

اثرات قارچ کشی چهار انسانس گیاهی روی قارچ *Botrytis cinerea* در شرایط آزمایشگاهی

ابوالفضل اصغری مرجانلو^۱، یونس مستوفی^{۲*}، مرضیه حیدری^۳، محمد جوان نیکخواه^۴، شهرام شعیبی^۵

۱- کارشناسی ارشد، گروه علوم باگبانی، دانشکده علوم باگبانی و گیاه‌پزشکی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی
دانشگاه تهران، تهران

۲- دانشیار، گروه علوم باگبانی، دانشکده علوم باگبانی و گیاه‌پزشکی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، تهران

۳- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه باگبانی، دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد کرج، کرج

۴- دانشیار، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده علوم باگبانی و گیاه‌پزشکی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، تهران

۵- عضو هیأت علمی وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی، معاونت غذا و دارو، تهران

*آدرس مکاتبه: کرج، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، دانشکده علوم باگبانی و گیاه‌پزشکی،
گروه علوم باگبانی، تلفن: ۰۹۱۲۵۰۱۰۴۹۵، نامبر: ۰۲۶۱ (۲۲۴۸۷۲۱)

پست الکترونیک: ymostofi@ut.ac.ir

تاریخ تصویب: ۸۸/۵/۴

تاریخ دریافت: ۸۸/۴/۲۱

چکیده

مقدمه: انسانس‌های گیاهی که مخلوطی از ترکیبات بسیار پیچیده هستند، خواص بیولوژیکی متنوعی دارند.

هدف: پژوهش حاضر با هدف بررسی تاثیر انسانس‌های ریحان، مریم گلی و زیره سبز در غلظت‌های ۲۵۰، ۵۰۰، ۷۵۰ و ۱۰۰۰ و انسانس آویشن در غلظت‌های ۳۰، ۶۰، ۱۲۰ و ۲۵۰ میکرولیتر در جلوگیری از رشد قارچ بوتریس سینرا در شرایط درون شیشه‌ای انجام گرفت.

روش بررسی: این آزمایش با دو روش ترکیب انسانس‌ها با محیط کشت (SM) و استفاده از روش دیسک کاغذی (PDM) مورد انجام شد.

نتایج: نتایج نشان می‌دهد که اثر بازدارندگی انسانس‌ها به نوع و غلظت انسانس و روش تیمار بستگی دارد. روش PDM در جلوگیری از رشد قارچ موثرتر از روش SM می‌باشد. انسانس‌های زیره سبز، ریحان و مریم گلی وقتی با روش PDM به کار رفتند، در همه غلظت‌ها به طور کامل از رشد قارچ جلوگیری کردند. در روش SM، اثر بازدارندگی انسانس‌ها به غلظت به کار رفته بستگی داشته به طوری که انسانس زیره سبز و آویشن در غلظت ۲۵۰ میکرولیتر بر لیتر از رشد قارچ جلوگیری نمودند. در حالی که انسانس ریحان و مریم گلی در این غلظت از رشد قارچ *B. cinerea* را جلوگیری نکردند. نتایج حاصل از بررسی حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل غلظت کشندگی نشان داد که انسانس‌های استفاده شده در این آزمایش در غلظت‌های به کار رفته در هر دو روش قارچ ایستا هستند و تنها انسانس زیره سبز در غلظت ۱۰۰۰ میکرولیتر بر لیتر در روش PDM توانست قارچ مذبور را از بین ببرد.

نتیجه‌گیری: انسانس‌ها ترکیبات طبیعی هستند که در مقایسه با سوموم ستیک اثرات جانبی کمتری دارند و با انجام تحقیقات زیاد می‌توان به فرمولاسیونی دست یافت که این ترکیبات طبیعی به خصوص در نگهداری محصولات باگبانی جایگزین سوموم ستیک گردد.

گل واژگان: قارچ بوتریس، مریم گلی، زیره سبز، ریحان، آویشن



مقدمه

آنـتـیـاـکـسـیدـانـیـ، خـدـسـرـطـانـیـ، ضـدـبـاـکـتـرـیـ، ضـدـقـارـچـیـ و زـیـستـ تـنـظـیـمـیـ (Bioregulatory) برـایـ آـنـهـاـ گـزـارـشـ شـدـهـ استـ. اـسـانـسـهـاـ اـزـ نـظرـ شـیـمـیـاـبـیـ تـرـکـیـبـاتـ پـیـچـیدـهـاـیـ هـسـتـنـدـ کـهـ اـغـلـبـ بـیـشـ اـزـ صـدـ جـزـوـ درـ تـرـکـیـبـ آـنـهـاـ وـجـودـ دـارـدـ وـ بـهـ نـظـرـ مـیـ رـسـدـ خـاـصـیـتـ مـیـکـرـوـبـیـ آـنـهـاـ درـ نـتـیـجـهـ فـعـالـیـتـ سـیـنـزـرـیـسـتـیـ تـرـکـیـبـاتـ مـوـجـودـ درـ آـنـهـاـ استـ. تـرـکـیـبـ شـیـمـیـاـبـیـ اـسـانـسـهـاـیـ گـیـاهـیـ بـسـتـهـ بـهـ شـرـایـطـ مـحـیـطـیـ کـهـ گـیـاهـانـ دـارـوـیـیـ درـ آـنـ رـشـدـ کـرـدـ وـ بـرـداـشـتـ مـیـ شـوـنـدـ، رـوـشـهـاـیـ خـشـکـ کـرـدـ، شـرـایـطـ اـنـبـارـیـ کـهـ گـیـاهـ تـاـ زـمـانـ اـسـتـخـرـاجـ اـسـانـسـ درـ آـنـ نـگـهـدارـیـ مـیـ شـوـدـ، رـوـشـهـاـیـ اـسـتـخـرـاجـ اـسـانـسـ وـ آـنـالـیـزـ تـرـکـیـبـاتـ مـوـجـودـ درـ آـنـ تـغـیـیرـ مـیـ کـنـدـ [۱۹]. اـسـانـسـهـاـ تـرـکـیـبـاتـیـ هـسـتـنـدـ کـهـ دـرـ دـمـاـیـ فـیـزـیـوـلـوـژـیـکـ فـشـارـ بـخـارـ بـالـیـ دـارـنـدـ وـ بـهـ شـکـلـ مـایـعـ وـ یـاـ گـازـ مـیـکـرـوـرـاـکـانـیـمـهـاـ رـاـ کـنـتـرـلـ مـیـ کـنـنـدـ [۶]. تـرـکـیـبـاتـ طـبـیـعـیـ حـاـصـلـ اـزـ گـیـاهـانـ بـهـ صـورـتـ سـتـنـیـ درـ کـشـورـهـاـیـ مـثـلـ هـنـدـ، روـسـیـهـ، ژـاـپـنـ، جـهـتـ نـگـهـدارـیـ موـادـ غـذـایـیـ اـسـتـفـادـهـ مـیـ شـوـدـ [۲۰]. باـ تـوـجـهـ بـهـ اـینـ کـهـ روـغـنـهـاـیـ حـاـصـلـ اـزـ قـسـمـتـهـاـیـ مـخـتـلـفـ گـیـاهـانـ آـلـیـ خـاـصـیـتـ سـمـزـدـایـیـ اـزـ خـودـ نـشـانـ دـادـهـانـدـ [۱۶]. بـنـابـرـاـینـ پـوـدـرـ وـ عـصـارـهـ بـعـضـیـ اـزـ گـیـاهـانـ بـرـایـ جـلـوـگـیرـیـ اـزـ رـشـدـ قـارـچـهـاـ وـ مـمـانـعـ اـزـ تـوـلـیـدـ موـادـ سـمـیـ توـسـطـ عـوـامـلـ قـارـچـیـ اـسـتـفـادـهـ مـیـ شـوـنـدـ [۲۰]. طـبـقـبـنـدـیـ اـسـانـسـهـاـیـ گـیـاهـیـ درـ گـروـهـ موـادـ غـذـایـیـ مـیـ تـوـانـدـ بـهـ اـسـتـفـادـهـ اـزـ آـنـهـاـ بـهـ عنـوـانـ تـیـمـارـهـاـیـ ضـدـقـارـچـیـ وـ مـیـ شـوـنـدـ [۲۰]. بـهـ اـنـتـرـاـکـتـیـکـسـینـ بـهـ عنـوـانـ یـکـ سـمـ قـارـچـیـ خـطـرـنـاـکـ، سـبـبـ اـیـجادـ سـمـیـتـ حـادـ وـ مـزـمـنـ درـ حـیـوانـاتـ وـ اـنـسـانـ شـدـهـ وـ باـعـثـ صـدـمـهـ بـهـ کـبدـ وـ تـوـلـیـدـ غـدـهـ مـیـ شـوـدـ. روـغـنـ بالـنـگـ اـزـ رـشـدـ وـ اـسـپـورـزـانـیـ قـارـچـ آـسـپـرـجـیـلوـسـ وـ تـوـلـیـدـ آـفـلـاـتـوـکـسـینـ درـ شـرـایـطـ درـونـ شـیـشـهـاـیـ جـلـوـگـیرـیـ کـرـدـ بـنـابـرـاـینـ مـیـ تـوـانـ باـ اـسـتـفـادـهـ اـزـ تـرـکـیـبـاتـ سـالـمـ وـ طـبـیـعـیـ بـهـ مـبـارـزـهـ باـ اـینـ مشـکـلـ پـرـدـاـختـ [۱۷].

