



گیاه پزشکی (مجله علمی کشاورزی)

جلد ۴۵، شماره ۳، پاییز ۱۴۰۱

doi 10.22055/ppr.2022.17813

تأثیر اسانس گونه‌های مختلف گیاهی در مقایسه با قارچکش مانکوزب + متالاکسیل در مهار لکه موجی گوجه‌فرنگی

محمد معروف حبیبی^۱، مجتبی ممرآبادی^{۲*}، پرینا طاهری^۳ و یونس رضمانی^۴

- ۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
 - ۲- *نویسنده مسوول: دانشیار گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران (mamarabadi@um.ac.ir)
 - ۳- استاد گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
 - ۴- کارشناس ارشد بیماری شناسی گیاهی، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
- تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۳/۲۴ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۷/۱۰

چکیده

یکی از مهمترین بیماری‌های گوجه فرنگی، بیماری لکه موجی است که توسط گونه‌های مختلف *Alternaria* ایجاد می‌شود. با توجه به اثرات مخرب سموم شیمیایی این مطالعه با هدف ارزیابی اثرات مهارکنندگی اسانس گیاهان مرزه، سیر، آویشن شیرازی، رازیانه و رزماری روی عامل بیماری لکه موجی در شرایط آزمایشگاه و گلخانه و امکان جایگزینی سموم شیمیایی با آن‌ها، انجام شد. اسانس‌های گیاهی پس از استخراج با غلظت‌های مختلف به روش اختلاط با محیط کشت مورد ارزیابی قرار گرفته و قدرت بازدارندگی آن‌ها با اندازه‌گیری قطر رشدی پرکنه قارچ و همچنین میزان حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل غلظت قارچ‌کشی مربوط به هر اسانس، تعیین گردید. همچنین تأثیر این اسانس‌ها روی کاهش علائم بیماری لکه موجی به روش محلول پاشی روی گیاهچه‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که کمترین میزان قطر رشد *Alternaria alternata* مربوط به غلظت ۲۵۰ میکرولیتر بر لیتر اسانس مرزه با ۱۰۰ درصد بازدارندگی و بیشترین میانگین قطر رشد مربوط به اسانس رزماری در غلظت ۵۰ میکرولیتر بر لیتر با ۶/۳۵ درصد بازدارندگی بود. اسانس سیر بیشترین خاصیت قارچ‌کشی را با حداقل غلظت قارچ‌کشی معادل ۷۰۰ میکرولیتر بر لیتر به خود اختصاص داد حال آن که کمترین خاصیت قارچ‌کشی متعلق به اسانس رازیانه بود. همه اسانس‌ها قابلیت تخریب میسلیوم *A. alternata* را داشتند. قارچ فوق در دو تیمار مرزه و رزماری به ترتیب کمترین و بیشترین میزان اسپوردهی را از خود نشان داد. در شرایط گلخانه‌ای همگی اسانس‌ها باعث کاهش علائم بیماری لکه موجی شدند. بعد از قارچکش مانکوزب + متالاکسیل، اسانس مرزه بیشترین تأثیر و اسانس رزماری کمترین میزان تأثیر را روی ظهور علائم بیماری داشتند.

کلیدواژه‌ها: آسکومیکوتا، اسانس‌های گیاهی، بازدارندگی از رشد، لکه موجی گوجه فرنگی، قارچکش

دبیر تخصصی: دکتر رضا مستوفی‌زاده قلمفرسا

Citation: Habibi, M. M., Mamarabadi, M., Taheri, P. & Ramezany, Y. (2022). The effect of essential oils derived from various plant species versus the Mancozeb + Metalaxyl fungicide in inhibiting early blight of tomato. *Plant Protection (Scientific Journal of Agriculture)*, 45(3), 71-89. <https://doi.org/10.22055/ppr.2022.17813>.

مقدمه

گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicum* L.) متعلق به خانواده‌ی Solanaceae یکی از مهمترین محصولات با ارزش بعد از سیب‌زمینی در این خانواده است که هر ساله در سراسر جهان، در مقیاس‌های کوچک یا بزرگ برای تولید تجاری کشت می‌گردد. لیکن اکثر اوقات تحت تأثیر آفات و عوامل بیماری‌زا قرار گرفته و باعث کاهش کیفیت، کمیت و سودآوری آن می‌گردد (Islam et al., 2013). به دنبال افزایش جمعیت و به تبع آن نیاز روزافزون بشر به مواد غذایی و محدودیت زمین قابل استفاده از نظر کشاورزی، تلاش برای حفاظت محصولات کشاورزی از گزند آفات و عوامل بیماری‌زای گیاهی که سبب بازده پایین این محصولات می‌شوند از طریق بکارگیری روش‌های مختلف مهار بیماری میسر شده است. از طرفی دیگر کشاورزان برای رفع نیاز بازار گوجه‌فرنگی، به استفاده مداوم از سموم دفع آفات شیمیایی متوسل شده‌اند (NashwaShwa & Abo-ElyouSr, 2012). اما استفاده بیش از حد این قبیل مواد شیمیایی سبب آلودگی محیط‌زیست می‌گردد و همچنین عوامل بیماری‌زای گیاهی نیز به سرعت نسبت به آفت‌کش‌های شیمیایی مقاوم می‌شوند. از سوی دیگر با توجه به قیمت بالای آفت‌کش‌ها و تجمع یافتن آنها در گیاهان یا خاک و اثرات مضر که روی انسان می‌گذارند، تحقیقات گسترده‌ای جهت جایگزینی این روش با روش‌های جدیدتر به منظور مبارزه با عوامل بیماری‌زای مقاوم به قارچ‌کش‌ها در سراسر دنیا انجام می‌شود. بدین ترتیب که از اواخر سال ۱۹۰۰ دانشمندان تلاش‌های زیادی جهت استفاده از ترکیبات اسانس‌های گیاهی و آنتاگونیسم‌های طبیعی بین ارگانسیم‌های ساکن خاک برای حفاظت از گیاهان انجام داده‌اند و تولید و معرفی ترکیبات زیستی در سیستم‌های

تولید سبزیجات که معمولاً مصرف تازه خوری دارند، می‌تواند به کاهش خطرات مرتبط به استفاده از مواد شیمیایی کمک کند (Goufo et al., 2008). از این رو استفاده از اسانس‌ها و عصاره‌ها جهت مهار قارچ‌های بیمارگر گیاهی به عنوان یکی از روش‌های جایگزین مطرح شده است. این ترکیبات به دلیل اثر بخشی مناسب، تجزیه‌پذیری در طولانی مدت، تأثیر روی بیمارگرهای مختلف و فقدان باقی مانده در محیط می‌توانند به عنوان جایگزین مناسبی برای سموم شیمیایی مورد استفاده قرار گیرند (Singh et al., 2014). لذا این مطالعه با هدف ارزیابی اثر مهاری اسانس گیاهان مرزه (*Satureja hortensis* L.)، سیر (*Allium sativum* L.)، آویشن شیرازی (*Zataria multiflora* Boiss.)، رازیانه (*Foeniculum vulgare* Mill.) و رزماری (*Rosmarinus officinalis* L.) روی عامل بیماری لکه موجی گوجه‌فرنگی در شرایط آزمایشگاه و گلخانه و امکان جایگزینی سموم شیمیایی با آنها، انجام پذیرفت.

مواد و روش‌ها

جدایه‌ی قارچی و شرایط کشت آن

جدایه‌ی قارچ *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl. برای بررسی تأثیر اسانس‌های مختلف گیاهی روی آن، از بانک میکروارگانیسم مستقر در دانشگاه فردوسی مشهد ثبت شده در مرکز جهانی اطلاعات میکروارگانیسم‌ها (WDCM 1207)^۱ تهیه گردید. بیماری‌زایی این جدایه قبلاً مورد بررسی و به اثبات رسیده بود (Ramezani et al., 2019). از محیط کشت آماده سیب‌زمینی دکستروز آگار^۲ ساخت شرکت مرک آلمان به مقدار ۳۹ گرم در یک لیتر پس از سترون در اتوکلاو در ۱۲۱ درجه‌ی سلیسیوس با فشار یک اتمسفر و مدت زمان

2- Potato Dextrose Agar (PDA)

1- World Data Centre for Microorganisms

اسانس‌های استخراج شده تا زمان استفاده، در چهار درجه‌ی سلسیوس نگهداری گردیدند (Ranjbar et al., 2008).

قارچ کش مورد استفاده

به منظور مقایسه فعالیت ضد قارچی اسانس‌های گیاهی مورد مطالعه با یک قارچ کش شیمیایی، از ترکیب قارچ کش‌های مانکوزب ۶۴٪ W/W با نام تجاری دیتان ام ۴۵ به عنوان یک قارچ کش حفاظتی و متلاکسیل ۸٪ W/W با نام تجاری ریدومیل و با عملکرد سیستمیک (شرکت المحمود، بحرین)، استفاده گردید.

ارزیابی بازدارندگی از رشد قارچ در شرایط آزمایشگاه

برای بررسی اثرات بازدارندگی اسانس‌های گیاهان مختلف مورد آزمایش و قارچکش مانکوزب+ متلاکسیل، از روش اختلاط اسانس یا قارچکش با محیط کشت استفاده گردید. لذا پس از اتوکلاو نمودن محیط کشت PDA و سرد شدن آن، غلظت‌های مختلف ۵۰، ۱۵۰ و ۲۵۰ میکرولیتر بر لیتر از اسانس گیاهان مذکور در محیط کشت و غلظت‌های ۰/۱، ۰/۰۱ و ۰/۰۰۱ میلی گرم بر میلی لیتر در محیط کشت از قارچکش مانکوزب+ متلاکسیل، تهیه و در ۴۵-۴۰ درجه سلسیوس به تشتک‌های پتری یک بار مصرف سترون منتقل گردیدند. پس از آن، از حاشیه‌ی پرگنه‌ی A. *alternata* بلوک‌های میسلومی به قطر هشت میلی‌متر توسط چوب پنبه سوراخ کن سترون جدا شده و در شرایط سترون و زیر هود در مرکز تشتک‌های پتری با رقت‌های متفاوت اسانس گیاهان مختلف مورد آزمایش و قارچکش مانکوزب+ متلاکسیل، قرار داده شدند. تشتک‌های پتری به مدت یک هفته در ۲۸ درجه‌ی سلسیوس نگهداری گردیدند و برای هر تیمار سه تکرار در نظر گرفته شد و در تیمار شاهد از آب مقطر سترون به جای اسانس‌ها و

۲۰ دقیقه (Simmons, 2007) برای کشت مجدد جدایه‌ی مربوطه و انجام آزمون‌های تأثیر اسانس‌ها روی گونه‌ی A. *alternata* در شرایط آزمایشگاه استفاده گردید. برای تهیه‌ی سوسپانسون اسپور جدایه‌ی مذکور از محیط کشت‌های تازه‌ی هفت روزه قارچ روی محیط کشت سیب‌زمینی هویج آگار^۱ استفاده گردید. میزان ۲۰ گرم سیب‌زمینی و ۲۰ گرم هویج خرد و پس از جوشاندن در آب با استفاده از پارچه ممل عصاره‌گیری و حجم آن با استفاده از آب مقطر سترون به یک لیتر رسانده شد. سپس ۲۰-۱۵ گرم آگار (شرکت مرک آلمان) به آن اضافه گردید. پس از حل شدن آگار، محیط کشت در دستگاه اتوکلاو با ۱۲۱ درجه‌ی سلسیوس، فشار یک اتمسفر به مدت ۱۵ دقیقه سترون گردید (Simmons, 2007).

