

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



دانشگاه لرستان

دانشکده کشاورزی

عنوان پایان نامه:

بررسی تاثیر اسانس گیاهان آویشن (*Thymus vulgaris*)، نعناع فلفلی (*Mentha piperita*) و مرزه خوزستانی (*Satureja khuzistanica*) بر بازدارندگی رشد قارچ‌های بیماری‌زای گیاهی *Alternaria* ، *Botrytis cinerea* ، *solani* و *Fusarium solani*

نگارش:

سیدمسلم حسینی

استاد راهنما:

دکتر مصطفی درویش‌نیا

اساتید مشاور:

دکتر عبدالحسین رضایی‌نژاد و دکتر عیدی بازگیر

پایان نامه برای دریافت درجه ی کارشناسی ارشد «M.Sc.»

در رشته بیماری شناسی گیاهی

همه امتیازات این پایان نامه به دانشگاه لرستان تعلق دارد. در صورت استفاده از تمام یا بخشی از مطالب در مجلات، کنفرانس‌ها یا سخنرانی‌ها باید نام دانشگاه لرستان و نام دانشجو با ذکر ماخذ و ضمن کسب اجازه کتبی از دفتر تحصیلات تکمیلی دانشگاه ثبت شود. در غیر این صورت، مورد پیگرد قانونی قرار خواهد گرفت.

چکیده

در این مطالعه اثرات ضد قارچی غلظت‌های مختلف سه اسانس گیاهی آویشن (*Thymus vulgaris*)، نعناع فلفلی (*Mentha piperita*)، و مرزه خوزستانی (*Satureja khuzestanica*) و نیز دو قارچ‌کش مانکوزب و کاربندازیم بر بازدارندگی از رشد سه گونه قارچ بیماری‌زای گیاهی *Fusarium solani*، *Botrytis cinerea* و *Alternaria solani* در محیط کشت PDA و بافت میوه، در قالب طرح کاملاً تصادفی مورد بررسی قرار گرفت. اسانس‌های مورد آزمایش تأثیر معنی‌داری در بازدارندگی از رشد قارچ‌ها نشان دادند. نتایج نشان داد که از میان سه قارچ مورد آزمایش، در محیط کشت و بافت میوه بیشترین بازدارندگی مربوط به قارچ *Fusarium solani* بوده است. در محیط کشت از میان ۱۵ سطح اسانس و قارچ‌کش مورد استفاده غلظت ۱۰۰۰ میکرولیتر بر لیتر اسانس مرزه خوزستانی سبب بیشترین میزان بازدارندگی از رشد شده بود اما در بافت میوه بیشترین مقدار بازدارندگی از رشد مربوط به غلظت ۱۰۰۰ میکرولیتر بر لیتر اسانس آویشن بود. در محیط کشت و بافت میوه غلظت ۵۰ میکرولیتر بر لیتر اسانس نعناع فلفلی کمترین میزان بازدارندگی از رشد را دارا بود. نتایج این پژوهش نشان داد که از بین دو قارچ‌کش مورد مطالعه با نسبت ۱/۵ در هزار، قارچ‌کش کاربندازیم اثر مهارکنندگی بیشتری نسبت به مانکوزب داشته اما غلظت‌های ۵۰۰ میکرولیتر بر لیتر و بالاتر هر سه اسانس گیاهی اثر مهارکنندگی بیشتری را نسبت به قارچ‌کش کاربندازیم دارا بود. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که در محیط کشت اثر غلظت ۱۰۰۰ میکرولیتر بر لیتر اسانس‌های آویشن، مرزه خوزستانی و نعناع فلفلی بر قارچ *Alternaria solani* و اثر غلظت‌های ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکرولیتر بر لیتر اسانس مرزه خوزستانی بر قارچ *Botrytis cinerea* و اثر غلظت‌های ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکرولیتر بر لیتر اسانس مرزه خوزستانی و ۱۰۰۰ میکرولیتر بر لیتر اسانس آویشن بر قارچ *Fusarium solani* باعث بازدارندگی کامل (۱۰۰٪) شده و در بافت میوه اثر غلظت ۱۰۰۰ میکرولیتر بر لیتر اسانس آویشن بر قارچ‌های *Fusarium solani* و *Botrytis cinerea* بازدارندگی کامل را سبب شده است.

