

تأثیر کنترل کنندگی عصاره چند گونه گیاه مرتعی بر بیماری پوسیدگی خیار گلخانه‌ای (مطالعه موردی):

اشکذر - یزد)

سیدعباس ذبحی^۱، علیرضا خوانینزاده^{۲*}، جلال غلام‌نژاد^۳ و محمدحسین حکیمی^۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۰/۱۲ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۸/۰۸/۰۶

چکیده

استفاده از عصاره‌های گیاهی به دلیل داشتن خواص دارویی، ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی و عدم آلودگی‌های زیست‌محیطی و عوارض ناشی از سموم شیمیایی در کنترل عوامل میکروبی رو به پیشرفت است. در این پژوهش تأثیر ضد قارچی عصاره‌های آبی و اتانولی چهار گونه گیاه مرتعی به منظور کنترل بیماری مهلک پوسیدگی فیتوفتورایی خیار گلخانه‌ای، با عامل *Phytophthora drechleri* بررسی شد. ابتدا عصاره آبی و اتانولی اندام هوایی گیاهان آویشن شیرازی، درمنه کوهی برداشت شده در بهار و پائیز و ریشه شیرین‌بیان، با حلال‌های آبی و اتانولی استخراج شد. تأثیر عصاره‌ها بر روی شبه قارچ *P. drechleri* به دو روش دیسک‌گذاری کاغذی و اختلاط با محیط کشت مورد بررسی قرار گرفت. عصاره آبی درمنه پائیزه و شیرین‌بیان در روش اختلاط با محیط کشت (۳۰۰۰ پی‌پی‌ام) ۱۰۰ درصد کنترل کنندگی نشان دادند. کمترین کنترل کنندگی (۶/۲۵ درصد) مربوط به عصاره آبی گونه گیاهی آویشن و در به کارگیری غلظت ۵۰۰ پی‌پی‌ام در روش اختلاط با محیط کشت مشاهده شد. بیشترین کنترل کنندگی بیماری (کمتر از ۷۳ درصد) در حلال الکی بروش اختلاط با محیط کشت مربوط به عصاره درمنه بهاره و پاییزه بود. بیشترین کنترل کنندگی بیماری عمدتاً در عصاره‌های آبی مشاهده و برتری حلال آبی نسبت به حلال اتانولی مشخص شد. نتایج بیانگر مناسب بودن عصاره گونه شیرین‌بیان و درمنه برداشت شده در پاییز با حلال آبی جهت کنترل بیماری می باشند. به‌طور کلی با توجه به نتایج، گیاهان بررسی شده در این تحقیق دارای قابلیت کنترل شبه قارچ *P. drechleri* بوده و عصاره‌های با حلال آبی به‌دلیل هزینه پائین تر، سازگاری با محیط‌زیست و اثرات ضد قارچی معنی دار به عنوان حلال مناسب جهت عصاره‌گیری گونه‌های مطالعه شده توصیه می‌شود.

واژه‌های کلیدی: گیاهان مرتعی، قارچ ایستایی، اختلاط با محیط کشت، عصاره، *Phytophthora drechleri*، یزد.

^۱ - دانش‌آموخته کارشناسی ارشد مرتعداری، گروه مهندسی طبیعت، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه اردکان، ایران.

^۲ - استادیار گروه مهندسی طبیعت، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه اردکان، اردکان، ایران.

* نویسنده مسئول: Akhavaninzadeh@ardakan.ac.ir

^۳ - استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه اردکان، ایران.

^۴ - استادیار گروه مدیریت مناطق خشک و بیابانی، دانشکده منابع طبیعی و کویر شناسی، دانشگاه یزد، ایران.

مقدمه

پیامد های ناگوار ناشی از استفاده سموم کشاورزی و آلاینده های زیست‌محیطی که جهان کنونی با آن روبروست ناشی از برخورد غیر معقول انسان با محیط زیست و استفاده از منافع پایه و عواید کوتاه مدت است. از سوی دیگر رشد فزاینده جمعیت مستلزم غذای بیشتر و در نهایت استفاده از نهاده‌های شیمیایی جهت تولید بیشتر اجتناب‌ناپذیر است (۴۵،۴۴). استفاده بی‌رویه از ترکیبات شیمیایی، موجب بروز پدیده مقاومت در برابر آفت‌کش‌ها شده است (۳۸). مسمومیت های ناشی از مصرف آفت‌کش‌های شیمیایی در موجودات زنده و اثرات منفی باقیمانده سموم مشکلات زیادی برای انسان و محیط زیست فراهم آورده است (۴ و ۲۲).

کمتر از یک درصد از سمومی که علیه آفات و بیماری‌ها به کار می‌روند مستقیماً بر آفات اثر می‌گذارد و ۹۹ درصد از این سموم وارد محیط زیست (خاک، آب، هوا و گیاهان) می‌شوند (۳۱، ۴۲ و ۴۴). در پی گسترش روز افزون کشت محصولات گلخانه‌ای، شرایط برای حمله تعداد زیادی از عوامل بیماریزا فراهم و رو به گسترش است.

علت بالا بودن خسارت آفات و بیماری‌های قارچی در محیط های گلخانه‌ای به دلیل، تراکم و متوالی بودن کاشت و وجود محیط مناسب برای رشد این آفات و بیماریها می‌باشد، در نتیجه کاربرد ترکیبات شیمیایی به عنوان ارزان‌ترین و متداول‌ترین و در دسترس‌ترین روش کنترل بیماری‌های گیاهی مورد توجه است، ولی این مواد معمولاً در طبیعت به کندی تجزیه می‌شوند (۴۷).

در سال‌های اخیر گرایش زیادی به استفاده از پتانسیل بالقوه مواد بیولوژیکی در کنترل حشرات، بیماری‌ها و علف‌های هرز ایجاد شده است (۱۸ و ۱۵). روش‌های مختلفی مانند کنترل بیولوژیک به منظور کنترل بیماری‌های گیاهی و رفع مشکلات ناشی از مصرف ترکیبات شیمیایی توصیه شده‌اند (۴۷). در این میان استفاده از ترکیبات طبیعی گیاهان برای رسیدن به منظور فوق مورد توجه پژوهشگران زیادی قرار گرفته است (۷ و ۳۹).

یکی از این بیماری‌های مخرب که هر ساله خسارت چشمگیری به محصولات سبزی و صیفی‌جات در مزارع و گلخانه‌ها وارد می‌کند بیماری مرگ گیاهچه و بوته‌میری

ناشی از شبه قارچ *Phytophthora derchsleri* می‌باشد (۱۷). مدیریت این بیماری مبتنی بر اعمال روش‌های زراعی و شیمیایی است. استفاده از روش‌های شیمیایی سبب ایجاد پدیده مقاومت در برابر بیمارگرها و آلودگی‌های زیست محیطی و عوارض انسانی می‌شود (۸، ۱۳، ۱۸، ۲۶ و ۴۸). استفاده از اسانس و عصاره گیاهان مرتعی، دارویی و متابولیت‌های ثانویه آن‌ها می‌تواند نقش مؤثری در کنترل آفات و بیماری‌های گیاهی داشته باشد (۱۴ و ۵۱). تا کنون به منظور کنترل بیولوژیک *Phytophthora drechleri* از روش‌های مختلفی استفاده شده است. از میان این روش‌ها می‌توان به استفاده از عصاره‌های گیاهی مختلف اشاره نمود. Abdolmaleki و همکاران (۲۰۰۸) در پژوهشی غلظت بازدارندگی عصاره گیاه دارچین بر قارچ بیماری‌زای گیاهی مانند *Fusarium oxysporum Rhizoctonia solani* استفاده از دوروش دیسک کاغذی و اختلاط با محیط کشت را بررسی و اثر قارچ ایستایی قابل توجه این گیاه بر رشد قارچ‌های مورد بررسی را گزارش نمودند (۳). زمانی (۱۳۹۲) در پژوهشی خاصیت حشره‌کشی عصاره اتانولی صمغ انغوزه را بر لارو مگس سفید افاقیا تأیید نمود (۵۱). فروغی و همکاران (۱۳۹۱) تأثیر عصاره‌های گیاهی آویشن دناپی، مرزه بختیاری، آویشن شیرازی، بومادرانو کاکوتی بروی قارچ بیماری‌زای ریزوکتونیا سولانی (*Rhizoctonia solani*) را مطالعه و اثرات مفید آنها را در کنترل بیماری گزارش نمودند (۲۰). با توجه به بررسی‌های به عمل ارزیابی عملکرد گونه‌های مرتعی حاصل از رویشگاه‌های استان یزد به منظور کنترل بیولوژیک در سطح گلخانه تاکنون گزارشی نشده است.

