



## بررسی اثرات ضد قارچی اسانس گیاه رزماری (*Rosmarinus officinalis* L.) بر روی قارچ *Alternaria* sp. عامل لکه موجی برگ خیار گلخانه ای در استان یزد در شرایط گلخانه

سیمین نصرتی<sup>۱</sup>، سید علیرضا اسمعیل زاده حسینی<sup>۲</sup> و ابوالفضل سرپله<sup>۳</sup>

۱: گروه گیاهپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد یزد . Nosrati@iauyazd.ac.ir

۲: بخش تحقیقات گیاهپزشکی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان یزد

۳: بخش تحقیقات بیماریهای گیاهان موسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور

### چکیده:

فعالیت ضد قارچی مقادیر ۱، ۳ و ۵ میکرولیتر از اسانس گیاه رزماری بر روی رشد میسلیم های قارچ *Alternaria* sp. با استفاده از روش دیسک کاغذی بررسی گردید. نمونه های تحت آزمایش تا هفت روز در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد نگهداری و هر روزه مورد بازرسی قرار گرفتند. تمام مقادیر اسانس به طور معنی داری رشد میسلیمی بیمارگر را محدود کرده و حد اکثر بازدارندگی رشد در نمونه هایی که در معرض ۵ میکرولیتر از اسانس قرار گرفته بودند مشاهده شد. خاصیت بازدارندگی اسانسها، تحت تاثیر میزان اسانس مورد استفاده و زمان نگهداری قرار داشت. در نمونه هایی که با یک میکرولیتر از اسانس تیمار شده بودند حد اکثر خاصیت بازدارندگی اسانس در روز اول مشاهده شده و با گذشت زمان (روز اول تا ششم) کاهش یافت. در نمونه هایی که با سه و پنج میکرولیتر تیمار شده بودند به ترتیب بعد از دو و سه روز نگهداری حداکثر بازدارندگی مشاهده شد. این بررسی فعالیت ضد قارچی اسانس رزماری را نشان داده و می توان از آن در مدیریت کنترل بیماریها استفاده نمود.

واژگان کلیدی: اسانس، رزماری ، *Alternaria* sp.

### مقدمه

آفت کش های دارای منشاء طبیعی به دلیل سازگاری با محیط زیست و بدون اثر سوء قابل ملاحظه ای در محیط قادر به کنترل آفات بوده و با دارا بودن ویژگی هایی مانند حداقل سمیت برای مصرف کننده، کمترین پایداری در محیط و نیز اثرات کم روی موجودات مفید توجه پژوهشگران را به خود جلب کرده اند. بررسی اثرات ضد میکروبی ترکیبات گیاهی و اسانس ها از سال ها پیش در دنیا شروع شده و اثرات ضد قارچی، ضد حشرات و نامتودها و ممانعت کننده از جوانه زنی بذور غلف هرز توسط آنها به اثبات رسیده است (رجوع شود به Dudai et al. 1999, Sangwan et al. 1990).

یکی از این گیاهان رزماری بوده که از قدیمی ترین دارو های گیاهی به شمار می آید و در پزشکی کاربرد زیادی دارد. بیماری لکه موجی آلترناریایی از بیماری مهم برگ خیار در گلخانه ها می باشد که با از بین بردن پهنک برگ باعث کاهش کیفیت و کمیت محصول شده و غالباً جهت کنترل آن کاربرد قارچ کشتهای شیمیایی توصیه می شود. با توجه به مشکلات بهداشتی و زیست محیطی قارچکشها، آزمایش ترکیبات با منشاء گیاهی جهت کنترل این بیماری ضروری می باشد. در این تحقیق اثرات ضد قارچی اسانس رزماری بر روی قارچ آلترناریا عامل لکه موجی برگ خیار گلخانه ای در شرایط آزمایشگاهی بررسی گردید.

مواد و روشها:



تهیه اسانس از رزماری:

برگهای سرشاخه های گلدار گیاه رزماری (*Rosmarinus officinalis L.*) از حومه ی یزد در خرداد و اردیبهشت ماه سال ۱۳۸۹ جمع آوری و در سایه خشک شدند. اسانس گیری اندام های هوایی خشک شده با استفاده از دستگاه اسانس گیر موجود در بخش تحقیقات منابع طبیعی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان یزد انجام شد. اسانس حاصل در شیشه های رنگی و تیره در یخچال و دمای ۴ درجه سانتیگراد تا زمان استفاده نگهداری شد.

جدایه ی قارچ:

قارچ *Alternaria sp.* از برگ های آلوده خیار جداسازی و پس از اثبات بیماریزایی آن روی محیط کشت (PDA) *Potato Dextrose Agar* کشت و در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد نگهداری و از آن جهت انجام مراحل بعدی آزمایش استفاده شد.

