

بررسی و مقایسه فیتوشیمیایی و اثر ضدقارچی اسانس گونه‌های مختلف دارویی علیه قارچ *Alternaria alternata* عامل بیماری لکه موجی گوجه‌فرنگی

حسن مهدوی کیا^{۱*}، عبدالله احمدپور^۲

استادیار، گروه گیاهان دارویی، مرکز آموزش عالی شهید باکری میاندوآب، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران
استادیار، گروه ترویج و آموزش کشاورزی پایدار، مرکز آموزش عالی شهید باکری میاندوآب، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

تاریخ دریافت: ۹۷/۱۲/۲۲ تاریخ پذیرش: ۹۸/۵/۱۷

چکیده

یکی از مهمترین عوامل محدود کننده تولید و نگهداری گوجه‌فرنگی در ایران، بیماری لکه‌موجی با عامل *Alternaria alternata* می‌باشد. تحقیقات نشان داده است برخی متابولیت‌های ثانویه گیاهان دارویی در جلوگیری از رشد قارچ‌ها مؤثر بوده و جایگزین مناسبی برای سموم شیمیایی هستند. در تحقیق حاضر، برگ و سرشاخه گلدار گونه‌های آویشن^۱، پونه^۲، نعناع فلفلی^۳، مرزه^۴، نعناع ارومیه^۵ در مرحله شروع گلدهی، سرشاخه‌های گل‌دار بومادران زرد^۶ در مرحله گلدهی کامل و بذور رسیده رازیانه^۷، شوید^۸ و زنیان^۹ در سال ۱۳۹۶ از باغ گیاهان دارویی مرکز آموزش عالی شهید باکری میاندوآب جمع‌آوری و پس از شناسایی مورد استفاده قرار گرفتند. برگ‌های بالغ گیاه دارویی اکالیپتوس^{۱۰} نیز در تابستان سال ۱۳۹۶ از استان فارس، شهرستان فراه‌سبند جمع‌آوری و مورد استفاده قرار گرفت. اسانس مواد گیاهی به روش تقطیر با آب و با استفاده از دستگاه کلونجر استخراج شد و مهمترین ترکیبات اسانس گونه‌ها، با استفاده از دستگاه گاز کروماتوگرافی مشخص گردید. اثر ضدقارچی اسانس‌های استخراج شده روی رشد کلونی قارچ *Alternaria alternata* به روش اختلاط اسانس با محیط کشت PDA با غلظت‌های صفر، ۲۰۰، ۴۰۰، ۸۰۰ و ۱۲۰۰ پی‌پی‌ام در سه تکرار بررسی شد. نتایج نشان داد، نوع و غلظت اسانس بر جلوگیری از رشد کلونی قارچ تأثیر معنی‌داری دارد. بیشترین تأثیر بازدارندگی به ترتیب، مربوط به اسانس گونه‌های مرزه، زنیان و آویشن در غلظت‌های ۸۰۰ و ۱۲۰۰ پی‌پی‌ام و اسانس گیاه شوید در غلظت ۱۲۰۰ پی‌پی‌ام می‌باشد. در تحلیل آنالیز موارد مؤثره و عملکرد ضدقارچی آنها نشان داد که ترکیبات کارواکرون، تیمول، ۷ ترپینن و پارا-سیمن از مهمترین ترکیبات ثانوی دارویی در اسانس‌ها بودند که در بازداری از رشد قارچ مؤثر بودند.

واژه‌های کلیدی: اسانس، بیماری پس از برداشت، تیمول، کارواکرون، گوجه‌فرنگی، مبارزه بیولوژیکی، *Alternaria alternata*

*نویسنده مسئول: h.mahdavia@urmia.ac.ir

2. *Thymus vulgaris* L.
3. *Mentha aquatica* L.
4. *Mentha piperita* L.
5. *Satureja hortensis* L.
6. *Mentha longifolia* L.
7. *Achillea millefolium* L.
8. *Foeniculum vulgare* Mill.
9. *Anethum graveolens* L.
10. *Trachyspermum copticum* L.
11. *Eucalyptus* sp.

مقدمه

بیماری‌های شایع این سبزی میوه‌ای است که تقریباً در تمام مناطقی از ایران که کشت می‌شود، گزارش شده است (Ershad, 2009). مرسوم‌ترین روش مبارزه با عامل بیماری لکه موجی گوجه فرنگی در مزرعه، سمپاشی با قارچ‌کش‌های رایج می‌باشد که به دلیل ایجاد مشکلات زیست محیطی، سمیت برای انسان، ایجاد نژادهای مقاوم و هزینه‌های بسیار بالا، با محدودیت مواجه شده است (Ahmad et al., 2017; Agrios, 2005). بنابراین بهینه‌سازی روش‌های کنترل ضایعات از طریق جایگزینی روش‌های مرسوم قبلی با روش‌های فاقد زیان‌آور برای انسان و محیط زیست امری ضروری بنظر می‌رسد. یکی از روش‌های نوین مبارزه با آفات و بیماری‌ها، استفاده از متابولیت‌های ثانویه^۲ گیاهان دارویی می‌باشد.

متابولیت‌های ثانویه نه تنها فاقد اثرات جانبی هستند، بلکه به علت خواص آنتی‌اکسیدانی، کیفیت و طول دوره انبارداری میوه‌ها را افزایش می‌دهند (Rustaiyan et al., 2000; Calo et al., 2015; Pandey et al., 2019; Wang et al., 2017). اسانس‌ها، مخلوط‌های طبیعی بسیار پیچیده شامل حدود ۶۰-۲۰ ترکیب در غلظت‌های متفاوت و چند ترکیب اصلی با غلظت‌های نسبتاً بالا (۷۰-۲۰ درصد) در مقایسه با اجزای دیگر می‌باشند. به‌طورکلی این اجزای اصلی، خواص بیولوژیکی اسانس‌ها را تعیین می‌کنند (Bakkali et al., 2008; Pandey et al., 2017). این اجزاء شامل دو گروه با مبدأ بیوستیزی مجزا می‌باشند. گروه اصلی از ترپن‌ها^۳ و ترپنوئیدها^۴ و اجزای آروماتیک دیگر تشکیل شده که همگی با وزن مولکولی کم، توصیف می‌شوند (Calo et al., 2015; Bakkali et al., 2008; El-Mohamedy, 2017; Pandey et al., 2017). به‌دلیل زیاد بودن تعداد اجزای

با توجه به افزایش جمعیت در جهان و لزوم تامین غذای کافی و سالم بر اساس استانداردهای بهداشتی و نیز سیاست‌های سازمان خوار و بار کشاورزی جهانی (فائو) و سازمان حفاظت محیط زیست به منظور کاهش مصرف سموم شیمیایی، تحقیقات گسترده‌ای جهت استفاده از متابولیت‌های ثانویه گیاهان دارویی در جهت جلوگیری از عوامل محدود کننده تولید صورت گرفته است (Alikhani et al., 2009; Abdolmaleki et al., 2011; El-Mohamedy, 2017; Wang et al., 2019). یکی از مهمترین عوامل محدود کننده تولید و نگهداری محصولات باغبانی، آفات و بیماری‌ها می‌باشند. امروزه نگهداری محصولات گیاهی پس از برداشت به‌منظور تامین امنیت غذایی از اهمیت بسیار بالایی برخوردار است (Calo et al., 2015; Pandey et al., 2017; Wang et al., 2019). بیماری‌های پس از برداشت سالانه خسارت فراوانی را به تولیدکنندگان وارد می‌کند، به‌طوری‌که ۳۰-۱۰ درصد کل محصول غیر قابل مصرف می‌شود (Agrios, 2005; Wang et al., 2019). گوجه فرنگی (*Lycopersicon esculentum* MILL.) یکی از مهمترین سبزیهای میوه‌ای فرازگرا^۱ و از نظر اقتصادی دومین سبزی مهم دنیا محسوب می‌شود. شرایط نامناسب برداشت، بسته‌بندی و نگهداری، از عوامل مهم کاهش تولید و میزان بالای ضایعات این محصول در ایران می‌باشد (Mazaheri Tehrani et al., 2007). برخی گونه‌های جنس‌های *Aspergillus Alternaria* و *Rhizopus Penicillium* از مهمترین عوامل میکروبی محدود کننده طول عمر پس از برداشت گوجه‌فرنگی می‌باشند (Abdolmaleki et al., 2010; Ahmad et al., 2017; Rota et al., 2004; Zhao et al., 2011). بیماری لکه موجی گوجه‌فرنگی از

2. Secondary Metabolites
3. Terpene
4. Terpenoid

1. Climacteric

ارومیه^۵ در مرحله شروع گلدهی، سرشاخه‌های گل‌دار بومادران زرد^۶ در مرحله گلدهی کامل و بذور رسیده رازیانه^۷، شوید^۸ و زنیان^۹ در سال ۱۳۹۶ از باغ گیاهان دارویی مرکز آموزش عالی شهید باکری میاندوآب جمع‌آوری و پس از شناسایی مورد استفاده قرار گرفتند. برگ‌های بالغ گیاه دارویی اکالیپتوس^{۱۰} نیز در تابستان سال ۱۳۹۶ از استان فارس، شهرستان فراهین جمع‌آوری و مورد استفاده قرار گرفت. مواد گیاهی در شرایط آزمایشگاهی و دور از تابش نور مستقیم آفتاب خشک شده و جهت استخراج اسانس مورد استفاده قرار گرفتند. استخراج اسانس به روش تقطیر با آب و به نسبت ۵ به ۱ (W/V) به کمک دستگاه کلونجر به مدت ۳ ساعت انجام شد. برای هر نمونه ۳ تکرار و برای هر تکرار ۵۰ گرم نمونه گیاهی مورد استفاده قرار گرفت. اسانس بدست آمده با استفاده از سولفات سدیم آبگیری و در شیشه‌های تیره در دمای ۴ درجه سلسیوس تا زمان آنالیزها و آزمون‌های زیست‌سنجی در یخچال نگهداری شدند.

آنالیز و شناسایی ترکیب اسانس‌ها: اسانس‌های بدست آمده از گونه‌های گیاهی مختلف با دستگاه کروماتوگرافی گازی (GC) و کروماتوگرافی گازی همراه با طیف‌سنجی جرمی (GC-MS) مورد شناسایی قرار گرفت. پس از یافتن برنامه‌ریزی مناسب حرارتی ستون برای جداسازی کامل ترکیب‌های اسانس‌ها و تعیین درصد هر ترکیب، از هر گونه گیاهی ۱۰ میکرولیتر اسانس به دستگاه GC-MS تزریق شد و طیف جرمی ترکیب‌ها تعیین گردید. گاز کروماتوگرافی متصل به طیف‌سنج جرمی مدل واریان ۳۴۰۰ از نوع تله یونی مجهز به ستون BD-5 به

تشکیل دهنده اسانس‌ها، به نظر می‌رسد که اسانس‌ها به طیف وسیعی از سلول‌ها حمله می‌کنند (El-Mohamedy, 2017). فعالیت سیتوتوکسیک اسانس‌ها عمدتاً در نتیجه حضور فنول‌ها، آلدئیدها و الکل‌ها می‌باشد (Bruni et al., 2004; Bakkali et al., 2008; El-Mohamedy, 2017). خاصیت ضد قارچی متابولیت‌های ثانویه برخی گیاهان دارویی از جمله دارچین، پونه کوهی، رزماری، مریم‌گلی، میخک، فلفل، ریحان، آویشن، مرزه، زیره، لیمو و نعناع در تحقیقات متعددی گزارش شده است (Ranjbar et al., 2008; Hadian et al., 2008). فدائی و همکاران (Fadaei et al., 2011) اثرات ضد میکروبی اسانس نعناع فلفلی را بیشتر از ترکیبات شیمیایی ارزیابی کردند. اثرات ضد قارچی اسانس گیاهان دارویی بر عوامل قارچی *Penicillium*، *Rhizopus*، *Aspergillus*، *Alternaria* و *Botrytis* بر روی میوه‌های سیب، مرکبات و توت‌فرنگی مطالعه شده است. تحقیقات معدودی از تاثیر اسانس گیاهان دارویی روی بیماری لکه موی گوجه‌فرنگی در ایران صورت گرفته است (Ahmad et al., 2017).

تحقیق حاضر با هدف ارزیابی اثرات ضد قارچی اسانس برخی از گیاهان دارویی بر علیه قارچ *Alternaria alternata*، عامل بیماری لکه موی گوجه‌فرنگی و تعیین موثرترین اسانس و غلظت انجام گردید.

