



بررسی مقایسه ای اثرات ضدقارچی اسانس گیاه (*Rosmarinus officinalis*) تحت تاثیر کودهای مختلف بر روی قارچ (*Fusarium oxysporum*)

محمود کهنه پوشی^۱، الهام آزادفر^{۲*}، کیمیا بهرامی نژاد^۳، عبید قادرپور^۴

۱. دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

۲. دانشگاه آزاد اسلامی، واحد سبزوار، سبزوار، ایران

۳. دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

۴. دانشکده علوم، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۸/۲۱ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۹/۲۵

چکیده

به منظور بررسی اثرات ضد قارچی اسانس های بعضی از گیاهان دارویی و از جمله گیاه رزماری که اغلب بعنوان یک سبزی خوراکی مصرف میشود، یک بررسی مقایسه ای اثرات قارچ کشی اسانس گیاه رزماری تحت تأثیر کودهای مختلف بر روی قارچ فوزاریوم طراحی و به مرحله اجرا درآمد. در قسمت اول ابتدا آزمایش در قالب بلوک های کامل تصادفی با چهار تیمار و در سه تکرار انجام شد که در آن تیمارهای کودی عبارت بودند از شاهد، کود ازته از منبع اوره، کود آلی حیوانی (گاوی) و ورمی کمپوست، بعد از کاشت و طی نمودن دوره داشت و در پایان عملیات برداشت گیاه صورت گرفت و نسبت به اندازه گیری اسانس های آن ها با روش های علمی مرسوم و توصیه شده اقدام شد با توجه به نتایج بدست آمده بیشترین اسانس ناشی از مصرف کود شیمیائی ازته از منبع کود اوره بود و کمترین مقدار اسانس را نیز تیمار شاهد (عدم مصرف کود) به خود اختصاص داد و در مرحله دوم آزمایش با کاشت اسپورهای قارچ فوزاریوم در محیط کشتهای طراحی شده ضمن تایید اثرات ضد قارچی اسانس گیاه دارویی رومارن به این نتیجه منجر گردید که اسانس های تولیدی ناشی از مصرف کودهای شیمیائی و ورمی کمپوست نسبت به سایر اسانس ها اثرات بازدارندگی بیشتر و بهتری از خود نشان داده اند.

کلید واژه ها: اسانس، رومارن، قارچ کشی، کود، قارچ فوزاریوم اکسیس پوروم

* Elham_az1313@yahoo.com

مقدمه

فلات وسیع ایران، در عین حال که یک واحد خاص جغرافیایی در روی کره زمین شمرده می شود، ولی از اقلیم ها و محیط های گوناگونی در قسمت های مختلف برخوردار است. به همین دلیل، گونه های گیاهی متنوعی در آن انتشار دارد، به طوری که جوامعی گیاهی منتشر در این فلات هر یک دارای ترکیبی معین از انبوه مختلف گونه هاست (۱). در فلات مذکور، پهنه اصلی انتشار جوامع گیاهی متعلق به کشور ایران است و در میان فلور غنی ایران که بیش از ۷۵۰۰ گونه گیاهی را در بر می گیرد، تعداد بسیار زیادی از آنها را گیاهانی تشکیل می دهند که به دلایلی دارویی نامیده می شوند. این گیاهان اغلب از دیرباز توسط بشر شناخته شده و مورد استفاده قرار گرفته اند (۲). از نیمه دوم قرن اخیر، تحقیقات فارماکودینامیک وسیعی روی گیاهان دارویی در بیشتر کشورهای جهان انجام گرفته و به ویژه در چند سال اخیر کشفیات مهمی روی ترکیبات ناشناخته گیاهان مذکور حاصل شده و بر این اساس داروهای فراوانی تهیه و به بازار عرضه گردیده است، از این رو ضرورت مطالعه بر روی مواد دارویی موثر با فلور غنی، بیش از پیش اهمیت یافته است. زیرا کشف گونه های جدید دارویی از میان گیاهانی که از سرزمین های دور آورده شده اند و پی بردن به ارزش بهداشتی این گونه ها و یافتن مواد جدیدی از ویتامین ها، هورمون ها، مواد ضد میکروبی، ضد ویروسی و همچنین ضد توموری در میان آن ها، ما را به احتمال حضور مواد موثره ارزشمند در بین گیاهان، بیش از پیش امیدوار ساخت (۳). علاوه بر ضرورت حفظ ذخایر متابولیتی طبیعت، به دلایل زیر

