

۱۱ و ۱۲ اسفندماه ۱۳۹۰ دانشگاه آزاد اسلامی خوراسگان دانشکده کشاورزی

اثرات ضد قارچی چند گیاه دارویی در جلوگیری از کپک آبی و سبز پرتقال

زینب فتوحیان^{۱*}، پرویز رهبریان^۲

۱ - کارشناس ارشد بیماریهای گیاهی و عضو هیئت علمی دانشگاه آزاد اسلامی واحد جیرفت، ۲ - کارشناس ارشد باغبانی و مدیر پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد جیرفت

* نویسنده مسئول: زینب فتوحیان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد جیرفت Email: jfotoohiyan@yahoo.com

چکیده

در این تحقیق گونه‌های *Penicillium italicum* و *Penicillium digitatum* بعنوان عامل کپک آبی و سبز پرتقال در جیرفت از میوه‌های آلوده جداسازی شدند و پس از عصاره‌گیری گیاهان دارویی به روش ماسیراسیون، اثرات ضد قارچی عصاره‌های الکلی و آبی سه گیاه دارویی (آویشن، بومادران و رزماری) با غلظت‌های مختلف (۰.۲۵٪، ۰.۵۰٪، ۰.۷۵٪ و ۱.۰۰٪) با سه تکرار روی گونه‌های *P. italicum*، *P. digitatum* مورد بررسی قرار گرفت و میزان هاله رشد میسلیم‌های قارچ برای هر تیمار اندازه‌گیری و درصد بازدارندگی محاسبه و نتایج به صورت فاکتوریل در قالب کاملاً تصادفی با استفاده از نرم افزار SAS آنالیز شد و نتایج نشان داد که عصاره آویشن بیشترین تاثیر و رزماری و بومادران به ترتیب کمترین تاثیر را بر میزان بازدارندگی رشد گونه‌های *P. italicum*، *P. digitatum* از خود نشان دادند. همچنین نتایج نشان داد که عصاره‌های آبی بیشترین تاثیر و عصاره‌های الکلی کمترین تاثیر و بین غلظت‌های مختلف عصاره غلظت ۱.۰۰٪ بیشترین و سپس غلظت‌های ۰.۵۰٪، ۰.۷۵٪ و ۰.۲۵٪ به ترتیب کمترین تاثیر را بر میزان بازدارندگی رشد قارچ داشتند. ارزیابی در انبار فقط با عصاره اولیه (عصاره مادر) هر یک از گیاهان دارویی انجام شد و میوه‌های تازه و سالم پرتقال برای عصاره پاشی انتخاب و پس از تلقیح آنها با قارچ عامل بیماری میزان آلودگی با نمونه شاهد (بدون عصاره) بررسی و نتایج نشان داد که عصاره‌های الکلی و آبی آویشن، بومادران و رزماری بر بازدارندگی قارچهای عامل بیماری موثر بودند و بطور کلی بازدارندگی هر یک از عصاره‌ها بر قارچ عامل کپک آبی بیشتر از کپک سبز پرتقال بود.

کلمات کلیدی: پنسیلیوم، ضد قارچ، عصاره، کپک آبی و سبز پرتقال و گیاهان دارویی.

مقدمه

امروزه گیاهان دارویی به دلیل کارایی مطلوب به عنوان داروی ضد قارچی در کارهای تحقیقاتی و آزمایشگاهی مورد توجه فراوان قرار گرفته‌اند. ترکیبات گیاهی ارزان، کم خطر و در دسترس تر و هم سازگار با محیط زیست بشمار می‌روند، به همین دلیل است که عصاره‌های گیاهی برای مداوای عفونت‌های قارچی ترجیح داده می‌شوند تا حدی که تصور می‌شود مشتقات گیاهی ضد قارچی در قرن بیست و یکم باعث ارائه نسل جدید قارچ کشهای سازگار با محیط زیست برای کنترل بیماری انسان و گیاه را فراهم نمایند (Amadioha and Obi, 1999), (Okigbo and Emoghene, 2004), (Okigbo and Nmeke, 2005). بنابراین بررسی اثرات ضد قارچی عصاره گیاهان دارویی در جلوگیری از کپک آبی و سبز پرتقال با توجه به

۱۱ و ۱۲ اسفندماه ۱۳۹۰ دانشگاه آزاد اسلامی خوراسگان دانشکده کشاورزی

اینکه یکی از مهمترین بیمارهای انباری پرتقال می‌باشد، می‌تواند گام مهمی در جهت بکارگیری عصاره‌های گیاهی به جای استفاده از سموم شیمیایی باشد.

