Archive of SID

فصلنامه اکوفیتوشیمی گیاهان دارویی، شماره پیاپی ۲۳، سال ششم، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۷

بررسی و مقایسه فیتوشیمیایی و ضد قارچی اسانس گیاهان دارویی *Satureja hortensis* L. و *Mentha pulegium* L.،*Origanum Vulgare* L. علیه قارچ *Alternaria solani* درشرایط انبارداری

مصطفی درویش نیا[1*]، احسان حسنوند[2]، مسلم موسویان[3]

[1]دانشیار، گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه لرستان، ایران.

[2]کارشناسی ارشد، گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران.

[3]دانشجوی دکتری، گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه لرستان، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۶/۱۲/۲۵ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۷/۰۷/۱۵

چکیده

در سال‌های اخیر برای کنترل عوامل میکروبی آلوده‌کننده موادغذایی از اسانس‌های گیاهی استفاده زیادی شده است. در پژوهش حاضر به بررسی فیتوشیمایی و اثر ضدقارچی اسانس برگ گیاهان مرزه خوزستانی، مرزنجوش و پونه جمع‌آوری شده از گرین الشتر و سفید کوه خرم آباد در بهار ۱۳۹٤ برای کنترل کپک میوه گوجه‌فرنگی (*Alternaria solani*) در دوره انبارداری پرداخته شد. ابتدا اسانس گیاهان با استفاده از روش تقطیر با بخار آب با دستگاه کلونجر استخراج شد. مواد موثره این اسانس‌ها با استفاده از روش گاز کروماتوگرافی جرمی و گاز کروماتوگرافی انجام شد. برای اثر ضدقارچی اسانس‌ها بر بازدارندگی از رشد قارچ *A. solani* به دو روش دیسک کاغذی و مواد فرار روی محیط کشت PDA و همچنین جهت تعیین MIC و MFC اسانس‌ها از غلظت‌های ۱/۵، ۱/۷، ۲، ۲/۳، ۷، ۸/۵، ۹، ۹/۵ میکرولیتر در میلی‌لیتردر محیط کشت PDB استفاده شد. به‌منظور بررسی اثر اسانس‌ها روی درصد آلودگی گوجه‌فرنگی به این قارچ، غلظت‌های ٤ و ۲۰ میکرولیتر بر میلی‌لیتر اسانس‌ها روی میوه آلوده به قارچ اسپری پاشی شدند. بعد از هفت روز درصد آلودگی روی میوه در قالب طرح آماری سنجیده شد. بیشترین ترکیب موجود در اسانس مرزه، مرزنجوش و پونه به‌ترتیب کارواکرول (۸۸/٦٥ درصد)، تیمول (۱۹/٤٦ درصد) و پولگون (٤۷/٦٦ درصد) بود. این اسانس‌ها به‌ترتیب ٤۸/۹٦، ٤٥/۹۳ و ٤۹/۹٤ درصد در روش دیسک و ٤٤/۸٥، ٥۱/۰۱ و ٤۸/۹٦ درصد در روش مواد فرار از رشد قارچ *A. solani* اثر داشت. همچنین غلظت ٤ و ۲۰ میکرولیتر در میلی‌لیتر به‌ترتیب ٤۰، ٥۷/۷۸، ۳٥/٥٦ و ۱۰۰، ٦٦/٦۷ و ٤۰ درصد آلودگی قارچی روی بافت میوه را بطور معنی‌داری کاهش دادند. مرزه، مرزنجوش و پونه با دارا بودن ترکیبات ضدقارچی می‌توانند به خوبی از رشد قارچ *A. solani* جلوگیری به‌عمل آورند و می‌توانند جایگزین مناسبی در استفاده از قارچ‌کش‌ها برای کنترل این بیمارگر گیاهی باشند.

واژه‌های کلیدی: آلترناریا، اسانس، پونه، ضدقارچی، کپک انباری، مرزنجوش، مرزه.

*نویسنده مسئول: mdarvishnia44@yahoo.com

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

بیماری‌های گیاهی یکی ازمهم‌ترین عوامل محدودکننده تولید محصولات کشاورزی هستند. هر ساله بخش قابل توجهی از تولیدات گیاهی در اثر بیماری‌های گیاهی از بین می‌روند؛ این در حالی است که بیش از ۸۰۰ میلیون نفر در جهان از غذای کافی برخوردار نیستند (Jafari et al., 2006). کپک سیاه گوجه‌فرنگی با عامل *Alternariasolani* Ellis and Martin یکی از مهمترین بیماری‌های گیاهی و میوه‌های انباری بخصوص گیاه گوجه‌فرنگی در مناطق گرم و مرطوب می‌باشد؛ که کشاورزان برای مبارزه با آن مجبور به سمپاشی‌های مکرر شده‌اند (Khanasha et al., 2012). استفاده از متابولیست‌های ثانویه برخی گیاهان دارویی در جلوگیری از رشد قارچ‌هایی که از راه‌های کاهش مصرف سموم، هزینه تولید و خطر آلودگی محیط زیستی آن‌ها می‌باشد و می‌توانند جایگزینی مناسبی برای سموم شیمیایی باشند (Khanashah et al., 2012). در سال‌های گذشته، استفاده از خواص ضد میکروبی گیاهان در بخش کشاورزی چندان مورد توجه قرار نگرفته است. اما اخیراً، عوارض جانبی بسیار زیاد مواد شیمیایی و گرانی آن‌ها و مشکلات و تهدیدهای ناشی از مصرف بی‌رویه این سموم شیمیایی در سامانه‌های کشاورزی سبب شده تا متخصصین بخش کشاورزی درصدد بهره‌گیری هر چه بیشتر از گیاهان دارویی برآیند (Majd et al., 2007). با مطالعاتی که تاکنون صورت گرفته است، به نظر می‌رسد که متابولیت‌های ثانویه گیاهان، به‌عنوان موادی طبیعی، نقش‌های اکولوژیکی مهمی در واکنش‌های دفاعی گیاهان دارند. بسیاری از این متابولیت‌ها در دفاع گیاه در مقابل بیماری‌ها مؤثر می‌باشند (Moghtader and Afzali, 2009).

اسانس‌ها ترکیبات فراری هستند چون از موادچربی تشکیل نشده‌اند، قابلیت تولید به صابون را ندارند. برخی از این مواد دارای خواص جلب کنندگی و بعضی دیگر خواص دورکنندگی دارند. از جمله ترکیبات عمده یا موثر در اسانس های گیاهی ترپن‌ها با فرمو عمومی $(C_5H_8)^n$ می‌باشند. این ترکیبات نه تنها فاقد اثر جانبی بوده بلکه به علت خواص آنتی‌اکسیدانتی، کیفیت و طول دوره انبارداری میوه‌ها را افزایش می‌دهند (Plaza et al., 2004). تعداد اسانس‌های گیاهی شناخته شده حدود ۳۰۰۰ نوع اسانس می‌باشد که ۳۰۰ نوع آن دارای ارزش اقتصادی هستند (Burt, 2004). اسانس گیاهان معطر متعلق به خانواده‌های نعناع و چتریان غنی از ترکیبات ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی هستند (Hadian et al., 2007). گیاه پونه با نام علمی *Mentha pulegium* L. یکی از گیاهان تیره نعناع است. از بخش‌های هوایی این گیاه برای درمان سرماخوردگی، مسمومیت غذایی، برونشیت، سل و به عنوان ضدسرفه و ضدنفخ استفاده می‌شود (Mahboubi and Haghi, 2008). گیاه مرزه با نام علمی *Saturejah ortensis* و مرزنجوش با نام علمی *Origanum Vulgare* L. نیز گیاهانی از تیره نعناع می‌باشد (Rasouli et al., 2007) که دارای اسانسی با خواص ضدقارچی می‌باشد (Perrucci et al., 1994; Sahin et al., 2003).

