

## بررسی تأثیر مثبت و منفی اسانس نمونه‌های مختلف باریجه (*Ferula gummosa* Boiss.) بر روی دو قارچ بیماری‌زای گیاهی

فاطمه جهانسوز<sup>۱\*</sup>، حسن ابراهیم‌زاده<sup>۲</sup>، علی‌اکبر نجفی<sup>۳</sup>، محمدرضا نقوی<sup>۴</sup> و حسین فرزانه<sup>۵</sup>

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه تهران، پست الکترونیک: Jahansooz@Khayam.ut.ac.ir

۲- استاد، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه تهران

۳- استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه تهران

۴- دانشیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران

۵- دانشجوی دکتری، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران

\*نویسنده مسئول مقاله

تاریخ پذیرش: دی ۱۳۸۶

تاریخ اصلاح نهایی: آبان ۱۳۸۶

تاریخ دریافت: خرداد ۱۳۸۶

### چکیده

در این آزمایش اثر ضد قارچی اسانس بذرهای باریجه (*Ferula gummosa* Boiss.) مربوط به شهرهای کاشان، ایلام و سمنان بر روی دو قارچ بیماری‌زای گیاهی *Botrytis cinerea* و *Rhizopus stolonifer* بررسی شد. نتایج آزمون چند دامنه‌ای دانکن نشان داد که میانگین رشد قارچ *B. cinerea* در هر سه نمونه اسانس با افزایش غلظت اسانس کاهش می‌یابد، به‌طوری که کمترین و بیشترین میزان رشد این قارچ به ترتیب در غلظت‌های ۱۲۰۰ و صفر میکرولیتر بر لیتر اسانس مشاهده گردید. در مقابل، تأثیر غلظت‌های مختلف اسانس بر روی قارچ *R. stolonifer* نشان داد که در هر سه نمونه اسانس با افزایش غلظت، تقریباً میزان رشد قارچ افزایش یافته است و در حقیقت افزایش غلظت، تأثیر تشدید کننده رشد قارچ را داشته است. نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که افزایش غلظت اسانس می‌تواند تأثیر متفاوتی بر روی قارچ‌های گیاهی داشته باشد.

واژه‌های کلیدی: باریجه (*Ferula gummosa* Boiss.)، قارچ‌های بیماری‌زا، غلظت اسانس.

### مقدمه

(Hayes & Laws, 1991). از جمله این روشها، استفاده از

اسانس گیاهان دارویی می‌باشد. برطبق یک توافق بین‌المللی و بنا به دلایل زیست محیطی و بهداشتی استفاده از اسانسها و رنگهای مصنوعی و شیمیایی از سال ۲۰۰۰ به بعد در مواد غذایی، آرایشی و دارویی ممنوع می‌باشد و بایستی از اسانسهای طبیعی استفاده کرد که این اسانسها در گیاهان دارویی و صنعتی تولید می‌شوند و باید جهت

قارچ‌های بیماری‌زا به‌تنهایی عامل کاهش ۲۰ درصدی عملکرد محصولات غذایی عمده در دنیا می‌باشند (Agrios 2000). عوامل بیماری‌زای گیاهی می‌توانند با استفاده از مواد گوناگون شیمیایی کنترل گردند، اما اثر نامطلوب آنها بر سلامت انسان و محیط زیست، انسان را بر آن داشت که به تولید آفت‌کشهای طبیعی روی آورد

