Applied Chemistry Today **19** (2024) 243-260

Semnan University

Applied Chemistry Today

Journal homepage: https://chemistry.semnan.ac.ir/

ISSN: 2981-2437

Research Article

Phytochemical Investigation of Cumin, Black Cumin and Lavender Essential Oils, and Their Effects Against Tomato Pathogenic Fungus (*Fusarium Oxysporum*)

Hossein Dehghan[a,*], Seyed Abdollah Hashemi[b], Seyed Jalal Tabatabaei[c]

[a]*Medicinal Plants Research Center, Shahed University, Tehran, Iran*

[b]*Department of Plant Protection, Faculty of Agricultural Sciences, Shahed University, Tehran, Iran*

[c]*Department of Horticultural Science, Faculty of Agricultural Sciences, Shahed University, Tehran, Iran*

PAPER INFO

Article history:
Received: 15/Mar/2023
Revised: 28/May/2023
Accepted: 26/June/2023

Keywords:
Essential oil, Fusarium oxysporum, Tomato, Fruit coating.

ABSTRACT

The current study aimed to investigate the antifungal activities of cumin, black cumin, and lavender essential oils and their maltodextrin-based coatings against *Fusarium oxysporum*, one of the most locally predominant tomato fungal pathogens (Tehran, Iran). Also, investigation of some qualitative characteristics of coated tomato fruits during storage was aimed. The phytochemical constituents of the essential oils were evaluated using GC and GC-MS methods. Also, the inhibitory activities of the oils were examined against spore germination, mycelial growth, and fungal infection development on tomato fruits. According to the results, cuminaldehyde (34.54 %), γ-terpinene (18.30 %), p-cymen-7-ol (13.19 %) and p-cymenene (12.82 %) in cumin, carvone (28.74 %), p-cymen-7-ol (12.02 %), p-cymenene (11.55 %), safrole (8.93 %) and β-pinene (5.88 %) in black cumin, and camphor (19.11 %), eucalyptol (15.90 %), α-pinene (6.69 %), 3-carene (6.50 %) and β-Caryophyllene (5.38 %) in lavender essential oil were determined as main components. In spore germination assay, cumin, black cumin, and lavender essential oils exhibited potent activities with IC_{50} values of 1.05, 0.64 and 0.89 mg/mL, respectively. While, kresoxim-methyl (a standard antifungal agent) inhibited the fungal strain with IC_{50} value of 0.11 mg/mL. Black cumin oil showed the most activities against mycelial growth of fungus. Furthermore, the coating enriched with black cumin oil showed the most inhibitory activity to reduce fungal growth on inoculated fruits, with a severity reduction of 79.2%. Whereas, cumin and lavender coatings showed significant activities with 71.43 and 38.09% inhibition, respectively. The results indicated that black cumin coating is a potent antifungal coating that of interest for the bioactive packaging of tomato fruits to extend their shelf life.

DOI: https://doi.org/10.22075/CHEM.2023.30059.2160

© 2024 Semnan University.
This is an open access article under the CC-BY-SA 4.0 license.(https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/)

[*] **.Corresponding author:** Assistant Professor of Organic Chemistry. *E-mail address: h.dehghan@shahed.ac.ir*

How to cite this article: Dehghan, H., Hashemi, S. A., & Tabatabaei, S. J. (2024). Phytochemical investigation of cumin, black cumin, and lavender essential oils and their effects against tomato pathogenic fungus (Fusarium oxysporum). *Applied Chemistry Today*, 19(70), 243-260. (in Persian)

مقاله علمی پژوهشی

بررسی فیتوشیمیایی اسانس های زیره سبز، زیره سیاه و اسطوخودوس و اثر آن ها علیه قارچ بیماری زای گوجه فرنگی (*Fusarium oxysporum*)

حسین دهقان*[۱]، سید عبدالله هاشمی[۲]، سید جلال طباطبایی[۳]

[۱] مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران

[۲] گروه گیاهپزشکی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران

[۳] گروه باغبانی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران

اطلاعات مقاله

دریافت مقاله: ۱۴۰۱/۱۲/۲۴

بازنگری مقاله: ۱۴۰۲/۰۳/۰۷

پذیرش مقاله: ۱۴۰۲/۰۴/۰۵

کلمات کلیدی:

اسانس، فوزاریوم، گوجه فرنگی، پوشش میوه.

چکیده

پژوهش حاضر با هدف بررسی اثر ضدقارچی سه اسانس زیره سبز، زیره سیاه، اسطوخودوس و پوشش‌های حاوی این اسانس‌ها، که بر پایه مالتودکسترین فرموله شدند، علیه Fusarium oxysporum انجام شد. این قارچ یکی از بیماری‌زاترین پاتوژن‌های گوجه فرنگی در بازار میوه و تره بار تهران است. ترکیبات فیتوشیمیایی اسانس‌ها توسط روش‌های GC و GC-MS شناسایی و تعیین مقدار شدند. همچنین فعالیت ضدقارچی آن‌ها علیه جوانه زنی اسپور قارچ، رشد میسلیوم و میوه تلقیح شده بررسی شد. با توجه به نتایج، ترکیبات cuminaldehyde با ٪۳۴/۵۴، γ-terpinene با ٪۱۸/۳۰، p-cymen-7-ol با ٪۱۳/۱۹ و p-cymenene با ٪۱۲/۸۲ در اسانس زیره سبز، carvone با ٪۲۸/۷۴، p-cymen-7-ol با ٪۱۲/۰۲، p-cymenene با ٪۱۱/۵۵، safrole با ٪۸/۹۳ و β-pinene با ٪۵/۸۸ در اسانس زیره سیاه و camphor با ٪۱۹/۱۱، eucalyptol با ٪۱۵/۹۰، α-pinene با ٪۶/۶۹، 3-carene با ٪۶/۵۰ و β-caryophyllene با ٪۵/۳۸ در اسانس اسطوخودوس به عنوان اجزای اصلی آن‌ها مشخص شدند. با توجه به نتایج، اسانس زیره سیاه با IC_{50} معادل ۰/۶۴ mg/mL بهتر از اسانس‌های زیره سبز (IC_{50}= ۱/۰۵ mg/mL) و اسطوخودوس (IC_{50}= ۰/۸۹ mg/mL) علیه جوانه زنی اسپور قارچ عمل کرد. در حالی که IC_{50} مربوط به کرزوکسیم متیل (یک قارچ کش استاندارد) معادل ۰/۱۱ mg/mL بدست آمد. همچنین، نتایج فعالیت ضدقارچی اسانس‌ها علیه رشد میسلیوم نیز برتری نسبی اسانس زیره سیاه را نسبت به دو اسانس دیگر نشان می‌دهد. پوشش حاوی اسانس زیره سیاه توانست با مهار ۷۹/۳۷ درصدی رشد قارچ بر روی میوه تلقیح شده، بهترین عملکرد را نشان دهد. در حالی که پوشش‌های حاوی اسانس‌های زیره سبز و اسطوخودوس ۷۱/۴۳ و ۳۸/۰۹ درصد مهار نشان دادند نتایج نشان می‌دهد پوشش حاوی اسانس زیره سیاه یک پوشش ضد قارچ قوی است که می‌توان از آن با هدف افزایش طول انبارمانی و حفظ کیفیت میوه‌های گوجه فرنگی استفاده کرد.

DOI: https://doi.org/10.22075/CHEM.2023.30059.2160

This is an open access article under the CC-BY-SA 4.0 license.(https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/)

۱- مقدمه

گوجه فرنگی با نام علمی *Lycopersicum esculentum* L. یکی از پرمصرف‌ترین میوه‌ها در جهان است. کشورهای چین، هند، ترکیه، ایالات متحده آمریکا، مصر، ایران، ایتالیا، اسپانیا، برزیل، مکزیک و ایتالیا به ترتیب بزرگترین تولید کنندگان این محصول در جهان هستند. در سال‌های اخیر روند تولید این محصول در ایران افزایش داشته است. بطوری‌که با توجه به آخرین آمار

سازمان فائو، ایران در سال ۲۰۱۹ میلادی با تولید حدود رسمی ۵/۲۵ میلیون تن گوجه فرنگی در جایگاه هفتم جهان قرار داشته است (FAO, 2019). ارزش تولید گوجه فرنگی بیش از ۵۰ میلیارد دلار برآورد شده است و این امر سبب شده که گوجه فرنگی چهارمین محصول ارزشمند دنیا از نظر اقتصادی باشد [۱].

