



Evaluation the Effect of Denaei Thyme Essential Oil and Two Fungicides Fosetil Aluminum & Mancozeb-Metalaxyl on the Control of Cucumber Crown Phytophthora Rot Due to *Phytophthora* sp.

Javad Mahboubi Fooladi¹, Jalal Gholamnezhad^{2*}, Mojdeh Maleki¹, Masoud Fehrest Sani² and Kaveh Javanshir Javid³

- 1- Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Tehran, Iran
 2- Department of Horticulture, Faculty of Agriculture & Natural Resources, Ardakan University, Ardakan, Iran
 3- Department of Soil & Plant Systems, Faculty of Agricultural Sciences, University of Southern Illinois, Illinois, USA

*Corresponding author: jalal.gholamnejad@gmail.com

(Received: 15 December 2021

Revise: 24 March 2022

Accepted: 15 April 2022)

Extended Abstract

1. Introduction: Greenhouse cucumber is one of the most importance economic crops in Iran and many countries of the world. Many diseases threaten cucumber, and in other words, this product is always exposed to pathogenic organisms in its living environment, in which fungi and other plant pathogens cause many losses in vegetable and summer fields in Iran and around the world. Destructive diseases that cause significant damage to vegetable and summer crops in fields and greenhouses every year are seedling death disease and plant death disease caused by *Phytophthora pseudofungus*. The use of plant extracts and essential oils are of great value because so far no resistance to these types of compounds has been observed in pests and diseases, perhaps the reason for this is the presence of various effective compounds in these compounds and considering. The existing problems regarding the use of fungicides, study and research on new and reliable and low-cost methods for the control and management of plant diseases is a necessity for agriculture mangnt in the world. In this study, the antifungal effects of denaei thyme essential oil (*Zataria multiflora*) & two fungicides fusetyl aluminum & metalaxyl-mancozeb were investigated to control the disease of greenhouse cucumber caused by *Phytophthora*.

2. Materials and Methods: In autumn and winter of 2018, sampling of cucumber greenhouses suspected of contamination was done in Garmsar city, Semnan province, Iran. The pathogenicity test of pseudofungal isolates was performed. Cucumber seeds were transferred to pots after germination and having two leaves. In the three- to four-leaf stage of the seedlings, the soil near the crown and roots was removed and the colony causing *Phytophthora* disease was placed next to the crown. In the control treatment, only pure culture medium without pseudofungi was used. Disease evaluation was done one month later. The test of mixing these three factors (thyme essential oil & two fungicides fusetil aluminum & metalaxyl-mancozeb) was used for laboratory tests; In this research, in addition to the effect of denaei thyme essential oil, fustil aluminum and metalaxyl-mancozeb were also used in five concentrations of 5, 15, 30, 45 and 60 ppm on *Phytophthora pseudofungus*. In order to determine the inhibition percentage of denaeithyme extract. Also, denaei thyme extract was evaluated in different concentrations including 250, 500, 1000, 1500 and 2000 ppm. In greenhouse tests including pathogenicity test, evaluation of the mentioned treatments on the symptoms of the disease caused by *Phytophthora* sp. The activity of peroxidase, catalase & phenylalanine ammoniolyase was also investigated. In first, the seeds of the cucumber plant after disinfection and cultivation in pots, in the stage of three to four leaves, according to the method of proving pathogenicity, respectively, the pathogen of *Phytophthora* sp. were inoculated (Gholamnezhad *et al.*, 2016). After 24 hours, 50 ml of denaei thyme extract and the fungicides used in this research were added to the soil around the roots of the plants infected with the pathogen with a concentration of 1500 and 150 ppm, respectively.

3. Results and Discussion: The results showed that among the five fungal isolates studied in this study, isolates P1 & P5 caused more disease (78.52 & 62.68%, respectively). In the test of the effect of different treatments in preventing the growth of pathogenic fungal mycelium, a concentration of 60 ppm of metalaxyl-mancozeb fungicide with 96.32% had the highest effect in the control of the pathogen, but also concentration of 5 ppm of fossil aluminum with a rate of 12.30% had the lowest effect. . In present reserch metalaxyl-mancozeb fungicide 150 ppm by 88.60% inhibition of the pathogen and fusetil aluminum fungicide 150 ppm by 79.37% reduction of disease in the greenhouse were the best treatments during study. These results showed that to increase the effectiveness of this essential oil, it is necessary to use a higher concentration of essential oil compared to the chemical compounds studied in this study.

4. Conclusion: According to the results of this study, thyme essential oil has a high potential both in terms of antifungal power and induction of plant defense mechanisms against plant pathogens. However, the results of parametric analysis as well as analysis of variance showed that, compared to chemical compounds, higher concentrations of plant essential oils should be used to combat this disease.

Keywords: Crown rot, Cucumber, Essential oil, Fusetil aluminum, Metalaxyl-Mancozeb, Parametric analysis, Thyme.

Citation: Mahboubi Fooladi, J., Gholamnezhad, J., Maleki, M., Fehrest Sani, M. and Javanshir Javid, K. (2022). Evaluation of the effect of thyme essential oil and two fungicides, fusetil aluminum and mancozeb-metalaxyl on the control of cucumber crown phytophthora rot due to *Phytophthora* sp. Journal of Vegetables Sciences, 11(1), 97-112. doi: 10.22034/iuvs.2022.544934.1188

Copyrights:

Copyright for this article is retained by the author(s), with publication rights granted to Journal of Vegetables Sciences. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>).



بررسی تأثیر اسانس آویشن دنايي و دو قارچ کش فوزتیل آلومینیوم و مانکوزب - متالاکسیل در کنترل بیماری پوسیدگی فیتوفتورایی طوقه‌ی خیار در اثر بیمارگر *Phytophthora sp.*

جواد محبوبی فولادی^۱، جلال غلام‌نژاد^{۲*}، مژده ملکی^۱، مسعود فهرستی ثانی^۳ و کاوه جوانشیرجاوید^۴

۱- گروه بیماری‌شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، واحد ورامین- پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، تهران، ایران

۲- گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه اردکان، اردکان، ایران

۳- گروه اقتصاد کشاورزی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه اردکان، اردکان، ایران

۴- دانشکده علوم کشاورزی، گروه سیستم‌های گیاهی خاک و کشاورزی، دانشگاه ایلینوی جنوبی، ایالت ایلینوی، ایالات متحده آمریکا

*نویسنده مسئول: jalal.gholamnejad@gmail.com

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۱/۲۶

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۰۱/۰۴

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۹/۲۴

چکیده

کشت خیار به صورت گلخانه‌ای در ایران در سال‌های اخیر بسیار گسترش پیدا کرده است. در این بررسی، تأثیر اسانس آویشن دنايي و دو قارچ‌کش فوزتیل آلومینیوم و متالاکسیل-مانکوزب برای بیماری بوته‌میری گیاه خیار گلخانه‌ای ناشی از شبه قارچ فیتوفتورا، در سال ۱۳۹۸ در دانشگاه آزاد اسلامی واحد پیشوا-ورامین، مطالعه شد. در آزمون گلخانه‌ای اثر تیمارهای مذکور بر روی فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز، کاتالاز و همچنین آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیاز در گیاه خیار که به وسیله‌ی شبه قارچ *Phytophthora sp.* آلوده شده بود، اندازه‌گیری شد. نتایج تأثیر تیمارهای مختلف بر مکانیسم‌های دفاعی گیاه خیار نشان داد که بیشترین فعالیت سه آنزیم پراکسیداز، کاتالاز و همچنین آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیاز مربوط به تیمار گیاه خیار آلوده‌ی تیمار شده با غلظت ۱۵۰ پی‌پی‌ام قارچ‌کش فوزتیل آلومینیوم بوده که در ششمین روز بعد از آلوده‌سازی با بیمارگر این میزان فعالیت در مورد آنزیم پراکسیداز به مقدار $\Delta\text{OD}/\text{Min}/\text{mg protein}$ ۱/۹۵ رسید. روند فعالیت هر سه آنزیم تا روز ششم افزایشی و سپس کاهش بود، به این صورت که در روز دهم بعد از آلوده‌سازی خیارها با عامل بیمارگر، میزان فعالیت این آنزیم در تیمار فوزتیل آلومینیوم کاهش یافت و به مقدار $\Delta\text{OD}/\text{Min}/\text{mg protein}$ ۱/۲۹ رسید. تیمار استفاده از قارچ‌کش فوزتیل آلومینیوم در تمام روزهای نمونه‌برداری نسبت به همه‌ی تیمارهای دیگر دارای اختلاف معنی‌دار از نظر سطح فعالیت آنزیم بود. در تمام روزهای نمونه‌برداری، فعالیت آنزیم‌ها در تیمار متالاکسیل-مانکوزب به صورت معنی‌داری بیشتر از شاهد بود. در روز دهم بعد از نمونه‌برداری میزان فعالیت هر سه آنزیم در تمام تیمارها نسبت به روز هشتم کاهش یافت، اما باز روند فعالیت آنزیم در مورد تیمارهای مختلف مانند سایر روزها بود. به عبارت دیگر همه‌ی تیمارها قادر به افزایش فعالیت این آنزیم نسبت به شاهد بودند، اما مهم‌تر از آن این آنزیم تحت تأثیر روزهای نمونه‌برداری نیز بود. نتایج نشان داد که تیمار آویشن دنايي در تمام روزهای نمونه‌برداری قادر به القای آنزیم‌های دفاعی در برابر بیمارگر بود. به بیانی دیگر اسانس این گیاه توانست در کنار القاگرهای شیمیایی بر مکانیسم‌های دفاعی گیاه اثر گذاشته و از این راه، باعث کاهش خسارت بیمارگرها به گیاه شود.