ازـ بـینـ ۲۵۰ـ گـوـنـهـ اـزـ ۳۷ـ تـیرـهـ گـیـاهـیـ بـومـیـ اـیـرانـ، کـهـ فـعـالـیـتـ ضـدـقـارـچـیـ آـنـهـاـ درـ بـرـاـبـرـ ۱۹ـ نـزـادـ قـارـچـ مـوـردـ بـرـرـسـیـ قـرـارـ گـرفـتهـ، ۱۸۵ـ نـوـعـ اـزـ آـنـهـاـ حـدـاـقـلـ درـ بـرـاـبـرـ یـکـ نـزـادـ اـزـ قـارـچـ فـعـالـیـتـ ضـدـقـارـچـیـ نـشـانـ دـادـهـانـدـ [۱]. اـزـ بـینـ ۴۹ـ اـسـانـسـ گـیـاهـیـ آـزـمـایـشـ شـدـهـ، اـسـانـسـهـاـیـ حـاـصـلـ اـزـ آـوـیـشـ، *Eugenia caryophyllata*, *Cynamomum zylanicum*

پـوـسـیـدـگـیـ خـاـكـسـتـرـیـ نـاـشـیـ اـزـ قـارـچـ بوـتـرـتـیـسـ سـیـنـرـاـ، اـکـثرـ مـیـوـهـاـ وـ سـبـزـیـهـاـ وـ هـمـچـنـیـنـ تـعـدـادـ زـیـادـیـ اـزـ درـخـتـچـهـهـ، درـخـتـانـ، گـلـهـاـ وـ گـیـاهـانـ عـلـفـیـ رـاـ تـحـتـ تـأـیـیرـ قـرـارـ مـیـ دـهـدـ. آـلـوـگـیـ اـولـیـهـ درـ مـرـحلـهـ غـنـچـهـ بـوـدـنـ گـلـهـاـ اـنـفـاقـ مـیـ اـفـنـدـ. عـلـیـمـ بـیـمـارـیـ بـسـتـهـ بـهـ گـیـاهـ مـیـزـبـانـ وـ قـسـمـتـ مـوـرـدـ حـمـلـهـ فـرـقـ مـیـ کـنـدـ. عـلـیـمـ عـمـومـیـ شـاـمـلـ ظـهـورـ رـنـگـ قـهـوـهـاـیـ تـاـ خـاـكـسـتـرـیـ کـهـ یـکـ پـوـسـیـدـگـیـ کـرـکـ مـانـنـدـ بـهـ رـنـگـ سـفـیدـ خـاـكـسـتـرـیـ تـاـ خـرـمـاـبـیـ بـهـ دـلـیـلـ حـضـورـ مـیـسـلـیـوـمـهـاـ وـ اـسـپـورـهـاـ تـشـکـلـ مـیـ دـهـدـ کـهـ نـامـ بـیـمـارـیـ هـمـ اـزـ آـنـ گـرـفـتـهـ شـدـهـ اـسـتـ. بـافـتـهـاـیـ آـلـوـدـهـ بـهـ رـنـگـ تـیرـهـ تـاـ قـهـوـهـاـیـ دـرـ آـمـدـهـ وـ هـمـهـ مـیـوـهـ مـمـكـنـ اـسـتـ بـدـوـنـ تـجـزـیـهـ شـدـنـ، پـوـسـیـدـهـ شـوـدـ. اـسـپـورـهـاـیـ قـارـچـ جـهـتـ جـوـانـهـزـنـیـ بـهـ رـطـوبـتـ آـزادـ یـاـ سـطـرـحـ مـرـطـوبـتـ وـ دـمـاـیـ ۲۵ـ - ۱۵ـ درـجـهـ سـانـتـیـ گـرـادـ نـیـازـ دـارـدـ. قـارـچـ بوـتـرـتـیـسـ درـ دـمـاهـاـیـ پـایـینـ نـیـزـ فـعـالـ بـوـدـ وـ سـبـ پـوـسـیـدـگـیـ وـ خـسـارتـ درـ سـبـزـیـهـاـ وـ مـیـوـهـاـ مـیـ شـوـدـ. تـوـدهـ مـیـکـرـوـسـکـوـبـیـ کـنـیـدـیـهـاـ رـوـیـ سـطـحـ بـافـتـهـاـیـ آـلـوـدـهـ بـهـ صـورـتـ خـوـشـهـاـیـ شـبـیـهـ انـگـوـرـ تـشـکـلـ مـیـ شـوـنـدـ [۶]. اـمـروـزـهـ بـرـایـ کـنـتـرـلـ عـوـامـلـ بـیـمـارـیـزـایـ گـیـاهـیـ اـزـ تـرـکـیـبـاتـ مـصـنـوـعـیـ تـحـتـ عنـوـانـ قـارـچـ کـشـهـاـ بـهـ طـورـ گـسـتـرـهـ اـسـتـفـادـهـ مـیـ شـوـدـ. اـینـ تـرـکـیـبـاتـ مـصـنـوـعـیـ اـغـلـبـ رـوـیـ سـلـامـتـیـ اـنـسـانـ اـثـرـاتـ زـیـانـبـارـیـ دـارـنـدـ کـهـ نـتـیـجـهـ اـسـتـفـادـهـ اـزـ اـینـ موـادـ اـفـرـاـیـشـ بـیـمـارـیـهـاـیـ سـرـطـانـیـ وـ قـلـبـیـ عـرـوـقـیـ درـ جـوـامـعـ اـنـسـانـیـ وـ حـیـوانـیـ اـسـتـ. اـینـ موـادـ بـهـ دـلـیـلـ مـانـدـگـارـیـ زـیـادـیـ کـهـ دـارـنـدـ اـغـلـبـ مـحـیـطـ زـیـستـ رـاـ تـهـدـیدـ مـیـ کـنـنـدـ. اـزـ جـملـهـ رـوـشـهـاـیـ سـالـمـ وـ بـیـخـطـرـ بـرـایـ کـنـتـرـلـ بـیـمـارـیـهـاـیـ پـسـ اـزـ بـرـداـشـتـ، اـسـتـفـادـهـ اـزـ تـرـکـیـبـاتـ طـبـیـعـیـ تـحـتـ عنـوـانـ عـصـارـهـهـاـیـ طـبـیـعـیـ یـاـ اـسـانـسـهـاـیـ گـیـاهـیـ اـسـتـ [۱۱]. سـاخـتـمـانـ اـصـلـیـ اـسـانـسـهـاـیـ گـیـاهـیـ رـاـ اـیـزوـپـرـنـ تـشـکـلـ مـیـ دـهـدـ. اـینـ تـرـکـیـبـاتـ بـهـ گـروـهـ تـرـپـنـوـئـیدـهـاـ وـ یـاـ فـنـیـلـ پـرـوـپـانـوـئـیدـهـاـ تـعـلـقـ دـارـنـدـ. زـمانـیـ کـهـ اـینـ تـرـکـیـبـاتـ حـاوـیـ اـکـسـیـؤـنـ باـشـنـدـ درـ گـروـهـ تـرـپـنـوـئـیدـهـاـ قـرـارـ مـیـ گـیرـنـدـ [۶]. تـرـکـیـبـاتـ مـوـجـودـ درـ اـسـانـسـهـاـ گـسـتـرـهـ وـسـیـعـیـ اـزـ مـتـاـبـولـیـتـهـاـیـ ثـانـوـیـهـ (Secondary metabolites) رـاـ شـامـلـ مـیـ شـوـنـدـ کـهـ تـوـسـطـ قـسـمـتـهـاـ مـخـتـلـفـ گـیـاهـانـ سـاخـتـهـ مـیـ شـوـنـدـ. بـیـشـترـ اـینـ تـرـکـیـبـاتـ درـ گـروـهـ تـرـپـنـوـئـیدـهـاـ قـرـارـ گـرفـتـهـ وـ خـواـصـ دـارـوـیـیـ زـیـادـیـ مـانـنـدـ