گیاهان مورد استفاده در آزمایش

در این تحقیق از اسانس پنج گیاه دارویی مختلف شامل مرزه، سیر، آویشن شیرازی، رازیانه و رزماری استفاده شد. همچنین از گیاه گوجه‌فرنگی رقم پتو ارلی سی اچ^۲ در شرایط گلخانه‌ای برای مطالعه تأثیر اسانس‌های گیاهی روی کاهش میزان بیماری لکه موی استفاده گردید.

تهیه‌ی اسانس گیاهان

برای تهیه و استخراج اسانس‌های مورد مطالعه به شرح ذیل از دستگاه کلونجر^۳ استفاده گردید. بدین صورت که در خصوص سه گیاه مرزه، آویشن شیرازی و رزماری ۵۰ گرم از بخش‌های هوایی خشک شده هر گیاه کاملاً خرد و به صورت جداگانه در بالن یک لیتری کلونجر به همراه مقداری آب ریخته شد و به مدت سه ساعت اسانس آنها به روش تقطیر جداسازی گردید. در ضمن بذور خشک شده رازیانه و حبّه‌های خشک شده سیر هر کدام به میزان ۵۰ گرم جهت تهیه اسانس مورد استفاده قرار گرفتند. از سولفات سدیم برای آب‌گیری از اسانس استفاده گردید و

3- Clevenger

1- Potato Carrot Agar (PCA)

2- Peto Early CH

ارزیابی تأثیر ترکیبات مورد بررسی بر

ریخت‌شناسی میسلیم‌های *A. alternata*

برای بررسی تغییرات میسلیم‌ها و تأثیرات اسانس‌ها و قارچکش مانکوزب+ متالاکسیل بر روی آنها از کشت تازه قارچ (پنج روزه) در ۲۷ درجه سلسیوس با غلظت ۲۵۰ میکرولیتر بر لیتر از اسانس و ۰/۱ میلی گرم بر میلی لیتر از قارچکش، از حاشیه‌ی آن نمونه‌هایی برداشته و با استفاده از میکروسکوب نوری مدل Olympus BX41, Japan مشاهده و تغییرات میسلیم‌ها بررسی گردیدند (Sharma & Tripathi, 2006). برای اسانس مرزه به جهت عدم رشد قارچ در غلظت ۲۵۰ میکرولیتر بر لیتر، از غلظت ۲۰۰ میکرولیتر بر لیتر نمونه برداشته شد. همچنین جهت مقایسه‌ی تیمارها با تیمار شاهد، نمونه‌هایی از پرگنه‌ی پنج روزه‌ی *A. alternata* کشت شده روی محیط کشت PDA فاقد اسانس برداشته و مورد بررسی قرار گرفتند.

اثر تیمارهای مختلف بر میزان تولید اسپور

ارزیابی تأثیر ترکیبات مختلف مورد بررسی بر روی اسپور دهی قارچ *A. alternata* به شرح ذیل انجام پذیرفت. بدین صورت که ابتدا محیط کشت PCA حاوی غلظت‌های مختلف ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میکرولیتر بر لیتر از هر اسانس و ۰/۰۱ و ۰/۰۱ میلی گرم بر میلی لیتر از قارچکش مانکوزب+ متالاکسیل، تهیه و سپس بلوک‌های میسلیمی هشت میلی‌متری از حاشیه‌ی پرگنه‌ی کشت ۷ روزه قارچ که از قبل روی محیط کشت PDA کشت گردیده بودند را توسط چوب پنبه سوراخ کن سترون برداشته و در وسط تشتک‌های پتری حاوی محیط کشت PCA با غلظت‌های ذکر شده در بالا از هر تیمار گذاشته شدند. سپس در ۲۷ درجه سلسیوس و دوره‌ی نوری ۱۶ ساعت تاریکی و هشت ساعت روشنایی (شرایط مطلوب اسپوردهی گونه‌های

قارچکش مانکوزب+ متالاکسیل استفاده شد. رشد قطری پرگنه‌ی قارچ در غلظت‌های مختلف مورد بررسی و در زمان پر شدن تشتک‌های پتری تیمار شاهد اندازه‌گیری گردید (Hadian et al., 2006). درصد بازدارندگی از رشد *A. alternata* توسط غلظت‌های مختلف با استفاده از فرمول $MGI = (DC - DT) / DC \times 100$ محاسبه شد (Moslem & El-Kholie, 2009). در این فرمول به ترتیب $MGI =$ درصد بازدارندگی از رشد، $DC =$ قطر رشدی پرگنه تیمار در غلظت‌های مختلف اسانس‌ها و قارچکش مانکوزب+ متالاکسیل است.

تعیین میزان MIC^۱ و MFC^۲ اسانس‌های مورد

بررسی

برای مشخص نمودن حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) اسانس‌های گیاهان مرزه، سیر، آویشن شیرازی، رازیانه و رزماری و قارچکش مانکوزب+ متالاکسیل، بدین صورت عمل گردید که اسانس‌های مختلف در غلظت‌های متفاوت با دامنه غلظتی بین صفر تا ۳۰۰۰ میکرولیتر بر لیتر و فواصل ۱۰۰ میکرولیتر از همدیگر و دامنه غلظتی صفر تا یک میلی گرم بر میلی لیتر برای قارچکش مانکوزب+ متالاکسیل، تهیه و با محیط کشت مخلوط گردیدند. در پایان آزمایش کمترین غلظتی را که موجب بازدارندگی کامل از رشد قارچ *A. alternata* گردید، به عنوان MIC در نظر گرفته شد (Plodpai et al., 2013). همچنین برای تعیین حداقل غلظت قارچ کشی (MFC) ترکیبات مختلف مورد بررسی، غلظت‌هایی از MIC را که هیچ گونه رشدی در آنها مشاهده نگردیده بود، مجدداً روی محیط کشت PDA فاقد ترکیبات مورد بررسی، کشت داده شده و حداقل غلظتی را که در آن هیچ رشدی روی محیط کشت PDA مشاهده نگردید، به عنوان MFC گزارش شد (Irkin & Korukluoglu, 2007).

اثر تیمارهای مختلف بر میزان جوانه زنی اسپور

برای این منظور از روش پیشنهادی (Li et al., 2015) استفاده گردید. بدین ترتیب که ابتدا ۲۵ گرم از پودر PDB حاوی محیط کشت آماده Potato Dextrose Broth (مرک، آلمان) را در یک لیتر آب مقطر سترون حل نموده و پس از اتوکلاو و سرد شدن تا ۴۰ درجه سلسیوس، غلظت‌های مختلف ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میکرولیتر بر لیتر از هر اسانس و ۰/۰۰۱ و ۰/۰۱ میلی گرم بر میلی لیتر از قارچکش مانکوزب+ متالاکسیل در محیط کشت مذکور تهیه و سپس به میزان یکسان از سوسپانسیون اسپور با غلظت 1×10^6 به هر یک از غلظت‌های مذکور اضافه و در ۲۷ درجه سلسیوس نگهداری شدند. پس از گذشت مدت زمان ۱۲ تا ۲۴ ساعت و با توجه به جوانه زنی اسپورهای تیمار شاهد، درصد جوانه زنی اسپورها با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

$$\text{تعداد اسپورهای جوانه زده تیمار مورد نظر در هر میلی لیتر} - \text{تعداد اسپورهای جوانه زده تیمار شاهد در هر میلی لیتر} \times 100 = \frac{\text{مهار جوانه زنی (\%)}}{\text{تعداد اسپورهای جوانه زده تیمار شاهد در هر میلی لیتر}}$$

استفاده گردید. بدین صورت که مقداری آب جهت عدم پراکندگی اسپورها به سطح آزمایشگاه و همچنین جداسازی اسپورها از میسلیم به داخل تشتک‌های پتری حاوی کشت هفت روزه قارچ ریخته و به وسیله تیغ اسکالپل سترون خراش داده شدند. سپس سطح محیط کشت مجدداً با استفاده از آب مقطر سترون شستشو داده شد تا اسپورهای باقی مانده‌ی احتمالی نیز وارد سوسپانسیون گردند. فالكون‌های ۵۰ میلی لیتری حاوی سوسپانسیون اسپور را ورتکس کرده و اسپورها با استفاده از پارچه ململ و عبور دادن سوسپانسیون از آن، از میسلیم‌ها جدا شدند. لام هموسایتومتر جهت تعیین غلظت سوسپانسیون اسپور در حد 1×10^6 اسپور در هر میلی لیتر به کار گرفته شد و جهت استقرار بهتر اسپورها در سطح برگ، به هر سوسپانسیون مقدار ۰/۰۵ درصد توتین ۲۰ اضافه شد. ارزیابی اثرات ضد قارچی اسانس‌های مختلف و قارچکش مانکوزب+ متالاکسیل در شرایط گلخانه به شرح

Alternaria) نگهداری گردیدند. پس از گذشت پنج روز، به سطح هر تشتک پتری مقداری آب سترون جهت عدم پراکندگی اسپورها و همچنین عدم آلودگی فضای آزمایشگاه اضافه گردید و سطح هر تشتک پتری با اسکالپل سترون خراش داده شده و تعداد اسپورهای ایجاد شده در هر تشتک پتری توسط لام هموسایتومتر شمارش و با استفاده از رابطه‌ی زیر با تشتک پتری شاهد مقایسه گردیدند. در تشتک پتری شاهد از آب مقطر سترون استفاده شد (Singh et al., 1980; Tzortzakis & Economakis, 2007).

$$\text{درصد اسپورهای تولید شده} = \frac{n}{N} \times 100$$

n در این رابطه تعداد اسپورهای ایجاد شده در تیمار در غلظت مورد بررسی و N = تعداد اسپورهای ایجاد شده در تیمار شاهد است.

