دانش گیاه‌پزشکی ایران
دوره ۴۵، شماره ۱، بهار و تابستان ۱۳۹۳ (ص۵۸-۴۹)

مطالعهٔ آثار ضدقارچی عصارهٔ پنج‌گونهٔ گیاهی علیه *Fusarium solani* و *Rhizoctonia solani* روی لوبیا

هانا کمانگر[۱]، رقیه همتی*[۲]، علیرضا یزدی‌نژاد[۳] و مرتضی موحدی‌فاضل[۴]
۱، ۲ و۴. دانشجوی کارشناسی‌ارشد و استادیاران، دانشکدهٔ کشاورزی، دانشگاه زنجان
۳. استادیار، دانشکدهٔ داروسازی دانشگاه علوم پزشکی زنجان
(تاریخ دریافت: ۹۲/۵/۲۱ - تاریخ تصویب: ۹۳/۶/۲۵)

چکیده

پوسیدگی ریشه از بیماری‌های پراهمیت لوبیا در استان زنجان دارد و دو بیمارگر قارچی *Rhizoctonia solani* و *Fusarium solani* عوامل اصلی ایجادکنندهٔ این بیماری در منطقه‌اند. در این تحقیق بازدارندگی عصارهٔ ان-هگزانی، دی اتیل اتری، کلروفرمی و اتانولی پنج گونهٔ گیاهی شامل اسپند (*Peganum harmala*)، آویشن کوهی (*Thymus kotschyanus*)، بومادران (*Achillea wilhelmsii*)، پونه (*Mentha pulegium*) و سیر (*Allium sativum*) در رشد رویشی *F. solani* و *R. solani* با استفاده از روش اختلاط عصاره با محیط کشت در چهار غلظت ۱۰۰، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام با سه تکرار مطالعه شده است. پس از بررسی‌های آزمایشگاهی، مؤثرترین عصاره‌ها در شرایط گلخانه‌ای علیه بیماری پوسیدگی ریشهٔ لوبیا ارزیابی شد. براساس نتایج آزمایشگاهی به‌دست آمده، فاز هگزانی عصارهٔ آویشن و پونه (هر دو در غلظت ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام)، بیشترین اثر بازدارندگی را علیه هر دو بیمارگر داشت. همچنین، موجب گرانوله شدن سیتوپلاسم هیف‌های هر دو گونهٔ قارچی و نشت مواد درون‌سلولی آنها شد. در آزمون‌های گلخانه‌ای، عصارهٔ هگزانی آویشن و پونه نه‌تنها موجب کاهش معنادار درصد پوسیدگی ریشه شد، بلکه بر شاخص‌های رشدی گیاه لوبیا نیز آثار افزایشی معناداری در سطح ۵ درصد داشت.

واژه‌های کلیدی: آویشن، پوسیدگی قارچی ریشه، حبوبات، عصارهٔ گیاهی، قارچ ایستایی.

مقدمه

در سال‌های اخیر به دلیل بروز برخی مشکلات و تهدیدهای ناشی از مصرف بی‌رویهٔ سموم شیمیایی در عرصهٔ کشاورزی، گرایش زیادی به استفاده از پتانسیل بالقوهٔ مواد بیولوژیکی در کنترل حشرات، بیماری‌ها و علف‌های هرز ایجاد شده است (Edris and Farrag, 2003; Muller *et al*., 1995; Regnault and Hamraoui 1994; Zambouelli *et al*., 1996). در این بین، گیاهان دارویی همواره یکی از مهم‌ترین منابع ترکیبات فعال زیستی بوده‌اند (Shariff *et al*, 2006). تقریباً ۲۰درصد گیاهان شناخته‌شده در جهان در آزمون‌های زیستی بررسی شده‌اند (Sufferdini, *et al*., 2004). در سال‌های اخیر بررسی‌های آزمایشگاهی فراوانی در زمینهٔ تأثیر فرآورده‌های گیاهان دارویی روی قارچ‌ها و باکتری‌های بیماری‌زای گیاهی انجام گرفته و آثار بسیاری از اسانس‌ها و عصاره‌ها به اثبات رسیده است. از جملهٔ این دستاوردها می‌توان به آثار عصارهٔ آبی فلفل، علف لیمو و دانهٔ پیاز بر رشد میسلیومی *F. solani* و *R. solani* (Abd- EI- Khair and Gamal Nadia, 2011)، عصارهٔ آبی سیر علیه *R. solani* عامل بیماری سوختگی غلاف برنج (Sehajpal *et al*., 2009) و اثر رضایت‌بخش عصارهٔ متانولی آویشن علیه بیمارگرهای *F. oxysporum*, *Pythium aphanidermatum* و *R. solani* روی گوجه فرنگی (Al-Rahmah *et al*., 2013) اشاره کرد. همچنین، نشان داده شده است که عصارهٔ گیاه تاتوره، چریش و سیر در غلظت ۵ درصد باعث بیشترین کاهش رشد قارچ *Alternaria solani* در شرایط آزمایشگاهی شد و در

* تلفن: ۰۲۴۳۳۰۵۴۰۵۳
E-mail: rhemati@znu.ac.ir

شرایط گلخانه‌ای بیشترین کاهش شدت بیماری را عصارهٔ سیر در غلظت ۵ درصد دارد (Nashwa & Abo-Elyousr, 2012). با توجه به نتایج این تحقیقات و با استفاده از مواد مؤثر موجود در اسانس‌ها و عصاره‌های مورد بررسی، به دنبال تهیه و تولید فرآورده‌های حاصل از مواد گیاهی و کاهش استفاده از سموم شیمیایی بوده‌ایم، که آثار مخربی برای مصرف‌کنندگان محصولات کشاورزی و محیط زیست دارد. از جمله بیماری‌های مهم ریشهٔ لوبیا که در استان زنجان اهمیت فراوانی دارد، بیماری پوسیدگی ریشهٔ لوبیا ناشی از قارچ *F. solani* f. sp. *phaseoli* و *R. solani* است. با مطالعهٔ شیوع عوامل پوسیدگی ریشه و خسارت وارد به محصول لوبیا در شرایط آب‌وهوایی استان زنجان آشکار شد که این دو قارچ خاکزی فراوان‌ترین و مهم‌ترین عوامل پوسیدگی ریشهٔ لوبیا در منطقه‌اند (Naseri, 2008). با توجه به اینکه کاربرد قارچ‌کش‌ها به صورت تیمار خاک در مزارع استان کاربرد وسیعی دارد و از سوی دیگر نظر به آثار مخرب زیست‌محیطی سموم شیمیایی، جایگزین کردن مواد شیمیایی با مواد ضدمیکروبی دارای پایهٔ گیاهی علیه بیماری مذکور اهمیت بسزایی دارد. بنابراین، مطالعهٔ حاضر با هدف بررسی فعالیت ضد قارچی عصاره‌های مختلف گیاهان آویشن کوهی (*Thymus kotschyanus*)، اسپند (*Peganum harmala*)، پونه (*Mentha pulegium*)، بومادران (*Achillea wilhelmsii*) و سیر (*Allium sativum*) علیه دو عامل اصلی بیماری پوسیدگی ریشه و لوبیا در استان زنجان یعنی *F. solani* و *R. solani* در شرایط آزمایشگاهی و گلخانه‌ای انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

جدایه‌های قارچی

در این مطالعه از دو جدایهٔ هر یک از دو قارچ بیماری‌زای گیاهی مختلف *F. solani* و *R. solani* استفاده شد. این جدایه‌ها از ریشهٔ لوبیا در استان زنجان جداسازی و بیماری‌زایی آنها بر روی لوبیا تأیید شد.