در سال‌های اخیر بررسی‌های آزمایشگاهی فراوانی در زمینه تأثیر فرآورده‌های گیاهی روی قارچ‌ها و باکتری‌های بیماری‌زای گیاهی انجام شده است و اثر بعضی از ترکیبات و اسانس‌ها به اثبات رسیده است (Kordali et al., 2005). در پژوهش حاضر، تأثیر چند اسانس گیاهی از تیره نعناع از جمله مرزنجوش، مرزه خوزستانی و پونه بر توانایی جلوگیری از رشد میسلیوم قارچ *A.solani* عامل بیماری پوسیدگی انباری گوجه‌فرنگی بررسی می‌شود.

www.SID.ir

Archive of SID

مواد و روش‌ها

جداسازی، خالص‌سازی، شناسایی و اثبات بیماری‌زائی جدایه قارچی: به‌منظور جداسازی عامل بیماری نمونه‌های میوه‌ی گوجه‌فرنگی مشکوک به بیماری، از انبارهای شهرستان خرم‌آباد جمع آوری شد. برای جداسازی عامل بیماری ابتد اقسمت‌های آلوده به تکه‌های ۵-٤ میلی‌متری خرد و سپس با استفاده از هیپوکلریت سدیم یک درصد ضدعفونی سطحی شدند و در تشتک‌های پتری حاوی محیط‌های غذایی PDA (سیب‌زمینی، دکستروزوآگار)، PCA (سیب‌زمینی، هویجوآگار) و WA (آب–آگار) کشت داده شدند (Ghosta et al., 2003). پرگنه‌های رشد کرده که مشخصات .*Alternaria* sp را داشتند، از طریق تک اسپورکردن خالص‌سازی شدند. شناسایی جدایه‌های قارچ عامل بیماری پس از کشت روی محیط غذایی PCA در دمای ۱±۲٤ درجه سانتی‌گراد زیر نور فلورسنت با چرخه نوری ۸ ساعت روشنایی و ١٦ساعت تاریکی به مدت ۷-۵ روز با استفاده از کلید شناسایی سیمونس (Simmons, 2007) و قوستا و همکاران (Ghosta et al., 2003) انجام شد.

تهیه نمونه گیاهی و استخراج اسانس: اندام‌های هوایی (برگ و ساقه) گونه‌های مورد آزمایش شامل مرزنجوش (*Origanum majorana* L.)، مرزه خوزستانی (*Satureja khuzestanica* L.) و پونه (*Mentha pulegium* L.) از تیره نعناع در مراحل رشد رویشی در بهار سال ١٣٩٤ از مناطق مختلف لرستان شامل گرینالشتر و سفیدکوه خرم‌آباد تهیه شدند. گیاهان جمع‌آوری شده در دمای اتاق و شرایط سایه خشک گرد شدند. پس از حذف مواد زائد، هر یک از نمونه‌ها به‌وسیله آسیاب خرد شده و سپس اسانس آن‌ها به روش تقطیر با آب و به کمک دستگاه کلونجر به‌مدت ۳ ساعت استخراج گردید. استخراج اسانس برای هر نمونه در سه تکرار و برای هر تکرار ۱۰۰ گرم نمونه گیاهی استفاده شد. اسانس به دست آمده به‌وسیله سولفات سدیم خشک، آب‌گیری و در شیشه‌های تیره در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد درون یخچال تا زمان آنالیز وآزمون بیولوژیک نگهداری شد.

آنالیز مواد موثره اسانس

اسانس‌های به دست آمده از نمونه‌های گیاهی با دستگاه‌های گاز کروماتوگرافی و گاز کروماتوگرافی همراه با طیف‌سنجی جرمی مورد شناسایی قرار گرفتند. ابتدا اسانس‌ها به دستگاه GC تزریق شده و پس از یافتن برنامه‌ریزی مناسب حرارتی ستون برای جداسازی کامل ترکیب‌های اسانس و تعیین درصد و زمان بازداری هر ترکیب، اسانس‌ها به دستگاه GC-MS تزریق شده و طیف جرمی ترکیب‌ها تعیین گردید. شناسایی ترکیب‌ها بر اساس شاخص بازدارندگی و مقایسه طیف جرمی آن‌ها با ترکیب‌های پیشنهادی به وسیله سازنده دستگاه انجام گرفت. درصد هر ترکیب با توجه به سطح زیر منحنی آن در طیف کروماتوگرام حاصل از دستگاه GC با روش نرمال کردن سطح منحنی و بدون محاسبه عامل تصحیح صورت گرفت (Jannings and Shibamoto, 1980).

تهیه مایه تلقیح قارچ برای آزمون‌های بازدارندگی: به‌منظور تهیه زادمایه *A.solani* را به تشتک‌های پتری حاوی محیط PDA منتقل و در دمای زیر نور فلورسنت با دوره نور یهشت ساعت روشنایی و ١٦ ساعت تاریکی در انکوباتور نگهداری شدند (Al-Mughrabi, 2004). پس از گذشت شش تا هفت روز سوسپانسیونی به غلظت 10^6 اسپور در هر میلی‌لیتر آب مقطر از آن تهیه و برای آلوده‌سازی میوه جهت بررسی اثر اسانس‌ها در جلوگیری از بروز بیماری روی بافت میوه، به‌وسیله تزریق دربافت میوه استفاده شد (Risser et al., 1976).

بررسی اثر ضدقارچی اسانس ها بر رشد میسلیوم قارچ *Alternaria solani*: به‌منظور بررسی اثر

www.SID.ir

Archive of SID

ضدقارچی اسانس‌ها، ابتدا از کشت چهار روزه قارچ با استفاده از چوب پنبه سوراخ کن بلوک‌های هم‌اندازه از میسلیوم جوان قارچ تهیه و در کناره‌ی محیط کشت حاوی PDA قرار داده شد. سپس در سمت مخالف بلوک‌های قارچی، مقدار ۱۰ میکرولیتر (غلظت ۵۰۰ میکرولیتر در لیتر) از هر اسانس روی دیسک کاغذی سترون قرار داده و تشتک‌های پتری ۱۰سانتی‌متری در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد درون انکوباتور نگهداری شد. از دیسک فاقد اسانس به‌عنوان شاهد روبه روی بلوک قارچ قرار داده شد. پس از گذشت ١٤ ساعت، رشد رویشی پرگنه هر قارچ به‌طور روزانه و تا زمانی که سطح محیط کشت پتری‌های شاهد توسط قارچ بطور کامل اشغال شود اندازه‌گیری شد. در انجام این آزمایش برای هر تیمار اسانس سه تکرار (در قالب طرح کاملا تصادفی) در نظر گرفته شد. نتایج به صورت میانگین قطر کلنی قارچ اندازه گیری گردید (Moosavian et al., 2015).

$$IP = \frac{dc - dt}{dc} \times 100$$

در این رابطه IP درصد بازداری از رشد، dc میانگین قطر رشد قارچ در تیمار شاهد (سانتی‌متر)، dt میانگین قطر رشد قارچ در تیمار مورد نظر (سانتی‌متر) می‌باشد.

بررسی اثر مواد فرار اسانس ها روی رشد میسلیوم قارچ *Alternaria solani*: در این روش مطابق با روش بالا نمونه‌ها تهیه گردید. تفاوت این روش با روش قبلی قرار دادن دیسک حاوی اسانس روی درب تشتک پتری روبه روی بلوک قارچی است. این آزمون برای مشخص کردن و جود مواد فرار ضدقارچی درون هر نمونه اسانس، در سه تکرار و در قالب طرح کاملا تصادفی، انجام شد. از دیسک کاغذی آغشته به آب مقط رسترون به عنوان شاهد استفاده شد (Kohanmoo and Jamali, 2013).