بررسی اثر اسانس:

بررسی اثر اسانس گیاه رزماری بر رشد قارچ *Alternaria sp.* با تغییراتی در روش Boyraz and Ozcan 2006 انجام شد. از نوک هیف های کشت ۵ روزه قارچ پلاک های ۵ میلیمتری تهیه و در مرکز پتری حاوی PDA قرار داده شد. دیسکهای ۵ میلیمتری کاغذ های صافی شماره ۱ واتمن به مقادیر مختلف اسانس فوق الذکر (۱، ۳، ۵، ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰، ۵۰، ۶۰، ۷۰، ۸۰، ۹۰، ۱۰۰) آغشته شده و در مرکز درب پتری دیش قرار داده شد. برای نمونه شاهد از آب مقطر استریل استفاده شد. میزان رشد پرگنه های قارچ تا شش روز اندازه گیری شد. جهت بررسی خاصیت بازدارندگی اسانس، در تیمارهایی که پرگنه های قارچی هیچگونه رشدی نشان ندادند، دیسکهای کاغذ صافی حاوی اسانس حذف و دیسک کاغذ صافی مرطوب (آب مقطر دوبار استریل) اضافه گردید. نمونه ها تا یک هفته در شرایط فوق نگهداری شده و مورد بازدید روزانه قرار گرفتند. آزمایش در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. تجزیه آماری داده ها با استفاده از نرم افزار *Spss17* و *Excell2007* انجام شد و مقایسه میانگین با آزمون دانکن صورت گرفت. میزان ممانعت از رشد میسلیموم های قارچ فوق با استفاده از فرمول  $I = C - T / C100$  (Dean et al. 1990) محاسبه گردید که در این فرمول I درصد ممانعت از رشد میسلیموم، C متوسط رشد کلونی شاهد و T متوسط اندازه کلونی تیمار شده بود.

### نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس داده های تاثیر اسانس رزماری روی رشد قارچ آلترناریا نشان داد که تیمارها در سطح یک در صد با یکدیگر اختلاف معنی دار دارند (جدول ۱). با توجه به اینکه  $F(3,8)$  جدول با  $a = 0.05$  برابر با  $a = 0.01$  برابر با ۷.۵۹ می باشد و  $F$  تجزیه واریانس داده ها (62.985) بیشتر از  $F$  جدول می باشد، لذا با احتمال ۹۹ درصد تیمارها با یکدیگر تفاوت معنی دار دارند. غلظت های مورد آزمایش در این تحقیق تفاوت معنی داری با شاهد (آب مقطر) داشته و دوز های متفاوت اسانس خاصیت *fungistatic* داشتند.

بر اساس نتایج آزمون دانکن مقادیر مختلف اسانس تفاوت معنی دار با شاهد دارند و این نشان دهنده تاثیر بازدارنده اسانس رزماری بر رشد قارچ می باشد. بین مقادیر مختلف اسانس نیز بر رشد قارچ اختلاف معنی داری مشاهده شد به گونه ای که میزان  $50 \mu\text{m}$  اسانس نسبت به بقیه مقادیر بیشترین اثر بازدارندگی را نشان داد (جدول ۲).

جدول شماره ۱: تجزیه واریانس داده های تاثیر اسانس رزماری روی رشد قارچ *Alternaria sp.*

F	میانگین مربعات	مجموع مربعات	درجه آزادی
---	----------------	--------------	------------

تیمار	3	1200.493	400.164**	62.985
خطا	8	50.827	6.353	
کل	11	1251.320		

\*\* : معنی دار بودن در سطوح احتمال ۱ درصد

درصد ممانعت از رشد قارچ *Alternaria sp.* توسط اسانس رزماری در روزهای مورد آزمایش اثرات متفاوتی داشت به طوری که میزان بازدارندگی از ۱۲.۱ تا ۸۰.۸ درصد متغیر بود. میزان  $1\mu\text{l}$  در روز ششم کمترین میزان بازدارندگی و میزان  $5\mu\text{l}$  در روز سوم بیشترین میزان بازدارندگی را دارا بود. با توجه به تحقیق انجام شده درصد بازدارندگی اسانس رزماری بر روی رشد رویشی قارچ *sp. Alternaria* در غلظت های  $1\mu\text{l}$ ،  $5\mu\text{l}$  و  $3\mu\text{l}$  متفاوت بود و درصد ممانعت از رشد قارچ در غلظت  $1\mu\text{l}$  از روز اول به بعد کاهش یافت و در غلظت  $3\mu\text{l}$  از روز دوم و در غلظت  $5\mu\text{l}$  از روز سوم کاهش یافت که بیان کننده میزان پایداری غلظتهای مختلف می باشد. اسانس ماده ای فرار است که در معرض جریان هوا به مرور زمان تجزیه شده و مواد موثر موجود در آن رها می گردد. جدول شماره ۲: درصد ممانعت از رشد قارچ *Alternaria sp.* توسط اسانس رزماری در روزهای مورد