کلمات کلیدی: اسانس، بازدارندگی، قارچ، بیماری

فهرست

صفحه	عنوان
۱۰	فصل اول (مقدمه)
۱۱	۱-۱- مقدمه
۱۵	۱-۲- ضرورت انجام تحقیق
۱۶	۱-۳- اهداف انجام تحقیق
۱۶	۱-۴- فرضیه‌های تحقیق
۱۷	۱-۵- ساختار تحقیق
۱۹	فصل دوم (کلیات و بررسی منابع)
۱۹	۲-۱- کلیات
۲۳	۲-۲- مروری بر منابع انجام شده
۱۵	۲-۳- مطالعات انجام شده در ایران
۲۴	۲-۴- مطالعات انجام شده در جهان
۳۲	فصل سوم (مواد و روش‌ها)
۳۳	۳-۱- دستگاه و وسایل
۳۳	۳-۲- مواد و اسانس‌های گیاهی
۳۳	۳-۳- محیط کشت‌های مورد استفاده
۳۳	۳-۴- تهیه اسانس‌ها
۳۳	۳-۵- تهیه میوه‌های مورد استفاده
۳۳	۳-۶- گونه‌های قارچی مورد استفاده

۳-۷-تهیه سوسپانسیون اسپوری قارچ‌ها	۳۴
۳-۸-تهیه قارچ‌کش‌های مورد استفاده	۳۴
۳-۹-بررسی اثرات اسانس‌ها و قارچ‌کش‌ها در محیط کشت	۳۴
۳-۱۰-بررسی اثرات اسانس‌ها و قارچ‌کش‌ها در بافت میوه	۳۴
۳-۱۱-تجزیه و تحلیل آماری	۴۹
فصل چهارم (نتایج و بحث)	۵۰
۴-نتایج	۵۱
۴-۱-اندازه‌گیری قطر کلنی قارچ‌های بیماری‌زای گیاهی بر اثر اسانس‌های گیاهی و قارچ‌کش‌ها در محیط کشت	۵۱
۴-۲-اندازه‌گیری میزان بازدارندگی از رشد قارچ‌های بیماری‌زای گیاهی بر اثر اسانس‌های گیاهی و قارچ‌کش‌ها در محیط کشت	۵۴
۴-۳-اندازه‌گیری میزان بازدارندگی از رشد قارچ‌های بیماری‌زای گیاهی بر اثر اسانس‌های گیاهی و قارچ‌کش‌ها در بافت میوه	۵۷
۴-۴-بحث	۶۲
۴-۵-نتیجه‌گیری	۶۹
۴-۶-پیشنهادات	۷۰
منابع	۷۱

فهرست شکل‌ها

صفحه	عنوان
۳۵	شکل ۳-۱- برداشتن اسانس توسط سمپلر
۳۵	شکل ۳-۲- انتقال غلظت‌های مورد نظر اسانس‌ها به روی کاغذ صافی
۳۶	شکل ۳-۳- انتقال پلاگ میسلیمی
۳۶	شکل ۳-۴- بررسی اثر اسانس بر قارچ بیماری‌زا در محیط کشت درون ظروف پتری‌دیش
۳۷	شکل ۳-۵- قرار دادن پتری‌دیش‌های مورد آزمایش درون انکوباتور در دمای ۲۵ درجه
۳۸	شکل ۳-۶- بررسی تاثیر اسانس آویشن بر قارچ <i>Alternaria solani</i>
۳۸	شکل ۳-۷- بررسی تاثیر اسانس مرزه خوزستانی بر قارچ <i>Alternaria solani</i>
۳۹	شکل ۳-۸- بررسی تاثیر اسانس نعنای فلفلی بر قارچ <i>Alternaria solani</i>
۳۹	شکل ۳-۹- بررسی تاثیر قارچ‌کش‌ها بر قارچ <i>Alternaria solani</i>
۴۰	شکل ۳-۱۰- بررسی تاثیر اسانس آویشن بر قارچ <i>Botrytis cinerea</i>
۴۰	شکل ۳-۱۱- بررسی تاثیر اسانس مرزه خوزستانی بر قارچ <i>Botrytis cinerea</i>
۴۱	شکل ۳-۱۲- بررسی تاثیر اسانس نعنای فلفلی بر قارچ <i>Botrytis cinerea</i>
۴۱	شکل ۳-۱۳- بررسی تاثیر قارچ‌کش‌ها بر قارچ <i>Botrytis cinerea</i>
۴۲	شکل ۳-۱۴- بررسی تاثیر اسانس آویشن بر قارچ <i>Fusarium solani</i>
۴۲	شکل ۳-۱۵- بررسی تاثیر اسانس مرزه خوزستانی بر قارچ <i>Fusarium solani</i>
۴۳	شکل ۳-۱۶- بررسی تاثیر اسانس نعنای فلفلی بر قارچ <i>Fusarium solani</i>
۴۳	شکل ۳-۱۷- بررسی تاثیر قارچ‌کش‌ها بر قارچ <i>Fusarium solani</i>
۴۵	شکل ۳-۱۸- ضد عفونی ظروف پلی اتیلن توسط الکل ۷۰ درجه