کاشت گیاهان گوجه فرنگی در گلخانه و روش مایه زنی و تیمار آنها با اسانس های گیاهی

بذر رقم گوجه فرنگی حساس به بیماری لکه موی (پتو ارلی سی اچ) از مرکز تحقیقات کشاورزی استان خراسان رضوی تهیه و با استفاده از محلول هیپوکلریت سدیم یک درصد یک دقیقه آلودگی زدایی سطحی شدند و سپس سه بار پشت سر هم توسط آب مقطر سترون شستشو داده شدند. این بذرها پس از خشک شدن توسط کاغذ صافی سترون در سینی‌های مخصوص نشاء، کشت داده شده و در مرحله‌ی دو برگی به گلدان‌های حاوی نسبت مساوی از خاک برگ، ماسه و خاک مزرعه انتقال داده شدند. جهت انجام آزمایش از گیاهان مرحله‌ی سه تا پنج برگی گوجه فرنگی به تعداد سه گیاه برای هر تیمار استفاده گردید (NAShwa & Abo- ElyouSr, 2012). برای تهیه‌ی سوسپانسیون اسپور جدایی‌ی *A. alternata* از کشت‌های تازه‌ی هفت روزه PCA

قارچ بدون اسانس و قارچکش) و سالم (افشانه با آب مقطر سترون بدون اسپور قارچ و موارد دیگر) جهت ارزیابی و مقایسه تأثیر اسانس‌ها و قارچ‌کش روی بیماری لکه‌موجی گوجه‌فرنگی استفاده گردید.

برآورد شدت و شاخص بیماری لکه موجی در شرایط گلخانه

شدت بیماری لکه‌موجی گوجه‌فرنگی برای هر تیمار با استفاده از سیستم رتبه بندی (صفر تا چهار) به شرح ذیل نمره‌دهی شد. بدین ترتیب که شدت بیماری در سطح برگ‌ها یا درصد بروز علائم بیماری بر روی برگ‌ها بصورت مشاهده ای تخمین زده شد و به گیاه سالم (فاقد علائم) عدد صفر، یک تا ۲۵ درصد آلودگی در سطح برگ‌ها عدد یک، ۲۶ تا ۵۰ درصد آلودگی در سطح برگ‌ها عدد دو، مقدار ۵۱ تا ۷۵ درصد آلودگی در برگ‌ها عدد سه و به میزان ۷۶ تا ۱۰۰ درصد آلودگی عدد چهار تعلق گرفت. شاخص بیماری در گلخانه (DI) با استفاده از فرمول ذیل محاسبه گردید (Hubballi et al., 2010).

$$DI = \frac{((0 \times n_0) + (1 \times n_1) + (2 \times n_2) + (3 \times n_3) + (4 \times n_4))}{4 \times N} \times 100$$

نرم‌افزار Microsoft Office Excel 2013 استفاده گردید. میانگین‌ها در نرم‌افزار SPSS با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح پنج درصد مورد مقایسه قرار گرفتند.

نتایج

ارزیابی اثر بازدارندگی اسانس‌ها روی رشد قارچ در شرایط آزمایشگاه

در این مطالعه تأثیر بازدارندگی از رشد اسانس گیاهان مرزه، سیر، رازیانه، رزماری و آویشن شیرازی در مقایسه با شاهد و قارچ‌کش مانکوزب+ متالاکسیل، مورد بررسی قرار گرفت و رشد شعاعی میسلیم‌های قارچ روی محیط کشت بعد از یک هفته اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که همه‌ی اسانس‌ها همانند قارچکش مانکوزب+ متالاکسیل از خود

ذیل انجام گردید. برای این منظور گیاهان گوجه‌فرنگی هفت هفته‌ای گوجه‌فرنگی (سه تا پنج برگگی) در شرایط رطوبت ۶۰ درصد و دوره‌ی نوری ۱۴ ساعت مورد استفاده قرار گرفتند. متوسط دما در طول روز و شب به ترتیب ۲۷ و ۱۹ درجه سلسیوس بود. با بررسی منابع مختلف و استفاده از تجارب قبلی (Mamarabadi et al., 2018) در نهایت غلظت ۷۵۰ میکرولیتر بر لیتر از هر اسانس و دو میلی‌گرم بر میلی‌لیتر قارچکش را انتخاب و مقدار ۳۰ میلی‌لیتر از آن به سطح گیاه افشانه و مجدداً ۱۰ روز بعد عمل محلول پاشی تکرار گردید. دو روز بعد از محلول پاشی دوم، گیاهان توسط ۳۰ میلی‌لیتر سوسپانسیون اسپور با غلظت 1×10^6 اسپور در میلی‌لیتر مایه‌زنی گردیدند. پس از مایه‌زنی، گیاهان در دمای ۲۸ درجه سلسیوس و رطوبت نسبتاً اشباع با استفاده از یک پوشش پلاستیکی جهت تامین رطوبت و دما نگهداری شدند. ۱۵ روز پس از مایه‌زنی، علائم و پیشرفت علائم بیماری مورد بررسی قرار گرفت (Bajpai & Kang, 2010). در این آزمایش از دو شاهد آلوده (مایه‌زنی شده با

در این رابطه DI شاخص بیماری در گلخانه، n_0 تعداد گیاهان با شدت بیماری دارای نمره صفر، n_1 تعداد گیاهان با شدت بیماری دارای نمره یک، n_2 تعداد گیاهان با شدت بیماری دارای نمره دو، n_3 تعداد گیاهان با شدت بیماری دارای نمره سه، n_4 تعداد گیاهان با شدت بیماری دارای نمره چهار و N تعداد کل گیاهان مورد بررسی در هر تیمار می باشد.

واکوی آماری داده‌ها

تمامی آزمون‌ها با سه تکرار و در قالب طرح‌های کاملاً تصادفی اجرا گردیدند. تبدیل داده‌های درصدی با استفاده از Arcsin انجام شد. برای تجزیه واریانس از نسخه‌ی ۲۴ نرم افزار SPSS و برای رسم نمودارها از

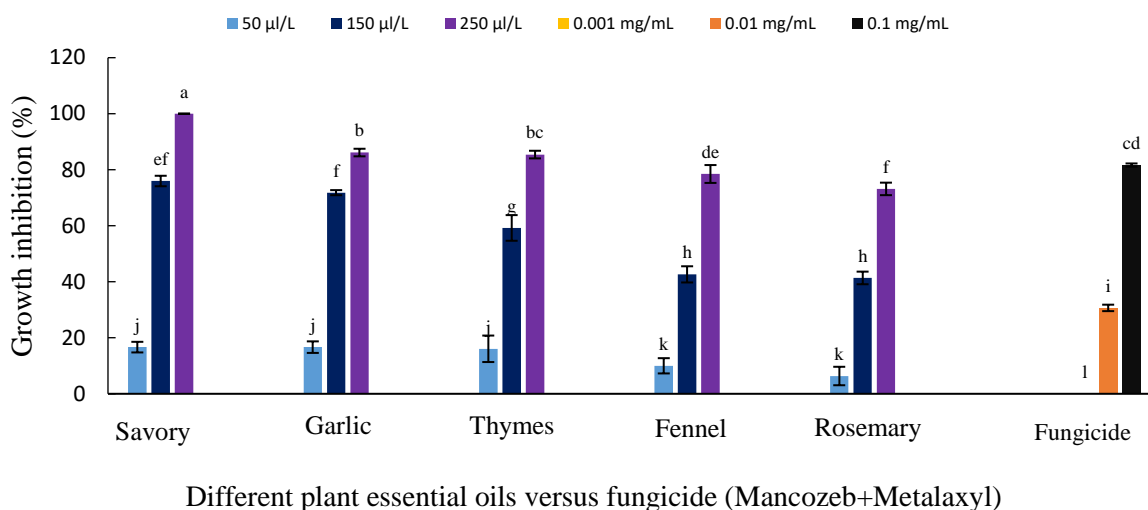
رفته در آزمایش، میانگین بازدارندگی از رشد در اسانس‌های سیر، آویشن شیرازی و رازیانه به ترتیب برابر با ۸۶/۱۳، ۸۵/۴۱ و ۷۸/۴۸ درصد و کمترین میزان بازدارندگی این اسانس‌ها برابر با ۱۶/۶۶، ۱۶/۰۶ و ۹/۹۹ درصد بود. این در حالی است که در قارچ‌کش به کار رفته، در دو غلظت ۰/۱ و ۰/۰۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به ترتیب ۳۰/۸۶ و ۸۱/۶۶ درصد بازدارندگی از رشد مشاهده گردید (شکل‌های ۱ و ۲).

فعالیت بازدارندگی از رشد میسلیم قارچ را نشان دادند و با هم دارای اختلاف معنی‌دار بودند که بیشترین میانگین بازدارندگی در میان شش تیمار مورد بررسی با میانگین ۱۰۰ درصد مربوط به اسانس مرزه و در غلظت ۲۵۰ میکرو لیتر بر لیتر و کمترین میانگین بازدارندگی با صفر و ۶/۳۵ درصد به ترتیب مربوط به غلظت ۰/۰۰۱ قارچ‌کش و غلظت ۵۰ میکرو لیتر بر لیتر از اسانس رزماری بود. در غلظت ۲۵۰ میکرو لیتر بر لیتر به کار



شکل ۱- رشد قطری پرگنه‌ی *Alternaria alternata* روی محیط کشت PDA پس از یک هفته در ۲۸ درجه سلسیوس و اثر بازدارندگی اسانس گیاهان مختلف در غلظت‌های ۵۰، ۱۵۰ و ۲۵۰ میکرو لیتر بر لیتر در مقایسه با قارچ‌کش (ماتوکوزب+ متالاکسیل) در غلظت‌های ۰/۰۰۱، ۰/۰۱ و ۰/۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر.

Figure 1. Diagonal growth of *Alternaria alternata* colony on PDA medium after one week at 28 °C and the inhibitory effect of different plant essential oils at 50, 150 and 250 µL/L compared to fungicide (Mancozeb+Metalaxyl) at 0.001, 0.01 and 0.1 mg/mL.



شکل ۲- درصد بازدارندگی اسانس‌های مختلف گیاهی در غلظت‌های ۵۰، ۱۵۰ و ۲۵۰ میکرو لیتر بر لیتر روی رشد *Alternaria alternata* در محیط کشت PDA پس از یک هفته در ۲۸ درجه سلسیوس در مقایسه با قارچ کش (مانکوزب+ متلاکسیل) در غلظت‌های ۰/۰۰۱، ۰/۰۱ و ۰/۱ میلی گرم بر میلی لیتر. حروف متفاوت بیانگر وجود اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد است (آزمون چند دامنه‌ای دانکن). نوارهای خطا نشان دهنده تنوع داده‌ها هستند.

Figure 2. The inhibition percentage of different plant essential oils at 50, 150 and 250 µL/L on the growth of *Alternaria alternata* on PDA medium after one week at 28 °C compared to fungicide (Mancozeb + Metalaxyl) at 0.001, 0.01 and 0.1 mg/mL. Different letters indicate significant differences at 0.05 (Duncan's multiple range test). Error bars indicate the variability of data.