بیماری‌های پس از برداشت ۱۰ تا ٪ ۳۰ کل محصولات و در برخی از محصولات حساس مانند گوجه فرنگی بویژه در کشورهای در حال توسعه، بیش از ۳۰٪ محصول را از بین می‌برند. میزان خسارت پس از برداشت میوه‌ها و سبزیجات در ایالات متحده آمریکا به ترتیب حدود ۲۵ تا ۳۸٪ برآورد شده است [۲]. گوجه فرنگی به دلیل داشتن pH پایین و میزان آب و ترکیبات مغذی بالا، نسبت به حمله قارچ‌های بیماریزای گیاهی بسیار حساس است. عوامل قارچی علاوه بر ایجاد پوسیدگی ممکن است با تولید زهرابه‌های قارچی (مایکوتوکسین‌ها) در میوه، آن‌ها را جهت مصرف نامناسب کنند [۳]. عوامل بیماریزای زیادی به این محصول خسارت وارد می‌کنند. پوسیدگی در انبار بوسیله قارچ‌ها یکی از مهمترین عوامل خسارتزا در محصولات تولید شده در مزارع سنتی یا گلخانه‌های ارگانیک است. جنس‌های *Alternaria* ، *Colletotrichum*، *Penicillium* و *Phytophthora* ، و نیز گونه‌های *Botrytis cinerea* ، *Geotrichum candidum*، *Rhizopus stolonifer* و *Cladosporium fulvum* به عنوان مهمترین قارچ‌های عامل پوسیدگی میوه گوجه فرنگی معرفی شده‌اند [۴].

از روش‌های حفظ و نگهداری محصولات باغی و زراعی (پس از برداشت) استفاده از نگهدارنده‌ها، از جمله محلول‌های پاششی، پوشش‌ها و واکس‌ها جهت حفظ کیفیت محصول در طول انبارداری می‌باشد. این نگهدارنده‌ها تا حد زیادی سبب کاهش سرعت تنفس میوه و همچنین مانع از رشد عوامل میکروبی و قارچی بر سطح محصولات می‌شوند. هم‌اکنون استفاده از پوشش‌های مختلف شیمیایی، از جمله پارافین، پلی اتیلن و پلیمرهای سنتزی مرسوم می‌باشد [۶-۵]. بسیاری از این پوشش‌ها و محلول‌ها خوراکی نبوده و مشاهداتی مبنی بر استفاده از برخی مواد سمی از جمله وایتکس و قارچ‌کش‌های خطرناک در انبارش محصولات کشاورزی وجود دارد. این امر باعث نگرانی‌های زیادی در سطح جامعه و عدم استقبال از بسیاری از محصولات شده‌است. همچنین به علت عدم انحلال اغلب پوشش‌ها در آب، زدودن آن‌ها در هنگام مصرف یکی از مشکلات مرسوم مصرف کننده‌ها می‌باشد [۷،۸].

پوشش‌ها از جمله راهکارهایی هستند که با استفاده از آن‌ها می‌توان باعث کاهش سرعت از دست دادن رطوبت، سرعت تنفس میوه، صدمات فیزیکی و همچنین حفظ ظاهر میوه شد. استفاده از نگهدارنده‌های خوراکی بجای محصولات متداول شیمیایی و مضر می‌تواند گام مفید و موثری در راستای ارتقای استانداردهای انبارداری محصولات باغی و زراعی و همچنین کشاورزی ارگانیک و سلامت مصرف کنندگان ایفا کند. یکی از ویژگی‌های متمایز مواد خوراکی، امکان وجود یا بکار بردن ترکیبات فعال بیولوژیک در آن‌ها است. این ترکیبات فعال می توانند با اثرات آنتی اکسیدانی و ضدمیکروبی عملکرد بهتری به محصول بدهند و زمان ماندگاری میوه و سبزی را تا حد زیادی افزایش دهند [۹, ۱۰].

برخی گیاهان دارویی دارای ترکیباتی با نام روغن‌های فرار یا اسانس هستند. اسانس‌ها حاوی ترکیبات ترپنی هستند که معمولاً اثرات بیولوژیکی بالایی مانند اثرات ضدمیکروبی از جمله ضد قارچی دارند [۱۲, ۱۱]. این ترکیبات، که می‌توان آن‌ها را به عنوان ضدآفت‌های بی‌خطر (چه از نظر مسمویت‌های غذایی و چه محیط زیستی) نام برد، می‌توانند جایگزین سموم و آفت‌کش‌های شیمیای پرخطر شوند [۱۳]. اخیراً مطالعاتی در رابطه با اثر اسانس‌های گیاهانی مانند درمنه، رازیانه، زنیان و شوید بر روی ویژگی‌های پس از برداشت گوجه فرنگی و یا قارچ‌های بیماری‌زای آن‌ها انجام شده‌است [۱۵, ۱۴].

زیره سبز (*Cuminum cyminum*)، زیره سیاه (*Carum carvi*) و اسطوخودوس (*Lavandula angustifolia*) از جمله گیاهان دارویی و بومی ایران هستند که اثرات ضد قارچی آن‌ها بر برخی پاتوژن‌های گیاهی اثبات شده‌است [۱۸-۱۶]. نکته مهم دیگر این است که این اسانس‌ها در بازار موجود می‌باشند و قابلیت تولید در مقادیر زیاد و صنعتی را دارند. هدف از این پژوهش، دستیابی به یک یا چند پوشش خوراکی با اثرات ضد قارچی بالا جهت افزایش زمان ماندگاری گوجه فرنگی در طول انبارداری و پس از برداشت می‌باشد.

۲-بخش تجربی

۲-۱- استخراج اسانس

بذرهای زیره سبز و زیره سیاه و همچنین سرشاخه‌های گلدار اسطوخودوس از فروشگاه گیاهان دارویی تهیه و پس از اطمینان از سلامت آن‌ها تا زمان اسانس‌گیری در مکان خشک، خنک و تاریک نگهداری شدند. از ۳۰۰ گرم از هر یک از دانه‌های زیره سبز، زیره سیاه و سرشاخه‌های اسطوخودوس توسط دستگاه کلونجر (۱ لیتری) و طی ۲ ساعت اسانس استخراج شد. سپس توسط سولفات سدیم بی آب خشک و در ظروف تیره در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد ذخیره شدند [۱۹].

۲-۲-آزمون کروماتوگرافی گازی- طیف سنج جرمی

از دستگاه کروماتوگرافی گازی-طیف سنج جرمی (Agilent 5977A) جهت شناسایی ترکیبات موجود در اسانس استفاده شد. برای جداسازی از ستون HP-5MS (30 m × 0.32 mm; 0.25 µm film thickness) و از گاز حامل هلیوم با سرعت یک میلی متر بر دقیقه استفاده شد. برنامه ریزی حرارتی ستون بدین صورت انجام گرفت که در دمای ۵۰ درجه سانتی گراد برای ۲ دقیقه ثابت باشد و سپس دما به میزان ۴ درجه سانتی‌گراد بر دقیقه افزایش یافت تا به ۲۲۰ درجه سانتی گراد برسد و در این دما به مدت۲۰ دقیقه ثابت بماند. برای شناسایی ترکیبات، از مقایسه طیف جرمی آن‌ها با طیف‌های موجود در داده‌های کتاب خانه Wiley و موسسه‌ی ملی استانداردها و تکنولوژی آمریکا (NIST) استفاده شد. همچنین برای محاسبه شاخص بازداری (RI) هر پیک، یک مخلوط استاندارد از نرمال آلکان‌های C7 تا C24 تحت شرایط مشابه تزریق شد [۲۰].

۲-۳- آزمون کروماتوگرافی گازی

از دستگاه کروماتوگرافی گازی Varian CP-3800 با دتکتور FID جهت اندازه گیری درصد ترکیبات موجود در اسانس استفاده شد. برای جداسازی از ستون Hp-5MS (30 m × 0.32 mm; 0.25 µm film thickness) و از گاز حامل نیتروژن با سرعت یک میلی متر بر دقیقه استفاده شد برنامه ریزی حرارتی ستون بدین صورت انجام گرفت که در دمای ۵۰ درجه سانتی گراد برای ۲ دقیقه ثابت باشد و سپس دما به میزان ۴ درجه سانتی‌گراد بر دقیقه افزایش یافت تا به ۲۲۰ درجه سانتی گراد برسد و در این دما به مدت ۲۰ دقیقه ثابت بماند. برای محاسبه شاخص بازداری (RI) هر پیک، یک مخلوط استاندارد از نرمال آلکان‌های C7 تا C24 تحت شرایط مشابه تزریق شد. جهت شناسایی ترکیبات، کروماتوگرام بدست آمده را با کروماتوگرام GC-MS مقایسه کرده و ثابت‌های بازداری هر پیک را در هر دو کروماتوگرام تطبیق دادیم. در نهایت برای بدست آوردن مقدار نسبی هر پیک، نسبت سطح زیر هر پیک به نسبت کل پیک‌های شناسایی شده محاسبه شد [۲۱].