تعیین حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل غلظت کشندگی اسانس‌ها به روش رقیق سازی متوالی: برای تعیین حداقل غلظت بازدارندگی اسانس‌ها از رشدقارچ از روش رقیق سازی متوالی استفاده شد. بدین‌منظور ابتدا از کشت هفت روزه قارچ‌روی محیط کشتPDA، سوسپانسیون 10^6 اسپور در میلی‌لیتر تهیه شد. سپس از بین ۳۰ رقت، رقت های ۱/۵، ۱/۷، ۲، ۲/۳، ۷، ۸/۵، ۹، ۹/۵ میکرولیتر در میلی‌لیتر اسانس انتخاب و درون محیط کشت PDB آماده شد. از سوسپانسیون اسپورهای قارچ میزان ۲۰ میکرولیتر به ۱۰میلی‌لیتر محیط کشت PDB حاوی غلظت های بالا اضافه شد. لوله‌های مایه‌زنی شده روی شیکر انکوباتور با سرعت ۱۷۰ بار بر دقیقه به مدت پنج روز نگهداری شد. سپس میزان ۵۰ میکرولیتر از هر رقت برداشته و روی محیط کشت PDA کشت شد. بعد از ١٤ تا ١٦ ساعت تعداد اسپورهای جوانه‌زده شد هم حاسبه و حداقل غلظت بازدارندگی از جوانه زنی اسپور قارچ تعیین شد. حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) حداقل غلظتی از اسانس می‌باشد که از رشد ۹۰ درصد اسپورهای قارچ نسبت به تیمار شاهد جلوگیری به‌عمل می‌آورد. حداقل غلظت کشندگی (MFC) حداقل غلظتی از اسانس است که به‌طورکامل از جوانه‌زنی اسپورهای قارچ جلوگیری کرد (Vale-Silva et al., 2012). این آزمایش در سه تکرار و در قالب طرح آزمایشی کاملا تصادفی صورت گرفت.

بررسی اثراسانس‌ها در جلوگیری از بروز بیماری روی بافت میوه: میوه‌های گوجه‌فرنگی که از نظر شکل، اندازه، رنگ و وزن یکسان بودند، از انبار و از یک جعبه تهیه شدند. میوه‌ها ابتدا با استفاده از هیپوکلرید سدیم یک درصد تجاری به مدت دو دقیقه استریل شدند. سپس با استفاده از آب مقطر استریل شستشو داده شدند. برای مایه زنی میوه‌ها ابتدا توسط لانس استریل، زخمی به ابعاد ۲×۲ میلی‌متر ایجاد و سپس ۳۰ میکرولیتر از سوسپانسیون 10^6اسپور قارچ در میلی‌لیتر آب مقطر به درون زخم هر میوه تزریق شد. غلظت‌های٤ و ۲۰ میکرولیتر در میلی‌لیتر هر کدام

www.SID.ir

Archive of SID

از اسانس‌های پونه، مرزه خوزستانی و مرزنجوش جداگانه روی میوه‌ها اسپری شد. در تیمار شاهد آلوده پس از تزریق عامل بیماری جهت اسپری پاشی به جای اسانس از آب مقطر سترون استفاده شد و همچنین در شاهد سالم ابتدا ۳۰ میکرولیتر آب مقطر سترون به درون زخم تزریق شد و جهت اسپری پاشی از آب مقطر سترون استفاده شد. به منظور تأمین نمودن رطوبت جعبه های پلی‌اتیلن حاوی گوجه‌فرنگی از پنبه‌های سترون خیس استفاده شد. این آزمون در سه تکرار و به صورت طرح کاملاً تصادفی درون آزمایشگاه انجام شد. پس از اینکه علائم آلودگی در میوه‌های شاهد آلوده به صورت کامل ظاهر گردید یادداشت‌برداری از نمونه‌ها به عمل آمد. به این صورت که هر میوه را به وسیله چاقو به هشت قسمت مساوی تقسیم کرده و هر قسمت معادل ۱۲/۵ درصد در نظر گرفته شد و سپس قطعه‌های آلوده و سالم میوه‌ها شمارش و یادداشت شدند. جهت محاسبه درصد آلودگی تعداد قطعات آلوده در ۱۲/۵ ضربودرصدآلودگی تعیین شد (Darvishnia et al., 2015).

تجزیه آماری داده‌ها

آزمایش‌های بخش‌های مختلف این پژوهش در قالب طرح کاملاً تصادفی مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند و مقایسه میانگین تیمارها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن به کمک نرم‌افزار SAS 9.1 انجام شد.

نتایج

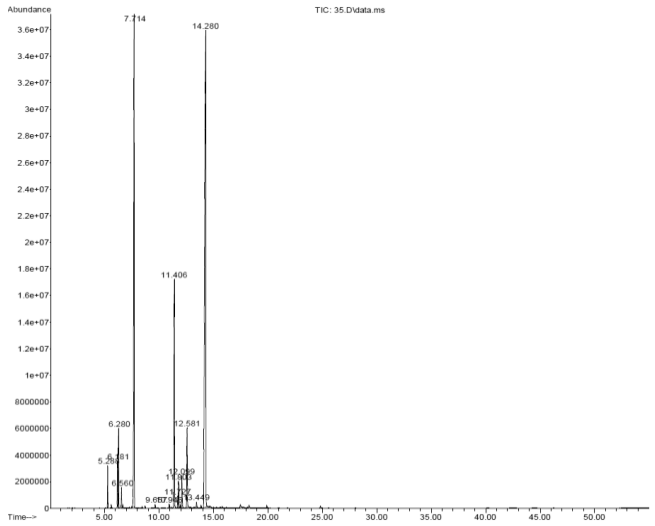
ترکیبات موجود در اسانس‌ها: آنالیز اسانس مرزه خوزستانی منجر به شناسایی ١٤ ترکیب در اسانس این گیاه شد؛ که ۹۸/۵۳ درصد از اسانس را شامل شد. نتایج آنالیز ترکیبات موجود در اسانس مرزه خوزستانی نشان داد که بیشترین ترکیبات موجود در این اسانس به‌ترتیب کارواکرول (۸۸/٦٥ درصد)، پی-سیمن (۳/٤۲ درصد)، آلفا-بیسابولن (۱/۲۵ درصد)، آلفا-پینن (۱/۲درصد) بود و درصد سایر ترکیبات خیلی ناچیز است (جدول ۱ و شکل ۱).

جدول ۱: ترکیبات شیمیایی اسانس مرزه خوزستانی (*Satureja hortensis*) در تجزیه با دستگاه GC-MC

ردیف	ترکیبات شیمیایی	زمان بازداری به دقیقه	شاخص بازداری (RI)	درصد ترکیب
۱	α-pinene	۵/۲۷	۹۲۵	۱/۲
۲	β-myrcene	٦/۵۵	۹۸۹	۰/٤۱
۳	α-terpinene	۷/۲٦	۱۱۷۵	۰/۲۰
٤	p-cymene	۷/٤۸	۱۰۱٤	۳/٤۲
۵	limonene	۷/۵۹	۱۰۲۸	۰/۵۱
٦	trans-β-ocimene	۷/۸	۱۰۳۵	۰/۱۷
۷	γ-terpinene	۸/٤٤	۱۰۵۳	۰/۲۹
۸	linalool	۹/٦٤	۱۰۸۵	۰/۲۰
۹	terpinene-4-ol	۱۲/۱٤	۱۱۷۸	۱/۰۱
۱۰	thymol	۱۵/۸۷	۱۲۹۲	۰/۸۲
۱۱	carvacrol	۱٦/٤۵	۱٤۱۱	۸۸/٦۵
۱۲	trans-caryophyllene	۱۹/۹۱	۱٤۲٤	۰/٤۰
۱۳	α-bisabolene	۲۲/۵۹	۱۵۰۹	۱/۲۵

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۱: کروماتوگرافی مواد موثره اسانس مرزه

آنالیز اسانس مرزنجوش منجر به شناسایی ۲۸ ترکیب در اسانس این گیاه شده که ۹۳/٦۰ درصد از اسانس را شامل شد. درصد فراوانی از ترکیبات این اسانس شامل تیمول (۱۹/٤٦ درصد)، ترپنن-٤-ال (۱٦/۱درصد)، پی-سیمن (۹۱/ ۸درصد)، سیس-سابینن هیدرات (۵/۵٦ درصد)، سابینن (٤/۷۲ درصد)، آلفا-ترپینن (٤/۵۳ درصد)، آلفا-ترپینولن (۳/۵۲) بود (جدول ۲ و شکل ۲).