A. alternata داشتند. این در حالی بود که MIC و MFC قارچکش مانکوزب+ متلاکسیل به ترتیب برابر با ۱۰۰۰ و ۱۵۰۰ میکرو گرم بر میلی لیتر اندازه گیری گردید.

ارزیابی تأثیر اسانس‌های گیاهی بر ریخت‌شناسی میسلیم‌های *A. alternata*

میسلیم گونه‌ی *A. alternata* پس از گذشت پنج روز از زمان کشت روی محیط کشت PDA با غلظت‌های ۲۰۰-۲۵۰ میکرو لیتر بر لیتر از اسانس و ۰/۱ میلی گرم بر میلی لیتر از قارچکش مورد بررسی قرار گرفتند. مطابق شکل ۳ در همه‌ی تیمارهای مورد بررسی تغییرات ریخت‌شناختی از جمله جدایی سیتوپلاسم از دیواره‌ی سلولی، کاهش قطر دیواره‌ی میسلیم و قطعه قطعه شدن، کاهش محتویات سیتوپلاسم، تحلیل رفتن سلول‌ها و در نهایت مرگ میسلیم مشاهده شد.

تعیین حداقل غلظت بازدارندگی و قارچکشی اسانس‌های گیاهی

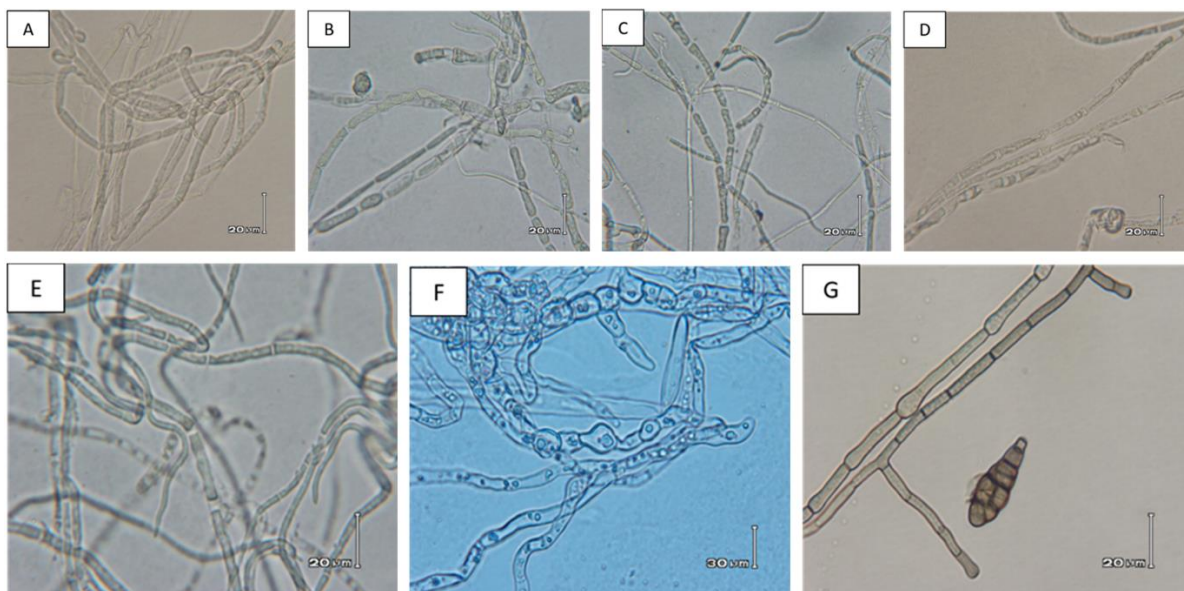
حداقل غلظت بازدارندگی اسانس‌های مختلف مورد بررسی در این مطالعه در جدول یک آمده است. نتایج حاصله نشان داد که اسانس مرزه با غلظت ۲۰۰ میکرو لیتر بر لیتر کمترین و اسانس رزماری با غلظت ۲۵۰۰ میکرو لیتر بر لیتر بیشترین مقدار MIC را در میان سایر تیمارهای مورد بررسی داشتند. دو اسانس سیر و رازیانه با غلظت‌های ۷۰۰ و ۲۰۰۰ میکرو لیتر بر لیتر به ترتیب کمترین و بیشترین میزان MFC را از خود نشان دادند. از طرفی اسانس رزماری فاقد خاصیت کشندگی در غلظت‌های بررسی شده بود و مشخص گردید که اسانس مرزه قوی‌ترین و اسانس رزماری ضعیف‌ترین خاصیت بازدارندگی از رشد و اسانس سیر بیشترین خاصیت قارچکشی را در مقابل گونه‌ی

جدول ۱- حداقل غلظت بازدارندگی و قارچکشی اسانس‌های مختلف گیاهی در مقایسه با قارچکش مانکوزب+ متلاکسیل روی

Alternaria alternata

Table 1. Minimum inhibitory and fungicidal concentrations of different plant essential oils in comparison with Mancozeb + Metalaxyl fungicide on *Alternaria alternata*

Treatments	MIC ($\mu\text{L/L}$)	MFC ($\mu\text{L/L}$)
Savory	200	1400
Garlic	400	700
Thymes	500	1500
Fennel	1600	2000
Rosemary	2500	0
Mancozeb+Metalaxyl ($\mu\text{g/mL}$)	1000	1500



شکل ۳- تصاویر میکروسکوپی مربوط به بررسی تغییرات ریخت شناختی ایجاد شده در میسلیوم *Alternaria alternata* پس از گذشت پنج روز رشد روی محیط کشت PDA در ۲۷ درجه سلسیوس در اثر کاربرد اسانس‌های (A) مرزه، (B) سیر، (C) آویشن شیرازی، (D) رازیانه، (E) رزماری، (F) قارچکش مانکوزب+ متلاکسیل و (G) تیمار شاهد. غلظت‌های مورد استفاده از هر اسانس ۲۵۰ میکرولیتر بر لیتر و غلظت مورد استفاده از قارچکش ۰/۱ میلی گرم بر میلی لیتر بودند.

Figure 3. Microscopic images related to the morphological changes created in the mycelium of *Alternaria alternata* after five days of growth on PDA medium at 27 °C due to the use of essential oils of A) savory, B) garlic, C) thyme, D) fennel, E) rosemary, F) Mancozeb + Metalaxyl fungicide and G) Control treatment. The concentration used for each essential oil was 250 $\mu\text{L/L}$, and the concentration used for the fungicide was 0.1 mg/mL.

تیمارهای مورد بررسی در سطح پنج درصد وجود دارد. مؤثرترین اسانس در کاهش میزان اسپوردهی قارچ متعلق به اسانس مرزه در غلظت ۱۰۰ میکرولیتر بر لیتر بود. نتایج نشان دادند که بیشترین کاهش میزان اسپور در همه‌ی اسانس‌ها مربوط به غلظت ۱۰۰ میکروگرم بر لیتر بود به طوری که

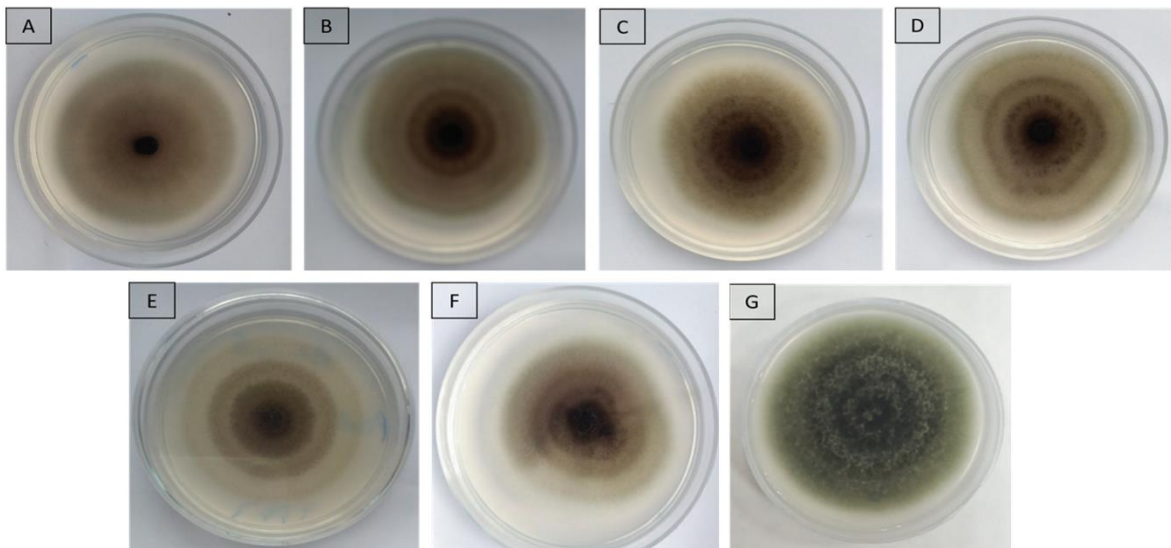
تأثیر اسانس‌ها روی میزان اسپوردهی *A. alternata*
تیمار گونه‌ی *A. alternata* با استفاده از اسانس‌های گیاهان مرزه، سیر، آویشن شیرازی، رازیانه، رزماری و قارچکش مانکوزب+ متلاکسیل باعث کاهش در میزان تولید اسپور گردید و نتایج نشان داد که اختلاف معنی‌داری در میان

رقم پتو ارلی سی اچ صورت پذیرفت. با گذشت زمان ۱۰ تا ۱۵ روز از زمان افشانه سوسپانسیون اسپور، علائم به صورت زردی و قهوه‌ای شدن بافت و در نهایت نکروزه شدن آنها خود را نشان دادند. در تیمار شاهد منفی که در آن افشانه با استفاده از غلظت‌های ذکر شده از قارچکش و اسانس‌های گیاهان مختلف مورد آزمایش و بدون مایه‌زنی با اسپور قارچ *A. alternata* بود هیچ گونه علائم مشهود مربوط به بیماری لکه موجی گوجه‌فرنگی مشاهده نگردید. همچنین در شاهد مثبت که در آن فقط از سوسپانسیون اسپور استفاده شده بود، علائمی مانند لکه‌های زرد و قهوه‌ای و لکه‌های نکروزه‌ی با دوایر متحدالمرکز مشاهده و به ثبت رسید. شاهد آلوده در مقایسه با سایر تیمارها میزان آلودگی بیشتری داشت یا به عبارتی دیگر، ترکیبات باعث کاهش شدت بیماری در شرایط گلخانه گردیدند (جدول ۲ و شکل‌های ۶ و ۷).

