

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

مصطفی درویش نیا^{۱*}، احسان حسنونند^۲، مسلم موسویان^۳

^۱دانشیار، گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه لرستان، ایران.

^۲کارشناس ارشد، گروه گیاهپزشکی، بیماری‌شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی شیراز، شیراز، ایران.

^۳دانشجوی دکتری، گروه گیاهپزشکی، بیماری‌شناسی گیاهی، 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 مواد غذایی از اسانس‌های گیاهی استفاده زیادی شده است. در پژوهش حاضر به بررسی فیتوشیمیایی و اثر ضدقارچی اسانس برگ گیاهان مرزه خوزستانی، مرزنجوش و پونه جمع‌آوری شده از گرین الشتر و سفید کوه خرم آباد در بهار ۱۳۹۴ 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 میلی‌لیتر در محیط کشت PDB استفاده شد. به منظور بررسی اثر اسانس‌ها روی درصد آلودگی گوجه‌فرنگی به این قارچ، غلظت‌های ۴ 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 به ترتیب کارواکرون (۸۸/۶۵ درصد)، تیمول (۱۹/۴۶ درصد) و پولگون (۴۷/۶۶ درصد) بود. این اسانس‌ها به ترتیب ۴۸/۹۶، ۴۵/۹۳، ۴۹/۹۴ درصد در روش دیسک و ۵۱/۰۱، ۴۴/۸۵، ۴۸/۹۶ درصد در روش مواد فرار از رشد قارچ *A. solani* اثر داشت. همچنین غلظت ۴ و ۲۰ میکرولیتر در میلی‌لیتر به ترتیب ۴۰، ۵۷/۷۸، ۳۵/۵۶ و ۱۰۰، ۶۶/۶۷ و ۴۰ 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 به عمل 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.

مقدمه

را ندارند. برخی از این مواد دارای خواص جلب کنندگی و بعضی دیگر خواص دورکنندگی دارند. از جمله ترکیبات عمده یا موثر در اسانس‌های گیاهی ترپن‌ها با فرمول 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 ضد میکروبی 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 میسلیم قارچ *A. solani* عامل بیماری پوسیدگی انباری گوجه‌فرنگی بررسی می‌شود.

بیماری‌های گیاهی یکی از مهم‌ترین 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 مواد چربی تشکیل نشده‌اند، قابلیت تولید به صابون

مواد و روش‌ها

جداسازی، خالص‌سازی، شناسایی و اثبات بیماری‌زائی جدایه قارچی: به منظور جداسازی عامل بیماری نمونه‌های میوه‌ی گوجه‌فرنگی مشکوک به بیماری، از انبارهای شهرستان خرم‌آباد جمع‌آوری شد. برای جداسازی عامل بیماری ابتدا قسمت‌های آلوده به تکه‌های ۵-۴ میلی‌متری خرد و سپس با استفاده از هیپوکلریت سدیم یک درصد ضد عفونی سطحی شدند و در تشتک‌های پتری حاوی محیط‌های غذایی PDA (سیب‌زمینی، دکستروز و آگار)، PCA (سیب‌زمینی، هویج و آگار) و WA (آب-آگار) کشت داده شدند (Ghosta et al., 2003). پرگنه‌های رشد کرده که مشخصات *Alternaria* sp. را داشتند، از طریق تک اسپور کردن خالص‌سازی شدند. شناسایی جدایه‌های قارچ عامل بیماری پس از کشت روی محیط غذایی PCA در دمای 24 ± 1 درجه سانتی‌گراد زیر نور فلورسنت با چرخه نوری ۸ ساعت روشنایی و ۱۶ ساعت 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 ۱۳۹۴ از مناطق مختلف لرستان شامل گرینالشر 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 به وسیله آسیاب خرد شده و سپس اسانس آن‌ها به روش تقطیر با آب و به کمک دستگاه کلونجر به مدت 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

به وسیله سولفات سدیم خشک، آب‌گیری و در شیشه‌های تیره در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد درون یخچال تا زمان آنالیز و آزمون 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:

به منظور 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 ۱۶ ساعت تاریکی در انکوباتور نگهداری شدند (AI- (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، به وسیله تزریق درباقت میوه استفاده شد (Risser et al., 1976).

