



Control of Tomato Early Blight (*Alternaria solani*) Disease by Aqueous Extract of Thyme (*Thymus vulgaris*)

A. Gholamzadeh-Bazar Bash¹, S. Qoli Tolouie², T. Allahverdipour³, M. Salehzadeh^{4*}

1, 2 and 3- Department of Plant Protection, College of Agriculture, Afaq Institute of Higher Education, Urmia, Iran

4- Plant Virology Research Center, Faculty of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran

(*- Corresponding author's Email: mehrdadsalehzadeh@hafez.shirazu.ac.ir)

Received: 07-04-2024	How to cite this article: Gholamzadeh-Bazar Bash, A., Qoli Toloui, S., Allahverdipour, T., & Salehzadeh, M. (2025). Control of tomato early blight (<i>Alternaria solani</i>) disease by aqueous extract of thyme (<i>Thymus vulgaris</i>). <i>Iranian Plant Protection Research</i> , 39(1), 61-83. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/JPP.2025.87475.1183
Revised: 19-01-2025	
Accepted: 25-01-2025	
Available Online: 29-04-2025	

Introduction

Tomato (*Solanum lycopersicum*) is the second most valuable agricultural product after potatoes. Early blight, caused by *Alternaria solani*, is a major disease affecting tomatoes, damaging stems, leaves, and fruits. This disease significantly reduces photosynthesis and can lead to leaf drop in severe cases across tomato-growing regions in Iran. Common control methods often involve chemical pesticides, but their excessive use can result in environmental pollution, pathogen resistance, and the emergence of dangerous strains, exacerbating the damage. As a safer alternative, researchers have increasingly focused on using natural compounds, or phytometabolites, for pest and pathogen management. Plant biocides offer numerous advantages, including rapid decomposition, specific toxicity, reduced bioaccumulation, and minimal harm to beneficial insects. This study aims to evaluate the effectiveness of thyme extract in managing tomato spot disease as a substitute for chemical pesticides, alongside an assessment of morphological and physiological characteristics in infected versus healthy plants.

Materials and Methods

Five fungal isolates were collected from tomato fields in various locations of West Azarbaijan province. Extraction and isolation of *A. solani* followed the Rigotti method (2003), while DNA extraction and PCR were conducted using Ji Cho's method (2016), with the amplified fragments subsequently sequenced. A phylogenetic tree was created using Mega 8 software, positioning the Iranian isolate alongside Asian *A. solani* isolates. Thyme extract's effect on fungal colony growth was tested in the lab, and pathogenicity was assessed on tomato variety 4129. Morphological traits, including plant and root length and biomass, along with physiological traits such as chlorophyll content and the expression of defense genes (*CAT*, *APX*, *POD*), as well as phenol and flavonoid levels were measured for UrmiaB isolate, as the most virulent among the collected isolates.

Results and Discussion



©2025 The author(s). This is an open access article distributed under [Creative Commons Attribution 4.0 International License \(CC BY 4.0\)](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source.

<https://doi.org/10.22067/JPP.2025.87475.1183>

All concentrations of thyme extract tested in this research exhibited significant inhibitory and antifungal effects at both 1% and 5% probability levels compared to the controls. Additionally, thyme extract showed moderate to high antifungal activity against *A. solani*, both in laboratory and greenhouse settings. In laboratory trials, thyme concentrations of 50, 100, and 150 mg mL⁻¹ markedly reduced fungal growth, particularly at higher concentrations (100 and 150 mg mL⁻¹), which also corresponded with a decrease in pathogenicity affecting tomato fruits of cultivar 4129. Morphological and physiological assessments indicated that thyme extract improved traits in tomato variety 4129, including root and shoot lengths, biomass, chlorophyll content, and the expression of defense-related enzymes (*CAT*, *APX*, *POD*), as well as phenolic and flavonoid levels under greenhouse conditions. These findings demonstrate that thyme extract effectively mitigates early blight disease in tomatoes by inhibiting fungal growth.

Conclusion

The results indicated that thyme extract effectively reduced the activity of the pathogen responsible for tomato early blight in both laboratory and greenhouse conditions. Its antifungal properties make thyme extract a promising candidate for commercialization in agricultural pest management, particularly when used in combination with other compounds.

Keywords: Antifungal properties, Early blight, Morpho-physiological traits, Plant metabolite

مهار لکه موجی گوجه‌فرنگی (*Alternaria solani*) با استفاده از عصاره آبی آویشن (*Thymus vulgaris*)

علی غلامزاده بازار باش^۱ - سحر قلی طلوعی^۲ - توحید الهوردی پور^۳ - مهرداد صالح زاده^{۴*}

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۱/۱۹

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۱/۰۶

چکیده

در این بررسی، اثر سه غلظت ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره آویشن در شرایط آزمایشگاهی و گلخانه‌ای روی قارچ بیمارگر *Alternaria solani*، عامل بیماری بلایت زودرس گوجه‌فرنگی مورد بررسی قرار گرفت. تمامی غلظت‌های عصاره آویشن مورد استفاده در این تحقیق هر یک نسبت به تیمار کنترل مثبت خود خاصیت بازدارندگی و ضدقارچی در سطح احتمال پنج درصد نشان دادند. همچنین در شرایط آزمایشگاهی و گلخانه‌ای، عصاره آویشن وابسته به غلظت، خاصیت ضدقارچی متوسط به بالایی علیه بیمارگر *A. solani* داشت. زمانی که قارچ بیمارگر در روش‌های آزمایشگاهی و کشت در پتری‌دیش، تحت تیمار با غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر آویشن قرار گرفت، میزان رشد قارچ مخصوصاً در تیمار غلظت‌های بالا (۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) کاهش چشمگیری پیدا کرد و به دنبال آن شدت بیماری‌زایی نیز وابسته به غلظت در میوه‌های گوجه‌فرنگی رقم ۴۱۲۹ کاهش یافت. بررسی صفات موفو-فیزیولوژیک نشان داد که عصاره آویشن وابسته به غلظت منجر به بهبود صفات مذکور در گوجه‌فرنگی رقم ۴۱۲۹ شامل: طول ریشه و شاخسار، وزن تر و خشک ریشه و شاخسار، افزایش محتوای کلروفیل بوت، افزایش بیان برخی آنزیم‌های دفاعی مانند کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، پراکسیداز، فنل‌ها و فلاونوئیدها تحت شرایط گلخانه‌ای شد. این نتایج نشان می‌دهد که عصاره آویشن روی قارچ بیمارگر عامل بلایت زودرس گوجه‌فرنگی تحت شرایط گلخانه‌ای و آزمایشگاهی به‌خوبی تأثیر گذاشته و باعث کاهش رشد قارچ و متعاقب آن کاهش میزان شدت بیماری شده است. قابلیت ضدقارچی عصاره آویشن بر روی بوته‌ها در کشت آزاد و گلخانه‌ای و همچنین میوه‌ها در شرایط انباری می‌تواند، این ترکیب را بعنوان یک پادزیست گیاهی مناسب برای مطالعه روی سایر بیمارگرهای گیاهی و تجاری‌سازی این محصول معرفی نماید.

واژه‌های کلیدی: بلایت زودرس، خواص ضدقارچی، صفات مورفو-فیزیولوژیکی، متابولیت گیاهی

مقدمه

میلیون تن در چین و ۲۲/۸۶۷ میلیون تن در ایالات متحده تولید شده است، که در این میان، میزان تولید در ایران تنها ۷/۲ میلیون تن می‌باشد (Liu et al., 2022). طبق گزارش سازمان FAO در سال ۲۰۱۸، سطح زیرکشت این محصول در دنیا و ایران به‌ترتیب ۴۸۰۴۶۸۰ و ۱۶۰۰۰۰ هکتار می‌باشد (Fatemi et al., 2024).

بیماری لکه‌موجی یا بلایت زودرس (Early blight) با عامل *Alternaria solani* یکی از بیماری‌های مهم در گوجه‌فرنگی در ایران و سراسر دنیا می‌باشد. این بیماری به ساقه، برگ و میوه گوجه‌فرنگی خسارت وارد می‌کند. تقریباً در تمام مناطق ایران که تحت کشت گوجه‌فرنگی هستند، بیماری لکه‌موجی گسترش داشته و سطح فتوستنت‌کنندگی گیاه را شدیداً کاهش می‌دهد و به‌دنبال آن ریزش برگ‌های گیاه (در مواردی که شدت بیماری بالا باشد)، مشاهده می‌گردد. با توجه به اینکه بیماری لکه‌موجی گوجه‌فرنگی به تمام قسمت

گوجه‌فرنگی با نام علمی *Solanum lycopersicum* شناخته شده است. گوجه‌فرنگی بعد از سیب‌زمینی دومین محصول پر ارزش کشاورزی محسوب می‌گردد. از کل تولید گوجه‌فرنگی دنیا در سال ۲۰۲۱ که حدود ۱۶۵/۲۶۶ میلیون تن بوده است، حدود ۳۹/۱۴۴

۱ و ۲- گروه گیاه پزشکی، دانشکده کشاورزی، مؤسسه آموزش عالی آفاق، ارومیه، ایران

۳- مرکز تحقیقات ویروس‌شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

*- نویسنده مسئول:

(Email: mehrdadsalehzadeh@hafez.shirazu.ac.ir)

<https://doi.org/10.22067/JPP.2025.87475.1183>

کاربرد سموم و ارزیابی صفات مورفو-فیزیولوژیکی گیاهان آلوده به قارچ در مقایسه با گیاهان سالم و گیاهان کنترل مثبت (تلقیح شده فقط با قارچ) می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در سال ۱۴۰۱ در آزمایشگاه کارشناسی ارشد دانشگاه غیرانتفاعی آفاق ارومیه صورت پذیرفت. جهت انجام این تحقیق، تعداد پنج جدایه قارچی از مناطق مختلف استان آذربایجان غربی و از مزارع گوجه‌فرنگی جمع‌آوری گردید و پس از انتقال نمونه‌ها به آزمایشگاه و گلخانه، کارهای جداسازی و تلخیص *A. solani* صورت گرفت.

جداسازی، تلخیص و آزمون بیماری زایی جدایه‌ها

جدایه‌های مختلف این قارچ روی محیط کشت Potato Dextrose Agar (PDA) کشت شدند. در ادامه، طول ابعاد کنیدی، شکل و رنگ پرگنه قارچ مورد بررسی قرار گرفت. آزمون بیماری‌زایی مطابق روش ریگوتی و همکاران در سال ۲۰۰۳ (Rigotti et al., 2003) روی بوته‌ها با سه تکرار (هر تکرار شامل سه میوه) و یک جدایه خالص قارچی انجام شد.

شناسایی و تفریق جدایه‌های *آلترناریا* براساس روش‌های ملکولی

استخراج دی.ان.ای و بررسی کیفیت آن

روش استخراج براساس روش جی چوی و همکاران (ji Cho et al., 2016) با کمی تغییران صورت گرفت. غلظت (کمیت) دی.ان.ای، به وسیله اسپکتروفتومتری با جذب فرابنفش با طول موج ۳۴۰ نانومتر (Thermo Scientific NanoDrop™ 8000 Multi-Sample Micro-Volume UV-Vis Spectrophotometer) اندازه‌گیری شد.

واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (PCR)

برای انجام مراحل PCR، از مواد و محلول‌هایی استفاده شد که امروزه به صورت کیت‌های تجاری در دسترس هستند (کیت استخراج DNA، شرکت سیناکلون). آغازگرهای سنتز شده از شرکت متابیون آلمان تهیه شد. آغازگرهای مورد استفاده در این مطالعه که جهت تکثیر ناحیه بین ژنی یا ITS (Kasahara et al., 2010) به کار برده شده‌اند عبارتند از:

ITS۱: TCC GTA GGT GAA CCT GCG G
ITS۴: TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC

های هوایی گیاه خسارت وارد می‌کند و منجر به آسیب کمی و کیفی روی میوه می‌شود، از مهم‌ترین بیمارگرهای قارچی گوجه‌فرنگی محسوب می‌گردد (Haghpahan et al., 2023). *Alternaria* با فرم جنسی *Lewia* در سال ۱۸۸۲ برای اولین بار توسط الیس و مارتین از روی برگ‌های خشک شده سیب‌زمینی در کلکسیون نیوجرسی جداسازی و شناسایی شد و در سال ۱۸۹۶ بیماری‌زایی آن به اثبات رسید. ایشان عامل این بیماری را *Alternaria solani* نام‌گذاری کردند (Narware et al., 2023). *Alternaria* spp. متعلق به شاخه Ascomycota، زیرشاخه Pezizomycotina، رده Dothideomycete، زیررده Pleosporaceae، راسسته Pleosporales و خانواده Pleosporaceae است. این جنس نزدیک به ۱۰۰ گونه داشته که در سراسر دنیا و در مناطق متنوع اکولوژیکی حضور داشته و اغلب بیماری‌های شدیدی روی محصولات کشاورزی ایجاد می‌نمایند. گونه‌های این جنس به صورت ساپروفیت یا بیمارگر ضعیف قادر به بقاء و ادامه چرخه زندگی هستند (Nejhad et al., 2024). *Alternaria* توانایی رشد در دامنه وسیعی از دماها از ۵ تا ۳۶ درجه سلسیوس را دارد. این قارچ برای ایجاد آلودگی، به دوره کوتاهی از رطوبت نیاز دارد.