مواد و روش‌ها

تهیه مواد گیاهی و استخراج اسانس: نمونه‌های گیاهی گونه‌های مورد آزمایش شامل برگ و سرشاخه گلدار آویشن^۱، پونه^۲، نعناع فلفلی^۳، مرزه^۴، نعناع

5. *Mentha longifolia* L.
6. *Achillea millefolium* L.
7. *Foeniculum vulgare* Mill.
8. *Anethum graveolens* L.
9. *Trachyspermum copticum* L.
10. *Eucalyptus* sp.

1. *Thymus vulgaris* L.
2. *Mentha aquatica* L.
3. *Mentha piperita* L.
4. *Satureja hortensis* L.

قارچی با استفاده از محلول‌های مختلف نظیر لاکتوفنل و کاتن بلو- لاکتوفنل رنگ‌آمیزی شد. صفات مورد مطالعه شامل رنگ پرگنه، مشخصات کنیدیوفورها و کنیدیوم‌ها بودند. حداقل ۵۰ عدد از هر کدام از اندام‌های قارچی (کنیدیوفور و کنیدیوم) در چند نمونه میکروسکوپی بررسی و اندازه‌گیری گردید و با بهره‌گیری از منابع معتبر شناسایی شدند (Simmons, 2007).

بررسی خواص ضد قارچی اسانس‌ها: جهت بررسی خواص ضد قارچی اسانس‌ها، آزمایشی بصورت فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی با سه تکرار طراحی و اجرا گردید. اثر ضد قارچی اسانس‌های استخراج شده روی رشد کلونی قارچ *Alternaria alternata* به روش اختلاط اسانس با محیط کشت PDA بررسی شد (Lopez-Meneses et al., 2017).

غلظت‌های شاهد، ۲۰۰، ۴۰۰، ۸۰۰ و ۱۲۰۰ پی‌پی‌ام اسانس در لیتر محیط کشت، به پتری‌دیش‌های حاوی محیط کشت PDA اضافه و به هم زده شد تا امولسیون یکنواخت به‌وجود آید و اجازه داده شد تا محیط جامد گردد. سپس دیسک‌های قارچی به قطر ۵ میلی‌متر توسط چوب‌پنبه سوراخ‌کن که قبلاً استریل شده بودند از کشت‌های جوان قارچ مذکور تهیه شد و هر کدام در وسط پتری‌دیش‌های حاوی مواد غذایی قرار داده شدند. سپس پتری‌دیش‌ها در شرایط تاریکی کامل و در دمای ۲۴ درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شد. پس از گذشت ۲۴ ساعت، رشد رویشی هاله هر قارچ به‌طور روزانه و تا زمانی که سطح محیط کشت پتری‌های شاهد توسط قارچ بطور کامل اشغال شود اندازه‌گیری گردید. درصد بازدارندگی غلظت‌های مختلف اسانس‌ها با بهره‌گیری از فرمول $IP = \frac{C-T}{C} \times 100$ (Lopez-Meneses et al., 2017). (Inhibitory percentage) IP درصد بازدارندگی، C (Control) میانگین قطر هاله قارچ در

طول ۳۰ میلی‌متر، قطر ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه فاز ساکن ۰/۲۵ میکرومتر بوده است. برنامه ریزی حرارتی ستون مشابه با برنامه ریزی ستون در GC بوده است. دمای محفظه تزریق ۱۰ درجه بیشتر از دمای نهایی ستون تنظیم شد. گاز حامل هلیوم بود که با سرعت ۳۱/۵ سانتی‌متر بر ثانیه در طول ستون حرکت کرده است. زمان اسکن برابر یک ثانیه، انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت و ناحیه جرمی از ۴۰ تا ۳۴۰ بوده است.

جداسازی جدایه‌های قارچ *Alternaria alternata*:

برای جداسازی اولیه جدایه‌های قارچ *A. alternata* از محیط کشت PDA (سیب‌زمینی - دکستروز-آگار؛ ۳۹ گرم در یک لیتر آب مقطر) و آب آگار (۲۰ گرم در یک لیتر آب مقطر) استفاده شد. برای این منظور میوه‌های آلوده گوجه‌فرنگی پس از جمع‌آوری از مزارع به آزمایشگاه منتقل و از محل بین بافت سالم و آلوده قطعاتی به اندازه ۳-۷ میلی‌متر بریده شد. بعد از شستسوی سطحی در جریان آب، با محلول رقیق شده هیپوکلریت سدیم (حاوی یک درصد کلر فعال) به مدت ۲-۱ دقیقه ضدعفونی سطحی گردید. سپس قطعات دو بار با آب مقطر استریل شستشو داده شدند و پس از خشک کردن روی کاغذ صافی استریل، درون تشتک‌های پتری حاوی محیط غذایی سیب‌زمینی-دکستروز-آگار (PDA)، آب آگار ۲ درصد و یا کاغذ صافی مرطوب استریل کشت گردیدند. سپس تشتک‌های پتری در شرایط تاریکی کامل و در دمای ۲۴ درجه سلسیوس قرار داده شدند. پس از طی ۱۰-۴ روز پرگنه‌های موجود در اطراف و روی قطعات میزبان به روش تک‌هاگ^۱ و یا نوک ریشه^۲ روی محیط غذایی PDA خالص سازی گردیدند. برای انجام بررسی‌های میکروسکوپی، نمونه‌های

1. Single spore
2. Hyphal tip

سینثول (۴/۵۵ درصد)، در اسانس نعناع ارومیه ۱، ۸- سینثول (۱۲/۱۲ درصد)، منتون (۲۳/۳۴ درصد)، پولگون (۳۷/۳۶ درصد) و متوفوران (۷/۸۰ درصد) و در اسانس نعناع فلفلی ۱، ۸- سینثول (۷/۳۱ درصد)، منتون (۱۴/۱۲ درصد)، پولگون (۳/۹۴ درصد)، منتول (۳۷/۷۲ درصد)، متوفوران (۱۳/۶۳ درصد) و تیمول (۳/۹۲ درصد) ترکیبات اصلی شناسایی شده می‌باشند. در اسانس بومادران از خانواده آفتابگردان ترکیبات سانتولینا تریئن (۱۳/۲۸ درصد)، ۱، ۸- سینثول (۱۴/۵۵ درصد)، (ز) - β - اوسیمین (۳۲/۸۱ درصد)، بورنتول (۳/۸۹ درصد) و کریسانتینیل استات، سیس (۷/۱۸ درصد)، در اسانس گیاه شوید ال- فلاندرن (۴/۴۹ درصد)، لیمونن (۴۴/۵۸ درصد)، کارون (۳۴/۹۹ درصد) و دیلاپول (۷/۵۶ درصد)، در اسانس رازیانه ترکیبات فنکون (۱۱/۹۷ درصد)، ترانس انتول (۷۹/۲۴ درصد) و استراگول (۴/۳۰ درصد) و در اسانس زنیان پارا- سیمن (۲۵/۰۳ درصد)، γ تریپنین (۱۴/۹۳ درصد) و تیمول (۵۳/۹۹ درصد) از مهمترین ترکیبات شناسایی شده در اسانس نمونه گیاهان بودند.

خواص ضدقارچی اسانس‌ها: نتایج آنالیز واریانس نشان داد که تفاوت معنی‌داری در سطح یک درصد بین بازدارندگی اسانس‌ها از رشد کلونی قارچ، غلظت‌های مختلف آنها و اثرات متقابل بین نوع اسانس \times غلظت مورد استفاده وجود دارد (جدول ۱۱). با افزایش غلظت اسانس‌ها از رشد قارچ به طور چشمگیری کاسته شد و در برخی از اسانس‌ها در غلظت‌های بالاتر از ۸۰۰ پی‌پی‌ام هیچ رشدی دیده نشد. تاثیر اسانس گیاهان گونه‌های تیره نعناع بسیار بیشتر از سایر گیاهان مشاهده شد. در مجموع به ترتیب اثر ضدقارچی اسانس گیاهان آویشن، مرزه و زنیان از بقیه اسانس‌های استفاده شده، بیشتر مشاهده شد. اسانس گیاهان نعناع ارومیه و بومادران تاثیر کمتری

تیمار شاهد و T (Treatment) میانگین قطر هاله قارچ در تیمار مورد نظر می‌باشند.

بررسی ویژگی قارچ‌کشی یا قارچ‌ایستایی اسانس‌ها: برای این منظور دیسک‌های قارچی از حاشیه کلنی تیمارهایی که رشد قارچی کمتر در آنها مشاهده گردید، تهیه و بر روی محیط PDA کشت داده شدند. رشد یا عدم رشد قارچ بر روی محیط کشت پس از چهار روز بررسی و ثبت شد.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.1 صورت گرفت. تست نرمال بودن داده‌ها با نرم‌افزار مذکور بررسی و تبدیل داده‌ها انجام شد. آنالیز واریانس داده‌ها با استفاده از ANOVA در سطح احتمال $P < 1\%$ و مقایسه میانگین‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن محاسبه شد.

نتایج

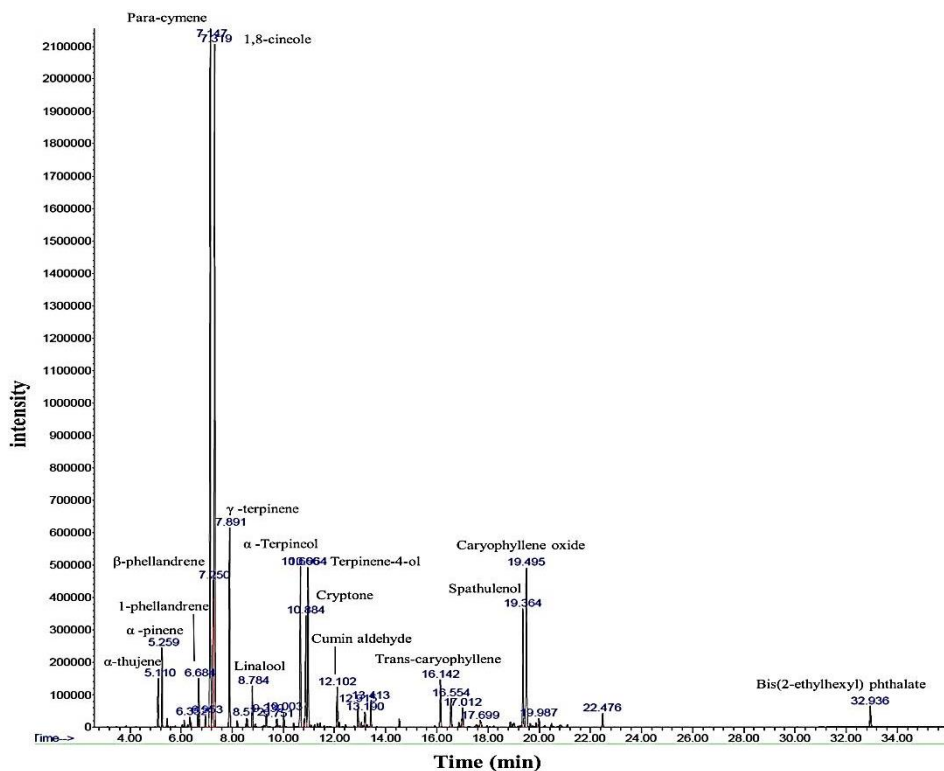
کمیت و کیفیت مواد موثره اسانس گیاهان مورد مطالعه: نتایج حاصل از آنالیز مواد موثره اسانس‌ها (جدول ۱ تا ۱۰ و اشکال ۱ تا ۱۰) نشان داد که مهمترین ترکیبات اسانس اکالیپتوس: ۱، ۸- سینثول (۲۴/۹۵ درصد) پارا سیمن (۲۴/۹۰ درصد)، γ تریپنین (۵/۵۴ درصد)، کاریوفیلین اکسید (۵/۴۲ درصد) تریپنین-۴- اول (۵/۱۰ درصد)، α تریپنتول (۴/۹۹ درصد)، اسپاتولنول (۴/۱۷ درصد) و β فلاندرن (۵/۵۷ درصد)، در اسانس آویشن کارواکرول (۵۳/۲۲ درصد)، تیمول (۱۵/۸۳ درصد)، γ تریپنین (۴/۱۹ درصد) و پارا- سیمن (۹/۹۳ درصد)، در اسانس مرزه: γ تریپنین (۲۴/۹۲ درصد)، کارواکرول (۵۳/۵۷ درصد) و پارا- سیمن (۸/۱۴ درصد)، در اسانس پونه ال- منتون (۲۲/۱۹ درصد)، پولیگون (۴۹/۴۲ درصد)، سیس- پارا- منتان-۳- اون (۸/۸۴ درصد) و ۱، ۸-

مختلف تفاوت معنی داری وجود دارد. اسانس گیاهان مرزه، زنیان و آویشن در غلظت‌های ۴۰۰، ۸۰۰ و ۱۲۰۰ پی‌پی‌ام روی درصد بازداری از رشد کلونی قارچ بیشترین تاثیر را داشتند

