مقاله تحقیقی

ارزیابی فعالیت ضدقارچی عصاره‌های برخی از گیاهان دارویی استان ایلام علیه عامل بیماری پاخوره گندم و شناسایی ترکیبات مؤثره آن‌ها با استفاده از GC-MS

حانیه زینی‌وند[۱]، زینب بهمنی[۲]، زهرا میرسلیمانی[۳]، سمیرا قاسمی[۴]، سیامک بیگی[۵]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، بیماری‌شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام ، ایلام، ایران.

۲- استادیار گروه گیاه‌پزشکی، دانشگده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران.

۳- استادیار، بخش تحقیقات گیاه‌پزشکی، مرکز تحقیقات، اموزش و ترویج کشاورزی، شیراز، ایران.

۴- دانشجوی پسادکتری،گروه گیاه‌پزشکی،دانشکده کشاورزی، دانشگاه کردستان، سنندج، ایران.

۵- سازمان جهاد کشاورزی، حفظ نباتات، ایلام، ایران.

مسئول مکاتبات: زینب بهمنی، ایمیل: z.bahmani@ilam.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۱۰/۱۵ ۱۲(۲) ۱۱۵–۱۳۲ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۱۱/۱۰

چکیده

بیماری پاخوره گندم که توسط قارچ *Gaeumannomyces tritici* var *tritici* ایجاد می‌شود، یکی از مهم‌ترین عوامل محدودکننده تولید گندم در بسیاری از مناطق جهان به شمار می‌رود. با توجه به پیامدهای زیست‌محیطی مصرف گسترده سموم شیمیایی، شناسایی ترکیبات طبیعی و ایمن برای کنترل این بیماری از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. هدف از این پژوهش، بررسی اثر ضدقارچی عصاره‌های اتانولی گیاهان اکالیپتوس، آویشن، مریم‌گلی کبیر، فراسیون و تشنداری بر رشد *G. tritici* var *tritici* در شرایط آزمایشگاهی است. عصاره‌های گیاهی در غلظت‌های ۲۵۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام با روش اختلاط با محیط کشت PDA مورد ارزیابی قرار گرفتند. آزمایش‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد و درصد بازدارندگی رشد قارچ پس از هفت روز اندازه‌گیری گردید. نتایج نشان داد که افزایش غلظت عصاره‌ها به‌طور معنی‌داری موجب افزایش بازدارندگی رشد قارچ شد. بیشترین میزان بازدارندگی در غلظت ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام مربوط به عصاره اکالیپتوس بود، به‌طوری‌که این عصاره بیش از ۹۰ درصد رشد قارچ را مهار کرد. عصاره‌های آویشن و تشنداری نیز اثر ضدقارچی قابل توجهی نشان دادند، در حالی که عصاره فراسیون در تمامی غلظت‌ها کمترین اثر مهارکنندگی را داشت. در ادامه، ترکیبات شیمیایی عصاره‌های مؤثر با استفاده از دستگاه GC–MS شناسایی شدند. نتایج آنالیز شیمیایی نشان داد که حضور ترکیباتی نظیر اسپاتولنول، تیمول، کارواکرول و دی‌هیدروبنزوفوران می‌تواند در خاصیت ضدقارچی عصاره‌ها نقش مؤثری داشته باشد.

واژه‌های کلیدی: اثر بازدارندگی، پاخوره گندم، شناسایی، متابولیت‌های ثانویه، مهارکنندگی

مقدمه

بیماری‌های گیاهی یکی از مهم‌ترین چالش‌ها برای تولیدات کشاورزی و تأمین امنیت غذایی محسوب می‌شوند. برآوردها نشان می‌دهد که سالانه بیش از ۳۰٪ از عملکرد محصولات کشاورزی در سطح جهان به دلیل بیماری‌های مختلف کاهش می‌یابد، که خسارت اقتصادی آن به صدها میلیارد دلار می‌رسد (Savary *et al*., 2019). این بیماری‌ها علاوه بر کاهش مستقیم محصول، کیفیت و ارزش اقتصادی محصولات کشاورزی را نیز کاهش می‌دهند، هزینه‌های کشاورزی و نیروی کار را افزایش می‌دهند و تأثیر قابل توجهی بر درآمد و معیشت کشاورزان دارند (Gai & Wang, 2024). استفاده گسترده از سموم شیمیایی می‌تواند پیامدهای نامطلوبی برای اکوسیستم‌های کشاورزی به همراه داشته باشد. از جمله این پیامدها می‌توان به افزایش مقاومت بیمارگرها، کاهش تنوع زیستی خاک و اختلال در فرایند تثبیت نیتروژن اشاره کرد. همچنین تجمع زیستی سموم در زنجیره‌های غذایی و نابودی شکارچیان طبیعی و گرده‌افشان‌ها از دیگر اثرات منفی آن‌ها محسوب می‌شود (Wang *et al*., 2025). علاوه بر این، زیستگاه‌ها و منابع غذایی پرندگان نیز در نتیجه مصرف بی‌رویه آفت‌کش‌ها آسیب می‌بینند. با وجود این پیامدهای جانبی، استفاده از آفت‌کش‌ها همچنان به‌عنوان ابزاری مؤثر برای حفظ عملکرد و پایداری تولید محصولات کشاورزی ضروری است (Wang *et al*., 2025). بنابراین، توسعه ترکیبات ضدقارچی سازگار با محیط زیست به‌عنوان یک ضرورت اساسی در کشاورزی مدرن مطرح است. هدف نهایی تحقیقات کشاورزی، ارائه راهکارهای جایگزین و پایدار برای مدیریت بیماری‌های گیاهی است. این راهکارها باید ضمن کاهش وابستگی به سموم شیمیایی، کارایی لازم در کنترل بیماری‌ها را حفظ کنند (Fenta & Mekonnen, 2024).

در راستای جایگزینی سموم شیمیایی با گزینه‌های پایدارتر، پژوهش‌های اخیر بر کاربرد ترکیبات زیستی مشتق از گیاهان دارویی تمرکز یافته‌اند. این ترکیبات به‌عنوان جایگزین‌هایی مؤثر و سازگار با محیط زیست مورد توجه قرار گرفته‌اند. بخش عمده این مواد را متابولیت‌های ثانویه تشکیل می‌دهند که به‌طور طبیعی در گیاهان تولید می‌شوند. این متابولیت‌ها نقش مهمی در دفاع گیاه در برابر آفات و عوامل بیماری‌زا ایفا می‌کنند (Aremu *et al*., 2024). مطالعات اخیر نشان داده‌اند که متابولیت‌های ثانویه گیاهان، مانند آلکالوئیدها، فلاونوئیدها، ترپن‌ها و گلیکوزیدها، می‌توانند به‌عنوان سموم زیستی مؤثر عمل کنند. این ترکیبات با داشتن ویژگی‌های ضد میکروبی، می‌توانند در کنترل آفات و بیماری‌های گیاهی استفاده شوند (Akbar *et al*., 2024). استفاده از این ترکیبات به‌عنوان جایگزین‌های طبیعی برای سموم شیمیایی، مزایای متعددی از جمله کاهش آلودگی محیط‌زیست، کاهش خطرات بهداشتی و کاهش هزینه‌های تولید دارد (Akbar *et al*., 2024). علاوه بر این، استفاده از گیاهان دارویی به‌عنوان منابع طبیعی برای تولید سموم زیستی، می‌تواند به‌عنوان یک استراتژی پایدار در کشاورزی مدرن مطرح شود (Aoudou *et al*., 2010).

گیاه اکالیپتوس از نظر ترکیبات شیمیایی بسیار متنوع است و شامل گروهی از فلوروگلوسینول‌ها می‌باشد. برخی از این مواد، دارای خاصیت‌های زیستی مهمی مانند ضدباکتریایی (Hou *et al*., 2000) و ضدقارچی هستند (Takasaki *et al*., 1990). گیاه مریم‌گلی نیز منبعی ارزشمند از روغن‌های فرّار، ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی است که در بروز فعالیت‌های زیستی آن نقش اساسی دارند. وجود این ترکیبات به گیاه خواص آنتی‌اکسیدانی، ضدباکتریایی و ضدقارچی بخشیده است. (Anjali *et al*., 2024).

بوی گیاه فراسیون تند و تلخ است و به‌دلیل وجود ترکیبات معطر، در داروسازی سنتی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. گیاه فراسیون منبعی غنی از ترکیبات زیستی فعال است علاوه بر این، گزارش‌ها نشان می‌دهند که این گیاه حاوی مجموعه‌ای گسترده از ترکیبات زیستی فعال است که شامل پرماروبین، پِرگرینول، ولگاتول، ماروبنول، ماروبیول، ورباسکوزاید، و سایر مشتقات مهم می‌باشد (Pukalskas *et al*., 2012) وجود این ترکیبات، مسئول فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی، ضدباکتریایی و قارچی گیاه گزارش شده است (Yousefi *et al*., 2014). گیاه آویشن