یکی از روش‌های متداول مهار بیماری‌های گیاهی، استفاده از سموم و ترکیبات شیمیایی است. استفاده بیش از حد و مداوم از ترکیبات و سموم شیمیایی باعث آلودگی‌های زیست‌محیطی، ایجاد مقاومت در عوامل بیمارگر گیاهی، ایجاد سویه‌های خطرناک از بیمارگرها و در نهایت، منجر به افزایش شدت خسارت در محصولات کشاورزی می‌گردد. یکی از روش‌های کاهش این مخاطرات، استفاده از ترکیبات طبیعی یا فیتومتابولیت‌ها در مهار اقتصادی آفات و بیمارگرهای گیاهی می‌باشد. از این رو در سال‌های اخیر، محققان بسیاری به مطالعه اثرات ضدقارچی و زیست‌پادی عصاره‌های مختلف گیاهی در مدیریت عوامل بیماری‌زای گیاهی پرداخته‌اند. زیست‌پادها، اغلب دارای دوره کارنس کمتری بوده، باقی‌مانده‌های سمی روی محصولات نداشته، دارای رایحه قوی بوده و به صورت مستقیم و غیرمستقیم (بهبود صفات مورفو-فیزیولوژیکی) در مدیریت پایدار بیمارگرهای گیاهی نقش دارند. پادزیست‌های گیاهی به دلیل تجزیه سریع، سمیت کمتر، عملکرد اختصاصی، تجمع زیستی پایین، طیف عملکردی بالا و کاهش آسیب بر محیط‌زیست و حشرات مفید، در حال گسترش و تجاری‌سازی هستند. اما با وجود مزیت‌های اشاره شده، محدودیت‌هایی مانند پایداری پایین، عدم سیستمیک شدن و نفوذ به گیاه، تجزیه در مقابل شرایط محیطی و شیمیایی (رطوبت، pH، اکسیژن، نور و تبخیر) را نیز دارند (Farashah Serag et al., 2023; Salehzadeh, 2023). با توجه به اهمیت پادزیست‌های گیاهی در مهار بیمارگرهای مهم گیاهی، اهداف این تحقیق شامل کاربرد عصاره آویشن برای مهار بیماری لکه‌موجی گوجه‌فرنگی به جای

فرموالسیون پودر از پودر تالک و کشت جامد هر یک از جدایه‌ها با جمعیت 10^8 اسپور در میلی‌متر مکعب استفاده شد.

بررسی تأثیر آزمایشگاهی عصاره آویشن بر پرگنه قارچ *A. solani*

برای بررسی تأثیر عصاره آویشن در سه غلظت ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار (اسانس آویشن ۹۰ درصد، شرکت نیکوشیمی) در بازدارندگی از رشد قارچی *A. solani* از محیط کشت PDA استفاده شد. سه حلقه از پرگنه قارچ به قطر یک سانتی‌متر از محیط کشت PDA سه روزه از جدایه *A. solani* در محیط کشت مایع زاپکس (دنازیست) در داخل شیکر چرخان (۱۰۴ دور در دقیقه) به‌مدت هفت روز در دمای ۲۳-۲۵ درجه سلسیوس قرار گرفت. سپس محتویات ارلن به‌وسیله میلی‌پور و میکرو خلاء و با استفاده از میکروفیلترهای ۰/۲۲ صاف شده و عصاره *A. solani* تهیه شد. عصاره *A. solani* در این تحقیق با غلظت‌های 10^8 اسپور در هر میلی‌لیتر استفاده شد. محیط در پتری‌های استریل ریخته شد و بعد از گذشت ۲۴ ساعت و اطمینان از عدم آلودگی محیط‌ها، حلقه‌های میسلیومی به قطر پنج میلی‌متر از محیط کشت پنج روزه *A. solani* در مرکز پتری‌های حاوی غلظت‌های مختلف آویشن قرار گرفت. برای هر غلظت آویشن، سه تکرار در نظر گرفته شد. این آزمایش در قالب طرح فاکتوریل دوعاملی (گونه *A. solani* و غلظت عصاره‌ها) با سه تکرار، ۷۲ ساعت پس از کشت قارچ *A. solani* انجام شد. تمامی تیمارها با آزمون توکی در سطح احتمال ۰/۰۱ و ۰/۰۵ مورد مقایسه قرار گرفتند. در هر مورد سطح بازدارندگی توسط معادله ۱ (Dev et al., 2004) محاسبه شد. بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف آویشن بر رشد قارچ عامل *A. solani* در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد و نتایج شش روز بعد از رشد قارچ به‌وسیله معادله ۲ ثبت و اندازه‌گیری شد.

$$IP = (C - T) / C \times 100 \quad (1) \quad (\% \text{ بازدارندگی})$$

بررسی تأثیر عصاره آویشن در برخی ویژگی‌های رویشی گوجه‌فرنگی آلوده به *A. solani* در شرایط گلخانه ای

این آزمایش به‌صورت فاکتوریل و در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار شامل سه سطح عصاره آویشن (۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر و یک رقم گوجه‌فرنگی (۴۱۲۹) در شرایط گلخانه‌ای انجام شد. زمانی که نشاءها به مرحله چهار برگی حقیقی رسیدند، با قارچ خالص شده *A. solani* با غلظت 10^8 اسپور فعال در هر میلی‌لیتر مایه‌زنی شده و ۴۸ ساعت بعد، عصاره آویشن با غلظت-های مذکور به گیاه محلول‌پاشی شدند. پس از گذشت ۲۰ روز از اعمال تیمارها (۲۰dpi) و شاخص‌های رویشی گیاه (مانند طول و قطر ساقه، طول میان‌گره، تعداد شاخه‌های جانبی، طول و وزن تر و خشک

به‌طور کلی، جهت انجام واکنش PCR، در یک واکنش ۲۵ میکرولیتری شامل ۱۲/۵ میکرولیتر مسترمیکس (شرکت دنازیست)، دو میکرولیتر آغازگر (از هر آغازگر رفت و برگشتی)، دو میکرولیتر دی.ان.ای، ۸/۵ میکرولیتر آب مقطر استریل (شرکت دنازیست) انجام شد. سیکل حرارتی مناسب روی دستگاه تنظیم و واکنش پی.سی.آر شامل مرحله واسرشت‌سازی اولیه DNA ژنومی (۹۰۰ ثانیه در دمای ۹۵ درجه سلسیوس، یک مرتبه)، واسرشت‌سازی (۹۴ درجه سلسیوس، ۳۰ ثانیه، ۲۳ مرتبه)، اتصال آغازگر به رشته الگو (۵۶/۴ درجه سلسیوس، ۹۰ ثانیه، ۲۳ مرتبه)، گسترش رشته جدید (۷۲ درجه سلسیوس، ۹۰ ثانیه) و گسترش نهایی (۷۲ درجه سلسیوس، ۶۰ ثانیه، یک مرتبه) شروع شد.

تعیین توالی نوکلئوتیدی ناحیه ITS حاصل از پی.سی.آر

در این مرحله، ۳۰ میکرولیتر از محصول PCR و قطعات ITS^۱/ITS^۴ حاصل از تکثیر در میکروتیوپ‌های ۰/۵ میکرولیتری به شرکت زیست‌فن‌آوری پیشگام جهت تعیین توالی دوطرفه فرستاده شد. نتایج تعیین توالی با برنامه Bioedit و Finch TV بررسی شدند. توالی‌های حاصل از ویرایش با قطعات مشابه ثبت‌شده در بانک جهانی ژن (NCBI) مطابقت داده شد. گونه‌ها و جدایه‌هایی که دارای بیشترین تشابه در توالی نوکلئوتیدی با توالی مورد نظر را داشتند، انتخاب شدند و به‌فرم FASTA ذخیره شدند، سپس اطلاعات به‌دست‌آمده با استفاده از نرم‌افزار MEGA0.8 (Tamura et al., 2007) بررسی شد و ارتباط تبارزایی بین جدایه‌های *آلترناریا* جداسازی شده ایرانی با سایر جدایه‌ها تعیین شد.

آزمون بیماری‌زایی جدایه‌ها

پس از خالص‌سازی و نگهداری جدایه‌ها، آزمون بیماری‌زایی جدایه‌های موجود روی میوه گوجه‌فرنگی انجام شد. در این آزمون، براساس مقایسه میانگین و محاسبه میانگین قطر لکه‌های بافت‌مرده حاصل از تلقیح میوه با جدایه‌های مختلف قارچی، بیماری‌زایی جدایه-های مورد آزمایش مقایسه شده و قوی‌ترین جدایه از نظر بیماری‌زایی برای انجام آزمایشات بعدی انتخاب شد.

تهیه فرموالسیون‌های قارچ جمعیت 10^8 اسپور فعال در هر میلی‌لیتر تهیه شده از کشت ۵ روزه در محلول Nutrient Broth برای تهیه مایه تلقیح قارچ (۵۰٪ W/V) استفاده شد و ترکیبات چسباننده و حمل‌کننده برای این فرموالسیون با روش بهرامی‌نژاد و همکاران (Bahraminejad et al., 2016) انتخاب و استفاده شدند. از سوسپانسیون اسپور با جمعیت 10^8 اسپور هر یک از جدایه‌های مورد مطالعه در هر میلی‌لیتر برای تهیه فرموالسیون گرانول، با روش فراول و همکاران (Fravel et al., 2005) استفاده شد. برای تهیه

برحسب میکرومول پراکسید هیدروژن تجزیه شده در میلی گرم پروتئین در دقیقه ارائه شد (Abdelgawad et al., 2015).

$$\text{Activity (u / ml)} = \Delta A_{290} \times 0.5 \times V_t \times df / \epsilon l \times t \times V_s \quad (4)$$

که در آن، ضریب مولکولی اجزاء واکنش $V_t = 0.5$ حجم مخلوط واکنش، df : فاکتور رقیق کننده (آب مقطر استریل)، V_s : حجم عصاره آنزیمی، ϵ : ضریب خاموشی ($1 \text{ cm}^{-1} \text{ mM}^{-1}$) و l : طول مسیر عبور نور از مخلوط واکنش است.

بررسی فعالیت آنزیم کاتالاز (کاتالاز)

در این پژوهش، اثر تیمار عصاره آویشن در سه غلظت ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی مولار روی آنزیم‌های کاتالاز (کاتالاز) در بوته‌های گوجه-فرنگی آلوده به *A. solani*، ۱۲ روز بعد از مایه‌زنی عصاره آویشن براساس روش چنس و ملی (Chance & Maehly, 1955) مورد-ارزیابی قرار گرفت. میزان فعالیت کاتالاز با استفاده از معادله ۵ محاسبه شد:

$$X = (\Delta A_{470} \text{ nm} \times 1000 \times 2) / \Delta A_{470} \text{ nm} \quad (5)$$

که در آن، $\Delta A_{470} \text{ nm}$: تغییرات میزان جذب در طول موج ۴۷۰ نانومتر و X : ضریب خاموشی (Extinction coefficient) می-باشد که برابر ۲۶/۶ است.

آنالیز آماری

آزمایش‌ها برای هر نمونه در سه تکرار مستقل انجام شده و داده-های حاصل از تحقیق با استفاده از آنالیز واریانس (ANOVA) با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS ver. 25 تجزیه و مقایسه میانگین تیمارها با استفاده از آزمون توکی در سطح احتمال یک و پنج درصد بررسی شد.

نتایج

شناسایی ریخت‌شناختی قارچ *A. solani*

در جدایه‌های جمع‌آوری شده، فرم‌های رشد جدایه‌های جمع‌آوری شده از لحاظ اسپوردهی متعدد و انبوه و رشد میسلیومی بسیار زیاد و پرگنه‌های خاکستری تا زیتونی با رشد سریع حاصل شد. سطح پرگنه، کرکی و پرزدار به نظر می‌رسید. مشاهدات میکروسکوپی نشان داد که هیف‌ها قهوه‌ای و دیواره‌دار بوده که کنیدیوفورها را تشکیل می‌دهند و کنیدیوفورها هم دیواره‌دار هستند. کنیدی‌ها بزرگ، کشیده، به‌صورت منفرد، نوک آن‌ها چماغی بوده و طول کنیدی‌ها بین ۲۵ تا ۶۰ میکرومتر و عرض آن‌ها سه تا شش میلی‌متر است (Kumar et al., 2008). (شکل ۱-).

ریشه) و شاخص‌های فیزیولوژیکی گیاه (بررسی محتوای کلروفیل کل، فنل و فلاونوئید کل، آنزیم پراکسیداز، اسکوربات پراکسیداز و کاتالاز) اقدام به نمونه‌برداری و اندازه‌گیری شد. نتایج حاصل پس از ۱۲ و ۱۸ روز پس از تیمار ترکیبات با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS ver. 25.0 (Abu-Bader, 2021) تجزیه و مقایسه میانگین تیمارها با استفاده از آزمون توکی (the Tukey multiple comparison statistic) (Driscoll, 1996) انجام شد. نمودارهای مربوطه نیز با نرم‌افزار Genex6 (He et al., 2016) ترسیم شدند.

اندازه‌گیری شدت بیماری

شدت علائم به‌صورت درصدی از برگ‌های بیمار بیان گردید (Sudhakar et al., 2007). در این روش، براساس شدت بیماری و علائم برگ‌های ناشی از آن، کدهایی به‌صورت اعداد ۵-۰ در نظر گرفته شد، به‌طوری‌که عدد صفر برگ‌های گوجه‌فرنگی فاقد علائم قارچی و اعداد بالاتر بیانگر افزایش شدت علائم قارچی روی برگ را نشان می‌دادند. سپس توسط معادله ۲ (Sudhakar et al., 2007) شدت بیماری (DS) در زمان‌های ۷، ۱۴ و ۲۱ روز پس از مایه‌زنی (dpi) انجام گرفت.

(۲)

$$DS = \frac{\text{کد بیماری هر برگ} \times \text{مجموع تعداد نمونه برگ}}{\text{تعداد نمونه‌های برگ} \times \text{حداکثر کد بیماری مشاهده شده طی آزمایش}}$$

به‌منظور بررسی شاخص‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی، نمونه-برداری از برگ‌های بالایی بوته (تیمار شده) در ۱۲ dpi انجام گرفت.

اندازه‌گیری کلروفیل کل

برای اندازه‌گیری کلروفیل در ۱۲ dpi از روش لیشتن تالر و ولبورن (Lichtenthaler & Wellburn, 1983) استفاده شد. طول موج جذبی (A) قرائت، و کلروفیل براساس معادله‌های ۳ زیر محاسبه شد (Lichtenthaler & Wellburn, 1983).

$$\text{Chlorophyll a (}\mu\text{g/ml)} = 12.21 (A_{663}) - 2.81 (A_{646}) \quad (3)$$

$$\text{Chlorophyll b (}\mu\text{g/ml)} = 20.13 (A_{646}) - 5.03 (A_{663})$$

از گیاهان گوجه‌فرنگی آلوده به *A. solani* (تیمار نشده با عصاره آویشن) و گیاهان سالم به‌ترتیب به‌عنوان کنترل منفی و مثبت استفاده شد.

سنجش آنزیم پراکسیداز (POD)

سنجش آنزیم پراکسیداز در ۱۲ dpi با روش همدا و کلاین (Hemeda & Kellin, 1990) صورت گرفت، تغییرات جذب در طول موج ۴۷۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر در مدت ۶۰ ثانیه با فواصل زمانی در سه قرائت ثبت شده و در نهایت، فعالیت آنزیم پراکسیداز

شکل ۲- نتیجه واکنش پی.سی.آر جدایه‌های قارچ *Alternaria solani* با آغازگرهای عمومی (ITS1, ITS4): مارکر ۱۰۰ bp

Figure 2- PCR products of *Alternaria solani* isolates using general primers ITS1/ITS4 (100 bp marker).