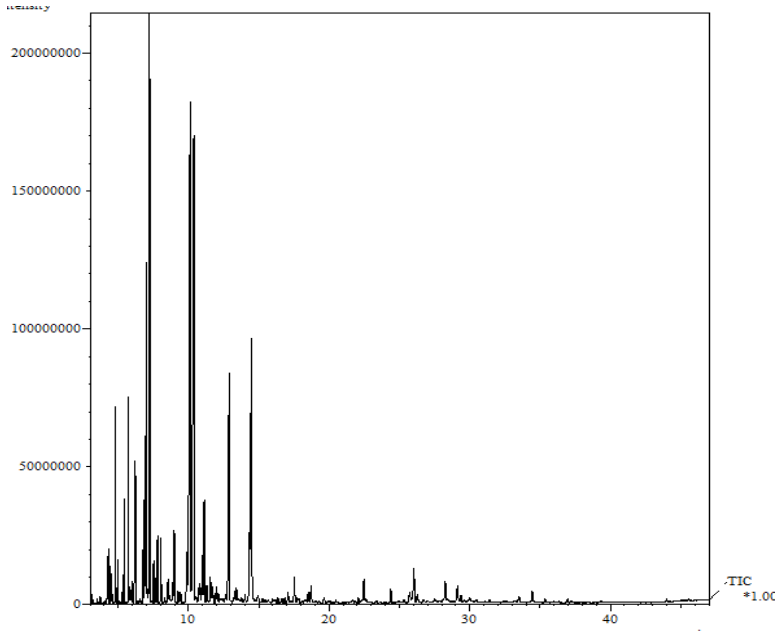
جدول ۲: ترکیبات شیمیایی اسانس مرزنجوش (*Origanum vulgare*) در تجزیه با دستگاه GC-MC

ردیف	ترکیبات شیمیایی	شاخص بازداری (RI)	زمان بازداری به دقیقه	درصدترکیب
۱	α-thujene	۹۲۵	۵/۱۱	۱/۳۰
۲	α-pinene	۹۳۲	۵/۲۷	۱
۳	camphene	۹٤۸	۵/٦۲	۰/۳٦
٤	sabinene	۹۷۵	٦/۱۸	٤/۷۲
۵	1-Octen-3-ol	۹۷٦	٦/۲۵	۰/۷
٦	3-octanone	۹۸٤	٦/٤٤	۰/۷۵
۷	β-myrcene	۹۸۹	٦/۵۵	۱/۳۰
۸	3-octanol	۹۹۸	٦/۷٤	۰/۲۱
۹	α-terpinene	۱۰۱۷	۷/۲۸	٤/۵۳
۱۰	*p*-cymene	۱۰۲۵	۷/۵	۸/۹۱
۱۱	limonene	۱۰۲۸	۷/٦۱	۲/٤۳
۱۲	ɣ-terpinene	۱۰٦۰	۸/٤۷	۸/۳٤
۱۳	α-terpinolen	۱۰۸۸	۹/۳۲	۳/۵۲
۱٤	cis-sabinenehydrate	۱۰۹۸	۹/٦۵	۵/۵٦
۱۵	p-menth-2-en-1-ol	۱۱۲۲	۱۰/۳۵	۰/۹
۱٦	menthone	۱۱۵٤	۱۱/۳۸	۱/۱۸
۱۷	borneol	۱۱٦٦	۱۱/۷۸	۱/۲٤
۱۸	menthol	۱۱۷٤	۱۲/۰٤	۱/۵٦

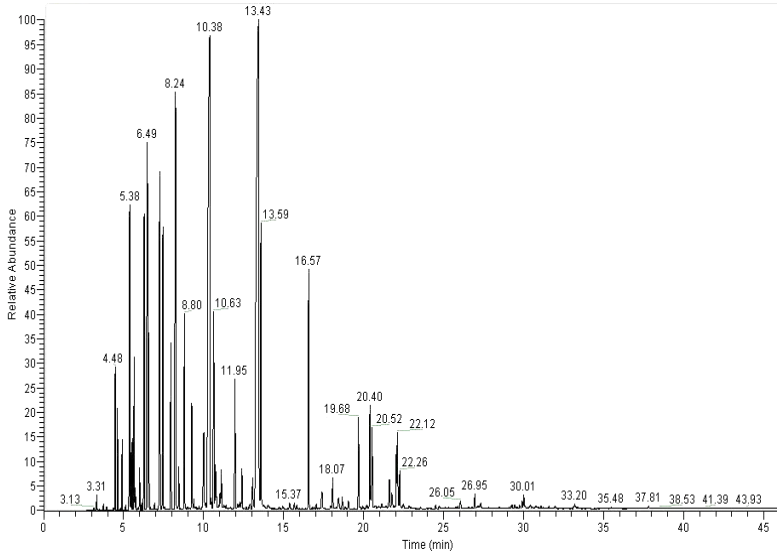
www.SID.ir

Archive of SID

۱۹	terpinene-4-ol	۱۱۷۷	۱۲/۲۱	۱٦/۱
۲۰	α-terpineol	۱۱۸۹	۱۲/۵۷	۱/٦
۲۱	bornyl acetate	۱۲۸۵	۱۵/٦٤	۱/۵٦
۲۲	thymol	۱۲۹۰	۱۵/۹۲	۱۹/٤٦
۲۳	carvacrol	۱٤۰۲	۱٦/۱۷	۱/۹٤
۲٤	trans-caryophyllene	۱٤۲۱	۱۹/۹۲	۱/۵
۲۵	germacrene-D	۱٤۸۳	۲۱/۸	۱/۱
۲٦	bicyclogermacrene	۱۵۰۰	۲۱/۸۳	۰/٤۷
۲۷	spathulenol	۱۵۷۸	۲٤/٦٦	۰/٦۱
۲۸	caryophyllen oxide	۱۵۸٦	۲٤/۸۲	۰/۷۵



شکل ۲: کروماتوگرافی مواد موثره اسانس مرزنجوش



شکل ۳: کروومات و گرافی مواد موثره اسانس پونه

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۳: ترکیبات شیمیایی اسانس پونه (*Mentha pulegium*) در تجزیه با دستگاه GC-MC

ردیف	ترکیبات شیمیایی	شاخص بازداری (RI)	زمان بازداری به دقیقه	درصد ترکیب
۱	α-thujene	۹۲۵	۵/۱۱	۰/۰۲
۲	α-pinene	۹۳٤	۵/۲۸	۱/۱٦
۳	Camphene	۹۷۰	۵/٦۲	۰/۰۹
٤	Sabinene	۹۷٤	٦/۱۷	۱/۳۸
۵	β-pinene	۹۷۸	٦/۲۸	۲/۳۷
٦	Myrcene	۹۹۰	٦/۵٦	۰/٦٤
۷	3-octanol	۹۹٦	٦/٦۷	۰/۱۵
۸	α-terpinene	۱۰۱٦	۷/۲۷	۰/۰٤
۹	p-cymene	۱۰۲۵	۷/٤۸	۰/۰۷
۱۰	Limonene	۱۰۲۸	۷/٦٦	۰
۱۱	1,8-cineole	۱۰۳۳	۷/۷۱	۲۵/۷۹
۱۲	cis-ocimene	۱۰۳٦	۷/۸۱	۰
۱۳	ɣ-terpinene	۱۰۵۷	۵/٤۵	۰/۰٦
۱٤	sabinene hydrate	۱۰٦٦	۸/۷۲	۰/۰۷
۱۵	α-terpinolene	۱۰۸٦	۹/۳٤	۰/۰۳
۱٦	linalool	۱۱۰۰	۹/٦۵	۰/۱٤
۱۷	menthone	۱۱۵۵	۱۱/٤۲	۱۰/٤۳
۱۸	neo-menthol	۱۱۵۹	۱۱/۷۲	–
۱۹	borneol	۱۱٦٦	۱۱/۷۷	–
۲۰	menthol	۱۱۷۳	۱۱/۹۹	۰/۱۲
۲۱	terpinen-4-ol	۱۱۷۸	۱۲/۱۵	۰
۲۲	α-terpineol	۱۱۹۲	۱۲/۵۸	٤/۰۱
۲۳	dihydrocarveol	۱۱۹٦	۱۲/۷۲	۰/۰۵
۲٤	pulegone	۱۲٤۹	۱٤/۲۸	٤۷/٦٦
۲۵	piperitone	۱۲۸۲	۱٤/٦٤	–
۲٦	thymol	۱۲۹٦	۱۵/۸۵	۰/۰۹
۲۷	carvacrol	۱۳۰۲	۱٦/۱۷	۰
۲۸	piperitenone	۱۳٤٤	۱۷/٤۹	۰/۳۵
۲۹	piperitenone oxid	۱۳٦۸	۱۸/۲۷	۰/۲۳
۳۰	α-copaene	۱۳۷۷	۱۸/۵٤	۰
۳۱	β-bourbonene	۱۳۸۷	۱۸/۸۵	۰
۳۲	β-elemene	۱۳۹۲	۱۹	۰
۳۳	β-caryophyllene	۱٤۱۳	۱۹/۹۲	۰/۱۱
۳٤	α-humulene	۱٤۵۷	۲۱/۲۵	۰
۳۵	germacrene-D	۱٤۸۲	۲۱/۸۱	۰
۳٦	bicyclogermacrene	۱٤۹۸	۲۲/۲۷	۰
۳۷	(+) spathulenol	۱۵۸۱	۲٤/٦٦	۰
۳۸	caryophyllene oxide	۱۵۸۷	۲٤/۸۳	۰/۱۵