بررسی اثر ضدقارچی اسانس‌ها بر رشد *Miscelium*

قارچ *Alternaria solani*: به منظور بررسی اثر

ضدقارچی اسانس‌ها، ابتدا از کشت چهار روزه قارچ با استفاده از چوب پنبه سوراخ کن بلوک‌های هم‌اندازه از میسلیم 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 ۱۰ سانتی‌متری 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 ۱۴ 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 کاملاً تصادفی) در نظر گرفته شد. نتایج به‌صورت میانگین قطر کلنی قارچ اندازه‌گیری 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 اسانس‌ها روی رشد میسلیم 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 وجود مواد فرار ضدقارچی درون هر نمونه اسانس، در سه تکرار و در قالب طرح کاملاً تصادفی، انجام شد. از دیسک کاغذی آغشته به آب مقطر رسترون به‌عنوان شاهد استفاده شد (Kohanmoo and Jamali, 2013).

تعیین حداقل غلظت بازداری و حداقل غلظت کشندگی اسانس‌ها به روش رقیق‌سازی متوالی:

برای تعیین حداقل غلظت بازداری اسانس‌ها از رشدقارچ از روش رقیق‌سازی متوالی استفاده شد. بدین‌منظور ابتدا از کشت هفت روزه قارچ روی محیط کشت PDA، سوسپانسیون 10^6 اسپور در میلی‌لیتر تهیه شد. سپس از بین ۳۰ رقت، رقت‌های 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 ۱۰ میلی‌لیتر محیط کشت PDB حاوی غلظت‌های 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 ۱۴ تا ۱۶ ساعت تعداد اسپورهای جوانه‌زده شد هم حاسبه و حداقل غلظت بازداری از جوانه‌زنی اسپور قارچ تعیین شد. حداقل غلظت بازداری (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 کاملاً تصادفی صورت گرفت.

بررسی اثر اسانس‌ها 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 مایه‌زنی میوه‌ها ابتدا توسط لانس استریل، زخمی به ابعاد 2×2 میلی‌متر ایجاد و سپس ۳۰ میکرولیتر از سوسپانسیون 10^6 اسپور قارچ در میلی‌لیتر آب مقطر به درون زخم هر میوه تزریق شد. غلظت‌های ۴ و ۲۰ میکرولیتر در میلی‌لیتر هر کدام

ضربدرصد آلودگی 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.

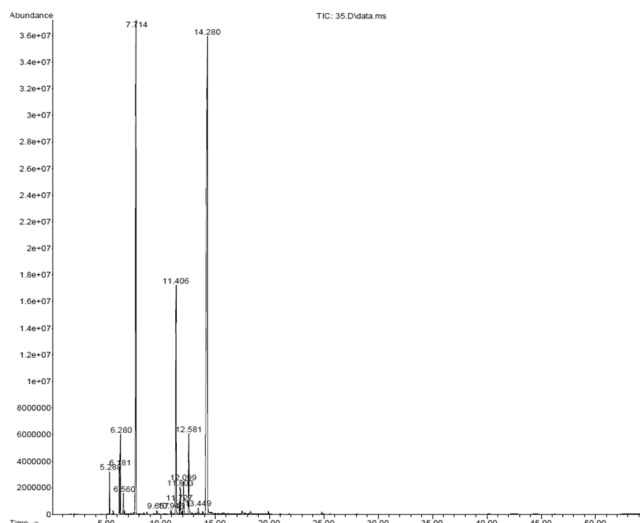
نتایج

ترکیبات موجود در اسانس‌ها: آنالیز اسانس مرزه خوزستانی منجر به شناسایی ۱۴ 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 به ترتیب کارواکرول (۸۸/۶۵ درصد)، پی-سیمن (۳/۴۲ درصد)، آلفا-بیسابولن (۱/۲۵ درصد)، آلفا-پینن (۱/۲ درصد) بود و درصد سایر ترکیبات خیلی ناچیز است (جدول ۱ و شکل ۱).

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 جعبه‌های 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

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	۶/۵۵	۹۸۹	۰/۴۱
۳	α -terpinene	۷/۲۶	۱۱۷۵	۰/۲۰
۴	p-cymene	۷/۴۸	۱۰۱۴	۳/۴۲
۵	limonene	۷/۵۹	۱۰۲۸	۰/۵۱
۶	trans- β -ocimene	۷/۸	۱۰۳۵	۰/۱۷
۷	γ -terpinene	۸/۴۴	۱۰۵۳	۰/۲۹
۸	linalool	۹/۶۴	۱۰۸۵	۰/۲۰
۹	terpinene-4-ol	۱۲/۱۴	۱۱۷۸	۱/۰۱
۱۰	thymol	۱۵/۸۷	۱۲۹۲	۰/۸۲
۱۱	carvacrol	۱۶/۴۵	۱۴۱۱	۸۸/۶۵
۱۲	trans-caryophyllene	۱۹/۹۱	۱۴۲۴	۰/۴۰
۱۳	α -bisabolene	۲۲/۵۹	۱۵۰۹	۱/۲۵