واژه‌های کلیدی: آویشن، اسانس، تحلیل پارامتریک، پوسیدگی طوقه، خیار، فوزیتل آلومینیوم، متالاکسیل-مانکوزب.

استناد: محبوبی فولادی، ج.، غلام‌نژاد، ج.، ملکی، م.، فهرستی ثانی، م. و جوانشیرجاوید، ک. (۱۴۰۱). بررسی تأثیر اسانس آویشن دنايي و دو قارچ‌کش، فوزتیل آلومینیوم و مانکوزب-متالاکسیل در کنترل بیماری پوسیدگی فیتوفتورایی طوقه‌ی خیار در اثر بیمارگر *Phytophthora sp.* علوم سبزی‌ها، ۱۱(۱)، ۹۷-۱۱۲.

حق چاپ:



حق چاپ برای نویسنده (گان) این مقاله محفوظ است. بر اساس قوانین انتشارات با دسترسی آزاد، تمام مطالعات چاپ شده در این مجله به صورت آزاد در وب سایت مجله برای عموم بدون پرداخت هزینه قابل دسترس است.

مقدمه

(Amvam zollo *et al.*, 1998). استفاده از عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی به این جهت دارای ارزش فوق العاده است که تاکنون هیچگونه مقاومتی در برابر این نوع ترکیبات در آفات و بیماری‌ها مشاهده نشده است، شاید دلیل این امر موجود بودن ترکیبات مؤثره‌ی متنوع در این ترکیبات است (Amini *et al.*, 2012) و با توجه به مشکلات موجود در مورد کاربرد قارچکش‌ها، مطالعه و تحقیق در خصوص روش‌های جدید و مطمئن و کم‌هزینه برای کنترل و مدیریت بیماری‌های گیاهی یک ضرورت است (Martinez *et al.*, 2007).

آویشن دنیایی (*Zataria multiflora*) از خانواده‌ی نعناع، گیاهی است که مطالعات فراوانی در مورد اثرات ضدقارچی آن انجام شده است. سرشاخه‌های گلدار این گیاه علفی و چندساله کاربرد وسیعی در تهیه دارو و درمان انسان در طب سنتی دارد. تیمول و کارواکرول از مهمترین ترکیبات مؤثره هستند که در این گیاه وجود دارند. مواد مؤثره آویشن از سرشاخه‌های گلدار و برگ‌های خشک‌شده گیاه به دست می‌آیند. از مهم‌ترین ترکیبات فنولی گزارش شده در آویشن تیمول در حد ۷۰ درصد می‌باشد (Sitara *et al.*, 2008). مطالعات گوناگون اثرات ضد میکروبی *Candida albicans* (Ghasemi Pirbalouti *et al.*, 2009)، *Escherichia coli*، *Saprolegnia parasitica* و *Pseudomonas aeruginosa* به اثبات رسیده است (Tajalipour *et al.*, 2014).

یکی از جنبه‌هایی که باید در مورد اسانس و عصاره‌های گیاهی مورد مطالعه قرار گیرد، تأثیر این ترکیبات بر روی مکانیسم‌های دفاعی گیاه، مانند تأثیر بر روی آنزیم‌های دفاعی و همچنین تأثیر بر روی میزان بیان ژن‌های دفاعی گیاهان مختلف است. تأثیرات ضدقارچی اسانس‌های گیاهی سال‌هاست که اثبات شده است اما کمتر بر روی تأثیر این تیمارها بر مکانیسم‌های دفاعی گیاهی مطالعه شده است. لذا

خيار میوه‌ای سرشار از مواد مفید با ارزش غذایی بالا و همچنین برخی ترکیبات گیاهی سالم و مفید و همچنین آنتی‌اکسیدان‌هاست که ممکن است به بهبود و حتی پیشگیری از برخی شرایط و بیماری‌ها کمک کنند. بیماری‌های زیادی این گیاه را تهدید می‌کنند و به بیانی دیگر این محصول همیشه در معرض موجودات بیمارگر در محیط زندگی خود است، که در این بین قارچ‌ها و سایر بیمارگرهای گیاهی سبب خسارات بسیاری در مزارع سبزی و صیفی در ایران و نیز سراسر دنیا می‌شوند (Kang & Bajpai, 2012). میزان خسارت محصولات کشاورزی ناشی از بیمارگرها حدود ۱۲ درصد از تولید جهانی است که این مقدار در کشورهای توسعه‌نیافته بیشتر است (Serra *et al.*, 2006; Gholamnejad *et al.*, 2009). بیماری‌های مخرب که هر سال خسارت چشمگیری به محصولات سبزی و صیفی‌جات در مزارع و گلخانه‌ها وارد می‌کند، بیماری مرگ گیاهچه و بوته‌میری ناشی از شبه قارچ *فیتوفتورا* است (Etebarian, 2012). در حال حاضر سریع‌ترین و در دسترس‌ترین راه برای مبارزه با این بیماری استفاده از مواد شیمیایی است. کنترل شیمیایی عوامل بیماری‌زای قارچی و مصرف بیش از حد قارچ‌کش‌ها در مدیریت بیماری‌های گیاهان، به خصوص بیماری‌های خاکزاد سبب عوارضی همچون اختلال در گرده‌افشانی، سرطان‌های ناشی از باقیمانده‌ی سموم روی مواد غذایی، آلودگی‌های زیست‌محیطی و پدیده مقاومت در مقابل قارچ‌کش‌ها شده است (Bi *et al.*, 2012). استفاده از عصاره و اسانس‌های گیاهی و متابولیت‌های ثانویه‌ی آن‌ها به‌عنوان یکی از روش‌های نوین کنترل بیماری‌های گیاهی مطرح و بیشتر در سطوح آزمایشگاهی انجام شده است (Sokovic & Griensven, 2006). با افزایش آگاهی درباره‌ی اهمیت کاربرد اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی در کشاورزی و صنایع دارویی، جداسازی و استفاده از اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی رو به افزایش است

قرار داده شدند و دوباره خاک پای بوته‌ها به حالت اولیه برگردانده شد. در تیمار شاهد فقط از محیط کشت خالص بدون شبه‌قارچ استفاده شد. ارزیابی بیماری یک ماه بعد انجام شد. محاسبه شاخص بیماری^۲ بر اساس رابطه ۱ محاسبه شدند (El-Gamal *et al.*, 2007). رابطه (۱)

قطر رشد میسیلوم بیمارگر در تشتک پتری میسیلوم- قطر رشد میسیلوم در تشتک پتری شاهد

۱۰۰ × = درصد بازدارندگی

قطر رشد میسیلوم در تشتک پتری شاهد

تهیه اسانس و قارچ‌کش‌های مورد استفاده
در این پژوهش قبل از کشت گیاهان ابتدا اقدام به خشک کردن گیاه آویشن دناپی در شرایط سایه و استخراج اسانس شد. استخراج اسانس به روش تقطیر با آب با استفاده از دستگاه کلونجر انجام شد. برای این کار ۱۰۰ گرم از نمونه آسیاب شده در یک بالون ژوژه ۱/۵ لیتری ریخته و حدود دوسوم حجم بالون به آن آب مقطر اضافه شد، سپس اسانس موجود در آن سه ساعت بعد از انجام عمل تقطیر، جمع‌آوری شد و در ظرف تیره‌رنگ دور از نور و در یخچال در دمای چهار درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید (British Pharmacopoeia, 1988).