این مطالعه با هدف ارزیابی اثرات ضد قارچی چهار عصاره گیاهی عمدتاً مرتعی شامل آویشن شیرازی، درمنه پائیزه، درمنه بهاره، ریشه شیرین‌بیان بر شبه قارچ *Phytophthora drechleri* در محیط آزمایشگاه و به دو روش دیسک‌گذاری و اختلاط با محیط کشت انجام گرفت.

مواد و روش ها

جمع آوری نمونه‌های گیاهی

جهت تهیه نمونه‌های گیاهی در اواخر خرداد ماه سال ۱۳۹۴ برگ و ساقه آویشن شیرازی، ریشه شیرین بیان (اواخر آبان ماه) از ارتفاعات خضرا باد اشکذر، درمنه کوهی بهاره و پائیزه (اواخر آبان ماه) از ارتفاعات سانچ تفت در یزد، جمع آوری گردید. با توجه به بررسی‌های به عمل آمده و مشخص شدن تاثیر بازدارندگی نسبی گیاهان مذکور در کنترل آفات و بیماری‌ها این گیاهان انتخاب شدند. بعد از شستشوی سطحی گیاهان با آب، با هیپوکلریت سدیم پنج درصد به مدت پنج دقیقه ضد عفونی و سپس با آب مقطر سترون سه مرتبه شسته شد (۷) و در سایه دور از تابش نور مستقیم آفتاب خشک شدند. اندام‌های گیاهی به تفکیک به وسیله آسیاب پودر و از الک یک مش عبور داده شدند (۱) و بعد از این مرحله از پودر خشک شده گیاهان جهت تهیه عصاره‌های آبی و اتانولی استفاده شد.

عصاره آبی

مقدار ۱۰ گرم از پودر تهیه شده داخل ارلن ریخته شد. مقدار ۱۰۰ سی سی آب مقطر به آن اضافه گردید (نسبت ۱:۱۰). پس از هم زدن به مدت چند دقیقه، دهانه ارلن‌ها با فویل آلومینیوم بسته شده و به مدت ۴۸ ساعت ارلن‌ها روی شیکر با سرعت ۱۱۰ دور در دقیقه قرار داده شد (۹).

عصاره اتانولی

مقدار ۲۰ گرم از پودر تهیه شده داخل ارلن ریخته شد. مقدار ۱۰۰ سی سی اتانول ۴۵ درصد به آن اضافه گردید (نسبت ۱:۵). پس از هم زدن به مدت چند دقیقه، دهانه ارلن‌ها با فویل آلومینیوم بسته، مدت ۷۲ ساعت ارلن‌ها روی شیکر با سرعت ۱۱۰ دور در دقیقه قرار داده شد (۱۱).

پس از پایان زمان مورد نظر، محتویات ارلن‌ها از پارچه لمل عبور داده سپس عصاره‌ها را با استفاده از دستگاه سانتریفیوژ ۵۰۰۰ دور در دقیقه مقدار ناخالصی موجود در عصاره‌ها جدا گردید. عصاره‌ها در داخل شیشه‌های رنگی در دمای چهار درجه سانتی‌گراد تا زمان استفاده در یخچال نگهداری شدند (۲۴).

سپس ماده خشک از عصاره در دما ۴۰ درجه با استفاده از آون تهیه و ماده خشک با رقیق شدن در مراحل بعدی مورد استفاده قرار گرفت. مقدار ۱۰۰ میلی‌گرم از هر عصاره در یک میلی‌لیتر از حلال مناسب (در مورد عصاره استخراج شده با آب از آب مقطر استریل و در مورد عصاره استخراج شده با اتانول از اتانول ۴۵ درصد) حل شد و به عنوان محلول مادر مورد استفاده قرار گرفت (۳۳). در مرحله بعد عصاره‌های رقیق شده با استفاده از فیلتر ۰/۲۲ میکرولیتری استریل گردید. عصاره‌ها داخل شیشه‌های رنگی استریل نگهداری شدند (۲۱).

جدایه قارچی

پس از شناسایی گلخانه‌های آلوده به بیماری بوته‌میری در منطقه رستاق اشکذر این گیاهان از گلخانه به محیط آزمایشگاه منتقل شدند، سپس در آزمایشگاه قسمتی از حاشیه مناطق دارای آلودگی، پس از ضد عفونی سطحی با محلول پنج درصد هیپوکلرید سدیم بر روی محیط کشت^۱ PDA و CMA^۲ قرار گرفت. نوک ریشه‌ها بعد از گذشت ۴۸ ساعت به محیط کشت PDA منتقل و پس از رشد با روش نوک ریشه خالص شدند (۲۵ و ۵۱). برای جداسازی شبه قارچ‌ها از روش طعمه گذاری استفاده شد (۱۶).

شناسایی عوامل بیماری‌زا

شناسایی بیمارگر با استفاده از روش‌های مورفولوژیک صورت گرفت این روش‌ها، بر اساس ویژگی‌هایی مانند مورفولوژی اسپورانژیوم، تولید آسپور، شکل پرگنه و سرعت رشد بیمارگر انجام شد. شناسایی با استفاده از کلید Stamp و همکاران (۱۹۹۰) روی محیط کشت‌های CMA صورت گرفت (۴۹).

ارزیابی بازدارندگی عصاره‌ها به روش دیسک کاغذی

در این مرحله مقدار ۱، ۳، ۴ و ۵ میلی‌گرم عصاره آبی و اتانولی بر دیسک کاغذی در نظر گرفته شد. آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی شامل گونه گیاهی (چهار گونه)، حلال (آب و اتانول) و غلظت (۱، ۳، ۴ و ۵ میلی‌گرم) در چهار تکرار انجام شد.

^۱ - Potato Dextrose Agar

^۲ - Corn Meal Agar

سانتی‌گراد قرار داده شدند. تا زمان پر شدن کامل پتری‌های شاهد با عامل بیمارگر، پتری‌ها در انکوباتور باقی ماند. هر ۱۲ ساعت یک بار قطر هاله رشد قارچ اندازه‌گیری شد. (۲۳).

تجزیه و تحلیل داده‌های به‌دست آمده، با نرم‌افزار SPSS16 و آنالیز واریانس و مقایسه میانگین بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال یک درصد انجام شد.

نتایج

نتایج حاصل از تجزیه واریانس تیمارهای یکسان و مختلف عصاره‌های (آبی و اتانولی) گیاهی بیانگر معنی‌دار بودن آزمون در تمامی تیمارهای به کار رفته (دیسک و اختلاط با محیط کشت) در سطح یک درصد می‌باشد (جدول ۱ و ۲).

ارزیابی بازدارندگی عصاره‌ها بر میزان رشد قارچ بیمارگر به روش دیسک‌گذاری

در غلظت پنج میلی‌گرم بر دیسک کاغذی عصاره‌های آبی کلیه عصاره‌ها قارچ ایستایی داشتند و با شاهد تفاوت معنی‌داری نشان دادند درحالیکه عصاره‌های مختلف تفاوت معنی‌داری از نظر بازدارندگی با یکدیگر نشان ندادند و کلیه عصاره‌ها بازدارندگی بالای ۶۰ درصد را نشان دادند و حداکثر کنترل‌کنندگی معادل ۷۲/۵ درصد مربوط به عصاره آویشن می‌باشد (جدول ۳).

در مورد عصاره‌های اتانولی نیز کلیه عصاره‌ها خاصیت قارچ ایستایی داشته و حداکثر کنترل‌کنندگی معادل ۹۹/۳۷ درصد مربوط به عصاره درمنه پائیزه و کمترین آن در عصاره شیرین‌بیان با ۸۶/۲۵ درصد مشاهده شد. (شکل ۱- ب). عصاره‌های درمنه پائیزه و درمنه بهاره اختلاف معنی‌داری در سطح یک درصد نشان ندادند در حالیکه عصاره با یکدیگر در غلظت ۵ میلی‌گرم بر روش دیسک‌گذاری با یکدیگر اختلاف معنی‌دار نشان دادند (جدول ۴).

قارچ ایستایی تیمار چهار میلی‌گرم بر دیسک کاغذی عصاره آبی تمامی گیاهان خاصیت قارچ ایستایی داشته به طوری که عصاره آویشن شیرازی با ۶۳/۵۶ درصد بیشترین قارچ ایستایی را نشان دادند و بین عصاره گونه‌های مختلف گیاهی بررسی شده اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. (جدول ۳). در مورد عصاره اتانولی نیز عصاره آویشن با

در این مطالعه پس از افزودن عصاره طی مراحل مختلف بر روی دیسک کاغذی ۱۰ میلی‌متری در زیر هود لامینار (جهت تبخیر شدن حلال)، مقدار نهایی عصاره خام باقی مانده روی دیسک‌ها ۱، ۳، ۴ و ۵ میلی‌گرم بود. تیمار شاهد، در مورد عصاره آبی از آب مقطر استریل و در تیمار شاهد عصاره اتانولی از اتانول ۴۵ درصد استفاده گردید. (۲۱).