نیز حاوی ترکیبات زیستی فعال مانند تیمول، کارواکرول، لینالول و گاماترپینن می‌باشد (Wirtu *et al*., 2024).
بخش‌های مختلف گیاه تشنداری دارای کاربردهای درمانی متعددی هستند (Mozaffarian, 2008). گونه‌های تشنداری به‌ویژه به‌عنوان منابع غنی گلیکوزیدهای ایریدوئید، از جمله آوکوبین (Aucubin) و کتالپول (Catalpol) شناخته شده‌اند. این ترکیبات دارای فعالیت‌های بیولوژیکی متنوعی هستند که شامل اثرات ضد میکروبی، ضد توموری و ضد التهابی می‌باشد (Lara & Rostagno, 2013). همچنین، مطالعات نشان داده‌اند که ترکیبات فنولیک موجود در برگ‌های این گیاه دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی هستند و در پیشگیری و کاهش اثرات بیماری‌های مرتبط با استرس اکسیداتیو نقش دارند (Bahrami & Valadi, 2010).
بیماری پاخوره گندم از جمله مهم‌ترین بیماری‌های ریشه و طوقه در گندم به شمار می‌رود و توسط قارچ آسکومیست *G.tritici* var *tritici* (J. Walker) M. Hern. Restr. & Crous ایجاد می‌شود. این بیماری در منابع مختلف با نام‌هایی مانند خوشه سفید نیز گزارش شده است. شدت خسارت این بیماری تحت تأثیر خصوصیات خاک، روش‌های کشاورزی و شرایط اقلیمی متغیر است و می‌تواند باعث کاهش ۴۰ تا ۶۰ درصدی عملکرد گندم شود (Cook, 2003). در برخی مزارع آلوده در کشور، میزان کاهش محصول حتی تا ۸۰٪ نیز مشاهده شده است (Kazemi *et al*., 2008). قارچ عامل بیماری پاخوره گندم در فصل رشد به‌صورت پارازیت اجباری روی گیاه میزبان و پس از برداشت به شکل ساپروفیت روی بقایای گیاهی باقی می‌ماند (Freeman & Ward, 2004). آلودگی اولیه از تماس ریشه‌های سالم با بقایای آلوده و آلودگی ثانویه از ریشه‌های بیمار رخ می‌دهد (Bailey & Gilligan, 1999). قارچ با نفوذ به اپیدرم و آوندهای ریشه باعث کاهش جذب آب و مواد غذایی، سیاه شدن و تخریب ریشه‌ها می‌شود که نتیجه آن زردی، کوتاهی و مرگ زودرس بوته‌ها است (Agrios, 2005). در شرایط خاص، فرم جنسی نقش زمستان‌گذرانی و موجب بقا قارچ در شرایط نامساعد می‌گردد. (Murray *et al*., 2013). در سال‌های اخیر، پژوهش‌های بسیاری برای شناسایی گیاهان دارای ترکیبات کنترل زیستی و استفاده از آن‌ها در کنترل عوامل بیماری‌زای قارچی انجام شده است. استفاده از ترکیبات طبیعی، به‌ویژه متابولیت‌های ثانویه، به‌دلیل نقش آن‌ها در دفاع گیاه در برابر عوامل بیماری‌زا و کاهش مصرف سموم شیمیایی، مورد توجه محققان قرار گرفته است. این ترکیبات به‌دلیل خواص ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی، می‌توانند رشد و فعالیت بیمارگرهای گیاهی را مهار کنند و گزینه‌ای مناسب برای مدیریت پایدار بیماری‌های گیاهی باشند. هدف این پژوهش، بررسی اثر مهارکنندگی عصاره‌های گیاهی مریم‌گلی کبیر (*Salvia officinalis*)، فراسیون (*Marrubium vulgare*)، تشنداری (*Scrophularia striata*)، آویشن (*Thymus vulgaris*) و اکالیپتوس (Eucalyptus sp.) بر رشد قارچ عامل بیماری پاخوره گندم در شرایط آزمایشگاه است.

مواد و روش‌ها

تهیه و کشت تازه جدایه‌های قارچ

جدایه‌های قارچ *G. tritic var tritici* (Gen bank accession number: MH488732) از کلکسیون قارچ‌های دانشگاه کردستان انتخاب و به منظور احیای فعالیت میسلیومی، بر روی محیط سیب‌زمینی دکستروز آگار (Potato Dextrose Agar) کشت داده شدند. پتری‌های حاوی قارچ در دمای ۲۵ درجه سلسیوس به مدت هفت روز انکوبه گردیدند. پس از تکمیل رشد، کشت‌های تازه برای انجام آزمون بیماریزایی مورد استفاده قرار گرفتند.

اثبات بیماریزایی بیمارگر

به‌منظور تهیه مایه تلقیح قارچ *G. tritici* var *tritici*، مقدار ۱۰۰ گرم بذر گندم همراه با ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر در ارلن‌های ۵۰۰ میلی‌لیتری ریخته شد. فلاسک‌ها در دو روز متوالی، هر بار به‌مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس اتوکلاو، استریل شدند تا از حذف کامل آلودگی‌های احتمالی اطمینان حاصل شود. پس از خنک شدن، هر ارلن با چهار بلوک از پرگنه‌های جوان قارچ بیمارگر تلقیح و در دمای ۲۵ درجه سلسیوس نگهداری شد.

پس از رشد کامل میسلیوم قارچ روی بذرها، ۲ گرم مایه تلقیح (معادل حدود ۰.۱–۰.۲ ٪ وزنی نسبت به وزن خاک گلدان) به هر گلدان حاوی خاک استریل اضافه شد. سپس سطح خاک با لایه‌ای نازک از خاک سترون پوشانده شد و چند بذر گندم از رقم حساس «پیشگام» در هر گلدان کشت شد. بذرها با حدود یک سانتی‌متر خاک استریل پوشانده شدند و گلدان‌ها درگلخانه با دمای بین ۱۸ تا ۲۵ درجه سلسیوس قرار گرفتند. چهار هفته پس از کاشت، گیاهچه‌ها با دقت از گلدان خارج و ریشه‌ها با آب جاری شسته شدند. علائم بیماری در اندام‌های هوایی، و همچنین نشانه‌های سیاه‌شدگی در ریشه‌های بذری و ناحیه طوقه، به‌دقت بررسی و ثبت شد. شدت آلودگی ریشه‌ها با استفاده از سیستم درجه‌بندی صفر تا پنج (از صفر تا پنج) ارزیابی شد (Sadeghi *et al.*, 2009).

جمع‌آوری نمونه‌های گیاهی

گیاهان مورد نظر برای استخراج عصاره در فصل بهار از محوطه دانشگاه ایلام و مناطق اطرف آن جمع‌آوری شدند. نمونه‌های گیاهی به‌منظور حذف گل‌ولای و آلودگی‌های سطحی، با دقت توسط آب جاری شسته شدند. سپس در محیطی مناسب، در دمای اتاق و به‌دور از نور مستقیم خورشید (در سایه) خشک گردیدند. پس از خشک شدن کامل، نمونه‌ها با استفاده از آسیاب پودر شده و از الک با مش استاندارد عبور داده شدند تا ذرات یکنواخت حاصل شود.

استخراج عصاره اتانولی گیاهان دارویی

به‌منظور تهیه عصاره‌های گیاهی از مریم‌گلی کبیر(*Salvia sclarea*)، فراسیون(*Marrubium vulgare*)، اکالیپتوس (*Eucalyptus* sp.)، تشنداری (*Scrophularia striata*) و آویشن (*Thymus* sp.)، ابتدا بخش‌های خشک‌شده هر گیاه به‌طور کامل آسیاب شدند تا پودری یکنواخت به‌دست آید. سپس مقدار مشخصی از پودر (حدود ۳۰ تا ۵۰ گرم) در کیسه‌ای از جنس کاغذ صافی یا پارچه مناسب قرار داده شده و در بخش استخراج دستگاه سوکسله قرار داده شد. در مرحله بعد، اتانول ۷۰ درصد به‌عنوان حلال در بالن پایینی دستگاه ریخته شد. پس از اتصال کامل اجزای دستگاه و قرار دادن آن بر روی هیتر، فرآیند استخراج آغاز شد. بخار حلال به سمت بالا حرکت کرده، در کندانسور متراکم شد و به‌صورت قطره‌ای بر روی نمونه گیاهی چکید. این چرخه چندین ساعت ادامه یافت تا ترکیبات محلول موجود در بافت گیاه به‌طور کامل استخراج شوند. در پایان، محلول حاصل با استفاده از دستگاه تبخیر دورانی (Rotary Evaporator) تحت خلأ تغلیظ شد و عصاره خام گیاهان به‌دست آمد. عصاره‌های به‌دست‌آمده تا زمان استفاده در ظروف دربسته و در دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری شدند.

بررسی اثر بازدارندگی عصاره‌ها بر رشد میسلیومی در شرایط آزمایشگاه

برای بررسی اثر ضدقارچی عصاره‌های گیاهی، از روش اختلاط عصاره با محیط کشت استفاده شد. غلظت‌های مختلفی از عصاره‌های گیاهی(۲۵۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام) با محیط کشت PDA مخلوط سپس مقادیر مشخصی از هر غلظت به محیط کشت PDA ذوب‌شده افزوده و به‌خوبی مخلوط شد. محیط‌های آماده‌شده در پتری‌دیش‌های استریل به قطر ۸ سانتی‌متر ریخته شدند. تیمار شاهد شامل محیط PDA حاوی همان مقدار از حلال بدون عصاره بود. پس از جامد شدن محیط، دیسک‌هایی به قطر ۵ میلی‌متر از پرگنه فعال قارچ با استفاده از چوب‌پنبه‌بر از کشت تازه جدا شده و در مرکز هر پتری‌دیش قرار گرفتند. پتری‌دیش‌ها در دمای ۲۵ درجه سلسیوس انکوبه شدند و رشد قارچ در تا مرحله پر شدن سطح پتری شاهد اندازه‌گیری شد. درصد بازدارندگی رشد میسلیومی بر اساس فرمول زیر محاسبه شد.

$$\% GI = (dc - dt / dc) \times 100$$

GI= Growth Inhibition بازدارندگی رشد

dc= diameter میانگین رشد قطر پرگنه قارچ در تیمار شاهد control

میانگین رشد قطر پرگنه قارچ در تیمار مورد بررسی dt= diameter treatment

تعیین و شناسایی ترکیبات شیمیایی عصاره‌های گیاهی با استفاده ازGC–MS

شناسایی ترکیبات عصاره‌های گیاهی با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنج جرمی(GC-MS) انجام شد. آنالیزها در شرکت خدمات آزمایشگاهی مهامکس (ایران) انجام گردید. پس از استخراج و تغلیظ عصاره خام، مقدار مشخصی از نمونه در حلال مناسب حل شد و پس از صاف‌کردن، در ویال مخصوص تزریق قرار داده شد و شناسایی ترکیبات بر اساس تطابق طیف‌های جرمی با کتابخانه استاندارد NIST صورت گرفت.

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل آماری تمامی آزمایش‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار برای هر تیمار انجام شد. داده‌های حاصل با استفاده از نرم‌افزارهای SPSS و SAS مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند.