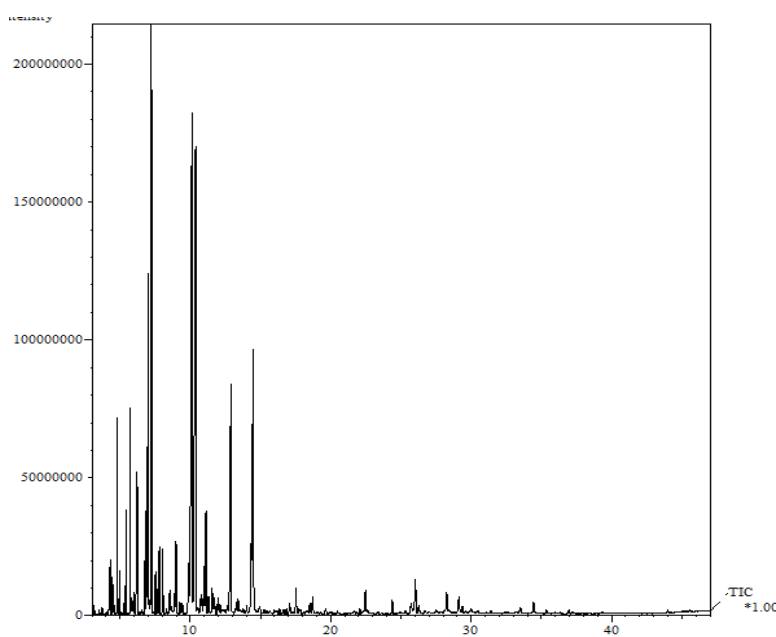
شکل ۱: کروماتوگرافی مواد موثره اسانس مرزه

آنالیز اسانس مرزنجوش منجر به شناسایی ۲۸ ترکیب در اسانس این گیاه شده که ۹۳/۶۰ درصد از اسانس را شامل شد. درصد فراوانی از ترکیبات این اسانس شامل تیمول (۱۹/۴۶ درصد)، ترپن-۴-ال (۱۶/۱ درصد)، پی-سیمن (۸/۹۱ درصد)، سیس-سایین هیدرات (۵/۵۶ درصد)، سایین (۴/۷۲ درصد)، آلفا-ترپینن (۴/۵۳ درصد)، آلفا-ترپینولن (۳/۵۲) بود (جدول ۲ و شکل ۲).

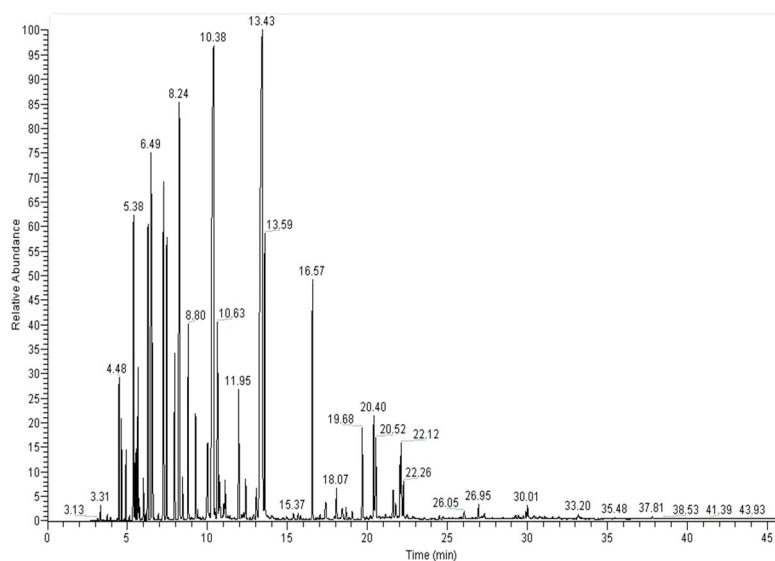
جدول ۲: ترکیبات شیمیایی اسانس مرزنجوش (*Origanum vulgare*) در تجزیه با دستگاه GC-MC