برای تهیه آن ۳۹ گرم از پودر تجاری آن یک در لیتر در آب مقطر حل شد و به مدت ۲۰ دقیقه در اتوکلاو (دما ۱۲۱ درجه و فشار ۱/۵ اتمسفر) سترون شد. بعد از اتوکلاو شدن به محیط کشت اجراه داده شد تا رسیدن به دما ۴۵-۴۰ درجه خنک شود. در این دما به میزان ۱۰۰ میلی گرم در لیتر استرپتومایسین به عنوان آنتی بیوتیک جهت حذف هر گونه آلودگی باکتریایی به آن افزوده شد و محیط کشت به دو قسمت مساوی تقسیم شد. یک قسمت بلا فاصله در پتری تشتک های ۸ سانتی متری توزیع شد و اجراه داده شد که جامد شود. این قسمت از محیط کشت برای اعمال تیمارها به روش استفاده از دیسک کاغذی استفاده شد. قسمت دوم از محیط کشت برای مخلوط شدن با انسان های مورد آزمایش به این صورت آماده شد که در طی زمانی که محیط کشت خنک می شد انسان های زیره سبز، ریحان و مریم گلی در غلط های ۲۵۰، ۵۰۰، ۷۵۰ و ۱۰۰۰ میکرولیتر بر لیتر و انسان آویشن در غلط های ۳۰، ۶۰، ۱۲۰ و ۲۵۰ میکرولیتر بر لیتر ابتدا در تؤیین ۸۰/۰۵ درصد حل شد [۹] و وقتی دما محیط ۴۵-۴۰ درجه بود به محیط کشت افزوده شد و بلا فاصله در تشتک های یکبار مصرف سترون ۸ سانتی متری به ازای هر تشتک پتری ۲۰ میلی لیتر، توزیع شد. جدایه تک کنیدی شده قارچ *B. cinerea* که قبل از روی توت فرنگی جداسازی شده بود، برای کشت روی محیط کشت استفاده شد. کشت به این صورت بود که با استفاده از چوب پنه سوراخ کن دیسک هایی به قطر ۰/۵ میلی متر از میسیلیوم های قارچ، از پیرامون تشتک پتری برداشته و در وسط آن به صورت معکوس قرار داده شد [۱۰]. در روش ترکیب انسان با محیط کشت، بلا فاصله پس از کشت قارچ، دور تشتک با پارافیلم مسدود شد در حالی که در روش استفاده از دیسک کاغذی برای اعمال تیمار انسان ها، بعد از اینکه قارچ به شرح بالا کشت گردید، انسان ها در غلط های مورد استفاده روی دیسک هایی از جنس کاغذ صافی (واتمن ۱) به قطر ۲ سانتی متر قرار داده شده و کاغذ آغشته به انسان در یک گوشه از تشتک قرار داده شد و بلا فاصله دور تشتک با پارافیلم مسدود شد. در این روش غلط انسان ها بر اساس حجم خالی تشتک محاسبه شد. تشتک های کشت شده در انکوباتور در دما ۲۴ درجه

فعالیت ضدقارچی بالایی در برابر قارچ بوترتیس سینزا داشته اند [۵]. از بین ۳۴۵ عصاره گیاهی، ۱۳ عصاره فعالیت ضدقارچی بالایی از خود نشان داده اند که از بین آنها عصاره گونه های *Allium* و *Capsicum* اثرات برجسته ای در این زمینه داشته اند. فعالیت قارچ کشی این ترکیبات بیشتر به وجود موادی مانند D-لیمونن، سیننول، بتا-میرسین، آلفا-پین، بتا-پین و کامفور مربوط می شود که در ترکیب انسان ها و عصاره های فوق الذکر حضور دارند [۲۰]. در پژوهش حاضر اثر بازدارنده ای انسان های زیره سبز، مریم گلی، ریحان و آویشن بر روی قارچ *B. cinerea* با دو روش ترکیب انسان با محیط کشت و استفاده از دیسک کاغذی مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش ها

انسان ها

انسان های استفاده شده در این پژوهش شامل انسان آویشن، ریحان، زیره سبز و مریم گلی می باشد که از شرکت تولید و فرآوری گیاهان دارویی زربند خردباری شده و با استفاده از دستگاه گاز کروماتوگرافی (GC) و گاز گروماتوگرافی همراه با طیف سنجی جرمی (GC/MS) در موسسه جنگل ها و مراتع کشور آنالیز شدند. مدل دستگاه مورد استفاده در آنالیز انسان ها، Shimadzu سری ۹A ساخت کشور ژاپن بود که مجهز به ستون DB-5 به طول ۳۰ متر و قطر داخلی ۰/۲۵ میلی متر است. برنامه ریزی حرارتی ستون به این صورت بود که از دما اولیه ۶۰ درجه تا دما نهایی ۲۱۰ درجه سانتی گراد که در هر دقیقه ۳ درجه به آن افزوده می شود و سپس از دما ۲۱۰ تا ۲۴۰ درجه با سرعت ۲۰ درجه در دقیقه افزوده شده و به مدت ۸/۵ دقیقه در دما ۲۴۰ درجه توقف می کند. آشکارساز FID با دما ۲۸۰ و دما محفظه تزریق ۳۰۰ درجه و گاز حامل شامل گاز هلیوم با درجه خلوص ۹۹/۹۹ درصد می باشد.