مراقبت از رویشگاه های طبیعی اجتناب ناپذیر خواهد بود: ۱- به طور کلی گیاهان طبیعت از مقادیر ناچیزی مواد موثره دارویی برخوردارند و به لحاظ کیفی اختصاصی می باشند، بنابراین بهتر است به عنوان نمونه نگهداری شوند. ۲- از آنجا که انتشار جغرافیایی گونه های گیاهی - اعم از دارویی و غیر دارویی - تابع اوضاع خاص زیست محیطی سرزمین های مختلف می باشد، بنابراین توزیع کمی و کیفی مواد موثره گیاهان دارویی در سرزمین های مختلف جهان متفاوت خواهد بود و به مواد موثره محلی هر سرزمینی در همه جانی می توان به آسانی دسترسی پیدا نمود. ۳- گاهی اتفاق می افتد در پهنه رویشی یک قاره جغرافیایی هم نتوان زیر گونه دارویی خاصی را که مورد نظر است، پیدا نمود؛ یعنی ممکن است مثلاً دو زیر گونه از یک گونه گیاهی آن قدر با هم تفاوت داشته باشند که یکی تا حدودی غنی از متابولیت دارویی مورد نظر بوده و دیگری که به وسعت یک قاره انتشار دارد، دارای مقادیر کم و نامناسبی از آن متابولیت دارویی باشد. ۴- از آنجا که گیاهان وحشی (برخلاف گیاهان مزرعه) در محدوده های جغرافیایی گسترده ای یافت می شوند، جمع آوری و دسترسی به آنها (به فرض که قابل تجویز باشد) از نظر اقتصادی مقرون به صرفه نیست. ۵- حتی استفاده انبوه از رویشگاه های وحشی، پاسخگوی صنایع دارویی نخواهد بود. ولی چنین استفاده انبوه از گیاهان طبیعت، مسلماً موجبات نابودی آنها را فراهم خواهد ساخت (۵، ۴). با توجه به موارد ذکر شده، اقدام به اهلی نمودن، کشت و اصلاح گیاهان دارویی که نمونه آنها در طبیعت وجود دارد، ضروری به نظر می رسد. از آنجا که می توان مقدار زیادی از یک گیاه دارویی را در مساحت محدود کشت نمود، لذا نه تنها نسبت به گیاهان مشابه رویشی طبیعت - گیاهان مزرعه به سهولت قابل دسترسی هستند، بلکه کیفیت و کمیت مواد موثره تشکیل دهنده آنها نیز به راحتی قابل کنترل است (۶). فراهم

نمودن اوضاع مساعد زیست محیطی مانند: آب، هوا، عناصر اصلی و غیر اصلی، خاک، بهبود وضع خاک و مبارزه با آفات و بیماری ها در این مساحت های محدود نیز می تواند به آسانی و به موقع انجام گیرد. از این رو، صنایع نوین داروسازی و گروه های تحقیقاتی بسیاری از کشورها، توجه خود را به کشت و پرورش گیاهان دارویی معطوف داشته اند. در ایران نیز به موازات سایر کشورها تحقیقات زیادی بر روی گیاهان دارویی صورت گرفته و تحقیق حاضر نیز از این دست می باشد (۷). با مطالعاتی که تاکنون صورت گرفته است، به نظر میرسد که متابولیت های ثانویه، به عنوان موادی طبیعی، نقش های اکولوژیکی مهمی در واکنش های دفاعی گیاهان دارند. بسیاری از متابولیت ها در دفاع گیاه در مقابل آفات و امراض مؤثر می باشند (۸).

رزماری یا اکیل کوهی گیاهی بوته ای، پایا، با شاخه های بالا رونده، معطر و متعلق به خانواده نعنائیان است ه ارتفاع آن تا ۲ متر می رسد. گیاه رزماری دارای برگ های باریک با انتهائی بدون نوک و گل هایی به رن سبز تیره و به ندرت صورتی یا سفید است (۹).

تیمول و کارواکرول از اجزای اصلی اسانس خانواده نعنائیان هستند. این دو ترکیب از نظر شیمیایی بسیار به هم شبیه اند و فقط جایگاه گروه هیدروکسیل در آنها متفاوت است. تیمول و کارواکرول از اجزای ضد میکروبی بسیار مؤثر در اسانس ها هستند (۱۰). در مطالعه ای که بر روی خواص ضد قارچی اسانس رزماری انجام شد، نتیجه بدین صورت بود که اسانس رزماری می تواند بر روی قارچ ها اثرات ضد قارچی خوبی داشته باشد (۱۱). در تحقیقی دیگر

با بررسی خواص ضد قارچی اسانس گیاهان دارویی از قبیل رزماری این نتیجه چنین بود که اسانس های گیاهان دارویی مانند مرزه دارای خواص ضد قارچی قابل ملاحظه ای می باشد (۱۲). در پژوهش دیگری که بر روی فعالیت های آنتی میکروبی اسانس نعنائیان انجام شد این نتیجه بدست آمد که اسانس نعنائیان دارای خاصیت ضد قارچی بالایی است. با توجه به مشخص شدن اثرات نامطلوب مصرف سموم شیمیایی نتایج تحقیقات حاضر نشان می دهد، به جای استفاده از سموم شیمیایی و نگرانی از باقیمانده سموم در محصول میتوان از اسانس رزماری جهت کنترل قارچ آلودگی یا ستری استفاده نمود (۱۳).

مواد و روش ها

شهرستان جیرفت یکی از شهرستان های استان کرمان در جنوب شرقی ایران است. آب و هوای شهرستان جیرفت گرم و خشک است، اما به علت مجاورت با کویر آب و هوای متغیری دارد، به طوری که گاهی اوقات در تابستان ها گرم ترین و در زمستان ها سردترین نقطه کشور گزارش شده است. میزان بارندگی سالانه بطور متوسط کمتر از ۱۰۰ میلی متر است (۱۴).