ردیف	ترکیبات شیمیایی	شاخص بازداری (RI)	زمان بازداری به دقیقه	درصد ترکیب
۱	α -thujene	۹۲۵	۵/۱۱	۱/۳۰
۲	α -pinene	۹۳۲	۵/۲۷	۱
۳	camphene	۹۴۸	۵/۶۲	۰/۳۶
۴	sabinene	۹۷۵	۶/۱۸	۴/۷۲
۵	1-Octen-3-ol	۹۷۶	۶/۲۵	۰/۷
۶	3-octanone	۹۸۴	۶/۴۴	۰/۷۵
۷	β -myrcene	۹۸۹	۶/۵۵	۱/۳۰
۸	3-octanol	۹۹۸	۶/۷۴	۰/۲۱
۹	α -terpinene	۱۰۱۷	۷/۲۸	۴/۵۳
۱۰	<i>p</i> -cymene	۱۰۲۵	۷/۵	۸/۹۱
۱۱	limonene	۱۰۲۸	۷/۶۱	۲/۴۳
۱۲	γ -terpinene	۱۰۶۰	۸/۴۷	۸/۳۴
۱۳	α -terpinolen	۱۰۸۸	۹/۳۲	۳/۵۲
۱۴	cis-sabinenehydrate	۱۰۹۸	۹/۶۵	۵/۵۶
۱۵	<i>p</i> -menth-2-en-1-ol	۱۱۲۲	۱۰/۳۵	۰/۹
۱۶	menthone	۱۱۵۴	۱۱/۳۸	۱/۱۸
۱۷	borneol	۱۱۶۶	۱۱/۷۸	۱/۲۴
۱۸	menthol	۱۱۷۴	۱۲/۰۴	۱/۵۶

۱۹	terpinene-4-ol	۱۱۷۷	۱۲/۲۱	۱۶/۱
۲۰	α -terpineol	۱۱۸۹	۱۲/۵۷	۱/۶
۲۱	bornyl acetate	۱۲۸۵	۱۵/۶۴	۱/۵۶
۲۲	thymol	۱۲۹۰	۱۵/۹۲	۱۹/۴۶
۲۳	carvacrol	۱۴۰۲	۱۶/۱۷	۱/۹۴
۲۴	trans-caryophyllene	۱۴۲۱	۱۹/۹۲	۱/۵
۲۵	germacrene-D	۱۴۸۳	۲۱/۸	۱/۱
۲۶	bicyclogermacrene	۱۵۰۰	۲۱/۸۳	۰/۴۷
۲۷	spathulenol	۱۵۷۸	۲۴/۶۶	۰/۶۱
۲۸	caryophyllen oxide	۱۵۸۶	۲۴/۸۲	۰/۷۵



شکل ۲: کروماتوگرافی مواد موثره اسانس مرزنجوش



شکل ۳: کرومات و گرافی مواد موثره اسانس پونه

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	۹۳۴	۵/۲۸	۱/۱۶
۳	Camphene	۹۷۰	۵/۶۲	۰/۰۹
۴	Sabinene	۹۷۴	۶/۱۷	۱/۳۸
۵	β -pinene	۹۷۸	۶/۲۸	۲/۳۷
۶	Myrcene	۹۹۰	۶/۵۶	۰/۶۴
۷	3-octanol	۹۹۶	۶/۶۷	۰/۱۵
۸	α -terpinene	۱۰۱۶	۷/۲۷	۰/۰۴
۹	p-cymene	۱۰۲۵	۷/۴۸	۰/۰۷
۱۰	Limonene	۱۰۲۸	۷/۶۶	۰
۱۱	1,8-cineole	۱۰۳۳	۷/۷۱	۲۵/۷۹
۱۲	cis-ocimene	۱۰۳۶	۷/۸۱	۰
۱۳	γ -terpinene	۱۰۵۷	۵/۴۵	۰/۰۶
۱۴	sabinene hydrate	۱۰۶۶	۸/۷۲	۰/۰۷
۱۵	α -terpinolene	۱۰۸۶	۹/۳۴	۰/۰۳
۱۶	linalool	۱۱۰۰	۹/۶۵	۰/۱۴
۱۷	menthone	۱۱۵۵	۱۱/۴۲	۱۰/۴۳
۱۸	neo-menthol	۱۱۵۹	۱۱/۷۲	-
۱۹	borneol	۱۱۶۶	۱۱/۷۷	-
۲۰	menthol	۱۱۷۳	۱۱/۹۹	۰/۱۲
۲۱	terpinen-4-ol	۱۱۷۸	۱۲/۱۵	۰
۲۲	α -terpineol	۱۱۹۲	۱۲/۵۸	۴/۰۱
۲۳	dihydrocarveol	۱۱۹۶	۱۲/۷۲	۰/۰۵
۲۴	pulegone	۱۲۴۹	۱۴/۲۸	۴۷/۶۶
۲۵	piperitone	۱۲۸۲	۱۴/۶۴	-
۲۶	thymol	۱۲۹۶	۱۵/۸۵	۰/۰۹
۲۷	carvacrol	۱۳۰۲	۱۶/۱۷	۰
۲۸	piperitenone	۱۳۴۴	۱۷/۴۹	۰/۳۵
۲۹	piperitenone oxid	۱۳۶۸	۱۸/۲۷	۰/۲۳
۳۰	α -copaene	۱۳۷۷	۱۸/۵۴	۰
۳۱	β -bourbonene	۱۳۸۷	۱۸/۸۵	۰
۳۲	β -elemene	۱۳۹۲	۱۹	۰
۳۳	β -caryophyllene	۱۴۱۳	۱۹/۹۲	۰/۱۱
۳۴	α -humulene	۱۴۵۷	۲۱/۲۵	۰
۳۵	germacrene-D	۱۴۸۲	۲۱/۸۱	۰
۳۶	bicyclogermacrene	۱۴۹۸	۲۲/۲۷	۰
۳۷	(+) spathulenol	۱۵۸۱	۲۴/۶۶	۰
۳۸	caryophyllene oxide	۱۵۸۷	۲۴/۸۳	۰/۱۵