www.SID.ir

Archive of SID

آنالیز اسانس پونه منجر به شناسایی ۳۸ ترکیب در این اسانس شد؛ که ۹۵/۲۱ درصد از اسانس را شامل شد. نتایج آنالیز ترکیبات موجود در اسانس پونه نشان داد که بیشترین ترکیبات موجود در این اسانس به ترتیب حاوی پولگون (٤٧/٦٦ درصد)، ا،۸-سینئول (۲۵/۷۹درصد)، منتون (۱۰/٤۳درصد)، آلفا-ترپینهال (٤/۰۱ درصد) بود ود رصد سایر ترکیبات خیلی ناچیز است (جدول ۳ و شکل ۳).

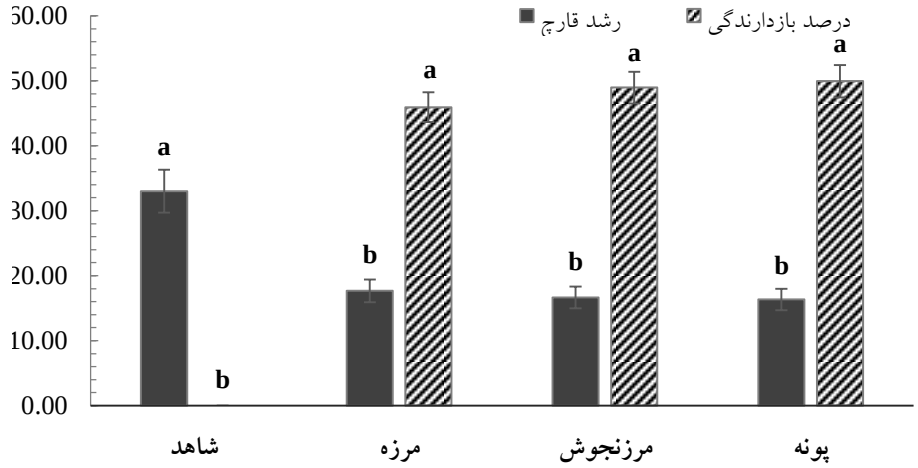
خاصیت قارچ‌کشی اسانس‌ها روی محیط کشت: تجزیه واریانس تأثیر اسانس‌های پونه، مرزه و مرزنجوش در بازدارندگی از رشد قارچ‌های *Alternaria solani* در هر دو روش آزمایش یک شت متقابل و حالت فرار تفاوت معنی‌داری در سطح یک درصد نشان داد (جدول ٤).

جدول ٤: تجزیه واریانس تأثیر اسانس‌های پونه، مرزه و مرزنجوش در بازدارندگی از رشد قارچ‌های *Alternaria solani* در روش کشت متقابل و حالت فرار اسانس در محیط کشت PDA.

	درجه آزادی		ضریب تغییرات	مجموع مربعات	میانگین مربعات	مقادیر F	P-value
	تیمار	خطا	(٪)	(SS)	(MS)		
روش دیسک	۳	٦	٤/۹۹	۵/٦۵	۱/۱۳	۱۰٤/۳٤**	۰/۰۰۰۱
روش مواد فرار	۳	٦	۵/۲۵	۵/٦۸	۱/۱٤	۹۵/۱۹**	۰/۰۰۰۱

**سطح معنی‌داری P<۰/۰۱، *سطح معنی‌داری ۰/۰۱>P>۰/۰۵، معنی دار نشدن P>۰/۰۵

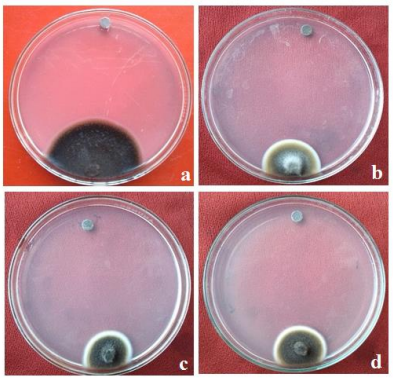
مقایسه میانگین تأثیر اسانس‌های مرزنجوش، مرزه و پونه روی بازدارندگی از رشد قارچ *A.solani* روی محیط کشت PDA در دو روش دیسک و مواد فرار نشان داد، غلظت ۵۰۰ میکرولیتر در لیتر این اسانس‌ها در هر دو روش در سطح یک درصد آماری به‌طور معنی‌داری از رشد قارچ جلوگیری کرده است (شکل‌های ٤ تا ۷). به نحوی که اسانس‌های مرزنجوش، مرزه و پونه در این غلظت به‌ترتیب ٤۸/۹٦، ٤۵/۹۳ و ٤۹/۹٤ درصد در روش دیسک و ٤٤/۸۵، ۵۱/۰۱ و ٤۸/۹٦ درصد در روش مواد فرار از رشد قارچ *A.solani* بازداری کرد (جدول ۵).



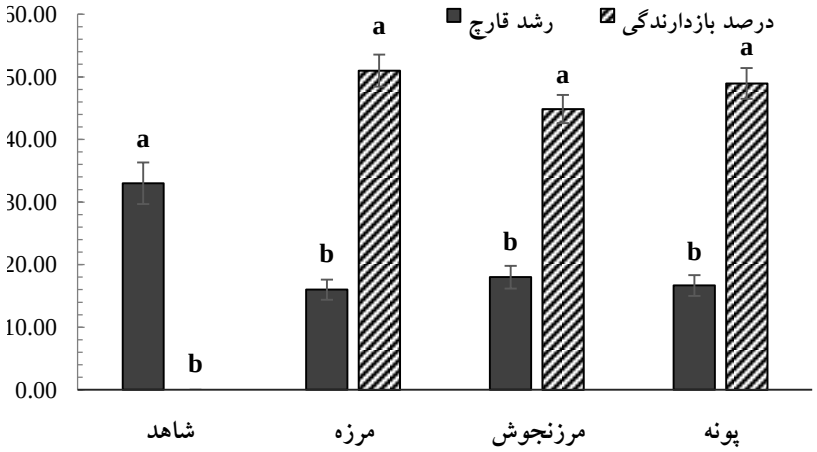
شکل ٤: اسانس‌های پونه، مرزه و مرزنجوش در بازدارندگی از رشد قارچ‌های *Alternaria solani* در روش دیسک روی محیط کشت PDA

www.SID.ir

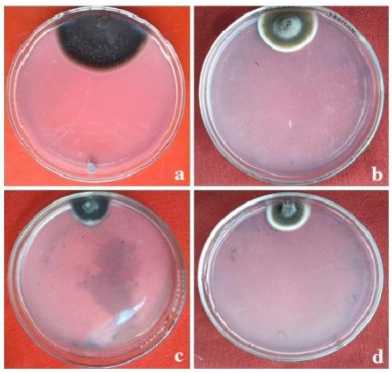
Archive of SID



شکل۵: اثر اسانس‌ها روی رشد پرگنه قارچ *Alternaria solani* به روش دیسک کاغذی روی محیط کشت: تیمار شاهد (a)، تیمار اسانس مرزنجوش (b)، تیماراسانس پونه (c) و تیمار اسانس مرزه خوزستانی (d)



شکل ٦: تأثیر اسانس‌های پونه، مرزه و مرزنجوش در بازدارندگی از رشد قارچ‌های *Alternaria solani* در روش مواد فرار روی محیط کشت PDA



