



The effect of savory oil on green mold disease of edible mushrooms (*Agaricus bisporus*) and increasing its yield and some quality characteristics

Mozhdeh Dousti¹ , Mona Kavooosi² , Azad Omrany Sabaghi³ , Mohammad Saeed Movahedi⁴ , Fahimeh Salehi⁵ , Morteza Rajabi⁶ , Milad Bagri⁷ , Shayan Mohammadi⁸ , Masoud Ahmadzadeh⁹ 

1. Department of Research and Development, Razh Fadak Mehrshahr Company, Karaj, Iran. E-mail: mozhdehdousti100@gmail.com
2. Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran, Tehran, Iran. E-mail: mona.kavos.si@gmail.com
3. Department of Research and Development, Middle East Fruit Science Company, Karaj, Iran. E-mail: omrany_azad@yahoo.com
4. Department of Research and Development, Razh Fadak Mehrshahr Company, Karaj, Iran. E-mail: Msmoamsn@gmail.com
5. Department of Research and Development, Middle East Fruit Science Company, Karaj, Iran. E-mail: fahime.salehi@alumni.znu.ac.ir
6. Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran. E-mail: m.rajabidarbandiolia@modares.ac.ir
7. Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran. E-mail: milad.milad@modares.ac.ir
8. Department of Food Sciences and Engineering, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Iran. E-mail: shayanmohamadi310@gmail.com
9. Corresponding Author, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran, Tehran, Iran. E-mail: ahmadz@ut.ac.ir

Article Info

ABSTRACT

Article type:

Research Article

Article history:

Received: 22 December 2025

Revised: 28 December 2025

Accepted: 30 December 2025

Published online: Autumn and Winter 2025

Keywords:

Green mold,
Savory essential oil,
Antifungal activity,
Button mushroom (Agaricus bisporus)

The button mushroom (*Agaricus bisporus*) is regarded as one of the most important protein-rich agricultural products and serves as a valuable source of essential amino acids, vitamins, and minerals. One of the major challenges in mushroom cultivation is the occurrence of green mold, which can cause substantial economic losses. Continuous application of chemical fungicides not only contributes to environmental contamination and poses risks to human health, but also leads to the development of resistance in pathogenic strains, thereby complicating disease management. In this study, the antifungal activity of savory oil, produced by the Danesh-Miveh Company, was evaluated against green mold of button mushroom under both laboratory and cultivation-room conditions. In addition, the effects of this compound on mushroom growth parameters, including yield, weight loss percentage, and firmness, were assessed. The results indicated that the concentration of 2000 ppm of savory oil exhibited the highest inhibitory effect on mold growth. The MIC and MFC values for this compound were determined to be 2000 ppm, while the EC₅₀ value was 1000 ppm. Moreover, bactericidal activity against *Bacillus velezensis* UTB96 was also observed at 2000 ppm. According to the findings, this compound did not exert any negative impact on mushroom performance. Therefore, savory oil can be considered an effective biological alternative to chemical pesticides for controlling green mold in mushroom cultivation, while also helping prevent environmental hazards and risks associated with human health.

Cite this article: Dousti, M., Kavooosi, M., Omrany, A., Movahedi, M.S., Salehi, F., Rajabi, M., Bagri, M., Mohammadi, S. & Ahmadzadeh, M. (2025). The effect of savory oil on controlling green mold disease of edible mushrooms (*Agaricus bisporus*) and increasing its yield and some quality characteristics. *Iranian Journal of Plant Protection Science*, 56 (2), 363-379. DOI: <https://doi.org/10.22059/ijpps.2026.410315.1007112>.



© The Author(s).

DOI: <https://doi.org/10.22059/ijpps.2026.410315.1007112>

Publisher: The University of Tehran Press.

Extended Abstract

Introduction

The button mushroom (*Agaricus bisporus*) is one of the most widely cultivated edible mushrooms worldwide and represents an important source of high-quality proteins, vitamins, and minerals. However, its commercial production is severely threatened by green mold disease, primarily caused by *Trichoderma* spp., which can lead to significant yield losses. The extensive use of chemical fungicides for disease control has raised serious concerns regarding environmental contamination, human health risks, and the emergence of resistant pathogen strains. Therefore, there is an increasing demand for safe, eco-friendly, and effective alternatives. Plant essential oils, particularly savory oil, have attracted attention due to their strong antimicrobial and antifungal properties. The present study aimed to evaluate the effectiveness of savory oil in controlling green mold disease of button mushroom and to investigate its effects on yield and selected quality characteristics under laboratory and cultivation-room conditions.

Materials and Methods

The antifungal activity of savory oil was evaluated against the causal agent of green mold using a plate assay method on potato dextrose agar (PDA). Different concentrations of savory oil (500, 700, 1000, 2000, and 3000 ppm) were incorporated into the culture medium, and mycelial growth inhibition was recorded. Minimum inhibitory concentration (MIC), minimum fungicidal concentration (MFC), and EC₅₀ values were determined. In cultivation-room experiments, the effects of savory oil treatments on mushroom yield, weight loss percentage, and firmness were assessed using a completely randomized design with multiple treatments and replications. In addition, the antibacterial activity of savory oil against *Bacillus velezensis* UTB96 was evaluated.

Results

The results demonstrated that savory oil exhibited strong antifungal activity against the green mold pathogen. The highest inhibitory effect on mycelial growth was observed at a concentration of 2000 ppm. The MIC and MFC values were both determined to be 2000 ppm, while the EC₅₀ value was estimated at 1000 ppm. Moreover, savory oil showed bactericidal activity against *Bacillus velezensis* UTB96 at 2000 ppm. Cultivation-room experiments indicated that application of savory oil did not negatively affect mushroom yield, weight loss, or firmness, confirming its compatibility with mushroom production.

Discussion

The strong antifungal performance of savory oil can be attributed to its bioactive compounds, particularly phenolic terpenoids, which are known to disrupt fungal cell membranes and interfere with essential metabolic pathways. The results obtained in this study are consistent with previous reports highlighting the antifungal potential of *Satureja hortensis* essential oil against various plant pathogenic fungi. Importantly, the absence of adverse effects on mushroom growth and quality parameters suggests that savory oil can be safely applied in commercial mushroom cultivation systems.

Conclusion

Overall, savory oil proved to be an effective and environmentally friendly alternative to chemical fungicides for controlling green mold disease in button mushroom cultivation. Its strong antifungal activity, combined with the lack of negative effects on yield and quality characteristics, highlights its potential for sustainable disease management in the mushroom industry. The use of savory oil could contribute to reducing chemical inputs, minimizing environmental risks, and improving food safety.

Author contribution

All authors contributed equally to the conceptualization of the article and writing of the original and subsequent drafts.

Data availability

The data will be made available on request.

Acknowledgement

This research was financially supported by the University College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran. We thank University of Tehran for providing research facility and support.

Conflict of interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.



اثر روغن مرزه بر کنترل بیماری کپک سبز قارچ خوراکی (*Agaricus bisporus*) و افزایش عملکرد و برخی خصوصیات کیفی آن

مژده دوستی^۱ | مونا کاوسی^۲ | آزاد عمرانی صباغی^۳ | محمد سعید موحدی^۴ | فهیمه صالحی^۵ | مرتضی رجبی^۶ | میلاد بگری^۷ | شایان محمدی^۸ | مسعود احمدزاده^۹

۱. واحد تحقیق و توسعه شرکت راز فدک مهرشهر، کرج، ایران. رایانامه: mozhdehdoosti100@gmail.com
۲. گروه حشره‌شناسی و بیماری‌های گیاهی، دانشکده فناوری کشاورزی، دانشکدگان کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، ایران. رایانامه: mona.kavos.si@gmail.com
۳. واحد تحقیق و توسعه شرکت دانش میوه خاورمیانه، کرج، ایران. رایانامه: omrany_azad@yahoo.com
- ۴- واحد تحقیق و توسعه شرکت راز فدک مهرشهر، کرج، ایران. رایانامه: Msmamsm@gmail.com
۵. واحد تحقیق و توسعه شرکت دانش میوه خاورمیانه، کرج، ایران. رایانامه: fahime.salehi@alumni.znu.ac.ir
۶. دانش‌آموخته دوره کارشناسی ارشد دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران. رایانامه: m.rajabidarbandiolia@modares.ac.ir
۷. دانش‌آموخته دوره کارشناسی ارشد دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران. رایانامه: milad.milad@modares.ac.ir
۸. دانش‌آموخته دوره کارشناسی ارشد علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم تحقیقات، تهران، ایران. رایانامه: shayanmohamadi310@gmail.com
۹. نویسنده مسئول، گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشکدگان کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران. ایران. رایانامه: ahmadz@ut.ac.ir