مواد گیاهی و استخراج عصاره

گیاهان مورد مطالعه طی ماه‌های خرداد و تیر ۱۳۹۰ و در مرحلهٔ گیاه کامل از رویشگاه طبیعی آنها در استان زنجان جمع‌آوری و پس از شستشو، در شرایط آزمایشگاه و دور از تابش نور مستقیم آفتاب خشک شد. سپس، تمامی قسمت‌های هوایی شامل ساقه، برگ و گل به وسیلهٔ آسیاب خرد شد. عصاره‌گیری متوالی[1] با چهار حلال ان-هگزان، دی اتیل اتر، کلروفرم و اتانول به ترتیب قطبیت از غیرقطبی به قطبی به روش پرکولاسیون انجام گرفت. بدین صورت که حدود ۱۰۰ گرم از گیاه خشک آسیاب شده داخل قیف دکانتور ریخته و غیرقطبی‌ترین حلال یعنی اِن-هگزان به آن اضافه شد. سپس، سه مرتبه به صورت یک روز در میان عصارهٔ به‌دست آمده داخل قیف با استفاده از کاغذ صافی استخراج و صاف شد. جهت حذف حلال و تغلیظ آن از دستگاه تبخیرکنندهٔ گردان (Rotary evaporator, IKA®RV 05 basic) استفاده شد. سپس، گیاه از داخل قیف خالی شد و به مدت ۲۴ ساعت زیر هود قرارگرفت تا حلال اطراف آن کاملاً تبخیر شود. مادهٔ گیاهی جامد حاصل، دوباره داخل قیف ریخته و دومین حلال به آن اضافه شد؛ بدین مفهوم که عصاره‌گیری با حلال دوم از پس‌ماند گیاهی حاصل از حلال اول انجام گرفت و مراحل فوق برای هر چهار حلال، به نوبت از غیرقطبی به قطبی دنبال شد. به این ترتیب چهار نوع عصاره شامل عصاره‌های فاز هگزانی، دی اتیل اتری، کلروفرمی و اتانولی به‌طور جداگانه برای هر گیاه حاصل شد و پس از خشک شدن کامل، عصاره‌ها درون ظرف دربسته نگهداری شد. این روش عصاره‌گیری که به روش sequential extraction معروف است، امکان تفکیک ترکیبات مختلف گیاهی را بر اساس قطبیت آن‌ها فراهم می‌آورد (Ciulei, 1981).

آزمون‌های زیست‌سنجی

ارزیابی اثر مهارکنندگی عصاره‌ها بر بیمارگرها با استفاده از روش اختلاط هر عصاره با محیط کشت[2] در غلظت‌های ppm ۱۰۰، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ (به ترتیب معادل با ۰/۱، ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ گرم عصارهٔ خالص بر لیتر محیط کشت) و روش کشت متقابل[3] به منظور ارزیابی

1. sequential extraction
2. poisoned food technique
3. dual culture

اثر متابولیت‌های فرار (تنها برای مؤثرترین عصاره‌ها از نتایج روش اختلاط عصاره با محیط کشت) انجام شد. از آنجا که مقدار وزنی عصارهٔ فاز کلروفرمی در تمامی گیاهان بسیار اندک بود، به این دلیل عصارهٔ حاصل از این فاز (عصارهٔ کلروفرمی) فقط در غلظت ۱۰۰۰ppm ارزیابی شد. مقادیر عصارهٔ لازم برای هرکدام از غلظت‌های مذکور در ۲۵۰ میلی‌لیتر محیط کشت محاسبه و در ۲/۵ میلی‌لیتر دی‌متیل سولفوکسید (DMSO) به منزلهٔ حلال مناسب حل شد. در مورد شاهد نیز از ۲/۵ میلی‌لیتر DMSO به تنهایی داخل محیط کشت استفاده شد. سپس، قرصی از پرگنهٔ قارچ‌های مورد نظر به قطر ۱۰میلی‌متر در قسمت مرکزی ظرف‌های پتری ۹ سانتی‌متری حاوی مخلوط محیط کشت با غلظت‌های مختلف هر یک از عصاره‌ها به طور جداگانه قرار گرفت و به انکوباتور با دمای ۲۵ درجهٔ سلسیوس انتقال داده شد. سپس، در فواصل زمانی ۱، ۲، ۳ و ۴ روز پس از کشت، قطر پرگنهٔ قارچ‌های مورد آزمایش در تیمارهای مختلف و تیمار شاهد اندازه‌گیری و ثبت شد.

برای محاسبهٔ درصد بازدارندگی از رشد رویشی قارچ‌ها در تیمارهای مختلف از فرمول I=[(C-T)/C]*100 استفاده شد که در آن C قطر پرگنهٔ قارچ در پتری شاهد و T قطر پرگنهٔ قارچ در تیمار حاوی عصاره و I درصد مهار رشد رویشی قارچ در تیمار مربوط است. به منظور بررسی تأثیر متابولیت‌های فرار در روش کشت متقابل، ۰/۲ گرم از عصارهٔ خشک مؤثرترین فاز عصاره‌ها از آزمون اختلاط، در ۲ میلی‌لیتر حلال DMSO حل شد. سپس، مقادیر۱۰۰ و ۲۰۰ میکرولیتر از آن در داخل ظرف پتری استریل ریخته شد و ظرف پتری دیگری که در مرکز آن، دیسک قارچ مورد آزمایش قرار داشت، به صورت معکوس روبه‌روی ظرف پتری حاوی عصاره قرارگرفت و مرز بین دو ظرف پتری به کمک نوار پارافیلم کاملاً مسدود شد تا مانع از خروج متابولیت‌های فرار عصاره‌ها شود. درصد بازدارندگی از رشد رویشی قارچ، با اندازه‌گیری قطر پرگنهٔ آن به فاصلهٔ ۱، ۲، ۳ و ۴ روز پس از قراردادن آن در مقابل عصاره، و به کمک فرمول I=[(C-T)/C]*100 تعیین شد.

اثر قارچ‌کشی یا قارچ ایستایی عصاره‌های گیاهی

این بررسی تنها روی مؤثرترین عصاره‌ها انجام گرفت. بدین منظور بر اساس روش تامسون (Thomson, 1989)، قرص محیط کشت حاوی قارچ که قادر به رشد در هر یک از غلظت‌های عصارهٔ گیاهی نبود، به محیط کشت PDA بدون عصارهٔ گیاهی منتقل و پس از ۱۰ روز، رشد یا عدم رشد قارچ روی محیط کشت جدید بررسی شد. در صورت عدم رشد قارچ طی مدت زمان مذکور، این امر قارچ‌کشی و در غیر این صورت قارچ ایستایی تلقی شد.