شکل۷: اثر اسانس‌ها روی رشد پرگنه قارچ *Alternaria solani* به روش مواد فرار: تیمار شاهد (a)، تیمار اسانس مرزنجوش (b)، تیمار اسانس پونه (c) و تیمار اسانس مرزه خوزستانی(d)

www.SID.ir

Archive of SID

جدول۵: مقایسه میانگین بازدارندگی از رشد میسلیوم قارچ *Alternaria solani* روی محیط کشت PDA توسط اسانس‌های مرزه خوزستانی، مرزنجوش و پونه در روش دیسک کاغذی و مواد فرار

اسانس‌ها	روش دیسک کاغذی		روش مواد فرار	
	قطرپرگنه (سانتی‌متر)	درصد بازدارندگی از رشد میسلیوم نسبت به شاهد	قطرپرگنه (سانتی‌متر)	درصد بازدارندگی از رشد میسلیوم نسبت به شاهد
مرزه خوزستانی	۱/۷۷	٤٥/٩٣[a]	۱/٦۰	٥۱/۰۱[a]
مرزنجوش	۱/٦۷	٤۸/٩٦[a]	۱/۸۰	٤٤/۸٥[a]
پونه	۱/٦۳	٤٩/٩٤[a]	۱/٦۷	٤۸/٩٦[a]
شاهد	۳/۲۷	۰/۰۰[b]	۳/۲۷	۰/۰۰[b]

حداقل غلظت بازدارندگی رشد و کشندگی اسانس‌ها روی قارچ *Alternaria solani*: نتایج اثر اسانس‌ها روی قارچ *A.solsni* نشان داد که غلظت‌های ۲/۳ میکرولیتر در میلی‌لیتر مرزه خوزستانی، ۲ میکرولیتر در میلی‌لیتر مرزنجوش و ۱/۷ میکرولیتر در میلی‌لیتر پونه به‌عنوان حداقل غلظت بازدارندگی و غلظت‌های ۹/۵ میکرولیتر در میلی‌لیتر مرزه خوزستانی، ۹ میکرولیتر در میلی‌لیتر مرزنجوش و ۸/۵ میکرولیتر در میلی‌لیتر پونه به‌عنوان حداقل غلظت کشندگی روی این قارچ بودند (جدول ۷).

جدول ۷: حداقل غلظت بازدارندگی و غلظت کشندگی اسانس‌های مرزه‌خوزستانی، مرزنجوش و پونه روی قارچ *A.solani*

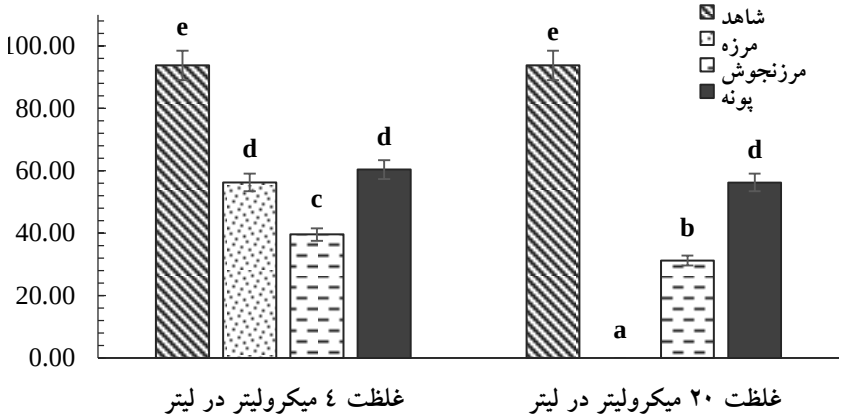
تیمار	غلظت اسانس (میکرولیتر در میلی‌لیتر)	تعداد اسپور جوانه زده	درصد جوانه‌زنی اسپور نسبت به شاهد
شاهد *A.solani*	۰	٥۳	۱۰۰
مرزه خوزستانی+*A.solani*	۱/٥	۱٥	۲۸/۳
	۲/۳	٥	۹/٤۳
	۷	۳	٥/٦٦
	۹/٥	۰	۰
مرزنجوش+*A.solani*	۱/٥	۱۱	۲۰/۷٥
	۲	٦	۱۱/۳۲
	۷	۲	۳/۷۷
	۹	۰	۰
پونه+*A.solani*	۱/٥	۱۰	۱۸/۸۷
	۱/۷	٦	۱۱/۳۲
	۷	۲	۳/۷۷
	۸/٥	۰	۰

تأثیر اسانس روی آلودگی بافت میوه گوجه فرنگی آلوده به *A.solani*: مقایسه میانگین تأثیر اسانس‌های مرزنجوش، مرزه و پونه روی درصد کاهش آلودگی بافت میوه گوجه‌فرنگی به قارچ *A.solani* نشان داد که تمام غلظت‌های بکار گرفته در کاهش درصد آلودگی بافت میوه گوجه فرنگی تفاوت معنی‌داری نسبت به

www.SID.ir

Archive of SID

شاهد آلوده در سطح یک درصد نشان داد. هر دو غلظت ٤ و ۲۰ میکرولیتر در لیتر اسانس‌های مرزه و مرزنجوش به ترتیب با ٥٦/۲٥، صفر، ۳۹/٥۸ و ۳۱/۲٥ درصد آلودگی، در سطح یک درصد تفاوت معنی‌داری نشان دادند در حالی که در کاهش درصد آلودگی دو غلظت بکار گرفته اسانس پونه با ٦۰/٤۲ و ٥٦/۲٥ درصد آلودگی تفاوت معنی داری در سطح یک درصد نشان نداد. بیشترین درصد کاهش رشد مربوط به غلظت ۲۰ میکرولیتر بر میلی‌لیتر اسانس مرزه بود که در این غلظت به‌طور ۱۰۰ درصد از رشد قارچ *A.solani* روی بافت میوه گوجه فرنگی جلوگیری به‌عمل آمد (شکل ۸).



شکل ۸: تأثیراسانس‌های مرزه خوزستانی، مرزنجوش و پونه در کاهش آلودگی بیماری لکه موجی روی بافت میوه گوجه فرنگی

در کل غلظت ٤ و ۲۰ میکرولیتر در میلی‌لیتر هر یک از اسانس‌های مرزه، مرزنجوش و پونه به‌ترتیب ٥۷/٤۰،۷۸ ، ۳٥/٥٦ و ۱۰۰، ٦٦/٦۷ و ٤۰ درصد بطور معنی‌داری آلودگی قارچی روی بافت میوه نسبت به شاهد آلوده در سطح یک درصد کاهش دادند (جدول ٦).

جدول ٦: تأثیراسانس مرزه خوزستانی، مرزه و مرزنجوش در رشد قارچ *A.solani* روی بافت میوه گوجه‌فرنگی و کاهش درصد آلودگی بافت میوده در دو غلظت ٤ و۲۰ میکرولیتر در لیتر این اسانس‌ها

اسانس	غلظت٤ میکرولیتر در لیتر		غلظت۲۰ میکرولیتردرلیتر	
	درصد رشد قارچ	درصد کاهش آلودگی	درصد رشد قارچ	درصد کاهش آلودگی
شاهد	۹۳/۷٥	۰[e]	۹۳/۷٥	۰[e]
مرزه خوزستانی	٥٦/۲٥	٤۰[d]	۰	۱۰۰[a]
مرزنجوش	۳۹/٥۸	٥۷/۷۸[c]	۳۱/۲٥	٦٦/٦۷[b]
پونه	٦۰/٤۲	۳٥/٥٦[d]	٥٦/۲٥	٤۰[d]

بحث

اثر نامطلوب و مضر آفت‌کش‌ها بر محیط زیست و سلامتی انسان موضوع بسیار مهمی است که امروزه در کانون توجه قرار گرفته است و نیاز به پژوهش و مطالعه برای جایگزین‌های سموم شیمیایی، روزبه روز بیشتر احساس می‌شود (Giordani et al., 2008). از جمله جایگزین‌های بالقوه مهم برای سموم شیمیایی، اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهان عالی می‌باشند. اسانس‌های گیاهی می‌توانند ضمن تأمین سلامت و ایمنی محصول، باعث کاهش ضایعات محصولات

www.SID.ir

Archive of SID

کشاورزی در اثر آلودگی به آفات و عوامل بیماری‌زای گیاهی شوند (Giordani et al., 2008; Feng et al., 2011). حساسیت گونه‌های قارچی، به اسانس‌های گیاهی تابع نوع اسانس گیاهی و غلظت‌های مورد استفاده اسانس می‌باشد. تفاوت در فعالیت ضدقارچی اسانس‌های گیاهی به ترکیب مواد تشکیل‌دهنده آنها بستگی دارد و نوع و درصد این ترکیبات نیز به نوبه خود می‌تواند تابع گونه گیاه و شرایط محیطی قرار گیرد (Plotto et al., 2003).