۲-۴-آزمون ضد قارچی به روش مهار جوانه زنی اسپور (میکرو رقت)

قارچ *Fusarium cf. oxysporum* که در آزمایشگاه مرکزی دانشگاه شاهد جداسازی و شناسایی شده بود، بر روی آگار دکستروز سیب زمینی (PDA) تلقیح شد. از این محیط کشت پس از ۷ الی۱۴ روز نگهداری در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد به عنوان منبع کلیدی استفاده شد. فعالیت‌های مهاری جوانه زنی اسپور با استفاده از منابع کتابخانه‌ای با برخی تغییرات انجام شد [۲۲]. به طور خلاصه ، اسانس‌ها در حلال ۴ درصد DMSO تا ۲۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر حل شدند. محلول‌های حاوی اسانس با عبور از فیلتر سرنگ ۰/۲۲ میکرومتر استرلیزه شدند. در ادامه ، ۱۰۰ میکرولیتر محلول حاوی اسانس، ۵ میکرولیتر سوسپانسیون اسپور (۲×۱۰^{۷} اسپور در هر میلی‌لیتر توئین٪ ۱) و ۹۵ میکرولیتر MEB (مایع عصاره مالت) به هر چاهک در یک میکروپلیت ۹۶ خانه اضافه شد. رقت‌های سریالی محلول‌های اسانس با غلظت‌های نهایی ۲/۰ ، ۱/۰ ، ۰/۵ ، ۰/۲۵، ۰/۱۲۵ ، ۰/۰۶۲۵، ۰/۰۳۱۳، ۰/۰۱۵۶، ۰/۰۰۷۸ و ۰/۰۰۳۹ میلی‌گرم در میلی لیتر ساخته شد. سپس هر چاهک با یک ورق پارافیلم مهر و موم شد تا از آلودگی متقاطع توسط مواد فرار جلوگیری شود. پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون میکروپلیت‌ها در ۲۴ درجه سانتی‌گراد و تاریکی، مقدار جذب تراکم رشد قارچ در چاهک‌ها در ۴۷۰ نانومتر با استفاده از دستگاه میکروپلیت خوان (BioTek PowerWave XS2) اندازه‌گیری شد. جاهای خالی منفرد برای اصلاح جذب پس زمینه آماده شد، جایی که سوسپانسیون اسپور با توین ٪ ۱ جایگزین شد. همچنین ، در کنترل‌های منفی ، محلول اسانس با حلال ۲ درصد DMSO جایگزین شد. از کرسوکسیم-متیل (استروبی) که یک ترکیب ضد قارچ استاندارد است به عنوان کنترل مثبت استفاده شد. درصد مهار با معادله زیر ارزیابی شد:

$$Inhibition\ (\%) = \frac{(NC - NCB) - (S - B)}{(NC - NCB)} \times 100$$

در این معادله، NC جذب کنترل منفی است، NCB جذب کنترل منفی بلانک (خالی) است ، S جذب نمونه و B جذب بلانک است. همه آزمایشات حداقل در سه نسخه انجام شد. مقادیر IC_{50} (حداکثر غلظتی که ٪ ۵۰ از بازدارندگی را دارد) با رسم منحنی درصد بازدارندگی در برابر غلظت تعیین شد.

۲-۵-آزمون ضد قارچی به روش مهار رشد میسلیوم (تماس با بخار اسانس)

میزان فعالیت مهار رشد میسلیوم با استفاده از اسانس‌ها با توجه به روش توصیف شده توسط یحیی زاده و همکاران اندازه‌گیری شد [۲۳]. طبق این روش، دیسک تلقیح قارچ مورد استفاده در آزمایش به قطر ۶ میلی‌متر با یک چوب پنبه سوراخ‌کن، از حاشیه یک محیط کشت در حال رشد بریده شده و بر روی مرکز صفحات جدید PDA به قطر ۸ سانتی‌متر قرار گرفت. اسانس‌ها با عبور از فیلتر سرنگ ۰/۲۲ میکرومتر استرلیزه شدند. کاغذهای فیلتر استریل، آغشته به ۱ ، ۳ ، ۶ ، ۱۲ ، ۲۴ ، ۴۸ و ۹۶ میکرولیتر اسانس، روی سطح داخلی درب‌های ظروف پتری قرار گرفتند. ظروف با پارافیلم مهر و موم شده و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. شعاع کلنی پس از ۱، ۲، ۳، ۴، ۵ و ۶ روز اندازه‌گیری شد. گروه کنترل شامل کاغذهای آغشته به آب مقطر استریل و همه آزمایشات حداقل در سه نسخه انجام شد. نتایج به عنوان مقادیر قطر کلنی گزارش شد. علاوه بر این، درصد مهار رشد میسلیوم از میانگین مقادیر قطر کلنی در صفحات تیمار شده و شاهد از رابطه زیر محاسبه شد:

$$Inhibition\ (\%) = \frac{C - S}{C} \times 100$$

جایی که C (شاهد) شعاع کلنی پاتوژن هنگام رشد بدون اسانس است. S (نمونه) شعاع کلنی پاتوژن در حضور اسانس است. مقادیر IC_{50} با رسم یک درصد بازدارندگی در برابر منحنی غلظت تعیین شد.در برخی موارد که ٪ ۱۰۰ مهار رشد میسلیوم رخ داده است، درپوش‌ها برداشته شده و درپوش‌های حاوی کاغذهای آغشته به آب مقطر استریل جایگزین شدند، و ۱۰ روز بیشتر در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد در انکوباتور نگهداری و بررسی شدند.

۲-۶- آماده سازی پوشش

سه محلول پوششی مبتنی بر امولسیون حاوی اسانس زیره سبز، زیره سیاه و اسطوخودوس فرموله شد. برای تهیه محلول‌ها، ۲۰ گرم پودر مالتودکسترین (maltodextrin) در ۵۰ میلی لیتر آب مقطر حل شد. محلول‌ها با حرارت کم (۴۰ درجه سانتیگراد) به مدت ۲۰ دقیقه بهم زده شدند. سپس ۲۰ گرم گلیسرول به عنوان نرم‌کننده اضافه شد تا قدرت و انعطاف پذیری محلول‌های پوشش‌دهنده بهبود یابد. در ادامه، ۰,۵ گرم توئین ۸۰ به عنوان امولسیون‌کننده افزوده شد. پس از خنک شدن تا دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، ۰/۵ گرم اسانس به محلول اضافه شد. سپس مقدار کافی آب مقطر اضافه شد تا جرم نهایی به ۱۰۰ گرم برسد. سرانجام، محلول‌ها با استفاده از حمام فراصوت در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۱۰ دقیقه همگن شدند. برای به حداقل رساندن تأثیر حسی اسانس‌ها، غلظت‌های پایینی از اسانس (٪ ۰/۵) به ترکیب فرمولاسیون پوشش‌ها اضافه شد.

۲-۷- آزمون ضدقارچی پوشش‌های فرموله شده بر روی گوجه فرنگی تلقیح شده

جهت ارزیابی فعالیت ضد قارچی پوشش‌های حاوی اسانس‌ها بر روی میوه‌های تلقیح شده از روش آموزگاران و همکاران بهره گرفته شد [۲۴]. سویه جدا شده روی PDA در ظروف پتری در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد به مدت ۷ تا ۱۴ روز رشد داده شد. یک سوسپانسیون کنیدیالی با چگالی بالا در توین ۸۰ (۰/۰۵، $\frac{\text{وزن}}{\text{حجم}}$) در آب استریل تهیه شد، با هموسیتومتر اندازه گیری شد و با آب استریل رقیق شد تا چگالی تلقیح اسپور برابر با ۵×۱۰^{۴} $\frac{\text{اسپور}}{\text{میلی‌لیتر}}$ از قارچ فوزاریوم بدست آید.

میوه‌های گوجه فرنگی که از قبل تهیه شده‌اند مراحل آماده‌سازی نظیر شستشو، استریل کردن و خشک کردن را طی کردند. میوه‌ها به چهار گروه ۵ تایی بدون پوشش، با پوشش زیره سبز، با پوشش زیره سیاه و با پوشش اسطوخودوس تقسیم شدند. قبل از تلقیح قارچ، در خط استوای میوه با میله استریل با عمق ۴ میلی‌متر زخمی شدند. در هر محل زخمی شده بر روی میوه‌های گوجه‌فرنگی ۵ میکرولیتر سوسپانسیون اسپور ($۱۰^{۴} \times ۵$ $\frac{\text{اسپور}}{\text{میلی‌لیتر}}$) با استفاده از میکروپیپت تلقیح شد. سپس، میوه‌های تلقیح شده با پاشش امولسیون‌های پوشش دهنده، پوشانده شدند و اجازه داده شد تا در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد خشک شوند.

از میوه‌های تلقیح شده بدون پوشش به عنوان شاهد استفاده شد. میوه‌ها در جعبه‌های مخصوص که از تماس آن‌ها جلوگیری می‌کنند، قرار داده شدند و در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد و در رطوبت نسبی (RH) برابر با ۸۵-۹۰ ٪ ذخیره شدند. قطر ضایعه پس از ۷ و ۱۴ روز اندازه‌گیری شد. دو مقدار از قطر هر ضایعه در دو جهت عمود بر هم ثبت شد. میانگین دو مقدار به عنوان قطر ضایعه تعریف شد.