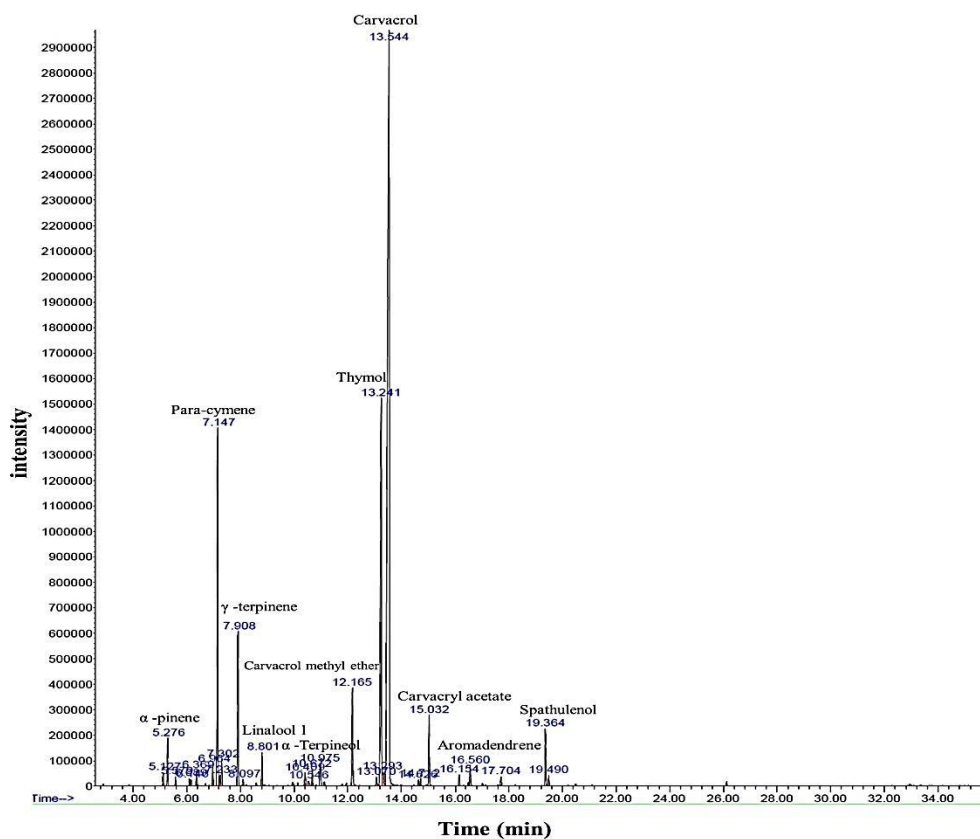
بر جلوگیری از رشد قارچ در غلظت‌های مختلف در مقایسه با سایر اسانس‌ها داشتند (شکل ۱۱ و ۱۲). نتایج تحقیق حاضر نشان داد که با افزایش غلظت اسانس‌ها از رشد کلونی قارچ جلوگیری می‌شود و بین درصد بازداری اسانس‌ها در گیاهان و غلظت‌های

جدول ۱: ترکیبات متشکله اسانس گیاه اکالیپتوس (*Eucalyptus sp.*) با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی همراه با طیف سنجی جرمی (درصد ترکیبات با مقدار بیشتر پررنگ نشان داده شده‌اند)

ردیف	نوع ترکیبات	درصد ترکیبات	زمان بازداری	شاخص بازداری
۱	α -thujene	۱/۱۲	۵/۱۲	۹۲۹
۲	α -pinene	۱/۸۸	۵/۲۸	۹۳۴
۳	Camphene	۰/۲۶	۵/۵۷	۹۴۹
۴	1-phellandrene	۱/۳۰	۶/۶۸	۱۰۰۵
۵	α -terpinene	۰/۳۰	۶/۹۶	۱۰۱۷
۶	Para-cymene	۲۴/۹۰	۷/۱۴	۱۰۲۵
۷	β-phellandrene	۵/۷۵	۷/۲۵	۱۰۳۰
۸	1,8-cineole	۲۴/۹۵	۷/۳۰	۱۰۳۲
۹	γ -terpinene	۵/۵۴	۷/۹۱	۱۰۶۰
۱۰	α -terpinolene	۰/۳۴	۸/۵۷	۱۰۸۹
۱۱	Linalool	۱/۱۶	۸/۷۸	۱۰۹۸
۱۲	P-Menth-2-en-1-ol, cis-	۰/۳۹	۹/۳۳	۱۱۲۲
۱۳	P-Menth-2-en-1-ol, trans-	۰/۲۹	۹/۷۵	۱۱۴۰
۱۴	Terpinene-4-ol	۵/۱۰	۱۰/۶۷	۱۱۸۰
۱۵	Cryptone	۳/۵۵	۱۰/۹۶	۱۱۸۹
۱۶	α -Terpineol	۴/۹۹	۱۰/۹۷	۱۱۹۳
۱۷	Cumin aldehyde	۱/۲۳	۱۲/۱۰	۱۲۴۲
۱۸	Phellandral	۰/۶۹	۱۲/۹۱	۱۲۷۷
۱۹	Thymol	۰/۵۵	۱۳/۱۹	۱۲۹۲
۲۰	Carvacrol	۰/۷۸	۱۳/۵۴	۱۳۰۵
۲۱	Trans-caryophyllene	۱/۴۴	۱۶/۱۵	۱۴۲۵
۲۲	Aromadendrene	۰/۹۴	۱۶/۵۶	۱۴۴۴
۲۳	β -himachalene	۰/۳۴	۱۷/۷۰	۱۴۹۹
۲۴	Spathulenol	۴/۱۷	۱۹/۳۶	۱۵۸۶
۲۵	Caryophyllene oxide	۵/۴۲	۱۹/۴۹	۱۵۹۰



شکل ۱: کروماتوگرام اسانس گیاه اکالیپتوس (*Eucalyptus sp.*) با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی همراه با طیف سنجی جرمی



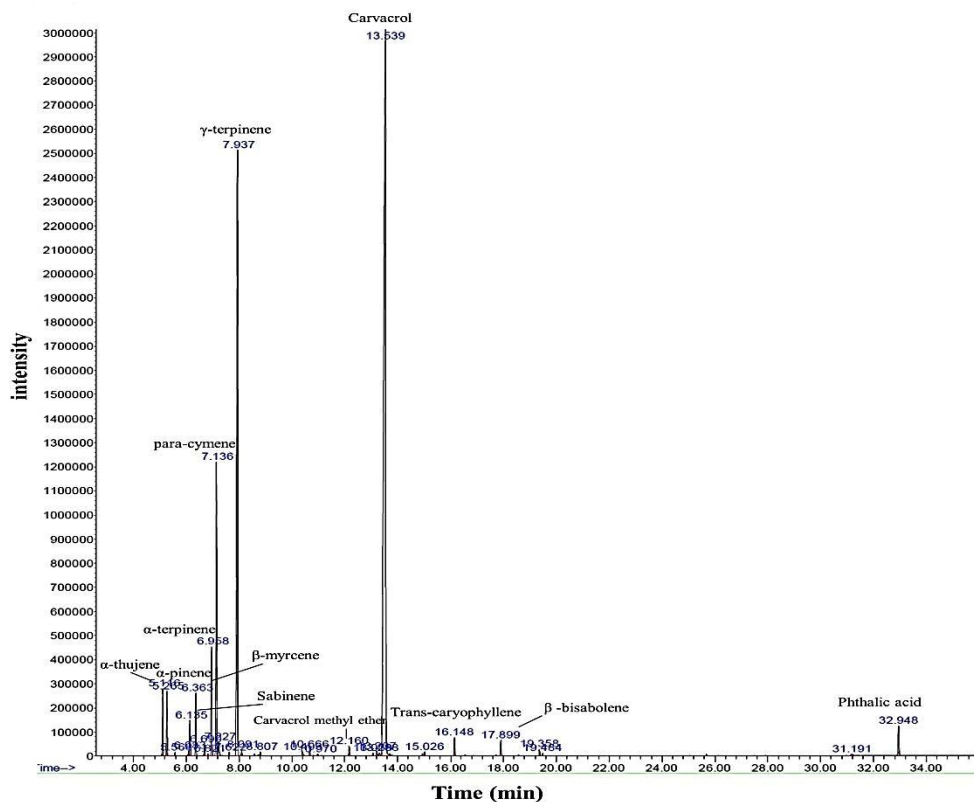
شکل ۲: کروماتوگرام اسانس گیاه آویشن (*Thymus vulgaris*) با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی همراه با طیف سنجی جرمی

جدول ۲: ترکیبات متشکله اسانس گیاه آویشن (*Thymus vulgaris*) با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی همراه با طیف سنجی جرمی (درصد ترکیبات با مقدار بیشتر پررنگ نشان داده شده‌اند)

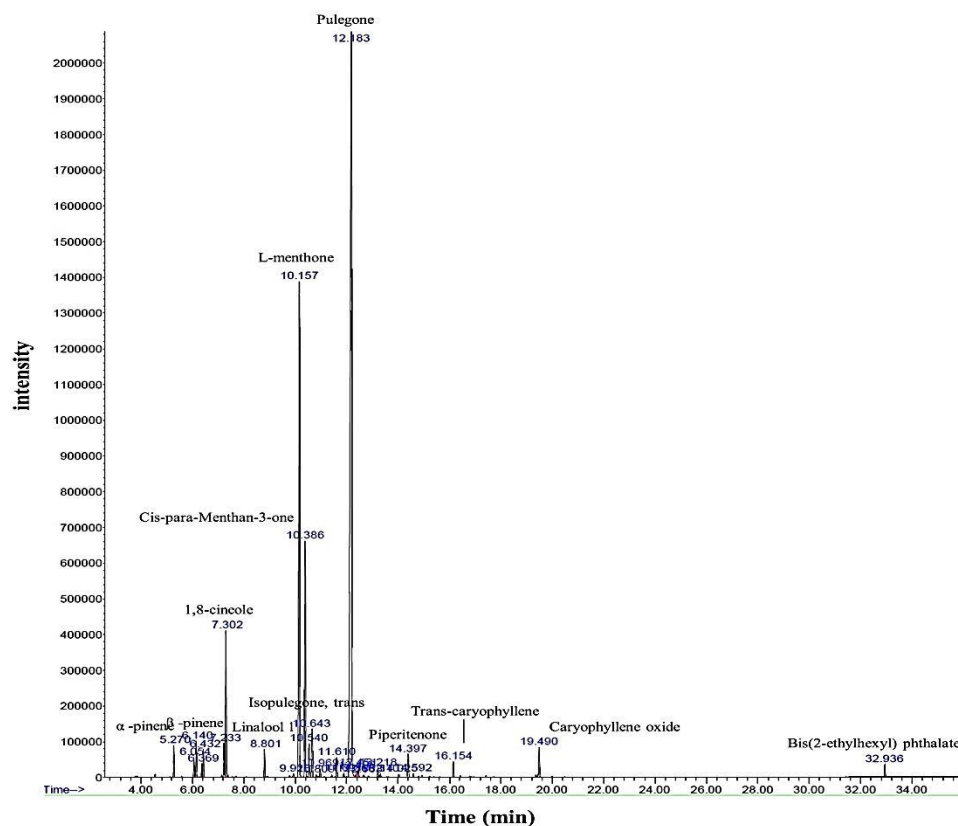
ردیف	نوع ترکیبات	درصد ترکیبات	زمان بازداری	شاخص بازداری
۱	α -thujene	۰/۳۱	۵/۱۲	۹۲۹
۲	α -pinene	۱/۱۴	۵/۲۸	۹۳۴
۳	Camphene	۰/۲۳	۵/۵۷	۹۴۹
۴	1-Octen-3-ol	۰/۲۰	۶/۰۸	۹۷۵
۵	Sabinene	۰/۱۶	۶/۱۴	۹۷۸
۶	β -myrcene	۰/۳۸	۶/۳۸	۹۹۰
۷	α -terpinene	۰/۵۵	۶/۹۶	۱۰۱۷
۸	Para-cymene	۹/۹۳	۷/۱۴	۱۰۲۵
۹	Limonene	۰/۳۳	۷/۲۴	۱۰۳۰
۱۰	1,8-cineole	۰/۶۹	۷/۳۰	۱۰۳۲
۱۱	γ-terpinene	۴/۱۹	۷/۹۱	۱۰۶۰
۱۲	Sabinene hydrate, cis-	۰/۱۸	۸/۰۹	۱۰۶۸
۱۳	Linalool I	۰/۹۲	۸/۸۰	۱۰۹۹
۱۴	Borneol	۰/۴۶	۱۰/۴۰	۱۱۶۸
۱۵	Menthol	۰/۲۱	۱۰/۵۴	۱۱۷۴
۱۶	Terpinene-4-ol	۰/۵۲	۱۰/۶۷	۱۱۸۰
۱۷	α -Terpineol	۰/۹۶	۱۰/۹۷	۱۱۹۳
۱۸	Carvacrol methyl ether	۳/۰۲	۱۲/۱۶	۱۲۴۵
۱۹	Thymol	۱۵/۸۳	۱۳/۲۴	۱۲۹۲
۲۰	Carvacrol	۵۳/۲۲	۱۳/۵۴	۱۳۰۵
۲۱	Thymol acetate	۰/۱۷	۱۴/۶۲	۱۳۵۴
۲۲	Eugenol	۰/۲۱	۱۴/۷۱	۱۳۵۸
۲۳	Carvacryl acetate	۲	۱۵/۰۳	۱۳۷۳
۲۴	Trans-caryophyllene	۰/۳۳	۱۶/۱۵	۱۴۲۵
۲۵	Aromadendrene	۰/۶۲	۱۶/۵۶	۱۴۴۴
۲۶	β -himachalene	۰/۲۸	۱۷/۷۰	۱۴۹۹
۲۷	Spathulenol	۱/۷۹	۱۹/۳۶	۱۵۸۶
۲۸	Viridiflorol	۰/۳۱	۱۹/۴۹	۱۵۹۰