چکیده

اطلاعات مقاله

قارچ خوراکی دکمه‌ای (*Agaricus bisporus*) یکی از محصولات مهم پروتئینی و منبع عالی برای بعضی از اسیدهای آمینه، ویتامین‌ها و مواد معدنی هستند. کپک سبز قارچ خوراکی یکی از مشکلات رایج در صنعت پرورش قارچ است که خسارات قابل توجهی به محصولات وارد می‌کند. استفاده مکرر از سموم شیمیایی علاوه بر ایجاد آلودگی محیط زیست و تهدید سلامت انسان، باعث ایجاد مقاومت در سوبه‌های بیمارزا شده است که کنترل این بیماری را دشوار می‌کند. در این پژوهش، فعالیت ضدقارچی روغن مرزه تولید شده توسط شرکت دانش میوه بر بیماری کپک سبز قارچ خوراکی در شرایط آزمایشگاه و سالن مورد بررسی قرار گرفت. همچنین اثر این ماده بر شاخص‌های رشدی قارچ خوراکی اعم از عملکرد، درصد کاهش وزن و سفتی مورد بررسی قرار گرفت. یافته‌ها نشان داد که غلظت ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام روغن مرزه بیشترین میزان ممانعت از رشد کپک را به همراه داشت. MIC و MFC برای روغن مرزه ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام و EC₅₀ برای این ترکیب ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام تعیین شد. علاوه بر آن، اثرات باکتری‌کشی علیه سوبه *Bacillus velezensis* UTB96 نیز در غلظت ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام مشاهده شد. همچنین طبق نتایج، این ترکیب اثر منفی بر عملکرد قارچ خوراکی نداشت. بنابراین، روغن مرزه به عنوان گزینه زیستی مؤثر می‌تواند جایگزین مناسبی برای سموم شیمیایی در کنترل کپک سبز قارچ خوراکی باشد و از پیامدهای زیان‌بار زیست‌محیطی و تهدیدهای مرتبط با سلامت انسان جلوگیری کند.

نوع مقاله:

مقاله پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۱۰/۰۱

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۴/۱۰/۰۷

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۱۰/۰۹

تاریخ انتشار: پاییز و زمستان ۱۴۰۴

کلیدواژه‌ها:

کپک سبز، روغن مرزه، فعالیت ضدقارچی، قارچ خوراکی دکمه‌ای (*Agaricus bisporus*)

استناد: دوستی، مژده؛ کاوسی، مونا؛ عمرانی، آزاد؛ موحدی، محمدسعید؛ صالحی، فهیمه؛ رجبی، مرتضی؛ بگری، میلاد؛ محمدی، شایان و احمدزاده، مسعود (۱۴۰۴). اثر روغن مرزه بر کنترل بیماری کپک سبز قارچ خوراکی (*Agaricus bisporus*) و افزایش عملکرد و برخی خصوصیات کیفی آن. نشریه دانش گیاهپزشکی ایران، ۵۶ (۲)، ۳۶۳-۳۷۹. DOI: <https://doi.org/10.22059/ijpps.2026.410315.1007112>



© نویسندگان

DOI: <https://doi.org/10.22059/ijpps.2026.410315.1007112>

ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

مقدمه

قارچ‌های خوراکی با طعم و بافت منحصر به فرد خود، به عنوان یک منبع غنی از مواد مغذی، هزاران سال است که جایگاهی ویژه در رژیم غذایی انسان دارند (Chatterjee *et al.*, 2017). کشت تجاری قارچ‌ها که پس از جنگ جهانی دوم آغاز شد، به سرعت در سرتاسر جهان گسترش یافت (Singh *et al.*, 2017). کشورهای بزرگی مثل چین، ایالات متحده، لهستان، هلند و هند از جمله تولیدکنندگان اصلی قارچ‌های خوراکی هستند که این صنعت در آن‌ها رونق زیادی دارد (Singh *et al.*, 2021). در این بین، بر اساس آخرین آمار منتشر شده، ایران با تولید حدود ۱۸۰،۰۰۰ تن قارچ خوراکی در سال ۲۰۲۱، رتبه هفتم جهانی را در تولید این محصول به خود اختصاص داده است (FAO, 2021). همچنین حدود ۸۵ درصد از تولید قارچ خوراکی کشور، به قارچ دکمه‌ای سفید با نام علمی *Agaricus bisporus* تعلق دارد. از منظر تغذیه‌ای، قارچ‌ها بسته به نوع خود غنی از پروتئین، ویتامین‌ها و اسیدهای آمینه ضروری هستند و در عین حال چربی و کلسترول کمی دارند که این ویژگی‌ها موجب شده قارچ‌ها نه تنها غذایی لذیذ بلکه مفید برای سلامت انسان باشند (Cruz *et al.*, 2016). در این میان، یکی از تهدیدهای مهم برای مزارع پرورش قارچ‌های خوراکی، به‌ویژه قارچ دکمه‌ای، بیماری ناشی از کپک سبز است که عمدتاً توسط گونه‌های مختلف *Trichoderma* ایجاد می‌شود. این قارچ در مراحل ابتدایی رشد، ریشه‌های سفید و متراکمی تولید می‌کند که پس از ورود به فاز اسپورزایی، به رنگ سبز تیره درآمده و به وضوح در سطح بستر قابل مشاهده می‌باشند (Luković *et al.*, 2021). گسترش سریع گونه‌های *Trichoderma* در کمپوست می‌تواند اختلالاتی در رشد میسلیوم قارچ دکمه‌ای ایجاد کند که در موارد شدید، منجر به کاهش عملکرد بیش از ۶۰ درصد یا حتی نابودی کامل محصول خواهد شد (Kredics *et al.*, 2021). این آلودگی همچنین موجب کاهش کیفیت محصول شده و اندام‌های بارده به طور معمول دارای شکل نامتقارن، رنگ غیرطبیعی و وزن و قطر کمتری نسبت به نمونه‌های سالم خواهند بود (Aydoğdu *et al.*, 2020). عوامل بیماری‌زا از طریق ابزار و تجهیزات آلوده، لباس کارکنان، جریان هوا و حشرات به راحتی منتقل می‌شوند. به همین دلیل، رعایت بهداشت محیط، ضدعفونی مناسب تجهیزات و استفاده از قارچ‌کش‌های مؤثر، از جمله اقدامات ضروری برای پیشگیری و کنترل این بیماری در مزارع پرورش قارچ به‌شمار می‌روند (Kredics *et al.*, 2022). در سال‌های اخیر، نگرانی‌ها نسبت به ایمنی و کیفیت مواد غذایی در دوره نگهداری افزایش یافته است، چرا که فساد میکروبی، به‌ویژه ناشی از قارچ‌ها، سلامت مصرف‌کنندگان و اقتصاد تولیدکنندگان را تهدید می‌کند (Arras & Usai, 2001). استفاده گسترده از نگهدارنده‌ها و قارچ‌کش‌های شیمیایی، به دلیل آثار جانبی آن‌ها بر سلامت انسان و محیط زیست، با تردید مواجه شده و تمایل به بهره‌گیری از جایگزین‌های طبیعی افزایش یافته است (Burt, 2004). افزایش دوره ماندگاری و نگهداری قارچ خوراکی بخصوص از دیدگاه توسعه صادرات به کشورهای همجوار اهمیت زیادی دارد. روش‌های مختلفی برای این امر مهم مورد بررسی قرار گرفته‌اند که اسانس‌های گیاهی یکی از مهمترین آنها به شمار می‌رود (Liufang *et al.*, 2024). در این راستا، اسانس‌های گیاهی به دلیل داشتن ترکیبات آنتی‌اکسیدانی، ضدسرطانی و ضدقارچی توجه زیادی را به خود جلب کرده‌اند (Tajkarimi *et al.*, 2010). روغن مرزه یکی از مهمترین اسانس‌های گیاهی است که از دیدگاه بوم‌شناسی، این گیاه یک‌ساله و بومی نواحی گرم و خشک است و قادر به رشد در مناطق سنگلاخی و کم‌حاصل می‌باشد. ترکیبات زیست فعال اصلی موجود در ترکیب شیمیایی گیاه مرزه که مسئول خواص بیولوژیکی، درمانی و دارویی آن هستند، شامل ترینوئیدها، فنول‌ها و فلاونوئیدها می‌باشند (Fierascu *et al.*, 2018). به این ترتیب، بورتول، کارواکرول، لینالول، تیمول، گاماترپینن و پاراسیمن ترکیبات اصلی جدا شده از اسانس این گیاه هستند (Mihajilov-Krsteve *et al.*, 2009). به طور جزئی‌تر در تفکیک مرزه‌های تابستانه و زمستانه، مرزه تابستانه خشک‌شده حاوی حدود یک درصد روغن فرآر است که عمدتاً از ترکیباتی همچون کارواکرول، تیمول و هیدروکربن‌های مونوترپن مانند بتاپینن، پاراسیمن و لیمونن تشکیل شده است. علاوه بر این، برگ‌های این گیاه حاوی ترکیبات فرعی متعددی از جمله مواد معدنی و ویتامین‌ها می‌باشد. مرزه زمستانی نیز حاوی حدود ۱/۶ درصد روغن فرآر است. برخی از پژوهش‌ها ترکیبات اصلی این روغن را کاربوفیلین و ژرانبول یا کارواکرول ذکر کرده‌اند. ترکیبات متعدد موجود در این روغن در چندین مطالعه مروری به تفصیل بررسی شده‌اند (Tepe, 2016; Hamidpour, 2014). از آنجایی که اسانس این گیاهان شامل مقادیر قابل توجهی از مواد