۲-۸- تحلیل آماری

تمام سنجش‌ها حداقل در سه تکرار انجام شده و داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شده‌اند. تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم افزار IBM SPSS انجام شد. اختلافات در $p < ۰/۰۵$ معنی دار در نظر گرفته شد. مقادیر IC_{50} (غلظتی که باعث مهار ۵۰ درصدی می‌شود) با رسم نمودار غلظت در برابر درصد مهار و برون یابی تعیین شد.

۳- بحث و نتیجه گیری

۳-۱- شناسایی و اندازه گیری ترکیبات فیتوشیمیایی اسانس‌ها

اسانس بذرهای زیره سبز، زیره سیاه و سرشاخه های گلدار اسطوخودوس به روش تقطیر با آب و با استفاده از دستگاه کلونجر استخراج و ترکیبات آن‌ها توسط روش‌های GC-MS و GC-FID شناسایی و اندازه‌گیری شدند. زمان‌های بازداری، شاخص بازداری و طیف‌های جرمی ترکیبات مورد مطالعه و بررسی دقیق قرار گرفت. این پارامترها با ترکیبات استاندارد و کتابخانه‌ایی دستگاه و منابع مقایسه شدند. در اسانس زیره سبز ۲۹ ترکیب، که تشکیل دهنده ۹۹/۸۹٪ از کل اسانس هستند، شناسایی و

تعیین مقدار شدند. فهرست کامل ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس بهمراه شاخص بازداری و درصد نسبی ترکیب‌ها در جدول ۱ ارائه شده است. با توجه به جدول مذکور، ترکیبات cuminaldehyde با ٪ ۳۴/۵۴ ، γ-terpinene با ٪ ۱۸/۳۰، p-cymen-7-ol با ٪ ۱۳/۱۹ و p-cymenene با ٪ ۱۲/۸۲ به عنوان اجزای اصلی اسانس زیره سبز مشخص شدند. در اسانس زیره سیاه ۲۵ ترکیب، که تشکیل دهنده ۹۹/۲۶٪ از کل اسانس هستند شناسایی و تعیین مقدار شدند (جدول ۱). با توجه به نتایج، ترکیبات carvone با ٪ ۲۸/۷۴، p-cymen-7-ol با ٪ ۱۲/۰۲، p-cymenene با ٪ ۱۱/۵۵، safrole با ٪ ۸/۹۳ و β-pinene با ٪ ۵/۸۸ به عنوان اجزای اصلی اسانس زیره سیاه مشخص شدند. در اسانس اسطوخودوس نیز ۲۲ ترکیب، که تشکیل دهنده ٪ ۸۵/۳۱ از کل اسانس هستند شناسایی و تعیین مقدار شدند. با توجه به جدول ۱، ترکیبات camphor با ٪ ۱۹/۱۱، eucalyptol با ٪ ۱۵/۹۰، α-pinene با ٪ ۶/۶۹، 3-carene با ٪ ۶/۵۰ و β-caryophyllene با ٪ ۵/۳۸ به عنوان اجزای اصلی اسانس اسطوخودوس مشخص شدند.

مجموعاً ۴۹ ترکیب در سه اسانس مورد مطالعه شناسایی و اندازه گیری شد و همانطور که مشخص است، بیشترین شباهت از نظر ترکیبات سازنده، مربوط به دو اسانس زیره سبز و زیره سیاه می‌باشد. بدین ترتیب که ۲۰ ترکیب α-thujene، α-pinene، sabinene، β-pinene، β-myrcene، α-phellandrene، α-terpinene، p-cymenene، D-limonene، γ- eucalyptol، terpinene، α-terpinolene، terpinen-4-ol، α-terpineol، p-cymen-7-ol، carvacrol، caryophyllene، acoradiene، caryophyllene oxide و carotol بین این اسانس‌ها مشترک هستند.

جدول ۱: درصد ترکیبات شناسایی شده در اسانس‌های زیره سبز، زیره سیاه و اسطوخودوس

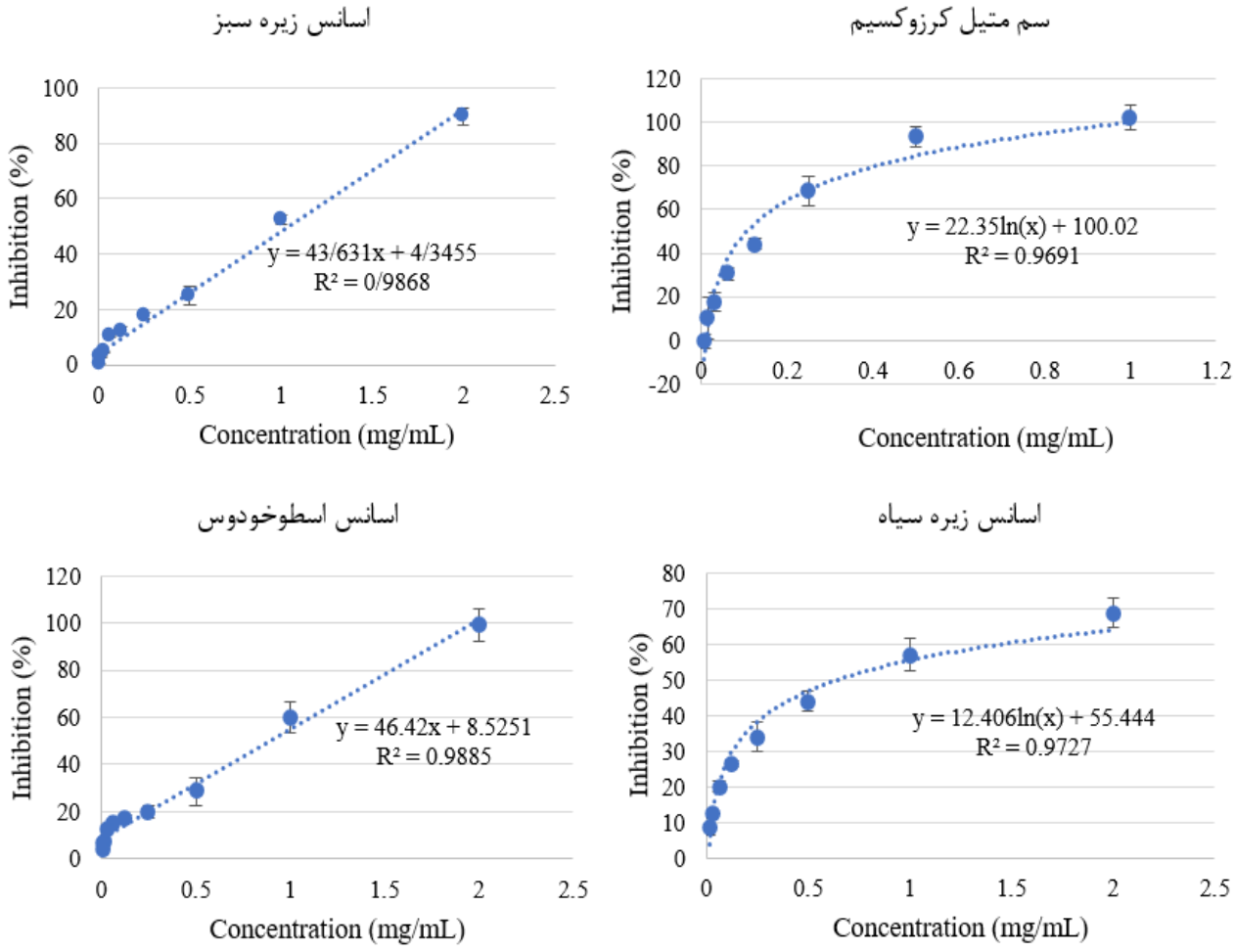
شماره	ترکیب	RI	زیره سبز	زیره سیاه	اسطوخودوس
۱	α-Thujene	۹۲۶	۰/۱۹	۰/۲۷	–
۲	α-Pinene	۹۳۴	۰/۸۳	۰/۸۲	۶/۶۹
۳	Camphene	۹۴۸	–	–	۳/۱۰
۴	Sabinene	۹۷۲	۰/۴۳	۰/۵۱	–
۵	β-Pinene	۹۷۷	۳/۳۴	۵/۸۸	۱/۱۶
۶	β-Myrcene	۹۸۸	۰/۵۳	۰/۷۵	۳/۷۵
۷	α-Phellandrene	۱۰۰۴	۰/۳۲	۰/۷۶	–
۸	3-Carene	۱۰۱۱	–	–	۶/۵۰
۹	α-Terpinene	۱۰۱۶	۰/۱۴	۰/۲۰	–
۱۰	o-Cymene	۱۰۲۳	–	–	۱/۰۱
۱۱	p-Cymenene	۱۰۲۵	۱۲/۸۲	۱۱/۵۵	–
۱۲	D-Limonene	۱۰۲۶	۲/۷۳	۲/۳۵	–
۱۳	Eucalyptol	۱۰۳۰	۰/۳۸	۰/۱۳	۱۵/۹۰
۱۴	trans-β-Ocimene	۱۰۴۵	۰/۱۱	–	–
۱۵	γ-Terpinene	۱۰۵۹	۱۸/۳۰	۲/۷۸	–
۱۶	α-Terpinolene	۱۰۸۷	۰/۱۹	۰/۱۸	–
۱۷	Camphor	۱۱۵۲	–	–	۱۹/۱۱