به منظور آماده سازی کشت‌های قارچی، از حاشیه روئیده کشت‌های یک هفته‌ای، قرص‌هایی به قطر شش میلی‌متر توسط چوب پنبه سوراخ‌کن تهیه و در وسط تشتک پتری حاوی محیط PDA قرار داده شد. سپس تشتک‌های پتری در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. پس از ۷۲ ساعت قطر پرگنه *P. drechleri* به حدود سه سانتی‌متر رسید، سپس دیسک‌های کاغذی ۱۰ میلی‌متری حاوی عصاره‌ها با تیمارهای تعیین شده در فاصله یک و نیم سانتی‌متری از حاشیه روئیده قارچ‌ها قرار داده شد و در فواصل زمانی مختلف، شعاع هاله بازدارندگی از روبرو، سمت چپ و راست دیسک کاغذی یادداشت برداری شد، میزان شعاع به عنوان شاخص بازدارندگی در نظر گرفته شد (۱۲).

ارزیابی بازدارندگی عصاره‌ها به روش اختلاط با محیط کشت

در روش اختلاط با محیط کشت غلظت‌های ۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۲۰۰۰ و ۳۰۰۰ پی‌پی‌ام انتخاب و با استفاده از فیلتر ۰/۲۲ میکرولیتر هر کدام از عصاره‌های رقیق شده استریل گردید (۲۱). حجم مشخصی از عصاره‌ها برای رساندن غلظت محیط کشت‌ها در چهار تکرار و چهار غلظت مذکور به وسیله سمپلر داخل شیشه‌های استریل ریخته شد. در مرحله بعد محیط کشت PDA به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد استریل شدند. مقدار ۶۰ سی سی محیط کشت با حجم مشخص عصاره رقیق شده مخلوط، و به چهار تشتک پتری منتقل شد. غلظت صفر به عنوان شاهد بطوریکه در مورد عصاره اتانولی از اتانول ۴۵ درصد و برای عصاره آبی از آب مقطر استریل استفاده شد. قطعاتی به قطر شش میلی‌متر از حاشیه روئیده هفت روزه کشت‌های قارچی را برداشته و در وسط تشتک پتری حاوی محیط کشت PDA و عصاره‌ها قرار داده شد. پتری‌ها با پارافیلیم بسته شده و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۲۵ درجه

در بررسی قارچ ایستایی تیمار یک میلی گرم بر دیسک کاغذی عصاره آبی گیاهان مورد بررسی عصاره شیرین بیان و درمنه بهاره فاقد هرگونه قارچ ایستایی بودند. بیشترین کنترل کنندگی در این غلظت مربوط به عصاره آبی آویشن با ۳۷/۵۰ درصد مشاهده گردید (جدول ۳). در این بررسی عصاره آبی آویشن از نظر قارچ ایستایی با سایر عصاره‌ها اختلاف معنی داری در سطح یک درصد نشان داد (جدول ۳). عصاره‌های اتانولی گیاه شیرین بیان فاقد هر گونه قارچ ایستایی بودند و عصاره درمنه بهاره واجد بیشترین کنترل کنندگی (۵۵/۸۹ درصد) می‌باشد. بین عصاره‌های آویشن و درمنه پاییزه اختلاف معنی داری مشاهده نشد در حالیکه بین عصاره‌های مذکور با سایر عصاره اختلاف معنی داری در کنترل کنندگی بیماری قارچی در سطح احتمال یک درصد وجود دارد (جدول ۴).

۸۰/۰۰ درصد کمترین و عصاره درمنه بهاره با ۹۶/۸۸ درصد بیشترین قارچ ایستایی را داشتند (جدول ۴). در تیمار چهار میلی گرم عصاره‌های اتانولی، عصاره درمنه بهاره و پاییزه دارای حداکثر تاثیر (بالای ۹۶ درصد) و اختلاف معنی داری در سطح یک درصد با دیگر عصاره‌ها داشتند (جدول ۴). در غلظت سه میلی گرم بر دیسک کاغذی عصاره‌های آبی گیاه عصاره آویشن شیرازی با ۴۳/۳۱ درصد کمترین و درمنه پاییزه با ۵۹/۱۳ درصد بیشترین قارچ ایستایی را از خود نشان دادند. اختلاف معنی داری بین عصاره‌های استفاده شده در این آزمون در سطح یک درصد مشاهده نشد (جدول ۳). عصاره‌های اتانولی شیرین بیان با ۶۰ درصد کمترین و عصاره درمنه بهاره با ۷۳/۱۳ درصد بیشترین قارچ ایستایی را از خود نشان دادند (نمودار ب)، در این تیمار کنترل کنندگی عصاره درمنه بهاره . پاییزه با سایر عصاره‌ها اختلاف معنی داری در سطح یک درصد داشتند (جدول ۴)

جدول ۱: آزمون تجزیه واریانس در بررسی قارچ ایستایی تیمارهای با غلظت یکسان عصاره‌های گیاهی

نوع عصاره	عصاره آبی					عصاره اتانولی					تیمار	df	SOV			
	۱	۳	۴	۵	۱۰۰۰	۱	۳	۴	۵	۱۰۰۰						
بین گروه ها	۱۰۰۰/۷	۲۳۱۶/۲	۳۰۶۲/۱	۲۷۶۸/۷	۶۶۷۶/۸	۲۶۸۰/۶	۷۱۲۵/۱	۶۵۴۷/۲	۳۳۳۴/۸	۲۷۰۶/۲	۳۳۹۵/۶	۲۱۲۲/۴	۱۳۳۸/۷	۷۶۷/۳	۴	۲۷۶۸/۷
خطا	۲۷/۸	۸۶/۸	۳۸/۳	۶۸/۵	۵/۱	۲۵/۴	۱۷/۴	۳۳/۵	۲۵/۲	۱/۷	۴۹/۲	۳/۳	۱/۹	۰/۹	۱۵	۶۸/۵
کل	۲۲/۷*	۲۶۶*	۷۹/۹*	۵۴/۹*	۱۰۵*	۱۳۰۳*	۲۷۸*	۴۰۸*	۳۳۳۴/۸	۱۴۸*	۱۵۴۱*	۶۸۸*	۶۴۴*	۱۱۶*	۱۹	۵۴/۹*

** به احتمال ۹۹٪ حداقل بین دو تیمار اختلاف معنی دار وجود دارد.

جدول ۲: آزمون تجزیه واریانس در بررسی قارچ ایستایی تیمارهای مختلف عصاره‌های گیاهی

نوع عصاره	عصاره آبی				عصاره اتانولی				df	SOV
	آویشن	درمنه بهاره	درمنه پاییزه	شیرین بیان	آویشن	درمنه بهاره	درمنه پاییزه	شیرین بیان		
بین گروه ها	۳۵۴۱/۷	۳۰۹۳/۹	۳۴۳۱/۳	۴۲۶۸/۷	۲۷۵۰/۲	۳۰۶۲/۱	۲۳۱۶/۲	۳۳۹۵/۶	۸	۲۷۶۸/۷
خطا	۲۳/۱	۳۳/۱	۱۵/۱	۳۳/۹	۶۵/۹	۲۴/۸	۲۴/۸	۴۲۹۸/۴	۲۷	۶۵/۹
کل	۱۵۲**	۹۳**	۲۲۶**	۱۲۵**	۴۱۷**	۱۷۲**	۹۲۸**	۳۹۵۳/۴	۳۵	۴۱۷**

** به احتمال ۹۹٪ حداقل بین دو تیمار اختلاف معنی دار وجود دارد.

جدول ۳: آزمون تجزیه واریانس در بررسی قارچ ایستایی تیمارهای مختلف عصاره‌های گیاهی

نوع عصاره گونه	عصاره آبی			عصاره اتانولی			df	SOV
	آویشن	درمنه پائیزه	شیرین بیان	درمنه بهاره	آویشن	درمنه پائیزه		
بین گروه ها	۲۷۵۰/۲	۳۵۴۱/۷	۴۲۶۸/۷	۳۰۹۳/۹	۳۴۳۱/۳	۴۰۶۸/۲	۴۲۹۸/۴	۳۹۵۳/۴
خطا	۶۵/۹	۲۳/۱	۳۳/۹	۲۳/۱	۱۵/۱	۴/۳	۲۴/۸	۱۲/۸
کل	۳۵							
F	۴۱/۷**	۱۵۲**	۱۲۵**	۹۳**	۲۲۶**	۹۳۸**	۱۷۲**	۳۰۸**

**به احتمال ۹۹٪ حداقل بین دو تیمار اختلاف معنی دار وجود دارد.

ارزیابی بازدارندگی عصاره ها بر میزان رشد قارچ به روش اختلاط با محیط کشت

در روش اختلاط با محیط کشت عصاره‌های آبی در غلظت ۵۰۰ پی پی ام تمامی عصاره‌ها قارچ ایستایی داشتند (شکل ۱- ج). عصاره آویشن با ۶/۲۵ درصد کنترل‌کنندگی کمترین و عصاره درمنه پائیزه با ۶۹ درصد کنترل‌کنندگی بیشترین قارچ ایستایی از خود نشان دادند (جدول ۳) در این آزمون اختلاف معنی‌داری در سطح یک درصد بین عصاره‌های درمنه پائیزه، درمنه بهاره و شیرین بیان مشاهده نشد. عصاره‌های اتانولی در غلظت ۵۰۰ پی پی ام، کلیه عصاره‌ها قارچ ایستایی داشتند (نمودار د). آویشن و شیرین بیان با ۱۲/۵ درصد کمترین کنترل‌کنندگی و عصاره درمنه بهاره با ۳۳/۰۹ درصد بیشترین کنترل‌کنندگی را نشان دادند (جدول ۴).