مؤثره ارزشمندی مانند تیمول و کارواکرول است، در سال‌های اخیر مطالعات گسترده‌ای روی جنبه‌های فیتوشیمیایی همچنین اثرات بیولوژیکی و دارویی این گیاهان از جمله خواص آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی آنها انجام و نتایج جالب توجهی به دست آمده است. این گونه‌ها به دلیل داشتن کارواکرول زیاد در اسانس و اسیدهای فنولی آزاد به ویژه رزمارینیک اسید در روغن از نظر تجاری (کاربردهای دارویی، غذایی، آرایشی، بهداشتی) حائز اهمیت بوده و در سال‌های اخیر در سطح بیش از ۲۰ هکتار به صورت تجاری مورد کشت و کار قرار گرفته‌اند. مرزه از خانواده نعناعیان *Lamiaceae* است و به ویژه به دلیل طعم و عطر قوی، به طور سنتی در نگهداری مواد غذایی و دانه‌ها کاربرد داشته است. (Isman & Passreiter, 2001) روغن مرزه اثرات ضدقارچی خود را بر طیفی از قارچ‌های بیماری‌زای گیاهی نظیر *Rhizoctonia solani*، *Botrytis cinerea* و *Phytophthora capsici* نشان داده است (Bozhüyük et al., 2015). این اسانس به دلیل منشأ طبیعی، زیست‌سازگاری، زیست‌تخریب‌پذیری و ایمنی بالا، گزینه‌ای مناسب برای جایگزینی قارچ‌کش‌های شیمیایی محسوب می‌شود (Burt, 2004). بنابراین، بررسی توانایی روغن مرزه در کنترل قارچ‌های بیماری‌زا چه در زمان رشد بر بستر کشت و چه در دوره پس از برداشت می‌تواند نقش مؤثری در افزایش ماندگاری و سلامت محصولات کشاورزی ایفا کند. این در حالی است که با توجه به استفاده گسترده از قارچ‌کش‌های شیمیایی و نگرانی‌ها نسبت به آثار جانبی آن‌ها بر سلامت انسان و محیط زیست، استفاده از جایگزین‌های طبیعی مانند اسانس‌های گیاهی مورد توجه قرار گرفته است. مطالعات اخیر نشان داده‌اند که قارچ‌کش‌های جدید مانند زداتان ۲۰ که حاوی پریمتانیل و روغن میخک هستند، به دلیل مکانیسم اثر متفاوت و سمیت پایین‌تر، می‌توانند به عنوان جایگزینی برای قارچ‌کش‌های شیمیایی متداول در شرایط مقاومتی گونه‌های *Trichoderma* موثر واقع شوند (Beki et al., 2024). این ویژگی‌ها، به ویژه در کنترل بیماری‌های قارچی چه در دوره رشد بر بستر کشت قارچ خوراکی و چه در دوره پس از برداشت، می‌تواند به افزایش ماندگاری و کیفیت محصولات کشاورزی کمک کند. با توجه به اهمیت قارچ خوراکی دکمه‌ای به لحاظ ارزش غذایی و دارویی و همچنین به دلیل اینکه قارچ بیمارگر کپک سبز به عنوان یکی از مهم‌ترین عوامل محدودکننده تولید قارچ خوراکی دکمه‌ای محسوب می‌شود، لذا در این مطالعه پتانسیل روغن مرزه و زداتان ۲۰ برای کنترل این بیماری در شرایط آزمایشگاه و همچنین پس از برداشت (دمای سه درجه سلسیوس) به منظور بررسی خاصیت قارچ‌کشی مورد ارزیابی قرار گرفت. اهداف این تحقیق عبارتند از: ۱- تعیین خاصیت قارچ‌کشی و غلظت موثر ترکیبات مورد استفاده روی *Trichoderma harzianum* در شرایط آزمایشگاه؛ ۲- تعیین اثر یک فرمولاسیون از روغن مرزه روی کنترل بیماری کپک سبز و ۳- بهبود خصوصیات کمی و کیفی قارچ خوراکی. نوآوری این پژوهش در ارزیابی همزمان اثر ضدقارچی روغن مرزه در شرایط آزمایشگاهی و همچنین، بستر کشت صنعتی قارچ خوراکی، همراه با بررسی اثر آن بر شاخص‌های کمی و کیفی محصول و جمعیت باکتری مفید *Bacillus velezensis* می‌باشد. این مطالعه با تمرکز بر جنبه کاربردی، امکان استفاده عملی از روغن مرزه به عنوان جایگزین زیستی قارچ‌کش‌های شیمیایی را در سیستم‌های پرورش قارچ کشور، پس از انجام آزمایش پایلوت، فراهم می‌سازد.

روش‌شناسی پژوهش

میکروارگانیزم‌ها و ترکیبات ضدقارچی مورد استفاده

جدایه *Trichoderma harzianum* از کلکسیون بخش قارچ‌شناسی شرکت فناوری زیستی طبیعت‌گرا تحت کد PX362677 ثبت شده در NCBI تهیه شد. روغن مرزه مورد استفاده در این تحقیق توسط شرکت دانش میوه خاورمیانه تهیه شده که اجزای موثر آن در ادامه مشخص و معرفی شده است. از قارچ‌کش‌های تجاری موجود در بازار شامل زداتان ۲۰ (حاوی روغن میخک و پریمتانیل) و کاربندازیم به عنوان شاهد مثبت استفاده شده است. باکتری *Bacillus velezensis* UTB96 با کد دسترسی CP036527.1 در NCBI و نام تجاری «پروویو ۹۶» که به عنوان باکتری مفید در بستر کشت قارچ‌های خوراکی استفاده می‌شود، از شرکت بایوران تهیه شد. بیماری‌زایی این قارچ روی کلاهدک قارچ *A. bisporus* به روش (Khabaz, 2002) (Jolfaei et al., 2002) بررسی شد. براساس روش‌های استاندارد، شدت بیماری‌زایی آن ۷۸ درصد تعیین شد. این تحقیق در دو سطح آزمایشگاهی (*in vitro*) و بستر کشت صنعتی قارچ (*in situ*) انجام گرفت.