شماره	ترکیب	RI	زیره سبز	زیره سیاه	اسطوخودوس
۱۸	trans-p-Menthone	۱۱۵۲	۰/۲۶	–	–
۱۹	cis-p-Menthone	۱۱۶۳	۰/۱۱	–	–
۲۰	Borneol	۱۱۶۵	–	–	۲/۳۵
۲۱	Menthol	۱۱۷۰	۰/۴۷	–	–
۲۲	Terpinen-4-ol	۱۱۷۵	۰/۲۳	۰/۱۸	–
۲۳	α-Terpineol	۱۱۸۸	۰/۱۴	۰/۲۰	۰/۴۱
۲۴	o-Cumenol	۱۱۹۲	۰/۶۵	–	–
۲۵	Carvone	۱۲۴۳	–	۲۸/۷۴	–
۲۶	Cuminaldehyde	۱۲۴۴	۳۴/۵۴	–	–
۲۷	Phellandral	۱۲۷۴	۰/۱۱	–	–
۲۸	α-Terpinen-7-al	۱۲۸۵	۷/۳۹	–	–
۲۹	Bornyl acetate	۱۲۸۵	–	–	۳/۸۵
۳۰	Safrole	۱۲۸۵	–	۸/۹۳	–
۳۱	p-Cymen-7-ol	۱۲۹۲	۱۳/۱۹	۱۲/۰۲	–
۳۲	Carvacrol	۱۲۹۷	۰/۲۱	۰/۲۷	–
۳۳	α-Copaene	۱۳۷۶	–	–	۱/۱۶
۳۴	α-Gurjunene	۱۴۱۰	–	–	۱/۳۵
۳۵	Caryophyllene	۱۴۲۰	۰/۳۱	۰/۴۸	۵/۳۸
۳۶	trans-β-Farnesene	۱۴۵۴	–	۰/۲۰	–
۳۷	α-Caryophyllene	۱۴۵۵	–	–	۴/۶۹
۳۸	Acoradiene	۱۴۷۵	۱/۶۲	۰۳/۳۳	–
۳۹	Germacrene D	۱۴۸۱	–	۰/۱۲	–
۴۰	α-Muurolene	۱۴۹۹	–	–	۰/۴۳
۴۱	δ-Amorphene	۱۵۱۴	–	–	۱/۷۸
۴۲	δ-Cadinene	۱۵۲۳	–	–	۳/۳۹
۴۳	Caryophyllene oxide	۱۵۸۵	۰/۱۵	۰/۲۸	۰/۶۸
۴۴	Carotol	۱۵۹۷	۰/۱۱	۰/۲۳	–
۴۵	Humulene epoxide II	۱۶۱۰	–	–	۰/۵۸
۴۶	α-Bisabolol	۱۶۸۱	۰/۱۲	–	–
۴۷	Fonenol	۱۶۵۳	–	–	۱/۶۳
۴۸	5.beta-caryophylla-3,8(13)-dienol	۱۶۵۸	–	–	۰/۴۳
۴۹	6,10,14-trimethyl-2-Pentadecanone	۱۸۳۸	–	۰/۱۳	–
	مجموع		۹۹/۸۹	۹۹/۲۶	۸۵/۳۱

۳-۲- فعالیت ضد قارچی اسانس‌ها علیه جوانه زنی قارچ *F. oxysporum*

به منظور ارزیابی پتانسیل مقابله با رشد و جوانه زنی اسپور قارچ *F. oxysporum*، غلظت‌های مختلف اسانس‌ها با دو روش میکرورقت (جلوگیری از جوانه‌زنی) و رشد میسلیوم آزمایش شد. نتایج اندازه‌گیری درصد بازدارندگی را نشان می‌دهند. نتایج حاکی از فعال بودن هر سه اسانس در برابر قارچ موردنظر هستند و سطوح مختلف فعالیت ضدقارچی را از خود نشان می‌دهند.

جوانه زنی یا اسپور زایی عامل اصلی در آغاز آلودگی میزبان است. بنابراین، مهار جوانه زنی اسپور یک روش موثر برای جلوگیری از ضررهای شدید اقتصادی است . به همین منظور رقت‌های سریالی محلول اسانس‌ها طبق پروتکل تعیین شده، ساخته شد. نتایج به صورت درصد میزان بازدارندگی اسانس علیه جوانه زنی اسپور در غلظت‌های مختلف اسانس ثبت شد. میزان IC_{50} هر اسانس با برون یابی از نمودارهای درصد مهار در برابر غلظت اسانس محاسبه و با مقادیر مربوط به استاندارد کرزوکسیم متیل (استروبی) مقایسه شد. کرزوکسیم متیل با نام آیوپاک methyl (2*E*)-2-methoxyimino-2-(2-((2-methylphenoxy)methyl)phenyl)acetate یک قارچکش استروبیلورین است که برای کنترل عوامل بیماری‌زای قارچی در سیب، گلابی، انگور، خیار، توت فرنگی و سبزیجات استفاده می‌شود.



شکل ۱. نمودار درصد مهار جوانه زنی قارچ در غلظت‌های مختلف اسانس‌ها و سم متیل کرزوکسیم

با برون یابی از نمودار حاصله (شکل ۱)، مقدار IC_{50} برای کرزوکسیم متیل برابر ۰/۱۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بدست آمد. این بدان معناست که سم قارچ کش کرزوکسیم متیل در غلظت ۰/۱۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر می‌تواند مانع از جوانه زنی ٪ ۵۰ از اسپورهای قارچ *F. oxysporum* می‌شود. نتایج نشان داد که اسانس زیره سبز در غلظت‌های پایین هم دارای اثرات موثر علیه

جوانه زنی اسپور است. بطوریکه مقدار IC_{50} آن برابر با ۱/۰۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر نشان داد. بین غلظت اسانس و میزان مهار رابطه‌ایی مستقیم و خطی مشاهده شد. در غلظت ۲/۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر تقریبا ۹۰ درصد بازدارندگی و مهار علیه جوانه‌زنی مشاهده شد. مقادیر IC_{50} اسانس زیره سیاه ۰/۶۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تعیین شد. در غلظت ۲/۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر از این اسانس، میزان بازدارندگی به ۷۰ درصد رسید. بین غلظت اسانس و میزان مهار رابطه‌ای لگاریتمی مشاهده شد و با افزایش غلظت، میزان مهار جوانه زنی اسپور افزایش یافت. هرچند در غلظت‌های مورد آزمایش مهار کامل جوانه‌زنی در محیط کشت مشاهده نشد، اما فعالیت ضدقارچی مطلوبی علیه جوانه زنی اسپور نشان داده شد. IC_{50} اسانس اسطوخودوس ۰/۸۹ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تعیین شد. در غلظت ۲/۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر میزان بازدارندگی به ۹۹٪ درصد رسید. بین غلظت اسانس و میزان مهار رابطه‌ایی مستقیم و خطی مشاهده شد. یعنی با افزایش غلظت، میزان مهار جوانه زنی اسپور افزایش یافت. هرچند در غلظت‌های مورد آزمایش مهار کامل جوانه‌زنی در محیط کشت مشاهده نشد، اما فعالیت ضدقارچی مطلوبی علیه جوانه زنی اسپور نشان داده شد.