جدول ۳: ترکیبات متشکله اسانس گیاه مرزه (*Satureja hortensis*) با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی همراه با طیف سنجی جرمی (درصد ترکیبات با مقدار بیشتر پررنگ نشان داده شده اند)

ردیف	نوع ترکیبات	درصد ترکیبات	زمان بازداری	شاخص بازداری
۱	α -thujene	۱/۵۰	۵/۱۲	۹۲۹
۲	α -pinene	۱/۴۸	۵/۲۸	۹۳۴
۳	Camphene	۰/۰۸	۵/۵۷	۹۴۹
۴	1-Octen-3-ol	۰/۱۲	۶/۰۸	۹۷۵
۵	Sabinene	۰/۸۸	۶/۱۴	۹۷۸
۶	β -myrcene	۱/۵۰	۶/۳۸	۹۹۰
۷	α -Phellandrene	۰/۲۹	۶/۶۹	۱۰۰۵
۸	3-carene	۰/۰۶	۶/۸۲	۱۰۱۱
۹	α -terpinene	۲/۸۸	۶/۹۶	۱۰۱۷
۱۰	para-cymene	۸/۱۴	۷/۱۴	۱۰۲۵
۱۱	Limonene	۰/۵۲	۷/۲۴	۱۰۳۰
۱۲	β - ocimene	۰/۰۹	۷/۶۲	۱۰۴۷
۱۳	γ-terpinene	۲۴/۹۲	۷/۹۱	۱۰۶۰
۱۴	Cis-Sabinene hydrate,	۰/۱۵	۸/۰۹	۱۰۶۸
۱۵	Linalool 1	۰/۱۴	۸/۸۰	۱۰۹۹
۱۶	Borneol	۰/۱۶	۱۰/۴۰	۱۱۶۸
۱۷	Terpinene-4-ol	۰/۲۰	۱۰/۶۷	۱۱۸۰
۱۸	α -Terpineol	۰/۰۸	۱۰/۹۷	۱۱۹۳
۱۹	Carvacrol methyl ether	۰/۲۹	۱۲/۱۶	۱۲۴۵
۲۰	Thymol	۰/۱۷	۱۳/۲۴	۱۲۹۲
۲۱	Carvacrol	۵۳/۵۷	۱۳/۵۴	۱۳۰۵
۲۲	Carvacryl acetate	۰/۱۲	۱۵/۰۳	۱۳۷۳
۲۳	Trans-caryophyllene	۰/۵۸	۱۶/۱۵	۱۴۲۵
۲۴	β -bisabolene	۰/۴۶	۱۷/۸۹	۱۵۰۹
۲۵	Spathulenol	۰/۲۰	۱۹/۳۶	۱۵۸۶



شکل ۳: کروماتوگرام اسانس گیاه مرزه (*Satureja hortensis*) با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی همراه با طیف سنجی جرمی



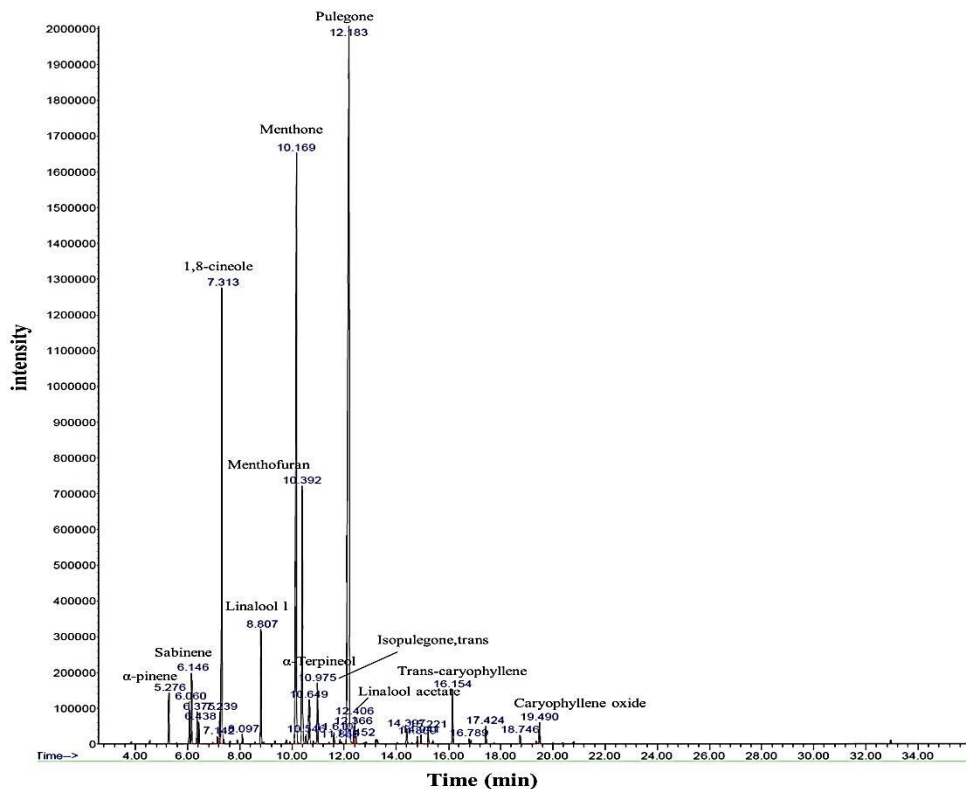
شکل ۴: کروماتوگرام اسانس گیاه پونه (*Mentha aquatica*) با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی همراه با طیف سنجی جرمی

جدول ۴: ترکیبات متشکله اسانس گیاه پونه (*Mentha aquatica*) با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی همراه با طیف سنجی جرمی (درصد ترکیبات با مقدار بیشتر پررنگ نشان داده شده‌اند)

ردیف	نوع ترکیبات	درصد ترکیبات	زمان بازداری	شاخص بازداری
۱	α -pinene	۰/۸۷	۵/۲۸	۹۳۴
۲	Sabinene	۰/۵۵	۶/۰۵	۹۷۰
۳	β -pinene	۱/۰۵	۶/۱۴	۹۷۸
۴	β -myrcene	۰/۳۶	۶/۳۸	۹۹۰
۵	3-octanol	۰/۷۸	۹/۴۳	۹۹۳
۶	Limonene	۱/۰۶	۷/۲۴	۱۰۳۰
۷	1,8-cineole	۴/۵۵	۷/۳۰	۱۰۳۲
۸	Linalool I	۰/۸۸	۸/۸۰	۱۰۹۹
۹	Camphor	۰/۱۷	۹/۹۲	۱۱۴۸
۱۰	L-menthone	۲۲/۱۹	۱۰/۱۵	۱۱۵۷
۱۱	Cis-para-Menthan-3-one	۸/۸۴	۱۰/۳۸	۱۱۶۷
۱۲	Isopulegone, trans-	۲/۲۳	۱۰/۶۴	۱۱۷۹
۱۳	Menthol	۰/۱۲	۱۰/۸۰	۱۱۸۵
۱۴	α -Terpineol	۰/۳۳	۱۰/۹۷	۱۱۹۳
۱۵	Pulegone	۴۹/۴۲	۱۲/۱۸	۱۲۴۲
۱۶	Piperitone	۰/۳۰	۱۲/۴۵	۱۲۵۷
۱۷	Lavandulyl acetate	۰/۱۳	۱۳/۳۱	۱۲۹۵
۱۸	Piperitenone	۰/۸۰	۱۴/۳۹	۱۳۴۴
۱۹	Trans-caryophyllene	۰/۵۳	۱۶/۱۵	۱۴۲۵
۲۰	Caryophyllene oxide	۱/۱۸	۱۹/۴۹	۱۵۸۹

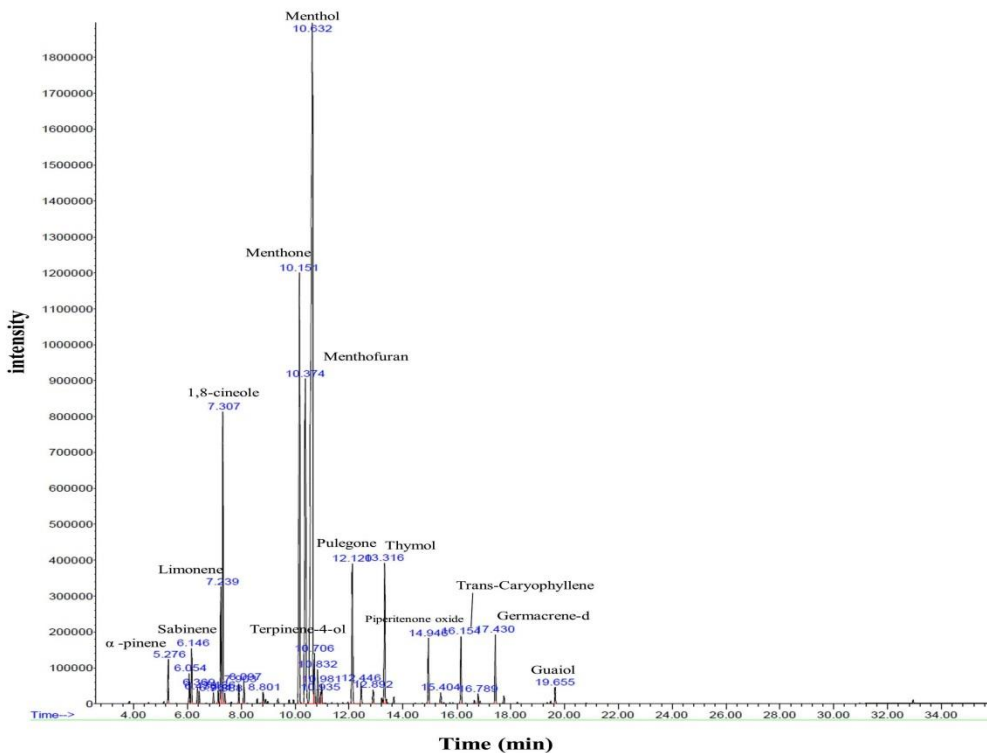
جدول ۵: ترکیبات متشکله اسانس گیاه نعناع ارومیه (*Mentha longifolia*) با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی همراه با طیف سنجی جرمی (درصد ترکیبات با مقدار بیشتر پررنگ نشان داده شده‌اند)