بررسی تأثیر اسانس گیاه آویشن دناپی و قارچ‌کش مانکوزب متالاکسیل و فوزیتیل آلومینیوم روی بیمارگر فیتوفتورا به روش اختلاط با محیط کشت
در این تحقیق علاوه بر تأثیر اسانس آویشن دناپی از بیماری‌کش‌های فوزیتیل آلومینیوم و متالاکسیل- مانکوزب نیز هر کدام در پنج غلظت ۵، ۱۵، ۳۰، ۴۵ و ۶۰ پی‌پی‌ام روی شبه‌قارچ فیتوفتورا استفاده شد. به‌منظور تعیین درصد بازدارندگی عصاره گیاه آویشن دناپی، عصاره آویشن دناپی در غلظت‌های مختلف شامل ۲۵۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۱۵۰۰ و ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام ارزیابی شد. غلظت‌های مختلف آویشن دناپی به نسبت حجمی ۰/۵ درصد (V/V) در پنج میلی‌لیتر آب مقطر سترون اضافه شد. پس از خروج محیط کشت سترون

هدف از انجام این مطالعه، بررسی تأثیرات ضدقارچی اسانس آویشن دناپی و دو قارچ‌کش فوزیتیل آلومینیوم و متالاکسیل-مانکوزب بر میزان تغییرات فعالیت سه آنزیم کاتالاز، پراکسیداز و فنیل‌آلانین آمونیلیاز به عنوان شاخص مکانیسم‌های دفاعی است.

مواد و روش‌ها

ایزوله بیمارگر

در فصل پاییز و زمستان ۱۳۹۸ نمونه‌برداری از گلخانه‌های خیار مشکوک به آلودگی در شهر گرمسار، استان سمنان انجام شد؛ از هر گلخانه تعداد ۱۰ گیاه آلوده نمونه‌برداری شد. بافت طوقه و ریشه گیاهان آلوده پس از ضدعفونی سطحی با محلول هیپوکلریت سدیم دو درصد تجاری شست‌وشو و پس از شست‌وشوی مجدد با آب مقطر سترون روی محیط کشت^۱ PDA کشت شدند. جدایه‌های این عامل بیماری به روش تک هیف خالص‌سازی و در دمای یخچال روی محیط کشت PDA نگهداری شدند. شناسایی جدایه‌های عامل بیمارگر با استفاده از مشخصات مورفولوژیکی اندام‌های قارچ انجام شد.

آزمون بیماری‌زایی

آزمون بیماری‌زایی جدایه‌های شبه‌قارچ انجام شد. به این صورت که بذور گیاه خیار (رقم Pepino) پس از ضدعفونی سطحی با هیپوکلریت سدیم یک درصد به مدت دو دقیقه در داخل ظروف نشاء کشت شدند و بعد از جوانه‌زنی و دو برگگی به گلدان‌های حاوی خاک سترون (شن، رس، و خاکبرگ) منتقل شدند. گلدان‌ها در گلخانه‌ای در دمای ۲۲ الی ۲۶ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۶۰ الی ۷۰ درصد و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و هشت ساعت تاریکی قرار گرفتند. در مرحله سه تا چهار برگگی گیاهچه‌ها، خاک کنار طوقه و ریشه کنار زده شد و چهار قطعه ۰/۵ سانتی‌متری از محیط کشت حاوی کلنی جدایه‌های عامل بیماری *Phytophthora* در کنار طوقه و ریشه گیاهچه‌ها

². Disease Index

¹. Potato Dextrose Agar

sp. تلقیح شدند (Gholamnezhad *et al.*, 2016). بعد از ۲۴ ساعت ۵۰ میلی‌لیتر از عصاره گیاه آویشن دنیایی و قارچ‌کش‌های مورد استفاده در این تحقیق به‌ترتیب با غلظت ۱۵۰۰ و ۱۵۰ پی‌پی‌ام به خاک اطراف ریشه گیاهان آلوده به عامل بیمارگر اضافه شدند. اضافه کردن عصاره گیاه و قارچ‌کش‌ها به‌حدی بود که از زیر گلدان‌ها آب خارج نشود. در تیمار شاهد به‌جای عصاره گیاه آویشن دنیایی و قارچ‌کش‌ها از آب مقطر سترون استفاده شد. برای هر تیمار چهار تکرار در نظر گرفته شد. گلدان‌ها در شرایط گلخانه تحت درجه حرارت ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری و در زمان‌های مورد نیاز (قبل از اینکه سطح خاک خشک شود) آبیاری می‌شدند. اندازه‌گیری شدت بیماری بر اساس نمره صفر الی پنج به شرح زیر انجام شد:

- ۱- صفر = گیاه سالم و بدون علائم بیماری
- ۲ = ظهور لکه‌های قهوه‌ای به‌صورت حلقه در اطراف طوقه و ساقه و گسترش آن روی کوتیلدون
- ۳ = افتادگی برگ‌های گیاه و زردی و پژمردگی قسمت‌های هوایی گیاه به جزء برگ‌های جوان
- ۴ = آلودگی، افتادگی و پژمردگی کل قسمت‌های هوایی گیاه

۵ = مرگ و خشکیدگی کامل گیاه (Zhang *et al.*, 2010).

برای هر کدام از این ارزش‌ها تعریف ویژه‌ای در هر بیماری وجود دارد. شاخص بیماری بر حسب درصد با استفاده از رابطه ۲ محاسبه می‌شود:

رابطه (۲)

$$100 \times \frac{\text{مقیاس آلودگی} \times \text{تعداد تیمارهای گیاهچه}}{\text{مقیاس آلودگی} \times \text{تعداد کل گیاهچه‌ها}} = \sum_{i=1}^n \text{شاخص بیماری}$$

برای هر آزمایش سه تکرار در نظر گرفته شد. در این آزمون هر گلدان که در آن یک بوته قرار داشت به‌عنوان یک تکرار در نظر گرفته شد. داده‌ها به‌وسیله نرم‌افزار آماری SAS نسخه ۹/۲، مورد آنالیز قرار گرفتند. آزمون مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از روش چند دامنه‌ای دانکن و در سطح احتمال یک درصد انجام گرفت.

از اتوکلاو زمانی که دمای آن حدود ۴۰ درجه سانتی‌گراد رسید، غلظت‌های مختلف اسانس آویشن دنیایی تهیه شده به محیط کشت مربوطه اضافه شد. در ظروف پتری شاهد به جای اسانس از آب مقطر سترون (حاوی توئین ۸۰) به نسبت حجمی ۰/۵ درصد اضافه شد (Oxenham *et al.*, 2005). سپس درون هر ظرف پتری ۱۵ میلی‌لیتر محیط کشت حاوی اسانس توزیع شد. بعد از انعقاد محیط‌های کشت با چوب‌پنبه سوراخ‌کن پلاک‌هایی به قطر پنج میلی‌متر از حاشیه کلنی فعالیت هفت روزه عامل بیمارگر جدا و در وسط تشتک‌های محیط کشت حاوی اسانس آویشن دنیایی قرار داده شد. برای این آزمون چهار تکرار در نظر گرفته شد (Zhang *et al.*, 2010). به‌منظور ارزیابی درصد بازدارندگی اسانس آویشن دنیایی روی رشد عامل بیمارگر و مقایسه رشد آن با شاهد در فواصل معین (دو روز یکبار) نحوه رشد کلنی عامل بیمارگر بازبینی و قطر آن با خط‌کش اندازه‌گیری شد. سرانجام با استفاده از رابطه ۱ درصد بازدارندگی برای هر غلظت محاسبه شد.

به‌منظور مشخص نمودن اثر قارچ‌کشی یا قارچ‌ایستایی اسانس مورد استفاده، پلاک‌هایی از کلنی قارچ با قطر ۰/۵ سانتی‌متر برداشته شد که روی محیط کشت حاوی اسانس هیچگونه رشدی نداشته است و روی محیط CMA^۱ بدون اسانس منتقل و هفت روز در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. پس از یک هفته رشد بیمارگر مورد نظر نشانگر اثر قارچ‌ایستایی و رشد نکردن قارچ نشان‌دهنده اثر قارچ‌کشی اسانس آویشن دنیایی است (Pandima *et al.*, 2010).