نتایج

نتایج آزمون بیماریزایی بیماریزایی

به‌منظور اطمینان از بیماری‌زایی جدایه مورد مطالعه، آزمون اثبات بیماریزایی در شرایط گلخانه انجام شد. پس از گذشت چهار هفته، گیاهچه‌های رشد یافته از گلدان خارج و ریشه‌ها شستشو داده شدند. در گیاهان تیمارشده، علائم تیپیک بیماری شامل سیاه‌شدگی در ناحیه طوقه و ریشه‌های بذری، کاهش رشد هوایی و زردی برگ‌ها مشاهده شد، در حالی که گیاهان شاهد فاقد هرگونه نشانه بیماری بودند. شدت آلودگی بر اساس مقیاس عددی صفر تا پنج (بدون علائم تا آلودگی شدید) ارزیابی شد. بر پایه‌ی میانگین داده‌های حاصل از سه تکرار، مقدار شدت بیماری در تیمار قارچ عامل پاخوره۴/۸۳ ±/۱۷ و در شاهدها برابر با صفر بود. مشاهده مستقیم علائم اختصاصی همراه با رشد قارچ از بخش‌های آلوده، بیماری‌زایی جدایه مورد مطالعه را تأیید نمود (شکل۱).

شکل۱- علائم بیماری پاخوره گندم در شرایط گلخانه‌ای پس از تلقیح با قارچ *G. tritici va tritici*

Fig.1. Symptoms of take-all disease in wheat under greenhouse conditions following inoculation with *G. tritici* var. *tritici*..

تجزیه و تحلیل واریانس داده ها نشان داد که بین اثر غلظت های مختلف عصاره گیاهان مورد مطالعه روی بازدارندگی رشد قارچ اختلاف معنی داری وجود دارد. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که بیشترین (۲۰۰۰ پی پی ام) و

کمتـرین (۲۵۰ پـی پـی ام) درصـد بازدارنـدگی رشـد عصاره‌های گیـاهی مـریم گلـی کبیـر، اکـالیپتوس، آویشـن، فراسیون و تشنداری بـرای قـارچ عامـل پـاخوره بـه ترتیـب ۳۸/۵۱ و ۷۹/۷۳ درصـد، ۴۳/۹۲ و ۹۳/۹۲ درصـد، ۳۷/۸۴ و ۸۰/۴۱ درصـد، ۱۸/۹۲ و ۵۹/۴۶ درصـد و ۴۹/۳۲ و ۸۹/۸۶ درصد بود. مقادیر درصد بازدارندگی در تمامی غلظت‌ها در جدول ۱ ارائه شده‌اند (شکل‌های ۱ تا ۶).

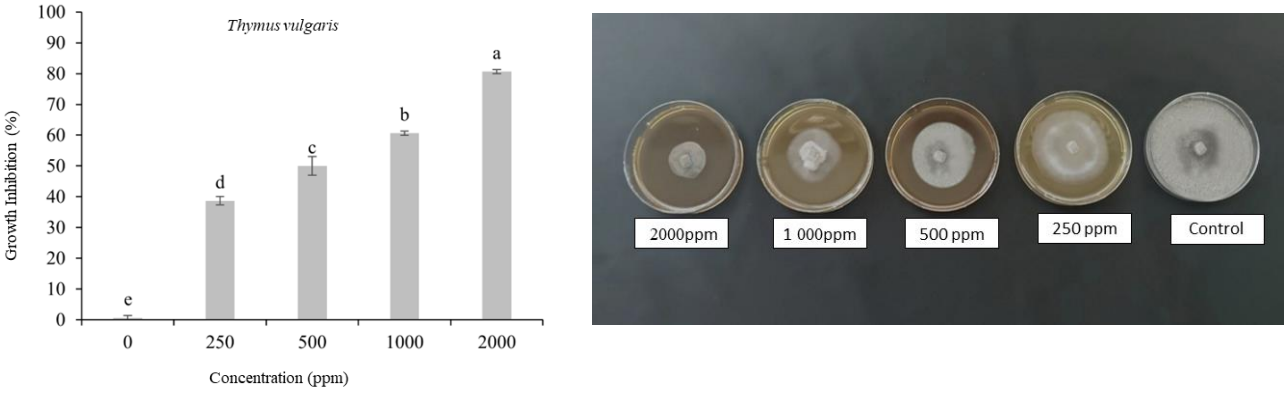
بر اساس نتایج به‌دست‌آمده، افزایش غلظت از ۲۵۰ تـا ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام در تقریباً تمـامی عصـاره‌ها موجـب افـزایش درصـد بازدارندگی رشد قارچ شد. بیشـترین میـزان بازدارنـدگی در غلظت ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام مربـوط بـه عصـاره‌ی اکـالیپتوس بـود. عصاره‌های آویشن و تشنداری نیز در غلظت ۲۰۰۰ پی‌پـی‌ام عملکردی نسبتاً مشابه بـا مقـادیر بازدارنـدگی بـین ۸۹ تـا ۹۳ درصد نشان دادند. در مقابل، عصاره‌های آویشن، مریم‌گلـی کبیر و فراسیون در غلظت ۲۵۰ پی‌پـی‌ام در رده‌ی پـایین‌تری از نظـر اثـر بازدارنـدگی قـرار گرفتنـد. همچنـین، عصـاره‌ی فراسیون در تمامی غلظت‌ها کمترین اثر ضـدقارچی را نشـان داد.

جدول۱-اثر بازدارندگی غلظت‌های مختلف عصاره‌های گیاهی بر رشد میسلیومی عامل پاخوره

Table 1- Inhibitory effect of different concentrations of plant extracts on the mycelial growth of *G. tritici* var. *tritici*

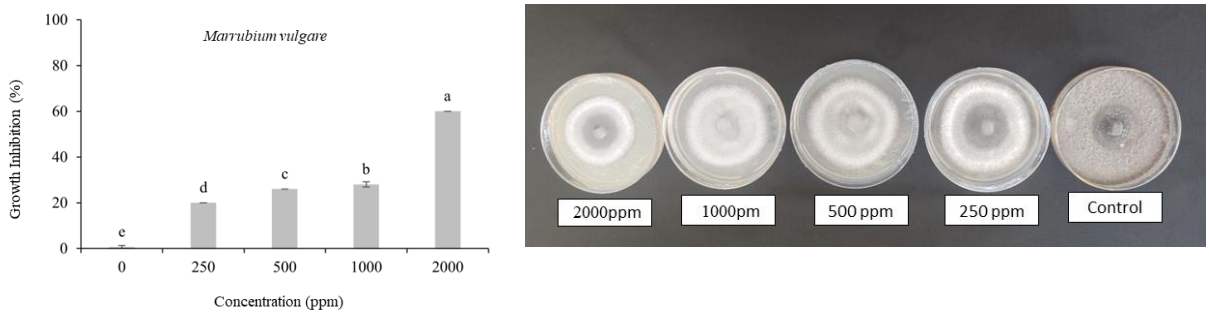
Plant extract	Inhibition of growth (%)			
	250ppm	**500ppm**	**1000ppm**	**2000ppm**
Eucalyptus sp	43.92 ±0.03	60.81±0.07	79.73 ±0.00	93.92±0.01
Thymus vulgaris	37.84±0.07	53.38± 0.00	60.14 ±0.03	80.41± 0.03
Salvia sclarea	38.51±0.03	56.08±0.03	62. 16±0.03	79.73 ±0.00
Marrubium vulgare	18.92±0.00	25±0.00	27. 03±.03	59.46±.0.00
Scrophularia striata	49.32±0.00	59.47±0.00	71.62± 0.06	89.86±0.00

معنی‌دار در سطح یک درصد ($p<0.01$)



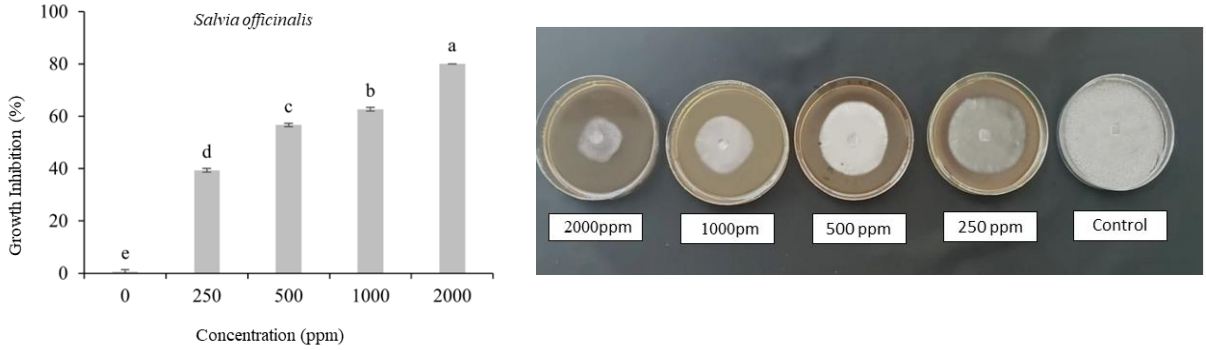
شکل۲- اثر غلظت‌های مختلف عصاره آوبشن بر رشد شعاعی پرگنه قارچ عامل پاخوره با استفاده از روش اختلاط با محیط کشت پس از هفت روز.

Fig.2. Effect of different concentrations of *Thymus vulgaris* L. extract on the radial growth of *G. tritici* var. *tritici* using the poisoned food technique after seven days of incubation.



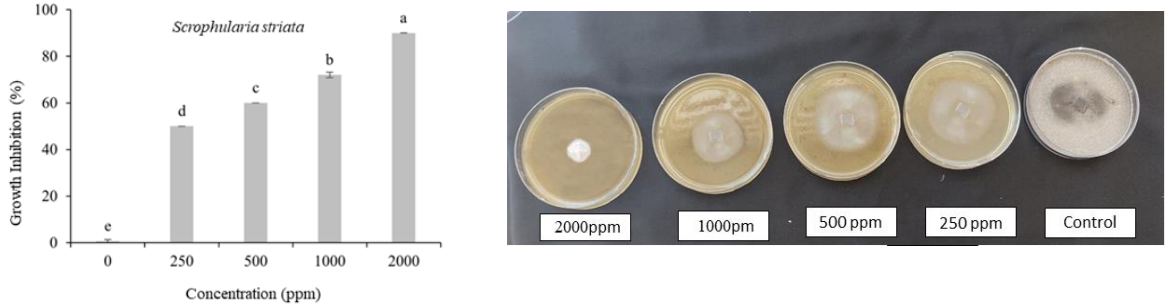
شکل۳- اثر غلظت‌های مختلف عصاره فراسیون بر رشد شعاعی پرگنه قارچ عامل پاخوره با استفاده از روش اختلاط با محیط کشت پس از هفت روز.