ردیف	نوع ترکیبات	درصد ترکیبات	زمان بازداری	شاخص بازداری
۱	α -pinene	۰/۹۶	۵/۲۸	۹۳۴
۲	1-Octen-3-ol	۰/۹۵	۶/۰۸	۹۷۵
۳	Sabinene	۱/۶۲	۶/۱۴	۹۷۸
۴	β -myrcene	۰/۷۳	۶/۳۸	۹۹۰
۵	3-octanol	۰/۵۰	۶/۴۳	۹۹۳
۶	Para-cymene	۰/۱۸	۷/۱۴	۱۰۲۵
۷	Limonene	۰/۹۱	۷/۲۴	۱۰۳۰
۸	1,8-cineole	۱۲/۱۲	۷/۳۰	۱۰۳۲
۹	Sabinene hydrate, cis-	۰/۲۳	۸/۰۹	۱۰۶۸
۱۰	Linalool I	۲/۹۸	۸/۸۰	۱۰۹۹
۱۱	Menthone	۲۳/۳۴	۱۰/۱۵	۱۱۵۷
۱۲	Menthofuran	۷/۸۰	۱۰/۳۷	۱۱۶۷
۱۳	Menthol	۰/۲۷	۱۰/۶۳	۱۱۷۸
۱۴	Isopulegone, trans-	۲/۰۵	۱۰/۶۴	۱۱۷۹
۱۵	α -Terpineol	۱/۷۷	۱۰/۹۷	۱۱۹۳
۱۶	Sabinene hydrate acetate, cis	۰/۳۳	۱۱/۶۱	۱۲۲۱
۱۷	Nerol	۰/۱۴	۱۱/۸۳	۱۲۳۰
۱۸	Pulegone	۳۷/۳۶	۱۲/۱۸	۱۲۴۳
۱۹	Geraniol	۰/۴۷	۱۲/۳۶	۱۲۵۳
۲۰	Linalool acetate	۰/۷۲	۱۲/۴۰	۱۲۵۵
۲۱	Piperitone	۰/۱۵	۱۲/۴۴	۱۲۵۷
۲۲	Piperitenone	۰/۴۲	۱۴/۳۹	۱۳۴۴
۲۳	Neryl acetate	۰/۱۹	۱۴/۸۰	۱۳۶۲
۲۴	Piperitenone oxide	۰/۲۴	۱۴/۹۴	۱۳۶۹
۲۵	β -bourbonene	۰/۳۷	۱۵/۴	۱۳۸۹
۲۶	Trans-caryophyllene	۱/۵۸	۱۶/۱۵	۱۴۲۵
۲۷	Trans-.beta.-farnesene	۰/۱۴	۱۶/۷۸	۱۴۵۵
۲۸	Germacrene-d	۰/۵	۱۷/۴۳	۱۴۸۶
۲۹	Germacrene B	۰/۲۳	۱۸/۷۴	۱۵۵۲
۳۰	Caryophyllene oxide	۰/۶۴	۱۹/۴۹	۱۵۹۰



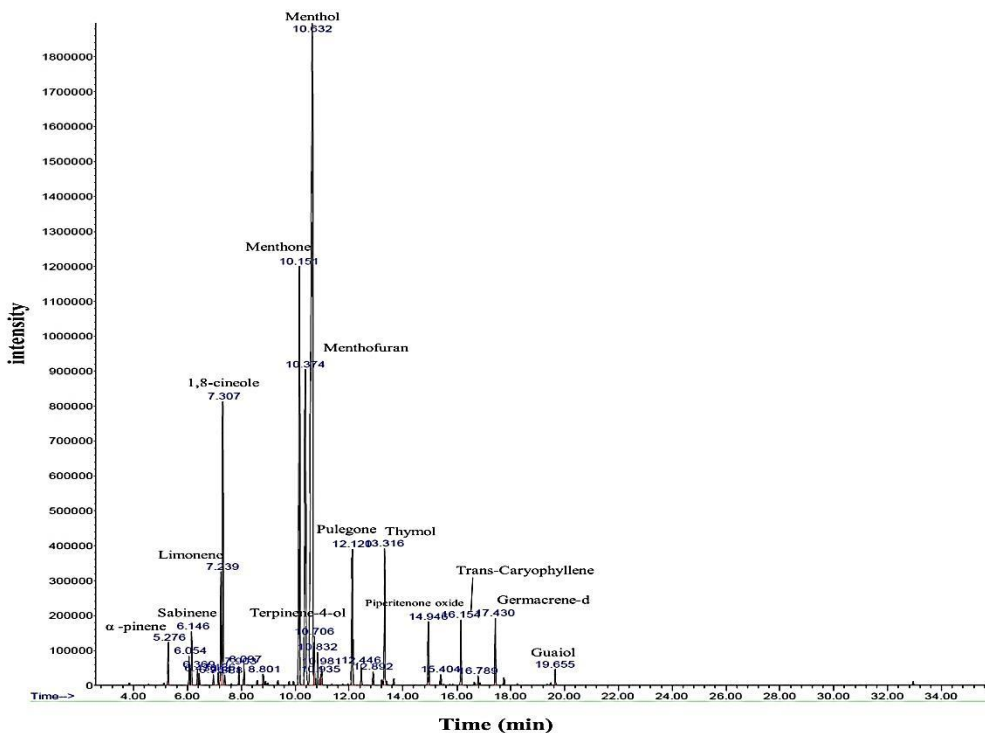
شکل ۵: کروماتوگرام اسانس گیاه نعناع ارومیه (*Mentha longifolia*) با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی همراه با طیف سنجی

جرمی

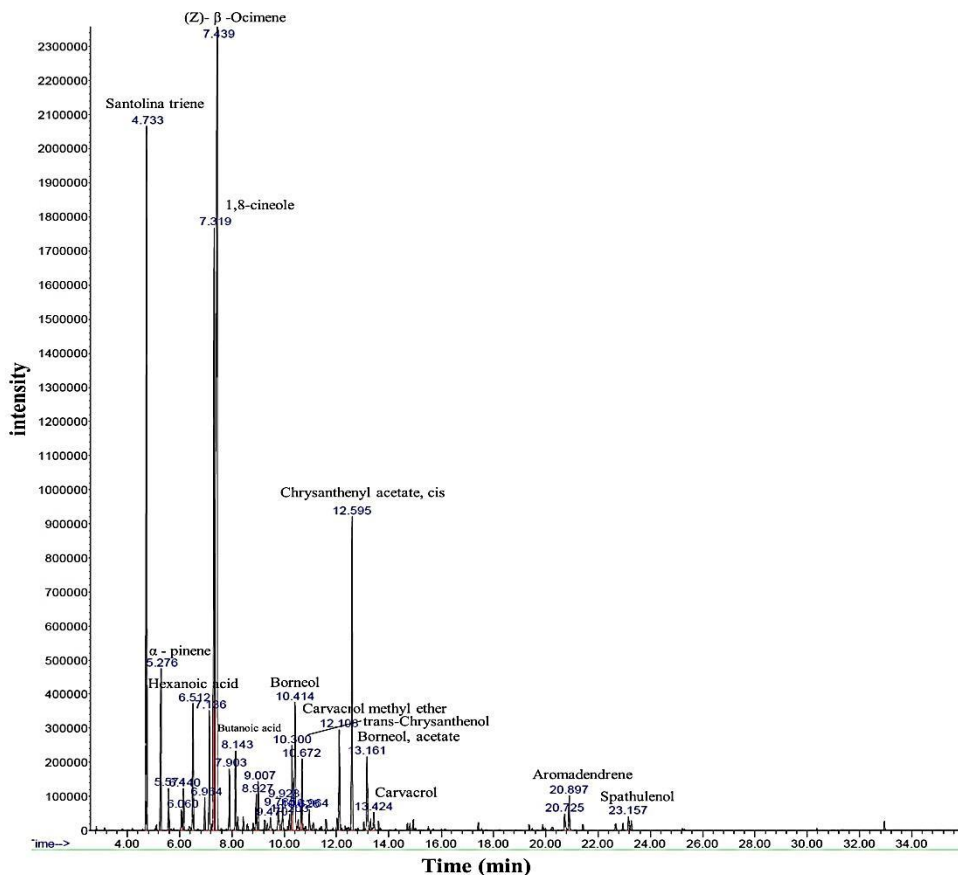


شکل ۶: کروماتوگرام اسانس گیاه نعناع فلفلی (*Mentha piperita*) با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی همراه با طیف

سنجی جرمی



شکل ۶: کروماتوگرام اسانس گیاه نعناع فلفلی (*Mentha piperita*) با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی همراه با طیفسنجی جرمی



شکل ۷: کروماتوگرام اسانس گیاه بومادران (*Achillea millefolium*) با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی همراه با طیفسنجی جرمی

جرمی

جدول ۶: ترکیبات متشکله اسانس گیاه نعناع فلفلی (*Mentha piperita*) با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی همراه با طیف سنجی جرمی (درصد ترکیبات با مقدار بیشتر پررنگ نشان داده شده‌اند)

ردیف	نوع ترکیبات	درصد ترکیبات	زمان بازداری	شاخص بازداری
۱	α -pinene	۰/۹۳	۵/۲۸	۹۳۴
۲	1-Octen-3-ol	۰/۷۱	۶/۰۸	۹۷۵
۳	Sabinene	۱/۲۶	۶/۱۴	۹۷۸
۴	β -myrcene	۰/۳۶	۶/۳۸	۹۹۰
۵	3-octanol	۰/۲۹	۶/۴۳	۹۹۳
۶	α -terpinene	۰/۲۵	۶/۹۶	۱۰۱۷
۷	Para-cymene	۰/۳۲	۷/۱۴	۱۰۲۵
۸	Limonene	۳/۰۵	۷/۲۴	۱۰۳۰
۹	1,8-cineole	۷/۳۱	۷/۳۰	۱۰۳۲
۱۰	(Z)- β -Ocimene,	۰/۲۵	۷/۳۸	۱۰۳۶
۱۱	γ -terpinene	۰/۴۶	۷/۹۱	۱۰۶۰
۱۲	Sabinene hydrate, cis-	۰/۵۳	۸/۰۹	۱۰۶۸
۱۳	Linalool I	۰/۳۰	۸/۸	۱۰۹۹
۱۴	Menthone	۱۴/۱۲	۱۰/۱۵	۱۱۵۷
۱۵	Menthofuran	۱۳/۶۳	۱۰/۳۷	۱۱۶۷
۱۶	Menthol	۳۷/۷۲	۱۰/۶۳	۱۱۷۸
۱۷	Terpinene-4-ol	۱/۴۸	۱۰/۶۷	۱۱۸۰
۱۸	Myrtenal	۰/۲۸	۱۰/۹۳	۱۱۹۱
۱۹	α - Terpineol	۰/۵۰	۱۰/۹۷	۱۱۹۳
۲۰	Pulegone	۳/۹۴	۱۲/۱۲	۱۲۴۳
۲۱	Piperitone	۰/۵۶	۱۲/۴۴	۱۲۵۷
۲۲	Thymol	۳/۹۲	۱۳/۳۱	۱۲۹۵
۲۳	Piperitenone oxide	۱/۸۱	۱۴/۹۴	۱۳۶۹
۲۴	β - bourbonene	۰/۳۱	۱۵/۴	۱۳۸۹
۲۵	Trans-Caryophyllene	۱/۹۱	۱۶/۱۵	۱۴۲۵
۲۶	Trans- β - farnesene	۰/۲۵	۱۶/۷۸	۱۴۵۵
۲۷	Germacrene-d	۱/۸۹	۱۷/۴۳	۱۴۸۶
۲۸	Guaiol	۰/۴۵	۱۹/۶۵	۱۵۹۸

جدول ۷: ترکیبات متشکله اسانس گیاه بومادران (*Achillea millefolium*) با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی همراه با طیف سنجی جرمی (درصد ترکیبات با مقدار بیشتر پیرنگ نشان داده شده‌اند)