شکل ۱- کلنی ماکروسکوپی *Alternaria solani* در محیط کشت PDA و تصویر ریخت‌شناسی کنیدی‌های قارچ بیمارگر

Figure 1- *Alternaria solani* colony on PDA and conidia morphology.

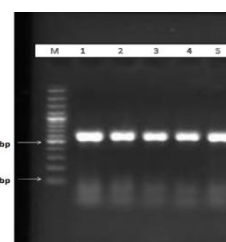
نتایج حاصل از تعیین توالی نواحی ITS۱ و ITS۴

گونه‌های آلترناریا و آنالیز تبارزایی جدایه UrmiaB

در این مرحله، نتایج حاصل از توالی‌یابی به‌فرم FASTA ذخیره شدند و جدایه‌های منتخب ایرانی با توالی‌های مشابه موجود در پایگاه اطلاعات ژنومی با استفاده از نرم‌افزار Blastn مقایسه و بررسی شدند. درخت تبارنما برای جدایه UrmiaB (دارای بیشترین شدت بیماری بین جدایه‌ها) با استفاده از نرم‌افزار MEGA 0.8 با بوت استرپ ۵۰۰ براساس توالی ناحیه ITS۱/۴ ترسیم شد (شکل ۳). براساس درخت تبارنمای حاصل، جدایه UrmiaB در کنار جدایه‌های گونه‌های آلترناریا سولانی آسیایی (جدایه‌های چینی) قرار گرفتند. یک جدایه از گونه *A. alternata* نیز به‌عنوان out group انتخاب شدند (رنگ آبی) (شکل ۳-۳).

الکتروفورز محصولات پی.سی.آر جدایه‌های آلترناریا سولانی

با استفاده از آغازگرهای مذکور قطعاتی به‌طول ۵۷۰ جفت‌باز که مختص گونه‌های *A. solani* است، در ۵ جدایه مورد آزمایش در واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز تکثیر شدند (شکل ۲-۲).



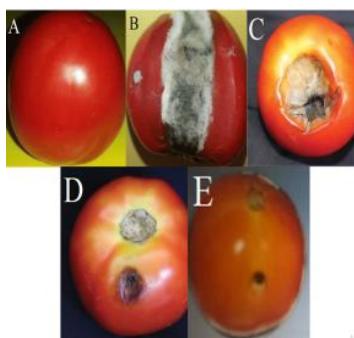
شکل ۳- درخت تبارزایی حاصل از توالی‌یابی قطعات مرتبط با بخشی از ناحیه ITS قارچ و مقایسه با جدایه‌های موجود در بانک ژن و ترسیم درخت تبارزایی به‌روش Maximum likelihood با نرم‌افزار MEGA0.8

Figure 3-Phylogenetic tree of fungal ITS region fragments, constructed using the Maximum Likelihood method (MEGA0.8) and compared to gene bank isolates.

جدول ۱- آنالیز تجزیه واریانس میانگین شدت بیماری‌زایی *Alternaria solani* جدایه UrmiaB روی میوه‌ی گوجه‌فرنگی

Table 1- ANOVA of *Alternaria solani*-UrmiaB pathogenicity on tomato fruit

تیمارها	میانگین شدت بیماری (%)
Control treatment (distilled water + healthy plant)	0
Control treatment (distilled water + healthy plant)	66/96±5.12
50 mM thyme extract and inoculation of 50 CFU/ml <i>Alternaria solani</i> isolate UrmiaB	28/32±1.25
100 mM thyme extract and inoculation of 50 CFU/ml <i>Alternaria solani</i> isolate UrmiaB	18/21±1.63
150 mM thyme extract and inoculation of 50 CFU/ml <i>Alternaria solani</i> isolate UrmiaB	11/32±1.14



شکل ۴- خاصیت بازدارندگی عصاره آویشن بر روی میوه‌های گوجه‌فرنگی تلقیح شده با قارچ *A. solani*: A: کنترل مثبت (گیاه سالم + آب مقطر)، B: کنترل مثبت (تلقیح شده فقط با قارچ *A. solani*)، C: تیمار ۵۰ میلی‌مولار عصاره آویشن + تیمار *A. solani* (۱۰^۸ اسپور/میلی‌متر)، D: تیمار ۱۰۰ میلی‌مولار عصاره آویشن + تیمار *A. solani* (۱۰^۸ اسپور/میلی‌متر)، E: تیمار ۱۵۰ میلی‌مولار عصاره آویشن + تیمار *A. solani* (۱۰^۸ اسپور/میلی‌متر) با غلظت ۱۰^۸ اسپور در هر میلی‌لیتر انجام شده است).

Figure 4- illustrates the inhibitory effect of thyme extract on tomato fruits inoculated with *A. solani*. Treatments: A) Healthy control (distilled water only); B) *A. solani* control (10⁸ spores/mL); C) *A. solani* (10⁸ spores/mL) + 50 mM thyme extract; D) *A. solani* (10⁸ spores/mL) + 100 mM thyme extract; E) *A. solani* (10⁸ spores/mL) + 150 mM thyme extract.

آزمون بیماری‌زایی جدایه‌ها

در این آزمایش، جدایه UrmiaB بیشترین اندازه لکه نکروتیک (۳/۰۸ سانتی‌متر) را ایجاد کرده و بنابر میانگین قطر لکه‌های نکروتیک ایجادشده، بیشترین شدت بیماری‌زایی را داشت (جدول ۱). با توجه به اینکه در ابتدای آزمایش‌های انجام‌شده، جدایه‌های موجود فقط شامل پنج جدایه مزرعه‌ای بود، میانگین قطر لکه نکروتیک روی میوه گوجه‌فرنگی (۲/۹ سانتی‌متر) بود. جدایه UrmiaB با بیشترین شدت بیماری‌زایی برای انجام آزمایش‌های بعدی انتخاب و استفاده شد (آزمایش با سه تکرار و هر تکرار با سه عدد میوه انجام شد) (جدول ۱، شکل ۴).

میزان بازدارندگی افزایش یافت. میانگین قطر رشد پرگنه با افزایش غلظت عصاره آویشن کاهش یافته (T1 (۱۳/۹۵ میلی‌متر)، T2 (۹/۵۰ میلی‌متر)، T3 (۷/۸۳ میلی‌متر) و در تیمار شاهد (۳۸/۵۸ میلی‌متر) و درصد بازدارندگی عصاره آویشن افزایش یافت. (داده‌های آزمایش برحسب میانگین سه تکرار می‌باشند. آنالیز تجزیه واریانس در این آزمایش و آزمایش‌های بعدی با احتمال خطای $\alpha < 0.0001$ و مقایسه میانگین‌ها بر مبنای آزمون توکی با احتمال خطای کمتر از پنج درصد محاسبه شد) (جدول ۲، شکل ۵).

بررسی محتوای کلروفیل کل

محتوای کلروفیل کل بوته بعد از اعمال تیمار غلظت‌های مختلف آویشن (۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار) در ۱۲ dpi در سطح احتمال پنج درصد در گیاهان تیمار شده نسبت به گیاهان کنترل منفی (گیاهان سالم و تلقیح شده با آب مقطر) معنادار بود. بیشترین محتوای کلروفیل کل بوته در گیاهان آلوده‌شده با *A. solani* و تیمار شده با عصاره آویشن مربوط به غلظت ۱۵۰ میلی‌مولار در روز ۱۲ بعد از اعمال تیمار در سطح احتمال پنج درصد بود. کمترین طول بوته در گیاهان کنترل

اثر بازدارندگی عصاره آویشن در جلوگیری از رشد

میسلیومی قارچ *A. solani* در آزمایشگاه

نتایج آزمایش نشان داد که با افزایش غلظت عصاره آویشن از ۵۰ به ۱۵۰ میلی‌مولار، درصد بازدارندگی و ضدقارچی این ماده افزایش می‌یابد، براساس نتایج تجزیه واریانس تفاوت معنی‌داری بین تیمارها با غلظت‌های مختلف مشاهده شد. به‌طوری‌که در غلظت ۵۰ میلی‌مولار (T1)، کمترین درصد بازدارندگی (۳۸/۹۵ درصد) و در غلظت ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار (T2 و T3 (۷۹/۱۶ درصد و ۸۱/۱۹ درصد) (شکل ۶،

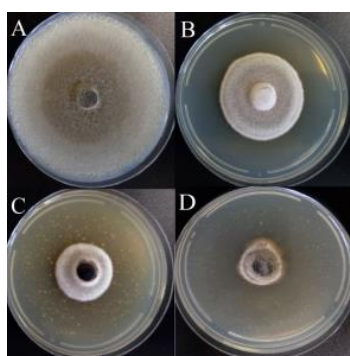
منفی یا آلوده شده فقط با *A. solani* مشاهده شد (شکل ۶،

جدول ۳.

جدول ۲- درصد بازدارندگی از رشد قارچ بیمارگر، میانگین فراوانی و شدت بیماری ناشی از *Alternaria solani* با کاربرد غلظت‌های مختلف عصاره آویشن

Table 2- Inhibition of fungal growth, disease frequency, and severity after thyme extract treatment.

تیمار (UrmiaB)	میانگین شدت بیماری	میانگین فراوانی بیماری (%)	درصد بازدارندگی عصاره آویشن روی پرگنه UrmiaB (%)
Control (distilled water + healthy plant)	0	0 ^a	0 ^a
Negative control (<i>A. solani</i>)	16.5±71.96	0 ^a	0 ^a
Treatment with 50 mM thyme extract + inoculation of <i>A. solani</i> with a concentration of CFU/ml (T1)	30.32±1.20	25.95 ^b	38.95 ^b
Treatment with 50 mM thyme extract + inoculation of <i>A. solani</i> with a concentration of CFU/ml (T1)	24.21±1.61	14.16 ^c	79.16 ^c
Treatment with 50 mM thyme extract + inoculation of <i>A. solani</i> with a concentration of CFU/ml (T1)	16.32±1.18	13.19 ^{cd}	81.19 ^{cd}



شکل ۵- اثر بازدارندگی غلظت‌های مختلف عصاره آویشن در جلوگیری از رشد میسلیمی قارچ *Alternaria solani* در آزمایشگاه

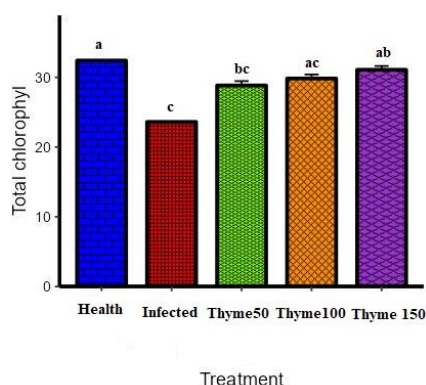
A: *A. solani* + آب مقطر، B: *A. solani* + ۵۰ میلی‌مولار آویشن، C: *A. solani* + ۱۰۰ میلی‌مولار آویشن، D: *A. solani* + ۱۵۰ میلی‌مولار آویشن

Figure 5: Inhibition of *Alternaria solani* mycelial growth by thyme extract in vitro. Treatments: A, distilled water (control); B, 50 mM thyme; C, 100 mM thyme; D, 150 mM thyme.

جدول ۳- مقایسه میانگین تأثیر تیمار عصاره آویشن بر محتوای کلروفیل کل گیاه گوجه‌فرنگی آلوده به *Alternaria solani*

Table 3- Average effect of thyme extract on total chlorophyll content in *Alternaria solani*-infected tomato plants.

Groups	Variable	N of groups	Kruskal Wallis	df	P
Treatment	Total chlorophyll	5	17.93960	4	0.00127



شکل ۶- نمودار مقایسه میانگین تأثیر تیمار عصاره آویشن بر محتوای کلروفیل کل گیاه گوجه‌فرنگی آلوده به *Alternaria solani*

Figure 6- Average effect of thyme extract on chlorophyll content in tomato plants infected with *Alternaria solani*.

بررسی طول بوته

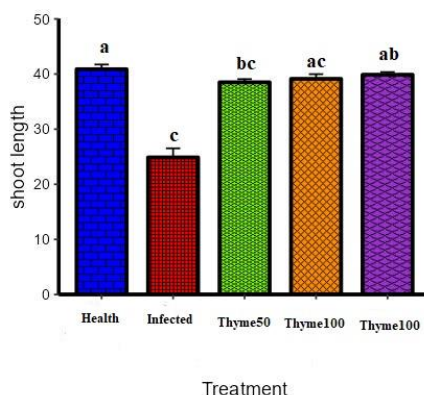
طول بوته بعد از اعمال تیمار غلظت‌های مختلف آویشن (۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار) در سطح احتمال پنج درصد در ۱۲ dpi در گیاهان آلوده تیمارشده با عصاره آویشن نسبت به گیاهان کنترل مثبت (گیاهان آلوده به *A. solani*) معنادار بود. بیشترین طول بوته در گیاهان آلوده به قارچ و تیمارشده با عصاره آویشن در غلظت ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار در سطح احتمال پنج درصد مشاهده شد که بین این دو تیمار اختلاف معناداری در سطح احتمال پنج درصد وجود نداشت. بیشترین طول بوته در گیاهان سالم و کمترین طول بوته در گیاهان کنترل مثبت یا آلوده شده فقط با *A. solani* مشاهده شد (شکل ۷، جدول ۴).

بررسی طول ریشه

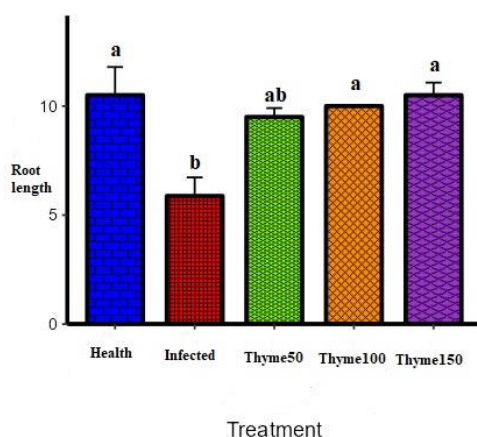
اندازه طول ریشه در گیاهان آلوده به قارچ و تیمارشده با غلظت‌های مختلف آویشن (۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار) در سطح احتمال پنج درصد نسبت به گیاهان کنترل مثبت (گیاهان آلوده شده فقط با *A. solani*) معنادار بود. درحالی‌که تیمار غلظت‌های مختلف آویشن بین خود تیمارها در گیاهان آلوده به قارچ تفاوت معناداری در سطح احتمال پنج درصد نشان نداد. بیشترین طول ریشه در گیاهان سالم (کنترل منفی) و کمترین طول ریشه در گیاهان کنترل مثبت یا آلوده شده فقط با *A. solani* مشاهده شد (جدول ۵، شکل ۸).