## مواد و روشها

در این آزمایش از اسانسهای تهیه شده از بذره‌های باریجه مربوط به سه شهر کاشان (ارتفاع ۲۰۰۰ متر)، ایلام (ارتفاع ۲۱۵۰ متر) و سمنان (ارتفاع ۲۰۰۰ متر) استفاده شد. تأثیر غلظت‌های مختلف این اسانسها بر روی دو نوع قارچ بررسی شد. این دو نمونه از قارچهای بیماری‌زای گیاهی با نامهای *B. cinerea* و *R. stolonifer* از بخش بیماری‌شناسی گیاهی دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران تهیه شده بود. برای خالص‌سازی قارچها از روش تک اسپور استفاده شد. برای بررسی اثرهای ضد میکروبی اسانسها از روش اختلاط اسانس با محیط کشت استفاده شد. برای این منظور از اسانسهای مورد نظر در محلول توئین ۲۰، امولسیون تهیه شد. همچنین محلول توئین ۲۰ و محیط بدون اسانس به‌عنوان تیمار شاهد در نظر گرفته شد. فلاسک‌های حاوی محیط کشت با محیط دکستروز آگار (PDA) پس از اتوکلاو، در دمای اتاق قرار داده شد تا دمای آن به ۴۵-۴۲ درجه سانتی‌گراد برسد. غلظت‌های ۷۵، ۱۵۰، ۳۰۰، ۶۰۰ و ۱۲۰۰ میکرولیتر در لیتر اسانس به فلاسک‌ها اضافه گردیده و هم زده شد تا امولسیون یکنواختی ایجاد گردد. سپس محیط‌های حاصل بلافاصله به پتریهای ۹ سانتی‌متری استریل به ازای هر پتری حدوداً ۲ میلی‌لیتر منتقل گردید. محلول ۰/۰۵٪ از توئین ۲۰ و اسانس بلافاصله بعد از خنک شدن محیط و قبل از انجماد آن به محیط اضافه گردید. پتریهای کنترل حاوی همان میزان از محلول ۰/۰۵٪ از توئین ۲۰ و آب مقطر حل شده در محیط PDA بودند. دیسکهای قارچی فعال و جوان به قطر ۶ میلی‌متر که توسط چوب‌پنبه سوراخ‌کن برداشته شدند بر روی مرکز محیط قرار داده شد. سپس همه پتریهای تلقیح شده در دمای  $23 \pm 1$  انکوبه گردیدند و هر

استخراج این اسانسها و بهره‌برداری بهینه از این گیاهان برنامه‌ریزی نمود.

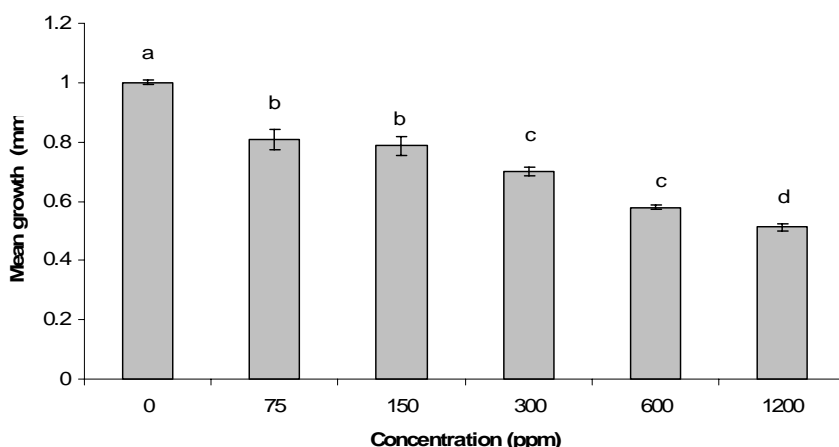
جنس *Ferula* از تیره چتریان شامل بیش از ۱۳۳ گونه پراکنده در نواحی مدیترانه تا آسیای مرکزی می‌باشد. این جنس بیشتر در نواحی شمال و غرب ایران حضور دارد (زرگری، ۱۳۸۱). در کتاب فلورا ایرانیکا به ۳۰ گونه *Ferula* در ایران اشاره شده است. برخی از گونه‌های اندمیک این جنس در ایران، شامل *F. persica*، *F. tabasensis* و *F. gummosa* می‌باشند (مظفریان، ۱۳۷۳). باریجه (*Ferula gummosa* Boiss) یکی از گیاهان مهم دارویی، صنعتی و آروماتیک ایران است. شیرابه و اسانس باریجه در صنایع مختلف از جمله صنایع داروسازی، غذایی، عطرسازی، چسب‌سازی و نظامی مورد استفاده قرار می‌گیرد.

