

بررسی اثر ضدقارچی گیاه دارویی پونه علیه قارچ‌های بیماری‌زای گیاهی

امید سفالیان^{۱*}، یلدا رحیمی^۲، سمیرا حسینیان^۳، ناصر زارع^۴، مهدی داوری^۵ و منیژه جمشیدی^۶

چکیده

یکی از ترکیب‌های مهم گیاهان دارویی اسانس‌ها هستند که دارای اثرات بیولوژیکی فراوانی می‌باشند و استفاده از این ترکیبات طبیعی در کنترل آفات و بیماری‌های گیاهی، یکی از راهکارهای کاهش مخاطرات زیست محیطی است. در این آزمایش، اثر بازدارندگی غلظت‌های مختلف اسانس گیاه دارویی پونه (*Mentha pulegium* L.) متعلق به تیره نعنائیان که از جمله گیاهان دارویی مهم، پرمصرف و اقتصادی ایران است، علیه رشد قارچ‌های بیماری‌زای گیاهی *Fusarium*، *Fusarium cerealis*، *Fusarium equiseti* و *Botrytis cinerea*، *Aspergillus niger*، *Fusarium proliferatum*، *Fusarium oxysporum* f.sp. *lentis*، *graminearum* و *Sclerotinia sclerotiorum* بررسی گردید. این پژوهش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی و با سه تکرار اجرا شد. در این آزمایش، اسانس استخراج شده با دستگاه کلونجر در غلظت‌های ۰/۰۲، ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۲، ۰/۴، ۰/۶، ۰/۸، ۱، ۱/۵، ۲ و ۲/۵ میلی‌لیتر بر لیتر محیط کشت PDA مورد استفاده قرار گرفت و محیط کشت بدون اسانس به‌عنوان شاهد در نظر گرفته شد. نتایج این تحقیق نشان داد که اسانس گیاه پونه تأثیر معنی‌داری در بازدارندگی از رشد قارچ‌های بیماری‌زا دارد و با افزایش غلظت، اثر بازدارندگی به طور معنی‌داری افزایش می‌یابد، به طوری که بیشترین اثر بازدارندگی (IP) از رشد قارچ‌ها در غلظت‌های ۲/۵، ۲، ۱/۵، ۱، ۰/۸ و ۰/۶ میلی‌لیتر اسانس بر لیتر محیط کشت مشاهده شد.

واژه‌های کلیدی: اثر بازدارندگی، اسانس، *Mentha pulegium* L.، بیماری گیاهی

^۱ * نویسنده مسئول، دانشیار گروه اصلاح نباتات، دفتر مدیر امور آموزشی واقع در ساختمان سیلان دانشگاه محقق اردبیلی. ایمیل: sofalian@gmail.com

^۲ دانش آموخته کارشناسی ارشد اصلاح نباتات دانشگاه محقق اردبیلی

^۳ دانشجوی دکتری اصلاح نباتات، دانشگاه محقق اردبیلی

^۴ دانشیار ژنتیک مولکولی دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه محقق اردبیلی

^۵ دانشیار بیماری‌شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه محقق اردبیلی

^۶ استادیار گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز

مقدمه

ایران به ویژه در دامنه‌های البرز، شمال و شمال شرقی و برخی نقاط دیگر انتشار دارد (Qahraman, 1993). کپک خاکستری توسط قارچ *Botryotinia fuckeliana* ایجاد می‌شود که فرم کنیدیایی آنامورف آن *B. cinerea* شناخته شده‌تر است (Thorsten and Huhndorf, 2007). *B. cinerea* شایع‌ترین گونه این جنس است که روی دامنه وسیعی از محصولات مهم باغی و زراعی به‌عنوان یک پارازیت یا ساپروفیت رشد می‌کند و مهم‌ترین عامل بیماری پس از برداشت محصولاتی نظیر توت‌فرنگی (*Fragaria ananassa*) و انگور (*Vitis vinifera*) می‌باشد (Elad et al., 2004). قارچ *Sclerotinia sclerotiorum* در سراسر جهان انتشار دارد و بر روی بیش‌تر از ۴۸۰ گونه گیاهی که محصولات روغنی را نیز شامل می‌شوند بیماری‌زا است (Motallebi et al., 2008). این بیماری در ایران تاکنون در گونه‌های مختلف گیاهی از جمله آفتابگردان (*Helianthus annuus* L.)، کلزا (*Brassica napus*)، شب بو (*Matthiola incana*) و کاهو (*Lactuca sativa*) گزارش شده است (آقاجانی و همکاران، ۱۳۹۱). فوزاریوم‌ها گروهی از قارچ‌ها هستند که به‌طور گسترده در طبیعت توزیع شده‌اند، آن‌ها مسئول تولید طیف گسترده‌ای از عفونت‌ها در انسان، جانوران و گیاهان هستند (Sampietro et al., 2011). بیماری بلایت فوزاریومی سنبله (Fusarium head blight (FHB) یا اسکب (Scab) که عامل آن عمدتاً قارچ *Fusarium graminearum* است، از جمله بیماری‌های مهم قارچی غلات و خصوصاً گندم (*Triticum aestivum* L.) و جو (*Hordeum vulgare*) در سرتاسر دنیا محسوب می‌گردد که در نقاط مرطوب و نیمه مرطوب شیوع بیشتری دارد (Yang et al., 1998). گونه *F. oxysporum* f.sp. *lentis* از عوامل بیماری‌زای ریشه و ساقه عدس است و در تمام مراحل رشدی گیاه اعم از جوانه‌زنی بذر، گیاهچه و گیاه کامل به میزبان حمله می‌کند (Khare et al., 1979). گونه *F. proliferatum* به‌عنوان عامل بیماری پوسیدگی بلال و ساقه ذرت شناخته شده است. گونه *F. equiseti* نیز به صورت همه‌جازی در