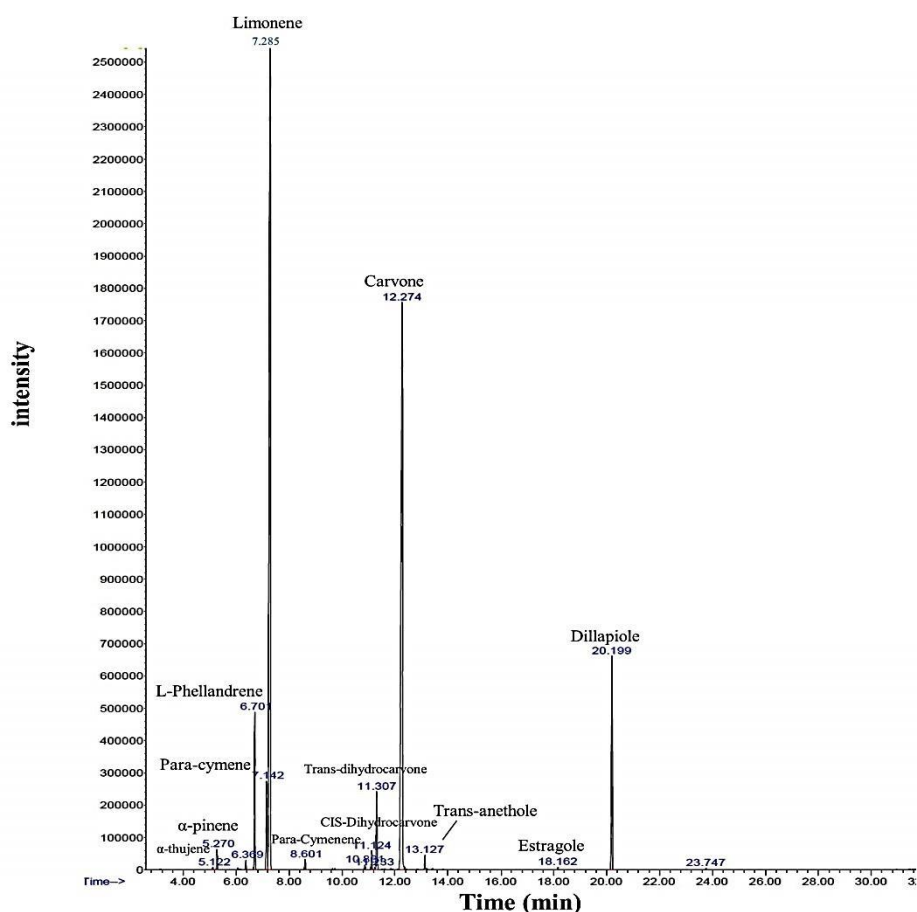
ردیف	نوع ترکیبات	درصد ترکیبات	زمان بازداری	شاخص بازداری
۱	Santolina triene	۱۳/۲۸	۴/۷۳	۹۰۶
۲	α - pinene	۲/۸۵	۵/۲۸	۹۳۴
۳	Camphene	۰/۷۸	۵/۵۷	۹۴۹
۴	Dimethyl trisulfide	۰/۴۵	۶/۰۶	۹۷۴
۵	Sabinene	۰/۷۷	۶/۱۴	۹۷۸
۶	Hexanoic acid	۲/۷۵	۶/۵۱	۹۹۷
۷	α -terpinene	۰/۶۲	۶/۹۶	۱۰۱۷
۸	Para-cymene	۲/۵	۷/۱۴	۱۰۲۵
۹	1,8-cineole	۱۴/۵۵	۷/۳	۱۰۳۲
۱۰	(Z)- β -Ocimene	۳۲/۸۱	۷/۴۳	۱۰۳۸
۱۱	γ -terpinene	۱/۲۶	۷/۹۱	۱۰۶۰
۱۲	Camphor	۰/۷۷	۹/۹۲	۱۱۴۸
۱۳	Borneol	۳/۸۹	۱۰/۴	۱۱۶۸
۱۴	Menthol	۰/۴۴	۱۰/۶۲	۱۱۷۴
۱۵	Terpinene-4-ol	۱/۴۸	۱۰/۶۷	۱۱۸۰
۱۶	α - Terpineol	۰/۴۸	۱۰/۹۷	۱۱۹۳
۱۷	Carvacrol methyl ether	۲/۱۶	۱۲/۱۰	۱۲۴۲
۱۸	Chrysanthenyl acetate, cis-	۷/۱۸	۱۲/۵۹	۱۲۶۳
۱۹	Carvacrol	۰/۴۹	۱۳/۴۲	۱۳۰۰

جدول ۸: ترکیبات متشکله اسانس گیاه شوید (*Anethum graveolens*) با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی همراه با طیف سنجی جرمی (درصد ترکیبات با مقدار بیشتر پیرنگ نشان داده شده‌اند).

ردیف	نوع ترکیبات	درصد ترکیبات	زمان بازداری	شاخص بازداری
۱	α -thujene	۰/۰۵	۵/۱۲	۹۲۹
۲	α -pinene	۰/۵۲	۵/۲۸	۹۳۴
۳	β -myrcene	۰/۲۴	۶/۳۸	۹۹۰
۴	L-Phellandrene	۴/۴۹	۶/۷	۱۰۰۵
۵	Para-cymene	۳/۲۹	۷/۱۴	۱۰۲۵
۶	Limonene	۴۴/۵۸	۷/۲۸	۱۰۳۰
۷	Para-Cymenene	۰/۳۲	۸/۶	۱۰۹۰
۸	Trans-dihydrocarvone	۲/۵۱	۱۱/۳۰	۱۲۰۷
۹	Carvone	۳۴/۹۹	۱۲/۲۷	۱۲۴۹
۱۰	Trans-anethole	۰/۴۴	۱۳/۱۲	۱۲۸۷
۱۱	Estragole	۰/۰۸	۱۸/۱۶	۱۵۲۲
۱۲	Dillapiole	۷/۵۶	۲۰/۱۹	۱۶۲۶
۱۳	Ethyl tetradecanoate	۰/۰۶	۲۳/۷۴	۱۸۰۰

جدول ۹: ترکیبات متشکله اسانس گیاه رازیانه (*Foeniculum vulgare*) با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی همراه با طیف سنجی جرمی (درصد ترکیبات با مقدار بیشتر پررنگ نشان داده شده‌اند)

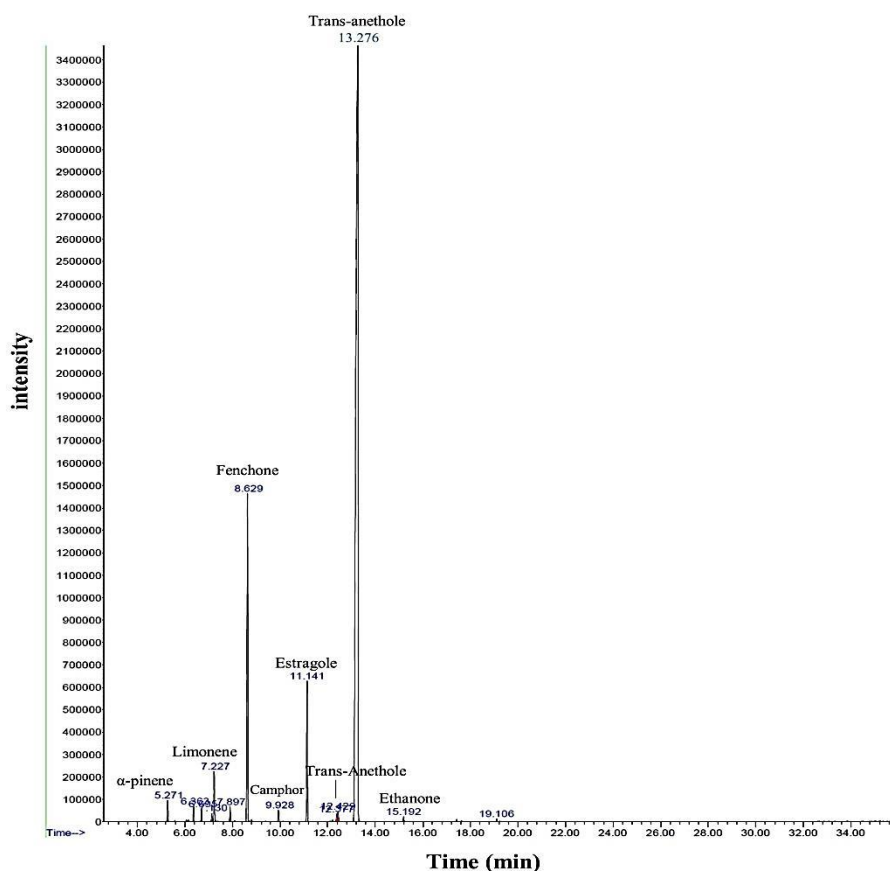
ردیف	نوع ترکیبات	درصد ترکیبات	زمان بازداری	شاخص بازداری
۱	α -pinene	۰/۴۹	۵/۲۸	۹۳۴
۲	β -myrcene	۰/۳۶	۶/۳۸	۹۹۰
۳	L-Phellandrene	۰/۳۰	۶/۶۹	۱۰۰۵
۴	Para-cymene	۰/۲۲	۷/۱۴	۱۰۲۵
۵	Limonene	۱/۵۵	۷/۲۳	۱۰۳۰
۶	γ -terpinene	۰/۳۸	۷/۹۱	۱۰۶۰
۷	Fenchone	۱۱/۹۷	۸/۶۲	۱۰۹۱
۸	Camphor	۰/۳۵	۹/۹۲	۱۱۴۸
۹	Estragole	۴/۳۰	۱۱/۱۴	۱۲۰۰
۱۰	Trans-anethole	۷۹/۲۴	۱۳/۲۷	۱۲۹۳



شکل ۸: کروماتوگرام اسانس گیاه شوید (*Anethum graveolens*) با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی همراه با طیف سنجی جرمی

جدول ۱۰: ترکیبات متشکله اسانس گیاه زنیان (*Trachyspermum copticum*) با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی همراه با طیف سنجی جرمی (درصد ترکیبات با مقدار بیشتر پررنگ نشان داده شده‌اند)

ردیف	نوع ترکیبات شناسایی شده	درصد ترکیبات	زمان بازداری	شاخص بازداری
۱	α -thujene	۰/۱۴	۵/۱۲	۹۲۹
۲	α -pinene	۰/۱۹	۵/۲۸	۹۳۴
۳	β -pinene	۰/۸۵	۶/۱۴	۹۷۸
۴	β -myrcene	۰/۲۸	۶/۳۸	۹۹۰
۵	α -terpinene	۰/۱۷	۶/۹۶	۱۰۱۷
۶	Para-cymene	۲۵/۰۳	۷/۱۴	۱۰۲۵
۷	Limonene	۰/۴۸	۷/۲۴	۱۰۳۰
۸	γ-terpinene	۱۴/۹۳	۷/۹۳	۱۰۶۰
۹	Terpinene-4-ol	۰/۲۲	۱۰/۹۶	۱۱۸۰
۱۰	α -Terpineol	۰/۱۱	۱۰/۹۷	۱۱۹۳
۱۱	Carvacrol, methyl ether	۰/۲۳	۱۲/۲۸	۱۲۵۰
۱۲	Thymol	۵۳/۹۹	۱۳/۳۲	۱۲۹۲
۱۳	Carvacrol	۰/۶۱	۱۳/۴۵	۱۳۰۵
۱۴	Dill apiole	۰/۱۹	۲۰/۱۸	۱۶۲۶
۱۵	Bis(2-ethylhexyl) Phthalate	۱/۱۳	۳۲/۹۴	۵۲۹۵



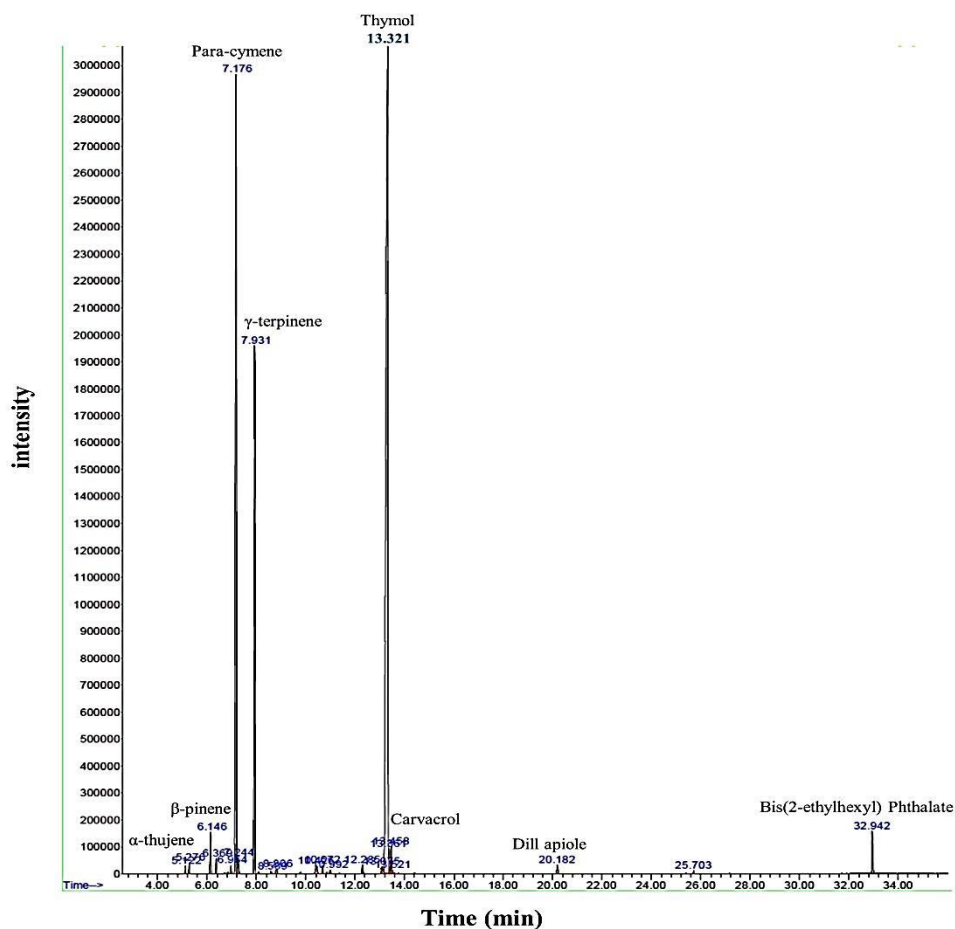
شکل ۹: کروماتوگرام اسانس گیاه رازیانه (*Foeniculum vulgare*) با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی همراه با طیف