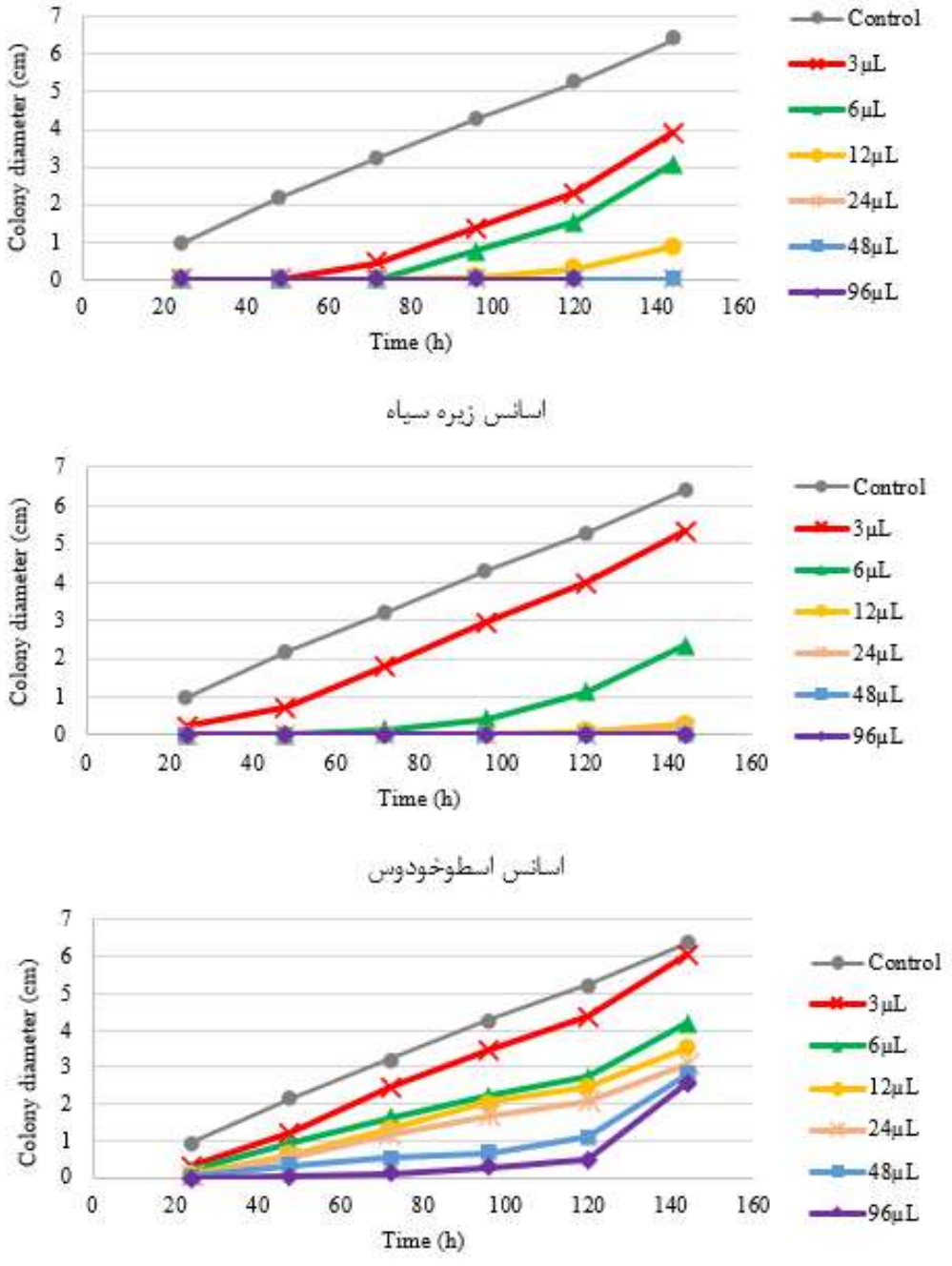
۳-۳- فعالیت ضدقارچی اسانس‌ها علیه رشد میسیلیوم قارچ *F. oxysporum*

فعالیت اسانس‌های زیر سبز، زیره سیاه و اسطوخودوس در برابر رشد میسلیوم قارچ *F. oxysporum* با روش "تماس با بخار اسانس"، مورد بررسی قرار گرفت. نتایج با میزان رشد قطر کلنی میسلیوم در حضور ۳، ۶، ۱۲، ۲۴، ۴۸ و ۹۶ میکرولیتر اسانس پس از ۲۴، ۴۸، ۷۲، ۹۶، ۱۲۰ و ۱۴۴ ساعت گزارش شد. در مواردی که مهار کامل رشد میسلیوم رخ داد، جهت بررسی کشندگی نمونه، پس از حذف اسانس از ظروف، رشد کلنی برای ۱۰ روز دیگر در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد مورد بررسی قرار گرفت.

اخیراً برخی مطالعات قدرت بالاتر اسانس‌ها را در حالت بخار نسبت به تماس محلول گزارش کرده‌اند. مزیت اسانس‌ها، فعال بودن آنها در مرحله بخار است. شاخصه‌ای که باعث جذابیت آن‌ها برای محافظت از محصول ذخیره شده، می‌شود. عموما بخار اسانس از خود اسانس که شکلی روغنی دارد، در برابر قارچها موثرتر هستند و هیچ باقیمانده‌ای بر جای نمی‌گذارند. موفقیت مدل بخار در مهار قارچها می‌تواند ناشی از گروه‌های هیدروکسیل در ترکیبات ضد میکروبی باشد که با آنزیم‌های فعال پیوندهای هیدروژنی تشکیل می‌دهند و سبب غیرفعال شدن آنزیم‌ها می‌شوند [۲۴, ۲۳].

طبق نتایج، همانطور که در شکل ۲ نشان داده شده است، بیشترین میزان رشد مربوط به تیمار شاهد بود که در آن میسلیوم قارچی به سرعت رشد کرد. تمامی حجم‌های ۳ تا ۹۶ میکرولیتر از اسانس زیره سبز توانسته‌اند رشد میسلیوم قارچ را مهار کنند. در طول ۴۸ ساعت اول، در تمامی حجم‌های این اسانس، رشد کلونی به طور کامل مهار شده است. در حجم‌های ۳، ۶ و ۱۲ میکرولیتر از اسانس زیره سبز با گذشت زمان و به ترتیب پس از ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت کلونی‌ها شروع به رشد کرده و قطر آن‌ها افزایش یافته‌اند. در حجم‌های ۴۸ و ۹۶ میکرولیتر از این اسانس هیچ گونه رشد کلونی مشاهده نشد. همانطور که مشخص است، پس از گذشت ۱۴۴ ساعت، با افزایش میزان اسانس، قطر کلونی کاهش پیدا می‌کند. حجم‌های ۴۸ و ۹۶ میکرولیتر اسانس زیره سبز به طور کامل رشد میسلیوم را مهار کردند و اثر قارچ‌کشی از خود نشان دادند. برای تایید این موضوع، در پایان دوره با

برداشتن درب ظرف و حذف کاغذ حاوی اسانس، رشد کلونی برای ۱۰ روز دیگر در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد بررسی شد. در پایان این دوره ۱۰ روزه هیچگونه رشد در کلونی مشاهده نشد و اثر قارچ کشی اسانس زیره سبز در حجم‌های ۴۸ و ۹۶ میکرولیتر اثبات گردید.



شکل ۲: نمودارهای رشد مسیلیوم ***F. oxysporum*** در حضور و عدم حضور اسانس‌ها

طبق نتایج، همانطور که در نمودار شکل ۲ نشان داده شده است، حجم‌های ۳ تا ۹۶ میکرولیتر از اسانس زیره سیاه نیز توانسته‌اند رشد میسلیوم قارچ را مهار کنند. در حجم‌های ۳، ۶، ۱۲ و ۲۴ میکرولیتر با گذشت زمان و به ترتیب پس از ۲۴، ۴۸، ۹۶ و ۱۲۰

ساعت کلونی‌ها شروع به رشد کرده و قطر آن‌ها افزایش یافته‌اند. در حجم‌های ۴۸ و ۹۶ میکرولیتر از اسانس هیچ گونه رشد کلونی مشاهده نشد. همانطور که مشخص است، پس از گذشت ۱۴۴ ساعت با افزایش میزان اسانس قطر کلونی کاهش پیدا می‌کند. اسانس زیره سیاه در حجم‌های ۴۸ و ۹۶ میکرولیتر به طور کامل رشد میسلیوم را مهار کرد و اثر قارچ‌کشی از خود نشان داد. برای تایید این موضوع، در پایان دوره با برداشتن درب ظرف و حذف کاغذ حاوی اسانس، رشد کلونی برای ۱۰ روز دیگر در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد رصد شد. در پایان این دوره ۱۰ روز هیچ گونه رشدی مشاهده نشد و اثر قارچ کشی اسانس زیره سیاه در حجم‌های ۴۸ و ۹۶ میکرولیتر اثبات گردید.

اسانس اسطوخودوس نیز به مانند دو اسانس دیگر فعالیت وابسته به غلظت بالایی را به نمایش گذاشت. در غلظت ۳ و ۶ میکرولیتر از این اسانس، تا پایان روز اول، کنترل خوبی بر رشد میسیلیوم مشاهده شد. اما بعد از روز دوم، رشد مسیلیوم تقریبا با الگویی مشابه با کنترل پیش رفتند. باقی حجم‌ها به نسبت حجم اسانس باعث کاهش رشد قارچ شدند. به غیر از حجم ۹۶ میکرولیتر که تنها تا ۴۶ ساعت توانست مهار ۱۰۰ درصدی را نشان دهد، رشد میسلیوم در حضور باقی حجم‌های اسانس و با سرعت کمتری از نمونه شاهد صورت گرفت.