در پژوهش حاضر، مشخص شد که نوع اسانس و غلظت‌های مورد استفاده اسانس و نوع قارچ در میزان بازدارندگی اسانس از رشد میسلیومی قارچ و خاصیت قارچ‌کشی اهمیت دارد. در این تحقیق اثر سه اسانس مرزه‌خوزستانی، مرزنجوش و پونه روی قارچ بیماری‌زای گیاهی *A.solani* در محیط کشت و میوه مورد مطالعه قرار داده شدند. مشخص شد هرچه اندازه قطر کلنی برای قارچ کمتر باشد، درصد بازدارندگی بیشتر خواهد بود. در میان سه اسانس مورد مطالعه بیشترین درصد بازدارندگی از رشد پرگنه در روش دیسک کاغذی مربوط به اسانس پونه با ٤٩/٩٤ درصد و در روش مواد فرار مربوط به مرزه خوزستانی با ٥١/٠١ درصد بود. همچنین نتایج حاصل از این پژوهش روی بافت میوه آلوده شده باسوسپانسیوناسپور *A.solani* نشان داد که تیمار ٢٠ میکرولیتر بر میلی‌لیتر مرزه خوزستانی بیماری را به‌طور کامل کنترل نموده است. در بررسی میزان بازدارندگی از رشد قارچ‌ها مشخص شد که مقادیر به دست آمده در محیط کشت و بافت میوه یکسان نیست. این تفاوت در میزان بازدارندگی احتمالاً به دلیل تفاوت در ساختار و قارچ‌شناسی گونه‌های مختلف قارچ، تفاوت در میزان حساسیت قارچ‌ها به اسانس‌های گیاهی، تفاوت در میزان تأثیر اسانس‌های گیاهی بر قارچ‌های بیماری‌زا می‌باشد. تفاوت در اسانس‌های گیاهی را احتمالاً می‌توان به تفاوت در منشأ اسانس‌های گیاهی و در نتیجه تفاوت در نوع و ترکیب مواد تشکیل دهنده اسانس‌های گیاهی ارتباط داد (Safari et al., 2014). همچنین با افزایش غلظت اسانس گیاهی تأثیر قارچ‌کشی در همه اسانس‌های مورد استفاده در جلوگیری از رشدمیسلیومی قارچ‌ها افزایش یافته است، این نتایج با نتایج به‌دست آمده توسط پیغامی‌آشنایی و همکاران (Peighami et al., 2007) مطابقت دارد. طی پژوهش دیگر مشخص شد اسانس مرزه دارای خاصیت ضدقارچی قوی علیه قارچ *Alternariacitri* در شرایط آزمایشگاهی می‌باشد نتایج نشان داد که اسانس مرزه در غلظت ٤٠٠ پی پیامو بالاتر در محیط کشت به‌طور کامل بر رشد قارچ اثرداشت و قارچ در محیط کشت رشد نکرد و غلظت‌های ١٠٠ ، ٢٠٠ و ٣٠٠ پی پی ام باعث کند شدن رشد قارچ گردید ولی رشد آن را متوقف نکرد (Yazdanpanah et al., 2011). همچنین (Mahboubi and Haghi, 2008) طی پژوهشی به این نتیجه رسیدن که اثرات قارچ‌کشی اسانس مرزه از اثرات ضدباکتریایی آن بیشتر است. نتایج حاصل از مطالعه لطفی و همکاران (Lotfi et al., 2010) روی قارچ *Fusarium oxysporum* نشان داد که اسانس گیاهان آویشن، زنیان و پونه باعث مهار رشد قارچ شدند. بین غلظت‌های ١٠٠،٢٠٠ و ٣٠٠ پی‌پی‌ام اسانس‌های آویشن و پونه اگرچه اختلاف معنی‌داری در سطح پنج درصد مشاهد نشد ولی در غلظت ٤٠٠ppm کنترل رشد قارچ را مهار کردند. در پژوهش دیگری اسانس گیاهان پونه و آویشن باعث مهار ١٠٠ درصد رشد میسلیومی قارچ‌های رایزوکتونیا، ژئومانومیست، فوزاریوموپیتیوم شده است (Shakarami et al., 2006). پژوهش دیگری روی اسانس‌های گیاهان درمنه شرقی، درمنه دشتی، درمنه خراسانی و درمنه کوهی نشان داد که این اسانس‌ها از رشد برخی

www.SID.ir

Archive of SID

قارچ‌های خاکزی در شرایط آزمایشگاه جلوگیری می‌کنند (Hadian et al., 2007).

در بررسی‌های به عمل آمده در این تحقیق مشخص شد که ترکیبات اصلی اسانس مرزه خوزستانی کارواکرول (۸۸/٦٥ درصد)، اسانس مرزنجوش تیمول (۱۹/٤٦درصد)، ترپنن-٤-ال (۱٦/۱ درصد)، پی-سیمن (۸/۹۱ درصد) میواسانس پونه حاوی پولگون (٤۷/٦٦ درصد)، ۱،۸-سینئول (۲٥/۷۹ درصد)،منتون (٤۳/ ۱۰درصد) می‌باشد. مشخص شده که کارواکرول (Sharifian et al., 2009; Obaidat et al., 2011) وتیمول‌وترپن‌ها (Mohammadi, 2014; Vardar-Unlu et al., 2010) دارای فعالیت ضدقارچی بالایی می‌باشند. گزارش شده که فعالیت ضدقارچی اسانس پونه بیشتر ناشی از وجود پولوگون در این گیاه است(Pajohi-Alamoti et al., 2012).

نتیجه‌گیری نهایی

درکل این نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد تفاوت در فعالیت ضدقارچی اسانس‌های گیاهی به اجزای تشکیل‌دهنده آن‌ها بستگی دارد به‌طوری که یک ترکیب ممکن است به تنهایی یا به‌صورت تشدیدکنندگی با سایر ترکیب‌ها فعالیت ضدقارچی اسانس را باعث شود تا در غلظت معینی تأثیر قابل قبولی داشته باشد. از طرفی دیگر نوع اسانس و غلظت‌های مختلف آن در میزان بازدارندگی از رشد میسلیومی قارچ و خاصیت قارچ‌کشی آن نقش کلیدی دارا می‌باشد. اسانس حاصل از گیاهان مرزه خوزستانی، مرزنجوش و پونه در کاهش رشد قارچ *A.solani* و آلودگی ناشی از آن روی میوه گوجه‌فرنگی نقش بسزایی دارد. پیشنهاد می‌شود کارایی محصولات بیولوژیک به جای بررسی در دامنه دمایی محدود و کنترل شده در دامنه دمایی وسیع‌تری مورد بررسی قرار گیرد. نتایج این تحقیق در راستای ساخت قارچ‌کش‌های ارگانیک و سازگار با محیط زیست امید بخشبوده و می‌تواند گامی بزرگ در راستای سلامت و ایمنی محصولات غذایی، افزایش صادرات محصولات کشاورزی و افزایش زمان انبارداری میوه‌ها باشد