- شکل ۱۹-۳- انتقال سوسپانسیون اسپوری به بافت میوه‌ها ۴۵
- شکل ۲۰-۳- قرار دادن پتری‌دیش‌های حاوی اسانس در وسط میوه‌های موجود در ظروف ۴۶
- شکل ۲۱-۳- اسپری کردن قارچ‌کش روی میوه‌ها ۴۶
- شکل ۲۲-۳- تعیین میزان دما و طوبیت درون ظروف پلی اتیلن ۴۷
- شکل ۲۳-۳- چیدن ظروف حاوی میوه‌های مورد آزمایش در محیط دارای دما و رطوبت مناسب ۴۷
- شکل ۲۴-۳- مقایسه درصد بازدارندگی عامل بیماری در بافت میوه ۴۸
- شکل ۲۵-۳- یادداشت برداری درصد آلودگی میوه‌ها ۴۸
- شکل ۱-۴- مقایسه میانگین قطر کلنی سه گونه قارچ بیماری‌زا در محیط کشت ۵۲
- شکل ۲-۴- مقایسه میانگین قطر کلنی سطوح مختلف اسانس‌ها و قارچ‌کش‌ها در محیط کشت .. ۵۳
- شکل ۳-۴- مقایسه میانگین درصد بازدارندگی سه گونه قارچ بیماری‌زا در محیط کشت ۵۵
- شکل ۴-۴- مقایسه میانگین درصد بازدارندگی سطوح مختلف اسانس و قارچ‌کش در محیط کشت ... ۵۶
- شکل ۵-۴- مقایسه میانگین درصد بازدارندگی سه گونه قارچ در بافت میوه ۵۹
- شکل ۶-۴- مقایسه میانگین درصد بازدارندگی سطوح مختلف اسانس و قارچ‌کش در بافت میوه ۶۰

فهرست جدول‌ها

عنوان	صفحه
جدول ۱-۴- تجزیه واریانس و سطح معنی‌داری فاکتورهای گونه قارچ، اسانس گیاهی و اثرات متقابل آن‌ها بر قطر کلنی	۵۱
جدول ۲-۴- مقایسه میانگین قطر کلنی اثر متقابل اسانس‌ها و قارچ‌کش‌ها بر قارچ‌های بیماری‌زا در محیط کشت	۵۴
جدول ۳-۴- تجزیه واریانس و سطح معنی‌داری فاکتورهای گونه قارچ، اسانس گیاهی و اثرات متقابل آن‌ها بر درصد بازدارندگی در محیط کشت	۵۵
جدول ۴-۴- مقایسه میانگین درصد بازدارندگی اثر متقابل اسانس‌ها و قارچ‌کش‌ها بر قارچ‌های بیماری‌زا در محیط کشت	۵۷
جدول ۵-۴- تجزیه واریانس و سطح معنی‌داری فاکتورهای گونه قارچ، اسانس گیاهی و اثرات متقابل آن‌ها بر درصد بازدارندگی در بافت میوه	۵۸
جدول ۶-۴- مقایسه میانگین درصد بازدارندگی اثر متقابل اسانس‌ها و قارچ‌کش‌ها بر قارچ‌های بیماری‌زا در بافت میوه	۶۱

فصل اول

مقدمہ

با روند فعلی رشد جمعیت، در سال ۲۰۲۵ جمعیت جهان به ۸/۵ میلیارد نفر خواهد رسید. تأمین امنیت غذایی برای این جمعیت عظیم مستلزم توسعه بیشتر در بخش کشاورزی خواهد بود. در این راستا استفاده از ارقام زراعی پر محصول می‌تواند تا حدی راه‌گشا باشد، اما عوامل محدود کننده را نباید از نظر دور داشت (Jafari et al, 2003). یکی از مهم‌ترین عوامل محدود کننده تولید محصولات کشاورزی، بیماری‌های گیاهی هستند. هر ساله بخش قابل توجهی از تولیدات گیاهی در اثر بیماری‌های گیاهی از بین می‌روند و این در حالی است که بیش از ۸۰۰ میلیون نفر در جهان از غذای کافی برخوردار نیستند (Strange et al. 2005).

متأسفانه اغلب رویکردهایی که طی یکی دو قرن اخیر در کشاورزی اتخاذ شده است، با تولید پایدار مغایرت دارد. استفاده مکرر و بی‌رویه از ترکیبات شیمیایی، علاوه بر آلودگی محیط زیست، موجب بروز پدیده مقاومت در برابر آفت‌کش‌ها شده و در نتیجه پتانسیل خسارت آفرینی عوامل بیماری‌زا را به شدت افزایش می‌دهد (Narayanasamy. 2002). ترکیبات شیمیایی که به صورت مصنوعی تولید می‌شوند، علاوه بر آلودگی‌های زیست محیطی، سلامت بشر را نیز تهدید می‌کنند (Afzal et al. 1997). استفاده از ترکیبات طبیعی در کنترل آفات و بیماری‌های گیاهی، یکی از راهکارهای کاهش مخاطرات زیست محیطی است. در این راستا، پژوهشگران زیادی در سال‌های اخیر به مطالعه اثرات ضد باکتریایی، ضدقارچی و حشره‌کشی اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی پرداخته‌اند (Alam et al. 2007).