با روند فزاینده افزایش جمعیت در جهان، تأمین امنیت غذایی برای این جمعیت مستلزم توسعه بیشتر در بخش کشاورزی خواهد بود. در این راستا استفاده از ارقام زراعی با عملکرد بالا و پایدار و کنترل عوامل محدودکننده عملکرد می‌تواند راه‌گشا باشد (جعفری و توحیدفر، ۱۳۸۵). در سال‌های دور، استفاده از خواص ضد میکروبی و ضد قارچی گیاهان در بخش کشاورزی چندان مورد توجه نبوده است. عوارض جانبی بسیار زیاد داروهای شیمیایی، گرانی آن‌ها و مشکلات و تهدیدهای ناشی از مصرف بی‌رویه سموم شیمیایی در سامانه‌های کشاورزی سبب شده تا متخصصین بخش کشاورزی نیز در کنار محققین علوم پزشکی، در صدد بهره‌گیری هر چه بیشتر از گیاهان دارویی برآیند (Sattari et al., 2008). جایگزینی قارچ‌کش‌های صنعتی به وسیله ترکیبات طبیعی (به ویژه با منشأ گیاهی) که سمی نیستند، توجه زیادی را به خود معطوف کرده است. در حال حاضر سودمندی آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی مشتق شده از اندام‌های گیاهی به عنوان جانشین مواد شیمیایی و ویژگی‌های ضد میکروبی و ضد قارچی این ترکیبات مورد توجه محققان قرار گرفته است (Burt, 2004). گیاهان دارویی مخازن غنی از متابولیت‌های ثانویه و در واقع منابع مؤثره اساسی بسیاری از مواد دارویی می‌باشند که یک یا برخی از اندام‌های آن‌ها حاوی ماده مؤثره است. متابولیت‌های ثانویه که کمتر از ۱٪ وزن خشک گیاه را تشکیل می‌دهند، دارای خواص دارویی مؤثر بر موجودات زنده است (Tajkarim et al., 2010). خانواده لابیاتا یا لامیاسه شامل ۲۲۰ جنس و ۳۳۰۰ گونه است که مصارف گوناگونی دارند (Kamkar et al., 2010). پونه یکی از گونه‌های جنس منتا از خانواده لابیاتا با نام علمی *Mentha pulegium* L. می‌باشد. پونه علفی پایا و دارای ساقه‌ای با ظاهر تقریباً استوانه‌ای به ارتفاع ۱۰ تا ۵۵ سانتی‌متر و گل‌های آن به صورت فراهم در کنار برگ‌ها و در طول محور ساقه ظاهر می‌شوند (شهیدی واقعی، ۱۳۶۶). این گیاه در بیشتر نقاط

(۲۰۰۸) اثر بازدارندگی اسانس آویشن شیرازی (*Thymus vulgaris*) را روی رشد *Candida albicans*، *Aspergillus niger* و *Aspergillus flavus* گزارش کرده‌اند، که این اثر را به مواد تشکیل دهنده این اسانس (تیمول، کارواکرول و p-cymene) نسبت داده‌اند. بررسی‌های صورت گرفته توسط Kordali و همکاران (۲۰۰۹)، مقادیر بالای مونوترپن‌های اکسیژنه را در اسانس گیاهان *Achillea gypsicola* و *Achillea biebersteinii* گزارش کرده‌اند و فعالیت ضدقارچی بالای اسانس این گیاهان را به محتوای نسبتاً بالای مونوترپن‌های اکسیژنه نسبت داده‌اند. Daferera و همکاران (۲۰۰۳) بیان داشتند که اسانس‌های آویشن، پونه کوهی و مرزنجوش (*Origanum majorana*) به نحو مؤثری در توقف جوانه‌زنی و رشد اسپوره‌های قارچ عامل کپک سبز مؤثر می‌باشند. Effatpanah و همکاران (۲۰۱۰) نشان دادند که با افزایش غلظت اسانس آویشن قدرت بازدارندگی اسانس هم افزایش می‌یابد و اسانس آویشن با غلظت ۱۰ درصد سبب جلوگیری از رشد قارچ آسپرژیلوس فلاووس گردید.

F. cerealis، *F. oxysporum* f.sp. *Lentis* و *A. niger*، *S. sclerotiorum*، *F. proliferatum*، *equiseti* و *B. cinerea* بودند، که از آزمایشگاه قارچ‌شناسی گروه گیاهپزشکی دانشکده کشاورزی دانشگاه محقق اردبیلی تهیه گردید. برای بررسی اثرهای ضدقارچی اسانس‌ها از روش اختلاط با محیط کشت استفاده شد. از محیط کشت عصاره سیب زمینی (PDA) که از جمله محیط کشت‌های عمومی می‌باشد، جهت کشت قارچ‌ها استفاده گردید. غلظت‌های اسانس در نظر گرفته شده برای اسانس پونه ۰/۰۲، ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۲، ۰/۴، ۰/۶، ۰/۸، ۱، ۱/۵، ۲ و ۲/۵ میلی‌لیتر اسانس بر لیتر می‌باشد. غلظت‌های مختلف اسانس به محیط کشت PDA اتوکلاو شده، اضافه و در تشتک‌های پتری پخش نموده شد. تشتک‌های تلقیح شده با قارچ به ژرمیناتور در دمای 24 ± 1 درجه سلسیوس انتقال داده شدند. رشد میسلیومی قارچ‌ها در تمامی