سنجش^۱ MIC (حداقل غلظت بازدارندگی) و MBC^۲ (حداقل غلظت باکتری کشی) روی *Bacillus velezensis*

برای انجام این آزمایش از آزمون شمارش تعداد پرگنه استفاده شد: برای شروع این آزمون ابتدا باید دو مورد تعیین شود:

(۱) تعیین جمعیت باکتری، (۲) تعیین غلظت روغن در محیط کشت.

برای تعیین جمعیت باکتری از روش Delitto et al., 2011 استفاده شد. به منظور شمارش تعداد کلونی باکتری در محیط Nutrient Broth، کشت ۲۴ ساعته از آن تهیه و سپس غلظت باکتری توسط دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه گیری شد. عدد به دست آمده در OD ۶۰۰:۰/۵ تنظیم شد. برای انجام سری رقت روی باکتری، غلظت‌های مختلف باکتری تهیه شد. هر کدام از غلظت‌های تهیه شده به مقدار مشخصی در تشتک‌های پتری استریل حاوی محیط کشت Nutrient Agar به صورت جداگانه کشت و به مدت ۲۴ ساعت نگهداری، سپس شمارش تعداد کلونی‌ها انجام شد.

تعیین غلظت روغن در محیط کشت

جهت تهیه محیط‌هایی با غلظت‌های ۵۰۰، ۷۰۰، ۱۰۰۰، ۲۰۰۰، ۳۰۰۰ پی‌پی‌ام روغن مرزه در فلاسک‌های جداگانه تهیه شد. تمام محیط‌های تهیه شده، هر کدام به صورت جداگانه با سه تکرار داخل پتری‌دیش‌های استریل توزیع و پس از بسته شدن محیط، باکتری با غلظت تعیین شده روی محیط کشت پخش شد. پس از انکوباسیون ۲۴ ساعته پتری‌ها، با شمارش تعداد کلونی‌های ظاهر شده روی محیط کشت و مقایسه آن با پتری شاهد که فاقد روغن در محیط کشت آن می‌باشد، میزان بازدارندگی هریک از روغن‌ها در غلظت‌های مختلف مشخص شد (Jagessar et al., 2008).

تعیین خصوصیات فیزیکوشیمیایی و اجزای موجود در روغن مرزه بر اساس آزمون‌های GC و GC-MS

پس از تهیه نمونه‌های تکنیکال و ارسال آنها به آزمایشگاه شیمی دانشگاه شهید بهشتی - پژوهشکده گیاهان و مواد اولیه دارویی - ترکیبات موجود در روغن مرزه با استفاده از آزمون‌های GC و GC-MS شناسایی و درصد نسبی آن‌ها تعیین شد. همان‌طور که در جدول زیر مشاهده می‌شود، ترکیب کارواکرول (Carvacrol) با مقدار ۵۰/۳٪ بیشترین سهم را به خود اختصاص داده است. پس از آن، تیمول (Thymol) با ۲۵/۶٪ و (E-Caryophyllene) با ۲۳/۷٪ در رده‌های بعدی قرار دارند. همچنین، مقادیر اندکی از ترکیبات (α-Humulene) ۰/۱۶٪ و (Caryophyllene oxide) ۰/۱۴٪ نیز شناسایی شد. در مجموع، حدود ۹۹/۹٪ از ترکیبات موجود در اسانس شناسایی گردید.

جدول ۱. ترکیبات شناسایی شده در روغن مرزه با استفاده از GC و GC-MS

Table 1: Compounds identified in savory oil using GC and GC-MS

شماره Number	ترکیب Component	درصد (%)
۱	Thymol	۲۵/۶
۲	Carvacrol	۵۰/۳
۳	E-Caryophyllene	۲۳/۷
۴	α-Humulene	۰/۱۶
۵	Caryophyllene oxide	۰/۱۴
	Total identified	۹۹/۹٪

در آزمون‌های انجام شده روی نمونه روغن مرزه در (شرکت رایمون دانا دایان، مرجع مورد تایید سازمان ملی استاندارد ایران)، نتایج نشان داد که ویژگی‌های ظاهری شامل ظاهر، رنگ و بو همگی به صورت مطابق استاندارد ارزیابی شدند؛

به طوری که رنگ نمونه زرد و بدون بو گزارش شد. در بخش آزمون‌های کمی، وزن مخصوص نمونه با روش SOP-RDD-544 اندازه‌گیری شد و مقدار آن ۰.۸۵۴ به دست آمد که دقیقاً برابر با حد استاندارد تعیین شده است. عدد اسیدی نیز بر اساس روش SOP-RDD-500 مقدار ۰.۰۳ میلی‌گرم KOH بر گرم گزارش شد که در بازه قابل قبول استاندارد قرار دارد. همچنین نقطه اشتعال نمونه طبق روش SOP-RDD-546 برابر ۷۲ درجه سلسیوس اندازه‌گیری شد که مطابق با مقدار مرجع است. در نهایت، گرانیروی (ویسکوزیته) نمونه با روش SOP-RDD-901 مقدار ۶ سانتی‌استوکس را نشان داد. با توجه به نتایج به عمل آمده، تمامی آزمون‌ها در محدوده استاندارد قرار داشته و نمونه از نظر کیفی مورد تأیید است.

بررسی‌های آزمایشگاهی (Plate assay)

تأثیر روغن مرزه بر رشد عامل بیماری کپک سبز

اندازه‌گیری اثر روغن مرزه و زداتان بر رشد عامل بیماری کپک سبز به روش Tian و همکاران (۲۰۰۱) انجام شد. برای این منظور از روش اختلاط اسانس با محیط کشت^۱ PDA استفاده گردید و غلظت‌های ۳۰۰، ۲۰۰، ۱۰۰، ۷۰، ۵۰ پی‌پی‌ام روغن مرزه و زداتان ۲۰ به محیط کشت اضافه گردید و دیسک‌هایی از قارچ به قطر ۵ میلی‌متر در وسط محیط‌های کشت حاوی غلظت‌های متفاوت قرار داده شد و تشتک‌های پتری در دمای ۲۵ درجه سلسیوس در انکوباتور نگهداری گردید و پس از ۲۴ ساعت، رشد شعاعی میسلیم قارچ روزانه اندازه‌گیری شد تا زمانی که تشتک پتری شاهد توسط قارچ بیمارگر به صورت کامل اشغال شود. این آزمایش در چهار تکرار انجام شد. محیط کشت حاوی محلول توئین ۸۰ (۰/۰۵) درصد به عنوان شاهد در نظر گرفته شد و درصد بازدارندگی رشد از فرمول زیر محاسبه شد (Tian et al., 2001).

$$\text{رابطه ۱)} \quad \text{درصد بازدارندگی} = \frac{\text{قطر پرگنه در نمونه آزمایشی} - \text{قطر پرگنه در شاهد}}{\text{قطر پرگنه در شاهد}} \times 100$$

آزمایش‌های مربوط بستر کشت صنعتی (In situ)

بررسی اثر روغن مرزه و زداتان ۲۰ در شرایط بستر کشت قارچ خوراکی

الف) تأثیر روغن مرزه بر کنترل بیماری کپک سبز

قارچ عامل بیماری کپک سبز ابتدا در دمای ۲۵ تا ۲۸ درجه سلسیوس، که به عنوان بازه بهینه برای رشد رویشی و اسپوردهی آن شناخته می‌شود به مدت ۷ تا ۱۰ روز کشت داده شد تا تولید اسپور به طور کامل صورت گیرد. پس از این مرحله، اسپور قارچ کپک سبز با غلظت 10^6 cfu/ml آماده شد. برای شمارش اسپورها از لام هموسیتمتر استفاده شد و در صورت بالاتر بودن غلظت نسبت به مقدار مورد نظر، سوسپانسیون با آب مقطر استریل رقیق شد؛ در حالی که اگر غلظت پایین‌تر از حد مطلوب بود، با ساترifiوژ کردن در سرعت ۲۰۰۰ دور در دقیقه به مدت دو دقیقه، غلظت به سطح دلخواه رسانده شد. سوسپانسیون حاصل بر سطح خاک پوششی به میزان ۵۰ میلی‌لیتر در مترمربع اعمال گردید. سپس روغن مرزه و زداتان ۲۰ در غلظت‌های مختلف تهیه و برای تیمارها در نظر گرفته شد. در مرحله نخست، قارچ عامل بیماری کپک سبز به خاک مایه‌زنی شد تا فرصت کافی برای استقرار و اسپورزایی داشته باشد. پس از گذشت ۳ تا ۴ روز، اسانس‌ها بر روی تیمارها اعمال شدند. به منظور مقایسه کارایی تیمارها، شاهد‌های مختلف شامل دو شاهد مثبت (قارچ‌کش‌های زداتان و کاربندازیم)، یک شاهد قارچ سالم (بدون تیمار و پاتوژن) در نظر گرفته شد (Abdel-Kader et al., 2011).