در غلظت ۱۰۰۰ پی پی ام اختلاط با محیط کشت آبی تمامی عصاره‌ها قارچ ایستایی داشتند (نمودار ج). عصاره آویشن با ۴۶/۵۶ درصد کمترین و عصاره شیرین بیان با ۶۵/۴۴ درصد بیشترین کنترل‌کنندگی را داشتند. عصاره درمنه پائیزه و شیرین بیان از نظر کنترل‌کنندگی با دیگر عصاره‌ها اختلاف معنی‌داری در سطح یک درصد نشان دادند (جدول ۳) در مورد عصاره‌های اتانولی، شیرین بیان با ۱۲/۵ درصد کمترین و عصاره درمنه پائیزه با ۴۳/۵۹ درصد بیشترین کنترل‌کنندگی را نشان دادند (شکل ۱- د). عصاره درمنه پائیزه با دیگر عصاره‌ها اختلاف معنی‌داری در سطح یک درصد نشان داد (جدول ۴). در غلظت ۲۰۰۰ پی پی ام عصاره‌های آبی، عصاره آویشن با ۶۱/۷۸ درصد کمترین و عصاره آبی شیرین بیان با ۷۲/۱۱ درصد کنترل‌کنندگی بیشترین بازدارندگی مشاهده گردید (شکل ۱- ج). عصاره شیرین بیان با درمنه پائیزه و بهاره اختلاف معنی‌داری در

سطح یک درصد از نظر کنترل‌کنندگی در این غلظت نداشتند (جدول ۳). عصاره‌های اتانولی آویشن با ۴۱/۵۰ درصد کمترین و عصاره اتانولی درمنه پائیزه با ۵۹/۹۴ درصد بیشترین قارچ ایستایی را نشان دادند (نمودار د). عصاره درمنه پائیزه با سایر عصاره‌ها اختلاف معنی‌داری در سطح یک درصد نشان داد (جدول ۴).

در غلظت ۳۰۰۰ پی پی ام عصاره‌های آبی آویشن با ۶۸/۰۹ درصد کمترین و بیشترین کنترل‌کنندگی در عصاره‌های شیرین بیان و درمنه پائیزه با ۱۰۰ درصد کنترل‌کنندگی مشاهده شد (شکل ۱- ج). در مورد عصاره‌های اتانولی با غلظت ۳۰۰۰ پی پی ام، شیرین بیان با ۴۲/۳۸ درصد کمترین و عصاره درمنه پائیزه با ۷۲/۹۴ درصد کنترل‌کنندگی بیشترین قارچ ایستایی مشاهده شد (شکل ۱- د) که با عصاره درمنه بهاره از نظر کنترل‌کنندگی اختلاف معنی‌داری در سطح یک درصد نداشت ولی با سایر گونه‌ها تفاوت معنی‌دار نشان دادند (جدول ۴).

ارزیابی بازدارندگی غلظت‌های مختلف عصاره‌ها بر میزان رشد قارچ بیمارگر

در اکثر موارد با افزایش غلظت عصاره، درصد قارچ ایستایی عصاره افزایش و اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای استفاده شده مشاهده شد.

در به کارگیری عصاره آبی آویشن حتی در غلظت‌های ۵۰۰ پی پی ام و یک میلی گرم نیز قارچ ایستایی مشاهده شد. حداقل بازدارندگی مربوط به غلظت ۵۰۰ پی پی ام (۶/۲۵ درصد) و بیشترین قارچ ایستایی مربوط به غلظت پنج میلی گرم با ۷۲/۵ درصد کنترل‌کنندگی مشاهده شد. در این آزمون تفاوت معنی‌داری در سطح یک درصد بین تیمارهای پنج و چهار میلی گرم و ۳۰۰۰ پی پی ام مشاهده نشد. همچنین تفاوت معنی‌داری در سطح یک درصد بین

تیمار یک میلی گرم عصاره اتانولی شیرین بیان فاقد هرگونه قارچ ایستایی بوده و بالاترین قارچ ایستایی در تیمار پنج میلی گرم (۸۶/۲۵ درصد) بر دیسک کاغذی مشاهده شد. تیمارهای پنج و چهار میلی گرم از نظر کنترل کنندگی اختلاف معنی داری در سطح یک درصد با یکدیگر نشان ندادند (جدول ۶).

در رابطه با تیمارهای مختلف عصاره آبی درمنه بهاره، تیمار یک میلی گرم بر دیسک کاغذی فاقد هر گونه قارچ ایستایی و بیشترین کنترل کنندگی (۷۰/۳۱ درصد) در تیمار ۳۰۰۰ پی پی ام اختلاط با محیط کشت مشاهده گردید. تیمارهای ۲۰۰۰، ۳۰۰۰ پی پی ام، پنج میلی گرم در قارچ ایستایی اختلاف معنی داری نداشتند (جدول ۵). در مورد عصاره های اتانولی این گونه حتی در تیمار ۵۰۰ پی پی ام قارچ ایستایی (۳۳/۰۹ درصد) مشاهده گردید. بیشترین کنترل کنندگی در تیمار پنج میلی گرم بر دیسک کاغذی (۹۸/۹۴ درصد) مشاهده شد. بین تیمار پنج و چهار میلی گرم این گونه از نظر کنترل کنندگی اختلاف معنی داری در سطح یک درصد مشاهده نشد (جدول ۶). شکل یک تاثیر حلالهای مختلف در غلظتهای متفاوت گونه های مرتعی را در بازدارندگی فعالیت قارچ بیمارگر نشان میدهد.

تیمار ۵۰۰ پی پی ام و شاهد مشاهده نشد (جدول ۵). در مورد عصاره اتانولی حداقل بازدارندگی مربوط به غلظت ۵۰۰ پی پی ام با ۱۲/۵ درصد و حداکثر قارچ ایستایی مربوط به غلظت پنج میلی گرم و ۸۹/۳۷ درصد مشاهده شد (جدول ۶).

در به کارگیری غلظت های مختلف عصاره آبی درمنه پائیزه در آزمون، تیمار یک میلی گرم بر دیسک کاغذی دارای کمترین قارچ ایستایی (۱۶/۰۹ درصد) بود. بیشترین کنترل کنندگی مربوط به غلظت ۳۰۰۰ پی پی ام (۱۰۰ درصد) بر محیط کشت مشاهده گردید که با تمامی تیمارها اختلاف معنی داری در سطح یک درصد داشت (جدول ۵). در مورد تاثیر عصاره های اتانولی این گونه حتی در غلظت یک میلی گرم و ۵۰۰ پی پی ام نیز کنترل کنندگی مشاهده شد. کمترین قارچ ایستایی مربوط به تیمار ۵۰۰ پی پی ام (۴۸/۳۰ درصد) و بیشترین قارچ ایستایی، ۱۰۰ درصد مربوط به تیمار ۵ میلی گرم بر دیسک کاغذی بود، بین این تیمار و چهار میلی گرم اختلاف معنی داری در سطح یک درصد وجود نداشت (جدول ۶).

در مورد تیمارهای مختلف عصاره آبی شیرین بیان، تیمار یک میلی گرم بر دیسک کاغذی فاقد هر گونه قارچ ایستایی و ۱۰۰ درصد کنترل کنندگی در تیمار ۳۰۰۰ پی پی ام اختلاط با محیط کشت مشاهده شد (جدول ۵).