مطالعه در زمینه وظایف این ترکیبات در گیاهان، یک موضوع جذاب و مهم برای بسیاری از پروژه‌های تحقیقاتی شده است و نقش‌های اکولوژیکی تعدادی از این ترکیبات مورد بررسی و تحقیق قرار گرفته است. با مطالعاتی که تاکنون صورت گرفته است، به نظر می‌رسد که متابولیت‌های ثانویه، به عنوان موادی طبیعی، نقش‌های اکولوژیکی مهمی در واکنش‌های دفاعی گیاهان دارند. بسیاری از متابولیت‌ها در دفاع گیاه در مقابل آفات و امراض مؤثر می‌باشند (Cowan 1999).

شناخت و بررسی این متابولیت‌ها می‌تواند اثر بزرگی در کنترل آفات و بیماری‌های گیاهی ایجاد نماید (Azlan 2003).

بررسی اثرات ضد میکروبی ترکیبات گیاهی، عصاره‌ها و اسانس‌ها طی سال‌های اخیر در سطح وسیع توسط دانشمندان مختلف آغاز گردیده است (امید بیگی. ۱۳۸۴).

امروزه اثرات ضد میکروبی و ضد قارچی ترکیبات گیاهان بی‌شماری روی تعداد زیادی از عوامل بیماری‌زای گیاهی و جانوری به اثبات رسیده است (بیگی و عزیزاده. ۱۳۸۴). طی تحقیقات مختلف دریافتند که حدود ۶۰ درصد این مواد قابلیت بازدارندگی از رشد قارچ‌ها را داشته و ۳۰ درصد آنها روی باکتری‌ها موثراند (Marjorie. 1999). عصاره‌ها حاصل قسمت‌های قابل حل گیاه در حلال هستند و به طور عمده متشکل از مواد فنله و اکسیژن‌دار هستند. عصاره‌های آبی از طریق جوشاندن اندام‌های گیاهی به دست می‌آیند (فقیر. ۱۳۸۴). اسانس‌ها و روغن‌های فرار موادی هستند که در اندام‌های مختلف گیاهی از جمله پوست، برگ، میوه و غیره یافت می‌شوند که در غدد ترشحی، کرک‌ها یا مجاری ترشحی ساخت و ذخیره می‌گردند. این مواد معطر و دارای رایحه قوی و فرار می‌باشند که عموماً در آب حل نمی‌شوند و وزن مخصوص کمتر از آب دارند. روش استخراج این ترکیبات معمولاً به شکل تقطیر با بخار آب می‌باشد (امید بیگی. ۱۳۸۴). عمل متوقف سازی رشد با این مواد، به دلیل واکنش گروه‌های آلدئیدی با گروه سولفیدریل موثر در رشد قارچ‌ها صورت می‌گیرد. البته میزان توقف رشد قارچ‌ها توسط این مواد بسیار متغیر بوده و به سن و نوع قارچ نیز بستگی دارد، به طوری که کشت‌های مسن‌تر نسبت به کشت‌های جوان و در حال اسپوردهی حساس‌تر می‌باشند (Marjorie. 1999).

قارچ‌ها در طی رشد خود بر روی مواد غذایی مختلف علاوه بر کاهش کمیت غذاها به دلیل حذف قسمت‌های آلوده شده به قارچ و نیز کاهش ارزش غذایی آنها به دلیل اثر روی مواد مغذی متشکله غذاها، متابولیت‌های ثانویه ای به نام مایکوتوکسین‌ها یا سموم قارچی از خود بر جای می‌گذارند که در صورت دریافت این سموم توسط موجودات زنده اثرات مخرب و شدیدی نظیر سرطان‌زایی، ناقص الخلقه‌زایی، کاهش رشد، مهار سیستم ایمنی و جهش‌زایی را در موجودات زنده ایجاد می‌نمایند، مایکوتوکسین‌ها دسته‌ای از متابولیت‌های سمی نسبتاً مقاوم هستند که توسط قارچ‌های مولد و در مسیرهای متابولیسم ثانویه سلول قارچی، تولید شده و باعث آلودگی مواد غذایی و احیاناً محیط اطراف می‌شوند (Haidary, 2006; Tajic Ahmadi, 2006; Kazemi *et al.*, 2004; Jafari *et al.*, 2006).