Fig.3. Effect of different concentrations of *Marrubium vulgare*. extract on the radial growth of *G. tritici* var. *tritici* using the poisoned food technique after seven days of incubation.



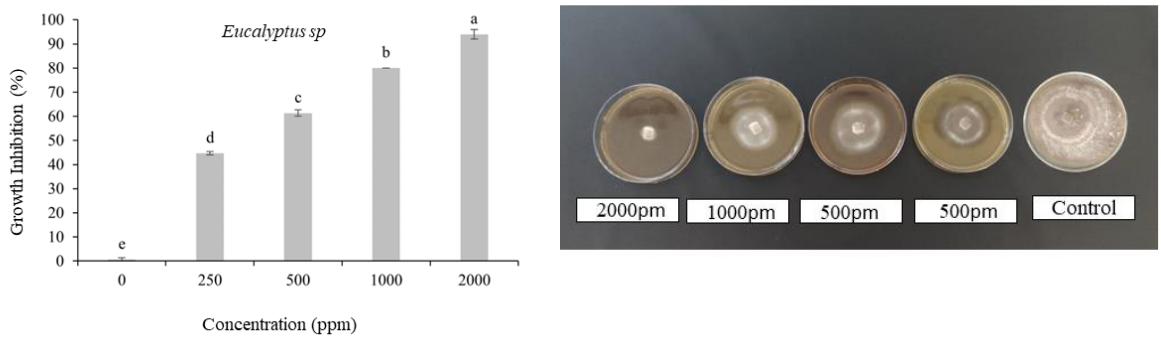
شکل۴- اثر غلظت‌های مختلف عصاره مریم گلی کبیر بر رشد شعاعی پرگنه قارچ عامل پاخوره گندم با استفاده از روش اختلاط با محیط کشت پس از هفت روز.

Fig.4. Effect of different concentrations of *Salvia officinalis*. extract on the radial growth of *G. tritici* var. *tritici* using the poisoned food technique after seven days of incubation.



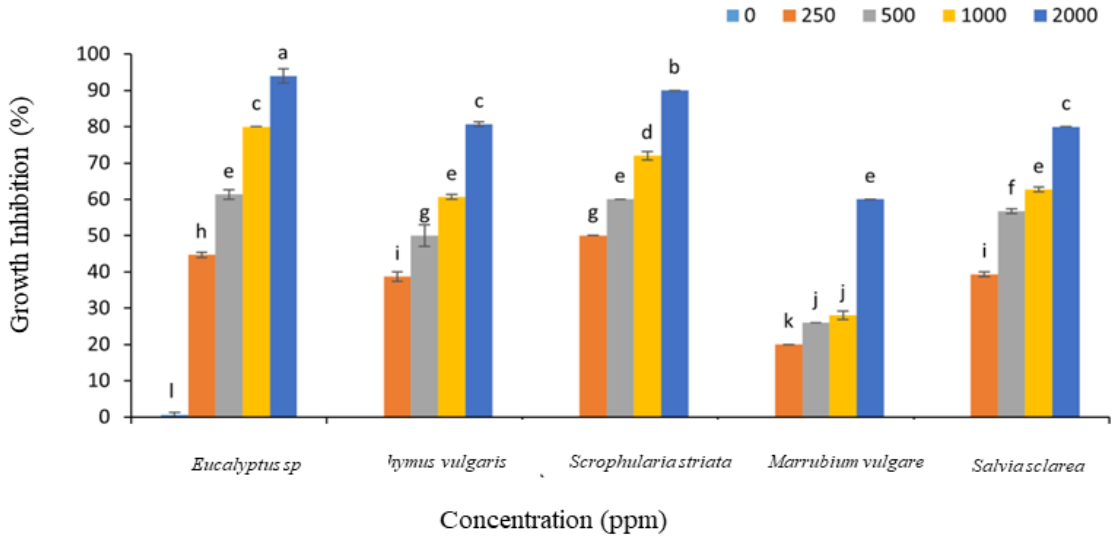
شکل۵- اثر غلظت‌های مختلف عصاره تشنداری بر رشد شعاعی پرگنه قارچ عامل پاخوره گندم با استفاده از روش اختلاط با محیط کشت پس از هفت روز.

Fig.5. Effect of different concentrations of *Scrophularia striata* extract on the radial growth of *G. tritici* var. *tritici* using the poisoned food technique after seven days of incubation.



شکل۶- اثر غلظت‌های مختلف عصاره اکالیپتوس بر رشد شعاعی پرگنه قارچ عامل پاخوره گندم با استفاده از روش اختلاط با محیط کشت پس از هفت روز.

Fig.6. Effect of different concentrations of *Eucalyptus* sp. extract on the radial growth of *G. tritici* var. *tritici* using the poisoned food technique after seven days of incubation.



شکل۷- مقایسه درصد بازدارندگی رشد قارچ عامل پاخوره گندم تحت تأثیر عصاره‌های گیاهی اویشَن، فراسیون، مریم‌گلی، تشنداری و اکالیپتوس در غلظت‌های مختلف (ppm).

Fig.7. Comparison of growth inhibition (%) of *G. tritici* var. *tritici* under different concentrations (ppm) of plant extracts :*Thymus vulgaris, Marrubium vulgare, Salvia sclarea, Scrophularia striata, Eucalyptus* sp.

آنالیز ترکیبات شیمیایی عصاره‌های اتانولی اکالیپتوس، آویشن، تشنداری با استفاده از GC-MS

آنالیز GC–MS عصاره اتانولی برگ اکالیپتوس، مجموعاً چندین جزء فرّار و نیمه‌فرّار را نشان داد که مهم‌ترین آن‌ها شامل اسپاتولنول (Spathulenol) با ۲۲/۴۳٪ ، استر متیل اسید هگزادسکانیک (Hexadecanoic acid, methyl ester) با ۱۲/۳۴٪ و آلئورومادندرن (Alloaromadendrene) با ۱۲/۴۳٪ است. سایر ترکیبات

شناسایی‌شده شامل کارواکرول (Carvacrol)، سیس-جاسمون (Cis-jasmone)، لیدین (Ledene)، بتا- سلینن(-β selinene) و متیل استئارات (Methyl stearate) با درصدهای کمتر بودند. شناسایی ترکیبات بر اساس تطبیق طیف‌های جرمی با کتابخانه NIST و مقایسه زمان‌های نگه‌داشت انجام شد. تجزیه و تحلیل ترکیبات غالب نشان می‌دهد که عصاره مورد مطالعه حاوی درصد بالایی از سزکویی‌ترپن‌ها (مانند اسپاتولنول و آلئورومادندرن) و یک سهم قابل‌توجه از اسیدهای چرب مشتق‌شده/استری‌شده (اسید هگزادسکانیک) است (جدول۲).

ترکیبات شیمیایی حاصل از آنالیز GC-MS عصاره‌ی اتانولی گیاه تشنداری نشان داد که دوازده ترکیب اصلی در نمونه حضور دارند. در میان آن‌ها، دی هیدروبنزوفوران (Dihydrobenzofuran) با بیشترین درصد سطحی (۳۹.۱۳٪) به‌عنوان ترکیب غالب شناسایی شد. پس از آن، دو ترکیب کارواکرول با ۱۶/۱۰٪ و تیمول (Thymol) با ۷/۶۸٪ سهم قابل‌توجهی از کل ترکیبات آلی را تشکیل دادند. سایر اجزای شناسایی‌شده شامل آلفا (α-Glyceryl linolenate)، ۲-متوکسی-۴- وینیل فنول (2-Methoxy-4-vinylphenol) و فنول۲-متوکسی ۴-(۴-۱-پروپنیل) (Phenol 2-methoxy-4-(4-1-propenyl بودند که همگی در رده‌ی ترکیبات فنولی و اکسیژنه قرار می‌گیرند. در بخش اسیدها و مشتقات آن‌ها، حضور هگزادسکانیک اسید و هگزادسکانیک اسید متیل استر همراه با متیل استر اسید ۹,۱۲-اوکتادکادی‌انئیک (9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, methyl ester)، و اکتا دکانوئیک اسید متیل استر نشان‌دهنده سهم قابل‌توجهی از اسیدهای چرب اشباع و غیراشباع در ترکیب کلی عصاره است (جدول۴).

همچنین در تجزیه شیمیایی عصاره اتانولی گیاه آویشن با استفاده از دستگاه GC–MS، در مجموع ۱۷ ترکیب مؤثره شناسایی شد که نمایانگر طیف وسیعی از مونوترپن‌ها، سزکوئی‌ترپن‌ها، فنول‌ها و ترکیبات لیپیدی بودند. فراوان‌ترین جزء شیمیایی استخراج‌شده در این عصاره پی-سیمن (p-Cymene-2,5-diol) با ۳۷/۲۷ ٪ بود که سهم قابل‌توجهی از محتوای کل ترکیبات فرّار نمونه را تشکیل داد. پس از آن، ترکیبات تیمول با ۱۴/۴۹٪ و (Thymohydroquinone) با ۱۲/۶۷٪ به عنوان اجزای غالب شناخته شدند که هر دو از مونوترپن‌های اکسیژنه با نقش شناخته‌شده در فعالیت‌های ضدباکتریایی و آنتی‌اکسیدانی هستند. سایر ترکیبات اصلی شامل o-Cymene، D-alpha-Tocopherol، پی سیمن ، وینیل‌گایکول (Vinyl guaiacol) و هگزادسکانیک اسید بودند که در گروه ترکیبات آروماتیک، فنولی و اسیدهای چرب اشباع طبقه‌بندی می‌شوند. وجود مقادیر کمتر ترکیباتی مانند اسپاتولنول ، نئوفیتادین (Neophytadiene) ، سیتواسترول (γ-Sitosterol)، فیتول (Phytol) نشان‌دهندهی حضور ترکیبات سنگین‌تر با ساختارهای سزکوئی‌ترپنی و ترکیبات استروئیدی در بخش غیرقطبی عصاره است (جدول۳).