بررسی‌های گلخانه‌ای

در آزمون گلخانه‌ای از گلدان‌هایی با حجم ۱۸۵ میلی‌لیتر و قطر دهانهٔ ۷ سانتی‌متر استفاده شد. در دوسوم حجم پایینی گلدان‌ها مخلوطی از خاک مزرعه، کود حیوانی و پرلیت استریل به نسبت (۱:۱:۲) ریخته شد. به منظور تهیهٔ زادمایه، برای هر گونهٔ قارچی از مخلوط دو جدایه با بیماری‌زایی بالا استفاده شد. آماده‌سازی زادمایهٔ قارچ *F. solani* به روش (Bilgi *et al.* (2008 و تهیهٔ زادمایهٔ *R. solani* به روش Paula Junior *et al.* (2007) انجام شد، به گونه‌ای که مقدار زادمایهٔ اضافه‌شدهٔ هر گونهٔ قارچی به هر گلدان ۳درصد وزنی خاک در یک‌سوم فوقانی گلدان بود. آلوده‌سازی گلدان‌ها با دو بیمارگر به صورت هم‌زمان و یک هفته قبل از کشت بذور انجام گرفت. طی این مدت گلدان‌ها هر دو روز یکبار آبیاری شدند. از آنجا که مؤثرترین عصاره در شرایط آزمایشگاهی، عصارهٔ هگزانی بود و این عصاره قابلیت انحلال در آب آبیاری را نداشت، لذا ابتدا لازم بود که روش مناسبی جهت کاربرد این عصاره در خاک یافت شود. بدین منظور روش‌های مختلفی از کاربرد غلظت‌های مختلف عصارهٔ هگزانی آویشن و پونه به صورت تیمار بذر و خاک استفاده شد که برخی از آنها کارایی کافی نداشتند و برخی دیگر منجر به گیاه‌سوزی و نیز جلوگیری از جوانه‌زنی بذر شدند. در نهایت، آزمونی به شرح زیر تعریف و با موفقیت اجرا شد: با توجه به اینکه عصارهٔ هگزانی حالت چسبنده داشت و قابلیت پودر شدن نداشت، ابتدا ۱گرم عصاره در مقداری ان-هگزان حل و مقداری پرلیت درون این محلول ریخته

شد. این مخلوط در شرایط مناسب قرارگرفت تا حلال به تدریج تبخیر و عصاره مجدداً خشک شود. به این ترتیب دانه‌های پرلیت به‌طور یکنواخت آغشته به عصاره شدند. وزن عصارهٔ چسبیده به پرلیت با کم‌کردن وزن پرلیت خالص هم حجم از وزن پرلیت آغشته به عصاره به دست آمد. چهار رقت مختلف ۱ در هزار (۱ گرم عصارهٔ خشک چسبیده به پرلیت در ۱۰۰۰ گرم خاک رویی)، ۰/۷۵ در هزار، ۰/۵ در هزار و ۰/۲۵ در هزار از عصاره در یک‌سوم فوقانی خاک گلدان (معادل با ۵۶ گرم خاک) محاسبه و تهیه شد. سپس، بذر لوبیا قرمز رقم ناز پس از ضدعفونی با هیپوکلریت سدیم ۰/۵ درصد به مدت یک دقیقه، در خاک کشت شد. برای هر تیمار سه تکرار در نظر گرفته شد. بیست روز بعد از کاشت بذرها، گیاهان از خاک خارج شدند و پس از شستن، درصد پوسیدگی ریشه (طول زخم ریشه به صورت درصدی از طول ریشه) ثبت شد. همچنین، شاخص‌های رشدی شامل طول ساقه، طول ریشه، وزن تر و وزن خشک ساقه و ریشه اندازه‌گیری و به ترتیب به سانتی‌متر و گرم ثبت شد.

تجزیهٔ آماری

داده‌های به‌دست آمده از آزمایش‌های مربوط به کشت اختلاط، متابولیت فرار و نیز آزمون‌های گلخانه‌ای پس از نرمال‌سازی با استفاده از فرمول $ArcSin\sqrt{Y}$ (Y= درصد بازدارندگی از رشد قارچ یا Y= درصد پوسیدگی ریشه) آنالیز شد. درصد پوسیدگی ریشه با فرمول $Y = [L / R] \times 100$ محاسبه شد که در آن L عبارت است از طول زخم پوسیدگی در ریشه و R طول ریشه (Little and Hill, 1978). تجزیهٔ واریانس و مقایسهٔ میانگین‌ها به ترتیب در نرم‌افزارهای Mini Tab 16 و Statistix در مورد هر کدام از قارچ‌های مطالعه به صورت مجزا انجام شد. لازم به ذکر است که گرچه ثبت داده‌ها طی روزهای اول، دوم، سوم و چهارم انجام گرفت، اما، از آنجاکه اثر نهایی عصاره‌ها مورد نظر بود، در مورد تمامی تیمارها و آزمون‌ها درصد بازدارندگی ثبت شده در روز چهارم محاسبه و تجزیهٔ آماری شد. همچنین، به‌دلیل تک‌غلظت بودن عصارهٔ کلروفرمی، داده‌های این فاز عصاره به‌صورت جداگانه در قالب طرح کاملاً تصادفی آنالیز شد، حال آنکه نتایج بازدارندگی سه فاز عصارهٔ دیگر و نتایج تأثیر متابولیت‌های فرار به صورت آزمون فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی آنالیز و در صورت معنادار بودن (سطح معناداری: ٪۱) با استفاده از آزمون توکی، مقایسهٔ میانگین‌ها انجام شد. این آزمایش‌ها در چهار غلظت و سه تکرار انجام شد. همچنین، در مورد مؤثرترین عصاره‌ها مشاهدهٔ میکروسکوپی انجام شد تا تأثیر آنها بر ریسهٔ قارچ مشاهده شود. داده‌های حاصل از آزمون گلخانه‌ای در قالب طرح کاملاً تصادفی تجزیه و تحلیل شد.

نتایج و بحث

بازدارندگی از رشد میسلیومی قارچ‌ها در دو روش اختلاط عصاره با محیط کشت و کشت متقابل