بررسی تأثیر عصاره آویشن دنیایی و قارچ‌کش‌های مورد مطالعه بر روی بیماری پوسیدگی طوقه‌ی خیار در شرایط گلخانه

ابتدا بذر گیاه خیار بعد از ضدعفونی و کشت در گلدان، در مرحله سه تا چهار برگی، مطابق روش اثبات بیماری‌زایی به‌ترتیب مایه‌ی بیمارگر *Phytophthora*

^۱ Corn Meal Agar

تحلیل پارامتریک

به منظور تحلیل پارامتریک بایستی ارتباط بین عوامل مؤثر بر یک متغیر را به صورت رابطه ۳ بررسی کرد. رابطه مذکور شکل کلی از یک معادله رگرسیونی است که در آن y : متغیر وابسته، x_i : متغیر مستقل i ام را نشان می‌دهد.

$$y: f(x_i) \quad \text{رابطه (۳)}$$

رابطه ۳ می‌تواند به شکل گسترده آن نیز بیان شود (رابطه ۴).

$$y: \sum_{i=1}^n \alpha_i x_i \quad \text{رابطه (۴)}$$

رابطه (۵)

$$PG: \beta_0 + \beta_1 D_{TH} + \beta_2 D_{ME} + \beta_3 D_{FUL} + \beta_4 CO_{TH} + \beta_5 CO_{ME} + \beta_6 CO_{FUL}$$

CO_{TH} : غلظت عصاره آویشن؛ CO_{ME} : غلظت متالاکسیل و CO_{FUL} : غلظت فوزیتیل.

مدل تجربی ۶ برای بررسی عوامل مؤثر بر درصد شاخص بیماری‌زایی به کار برده می‌شود.

رابطه (۶)

$$DIP: \beta_0 + \beta_1 D_{TH} + \beta_2 D_{ME} + \beta_3 D_{FUL} + \beta_4 CO_{TH} + \beta_5 CO_{ME} + \beta_6 CO_{FUL}$$

روز، بوته‌های خیار به مرحله سه الی چهار برگی رسیدند، و در این مرحله به وسیله ایزوله‌های شبه‌قارچ بیماری‌گر *Phytophthora sp.* مایه‌زنی شدند. هر پنج جدایه روی گیاه خیار ایجاد آلودگی نمودند، اما میزان بیماری متفاوت بود (شکل ۱). در تیمار شاهد هیچ لکه‌ای تولید نشد و گیاهان شاهد کاملاً سالم بودند. ارزیابی میزان آلودگی ایجاد شده به وسیله جدایه‌های شبه‌قارچی مختلف، بر حسب شاخص بیماری‌زایی صورت گرفت.

جدایه‌های P_1 و P_5 میزان بیماری بیشتری (به ترتیب ۷۸/۵۲ و ۶۲/۶۸ درصد) نسبت به جدایه‌های دیگر ایجاد کردند و به عنوان جدایه‌هایی با قدرت بیماری‌زایی بیشتر شناخته شده و جهت انجام آزمایشات بعدی مورد استفاده قرار گرفتند. علائم

که در آن PG : رشد بیمارگر؛ D_{TH} : متغیر موهومی تأثیر عصاره آویشن؛ D_{ME} : متغیر موهومی تأثیر متالاکسیل؛ D_{FUL} : متغیر موهومی تأثیر فوزیتیل؛

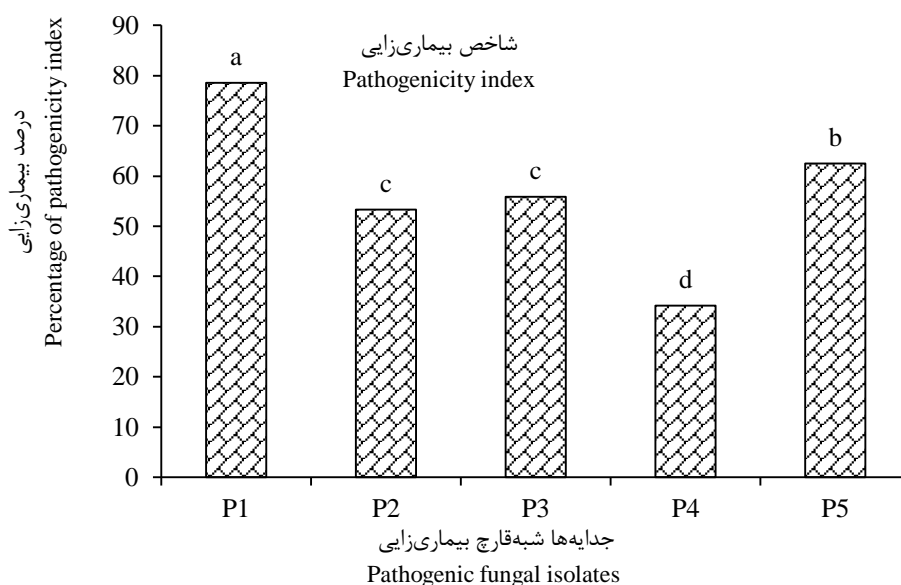
که در آن DIP : درصد شاخص بیماری‌زایی، D_{TH} : متغیر موهومی تأثیر عصاره آویشن؛ D_{ME} : متغیر موهومی تأثیر متالاکسیل؛ D_{FUL} : متغیر موهومی تأثیر فوزیتیل؛ CO_{TH} : غلظت عصاره آویشن؛ CO_{ME} : غلظت متالاکسیل و CO_{FUL} : غلظت فوزیتیل (Nayebi, 2020).

نتایج

آزمون بیماری‌زایی

در این تحقیق پنج جدایه شبه‌قارچ *Phytophthora sp.* از گیاهان آلوده خیار جداسازی گردید. پس از کشت بذور گیاه خیار (رقم Pepino) و نگهداری گیاهان در شرایط گلخانه (دمای ۲۲ الی ۲۶ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۶۰ الی ۷۰ درصد و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و هشت ساعت تاریکی) به مدت ۲۰

جدایه شبه‌قارچی P₁ بیشترین میزان بیماری‌زایی (۷۸/۵۲ درصد) و جدایه قارچی P₄ کمترین میزان بیماری‌زایی (۳۴/۲۵ درصد) را بر روی گیاه خیار ایجاد کردند. جدایه‌های قارچی P₂ و P₃ به ترتیب با مقادیر ۵۳/۱۲ و ۵۵/۲۵ درصد در یک سطح قرار گرفتند (شکل‌های ۱ و ۲).



بیماری ایجاد شده توسط *Phytophthora* sp. P₁ پس از ۲۰ روز در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد در شکل ۱ نشان داده شده است.

شکل ۱ نشان می‌دهد که بین تیمارهای آزمایشی در میزان آلودگی ایجاد شده پس از ۲۰ روز در شرایط گلخانه، اختلاف معنی‌داری وجود دارد. در این آزمایش

شکل ۱- میزان بیماری ایجاد شده بعد از ۲۰ روز بر روی گیاه خیار (رقم Pepino) توسط جدایه‌های شبه قارچ بیماری‌زا در آزمون میزان بیماری‌زایی. تیمارهایی که دارای حروف مشترک هستند در آزمون دانکن با یکدیگر تفاوت معنی‌دار ندارند (P ≤ 0.01).

Figure 1- The amount of disease created after 20 days on cucumber plant (Pepino cultivar) by pathogenic fungal isolates in the pathogenicity test. Treatments that have common letters are not significantly different in Duncan test (P ≤ 0.01).

جلوگیری از رشد شبه‌قارچ بیمارگر تفاوت معنی‌داری مشاهده شد. از نظر مهار رشد قارچ غلظت ۶۰ پی‌پی‌ام متالاکسیل مانکوزب با میزان ۹۶/۳۲ درصد بیشترین تأثیر و غلظت پنج پی‌پی‌ام فوزتیل آلومینیوم با میزان ۱۲/۳۰ درصد کمترین تأثیر را نشان داد. به‌طور کلی با افزایش غلظت تیمارها (به ترتیب ۲۵۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۱۵۰۰ و ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام) میزان رشد بیمارگر کاهش می‌یافت، به‌طور مثال میزان رشد قارچ در مورد عصاره آویشن دنايي به ترتیب در غلظت‌های ۲۵۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۱۵۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر به میزان ۲۲/۲۰، ۴۸/۷۸، ۷۱/۵۵، ۸۲/۵۴ و ۹۲/۷۰ درصد کاهش یافت، تأثیر متالاکسیل-مانکوزب در کاهش میزان رشد بیمارگر مشهودتر بود، به‌طوری‌که به ترتیب

شناسایی عامل بیمارگر

شناسایی جدایه‌های این شبه‌قارچ براساس مورفولوژی اندام‌های قارچ از قبیل فرم کلنی، میسیلیوم، اسپورانژیوفور، اسپورانژ، اندام‌های جنسی نر و ماده و غیره و براساس منابع معتبر شناسایی شدند (Stamps *et al.*, 1990). در این تحقیق به شناسایی ایزوله‌ها در حد جنس اکتفا (*Phytophthora* sp.) شد و تعیین گونه برای این ایزوله‌ها انجام نشد.