اثرهای ضد قارچی و ضد باکتریایی ترکیب‌های اسانس برای بسیاری از گیاهان در مطالعات قبلی گزارش شده است (Mirjana et al., 2004; Moreira et al., 2005). در مطالعات قبلی انجام شده توسط Ghasemi و همکاران (۲۰۰۵) و Talebi Kouyakhi و همکاران (۲۰۰۷) به ترتیب ۷۳ و ۱۲۰ ترکیب از میوه باریجه‌های بومی ایران شناسایی شده است. همچنین در مطالعه قبلی اثر اسانس باریجه بر روی قارچها و باکتریهای انسانی بررسی گردیده است (Ghasemi et al., 2005). اما با وجود این، تاکنون هیچ گونه مطالعه‌ای در خصوص تأثیر نمونه‌های مختلف ترکیب‌های اسانس بر روی قارچهای بیماری‌زای گیاهی صورت نگرفته است. در این تحقیق تأثیر سه نمونه اسانس بر روی رشد دو قارچ بیماری‌زای گیاهی مورد بررسی قرار گرفته است.

به‌طوری که  $D_i$  بیانگر میزان رشد هاله در زمان  $t_i$  است. داده‌های مربوط به میانگین رشد از طریق جدول تجزیه واریانس (ANOVA) مورد تجزیه قرار گرفتند و میانگین رشد هر قارچ در هر شهر با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن مورد استفاده قرار گرفتند. تمامی این تجزیه و تحلیلها با استفاده از نرم‌افزار SPSS انجام گرفت.

### نتایج

نتایج آزمون چند دامنه‌ای دانکن در خصوص میانگین رشد ۲ نوع قارچ بر روی محیط‌های حاوی اسانس از سه شهر کاشان، ایلام و سمنان در شکل‌های ۱-۶ نشان داده شده است. میانگین رشد قارچ *B. cinerea* بر روی نمونه اسانس شهر کاشان ( شکل ۱) نشان می‌دهد که رشد میسیلیوم قارچ در پتری شاهد فاقد اسانس (غلظت صفر) نسبت به بقیه غلظتها بسیار بیشتر می‌باشد و کمترین میزان رشد قارچ در پتری حاوی اسانس با غلظت ۱۲۰۰ میکرولیتر بر لیتر می‌باشد.



شکل ۱- نتایج آزمون چند دامنه‌ای دانکن مربوط به غلظتهای مختلف اسانس *F. gummosa* نمونه کاشان، بر میانگین رشد قارچ *B. cinerea*

حروف متفاوت بیانگر تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد می‌باشد. میزان انحراف معیار تفاوتها در هر تکرار در بالای نمودار نشان داده شده است.

۲۴ ساعت، رشد رویشی هاله هر قارچ تا پر شدن سطح پتریهای کنترل از قارچ مورد نظر بررسی گردید. قطر قارچ رشد یافته درون پتریهای حاوی غلظتهای ۷۵، ۱۵۰، ۳۰۰، ۶۰۰ و ۱۲۰۰ میکرولیتر در لیتر هر ۲۴ ساعت اندازه‌گیری شد. برای هر تیمار ۳ تکرار در نظر گرفته شد. درصد بازدارندگی غلظتهای مختلف اسانسها با بهره‌گیری از فرمول Abbott محاسبه گردید.