جدول۲-نام و درصد ترکیبات اصلی شناسایی شده در عصاره اکالیپتوس با استفاده از GC-MS

Table.2. Identification and percentage composition of major compounds in *Eucalyptus sp* extract using GC–MS

Compound	Percentage of total composition	Retention time (min)
Dihydrobenzofuran	39.13	11.512
Thymol	7.68	13. 089
Carvacrol	16. 10	13.292
Benzofuran	0. 40	7.854
α-Glyceryl linolenate	2.01	28.577
2-Methoxy-4-vinylphenol	16. 10	13.477
Phenol, 2-methoxy-4-(1-propenyl)-	0. 48	14.379
Hexadecanoic acid, methyl ester	2.31	25.142
Hexadecanoic acid	2.72	25.879
9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, methyl ester	4.38	27. 773
8-Octadecenoic acid, methyl ester, (E)-	4.21	27.877
9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, methyl ester	4.38	28.494

جدول۳- نام و درصد ترکیبات اصلی شناسایی شده در عصاره آویشن با استفاده از GC-MS

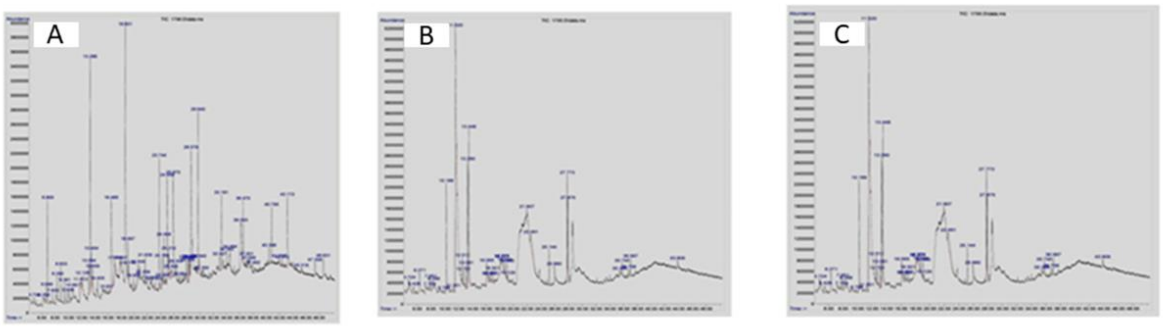
Table.3. Identification and percentage composition of major compounds in *Thymus vulgaris* extract using GC–MS

Compound	Percentage of total composition	Retention time (min)
2-Cyclopenten-1-one, 2-hydroxy-	0.78	4.735
alpha.-Terpinene	0.88	6.645
o-Cymene	7.64	6.8
gamma.-Terpinene	0.70	7.599
p Cymene	2.54	8.29
Thymol	14.49	13.286
4-Vinylguaiacol	2.52	13.452
Eugenol	0.76	14.407
Thymohydroquinone	12.67	16.488
p-Cymene-2,5-diol	27.37	18.599
Spathulenol	1.89	18. 999
NEOPHYTADIENE	1 .90	24. 457
Thymol	0.76	25.21
Hexadecanoic acid	1.17	25. 869
PHYTOL ISOMER	1.34	28.1
D,.alpha.-Tocopherol	3.73	40.769
γ-Sitosterol	7.87	43.173

جدول۴-نام و درصد ترکیبات اصلی شناسایی شده در عصاره تشنداری با استفاده از GC-MS

Table.4.. Identification and percentage composition of major compounds in *Scrophularia striata* extract using GC–MS

Compound	Percentage of total composition	Retention time (min)
Carvacrol	7.09	13.317
Spathulenol	22.43	19.009
Ledene	12.42	19.134
Alloaromadendran	18.40	16.609
Caryophyllene oxide	3.38	23.793
cis-Jasmone	11.44	24.67
Hexadecanoic acid, methyl ester	12.34	25.168
beta-Selinene	4.94	25.656
Methyl stearate	7.54	28.307



شکل۸- کروماتوگرام عصاره گیاهان، A: اکالیپتوس، B:آویشن و C: تشنداری

Fig 8. Chromatograms of plant extracts: (A) *Eucalyptus* sp. (B) *Thymus vulgaris*, (C) *Scrophularia striata*.

بحث

گیاهان به‌عنوان منابع غنی از متابولیت‌های ثانویه شناخته می‌شوند؛ ترکیباتی که هرچند سنتز آن‌ها به‌صورت ژنتیکی هدایت می‌شود، اما میزان و نوع تولیدشان به‌طور قابل‌توجهی تحت تأثیر عوامل محیطی قرار دارد. عواملی مانند ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی تیپ خاک، میزان و کیفیت نور، دما، pH محیط و برهم‌کنش با سایر موجودات زنده پیرامونی می‌توانند در مسیرهای بیوسنتزی این متابولیت‌ها نقش تعیین‌کننده‌ای داشته باشند (Omidbeigi, 2014). علاوه¬براین ، کاربرد برخی سموم شیمیایی، آلودگی‌های قارچی و باکتریایی، تیمارهای پس از برداشت، شرایط نگهداری و نیز روش‌های مختلف استخراج، قادرند سبب تغییر در کمیت و کیفیت ترکیبات مؤثره گیاهان دارویی شوند (Omidbeigi, 2014). مطالعات متعددی نشان داده‌اند که ترکیبات موجود در عصاره‌های گیاهی از خود فعالیت ضدقارچی نشان می‌دهند، و شدت این فعالیت به ترکیب شیمیایی اجزای سازندهٔ عصاره بستگی دارد (Kursa *et al*., 2022).

یک ترکیب منفرد ممکن است به‌تنهایی یا در تعامل با سایر ترکیبات، موجب بروز یا تقویت اثرات ضدقارچی شود. علاوه بر این، نوع عصاره و غلظت آن دو عامل کلیدی در تعیین میزان مهار رشد میسلیومی، حداقل غلظت مهارکننده (MIC)، درصد بازدارندگی رشد، و در نهایت اثر بخشی ضدقارچی هستند (Maj *et al*., 2024).

در یک مطالعه، اثرات ضدقارچی عصاره‌های مختلف گیاه مرزنگوش (*Origanum elongatum*) که با استفاده از حلال‌های آب، هگزان، کلروفرم و متانول استخراج شده بودند، بر علیه قارچ *Phytophthora infestans* ارزیابی شد. نتایج نشان داد که عصاره‌های مختلف میزان بازدارندگی متفاوتی نشان دادند، به گونه‌ای که عصاره متانولی بالاترین میزان بازدارندگی رشد قارچ را در شرایط آزمایشگاهی و گلخانه¬ای نشان داد. این برتری به دلیل غلظت بالای ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی قابل‌توجه این عصاره است. همچنین در این مطالعه نیز الگوی وابسته به غلظت گزارش شده است. به این صورت که با افزایش غلظت اثر بازدارندگی تمام عصاره‌ها افزایش یافت (Hari *et al*., 2024). در تحقیق حاضر نیز افزایش غلظت عصاره‌های اتانولی گیاهان بومی ایلام موجب افزایش درصد بازدارندگی شد و بیشترین رشد میسیلیوم در پتری شاهد (فاقد عصاره) مشاهده گردید.

نتایج حاصل از بررسی فعالیت ضدقارچی برگ‌های اکالیپتوس نشان داد که نوع حلالی که در استخراج عصاره‌ها استفاده می‌شود، تأثیر قابل‌توجهی بر میزان بازدارندگی رشد قارچ‌ها دارد. در این پژوهش از چهار نوع عصاره شامل عصاره متانولی، عصاره آبی، عصاره کلروفرمی و اسانس استفاده شد. قارچ‌های مورد بررسی شامل *Aspergillus flavus*، *A. fumigatus*، *A. nidulans* و *A. terreus* بودند که از عوامل اصلی بیماری‌های پسابرداشت محسوب می‌شوند. بر اساس نتایج، عصاره متانولی بیشترین اثر مهاری بر رشد قارچ‌ها را نشان داد، در حالی‌که اسانس، عصاره کلروفرمی و عصاره آبی فعالیت ضدقارچی ضعیف‌تری داشتند. این تفاوت بیانگر آن است که کارایی زیستی عصاره‌ها به نوع حلال و قطبیت آن وابسته است (Javed *et al*., 2012). نتایج تحقیق حاضر نیز نشان داد که عصاره اتانولی اکالیپتوس بیشترین اثر بازدارندگی را بر رشد میسیلیومی قارچ عامل پاخوره دارد. در مطالعه‌ای دیگر، اثر ضدقارچی عصاره‌های مختلف برگ و ساقه گیاه نعناع فلفلی بر علیه قارچ‌های گیاهی شامل *Aspergillus niger*, *A. flavus*, *A. fumigatus* و *A. oryzae* مورد بررسی قرار گرفت. عصاره‌ها با حلال‌های متانول، اتانول، آب، کلروفرم، استون و هگزان تهیه شدند و فعالیت ضدقارچی آن‌ها ارزیابی شد. نتایج نشان داد که عصاره متانولی برگ نعناع فلفلی بیشترین توان بازدارندگی را در رشد قارچ‌ها داشت و نسبت به سایر عصاره‌ها عملکرد قابل توجه‌تری نشان داد. این یافته‌ها نشان‌دهنده اهمیت انتخاب حلال مناسب برای استخراج ترکیبات فعال¬زیستی هستند (Ali *et al*., 2017). در مطالعه¬ای دیگر، فعالیت ضدقارچی پنج عصاره متانولی از گیاهان آویشن، زنجبیل (*Zingiber officinale*)، شاه‌پسندوحشی (*Lantana camara*)، اراک (*Salvadora persica*) و عناب کوهی (*Ziziphus spina-christi*) بر علیه قارچ‌های بیمارگر گوجه‌فرنگی شامل *Fusarium oxysporum*، *Pythium aphanidermatum* و *Rhizoctonia solani* ارزیابی شد. نتایج نشان داد که عصاره‌های آویشن و زنجبیل بیشترین اثر بازدارندگی را داشتند و فعالیت قارچ‌کشی و مهارکنندگی قابل توجهی از خود نشان دادند، به طوری که حداقل غلظت مهارکننده (MIC)۴ میلی‌گرم در میلی‌لیتر و حداقل غلظت قارچ‌کش (MFC)۸ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود (Al Rahmah *et al*., 2013). علاوه¬براین نتایج مطالعه‌ای دیگر بر روی عصاره متانولی گیاه آویشن نشان داد که این عصاره دارای فعالیت ضدقارچی قوی علیه قارچ‌های بیماری‌زای غلات از جمله *Fusarium culmorum* و *F. graminearum* است. در غلظت ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام، عصاره آویشن توانست رشد میسلیومی *F. culmorum* را تا بیش از ۸۰ ٪ مهار کند و پایین‌ترین مقادیر MIC و MFC را در میان عصاره‌های مورد بررسی نشان داد (Ehterami *et al*., 2019). نتایج مطالعات مذکور با یافته‌های حاضر هم‌راستا است؛ به‌گونه‌ای که عصاره آویشن در این پژوهش نیز با مهار قابل‌توجه رشد میسلیومی قارچ عامل پاخوره، فعالیت ضدقارچی چشمگیری از خود نشان داد.