ب) تأثیر روغن مرزه بر شاخص‌های عملکرد و خصوصیات ظاهری قارچ خوراکی

کمپوست‌ها با استفاده از میسلیم *A. bisporus* A15 تلقیح شدند و تقریباً ۱۶ روز در مرحله کمپوست‌ران در دمای ۲۴ تا ۲۶ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۶۷٪ سپری کردند. کمپوست‌ها با خاک پوششی به ضخامت حدود ۵ سانتی‌متر خاکدهی شدند و رشد ثانویه میسلیم در روز پانزدهم آغاز شد. اضافه کردن اسانس‌های گیاهی در روز چهارم خاکدهی انجام شد. از آب مقطر استریل به عنوان شاهد استفاده شد. ۱۸ روز پس از خاکدهی، قارچ‌ها قبل از بلوغ کامل یا به اصطلاح رایج، قبل از باز

شدن برداشت شدند و پس از تمیز نمودن، وزن تر قارچ‌ها با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ گرم تعیین و به عنوان عملکرد قارچ ثبت شد. همچنین وزن تر هر نمونه به عنوان وزن اولیه (W_1) ثبت شد. به منظور بررسی کاهش وزن طی نگهداری، نمونه‌ها تحت شرایط استاندارد آزمایشگاهی (دمای محیط و تهویه معمولی) نگهداری شدند. پس از گذشت هفت روز، وزن قارچ‌ها مجدداً اندازه‌گیری و به عنوان وزن ثانویه (W_2) ثبت گردید. درصد کاهش وزن قارچ‌ها با تقسیم اختلاف وزن اولیه و وزن ثانویه بر وزن اولیه و ضرب حاصل در عدد ۱۰۰ محاسبه شد. به منظور اندازه‌گیری اثر زداتان ۲۰ و روغن مرزه بر شاخص‌های رشدی قارچ خوراکی اعم از عملکرد در فلش یک، درصد کاهش وزن و سفتی، آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۶ تیمار (۴ تیمار قارچکش + ۲ تیمار شاهد)، در سه تکرار به اجرا درآمد.

اندازه‌گیری سفتی قارچ: به منظور ارزیابی میزان سفتی بافت قارچ خوراکی *Agaricus bisporus* آزمایش سفتی در شرکت دانش میوه خاورمیانه با استفاده از دستگاه سفتی‌سنج Lutron FR-5120 در سه تکرار انجام شد. برای هر تیمار، دو بسته قارچ برداشت گردید که تلاش شد نمونه‌ها از نظر شکل ظاهری، قطر و طول یکنواخت باشند. اندازه‌گیری سفتی با فشار پروب دستگاه بر روی بافت گوشتی کلاهدک قارچ تا رسیدن به خطوط نشانه انجام گرفت. در این آزمایش، قطر پروب مورد استفاده دستگاه، سرعت نفوذ ۳ میلی‌متر بر ثانیه و عمق نفوذ ۵ میلی‌متر در کلاهدک قارچ در نظر گرفته شد (Kredics et al., 2022).
شاخص کیفیت ظاهری: کیفیت ظاهری بر اساس رنگ، بافت و درصد کلاهدک باز شده بر اساس چهار مقیاس عددی از یک تا چهار تعیین شد. برای این کار قارچ‌های هر بسته به صورت جداگانه بررسی شد، و در آن اعداد یک تا چهار به ترتیب برای قارچ‌های ضعیف، نسبتاً خوب، خوب و عالی اختصاص یافت (Jiang et al., 2011).

تجزیه و تحلیل آماری

برای تجزیه و تحلیل داده‌های به دست آمده از این تحقیق از نرم‌افزار SAS 9.4 استفاده شد. رسم نمودارها با نرم افزار Excel (Office 2016) و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD با سطح احتمال یک درصد صورت گرفت. این طرح در قالب طرح کاملاً تصادفی با شش تیمار و سه تکرار انجام شد. برای حصول اطمینان از نتایج، آزمایش‌های روی بستر کشت، دو بار در شرایط یکسان تکرار شد.