گرایش روزافزون افراد جامعه به مواد طبیعی گیاهی بدون علت نیست. امروزه خطرات استفاده از داروهای شیمیایی و نگهدارنده‌های صنایع غذایی، بیش از پیش آشکار شده است (مینوئیان

حقیقی، ۱۳۸۹). در سال‌های اخیر به دلیل بروز برخی مشکلات و تهدیدهای ناشی از مصرف سموم شیمیایی در سیستم‌های کشاورزی، گرایش زیادی به استفاده از پتانسیل بالقوه مواد بیولوژیکی در کنترل آفات، بیماری‌ها و علف‌های هرز ایجاد شده است (Regnault – Roger and Hamraoui, 1994). همچنین توجه به بیماری‌های مهم قارچی و کپک‌های عامل فساد مواد غذایی انسان، دام و محصولات کشاورزی از سوی دیگر ظرفیت عظیم روغن‌های گیاهی (اسانس‌ها)، در مقابله با طیف وسیعی از موجودات مانند باکتری‌ها، قارچ‌ها، ویروس‌ها، تک‌یاخته‌ها و حشرات، بستر مناسبی را برای تحقیق فراهم نموده است. به همین دلیل، کوشش‌های فراوانی در راستای حذف یا غیر فعال سازی (سم زدایی) این ترکیبات در زنجیره غذایی انسان و حیوان، به عمل آمده است (مینوئیان حقیقی، ۱۳۸۹).

در سال‌های اخیر بررسی‌های آزمایشگاهی فراوانی در زمینه تاثیر فراورده‌های گیاهی روی قارچ‌ها و باکتری‌های بیماری‌زای گیاهی انجام گرفته است و اثرات بعضی از ترکیبات و اسانس‌ها به اثبات رسیده است. از جمله این دست آوردها می‌توان به اثرات عصاره فلفل تند (*Capsicum annuum*) در کنترل جمعیت قارچ عامل بیماری پژمردگی آوندی (*Fusarium oxysporum*) (Bowers et al 2000) و قارچ *Botrytis cinerea* اشاره نمود (Wilson et al. 1997). کاهش رشد قارچ عامل شیت بلایت برنج *Rhizoctonia solani* و باکتری عامل بلایت باکتریایی برنج *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* با پاشیدن عصاره گیاه داتوره *Dature metel* روی برنج و نیز اثرات ضد میکروبی عصاره این گیاه روی قارچ‌های *Aspergillus fumigatus* *A. flavus* و *A. niger* توسط دابور و همکاران (۲۰۰۴) مورد تأیید قرار گرفته است. همچنین کنترل رشد قارچ‌های *Botrytis cinerea* *Aspergillus fumigatus* *A. flavus* و *A. niger* توسط عصاره سیر (*Allium sp.*) به اثبات رسیده است (Kagal et al. 2004).

در ایران به دلیل شرایط متنوع آب و هوایی، احتمال حضور طیف وسیعی از قارچ‌های مولد مایکوتوکسین به همراه سموم مربوطه در محیط وجود دارد، تنوع محصولات کشاورزی در ایران نیز به گسترش انواع بیشتری از قارچ‌های مولد مایکوتوکسین و رشد آن‌ها بر روی مواد غذایی در سطح کشور کمک می‌کند، برای مثال علاوه بر چای و اجزای آن محصولات نظیر، ذرت، برنج و بادام زمینی که در شرایط نسبتاً متفاوتی رشد می‌کنند؛ بستر مناسبی برای رشد قارچ‌هایی نظیر آسپرژیلوس و فوزاریوم هستند، مطالعه توصیفی یا تحقیقی بر روی مایکوتوکسین‌ها و قارچ‌های مولد آن‌ها در ایران می‌تواند از ابعاد مختلفی نظیر بهداشت مواد غذایی انسانی و حیوانی، جنبه‌های اقتصادی مربوط به صنایع کشاورزی و دامپروری و بیماری‌های ناشی از مایکوتوکسین‌ها مایکوتوکسیکوز در انسان و

حیوانات حائز اهمیت باشد، زیرا این قارچ‌ها با آلوده کردن محصولات کشاورزی به طور مستقیم، باعث کاهش کیفیت و کمیت دانه‌های خوراکی شده یا به طور غیرمستقیم، ارزش فرآورده‌های گوشتی و لبنی را کاهش می‌دهند (Haidary, 2006; Tajic Ahmadi, 2006; Kazemi *et al.*, 2004).