مواد و روشها

جدا سازی و شناسایی قارچ عامل بیماری طی چندین بازدید از سردخانه‌های نگهداری مرکبات در شهرستان جیرفت و نمونه برداری از ارقام مختلف پرتقال در بازار و انبار انجام گرفت و نمونه‌های دارای علائم کپک آبی و سبز به آزمایشگاه منتقل شدند و جداسازی عوامل قارچی از میوه، پس از شستشوی اندام با آب معمولی قطعاتی از مرز بافت‌های سالم و آلوده جدا و پس از ضد عفونی با محلول ۱٪ هیپوکلریت سدیم روی محیط کشت‌های PDA و WA کشت داده شدند. و شناسایی جدایه‌ها با استناد به نوشته‌های ذکر شده در منابع انجام گرفت (Booth, 1971), (Nelson et al., 1983), (Gerlach and Nirenberg, 1982).

اثبات بیماریزایی

اثبات بیماریزایی با استفاده از روش کخ روی میوه‌های تازه و سالم پرتقال که از نظر شکل و اندازه تقریباً یکسان بودند که پس از شستشو با آب معمولی، توسط اتانل ۷۰٪ ضد عفونی شدند، سپس در شرایط استریل در قسمت وسط هر میوه، توسط چوب پنبه سوراخ کن حفره‌ای به قطر نیم و عمق یک سانتیمتر ایجاد و از کشت جوان هر جدایه، قطعه‌ای در محل حفره قرار داده و توسط پارافیلیم کاملاً پوشانده شد و در شاهد از محیط کشت استریل استفاده شد (Amienyo and Ataga, 2006).

گیاهان دارویی و استخراج عصاره

سه گیاه دارویی آویشن (*Thymus vulgaris*) رزماری (*Rosmarinus officinalis*) و بومادران (*Achillea millefolium*) از مرکز تحقیقاتی گیاهان دارویی کرج خریداری و تهیه عصاره‌های الکلی و آبی به روش ماسیراسیون انجام گرفت (صمصام شریعت، ۱۳۷۱). آنگاه تمامی عصاره‌ها به طور فیزیکی به کمک سرنگ ۳۰ میلی لیتری و استفاده از آدپتور و فیلتر باکتریولوژیکی استریل شدند. از عصاره‌های گیاهی فراهم شده در واقع محلول اولیه ۱۰۰٪ غلظت‌های مختلف ۰.۷۵٪، ۵۰٪ و ۲۵٪ تهیه گردید.

بررسی اثرات ضد قارچی عصاره‌ها

اثرات ضد قارچی عصاره‌ها در پلیت‌های تلقیح شده پس از ۱۵ روز به روش اندازه گیری قطر دایره رشد قارچ حول دیسک مرکزی بر حسب میلی متر ثبت و از نتایج چهار تکرار میانگین گرفته شد و درصد بازدارندگی رشد میسلیموم از فرمول درصد بازدارندگی = (متوسط قطر کلنی در تیمارها / متوسط قطر کلنی در پلیت شاهد) * ۱۰۰ محاسبه شد (Udo et al, 2001).

ارزیابی در انبار

میوه‌های تازه و سالم پرتقال با محلول اتانول ۷۰٪ به مدت ۱ تا ۲ دقیقه استریل و با سوزن استریل زخمی شده سپس با سوسپانسیون قارچ‌های عامل بیماری تلقیح و بعد از ۴ تا ۶ ساعت، عصاره پاشی با غلظت اولیه (۱۰۰٪) عصاره هر یک از گیاهان دارویی به طور جداگانه انجام و در انبار در دمای ۱۰ درجه با رطوبت نسبی ۹۵-۹۰ درصد به مدت ۳۰ روز نگهداری و میزان آلودگی آنها با توجه به علائم در مقایسه با نمونه شاهد

۱۱ و ۱۲ اسفندماه ۱۳۹۰ دانشگاه آزاد اسلامی خوراسگان دانشکده کشاورزی

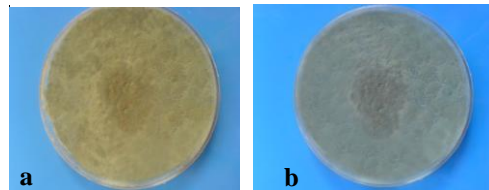
(بدون عصاره) مقایسه و نتایج توسط نرم افزار SAS مورد تجزیه تحلیل قرار داده شد و میزان تاثیر محاسبه شد (Udo et al, 2001).