آزمایش

روز	$1\mu\text{l}$	$3\mu\text{l}$	$5\mu\text{l}$
۱	۴۴.۱۲	۵۶	۵۵.۹
۲	۳۹.۱۹	۶۹	۷۸.۴
۳	۳۳.۶۵	۵۰	۸۰.۸
۴	۲۰.۵۹	۴۶	۷۶.۵
۵	۱۲.۵۰	۳۶	۶۶.۹
۶	۱۲.۱۰	۲۸	۵۵

عمده ترین ترکیبات موجود در اسانس گیاه رزماری را  $1\mu\text{l}$  - سینئول (cineol - ۱۸)، بورنتول (Borneol)، کامفر (Campher)، بورنیل استات (Borneyl acetate)، آلفا پینین ( $\alpha$  - pinene) و B- پینین تشکیل می دهند که بسته به شرایط جغرافیائی محل کشت گیاه، میزان و درصد هر یک از این مواد متغیر می باشد. سایر ترکیبات طبیعی موجود در برگ و سرشاخه های گلدار رزماری شامل فلاونوئیدها مانند جنکوانین (Genkwanin) و لوتئولین (Luteolin)، اسیدهای فنلی مانند اسید رزمارینیک (Rosmarinic acid)، دی ترپن ها، تری ترپن ها، تانن ها، مواد تلخ، رزین، ساپونین، پروتئین، چربی، کربوهیدرات، فیبر، برخی املاح و ویتامینها است که بواسطه وجود همین ترکیبات در طب سنتی جهت درمان انواع بیماری ها کاربرد دارد و نشان دهنده خاصیت ضد میکروبی این گیاه می باشد. این تحقیق برای اولین بار در یزد صورت می گیرد و مبین خاصیت ضد قارچی اسانس رزماری بر روی



رشد قارچ *Alternaria sp.* (عامل لکه موجی برگ خیار گلخانه ای) می باشد. با توجه به اینکه خاصیت ضد میکروبی هر گیاه بستگی به نوع گیاه و شرایط طبیعی منطقه دارد امید است بر روی گونه های دیگر گیاه وقارچ این تحقیق انجام پذیرد و نتایج این تحقیق در تولید سموم بیولوژی کاربرد داشته باشد.

منابع:

- 1- Boyraz,N.,Ozcan, M. 2006.Inhibition of phytopathogenic fungi by essential oil,hydrosol,ground material and extract of summer savory (*Satureja hortensis* L.) growing wild in Turkey. International journal of food microbiology.107,238-242.
- 2- Dudai,N.,Poljakaoff-Mayber,A.,Mayer,A.M.,Putievsky,E.,Lerner,H.R. 1999. Essential oils as allelochemicals and their potential use as bioherbicides.J.Chem.Ecol.25:1075-1089.
- 3- Deans,S.G.,Svoboda,K.P.,1990.The antimicrobial properties of marjoram(*Oroganum majorana* L.) volatile oil. Flavour Fragr.J. 5,187-190.
- 4- Sangwan,N.K.,Verma,B.S.,Verma,K.K.,Dhindsa,K.S.1990.Nematicidal activity of some essential oils.Pestic. Sci. 28:331-335.

#### Antifungal activity of essential oil of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) against *Alternaria* sp. the causal agent of greenhouse cucumber leaf spot in Yazd province in vitro

S. Nosrati<sup>1</sup>, S. A. Esmailzadeh-Hosseini<sup>2</sup> and A. Sarpeleh<sup>3</sup>

1. Islamic Azad University, Yazd Branch ,Department of plant protection , Yazd, Iran  
[Nosrati@iauyazd.ac.ir](mailto:Nosrati@iauyazd.ac.ir)
2. Plant Protection Research Dept., Yazd Agricultural and Natural Resources Research Center, Yazd, Iran
3. Plant Diseases Research Dept., Iranian Research Institute of Plant Protection, Tehran, Iran

#### Abstract

Antifungal activity of 1, 3 and 5  $\mu$ L of the essence extracted from rosemary plants was studied on the mycelial growth of *Alternaria* sp. using a paper disc method. Treated samples were kept at 25 °C and monitored every day up to seven days. All amounts of the essence restricted significantly



---

the mycelial growth of the pathogen with maximum activity detected for samples treated with 5  $\mu$ L of the essence. The inhibitory effect of the essences was affected by the amounts of the essence and the incubation time of the samples. In the samples treated with 1  $\mu$ L of the essence, the inhibitory effect decreased slightly during the incubation time (day 1 to day 6). While in the samples treated with 3 and 5  $\mu$ L of the essence, the maximum inhibition in the mycelial growth was observed after 2 and 3 days of incubation respectively. This study showed the antifungal activity of rosemary essence which can be used in control management strategies.

**Keywords:** essential oil, rosemary, *Alternaria* sp.