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 (۴۷/۶۶ درصد)، ۸،۱-اسینتول (۲۵/۷۹ درصد)، منتون (۱۰/۴۳ درصد)، آلفا-تریپنهال (۴/۰۱ درصد) بود و درصد سایر ترکیبات خیلی ناچیز

است (جدول ۳ و شکل ۳).
 خاصیت قارچ کشی 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 ۴).

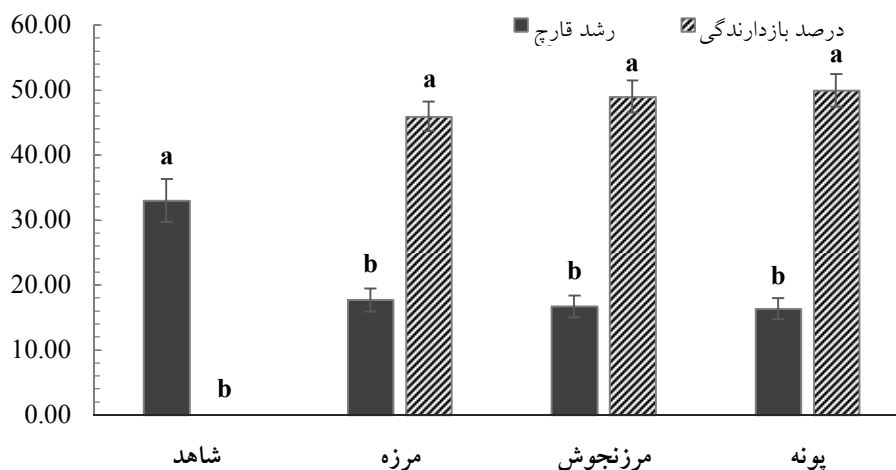
جدول ۴: تجزیه واریانس تأثیر اسانس‌های پونه، مرزه و مرزنجوش در بازدارندگی از رشد قارچ‌های *Alternaria solani* در روش کشت متقابل و حالت فرار اسانس در محیط کشت PDA.

P-value	مقادیر F	میانگین مربعات (MS)	مجموع مربعات (SS)	ضریب تغییرات (%)	درجه آزادی		روش دیسک
					خطا	تیمار	
۰/۰۰۰۱	۱۰۴/۳۴**	۱/۱۳	۵/۶۵	۴/۹۹	۶	۳	روش دیسک
۰/۰۰۰۱	۹۵/۱۹**	۱/۱۴	۵/۶۸	۵/۲۵	۶	۳	روش مواد فرار

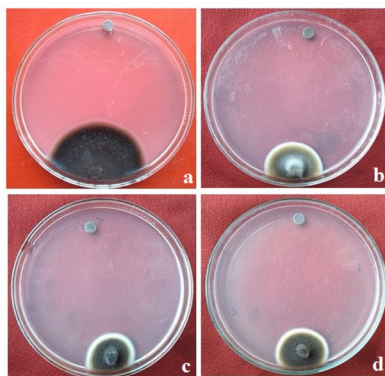
** سطح معنی‌داری $P > 0.01$ ، * سطح معنی‌داری $0.05 < P < 0.01$ ، معنی دار نشدن $P < 0.05$