نتایج و بحث

گونه‌های *P. italicum* و *P. digitatum* در منطقه جیرفت از میوه‌های آلوده پرتقال به بیماری کپک سبز و آبی به دست آمدند (شکل ۱) و نتایج نشان داد که گونه‌های *P. digitatum* و *P. italicum* بیماری‌زا می‌باشد و میزان آلودگی به هر دو گونه قارچی در مناطق مختلف جیرفت تقریباً به یک نسبت بود. پس از تهیه عصاره‌های الکلی و آبی سه گیاه دارویی آویشن، رزماری و بومادران به روش ماسیراسیون، آنگاه اثر ضد قارچی عصاره‌های آبی و الکلی به همراه شاهد مورد بررسی قرار گرفت و میزان هاله رشد میسلیم‌های قارچ برای هر تیمار اندازه گیری و سپس با استفاده از فرمول، میزان بازدارندگی رشد محاسبه شد و نتایج آن به صورت فاکتوریل در قالب کاملاً تصادفی آنالیز شد به طوری که سه نمونه گیاه دارویی به همراه شاهد به عنوان فاکتور A، دو نوع عصاره الکلی و آبی به عنوان فاکتور B و درصد غلظت‌های مختلف عصاره (۰.۲۵٪، ۰.۵۰٪، ۰.۷۵٪ و ۱.۰۰٪) به عنوان فاکتور C با چهار تکرار منظور شدند. نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد که بین سه عصاره گیاه دارویی به همراه شاهد تفاوت بسیار معنی دار وجود دارد (جدول ۱) و مقایسه میانگین بر اساس آزمون دانکن این سه تیمار را در چهار گروه جداگانه قرار داد (جدول ۲). به طوری که آویشن با میانگین‌های بازدارندگی رشد ۷۴/۲۰۸۳ و ۶۷/۱۸۵۸ از گروه A بیشترین تاثیر را به ترتیب جهت کنترل گونه‌های *P. digitatum* و *P. italicum* از خود نشان داد و رزماری با میانگین‌های ۴۴/۹۹۱۳ و ۳۸/۷۲۹۶ در گروه B قرار گرفت و سپس بومادران با میانگین‌های ۳۵/۲۹۰۸ و ۲۹/۴۸۰۸ میزان بازدارندگی رشد در گروه C و در نهایت شاهد (محیط بدون عصاره) در آخرین گروه یعنی D قرار گرفت. در مطالعه‌ای که توسط Moreno و همکاران صورت گرفت عصاره متانولی و آبی رزماری اثرات خوبی بر علیه باکتریهای گرم مثبت، گرم منفی و مخمر نشان داد که علت این اثر به غلظت بالاتر موادی همچون Carnosol, Carnosic, Rosmarinic acid در عصاره متانولی در مقایسه با عصاره آبی نسبت داده شده است (Moreno et al., 2006). همچنین نتایج جدول واریانس نشان داد که تاثیر دو نوع عصاره آبی و الکلی تفاوت بسیار معنی داری دارد (جدول ۲) و آزمون دانکن این دو نوع عصاره را به دو گروه متفاوت تقسیم بندی نمود (جدول ۳). به طوری که عصاره الکلی با میانگین‌های ۴۹/۳۸۰۶ و ۴۴/۴۳۶۷ میزان بازدارندگی رشد بیشترین تاثیر را بر رشد گونه‌های *P. digitatum* و *P. italicum* در گروه A داشت و عصاره الکلی با میانگین‌های ۲۷/۸۶۴۶ و ۲۳/۲۶۱۵ کمترین تاثیر را بر میزان بازدارندگی رشد در گروه B داشت. این در حالیست که نتایج تحقیقات گودرزی و همکاران در سال ۱۳۸۴ در بررسی تاثیر عصاره‌های آبی و الکلی گیاه بابونه آلمانی روی استافیلوکوکوس اورئوس نیز نشان داد که غلظت‌های معینی از عصاره‌های الکلی دارای خواص ضد باکتریایی قابل توجهی بود اما عصاره آبی در هیچ کدام از غلظت‌ها روی باکتری موثر نبود (گودرزی و همکاران، ۱۳۸۴). همچنین نتایج تجزیه واریانس نشان داد بین چهار درصد غلظت‌های مختلف عصاره تفاوت بسیار معنی داری وجود دارد (جدول ۱، $F=1939/37$ و $F=3027/27$) و آزمون دانکن میانگین بازدارندگی رشد چهار غلظت مختلف عصاره را به چهار گروه متفاوت تقسیم بندی نمود و غلظت ۱.۰۰٪ بیشترین تاثیر را بر میزان بازدارندگی