نتایج به دست آمده از تجزیهٔ واریانس داده‌های حاصل از این آزمون نشان داد که آثار نوع گیاه، فاز استخراج عصاره (نوع حلال به کار رفته در استخراج) و غلظت عصاره و نیز تمامی آثار متقابل شامل آثار متقابل گیاه-فاز عصاره، گیاه-غلظت، فاز عصاره- غلظت، و گیاه- غلظت- فاز عصاره در سطح آماری ۰/۰۱ در مورد هر دو قارچ معنادار بود. نتایج مقایسهٔ میانگین پنج گونهٔ گیاهی با در نظر گرفتن اثر نوع حلال و غلظت نشان داد که عصارهٔ هگزانی آویشن در غلظت ppm ۱۰۰۰ بیشترین بازدارندگی را علیه *F. solani* داشت و پس از آن عصارهٔ هگزانی آویشن ۵۰۰ppm و عصارهٔ هگزانی پونه ppm ۱۰۰۰ توانستند بیشترین بازدارندگی را داشته باشند (جدول ۱). همچنین، عصارهٔ هگزانی آویشن در غلظت ppm ۱۰۰۰ بیشترین بازدارندگی را علیه *R. solani* داشت و پس از آن عصارهٔ هگزانی پونه در غلظت ppm ۱۰۰۰ و دی‌اتیل اتری پونه در غلظت ppm ۱۰۰۰ مؤثرترین عصاره‌ها علیه این بیمارگر بودند (جدول ۲). مقایسهٔ اثر بازدارندگی فاز کلروفرمی پنج گونهٔ گیاهی علیه قارچ *F. solani* نشان داد که فاز کلروفرمی اسپند نسبت به سایر گیاهان بیشترین اثر معنادار را بر این قارچ داشت (سطح معناداری: ٪۱). همچنین، در بین فاز کلروفرمی گیاهان، عصاره‌های کلروفرمی آویشن و بومادران نسبت به سایر گیاهان بیشترین تأثیر بازدارنده را بر *R. solani* داشت (جدول ۳). در روش کشت متقابل و بررسی اثر متابولیت‌های

فرار، پس از چهار روز عصارهٔ هگزانی آویشن در مقدار ۱۰۰ و۲۰۰ میکرولیتر از غلظت به کار رفته، نسبت به عصارهٔ هگزانی پونه بازدارندگی بیشتری علیه قارچ *F. solani* داشت. از سویی دیگر، متابولیت‌های فرار حاصل از عصارهٔ هگزانی پونه، هیچ گونه بازدارندگی علیه قارچ *R. solani* نداشتند (جدول ۴).

در بررسی اثر قارچ ایستایی یا قارچ‌کشی، مشخص شد که عصارهٔ هگزانی آویشن در هر دو غلظت ppm ۵۰۰ و ۱۰۰۰ و عصارهٔ هگزانی پونه در غلظت ppm ۱۰۰۰ روی هر دو نوع قارچ اثر قارچ ایستایی داشتند و هیچ گونه اثر قارچ‌کشی مشاهده نشد. در بررسی‌های میکروسکوپی نیز مشخص شد که عصارهٔ هگزانی آویشن و پونه باعث گرانوله شدن سیتوپلاسم و نشت مواد داخل سلولی هیف هر دو قارچ به بیرون شد. همچنین، بر اساس مشاهدات ظاهری، جمعیت کنیدیوم قارچ *F. solani* در مقایسه با شاهد بسیار کمتر شده بود. هر چند هیچ‌گونه مقایسه و تجزیه و تحلیل آماری در این زمینه انجام نگرفت. همچنین، عصارهٔ دی اتیل اتری پونه، بومادران و اسپند روی قارچ *F. solani* باعث تغییر در ساختار هیف‌ها و گرانوله شدن و نشت مواد داخل سلولی به بیرون شد. در تحقیقی، اثر اسانس دارچین بر رشد و ریخت‌شناسی ریسه‌های *Aspergillus niger* مطالعه شد که نتایج حاصل حاکی از کاهش سیتوپلاسم، کاهش پیگمان‌ها و از هم گسیختن ساختار سلولی بود (Carmo *et al.*, 2008). همچنین، کاهش سیتوپلاسم، کاهش پیگمان‌ها و از هم گسیختن ساختار سلولی *Fusarium oxysporum* توسط اثر اسانس گیاهی *Hyptsi suaveolens* به اثبات رسیده است (Tripathi and Sharma, 2009). طی تحقیقی دیگر نیز تغییرات مورفولوژیکی هیف و کنیدیوم‌های قارچ *Penicillium digitatum* در اثر تماس با اسانس آویشن کوهی، با میکروسکوپ الکترونی مشاهده شد (Arras and Usai, 2001).

جدول ۱. اثر غلظت‌های مختلف (پی‌پی‌ام) سه فاز عصاره‌ای پنج گونهٔ گیاهی بر بازدارندگی از رشد *Fusarium solani* (٪) در محیط کشت PDA

حلال	غلظت(ppm)	گیاه				
		آویشن	اسپند	پونه	سیر	بومادران
اِن-هگزان	۱۰۰	۱/۸۷IJKLMN ۱۰/۷۹۸±	۰/۰۰۰ Q	۱/۸۷PQ ۰/۲۴۰۷±	۱/۸۷IJKLMN ۱۰/۵۵۶±	۰/۰۰۰ Q
	۲۵۰	۱/۸۷GHIJ ۱۵/۶۴۹±	۰/۰۰۰ Q	۱/۸۷KLMNOPQ ۷/۶۰۰۵±	۱/۸۷JKLMNO ۹/۱۵۶۹±	۰/۰۰۰ Q
	۵۰۰	۱/۸۷B ۴۸/۳۵۷±	۰/۰۰۰ Q	۱/۸۷GHIJKLM ۱۲/۷۵۶±	۱/۸۷GHIJKLM ۱۳/۳۳۳±	۰/۰۰۰ Q
	۱۰۰۰	۱/۸۷A ۷۹/۶۵۶±	۰/۰۰۰ Q	۱/۸۷C ۳۵/۹۸۱±	۱/۸۷GHIJKLM ۱۲/۹۳۴±	۰/۰۰۰ Q
دی اتیل اتر	۱۰۰	۰/۰۰۰ Q	۱/۸۷IJKLMNO ۱۰/۱۳۱±	۱/۸۷HIJKLM ۱۲/۵۱۵±	۱/۸۷IJKLMN ۱۱/۶۶۷±	۰/۰۰۰ Q
	۲۵۰	۰/۰۰۰ Q	۱/۸۷JKLMNOP ۷/۹۵۲۱±	۱/۸۷LMNOPQ ۶/۱۳۷۲±	۱/۸۷OPQ ۲/۵۴۵۶±	۰/۰۰۰ Q
	۵۰۰	۱/۸۷JKLMNO ۹/۶۰۴۵±	۱/۸۷LMNOPQ ۶/۳۱۸۱±	۱/۸۷LMNOPQ ۶/۲۰۳۲±	۱/۸۷LMNOPQ ۶/۲۲۱۸±	۰/۰۰۰ Q
	۱۰۰۰	۱/۸۷DE ۲۷/۶۸۴±	۱/۸۷JKLMNO ۹/۰۴۱۴±	۰/۰۰۰ Q	۱/۸۷DE ۲۶/۱۱۱±	۱/۸۷NOPQ ۴/۲۸۵۷±
اتانول	۱۰۰	۰/۰۰۰ Q	۱/۸۷GHIJK ۱۴/۴۸۸±	۱/۸۷NOPQ ۴/۳۹۸۸±	۱/۸۷NOPQ ۳/۸۸۸۹±	۰/۰۰۰ Q
	۲۵۰	۰/۰۰۰ Q	۱/۸۷FGHI ۱۷/۷۵۶±	۱/۸۷LMNOPQ ۶/۵۷۰۵±	۱/۸۷GHIJKL ۱۳/۶۶۷±	۰/۰۰۰ Q
	۵۰۰	۰/۰۰۰ Q	۱/۸۷EFG ۲۰/۴۷۹±	۱/۸۷KLMNOPQ ۷/۷۳۸۹±	۱/۸۷EFGH ۲۰±	۰/۰۰۰ Q
	۱۰۰۰	۰/۰۰۰ Q	۱/۸۷DEF ۲۴/۲۹۲±	۱/۸۷MNOPQ ۵/۶۹۳۱±	۱/۸۷CD ۳۰/۵۵۶±	۰/۰۰۰ Q

میانگین‌هایی که در همهٔ ستون‌ها دارای حروف مشترک‌اند، اختلاف معنادار در سطح ۵٪ ندارند.