جدول ۳: مقایسه میانگین های هاله بازدارندگی غلظت های یکسان عصاره های آبی در سطح یک درصد (به روش دیسک گذاری و اختلاط با محیط کشت) بر حسب درصد

روش گونه	دیسک گذاری (میلی گرم)					اختلاط با محیط کشت (پی پی ام)			
	۱	۳	۴	۵		۵۰۰	۱۰۰۰	۲۰۰۰	۳۰۰۰
آویشن شیرازی	۳۷/۵۰±۳/۵c	۴۳/۳۱±۴/۴b	۶۳/۵۶±۵/۱b	۷۲/۵۰±۵/۲b		۶۳/۲۵±۰/۰a	۴۶/۵۶±۲/۷b	۶۱/۷۸±۱/۵b	۶۸/۰۹±۲/۲b
درمنه پائیزه	۱۶/۰۹±۳/۶b	۵۹/۱۳±۵/۳b	۶۱/۶۳±۶/۷b	۶۲/۱۳±۵/۲b		۵۲/۹۴±۲/۶b	۶۱/۹۴±۱/۷d	۷۰/۳۴±۲/۸c	۱۰۰/۰۰±۰/۰c
شیرین بیان	۰/۰۰±۰/۰a	۵۴/۱۹±۳/۵b	۶۰/۲۵±۴/۹b	۶۴/۷۵±۵/۴b		۴۹/۸۴±۲/۵b	۶۵/۴۴±۲/۱d	۷۲/۱۱±۱/۵c	۱۰۰/۰۰±۰/۰c
درمنه بهاره	۰/۰۰±۰/۰a	۵۲/۴۴±۴/۶b	۶۱/۸۱±۵/۸b	۶۸/۰۶±۴/۹b		۴۷/۴۷±۳/۱b	۵۴/۳۴±۱/۳c	۶۸/۹۰±۲/۳c	۷۰/۳۱±۲/۹b
شاهد	۰/۰۰a	۰/۰۰a	۰/۰۰a	۰/۰۰a		۰/۰۰a	۰/۰۰a	۰/۰۰a	۰/۰۰a

مقایسه در جدول به صورت عمودی، حروف مشابه نشان دهنده عدم اختلاف معنی دار می باشند.

جدول ۴: مقایسه میانگین‌های هاله بازدارندگی غلظت‌های یکسان عصاره‌های اتانولی در سطح یک درصد (به روش دیسک‌گذاری و اختلاط با محیط کشت) بر حسب درصد

روش گونه	دیسک‌گذاری (میلی‌گرم)				اختلاط با محیط کشت (پی بی ام)			
	۱	۳	۴	۵	۵۰۰	۱۰۰۰	۲۰۰۰	۳۰۰۰
آویشن شیرازی	۴۰/۴۱±۳/۵b	۶۸/۱۳±۴/۴bc	۸۰/۰۰±۵/۱b	۸۹/۳۸±۵/۲b	۱۲/۵۰±۰/۰b	۳۹/۳۲±۲/۷c	۴۱/۵۰±۱/۵b	۴۴/۶۳±۲/۲b
درمنه پائیزه	۴۲/۳۸±۳/۶b	۶۸/۷۵±۵/۳bc	۹۶/۲۵±۶/۷c	۹۹/۳۷±۵/۲c	۳۰/۴۷±۲/۶c	۴۳/۵۹±۱/۷d	۵۹/۹۴±۲/۸d	۷۲/۹۴±۰/۰c
شیرین بیان	۰/۰۰±۰/۰a	۶۰/۰۰±۳/۵b	۸۱/۸۸±۴/۹b	۸۶/۲۵±۵/۴b	۱۲/۵۰±۲/۵b	۲۱/۰۹±۲/۱b	۴۱/۹۴±۱/۵b	۴۲/۳۸±۳/۴b
درمنه بهاره	۵۵/۸۹±۰/۰c	۷۳/۱۲±۴/۶c	۹۶/۸۸±۵/۸c	۹۸/۹۲±۴/۹c	۳۳/۰۹±۳/۱d	۳۹/۷۷±۱/۳c	۵۱/۲۵±۲/۳c	۶۹/۲۲±۲/۹c
شاهد	۰/۰۰a	۰/۰۰a	۰/۰۰a	۰/۰۰a	۰/۰۰a	۰/۰۰a	۰/۰۰a	۰/۰۰a

مقایسه در جدول به صورت عمودی، حروف مشابه نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار می‌باشند.

جدول ۵- مقایسه میانگین‌های هاله بازدارندگی (درصد) غلظت‌های مختلف عصاره‌های آبی در سطح یک درصد (به روش دیسک‌گذاری و اختلاط با محیط کشت)

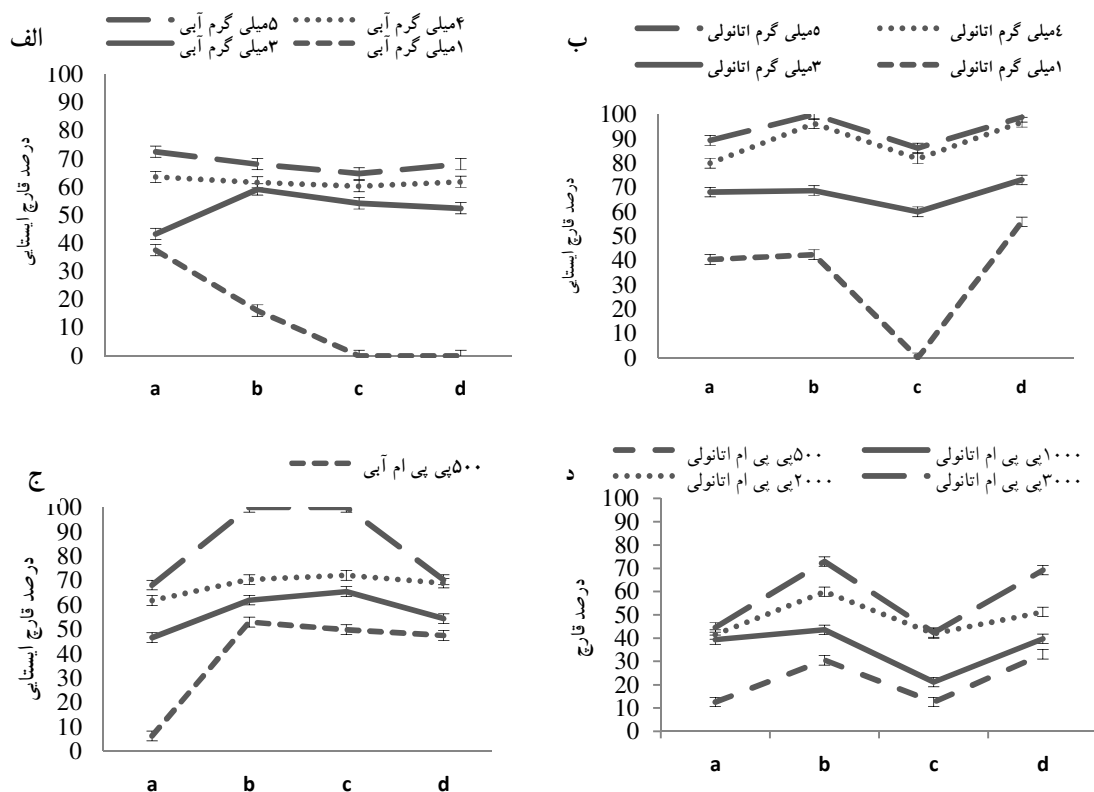
گونه تیمار	آویشن شیرازی	درمنه پائیزه	شیرین بیان	درمنه بهاره
۵	۷۲/۵۰±۵/۲d	۶۸/۱۳±۵/۲de	۶۴/۷۵±۵/۴cd	۶۸/۰۶±۴/۹d
۴	۶۳/۵۶±۵/۱d	۶۱/۶۳±۶/۷cde	۶۰/۲۵±۴/۹bcd	۶۱/۸۱±۵/۸cd
۳	۴۳/۳۱±۴/۴b	۵۹/۱۳±۵/۳cd	۵۴/۱۹±۲/۵bc	۵۲/۴۴±۴/۶bc
۱	۳۷/۵۰±۳/۵b	۱۶/۰۹±۳/۶b	۰/۰۰±۰/۰a	۰/۰۰±۰/۰a
۳۰۰۰	۶۸/۰۹±۲/۲d	۱۰۰/۰۰±۰/۰f	۱۰۰/۰۰±۰/۰e	۷۰/۳۱±۲/۹d
۲۰۰۰	۶۱/۷۸±۱/۵cd	۷۰/۳۴±۲/۸e	۷۲/۱۳±۱/۷d	۶۸/۹۰±۲/۳d
۱۰۰۰	۴۶/۵۶±۲/۷bc	۶۱/۹۴±۱/۷cde	۶۵/۴۴±۲/۱cd	۵۴/۳۴±۱/۳bc
۵۰۰	۶/۲۵±۰/۰a	۵۲/۹۴±۲/۶c	۴۹/۸۴±۲/۵b	۴۷/۴۷±۳/۱b
شاهد	۰/۰۰a	۰/۰۰a	۰/۰۰a	۰/۰۰a

مقایسه در جدول به صورت عمودی، حروف مشابه نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار می‌باشند.