۱۱ و ۱۲ اسفندماه ۱۳۹۰ دانشگاه آزاد اسلامی خوراسگان دانشکده کشاورزی

رشد گونه‌های *P. digitatum* و *P. italicum* با میانگین‌های ۴۶/۰۹۴۶ و ۴۱/۴۴۵۴ در گروه A قرار گرفت و سپس غلظت ۵۰٪ با میانگین‌های ۳۹/۰۱۱۷ و ۳۴/۹۲۷۱ در گروه B و غلظت ۷۵٪ با میانگین‌های ۳۷/۱۸۱۳ و ۳۱/۹۸۰۴ در گروه C و غلظت ۲۵٪ با میانگین‌های ۳۲/۲۰۲۹ و ۲۷/۰۴۳۳ در گروه D قرار گرفتند. ارزیابی در انبار با عصاره اولیه (عصاره مادر) هر یک از گیاهان دارویی انجام شد نتایج نشان داد عصاره‌های الکلی و آبی آویشن، بومادران و رزماری بر بازدارندگی قارچ‌های عامل بیماری به میزان قابل توجهی موثر بودند. همانطور که در این تحقیق متوجه شدیم نوع گیاه دارویی، نوع عصاره و میزان غلظت آن در مقدار خاصیت ضد قارچی آن تاثیر گذار است بطوریکه آویشن در مقایسه با بومادران و رزماری و عصاره آبی نسبت به عصاره الکلی و غلظت ۱۰۰٪ در مقایسه با سایر غلظت‌های مورد آزمایش بیشترین تاثیر را داشتند، بنابراین پیشنهاد می‌شود فاکتورهای مختلف در تاثیر گذاری عصاره مدنظر قرار گیرد و در جهت شناسایی گیاهانی با خاصیت قارچ کشی بیشتر اقدام شود و با توجه به اینکه تحقیقات انجام گرفته قبلی در ارتباط با استفاده از ترکیب عصاره سیر با روغن نباتی نشان داد که می‌تواند به میزان ۱۰۰ درصد در کنترل کپک آبی و سبز موثر باشد لذا اثرات ترکیب عصاره‌های گیاهی آویشن، رزماری و بومادران با روغن‌های نباتی نیز در کنترل بیماری بررسی شود.



شکل ۱: مشخصات کلنی گونه‌های *P. digitatum* عامل کپک سبز پرتقال (a) و *P. italicum* عامل کپک آبی پرتقال (b) روی محیط PDA در منطقه جیرفت.

جدول ۱: تجزیه واریانس اثر ضد قارچی عصاره الکلی و آبی سه نمونه گیاه دارویی (آویشن، بومادران، رزماری و شاهد (محیط بدون عصاره گیاه) بر علیه قارچ‌های عامل کپک آبی و سبز پرتقال در منطقه جیرفت