جدول۲. اثر غلظت‌های مختلف (پی‌پی‌ام) سه فاز عصاره‌ای پنج گونهٔ گیاهی بر بازدارندگی از رشد *Rhizoctonia solani* (٪) در محیط کشت PDA

حلال	غلظت (ppm)	گیاه				
		آویشن	اسپند	پونه	سیر	بومادران
n-هگزان	۱۰۰	۰/۰۰۰ ^{K}	۰/۰۰۰ ^{K}	۰/۰۰۰ ^{K}	۱۱/۱۸۱±۲/ ۸۷ ^{EFGHIJK}	۰/۰۰۰ ^{K}
	۲۵۰	۱/۰۵۵۰±۲/ ۸۷ ^{J}	۰/۰۰۰ ^{K}	۸/۰۱۷۰±۲/ ۸۷ ^{GHIJK}	۵/۰۶۳۰±۲/ ۸۷ ^{HIJK}	۰/۰۰۰ ^{K}
	۵۰۰	۲۲/۵۷۴±۲/ ۸۷ ^{DE}	۰/۰۰۰ ^{K}	۲۴/۰۵۱±۲/ ۸۷ ^{CD}	۰/۰۰۰ ^{K}	۰/۰۰۰ ^{K}
	۱۰۰۰	۹۸/۰۱۷±۲/ ۸۷ ^{A}	۳/۵۷۱۳±۲/ ۸۷ ^{HIJK}	۴۱/۴۷۷±۲/ ۸۷ ^{B}	۰/۰۰۰ ^{K}	۲/۱۰۹۷±۲/ ۸۷ ^{IJK}
دی اتیل اتر	۱۰۰	۰/۰۰۰ ^{K}	۲/۰۲۸۳±۲/ ۸۷ ^{IJK}	۰/۰۰۰ ^{K}	۵/۲۷۴۳±۲/ ۸۷ ^{HIJK}	۰/۰۰۰ ^{K}
	۲۵۰	۰/۰۰۰ ^{K}	۷/۵۸۴۰±۲/ ۸۷ ^{GHIJK}	۰/۰۰۰ ^{K}	۹/۷۰۴۷±۲/ ۸۷ ^{FGHIJK}	۰/۰۰۰ ^{K}
	۵۰۰	۷/۵۹۴۷±۲/ ۸۷ ^{GHIJK}	۱۰/۰۵۳±۲/ ۸۷ ^{FGHIJK}	۰/۰۰۰ ^{K}	۱۳/۹۲۴±۲/ ۸۷ ^{DEFGHI}	۰/۰۰۰ ^{K}
	۱۰۰۰	۱۹/۱۹۹±۲/ ۸۷ ^{DEFG}	۳۴/۹۶۵±۲/۸۷ ^{BC}	۰/۸۴۴۰±۲/ ۸۷ ^{JK}	۲۰/۶۷۵±۲/ ۸۷ ^{DEF}	۱۱/۳۹۲±۲/ ۸۷ ^{EFGHIJK}
اتانول	۱۰۰	۰/۰۰۰ ^{K}	۷/۶۲۸۰±۲/ ۸۷ ^{GHIJK}	۰/۰۰۰ ^{K}	۸/۴۳۸۷±۲/ ۸۷ ^{GHIJK}	۰/۰۰۰ ^{K}
	۲۵۰	۰/۰۰۰ ^{K}	۱۲/۶۹۹±۲/ ۸۷ ^{DEFGHIJ}	۰/۰۰۰ ^{K}	۱۸/۱۴۳±۲/ ۸۷ ^{DEFG}	۰/۰۰۰ ^{K}
	۵۰۰	۰/۰۰۰ ^{K}	۱۰/۰۵۳±۲/ ۸۷ ^{FGHIJK}	۰/۰۰۰ ^{K}	۹/۰۷۱۷±۲/ ۸۷ ^{FGHIJK}	۰/۰۰۰ ^{K}
	۱۰۰۰	۰/۰۰۰ ^{K}	۸/۹۹۴۷±۲/ ۸۷ ^{FGHIJK}	۰/۰۰۰ ^{K}	۱۴/۱۳۵±۲/ ۸۷ ^{DEFGH}	۰/۰۰۰ ^{K}

میانگین‌هایی که درون ستون‌ها دارای حروف مشترک‌اند، اختلاف معناداری در سطح ۵٪ ندارند.

جدول۳. اثر فاز کلروفرمی (غلظت ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام) عصارهٔ پنج گونهٔ گیاهی بر بازدارندگی از رشد قارچ‌های *Rhizoctonia solani* و *Fusarium solani* در محیط کشت PDA

گیاه	میانگین درصد بازدارندگی از رشد *Rhizoctonia solani*	میانگین درصد بازدارندگی از رشد *Fusarium solani*
آویشن	۳۲/۴۸۴±۴/ ۴۵ ^{A}	۰/۰۰۰ ^{C}
اسپند	۲۲/۸۴۰±۲/ ۷۵ ^{B}	۲۷/۵۶۰±۲/ ۴۹ ^{A}
پونه	۰/۰۰۰ ^{D}	۰/۰۰۰ ^{C}
سیر	۱۴/۷۶±۷/ ۴۱ ^{C}	۶/۶۶۷±۳/ ۳۳ ^{B}
بومادران	۳۲/۹۱۱±۴/ ۴۳ ^{A}	۶/۳۴۹±۳/ ۴۰ ^{B}

میانگین‌هایی که در هر ستون دارای حروف مشترک‌اند، اختلاف معناداری در سطح ۵٪ ندارند. (تیمارهای هر ستون با هم مقایسه شده‌اند و مقایسهٔ بین دو ستون انجام نشده است. بنابراین گروه‌بندی در هر ستون مستقل از ستون دیگر است.)

جدول ۴. اثر متابولیت‌های فرار مقادیر مختلف عصارهٔ هگزانی آویشن و پونه (غلظت: ۰/۱ گرم عصارهٔ خشک در ۱ میلی‌لیتر دی متیل سولفوکسید) بر بازدارندگی از رشد *Fusarium solani* و *Rhizoctonia solani* در محیط کشت PDA

قارچ بیماری زا	مقدار حجمی عصارهٔ هگزانی (میکرولیتر)	گیاه	
		آویشن	پونه
F. solani	۱۰۰	۷۰/۴۸۶±۲/۰۴۶۱ ^{A}	۳۷/۰۹۷±۲/۰۴۶۱ ^{C}
	۲۰۰	۷۲/۱۹۹±۲/۰۴۶۱ ^{A}	۴۹/۶۰۲±۲/۰۴۶۱ ^{B}
R. solani	۱۰۰	۵۴/۱۶۷±۳/۱۵۳۸ ^{A}	۰/۰۰۰ ^{B}
	۲۰۰	۶۱/۹۷۹±۳/۱۵۳۸ ^{A}	۰/۰۰۰ ^{B}

داده‌های مربوط به هر گونهٔ قارچی به‌طور جداگانه تجزیه و مقایسه شده‌اند و میانگین‌های مربوط به هر گونهٔ قارچی که با حروف یکسان نشان داده شده‌اند اختلاف معناداری در سطح ۵٪ ندارند.