جدول ۴- مقایسه میانگین تأثیر تیمار عصاره آویشن بر روی طول بوته گیاه گوجه‌فرنگی آلوده به *Alternaria solani*Table 4- Average Effect of Thyme Extract on Tomato Plant Length Affected by *Alternaria solani*

Treatment	Variable	Method	Statistic	P.value	Normal?
Health	Shoot length	Shapiro Wilk	0.97137	0.84997	Yes
Infected	Shoot length	Shapiro Wilk	0.97973	0.90041	Yes
Thymus100	Shoot length	Shapiro Wilk	0.97137	0.84997	Yes
Thymus150	Shoot length	Shapiro Wilk	0.86337	0.27245	Yes
Thymus50	Shoot length	Shapiro Wilk	0.72863	0.02386	Yes

شکل ۷- نمودار مقایسه میانگین تأثیر تیمار عصاره آویشن بر طول بوته گیاه گوجه‌فرنگی آلوده به *Alternaria solani*Figure 7: Average effect of thyme extract on tomato plant length after *Alternaria solani* infectionجدول ۵- مقایسه میانگین تأثیر تیمار عصاره آویشن بر طول ریشه گیاه گوجه‌فرنگی آلوده به *Alternaria solani*Table 5- Average Effect of Thyme Extract on Root Length in Tomato Plants Infected with *Alternaria solani*

Treatment	Variable	Method	Statistic	P.value	Normal?
Health	Root length	Shapiro Wilk	0.99291	0.97188	Yes
Infected	Root length	Shapiro Wilk	0.97137	0.84997	Yes
Thymus100	Root length	Shapiro Wilk	0.62978	0.00124	Yes
Thymus150	Root length	Shapiro Wilk	0.72863	0.02386	Yes
Thymus50	Root length	Shapiro Wilk	0.94466	0.68296	Yes



شکل ۸- مقایسه میانگین تأثیر تیمار عصاره آویشن بر طول ریشه گیاه گوجه‌فرنگی آلوده به *Alternaria solani*
Figure 8- Average effect of thyme extract on root length in *Alternaria solani*-infected tomato plants.

بررسی وزن تر ریشه

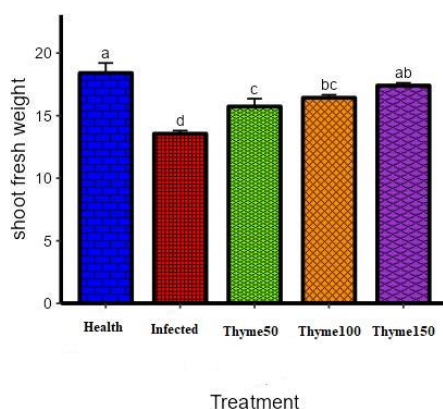
وزن تر ریشه بعد از اعمال تیمار غلظت‌های مختلف آویشن (۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار) در گیاهان آلوده به قارچ در سطح احتمال پنج درصد نسبت به گیاهان کنترل مثبت (گیاهان آلوده به *A. solani*) معنادار بود. بیشترین وزن تر ریشه در گیاهان آلوده به قارچ و تیمار شده با عصاره آویشن در غلظت ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار مشاهده شد که بین این دو تیمار اختلاف معناداری در سطح احتمال پنج درصد وجود نداشت. در کل، بیشترین وزن تر ریشه در گیاهان کنترل منفی و کمترین آن در گیاهان کنترل مثبت مشاهده شد (جدول ۷، شکل ۱۰).

بررسی وزن تر بوته

اندازه وزن تر بوته بعد از اعمال تیمار غلظت‌های مختلف آویشن (۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار) در گیاهان آلوده‌شده با قارچ در سطح احتمال پنج درصد نسبت به گیاهان کنترل مثبت معنادار بود. با افزایش غلظت از ۵۰ به ۱۵۰ میلی‌مولار افزایش معناداری در وزن تر بوته در گیاهان تیمار شده با عصاره آویشن و آلوده به قارچ بین خود تیمارهای آویشن مشاهده نشد. بیشترین وزن تر بوته مربوط به گیاهان کنترل منفی و کمترین وزن تر بوته مربوط به گیاهان کنترل مثبت بود (شکل ۹، جدول ۶).

جدول ۶- مقایسه میانگین تأثیر تیمار عصاره آویشن بر وزن تر بوته گوجه‌فرنگی آلوده به *Alternaria solani*
Figure 6- Average effect of thyme extract on root length in *Alternaria solani*-infected tomato plants.

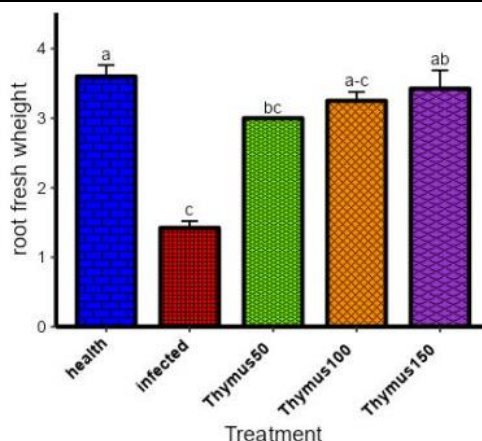
Parameter	df	Sum.Sq	Mean.Sq	F.value	P
Treatment	4	54.11500	13.52875	55.98103	0.00000
Residuals	15	3.62500	0.24167		
Total	19	57.74000	13.77042		



شکل ۹- مقایسه میانگین تأثیر تیمار عصاره آویشن بر وزن تر گیاه گوجه‌فرنگی آلوده به *Alternaria solani*
Figure 9- Average effect of thyme extract on fresh weight of tomato plants infected with *Alternaria solani*.

جدول ۷- مقایسه میانگین تأثیر تیمار عصاره آویشن بر وزن تر ریشه گوجه‌فرنگی آلوده به *Alternaria solani*Table 7- Average Effect of Thyme Extract on Fresh Weight of *A. solani*-Infected Tomato Roots

Treatment	Variable	Method	Statistic	P.value	Normal?
Health	Root fresh weight	Shapiro Wilk	0.94466	0.68296	Yes
Infected	Root fresh weight	Shapiro Wilk	0.99179	0.96644	Yes
Thymus100	Root fresh weight	Shapiro Wilk	0.99291	0.97188	Yes
Thymus150	Root fresh weight	Shapiro Wilk	0.88691	0.369	Yes
Thymus50	Root fresh weight	Shapiro Wilk	0.62978	0.00124	Yes

شکل ۱۰- مقایسه میانگین تأثیر تیمار عصاره آویشن بر وزن تر ریشه گیاه گوجه‌فرنگی آلوده به *Alternaria solani*Figure 10- Average effect of thyme extract on fresh root weight of tomato plants infected with *Alternaria solani*.

بررسی محتوای آنزیم کاتالاز

بررسی افزایش محتوای آنزیم کاتالاز بعد از اعمال تیمار غلظت-های مختلف آویشن (۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) در سطح احتمال پنج درصد در گیاهان آلوده‌شده با قارچ در ۱۲ dpi نسبت به گیاهان کنترل مثبت بود. بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز بوته در گیاهان آلوده به قارچ و تیمار شده با عصاره آویشن در غلظت ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار در سطح احتمال پنج درصد مشاهده شد که بین این دو تیمار اختلاف معناداری در سطح احتمال پنج درصد وجود نداشت. بیشترین محتوای آنزیم کاتالاز در گیاهان کنترل منفی و کمترین طول بوته در گیاهان کنترل مثبت یا آلوده‌شده فقط با *A. solani* مشاهده شد (جدول ۱۰، شکل ۱۳).

بررسی محتوای فلاونوئیدها

نتایج نشان داد که محتوای فلاونوئیدهای بوته بعد از اعمال تیمار غلظت‌های مختلف آویشن (۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار) در گیاهان تلقیح‌شده با قارچ در سطح احتمال پنج درصد نسبت به گیاهان کنترل مثبت (گیاهان آلوده به *A. solani*) معنادار بود. بیشترین محتوای فلاونوئیدهای کل در گیاهان آلوده به قارچ و تیمار شده با غلظت‌های مختلف آویشن در غلظت ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار مشاهده شد که بین این دو تیمار اختلاف معناداری در سطح احتمال پنج درصد وجود نداشت. بیشترین تولید فلاونوئید بوته در گیاهان کنترل منفی و کمترین محتوای فلاونوئید کل در گیاهان کنترل مثبت مشاهده شد (جدول ۱۱، شکل ۱۴).

بررسی وزن خشک بوته

افزایش محتوای وزن خشک بوته بعد از اعمال تیمار غلظت‌های مختلف آویشن (۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار) در سطح احتمال پنج درصد در گیاهان تیمار شده با قارچ نسبت کنترل مثبت (گیاهان آلوده به *A. solani*) معنادار بود. بیشترین وزن خشک بوته در گیاهان آلوده به قارچ و تیمار شده با عصاره آویشن در غلظت ۱۵۰ میلی‌مولار مشاهده شد. در بین گیاهان شاهد نیز بیشترین وزن خشک بوته در گیاهان کنترل منفی و کمترین وزن خشک بوته در گیاهان کنترل مثبت یا آلوده شده فقط با *A. solani* مشاهده شد (جدول ۸، شکل ۱۱).

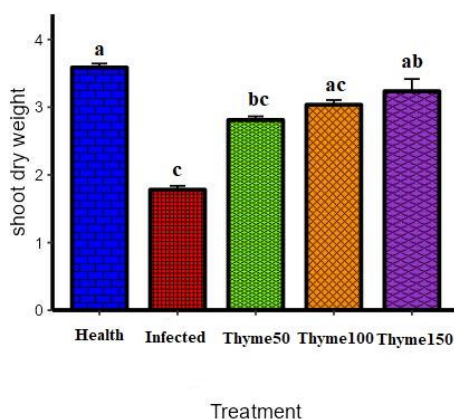
بررسی وزن خشک ریشه

افزایش وزن خشک ریشه بعد از اعمال تیمار غلظت‌های مختلف آویشن (۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار) در سطح احتمال پنج درصد در گیاهان تیمار شده نسبت به گیاهان شاهد معنادار بود. بیشترین وزن خشک ریشه در گیاهان آلوده به قارچ و تیمار شده با عصاره آویشن در غلظت ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار مشاهده شد که بین این دو تیمار اختلاف معناداری در سطح احتمال پنج درصد وجود نداشت. در گیاهان شاهد نیز بیشترین وزن خشک ریشه در گیاهان کنترل منفی و کمترین طول بوته در گیاهان کنترل مثبت یا آلوده شده فقط با *A. solani* مشاهده شد (جدول ۹، شکل ۱۲).

جدول ۸- مقایسه میانگین تأثیر تیمار عصاره آویشن بر وزن خشک شاخسار گوجه‌فرنگی آلوده به *Alternaria solani*

Table 8- Effect of thyme extract on dry weight of *Alternaria solani*-infected tomato shoots

Treatment	Variable	Method	Statistic	P.value	Normal?
Health	Shoot dry weight	Shapiro Wilk	0.86521	0.27929	Yes
Infected	Shoot dry weight	Shapiro Wilk	0.72863	0.02386	Yes
Thymus100	Shoot dry weight	Shapiro Wilk	0.62978	0.00124	Yes
Thymus150	Shoot dry weight	Shapiro Wilk	0.82229	0.14857	Yes
Thymus50	Shoot dry weight	Shapiro Wilk	0.77291	0.06185	Yes



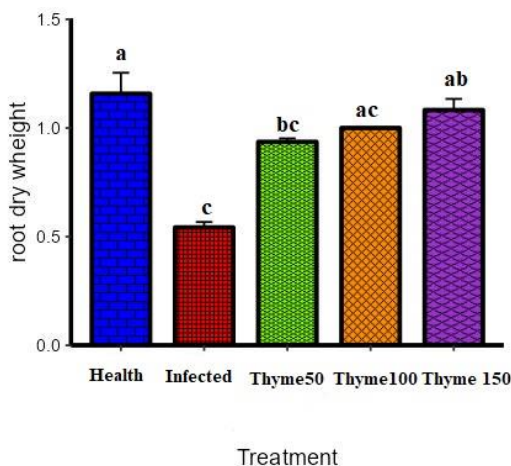
شکل ۱۱- مقایسه میانگین تأثیر تیمار عصاره آویشن بر وزن خشک شاخسار گوجه‌فرنگی آلوده به *Alternaria solani*

Figure 11- Average effect of thyme extract on dry weight of tomato shoots infected with *Alternaria solani*.

جدول ۹- مقایسه میانگین تأثیر تیمار عصاره آویشن بر وزن خشک ریشه گوجه‌فرنگی آلوده به *Alternaria solani*

Table 9- Effect of thyme extract on dry weight of tomato roots infected with *Alternaria solani*.