سنجی جرمی

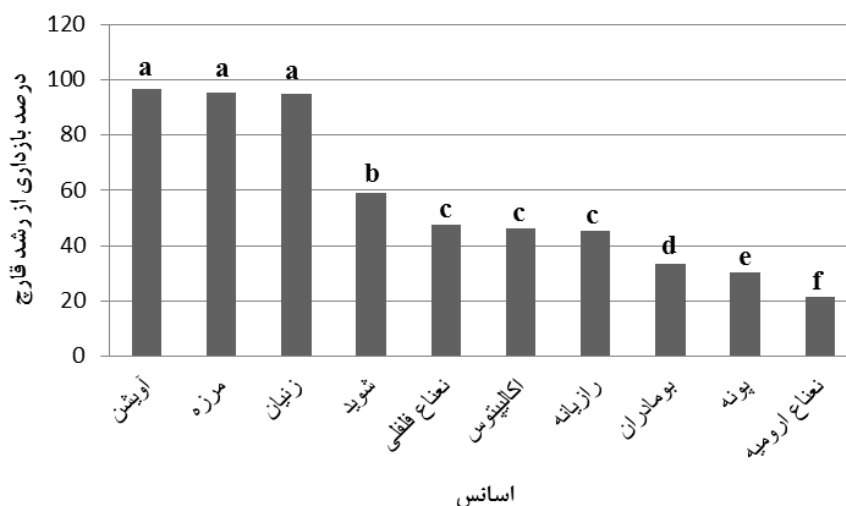
جدول ۱۱: تجزیه واریانس درصد بازداری از رشد کلونی قارچ *Alternaria alternata* با استفاده از غلظت‌های مختلف اسانس گیاهان دارویی

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات	F محاسبه شده
اسانس	۹	۹۸۴۸/۸۴۳۸۸	۱۲۵۶/۸۲ **
غلظت	۳	۱۵۹۴۸/۱۵۷۷۱	۲۰۳۵/۱۶ **
اسانس * غلظت	۲۷	۵۳۲/۷۲۶۳۰	۶۷/۹۸ **
خطای آزمایش	۸۰	۷/۸۳۶۳	-
ضریب تغییرات	۴/۹۱		

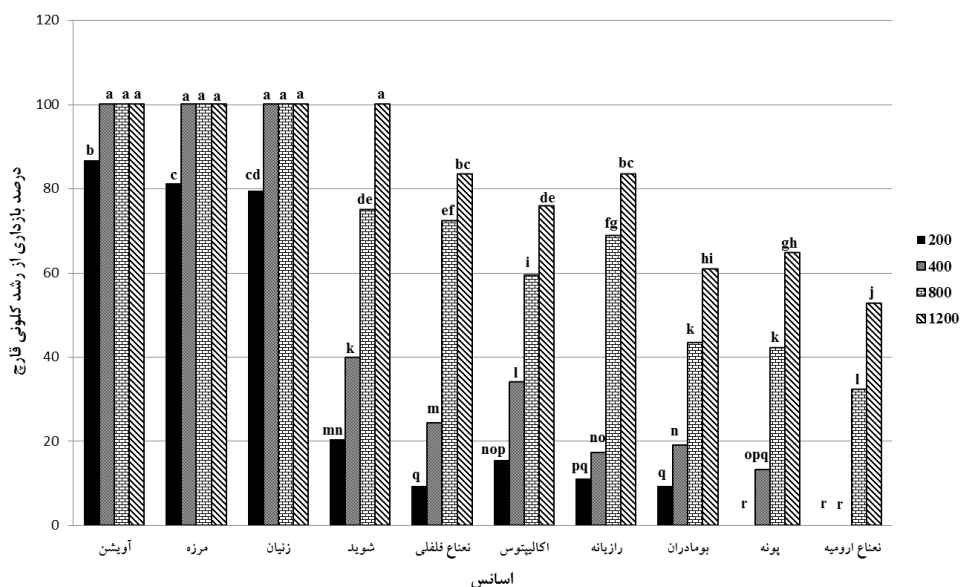
** معنی داری در سطح ۱ درصد



شکل ۱۰: کروماتوگرام اسانس گیاه زنیان (*Trachyspermum copticum*) با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی همراه با طیفسنجی جرمی



شکل ۱۱: مقایسه میانگین درصد بازداری از رشد کلونی قارچ *Alternaria alternata* با استفاده از ده اسانس گیاه دارویی (حروف غیر مشابه نشان دهنده تفاوت معنی دار بین تیمارها در سطح یک درصد است).



شکل ۱۲: مقایسه میانگین درصد بازداری از رشد کلونی قارچ *Alternaria alternata* با استفاده از غلظت‌های مختلف ده اسانس گیاه دارویی (حروف غیر مشابه نشان دهنده تفاوت معنی دار بین تیمارها در سطح یک درصد است).

بحث

دارویی شوید در غلظت ۱۲۰۰ پی‌پی‌ام می‌باشد. کمترین تاثیر بازدارندگی را اسانس گیاه دارویی نعناع ارومیه در غلظت‌های ۲۰۰ و ۴۰۰ پی‌پی‌ام از خود نشان داد (شکل ۱۱ و ۱۲). بررسی آنالیز ترکیبات اسانس گیاهان دارویی (جدول‌های ۲، ۳، ۴ و ۸ و شکل‌های ۲، ۳، ۴ و ۸) که بیشترین تاثیر را در جلوگیری از رشد کلونی قارچ داشتند نشان داد که در

نتایج حاصل از تحقیق حاضر نشان داد که کمیت و کیفیت اسانس گیاهان دارویی بر جلوگیری از رشد کلونی قارچ *A. alternata* تاثیر معنی‌داری دارد (جدول ۱) بطوری‌که بیشترین تاثیر بازدارندگی مربوط به اسانس گیاهان دارویی مرزه، زنیان و آویشن در غلظت‌های ۸۰۰ و ۱۲۰۰ پی‌پی‌ام و اسانس گیاه

بیشترین اثر قارچ کشی می باشد (Keshavarz et al., 2014).

رامان و همکاران (Raman et al., 2012) اعلام کردند فنولها، فلاونوئیدها، مشتقات الکلی و فتالاتها در برابر بیمارگرهای مختلف فعالیت های ضد قارچی و ضد باکتریایی دارند. خاصیت ضد قارچی گیاهان عموماً به دلیل وجود ترکیبات فنولی، ساپونین، فلاونوئیدهای موجود در ساختار آنها است و برخی از این عوامل روی غشای پلاسمایی یا روی مهار آنزیم های ساختاری غشای سلولی میکروارگانیسم ها مؤثر است (Gachkar et al., 2007; Rassem et al., 2018; Shahnaz et al., 2004; Sharifi-Rad et al., 2017). به نظر می رسد در تحقیق حاضر نیز وجود ترکیب های فنولی و تروپونوئیدی: کارواکرول، ۸-سینئول، متول، تیمول و پی-سیمن در گیاهان مورد مطالعه، باعث جلوگیری از رشد قارچ می شود. کشاورز و همکاران (Keshavarz et al., 2014) نشان دادند اسانس گیاهان مرزه و مرزنجوش حاوی ترکیبات فعال کارواکرول و تیمول بوده و موجب جلوگیری از رشد قارچ می شود. میزان بازدارندگی اسانس از رشد قارچ، به مقدار این ترکیبات فعال بستگی دارد. آویشن شیرازی به سبب دارا بودن هر دو ماده مؤثره تیمول و کارواکرول بهتر از اسانس مرزه که فقط کارواکرول و مقدار کمی تیمول دارد، اثرات ضد قارچی از خود نشان می دهد (Lahooji et al., 2010). ترکیباتی مانند γ -ترپینن که با مقدار کمتر در اسانس آویشن وجود دارد به علت تعامل با کارواکرول و تیمول خاصیت سینرژیک داشته و می تواند اثرات ضد میکروبی آنها را افزایش دهد (Vardar-Unlu et al., 2003; Calo et al., 2015; Pandey et al., 2017; Rassem et al., 2018; Sharifi-Rad et al., 2017).

اسانس آویشن تیمول (۱۵/۸ درصد)، کارواکرول (۵۳/۲ درصد) و γ ترپینن (۹/۹ درصد) و پارا-سیمن (۴/۱ درصد) ترکیبات عمده می باشند. در اسانس مرزه به ترتیب γ ترپینن (۲۴/۹ درصد)، کارواکرول (۵۳/۵۷ درصد) و پارا-سیمن (۸/۱ درصد)، در اسانس زنیان پارا-سیمن (۲۵ درصد)، γ ترپینن (۱۴/۹ درصد) و تیمول (۵۴ درصد) و در اسانس گیاه شوید: لیمونن (۴۴/۵۸ درصد) و کارون (۳۴/۹۹ درصد)، دیلاپیول (۷/۵۶ درصد) شناسایی شدند. در بررسی یافته های مشابه دیگران نیز به نظر می رسد به ترتیب ترکیبات کارواکرول، تیمول، γ ترپینن و پارا-سیمن در گیاهان مذکور در مقایسه با سایر ترکیبات باعث بازداری از رشد قارچ می گردد. در بررسی های مشابه نیز کاربرد اسانس دو گیاه گزنه و آویشن علیه بیماری *A. alternata* نشان داد که اسانس هر دو گیاه باعث کنترل این بیماری شدند که در این بین اثر گزنه در کنترل بیماری بیشتر بود (Hadizadeh et al., 2009). در تحقیقی دیگر مشخص گردید اسانس زنیان در کنترل قارچ نسبت به اسانس گیاهان مرزه و آویشن تاثیر بیشتری دارد (Babagoli and Behdad, 2012). تاثیر مهاری اسانس به دست آمده از بخش های هوایی آویشن بر رشد کاندیدا الیکنس^۱، کاندیدا تروپیکالیس^۲ و ساکارومایسس سرویسیه^۳ تایید شده است (Karaman and Digrak, 2001). کشاورز و همکاران (Keshavarz et al., 2014) نیز نتیجه گرفتند اسانس گیاهان مرزه، مرزنجوش و دارچین در غلظت ۸۰۰ پی پی ام به طور کامل از رشد کلنی قارچ جلوگیری کرده است. نتایج نشان دادند که در بین اسانس هایی که برای کنترل گونه های مختلف قارچ *Alternaria* استفاده گردید، اسانس مرزه دارای

1. *Candida albicans*
2. *Candida tropicalis*
3. *Saccharomyces cerevisiae*

باعث توقف تولید سم و جریان الکترون می‌شود که در این حالت سلول منعقد گشته و می‌میرد (Lee et al., 2001; Kamatou and Viljoen, 2010; Calo et al., 2015; Pandey et al., 2017; Rassem et al., 2018).

بنابراین پیشنهاد می‌گردد ترکیبات: کارواکرو، تیمول، منتول، پولگون، او-۸-سینئول، γ ترپین و پارا-سیمن در اسانس گیاهان مرزه، زنیان و آویشن خالص‌سازی گردد و به صورت اختصاصی و ترکیبی اثرات ضد قارچی آنها تحت شرایط آزمایشگاه و مزرعه روی سایر قارچ‌های مهم بیماریزای گیاهی و امکان تولید محصول به فرم تجاری بررسی گردد.

نتیجه‌گیری نهایی

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که اسانس گونه‌های مرزه، زنیان و آویشن دارای بیشترین اثر ضدقارچی در مقایسه با سایر اسانس‌های گیاهان مورد مطالعه می‌باشند. ترکیبات کارواکرو، تیمول، γ ترپین و پارا-سیمن ترکیبات عمده شناسایی شده در گیاهان مذکور بودند. می‌توان با خالص‌سازی ترکیبات مؤثر موجود در اسانس این گیاهان، به عنوان ماده مؤثره در فرمولاسیون قارچکش‌ها استفاده کرد و جایگزین مناسبی در استفاده از سموم شیمیایی باشند.

سپاسگزاری

نگارندگان از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه ارومیه به خاطر فراهم کردن اعتبارات مالی این تحقیق کمال تشکر را دارند.