به استناد آمار دریافتی از اداره هواشناسی شهرستان جیرفت میانگین مشخصات آب و هوایی این شهرستان (میانگین ده ساله) در جدول ۱ درج گردیده است.

جدول ۱: مشخصات جغرافیائی و آب و هوایی محل تحقیق (میانگین ده ساله)

مشخصات	مقیاس
ارتفاع از سطح دریا	1865
طول جغرافیایی	N=2907.214
عرض جغرافیایی	E=05818.011
متوسط باران سالانه (میلیمتر)	38.62
متوسط درجه حرارت سالانه	26.14
حداکثر مطلق درجه حرارت	47.57
حداقل مطلق درجه حرارت	-2.35
حداکثر رطوبت نسبی	98.1
حداکثر ساعات آفتابی (تیر ماه)	395
حداقل ساعات آفتابی (آذر ماه)	197
حداقل رطوبت نسبی	99.1
متوسط تعداد روز یخبندان سال	8.5
جهت بادهای غالب منطقه	255.4

مشخصات طرح

این طرح تحت عنوان "مطالعه مقایسه ای اثرات قارچ کشی اسانس گیاه رومارن تحت تاثیر کودهای مختلف بر روی قارچ *Fusarium oxysporum*" در سال ۱۳۹۵ در دو مرحله و بصورت آزمایشگاهی به مرحله اجرا درآمد که در آن ابتدا بررسی عملکرد و اجزای عملکرد و میزان اسانس گیاه دارویی رومارن تحت تاثیر تیمارهای کودی که عبارت بودند از ۱- عدم استفاده از کود (شاهد) ۲- کود شیمیایی نیتروژن (از منبع اوره) ۳- کود آلی گاوی ۴- ورمی کمپوست، در قالب طرح بلوک کامل تصادفی در سه تکرار جمعا در ۱۲ پلات آزمایشی اجرا شد. در مرحله دوم با استفاده از اسانس

استخراج شده از آزمایش اول (اسانس تولیدی از اثر هر کدام از تیمارهای کودی) به بررسی اثرات ضد قارچی این اسانس بر قارچ فوزاریوم پرداخته شد.

وضعیت خاک:

از خاک مورد استفاده جهت تهیه بستر کاشت گلدانی با همکاری و راهنمایی کارشناسان بخش تحقیقات خاک و آب ایستگاه تحقیقات کشاورزی شهرستان جیرفت نمونه ای تهیه و به آزمایشگاه بخش تحقیقات خاک و آب واقع در شهرستان جیرفت ارسال و بعد از انجام آزمایشات (۱۵)، نتایج مربوطه در جدول شماره ۲-۳ درج شده است:

جدول ۲: نتایج تجزیه خاک

بافت خاک	PH	هدایت الکتریکی Ds/m	ازت کل (درصد)	فسفر قابل جذب (p.p.m)	پتاسیم قابل جذب (p.p.m)
s-l	7.8	2.8	0.039	8.6	211

تیمارها و نوع طرح ها:

این تحقیق در دو آزمایش جداگانه و پی در پی انجام شد. ابتدا مرحله استحصال اسانس از رومارن با شرایط کودی مختلف و سپس اثر اسانس حاصل از هر تیمار، بر قارچ "Fusarium oxysporum" در شرایط آزمایشگاه بررسی گردید. قالب آماری برای این آزمایش در هر دو مرحله کاملاً تصادفی و تعداد تیمارهای مربوطه در مرحله کشت جهت استحصال اسانس ۴ عدد که در ۳ تکرار و جمعا در ۱۲ پلات آزمایشی به مرحله اجرا درآمد (۱۶).

روش کار در گلخانه:

ابتدا گلدان های مورد نظر را که در آزمایش اول تعداد آنها ۱۲ عدد می باشد با خاکی که برای بستر کاشت در نظر گرفته شد پر گردیده و سپس با تهیه کودهای مربوطه به میزان های لازم گلدان های مربوطه را بر مبنای مساحت گلدان و بر مبنای (۳۰ تن کود دامی در هکتار - اوره ۲۰۰ کیلوگرم در هکتار و ورمی کمپوست ۷ تن در هکتار) بدین صورت که تمامی کود گاوی و ورمی و نصف اوره، همزمان با کاشت به خاک اضافه شد و بقیه اوره بعد از عملیات تنک و در مرحله ۴ - ۵ برگی به خاک گلدان های مربوطه اضافه، سپس در هر صندوق ۴۰ عدد بذر با عمق ۰.۵ کشت گردید. آبیاری صندوق ها با آبیاش هر روز دو بار تا زمان سبز شدن بذور و سپس هر دو روز یکبار انجام شد و سبز شدن اولیه گیاهان

یک هفته پس از کاشت آغاز شد و تا هفده روز پس از کاشت بیش از ۸۰ درصد بوته ها سبز شدند و در مرحله دو برگی با انجام عمل تنک در هر صندوق ۲۰ بوته نگه داری شد که تا پایان آزمایش حفظ شدند. بعد از رشد گیاهان و قبل از رسیدن به مرحله زایشی، از هر تکرار ۵ بوته به صورت تصادفی انتخاب شد و صفات ارتفاع، وزن تر بوته، تعداد برگ، وزن خشک بوته اندازه گیری و در جداول مربوطه ثبت گردید (۱۷).