جدول ۶- مقایسه میانگین‌های هاله بازدارندگی (برحسب درصد) غلظت‌های مختلف عصاره‌های اتانولی در سطح یک درصد (به روش دیسک‌گذاری و اختلاط با محیط کشت)

گونه تیمار	آویشن شیرازی	درمنه پائیزه	شیرین بیان	درمنه بهاره
۵	۸۹/۳۸±۴/۴f	۱۰۰/۰۰±۰/۰g	۸۶/۲۵±۴/۱e	۹۸/۹۴±۲/۲e
۴	۸۰/۰۰±۳/۰e	۹۶/۲۵±۲/۸g	۸۱/۸۸±۴/۰e	۹۶/۸۸±۱/۰e
۳	۶۸/۱۳±۴/۸d	۶۸/۷۵±۲/۷e	۶۰/۰۰±۴/۴d	۷۳/۱۳±۲/۰d
۱	۴۰/۴۲±۱/۷c	۴۲/۳۸±۱/۷c	۰/۰۰±۰/۰a	۵۵/۸۹±۰/۷c
۳۰۰۰	۴۴/۶۳±۲/۷c	۷۲/۹۴±۰/۶f	۴۲/۳۸±۳/۴c	۶۹/۲۲±۳/۸d
۲۰۰۰	۴۱/۵۰±۱/۶c	۵۹/۹۴±۱/۱d	۴۱/۸۷±۱/۶c	۵۱/۲۵±۲/۳c
۱۰۰۰	۳۹/۳۲±۰/۵c	۴۳/۵۹±۰/۸c	۲۱/۰۹±۱/۲b	۳۹/۷۷±۱/۱b
۵۰۰	۱۲/۵۰±۰/۰b	۳۰/۴۷±۱/۲b	۱۲/۴۳±۰/۰b	۳۳/۰۹±۱/۳b
شاهد	۰/۰۰a	۰/۰۰a	۰/۰۰a	۰/۰۰a

مقایسه در جدول به صورت عمودی، حروف مشابه نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار می‌باشند.



شکل ۱: مقایسه تاثیر بازدارندگی عصاره‌های گونه‌های مرتعی در غلظت‌های مختلف با حلال‌های مختلف

a: عصاره آویشن شیرازی b: عصاره درمنه پائیزه c: عصاره شیرین بیان d: عصاره درمنه بهاره
الف: دیسک‌گذاری عصاره‌های آبی ب: دیسک‌گذاری عصاره‌های اتانولی ج: اختلاط با محیط کشت عصاره‌های آبی د: اختلاط با محیط کشت عصاره‌های اتانولی

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج نشان داد بیشترین تأثیر بر روی بیمارگر، در روش عصاره‌گیری با حلال آبی، متعلق به عصاره‌های درمنه پائیزه و شیرین‌بیان و در مورد عصاره‌های اتانولی متعلق به درمنه بهاره و درمنه پائیزه می‌باشند. گیاه آویشن در تمامی غلظت‌های به کار گرفته شده قارچ ایستایی نشان داد. بیشترین کنترل‌کنندگی در غلظت‌های ۵ میلی‌گرم عصاره آبی (۷۲/۵۵ درصد) و ۵ میلی‌گرم عصاره اتانولی (۸۹/۳۷ درصد) و کمترین کنترل‌کنندگی در غلظت ۵۰۰ پی پی ام عصاره آبی (۶/۲۵ درصد) و ۵۰۰ پی پی ام عصاره اتانولی (۱۲/۵ درصد) در روش دیسک‌گذاری مشاهده شد.

عبدالمالکی و همکاران (۲۰۰۸) بیان کردند که عصاره‌های اتانولی و آبی آویشن شیرازی در پایین‌ترین غلظت به کار گرفته شده (یک میلی‌گرم) بر روی رشد میسلیمومی *P.drechleri* به ترتیب به میزان (۱۹/۴ و ۱۵/۱)

میلی‌مترهاله قارچ ایستایی ایجاد کردند، که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد (۲).

در تحقیقی آخوند زاده (۲۰۰۷) بیان داشتند در غلظت بالاتر از ۴۰۰۰ پی پی ام آویشن شیرازی رشد قارچ و تولید افلاتوکسین را متوقف می‌کند، که این میزان غلظت بیش از حداکثر غلظت (۳۰۰۰ پی پی ام) مورد مطالعه در تحقیق حاضر می‌باشد. به نظر می‌رسد تاثیر این گونه در غلظت‌های بالاتر ممکن است تاثیر کنترل‌کنندگی بیشتری را در کنترل بیماری مطالعه حاضر داشته باشد و نیاز به بررسی بیشتر در غلظت‌های بالا می‌باشد. هر چند ممکن است به دلیل متفاوت بودن نوع بیمارگر مورد مطالعه و زمان و شرایط مکانی جمع‌آوری گونه، نتایج متفاوتی داشته باشیم (۵).

ترکیبات شیمیایی در عصاره آویشن شامل تیمول، آنتول ترانس، آنیسول، نونال و کارواکرول می‌باشد.

عبدالمالکی و همکاران (۲۰۰۸) طی بررسی عصاره درمنه دشتی را بر روی *P.drechleri* مؤثر ندانستند که با نتایج به دست آمده در این تحقیق مطابقت ندارد. به نظر میرسد متفاوت بودن نوع گونه مورد مطالعه، شرایط جغرافیایی و اقلیمی گونه و زمان برداشت گونه گیاهی و روش عصاره‌گیری در این عدم تطابق نقش داشته باشد (۲). در مطالعه‌ای فرزانه و همکاران (۲۰۰۶) بیان داشتند که کارگیری اسانس درمنه پائیزه در غلظت ۴۱۰/۴ پی‌پی‌ام توانست رشد ریزوکتونیا سولانی را مهار کند. که نشان دهنده تاثیر عصاره در غلظت پایین تر نسبت به مطالعه حاضر می باشد (۱۹). که می‌تواند به دلیل تفاوت در نوع قارچ مورد مطالعه و تاثیر متفاوت روغن‌های ضروری و اسانس استحصالی باشد.

یکی از ترکیبات موجود در اسانس درمنه کوهی ژرانیول می باشد که اثر ضد باکتری (۲۴) و اثر ضد قارچی (۵۰) آن به اثبات رسیده است. یکی دیگر از ترکیبات این اسانس ژرانیل استات و لینالول می‌باشد که دارای فعالیت ضد قارچی ضعیفی می‌باشند (۳۷). آلفا-بیزابولول دارای فعالیت ضد باکتریایی و ضد قارچی است (۳۴). بنابراین بنظر می‌رسد حضور ژرانیول و لینالول در اسانس و عصاره درمنه پائیزه منجر به افزایش خاصیت ضد قارچی اسانس و عصاره این گیاه شود.

با توجه به تاثیر شرایط آب و هوایی مختلف در فیزیولوژی گیاه که منجر به تفاوت در مقدار و حتی نوع متابولیت‌های گیاهی می‌شود و نیز تاثیر روش استحصال این متابولیت‌ها و همچنین مراحل مختلف رشد گونه‌های گیاهی، هر یک از عوامل فوق می‌توانند باعث بروز نتایج و تاثیر متفاوتی در کنترل بیماری شود (۴).

بیشترین کنترل‌کنندگی عصاره آبی شیرین بیان در غلظت ۳۰۰۰ پی‌پی‌ام (۱۰۰ درصد) و با تفاوت معنی دار نسبت به غلظت ۲۰۰۰ پی پی ام مشاهده شد. حداکثر تاثیر کنترل‌کنندگی در مورد عصاره اتانولی به روش دیسک‌گذاری غلظت ۵ میلی‌گرم (۸۶/۲۵ درصد) و کمترین کنترل‌کنندگی در غلظت یک میلی‌گرم عصاره‌های آبی و اتانولی، بدون کنترل‌کنندگی مشاهده شد.

در تحقیقی بهرامی نژاد و همکاران (۲۰۱۳) عصاره گیاه شیرین بیان در بین ۱۸ عصاره گیاهی جزء مؤثرترین

کارواکرول موجب آشفته‌گی در غشای پلاسمایی، نشت درون سلولی ATP و یون‌های پتاسیم و در نهایت مرگ سلول بیمار گر میشود (۲۰). بنابراین شاید بتوان فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی عصاره آویشن شیرازی را به حضور این ترکیبات نسبت داد. وجود ترکیبات ثانویه از دسته مونووسکویترین‌ها مانند تیمول، کارواکرول و گاما-تریپنین موجب خاصیت ضد قارچی عصاره‌های گیاهی می‌شود (۳۰). مینی و همکاران (۲۰۱۲) خاصیت ضد قارچی اسانس سه گیاه دارویی *Zataria multiflora*, *Thymus vulgaris*, *Thymus kotschyanus* بر روی قارچ ریزوکتونیا سولانی (*Rhizoctonia solani*) را بررسی کردند. نتایج این مطالعه نشان داد اسانس‌های مورد بررسی با غلظت ۲۰۰ پی‌پی‌ام توانست به طور کامل از رشد عامل بیماری‌زا جلوگیری نماید (۸). که با نتایج به دست آمده تحقیق حاضر متفاوت می باشد که میتواند به دلیل نوع بیمارگر مورد بررسی و شرایط آب و هوایی رویشگاه گونه‌ها و تاثیر این عوامل در تغییر ترکیب و میزان متابولیت‌ها و مواد مؤثر کنترل‌کننده بیماری و همچنین روش عصاره‌گیری باشد.