References

1. Al-Mughrabi, K.I. 2004. Sensitivity of Jordanian isolates of *Alternaria solani* to mancothane. Phytopathologia Mediterranea, 43: 14-19.
2. Burt, S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods-a review. International Journal of Food Microbiology, 94(3): 223-253.
3. Darvishnia, M., Rezaei-Nejad, A. and Delfan, B. 2015. Effect of essential oil of *Satureja khuzistanica* Jamzad and *S. rechingeri* Jamzad, Carvacrol and Benomyl on growth inhibition of *Botrytis cinerea* an agent of gray mold disease of fruit. Agricultural Crop Management, 17(2): 531-540. (In Persian).
4. Feng, W., Chen, J., Zheng, X. and Liu, Q. 2011. Thyme oil to control *Alternaria alternata* in vitro and in vivo as fumigant and contact treatments. Food Control, 22: 78-81
5. Ghosta, Y., Ershad, D., Zare, R. and Mohammadi-Goltape, E. 2003. Taxonomic study on *Alternaria* species in Iran. Rostaniha, 4(3-4): 105-121. (In Persian).
6. Giordani, R., Hadef, Y. and Kaloustian, J. 2008. Compositions and antifungal activities of essential oils of some Algerian aromatic plants. Fitoterapia, 79: 199-203
7. Hadian, J., Farzaneh, M., Ghorbani, M. and Mirjalili, M.H. 2007. Chemical composition and antifungal activity of the essential oil of *Artemisia khorasanica* on soil-borne phytopathogens. Journal Essential Oil Research, 10(1): 53-58. (In Persian).

www.SID.ir

Archive of SID

8. Jafari, A., Fattahi, A. and Zarrin-Far, H., 2006. Survey of traditional medical herb in Yazd city to aflatoxin producer fungi. In: Abstracts book of 9th Iranian Nutrition Congress. Tabriz. Iran.(In Persian).
9. Jannings, W. and Shibamoto, J. 1980. Qualitative analysis of flavour and fragrance by capillary gas chromatography. Academic Press, New York, 830 p.
10. Khanasha, M., Barzegar, F. and Hamzehzarghani, H. 2012. Introduction TOMCAST forecasting system for chemical control of tomato early blight disease. University of yasouj journals system plant pathology science, 1(2): 10-20. (In Persian).
11. Kohanmoo, M.A. and Jamali, F. 2013. Antifungal activities of some Medicinal plant essential oils against *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici* Biological Control of Pesticide and Plant Disease, 2(1): 27-33.
12. Kordali, S., Kotan, R., Mavi, A., Cakir, A., Ala, A. and Yildirim, A. 2005. Determination of the chemical composition and antioxidant activity of the essential oil of *Artemisiadracunculus* and of the antifungal and antibacterial activities of Turkish *Artemisiaabsinthium*, *A. dracunculus*, *Artemisia santonicum* and *Artemisia spicigera* essential oils. Journal Agriculture & Food Chemistry, 53: 9452-9458.
13. Lotfi, A., Jafarpour, M., Etemadi, N. and Tahmourespour, A. 2010. Effect of essential oils of Thyme, Ajwan and Oregano on the fungus *Fusarium oxysporum*. 5th National Conference on New Ideas in Agriculture, Khorasgan (Esfahan). Islamic Azad University, Iran.(InPersian)
14. Mahboubi, M. and Haghi, G.H. 2008. Antimicrobial activity and chemical composition of *Mentha pulegium* L. essential oil. Journal Ethnopharma, 119 (2): 325-327.
15. Majd, A., Nejadsattari, I. and Friendship, B. 2007. Evaluation of Quantitative and qualitative constituents of essential oil of Khuzestan Savory (*Satureja Khuzistanica* J.) during plant development and antimicrobial properties of essential oils in conditions in vitro. Basically Science, 18 (1): 52-60.
16. Moghtader, M. and Afzali, D. 2009. Study of the antimicrobial properties of the essential oil of Rosemary. Amer-Eurasian Journal Agriculture & Environmental Science, 5(3): 393-397.
17. Mohammadi, A. 2014. Study of antifungal properties and chemical composition of essential oil of *Thymus kotscuyanus* Boiss. & Hohen.Medical Plant Biotechnology, 4(3): 52-62. (In Persian).
18. Moosavian, S.M., Darvishnia, M. and Bazgir, A. 2015. The Effect of pH and NaCl on the aflatoxin production of *Aspergillus Parasiticus*. Plant Protestation Science, 46(2): 259-267.(In Persian).
19. Obaidat, R.M., Bader, A., Al-Rajab, W., Abu-Sheikha, G. and Obaidat, A.A. 2011. Preparation of mucoadhesive oral patches containing tetracycline hydrochloride and carvacrol for treatment of local mouth bacterial infections and candidiasis. Science Pharmacology, 79(1): 197-212.
20. Pajohi-Alamoti, M.R., Tajik, H., Akhondzade, A., Gandomi, H. and Ehsani, A. 2012. A Study on chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of *Mentha longifolia* L. and *Cuminum cyminum* L. in soup. Journal Food Science & Technology, 36(9): 33-45.
21. Peighami, A.S., Farzaneh, M., Hadian, J., Sharifi, T.J. and Ghorbanpour, M. 2007. Evaluation of antifungal activity of some plant essential oils against the grey mold of apple caused by *Botrytis cinerea*. Agricultural Reserarch, 7(3): 1-10. (In Persian).
22. Perrucci, S., Marcianti, F. and Cionti, P.L. 1994. In vitro antifungal activity of essential oils against some isolates of *Microsperumcanis* and *M. gypseum*. Planta Medica, 60: 84-87.
23. Plaza, P., Torres, R., Usall, J., Lamarca, N. and Vinasa, I. 2004. Evaluation of the potential of commercial post-harvest application of essential oils to control

www.SID.ir

Archive of SID

citrus decay. Journal of Horticulture Science & Biotechnology, 79(6): 935-940.

24. Plotto, A., Roberts, R.G. and Roberts, D.D. 2003. Evaluation of plant essential oils as natural postharvest disease control of tomato (*Lycopersicun esculentum* L.). Acta Horticulturae, 628: 737-745.
25. Rasouli, I., Yadegarinia, D., Gachkar, L., Rezaei, M.B. and Fakour, M.H. 2007. Inhibit the production of aflatoxin fungus *Aspergillus parasiticus* by essential oils. Journal Research and Development, 3: 146-147. (In Persian).
26. Risser, G., Banihashemi, Z. and Davis, D.W. 1976. A proposed nomenclature of *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis* races and resistance genes in *Cucumis melo*. Journal Phytopathology, 66: 1105-1106.
27. Safari, N., Hemmati, R., Farzane, M. and Chegini, S. 2014. Study on three essential oils from *Mentha piperita*, Thymus daenensis and *Satureja khuzistanica* for controlling *Penicillium expansum* against of Apple Blue Mould. Applied Research in Plant Protection, 3(1): 19-33. (In Persian).
28. Sahin, F., karaman, I. and Gulauce, M. 2003. Evalution of antimicrob activities of *Satureja hortensis* L. Journal Food Microbiology, 145: 522-33.
29. Shakarami, J., Bazgir, E. and Feizian, M. 2006. Inhibition effects of five plant species essential oils on the in vitro mycelial growth of four plant pathogenic fungi. JWSS - Isfahan University of Technology, 10 (3): 497-504. (In Persian).
30. Sharifian, M., Bolhari, B., Nosrat, A. and Aligholi, M. 2009. Effect of carvacerol on *Enterococcus faecalis* as an intracanal medicament-Invitro study. Journal Dent Medical, 1(22): 35-40. (In Persian).
31. Simmons, E. 2007. *Alternaria*, an identification manual. Utrecht: CBS Fungal Biodiversity Centre, Nederland, 775 p.
32. Vale-Silva, L., Silva, M.J., Oliveira, D., Goncalves, M.J., Cavaleiro, C. and Salgueiro L. 2012. Correlation of the chemical composition of essential oils from *Origanum vulgare* sub sp. *virens* with them in vitro activity against pathogenic yeasts and filamentous fungi. Journal Medical Microbiology, 61: 252-260.
33. Vardar-Unlu, G., Candan, F., Sokmen, A., Daferera, D., Polissiou, M., Sokmen, M., Donmez, E. and Tepe, B. 2010. Antimicrobial and antioxidant activity of the essential oil and methanol extracts of *Thymus pectinatus*. Journal Agriculture Food Chemistry, 51:63-67.
34. Yazdanpanah, L., Aminaei, M.M., Panahi, B., Emamifar, M. and Mahdian, M. 2011. Effect of Antifungal Essential oil From *Satureja hortensis* on *Alternaria citri*. Plant Production Technology, 10(2): 83-90. (In Persian).

www.SID.ir