کاربرد بیش از حد آنتی بیوتیک‌ها و بازدارنده‌های شیمیایی به منظور جلوگیری از رشد قارچ‌ها، پاتوژن‌های گیاهی و عوامل بیماری‌زای میکروبی فشار انتخاب طبیعی عظیمی را به آن‌ها تحمیل کرده است به گونه‌ای که انواع موجود در دنیای فعلی واجد چنان مکانیسم‌های دفاعی کارآمدی شده‌اند که بشر از مهار آن‌ها عاجز مانده است. مقاومت عوامل بیماری‌زای مذکور در برابر عوامل بازدارنده مصنوعی چنان گسترش یافته است که به وضعیت حاد هشدار رسیده و سازمان‌هایی نظیر سازمان بهداشت جهانی را به تکاپو برای یافتن راهی برای برون رفت از این وضعیت واداشته است به نحوی که سازمان بهداشت جهانی از طریق رسانه‌های فراگیر بین المللی مراکز تحقیقاتی را به سرعت بخشیدن به پژوهش‌ها به منظور یافتن راه‌های مهار این عوامل بیماری‌زای گیاهی و جانوری فراخوانده است. در این میان به نظر می‌رسد که اتکا به طبیعت و استفاده از قدرت مهارکنندگی یک جزء از آن برای مهار جزئی دیگر یکی از گزینه‌های پیش رو باشد که به بشر در این راه کمک می‌کند. گیاهان دارویی با داشتن انواعی از متابولیت‌های ثانوی با کارکردهای مهارکنندگی علیه علفخواران، حشرات آفت، قارچ‌های بیماری‌زا و عوامل میکروبی بخشی از طبیعت هستند که در تعامل با دشمنان طبیعی خود از جمله قارچ‌ها یک تکامل همگام با قارچ‌ها را در تغییر و تجدید مکانیسم‌های دفاعی خود نشان می‌دهند این توانایی گیاهان متکی بر سنتز انواعی از ترکیبات شیمیایی و بیوشیمیایی بازدارنده است و آنها را قادر به ماندگاری در طبیعت و مقاومت در برابر این عوامل بیماری‌زا کرده است. تنوع این گونه‌های گیاهی ارزشمند در ایران به دلیل تنوع اقلیمی این انگیزه را به وجود آورده است که در این پژوهش تأثیر مهارکنندگی اسانس سه گونه گیاه دارویی شامل آویشن (*Thymus vulgaris*)، نعناع فلفلی (*Mentha piperita*) و مرزه خوزستانی (*Satureja khuzistanica*) بر رشد میسلیمی سه گونه قارچ بیماری‌زای گیاهی در مقایسه با دو قارچ‌کش مانکوزب و کاربندازیم مورد بررسی قرار گیرد. این سه گونه گیاه از خانواده نعناعیان می‌باشد که در طب سنتی ایران و منطقه خاورمیانه کاربرد زیادی دارند. قارچ‌های بیماری‌زای مورد نظر نیز سهم زیادی در خسارت به انبارهای میوه و سبزیجات در سطح ایران و جهان دارند و انواع بیماری‌زای بین المللی هستند که سالیانه بخش وسیعی از محصولات کشاورزی را آلوده می‌سازند. این قارچ‌ها شامل: *Fusarium solani* و *Botrytis cinerea* *Alternaria solani* می‌باشد.

۲-۱- ضرورت انجام تحقیق

دانشمندان در تلاش برای یافتن روش‌های جدید افزایش تولید مواد غذایی برای جمعیت فزاینده حال رشد بشر می‌باشند. خسارت زیاد قارچ‌های بیماری‌زا گیاهی به محصولات غذایی علیرغم تلاش برای مدیریت این عوامل زیان آور هنوز هم انکارناپذیر است. امروزه کاربرد ترکیب‌های شیمیایی به عنوان ارزان‌ترین و متداول‌ترین روش کنترل بیماری‌های گیاهی مورد توجه است ولی علیرغم تاثیرات قابل توجه مواد شیمیایی ضدقارچ، این مواد معمولاً در طبیعت به کندی تجزیه می‌شوند و به همین دلیل باعث ایجاد مسمومیت برای انسان، جانوران اهلی و سایر موجودات زنده می‌شوند (Alvarez-*et al.*, 2001; Karaman *et al.*, 2001). عوامل بیماری‌زای گیاهی در مقابل مواد شیمیایی آفت‌کش مقاومت نشان می‌دهند و هر روز شاهد افزایش تعداد عوامل بیماری‌زای مقاوم به آن‌ها هستیم. بنابراین نیاز به پژوهش در راستای کشف مواد جدید ضد قارچی که تجدید شونده، سازگار با محیط زیست و به آسانی قابل تهیه باشد ضروری می‌نماید (Ramezani *et al.*, 2002; Agrios, 2005). گیاهان معمولاً طی فرآیند تکاملی توانایی دفاع از خود را با تولید انواع متابولیت‌های ثانوی شامل آلکالوئیدها، ترپنوئیدها، استروئیدها و دیگر ترکیبات آروماتیک که احتمالاً برای دشمنان آن‌ها نامطلوب و یا حتی سمی اند را به دست آورده‌اند (بقالیان و نقدی بادی، ۱۳۷۹؛ زرگری، ۱۳۷۱؛ Bourgaud *et al.*, 2001; Hossain *et al.*, 2001; Liu *et al.*, 2001; Panda and Kush, 1995). پژوهش‌ها نشان می‌دهد که برخی از این ترکیبات می‌توانند برای کنترل عوامل بیماری‌زای گیاهی و یا حداقل به عنوان مدلی برای ساخت ترکیبات آفت‌کش جدید مورد استفاده قرار گیرند (رضایی و حسن‌زاده، ۱۳۸۶؛ وند یوسفی و همکاران، ۱۳۷۴؛ Hernandez *et al.*, 1999; Lentz *et al.*, 1998; Rasooli and Mirmostafa, 2002). در سال‌های اخیر شرکت‌های تجاری از نتایج یافته‌های پژوهشی در مورد خواص آفت‌کشی اسانس‌های گیاهی استفاده نموده و ترکیبات آفت‌کشی را به بازار عرضه نموده‌اند. شرکت مایکاتچ^۱ فرآورده‌ای را تحت نام CinnamiteTM را به عنوان یک قارچ‌کش برای استفاده در گلخانه‌ها و فرآورده ValeroTM را به عنوان یک ترکیب کنه-کش و قارچ‌کش برای استفاده در گیاهانی مانند انگور و مرکبات و میوه‌های خشک عرضه نموده است (Liu *et al.*, 2001).