نواحی سرد و معتدل تا گرم و خشک به‌عنوان گندرودی یا مهاجم ثانوی یافت می‌شود. علاوه بر این، گونه *F. graminearum* تولید تریکوتسین‌هایی از قبیل Nivalenol، توکسین T-2 و Rezalnon می‌نماید. گونه *F. cerealis* نیز از عوامل پوسیدگی طوقه گندم به شمار می‌رود و در برخی مناطق ممکن است جزو گونه‌های دخیل در سوختگی فوزاریومی خوشه گندم نیز محسوب شود (Leslie and Summerell, 2006). علاوه بر این گونه‌های *F. equiseti*، *F. proliferatum*، *F. cerealis* و *F. equiseti* از سنبله گندم نیز جدا و معرفی شده‌اند (گلزار، ۱۳۷۲). گونه‌های مختلف آسپرژیلوس از جمله *A. niger*، *A. aculeatus* از عوامل دخیل در پوسیدگی خوشه انگور می‌باشند که باعث تخریب حبه‌های انگور گردیده و موجب انتشار بوی نامطبوع از آن‌ها می‌گردند (Emeet et al., 1992). خواص ضدقارچی گیاهان زنیان (*Carum copticum*) و تاجریزی (*Solanum laciniatum*) بر روی قارچ ریزوکتونیا و فیتوفترا قبلاً به اثبات رسیده است (عبدالملکی و همکاران، ۱۳۹۰). Rahimifard و همکاران

مواد و روش‌ها

در این آزمایش نمونه گیاه پونه از یکی از رویشگاه‌های آن یعنی منطقه مشکین‌شهر جمع‌آوری گردید. مشکین شهر یکی از شهرستان‌های استان اردبیل می‌باشد که در دامنه کوه سبلان قرار دارد. نمونه‌های جمع‌آوری شده پس از خشک شدن در سایه، شاخه‌های چوبی آن‌ها حذف و باقی‌مانده گیاه را آسیاب کرده و و هر بار ۴۰ گرم پودر گیاهی به ۴۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر افزوده و توسط دستگاه کلونجر (مدل قید شده در فارماکوپه بریتانیا)، به روش تقطیر با آب اسانس‌گیری شد (صالحی سورمقی، ۱۳۸۵). اسانس‌های جمع‌آوری شده با کمک سولفات سدیم آب‌گیری و تا زمان استفاده در ظروف شیشه‌ای با روپوش آلومینیومی در یخچال نگهداری شدند. به دلیل غیر قابل حل بودن اسانس در آب، حلال مناسب صمغ عربی که در زیست‌سنجی‌ها مختلف اثرگذار نیست استفاده شد. جدایه‌های قارچی این تحقیق شامل *F. graminearum*

آزمون توکی ($p < 0.05$) تعیین شد. درصد بازدارندگی غلظت‌های گوناگون اسانس‌ها با بهره‌گیری از فرمول ارائه شده توسط پندی محاسبه شد (Pendey et al., 1982).

$$N = (a-b)/a \times 100$$

N: درصد بازدارندگی از رشد عامل بیماری‌زا

a: مساحت کلنی عامل بیماری‌زا در پتری شاهد

b: مساحت کلنی عامل بیماری‌زا در پتری تیمار

۰/۰۵ و ۰/۱ میلی‌لیتر اسانس بر لیتر نیز کم‌ترین میزان رشد قارچ نسبت به شاهد مشاهده گردید. در تمام روزهای یادداشت برداری، اسانس گیاه پونه در غلظت‌های ۰/۰۶، ۰/۸، ۱، ۱/۵، ۲ و ۲/۵ میلی‌لیتر اسانس بر لیتر بیش‌ترین خاصیت بازدارندگی از رشد میسلیمی قارچ‌های بیماری‌زای گیاهی مورد بررسی را از خود نشان دادند و به طور کامل از رشد تمام قارچ‌ها جلوگیری به عمل آمد (شکل ۱). نتایج به‌دست آمده مطابق شکل ۲ و مقایسه میانگین درصد بازدارندگی اسانس‌ها نشان می‌دهد که اسانس پونه در غلظت‌های ۰/۸، ۱، ۱/۵، ۲ و ۲/۵ میلی‌لیتر اسانس بر لیتر سبب مهار کامل رشد هیف جدایه‌های ۸ گونه قارچ بیماری‌زای گیاهی مورد بررسی می‌شود. به‌طوری‌که، درصد بازدارندگی ۱۰۰٪ به‌دست آمد. در غلظت‌های ۰/۴ و ۰/۶ میلی‌لیتر اسانس بر لیتر درصد بازدارندگی در تمام قارچ‌های مورد بررسی به جزء قارچ *A. niger* ۱۰۰٪ بوده و میزان بازدارندگی رشد قارچ *A. niger* در غلظت‌های ۰/۴ و ۰/۶ میلی‌لیتر اسانس بر لیتر به ترتیب ۷۵/۲۷٪ و ۹۴/۶۹٪ محاسبه گردید. بیش‌ترین میانگین درصد بازدارندگی اسانس گیاه دارویی پونه علیه قارچ *S. sclerotiorum*، ۹۰/۴۱٪ و کم‌ترین میانگین درصد بازدارندگی علیه قارچ *A. niger*، ۶۴٪ برآورد شد. میانگین درصد بازدارندگی قارچ‌های گونه‌های *B. cinerea*، *F. F. graminearum*، *F. proliferatum*، *F. equiseti* و *F. cerealis* به ترتیب ۸۰/۶۴٪، ۷۹/۳۲٪، ۷۷/۸۰٪، ۷۷/۲۳٪، ۷۶/۶۳٪ و

غلظت‌های مختلف اسانس پونه به مدت ۸ روز یعنی تا زمانی که تمام سطح تشک تیمار شاهد توسط قارچ بیماری‌زا پر شد، اندازه‌گیری گردید. این آزمایش در قالب فاکتوریل با طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شد و اثرات متقابل بین آن‌ها توسط نرم افزار SAS 9.1 مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. در نهایت تأثیر فعالیت ضد قارچی اسانس گیاه دارویی پونه از طریق آنالیز واریانس و شاخص‌های اختلاف بین داده‌ها با استفاده از

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس به‌دست آمده، تأثیر معنی‌دار غلظت‌های مختلف اسانس گیاه دارویی پونه روی قارچ‌های بیماری‌زای مورد بررسی در زمان‌های مختلف را در سطح احتمال یک درصد نشان می‌دهد (جدول ۱). در این پژوهش، با گذشت زمان از روز اول تا روز هشتم آزمایش، با افزایش غلظت اسانس از مقدار شاهد (بدون اسانس) به شیوه غذای مسموم (تماسی) یعنی اختلاط اسانس با محیط کشت PDA علیه رشد میسلیمی قارچ‌های مورد نظر، روند بازدارندگی اسانس نسبت به شاهد در کلیه تیمارهای مورد بررسی مشاهده گردید. همچنین، نتایج تجزیه واریانس درصد بازدارندگی (IP) نشان می‌دهد که برهم‌کنش اثر غلظت‌های مختلف اسانس گیاه دارویی پونه در قارچ‌های بیماری‌زای گیاهی مورد بررسی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار می‌باشد (جدول ۲).