		مجموع مربعات		میانگین مجموع مربعات		F	
		<i>P. digitatum</i>	<i>P. italicum</i>	<i>P. digitatum</i>	<i>P. italicum</i>	<i>P. digitatum</i>	<i>P. italicum</i>
گیاه (A)	۳	۵۵۲۰۰/۰۰۵۵۵۳۱۳	۰/۰۴۰۴۶۹۷۹	۱۸۴۰۰/۰۰۱۸۵۱۰۴	۰/۶۸۰۱۵۶۶۰	۶۴۰۶۸/۲۵**	۵۴۸۹۰/۵۵**
عصاره (B)	۱	۱۰۷۶۱/۳۴۶۷۵۱۰۴	۶۷۴۳۳	۱۰۷۶۱/۳۴۶۷۵۱۰۴	۲۲۴۷۷	۳۷۴۷۰/۶۹**	۲۷۱۳۲/۰۲**
درصد (C)	۳	۲۶۰۸/۲۳۶۲۹۴۷۹	۰/۵۶۱۱۷۶۰۴	۸۶۹/۴۱۲۰۹۸۲۶	۰/۵۶۱۱۷۶۰۴	۳۰۲۷/۲۷**	۱۹۳۹/۳۷**
غلظت	۳	۴۶۹۵/۴۳۴۰۸۶۴۶	۱۱۱۱۰	۱۵۶۵/۱۴۴۶۹۵۴۶	۱۱۱۱۰	۵۴۴۹/۷۹**	۴۰۱۴/۱۹**
A*B	۹	۱۶۲۸/۵۸۰۷۱۷۷۱	۲۳۸۲/۵۲۱۵۶۱۴۶	۱۸۰/۹۵۳۴۱۳۰۸	۷۹۴/۱۷۳۸۵۳۸۲	۶۳۰/۰۷**	۴۲۱/۴۵**
A*C	۹	۹۸/۶۷۳۱۶۱۴۶	۴۹۳۱/۴۳۵۶۶۱۴۶	۳۲/۸۹۱۰۵۳۸۲	۱۶۴۳/۸۱۱۸۸۷۱۵	۱۱۴/۵۳**	۴۶/۶۶**
B*C	۳	۹۲۷/۷۶۶۶۵۱۰۴	۱۵۵۳/۲۴۰۷۰۱۰۴	۱۰۳/۰۸۵۱۸۳۴۵	۱۷۲/۵۸۲۳۰۰۱۲	۳۵۸/۹۴**	۲۳۵/۷۹**
A*B*C	۹	۱۸/۳۸۰۴۰۰۰۰	۵۷/۳۱۹۵۸۶۴۶	۰/۲۸۷۱۹۳۷۵	۱۹/۱۰۶۵۲۸۸۲		
خطا آزمایش	۶۴		۸۶۸/۹۸۸۰۹۲۷۱		۹۶/۵۵۴۲۳۲۵۲		

۱۱ و ۱۲ اسفندماه ۱۳۹۰ دانشگاه آزاد اسلامی خوراسگان دانشکده کشاورزی

			۲۶/۲۰۸۰۰۰۰۰		۰/۴۰۹۵۰۰۰۰	
--	--	--	-------------	--	------------	--

کل ۹۵ ۸۳۶۳/۳۱۵۲۴۸۹۶ ۷۵۹۳۸/۴۲۳۶۱۵۶۳

C. V (ضریب دقت) در قارچ *P. italicum*: ۱/۶۵۶۸۵۸ و C. V (ضریب دقت) در قارچ *P. digitatum*: ۱/۵۳۲۱۸

** بسیار معنی دار (در سطح ۵٪ و ۱٪ معنی دار است)

جدول ۲: مقایسه میانگین میزان بازدارندگی هر یک از عصاره چند نمونه گیاه دارویی بر علیه قارچ‌های عامل کپک آبی و سبز پرتقال در منطقه جیرفت بر اساس آزمون دانکن.

میانگین بازدارندگی		نوع گیاه دارویی
<i>P. digitatum</i>	<i>P. italicum</i>	
A۶۷/۱۸۵۸	A۷۴/۲۰۸۳	آویشن
B۳۸/۷۲۹۶	B۴۴/۹۹۱۳	رزماری
C۲۹/۴۸۰۸	C۳۵/۲۹۰۸	بومادران
D۰	D۰	شاهد

جدول ۳: مقایسه میانگین میزان بازدارندگی دو نوع عصاره الکلی و آبی بر علیه قارچ‌های عامل کپک آبی و سبز پرتقال در منطقه جیرفت بر اساس آزمون دانکن.