شرایط مختلف آب و هوایی، فیزیولوژی گیاه را تحت تاثیر قرار داده و گاهی می تواند مقدار و حتی نوع متابولیت‌های ثانویه گیاه را متأثر سازد (۲۷ و ۴۳).

بیشترین کنترل‌کنندگی عصاره آبی درمنه پائیزه در غلظت ۳۰۰۰ پی‌پی‌ام (۱۰۰ درصد) و با تفاوت معنی‌دار با سایر غلظتها در روش اختلاط عصاره با محیط کشت مشاهده شد. همچنین غلظت ۵ میلی‌گرم عصاره اتانولی با حداکثر تاثیر کنترل‌کنندگی (۱۰۰ درصد) و کمترین کنترل‌کنندگی در غلظت یک میلی‌گرم عصاره آبی (۱۶/۰۸ درصد) و ۵۰۰ پی‌پی‌ام عصاره اتانولی در روش اختلاط با محیط کشت (۳۰/۴۷ درصد) مشاهده گردید.

بیشترین کنترل‌کنندگی عصاره آبی درمنه بهاره در غلظت ۳۰۰۰ پی پی ام (۷۰/۳۱ درصد) و بدون تفاوت معنی دار با غلظت ۲۰۰۰ پی پی ام و ۵ میلی‌گرم عصاره اتانولی (۹۸/۹۳ درصد) و کمترین کنترل‌کنندگی در غلظت یک میلی‌گرم عصاره آبی بدون قارچ ایستایی و در غلظت ۵۰۰ پی‌پی‌ام عصاره اتانولی (۳۳/۰۹ درصد) مشاهده گردید.

این گونه‌های گیاهی با نیازهای کم اکولوژیک در اراضی که برای اکثر کشتهای زراعی مناسب نمی‌باشند، نسبت به برداشت و تهیه عصاره مناسب با غلظت موثر جهت کنترل این بیماری اقدام و علاوه بر کاهش مخاطرات زیست محیطی ناشی از مصرف بی‌رویه سموم شیمیایی، از تخریب و زوال این گونه‌های گیاهی در مراتع استپی جلوگیری نمود. همچنین نتایج بازدارندگی در روش دیسک‌گذاری و اختلاط با محیط کشت در برخی موارد متفاوت بود و لذا جهت ارزیابی هر دو روش قابل توصیه می‌باشد و برای نتایج نهایی و بررسی اثرات محیطی لازم است در محیط‌های باز و در خاک نیز تاثیر غلظت‌های مختلف مورد بررسی قرار گیرد. علاوه بر این نتایج این مطالعه نشان‌دهنده پتانسیل بالا گونه‌های گیاهی مرتعی به‌ویژه در مناطق خشک و بیابانی به عنوان منابع مفید و ارزشمند جهت استفاده در کنترل بیولوژیک بیماری‌های گیاهی در سطح گلخانه‌ها می‌باشد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان از مسئولین دانشگاه اردکان و معاون آموزشی و پژوهشی دانشگاه که زمینه انجام این تحقیق را فراهم نمودند تقدیر و تشکر می‌نمایند.

گونه‌ها در کنترل *Phytophthora drechleri* دانستند (۱۰) که با نتایج تحقیق حاضر در روش اختلاط با کشت مطابقت دارد.

در تحقیقی مطهری نیا (۲۰۱۱) حداقل غلظت ممانعت از رشد قارچ *Malassezia furfur* توسط عصاره متانولی شیرین‌بیان را ۵۰۰ پی‌پی‌ام تعیین کردند. که با نتایج تحقیق کنونی مطابقت دارد (۳۵).

ریشه شیرین‌بیان دارای ترکیبات متعددی نظیر قندهای مختلف (تا ۱۸٪)، فلاونوئیدها، استرول، اسیدهای آمینه، صمغ و نشاسته، اسانس‌های روغنی و ساپونین‌ها می‌باشد. عمده‌ترین ساپونین آن اسیدگلیسرترنیک یا گلیسریرین می‌باشد (۳۲ و ۴۰).

علاوه بر ترکیبات فوق اسید ۲-بتا- گلوکورونوزیل گلوکورونیک، اسیدگلیسریتینیک، اسیدتانیک، آسپارژین، رزین‌ها، روغن‌های فرار، ترکیب‌های فلاونوئیدی مانند لیکوریتین، لیکوریتین، ایزو لیکوریتین، ایزو لیکوریتین و همچنین ترکیبات کومارینی مانند هرنیارین و اومبلی فرن می‌باشد (۲۹ و ۳۶).

به‌طور کلی با توجه به نتایج تحقیق حاضر استفاده از عصاره آبی درمنه پاییزه و ریشه شیرین‌بیان در غلظت ۳۰۰۰ پی پی ام جهت کنترل بیماری پوسیدگی طوقه خیار مفید و موثر می‌باشد. بر این اساس میتوان با ترویج کشت

References

1. Abdulaziz, A., Y. Al-Askar & M. Rashad, 2010. Efficacy of some plant extracts against *Rhizoctonia solani* on Pea. Journal of Plant Protection Research, 50(3): 239-243. (In Persian)
2. Abdolmaleki, M., S. Bahramnezhad, S. Abbasi & B. Mahmudi, 2008. Inhibitory effect of some plant extracts on mycelial growth of *Phytophthora drechleri* & *Rhizoctonia solani* sugar beet root rot agents. Journal sugar beet, 25(2): 193-205.
3. Abdolmaleki, M., M. Salari, S. Bahraminejad, S. Abbasi & N. Panjehkeh, 2008. Antifungal activity of cinnamon (*Cinnamomum zelanicum*) crude extracts against some phytopathogenic fungi. Iranian Journal of Plant Pathology, 44(3): 255-261.
4. Abdolmaleki, M., S. Bahraminejad, M. Salari, S. Abbasi & N. Panjehkeh, 2011. Study of antifungal effect *Mentha piperita* L. on plant pathogen fungi. Medical Plants, 38: 26-34.
5. Akhondzadeh Basti, A., A. Misaghi, M.H. Moosavy, T. Zahraei Salehi & G. Karim, 2007. Effect of *Zataria multiflora* essence on *S.aureus* growth probability in commercial soup. J. of Medicinal Plants, 6(22):91-98.
6. Al-Askar, A.A & Y.M. Rashad, 2010. Efficacy of some plant extracts against *Rhizoctonia solani* on Pea. Journal of Plant Protection Research, 50(3): 239-243.
7. Alam, A., A. Tripathi, S. Vats, K.K. Behera & V. Sharma, 2011. In vitro antifungal efficacies of aqueous extract of *Dumortiera hirsuta* (Swagr.) Nees against sporulation and growth of postharvest phytopathogenic fungi. Archive for Bryology, 103: 1-9.
8. Amini, M., N. Safaie, M.J. Salmani & M. Shams-Bakhsh, 2012. Antifungal activity of three medicinal plant essential oils against some phytopathogenic fungi. Anniversary Edition Trakia. Journal of Science, 10(1): 1-8.