تأثیر تیمارهای مختلف در جلوگیری از رشد

میسیلیومی قارچ بیمارگر

بین تیمارهای مختلف شامل اسانس آویشن دنايي و قارچ‌کش‌های متالاکسیل-مانکوزب و فوزتیل آلومینیوم و بین غلظت‌های مختلف این تیمارها از نظر توانایی در

تیمار دیگر بود. قارچ کش فوزیتیل آلومینیوم به ترتیب در غلظت‌های ۵، ۱۵، ۳۰، ۴۵ و ۶۰ پی‌پی‌ام به میزان ۱۲/۳۱، ۲۶/۴۵، ۴۸/۸۲، ۶۷/۷۹ و ۸۱/۱۸۱ درصد از رشد بیمارگر جلوگیری به عمل آورد (جدول ۱).

مورد قارچ کش فوزیتیل آلومینیوم روند دقیقاً مانند دو کاهش در رشد بیمارگر به ترتیب در غلظت‌های ۵، ۱۵، ۳۰، ۴۵ و ۶۰ پی‌پی‌ام مورد مشاهده قرار گرفت. در ۹۶/۳۲ و ۸۳/۴۸، ۶۱/۴۴، ۳۱/۸۶، ۱۵/۴۶ درصد

جدول ۱- بررسی تأثیر مربوط به آزمون تأثیر تیمارهای مختلف بر میزان بازدارندگی از رشد قارچ بیمارگر *Phytophthora sp.*

Table 1- The effect of different treatments on the inhibition of the growth of *Phytophthora sp*

نوع تیمار Type of treatments	غلظت (قسمت در میلیون) Concentration (ppm)	درصد بازدارندگی از رشد بیمارگر The percentage of inhibition of pathogen growth
آویشن دناپی Thyme	250	22.20 ⁱ
	500	48.78 ^g
	1000	71.55 ^d
	1500	82.54 ^c
	2000	92.70 ^b
متالاکسیل- مانکوزب Metalaxyl- mancozeb	5	15.46 ^k
	15	31.86 ^h
	30	61.44 ^f
	45	83.48 ^c
	60	96.32 ^a
فوزیتیل آلومینیوم Fosetyl aluminium	5	12.31 ^l
	15	26.45 ⁱ
	30	48.82 ^g
	45	67.79 ^e
	60	81.18 ^c

درصد ممانعت از بیمارگر و قارچ کش فوزیتیل آلومینیوم با غلظت غلظت ۱۵۰ پی‌پی‌ام و ۷۹/۳۷ درصد کاهش میزان بیماری در گلخانه، بهترین تیمارها بودند. کمترین ممانعت‌کنندگی مربوط به تیمار اسانس آویشن دناپی با غلظت ۵۰۰ پی‌پی‌ام بود که میزان آن ۴۵/۹۴ درصد ممانعت از میزان بیماری در گلخانه بود (جدول ۲ و شکل ۲).

تأثیر تیمارهای مختلف بر میزان بیماری ناشی از *Phytophthora sp.* در گلخانه

نتایج نشان می‌دهد که به احتمال ۹۹ درصد بین تیمارهای مختلف استفاده از اسانس آویشن دناپی و همچنین قارچ‌کش‌های متالاکسیل-مانکوزب و فوزیتیل آلومینیوم و غلظت‌های مختلف آن‌ها به از نظر تأثیر بر روی کاهش میزان بیماری در گلخانه اختلاف معنی‌دار وجود دارد. در این پژوهش تیمار قارچ‌کش متالاکسیل-مانکوزب با غلظت ۱۵۰ پی‌پی‌ام و ۸۸/۶۰

جدول ۲- مقایسه میانگین مربوط به آزمون مربوط به آزمون تأثیر تیمارهای مختلف در کاهش میزان بیماری ناشی از بیمارگر

در گلخانه *Phytophthora* sp.

Table 2- Comparison of test-related mean of test-effect of different treatments in reducing the rate of disease caused by *Phytophthora* sp. in the greenhouse

نوع تیمار Type of treatments	غلظت (پی‌پی‌ام) Concentration (ppm)	درصد بازدارندگی از رشد بیمارگر The percentage of inhibition of pathogen growth
آویشن دناپی	500	45.94 ^g
Thyme	1000	55.22 ^f
	1500	66.85 ^d
متالاکسیل-مانکوزب	50	66.46 ^d
Metalaxyl-mancozeb	100	76.27 ^c
	150	88.60 ^a
فوزتیل آلومینیوم	50	59.23 ^e
Fosetyl aluminium	100	68.05 ^d
	150	79.37 ^b



ب (تیمار)



الف (شاهد)

شکل ۲- نتیجه تأثیر اسانس ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام آویشن دناپی بر میزان علائم بیماری

Figure 2- The result of the effect of 1000 ppm of Danaei thyme essential oil on the level of disease symptoms

متالاکسیل-مانکوزب در غلظت‌های پنج تا ۲۰ پی‌پی‌ام به‌طور متوسط رشد بیمارگر را حدود ۰/۹۶ واحد نسبت به شاهد کاهش داده است. ضریب متغیر فوزتیل-آلومینیوم در مدل مذکور منفی و در سطح ۹۰ درصد اطمینان معنی‌دار است. این امر نشان‌دهنده کاهش ۰/۷ واحدی رشد بیمارگر در گیاه آغشته به سم فوزتیل-آلومینیوم در غلظت‌های پنج تا ۲۰ پی‌پی‌ام واحد نسبت به شاهد است. براساس نتایج اخذ شده در مدل پارامتریک ضرایب غلظت‌های عصاره و سموم مورد بررسی منفی و در سطح یک درصد خطا معنی‌دار است. ضریب غلظت آویشن در مدل ۰/۰۳۴ به‌دست آمد که این امر نشان می‌دهد به‌طور متوسط یک واحد اضافه شدن غلظت عصاره آویشن در محلول مشخص

رگرسیون

جدول ۳ نتایج مدل‌سازی پارامتریک بررسی عصاره آویشن دناپی و سموم متالاکسیل-مانکوزب و فوزتیل-آلومینیوم بر میزان رشد بیمارگر در گیاه را نشان می‌دهد. براساس نتایج به‌دست آمده ضریب متغیر موهومی آویشن منفی و به لحاظ آماری در سطح ۹۹ درصد اطمینان معنی‌دار است. این امر نشان می‌دهد، نسبت به شاهد آغشته شدن گیاه با عصاره آویشن در غلظت‌های ۵۰۰ تا ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام به‌طور متوسط میزان رشد بیمارگر را حدود ۲/۱۷ واحد کاهش داده است که به لحاظ آماری در سطح ۹۵ درصد اطمینان معنی‌دار بودن ضریب متغیر موهومی متالاکسیل-مانکوزب حاکی از آن است که سم

شده، به میزان ۰/۰۰۳۴ واحد رشد بیمارگر را کاهش می‌دهد. ضریب غلظت متالاکسیل-مانکوزب برابر ۰/۱۴ است که بیانگر کاهش ۰/۱۴ واحدی رشد بیمارگر به ازای افزایش یک واحد غلظت متالاکسیل-مانکوزب در محلول است. همچنین در مدل مورد بررسی ضریب غلظت فوزتیل-آلومینیوم برابر ۰/۱۱ واحد است که نشان می‌دهد افزایش یک واحد در غلظت این ماده در محلول میزان رشد بیمارگر را ۰/۱۱ واحد کاهش می‌دهد.