مطابق نتایج تجزیه واریانس جدول ۱ اثر متقابل غلظت اسانس گیاه پونه در زمان در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار به‌دست آمده است. در این آزمایش، در تمامی قارچ‌های مورد بررسی، اسانس گیاه پونه در غلظت‌های ۰/۰۶، ۰/۸، ۱، ۱/۵، ۲ و ۲/۵ میلی‌لیتر اسانس بر لیتر بیش‌ترین خاصیت بازدارندگی از رشد میسلیمی قارچ‌ها را در تمام روزهای یادداشت برداری از خود نشان دادند و به طور کامل از رشد تمام قارچ‌های بیماری‌زای گیاهی مورد بررسی، جلوگیری به عمل آمد. همچنین، در غلظت‌های ۰/۴ و ۰/۶ میلی‌لیتر اسانس بر لیتر نیز حد متوسط بازدارندگی از میزان رشد قارچ و در غلظت‌های ۰/۰۲،

ضدقارچی اسانس پونه علیه قارچ‌های *F. graminearum* و *F. cerealis* و کم‌ترین اثر ضدقارچی اسانس پونه علیه قارچ *F. equiseti* و *F. proliferatum* می‌باشد. در نتیجه این آزمایش، مشخص شد که اسانس گیاه پونه بیش‌ترین اثر ضدقارچی علیه قارچ بیماری‌زای گونه فوزاریومی و کم‌ترین اثر ضدقارچی را علیه قارچ *A. niger* را از خود نشان داد.

۷۵/۶۲٪ به‌دست آمد. همان‌طور که در شکل ۳ نیز مشاهده می‌شود، واکنش قارچ‌ها نسبت به زمان از روز اول تا روز هشتم آزمایش روند مشابهی را دنبال می‌کند. هم‌چنین، در روزهای مختلف اندازه‌گیری رشد قارچ مشاهده شد که قارچ *A. niger* مقاوم‌ترین قارچ نسبت به اسانس گیاه پونه و بقیه قارچ‌ها در یک سطح از خود نسبت به اسانس گیاه پونه حساسیت نشان دادند. بررسی اثرات اسانس گیاه دارویی پونه علیه قارچ‌های گونه فوزاریومی مورد بررسی در این پژوهش نشان داد که بیش‌ترین اثر

جدول ۱- تجزیه نتایج تجزیه واریانس اثر بازدارندگی اسانس گیاه دارویی پونه روی قارچ‌های بیماری‌زای گیاهی

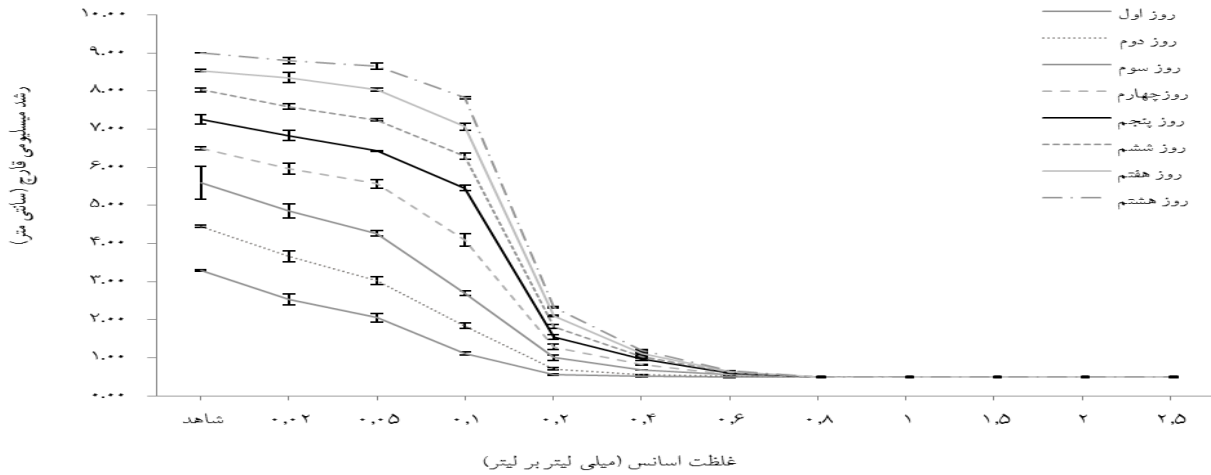
منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات
غلظت a	۱۱	۱۲۳۷/۹۴**
قارچ b	۷	۸۸/۳۸**
زمان c	۷	۲۰۳/۱۱**
غلظت در قارچ (a*b)	۷۷	۱۲/۳۶**
غلظت در زمان (a*c)	۷۷	۲۸/۴۷**
قارچ در زمان (b*c)	۴۹	۱/۲۲**
غلظت در قارچ در زمان (a*b*c)	۵۳۹	۰/۸۶**
خطا	۱۵۳۶	۰/۰۰۸
ضریب تغییرات (%) = ۳/۸۱		