میزان اسانس: برای این کار، از دستگاه کلونجر استفاده شد که بر اساس تقطیر با آب کار می کند و متشکل از یک منبع حرارتی، (دستگاه گرمکن)، بالن، مبرد و لوله موین مدرج، با دقت اندازه گیری ۰.۱۵ سی سی و یک شیر دو طرفه است. اسانس رومارن، سبک تر از آب بوده و بنابراین نوعی از دستگاه کلونجر انتخاب شد که مخصوص اسانس های سبک تر از آب می باشد (۱۸).

درصد اسانس: ابتدا جرم اسانس در ماده خشک گیاهی محاسبه و پس از آن با توجه به درصد ماده خشک گیاهی درصد اسانس محاسبه شد (۱۹).

آنالیز اسانس مرزه با دستگاه (GC/MS)

پس از تهیه اسانس، با همکاری مسئولین آزمایشگاه جداسازی و شناسایی ترکیبات شیمیایی توسط دستگاه کروماتوگرافی

در دمای ۲۵+، ۱- درجه سانتی گراد قرار داده شدند. پس از گذشت ۲۴ ساعت، رشد رویشی هاله قارچ به طور روزانه و تا ۵ روز در ساعت معین اندازه گیری و ثبت شد (۲۲).

بررسی درصد بازدارندگی از رشد قارچ:

تاثیر بازدارندگی اسانس تیمارهای مختلف با استفاده از فرمول ارایه شده بررسی شد (۲۳):

$$GI = (dc - dt / dc) 100$$

Growth Inhibition (GI): بازدارندگی از رشد (میلی متر)

diameter control (dc): میانگین قطر رشد قارچ در تیمار شاهد (میلی متر)

diameter treatment (dt): میانگین قطر رشد قارچ در تیمار مورد نظر (میلی متر)

بررسی قطر هاله عدم رشد در روش دیسک گذاری:

برای هر تکرار همانند مرحله قبل محیط کشت مربوطه تهیه و سپس به هر کدام ۲۰ میکرولیتر از اسانس هر تیمار، روی دیسک های کاغذی که درون پتری با فاصله منظم قرار داشتند، ریخته شد. دیسک های قارچی در وسط پتری قرار گرفت و دور آنها با پارافیلیم پوشیده شد. ظروف پتری به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۵ درجه سانتی گراد در انکوباتور قرار داده شدند و شعاع هاله بازدارندگی به وسیله خط کش یا کولیس از جهات متفاوت دیسک، یادداشت برداری و میانگین آن در محاسبات لحاظ شد (۲۴).

مجهز به طیف سنج جرمی (GC/MC) انجام شد. پس از تزریق اسانس طیف کروماتوگرام که نشان دهنده تعدادی ترکیب میباشد مشاهده گردید که با استفاده از زمان بازداری (RI)، طیف جرمی و مقایسه آن با ترکیبات موجود در جداول مرجع شناسایی ترکیبات اسانس و تعیین درصد کمی در آن ها انجام شد (۲۰).

تهیه قارچ

با راهنمایی محققین آفات و بیماری های شاغل در ایستگاه تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی شهرستان جیرفت اسپورهای جوان قارچ فوزاریوم جهت انجام این آزمایش از موسسه تحقیقات آفات و بیماری های گیاهی تهران تهیه گردید (۲۱).

بررسی بازداری از رشد با روش اختلاط اسانس با محیط کشت:

در این روش، ابتدا از اسانس های حاصل از تیمارهای کودی مرحله اول آزمایش با محلول توین ۸۰ (۰.۰۵ درصد) امولسیون تهیه شد. و با راهنمایی محققین محلول توین نیز به عنوان یک تیمار اضافی در نظر گرفته شد. سپس محیط کشت PDA باندازه لازم تهیه و قبل از اینکه به حالت جامد تغییر شکل دهد به ۶ قسمت مساوی (تعداد تیمارهای مورد بررسی در هر تکرار) تقسیم گردید و در مرحله بعد اسانس های تیمارهای مربوطه به این محیط ها با غلظت ۲۵۰ پی پی ام اضافه نموده و بلافاصله به داخل ظروف پتری قرار گرفتند و بعد از اینکه به حالت جامد تغییر شکل داده شد. سپس دیسک های قارچی به طول ۵ میلیمتر از لبه کلنی از کشت های جوان قارچ مذکور، در قسمت وسط ظروف پتری حاوی محیط کشت و اسانس قرار داده شد و اطراف آن پارافیلیم کشیده شد. ظروف پتری مایه زنی شده در انکوباتور

و در طول مدت نگهداری قطر هاله عدم رشد، اندازه گیری و ثبت شد (۲۵).

بحث و نتایج

در آزمایش اول میزان اسانس بر مبنای اطلاعات درج شده در جدول ۳ (خلاصه آنالیز واریانس آزمایش اول) که حاصل تجزیه و تحلیل آماری اطلاعات اندازه گیری شده است.