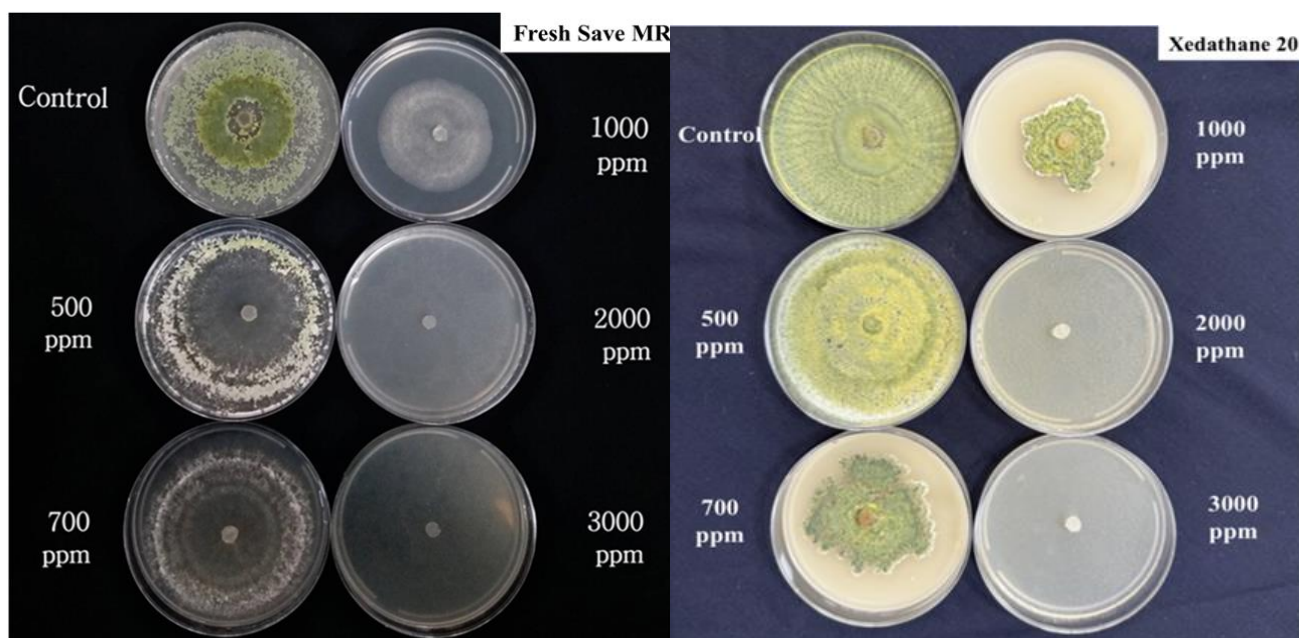
یافته‌های پژوهش

اثر ضدقارچی روغن مرزه و زداتان ۲۰ بر *T. harzianum*

نتایج حاصل از آزمایش‌ها نشان داد که روغن مرزه و زداتان ۲۰ دارای اثر بازدارندگی قابل توجهی بر رشد قارچ عامل بیماری کپک سبز *T. harzianum* هستند. با افزایش غلظت این ترکیبات، درصد بازدارندگی نیز به طور معنی‌داری افزایش یافت. در غلظت ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام، هر دو ترکیب توانستند رشد *T. harzianum* را به طور کامل کنترل کنند و درصد بازدارندگی به ۱۰۰ درصد رسید (شکل ۱). بنابراین، روغن روغن مرزه در این غلظت توانست به طور کامل قارچ عامل بیماری را کنترل نماید. بر اساس نتایج به دست آمده، حداقل غلظت بازدارندگی رشد (MIC) برای هر دو ترکیب برابر با ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام تعیین شد. همچنین، حداقل غلظت کشنده (MFC) آن‌ها معادل ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام و EC_{50} هر دو ترکیب ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام تعیین شد. نتایج بررسی تحقیقات پیشین نشان می‌دهد که روغن‌های گیاهی سینامالدهید در دارچین (Burt, 2004) و کارواکرول در مرزه خوزستانی (Farzaneh et al., 2015) مسئول فعالیت ضدقارچی هستند. در بررسی اثر ضدقارچی اسانس آویشن شیرازی، مرزه و زنیان در کنترل قارچ *Rhizopus stolonifera*، حداقل غلظت بازدارندگی از رشد میسلیم قارچ برای آویشن شیرازی ۵۰۰ میکرولیتر بر لیتر و برای مرزه و زنیان ۳۰۰ میکرولیتر بر لیتر گزارش شد (Behdad et al., 2013). در تحقیق دیگری مسکوکو و همکاران نشان دادند که روغن مرزه می‌تواند از رشد قارچ‌های آلوده‌کننده محصولات غذایی، محصولات باغی و محصولات زراعی جلوگیری کند، همچنین قادر به جایگزینی به جای مواد ضدقارچ شیمیایی کنونی است (Moskoki et al., 2020). در این رابطه، فعالیت ضدقارچی قوی روغن مرزه در مقابل قارچ *Aspergillus flavus* در شرایط درون شیشه‌ای و انباری گزارش شده است (Dikbas et al., 2008). روغن مرزه اثرات ضدقارچی قابل توجهی بر پنج قارچ بیماری‌زای گیاهی شامل

اسانس در دوزهای مختلف باعث بازدارندگی رشد میسلیومی این قارچها شده و بیشترین اثر آن در *R. solani* و *N. oryzae* مشاهده گردید (Bozhüyük et al., 2015).

مطالعه ما نشان داد که روغن مرزه و زداتان ۲۰ در غلظت ۲۰۰۰ پی پی ام، رشد *Trichoderma harzianum* را کاملاً متوقف می کنند. این یافته با نتایج تحقیقاتی چون مطالعه Angelini و همکاران که MIC و MFC روغنهای گیاهی را در مقابله با *T. harzianum* و انواع کپکهای غذایی تعیین کرده اند، همسو است (Angelini, 2006). همچنین در تحقیقی که اثر روغن درخت چای بر *T. harzianum* در شرایط کشت قارچ *Pleurotus* sp. بررسی شده، مقادیر نسبتاً پایین روغن نیز به مهار قابل توجه منجر شده که نشان دهنده پتانسیل بالای روغنها حتی در غلظت های متوسط است (Angelini, 2008). بنابراین مقادیر MIC = 2000 ppm، MFC = 2000 ppm و EC₅₀ = 1000 ppm در پژوهش ما، ضمن مطابقت با روندهای علمی پیشین، نشان دهنده نسبت خوبی از اثربخشی و امکان پذیری کاربرد عملی این ترکیب در کنترل کپک سبز است.



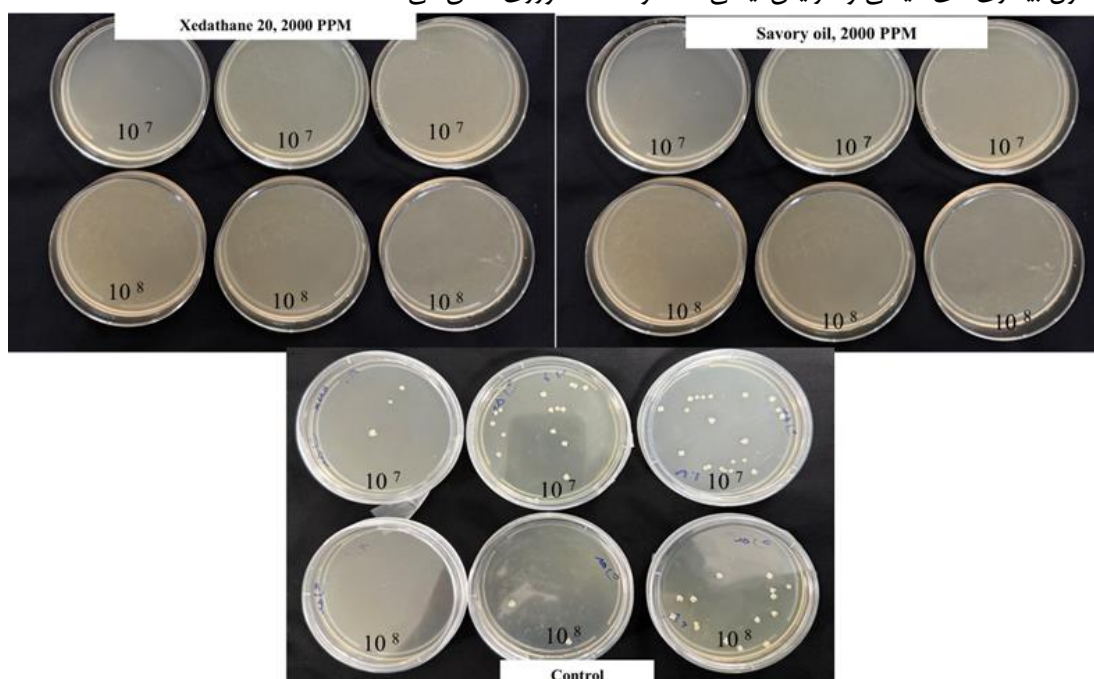
شکل ۱. بررسی اثر غلظت های مختلف (۵۰۰، ۷۰۰، ۱۰۰۰، ۲۰۰۰، ۳۰۰۰ پی پی ام) روغن مرزه و زداتان ۲۰ بر کنترل بیماری کپک سبز *Trichoderma harzianum*

Figure 1. Evaluation of the effect of different concentrations (500, 700, 1000, 2000, and 3000 ppm) of savory oil and Xedathane 20 on the control of green mold disease caused by *T. harzianum*.

سنجش MIC و MBC روغن مرزه و زداتان ۲۰ روی جدایه باکتریایی *B. velezensis*

در این آزمایش، اثر ضدباکتریایی روغن مرزه و زداتان ۲۰ بر دو رقت مختلف از باکتری *B. velezensis* (غلظت‌های 10^7 ، 10^8 CFU/mL) مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که هر دو ترکیب در غلظت‌های بالا دارای اثر بازدارندگی بر رشد این باکتری هستند. میانگین حداقل غلظت کشنده (MBC) برای هر دو ترکیب برابر با ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام به‌دست آمد. در این غلظت، هیچگونه رشد یا کلونی باکتریایی مشاهده نشد که نشان‌دهنده اثر بازدارندگی کامل ترکیبات بر *B. velezensis* است (شکل ۲). با وجود آن‌که غلظت مشخصی از روغن مرزه مورد بررسی در شرایط آزمایشگاهی توانست رشد باکتری را به‌طور کامل مهار کند، اما نتایج در بستر خاک پوششی نشان داد که اثر ضدباکتریایی آن در بستر خاک پوششی کاهش می‌یابد. این کاهش اثر می‌تواند ناشی از ماهیت پیچیده بستر خاک پوششی، وجود مواد آلی، ذرات معدنی و جمعیت متنوع میکروبی باشد که موجب جذب، تجزیه یا کاهش زیست‌فراهمی ترکیبات فعال اسانس می‌شوند. علاوه بر این، عوامل محیطی مانند رطوبت و تهویه در خاک پوششی می‌توانند پایداری و ماندگاری ترکیبات فرار اسانس را تحت تأثیر قرار دهند. این یافته‌ها اهمیت ارزیابی ترکیبات ضد میکروبی را در شرایط محیط واقعی (بستر کشت نشان) می‌دهد.