نتایج مقایسهٔ میانگین پنج گونهٔ گیاهی نشان داد که بدون در نظر گرفتن اثر نوع حلال و غلظت، گیاه آویشن کوهی و سیر در مجموع آثار بازدارندگی بیشتری علیه هر دو نوع قارچ دارند. اثر ضدقارچی اسانس گیاه آویشن (*Thymus zygis*) علیه *R. solani*، *F. oxysporum* و *Colletotrichum acutatum* را Perez-Sanchez *et al.* (2007) هم گزارش کرده‌اند. در تحقیقی عصارهٔ آبی سیر در غلظت۱۰۰ پی‌پی‌ام بیشترین سمیت را علیه بیمارگر *R. solani* عامل بیماری سوختگی غلاف برنج نشان داد (Sehajpal *et al.*, 2009). همچنین، در تحقیقی دیگر نیز نشان داده شد که عصارهٔ آبی سیر در غلظت ۵ درصد باعث بیشترین کاهش رشدی قارچ *Alternaria solani*

در شرایط آزمایشگاه شد (Sallam *et al.*, 2012). در نتایج این پژوهش در مورد گیاه سیر، با وجود ترکیبات ضد میکروبی به‌خصوص در دو نوع فاز دی اتیل اتری و اتانولی سیر، این فازهای عصاره‌گیری تأثیر بسیار چشمگیری بر رشد قارچ‌ها پس از ۹۶ ساعت نداشتند.

یکی از مهم‌ترین علل این قبیل تفاوت‌ها در نتایج این تحقیق و برخی تحقیقات مشابه را می‌توان به نوع حلال‌های به کار رفته و نیز به نوع روش عصاره‌گیری نسبت داد. روش «عصاره‌گیری متوالی» که روش مورد استفاده در این تحقیق است، روش عصاره‌گیری رایجی در تحقیقات داروسازی است، حال آنکه این شیوهٔ عصاره‌گیری، در پژوهش‌های کشاورزی کمتر استفاده شده است. از مهم‌ترین مزایای این روش گروه‌بندی مواد قطبی و غیرقطبی است. لذا، در زمینهٔ داروسازی و تولید سموم، می‌توان با این روش فاز عصاره‌گیری حاوی مواد مؤثر را تشخیص داد و در بین ترکیبات همان فاز، مواد مؤثر را جستجو کرد. همچنین، در این روش آثار احتمالی آنتاگونیستی ترکیبات گیاهی به علت تفکیک آنها در فازهای مختلف رفع خواهد شد. از سویی دیگر، این روش موجب حذف آثار احتمالی هم‌افزایی بین ترکیبات مختلف گیاهی خواهد شد که در مواردی که این آثار مطلوب باشند، چنین خاصیتی یکی از معایب این روش در نظر گرفته خواهد شد. بنابراین، یکی از علل احتمالی کم‌اثر بودن عصاره‌های سیر در این تحقیق را می‌توان به تفکیک ترکیبات بازدارندهٔ سیر از همدیگر در فازهای مختلف عصاره‌گیری نسبت داد. نکتهٔ دیگر اینکه تمام داده‌های مورد تجزیه در این تحقیق، مربوط به روز چهارم است، حال آنکه در روزهای ابتدایی ارزیابی پتری‌دیش‌ها، آثار بازدارندگی مطلوبی از بسیاری از تیمارهای عصارهٔ گیاه سیر حاصل شد.

Al-Rahmah *et al.* (2013) با بررسی عصارهٔ متانولی آویشن، اثر بازدارندگی خوبی علیه قارچ‌های *Fusarium oxysporum, Pythium aphanidermatum* و *R. solani* بیمارگرهای گوجه‌فرنگی مشاهده کردند. این نتایج در مورد اثر ضدمیکروبی عصارهٔ آویشن در سایر بررسی‌ها نیز تأیید شد. علت این امر وجود ترکیبات فنولی نظیر تیمول و کارواکرول است (Cavalcanti *et al.*, 2006). در بررسی گونه‌های مختلف پونه نیز مشاهده شد که *Mentha longifolia* علیه گونه‌های آسپرژیلوس، فوزاریوم و مخمر *Candida albicans* فعالیت ضدقارچی دارد (Džamić *et al.*, 2010). نتایج مقایسهٔ میانگین نوع حلال (فاز عصاره) نشان داد که فاز هگزانی برای هر دو نوع قارچ حاوی ترکیبات بازدارندهٔ بیشتری است و پس از آن فاز اتانولی علیه *F. solani* و فاز دی اتیل اتری علیه *R. solani* حاوی بیشترین ترکیبات بازدارندهٔ رشد میسلیومی بوده است. اما شایان ذکر است که چنین نتیجه‌ای مختص شرایط و روش عصاره‌گیری به‌کار رفته در این تحقیق است. همچنین، با وجود تأثیر زیاد فاز هگزانی، نمی‌توان این حلال را برای استخراج ترکیبات ضدمیکروبی همهٔ گیاهان توصیه کرد. چنین استنباط می‌شود که این حلال برای گیاهانی مؤثر است که ترکیبات بازدارنده‌شان جزء مواد فرار باشد. عصاره‌ها، حاصل حل شدن قسمت‌های قابل حل گیاهان دارویی در حلال و عمدتاً متشکل از مواد فنولی است. عمل متوقف‌سازی رشد با این مواد (ترکیبات گیاهی) به‌دلیل واکنش گروه‌های آلدئیدی با گروه سولفیدریل مؤثر در رشد قارچ‌ها صورت می‌گیرد و میزان توقف رشد قارچ‌ها در اثر این مواد به نوع قارچ و سن آن بستگی دارد، به‌طوری‌که کشت‌های مسن‌تر نسبت به کشت‌های جوان از حساسیت بیشتری برخوردارند (Marjorie, 1999). در بررسی‌های گلخانه‌ای مشخص شد که عصارهٔ هگزانی آویشن در تمام پارامترهای رشدی گیاه به‌جز طول ریشه در سطح ۵ درصد، آثار افزایشی معناداری داشت. همچنین، تیمار آویشن یک در هزار موجب کاهش معنادار درصد پوسیدگی ریشه شد، به‌طوری‌که این تیمار پس از شاهد سالم، کمترین درصد پوسیدگی ریشه را داشت (جدول ۵). عصارهٔ هگزانی پونه نیز بر تمام شاخص‌های رشدی گیاه به‌جز طول ریشه و وزن خشک ساقه آثار افزایشی معناداری در سطح ۵ درصد داشت. در بین غلظت‌های مختلف این عصاره، کمترین میانگین درصد پوسیدگی ریشه بعد از شاهد سالم، مربوط به تیمارهای پونهٔ ۱ و ۰/۷۵در هزار بود (جدول ۶).