تیمار انسان ها روی قارچ *B. cinerea* در شرایط درون شیشه ای PDA محیط کشت مورد استفاده برای کشت قارچ (Potato dextrose agar) از شرکت مرک (Merk) بود که

به صورت روزانه تا شش روز مورد ارزیابی قرار گرفتند. پژوهش حاضر به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تکرار انجام شد و آزمایش دو با تکرار شد. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار MSTATC تجزیه آماری شدند و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام گرفت.

نتایج

نتایج حاصل از آنالیز انسان‌ها با دستگاه گازکروماتوگرافی همراه با طیف سنجی جرمی (GC/MS) در جدول شماره ۱ آورده شده است. همان‌طور که در جدول مشاهده می‌شود انسان‌های آویشن، مریم گلی، ریحان و زیره سبز به ترتیب حاوی تیمول (۴۶ درصد)، آلفا - توجان (۳۴/۲ درصد) استراگول (۷۳/۴ درصد) و گاما ترپین (۲۵/۵ می‌باشد. البته علاوه بر ترکیبات فوق ترکیبات زیاد دیگری نیز در هر یک انسان‌ها وجود دارد که به طور کامل و دقیق در جدول شماره ۱ آورده شده است.

سانسی گراد قرار داده شد. میزان رشد قارچ به صورت روزانه تا شش روز که در تشتک‌ها در تیمار شاهد پر شدند، مورد بررسی قرار گرفت و درصد بازدارندگی انسان با استفاده از فرمول به شرح زیر محاسبه شد:

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

IP = درصد بازدارندگی

dc = قطر هاله قارچ در شاهد

dt = قطر هاله قارچ در تیمار انسان

بررسی قارچ کش یا قارچ ایستا بودن انسان‌های مورد آزمایش با پر شدن پتری‌های شاهد، آزمایش اول به اتمام رسید. در تیمارهایی که هیچ‌گونه رشدی صورت نگرفته بود جهت مشخص کردن اینکه انسان‌های تیمار شده از رشد قارچ جلوگیری کرده یا آن را از بین برده‌اند آزمایش دیگری ترتیب داده شد به این صورت که محیط کشت PDA که هیچ تیمار انسانی روی آن اعمال نشده بود تهیه و دیسک‌های قارچ کشت شده در آزمایش اول که هیچ رشدی نشان نداده بودند، به محیط‌های جدید عاری از انسان انتقال داده شده و دوباره

جدول شماره ۱- درصد اجزای تشکیل دهنده انسان‌های مورد استفاده در این پژوهش

نام ترکیب	آویشن	مریم گلی	ريحان	زیره سبز
α -Thujene	۱/۲	۰/۲۷	۰/۱۱	۰/۴۳
Tricyclene	-	۰/۲۵	-	-
α -Pinene	-	۷/۲	-	۱/۴
Camphene	۰/۶	۷/۵	-	۰/۳
Sabinene	۱/۸	۰/۱۵	-	۰/۴۵
β -Pinene	۰/۱	۲/۵	۰/۱۳	۱۹/۷۴
Myrcene	۲/۴	۰/۹۴	۰/۱۴	۰/۶
α -Phellanderene	۰/۱	۰/۰۵	-	۱/۰۴
α -Terpinene	۲/۱	۰/۷	۰/۰۹	۰/۰۷۳
ρ -Cymene	۱۷/۶۹	۷/۳۳	۰/۱۳	۱۲/۹
γ -Terpinene	۱۴/۸	۰/۴	۰/۰۸	۲۵/۵
α -Thujone	-	۳۴/۲	-	-
β -Thujone	-	۱۴/۴۶	-	-
Camphor	-	۱۷/۰۵	-	-



ادامه جدول شماره ۱- درصد اجزای تشکیل دهنده اسانس‌های مورد استفاده در این پژوهش

نام ترکیب	آویشن	مریم‌گلی	ریحان	زیره سبز
Borneol	۱/۱	۲/۰۵	-	-
Cumin aldehyde	-	-	-	۲۴/۹
Terpinen-4-ol	-	۰/۳۱	-	-
α -Terpineol	-	۰/۵	-	-
Bornyl acetate	-	۰/۴۶	-	-
α -Gargunene	-	۰/۷۸	-	-
Carvacrol	۲/۵۹	-	-	-
Aromadendrene	-	۱/۱۵	-	-
Limonene	۱/۲۱	-	-	-
Caryophyllene oxide	-	۰/۴۶	-	-
Thymol	۴۶	-	-	-
β -Phellandrene	-	-	-	۱/۱۴
γ -Elemene	-	-	۰/۲	-
P-menth-1-en-7- al	-	-	-	۰/۳
Nonanal-dimethyl acetet	-	-	-	۱/۸
1,8- cineol	۰/۴	-	۰/۲۱	-
Linalool	۲/۳۸	-	۲۲/۲۴	-
Dihydro linalool	-	-	۰/۱۸	-
Linalool oxide	-	-	۰/۲۴	-
Estragol(Methyl chavicol)	-	-	۷۳/۳۸	-
Citronellol	-	-	۰/۲	-
Chavicol	-	-	۰/۳۷	-
Methyl eugenol	-	-	۰/۳۸	-
Cis- Bergamotene	-	-	۰/۴	-
δ -Cadinene	-	-	۰/۷	-
(Z and E)- β -Ocimene	-	-	۰/۱۶	-
Trans- sabinene	۱	-	-	-
Methyl carvacrol	۰/۴	-	-	-

قارچ موثر بوده و به طور معنی‌داری از رشد قارچ بوترتیس سینرا جلوگیری کردند. البته اثر بازدارندگی اسانس‌ها تحت تاثیر روش اعمال تیمار قرار گرفته است به طوری که در روش ترکیب با محیط کشت، اسانس آویشن و زیره سبز نسبت به اسانس مریم‌گلی و ریحان کارآیی بالایی از خود نشان داده‌اند. همان‌طور که در جدول شماره ۲ نشان داده شده است اسانس

بررسی اثر ضدقارچی اسانس‌ها

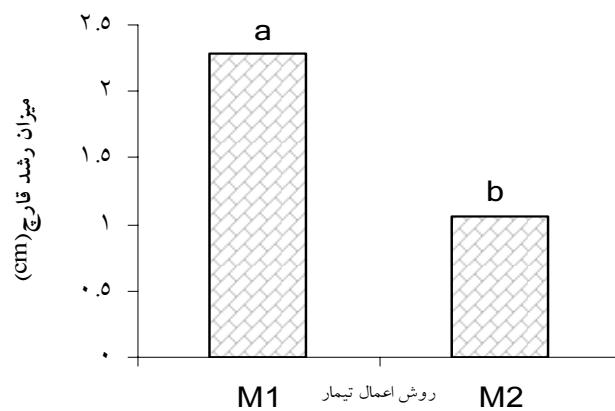
در روش استفاده از دیسک کاغذی همه اسانس‌های استفاده شده موثرتر از روش ترکیب اسانس با محیط کشت بودند به عبارت دیگر روش اعمال تیمار تاثیر معنی‌داری در اثر بازدارندگی اسانس‌ها از رشد قارچ داشت (شکل شماره ۱). هر چهار اسانس به کار رفته در این پژوهش در جلوگیری از رشد