۳-۱- اهداف انجام تحقیق

۱. بررسی اثر اسانس‌های آویشن، نعنای فلفلی و مرزه خوزستانی بر روی بازدارندگی رشد قارچ‌های *Fusarium solani* و *Botrytis cinerea* و *Alternaria solani* در محیط کشت PDA
۲. بررسی اثر اسانس‌های فوق بر روی قارچ‌های مذکور، در بافت میوه‌های کیوی، گوجه فرنگی و سیب زمینی.
۳. مقایسه اثر اسانس‌های گیاهی با مواد شیمیایی (قارچ کش) در کنترل قارچ‌های ذکر شده.
۴. بررسی اثرات ضد میکروبی اسانس‌های گیاهی و امکان جایگزینی مواد شیمیایی با آن‌ها.

۴-۱- فرضیه‌های تحقیق

۱. اسانس‌های آویشن، نعنای فلفلی و مرزه خوزستانی قابلیت بازدارندگی از رشد قارچ‌های *Fusarium solani* و *Botrytis cinerea* و *Alternaria solani* را در محیط کشت PDA ندارد.
۲. اسانس گیاهان مذکور بر روی قارچ‌های فوق، در بافت میوه اثر بازدارندگی ندارد.
۳. اثرات بازدارندگی اسانس‌ها بر روی قارچ‌ها یکسان نیست.
۴. امکان جایگزینی مواد شیمیایی قارچ‌کش با اسانس‌های گیاهی وجود ندارد.

۵-۱- ساختار تحقیق

در این تحقیق به بررسی اثر مهارکنندگی اسانس سه گونه گیاه دارویی بر رشد میسلیمی سه گونه قارچ بیماری‌زای گیاهی در مقایسه با دو قارچ‌کش بر روی محیط کشت و بافت میوه پرداخته می‌شود. برای دستیابی به اهداف مورد بررسی، گزارش این تحقیق در پنج فصل به شرح زیر تدوین می‌شود. در فصل اول تحت عنوان "مقدمه" به طور تشریحی به بررسی تأثیر مهارکنندگی اسانس گیاهان دارویی بر قارچ‌های بیماری‌زا پرداخته شده و نگاهی اجمالی بر دلایل انتخاب، ضرورت آن و اهداف مورد نظر می‌شود. در فصل دوم تحت عنوان "کلیات و بررسی منابع" مبانی نظری و مروری بر مطالعات انجام شده ارائه می‌شود. و در فصل سوم تحت عنوان "مواد و روش‌ها" مواد و روش‌های مورد استفاده در انجام تحقیق، معرفی و مراحل آزمایشگاهی و جزئیات بیشتر انجام تحقیق تشریح می‌شوند. در فصل چهارم تحت عنوان "نتایج و بحث" نتایج تحقیق و بحث در مورد چرایی حصول این نتایج و مقایسه نتایج به دست آمده با یافته‌های سایر محققین ارائه می‌شود.

فصل دوم

کلیات و بررسی منابع

۱-۲- کلیات

گیاهان انتخاب شده برای انجام این تحقیق از خانواده نعناعیان بوده که در ذیل به شرح آن پرداخته شده است:

تیره نعناعیان *Lamiaceae*

خانواده *Lamiaceae* خانواده‌ایی دارای بیش از ۲۵۲ جنس و ۷۰۰۰ گونه است. (Hedge, 1992) بخش‌های مختلف پیکره گیاهان خانواده *Lamiaceae* معمولاً معطر می‌باشند. این خانواده شامل تعداد زیادی از گیاهان معروف داروئی شامل مریم گلی، آویشن، رزماری، پونه کوهی، ریحان، اسطوخودوس، مرزنجوش، مرزه است (Hussain et al., 2008) این تیره یکی از بزرگترین تیره‌های گیاهی است که پراکنش جهانی دارد. گیاهان این تیره به صورت بوته ای معطر یا درختچه‌های کوتاه می‌باشند. اغلب گیاهان تیره نعناعیان تولید کننده ترپن‌ها و دیگر ترکیبات فرار هستند که این ترکیبات عمدتاً در غدد اپیدمی برگ، ساقه و اندام زایشی ذخیره می‌شود. گل آذین گیاهان این تیره به گونه‌ای سازگار شده است که گرده افشانی بوسیله حشرات گرده افشان را تسهیل می‌نماید (بقالیان و نقدی بادی، ۱۳۷۹). اعضای این خانواده اکثراً پوشیده از کرک‌ها و غدد ترش‌حی بوده که حاوی مواد معطر با گل آذین گریزی یا به صورت سنبله‌های چرخه‌ای است. گل‌ها نامنظم معمولاً پنج پر، کاسه دارای دو لب و غالباً پایا، جام گل لوله ای پیوسته است. لب بالایی دارای ۲ گلبرگ و لب پایینی دارای سه گلبرگ است. گاهی یک از لب‌ها دارای یک و دیگری چهار گلبرگ است یا یکی از لب‌ها از بین رفته و دیگری دارای پنج گلبرگ است.