جدول ۳- نتایج آزمون اختلاط ترکیبات با محیط کشت به روش رگرسیون

Table 3- Results of mixing test with culture medium by regression method

متغیر وابسته: میزان رشد بیمارگر (Dependent variable: pathogen growth rate)				
Prob	ضریب Coefficient	انحراف معیار Standart deviation	آماره t t statistic	Prob
0.000	-2.17***	0.39	-5.51	متغیر موهومی آویشن (Thyme imaginary variable)
0.017	-0.96**	0.38	-2.48	متغیر موهومی متالاکسیل-مانکوزب The imaginary variable metalaxyl- (mancozeb)
0.078	-0.7*	0.38	-1.81	متغیر موهومی فوزتیل-آلومینیوم (Fossil-aluminum imaginary variable)
0.000	-0.0034***	0.0002	-16.22	غلظت آویشن (Thyme concentration)
0.000	-0.14***	0.007	-20.31	غلظت متالاکسیل-مانکوزب (Concentration of metalaxyl-mancozeb)
0.000	-0.11***	0.007	-17.07	غلظت فوزتیل-آلومینیوم (Fusetyl-aluminum concentration)
0.000	9***	0.3	30.16	عرض از مبدأ (Width of origin)

ضریب تعیین (The coefficient of determination) 0.88

متالاکسیل-مانکوزب در غلظت‌های ۵ تا ۲۰ پی‌پی‌ام به‌طور متوسط شاخص رشد بیماری‌زایی را حدود ۵۳/۴۰ درصد کاهش داده است. ضریب متغیر فوزتیل-آلومینیوم در مدل مذکور، نشان‌دهنده کاهش ۴۷/۱۷ درصدی رشد شاخص بیماری‌زایی در گیاه آغشته به سم فوزتیل-آلومینیوم در غلظت‌های پنج تا ۲۰ پی‌پی‌ام واحد نسبت به شاهد است. ضریب غلظت آویشن در مدل ۰/۰۲۱ به‌دست آمد که این امر نشان می‌دهد به‌طور متوسط یک واحد اضافه شدن غلظت عصاره آویشن در محلول مشخص شده به‌میزان ۰/۰۲۱ درصد شاخص بیماری‌زایی را کاهش می‌دهد. ضریب غلظت متالاکسیل-مانکوزب برابر ۰/۲۲ است که بیانگر کاهش ۰/۲۲ درصدی شاخص بیماری‌زایی به ازای

جدول ۴ نتایج مدل‌سازی پارامتریک بررسی عصاره آویشن و سموم متالاکسیل-مانکوزب و فوزتیل آلومینیوم بر میزان درصد شاخص بیماری‌زایی در گیاه را در شرایط گلخانه نشان می‌دهد. براساس نتایج اخذ شده کلیه ضرایب موجود در مدل در سطح ۹۹ درصد اطمینان به لحاظ آماری معنی‌دار و به استثنای عرض از مبدأ همه متغیرها منفی است. ضریب متغیر موهومی آویشن نشان می‌دهد، نسبت به شاهد آغشته شدن گیاه با عصاره آویشن در غلظت‌های ۵۰۰ تا ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام به‌طور متوسط میزان درصد شاخص بیماری‌زایی را به‌میزان ۳۳/۵۳ درصد کاهش داده است. مقدار ضریب متغیر موهومی متالاکسیل-مانکوزب در این مدل حاکی از آن است که سم

افزایش یک واحد غلظت متالاکسیل-مانکوزب در محلول است. همچنین در مدل مورد بررسی ضریب غلظت فوزتیل-آلومینیوم برابر ۰/۲۰ درصد است که نشان می‌دهد افزایش یک واحد در غلظت این ماده در محلول میزان شاخص بیماری‌زایی را ۰/۲ درصد کاهش داده است.

جدول ۴- نتایج آزمون اختلاط ترکیبات با محیط کشت به روش رگرسیون

Table 4- Results of mixing test with culture medium by regression method

متغیر وابسته: میزان رشد بیمارگر (Dependent variable: pathogen growth rate)				
Prob	ضریب	انحراف معیار	آماره t	Prob
0.000	-33.53***	1.38	-24.19	متغیر موهومی آویشن (Thyme imaginary variable)
0.000	-53.40**	1.38	-38.53	متغیر موهومی متالاکسیل-مانکوزب (The imaginary variable metalaxyl- (mancozeb)
0.000	-47.17*	1.38	-34.04	متغیر موهومی فوزتیل-آلومینیوم (Fossil-aluminum imaginary variable)
0.000	-0.021***	0.0011	-19.47	غلظت آویشن (Thyme concentration)
0.000	-0.14***	0.011	-20.62	غلظت متالاکسیل-مانکوزب (Concentration of metalaxyl-mancozeb)
0.000	-0.20***	0.007	-18.76	غلظت فوزتیل-آلومینیوم (Fusetyl-aluminum concentration)
0.000	98.43***	0.76	129.70	عرض از مبدا (Width of origin)

ضریب تعیین (The coefficient of determination) 0.88

بحث

گیاه مفید بوده و برای انسان و محیط‌زیست بی‌خطر هستند (Bakkali *et al.*, 2008). در تحقیقات متعددی اثرات ضدقارچی عصاره گیاهانی مانند اسطوخودوس و آویشن دنیایی به اثبات رسیده است (Beiko *et al.*, 2008). در تحقیقی اثرات بازدارندگی عصاره‌های هگزانی، کلروفومی، دی‌اتیل‌اتری و اتانولی هفت گونه گیاهی علیه دو قارچ بیماری‌زای گیاهی فوزاریوم و رایزوکتونیا مورد مطالعه قرار گرفت که نتایج نشان داد فاز هگزانی عصاره‌های گیاه آویشن کوهی و پونه مؤثرترین عصاره‌ها بر علیه هر دو بیمارگر عمل کردند (Beiko *et al.*, 2008).

نتایج حاصل از آزمون بیماری‌زایی نشان داد که جدایه‌های P₁ و P₅ میزان بیماری بیشتری (به ترتیب ۷۸/۵۲ و ۶۲/۶۸ درصد) نسبت به جدایه‌های دیگر ایجاد کردند و به‌عنوان جدایه‌هایی با قدرت

استفاده بی‌رویه از سموم شیمیایی توسط انسان خسارات جبران‌ناپذیری را به محیط‌زیست وارد نموده، علاوه بر این به‌علت استفاده مداوم از این ترکیبات، آفات و بیماری‌های گیاهی به این سموم مقاوم شده و در دفعات بعدی استفاده از این ترکیبات شیمیایی باید مقدار بیشتری از این مواد را استفاده نمود (Gholamnezhad *et al.*, 2016; Gholamnezhad, 2017).

خاصیت تجزیه‌پذیری عصاره و اسانس‌های گیاهی در طبیعت و سمیت پایین آن‌ها برای انسان و سایر پستانداران و همچنین نداشتن اثرات مخرب کمتر آن‌ها بر محیط‌زیست، این ترکیبات را به‌عنوان مواد جایگزین سموم شیمیایی مطرح کرده است. عصاره‌های گیاهی با داشتن مواد و عناصر غذایی در افزایش رشد

سیتوسول شده و هم ایستایی Ca^{+2} و H^{+} را مختل می‌کند و نوسان سریع و شدید کلسیم سیتوسولی مکانیسمی است که توسط دو ایزمر فنولی کارواکرول و تیمول منجر به مرگ سلول‌های قارچی می‌گردد (Zhang et al., 2010).

نتایج تحقیقات Lotfi و همکاران (۲۰۱۰) نشان داد استفاده از اسانس گیاهان آویشن، زنیان و پونه اثرات بازدارندگی بالایی بر رشد میسلیوم‌های قارچ *F. oxysporum* دارند به نحوی که در غلظت ۴۰۰ و ۳۰۰ پی‌پی‌ام از عصاره گیاه آویشن رشد میسلیوم قارچ *F. oxysporum* به‌طور کامل مهار شد و در هر سه نمونه عصاره با افزایش غلظت اسانس رشد قارچ *F. oxysporum* کاهش یافت (Lotfi et al., 2010).

قارچ کش متالاکسیل-مانکوزب قارچ‌کشی سیستمیک اما با عمل حفاظتی و معالجه‌ای است. قسمت متالاکسیل این ترکیب مانع سنتز پروتئین در اندام‌های قارچی می‌شود و قسمت مانکوزب آن نیز روی آنزیم‌های سیکل تنفسی تأثیر می‌گذارد. متالاکسیل از طریق ریشه، ساقه و برگ قابل جذب بوده و برای کنترل بیماری در داخل بافت‌های گیاهی به‌واسطه خاصیت سیستمیک خود استفاده می‌گردد و از خاصیت پوششی مانکوزب نیز به‌منظور پیشگیری از نفوذ عوامل بیماری‌زای قارچی به داخل نسوج گیاهی استفاده می‌شود (McGrath, 2001).

قارچ کش متالاکسیل-مانکوزب با اسامی تجاری متنوع در کشورهای مختلف و با نام رزاکسیل wp 72 در ایران تولید و برای کنترل بیماری بوته‌میری خیار به ثبت رسیده است. اثر بازدارندگی متالاکسیل-مانکوزب در رشد کلنی جدایه‌های *P. cinnamomi* R&S بین ۵۲ الی ۹۵ درصد گزارش شده است (Khan et al., 2011). استفاده از متالاکسیل مانکوزب در کنترل بیماری پوسیدگی صورتی سیب‌زمینی با عامل *P. erytroseptica* مؤثر ارزیابی شده است (Gloria Abad et al., 2008).