اسانس‌های مرزه، سیر، آویشن شیرازی، رازیانه و رزماری به ترتیب برابر با ۱۱/۶۸، ۱۶/۶، ۲۵/۱۶، ۲۵/۵۴ و ۲۷/۶۶ درصد نسبت به تیمار شاهد بود. اما در غلظت ۵۰ میکرولیتر بر لیتر ترتیب به این صورت نبوده و میزان کاهش اسپور در این غلظت در رزماری با ۴۲/۴۳ درصد تیمار شاهد بیشتر از رازیانه بوده و همچنین در غلظت ۲۵ میکرولیتر بر لیتر اسانس رازیانه کمترین میزان کاهش اسپوردهی نسبت به تیمار شاهد را در قارچ *A. alternata* بود (شکل‌های ۴ و ۵).

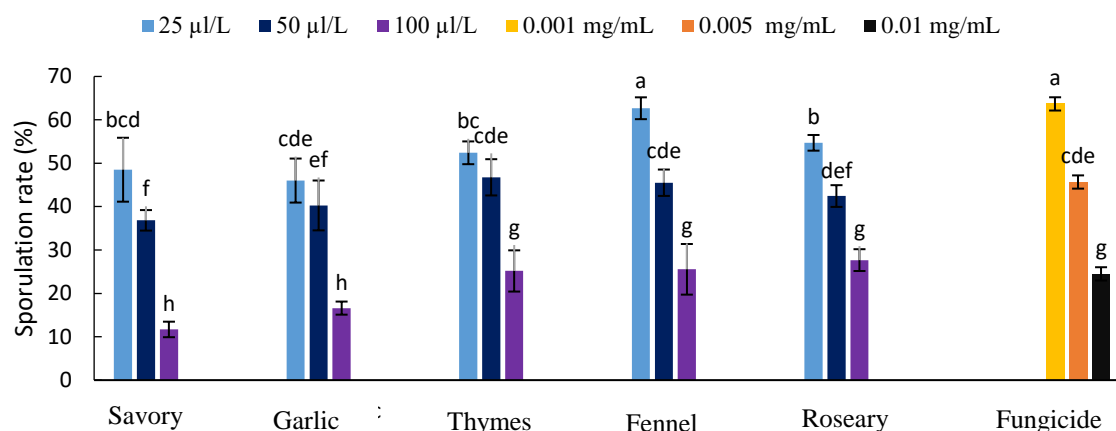
ارزیابی تأثیر اسانس روی علائم بیماری لکه‌موجی در شرایط گلخانه

ارزیابی تأثیر اسانس‌های گیاهان مختلف شامل مرزه، سیر، آویشن شیرازی، رازیانه و رزماری در غلظت ۷۵۰ میکرولیتر بر لیتر و قارچکش مانکوزب+ متالاکسیل با غلظت دو میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در شرایط گلخانه روی گیاه گوجه‌فرنگی



شکل ۴- تأثیر اسانس‌های گیاهان (A) مرزه، (B) سیر، (C) آویشن شیرازی، (D) رازیانه و (E) رزماری در غلظت ۵۰ میکرولیتر بر لیتر بر شکل ظاهری پرگنه‌ی *Alternaria alternata* در مقایسه با (F) قارچکش مانکوزب+ متالاکسیل با غلظت ۰/۰۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به عنوان شاهد مثبت و (G) بدون کاربرد هیچ تیماری به عنوان شاهد منفی پس از پنج روز رشد روی محیط کشت PCA در ۲۷ درجه سلسیوس و دوره‌ی نوری ۱۶ ساعت تاریکی و هشت ساعت روشنایی.

Figure 4. The effect of essential oils of A) savory, B) garlic, C) thyme, D) fennel and E) rosemary at a concentration of 50 $\mu\text{L/L}$ on the colony appearance of *Alternaria alternata* in comparison with F) Mancozeb + Metalaxyl fungicide with a concentration of 0.01 mg/mL as a positive control and G) No treatment as a negative control after five days of growth on PCA medium at 27 °C and a photoperiod of 16 hours of darkness and eight hours of light.



Different plant essential oils versus fungicide (Mancozeb+Metalaxyl)

شکل ۵- مقایسه میانگین تأثیر اسانس‌های مختلف گیاهی در غلظت‌های ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میکرو لیتر بر لیتر روی میزان (درصد) اسپوردهی *Alternaria alternata* در محیط کشت PCA پس از پنج روز در ۲۷ درجه سلسیوس در مقایسه با قارچکش (مانکوزب + متالاکسیل) در غلظت‌های ۰/۰۰۱، ۰/۰۰۵ و ۰/۰۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر. حروف متفاوت بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد است (آزمون چند دامنه‌ای دانکن). نوارهای خطا نشان دهنده تنوع داده‌ها هستند.

Figure 5. Comparison of the mean effect of different plant essential oils at 25, 50 and 100 µL/L on the sporulation rate (%) of *Alternaria alternata* grown on PCA medium after five days at 27 °C compared to fungicide (Mancozeb + Metalaxyl) at 0.001, 0.005 and 0.01 mg/mL. Different letters indicate significant differences at 0.05 (Duncan's multiple range test). Error bars indicate the variability of data.

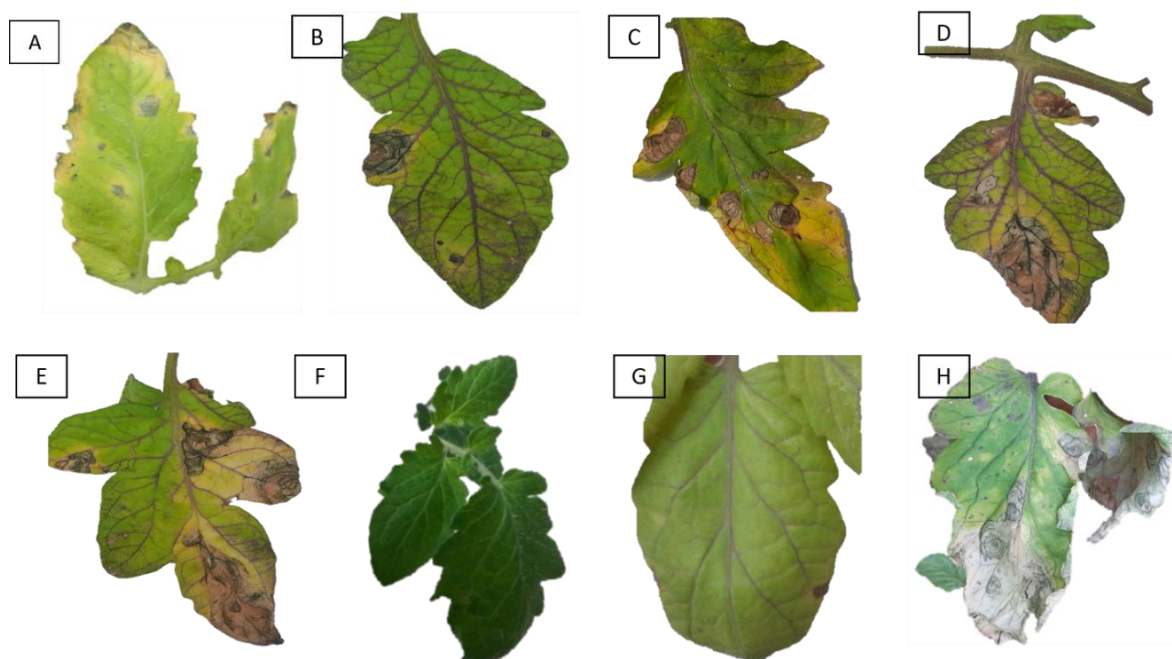
جدول ۲- تأثیر اسانس‌های مختلف گیاهی در مقایسه با قارچکش مانکوزب + متالاکسیل بر روی شدت و شاخص بیماری لکه‌موجی گوجه‌فرنگی رقم پتو ارلی سی اچ

Table 2. The effect of different plant essential oils compared to the fungicide Mancozeb + Metalaxyl on disease severity and disease index of tomato early blight on tomato Peto Early CH cultivar

Treatments	Disease severity (%)	Disease Index (%)
Savory	16.66 ± 2.8	11.11
Garlic	21.66 ± 2.8	40.74
Thymes	25 ± 5	55.55
Fennel	25 ± 0	55.55
Rosemary	35 ± 5	70.37
Mancozeb+Metalaxyl	1.66 ± 2.8	6.25
Infected plant	41.66 ± 2.8	77.77
Healthy plant	0	0

برای اسانس‌های آویشن شیرازی و رازیانه به یک مقدار و برابر ۵۵/۵۵ و برای سایر اسانس‌های مرزه، سیر، رزماری و شاهد مثبت به ترتیب برابر ۱۱/۱۱، ۴۰/۷۴، ۷۰/۳۷ و ۷۷/۷۷ بود.

بر اساس جدول ۲، در تیمار شاهد مثبت، بیشترین و در تیمار قارچکش کمترین میانگین آلودگی در سطح برگ رخ داده است این در حالی است که مقدار شاخص بیماری در گلخانه



شکل ۶- تأثیر اسانس‌های مختلف (A) مرزه، (B) سیر، (C) آویشن شیرازی، (D) رازیانه و (E) رزماری در غلظت ۷۵۰ میکرولیتر بر لیتر و مقایسه آنها با اثر (G) قارچکش مانکوزب+ متلاکسیل با غلظت دو میلی‌گرم بر میلی‌لیتر روی بیماری لکه موجی گوجه‌فرنگی رقم پتو ارلی سی اچ در شرایط گلخانه. (F) شاهد سالم و (H) شاهد آلوده است.

Figure 6. The effect of different essential oils A) savory, B) garlic, C) thyme, D) fennel and E) rosemary at 750 µL/L and their comparison with the effect of G) fungicide Mancozeb + Metalaxyl at two mg/mL on tomato early blight (Peto Early CH cultivar) under greenhouse conditions. F) and H) are healthy and infected controls, respectively.

از ظهور علائم را در میان سایر اسانس‌ها و تیمارها از خو نشان داد به عبارت دیگر کمترین میزان بیماری در تیمار مانکوزب+ متلاکسیل و کمترین آن در تیمار رزماری مشاهده گردید. اسانس‌های سیر، آویشن شیرازی و رازیانه با میانگین شدت بیماری ۲۱/۶۶، ۲۵ و ۲۵ درصد، در حد واسط دو اسانس مرزه و رزماری قرار گرفتند.