چندان موثر نبود به طوری که در غلظت‌های ۲۵۰، ۵۰۰ و ۷۵۰ میکرولیتر بر لیتر به ترتیب صفر، صفر، ۱۶ و ۳۰/۲۶ درصد از رشد قارچ جلوگیری نمود (جدول شماره ۳). ولی این انسانس در روش استفاده از دیسک کاغذی (M_2) در جدول شماره ۲ و (۳) در همه غلظت‌های به کار رفته از رشد قارچ جلوگیری کرد. وقتی انسانس ریحان روی قارچ *B. cinerea* با روش ترکیب با محیط کشت تیمار شد، قدرت بازدارندگی انکوک نشان داد (M_1 جدول شماره ۳ و ۲) به طوری که در غلظت‌های ۲۵۰، ۵۰۰ و ۷۵۰ میکرولیتر بر لیتر به ترتیب صفر، صفر و ۸/۹ درصد از رشد قارچ جلوگیری نمود. در حالی که این انسانس در روش استفاده از دیسک کاغذی (M_2) در جدول شماره ۲ و (۳) در هر چهار غلظت به کار رفته به طور کامل از رشد قارچ *B. cinerea* جلوگیری کرد (جدول شماره ۳). انسانس آویشن در غلظت‌های ۲۵۰، ۵۰۰ و ۷۵۰ میکرولیتر بر لیتر در روش ترکیب با محیط کشت انسانس آویشن نسبت به سایر انسانس‌ها بهتر بوده و به طور معنی‌داری از رشد قارچ جلوگیری کرد (جدول شماره ۲ و ۳). انسانس زیره سبز در روش ترکیب با محیط کشت (M_1) در جدول شماره ۲ و (۳) در غلظت‌های ۲۵۰، ۵۰۰ و ۷۵۰ میکرولیتر بر لیتر به ترتیب ۳۷/۸۶، ۸۲/۶ و ۱۰۰ درصد از رشد قارچ جلوگیری نمود (شکل شماره ۲). در حالی که این انسانس در روش استفاده از دیسک کاغذی (M_2) در جدول شماره ۲ و (۳) در هر چهار غلظت به کار رفته به طور کامل از رشد قارچ جلوگیری کرد.

آویشن در غلظت‌های ۳۰ و ۶۰ با انسانس زیره سبز در غلظت ۲۵۰ و انسانس مریم گلی در غلظت ۱۰۰۰ میکرولیتر بر لیتر در یک سطح آماری قرار گرفته‌اند. همچنین انسانس آویشن در غلظت ۲۵۰ با انسانس زیره سبز در غلظت‌های ۵۰۰ و ۷۵۰ میکرولیتر بر لیتر در یک سطح آماری قرار گرفته‌اند. انسانس ریحان در غلظت‌های ۲۵۰، ۵۰۰، ۷۵۰ و ۱۰۰۰ میکرولیتر بر لیتر با انسانس مریم گلی در غلظت‌های ۲۵۰ و ۵۰۰ میکرولیتر بر لیتر در یک سطح آماری قرار گرفته و با شاهد و توئین اختلاف معنی‌داری نشان ندادند (جدول شماره ۲). در کل در روش ترکیب با محیط کشت انسانس آویشن نسبت به سایر انسانس‌ها بهتر بوده و به طور معنی‌داری از رشد قارچ جلوگیری کرد (جدول شماره ۲ و ۳). انسانس زیره سبز در روش ترکیب با محیط کشت (M_1) در جدول شماره ۲ و (۳) در غلظت‌های ۲۵۰، ۵۰۰ و ۷۵۰ میکرولیتر بر لیتر به ترتیب ۳۷/۸۶، ۸۲/۶ و ۱۰۰ درصد از رشد قارچ جلوگیری کرد (شکل شماره ۲). در حالی که این انسانس در روش استفاده از دیسک کاغذی (M_2) در جدول شماره ۲ و (۳) در هر چهار غلظت به کار رفته به طور کامل از رشد قارچ جلوگیری کرد.

انسانس مریم گلی در کنترل قارچ *B. cinerea* در روش ترکیب انسانس با محیط کشت (M_1 جدول شماره ۳ و ۲)



شکل شماره ۱- تاثیر روش اعمال تیمار بر اثر بازدارندگی انسانس‌ها روی قارچ *Botrytis cinerea*
*روش ترکیب انسانس با محیط کشت و M_1 =روش استفاده از دیسک کاغذی

جدول شماره ۲- نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌های حاصل از بررسی اثر بازدارندگی چهار اسانس گیاهی روی قارچ *B. cinere*

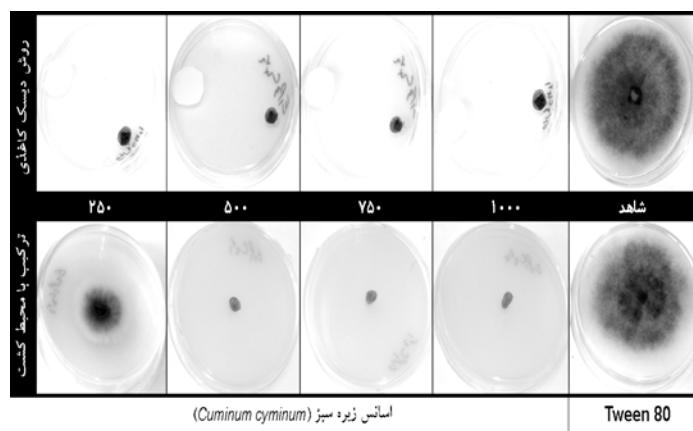
غلظت اسانس ($\mu\text{L.L}^{-1}$)	نوع اسانس	زیره سبز	ریحان	مریم گلی	آویشن
M ₁ C ₁		۴/۶۶cd	۷/۵a	۷/۵a	۵/۲۶bc
M ₁ C ₂		۱/۴۶fg	۷/۵a	۷/۵a	۴/۸۳c
M ₁ C ₃		۱gh	۷/۵a	۷/۳ab	۲/۸ef
M ₁ C ₄		۰ h	۷/۸۳a	۵/۲۳bc	۱/۵۳fg
M ₂ C ₁		۰ h	۰ h	۰ h	۳/۶de
M ₂ C ₂		۰ h	۰ h	۰ h	۲/۶۶ef
M ₂ C ₃		۰ h	۰ h	۰ h	۲/۷ef
M ₂ C ₄		۰ h	۰ h	۰ h	۱/۸۳fg
شاهد		۷/۵a	۷/۵a	۷/۵a	۷/۵a
توئین		۷/۵a	۷/۵a	۷/۵a	۷/۵a

-روش ترکیب اسانس با محض کشت و M₁=روش استفاده از دیسک کاغذی.