Kursa *et al*. (2022) اثر ضدقارچی عصاره‌های اتانولی برگی چهار گیاه دارویی شامل مریم‌گلی، گل‌پَر، بومادران و خارگوش بر علیه قارچ‌های بیماری‌زای غلات (*F. avenaceum*, *F. graminearum*, *F. culmorum* و *F.*

sporotrichioides) بررسی کردند. نتایج نشان داد که عصاره اتانولی مریم‌گلی در غلظت ٪۲۰ بیشترین اثر بازدارندگی را بر روی رشد میسلیومی قارچ‌ها (٪۸۳/۵۳) نشان داد و پس از آن عصاره اتانولی گل‌پَر با ٪۷۲/۵۸ قرار گرفت. در مقابل، عصاره‌های اتانولی بومادران و خارگوش در همان غلظت اثر ضعیف‌تری نشان دادند. در مجموع، *F. avenaceum* و *F. culmorum* حساس‌ترین گونه‌ها به عصاره‌های گیاهی بودند، در حالی‌که *F. graminearum* مقاومت بیشتری نشان داد. در مطالعه¬ای دیگر، اثر ضدقارچی عصاره متانولی گیاه مریم‌گلی بر عامل بیماری‌زای پژمردگی فوزاریومی گوجه‌فرنگی (*Fusarium oxysporum f.* sp. *lycopersici*) مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج آزمایشگاهی نشان داد که عصاره مذکور توانست رشد میسلیومی قارچ را در غلظت 20 mg/ml تا ٪۸۸/۶۷ مهار نماید. علاوه بر این، آزمایش‌های گلخانه‌ای نیز بیانگر کاهش معنی‌دار شدت بیماری در گیاهان تیمارشده با عصاره بودند (Gaber *et al*., 2025). در یک بررسی اثر ضدقارچی عصاره متانولی برگ‌های مریم‌گلی و ریحان بر علیه عامل بیماری‌زای پژمردگی فوزاریومی خرما مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که عصاره متانولی ریحان و مریم‌گلی به‌ترتیب توانستند رشد میسلیومی قارچ را با ضریب مهار ٪۷۳ و ٪۵۷/۴۲ کاهش دهند، در حالی که عصاره آبی این گیاهان اثر ضعیف‌تری داشته و ضریب مهار آن‌ها به‌ترتیب ٪۳۵/۱۵ و٪۱۰/۵۴ بود (Bouderbane *et al*., 2022).

پژوهش‌های فیتوشیمی و بررسی فعالیت زیستی عصاره‌های گیاهی نشان داده شده است که ترکیب شیمیایی عصاره‌ها و در نتیجه، میزان فعالیت‌های بیولوژیکی آن‌ها مانند اثرات ضدقارچی به عوامل گوناگونی وابسته است. از مهم‌ترین این عوامل می‌توان به روش و شرایط استخراج (مانند نوع و قطبیت حلال، دمای استخراج، مدت زمان و استفاده از روش‌های مختلف استخراج)، ویژگی‌های گیاه (شکل ظاهری و فیزیولوژیک)، و شرایط محیطی محل رشد (شامل موقعیت جغرافیایی، ارتفاع از سطح دریا، نوع اقلیم و فصل برداشت) اشاره کرد. به همین دلیل، تفاوت در قدرت بازدارندگی عصاره‌های مختلف معمولاً به تغییر در مقدار و نوع ترکیبات فعال زیستی موجود در آن‌ها مربوط می‌شود (Bitwell *et al*., 2023). پژوهش‌ها نشان داده‌اند که قطبیت و ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی حلال، نوع و میزان ترکیبات استخراج‌شده را تعیین می‌کند. ترکیباتی مانند فنل‌ها، فلاونوئیدها، ترکیبات فرّار و پپتیدها، بسته به نوع حلال و روش استخراج، به‌صورت متفاوت از بافت گیاه جدا می‌شوند. به همین دلیل، فعالیت ضدمیکروبی عصاره‌های گیاهی به شیوه استخراج و حلال بسیار وابسته است (Chatepa *et al*., 2024). همچنین عصاره‌های اتانولی و اسانس‌های گیاهی، اگرچه هر دو از مواد گیاهی استخراج می‌شوند، اما از نظر ترکیب شیمیایی و ویژگی‌های زیستی تفاوت اساسی دارند. نوع حلال و روش استخراج، تعیین‌کنندهٔ نوع و نسبت ترکیبات شیمیایی استخراج‌شده است. در اسانس‌ها که معمولاً از طریق تقطیر با بخار آب به‌دست می‌آیند، ترکیبات غیرقطبی و فرّار مانند مونوترپن‌ها، سزکوئی‌ترپن‌ها و ترکیبات آروماتیک سبک غالب‌اند و بخش عمده ترکیبات تشکیل‌دهندهی اسانس را شامل می‌شوند. در مقابل، عصاره‌های اتانولی به دلیل ماهیت قطبی‌تر حلال، عمدتاً شامل فنول‌ها، فلاونوئیدها، تانن‌ها و اسیدهای آلی هستند که نقش مهمی در فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی و ضدقارچی دارند (Bimakr *et al*., 2011).

مطالعات نشان داده‌اند که ترکیبات فنولی استخراج‌شده با اتانول قادرند با غشای سلولی قارچ‌ها برهم‌کنش کرده و موجب تخریب آن شوند، در حالی که اسانس‌ها عمدتاً از طریق ترکیبات ترپنی فرّار اثر خود را اعمال می‌کنند (Tian *et al*., 2012). در نتیجه، هنگام ارزیابی ویژگی‌های ضدقارچی گیاهان، تمایز بین عصاره‌های اتانولی و اسانس‌های آن‌ها از نظر ترکیب شیمیایی و مکانیسم اثر، ضروری است.

در آنالیز GC-MS عصاره اتانولی آویشن، ترکیبات تیمول و پی–سیمن به‌عنوان ترکیبات اصلی شناسایی شدند. پژوهش‌ها نشان داده‌اند که ترکیب تیمول با آسیب به غشای سلولی قارچ، نفوذپذیری غشا را افزایش می‌دهد و موجب خروج مواد حیاتی از سلول می‌شود. این اثر باعث کاهش رشد و مرگ قارچ می‌گردد. همچنین این ترکیب سنتز

ارگوسترول که یکی از اجزای کلیدی غشای قارچ است را نیز مهار می‌کند (Jung *et al*., 2021; Marchese *et al*., 2017). پی-سیمن به‌تنهایی اثر ضعیف‌تری دارد، اما در حضور تیمول موجب تقویت اثر ضدقارچی آن می‌شود. این ترکیب نفوذ تیمول به غشا را تسهیل کرده و اثر کلی عصاره را افزایش می‌دهد (Nurzyńska-Wierdak *et al*., 2025). در سایر مطالعات نیز ترکیبات تیمول و پی-سیمن را در عصاره آویشن شناسایی کردند. این یافته نشان می‌دهد که این ترکیبات حتی در استخراج با حلال‌های قطبی نیز پایدار می‌مانند (Saleem *et al*., 2022). بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که فعالیت ضدقارچی مشاهده‌شده عمدتاً ناشی از ترکیب تیمول است و پی-سیمن نقش کمکی و تقویتی دارد. در مطالعه‌ای دیگر، عصاره‌ی متانولی گیاه آویشن مورد بررسی قرار گرفت و نتایج آنالیز GC-MS نشان داد که این عصاره شامل چندین ترکیب اصلی است که ترکیبات غالب آن به‌ترتیب شامل تیمول، اوژنول، پی-سیمن، کارواکرول و گاما-ترپینن (γ-Terpinene) می¬باشند. و بر اساس نتایج به‌دست‌آمده، بیشترین سهم در میان ترکیبات متعلق به ترکیب تیمول بود (Saleem *et al*., 2022). همچنین در تحقیقی، عصارهٔ متانولی آویشن مورد بررسی قرار گرفت و ترکیبات فنولی غالب آن شامل, کارواکرول، تیمول و سینامیک اسید (Cinnamic acid) بودند که به‌ترتیب حدود ۲۱/۶۵٪، ۱۷/۳۴٪ و ۹/۱۰٪ از عصاره را تشکیل می‌دادند (Mokhtari *et al*., 2023).

در آنالیز GC-MS عصاره اتانولی برگ‌های اکالیپتوس، ترکیبات اسپاتولنول وآلو آرومادندرن (Aalloaromadendran) به‌عنوان اجزای غالب، و هگزادکانوئیک اسید متیل استر به‌عنوان ترکیب چرب اصلی شناسایی شدند. اسپاتولنول، یک سزکویی‌ترپن اکسیژنه شناخته‌شده است که در مطالعات متعددی از گونه‌های مختلف اکالیپتوس به‌عنوان یکی از ترکیبات شاخص گزارش شده است. این ترکیب دارای فعالیت‌های زیستی قابل‌توجهی از جمله خاصیت ضدقارچی و ضدباکتریایی است (Ait Benlabchir *et al*., 2024). بر اساس یافته‌های اخیر، سزکویی‌ترپن‌های اکسیژنه از طریق مکانیسم‌هایی نظیر مهار بیوسنتز ارگوسترول و تغییر در نفوذپذیری غشای سلولی، اثرات بازدارنده مهمی بر قارچ‌های بیماری‌زا اعمال می‌کنند (Taha *et al*., 2023; Barboucha *et al*., 2024). علاوه بر این، ترکیب هگزادکانوئیک اسید متیل استر ، که در این مطالعه نیز به‌عنوان اسید چرب غالب شناسایی شد، در تحقیقات متعددی از اسانس و عصاره گونه‌های مختلف اکالیپتوس گزارش شده است. این ترکیب به‌دلیل پایداری شیمیایی خود، نقش کمکی در افزایش دوام و کارایی سایر ترکیبات زیست‌فعال ایفا می‌کند کمترین درصد حضور در بین ترکیبات شناسایی‌شده به کاریوفیلن اکسید (Caryophyllene oxide) اختصاص داشت. این ترکیب پیش‌تر نیز در تجزیه‌های GC-MS برگ‌های اکالیپتوس توسط پژوهشگران مختلف گزارش شده است (Fayez *et al*., 2023; Zaher *et al*., 2025). همچنین، مقدار اندکی از کارواکرول در نمونه‌های حاضر مشاهده شد؛ ترکیبی فنولی و مونوترپنیک که پیش‌تر نیز در گونه‌های اکالیپتوس در مقادیر ناچیز شناسایی شده است (Ait-Ouazzou *et al*., 2011; Liu *et al*., 2023). به نظر می‌رسد وجود این ترکیب در نمونه‌های کنونی، با ویژگی‌های اقلیمی خاص منطقه مورد مطالعه ارتباط داشته باشد.