$$IP = C - T / C * 100$$

IP = درصد بازدارندگی

C = میانگین قطر هاله قارچ در تیمار شاهد

T = میانگین قطر هاله قارچ در تیمار مورد نظر

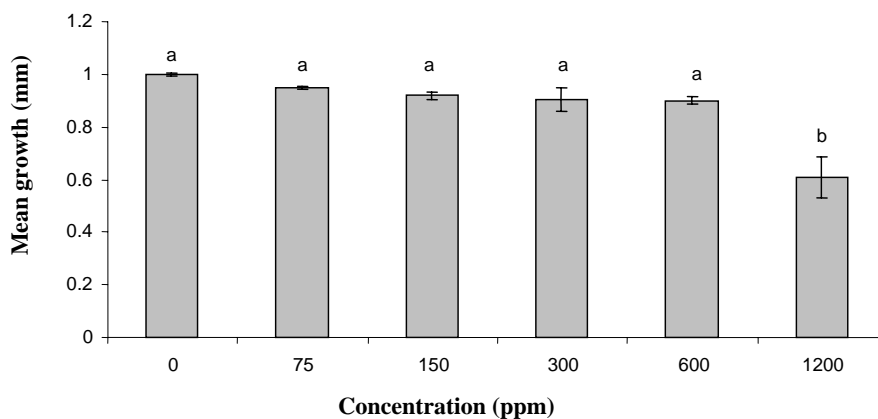
از آن جا که در آزمایش مورد نظر در تمامی پتریها هاله قارچ دیده شد، MIC (Minimum Inhibitory Concentration) داده نمی‌شود.

میانگین رشد هاله در هر قارچ در هر تکرار و برای هر نمونه هر ۲۴ ساعت به مدت ۹ روز با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

$$\text{میانگین رشد} = \frac{\sum [(D_i + D_{i-1}) \times (t_i - t_{i-1})]}{2}$$

میکرولیتر بر لیتر، میزان رشد میسیلیوم‌های قارچ نسبت به بقیه قارچها کاهش معنی داری نشان داد (شکل ۲).

درحالی که میانگین رشد این قارچ بر روی نمونه اسانس شهر ایلام از غلظت ۶۰۰-۰ میکرولیتر بر لیتر از نظر آماری تفاوتی را نشان نداد، اما در غلظت ۱۲۰۰

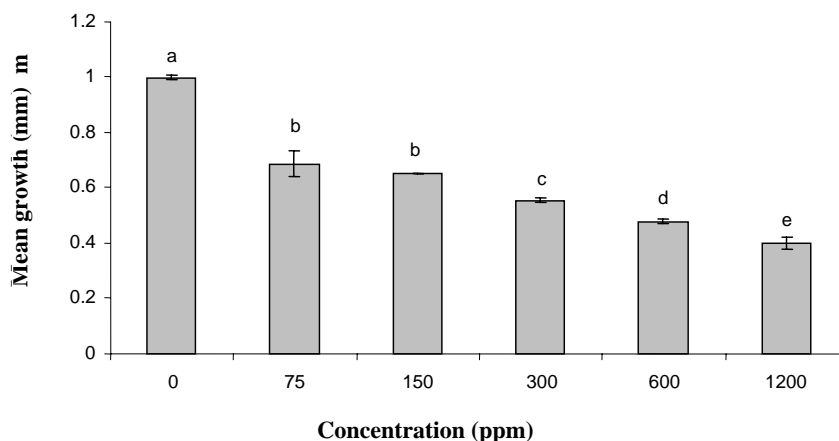


شکل ۲- نتایج آزمون چند دامنه‌ای دانکن مربوط به غلظتهای مختلف اسانس *F. gummosa* نمونه ایلام، بر میانگین رشد قارچ *B. cinerea*

حروف متفاوت بیانگر تفاوت معنی دار در سطح ۵ درصد می باشد. میزان انحراف معیار تفاوتها در هر تکرار در بالای نمودار نشان داده شده است.

چنان که با افزایش غلظت در هر گام، میانگین رشد قارچ نیز کاهش یافته است، به جز در غلظتهای ۷۵ و ۱۵۰ میکرولیتر بر لیتر که میزان رشد از نظر آماری یکسان می باشد.