اسانس گیاه مرزه از برگ‌ها و سرشاخه‌های گل‌دار گیاه و از طریق تقطیر با بخار آب استخراج می‌شود و حاوی ترکیبات فنولی فعالی مانند تیمول و کارواکرول است که عامل خواص ضدقارچی، ضدباکتریایی، آنتی‌اکسیدانی و حشره‌کشی آن به شمار می‌روند (Yazdanpanah et al., 2010). اثر ضدباکتریایی روغن مرزه تابستانه در مقایسه با سموم مسی در کنترل عامل گال طوقه مو (*Rhizobium radiobacter* (syn. *Agrobacterium tumefaciens*) بررسی شد. نتایج به دست آمده نشان داد، میزان بازدارندگی اثر روغن مرزه در مقایسه با سموم مسی مورد آزمایش دو برابر بوده است. علاوه بر این، بر اساس گزارش Özkalp و همکاران (۲۰۰۹)، روغن مرزه دارای خواص ضدباکتریایی قابل توجهی است و می‌تواند در جلوگیری از فساد میکروبی مواد غذایی نیز کاربرد داشته باشد. این یافته‌ها پتانسیل بالای این گیاه دارویی را در توسعه ترکیبات زیستی برای کنترل بیماری‌های گیاهی و افزایش ایمنی محصولات کشاورزی نشان می‌دهد.



شکل ۲. بررسی اثر محیط کشت‌های حاوی غلظت ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام زداتان ۲۰ و روغن مرزه در جمعیت باکتریایی *B. velezensis* UTB96 در غلظت‌های 10^7 ، 10^8 CFU/mL.

Figure 2. Evaluation of the effect of culture media containing 2000 ppm Xedathane 20 and savory oil on the bacterial population of *B. velezensis* UTB96 at concentrations of 10^7 and 10^8 CFU/mL.

تأثیر ترکیبات مورد استفاده روی شاخص‌های رشدی قارچ خوراکی در شرایط طبیعی بستر کشت

نتایج تجزیه واریانس بررسی اثر تیمارها در عملکرد قارچ خوراکی در شرایط سالن نشان داد که اختلاف معنی داری در سطح آماری یک درصد بین تیمارهای مورد آزمایش وجود ندارد. نتایج مقایسه میانگین‌ها با استفاده از روش چند دامنه‌ای LSD نشان داد که تیمار شاهد (تیمار بدون قارچکش) با میزان عملکرد ۲۴/۴ کیلوگرم بر متر مربع و تیمار Savory (۲۰۰۰ پی‌پی‌ام) با میزان عملکرد ۲۴ کیلوگرم بر مترمربع بیشترین میزان عملکرد را در بین تیمارهای مختلف داشتند و در گروه آماری a قرار گرفتند. همچنین می‌توان نتیجه گرفت که ترکیبات مورد استفاده از خاصیت قارچ‌کشی مؤثری برخوردارند و در غلظت‌های توصیه‌شده، اثر منفی بر عملکرد قارچ خوراکی نداشته‌اند. این ترکیبات موجب کاهش رشد یا ایجاد محدودیت در رشد قارچ‌ها نیز نشدند، که این موضوع بیانگر سازگاری نسبی آن‌ها با روند تولید قارچ خوراکی است.

همچنین نتایج درصد کاهش وزن نشان داد که تیمار شاهد کمترین میزان درصد کاهش وزن را داشتند (۱۷ درصد) و بیشترین میزان درصد کاهش وزن مربوط به تیمار زداتان (۱۰۰۰ پی‌پی‌ام) به میزان ۲۰/۵ درصد بوده است که احتمالاً به دلیل تأخیر بالا یا بروز مشکلاتی در فرآیند بسته بندی (با استفاده از سلفون می‌باشد که باعث کاهش درصد وزن بیشتری شده است. این تیمار از لحاظ کیفیت ظاهری و سفیدی قارچ‌ها برتری محسوسی نسبت به تیمار شاهد نشان داد و در ارزیابی شاخص کیفیت ظاهری، امتیاز ۴ را کسب کرد. به هر حال با توجه به اهمیت کاهش وزن در برخی تیمارهای آزمایش، تحقیقات بیشتری به منظور رفع این مشکل در دست انجام است. لازم به ذکر است تنظیم دقیق رطوبت بستر در مراحل مختلف رشد قارچ خوراکی از اهمیت بسزایی در فرآیند تولید برخوردار است که توسط سیستم کنترل هوشمند فونیکس در سالن‌های پرورش مورد استفاده در این تحقیق به طور دقیق کنترل و ثبت می‌شود. همچنین تیمارهای مختلف موجب کاهش معنی‌دار در پارامتر سفتی قارچ خوراکی شدند که به نظر می‌رسد این امر ناشی از کاهش جمعیت باکتری *B. velezensis* باشد. از این‌رو، ضروری است غلظتی از تیمار مورد نظر انتخاب شود که ضمن حفظ خاصیت قارچ‌کشی مؤثر علیه بیماری کپک سبز، کمترین آسیب را به جمعیت باکتریایی وارد کند.

اندازه‌گیری شاخص‌های رشدی

جدول ۲. تأثیر ترکیبات روغن مرزه و زداتان ۲۰ بر شاخص‌های رشدی قارچ خوراکی در بستر کشت صنعتی

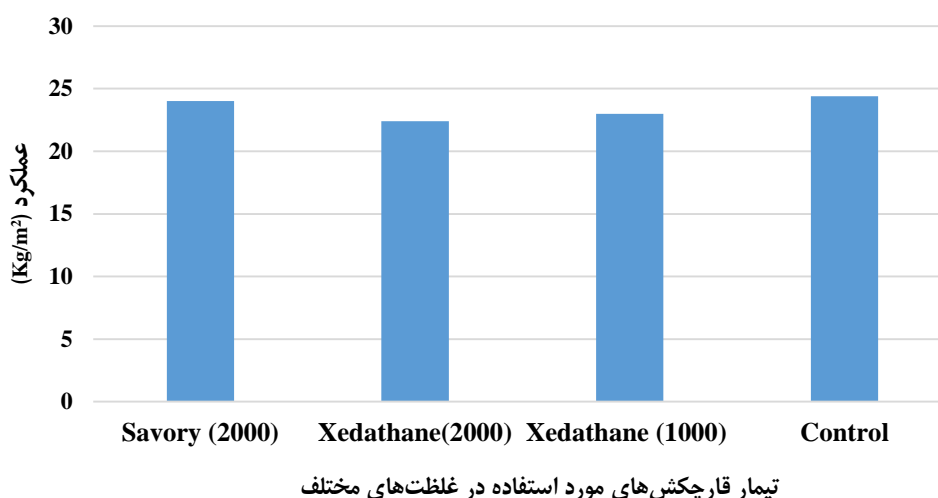
Table 1. The effect of savory oil and Xedathane 20 on the growth indices of *A. bisporus* in industrial cultivation media

شاخص کیفیت ظاهری Appearance quality index	سفتی (N) firmness	درصد کاهش وزن Weight loss percentage	عملکرد (kg/m ²) Performance	تیمار Treatment
۴	۱۷,۵±۰,۱ b	۱۹,۵±۰,۲ b	۲۴±۱ a	Savory 2000 ppm
۴	۱۷,۲±۰,۱ c	۱۹±۰,۱ c	۲۲,۴±۲,۶ a	Xedathane 2000 ppm
۳	۱۷,۱±۰,۱ d	۲۰,۵±۰,۱ a	۲۳±۱ a	Xedathane 1000 ppm
۲	۰,۱±۱۸,۱ a	۱۷۰,۵± d	۲۴/۴±۱,۵ a	Control

۱- اندازه‌گیری پارامترهای ذکر شده مربوط به فلش یک (۲۳ روز پس از کشت قارچ) انجام گرفته است.

۲- شاخص کیفیت ظاهری شامل رنگ بافت و درصد کلاهک باز شده بر اساس چهار مقیاس عددی از یک تا چهار تعیین شد.

۳- مقایسه میانگین با روش LSD انجام شد، حروف غیرمشابه بیانگر اختلاف آماری در سطح ۱٪ می‌باشند.