C₁, C₂, C₃ و C₄ به ترتیب ۲۵۰، ۵۰۰، ۷۵۰ و ۱۰۰۰ میکرولیتر بر لیتر (برای اسانس‌های زیره سبز، ریحان و مریم گلی) و ۲۵۰، ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ میکرولیتر بر لیتر برای اسانس آویشن

جدول شماره ۳- درصد بازدارندگی چهار اسانس گیاهی روی قارچ *Botrytis cinerea*

غلظت اسانس ($\mu\text{L.L}^{-1}$)	نوع اسانس	زیره سبز	ریحان	مریم گلی	آویشن
M ₁ C ₁	۳۷/۸۶	۰	۰	۲۹/۸۶	
M ₁ C ₂	۸۲	۰	۰	۳۶	
M ₁ C ₃	۸۶/۶	۰	۱۶	۶۲/۶	
M ₁ C ₄	۱۰۰	۸/۶	۳۰/۲۶	۸۰	
M ₂ C ₁	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۵۲/۵	
M ₂ C ₂	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۶۴/۵	
M ₂ C ₃	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۶۴/۵	
M ₂ C ₄	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۷۵/۶	
شاهد	۰	۰	۰	۰	
توئین	۰	۰	۰	۰	

شکل شماره ۲- تاثیر اسانس زیره سبز روی رشد قارچ *Botrytis cinerea*

بحث

آزمایش وجود دارد و لیمونن که ۱/۲۱ درصد در آویشن وجود دارد، به علت حلالیت پایین و نفوذ کم در دیواره سلولی اثر بازدارندگی کمتری در برابر عوامل بیماری‌زای قارچی دارند [۷]. انسانس زیره سبز دارای عامل آلدئیدی ($\text{CH} = \text{O}$) است که این عامل فعالیت ضدمیکروبی زیادی دارد. به نظر می‌رسد اثر کنترل‌کنندگی انسانس زیره سبز مورد استفاده در این پژوهش (جدول شماره ۳) وجود کومین آلدئید (۲۴/۹ درصد)، گاما ترپین (۲۵/۵ درصد)، α -Cymene (۱۲/۹ درصد) و یا گاما ترپین (۲۵/۵ درصد)، α -Cymene (۱۲/۹ درصد) و یا هر کدام از ترکیبات شناخته شده باشد که به میزان اندک در ترکیب آن وجود دارند. مکانیسم عمل آلدئیدها به این صورت است که در پیوند به کربن، بار الکترونی منفی زیادی پیدا می‌کنند و در فرآیندهای بیولوژیک، ترکیبات دارای بار منفی به عنوان یک عامل محافظت کننده عمل کرده و با انتقال الکترون به نیتروژن موجود در ساختمان پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک میکروارگانیسم‌ها، مانع رشد آنها می‌شوند [۱۰]. انسانس مریم گلی در روش ترکیب با محیط کشت کارآیی نسبتاً کمی در جلوگیری از رشد قارچ داشته ولی در روش استفاده از دیسک کاغذی اثر بازدارندگی کامل دارد. ویلکوویچ و همکاران (۲۰۰۲) اعلام کردند که انسانس مریم گلی در روش استفاده از دیسک اثر ضدمیکروبی ندارد [۱۸] که با نتایج این پژوهش همخوانی ندارد. عوامل زیادی در این اختلاف نتایج می‌تواند دخالت داشته باشد. از جمله اختلاف در شرایط آزمایش و مهمنت از آن مونه شیمیابی مریم گلی که استفاده شده است. نوع و میزان مواد موثره گیاهان دارویی تحت تاثیر عوامل گوناگونی قرار دارد و بسته به شرایط آب و هوایی، خاکی و حتی عرض جغرافیابی محل رشد آن‌ها فرق می‌کند و به احتمال زیاد اختلاف بین نتایج به دست آمده در این پژوهش با نتایج ویلکوویچ و همکاران (۲۰۰۲)، استفاده از مونه‌های شیمیابی متفاوت مریم گلی می‌باشد. ماده موثره انسانس مریم گلی مورد استفاده در پژوهش حاضر یک متواترین به نام آلفا-توجن است که به میزان ۳۴/۲ درصد در ترکیب آن وجود دارد. همان‌طور که در بالا هم اشاره شد توجن برای سلول‌های زنده سمی می‌باشد و در غلظت‌های بالا می‌تواند سبب تشنج و آشوب سلولی شود. توجن در ساختمان خود دارای عامل کتونی است

قارچ *B. cinerea* یک بیمارگر مهم است که عامل کپ خاکستری روی میوه‌های توت‌فرنگی و انگور و سایر محصولات فسادپذیر می‌باشد که باعث از بین رفتن محصول در مرحله پس از برداشت می‌شود. استفاده از ترکیبات شیمیابی برای مبارزه با این بیمارگر روی محصولاتی که به صورت مستقیم مصرف می‌شوند، خطرناک است. به همین خاطر استفاده از ترکیبات سالم و این به خصوص ترکیباتی که منشای گیاهی دارند، ضروری می‌باشد. این قارچ نسبت به سایر قارچ‌ها به اثرات قارچی‌کشی و قارچ ایستایی انسان‌های گیاهی حساسیت بالایی دارد. انسان‌های گیاهی از ترکیبات مختلفی تشکیل یافته‌اند و خاصیت ضدقارچی و ضدبакتریایی آنها در نتیجه فعالیت سینزیستی ترکیبات موجود در آن می‌باشد [۳، ۱۹].

انسان‌ها از نظر شیمیابی ترکیبات پیچیده‌ای هستند که اغلب انواع مختلف مواد شیمیابی در ترکیب آنها وجود دارد که شامل هیدروکرین‌ها (α -Terpinene)، α -Cymene، γ -Terpinene (Myrcene)، Thymol و Linalool (Estragol) (Methyl chavicol) که در انسان‌های ریحان و آویشن وجود دارند اما در انسان‌های زیره سبز و مریم گلی یافت نشده‌اند. تیمول یک منوترین الکلی است که از Cymene مشتق شده و به نام هیدروکسی سیمین هم خوانده می‌شود این ترکیب خاصیت ضدغفارنی کنندگی قوی دارد و از آویشن استخراج شده است، کتون‌ها (Thujone) که برای سلول‌های زنده سمی بوده و در غلظت‌های بالا باعث تشنج و آشوب سلولی می‌شود. دارای دو ایزومر آلفا و بتا است که ایزومر آلفا از نظر سمیت برای سلول‌های زنده از ایزومر بتا فعال‌تر است، آلدئیدها (Cumin aldehyde) که یک بنزاکلید است که یک گروه ایزوپروپیل در موقعیت ۴ جایگزین شده است با فرمول ($\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{O}$)، اترها و ... می‌باشد که در هر انسان یک یا چند گروه از این مواد نقش اصلی را در خواص انسان بازی می‌کند. منوترین‌های هیدروکرینی نظیر بتامیرسن که ۲/۴ درصد در آویشن، ۰/۹۴ درصد در مریم گلی، ۰/۶ درصد در زیره سبز و ۰/۱۴ درصد در ریحان مورد



ترکیبات فنلی روی غشای سلولی تاثیر گذاشته و در کار آن اختلال ایجاد می‌کنند و در بعضی موارد باعث تغییر در ساختار آن می‌شود که باعث افزایش آماس و نفوذپذیری غشای سیتوپلاسمی در اثر پراکندگی و از دست دادن شب pH سلولی شده و سبب کاهش سطح ATP و از دست دادن نیروی محرك پروتون و در نهایت منجر به مرگ سلول می‌شود [۱۴]. بیشترین آسیب وارد شده به بافت قارچ به جذب مواد غذایی، سنتز اسیدهای نوکلئیک و فعالیت ATP-ase مربوط می‌شود. گلوكر نقش مهمی در تعادل pH سلول بازی می‌کند و سلول از این ماده به عنوان منبع انرژی برای ATP-ase و پمپ پروتونی $H^+-ATP\text{-}ase$ استفاده می‌کند. غشای سلول اولین هدف ترکیبات طبیعی فرار هست به طوری که شکسته شدن دیواره سلولی در باکتری‌ها و قارچ‌ها توسط ترین‌ها مشاهده شده است.