Treatment	Variable	Method	Statistic	P.value	Normal?
health	Root dry wheight	Shapiro Wilk	0.78211	0.07381	Yes
infected	Root dry wheight	Shapiro Wilk	0.62978	0.00124	Yes
Thymus100	Root dry wheight	Shapiro Wilk	0.62978	0.00124	Yes
Thymus150	Root dry wheight	Shapiro Wilk	0.89888	0.42554	Yes
Thymus50	Root dry wheight	Shapiro Wilk	0.91068	0.486	Yes



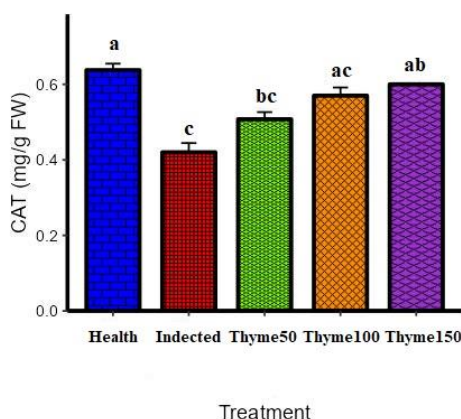
شکل ۱۲- مقایسه میانگین تأثیر تیمار عصاره آویشن بر وزن خشک ریشه گوجه‌فرنگی آلوده به *Alternaria solani*

Figure 12- Average Effect of Thyme Extract on Dry Weight of Tomato Roots Infected with *Alternaria solani*

جدول ۱۰- مقایسه میانگین تأثیر تیمار عصاره آویشن بر سنتز آنزیم کاتالاز گوجه‌فرنگی آلوده به *Alternaria solani*

Table 10- Effect of Thyme Extract on Catalase Synthesis in *Alternaria solani*-Infected Tomatoes

Treatment	Variable	Method	Statistic	P.value	Normal?
Health	کاتالاز (mg.g ⁻¹ FW)	Shapiro Wilk	0.97137	0.84997	Yes
Infected	کاتالاز (mg.g ⁻¹ FW)	Shapiro Wilk	0.86038	0.26157	Yes
Thymus100	کاتالاز (mg.g ⁻¹ FW)	Shapiro Wilk	0.92708	0.57735	Yes
Thymus150	کاتالاز (mg.g ⁻¹ FW)	Shapiro Wilk	0.62978	0.00124	Yes
Thymus50	کاتالاز (mg.g ⁻¹ FW)	Shapiro Wilk	0.79065	0.08649	Yes



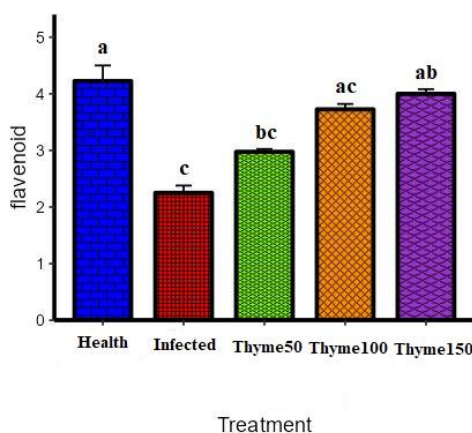
شکل ۱۳- مقایسه میانگین تأثیر تیمار عصاره آویشن بر سنتز آنزیم کاتالاز گوجه‌فرنگی آلوده به *Alternaria solani*

Figure 13- Average effect of thyme extract on catalase synthesis in *Alternaria solani*-infected tomatoes.

جدول ۱۱- مقایسه میانگین تأثیر تیمار عصاره آویشن بر فلاونوئیدکل گوجه‌فرنگی آلوده به *Alternaria solani*

Table 11- Average Effect of Thyme Extract on Total Flavonoids in *Alternaria solani* -Infected Tomatoes

Treatment	Variable	Method	Statistic	P.value	Normal?
Health	Flavonoid	Shapiro Wilk	0.93927	0.64988	Yes
Infected	Flavonoid	Shapiro Wilk	0.99291	0.97188	Yes
Thymus100	Flavonoid	Shapiro Wilk	0.86337	0.27245	Yes
Thymus150	Flavonoid	Shapiro Wilk	0.94466	0.68296	Yes
Thymus50	Flavonoid	Shapiro Wilk	0.62978	0.00124	NO



شکل ۱۴- مقایسه میانگین تأثیر تیمار عصاره آویشن بر فلاونوئیدهای کل گوجه‌فرنگی آلوده به *Alternaria solani*

Figure 14- Average effect of thyme extract on total flavonoid content in *Alternaria solani*-infected tomatoes.

بررسی محتوای فنل بوته‌ها

بررسی محتوای کل فنل بوته‌ها بعد از اعمال تیمار غلظت‌های مختلف آویشن (۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار) در سطح احتمال پنج درصد در گیاهان آلوده شده به قارچ نسبت به گیاهان کنترل مثبت در سطح احتمال پنج درصد در ۱۲ dpi معنادار نبود. با افزایش غلظت تیمارهای عصاره آویشن، تفاوت معناداری در افزایش سطح فنل در گیاهان تیمار شده با آویشن و آلوده به قارچ در سطح احتمال پنج درصد مشاهده نشد. بیشترین سطح فنل کل بوته در گیاهان کنترل منفی و کمترین طول بوته در گیاهان کنترل مثبت مشاهده شد (جدول ۱۲، شکل ۱۵).

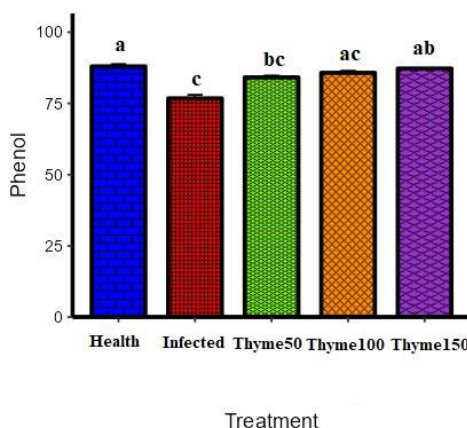
بررسی محتوای پرواکسیداز بوته‌ها

بررسی افزایش محتوای پرواکسیداز بوته‌ها بعد از اعمال تیمار غلظت‌های مختلف آویشن (۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار) در سطح احتمال پنج درصد در گیاهان آلوده به قارچ و تیمار شده با عصاره آویشن نسبت به گیاهان کنترل مثبت (گیاهان آلوده به *A. solani*) فقط در غلظت ۱۵۰ میلی‌مولار آویشن در ۱۲ dpi معنادار بود. با افزایش غلظت آویشن، تفاوت معناداری در افزایش بیشترین محتوای آنزیم پراکسیداز در گیاهان آلوده در سطح احتمال پنج درصد مشاهده نشد. بیشترین محتوای پراکسیداز بوته در گیاهان کنترل منفی و کمترین آن در گیاهان کنترل مثبت ثبت شد (جدول ۱۳، شکل ۱۶).

جدول ۱۲- مقایسه میانگین تأثیر تیمار عصاره آویشن بر ستر فنل کل گوجه‌فرنگی آلوده به *Alternaria solani*

Table 12- Effect of Thyme Extract on Total Phenol Synthesis in *Alternaria solani*-Infected Tomatoes

Treatment	Variable	Method	Statistic	P.value	Normal?
Health	Phenol	Shapiro Wilk	0.88609	0.3653	Yes
Infected	Phenol	Shapiro Wilk	0.89495	0.40639	Yes
Thymus100	Phenol	Shapiro Wilk	0.7622	0.04991	NO
Thymus150	Phenol	Shapiro Wilk	0.8494	0.22423	Yes
Thymus50	Phenol	Shapiro Wilk	0.89345	0.39925	Yes



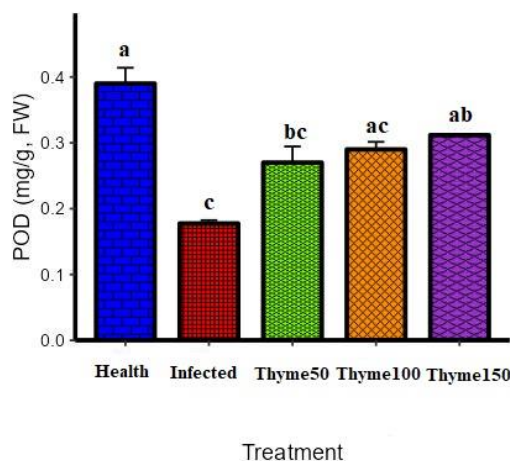
شکل ۱۵- مقایسه میانگین تأثیر تیمار عصاره آویشن بر فنل کل گوجه‌فرنگی آلوده به *Alternaria solani*

Figure 15- Effect of thyme extract on total phenolics in *Alternaria solani*-infected tomatoes.

جدول ۱۳- مقایسه میانگین تأثیر تیمار عصاره آویشن بر محتوای آنزیم پرواکسیداز گوجه‌فرنگی آلوده به *Alternaria solani*

Table 13- Average Effect of Thyme Extract on Peroxidase in *Alternaria solani*-Infected Tomatoes

Treatment	Variable	Method	Statistic	P.value	Normal?
Health	POD (mg.g ⁻¹ , FW)	Shapiro Wilk	0.8211	0.14575	Yes
Infected	POD (mg.g ⁻¹ , FW)	Shapiro Wilk	0.62978	0.00124	NO
Thymus100	POD (mg.g ⁻¹ , FW)	Shapiro Wilk	0.72863	0.02386	NO
Thymus150	POD (mg.g ⁻¹ , FW)	Shapiro Wilk	0.97137	0.84997	Yes
Thymus50	POD (mg.g ⁻¹ , FW)	Shapiro Wilk	0.86038	0.26157	Yes



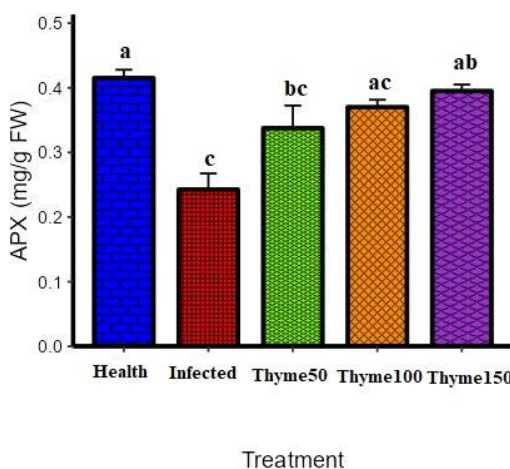
شکل ۱۶- مقایسه میانگین تأثیر تیمار عصاره آویشن بر محتوای پراکسیداز گوجه‌فرنگی آلوده به *Alternaria solani*

Figure 16- Average effect of thyme extract on peroxidase content in *Alternaria solani*-infected tomatoes.

جدول ۱۴- مقایسه میانگین تأثیر تیمار عصاره آویشن بر سنتز آنزیم آسکوربات پراکسیداز گوجه‌فرنگی آلوده به *Alternaria solani*

Table 14- Comparison of the average effect of thyme extract treatment on the synthesis of ascorbate peroxidase enzyme in tomatoes infected with *Alternaria solani*

Treatment	Variable	Method	Statistic	P.value	Normal?
Health	APX (mg/g FW)	Shapiro Wilk	0.99291	0.97188	Yes
Infected	APX (mg/g FW)	Shapiro Wilk	0.62978	0.00124	Yes
Thymus100	APX (mg/g FW)	Shapiro Wilk	0.72863	0.02386	Yes
Thymus150	APX (mg/g FW)	Shapiro Wilk	0.62978	0.00124	Yes
Thymus50	APX (mg/g FW)	Shapiro Wilk	0.97865	0.89407	Yes



شکل ۱۷- مقایسه میانگین تأثیر تیمار عصاره آویشن بر آسکوربات پراکسیداز کل گوجه‌فرنگی آلوده به *Alternaria solani*

Figure 17- Average effect of thyme extract on Ascorbate peroxidase content in *Alternaria solani*-infected tomatoes.

تولید آسکوربات پرواکسیداز در بین بوته‌های مربوط به گیاهان کنترل منفی و کمترین طول بوته در گیاهان کنترل مثبت یا آلوده شده فقط با *A. solani* مشاهده شد (جدول ۱۴، شکل ۱۷).

بحث

یکی از راهبردهای مدیریت پایدار در مهار بیماری‌های گیاهی،

بررسی محتوای آسکوربات پرواکسیداز (APX) بوته‌ها

افزایش محتوای آنزیم آسکوربات پرواکسیداز بوته‌ها بعد از اعمال تیمار غلظت‌های مختلف آویشن (۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار) در سطح احتمال پنج درصد در گیاهان آلوده به قارچ و تیمار شده با عصاره آویشن نسبت به گیاهان کنترل مثبت فقط در غلظت ۱۵۰ میلی‌مولار آویشن در سطح احتمال پنج درصد در ۱۲ dpi معنادار بود. بیشترین

گرامینه‌ای (*graminearum*) و *Sclerotinia sclerotiorum* نشان داد که بیشترین درصد بازدارندگی روی قارچ‌های مذکور در غلظت‌های بالا صورت می‌گیرد که با نتایج حاصل از این پژوهش هم‌پوشانی نشان می‌دهد (Amini et al., 2012).

کریمی و همکاران (Karimi et al., 2020) اثر عصاره رازیانه، میخک، آویشن و مریم‌گلی را روی رشد قارچ بیمارگر *A. flavus* بررسی کردند و نشان دادند که آویشن و میخک در غلظت ۶۰۰ پی‌پی‌ام به‌طور کامل رشد قارچ را مهار می‌کنند. نتایج تحقیقات لطفی و همکاران (Lotfi et al., 2010) نشان داد که استفاده از عصاره گیاهان آویشن، زنیان و پونه اثرات بازدارندگی بالایی بر رشد ریشه‌های قارچ *F. oxysporum* دارند، به‌طوری‌که در غلظت ۴۰۰ و ۳۰۰ پی‌پی‌ام از عصاره گیاه آویشن، رشد نخینه قارچ *F. oxysporum* به‌طور کامل مهار شد و در هر سه نمونه عصاره با افزایش غلظت عصاره رشد قارچ کاهش یافت. نتایج تحقیقات افشاری و همکاران (Afshari et al., 2020) در راستای بررسی اثرات عصاره رازیانه و آویشن بر رشد قارچ *Aspergillus flavus* نشان داد که این عصاره‌ها در غلظت ۶۰۰ پی‌پی‌ام دارای بیشترین قدرت بازدارندگی رشد قارچ هستند. گزارش‌های متعددی وجود دارد که نشان‌دهنده خواص ضد میکروبی و ضد قارچی عصاره و آویشن است. ترکیباتی مانند بتا پینن، آلفا پینن، لینالول و کامفور از جمله آن‌ها است. از دیگر ترکیباتی که خاصیت ضد قارچی دارند، می‌توان به سینئول، سیمن، کامفن و آلفا ترب ینئول، کارواکرول، لیمونن، کارون و برنئول اشاره نمود (Soltani & Moghaddam, 2014). تیمول یکی از مهم‌ترین ترکیبات ضد قارچی موجود در عصاره گیاهانی مانند اسطوخودوس، رازیانه و آویشن است (Stepanova et al., 2022). مطالعات دناپی و همکاران (Danaei et al., 2014) نشان داد علاوه‌بر اینکه رشد قارچ بیمارگر *Alternaria alternata* تحت تیمار با عصاره ۵۰۰ پی‌پی‌ام آویشن در محیط کشت مورد مطالعه کاهش یافت، در این مطالعه، کاهش میزان اسپورزایی قارچ و ایجاد اسپورهای تغییر شکل‌یافته نیز در محیط کشت مورد مشاهده قرار گرفت. زمانی‌که تولید زیست‌توده قارچ بیمارگر کاهش می‌یابد، متعاقب آن شدت بیماری‌زایی قارچ نیز کمتر شد. از طرفی، مطالعه عصاره آویشن بر قارچ *A. flavus* نشان داد که عصاره مذکور گیاهی باعث تجزیه مستقیم آفات توکسین در محیط کشت می‌شود (Rana et al., 2021).