نتایج حاصل از غلظت‌های مختلف اسانس‌ها علیه جوانه زنی اسپور قارچ *F. oxysporum* در روش میکرورقت با یکدیگر مقایسه و مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج نشان از موثر بودن این اسانس‌ها در مقابله با قارچ داشت. نمودار درصد بازدارندگی در برابر غلظت در نمونه حاوی اسانس زیره سیاه بصورت لگاریتمی و نشان‌دهنده عملکرد قوی این اسانس بود. با مقایسه مقادیر IC_{50} این سه اسانس مشخص می‌شود که اسانس زیره سیاه با مقدار IC_{50} برابر با ۰/۶۴ mg/mL در مقایسه با اسانس اسطوخودوس (IC_{50}=۰/۸۹ mg/mL) و زیره سبز (IC_{50}=۱/۰۵ mg/mL) بهترین عملکرد را در بین اسانس‌ها داشته است. این در حالی ست که مقدار IC_{50} سم کرزوکسیم متیل برابر با ۰/۱۱ mg/mL می‌باشد. همچنین نتایج فعالیت ضدقارچی اسانس‌ها علیه رشد میسیلیوم نیز برتری نسبی اسانس زیره سیاه را نسبت به دو اسانس دیگر نشان می‌دهد. با مقایسه نمودارهای رشد میسلیوم مشخص می‌شود که قطر کلونی‌های قارچ در حضور اسانس اسطوخودوس در تمامی مراحل از کلونی‌های دیگر بیشتر است. همچنین به استثنای حجم ۳ میکرولیتر در مابقی حجم‌ها کلونی در حضور اسانس زیره سیاه کم‌تر است و این نشان می‌دهد که اسانس زیره سیاه در مهار رشد میسلیوم قارچ نیز بهتر عمل کرده است.

۳-۴- فعالیت ضدقارچی پوشش‌های حاوی اسانس‌ها بر گوجه فرنگی تلقیح شده با قارچ

همانطور که در بخش تجربی توضیح داده شد، سه نوع پوشش بر پایه مالتودکسترین و حاوی ۰/۵درصد از اسانس‌های زیره سبز، زیره سیاه و اسطوخودوس تهیه شد. عملکرد ضد قارچی پوشش‌ها بر روی گوجه فرنگی‌ها با هدف کاهش بروز بیماری و شدت آن ارزیابی شد. گوجه‌ها قبل از اعمال پوشش با قارچ *F. oxysporum* تلقیح شدند (پیش تلقیح). پس از اعمال پوشش، قطر ضایعه پس از ۷ و ۱۴ روز بررسی شد. طبق نتایج (جدول ۲)، تمام پوشش‌ها به طور قابل توجهی باعث کاهش عفونت ناشی از

قارچ در مقایسه با نمونه‌های کنترل (بدون پوشش) شدند. پوشش حاوی اسانس زیره سیاه موثرترین پوشش برای کاهش شدت بیماری بود.

اولین مشاهده ۷ روز بعد از آلوده کردن گوجه فرنگی‌ها صورت گرفت و شدت بیماری در گروه کنترل قابل توجه بود (۰/۴±۳/۱ سانتی متر). بر اساس مشاهدات، پوشش‌های حاوی اسانس زیره سیاه و زیره سبز (به ترتیب با قطر ضایعه ۰/۱ ± ۰/۶ و۰/۱ ± ۰/۸سانتی‌متر) برای کاهش شدت بیماری نسبت به پوشش بر پایه اسطوخودوس (۰/۴ ±۱/۷ سانتی‌متر) موثرتر بودند. بعد از ۱۴ روز، شدت بیماری در گروه کنترل به ۰/۶ ± ۶/۳ سانتی متر افزایش یافت و پوشش مبتنی بر زیره سیاه با قطر ضایعه به میانگین ۱/۳ سانتی متر نشان دهنده بیشترین تأثیر در کاهش شدت آلودگی بود. با توجه به این نتایج، پوشش حاوی اسانس زیره سیاه برای کاهش رشد قارچ، با کاهش شدت ۷۹/۳۷ درصد پس از ۱۴ روز، در مقایسه با شاهد موثرترین بود. همچنین پس از آن پوشش‌های حاوی اسانس‌های زیره سبز و اسطوخودوس با ۷۱/۴۳ و ۳۸/۰۹ درصد مهار نشان دادند.

جدول ۲. تأثیر پوشش‌های حاوی اسانس‌های زیره سبز، زیره سیاه و اسطوخودوس علیه رشد قارچ در گوجه فرنگی

	قطر ضایعه (cm)	
	بعد از ۷ روز	بعد از ۱۴ روز
پوشش حاوی اسانس زیره سبز	^{a}۰/۸ ± ۰/۱	^{b}۱/۸ ± ۰/۳
پوشش حاوی اسانس زیره سیاه	^{c}۰/۶ ± ۰/۱	^{d}۱/۳ ± ۰/۲
پوشش حاوی اسانس اسطوخودوس	^{b}۱/۷ ± ۰/۴	^{e}۳/۹ ± ۰/۶
کنترل	^{f}۳/۱ ± ۰/۴	^{g}۶/۳ ± ۰/۶

حروف متفاوت نشان دهنده معنی‌دار بودن اختلاف بین میانگین نتایج می‌باشد ($p< ۰/۰۵$).

نتایج حاصل نشان می‌دهد پوشش‌های فرموله شده بخصوص پوشش حاوی اسانس زیره سیاه توانسته اثر محافظتی بالایی علیه پاتوژن قارچی *F. oxysporum* و همچنین حفظ ویژگی‌های کیفی گوجه فرنگی داشته باشند. بر اساس آخرین اطلاعات ما، تا کنون اثر ضد قارچی پوشش‌های حاوی اسانس بر روی گوجه فرنگی‌های تلقیح شده با پاتوژن *F. oxysporum* بررسی نشده است. اما به طور کلی، مطالعات محدودی بر روی اثر پوشش‌های حاوی اسانس گیاهان مختلف علیه برخی قارچ‌های بیماری‌زای گوجه فرنگی صورت گرفته است. در یک مطالعه که توسط یک گروه برزیلی انجام گرفت، اثر پوشش‌گوجه فرنگی حاوی کیتوسان و اسانس علف لیمو علیه قارچ *Rhizopus stolonifera* بررسی شد. نتایج این تحقیق نشان داد که پوشش مذکور توانسته با MIC برابر با ۵ µL/mL اثر ضد قارچی در روش ماکرودایلوشن نشان دهد. نتایج اثر این پوشش بر شدت ضایعه در میوه‌های از پیش تلقیح شده نشان داد که این پوشش تنها تا دو روز اثر مهاری از خود نشان داد و شدت ضایعه در روز هشتم با کنترل برابر شد. اما این پوشش زمانی که قبل از تلقیح به عنوان پیشگیری کننده اعمال شد توانست تا روز هشتم و تا حدود ۷۰٪ از شدت

ضایعه بکاهد [۲۵]. این درحالی ست که در این تحقیق، پوشش حاوی اسانس زیره سیاه، در روش پیش تلقیح و پس از ۱۴ روز حدود ۸۰ درصد اثر مهاری نشان داد.

در مطالعه‌ای دیگر، اثر مهاری پوشش حاوی کیتوسان و اسانس مرزنجوش بر روی گوجه فرنگی‌های گیلاسی تلقیح شده با *R. stolonifer* و *Aspergillus niger* بررسی شد. نتایج نشان داد که این پوشش توانسته از رشد *R. stolonifer* تا ٪ ۸۸ در دمای ۲۵°C و ۱۲ روز و همچنین تا ٪۹۵ در دمای ۱۲°C و ۲۴ روز جلوگیری کند. همچنین این پوشش به ترتیب ۸۱ و ۹۰ درصد اثر مهاری علیه *A. niger* در دماهای ۲۵ و ۱۲°C نشان داد [۲۶]. همچنین در پژوهشی دیگر، پوشش حاوی اسانس پرتقال و کیتوسان پس از ۹ روز و در دمای ۲۵°C توانست تا ٪ ۶۶/۷ مانع از رشد *Aspergillus sp.* در گوجه‌های تلقیح شده شد. همچنین این پوشش تا ٪ ۴۶/۶ اثر مهاری علیه *Penicillium sp.* در همان شرایط داشته است [۲۷]. این در حالی ست که بر اساس نتایج پژوهش حاضر، پوشش حاوی اسانس زیره سیاه توانست پس از اعمال بر روی میوه‌های تلقیح شده اثر مهاری حدود ۸۰ درصدی را پس از ۱۴ روز نشان دهد.