خصوصیات چربی دوستی از خواص مهم انسان‌ها در بازدارندگی از رشد عوامل بیماری زا می‌باشد [۲]. به طوری که ویژگی چربی دوستی مونوترپین‌های حلقوی باعث جدا شدن آنها از فاز آبی غشای درون سلول می‌شود. ترکیبات فرار حلقوی با گروه‌های هیدروکسیل فنلی، باندهای هیدروژنی تشکیل داده که جایگاه‌های فعالی آنزیمی عوامل بیماری زا را هدف قرار می‌دهند [۱۹]. میزان فعالیت ضدقارچی ترکیبات فنلی بستگی به گروه هیدروکسیل و محل قرار گرفتن آنها روی ساختار فضایی شان دارد [۱۳]. به نظر می‌رسد دلیل کارآیی کم انسان‌ها در روش ترکیب با محیط کشت نسبت به روش استفاده از دیسک کاغذی این باشد که در روش ترکیب با محیط کشت مقداری از انسان‌س یا مواد موثره آن در ساختمان محیط کشت PDA به دام افتاده و نمی‌تواند روی قارچ‌ها تاثیر بگذارد یا این که به دلیل واکنش ترکیبات آب موجود در انسان‌س با آب یا اجزای دیگر تشکیل دهنده محیط کشت می‌باشد که کارآیی انسان‌ها را کاهش می‌دهد [۱۱]. در هر حال دلیل اصلی اثر بازدارندگی انسان‌ها از رشد قارچ، ترکیبات معطر موجود در انسان‌ها می‌باشد که در فضای خالی پتی دیش جمع می‌شوند [۸]. بعضی انسان‌ها که کارآیی بیشتری در جلوگیری از رشد قارچ دارند، ولی با گذشت زمان

با فرمول ($C_{10}H_{16}O$) که دارای دو ایزومر آلفا و بتا است که ایزومر آلفا از نظر سمیت برای سلول‌های زنده نسبت به ایزومر بتا فعال‌تر است. در انسان مريم گلی استفاده شده در این پژوهش هر دو ایزومر آلفا (۳۴/۲ درصد) و بتا (۱۴/۶ درصد) وجود دارند [۱۸].

الکل‌های ترپنئیدی از طریق تجزیه پروتئین‌ها و دهیدراته کردن آنها باعث توقف رشد میکروارگانیسم‌ها می‌شوند [۱۳]. نتایج این پژوهش که نشان می‌دهد انسان ریحان در جلوگیری از رشد قارچ *B. cinerea* کارآیی کمی دارد، با نتایج پلوتو و همکاران (۲۰۰۳) همخوانی ندارد. آنها گزارش کرده‌اند که انسان ریحان رشد قارچ *B. cinerea* را تا ۹۰ درصد کنترل می‌کند [۱۱]. آنها نشان دادند وقتی آلدید آلفا-فتابنیک ترانس-۲-دسانال به محیط کشت PDA اضافه می‌شود، اثر خود را در برابر قارچ بوتریس از دست داده ولی وقتی به شکل بخار به کار می‌رود در برابر آن قارچ کش می‌باشد [۱۱]. انسان ریحان حاوی لیتالول (۲۲/۲۴ درصد با فرمول $C_{10}H_{18}O$) و استراگول (۷۳/۳۸ درصد با فرمول $C_{10}H_{12}O$) می‌باشد که ترین الكل (ترپنئید با ساختار الكلی) بوده و فعالیت ضدقارچی بالایی دارند [۱۱]. طبق گزارش اتحادیه اروپا استراگول احتمالاً سرطان را است. الكل‌های موجود در انسان‌ها حلالیت ترپنئیدهای موجود در انسان را در آب افزایش می‌دهد. به نظر می‌رسد دلیل اصلی کارآیی پایین انسان ریحان، ساختار الكلی آن است که از طریق ایجاد پیوندهای هیدروژنی با ترکیبات سازنده محیط کشت (PDA) و اجزای سازنده انسان، غیرفعال می‌گردد. ولی وقتی به شکل بخار به کار می‌رود از طریق تجزیه و دهیدراته کردن پروتئین‌های موجود در ساختمان قارچ اثر خود را به جا گذاشته و کاملاً از رشد قارچ جلوگیری می‌کند. لیتالول به میزان ۲/۲۸ درصد در آویشن مورد آزمایش نیز وجود دارد. پژوهش‌های انجام شده در مورد خواص ضدمیکروبی ترکیبات شیمیابی نشان داده که فنل‌ها نسبت به الكل‌ها، آلدیدها و اترها فعالیت ضدقارچی بالایی دارند. برای مثال تیمول موجود در انسان آویشن که به میزان ۶ درصد در انسان آویشن مورد استفاده در این پژوهش وجود دارد، یک ترکیب فنلی می‌باشد [۳].



تا نتیجه مطلوب حاصل شود. البته با توجه به این که تیمار میوه‌ها با انسس‌های گیاهی طعم آنها را تحت تاثیر قرار می‌دهد بنابراین احتمال دارد پذیرش میوه‌هایی که تیمارهای انسانسی روی آنها اعمال شده است از سوی مصرف‌کننده با مشکل مواجه شود ولی باید سعی شود با استفاده از روش‌های مناسب حداقل غلظت از انسس‌ها استفاده شود تا اثراتی که روی کیفیت میوه می‌گذارد به حداقل برسد. البته تا رسیدن به این امر مهم راه زیادی در پیش است و می‌بایست تحقیقات زیادی انجام شود تا امکان استفاده از انسس‌های گیاهی در فرمولاسیون‌های مناسب برای هر کدام از محصولات فراهم شود.

قارچ شروع به رشد می‌نماید که این بنا به پیشنهاد زیکا (۱۹۸۸) می‌تواند به این دلیل باشد که ترکیبات معطر از طریق تبخیر در مدت زمان طولانی انکوباسیون ناپذید شده و اجازه رشد مجدد قارچ را می‌دهند [۲].

نتیجه‌ای که از این پژوهش می‌توان گرفت این است که انسس‌های حاصل از گیاهان دارویی در جلوگیری از رشد قارچ بوتریس موثر هستند و می‌توانند جایگزین مواد شیمیایی مصنوعی در کنترل این قارچ بیماری‌زای مهم شود. به خصوص در روی میوه‌هایی که روی آنها فرآیندی صورت نگرفته و به مصرف مستقیم انسان می‌رسند. علاوه بر این روش اعمال تیمار در اثر بازدارندگی انسس‌ها در برابر این قارچ خیلی اهمیت دارد و باید بهترین روش اعمال تیمار به کار گرفته شود.