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

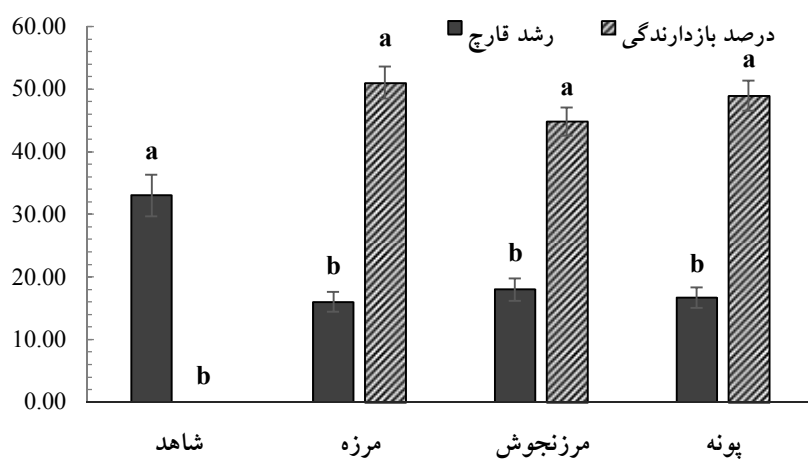
(شکل‌های ۴ تا ۷). به نحوی که اسانس‌های مرزنجوش، مرزه و پونه در این غلظت به‌ترتیب ۴۸/۹۶، ۴۵/۹۳ و ۴۹/۹۴ درصد در روش دیسک و ۴۴/۸۵، ۵۱/۰۱ و ۴۸/۹۶ درصد در روش مواد فرار از رشد قارچ *A. solani* بازدارندگی کرد (جدول ۵).



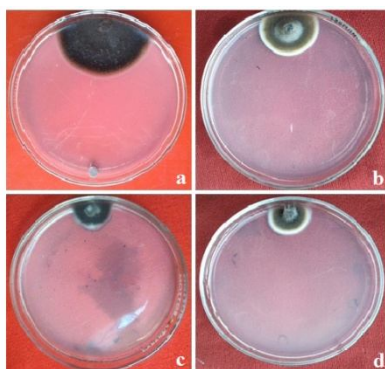
شکل ۴: اسانس‌های پونه، مرزه و مرزنجوش در بازدارندگی از رشد قارچ‌های *Alternaria solani* در روش دیسک روی محیط کشت PDA



شکل ۵: اثر اسانس‌ها روی رشد پرگنه قارچ *Alternaria solani* به روش دیسک کاغذی روی محیط کشت: تیمار شاهد (a)، تیمار اسانس مرزنجوش (b)، تیمار اسانس پونه (c) و تیمار اسانس مرزه خوزستانی (d)



شکل ۶: تأثیر اسانس‌های پونه، مرزه و مرزنجوش در بازدارندگی از رشد قارچ‌های *Alternaria solani* در روش مواد فرار روی محیط کشت PDA



شکل ۷: 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)

جدول ۵: مقایسه میانگین بازدارندگی از رشد میسلیم قارچ *Alternaria solani* روی محیط کشت PDA توسط اسانس های مرزه خوزستانی، مرزنجوش و پونه در روش دیسک کاغذی و مواد فرار

روش دیسک کاغذی		روش مواد فرار		اسانس ها
قطرپرگنه (سانتی متر)	درصد بازدارندگی از رشد میسلیم نسبت به شاهد	قطرپرگنه (سانتی متر)	درصد بازدارندگی از رشد میسلیم نسبت به شاهد	
۱/۷۷	۴۵/۹۳ ^a	۱/۶۰	۵۱/۰۱ ^a	مرزه خوزستانی
۱/۶۷	۴۸/۹۶ ^a	۱/۸۰	۴۴/۸۵ ^a	مرزنجوش
۱/۶۳	۴۹/۹۴ ^a	۱/۶۷	۴۸/۹۶ ^a	پونه
۳/۲۷	۰/۰۰ ^b	۳/۲۷	۰/۰۰ ^b	شاهد

در میلی لیتر پونه به عنوان حداقل غلظت بازدارندگی و غلظت های ۹/۵ میکرو لیتر در میلی لیتر مرزه خوزستانی، ۹ میکرو لیتر در میلی لیتر مرزنجوش و ۸/۵ میکرو لیتر در میلی لیتر پونه به عنوان حداقل غلظت کشندگی روی این قارچ بودند (جدول ۷).