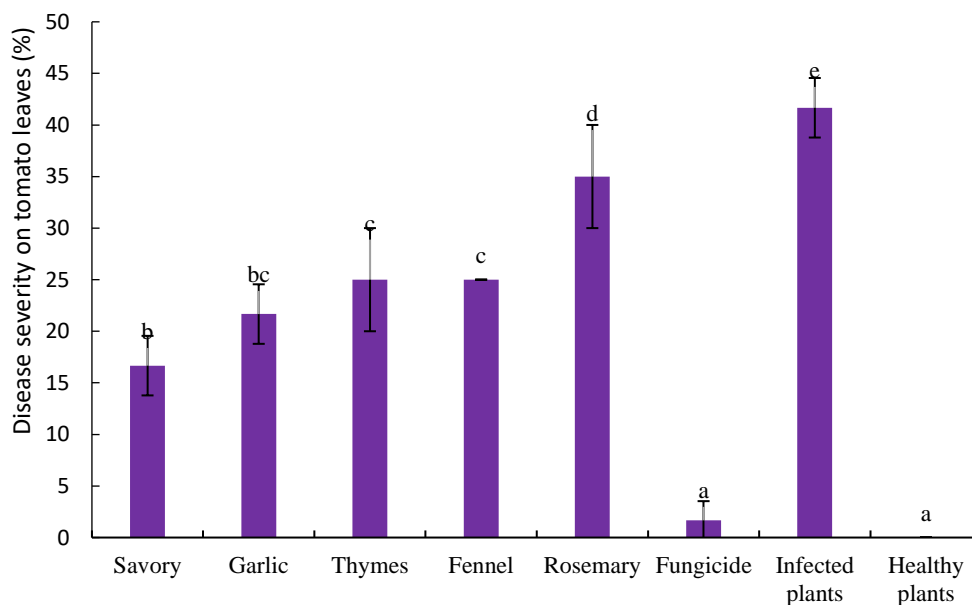
بحث

تحقیق حاضر برای بررسی اثر مهارکنندگی اسانس‌های گیاهان مختلفی مانند مرزه، سیر، آویشن شیرازی، رازیانه و رزماری در مقایسه با قارچکش مانکوزب+ متلاکسیل روی بیماری لکه‌موجی گوجه‌فرنگی در شرایط آزمایشگاه و گلخانه انجام پذیرفت. در این مطالعه اسانس مرزه در

نتایج تجزیه واریانس حاکی از وجود اختلاف معنی‌داری بین تیماری‌های اعمال شده روی میزان ظهور علائم بیماری لکه‌موجی گوجه‌فرنگی روی رقم پتو ارلی سی اچ بودند و هر یک در گروه‌های مختلفی قرار گرفتند (شکل‌های ۴-۷) که بر اساس آن بیشترین میزان شدت بیماری در تیمار شاهد مثبت (تیمار آلوده) فاقد اسانس‌های گیاهی و قارچکش) با ۴۱/۶۶ درصد آلودگی سطح برگ بود. کاربرد تیمارهای مختلف در این آزمون، کاهش علائم بیماری لکه موجی را به همراه داشت به گونه‌ای که قارچکش مانکوزب+ متلاکسیل و اسانس مرزه به ترتیب با میانگین شدت بیماری ۱۰/۶ و ۱۶/۶۶ درصد، بیشترین میزان بازدارندگی از ظهور علائم را داشتند و اسانس رزماری با میانگین شدت بیماری ۳۵ درصد، کمترین میزان بازدارندگی

میانگین بازدارندگی حدود ۱۰۰ و ۸۵ درصد روی رشد *A. alternata* در شرایط آزمایشگاه مطابقت دارد. همچنین مطالعه‌ی ما با تحقیقی که اثر بازدارندگی اسانس پنج گونه‌ی گیاهی آویشن شیرازی، مریم گلی (*Salvia officinalis* L.)، جوز هندی (*Myristica fragrans* Houtt.)، اکالیپتوس (*Eucalyptus oblique* LHer.) و کاسیا (*Cassia javanica* L.) را در مقابل *A. alternata* در غلظت‌های مختلف (بین ۱۰۰ تا ۵۰۰ ppm) در شرایط آزمایشگاهی مورد آزمایش قرار دادند، مطابقت داشت که در مطالعه‌ی اخیر روغن کاسیا و روغن آویشن شیرازی هر دو فعالیت ضد قارچی در برابر *A. alternata* نشان دادند (Feng & Zheng, 2007).

شرایط آزمایشگاه قدرت بازدارندگی بیشتری نسبت به سایر تیمارها از خود نشان داد و اسانس رزماری نسبت به سایر تیمارها از قدرت بازدارندگی کمتری برخوردار بود. در یک مطالعه تأثیر اسانس آویشن شیرازی، مرزه و زنیان (*Trachyspermum ammi* L.) با هدف جایگزینی با سموم قارچ‌کشی از جمله Pyraclostrobin و Azoxystrobin روی *Alternaria solani* Sorauer در دو غلظت ۲۰۰ و ۴۰۰ ppm مورد مطالعه قرار گرفت و نتایج نشان داد که همگی روی رشد شعاعی پرگنه‌ی قارچ تأثیر گذار بودند (Babagoli & Behdad, 2012). یافته‌های این پژوهش با نتایج حاصل از ارزیابی ما در مورد اثر بازدارندگی اسانس‌های مرزه و آویشن شیرازی بترتیب با



Different plant essential oils versus fungicide (Mancozeb+Metalaxyl)

شکل ۷- مقایسه‌ی میزان تأثیر اسانس‌های مختلف در غلظت ۷۵۰ میکرولیتر بر لیتر در مقایسه با اثر قارچکش مانکوزب + متلاکسیل با غلظت دو میلی‌گرم بر میلی‌لیتر روی شدت بیماری لکه موجی روی برگ‌های گوجه‌فرنگی رقم پتو ارلی سی اچ در شرایط گلخانه. حروف متفاوت بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد است (آزمون چند دامنه‌ای دانکن). نوارهای خطا نشان دهنده تنوع داده‌ها هستند.

Figure 7. Comparison of the effect of different essential oils at 750 $\mu\text{L/L}$ compared to the effect of the fungicide Mancozeb + Metalaxyl at two mg/mL on the disease severity of tomato early blight on leaves (Peto Early CH cultivar) under greenhouse conditions. Different letters indicate significant differences at 0.05 (Duncan's multiple range test). Error bars indicate the variability of data.

میزان معنی‌دار بازدارندگی و کشندگی اسانس‌های مرزه، سیر، آویشن شیرازی، رازیانه و رزماری را مربوط به این امر دانست. تأثیر اسانس‌ها بر بیماری‌های پس از برداشت نیز گزارش شده است، به عنوان مثال محققین با استفاده از میکروامولوسیون اسانس برگ بو (*Laurus nobilis*) توانستند با MIC و MFC برابر با ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بیماری آلترناریایی گوجه فرنگی را مهار نمایند (Xu et al., 2017). لذا تهیه میکروامولوسیون از اسانس‌های مورد مطالعه در پژوهش حاضر، برای ارزیابی امکان مهار بیماری‌های پس از برداشت گوجه فرنگی در انبار پیشنهاد می‌گردد. در آزمون بررسی میکروسکوپی تأثیر اسانس‌های گیاهی مورد بررسی روی ریخت‌شناسی میسلیم‌های *A. alternata* و مقایسه‌ی آن‌ها با قارچکش مورد بررسی، مشخص گردید که همگی اسانس‌ها همانند قارچکش مانکوزب+ متالاکسیل و متناسب با میزان خاصیت قارچ‌ایستایی و قارچ‌کشی خود، باعث تخریب ساختمان میسلیم و اختلال در فرایندهای غشای پلاسمایی و گرانوله شدن محتویات سیتوپلاسم گردیدند. به نظر می‌رسد که اسانس‌ها به جهت تنوع در اجزای سازنده‌ی آنها، هدف سلولی اختصاصی ندارند. این اثر به وسیله‌ی ایجاد مسمومیت ناشی از نفوذ اسانس‌ها از طریق دیواره سلولی و غشا سیتوپلاسمی به داخل میسلیم قارچ است (Li et al., 2011). برخی از مطالعات نفوذ ترکیبات اسانسی را به دیواره سلولی از طریق اختلال در ساختمان لایه‌های مختلف پلی‌ساکاریدی، اسیدهای چرب و فسفولیپیدها دانسته‌اند (Turina et al., 2006). همچنین برخی غشای سلولی را هدف احتمالی ترکیبات فرار به دلیل خاصیت آب‌گریزی اسانس‌ها بیان کرده‌اند (Laird & Phillips, 2012). از سوی دیگر پاره‌ای از مطالعات ترکیباتی از جمله ترپن‌ها و مواد فنولی موجود در اسانس‌ها را عامل تخریب غشای سلولی در باکتری و قارچ‌ها و اختلال در فعالیت زیستی آن را گزارش نموده‌اند.

اسانس گیاه رزماری به عنوان یک ترکیب ضد قارچی در تحقیقات زیادی مورد بررسی قرار گرفته است. در تحقیقی اسانس گیاهان رزماری به همراه میخک (*Syzygium aromaticum* L.) و برگ بو علیه عامل پوسیدگی خاکستری توت فرنگی (*Botrytis cinerea*) (Pers. مورد ارزیابی قرار گرفت و سه ترکیب را بازدارنده از رشد قارچ عامل بیماری مذکور دانستند که با نتایج تحقیق حاضر مشابه بود (Šernaitė et al., 2020). در آزمون‌های مربوط به MIC و MFC مشخص گردید که در میان اسانس‌ها، اسانس مرزه با ۲۰۰ میکروولتر بر لیتر بیشترین میزان بازدارندگی و به عبارتی دیگر دارای کمترین مقدار MIC و اسانس رزماری با ۲۵۰۰ میکروولتر بر لیتر دارای کمترین میزان بازدارندگی و به عبارتی دیگر دارای بیشترین میزان MIC بود. این در حالی است که بیشترین خاصیت قارچ‌کشی و کمترین MFC مربوط به اسانس سیر و کمترین خاصیت قارچ‌کشی مربوط به اسانس رازیانه بود. از طرفی دیگر میزان MIC و MFC برای قارچکش مانکوزب+ متالاکسیل مورد مطالعه به ترتیب برابر با یک و ۱/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر اندازه‌گیری شد. سیر به‌عنوان قدیمی‌ترین و مشهورترین گیاهان دارویی دارای ترکیب گوگردی به نام آلیسین است که دارای خاصیت ضد قارچی، ضد باکتریایی، ضد ویروسی و آنتی‌اکسیدانی است (Salama et al., 2014; Wolde et al., 2018). لازم به ذکر است که اسانس رزماری فاقد خاصیت قارچ‌کشی بوده و فقط دارای خاصیت بازدارندگی از رشد قارچ *A. alternata* بود. ویژگی‌های ریخت‌شناختی و فیزیولوژیک قارچ‌ها در میزان حساسیت آن‌ها به اسانس‌های گیاهی دخیل می‌باشد و توانایی نفوذ اسانس به کیتین موجود در دیواره‌ی سلولی بیمارگر به عنوان عامل تعیین‌کننده‌ای در میزان کشندگی این ترکیبات مطرح می‌باشند (Moghaddam & Mehdizadeh, 2015). بنابراین شاید بتوان تفاوت در

غلظت‌های مورد بررسی از میزان اسپورزایی کمتری نسبت به شاهد برخوردار بود که نتایج این آزمون هم راستا با نتایج مطالعات روی اسانس‌های گیاهان مختلف از جمله پیاز (*Allium cepa* L.)، نعناع فلفلی (*Mentha × piperita* L.)، زنیان، آویشن شیرازی، ریحان (*Ocimum basilicum* L.) و خرزهره (*Nerium oleander* L.) بود که اثرات متفاوتی را با قابلیت مهارکنندگی بالا روی کاهش اسپور *Alternaria solani* نشان دادند (Prasad & Naik, 2003; NASHWA & Abo-ElyouSr, 2012).