منابع

1. Amin G, Sharifabadi AD, Salehi surmaghi MH, Yasa N, Emani M, Shidfar MR, Amin M, Moghadami M, Kordbacheh P and Zeini F. Screening of Iranian plants for antifungal activity: 2004, part 1. Available in: <http://www1.tums.ac.ir/daru/DaruVolume10-No1-2002/Amin1.htm>. Page 1 - 12.
2. Bayrak, A and Akgul A. Composition of Essential oils from Turkish Salvia species. *J. Photochem.* 1987; 26 (3): 846 - 7.
3. Cauladis M, Tzakou O, Kujundzic S, Sokovic M and Mimica-dukic N. Chemical analysis and antifungal activity of *Thymus striatus*. *J. Phototherapy Res.* 2004; 18: 40 - 2.
4. Dellacasa AD, Bailac PN and Ponzi MI. *In vitro* activity of essential oils from San Luis-argentina against ascospaera apis,. *J. Essential Oil Res.* 2003; 15: 282 - 5.
5. Kader AA. A perspective on postharvest horticulture (1978 - 2003). *J. Hort. Sci.* 2003; 30 (5): 1004 - 8.
6. Kulakiotu EK, Thanassoulopoulos CC and Sfakiotakis, EM. Biological control of *Botrytis cinerea* by volatiles of Isabella grape. *J. Phytopathol.* 2004; 94 (9): 924 - 31.
7. Lanciotti R, Gianotti A, Patrignani F, Belletti N, Guerzoni ME. and Gardini F. Use of natural aroma compounds to improve shelf life and safety of minimally processed fruits. *Trends in Food Sci. & Technol.* 2004; 15: 201 - 8.
8. Noleyan V and Narasimhan P. Antifungal activity of some essential oil components. *Food Microbiol.* 1986; 3 (4): 331 - 6.
9. Oxenham SK, Svoboda KP and Walters DR. Antifungal activity of the Essential Oil of Basil (*Ocimum basilicum*). *J. Phytopathol.* 2005; 153: 174 - 80.
10. Paranagama PA, Abeysekera KHT, Abeywickrama K and Nugaliyadde L. Fungicidal and anti-aflatoxigenic effects of the essential oil of *Cymbopogon citratus* (DC.)



- Stapf. (Lemongrass) against *Aspergillus flavus* Link isolated from stored rice. *J. Letters in Applied Microbiol.* 2003; 37: 86 – 90.
- 11.** Plotto A, Roberts RG, Roberts DD. Evaluation of plant essential oils as natural postharvest disease control of tomato (*Lycopersicum esculentum*). *Acta Hort.* 2003; 628: 737 - 45.
- 12.** Rasooli I, Rezaee MB, Moosavi ML and Jaimand K. Microbial sensitivity to and chemical properties of the essential oil of *Artemisia annua* L., *J. Essential Oil Res.* 2003; 15: 59 - 62.
- 13.** Shekarforoush SS, Nazar AHK, Firuzi R and Rostami M. Effects of storage temperatures and essential oils of oregano and nutmeg on the growth and survival of *Escherichia coli* O157:H7 in barbecued chicken used in Iran. *J. Food Control.* 2007; 18: 1428 - 33.
- 14.** Simpson T, Bikoba V and Mitcham EJ. Effects acetaldehyde on fruit quality and target pest mortality for harvested strawberries. *J. Postharvest. Biol. Technol.* 2003; 28: 405 - 16.
- 15.** Singh G, Marimuthu P, S de Heluani C and Catalan C. Chemical constituents and antimicrobial and antioxidant potential of essential oil and acetone extract of *Nigella sativa* seeds. *J. Sci. of Food and Agri.* 2005; 85: 2297 - 306.
- 16.** Tainter DR. Spiced and seasoning. 2nd ed. John Wiley and Sons. New York. 2001, pp: 38 - 81.
- 17.** Thanaboripat D, Mongkontanawut N, Suvathi Y and Ruangrattanamatee V. Inhibition of aflatoxin production and growth of *Aspergillus flavus* by Citronella oils. Available in www.kmitl.ac.th/ejkmil/vol4no1/InhibitionAflatoxin.pdf. 2004.
- 18.** Velickovic D, Ristic MS, Randjelovic NV, Smelcerovic AA. Chemical composition and antimicrobial characteristic of the essential oils obtained from the Flower, Leaf and Stem of *Salvia officinalis* L. originating from Southeast Serbia., *J. Essential Oil Res.* 2002; 14: 453 - 8.
- 19.** Wang CY and Buta JG. Maintaining quality of fresh-cut kiwifruit with volatile compounds. *J. Postharvest Biol. Technol.* 2003; 28: 181 - 6.
- 20.** Wilson CL, Solar JM, El Ghaouth A and Wisniewski ME. Rapid evaluation of plant extracts and essential oils for antifungal activity against *Botrytis cinerea*. *J. Plant Disease* 1997; 81 (2): 204 - 10.
- 21.** Zaika LL. Spices and herbs: their antimicrobial activity and its determination. *J. Food Safety* 1988; 9: 97 - 118.



Antifungal Effects of Four Plant Essential Oils on *Botrytis cinerea* in Laboratory Conditions

Asghari Marjanlo A (M.Sc. Student)¹, Mostofi Y (Ph.D.)^{1*}, Heydari M (M.Sc. student)², Javan Nik Khah M (Ph.D.)³, Shoeibi Sh (Ph.D.)⁴

1- Department of Horticultural Science, College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

2- Department of Horticultural Science, College of Agriculture & Natural Resources, Islamic Azad University-Karaj Branch, Iran

3- Department of Horticultural Science, College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

4- Food and Drug Laboratory Research Center (FDLRC), Deputy for Food and Drug, MOH, Tehran, Iran

*Corresponding author: Postharvest Physiology Lab, Department of Horticultural Science, College of Agriculture and Natural Sciences, University of Tehran, Karaj, Iran

Tel: +98 – 261 – 2248721, Mobile: +98 – 912 – 5010495

Email: ymostofi@ut.ac.ir

Abstract

Background: Essential oils are very complex mixtures of compounds with variety of biological properties

Objective: In the present study, the effect of Cumin (*Cuminum cyminum*), Sage (*Salvia officinalis*), Basil (*Ocimum basilicum*) essential oil at 250, 500, 750 and 1000 $\mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}$ and Thyme essential oil at 30, 60, 120, 250 $\mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}$ on growth of *Botrytis cinerea* was investigated in *in vitro* condition.

Methods: This experiment was carried out with two different methods: mixing of essential oil with fungal culture medium (SM) and Pisk Diffusion Method (PDM).

Results: The results showed that inhibitory effect of essential oils on fungal growth is related to type and concentration of essential oils and treatment methods. The PDM is more efficient in controlling of *B. cinerea* growth than SM. Cumin, Sage and Basil essential oils inhibited the fungal growth completely in PDM at all applied concentrations. In SM, inhibitory effect was related to applied concentration. Cumin and Thyme essential oils at 250 $\mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}$ concentration inhibited the fungal growth, but Basil and Sage oils at the same concentration have no inhibitory effect against *B. cinerea*. The results of MIC (Minimum Inhibitory Concentration) and MLC (Minimum Lethal concentration) showed that essential oils used in this study at all applied concentrations with two different methods were fungi static, except Cumin at 1000 $\mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}$ in disk diffusion method that was fungicide.

Conclusion: Essential oils are natural products that have fewer side effects than synthetic pesticides. More research is necessary to replace synthetic pesticides with new formulations of these natural compounds especially for maintaining of the horticultural product quality.

Keywords: Botrytis Fungus, Sage, Cumin, Basil, Thyme