در آزمون تأثیر تیمارهای مختلف بر میزان بیماری ناشی از *Phytophthora* sp. در گلخانه نیز دو

بیماری‌زایی بیشتر شناخته شده و جهت انجام آزمایشات بعدی جدایه PI مورد استفاده قرار گرفتند.

کشت و بررسی نمونه‌های جدا شده از مزارع آلوده صیفی و سبزی مشخص کرد جدایه‌های قارچ بیمارگر متعلق به جنس *Phytophthora* sp. هستند. تأثیر تیمارهای مختلف بر رشد میسلیومی شبه‌قارچ بیمارگر در محیط کشت نشان داد که تیمارها از رشد این شبه‌قارچ بیمارگر در محیط کشت جلوگیری به‌عمل آوردند. نتایج حاصل از کاهش رشد قارچ به‌خصوص در مورد تیمارهای متالاکسیل-مانکوزب و اسانس آویشن دنبایی حاکی از کاهش زیاد رشد قارچ بیمارگر در محیط کشت بود. تفاوت در فعالیت ضدقارچی تیمارهای مورد استفاده در این تحقیق، به اجزاء تشکیل‌دهنده آن‌ها بستگی دارد. یک ترکیب ممکن است به تنهایی یا به‌صورت تشدیدکنندگی با سایر ترکیب‌ها فعالیت ضدقارچی اسانس را باعث شود (Ghasemi et al., 2013). بنابراین به‌نظر می‌رسد اثرات ضدقارچی قابل‌توجه تیمارهای مورد مطالعه در این تحقیق تحت تأثیر ترکیبات موجود در آن‌ها است. اسانس آویشن دنبایی دارای اثرات ضدقارچی بالایی است (Nene & Thapliyal, 1993). همچنین مشخص شده است که کارواکرول باعث افزایش خاصیت ضد میکروبی تیمول و پاراسیمن باعث کاهش فعالیت ضد میکروبی تیمول می‌شود (Huyskens et al., 2004). گزارش شده است که ویژگی ضدقارچی تیمول با مسیره‌های بیوسنتزی دیواره سلولی ارتباط ندارد و به‌نظر می‌رسد که تیمول به ارگوسترول در غشاء متصل شده و نفوذپذیری یونی را افزایش می‌دهد و به‌دلیل بروز کمبود عناصر ضروری برای بقای سلول قارچی، در نهایت منجر به مرگ سلول می‌شود (Tavakolipour et al., 2010; Brisset et al., 2000). کارواکرول یکی دیگر از ترکیباتی است که به‌وفور در عصاره گیاهان دارویی به‌خصوص گیاهان مطالعه شده در این تحقیق وجود دارد. به‌نظر می‌رسد کارواکرول از طریق افزایش pH واکوئل و خروج پروتون‌ها از لومن واکوئل منجر به اسیدی شدن

قارچ کش متالاکسیل-مانکوزب و فوزتیل آلومینیوم و همچنین اسانس آویشن دناپی به ترتیب اثرات خوبی را در کنترل بیماری نشان دادند. نتایج پژوهش Azimi (۲۰۱۵) نشان داد که غلظت دو در هزار متالاکسیل در تولید خیار به خصوص خزانه‌های تولید نشاء برای پیشگیری از بیماری بوته‌میری به طریق ریزش پای بوته پس از کاشت و نیز در مرحله دو برگگی (در دو نوبت) توصیه می‌شود. همچنین نتایج مطالعه آن‌ها نشان داد که در کاشت گلخانه‌ای سنتی، ضد عفونی خاک بستر کاشت با متالاکسیل به مقدار ۲۰۰ و ۳۰۰ گرم در هر مترمکعب خاک به طریق اختلاط با خاک بستر و در ادامه استفاده از این قارچ‌کش در مرحله دو برگگی همراه با آب به مقدار دو و سه در هزار در مرحله آبیاری برای پیشگیری از بیماری بوته‌میری خیار توصیه می‌گردد. در گلخانه‌هایی که از سیستم هیدروپونیک استفاده می‌شود استفاده از متالاکسیل دو و سه در هزار از طریق سیستم آبیاری محافظت کافی از بوته‌ها در مقابل بیماری بوته‌میری خیار را فراهم خواهد نمود (Azimi, 2015).

نتایج تحلیل پارامتریک نشان داد، با افزایش غلظت اسانس آویشن، میزان رشد بیمارگر و همچنین شاخص بیماری در گلخانه کاهش پیدا کرد. این نتایج نشان داد که برای افزایش اثربخشی این اسانس نیاز به کاربرد غلظت بیشتر اسانس در مقایسه با ترکیبات شیمیایی مورد مطالعه در این پژوهش است. این نتایج به وسیله نتایج تجزیه واریانس تأیید می‌شود. نتایج آنالیز مدل پارامتریک نشان داد که تیمار آویشن دناپی (در غلظت‌های مختلف) نسبت به شاهد به طور متوسط میزان رشد بیمارگر را کاهش داد. نتایج مطالعات رگرسیون نتایج مقایسه میانگین به روش دانکن را تأیید می‌کند. نتایج مطالعات پارامتریک نیز نشان می‌دهد، که اسانس آویشن دناپی در غلظت‌های بیشتر نسبت به ترکیبات شیمیایی (متالاکسیل و فوزیتیل آلومینیوم) قادر است دو فاکتور رشد بیمارگر و همچنین شاخص بیماری را کاهش دهد.

گزارش‌های متعددی وجود دارد که نشان‌دهنده خواص ضد میکروبی و ضد قارچی عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی است. ترکیباتی مانند بتا پینن، آلفا پینن، لینالول و کامفور از جمله آن‌هاست. از دیگر ترکیباتی که خاصیت ضد قارچی دارند می‌توان به سینئول، سیمن، کامفن و آلفا ترپینئول، کارواکرول، لیمونن، کارون و برنئول اشاره نمود (Soltani et al., 2007). تیمول یکی از مهمترین ترکیبات عصاره و اسانس‌های گیاهانی مانند آویشن دناپی، اسطوخودوس و رازیانه است (Stepanova et al., 2008).

در پژوهشی اثر ضد میکروبی اسانس‌های گونه‌های مختلف جنس آویشن شامل آویشن کوهی مازندران، آویشن شیراز، آویشن دناپی و نیز گیاهان کاکوتی شیراز، کاکوتی مازندران و مرزه بختیاری، بر روی باکتری‌های *Escherichia coli*، *Pseudomonas aeruginosa* و *Streptococcus pyogenes*

در پژوهشی اثر ضد میکروبی اسانس‌های گونه‌های مختلف جنس آویشن شامل آویشن کوهی مازندران، آویشن شیراز، آویشن دناپی و نیز گیاهان کاکوتی شیراز، کاکوتی مازندران و مرزه بختیاری، بر روی باکتری‌های *Escherichia coli*، *Pseudomonas aeruginosa* و *Streptococcus pyogenes*

نتیجه گیری کلی

تمامی تیمارهای مورد استفاده در این پژوهش هر یک به مقادیری توانستند به کنترل شبه قارچ مورد نظر در آزمون های آزمایشگاهی شدند و در نتیجه همه دارای مقادیری ترکیبات ضدقارچی بودند. در این پژوهش زمانی که قارچ بیمارگر تحت تیمارهای مختلف قرار گرفت، میزان رشد آن مخصوصاً در تیمار استفاده از قارچ کش های متالاکسیل-مانکوزب و فوزتیل آلومینیوم کاهش پیدا کرد. از طرفی دیگر این دو تیمار اثرات بسیار خوبی بر روی میزان فعالیت آنزیم های مورد بررسی داشتند. اسانس گیاهی آویشن دنبایی نیز بخوبی باعث کاهش رشد قارچ و متعاقب آن افزایش میزان فعالیت آنزیم های مورد بررسی شد. مؤثر بودن اسانس بر روی گیاه خیار آلوده به این بیمارگر نشان می دهد که در شرایط گلخانه بر اساس نتایج این مطالعه این اسانس سریع تجزیه نمی شوند و می توان با فرموله کردن این اسانس با ترکیبات مناسب در آینده، آن ها را در بازار عرضه نمود. نظر به تأثیر بسیار خوب و

قابل توجه این قارچ کش ها و همچنین اسانس گیاهی هم در آزمایشگاه و هم در محیط گلخانه بر گیاه خیار، تیمارهای مورد مطالعه در این تحقیق به عنوان ترکیبات با اثرات قارچ کشی بالا و سازگار با محیط زیست برای کم کردن این بیماری معرفی می گردند؛ زیرا همان طور که می دانیم قارچ کش های مورد مطالعه در این تحقیق اثرات آلوده کننده زیست محیطی بسیار پایینی دارد.