با توجه به نتایج و مشاهده‌های آزمون‌های گلخانه‌ای هر دو عصارهٔ هگزانی آویشن و پونه توانستند روی اکثر شاخص‌های رشدی گیاه اثر مثبتی نشان دهند و موجب افزایش این شاخص‌ها شدند که این تأثیرات از ابتدای

رشد گیاه قابل مشاهده بود، به این صورت که جوانه‌زنی بذر در گلدان‌های تیمار شده با عصارهٔ تقریباً یک هفته زودتر از گیاهان سالم و آلودهٔ بدون عصاره صورت گرفت. همچنین، ضخامت ساقه و ریشه در گیاهان تیمار نسبت به شاهد به صورت چشمی قابل مشاهده بود. بیشتر تحقیقات صورت گرفته در زمینه اثر بازدارندگی عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی روی رشد قارچ‌های بیماری‌زای گیاهی در شرایط آزمایشگاه بود و آثار آنها در شرایط گلخانه روی پاتوسیستم‌ها کمتر مطالعه شده است. هر چند که در سال‌های اخیر بررسی‌هایی در مورد اثر اسانس‌ها یا عصاره‌های آبی در شرایط گلخانه‌ای انجام گرفته، اما هیچ پژوهشی برای عصاره‌های هگزانی یا عصاره‌های استخراجی با حلالی غیر از آب انجام نگرفته است. در این پژوهش تلاش‌هایی جهت استفاده از عصارهٔ هگزانی در خاک جهت برآورد اثر آن بر کاهش بیماری انجام گرفته اما با توجه به اینکه عصارهٔ هگزانی قابلیت انحلال در آب را ندارد و از سویی دیگر کاربرد حلال DMSO حتی در مقادیر کم موجب گیاه‌سوزی شدید شد، لذا آزمون گلخانه‌ای با روشی متفاوت از سایر روش‌های کاربرد اسانس و عصاره در خاک انجام گرفت.

جدول ۵. تأثیر عصارهٔ هگزانی آویشن بر پارامترهای رویشی مختلف گیاه لوبیا و درصد پوسیدگی ریشه

تیمار	طول ریشه	طول ساقه	وزن تر ریشه	وزن تر ساقه	وزن خشک ریشه	وزن خشک ساقه	درصد پوسیدگی ریشه
گیاه آلوده	۹/۸۷±۱/۹^{B}	۱۱/۱۲±۱/۶^{C}	۰/۳۵۵±۰/۱۵^{C}	۰/۹۶۲±۰/۱۸^{B}	۰/۰۳۰±۰/۰۱^{D}	۰/۱۰۳±۰/۰۲۵^{C}	۹۱/۲±۸/۵^{A}
گیاه سالم	۱۰/۸۷±۱/۲^{AB}	۱۲/۵۰±۲/۱^{B}	۰/۷۱۰±۰/۰۸^{AB}	۱/۸۲۷±۰/۲۶^{AB}	۰/۰۵۰±۰/۰۱^{B}	۰/۱۳۰±۰/۰۳^{AB}	۰^{D}
آویشن ۰/۲۵درهزار	۱۲/۰۰±۰/۹^{A}	۱۵/۳۷±۱/۶^{B}	۰/۶۱۰±۰/۱^{B}	۱/۴۹۷±۰/۴۷^{B}	۰/۰۴۳±۰/۰۰^{BC}	۰/۱۲۸±۰/۰۴^{B}	۴۷/۵±۱۳/۲۳^{B}
آویشن ۰/۵درهزار	۱۲/۱۲±۰/۸^{A}	۱۵/۳۰±۱^{B}	۰/۶۷۰±۰/۰۶^{AB}	۱/۵۳۲±۰/۱۸^{B}	۰/۰۴۶±۰/۰۰^{BC}	۰/۱۲۵±۰/۰۲^{B}	۵۰/۰۰±۱۴/۷۲^{B}
آویشن ۰/۷۵درهزار	۱۱/۸۷±۰/۵^{A}	۱۹/۰۵±۱/۵^{A}	۰/۶۹۵±۰/۱^{AB}	۱/۷۱۷±۰/۲^{AB}	۰/۰۵۱±۰/۰۰^{B}	۰/۱۳۶±۰/۰۱^{AB}	۳۵/۰۰±۱۵/۸^{BC}
آویشن ۱درهزار	۱۱/۳۷±۰/۶^{AB}	۱۸/۶۷±۱/۴^{A}	۰/۹۸۵±۰/۳^{A}	۱/۹۶۰±۰/۵^{A}	۰/۰۶۸±۰/۰۰^{A}	۰/۱۷۲±۰/۰۲^{A}	۲۲/۵۰±۱۳/۲^{C}

میانگین‌هایی که در هر ستون حروف مشترک دارند، اختلاف معناداری در سطح احتمال ۵ درصد ندارند.

جدول ۶. تأثیر عصارهٔ هگزانی پونه بر پارامترهای رویشی مختلف گیاه لوبیا و درصد پوسیدگی ریشه *

تیمار	طول ریشه	طول ساقه	وزن تر ریشه	وزن تر ساقه	وزن خشک ریشه	درصد پوسیدگی ریشه
گیاه آلوده	۹/۸۷±۱/۹^{B}	۱۱/۱۲±۱/۶^{C}	۰/۳۵۵±۰/۱۶^{C}	۰/۹۶۲±۰/۲^{C}	۰/۰۳۰±۰/۰۱^{C}	۹۱/۲۵±۸/۵^{D}
گیاه سالم	۱۰/۸۷±۱/۲^{AB}	۱۲/۵۰±۲/۲^{BC}	۰/۷۱۰±۰/۰۸^{AB}	۱/۸۲۷±۰/۳^{A}	۰/۰۵۰±۰/۰۱^{AB}	۰^{A}
پونه ۰/۲۵درهزار	۱۴/۰۰±۱/۷^{A}	۱۴/۵۰±۱/۹^{AB}	۰/۶۹۲±۰/۱^{B}	۱/۵۳۷±۰/۲^{B}	۰/۰۴۸±۰/۰۱^{B}	۴۰/۰۰±۹/۱^{C}
پونه ۰/۵۰درهزار	۱۲/۲۵±۲/۸^{AB}	۱۴/۶۲±۱/۹^{AB}	۰/۶۷۰±۰/۱^{B}	۱/۵۲۲±۰/۲^{B}	۰/۰۴۷±۰/۰۱^{B}	۴۵/۰۰±۱۰/۸^{C}
پونه ۰/۷۵درهزار	۱۳/۱۲±۲/۴^{AB}	۱۵/۲۵±۱/۲^{A}	۰/۷۵۰±۰/۱^{A}	۱/۶۹۰±۰/۱^{AB}	۰/۰۵۸±۰/۰^{A}	۳۱/۲۵±۱۷/۹^{B}
پونه ۱درهزار	۱۲/۳۷±۱/۶^{AB}	۱۵/۶۵±۱/۱^{A}	۰/۷۶۷±۰/۱^{A}	۱/۶۸۵±۰/۲^{AB}	۰/۰۵۶±۰/۰^{A}	۳۱/۲۵±۱۴/۳^{B}

میانگین‌هایی که در هر ستون حروف مشترک دارند، اختلاف معناداری در سطح احتمال ۵ درصد ندارند.