در مطالعات گلخانه‌ای مشخص گردید که بیشترین میزان مهارکنندگی بیماری لکه‌موجی گوجه‌فرنگی بر خلاف آزمون‌های آزمایشگاهی، مربوط به قارچکش مانکوزب+ متالاکسیل با میانگین آلودگی سطح برگ ۱۰/۶ درصد بود که بیشترین میزان مهارکنندگی را در شرایط گلخانه‌ای نسبت به سایر تیمارهای اسانس از خود نشان داد پس از قارچکش مانکوزب+ متالاکسیل، اسانس مرزه با میانگین آلودگی سطح برگ ۱۶/۶۶ درصد، بیشترین و همچنین کمترین اثر مهارکنندگی مربوط به اسانس رزماری با ۳۵ درصد میانگین آلودگی سطح برگ بودند. دو اسانس آویشن شیرازی و رازیانه هر دو با میانگین آلودگی سطح برگ ۲۵ درصد، از لحاظ آماری با هم اختلاف معنی‌داری نداشتند. نتایج حاصل از بخش گلخانه‌ای نیز با نتایج سایر محققین نیز مطابقت داشت. در مطالعه‌ای تأثیر اسانس‌های گیاهان مختلف آویشن شیرازی، مریم‌گلی، جوز هندی، اکالیپتوس و کاسیا روی بیماری لکه‌موجی گوجه‌فرنگی تحت شرایط گلخانه‌ای مورد بررسی قرار گرفت و کاربرد ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر میکرومولسیون را به عنوان محافظی مناسب برای گوجه‌فرنگی در برابر بیماری مذکور دانستند و اظهار داشتند که میکرومولسیون از طریق آسیب رساندن به غشای سلولی بیمارگر و افزایش فعالیت آنزیم‌های مرتبط با مقاومت، بیماری پس از برداشت را مهار می‌کند (Xu et al., 2017).

بدین ترتیب که این ترکیبات توانایی ایجاد اختلال در فعالیت زیستی غشا و نفوذ به دیواره‌ی سلولی را داشته و باعث تخریب ساختمان پروتئین‌ها و نابودی غشای سلولی می‌گردند (Fisher & Phillips, 2008; Lang & Buchbauer, 2012). اسانس‌های گیاهی دارای ترکیبات متعددی هستند و مونوترپن‌ها حدود ۹۰ درصد این ترکیبات را تشکیل می‌دهند. تیمول، کارواکرول، اوژنول و منتول از مواد موثره‌ی شناخته شده و فراوان در اسانس‌های گیاهی مختلف هستند (de Sousa, et al., 2012a & b).

سازوکار اثر کارواکرول و تیمول به عنوان ترکیبات اصلی اسانس آویشن بسیار مورد توجه محققین قرار گرفته است. کارواکرول و تیمول از نظر ساختمانی بسیار به یکدیگر شبیه هستند تفاوت آنها در موقعیت گروه هیدروکسیل در حلقه فنلی است. کارواکرول بر اساس مطالعات انجام شده دارای خواص ضد میکروبی، ضد قارچی و ضد حشره‌ای دارد و هیچ اثر سمی برای آن گزارش نشده است (de Sousa, et al., 2012b). این دو ترکیب قادرند که غشاء خارجی باکتری‌های گرم منفی را متلاشی کرده و سبب خارج شدن لیپوپلی ساکاریدها و افزایش نفوذپذیری غشاء سیتوپلاسمی شوند. کارواکرول علاوه بر ممانعت از رشد سلولهای باکتریایی قادر به ممانعت از تولید توکسین توسط باکتری‌ها نیز می‌باشد (Burt, 2004; de Sousa, et al., 2012b).

نتایج آزمون تأثیر اسانس‌ها بر میزان اسپوردهی بیمارگر *A. alternata* و مقایسه‌ی آنها با قارچکش مانکوزب+ متالاکسیل، روی محیط کشت PCA، نشان داد که همگی تیمارها باعث کاهش میزان اسپوردهی به میزان قابل توجهی گردیدند. در این آزمون اسانس مرزه نسبت به تیمار شاهد بیشترین میزان کاهش اسپور را سبب گردید در حالی که اسانس رزماری در غلظت مشابه بیشترین میزان اسپورزایی و به عبارتی دیگر کمترین تأثیر را در میان سایر اسانس‌ها از خود نشان داد. در قارچکش به کار رفته در این مطالعه نیز در

دارای خاصیت گیاه‌سوزی هستند که یکی از موانع تولید و همچنین به کارگیری سموم طبیعی بر پایه‌ی اسانس‌ها و ترکیبات طبیعی است (Rakhshani, 2005). لذا با توجه به مطالب گفته شده می‌توان نتیجه گرفت که تا این حد از پیشرفت فناوری تولید سموم طبیعی و فرمولاسیون این ترکیبات، آنها را نمی‌توان جایگزین کاملی برای سموم شیمیایی بیان کرد اما نمی‌توان از جایگاه ویژه‌ی آنها به عنوان مواد بی‌خطر برای انسان و جانوران خون‌گرم و بر علیه طیف گسترده‌ای از بیمارگرهای گیاهی در برنامه‌ی مدیریت تلفیقی آفات و بیماری‌های گیاهی، غافل بود.

سپاس‌گزاری

نگارندگان بر خود لازم می‌دانند که از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه فردوسی مشهد به دلیل حمایت مالی این پژوهش تشکر و قدردانی نمایند. همچنین از مشاوره جناب آقای دکتر فرهاد شکوهی‌فر در واکاوی آماری داده‌ها سپاس‌گزاری می‌گردد.

مطالعات انجام شده در دنیا حاکی از آن است که عصاره و اسانس بسیاری از گیاهان همانند سایر سموم قارچ‌کش موجود به صورت بالقوه توانایی مهار رشد میکروارگانیسم‌ها را دارد و امروزه نیز اثرات ضد قارچی و ضد باکتریایی بسیاری از ترکیبات گیاهی به اثبات رسیده است (Hammer et al., 1999). توانایی بالقوه‌ی اسانس‌ها در مهار این عوامل بیمارگر به دلیل وجود ترکیبات مختلف و متنوع در اسانس‌ها می‌باشد. اما رساندن توانایی بالقوه‌ی ضد قارچی اسانس‌ها به توانایی بالفعل این ترکیبات، نیازمند استفاده از فرمولاسیون مناسب برای آنهاست (Hasanzadeh, 2005) که احتمال می‌رود در این تحقیق نیز علت مهارکنندگی کمتر اسانس‌ها در گلخانه نسبت به قارچکش مانکوزب+ متلاکسیل ناشی از فقدان فرمولاسیون مناسب باشد. از طرفی دیگر علی‌رغم داشتن مزیت ضد قارچی و باکتریایی بالقوه و همچنین سازگاری با کشاورزی ارگانیک، اسانس‌ها به دلیل اکسیده شدن هیدروکربن‌های غیر اشباع تحت تأثیر پرتوی فرابنفش و در حضور اکسیژن

REFERENCES

- Babagoli, M. A., & Behdad, E. (2012). Effects of three essential oils on the growth of the fungus *Alternaria solani*. *Journal of Research in Agricultural Science*, 8(114), 45-57.
- Bajpai, V. K., & Kang, S. C. (2010). Antifungal activity of leaf essential oil and extracts of *Metasequoia glyptostroboides* Miki ex Hu. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 87(3), 327-336. <https://doi.org/10.1007/s11746-009-1500-6>
- Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94(3), 223-253. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022>.
- de Sousa, J. P., de Azerêdo, G. A., de Araújo Torres, R., da Silva Vasconcelos, M. A., da Conceição, M. L. & de Souza, E. L. (2012a). Synergies of carvacrol and 1, 8-cineole to inhibit bacteria associated with minimally processed vegetables. *International Journal of Food Microbiology*, 154(3), 145-151. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.12.026>
- de Sousa, J. P., de Araújo Torres, R., de Azerêdo, G. A., Figueiredo, R. C. B. Q., da Silva Vasconcelos, M. A. & de Souza, E. L. (2012b). Carvacrol and 1, 8-cineole alone or in combination at sublethal concentrations induce changes in the cell morphology and membrane

permeability of *Pseudomonas fluorescens* in a vegetable-based broth. *International Journal of Food Microbiology*, 158(1), 9-13. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2012.06.008>

Feng, W., & Zheng, X. (2007). Essential oils to control *Alternaria alternata* in vitro and in vivo. *Food Control*, 18(9), 1126-1130. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2006.05.017>

Fisher, K., & Phillips, C. (2008). Potential antimicrobial uses of essential oils in food: is citrus the answer?. *Trends in Food Science & Technology*, 19(3), 156-164. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2007.11.006>

Goufo, P., Mofor, C. T., Fontem, D. A., & Ngokam, D. (2008). High efficacy of extracts of Cameroon plants against tomato late blight disease. *Agronomy for Sustainable Development*, 28(4), 567-573. <https://doi.org/10.1051/agro:2008036>

Hadian, J., Fakhr, T. S., Ghorbanpour, M., Salehi, P., & Haji, E. B. (2006). A phytochemical study of *Cymbopogon parkeri stapf*. Essential oil, and ITS biological activity against some phytopathogenic fungi. *Iranian Journal of Agricultural Sciences* 37:425–43.

Hammer, K. A., Carson, C. F., & Riley, T. V. (1999). Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *Journal of Applied Microbiology*, 86(6), 985-990.

Hasanzadeh, N. (2005). Technological implication of natural products in plant diseases management with special emphasis on fire blight. *Journal of Agricultural Sciences Islamic Azad University*, 11(1), 53-68. (In Farsi with English summary).

Hubballi, M., Nakkeeran, S., Raguchander, T., Anand, T., & Samiyappan, R. (2010). Effect of environmental conditions on growth of *Alternaria alternata* causing leaf blight of noni. *World Journal of Agricultural Sciences*, 6(2), 171-177.

Irkin, R., & Korukluoglu, M. (2007). Control of *Aspergillus niger* with garlic, onion and leek extracts. *African Journal of Biotechnology*, 6(4), 384-387.

Islam, M. R., Mondal, C., Hossain, I., & Meah, M. B. (2013). Organic management: an alternative to control late blight of potato and tomato caused by *Phytophthora infestans*. *International Journal of Theoretical & Applied Sciences*, 5(2), 32-42.