** و ns به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ و عدم معنی‌داری است.

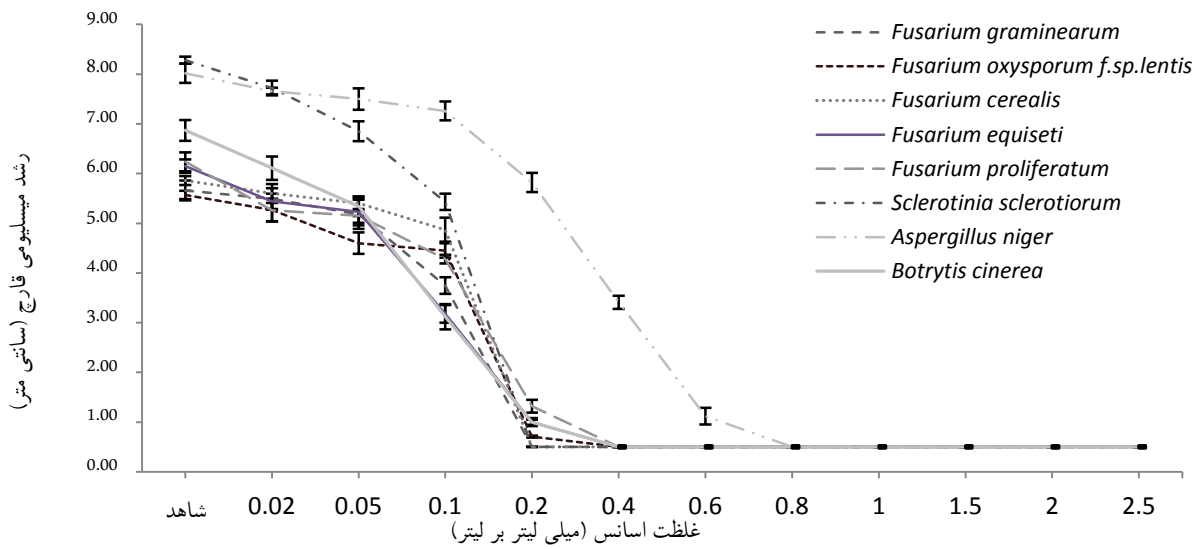
جدول ۲- تجزیه واریانس درصد بازدارندگی (IP) اسانس گیاه دارویی پونه روی قارچ‌های بیماری‌زای گیاهی

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات
غلظت a	۱۰	۲۹۵۹۰/۶**
قارچ b	۷	۹۳۱/۷۲**
غلظت در قارچ (a*b)	۷۰	۲۸۸/۸۵**
خطا	۱۷۶	۳/۹۰
ضریب تغییرات (%) = ۲/۵۲		

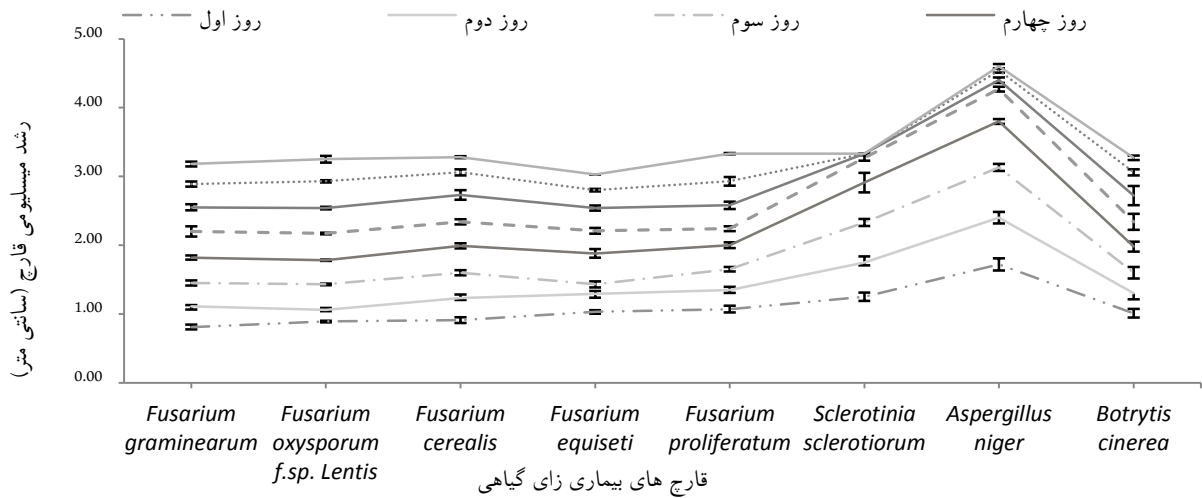
** و ns به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ و عدم معنی‌داری است.



شکل ۱- اثر بازدارندگی غلظت‌های مختلف اسانس پونه در زمان‌های مختلف روی قارچ‌های بیماری‌زای گیاهی



شکل ۲- تأثیر غلظت‌های مختلف اسانس گیاه دارویی پونه روی قارچ‌های بیماری‌زای گیاهی



شکل ۳- تأثیر اسانس پونه در زمان‌های مختلف اندازه‌گیری روی رشد میسلیومی قارچ‌های بیماری‌زای گیاهی