همچنین، شکل ۳ تأثیر غلظتهای مختلف اسانس نمونه سمنان بر روی قارچ *B. cinerea* را نشان می دهد. اثر اسانس شهر سمنان بر کاهش رشد قارچ، نسبت به دو نمونه قبلی کاشان و ایلام به مراتب بیشتر بوده است

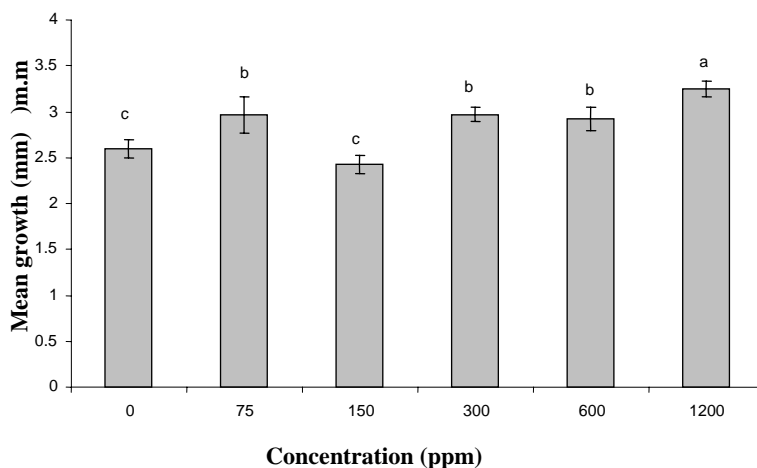


شکل ۳- نتایج آزمون چند دامنه‌ای دانکن مربوط به غلظتهای مختلف اسانس *F. gummosa* نمونه سمنان، بر میانگین رشد قارچ *B. cinerea*

حروف متفاوت بیانگر تفاوت معنی دار در سطح ۵ درصد می باشد. میزان انحراف معیار تفاوتها در هر تکرار در بالای نمودار نشان داده شده است.

۱۲۰۰ میکرولیتر بر لیتر بیشترین، در حالی که در غلظتهای ۰ و ۱۵۰ میزان رشد کمترین بوده است. بقیه غلظتها (۷۵، ۳۰۰ و ۶۰۰) تأثیر مشابهی را بر روی رشد قارچ نشان می‌دهند.

اما تأثیر میانگین رشد قارچ *R. stolonifer* در غلظتهای مختلف اسانس شهرهای کاشان، ایلام و سمنان کاملاً متفاوت می‌باشد. میانگین رشد این قارچ، غلظتهای مختلف اسانس کاشان (شکل ۴) نشان می‌دهد که رشد این قارچ در غلظت

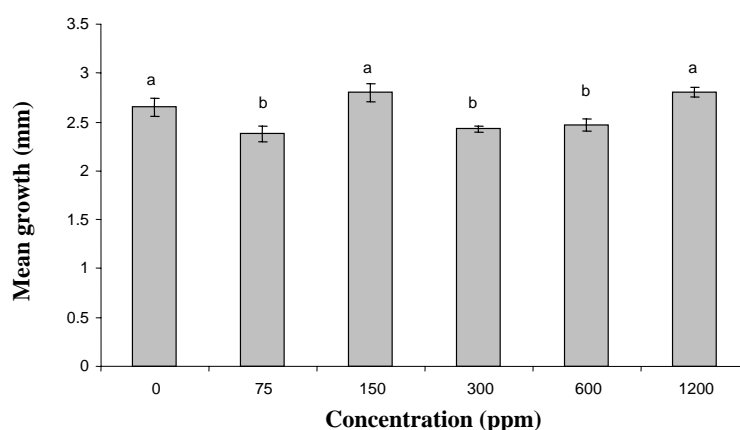


شکل ۴- نتایج آزمون چند دامنه‌ای دانکن مربوط به غلظتهای مختلف اسانس *F. gummosa* نمونه کاشان، بر میانگین رشد قارچ *R. stolonifer*

حروف متفاوت بیانگر تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد می‌باشد. میزان انحراف معیار تفاوتها در هر تکرار در بالای نمودار نشان داده شده است.