حداقل غلظت بازدارندگی رشد و کشندگی اسانس ها روی قارچ *Alternaria solani*: نتایج اثر اسانس ها روی قارچ *A. solani* نشان داد که غلظت های ۲/۳ میکرو لیتر در میلی لیتر مرزه خوزستانی، ۲ میکرو لیتر در میلی لیتر مرزنجوش و ۱/۷ میکرو لیتر

جدول ۷: حداقل غلظت بازدارندگی و غلظت کشندگی اسانس های مرزه خوزستانی، مرزنجوش و پونه روی قارچ *A. solani*

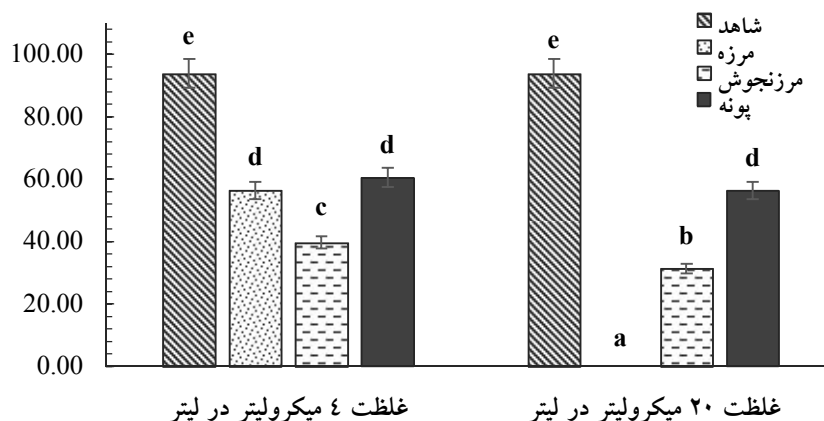
تیمار	غلظت اسانس (میکرو لیتر در میلی لیتر)	تعداد اسپور جوانه زده	درصد جوانه زنی اسپور نسبت به شاهد
شاهد <i>A. solani</i>	۰	۵۳	۱۰۰
مرزه خوزستانی + <i>A. solani</i>	۱/۵	۱۵	۲۸/۳
	۲/۳	۵	۹/۴۳
	۷	۳	۵/۶۶
مرزنجوش + <i>A. solani</i>	۹/۵	۰	۰
	۱/۵	۱۱	۲۰/۷۵
	۲	۶	۱۱/۳۲
	۷	۲	۳/۷۷
پونه + <i>A. solani</i>	۹	۰	۰
	۱/۵	۱۰	۱۸/۸۷
	۱/۷	۶	۱۱/۳۲
	۷	۲	۳/۷۷
	۸/۵	۰	۰

بافت میوه گوجه فرنگی به قارچ *A. solani* نشان داد که تمام غلظت های بکار گرفته در کاهش درصد آلودگی بافت میوه گوجه فرنگی تفاوت معنی داری نسبت به

تأثیر اسانس روی آلودگی بافت میوه گوجه فرنگی آلوده به *A. solani*: مقایسه میانگین تأثیر اسانس های مرزنجوش، مرزه و پونه روی درصد کاهش آلودگی

درصد آلودگی تفاوت معنی داری در سطح یک درصد نشان نداد. بیشترین درصد کاهش رشد مربوط به غلظت ۲۰ میکرولیتر بر میلی لیتر اسانس مرزه بود که در این غلظت به طور ۱۰۰ درصد از رشد قارچ *A.solani* روی بافت میوه گوجه فرنگی جلوگیری به عمل آمد (شکل ۸).

شاهد آلوده در سطح یک درصد نشان داد. هر دو غلظت ۴ و ۲۰ میکرولیتر در لیتر اسانس های مرزه و مرزنجوش به ترتیب با ۵۶/۲۵، ۳۹/۵۸ و ۳۱/۲۵ درصد آلودگی، در سطح یک درصد تفاوت معنی داری نشان دادند در حالی که در کاهش درصد آلودگی دو غلظت بکار گرفته اسانس پونه با ۶۰/۴۲ و ۵۶/۲۵



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

معنی داری آلودگی قارچی روی بافت میوه نسبت به شاهد آلوده در سطح یک درصد کاهش دادند (جدول ۶).