تحقیقات مختلفی برای شناسایی ترکیبات ضد قارچی جدید سازگار با محیط‌زیست و تجدیدشونده انجام شده است، به‌عنوان مثال، اثر پنج گونه گیاهی شامل *Artemisia aucheri*، *Thymus daenensis*، *Mentha aquatic* و *Vitex agnus-castus* بر رشد مسیلیومی قارچ‌های بیمارگر گیاهی شامل *Rhizoctonia solani*، *Gaeumannomyces graminis*

شناخت، به‌کارگیری و توسعه ترکیبات زیستی سازگار با محیط زیست و ترکیبات مختل‌کننده در برهم‌کنش سازگار بین بیمارگر و گیاه است (Ribera & Zuñiga, 2012). بیمارگر *A. solani* یکی از مخرب‌ترین عوامل خسارت‌زا روی گوجه‌فرنگی می‌باشد (Meena et al., 2021). مطالعات زیادی نشان داده است که یکی از منابع مقرون به‌صرفه، ایمن و پایدار در برابر بیمارگرهای قارچی در گیاهان استفاده از عصاره‌های گیاهی می‌باشد (Sánchez-Gómez et al., 2024; Ashrafi et al., 2020). پادزیست‌های گیاهی علاوه‌بر خواص ضد قارچی، فاقد اثرات زیان‌بار انسانی و زیست‌محیطی می‌باشند. مطالعات نشان می‌دهند که استفاده از روش‌های انفرادی در مهار بیمارگرها منجر به ایجاد مقاومت شده و استفاده از روش‌های ترکیبی و تلفیقی با تأکید بر پیشگیری از ورود بیماری به مزارع غیرآلوده ضروری است (Younesi et al., 2023; Meena et al., 2021). در این تحقیق، ابتدا اقدام به شناسایی ریخت‌شناختی و مولکولی *A. solani* مطابق با منابع معتبر علمی موجود و آغازگرهای اختصاصی شد (Kumar et al., 2008).

نتایج حاصل از تأثیر عصاره‌های گیاهی آویشن در سه غلظت ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بر رشد نخینه قارچ بیمارگر در محیط کشت نشان داد که عصاره مورد استفاده در این تحقیق از رشد *A. solani* در شرایط آزمایشگاهی به‌ویژه در غلظت‌های بالا جلوگیری به عمل آوردند (۸۰ درصد و ۸۲ درصد بازدارندگی از رشد میسیلیوم در غلظت ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار). نتایج این مطالعات نشان داد که بازدارندگی و کاهش شدت بیماری عصاره آویشن وابسته به غلظت می‌باشد (جدول ۱ و ۲، شکل ۵).

کارواکرول یکی از ترکیباتی است که به‌وفور در عصاره گیاهان آویشن وجود دارد. به نظر می‌رسد که کارواکرول از طریق افزایش pH واکوئل و خروج پروتون‌ها از لومن واکوئل منجر به اسیدی شدن سیتوزول شده و توازن یون کلسیم را مختل می‌کند و نوسان سریع و شدید کلسیم سیتوزولی فرآیندی است که توسط دو ایزومر فنولی کارواکرول و تیمول منجر به مرگ سلول‌های قارچی می‌گردد. بررسی‌های بیوشیمیایی روی آویشن نشان داده است که ترکیبات فلاونوئیدی موجود در این گیاه از جمله کورستین، لوتولین، مشتقات فنولی مانند مشتقات بنزوئیک اسید، مشتقات رزمارینیک اسید و توکوفرول، ترپنوئیدهای مهم مانند پاراسایمون و در نهایت، روغن‌های فرار آویشن شامل تیمول، کارکرول، پاراسایمون و بتاکاریوفیلین شناسایی شده است که بیشتر این ترکیبات دارای خاصیت ضد قارچی هستند (Campolo et al., 2018).

نتایج تحقیقات متعددی نشان داد که عصاره آویشن منجر به بازدارندگی از رشد قارچ در محیط کشت می‌گردد. نتایج حاصل از این آزمایش با بررسی‌های تأثیر عصاره آویشن بر قارچ‌های *Pythium*، *Fusarium*، *Rhizoctonia solani* (AG4)، *aphanidermatum*

نتایج تحقیقات نشان داد که مقاوم‌ترین قارچ در برابر عصاره‌های گیاهی فوق، *R. solani* و حساس‌ترین آن‌ها *P. ultimum* می‌باشند. همچنین از بین عصاره‌های مورد آزمایش عصاره‌های *M. aquatic* و *T. daensis* بیش‌ترین اثر را در مهار رشد پرگنه قارچ‌های مورد مطالعه داشتند و *V. aqunus-castus* کم‌ترین اثر را در مهار رشد پرگنه نشان داد (Sepehrvand et al., 2017). در یک پژوهش دیگر جهت کاهش میزان رشد *A. flavus* از غلظت‌های مختلف عصاره‌های باریچه، آویشن، مورد و میخک استفاده شد و نتایج نشان داد که قدرت بازدارندگی همگی این عصاره‌ها بر کاهش میزان رشد قارچ مورد نظر معنی‌دار هستند (Jia et al., 2022). کارآیی عصاره میخک (*Dianthus caryophyllus*)، گیاه کاسیا (*Cassia floribunda*) و آویشن در کاهش آلودگی‌های بذر ذرت ناشی از قارچ‌های *Chaetomium indicum* و *A. flavus* نشان داده شد (Verma et al., 2021). از گذشته تاکنون عصاره آویشن به‌عنوان یک میکروب‌کش مهم مطرح بوده است و خاصیت ضد میکروبی آن بیشتر به‌دلیل وجود کارواکرول و تیمول است. جهت مهار رشد پرگنه قارچ *A. alterata* از عصاره گیاه آویشن استفاده شد و نتایج نشان داد که قدرت بازدارندگی رشد این قارچ به‌وسیله عصاره مذکور بسیار مطلوب بوده و نتایج خوبی در غلظت‌های مختلف تیمار شده نشان داد (Mahmudi et al., 2012). در یک بررسی، تأثیر عصاره متانولی آویشن بر قارچ‌های خاک‌زاد در توتون شامل *R. solani* و *Phytophthora nicotianae* نشان داد که بهترین غلظت برای خاصیت ضدقارچی عصاره در شرایط آزمایشگاهی، غلظت ۲۰۰ پی‌پی‌ام است (Sajjadi & Assemi, 2014).

در مطالعاتی که سپهروند و همکاران (Sepehrvand et al., 2017) روی اثرات بازدارندگی چهار عصاره نعنا فلفلی (*Mentha piperita* L.)، اکالپتوس (*Eucalyptus camadulensis*)، آویشن شیرازی (*Zataria multiflora* Boiss.) و رازیانه (*Foeniculum vulgare* Miller.) علیه دو عامل بیماری پوسیدگی ریشه و طوقه لوبیا (*Fusarium solani* و *Rhizoctonia solani*) انجام دادند، گزارش کردند که عصاره آویشن شیرازی علیه هر دو بیمارگر بیشترین اثر بازدارندگی (به‌ترتیب ۸۵ و ۸۳ درصد) را نشان داد. عصاره‌های آویشن، رزماری و زیره سیاه در شرایط *In vitro* یا درون شیشه‌ای بر رشد قارچ پنی‌سیلیوم و کپک خاکستری مورد مطالعه قرار گرفت و نتایج نشان داد که عصاره‌های آویشن و زیره می‌توانند از رشد نخینه‌های پنی‌سیلیوم به‌طور کامل ممانعت کنند (Iraji et al., 2020). اثر عصاره‌های آویشن کوهی، آویشن باغی و آویشن شیرازی روی قارچ بیماری‌زای گیاهی *Rhizoctonia solani* نشان داد که در غلظت ۲۰۰ میکرولیتر بر لیتر محیط کشت اثر مهارکنندگی ۱۰۰ درصد بر قارچ‌های مذکور داشت (Amini et al., 2018). در تحقیقات جو و

همکاران (Ju et al., 2023)، اثر ضدقارچی عصاره آویشن و رازیانه و نیز تلفیق این دو عصاره در نسبت‌های مختلف روی قارچ *A. alternata* بررسی شد و نتایج نشان داد که در برخی نسبت‌های تلفیقی، اثرات هم‌افزایی دارند. عصاره روغنی چهار گونه دارویی از جمله کاکوتی (یک گیاه نزدیک به گونه آویشن) را بر مهار *آلترناریا* مورد بررسی قرار دادند و نتیجه گرفتند که هر چهار عصاره قابلیت کاهش رشد قارچ را دارند و با افزایش غلظت بخار، کارآیی آن نیز افزایش داشت (Hong et al., 2018). احمد و همکاران (Ahmed et al., 2022) عصاره روغنی آویشن را برای مهار کپک خاکستری و پژمردگی فوزاریومی گوجه‌فرنگی بررسی کردند. در این پژوهش عصاره آویشن به‌صورت محلول‌پاشی و به‌صورت کاربرد ریشه‌ای در محیط هیدروپونیک استفاده شد. نتایج نشان داد که عصاره آویشن موجب مهار کپک خاکستری به‌میزان ۶۰ درصد و مهار فوزاریوم به‌میزان ۳۰ درصد گردید و کاربرد ریشه‌ای عصاره مؤثرتر از محلول‌پاشی بود. گوپتا و همکاران (Gupta et al., 2023)، فعالیت ضدقارچی غلظت‌های مختلف (۴۰۰، ۳۰۰، ۲۰۰، ۱۰۰ پی‌پی‌ام) عصاره چهار گیاه دارویی آویشن شیرازی (*Thymus vulgaris*)، زیره سبز (*Cuminum cyminum*)، سیر (*Allium sativum*) و آلوورا (*Aloe vera*) را مورد پژوهش قرار دادند. نتایج نشان داد که عصاره آویشن با غلظت ۴۰۰ پی‌پی‌ام بیشترین بازدارندگی را بر قارچ *Penicillium digitatum* عامل بیماری کپک سبز در درختان مرکبات دارد. این گیاه به‌دلیل دارا بودن کاروتن‌ها (پیش‌ساز ویتامین A)، انواع ویتامین‌ها مانند ویتامین C و ویتامین‌های گروه B همچنین، املاح مهم معدنی مانند پتاسیم، کلسیم، آهن و فسفر، از مهم‌ترین سبزیجات در رژیم غذایی انسان محسوب می‌شود (Ferrigo et al., 2020). نتایج آزمایشگاهی حاصل از این تحقیق بر روی اثر بازدارندگی عصاره آویشن بر *A. solani* و شدت بیماری‌زایی آن در گوجه‌فرنگی رقم ۴۱۲۹ نیز در این تحقیق نشان داده شد که با نتایج ضدقارچی این عصاره روی سایر بیمارگرهای قارچی هم‌پوشانی دارد.

از طرفی دیگر، در این آزمایش مشخص شد که عصاره آویشن وابسته به غلظت منجر به به‌بهبود برخی صفات مورفو-فیزیولوژیکی گوجه‌فرنگی شامل طول ریشه و شاخسار، وزن تر و خشک ریشه و شاخسار، افزایش محتوای کلروفیل، افزایش بیان برخی آنزیم‌های دفاعی مانند کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، پروکسیداز، فنل‌ها و فلاونوئیدها تحت شرایط گلخانه‌ای شد. همچنین نتایج این تحقیقات نشان داد که به‌بهبود صفات مورفو-فیزیولوژیکی در غلظت‌های بالای تیمارهای آویشن رخ می‌دهد. این نتایج نشان می‌دهد که عصاره آویشن روی قارچ *A. solani* تحت شرایط گلخانه‌ای و آزمایشگاهی به‌خوبی عمل نموده و باعث کاهش رشد قارچ و متعاقب آن کاهش میزان شدت بیماری شده است. برای مهار *A. flavus* تولیدکننده

فلاونوئیدها در خیار آلوده به قارچ مذکور شد (Aghazadeh Naeini et al., 2022).

تأثیر خواص ضدقارچی عصاره آویشن بر *R. solani* در سیب زمینی مورد بررسی قرار گرفت و مشاهده شد که تیمار عصاره آویشن در غلظت‌های بالا موجب بهبود شاخص‌های رشدی و فیزیولوژیکی در سیب‌زمینی می‌شود (Aksit et al., 2022).

بررسی‌ها نشان داد که عصاره آویشن به‌دلیل داشتن مونوترپین‌های اکسیژنه (تیمول) و هیدروکربن‌های مونوترپین از رشد قارچ‌های *Drechslera spicifera* و *Macrophomina phaseolina* محیط کشت جلوگیری کردند (Moghaddam & Mehdizadeh, 2020).

بررسی‌ها نشان داد که عصاره آویشن تأثیر بالایی در ممانعت از جوانه‌زنی، اسپوردهی و رشد *R. solani* در محیط آزمایشگاهی داشته و در گیاه با افزایش محتوای آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی باعث بهبود مقاومت گیاه در برابر قارچ عامل بیماری می‌گردد (Nateqi & Mirghazanfari, 2018).

عصاره متانولی آویشن خاصیت ضدقارچی بالایی علیه *Fusarium oxysporum* و *Pythium aphanidermatum* در شرایط آزمایشگاهی و گلخانه‌ای داشته و باعث بهبود شاخص‌های رشدی گوجه‌فرنگی مانند وزن تر و خشک بوته و افزایش محتوای آنتی‌اکسیدانی، آنتوسیانین، کاتالاز، پرواکسیداز و آسکوربات پراکسیداز در گیاه شد (Al-Rahmah et al., 2013).