برخی محققین بیان نمودند که ترکیبات کارواکرو، γ ترپین و پارا-سیمن در ترکیب با یکدیگر اثرات ضد قارچی بیشتری دارند و خاصیت سینرژیستی دارند. به علاوه، پارا-سیمن به عنوان تسهیل کننده موثر در انتقال کارواکرو از دیواره سلول‌ها و غشای سیتوپلاسمی قارچ عمل می‌کند (El-Mohamedy, 2017; Keshavarz et al., 2014; Seyyedi and Rezvani Moghaddam, 2016). این ترکیبات باعث کاهش قطر ریشه‌ها و از بین رفتن آنها می‌شوند. بدین ترتیب نفوذپذیری دیواره سلولی و غشای سیتوپلاسمی قارچ‌ها تحت تاثیر قرار گرفته و در نهایت منجر به مرگ هیف قارچ می‌شوند (El-Mohamedy, 2017). طی بررسی دیگری محققین دریافتند که اسانس آویشن باعث کاهش رشد میسیلیوم قارچ می‌گردد و هرچه غلظت اسانس بیشتر باشد باعث دنا توره شدن پروتئین آنزیم در اثر وجود ترکیباتی مثل تیمول-کارواکرو و ایوژنول می‌شود (Viuda Martos et al., 2005). کارواکرو ضمن مهارت فعالیت آنزیم ATPase موجب افزایش نفوذپذیری غیراختصاصی غشای سلولی میکروارگانیسم‌ها شده و در نتیجه باعث افزایش حساسیت میکروارگانیسم نسبت به ورود مواد خارجی می‌شود (Najib Zadeh et al., 2009). یکی از مکانیسم‌های ممکن ضد قارچی متابولیت‌های ثانویه، ایجاد pH در هر دو سوی غشاء پلاسمایی و آسیب رساندن غیرقابل برگشت به غشای سلولی است که باعث نشت مواد سیتوپلاسمی، یونها و ایجاد کمبود سوپستراهای انرژی مانند گلوکز می‌شود. یکراه احتمالی دیگر، مهار تولید آمیلاز و پروتئاز است که

References

1. Abdolmaleki, M., Bahraminejad, S., Salari, M., Abbasi, S. and Panjeke, N., 2011. Antifungal activity of peppermint (*Mentha piperita* L.) on phytopathogenic fungi. Journal of medicinal Plants, 2(38): 26-34.
2. Agrios, G. 2005. Plant Pathology. 5th Edition. Academic Press, 952 p.

3. Ahmad, F., Raziqa F., Ullaha N., Khana, H. and Dina, N. 2017. In vitro and in vivo bio-assay of phytobiocidal effect of plant extracts on *Alternaria solani* causing agent of early blight disease in tomato. Archives of Phytopathology and Plant Protection, 50 (11-12): 568-583.
4. Alikhani, M., Sharifani, M., Azizi, M., Hemati, K.H. and Mousavizadeh, S.J. 2009. The effect of some natural compounds in shelf- life and quality of pear fruit (Esfahan shah mive cultivar). Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources, 16: 158-172.
5. Babagoli, M. and Behdad, E. 2012. Effects of three essential oils on the growth of *Alternaria solani*. Journal of Research in Agricultural Science, 8(1): 45-57.
6. Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck D. and Idaomar, M. 2008. Biological effects of essential oils - A review. Food and Chemical Toxicology, 46(2): 446-475.
7. Bruni, R., Medici, A., Andreotti, E., Fantin, C., Muzzoli, M. and Dehesa, M. 2004. Chemical composition and biological activities of isphingo essential oil, a traditional ecuadorian spice from *Ocotea quixos* (Lam.) kosterm. (Lauraceae) flower calices. Food Chemistry, 85(3): 415-421.
8. Calo, J.R., Crandall, P.G., O'Bryan, C.A. and Ricke, S.C. 2015. Essential oils as antimicrobials in food systems – A review. Food Control, 54: 111–119.
9. El-Mohamedy, R.S.R. 2017. Plant essential oils for controlling plant pathogenic fungi. 171-198. In: Volatiles and Food Security: Role of Volatiles in Agro-ecosystems. Choudhary D.K. (eds.). Springer Singapore, 373 p.
10. Ershad, D. 2009. Fungi of Iran. 3rd ed. Agricultural Research. Education & Extension Organization, Publication. No. 10, Tehran, 531 pp.
11. Fadaei, S., Aberoomand Azar, P., Sharifan, A. and Larijani, K. 2011. Evaluation of antimicrobial activity of *Mentha piperita* L. essential oil and its comparison with sodium benzoate. Food Technology and Nutrition, 8: 34-41.
12. Gachkar, L., Yadegari, D., Rezaei, M.D. and Rasooli, I. 2007. Chemical and biological characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. Food Chemistry, 102(3): 898-904.
13. Hadian, J., Farzaneh, M., Fakhr Tabatabaei, S.M., Mirjalili, M.H., Ranjbar, H. and Haji Eghrari, B. 2007. A study of the composition, and antifungal activity of the essential oils of *Artemisia scopari* and *A. aucheri* from south of Khorasan on some soil-borne phytopathogen. Iranian Journal of Agriculture Science, 38(3): 421-429.
14. Hadizadeh, I., Peivastegan, B. and zarghani, H. 2009. Antifungal activity of essential oils from some medicinal plants of Iran against *Alternaria alternata*. American Journal of Applied Sciences, 6(5): 857-861.
15. Karaman, S. and Digrak, M. 2001. Antibacterial and antifungal activity of the essential oils of *Tymus Revolutus* celak from Turkey. Journal of Ethnopharmacology, 76(2): 183-186.
16. Keshavarz, A., Taheri, P. and Tariqi, S. 2014. Evaluation of inhibition effect of medicinal essential oils on *Alternaria* spp. colony growth in vitro. The Second National Conference of Medicinal Herbs and Organic Agriculture, 1-11.
17. Lahooji, A., Mirabolfathy, M. and Karami-Osboo, R. 2010. Effect of *Zataria multiflora* and *Satureja hortensis* essential oils, thymol and carvacrol on growth of *Fusarium graminearum* isolates and deoxynivalenol production. Iranian Journal of Plant Pathology, 46(1): 37–50.
18. Lee, Y-L., Wu, Y., Tsang, W.H., Leung, A.Y. and Cheung, W.M. 2011. A systematic review on the anxiolytic effects of aromatherapy in people with anxiety symptoms. Journal of Alternative and Complementary Medicine, 17(2): 101–108.
19. Lopez-Meneses, A.K., Sanchez-Marinez, R.I., Quintana-Obregon, E.A., Parra-Vergara, N.V., Gonzalez-Aguilar, G.A., Lopez-Saiz, C.M. and Cortez-Rocha, M.O. 2017. In vitro antifungal activity of essential oils and major components against fungi plant

- pathogens. *Journal of Phytopathology*, 165(4): 232-237.
20. Mazaheri Tehrani, M., Mortazavi, A., Ziaolhagh, H. and Ghandi, A. 2007. Qualitative characteristics in tomato processing (Vol. 2). Marze Danesh Publications, Tehran, Iran, 253 pp.
 21. Najib Zadeh, T., Yadegari, M.H. and Naghdi Badi, H. 2009. Evaluation antifungal effects of essential oils *Satureja khuzestanica* and *Myrtus communis*. Presented for the M.Sc, Tarbiat Modares University, Tehran.
 22. Pandey, A.K., Kumar, P., Singh, P., Tripathi, N.N. and Bajpai, V.K. 2017. Essential oils: sources of antimicrobials and food preservatives. *Frontiers in microbiology*, 7: 21-61.
 23. Plotto, A., Roberts, D.D. and Roberts, R.G. 2003. Evaluation of plant essential oils as natural postharvest disease control of tomato (*Lycopersicon esculentum*). *Acta Horticulture*, 628: 737-745.
 24. Raman, V., La, S., Saradhi, P., Rao, N., Krishna, N.V., Sudhakar, M. and Radhakrishnan, T.M. 2012. Antibacterial, antioxidant activity and GC-MS analysis of *Eupatorium odoratum*. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 5(2): 99-06.
 25. Ranjbar, H., Farzaneh, M., Hadian, J., Mirjalili, M.H. and Sharifii, R. 2008. Antifungal effect of several herbal essential oils on post-harvest disease of fruit strawberry. *Pajouhesh & Sazandegi*, 21(4): 54-60.
 26. Rassem, H.H., Nour, A.H. and Yunus, R.M. 2018. Biological activities of essential oils—A review. *Pacific International Journal*, 1: 63-76.
 27. Rota, C., Carraminana, J.J., Burillo, J. and Herrera, A. 2004. In vitro antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants against selected foodborne pathogens. *Journal of Food Protection*, 67(6): 1252-1256.
 28. Rustaiyan, A., Masoudi, S., Yari, M., Rabbani, M., Motiefar, H.R. and Larijani, K. 2000. Essential oil of *Salvia lerifolia* Benth. *Journal of Essential Oil Research*, 12: 601-602.
 29. Seyyedi, S.M., and Rezvani Moghaddam, P. 2016. Evaluating the ability of some medicinal plants for controlling *Rhizopus (Rhizopus nigricans)* and black spot rot (*Alternaria alternata*) as postharvest diseases in tomato produced under conventional and organic cropping systems. *Agro ecology Journal*, 8(2): 318-321.
 30. Shahnaz, H., Hifza, A., Bushra, K. and Khan, J.I. 2004. Lipid studies of *Cuminum cyminum* fixed oil. *Pakistan Journal of Botany*, 36(2): 395-401.
 31. Sharifi-Rad, J., Sureda, A., Tenore, G.C., Daglia, M., Sharifi-Rad, M., Valussi, M., Tundis, R., Sharifi-Rad, M., Loizzo, M.R., Ademiluyi, A.O., Sharifi-Rad, R., Ayatollahi, S.A. and Iriti, M. 2017. Biological activities of essential oils: from plant chemoeology to traditional healing systems. *Molecules*, 22: E70.
 32. Simmons, E.G. 2007. *Alternaria: an identification manual*. CBS, Utrecht, 775 p.
 33. Vardar-Unlu, G., Candan, F., Sokmen, A., Daferera, D., Polissiou, M., Sokmen, M., Donmez, E. and Tepe, B. 2003. Antimicrobial and antioxidant activity of the essential oil and methanol extracts of *Thymus pectinatus* Fisch. Mey. var. *pectinatus* (Lamiaceae). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(1): 63-67.
 34. Viuda Martos, M., Ruiz Navaias, Y., Fernandez-Looez, J. and Perez-Alvarez, J.A. 2007. Antifungal activities of thyme, clove and organo essential oils. *Journal of Food Safety*. 27(1): 91-101.
 35. Wang, K., Jiang, S., Pu, T., Fan, L., Su, F. and Ye, M. 2019. Antifungal activity of phenolic monoterpenes and structure-related compounds against plant pathogenic fungi. *Natural Product Research*, 33(10): 1423-1430.

Comparative investigation of antifungal activities of some medicinal plants essential oils on *Alternaria alternata* fungus as a causal agent of tomato early blight disease

Mahdavia, H.^{1*}, Ahmadpour, A.²

¹Assistant Prof., Department of Medicinal Plants, Shahid Bakari Miandoab Higher Education Center, Urmia University, Urmia, Iran

²Assistant Prof., Department of Sustainable Agriculture Promotion and Training, Shahid Bakari Miandoab Higher Education Center, Urmia University, Urmia, Iran

Received: 2019-3-13 ; Accepted: 2019-8-8

Abstract

Tomato early blight disease, caused by the *Alternaria alternata*, is one of the most devastating diseases for the crop in Iran and worldwide. Recent studies have shown that some secondary metabolites of medicinal plants are effective in preventing the growth of fungi and are good alternatives to chemical pesticides. In the present study, 10 medicinal plants including *Eucalyptus* sp., *Thymus vulgaris*, *Mentha piperita*, *Mentha longifolia*, *Mentha aquatica*, *Satureja hortensis*, *Achillea millefolium*, *Foeniculum vulgare*, *Anethum graveolens*, and *Trachyspermum copticum* were collected during 2016-2017. Their essential oils were extracted by using Clevenger apparatus and were analyzed by GC-MS. Antifungal activity of essential oils was assayed through inhibition of fungal colony growth at five concentrations of 0, 200, 400, 800, and 1200 ppm in mixing with potato dextrose agar medium with three replicates. The findings revealed that fungus colony growth was inhibited with increases in essential oils concentrations, and there were significant differences among different essential oils. Essential oils of *Satureja hortensis*, *Trachyspermum copticum* and *Thymus vulgaris* in 800 and 1200 ppm and *Anethum graveolens* in 1200 ppm demonstrated the highest effect on fungus colony growth. This study found that carvacrol, thymol, *para*-cymene, and γ -terpinene ingredients tend to have the highest antifungal effects.

Keywords: *Alternaria alternata*, Biological control, Essential Oil, Postharvest disease, Tomato.

*Corresponding author; h.mahdavia@urmia.ac.ir