رشد قارچ و سه غلظت دیگر کمترین میزان رشد قارچ را نشان می‌دهند.

شکل ۵ میانگین رشد قارچ *R. stolonifer* در غلظتهای مختلف اسانس شهر ایلام را نشان می‌دهد. در این حالت غلظتهای ۰، ۱۵۰ و ۱۲۰۰ میکرولیتر بر لیتر، بیشترین میزان

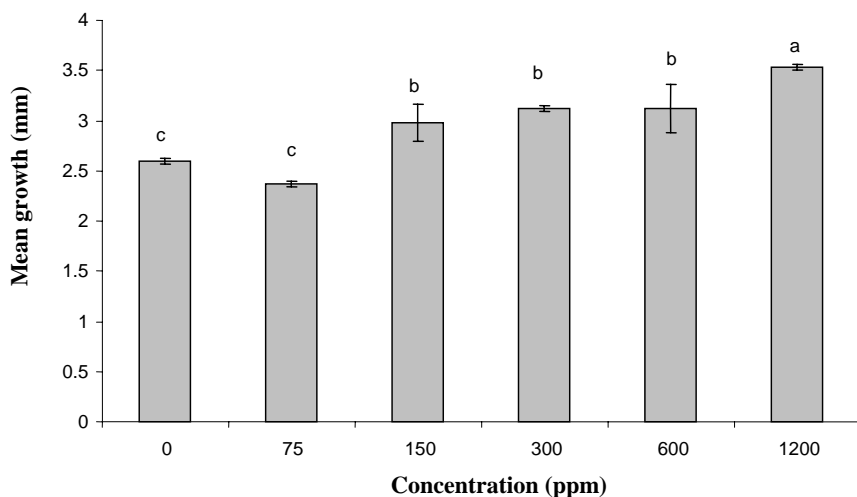


شکل ۵- نتایج آزمون چند دامنه‌ای دانکن مربوط به غلظتهای مختلف اسانس *F. gummosa* نمونه ایلام، بر میانگین رشد قارچ *R. stolonifer*

حروف متفاوت بیانگر تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد می‌باشد. میزان انحراف معیار تفاوتها در هر تکرار در بالای نمودار نشان داده شده است.

در بین غلظتهای ۰ و ۷۵ مشاهده نشده است. با وجود این، هر چه غلظت اسانس بیشتر شده است به طور نسبی تأثیر مثبت بر روی میانگین رشد این قارچ داشته است.

تأثیر تشدیدکننده غلظت بالای اسانس سمنا بر روی میانگین رشد قارچ *R. stolonifer* به وضوح در شکل ۶ نشان داده شده است. اگر چه تفاوت معنی داری در میزان رشد قارچ در بین غلظتهای ۱۵۰، ۳۰۰ و ۶۰۰ و همچنین



شکل ۶- نتایج آزمون چند دامنه‌ای دانکن مربوط به غلظتهای مختلف اسانس *F. gummosa* نمونه سمنا، بر میانگین رشد قارچ *R. stolonifer*

حروف متفاوت بیانگر تفاوت معنی دار در سطح ۵ درصد می‌باشد. میزان انحراف معیار تفاوتها در هر تکرار در بالای نمودار نشان داده شده است.

## بحث

غلظتهای بالای اسانس باریجه‌های برداشت شده از شهرهای کاشان، ایلام و سمنا بر روی میانگین رشد قارچ *B. cinerea* اثر بازدارنده داشته است، در حالی که تأثیر غلظتهای مختلف این اسانسها بر رشد قارچ *R. stolonifer* کاملاً متفاوت می‌باشد. نمونه اسانسهای کاشان و سمنا کمترین میزان رشد این قارچ را در غلظت صفر اسانس نشان می‌دهد. در کل، افزایش غلظت اسانس این سه شهر اثر مثبت بر رشد قارچ *R. stolonifer* داشته است.