بررسی قطر هاله عدم رشد در روش حفر چاهک:

پس از تهیه محیط کشت PDA و انتقال به ظروف پتری و جامد شدن آن، دیسک های قارچ در وسط هر پتری قرار داده شد و ۳ چاهک در هر پتری به قطر ۰.۵ میلی متر با فواصل منظم از هم و از دیواره حفر شد و درون هر چاهک ۲۰ میکرولیتر اسانس با غلظت 250 ppm اضافه شد و روی پتری ها با پارافیلیم پوشیده شد. نمونه ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۵ درجه سانتی گراد درون انکوباتور قرار گرفت

جدول ۳- خلاصه آنالیز واریانس صفات کمی مورد بررسی (میانگین مربعات EMS)

منابع تغییر	درجه آزادی	ارتفاع بوته	تعداد شاخه فرعی	مقدار اسانس	تعداد برگ	وزن خشک اندام هوایی (تک بوته)	وزن تر اندام هوایی (تک بوته)
تکرار	۲	6.350n.s	4.982 **	39.97 n.s	183454.073 n.s	52.595 **	1460.92 *
منابع کودی	۳	71.404**	17.861**	76.60n.s	973456.316**	591.182**	13675.89**
خطای آزمایش	۶	1.612	0.4004	17.779	76742.659	32.896	218.12
درصد C.V		20.38	4.38	20.53	5.67	3.41	4.99

* : وجود اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد

** : وجود اختلاف بسیار معنی دار در سطح ۱ درصد

n.s : عدم وجود اختلاف معنی دار آماری

در آزمایش دوم اثرات ضد قارچی اسانس تولید شده در آزمایش اول بر روی قارچ فوزاریوم اکسیس پوروم بررسی شده است.

حاصل از تیمار کودی شاهد (هیچ نوع کودی استفاده نشده بود) تعلق گرفته است و کمترین رشد قطر قارچ به حالتی اختصاص دارد که در آن از اسانس تولیدی ناشی از اعمال منبع کودی ورمی کمپوست استفاده شده است و قطر رشد

با توجه به نتایج تجزیه و تحلیل داده های حاصل از اندازه گیری قطر رشد قارچ فوزاریوم در حالت اختلاط با محیط کشت و مقایسه میانگین انجام شده که نتایج آنها در جدول ۴ نشان داده شده است بیشترین رشد قطر قارچ به اسانس

قارچ ناشی از استفاده از اسانس تولیدی کود اوره و حیوانی حالت بینابینی دارند. و با یکدیگر در یک گروه آماری طبقه بندی گردیده اند. نکته قابل تامل در این آزمایش این است که قطر رشد قارچ ناشی از تیمار شاهد (عدم استفاده از اسانس) و تیمار توفین (ماده ای که جهت رقیق نمودن اسانس های بدست آمده از آن استفاده شد) اختلاف بسیار معنی داری با یکدیگر و تواما با تیمار اسانس تولیدی ناشی از تیمار عدم استفاده از کود دارند. منظور این است که حتی اگر گیاه رومارن با هیچ نوع کودی تیمار نگردد اسانس آن حالت ضد قارچی بسیار بالائی در مقایسه با عدم استفاده از اسانس در مبارزه با قارچ فوزاریوم از خود نشان داده است.

در آزمایش وردین و همکاران (۲۰۰۸) با استفاده از روش دیسک گذاری تاثیر صفت ضد قارچی اسانسهای تولیدی در آزمایش قبل بررسی شد با تجزیه و تحلیل داده های این آزمایش و مقایسه میانگین صورت گرفته این نتیجه حاصل شد که بیشترین خاصیت ضدقارچی را اسانس تولیدی از مصرف کود ورمی کمپوست در مقایسه با سه اسانس تولیدی دیگر از خود نشان داده است چرا که با استفاده از این اسانس قطر هاله عدم رشد قارچ بیشترین مقدار ممکن (بالتر از ۷۵ میلیمتر) میباشد و در واقع اجازه رشد به قارچ در آن حالت داده نشده است در حالیکه قطر هاله عدم رشد ناشی از مصرف اسانس تیمار کودی شاهد (اسانس بدست آمده ناشی از عدم مصرف کود) حدود ۶۷.۱۲ میلیمتر میباشد که در مقایسه ۴ اسانس مورد استفاده ضعیفترین وضعیت ضد قارچی را از خود نشان داده است. اسانس تولیدی ناشی از اعمال تیمار کودی حیوانی و اوره حالت بینابینی از نظر خواص ضدقارچی دارد این مقایسه ها در جدول ۴ (خلاصه آنالیز واریانس قسمت دوم آزمایش نمایش داده شده است (۲۶).