در کل غلظت ۴ و ۲۰ میکرولیتر در میلی لیتر هر یک از اسانس های مرزه، مرزنجوش و پونه به ترتیب ۵۷/۴۰، ۷۸/۳۵ و ۶۶/۶۷ و ۴۰ درصد بطور

جدول ۶: تأثیر اسانس مرزه خوزستانی، مرزه و مرزنجوش در رشد قارچ *A.solani* روی بافت میوه گوجه فرنگی و کاهش درصد آلودگی بافت میوه در دو غلظت ۴ و ۲۰ میکرولیتر در لیتر این اسانس ها

اسانس	غلظت ۴ میکرولیتر در لیتر		غلظت ۲۰ میکرولیتر در لیتر	
	درصد رشد قارچ	درصد کاهش آلودگی	درصد رشد قارچ	درصد کاهش آلودگی
شاهد	۹۳/۷۵	۰ ^e	۹۳/۷۵	۰ ^e
مرزه خوزستانی	۵۶/۲۵	۴۰ ^d	۰	۱۰۰ ^a
مرزنجوش	۳۹/۵۸	۵۷/۷۸ ^c	۳۱/۲۵	۶۶/۶۷ ^b
پونه	۶۰/۴۲	۳۵/۵۶ ^d	۵۶/۲۵	۴۰ ^d

بیشتر احساس می شود (Giordani et al., 2008). از جمله جایگزین های بالقوه مهم برای سموم شیمیایی، اسانس ها و عصاره های گیاهان عالی می باشند. اسانس های گیاهی می توانند ضمن تأمین سلامت و ایمنی محصول، باعث کاهش ضایعات محصولات

بحث اثر نامطلوب و مضر آفت کش ها 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 جایگزین های سموم شیمیایی، روزبه روز

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 میسلیمی قارچ و خاصیت قارچ‌کشی اهمیت دارد. در این تحقیق اثر سه اسانس مرزہ خوزستانی، 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 ۴۹/۹۴ درصد و در روش مواد فرار مربوط به مرزہ خوزستانی با ۵۱/۰۱ درصد بود. همچنین نتایج حاصل از این پژوهش روی بافت میوه آلوده شده با سوسپانسیون اسپور *A. solani* نشان داد که تیمار ۲۰ میکرولیتر بر میلی‌لیتر مرزہ 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 تشکیل‌دهنده اسانس‌های گیاهی ارتباط داد (Safari et al., 2014). همچنین با افزایش غلظت اسانس گیاهی تأثیر قارچ‌کشی در همه اسانس‌های مورد استفاده در جلوگیری از رشد میسلیمی 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 مرزہ دارای خاصیت ضدقارچی قوی علیه قارچ *Alternariacitri* در شرایط آزمایشگاهی می‌باشد نتایج نشان داد که اسانس مرزہ در غلظت ۴۰۰ پی پیامو بالاتر در محیط کشت به‌طور کامل بر رشد قارچ اثر داشت و قارچ در محیط کشت رشد نکرد و غلظت‌های ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ پی پی ام باعث کند شدن رشد قارچ گردید ولی رشد آن را متوقف نکرد (Mahboubi et al., 2011). همچنین (Yazdanpanah et al., 2008 and Hagi, 2008) طی پژوهشی به این نتیجه رسیدن که اثرات قارچ‌کشی اسانس مرزہ 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 ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ پی پی ام اسانس‌های آویشن و پونه اگرچه اختلاف معنی‌داری در سطح پنج درصد مشاهده نشد ولی در غلظت ۴۰۰ ppm کنترل رشد قارچ را مهار کردند. در پژوهش دیگری اسانس گیاهان پونه و آویشن باعث مهار ۱۰۰ درصد رشد میسلیمی قارچ‌های رایزوکتونیا، ژئومانومیست، فوزاریوموپیتوم 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

اجزای تشکیل دهنده آن‌ها بستگی دارد به طوری که یک ترکیب ممکن است به تنهایی یا به صورت 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 میسلیمی 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 بخش بوده 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*

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

در بررسی‌های به عمل آمده در این تحقیق مشخص شد که ترکیبات اصلی اسانس مرزه خوزستانی کارواکرول (۸۸/۶۵ درصد)، اسانس مرزنجوش تیمول (۱۹/۴۶ درصد)، ترپن-۴-ال (۱۶/۱ درصد)، پی-سیمن (۸/۹۱ درصد) میوآسانس پونه حاوی پولگون (۴۷/۶۶ درصد)، ۸-سینئول (۲۵/۷۹ درصد)، منتون (۱۰/۴۳ درصد) می‌باشد. مشخص شده که کارواکرول (Sharifian et al., 2009; Obaidat et al., 2011) و تیمولترین‌ها (Mohammadi, 2014; Vardar-Unlu et al., 2010) دارای فعالیت ضدقارچی بالایی می‌باشند. گزارش شده که فعالیت ضدقارچی اسانس پونه بیشتر ناشی از وجود پولگون 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

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., Hadeif, 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).

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 kotsucyanus* 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 Protection 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

- 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 (*Lycopersicon 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. Evaluation 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 carvacrol 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).