در یک بررسی دیگر مشاهده شد که عصاره آویشن خاصیت ضدقارچی بالایی بر کپک صورتی گوجه‌فرنگی (*Trichothecium roseum*) در شرایط آزمایشگاهی و گلخانه‌ای دارد. این ترکیب همچنین از جوانه‌زنی و رشد قارچ در محیط کشت تا حد زیادی ممانعت کرده و با القاء تولید ترکیبات آنتی‌اکسیدان و ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی در گوجه‌فرنگی، مقاومت گیاه در برابر این قارچ را افزایش داد (Balkan et al., 2017).

در یک بررسی دیگر مشاهده شد که عصاره آویشن علاوه‌بر خاصیت ضدقارچی در برابر *R. solani*، باعث افزایش فنل و فلاونوئید در ریشه گیاهان گوجه‌فرنگی آلوده به قارچ تیمار شده با آویشن شد. علاوه‌بر این، آویشن منجر به بهبود شاخص‌های رشدی در گیاهان گوجه‌فرنگی آلوده به قارچ و تیمار شده با عصاره آویشن شد (Abd-ellatif et al., 2022).

عصاره متانولی آویشن شیرازی (*Zataria multiflora* Boiss.) و سیر (*Allium sativum* L.) از رشد کپک سبز پرتقال با عامل *Penicillium digitatum* Sacc در شرایط آزمایشگاهی و در انبار روی میوه ممانعت نمودند. نتایج حاصل از این بررسی نشان داد که عصاره آویشن و سیر باعث القاء بیان آنزیم‌های پراکسیداز، پلی‌فنل-اکسیداز و فنیل آلانین آمونیلایز تا روز ۱۲ ام بعد از تیمار در میوه

آفلاتوکسین در پسته از عصاره‌های گیاهانی چون مرزه بختیاری، مرزه خوزستانی، آویشن باغی، مریم‌گلی و ملیس و همچنین عصاره گیاهان مرزه خوزستانی، مریم‌گلی، آویشن باغی و ملیس استفاده شد که از بین این‌ها سه عصاره مرزه بختیاری، مرزه خوزستانی و آویشن باغی در غلظت‌های بالا باعث کاهش وزن خشک پرگنه قارچ شدند (Gandomi et al., 2009). مؤثر بودن عصاره آویشن بر کاهش آفلاتوکسین در میوه‌های پسته انباری آلوده نشان می‌دهد که در شرایط انباری این عصاره‌ها علاوه‌بر خاصیت ضدقارچی، سریعاً تجزیه شده و باقی‌مانده سمی کمتری روی محصول دارند (Doehlemann et al., 2017) و می‌توان با فرموله کردن این عصاره‌ها با ترکیبات مناسب در آینده آن‌ها در انبارداری گوجه‌فرنگی نیز از آن استفاده نمود. شهریاری و همکاران (Shahriari et al., 2017) نشان دادند که عصاره آویشن در ترکیب با عصاره زنیان خاصیت قارچ‌کشی بالایی علیه *R. solani* در سیب‌زمینی دارند. ترکیب این دو عصاره منجر به بهبود شاخص‌های رشدی گیاه مانند وزن تر و خشک بوته، همچنین وزن تر و خشک شاخسار سیب‌زمینی شد.

محتوای آنزیم‌های پراکسیداز، پلی‌فنل اکسیداز، کاتالاز، پراکسیداز، فنیل آلانین آمونیلایز در گیاهان خیار تیمار شده با عصاره آویشن روند افزایشی نشان داد (Aghazadeh Naeini et al., 2022).

تیمار عصاره آویشن بر روی برنج آلوده به *R. solani* منجر به کاهش علائم شیت بلایت شد. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که عصاره آویشن در القاء آنزیم‌های پراکسیدازی و مسیر ساخت ترکیبات فنیل پروپانوئیدی نقش مهمی دارد (Sareana et al., 2006). نتایج مطالعات نشان داد که عصاره‌های متانولی آویشن، در شرایط گلخانه‌ای نیز موجب افزایش وزن تر و خشک ریشه‌ها و ساقه‌های گندم آلوده به *Erysiphe graminis* f. sp. *hordei* در مقایسه با گیاهان شاهد آلوده شدند (Rehmany et al., 2003) که با نتایج حاصل از این تحقیق هم‌پوشانی نشان می‌دهد. کمانگر و همکاران (Kamangar et al., 2012) اثر ضدقارچی عصاره آویشن علیه بیمارگرهای *R. solani* و *F. solani* در لوبیا را تحت شرایط گلخانه-ای بررسی کرده و نشان دادند که این عصاره علاوه‌بر خاصیت ضدقارچی منجر به بهبود شاخص‌های رشدی مانند وزن تر، وزن خشک ریشه و شاخسار و افزایش ارتفاع گیاه می‌گردد.

در یک تحقیق، اثر مهارکنندگی عصاره گیاهان آویشن دنايي بر میزان رشد قارچ بیمارگر *R. solani* و تغییرات میزان فعالیت آنزیم‌های دفاعی پراکسیداز و کاتالاز و همچنین تغییرات میزان بیان ژن این دو آنزیم در شرایط آزمایشگاه و گلخانه در گیاه خیار در برهمکنش با بیمارگر مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که علاوه‌بر خاصیت ضد قارچی و بهبود شاخص‌های فیزیولوژیکی خیار باعث افزایش محتوای آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز، فنل و

پرتقال شدند (Gholamnezhad et al., 2019).

علی‌رغم اینکه سازوکار دقیق ضد میکروبی عصاره‌های گیاهی هنوز به‌طور کامل شناخته نشده است، ولی چندین سازوکار ضدقارچی برای آن‌ها پیشنهاد شده است. تجمع عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی در سلول منجر به بیان برخی از ژن‌های دفاعی در گیاه شده، عصاره‌ها روی نفوذپذیری غشاء سلولی قارچ‌ها تأثیر داشته و با ایجاد اختلال در سلولی و تغییر در شکل غشاء و ریخت‌شناسی قارچ‌های بیمارگر گیاهی موجب نشت محتویات درون سلول به بیرون سلول و مرگ آن‌ها می‌شوند. فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز، پلی فنل اکسیداز، کاتالاز، فنیل آلانیل آمونیا لایاز در گیاهان گوجه‌فرنگی آلوده بلایت زودرس و تیمار شده با آویشن در این تحقیق افزایش بیان نشان داد، درحالی‌که در گیاهان کنترل مثبت بیان این ژن‌ها در حضور بیمارگر سرکوب شد. بنابراین بیان ژن‌های دفاعی نیز به‌صورت غیرمستقیم تحمل گیاه در برابر قارچ را بیشتر می‌کنند (Pusztahelyi et al., 2007). فعال شدن این ژن‌ها منجر به تغییرات فیزیکی و بیوشیمیایی در سلول‌های گیاهی می‌شود و در نهایت تغییرات فیزیولوژیکی در گیاه، محیط گیاه میزبان را برای استقرار و گسترش قارچ بیمارگر نامطلوب می‌نماید (Pusztahelyi et al., 2007). پراکسیدازها همچنین در بیان پروتئین‌های مرتبط با بیماری‌زایی یا پروتئین‌های گروه PR نقش مهمی دارند. بیان ژن‌های گروه PR در تولید کیتینازها، پلی-ساکاریدهای دیواره سلولی، افزایش ضخامت دیواره سلولی، محدودیت منافذ سلولی و در نهایت القاء واکنش‌های دفاعی سیستمیک یا SAR نقش مهمی دارند (Shalaby & Horwitz, 2015). کیتینازها با تجزیه پلی‌ساکاریدهای دیواره قارچ‌ها تولید فرآورده‌های کیتینی می‌

کنند. فرآورده‌های کیتینی به‌عنوان الیستورهای قارچی عمل کرده و منجر به به ایجاد واکنش فوق حساسیت (HR) یا القاء SAR در گیاهان می‌شود (Ferreira et al., 2007). پراکسیدازها همچنین با رسوب ترکیبات فنلی در دیواره سلول‌های گیاهی در طول پاسخ‌های دفاعی با القاء تشکیل موانع ساختاری از قبیل افزایش سنتز دیواره سلولی و رسوب ترکیبات مختلف در دیواره سلولی از گسترش قارچ در گیاه ممانعت می‌کنند. ترکیبات فنلی القاء‌شده نیز منجر به الیگومریزاسیون لیگنین و سوبرین شده و علاوه‌بر این مواد فنولی به‌صورت مستقیم بر روی قارچ‌ها خاصیت ضد میکروبی نشان می‌دهند (Pusztahelyi et al., 2007). افزایش بیان پراکسیدازها، پلی فنل اکسیدازها و آسکوربات پراکسیدازها نشان‌دهنده تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن علیه بیمارگرهای قارچی است که به‌صورت مستقیم و غیرمستقیم روی قارچ‌های بیمارگر تأثیر می‌گذارند (Shalaby & Horwitz, 2015).

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج تحقیق حاضر این‌چنین نتیجه‌گیری می‌شود که عصاره آویشن مورد مطالعه در این تحقیق به‌خصوص به‌صورت مستقیم و غیرمستقیم تأثیر قابل توجهی در مهار و کاهش شدت بیماری ناشی از بلایت زودرس در گوجه‌فرنگی رقم ۴۱۲۹ در غلظت‌های بالای این عصاره دارد. بنابراین استفاده از عصاره آویشن یکی از راهکارهای کاهش خسارت در مدیریت بلایت زودرس گوجه‌فرنگی در کنترل تلفیقی این بیمارگر می‌تواند مطرح باشد.

منابع

1. Abd-Ellatif, S., Ibrahim, A.A., Safhi, F.A., Abdel Razik, E.S., Kabeil, S.S., Aloufi, S., & Elshafie, H.S. (2022). Green synthesized of *Thymus vulgaris* chitosan nanoparticles induce relative WRKY-genes expression in *Solanum lycopersicum* against *Fusarium solani*, the causal agent of root rot disease. *Plants*, 11(22), 3129. <https://doi.org/10.3390/plants11223129>
2. Abu-Bader, S.H. (2021). Using Statistical Methods in Social Science Research: With a complete SPSS Guide. Oxford University Press, USA.
3. Abdelgawad, Z.A., Mohamed, T.R., Afiah, S., & Al-Agwany, H. (2015). Effect of drought and salt stress on growth, osmolytes, protein, and isozymes in *Vicia faba* L. genotypes. *Egyptian Journal of Agronomy*, 37, 93-119. <https://doi.org/10.21608/agro.2015.67>
4. Aghazadeh Naeini, S.S., Maleki, M., Gholamnezhad, J., & Shirmardi, M. (2022). Evaluation of the effect of some plant extracts in controlling *Rhizoctonia* rot in the greenhouse cucumber. *BioControl in Plant Protection*, 9(2), 87-113. [HTTP//DOI.ORG/10.22092/BCPP.2022.128595](http://doi.org/10.22092/BCPP.2022.128595).
5. Ahmed, M., Sajid, A. R., Javeed, A., Aslam, M., Ahsan, T., Hussain, D., & Ji, M. (2022). Antioxidant, antifungal, and aphicidal activity of the triterpenoids spinasterol and 22, 23-dihydrospinasterol from leaves of *Citrullus colocynthis* L. *Scientific Reports*, 12(1), 4910. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-08999-z>.
6. Aksit, H., Bayar, Y., Simsek, S., & Ulutas, Y. (2022). Chemical composition and antifungal activities of the essential oils of thymus species (*Thymus pectinatus*, *Thymus convolutus*, *Thymus vulgaris*) against plant pathogens. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 25(1), 200-207. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2022.2043189>.
7. Amini, J., Farhang, V., Javadi, T., & Nazemi, J. (2018). Antifungal effect of plant essential oils on controlling *Phytophthora* species. *The Plant Pathology Journal*, 32(1), 16. <https://doi.org/10.5423/ppj.oa.05.2015.0091>