9. Ataie azimi, O., B. Hashmloyan & A. Ghanaie, 2006. Efective antifúngul de extract aqueus, alcohol fenóli side & leave Sorghum bicolor (L.) Moench, *Fusarium solani* & F. Poa. plantas medicinais trimestrais, 6(1): 26-32.
10. Bahraminejad, S., S. Abbas & R. Amiri, 2013. Five years working on the antifungal effect of the plant extracts. Second International Conference on Agricultural and natural Resources University of Kermanshah, 428-432.
11. Banihashemi, Z & M. Mirtalebi, 2008. Safflower seedling a selective host to discriminate Phytophthora melonis from Phytophthora drechsleri. Journal of Phytopathology, 156: 499-501.
12. Bahraminejad, S., R.E. Asenstorfer, I.T. Riley & C.J. Schultz, 2008. Analysis of the antimicrobial activity of flavonoids and saponins isolated from the shoots oats (avena sativa l.). Journal of Phytopatology, (156) 1: 1-7.
13. Bi, Y., H. Jiang, M.K. Hausbeck & J.J. Hao, 2012. Inhibitory effect of essential oils for controlling Phytophthoracapsici. Plant Disease, 96: 797-803.
14. Cowan, M.M., 1999. Plant products as antimicrobial agents. Clinical Microbiology Reviews, 12: 564 - 82.
15. Edris, A.E., E.S. Farrag, 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.
16. Ershad, J., 1992. Phytophthora species in Iran. The Agricultural Research Organization, 217pp.
17. Etebarian, H.R., 2012. Diseases of vegetable and cucurbit and their control. Published by University of Tehran, 600 pp.
18. Farhang, H., M. Wahhabi, A. Allafchian & M. Tarkesh Isfahani, 2017. Effects of environmental conditions on phytochemical characteristics of *Gundelia tournefortii* L. in *Chaharmahal Bakhtiari* Province and south parts of Isfahan Province, Iran. Journal of Rangeland, 11(2): 258-273.
19. Farzaneh, M., M. Ahmadzadeh, J. Hadian & A.S. Tehrani, 2006. Chemical composition and antifungal activity of essential oils of three species of Artemisia on some soil borne phytopathogens. Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences, 71(3): 1327-1333.
20. Foroughi, M., S. Mohammadi & A. Ghasemi, 2013. Antifungal activity of five medical herbs on the plant pathogenic fungus Rhizoctonia solani. Journal of Microbial World, 5(3): 115-121.
21. Ghasemi Pirbalouti, A., M. Ghasemi, H. Momtaz, A. Golparvar, B. Hamedei & L. Shahgholian, 2010. The effect of some of the Iranian medicinal plants on Brucella abortus on in-vitro and in-vivo. J Herbal Drugs, 1(1): 21-28.
22. Gupta, S.K & S.C. Tripathi, 2011. Fungitoxic activity of Solanum torvum against Fusarium sacchari plant protect Science, 47(3): 83-91.
23. Hadian, J., S.M.F. Tabatabaei, P. Salehi, B. Hajieghrari & M.A. GhorbanPour, 2006. Phytochemical study of Cymbopogon parkeri Stapf. Essential oil and its biological activity against some phytopathogenic fungi. Iranian Journal of Agricultural Science, 37(3): 425-431
24. Jirovetz, L., G. Buchbauer, E. Schmid, A.S. Stoyanova, Z. Denkova, R. Nikolova & M. Geissle, 2007. Purity, Antimicrobial activities and olfatoric evaluations of geraniol/nerol and various of derivatives. Journal of Essential Oil Research, 19(3): 288-299.
25. Khosrowfar, F & Z. Banihashemi., 2004. Role of weeds on the survival of verticillium dahliae the causal agent of cotton vascular wilt in Fars province.Iran. Journal of Plant Pathol, 40: 105-126, (In Persian).
26. Khan, M.A., C. Zhihui, X. Xuemi, A.R. Khan & S.S. Ahmed, 2011. Ultrastructural studies of inhibition effect against Phytophthoracapsici of root exudates collected from two garlic cultivars along with their qualitative analysis. Crop Protection, 30: 1149-1155.
27. Kianbakht, S & F. Jahaniani, 2003. Evaluation of antimicrobial activity of Tribulus terrestris L.growing in Iran. Iranian Journal of Pharmacology and Therapeutics, 2: 22-24.
28. Lin, D., & E. Tsuzuki, 2003. Effect of methanol extracts from Ophiopogon japonicus on rice blast fungus. Pest Science and Management, 28: 27-28.
29. Li, w., Y. Asada & T. Yoshikava, 2000. Flavonoid constituents from Glycyrrhiza glabra hairy root cultures. Phytochem, 55: 447 - 56.
30. Mahboubi, M., M.M. Feizabadi, K. Haghi & H. Hossini, 2007. Antimicrobial activity and chemical metabolites' of essential oil from Oliveria decumbens Vent. Iranian Journal of Medical and Aromatic Plants, 24(1): 56-65 (In Persian).
31. Mahdavi, V., M. Ramezani & F. Gangaie zadah, 2009. Analysis of research Detritos de pesticidas en Irán. Conferencia Nacional de medio século de pesticidas in Irán, 261-284.
32. Marzi, V., G. Circella & G.M. Vampa, 1993. Effect of soil depth on the rooting system growth in Glycyrrhiza glabra L. International society for Horticulture science, 331: 377 - 380.

33. Meliss, T. G. S., M.S. Sponia, G.F.M.B. Terezinha, P. Cardarelli & C.B.T. Therezinha, 2005. Studies on antimicrobial activity in vitro of *Physalis angulata* L. (Solanaceae) fraction and physalin B bringing out the importance of assay determination. Mem inst Oswaldo CruzRio de Janeiro, 100: 779 - 82.
34. Mitova, M., R. Taskova, S. Popov, R.G. Burger, U. Krings & N. Handjieva, 2003. GC/MS analysis of some bioactive constituents from *Carthamus lanatus* L.Z. Naturforsch, 58: 697 - 703.
35. Motaharinia, Y., M.A. Rezaee, F. Zandi, W. Hosseini, A. Rashidi & M. Ahmadi neaz, 2011. Comparison of the antifungal effect of Licorice root, *Althocaofficinalis* extracts and ketoconazole on malassezia furfur. Armaghane-Danesh, 16: 425-32. [In Persian].
36. Mori, K., H. Sakai, S. Suzuki, Y. Akutsu, M. Ishikawa, M. Aihara, M. Yokoyama, Y. Sato, Y. Sawada & Y. Endo, 1990. Effects of glycyrrhizin (SNMC: stronger neo-minophagen C) in hemophilia patients with HIV-1 infection. Tohoku. J. Exp. Med, 162(2): 183 - 93.
37. Nakahara, K., N.S. Alzorekey, T. Yoshihashi, H. T.T. Nguyen & G. Trakoontivakorn, 2003. Chemical composition and antifungal activity of essential oil from *Cymbopogon nardus*, JARQ, 37(4): 249-252.
38. Narayanasamy, P.N., 2002. Microbial plant pathogens and crop disease management. Science Publishers: USA, 572 p.
39. Nayeemulla Shariff, M., S. Sudarshana, S. Umesha & P. Hariprasad, 2006. Antimicrobial activity of *Rauvolfia tetraphylla* and *Physalis minima* leaf and callus extract. African Journal of Biotechnology, 5: 946-950.
40. Nezamabadi, H., H. Mashhadi, A. Zand & H. Alizadeh, 2006. Ecophysiological aspects of Licorice rhizome. Plant Diseases and Pests, 74(2): 45 - 62.
41. Nikoo, S & M. Rahimi Dehcheraghi, 2017. Effects of various grazing intensities on quantitative and qualitative forage characteristics of *Artemisia sieberi* (Case study: Ghooshe and Lookeh in Semnan Province). Journal of Rangeland, 10(3): 282-291.
42. Pimentel, D., 1995. Amounts of pesticides reaching target pests: Environmental impacts and ethics. Journal Agricultural Environmental Ethics, 8: 17-29.
43. Peterson, D.M., D.M. Wesenberg, D.E. Burrup & C.A. Erikson, 2005. Relationships among agronomic traits and composition in oat genotypes grown in different environments. Crop Science, 45: 1249-1255.
44. Ramezani, M & V. Mahdavi., 2009. Environmental impact and risk assessment of pesticides, pesticides. Conference National de medio século de pesticides in Iran, 187- 226.
45. Rhimi, S., A. Mosleh Arani, A. Rashtian, M.H. Hakimi Meybodi & M. Ahmadi, 2017. The impacts of phenological growth stage and soil properties on forage quality of the *Ochradenus ochradeni* (Case Study: Abar kouh- Yazd province). Journal of Rangeland, 11(2): 233-245.
46. Shakarami, J., A. Bazgir & M. Faisian, 2006. Preliminary study on the inhibitory effect of essential oils of five species on mycelial growth, four species of plant pathogens in vitro. Science and Technology of Agriculture and Natural Resources, 10(3): 497-503.
47. Sarpeleh, A., K. Sharifi & A. Sonbolkar, 2009. Evidence of antifungal activity of wild rue (*Peganum harmala* L.) on phytopathogenic fungi. Journal of Plant Diseases and Protection, 116(5): 208-213.
48. Stamps, D.J., G.M. Waterhouse, J. Newhook & G.S. Hall, 1990. Rivised tabular key to the species of *Phytophthora* Mycology. 162 pp
49. Subramanyam, P. S., V.R. Bapaji & M.C.R. Cole, 2018. Antibacterial and antifungal activity of aromatic constituents of essential oils. Microbios, 89(358): 39 - 46.
50. Zamani, Z., 2013. The Effect of the Entomopathogenic Fungi *Lecanicillium muscarium* and *Ferula assafoetida* extract as Biological Control of *Aphis Fabae* and *Bemisia Tabaci*. Experimental animal Biology, 1: 1-8.
51. Zamani, M & A. Alizadeh, 2000. Identification of *Fusarium* species causing ear rot of corn in Sari and Karaj. Iranian Journal of Plant Pathology, 36: 17- 29.
52. Zare chahuoki, A., M.R. Ekhtesasi & A. Mosleh arani, 2016. Investigating *Haloxylon aphyllum* physiological mechanism for propagating and adaptation to arid condition in polygonal bio-hydro-geomorphological patterns, Journal of Rangeland, 10(2): 170-179.