در آزمایش وان و همکاران (۲۰۱۹) با استفاده از روش حفر چاهک تاثیر صفت ضد قارچی اسانس های تولیدی در آزمایش کودی قبل بررسی شد با تجزیه و تحلیل داده های این آزمایش و مقایسه میانگین صورت گرفته این نتیجه مشاهده شد که بیشترین خاصیت ضدقارچی را اسانس تولیدی از مصرف کود ورمی کمپوست در مقایسه با سه اسانس تولیدی دیگر از خود نشان داده است چرا که با استفاده از این اسانس قطر هاله عدم رشد قارچ فوزاریوم بیشترین مقدار ممکن (بالتر از ۷۶ میلیمتر) می باشد و در واقع اجازه رشد به قارچ در آن حالت داده نشده است در حالی که قطر هاله عدم رشد ناشی از مصرف اسانس تیمار کودی شاهد (اسانس بدست آمده ناشی از عدم مصرف کود) حدود ۶۷.۵۴ میلیمتر می باشد که در مقایسه با سه اسانس دیگر مورد استفاده ضعیفترین وضعیت ضد قارچی را از خود نشان داده است. اسانس تولیدی ناشی از اعمال تیمار کودی حیوانی و اوره حالت بینابینی از نظر خواص ضدقارچی دارد نکته حائز اهمیت در این دو آزمایش این است که خاصیت ضد قارچی اسانس تولیدی ناشی از اعمال تیمار کود حیوانی بیشتر از اسانس تولیدی ناشی از اعمال تیمار کودی اوره از خود نشان داده است. این مقایسه ها در جدول ۴ (خلاصه آنالیز واریانس قسمت دوم آزمایش نمایش داده شده است (۲۷).

اطلاعات درج شده در جدول آنالیز واریانس حکایت از این دارد که بین درصد اثرات بازدارندگی اسانس های مختلف تولیدی از گیاه رومارن اختلاف بسیار معنی داری در سطح آماری ۱ درصد وجود دارد به نحوی که بیشترین درصد بازدارندگی را همانند آزمایشات قبل اسانس تولیدی از منبع کودی ورمی کمپوست به خود اختصاص داده است و در نقطه مقابل نیز ضعیفترین درصد بازدارندگی را اسانس تولیدی از منبع کودی شاهد (عدم مصرف کود) از خود نشان

و درصد بازدارندگی اسانس های تولیدی ناشی از اعمال این سه تیمار در یک گروه آماری دسته بندی گردیده اند.

داده است و در واقع بین درصد بازدارندگی اسانسهای تولیدی ناشی از مصرف منابع کودی اوره و حیوانی با تیمار کودی شاهد هیچگونه اختلاف معنی دار آماری وجود ندارد

جدول ۴- روش اختلاط با محیط کشت (الف)

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
تیمار	5	7236.738363	1455.347672	371.44	<.0001
خطای آزمایش	18	81.978638	4.008813		
C.V %	6.165030				

جدول ۴- روش دیسک گذاری (ب)

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
تیمار	5	11888.54916	2385.70983	2351.84	<.0001
خطای آزمایش	18	19.26036	1.61446		
C.V %	1.81				

جدول ۴- روش حفر چاهک (ج)

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
تیمار	5	12172.88382	2424.57676	2669.55	<.0001
خطای آزمایش	18	17.34198	0.98789		
C.V %	1.71				

جدول ۵- آنالیز واریانس درصد بازدرندگی از قارچ فوزاریوم

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
منبع کودی	2	676.65	232.21	162.78	<0.0001
خطا	8	12.635	1.464		
C.V درصد			1.74		

جدول ۶- ضرائب همبستگی صفات مورد بررسی

Pearson Correlation Coefficients, N = 12 Prob > r under H0: Rho=0						
	ارتفاع بوته	شاخه فرعی	مقدار اسانس	تعداد برگ در بوته	وزن خشک تک بوته	وزن تر تک بوته
ارتفاع بوته	1.00000					
تعداد شاخه فرعی	0.86574 **	1.00000				
مقدار اسانس	0.61069 *	0.77965 **	1.00000			
تعداد برگ در بوته	0.85787 **	0.75022 **	0.59613 *	1.00000		
وزن خشک تک بوته	0.93960 **	0.89055 **	0.53611 n.s	0.87861 **	1.00000	
وزن تر تک بوته	0.92544 **	0.76283 **	0.43055 n.s	0.88723 **	0.96399 **	1.00000

* : وجود اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد

** : وجود اختلاف بسیار معنی دار در سطح ۱ درصد

n.s : عدم وجود اختلاف معنی دار آماری

با توجه به نتایج درج شده در جدول ۶ ضرایب همبستگی بجز همبستگی بین مقدار اسانس و وزن تر و خشک تک بوته بین بقیه صفات با یکدیگر همبستگی بسیار معنی داری وجود دارد و میتوان اینگونه ادعا نمود که مقدار اسانس بیشتر تحت تاثیر مقدار و تعداد برگ است و میتوان نتیجه گیری نمود که مقدار اسانس موجود در برگ گیاه مزه از سایر اندام شاخساره شامل ساقه اصلی و فرعی و ریشه بیشتر است.