8. Amini, M., Safaie, N., Salmani, M. J., & Shams-Bakhsh, M. (2012). Antifungal activity of three medicinal plant essential oils against some phytopathogenic fungi. *Trakia Journal Sciences*, 10(1), 1-8.
9. Al-Rahmah, A. N., Mostafa, A. A., Abdel-Megeed, A., Yakout, S. M., & Hussein, S. A. (2013). Fungicidal activities of certain methanolic plant extracts against tomato phytopathogenic fungi. *African Journal of Microbiology Research*, 7(6), 517-524. <https://doi.org/10.5897/AJMR12.1902>.
10. Ashrafi, A., Salehzadeh, M., & Khezzinezhad, N. (2020). Detection and identification of tomato wilt disease in East Azerbaijan province and controlling it using antagonist bacteria. *Genetic Engineering and Biosafety Journal*, 9(1), 28-39. <http://dorl.net/dor/20.1001.1.25885073.1399.9.1.2.5>.
11. Bahraminejad, S., Seifolahpour, B., & Amiri, R. (2016). Antifungal effects of some medicinal and aromatic plant essential oils against *Alternaria solani*. *Journal of Crop Protection*, 5(4), 603-616. <http://dorl.net/dor/20.1001.1.22519041.2016.5.4.14.9>.
12. Balkan, B., Balkan, S., Aydoğdu, H., Güler, N., Ersoy, H., & Aşkın, B. (2017). Evaluation of antioxidant activities and antifungal activity of different plants species against pink mold rot-causing *Trichothecium roseum*. *Arabian Journal for Science and Engineering*, 42(6), 2279-2289. <https://doi.org/10.1007/s13369-017-2484-4>.
13. Campolo, O., Giunti, G., Russo, A., Palmeri, V., & Zappalà, L. (2018). Essential oils in stored product insect pest control. *Journal of Food Quality*, 2018, 1-18. <https://doi.org/10.1155/2018/6906105>.
14. Chance, B., & Maehly, A. C. (1955). Assay of catalases and peroxidases. *Methodes in Enzymology*, 2 (1), 764-765. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(55\)02300-8](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(55)02300-8).
15. Danaei, M., Baghizadeh, A., Pourseyedi, S., Amini, J., & Yaghoobi, M. M. (2014). Biological control of plant fungal diseases using volatile substances of *Streptomyces griseus*. *European Journal of Experimental Bioqyl*, 4(1), 334-339.
16. Doehlemann, G., Ökmen, B., Zhu, W., & Sharon, A. (2017). Plant pathogenic fungi. *Microbiology Spectrum*, 5(1), 5-1. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.funk-0023-2016>.
17. Dev, U., Devakumar, C., Mohan, J., & Agarwal, P. C. (2004). Antifungal activity of aroma chemicals against seed-borne fungi. *Journal of essential oil Research*, 16(5), 496-499. <https://doi.org/10.1080/10412905.2004.9698780>.
18. Driscoll, W. C. (1996). Robustness of the ANOVA and Tukey-Kramer statistical tests. *Computers and Industrial Engineering*, 31(1-2), 265-268. [https://doi.org/10.1016/0360-8352\(96\)00127-1](https://doi.org/10.1016/0360-8352(96)00127-1).
19. Farashah, S. D., & Salehzadeh, M. (2023). Effect of antagonistic bacterial agents isolated from the pistachio orchards on *Aspergillus flavus*. *Journal of Microbial World*, 16(2), 143-155. <https://doi.org/10.30495/jmw.2023.1968442.2038>.
20. Fatemi, M., Azadi, H., Rafiaani, P., Taheri, F., Dubois, T., Van Passel, S., & Witlox, F. (2018). Effects of supply chain management on tomato export in Iran: Application of structural equation modeling. *Journal of Food Products Marketing*, 24(2), 177-195. <https://doi.org/10.1080/10454446.2017.1266552>.
21. Ferreira, R. B., Monteiro, S. A. R. A., Freitas, R., Santos, C. N., Chen, Z., Batista, L. M., Duarte, j., Borges, A., & Teixeira, A. R. (2007). The role of plant defence proteins in fungal pathogenesis. *Molecular Plant Pathology*, 8(5), 677-700. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2007.00419.x>.
22. Ferrigo, D., Mondin, M., Ladurner, E., Fiorentini, F., Causin, R., & Raiola, A. (2020). Effect of seed biopriming with *Trichoderma harzianum* strain INAT11 on *Fusarium* ear rot and *Gibberella* ear rot diseases. *Biological Control*, 147, 104286. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2020.104286>.
23. Fravel, D. R. (2005). Commercialization and implementation of biocontrol. *Annual Review of Phytopathology Journal*, 43(1), 337-359. <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.43.032904.092924>.
24. Gandomi, H., Misaghi, A., Basti, A. A., Bokaei, S., Khosravi, A., Abbasifar, A., & Javan, A. J. (2009). Effect of *Zataria multiflora* Boiss. essential oil on growth and aflatoxin formation by *Aspergillus flavus* in culture media and cheese. *Food and chemical toxicology*, 47(10), 2397-2400. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2009.05.024>.
25. Gholamnezhad, J., Arsalani, S., & Maleki, M. (2019). The investigation of the effect of garlic and thyme extracts on orange green mold (*Penicillium digitatum*), defense enzymes and genes expression. *Plant Protection (Scientific Journal of Agriculture)*, 42(1), 91-118. <https://doi.org/10.22055/ppr.2019.14495>.
26. Gupta, P., Gupta, H., Tripathi, S., & Poluri, K. M. (2023). Biochemical and metabolomic insights into antifungal mechanism of berberine against *Candida glabrata*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 107(19), 6085-6102. <https://doi.org/10.1007/s00253-023-12714-x>.
27. Haghpanah, M., Najafi-Zarini, H., & Babaeian-Jelodar, N. (2023). Differential physiological and molecular responses of susceptible and resistant tomato genotypes to *Alternaria solani* infection. *Journal of Crop Protection*, 12(3), 227-240. <http://dorl.net/dor/20.1001.1.22519041.2023.12.3.1.3>.
28. Hemeda, H. M., & Klein, B. P. (1990). Effects of naturally occurring antioxidants on peroxidase activity of vegetable extracts. *Journal of Food Science*, 55(1), 184-185. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1990.tb06048.x>.
29. He, Y., Yan, H., Hua, W., Huang, Y., & Wang, Z. (2016). Selection and validation of reference genes for quantitative real-time PCR in *Gentiana macrophylla*. *Frontiers in Plant Science*, 7, 945. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00945>.

30. Hong, J. K., Jo, Y. S., Ryoo, D. H., Jung, J. H., Kwon, H. J., Lee, Y. H., & Park, C. J. (2018). *Alternaria* spots in tomato leaves differently delayed by four plant essential oil vapours. *Research in Plant Disease*, 24(24), 292-301. <https://doi.org/10.5423/RPD.2018.24.4.292>
31. Iraj, A., Yazdanpanah, S., Alizadeh, F., Mirzamohammadi, S., Ghasemi, Y., Pakshir, K., & Zomorodian, K. (2020). Screening the antifungal activities of monoterpenes and their isomers against *Candida* species. *Journal of Applied Microbiology*, 129(6), 1541-1551. <https://doi.org/10.1111/jam.14740>.
32. Ji Cho, H., Hong, S. W., Kim, H. J., & Kwak, Y. S. (2016). Development of a multiplex PCR method to detect fungal pathogens for quarantine on exported cacti. *The Plant Pathology Journal*, 32(1), 53. <https://doi.org/10.5423%2FPPJ.NT.09.2015.0184>.
33. Jia, J., Ford, E., Hobbs, S. M., Baird, S. M., & Lu, S. E. (2022). Occidiofungin is the key metabolite for antifungal activity of the endophytic bacterium *Burkholderia* sp. MS455 against *Aspergillus flavus*. *Phytopathology*, 112(3), 481-491. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-06-21-0225-R>
34. Karimi, S., Gholamnezhad, J., & Maleki, M. (2020). Control of *Aspergillus* and related aflatoxin production by using different plant extracts. *BioControl in Plant Protection*, 8(1), 117-136. <https://doi.org/10.22092/bcpp.2020.124008>.
35. Kamangar, H., Hemmati, R., Yazdinejad, A., & Movahedi Fazel, M. (2014). Study on antifungal effects of five plant species extract against *Fusarium solani* and *Rhizoctonia solani* on bean. *Iranian Journal of Plant Protection Science*, 45(1), 49-58. <https://doi.org/10.22059/ijpps.2014.52246>.
36. Kasahara, K., Miyamoto, T., Fujimoto, T., Oguri, H., Tokiwano, T., Oikawa, H., & Fujii, I. (2010). Solanapyrone synthase, a possible Diels-Alderase and iterative type I polyketide synthase encoded in a biosynthetic gene cluster from *Alternaria solani*. *ChemBioChem*, 11(9), 1245-1252. <https://doi.org/10.1002/cbic.201000173>.
37. Kumar, V., Halder, S., Pandey, K. K., Singh, R. P., Singh, A. K., & Singh, P. C. (2008). Cultural, morphological, pathogenic and molecular variability amongst tomato isolates of *Alternaria solani* in India. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 24, 1003-1009. <https://doi.org/10.1007/s11274-007-9568-3>.
38. Lichtenthaler, H. K., & Wellburn, A. R. (1983). Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. *Biological Society Transaction*, 11 (5), 591-592. <https://doi.org/10.1042/bst0110591>.
39. Liu, W., Liu, K., Chen, D., Zhang, Z., Li, B., El-Mogy, M. M., & Chen, T. (2022). *Solanum lycopersicum*, a model plant for the studies in developmental biology, stress biology and food science. *Foods*, 11(16), 2402. <https://doi.org/10.3390/foods11162402>.
40. Lotfi, A., Kottb, M., Elsayed, A., & Shafik, H. (2021). Antifungal activity of some Mediterranean seaweed against *Macrophomina phaseolina* and *Fusarium oxysporum* in vitro. *Alfarama Journal of Basic and Applied Sciences*, 2(1), 81-96. <https://doi.org/10.21608/ajbas.2020.41969.1031>.
41. Mahmoudi, E., Ahmadi, A., & Naderi, D. (2012). Effect of *Zataria multiflora* essential oil on *Alternaria alternata* in vitro and in an assay on tomato fruits. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 119, 53-58. <https://doi.org/10.1007/BF03356420>.
42. Meena, B. R., Meena, S., Chittora, D., & Sharma, K. (2021). Antifungal efficacy of *Thevetia peruviana* leaf extract against *Alternaria solani* and characterization of novel inhibitory compounds by Gas Chromatography-Mass Spectrometry analysis. *Biochemistry and Biophysics Reports*, 25, 100914. <https://doi.org/10.1016/j.bbrep.2021.100914>.
43. Moghaddam, M., & Mehdizadeh, L. (2020). Chemical composition and antifungal activity of essential oil of *Thymus vulgaris* grown in Iran against some plant pathogenic fungi. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 23(5), 1072-1083. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2020.1843547>.
44. Nejhad, A. A., Behbahani, B. A., Hojjati, M., Vasiee, A., & Mehrnia, M. A. (2024). Investigation of the inhibitory, fungicidal and interactive effects of the aqueous extract of *Calotropis procera* on *Alternaria alternata*, *Alternaria solani*, *Saccharomyces cerevisiae*, and *Fusarium solani* "in vitro". *Journal of Food Science and Technology* (2008-8787), 20(143).
45. Narware, J., Singh, S. P., Manzar, N., & Kashyap, A. S. (2023). Biogenic synthesis, characterization, and evaluation of synthesized nanoparticles against the pathogenic fungus *Alternaria solani*. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1159251. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1159251>.
46. Nateqi, M., & Mirghazanfari, S. M. (2018). Determination of total phenolic content, antioxidant activity and antifungal effects of *Thymus vulgaris*, *Trachyspermum ammi* and *Trigonella foenum-graecum* extracts on growth of *Fusarium solani*. *Cellular and Molecular Biology*, 64(14), 39-46. <https://doi.org/10.14715/cmb/2018.64.14.7>.
47. Pusztahelyi, T., Holb, I. J., & Pócsi, I. (2015). Secondary metabolites in fungus-plant interactions. *Frontiers in plant Science*, 6, 573. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00573>.
48. Rana, K. M., Maowa, J., Alam, A., Dey, S., Hosen, A., Hasan, I., & Kawsar, S. M. (2021). In silico DFT study, molecular docking, and ADMET predictions of cytidine analogs with antimicrobial and anticancer properties. *In Silico Pharmacology*, 9, 1-24. <https://doi.org/10.1007/s40203-021-00102-0>.
49. Rehmany, A. P., Grenville, L. J., Gunn, N. D., Allen, R. L., Paniwnyk, Z., Byrne, J., & Beynon, J. L. (2003). A

- genetic interval and physical contig spanning the *Peronospora parasitica* (At) avirulence gene locus ATR1Nd. *Fungal Genetics and Biology*, 38(1), 33-42. [https://doi.org/10.1016/S1087-1845\(02\)00515-7](https://doi.org/10.1016/S1087-1845(02)00515-7).
50. Ribera, A. E., & Zúñiga, G. (2012). Induced plant secondary metabolites for phytopathogenic fungi control: A review. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 12(4), 893-911. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-95162012005000040>.
51. Rigotti, S., Viret, O., & Gindrat, D. (2003). Fungi from symptomless strawberry plants in Switzerland. *Phytopathologia Mediterranea*, 42(1), 85-88.
52. Sajjadi, S. A., & Assemi, H. (2014). Study of antifungal activity of plant extracts of catmint, tobacco and thyme on tobacco pathogens fungal. *Biological Control of Pests and Plant Diseases*, 3(1), 41-52.
53. Sánchez-Gómez, T., Santamaría, Ó., Martín-García, J., & Poveda, J. (2024). Seed extracts as an effective strategy in the control of plant pathogens: Scalable industry bioactive compounds for sustainable agriculture. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 103332. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2024.103332>.
54. Sareena, S., Poovannan, K., Kumar, K. K., Raja, J. A. J., Samiyappan, R., Sudhakar, D., & Balasubramanian, P. (2006). Biochemical responses in transgenic rice plants expressing a defence gene deployed against the sheath blight pathogen, *Rhizoctonia solani*. *Current Science*, 91 (11), 1529-1532.
55. Sepehrvand, A., Ezatpour, B., Tarkhan, F., Bahmani, M., Khonsari, A., & Rafieian-Kopaei, M. (2017). Phytotherapy in fungi and fungal disease: A review of effective medicinal plants on important fungal strains and diseases. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 8(11), 4473-4495. [https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.8\(11\).4473-95](https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.8(11).4473-95).
56. Serag, A., Salem, M. A., Gong, S., Wu, J. L., & Farag, M. A. (2023). Decoding metabolic reprogramming in plants under pathogen attacks, a comprehensive review of emerging metabolomics technologies to maximize their applications. *Metabolites*, 13(3), 424. <https://doi.org/10.3390/metabo13030424>.
57. Shahriari, D., Alibeyk Tehrani, N., & Maleki, M. (2017). The inhibitory effect of *Thymus vulqaris* and *Carum copticum* essential oil on the growth of *Rhizoctonia solani*, the causal agent of potato stem canker *in vitro* and greenhouse conditions. *Applied Plant Protection*, 6(2), 97-107.
58. Shalaby, S., & Horwitz, B. A. (2015). Plant phenolic compounds and oxidative stress: Integrated signals in fungal-plant interactions. *Current genetics*, 61, 347-357. <https://doi.org/10.1007/s00294-014-0458-6>.
59. Soltani, J., & Moghaddam, M. S. H. (2014). Diverse and bioactive endophytic Aspergilli inhabit *Cupressaceae* plant family. *Archives of Microbiology*, 196, 635-644. <https://doi.org/10.1007/s00203-014-0997-8>.
60. Stepanova, M., & Korzhikova-Vlakh, E. (2022). Modification of cellulose micro-and nanomaterials to improve properties of aliphatic polyesters/cellulose composites: A review. *Polymers*, 14(7), 1477. <https://doi.org/10.3390/polym14071477>.
61. Sudhakar, N., Nagendra-Prasad, D., Mohan, N., & Murugesan, K. (2007). Induction of systemic resistance in *Lycopersicon esculentum* cv. PKM1 (tomato) against cucumber mosaic virus by using ozone. *Journal of Virological Methods*, 139(1), 71-77. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2006.09.013>.
62. Tamura, K., Dudley, J., Nei, M., & Kumar, S. (2007). MEGA4: Molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 4.0. *Molecular Biology and Evolution*, 24(8), 1596-1599. <https://doi.org/10.1093/molbev/msm092>.
63. Verma, P. K., Verma, S., Pandey, N., & Chakrabarty, D. (2021). Antimicrobial products from plant biodiversity. *Bioprospecting of Plant Biodiversity for Industrial Molecules*, 8 (1). 153-173. <https://doi.org/10.1002/9781119718017.ch8>.
64. Younesi, S., Salehzadeh, M., & Soleymani Pari, M. J. (2023). Control of strawberry gray mold fungus with combined application of different species of *Trichoderma* and salicylic acid. *Journal of Microbial World*, 16(1), 88-72.