flavus؛ مؤثر بودن این اسانس را در همه غلظت‌های مورد بررسی خود گزارش نمودند. در این تحقیق حداقل بازدارندگی و حداقل غلظت قارچ‌کشی به ترتیب در ۰/۴ و ۱ میلی‌لیتر اسانس بر لیتر بدست آمد. هیف‌های قارچ که در معرض اسانس قرار گرفته بودند از نظر شکل ظاهری چروکیده و تخریب شده بودند. لاهوجی و همکاران (۱۳۸۸) نیز اثر اسانس آویشن بر کنترل رشد *F. graminearum* را بررسی نموده و نشان دادند که آویشن در غلظت ۱/۶ میلی‌لیتر اسانس بر لیتر دارای اثر بازدارندگی کامل می‌باشد. ولی در پژوهش حاضر علیه قارچ *F. graminearum* اثر بازدارندگی کامل اسانس پونه در غلظت‌های ۰/۲ میلی‌لیتر اسانس بر لیتر و بالاتر به دست آمد. Wilson و همکاران (۱۹۹۷) در بررسی‌های خود روی ۴۰ اسانس گیاهی گزارش کردند که اسانس آویشن، دارچین و میخک دارای فعالیت ضد قارچی بالایی در برابر *B. cinerea* می‌باشند، درحالی‌که در این آزمایش، اسانس گیاه دارویی پونه نیز فعالیت ضدقارچی بالایی در برابر قارچ *B. cinerea* نشان داد. در طی بررسی انجام شده توسط موحدخواه و همکاران (۱۳۹۲)، نتایج به دست آمده و مقایسه میانگین درصد بازدارندگی اسانس‌ها نشان داد که اسانس نعنای در غلظت ۱۲۵ میکرولیتر در ۱۰۰ میلی‌لیتر سبب مهار کامل رشد هیف جدایه 8727 *F. proliferatum* (3II) و با غلظت ۱۵۰ میکرولیتر سبب مهار کامل رشد هیف جدایه‌های 3، 48 *F. graminearum* و *F. proliferatum* 8732 (4I) گردید. در پژوهش انجام گرفته در ترکیه اثر اسانس گیاه نعنای و مرزه با مواد مؤثره مشابه روی قارچ‌های *Alternaria mail* و *Botrytis cinerea* بررسی و نشان داده شده که غلظت‌های ۱، ۳ و ۵ میکرولیتر در ۶۰ میلی‌لیتر آن پس از ۷ روز به ترتیب سبب ممانعت از رشد ۷۵، ۵۰ و ۸۷ درصدی قارچ *A. mail* و ۷۵ و ۸۷ درصدی قارچ *B. cinerea* شده است (گندمی نصرآبادی و همکاران، ۱۳۸۷).

نتایج به دست آمده از تحقیقات مقدماتی در مورد امکان به‌کارگیری مواد بیولوژیک (اسانس‌های گیاهی) در

با توجه به اثرات قارچ‌کشی قابل توجه اسانس‌های گیاهی مورد استفاده در این پژوهش و نتایج به دست آمده توسط سایر پژوهشگران، هم‌چنین کم‌خطر بودن ترکیبات گیاهی برای انسان و دوام کم آن‌ها در محیط زیست به نظر می‌رسد که پژوهش روی ترکیبات گیاهی شامل اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی، به‌منظور دسترسی به ترکیبات قارچ-کش برای کنترل عوامل بیماری‌زای گیاهی و یا به‌عنوان مدلی برای ساخت ترکیبات قارچ‌کش جدید، ضروری می‌باشد. نتایج بررسی‌های مختلف نشان داده که به جای استفاده از قارچ‌کش‌هایی که دارای ماندگاری بالا در محصولات هستند، می‌توان از متابولیت‌های گیاهی به‌عنوان یک ذخیره ارزشمند استفاده کرد (بهداد و همکاران، ۱۳۹۲). بر اساس آزمایش انجام شده در این پژوهش، اسانس گیاه پونه در غلظت‌های ۰/۶، ۰/۸، ۱، ۱/۵، ۲ و ۲/۵ میلی‌لیتر اسانس بر لیتر بیش‌ترین اثر مهارکنندگی یا بازدارندگی از رشد میسلیموم همه قارچ‌های مورد بررسی را نشان داد. هم‌چنین در این آزمایش، بیش‌ترین درصد بازدارندگی اسانس گیاه دارویی پونه علیه قارچ‌های *F. proliferatum*، *F. oxysporum* f.sp. *lentis* و *S. sclerotiorum* به دست آمد. اثر ضدقارچی اسانس پونه علیه قارچ *S. sclerotiorum* در این پژوهش به دست آمد، به‌طوری‌که Soyly و همکاران (2007) نیز تأثیر ضدقارچی اسانس‌های پونه‌کوهی و رازیانه در برابر قارچ *S. sclerotiorum* را گزارش کرده‌اند. Viuda-Martos و همکاران (2007) نشان دادند که اسانس آویشن باعث کاهش رشد میسلیمومی قارچ *Aspergillus flavus* در مقادیر ۲، ۴ و ۶ میلی‌لیتر اسانس بر لیتر و هم‌چنین مهار رشد در ۸ میلی‌لیتر اسانس بر لیتر می‌شود. در صورتی که در این آزمایش، اسانس پونه در مقادیر ۰/۶، ۰/۸، ۱، ۱/۵، ۲ و ۲/۵ به طور کامل از رشد قارچ *A. niger* جلوگیری نمود و در غلظت‌های ۰/۴ و ۰/۶ میلی‌لیتر بر لیتر نیز باعث کاهش رشد قارچ مذکور شد. هم‌چنین، گندمی نصرآبادی و همکاران (۱۳۸۷) در بررسی تأثیر اسانس آویشن شیرازی در تغییر شکل قارچ و میزان اسپورزایی *A.*

جایگزین سموم شیمیایی توصیه نمود. امید است که نتایج این تحقیق بتواند در کنار سایر آزمایش‌ها در رسیدن به اهداف مدیریت بیماری در کشاورزی مورد توجه قرار گیرد. البته، لازم به ذکر است که همیشه نمی‌توان مؤثرترین ماده گیاهی را به‌عنوان ارجح‌ترین گیاه برای مبارزه و کنترل معرفی نمود. چه بسا مواد یک گیاه دارای تأثیر بسیار بالایی بر میکروارگانیسم مورد نظر باشد ولی میزان این ماده در آن گیاه کم و از نظر اقتصادی تولید آن مقرون به‌صرفه نباشد. از این رو برای توصیه یک گیاه باید تلفیقی از میزان عملکرد گیاه، میزان ماده مؤثره تولیدی و میزان تأثیر ضد میکروبی ماده مؤثره را مدنظر قرار داد.