بر طبق نتایج قبلی (Talebi Kouyakhi et al., 2007) مشخص شده است که دو ترکیب آلفا و بتا-پینن دو ترکیب اصلی اسانس باریجه‌های ایران را تشکیل می‌دهند.

در این تحقیق با بررسی اثر اسانسهای گیاهی مربوط به سه شهر کاشان، ایلام و سمنا بر روی دو قارچ بیماری‌زای گیاهی، متوجه شدیم که اسانس، علاوه بر اثر منفی بر رشد یک نوع قارچ، می‌تواند باعث تشدید رشد در قارچ دیگری گردد. هر دو نوع قارچ باعث ایجاد بیماریهای پس از برداشت در بسیاری از گیاهان می‌گردند. به عنوان مثال، نقش بیماری‌زای این قارچها در محصولات برداشت شده توت فرنگی گزارش شده است (Sallato et al., 2007). بنابراین کنترل این بیماریها با استفاده از روشهای بیولوژیکی دارای اهمیت می‌باشد.

کشاورزی کرج به‌واسطه در اختیار قراردادن قارچهای بیماری‌زای گیاهی و همچنین فضای کافی جهت انجام آزمایش تشکر نمایند. همچنین از آقای طالبی کویخی به‌واسطه در اختیار قرار دادن اسانسهای سه شهرستان کاشان، ایلام و سمنان تشکر می‌گردد.

### منابع مورد استفاده

- زرگری، ع.، ۱۳۸۱. گیاهان دارویی، جلد اول. چاپ ششم، انتشارات دانشگاه تهران، ۹۴۷ صفحه.
- مظفریان، و.، ۱۳۷۳. رده‌بندی گیاهی (کتاب دوم: دولپه‌ایها). چاپ اول، انتشارات سپهر، تهران، ۶۰۹ صفحه.
- Agrios, G.N., 2000. Significance of plant diseases. Academic Press, London. 952 p.
- Ghasemi, Y., Faridi, P., Mehregan, I. and Mohagheghzadeh A., 2005. *Ferula gummosa* Fruits: An Aromatic Antimicrobial Agent. Chemistry of Natural Compounds, 41: 312-316.
- Hayes, W.J. and Laws, E.R., 1991. Handbook of pesticide toxicology. Vol. 1. Academic Press, New York, 1576 p.
- Mirjana, S., Nada, B. and Valerijia, D., 2004. Variability of *Satureja cuneifolia* Ten. essential oils and their antimicrobial activity depending on the stage of development. European Food Technology, 218: 367- 371.
- Moreira, M.R., Ponce, A.G., Delvalle, C.E. and Roura, S.I., 2005. Inhibitory parameters of essential oils to reduce a food born pathogen. LWT, 38: 565-570.
- Nostro, A., Germano, M.P., Angelo, V.D., Marino, A. and Cannatelli, M.A., 2000. Extraction methods and bioautography for evaluation of medicinal plant antimicrobial activity. Letters in Applied Microbiology 30, 379-384.
- Sallato, B.V., Torres, R., Zofolli, J.P. and Latorre, B.A., 2007. Effect of boscalid on postharvest decay of strawberry caused by *Botrytis cinerea* and *Rhizopus stolonifer*. Spanish Journal of Agricultural Research, 5(1): 67-78.
- Talebi Kouyakh, E., Naghavi, M.R. and Alayha, M., 2008. Study of the Essential oil variation of *Ferula gummosa* samples from Iran. Chemistry of Natural Compounds, 44: 124-126.