بررسی طیف کروماتوگرافی حاصل از تجزیه GC MS عصاره اتانولی گیاه تشنداری نشان داد که بیشترین ترکیبات شناسایی‌شده شامل دی‌هیدروبنزوفوران، کارواکرول و تیمول بودند که از گروه مشتقات فنولی و بنزوفورانی محسوب می‌شوند. حضور این ترکیبات نشان‌دهنده توان بالای آنتی‌اکسیدانی و خاصیت ضد میکروبی عصاره است. در مطالعات پیشین نیز حضور ترکیبات فنولی نظیر تیمول و کارواکرول در عصاره گیاه تشنداری گزارش شده است (Dadelahi *et al*., 2020). علاوه بر این، ترکیباتی از گروه اسیدهای چرب شامل هگزادکانوئیک اسید متیل استر و آلفا گلیسریل لینولئات در عصاره شناسایی شدند که سهم قابل‌توجهی از مجموع سطح پیک‌ها را به خود اختصاص دادند. مقایسه نتایج این پژوهش با داده‌های موجود در منابع پیشین نشان می‌دهد ترکیبات مشابهی از جمله هگزادکانوئیک اسید متیل استر و اکتا دکانوئیک اسید متیل

استر نیز در مطالعات قبلی از عصاره‌های گونه‌های مختلف اکالیپتوس گزارش شده‌اند (Shohrati *et al*., 2014). با این حال، در عصاره حاضر نسبت ترکیبات آروماتیک مانند تیمول و کارواکرول به‌طور چشمگیری بالاتر است. این تفاوت می‌تواند بازتابی از اثر عوامل محیطی نظیر شدت تابش نور، دما و شرایط رشد گیاه بر مسیرهای بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه باشد.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که هر پنج عصاره مستخرج از گیاهان آویشن، اکالیپتوس، تشنداری، فراسیون و مریم گلی¬کبیر روی بازدارندگی رشد میسلیوم عامل پاخوره اثر مثبت داشته و بیشترین بازدارندگی مربوط به اکالیپتوس بود. و کمترین اثر بازدارندگی را نیز فراسیون از خود نشان داد. این ترکیبات به‌دلیل دارا بودن خاصیت‌های ضدقارچی، ضدباکتریایی و ضدنماتدی، ضمن حفظ تعادل میکروبی مفید در خاک، می‌توانند جایگزینی ایمن و کارآمد برای ترکیبات شیمیایی مصنوعی باشند. با این حال، برای بهره‌برداری مؤثر از این ترکیبات در مقیاس مزرعه، انجام مطالعات تکمیلی دربارهٔ پایداری ترکیبات فعال در شرایط محیطی گوناگون، سازوکارهای مولکولی اثر و تعامل آن‌ها با میکروارگانیسم‌های خاک ضروری است. همچنین بررسی اثرات هم‌افزایی میان ترکیبات غالب، همراه با ارزیابی ایمنی زیستی و سمیت احتمالی برای گیاه میزبان و موجودات غیرهدف، از گام‌های کلیدی پیش از تجاری‌سازی این فرآورده‌ها به‌شمار می‌رود. در نهایت، شناخت دقیق ساختار شیمیایی متابولیت‌های مؤثر و تعیین نقش آن‌ها در خاصیت ضدقارچی می‌تواند مسیر توسعهٔ ترکیبات گیاهی را به‌سوی کاربرد تلفیقی با سایر روش‌های مدیریت پایدار بیماری‌های گیاهی هدایت کند.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله از همکاری شایسته، حمایت‌های علمی و پشتیبانی‌های اجرایی آزمایشگاه مرکزی و معاونت پژوهشی دانشگاه ایلام که نقش مؤثر و ارزنده‌ای در برنامه‌ریزی، اجرا و پیشبرد مراحل مختلف این پژوهش داشته‌اند، صمیمانه تقدیر و تشکر به‌عمل می‌آید.

References

Aćimović, M., Jeremić, K., Salaj, N., Gavarić, N., Kiprovski, B., Sikora, V. & Zeremski, T. 2020. *Marrubium vulgare* L.: A phytochemical and pharmacological overview. Molecules, 25(12): 2898.

Ait Benlabchir, A., Fikri-Benbrahim, K., Moutawalli, A., Alanazi, M.M., Halmoune, A., Benkhouili, F. Z., Oubihi, A., Kabra, A., Hanoune, E., Assila, H. & Ouaritini, Z.B. 2024. GC–MS characterization and bioactivity study of Eucalyptus globulus Labill. (Myrtaceae) essential oils and their fractions: Antibacterial and antioxidant properties and molecular docking modeling. Pharmaceuticals, 17(11): 1552.

Ait-Ouazzou, A., Lorán, S., Bakkali, M., Laglaoui, A., Rota, C., Herrera, A., Pagán, R. & Conchello, P. 2011. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils of *Thymus algeriensis*, *Eucalyptus globulus* and *Rosmarinus officinalis* from Morocco. Journal of the Science of Food and Agriculture, 91: 2643–2651.

Akbar, R., Sun, J., Bo, Y., Khattak, W.A., Khan, A.A., Jin, C., Zeb, U., Ullah, N., Abbas, A., Liu, W., Wang, X., Khan, S.M. & Du, D. 2024. Understanding the influence of secondary metabolites in plant invasion strategies: A comprehensive review. Plants, 13(22): 316.

Al Rahmah, A.N., Mostafa, A.A., Abdel Megeed, A., Yakout, S.M. & Hussein, S.A. 2013. Fungicidal activities of certain methanolic plant extracts against tomato phytopathogenic fungi. African Journal of Microbiology Research, 7(6): 517–524.

Anjali, A., Garg, D., Pragi, P., Kumar, V. & Dimple, M. 2024. A review of therapeutic properties and uses of *Salvia officinalis*. Journal of Pharma Insights and Research, 2(3): 146–154.

Aoudou, Y., Léopold, T.N., Michel, J.D.P., Xavier, E.F. & Moses, M.C. 2010. Antifungal properties of essential oils and some constituents to reduce foodborne pathogen. Journal of Yeast and Fungal Research, 1(1): 1–8.

Aremu, A.O., Omogbene, T.O., Fadiji, T., Lawal, I.O., Opara, U.L. & Fa, O.A. 2024. Plants as an alternative to the use of chemicals for crop protection against biotic threats: Trends and future perspectives**.** European Journal of Plant Pathology, 170: 711–766.

Bahrami, A.M. & Valadi, A. 2010. Effect of Scrophularia striata ethanolic leaves extracts on Staphylococcus aureus. International Journal of Pharmacology, 6: 431–434.

Barboucha, G., Rahim, N., Boulebd, H., Bramki, A., Andolfi, A., Salvatore, M.M. & Masi, M. 2024. Chemical composition, in silico investigations and evaluation of antifungal, antibacterial, insecticidal and repellent activities of Eucalyptus camaldulensis Dehn. leaf essential oil from Algeria. Plants, 13(22): 3229.

Bimakr, M., Rahman, R.A., Taip, F.S., Ganjloo, A., Salleh, L.M., Selamat, J., Hamid, A. & Zaidul, I.S.M. 2011. Comparison of different extraction methods for the extraction of major bioactive flavonoid compounds from spearmint (*Mentha spicata* L.) leaves**.** Food and Bioproducts Processing, 89(1): 67–72.

Bouderbane, N.N., Khalid, K.M. & Kadri, H. 2022. In vitro inhibitory effect of some secondary metabolites extract from *Ocimum basilicum* and *Salvia officinalis* against *Fusarium oxysporum* f. sp. albedinis of *Phoenix dactylifera* L. Applied Biochemistry and Biotechnology, 195(1): 364–374.

Chatepa, L.E.C., Mwamatope, B., Chikowe, I. & Masamba, K.G. 2024. Effects of solvent extraction on the phytoconstituents and in vitro antioxidant activity properties of leaf extracts of two selected medicinal plants from Malawi. BMC Complementary Medicine and Therapies, 24: 317.

Chibuye, B., Singh, I.S., Luke, C. & Kakoma, M.K. 2023. A review of modern and conventional extraction techniques and their applications for extracting phytochemicals from plants. Scientific African, 19: e01585.

Dadelahi, S., Yousefi, F., Emami Golmarz, P. & Taheri, E. 2020. Evaluation of chemical composition and antimicrobial activities of Scrophularia striata essential oil on dental caries pathogens. Journal of Basic Research in Medical Sciences, 7(4): 36–42.

Ehterami, S., Nemattollahi, S. & Pozeshi, B. 2019. Application of methanolic extracts of *Thymus vulgaris*, *Peganum harmala*, *Cuminum cyminum* and *Stachys lavandulifolia* in control of *Fusarium culmorum* and *F. graminearum* in laboratory and greenhouse conditions. Journal of Applied Research in Plant Protection, 8(1): 97–115.

Fayez, S., Gamal El-Din, M. I., Moghannem, S.A., Azam, F., El-Shazly, M., Korinek, M., Chen, Y.-L., Hwang, T.-L. & Fahmy, N.M. 2023. *Eucalyptus*-derived essential oils alleviate microbes and modulate inflammation by suppressing superoxide and elastase release. Frontiers in Pharmacology, 14: 1218315.

Fenta, L. & Mekonnen, H. 2024. Microbial biofungicides as a substitute for chemical fungicides in the control of phytopathogens: Current perspectives and research directions**.** Scientifica (Cairo**)**, 2024: 5322696.

Gaber, M.A., El Messeiry, S., El Tanbouly, R. & Aamer, H.A. 2025. Eco-friendly management of Fusarium wilt in tomato using Salvia officinalis methanolic extract in vitro, in vivo, and molecular docking approaches. Journal of Plant Pathology.