نتایج حاصل نشان می‌دهد پوشش‌های فرموله شده، بخصوص پوشش حاوی اسانس زیره سیاه، توانسته‌اند اثر محافظتی بالایی علیه پاتوژن قارچی *F. oxysporum*، به سه روش مهار جوانه زنی، رشد میسلیوم قارچی و رشد قارچ بر روی میوه، داشته باشند. بر اساس آخرین اطلاعات ما، تا کنون اثر ضد قارچی پوشش‌های حاوی اسانس بر روی گوجه فرنگی‌های تلقیح شده با پاتوژن *F. oxysporum* بررسی نشده است. اما به طور کلی، مطالعات محدودی بر روی اثر پوشش‌های حاوی اسانس گیاهان مختلف علیه برخی قارچ‌های بیماری‌زای گوجه فرنگی صورت گرفته است. بیشتر مطالعات صورت گرفته بر روی پوشش‌های حاوی اسانس، مربوط به پوشش‌های دارای پلی‌ساکارید کیتوسان می‌باشد. اما در این مطالعه از پایه مالتودکسترین که از نظر قیمت به صرفه تر است، استفاده شد و در مقایسه با فرمول‌های دیگر نتایج بسیار خوبی را نشان داد. همچنین در این مطالعه آلوده زا ترین پاتوژن قارچی (*F. oxysporum*) گوجه فرنگی در بازار تهران شناسایی و مورد استفاده قرار گرفت و از این رو نتایج این مطالعه می‌تواند کمک بهتری در کنترل آفات و نگهداری گوجه‌فرنگی‌های بازار ایران داشته باشد. در نهایت، می‌توان پوشش حاوی مالتودکسترین و اسانس زیره سیاه را به عنوان نتیجه و محصول اصلی این پژوهش و با هدف افزایش طول انبارمانی و حفظ کیفیت میوه‌های گوجه فرنگی معرفی کرد.

۴- تقدیر و تشکر

نویسندگان این مقاله از مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه شاهد بابت حمایت مالی از این پژوهش تشکر می‌کنند.

۵- فهرست منابع و ماخذ

[1] Vincent, H., Wiersema, J., Kell, S., Fielder, H., Dobbie, S., Castañeda-Álvarez ,N. P., Guarino, L., Eastwood, R., León, B., & Maxted, N. (2013). A prioritized crop wild relative inventory to help underpin global food security. *Biological Conservation*, *167*, 265-275.

[2] Gustavsson, J., Cederberg, C., Sonesson, U., Van Otterdijk, R & ,.Meybeck, A. (2011). *Global food losses and food waste*. In: FAO Rome.

[3] El-Baky, N. A., & Amara, A. A. A. F. (2021). Recent approaches towards control of fungal diseases in plants: An updated review. *Journal of Fungi*, *7*(11), 900.

[4] Blancard, D. (2019). *Tomato diseases: identification, biology and control: a colour handbook*. CRC Press.

[5] Porat, R., Weiss, B., Cohen, L., Daus, A., & Biton, A. (2005). Effects of polyethylene wax content and composition on taste, quality, and emission of off-flavor volatiles in 'Mor'mandarins. *Postharvest Biology and Technology*, *38*(3), 262-268.

[6] Palou, L., Valencia-Chamorro, S. A., & Pérez-Gago, M. B. (2015). Antifungal edible coatings for fresh citrus fruit: A review. *Coatings*, *5*(4), 962-986.

[7] Sarrafi, Y., Dehghan, H., & Tavahodi, H. (2018). Isolation and identification of natural sterols from Pimpinella affinis. *Applied Chemistry*, 13(48), 241-250.(in persian)

[8] Hailu, G., & Derbew, B. (2015). Extent, causes and reduction strategies of postharvest losses of fresh fruits and vegetables–A review. *Journal of Biology, Agriculture and Healthcare, 5(5)* 49-64.

[9] Fagundes, C., Palou, L., Monteiro, A. R., & Pérez-Gago, M. B. (2014). Effect of antifungal hydroxypropyl methylcellulose-beeswax edible coatings on gray mold development and quality attributes of cold-stored cherry tomato fruit. *Postharvest Biology and Technology*, *92*, 1-8.

[10] Dhall, R. (2013). Advances in edible coatings for fresh fruits and vegetables: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *53*(5) 435-450.

[11] Tariq, S., Wani, S., Rasool, W., Shafi, K., Bhat, M. A., Prabhakar, A., Shalla, A. H., & Rather, M. A. (2019). A comprehensive review of the antibacterial, antifungal and antiviral potential of essential oils and their chemical constituents against drug-resistant microbial pathogens. *Microbial pathogenesis*, *134*, 103580.

[12] Aziz, Z. A., Ahmad, A ,.Setapar, S. H. M., Karakucuk, A., Azim, M. M., Lokhat, D., Rafatullah, M., Ganash, M., Kamal, M. A., & Ashraf, G. M. (2018). Essential oils: extraction techniques, pharmaceutical and therapeutic potential-a review. *Current Drug Metabolism*, *19*(13), 1100-1110.

[13] Arraiza, M. P., González-Coloma, A., Andres, M. F., Berrocal-Lobo, M., Domínguez-Núñez, J. A., Da Costa Jr, A. C., Navarro-Rocha, J., & Calderón-Guerrero, C. (2018). Antifungal effect of essential oils. *Potential of Essential Oils, ed. Hany El-Shemy*, 145-148.

[14] Ahmadpour, A., Mahdavikia, H., Ghordoei, F., & Moloudzadeh, R. (2018). Identification of chemical compounds and inhibitory effects of seed essential oil of some medicinal plants of Chetrian

on the wave spot agent in tomato fruit. In the first national conference of new ideas in agriculture and natural resources. (in persian)

[15] Jafari, S., Hojjati, M., & Noshad, M., (2018). The effect of trehalose coating containing Artemisia sieberi essential oil on the post-harvest characteristics of cherry tomatoes. New food technologies. *New Food Technologies*, *5*(2), 287-300. (in persian)

[16] Aminifard, M .H., & Bayat, H. (2018). Antifungal activity of black caraway and anise essential oils against Penicillium digitatum on blood orange fruits. *International Journal of Fruit Science*, *18*(3), 307-319.

[17] Anjum, T., & Akhtar, N. (2012). *Antifungal activity of essential oils extracted from clove, cumin and cinnamon against blue mold disease on citrus fruit*. IntechOpen.

[18] Abri, A., & Noroozi, M. (2022). Extraction and identification of Gallic acid and some active ingredients in Lavandula angustifolia plant and synthesis of silver nanoparticles by green method from the extract of this plant. *Applied Chemistry*, 17(63), 165-178. (in persian)

[19] Dehghan, H., Sarrafi, Y., & Salehi, P. (2015). Chemical Composition of the Essential Oil of Convolvulus persicus L. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, *18*(3), 592-595.

[20] Pouramini, P., Fotokian, M. H., Dehghan, H., & Hensel, G. (2019). Effect of Thiobacillus and superabsorbent on essential oil components in Thyme species. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, *22*(3), 799-810.

[21] Tavakoli, A., Fatahi, M., Rahim, K., Ramazanzadeh, R., Maroofi, H., & Rostami, A. (2011). Identification of Chemical Composition and Biological Activity of the Essential Oil of Fumaria Vaillantii Loisel of Kurdistan Province in Iran. *Applied Chemistry*, 6(21), 55-60. (in persian)

[22] Khanjani, R., Dehghan, H., & Sarrafi, Y. (2021). Antifungal edible tomato coatings containing ajwain, neroli, and rosemary essential oils. *Journal of Food Measurement and Characterization*, *15*(6), 5139-5148.

[23] Amoozegaran, A., Dehghan, H., Homami, S. S., & Hashemi, S .A. (2022). Efficacy of an edible coating, containing thyme essential oil, to control Fusarium oxysporum and the quality of tomato fruits. *Journal of Food Measurement and Characterization*, *16*, 3760-3767.

[24] Velázquez-Nuñez, M. J., Avila-Sosa, R., Palou, E., & López-Malo, A. (2013). Antifungal activity of orange (Citrus sinensis var. Valencia) peel essential oil applied by direct addition or vapor contact. *Food Control*, *31*(1), 1-4.

[25] Sheikh, M., Mehnaz, S., & Sadiq, M. B. (2021). Prevalence of fungi in fresh tomatoes and their control by chitosan and sweet orange (Citrus sinensis (peel essential oil coating. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *101*(15), 6248-6257.

[26] Barreto, T. A., Andrade, S. C., Maciel, J. F., Arcanjo, N. M., Madruga, M. S., Meireles, B., Cordeiro, Â. M., Souza, E. L., & Magnani, M. (2016). A chitosan coating containing essential oil from

Origanum vulgare L. to control postharvest mold infections and keep the quality of cherry tomato fruit. *Frontiers in Microbiology*, *7*, 1724.

[27] Athayde, A., De Oliveira, P., Guerra, I., Da Conceicao, M., De Lima, M., Arcanjo, N., Madruga, M., Berger, L., & de Souza, E. (2016). A coating composed of chitosan and Cymbopogon citratus (Dc. Ex Nees) essential oil to control Rhizopus soft rot and quality in tomato fruit stored at room temperature. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, *91*(6), 582-591.