Laird, K., & Phillips, C. (2012). Vapour phase: a potential future use for essential oils as antimicrobials?. *Letters in Applied Microbiology*, 54(3), 169-174. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2011.03190.x>

Lang, G., & Buchbauer, G. (2012). A review on recent research results (2008–2010) on essential oils as antimicrobials and antifungals. A review. *Flavour and Fragrance Journal*, 27(1), 13-39. <https://doi.org/10.1002/ffj.2082>

Li, L.J., Zhong, L.F., Jiang, L.P., Geng, C.Y., Zhu, T.Z., Xu, Y.H., Wang, Q., Qu, Y., Shao, J. & Zou, L.J. (2011). Lysosomal membrane permeabilization contributes to elemene

emulsion-induced apoptosis in A549 cells. *Free Radical Research*, 45(10), 1232-1240. <https://doi.org/10.3109/10715762.2011.607818>

Li, Z., Guo, B., Wan, K., Cong, M., Huang, H. & Ge, Y., (2015). Effects of bacteria-free filtrate from *Bacillus megaterium* strain L2 on the mycelium growth and spore germination of *Alternaria alternata*. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 29(6), pp.1062-1068. <https://doi.org/10.1080/13102818.2015.1068135>

Mamarabadi, M., Tanhaeian, A., & Ramezany, Y. (2018). Antifungal activity of recombinant thanatin in comparison with two plant extracts and a chemical mixture to control fungal plant pathogens. *AMB Express*, 8(1), 1-12. <https://doi.org/10.1186/s13568-018-0710-4>

Moghaddam, M., & Mehdizadeh, L. (2015). Variability of total phenolic, flavonoid and rosmarinic acid content among Iranian basil accessions. *LWT-Food Science and Technology*, 63(1), 535-540. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.03.068>

Moslem, M. A., & El-Kholie, E. M. (2009). Effect of neem (*Azardirachta indica* A. Juss) seeds and leaves extract on some plant pathogenic fungi. *Pakistan Journal of Biological Sciences: PJBS*, 12(14), 1045-1048. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2009.1045.1048>

NAShWA, S. M., & Abo-ElyouSr, K. A. (2012). Evaluation of various plant extracts against the early blight disease of tomato plants under greenhouse and field conditions. *Plant Protection Science*, 48(2), 74-79.

Plodpai, P., Chuenchitt, S., Petcharat, V., Chakthong, S., & Voravuthikunchai, S. P. (2013). Anti-*Rhizoctonia solani* activity by *Desmos chinensis* extracts and its mechanism of action. *Crop Protection*, 43, 65-71. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2012.09.004>

Prasad, Y., & Naik, M. K. (2003). Evaluation of genotypes, fungicides and plant extracts against early blight of tomato caused by *Alternaria solani*. *Indian Journal of Plant Protection*, 31(2), 49-53.

Rakhshani, E. (2005). Principles of agricultural toxicology, Farhang Jame Publication, 368 pp. (In Farsi).

Ramezani, Y., Taheri, P., & Mamarabadi, M. (2019). Identification of *Alternaria* spp. associated with tomato early blight in Iran and investigating some of their virulence factors. *Journal of Plant Pathology*, 101(3), 647-659. <https://doi.org/10.1007/s42161-019-00259-w>

Ranjbar, H., Farzaneh, H., Hadian, J., Mirjalili, M. H., & Sharifi, R. (2008). Antifungal effects of some plant essential oils on postharvest diseases in strawberry fruit. *Journal of Research and Reconstruction in Agriculture and Horticulture*, 81, 54-60. (In Farsi with English summary).

Salama, A. A., AbouLaila, M., Terkawi, M. A., Mousa, A., El-Sify, A., Allaam, M., Zaghawa, A., Yokoyama, N. & Igarashi, I. (2014). Inhibitory effect of allicin on the growth of *Babesia*

and *Theileria equi* parasites. *Parasitology Research*, 113(1), 275-283. <https://doi.org/10.1007/s00436-013-3654-2>

Šernaitė, L., Rasiukevičiūtė, N., Dambrauskienė, E., Viškelis, P., & Valiuškaitė, A. (2020). Biocontrol of strawberry pathogen *Botrytis cinerea* using plant extracts and essential oils. *Zemdirbyste Agric*, 107, 147-152. <https://doi.org/10.13080/z-a.2020.107.019>

Sharma, N., & Tripathi, A. (2006). Fungitoxicity of the essential oil of *Citrus sinensis* on post-harvest pathogens. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 22(6), 587-593. <https://doi.org/10.1007/s11274-005-9075-3>

Simmons, E.G. (2007). *Alternaria: An identification manual*. Utrecht, Netherlands: CBS Fungal Biodiversity Centre.

Singh, A. K., Dikshit, A., Sharma, M. L., & Dixit, S. N. (1980). Fungitoxic activity of some essential oils. *Economic Botany*, 34(2), 186-190. <https://doi.org/10.1007/BF02858635>

Singh, G., Gupta, S., & Sharma, N. (2014). In vitro screening of selected plant extracts against *Alternaria alternata*. *Journal of Experimental Biology*, 2(3), 344-351.

Turina, A. D. V., Nolan, M. V., Zygadlo, J. A., & Perillo, M. A. (2006). Natural terpenes: self-assembly and membrane partitioning. *Biophysical Chemistry*, 122(2), 101-113. <https://doi.org/10.1016/j.bpc.2006.02.007>

Tzortzakis, N. G., & Economakis, C. D. (2007). Antifungal activity of lemongrass (*Cymbopogon citratus* L.) essential oil against key postharvest pathogens. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 8(2), 253-258. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2007.01.002>

Wolde, T., Kuma, H., Trueha, K. & Yabeker, A. (2018). Anti-bacterial activity of garlic extract against human pathogenic bacteria. *Journal of Pharmacovigilance*, 6(253), 2-8. <https://doi.org/10.4172/2329-6887.1000253>

Xu, S., Ni, Z., M Xu, S., Ni, Z., Ma, L., & Zheng, X. (2017). Control of *Alternaria* Rot of Cherry Tomatoes by Food-Grade *Laurus Nobilis* Essential Oil Microemulsion. *Journal of Food Safety*, 37(1), e12286. <https://doi.org/10.1111/jfs.12286>



© 2022 by the authors. Licensee SCU, Ahvaz, Iran. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0 license) (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>)



The effect of essential oils derived from various plant species versus the Mancozeb + Metalaxyl fungicide in inhibiting early blight of tomato

M. M. Habibi¹, M. Mamarabadi^{2*}, P. Taheri³, Y. Ramezany⁴

1. M.Sc. in Plant Pathology, Graduated from Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad. Mashhad. Iran.
2. ***Corresponding Author:** Associate Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad. Mashhad. Iran (mamarabadi@um.ac.ir)
3. Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad. Mashhad. Iran
4. M.Sc. in Plant Pathology, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad. Mashhad. Iran

Received: 14 June 2022

Accepted: 2 October 2022

Abstract

Background and Objectives

Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) belongs to the *Solanaceae* family and is economically one of the most important vegetable crops in Iran after the potato, cultivated all year but threatened by a large number of plant pathogens. One of the most significant diseases affecting this plant is tomato early blight, caused by various species of *Alternaria*. To date, chemical fungicides have been the only effective method of controlling this disease. Given the damaging effects of chemical pesticides on human and environmental health, as well as food safety, this study aimed to compare the inhibitory effects of savory, garlic, thyme, fennel, and rosemary essential oils on tomato early blight disease to that of a fungicide, Mancozeb+Metalaxy, under laboratory and greenhouse conditions.

Materials and Methods

Plant essential oils were extracted using a Clevenger apparatus and, after dehydration, utilized at 50, 150, and 250 $\mu\text{L/L}$ concentrations by mixing with cultural media in Petri dishes. The growth inhibitory effect of plant essential oils was assessed by measuring the fungal colony's growth diameter and calculating the amount of Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Fungicidal Concentration (MFC) associated with each essential oil. Moreover, the effect of plant essential oils on tomato early blight control was evaluated at a 750 $\mu\text{L/L}$ concentration by spraying tomato plants with 3 to 5 leaves under greenhouse conditions. A chemical mixture containing Mancozeb and Metalaxyl was used as a positive control to compare its antifungal effects versus plant essential oils.

Results

Statistical analysis using Duncan's multiple-range test revealed a significant difference in all treatments at the 5 percent level. *A. alternata* growth diameter measurements showed that the

lowest colony growth diameter was associated with 250 $\mu\text{L/L}$ of savory essential oil with 100% inhibition. At a concentration of 50 $\mu\text{L/L}$, rosemary essential oil inhibited fungus growth by 6.35%, resulting in the highest average growth diameter. Accordingly, among the studied essential oils, savory exhibited the strongest inhibitory effect, while rosemary yielded the weakest. However, MFC determination revealed that garlic essential oil demonstrated the highest fungicidal properties and the lowest amount of MFC (700 $\mu\text{L/L}$). On the other hand, fennel essential oil yielded the highest amount of MFC (2000 $\mu\text{L/L}$). In general, all essential oils were able to deteriorate and disrupt the structure and morphology of *A. alternata* mycelium, leading to sedimentation and granulation of cytoplasmic contents and its organelles. This fungus showed the least and most sporulation in the savory and rosemary treatments, respectively, compared to the control. In greenhouse studies, unlike laboratory tests, the highest control rate of tomato early blight was related to the application of a fungicide with an average leaf surface contamination of 1.6%, which demonstrated the highest control rate in greenhouse conditions compared to other essential oil treatments. Compared to the infected control, savory essential oil and rosemary essential oil, with disease severity of 16.66% and 35.0%, respectively, had the greatest effect on the appearance of symptoms following fungicide application.

Discussion

Numerous plant compounds have been studied for their antifungal and antibacterial properties thus far. Using the antifungal effect of plant essential oils is undoubtedly one of the newest techniques for controlling plant pathogens. The current study compares plant essential oils to a chemical fungicide for controlling tomato early blight in vitro and under greenhouse conditions and demonstrates that plant essential oils are more effective than chemical fungicides. Consistent with this finding, previous research has demonstrated the potential of plant essential oils to control early blight in tomatoes.

Keywords: *Ascomycota, Fungicide, Growth inhibition, Plant essential oils, Tomato early blight*

Associate editor: R. Mostowfizadeh Ghalamfarsa (Prof.)

Citation: Habibi, M. M., Mamarabadi, M., Taheri, P. & Ramezany, Y. (2022). The effect of essential oils derived from various plant species versus the Mancozeb + Metalaxyl fungicide in inhibiting early blight of tomato. *Plant Protection (Scientific Journal of Agriculture)*, 45(3), 71-89. <https://doi.org/10.22055/ppr.2022.17813>.