نتایج ارائه شده در قالب ۶ شکل در این تحقیق نشان می‌دهد که اسانس مربوط به دو شهر کاشان و سمنان نسبت به شهر ایلام اثر بازدارندگی یا تشدیدکنندگی بیشتری دارند. از آنجایی که مقدار بتا-پینن در سه شهر مورد مطالعه تقریباً برابر بوده است، اما میزان آلفا-پینن در دو شهر کاشان و سمنان (به ترتیب ۱/۴۲ و ۲/۷۴ درصد) به مراتب کمتر از ایلام (۳۳/۹۱ درصد) گزارش شده است (Talebi Kouyakh *et al.*, 2007)، بنابراین احتمالاً یکی از عوامل مؤثر بر اثر بازدارندگی یا تشدیدکنندگی این دو قارچ به‌واسطه تفاوت در میزان آلفا-پینن موجود در اسانس آنها می‌باشد. Ghasemi و همکاران (۲۰۰۵) نیز تأثیر ضد باکتریایی و ضد قارچی اسانس باریجه را به میزان آلفا و بتا-پینن موجود در اسانس نسبت داده‌اند. البته عوامل دیگر نیز در بروز این تفاوتها می‌توانند مؤثر باشند. در حقیقت، تأثیر غلظتهای اسانس نمونه‌های مختلف بر روی میزان رشد یک قارچ، تحت تأثیر محیط و شرایط آب و هوایی گیاه و همچنین نوع روش استخراج و نوع آزمون ضد میکروبی مورد استفاده می‌باشد (Nostro *et al.*, 2000). بنابراین به‌منظور شناخت تأثیر هر یک از این اسانسها بر روی این دو نوع قارچ، توصیه می‌گردد که دامنه وسیعتری از غلظتها (بالتر از ۱۲۰۰ میکرولیتر بر لیتر به‌منظور حصول MIC) به‌همراه ارزیابی روشهای مختلف استخراج اسانس و همچنین آزمونهای مختلف ضد میکروبی انجام گیرد تا براساس این نتایج بتوان به‌طور دقیقتر تأثیر نمونه‌های اسانس و نوع ترکیبهای اسانس بر روی این دو نوع قارچ را بررسی نمود.

### سپاسگزاری

نویسندگان بر خود لازم می‌دانند تا از آقای دکتر نیکخواه و مسئولان آزمایشگاه بیماریهای گیاهی دانشکده

## Evaluation of positive and negative effects of essential oil samples of *Ferula gummosa* Boiss. on two plant phytopathogenic fungi

F. Jahansooz<sup>1</sup>, H. Ebrahimzadeh<sup>2</sup>, A.A. Najafi<sup>2</sup>, M.R. Naghavi<sup>3</sup> and H. Farzaneh<sup>4</sup>

1- MSc student of Biology, Department of Biology, University of Tehran, Iran, E-mail: Jahansooz@Khayam.ut.ac.ir

2- Department of Biology, University of Tehran, Iran.

3- Department of Agronomy and Plant Breeding, University of Tehran, Iran.

4- PhD student of Plant Pathology, Department of Plant Pathology, University of Tehran, Iran.

### Abstract

In this research antifungal activities of the essential oils of *Ferula gummosa* Boiss. from three localities (Kashan, Ilam and Semnan) against two plant phytopathogenic fungi (*B. cinerea* and *Rhizopus stolonifer*) were evaluated. The antifungal activities of essential oils against *B. cinerea* showed that the essential oil of all samples were effective against the growth of this fungus. As the control with 0 ppm concentration of the essential oil showed the highest and the 1200 ppm the lowest growth of *B. cinerea*. In contrast, the effect of the essential oils on the growth of *Rhizopus stolonifer* revealed a relatively positive effect on the higher concentrations. Our results showed that the increasing amount of the essential oils of *F. gummosa* can conclude different effects on different fungi.

**Key words:** *Ferula gummosa* Boiss., phytopathogenic fungi, essential oil concentrations.