مدیریت بیماری‌های گیاهی امید بخش است. ارزیابی بیولوژیکی مواد گیاهی اغلب در مورد تعیین خواص ضد میکروبی آن‌ها انجام می‌شود. در آزمایش‌های بررسی اثر ضد میکروبی اسانس‌های گیاهی مشخص شد که اکثر آن‌ها کم و بیش دارای چنین خاصیتی می‌باشند. نتایج کار این پژوهش نیز پتانسیل ضد میکروبی بالای گیاه دارویی پونه را در کنترل قارچ‌های بیماری‌زای مورد بررسی را تأیید می‌نماید. اسانس گیاه دارویی پونه می‌تواند به‌عنوان عامل مؤثر در قارچ‌ایستایی روی قارچ‌های دیگر بیماری‌زای گیاهی مورد بررسی قرار گیرد. با توجه به نتایج این تحقیق می‌توان استفاده از اسانس گیاه دارویی پونه را به‌عنوان یک فرآورده طبیعی و بی‌ضرر برای طبیعت و انسان، به‌عنوان

منابع

صالحی سورمقی، ح. (۱۳۸۵). گیاهان دارویی و فیتوتراپی. تهران، ایران: دنیای تغذیه. ۸۲، ۲۰-۷.

عبدالملکی، م.، بهرامی‌نژاد، ص. و عباسی، س. (۱۳۹۰). بررسی اثرات ضد قارچی عصاره‌های برخی گیاهان علیه چهار قارچ فیتوپاتوزنیک. گیاهان دارویی، ۳۸، ۱۵۵-۱۴۸.

گلزار، ح. (۱۳۷۲). بررسی توزیع فوزاریوم سنبله گندم در گرگان و گنبد و حساسیت گونه‌های تجاری. بیماری‌های گیاهی، ۲۵، ۲۲-۱۷.

لاهوچی، ع.، میرابوالفتحی، م. و کرمی اسبو، ر.ا. (۱۳۸۸). اثر اسانس‌های آویشن شیرازی و مرزه و مواد تیمول و کارواکرول بر *Fusarium graminearum* و داکسی نیوالنول. بیماری‌های گیاهی، ۴۶(۱)، ۳۷-۵۰.

موحدخواه، ف.، میرابوالفتحی، م. و ابراهیمی، م. (۱۳۹۲). اثر اسانس آویشن، کرفس، فلفل و نعناع در کنترل رشد قارچ *Fusarium proliferatum* و *Fusarium graminearum* در محیط کشت PDB. هشتمین همایش بیوتکنولوژی جمهوری اسلامی ایران و چهارمین همایش ملی امنیت زیستی، دانشگاه تهران.

آقاجانی، م.، صفایی، ن. و عزیززاده، ع. (۱۳۹۱). بررسی احتمال وقوع اپیدمی بیماری پوسیدگی اسکروتینیایی ساقه‌ی کانولا بر اساس عوامل زراعی و اقلیمی در استان گلستان. پژوهشنامه گیاهان دانه روغنی ایران، ۱، ۴۴-۲۹.

بهداد، م.، اعتمادی، ن.، بهداد، ا. و زینلی، ح. (۱۳۹۲). بررسی اثر ضد قارچی اسانس چند گیاه دارویی در کنترل قارچ *Rhizopus stolonifer* عامل پوسیدگی نرم روی میوه توت فرنگی. تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، ۲، ۴۱۱-۳۹۹.

جعفری، م. و توحیدفر، م. (۱۳۸۵). گیاهان تراریخته Bt: مزایای ایمنی و اثرات بالقوه در کنترل حشرات آفات. اولین کنفرانس بیوتکنولوژی کشاورزی، کرمانشاه، دانشگاه رازی، ۳۴-۲۳.

گندمی نصرآبادی، ح.، میثاقی، ع.، آخوند زاده بستی، ا.، خسروی، ع.ر.، بکایی، س. و عباسی فر، آ. (۱۳۸۷). اثر اسانس آویشن شیرازی روی *آسپرژیلوس فلاووس*. مجله گیاهان دارویی، ۳، ۵۱-۴۵.

شهیدی واقعی، ف. (۱۳۶۶). بررسی اثر فیتوشیمیایی و ضد میکروبی *Mentha Pelagia*. پایان نامه داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، ۲۴۵۸، ۴-۳.