* آثار بر وزن خشک ساقه در سطح ۵ درصد معنادار نبود، لذا این شاخص در جدول ذکر نشده است.

نتیجه‌گیری کلی

گرچه پژوهش‌های متعددی در زمینهٔ بررسی آزمایشگاهی اثر عصاره‌های گیاهی بر قارچ‌های بیمارگر گیاهی انجام شده است، تعداد تحقیقاتی که کاربرد این مواد را در پاتوسیستم میزبان- بیمارگر خصوصاً در بیماری‌های خاکزاد سنجیده باشند بسیار اندک است. با توجه به نتایج اولیهٔ رضایت‌بخش این پژوهش در آزمون‌های گلخانه‌ای و نظر به اینکه تحقیقات مشابهی در این زمینه انجام نگرفته است، نتایج آزمون‌های گلخانه‌ای این تحقیق، آغازی برای پژوهش‌های بعدی به‌منظور استفادهٔ کاربردی‌تر این عصاره‌ها و ترکیبات مؤثر گیاهی به‌منظور کنترل بیماری‌های خاکزاد است.

REFERENCES

1. Abd- EI- Khair, H. & EI- Gamal Nadia, G. (2011). Effects of aqueous extracts of some plant species against *Fusarium solani* and *Rhizoctonia solani* in *Phaseolus vulgaris* plants. *Plant Pathology*, 44, 1- 16.

2. Al-Rahmah, A.N., Mostafa, A.A., Abdel-Megeed, A., Yakout, S.M. & Hussein, S. A. (2013). Fungicidal activities of certain methanolic plant extracts against tomato phytopathogenic fungi. *African Journal of Microbiology Research*, 7, 517-524.
3. Arras, G. & Usai, M. (2001). Fungitoxic activity of 12 essential oils against four postharvest citrus pathogens. Chemical analysis of *Thymus capitatus* oil and its effect in sub-atmospheric pressure conditions. *Journal of Food Protection*, 64, 1024-1029.
4. Bilgi, V.N., Bradley, C.A., Khot, S.D., Grafton, K.F., & Rasmussen, J.B. (2008). Response ofdry bean genotypes to Fusarium rootrot caused by *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli*, under fieldand controlled conditions. *Plant Disease*, 92, 1197-1200.
5. Carmo, E.S., Lima, E.O., De Souza, E.L. & De Souza, F.B. (2008). Effect of *Cinnamomum zeylanicum* Blume essential oil on the growth and morphogenesis of some potentially pathogenic *Aspergillus* species. *Brazilian Journal of Microbiology*, 39, 91–97.
6. Cavalcanti, C.T., Camara, R., Mariano, R.L., Willadino, L., Marcelino, C. & Ulisses, C. (2006). Antimicrobial action of the essential oil of *Lippia gracilis* Schauer. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 49, 527-535.
7. Ciulei, I. (1981). Methodology for analysis of vegetable drugs. UNIDO. Romania, pp. 17-25.
8. Džamić , A., Soković, M., Ristić, M., Novaković, M., Grujić- Jovanović, S., Tešević ,V. & Marin, P. (2010). Antifungal and antioxidant activity of *Mentha longifolia* L. Hudson (Lamiaceae) essential oil. *Botanica Serbica*, 34, 57–61.
9. Edris, A.E. & Farrag, E.S. (2003). Antifungal activity of peppermint and sweet basil essential oils and their major aroma constituents on some plant pathogenic fungi from the vapor phase. *Nahrung/Food*, 47, 117-121.
10. Little, T.M. & Hills, F.J. (1978). Agricultural experimentation design and analysis. John Wiley and Sons. New York. USA, P. 368.
11. Marjorie,M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *ClinicalMicrobiologyReviews*, 12, 564- 582.
12. Muller, R.F., Berger, B. & Yegen, O. (1995). Chemical composition and fungitoxic properties to phytopathogenic fungi of essential oils of selected aromatic plants growing in Turkey. *Agricultural and Food Chemistry*, 43, 2262- 2266.
13. Naseri, B. (2008).Root rot of common bean in Zanjan, Iran: major pathogens and yield loss estimates. *Australasian Plant Pathology*, 37, 546–551.
14. Nashwa, S.M.A. & Abo-Elyousr, K.A.M. (2012). Evaluation of various plant extracts against the early blight disease of tomato plants under greenhouse and field conditions. *Plant Protection Science*, 48, 74–79.
15. Paula Júnior, T., Rotter, C. & Hau, B. (2007). Effects of soil moisture and sowing depth on the development of bean plants grown in sterile soil infested by; Rhizoctonia solani andTrichoderma harzianum. European Journal of Plant Pathology, 119, 193-202.
16. Perez-Sanchez, R., Infante, F., Galvez, C. & Ubera, J.L. (2007). Fungitoxic activity against phytopathogenic fungi and chemical composition of Thymus zygis essential oils. Food Science and Technology, 13, 341-347.
17. Regnault, R.C. & Hamraoui, A. (1994). Inhibition of reproduction of Acanthoscelides obtectus Say.(Coleoptera), a kidney bean (Phaseolus vulgaris) bruchid, by aromatic essential oils. Crop Protection, 13, 624-628.
18. .E.Kamal A & M.A,Nashwa ,. A.M ,Sallam(2012). . Evaluation of various plant extracts against the .(early blight disease of tomato plants under greenhouse and field conditions Plant Protection Science 48, 74-79.
19. P ,Kaur & .S ,Arora ,.A ,Sehajpal (2009). nia solaniRhizocto Evaluation of plant extracts against . .causing sheath blight of rice, The Journal of Plant Protection Sciences 1, 25-30.
20. P ,Hariprasad & .S ,Umesha ,.S .M ,Sudarshana ,.N ,Shariff .Rauvolfa Antimicrobial activity of .(۲۰۰۶) . .۲۵-۶ ,۱۵ ,frican Journal of BiotechnologyA .leaf and callus extracts Physalis minima and teyraphylla
21. Younes & .D.A ,Varella ,.C.A ,Gales ,.O.A ,Reis ,.G.A ,Goncalves ,.S.H ,Sader ,.B.J Sufferdini(2004). Screening of antimicrobial extracts from plants native to the Brazilian Amazon rainforest and .N.R Brazilian Journal of Medical Research .forest Atlantic, 37, 379-384.

22. Thomson, D.P. (1989). Fungitoxic activity of essential oil components on food storage fungi. *Mycologia*, 81,151-153.
23. Tripathi, A. & Sharma, N. (2009). In vitro efficacy of *Hyptis suaveolens* L. (Poit.) essential oil on growth and morphogenesis of *Fusarium oxysporum* f. sp. *gladioli* (Massey) Snyder & Hansen. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 25, 503- 512.
24. Zambouelli, A., Zechini, D., Aulerio, A. & Albazini, A. (1996). Effects of essential oils on phytopathogenic fungi in vitro. *Phytopathology*, 14, 494- 494.