نتیجه گیری

نتایج نشان داد که منابع مختلف نیتروژن بر صفات کمی و کیفی گیاه رومارن تأثیر معنی داری داشته و برای تولید ماده خشک و اسانس بیشتر باید کود نیتروژن به شکل آلی و یا شیمیایی مصرف شود که علت آن نقش نیتروژن در افزایش تولید ماده خشک و افزایش طول دوره رشد می باشد. نیتروژن با افزایش تقسیم و افزایش تورژسانس سلول های مرستمی سبب افزایش رشد رویشی و شاخه دهی گیاهان می شود. البته کمبود نیتروژن مانع ساخته شدن

پارانشیم و اسکلرانشیم شده و در نتیجه گیاه خاصیت ارتجاعی خود را از دست داده و در اثر کاهش خاصیت ارتجاعی، طول رگبرگ ها و قطر برگ ها افزایش یافته و بر تعداد روزنه ها افزوده می شود و در نهایت ارتفاع گیاه کاهش می یابد (۲۸). به طور کلی نتایج این تحقیق نشان داد که تیمارهای کودی بر خصوصیات کمی و کیفی گیاه رومارن سبز تأثیر داشته و علاوه بر آن نوع نیتروژن مصرفی نیز بر این صفات تأثیر دارد و جهت حصول بیشترین عملکرد اقتصادی و اسانس می توان اقدام به مصرف مشترک منابع کودی نمود البته کاربرد کود های آلی و زیستی به تنهایی و یا در ترکیب با کود شیمیایی علاوه بر بهبود خصوصیات کمی و کیفی گیاه دارویی رومارن در پایداری تولید و حفظ محیط زیست نیز تأثیر مثبتی داشته و با توجه به ضرورت تولید گیاهان دارویی در نظام های زراعی از یک طرف و لزوم توجه به کشت این گیاهان در نظام های کم نهاده از طرف دیگر، به نظر می رسد کودهای آلی و زیستی جایگزین مناسبی برای کودهای شیمیایی در تولید این گیاهان باشند.

1. Motaghi K, Tatar M, Priestley K, Romanelli F, Doglioni C, Panza GF. The deep structure of the Iranian Plateau. *Gondwana Research*. 2015 Aug 1; 28(1):407-18.
2. Noroozi J, Talebi A, Doostmohammadi M, Manafzadeh S, Asgarpour Z, Schneeweiss GM. Endemic diversity and distribution of the Iranian vascular flora across phytogeographical regions, biodiversity hotspots and areas of endemism. *Scientific reports*. 2019 Sep 10; 9(1):12991.
3. Singh D, Gawande DY, Singh T, Poroikov V, Goel RK. Revealing pharmacodynamics of medicinal plants using in silico approach: a case study with wet lab validation. *Computers in Biology and Medicine*. 2014 Apr 1; 47:1-6.
4. Salmerón-Manzano E, Garrido-Cardenas JA, Manzano-Agugliaro F. Worldwide research trends on medicinal plants. *International journal of environmental research and public health*. 2020 May; 17(10):3376.
5. Süntar I. Importance of ethnopharmacological studies in drug discovery: role of medicinal plants. *Phytochemistry Reviews*. 2020 Oct; 19(5):1199-209.
6. Wang W, Xu J, Fang H, Li Z, Li M. Advances and challenges in medicinal plant breeding. *Plant Science*. 2020 Sep 1; 298:110573.
7. Amiri MS, Yazdi ME, Rahnama M. Medicinal plants and phytotherapy in Iran: Glorious history, current status and future prospects. *Plant Science Today*. 2021 Jan 1; 8(1):95-111.
8. Pang Z, Chen J, Wang T, Gao C, Li Z, Guo L, Xu J, Cheng Y. Linking plant secondary metabolites and plant microbiomes: a review. *Frontiers in plant science*. 2021 Mar 2; 12:621276.
9. Zarghi H, Golian A, Kermanshahi H. The effect of rosemary hydro-alcoholic (*Rosmarinus Officinalis* L.) extract on performance and egg quality in laying hens. *Iranian Journal of Animal Science*. 2015 Mar 21; 46(1):1-8.
10. Gholami-Ahangaran M, Ahmadi-Dastgerdi A, Azizi S, Basiratpour A, Zokaei M, Derakhshan M. Thymol and carvacrol supplementation in poultry health and performance. *Veterinary Medicine and Science*. 2022 Jan; 8(1):267-88.
11. Abdollahi M, Damirchi S, Shafafi M, Rezaei M, Ariaii P. Carboxymethyl cellulose-agar biocomposite film activated with summer savory essential oil as an antimicrobial agent. *International journal of biological macromolecules*. 2019 Apr 1; 126:561-8.
12. Bumedi F, Aran M, Miri MA, Seyedabadi E. Preparation and characterization of zein electrospun fibers loaded with savory essential oil for fruit preservation. *Industrial Crops and Products*. 2023 Nov 1; 203:117121.
13. Zhao H, Ren S, Yang H, Tang S, Guo C, Liu M, Tao Q, Ming T, Xu H. Peppermint essential oil: Its phytochemistry, biological activity, pharmacological effect and application. *Biomedicine & pharmacotherapy*. 2022 Oct 1; 154:113559.
14. Kamali M, Sarvtin MT. Diversity and Distribution Patterns of Culturable Airborne Fungi in Jiroft City. *International Journal of Medical Laboratory*. 2023.
15. Sanjari S, Farpoor MH, Mahmoodabadi M, Barkhori S. Soil Taxonomy and WRB comparison to classify soils with different climatic conditions in Kerman province. *Agricultural Engineering*. 2021 Feb 19; 43(4):479-93.
16. Salehi A, Ghalavand A, Sefidkon F, Asgharzade A. The effect of zeolite, PGPR and vermicompost application on N, P, K concentration, essential oil content and yield in organic cultivation of German Chamomile (*Matricaria chamomilla* L.). *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research*. 2011 Jul 23; 27(2):188-201.
17. Aliyar S, Aliasgharzad N, Dabbagh Mohammadi Nasab A, Oustan S. The effect of Vermicompost application on growth and water relationships of quinoa plant under salinity stress conditions. *Journal of Agricultural Science and Sustainable Production*. 2021 Oct 23; 31(3):131-47.
18. Sheerzad S, Khorrami R, Khanjari A, Gandomi H, Basti AA, Khansavar F. Improving chicken meat shelf-life: Coating with whey protein isolate, nanochitosan, bacterial nanocellulose, and cinnamon essential oil. *LWT*. 2024 Apr 1; 197:115912.
19. Ramezan, G. and B. Abbaszadeh. "The effect of drought stress on yield, content and percentage of essential oil of *Nepeta pogonosperma* Jamzad et