سپاسگزاری

به این وسیله نویسندگان این مقاله از واحد پژوهش و فناوری دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین و پیشوا و همچنین معاونت پژوهشی دانشگاه اردکان مراتب سپاسگزاری خود را اعلام می کنند.

References

- Amini, M., Safaie, N., Salmani, M. J. & Shams-Bakhsh, M. (2012). Antifungal activity of three medicinal plant essential oils against some phytopathogenic fungi. *Anniversary Edition Trakia Journal of Science*, 10(1), 1-8.
- Azimi, H. (2014). The effect of metalaxyl-mancozeb (WP 72%) in controlling the causative agent of *Phytophthora drechsleri* Tucker in greenhouse & field. *Journal of Pesticide in Plant Protection Sciences*, 1(2), 125-136.
- Bajpai, V. K., Lee, T. J. & Kang, S. C. (2009). Chemical composition & in vitro control of agricultural plant pathogens by the essential oil & various extracts of *Nina domestica* Thunb. *Journal of the Science of Food & Agriculture*, 89(1), 109-116.
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D. & Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils—a review. *Food & Chemical Toxicology*, 46(2), 446-475.
- Beiko, R. G., Doolittle, W. F. & Charlebois, R. L. (2008). The impact of reticulate evolution on genome phylogeny. *Systematic Biology*, 57(6), 844-856.
- Bi, Y., Jiang, H., Hausbeck, M. K. & Hao, J. J. (2012). Inhibitory effects of essential oils for controlling *Phytophthora capsici*. *Plant Disease*, 96(6), 797-803.
- Brisset, M. N., Cesbron, S., Thomson, S. V. & Paulin, J. P. (2000). Acibenzolar-S-methyl induces the accumulation of defense-related enzymes in apple & protects from fire blight. *European Journal of Plant Pathology*, 106(6), 529-

- 536.
- British pharmacopoeia, (1988). pharmacopoeia British vol 20, Hmsco. London, 137-138.
 - Corzo-Martinez, M., Corzo, N. & Villamiel, M. (2007). Biological properties of onions & garlic. *Trends in Food Science & Technology*, 18(12), 609-625.
 - Cowan, M. M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12(4), 564-582.
 - Etebarian, H. R. (2012). Diseases of vegetable & cucurbit & their control. *University of Tehran*, 600.
 - Ghasemi, S., Khoshgoftarmanesh, A. H., Afyuni, M. & Hadadzadeh, H. (2013). The effectiveness of foliar applications of synthesized zinc-amino acid chelates in comparison with zinc sulfate to increase yield & grain nutritional quality of wheat. *European Journal of Agronomy*, 45, 68-74.
 - Gholamnezhad, J. (2017). Effect of plant extracts against apple gray mold caused by *Botrytis cinerea*. *Applied Microbiology in Food Industries*, 3(1), 53-66.
 - Gholamnezhad, J., Sanjarian, F., Goltapeh, E. M., Safaie, N. & Razavi, K. (2016). Effect of salicylic acid on enzyme activity in wheat in immediate early time after infection with *Mycosphaerella graminicola*. *Scientia Agriculturae Bohemica*, 47(1), 1-8.
 - Gloria Abad Z., Jorge A. Abad, Michael D. Coffey, Peter V. Oudemans, Willem A. (2008). *Man in 't Veld*, Hans de Gruyter, James Cunnington & Frank J. Louws *Phytophthora bisheria* sp. nov., a New Species Identified in Isolates from the Rosaceous Raspberry, Rose & Strawberry in Three Continents. *Mycologia*, 10(1): 99-110.
 - Huyskens-Keil, S. & Schreiner, M. (2004). Quality dynamics & quality assurance of fresh fruits & vegetables in pre- & postharvest. In: Dris, R. & S. Jain (Eds.), In *Production practices & quality assessment of food crops* (pp. 401-449). Springer, Dordrecht.
 - Khan, M. A., Zhihui, C., Xuemei, X., Khan, A. R. & Ahmed, S. S. (2011). Ultrastructural studies of the inhibition effect against *Phytophthora capsici* of root exudates collected from two garlic cultivars along with their qualitative analysis. *Crop Protection*, 30(9), 1149-1155.
 - Lotfi A., Jafarpour, M. & Etemadi, N. (2010). Evaluation effect of essential oil Thyme ajowan & Pennyroyal plant fungi *Fusarium oxysporum*. *Fifth national conference new ideas in Agriculture University Azad Islamic Isfahan (Khorasgan), Faculty of Science Medicine*, 16-17. (In Persian)
 - McGrath, M. T. (2001). *Phytophthora Blight of cucurbits*. Department of Plant Pathology, Long Isl & Horticultural Research & Extension Center. Cornell University, Vegetable MD Online. 14(2): 220-229.
 - Mohammadpour, Q., Majd, A., Nejadstari, T., Mehrabian, S. & Hosseinzadeh Klagar, A. (2010). Investigation of antibacterial & antifungal properties of essential oils of three species of thyme (Thyme) & two cockatiel ecotypes & *Satureja bachtiarica*. *Basic Sciences*, 20, 111-120.
 - Nayebi, H. (2020). *Advanced Statistics for Testing Assumed Casual Relationships*. Springer International Publishing.
 - Nene, Y. L. & Thapliyal, P. N. (1979). Fungicides in plant disease control. *Fungicides in plant disease control*. (Ed. 2).
 - Oxenham, S., Svoboda, K.P., Walters, D. (2005). Antifungal Activity of the Essential Oil of Basil (*Ocimum basilicum*). *Journal of Phytopathology* 153(3):174 – 180.

- Pandima Devi, K., Arif Nisha, S., Sakthivel, R., Karutha Pandian, S. (2010). Eugenol (an essential oil of clove) acts as an antibacterial agent against *Salmonella typhi* by disrupting the cellular membrane. *J. Ethnopharmacol.* 130: 107-115.
- Pirbaluti, A., Bahmani, M. & Avijgan, M. (2009). Antu-C&ida activity of some of the Iranian medicinal plants. *Electornic Journal of Biology*, 5, 85-88.
- Serra, R., Lourenço, A., Alipio, P. & Venancio, A. (2006). Influence of the region of origin on the mycobiota of grapes with emphasis on *Aspergillus* & *Penicillium* species. *Mycological Research*, 110(8), 971-978.
- Sitara, U., Niaz, I., Naseem, J. & Sultana, N. (2008). Antifungal effect of essential oils on in vitro growth of pathogenic fungi. *Pakistan Journal of Botany*, 40(1), 409-414.
- Sokovic, M. & Van Griensven, L. J. (2006). Antimicrobial activity of essential oils & their components against the three major pathogens of the cultivated button mushroom, *Agaricus bisporus*. *European Journal of Plant Pathology*, 116(3), 211-224.
- Soltani Tolarod, A.A., Saleh Rastin, N., Khavazi, K. & Asadi Rahmani, H. (2007). Isolation & evaluation of PGP characteristics of some *Pseudomonads fluorescent* of Iranian soils. *Iranian Journal Soil & Water Science*, 21(2), 277-289. (In Persian)
- Stepanova, A. N., Robertson-Hoyt, J., Yun, J., Benavente, L. M., Xie, D. Y., Dolezal, K., Jurgens, S. J. & Alonso, J. M. (2008). TAA1-mediated auxin biosynthesis is essential for hormone crosstalk & plant development. *Cell*, 133, 177-191.
- Tajalipour, S., Hassanzadeh, N., Khabbaz Jolfaee, H., Heydari, A. & Ghasemi, A. (2014). Biological control of mushroom brown blotch disease using antagonistic bacteria. *Biocontrol Science & Technology*, 24(4), 473-484.
- Tavakolipour, H., Armin, M. & Kalbasi Ashtari, A. (2010). Storage stability of Kerman Pistachio nuts (*Pistacia vera* L.). *International Journal of Food Engineering*, 6(6), 1-15.
- Zhang, S., Whitea, T.L., Miriam C.Martinez John A., McInroyb Joseph, W. Kloepper, B, Klassena, W. (2010). Evaluation of plant growth-promoting rhizobacteria for control of Phytophthora blight on squash under greenhouse conditions. *Biological Control*, 51(3): 129-135.
- Zhang, Y., Muend, S. & Rao, R. (2010). Mechanism of antifungal activity of terpenoid phenols resembles calcium stress & inhibition of the TOR pathway. *Antimicrobial Agents & Chemotherapy*, 54(12), 5062-5069.