Gai, Y. & Wang, H. 2024. Plant disease: A growing threat to global food security. Agronomy, 14: 1615.

Ghorbani, A. & Esmaeilizadeh, M. 2017. Pharmacological properties of *Salvia officinalis* and its components. Journal of Traditional and Complementary Medicine, 7(4): 433–440.

Hari, A., Echchgadda, G., Darkaoui, F.-A., Taarji, N., Sahri, N., Sobeh, M., Ezrari, S., Laasli, S.-E., Benjelloun, M. & Lahlali, R. 2024. Chemical composition, antioxidant properties, and antifungal activity of wild *Origanum elongatum* extracts against *Phytophthora infestans*. Frontiers in Plant Science, 15: 1278538.

Hou, A.J., Liu, Y.Z., Yang, H., Lin, Z.W. & Sun, H.D. 2000. Hydrolysable tannins and related polyphenols from *Eucalyptus globulus*. Journal of Asian Natural Products Research, 2: 205–212.

Javed, S., Shoaib, A., Mahmood, Z., Mushtaq, S. & Iftikhar, S. 2012. Analysis of phytochemical constituents of *Eucalyptus citriodora* L. responsible for antifungal activity against post-harvest fungi. Natural Product Research, 26(18): 1732–1736.

Jung, K.-W., Chung, M.-S., Bai, H.-W., Chung, B.-Y. & Lee, S. 2021. Investigation of antifungal mechanisms of thymol in the human fungal pathogen *Cryptococcus neoformans*. Molecules, 26(11): 3476.

Kazemi, H., Azadbakht, N., & Mobaraki, D. (2008). Occurrence of Take-all disease in wheat fields of Lorestan Province. Abstracts of the 18th Iranian Plant Protection Congress, Hamedan, Iran. (in Persian).

Kursa, W., Jamiołkowska, A., Wyrostek, J. & Kowalski, R. 2022. Antifungal effect of plant extracts on the growth of the cereal pathogen *Fusarium* spp.—An in vitro study. Agronomy**,** 12(12): 3204.

Lara, L.J. & Rostagno, M.H. 2013. Impact of heat stress on poultry production. Animals, 3: 356–369.

Liu, Z., Wang, J., Yin, M., Liu, M. & Gao, W. 2023. Gas chromatography–mass spectrometry analysis of variations in the essential leaf oil of six *Eucalyptus* species and allelopathy of mechanisms of 1,8-cineole. Ciência Rural, 53(3).

Marchese, A., Arciola, C.R., Barbieri, R., Silva, A.S., Nabavi, S. F., Sokeng, A.J.T., Izadi, M., Jonaidi Jafari, N., Suntar, I., Daglia, M. & Nabavi, S.M. 2017. Update on monoterpenes as antimicrobial agents: A particular focus on *p*-cymene. Materials, 10(8): 947.

Mokhtari, R., Kazemi Fard, M., Rezaei, M., Moftakharzadeh, S.A. & Mohseni, A. 2023. Antioxidant, antimicrobial activities, and characterization of phenolic compounds of thyme (*Thymus vulgaris* L.), sage (*Salvia officinalis* L.), and thyme–sage mixture extracts. Journal of Food Quality, 2023: 1–9.

Mozaffarian, V. 2008. Flora of Ilam province. 1st ed. Farhang-e Mo'aser Publishing House, Tehran (In Persian).

Nurzyńska-Wierdak, R. & Walasek-Janusz, M. 2025. Chemical composition, biological activity, and potential uses of oregano (*Origanum vulgare* L.) and oregano essential oil. Pharmaceuticals, 18(2): 267.

Omidbeigi, R. (2014). Production and processing of medicinal plants. Vol. 1, 8th edition, Behnashr Publishing (Astan Quds Razavi Publications), 348 pages. (in Persian).

Pukalskas, A., Venskutonis, P. R., Salido, S., de Waard, P. & van Beek, T. A. 2012. Isolation, identification and activity of natural antioxidants from horehound (*Marrubium vulgare* L.) cultivated in Lithuania. Food Chemistry, 130: 695–701.

Sadeghi, L., Alizadeh, A., Safaie, N. & Ghalandar, M. 2009. Identification of Iranian populations of *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* using morphological, molecular, and pathogenicity studies. Iranian Journal of Plant Pathology, Vol. 45, No. 2, pp. 110–125. (in Persian).

Saleem, A., Afzal, M., Naveed, M., Makhdoom, S.I., Mazhar, M., Aziz, T., Khan, A.A., Kamal, Z., Shahzad, M., Alharbi, M. & Alshammari, A. 2022. HPLC, FTIR and GC–MS analyses of *Thymus vulgaris* phytochemicals executing in vitro and in vivo biological activities and effects on COX-1, COX-2 and gastric cancer genes computationally. Molecules, 27(23): 8512.

Savary, S., Willocquet, L., Pethybridge, S.J., Esker, P., McRoberts, N. & Nelson, A. 2019. The global burden of pathogens and pests on major food crops. Nature Ecology & Evolution, 3: 430–439.

Shohrati, M., Mahmoudi, R., Nosratpour, S. & Pajohi-Alamoti, M. 2014. Chemical composition and biological activities of Scrophularia striata extracts. Minerva Biotecnologica, 26(3): 187–193.

Taha, A.S., Ibrahim, I.H.M. & Abo-Elgat, W. A.A. 2023. GC–MS, quantum mechanics calculation and the antifungal activity of river red gum essential oil when applied to four natural textiles. Scientific Reports, 13: 18214.

Takasaki, M., Konoshina, T., Fujitani, K., Yoshida, S., Nishimura, H. & Tokuda, H. 1990. Inhibitors of skin-tumor promotion. VIII. Inhibitory effects of euglobals and their related compounds on Epstein–Barr virus activation. Chemical and Pharmaceutical Bulletin, 38: 2723–2739.

Tian, J., Ban, X., Zeng, H., He, J., Chen, Y. & Wang, Y. 2012. The mechanism of antifungal action of essential oil from dill (*Anethum graveolens* L.) on *Aspergillus flavus*. PLoS ONE, 7(1): e30147.

Tripathi, D. & Attri, D.C. 2023. Bioactive compounds and pharmacological efficacy of *Thymus vulgaris* L.: A traditional folk medicinal plant. In: Bioactives and Pharmacology of Lamiaceae (pp. 297–308). Apple Academic Press.

Wan, N.-F., Fu, L., Dainese, M., Kiær, L.P., Hu, Y.-Q., Xin, F., Goulson, D., Woodcock, B. A., Vanbergen, A. J., Spurgeon, D. J., Shen, S. & Scherber, C. 2025. Pesticides have negative effects on non-target organisms. Nature Communications, 16: 1360.

Wirtu, S.F., Ramaswamy, K. & Jule, L.T. 2024. Isolation, characterization and antimicrobial activity study of *Thymus vulgaris*. Scientific Reports, 14: 21573.

Yousefi, K., Fathiazad, F., Soraya, H., Raameshrad, M., Maleki-Dizaji, N. & Garjani, A. 2014. Marrubium vulgare L. methanolic extract inhibits inflammatory response and prevents cardiomyocyte fibrosis in isoproterenol-induced acute myocardial infarction in rats. BioImpacts, 4: 21–27.

Zaher, H., Quílez del Moral, J.F., Lemrabet, S., González-Coloma, A. & Bencharki, B. 2025. GC–MS analysis, cytotoxicity, and antimicrobial properties of six Moroccan essential oils traditionally used for COVID-19 prevention. Molecules**,** 30: 4179.

Zargari, A. 1990. Treatment with plants. Pharmacogenosis**,** Tehran University Press, Tehran, 2: 7–67. (In Persian).

Evaluation of Antifungal Activity of Ethanolic Extracts of Some Medicinal Plants from Ilam Province Against the Wheat Take-All Pathogen and Identification of Bioactive Compounds by GC–MS

Hanieh Zeynivand[1], Zeinab Bahmani[2], Zahra Mirsoleymani[3], Samira Ghasemi[4], Simak Beigi[5]

1. M.Sc. Student, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Ilam, Ilam, Iran.
2. Assistant Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Ilam, Iran.
3. Assistant Professor, Plant Protection Research Department Fars Agricultural and Natural Resources Research and Education Center. AREEO, Shiraz, Iran.
4. Postdoctoral Researcher, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Kurdistan, Sanandaj, Iran.
5.Plant Protection Organization, Ilam Agricultural Jihad Organization, Ilam, Iran.
Corresponding author: Zeinab Bahmani, email: z.bahmani@ilam.ac.ir

Received: Jan., 05, 2026 12(2) 115–132 Accepted: Jan., 30, 2026

Abstract

Take-all disease of wheat, caused by the soil-borne fungus *Gaeumannomyces tritici* var. *tritici*, is considered one of the most important constraints on wheat production in many regions of the world. Given the environmental concerns associated with the extensive use of chemical fungicides, the identification of safe and natural alternatives for disease control has attracted increasing attention. The present study aimed to evaluate the antifungal activity of ethanolic extracts of *Eucalyptus* sp., *Thymus vulgaris*., *Salvia officinalis*, *Marrubium vulgare*, and *Scrophularia striata* against *G. tritici* var. *tritici* under in vitro conditions. Plant extracts were assessed at concentrations of 250, 500, 1000, and 2000 ppm using the poisoned food technique on potato dextrose agar (PDA). The experiment was conducted in a completely randomized design with three replicates, and the percentage of mycelial growth inhibition was recorded seven days after incubation. The results demonstrated that increasing extract concentrations significantly enhanced fungal growth inhibition. The highest inhibitory effect was observed with eucalyptus extract at 2000 ppm, which suppressed more than 90% of fungal growth. *Thymus vulgaris* and *Scrophularia striata* extracts also exhibited considerable antifungal activity, whereas *Marrubium vulgare* extract showed the lowest inhibitory effect at all tested concentrations. Subsequently, the chemical constituents of the most effective extracts were identified using gas chromatography–mass spectrometry (GC–MS). Chemical analysis revealed that compounds such as spathulenol, thymol, carvacrol, and dihydrobenzofuran may play a key role in the antifungal activity of these plant extracts.

Keywords: Inhibitory effect; wheat take all disease; identification; secondary metabolites; antifungal activity.