جنس نعناع

از جمله جنس‌های معروف گیاهان تیره نعناعیان جنس *Mentha* است، اندام‌های هوایی گونه‌های نعناع مخصوصاً برگ و سرشاخه گلدار آن معطر بوده و برگ‌های تازه این گیاهان حدود ۲/۵ درصد اسانس دارند (بقالیان و نقدی بادی، ۱۳۷۹). جنس *Mentha* شامل بیش از ۲۵-۳۰ گونه می‌باشد که رویشگاه آنها در مناطق خشک و مرطوب جهان می‌باشد (Gulluce et al., 2007). بشر از زمان باستان از اسانس گونه‌های *Mentha* استفاده کرده است. بخش‌های هوایی گونه‌های *Mentha* به

عنوان چاشنی در غذا و چای استفاده می شوند. علاوه بر این اسانس گونه‌های *Mentha* به عنوان رایحه غذا استفاده می شود (بقالیان و نقدی بادی، ۱۳۷۹).

جنس آویشن

یکی دیگر از جنس‌های گیاهی شناخته شده تیره نعنائیان جنس آویشن یا *Thymus* است که نام آن از واژه یونانی *Thuo* به معنی عطر گرفته شده است، گونه‌های آویشن از گونه‌های دارویی بسیار مهمی هستند که فراوان مورد استفاده قرار می‌گیرند. مهمترین ترکیبات موجود در این گیاهان کارواکرول و تیمول هستند که اثرات دارویی گونه‌های آویشن معمولاً در ارتباط با این ترکیبات شیمیایی است (بقالیان و نقدی بادی، ۱۳۷۹). جنس *Thymus* شامل ۳۵۰ گونه پایا، گیاهانی معطر با شاخه‌هایی کوتاه که در بیشتر نقاط دنیا پیدا می‌شود (Maksimovic et al., 2008). گونه‌های *Thymus* گیاهانی دارویی هستند. که در داروشناسی از آن‌ها استفاده‌های زیادی می‌شود. بخش گل و برگ گونه‌های *Thymus* به عنوان چای، نیرو بخش، ضدنفخ، ضدسرفه، ضدعفونی و برای سرما خوردگی مفید است (Maksimovic et al., 2008).

جنس مرزه

جنس مرزه یکی از جنس‌های خانواده نعناع (Lamiaceae) متعلق به زیر خانواده Nepetoideae و قبیله Menthae می‌باشد (جم زاده، ۱۳۸۸). گونه‌های این جنس بیشتر در دامنه‌های کوهستانی مناطق شمال، شمال غربی، مرکزی و جنوب غربی ایران پراکندگی داشته و روی صخره‌های آهکی و دامنه‌های سنگلاخی می‌رویند (شهنازی و همکاران، ۱۳۸۸). در این جنس کرک‌ها تمام سطح ساقه و شاخه‌ها را به طور یکنواخت می‌پوشاند. کرک‌ها ساده و به طور گسترده و یا خوابیده هستند و یا ممکن است زگیل مانند و غده دار باشند. دانه گرده در این جنس دارای شش شیار و جور قطب است. تزئینات سطح گرده معمولاً از نوع شبکه‌ای است. مادگی از تخمدان چهارخانه تشکیل شده و میوه فندقه ای کوچک به طول حدود ۱ تا ۲ میلی متر، تخم مرغی، مستطیلی می‌باشد. اعداد کروموزومی ۲n= ۲۰، ۲۴، ۳۰، ۴۵ برای گونه‌های مختلف این جنس گزارش شده است (جم‌زاده، ۱۳۸۸).

مرزه خوزستانی (*Satureja khuzistanica*) یکی از گونه‌های اندمیک حوزه جنوب ایران (عصری، ۱۳۸۸)، گیاهی چند ساله خشبی، با شاخه‌های متعدد. ساقه‌ها با ارتفاع حدود ۳۰ سانتی متر، با کرک‌های کوتاه، برگ‌های متعدد و میان‌گره‌های کوتاه، به طول ۲-۳ میلیمتر است. گیاه مذکور در استان