میانگین بازدارندگی		نوع عصاره
<i>P. digitatum</i>	<i>P. italicum</i>	
۴۴/۴۳۶۷A	۴۹/۳۸۰۶A	آبی
۲۳/۲۶۱۵B	۲۷/۸۶۴۶	الکلی

جدول ۳: مقایسه میانگین میزان بازدارندگی هر یک از درصد غلظت‌های مختلف عصاره گیاهی بر علیه قارچ‌های عامل کپک آبی و سبز پرتقال در منطقه جیرفت بر اساس آزمون دانکن.

میانگین بازدارندگی		غلظت عصاره
<i>P. digitatum</i>	<i>P. italicum</i>	
A۴۱/۴۴۵۴	A۴۶/۰۹۴۶	۱۰۰٪
B۳۴/۹۲۷۱	B۳۹/۰۱۱۷	۵۰٪



۱۱ و ۱۲ اسفندماه ۱۳۹۰ دانشگاه آزاد اسلامی خوراسگان دانشکده کشاورزی

C31/9804	C37/1813	%75
D27/0433	D32/2029	%25

منابع:

- 1-Amadioha, A. C., Obi, V. I., (1999). Control of Anthracnose disease of cowpea by *Cymbopogon citrates* and *Ocimum gratissimum*. Acta Phytopathol. Entomol Hungarica. **34**(1-2):85-89.
- 2-Amienyo, C. A., Ataga, A. E., (2006). Post-harvest fungal diseases of sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam) tubers sold in selected markets in Rivers State, Nigeria. Sci., Afr. **5**(2): 95-98.
- 3-Okigbo, R. N. and A. O. Emoghene, (2005). Antifungal activity of leaf extracts of some plant species on *Mycosphearella fijiensis* Morelet, The causal organism of black sigatoka disease of Banana (*Musa. Acuminate*) KMITL Sci, J. **4**:20-31.
- 4-Okigbo, R. N. and L. A. Nmeka, (2005). Control of yam tuber rot with leaf extracts of *Xylopia aethiopica* and *Zingiber officinale*. African Journal of Biotechnology. **4**(8): 804-807.
- 5-Udo, S. E., B. E. Madunagu., C. D. Isemin, (2001). Inhibition of growth and sporulation of fungal pathogens on sweet potato and yam by Garlic extrac. Nigeria. J. Bot. **14**:35.39.

Antifungal activities of same medical plant extracts against Blue and Green molds of Orange

Zeinab Fotoohiyan, Parviz Rahbariyan

1) Islamic Azad University, Jiroft Branch

2) Islamic Azad University, Jiroft Branch

* Corresponding E-mail address: jfotoohiyan@yahoo.com

ABSTRACT

In the present study *Penicillium digitatum* and *Penicillium italicum* species that is the cause of Blue and Green molds of Orange in Jiroft zone were isolated from detached fruits. them after extracting from medical plant based on maceration way, It's the antifungal activity (*Thymus vulgaris*, *Achillea millefolium*, *Rosmarinus officinalis*) with the controller, two kinds of alcholical and watery extracts with different thickness (%25, %50, %75 and %100) with 3 different repetition on the *Penicillium digitatum* and *P. italicum* species has been studied and the rate of the prevention of the growth of fungi has been studied and data were analyzed using SAS software. the results showed that *Thymus vulgaris* has the most and *Rosmarinus officinalis* and *Achillea millefolium* had the least effect on the growth of the *P. digitatum* and *P. italicum* species, respectively. The results also show that the watery extract the most and the alcholical extract has the least effect and its thickness, between about %100 is the highest and %50, %75 and %25 has the least effect on the growth fungi, respectively. The study of in the storehouse only with the basic extract (mother extract) of each of the medical plants on the fresh and healthy fruits after



ششمین همایش ملی ایده های نو در کشاورزی



همایش ملی
ایده های نو در کشاورزی

۱۱ و ۱۲ اسفندماه ۱۳۹۰ دانشگاه آزاد اسلامی خوراسگان دانشکده کشاورزی

spraying with plant extracts and inoculated with spore suspension of both pathogens studied and the results also show that the alcholical and watery extracts of *Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis* and *Achillea millefolium* effected on the prevention of the growth of both pathogens and plant extracts were more effective in inhibiting citrus blue mold than citrus green mold.

Key words: Antifungal, blue and Green molds of orange, extract, medical plant, *Penicillium*