Assadi under different plant density." Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants. 2016 31(6).

20. Özkan OE, Güney K, Gür M, Pattabanoğlu ES, Babat E, Khalifa MM. Essential oil of oregano and savory: Chemical composition and antimicrobial activity. Indian J Pharm Educ Res. 2017 Jul 1;51(3):S205-8.

21. Seong KY, Zhao X, Xu JR, Güldener U, Kistler HC. Conidial germination in the filamentous fungus *Fusarium graminearum*. Fungal Genetics and Biology. 2008 Apr 1; 45(4):389-99.

22. Gutierrez J, Barry-Ryan C, Bourke P. The antimicrobial efficacy of plant essential oil combinations and interactions with food ingredients. International journal of food microbiology. 2008 May 10; 124(1):91-7.

23. Abbott WS. A method of computing the effectiveness of an insecticide. J. econ. Entomol. 1925 Apr 1; 18(2):265-7.

24. Arab M, Arab N, Kahrizi D, Ebadi AG. Evaluating Antibacterial Effects of Alcoholic Extracts and Essential Oil of *Althaea officinalis* Against Two Types of Gram-positive and Gram-

negative Bacteria (*Bacillus cereus* and *Klebsiella pneumonia*). Journal of Medicinal plants and By-Products. 2023 Apr 1; 12(1):107-15.

25. Hendra R, Ahmad S, Sukari A, Shukor MY, Oskoueian E. Flavonoid analyses and antimicrobial activity of various parts of *Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl fruit. International journal of molecular sciences. 2011 May 27; 12(6):3422-31.

26. VERDIAN RM, SADAT EE, HAJI AA, Fazeli MR, PIRALI HM. Chemical composition and antimicrobial activity of *Artemisia annua* L. essential oil from Iran.

27. Wan J, Zhong S, Schwarz P, Chen B, Rao J. Physical properties, antifungal and mycotoxin inhibitory activities of five essential oil nanoemulsions: Impact of oil compositions and processing parameters. Food chemistry. 2019 Sep 1; 291:199-206.

28. Mengel, K. Ernährung und stoffwechsel der pflanze.1984.

A comparative study of the fungicidal effects of plant Essential Oil *Rosmarinus Officinalis* under the effect of different fertilizers on the fungus *Fusarium Oxysporum*

Mahmoud Kohne Poushi ¹, Elham Azadfar ^{*2}, Kimia Bahrami Nejad ³, Obaid Ghaderpoor ⁴

1. Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran.
2. Islamic Azad University, Sabzevar Branch, Sabzevar, Iran.
3. Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran.
4. Faculty of Science, Kharazmi University, Tehran, Iran

Abstract

In order to investigate the antifungal effects of essential oils of some medicinal plants, including rosemary, which is often consumed as an edible vegetable, a comparative study of the fungicidal effects of rosemary essential oil under the influence of different fertilizers on *Fusarium* fungus was designed and implemented. In the first part, the experiment was conducted in a randomized complete block design with four treatments and three replications, in which the fertilizer treatments were control, nitrogen fertilizer from urea source, organic animal manure (cow), and vermicompost, after planting and passing the period. At the end of the operation, the plants were harvested and their essential oils were measured using conventional and recommended scientific methods. According to the results obtained, the most essential oil was from the use of chemical nitrogen fertilizer from urea fertilizer source, and the lowest amount of essential oil was from the control treatment (no fertilizer use). In the second stage, the experiment was conducted by planting spores of the *Fusarium* fungus in the designed culture medium, while confirming the antifungal effects of the essential oil of the medicinal plant rosemary. It led to the conclusion that the essential oils produced from the use of chemical fertilizers and vermicompost showed more and better inhibitory effects than other essential oils.

Keywords: Essential oil, *Rosmarinus*, Fungicide, Fertilizer, *Fusarium oxysporum*

* Elham_az1313@yahoo.com