- Sabzikaran, N. (2008). Antifungal activity of the native essential oil of *Zataria multiflora* on *Candida albicans*, *Aspergillus niger* and *Aspergillus flavus* form Iran. Biomedical and Pharmacology Journal, 1, 289-292.
- Sampietro, D.A., Diaz, C.G., Gonzalez, V., Vattuone, M.A., Ploper, L.D., Catalan, C.A. and Ward, T.J. (2011). Species diversity and toxigenic potential of *Fusarium graminearum* complex isolates from maize fields in northwest Argentina. Food Microbiology, 1459(1), 359-364.
- Sattari, M., Qahfarkhi, M.T., Yadegari, M.H., Gudarzi, G.H.R. and Saharkhiz, M.J. (2008). Antifungal activity of essential oils and extracts of Bishop against resistant and susceptible clinical isolates to fluconazole *Candida albicans* in vitro. Journal of Moddars Medical Sciences, Biological and Pathology, 2, 91-97.
- Soylu, S., Yigibas, H., Soylu, E.M. and Kurt, S. (2007). Antifungal effects of essential oils from oregano and fennel on *Sclerotinia sclerotiorum*. Journal compilation a 2007. The Society for Applied Microbiology, Applied Microbiology 103, 1021-1030.
- Tajkarim, M.M., Ibrahim, S.A. and Cliver, D.O. (2010). Antimicrobial herb and spice compounds in food. Food Control, 21, 1199-1218.
- Thorsten, H. and Huhndorf, M.S. (2007). Outline of Ascomycota. Department of Botany Myconet 13, 1403-1418.
- Viuda-Martos, M., Ruiz-Navajas, Y., Fernandez-Lopez, J. and Perez-Alvarez, J.A. (2007). Antifungal activities of thyme, clove and oregano essential oils. Food Safety 27, 91-101.
- Wilson, C.L., Soalr, J.M., El-Ghaouth, A. and Wisniewski, M.E. (1997). Rapid evaluation of plant extracts and essential oils for antifungal activity against *Botrytis cinerea*. Plant Disease, 81, 204-210.
- Yang, R.M., Zhou, M.G. and Ye, Z.Y. (1998). Current status of fungicide resistance in Jiangsu. Chemical control of plant disease in China. China Agricultural Science and Technology Publishing House, Beijing. Pp, 65-67.
- Daferera, D.J., Ziogas, B.N. and Polissiou, M.G. (2003). The effectiveness of plant essential oils on the growth of *Botrytis cinerea*, *Fusarium* sp. And *Clavibacter michiganensis* subsp. *Michiganensis*. Crop Protection, 22, 39-44.
- Effatpanah, H., Sabokbar, A., Kordbacheh, P., Bahonar, A., Mansour, B. and Saeednejad, L. (2010). Antifungal Effect of *Zataria multiflora*: An In Vitro Evaluation. Global veterinaria, 4(2), 140-143.
- Elad, Y., Williamson, B., Tudzynski, P. and Delen, N. (2004). *Botrytis*: Biology Pathology and Control. Kluwer Academic Publishers Dordrecht. The Netherlands, pp, 4.
- Emeet, R.W., Harris, A.R., Taylor, R.H. and Mcgechan, J.K. (1992). Grape diseases and vineyard protection. Pp. 232-278 in: Coomb BC & Dry PR (eds.) Viticulture, Volume 2. Practices. Winetitles, Adelitde, Australia.
- Kamkar, A., Javan, A.J., Asadi, F. and Kamalinejad, M. (2010). The antioxidative effect of Iranian *Mentha pulegium* extracts and essential oil in sunflower oil. Food and Chemical Toxicology, 48(7), 1769-800.
- Khare, M.N., Agrawal, S.C. and Yain, A.C. (1979). Diseases of Lentil and Their Control. Technical Bulletin. Jabalpur, India: Jawaharlal Nehru Krishi Vishwa Vidyalaya. P, 200.
- Kordali, S., Cakir, A., Aytas-Akcin, T., Mete, E., Akcin, A., Aydin, T. and Kilic, H. (2009). Antifungal and herbicidal properties of essential oils and n-hexane extracts of *Achillea gypsicola* Hub-Mor. And *Achillea biebersteinii* Afan. (Asteraceae). Alindustri Crops And Products, 29: 562-570.
- Leslie, J.F. and Summerell, B.A. (2006). The *Fusarium* Laboratory Manual. Blackwell Publishing. First Edition pp.388
- Motallebi, M., Afshari-Azad, H. and Zamani, M.R. (2008). Polygalacturonase production by *Sclerotinia sclerotiorum*, causal agent of canola stem rot: Parameter optimization using Taguchi approach. World Applied Sciences Journal 3(1), 96-101.
- Pendey, D.K., Tripathi, N.N., Tripathi, R.D. and Dixit, S.N. (1982). Fungitoxic and phytotoxic properties of the essential oils of *H. suaveolens*. Zeitschrift fur Pflanzenkerneaten and Pflanzenschutz, 89, 344-349.
- Qahraman, A. (1993). Plant Systematics Cormophytes of Iran. First volume. Tehran, University Publication Center., pp, 364.
- Rahimifard, N., Sazevari, O., Shoeibi, S., Pakzad, S., Ajdary, S., haghghi, S., Bagheri, F. and

Studying antifungal effect of pennyroyal against plant pathogenic fungi

Omid Sofalian^{1*}, Yalda Rahimi², Samira Hasanian³, Naser Zare⁴, Mahdi Davari⁵
and Manije Jamshidi⁶

Abstract

One of the important components of medicinal plants is essential oils that have many biological effects. Using of natural compounds to control pests and plant diseases, is one of the ways to reduce environmental hazards. Replacement industrial fungicides by natural compounds (especially with plant origin) that are not toxic, has attracted a lot of attention. In this experiment, the inhibitory effect of different concentrations of the essential oil of pennyroyal (*Mentha pulegium* L.) belonging to the Lamiaceae family, that is an important, economic and high consumption of medicinal plants in Iran, studied against plant pathogenic fungi *Fusarium equiseti*, *Fusarium cerealis*, *Fusarium graminearum*, *Fusarium oxysporum f.sp. lentis*, *Fusarium proliferatum*, *Aspergillus niger*, *Botrytis cinerea* and *Sclerotinia sclerotiorum*. For this purpose, factorial experiment was conducted in a completely randomized design with three replications. Also, oil extracted by clevenger apparatus in concentrations 0.02, 0.05, 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1, 1.5, 2 and 2.5 ml of essential oil per liter of PDA medium were used and without essential oil medium considered as control. Results showed that pennyroyal essential oil has a significant effect on inhibiting the growth of pathogenic fungi and with increasing concentrations, the inhibitory effect significantly increases, so that maximum inhibitory effect (IP) of fungal growth observed at concentrations 0.6, 0.8, 1, 1.5, 2 and 2.5 ml of essential oil per liter of PDA medium.

Keywords: Inhibitory effect, Essential oil, *Mentha pulegium* L., Plant diseases.

^{1*}Corresponding author, Associated prof. Plant Molecular Breeding, Department of Agronomy and Plant Breeding Dept., Faculty of Agricultural Sciences, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil 179. Email: sofalian@gmail.com

²MSc Student of Plant Breeding, Department of Agronomy and Plant Breeding Dept., Faculty of Agricultural Sciences, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil 179.

³Ph.D Student of Plant Breeding, Department of Agronomy and Plant Breeding Dept., Faculty of Agricultural Sciences, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil 179

⁴Assistant Prof. Molecular Genetics, Faculty of Agricultural Sciences, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil 179.

⁵Assistant prof. Plant Pathology Dept., Faculty of Agricultural Sciences, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil 179.

⁶Assistant prof. Plant Pathology Dept., Faculty of Agricultural Sciences, Islamic Azad University, Tabriz.