف گیاه سماق (Rhus coriaria) روی چهار گونه قارچ بیماری‌زای گیاهی. پژوهش کشاورزی: آب، خاک و گیاه در کشاورزی، 7 (4): 131-121.

Mavrakis, T. N. 2009. Exploitation of bioactive constituents of olive leaves, grape pomace, olive mills waste water and their application in phytoprotection. Ph. D Thesis, Faculty of Medicine and Biosciences, Applied Mycol-logy Group, Cranfield Health, Cranfield University.

Ogbo, E. M. and A. E. Oyibo. 2008. Effects of three plant extracts (Ocimum gratissimum, Acalypha wilkesiana and Acalypha macrostachya) on postharvest pathogen of Persea americana. Journal of Medicinal Plants Research, 2 (11): 311-314.

Tripathi, P. 2005. Botanical Pesticides in the Management of Post-Harvest Fruit Diseases. Daya Publishing House, New Delhi.

Trivedi, P. C. 2003. Plant Protection a Biocontrol Approach. Aavishkar Publishers, Distributors, India.

In vitro antifungal activity of some plant extracts against Botrytis cinerea causes gray mold of grape

T. S. Asgarian[1*] and Z. S. Asgarian[2]

1- Dept. of Horticultural Science, Bu-Ali Sina University, Hamedan- Iran. 2- M.Sc. of Plant Pathology, Kashan, Iran.

*Corresponding author

Abstract

In this study, the effectiveness of five plants (Menthaspicata,Ocimumbasilicum, Eucalyptus camaldulensis ,Lavandulaangustifoliaand Artemisia dracunculus) was evaluated againstBotrytis cinereacausesgray mold of grape. The growth inhibiting effect (GIE) of methanolic, acetonic and water extracts of the plants at the concentrations of 0, 1% and 10% on the vegetative growth of the fungi was investigated by paper disk method on PDA under in vitro condition. Results showed that the GIE of extracts was significantly different depending on the plant, extraction method, and extract concentration.Eucalyptus camaldulensis was the more effective plant against the fungus growth and acetonic extracts showed the most GIE.

Keywords: Plant extracts**,** Non- chemical control, Botrytis cinerea, Eucalyptus camaldulensis, Artemisia dracunculus

www.SID.ir