شکل ۲. نمودار تاثیر تیمارهای مختلف بر میزان عملکرد قارچ خوراکی *A. bisporus* ۲۳ روز پس از کشت قارچ خوراکی دکمه‌ای در بستر صنعتی

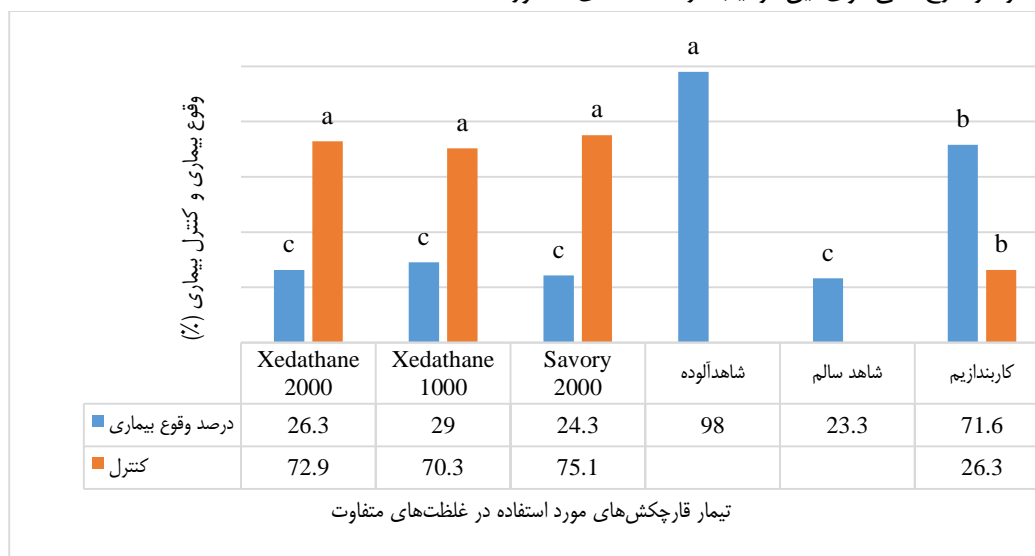
Figure 2. Diagram of the effect of different treatments on the yield of *A. bisporus* 23 days after cultivation of button mushroom in industrial substrate

اسانس‌های گیاهی ترکیبات فرار، طبیعی و پیچیده‌ای هستند که با بوی قوی شناخته می‌شوند و به صورت متابولیت‌های ثانویه توسط گیاهان معطر ساخته می‌شوند. این ترکیبات نقش مهمی در دفاع گیاهان در برابر باکتری‌ها، ویروس‌ها، قارچ‌ها و حشرات دارند. اسانس‌ها از گیاهان معطر که عمدتاً در مناطق معتدل تا گرم رشد می‌کنند، استخراج می‌شوند (Coats et al., 1991). خواص دارویی و ضدباکتریایی مرزه تابستانی مدت‌هاست که شناخته شده‌اند (Baigi, 2004). در پژوهشی، روغن مرزه تابستانی *Satureja hortensis* دارای خاصیت حشره‌کشی و دفع‌کنندگی قوی علیه سه آفت انباری مهم شامل سوسک آرد قرمز *Tribolium castaneum*، شب‌پره آرد مدیترانه‌ای *Ephestia kuehniella* و شب‌پره هندی *Plodia interpunctella* معرفی شد. اسانس این گیاه با افزایش غلظت و زمان تماس، موجب افزایش مرگ و میر آفات شد و به‌عنوان جایگزینی مناسب برای آفت‌کش‌های شیمیایی پیشنهاد گردید (Mollaei et al., 2011). همچنین مطالعات متعددی در زمینه استفاده از اسانس‌های گیاهی در کنترل قارچ‌های بیماری‌زای گیاهی صورت گرفته است و خاصیت قارچکشی اسانس گیاهانی نظیر آویشن (Debonne et al., 2018)، دارچین (Cheng et al., 2019)، مرزه (Farzaneh et al., 2015)، نعنا (Liu et al., 2016)، زنجبیل (Singh et al., 2005) و اسطوخودوس (Cassella et al., 2002) به اثبات رسیده است.

تاثیر ترکیبات مورد استفاده در کنترل بیماری کپک سبز (*T. harzianum*) روی قارچ خوراکی در شرایط محیطی

نتایج تجزیه واریانس شدت بیماری کپک سبز در شرایط سالن پرورش نشان داد که بین تیمارهای مورد بررسی، اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد وجود دارد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای LSD نشان داد که تیمار شاهد آلوده، با میانگین ۹۸ درصد آلودگی، بالاترین شدت بیماری را داشته و در گروه آماری a قرار گرفت. در مقابل، کمترین شدت بیماری مربوط به تیمارهای شاهد سالم و روغن مرزه بود که به ترتیب با ۲۳/۳ و ۲۴/۳ درصد آلودگی، در گروه آماری c قرار گرفتند. همچنین، نتایج تجزیه واریانس درصد کنترل بیماری در شرایط بستر خاک پوششی نیز نشان داد که بین تیمارهای آزمایشی و قارچ‌کش شاهد، اختلاف معنی‌داری در سطح یک درصد وجود دارد. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که تیمار روغن مرزه با غلظت ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام، بیشترین میزان کنترل بیماری (۷۵/۱ درصد) را داشته و در گروه آماری a طبقه‌بندی شد. در حالی که تیمار قارچ‌کش کاربندازیم با ۲۶/۳ درصد کنترل بیماری، در گروه آماری b قرار گرفت. به‌طور کلی، نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که ترکیبات گیاهی مورد استفاده، به‌ویژه روغن مرزه، از قابلیت قارچ‌کشی مؤثری برخوردارند و در مقایسه با قارچ‌کش شیمیایی کاربندازیم، عملکرد بهتری در کنترل بیماری کپک سبز از خود نشان داده‌اند (شکل ۳). بر اساس یک

تحقیق جامع، ترکیبات فنولی موجود در مرزه، به ویژه کارواکرول (Carvacrol) و تیمول (Thymol)، دارای قدرت بالایی در کنترل قارچ‌های بیماری‌زا از جمله *Candida albicans* هستند. نتایج مطالعه Rao و همکاران (۲۰۱۰) نشان داد که حداقل غلظت مهارکننده رشد (MIC) برای کارواکرول کمتر از ۰/۰۳ درصد گزارش شده است، که بیانگر اثر ضدقارچی بسیار قوی این ترکیب است. در مطالعه‌ای، تأثیر غلظت‌های مختلف اسانس ۳۰۰ تا ۴۰۰ پی‌پی‌ام بر رشد دو قارچ بیماری‌زای گیاهی *F. solani* و *Fusarium oxysporum* بررسی شد. بیشترین میزان بازدارندگی از رشد قارچ‌ها در غلظت ۴۰۰ پی‌پی‌ام مشاهده شد. همچنین رشد قارچ *Pyrenophora graminea* در غلظت‌های ۳۰۰ و ۴۰۰ پی‌پی‌ام از روغن مرزه به‌طور کامل متوقف شد، که بیانگر اثر قارچ‌کشی قوی این ترکیب در غلظت‌های مذکور است.



شکل ۳: تأثیر فرمولاسیون‌های تجاری روغن مرزه و زداتان ۲۰ بر کنترل بیماری کپک سبز در قارچ خوراکی دکمه‌ای (*Agaricus bisporus*) پس از تیمار.

Figure 3. Effect of commercial formulations of savory oil and Xedathane 20 on the control of Green mold disease in the button mushroom (*Agaricus bisporus*) after treatment.

مقایسه میانگین با روش LSD انجام شد، حروف غیرمشابه بیانگر اختلاف آماری در سطح ۱٪ می‌باشند.

با توجه به نقش نمک‌های معدنی در بیان ژن کدکننده ACC deaminase در باکتری *B. velezensis* (Dousti et al., 2024) در تحقیقات آینده پیشنهاد می‌شود اثر ترکیبات تجاری Xedathane 20 و MoldStop (در حال ثبت) بر جمعیت *B. velezensis* و بیان ژن کدکننده ACC deaminase نیز مورد بررسی قرار گیرد و بررسی جمعیت *B. velezensis* با روش qPCR نیز به عنوان رویکردی دقیق تر دنبال شود. این آنزیم نقش کلیدی در افزایش کارایی باکتری در فرایند تولید قارچ خوراکی داشته، به ویژه در بهبود ماندگاری پس از برداشت مؤثر است. از آن‌جا که بیان ژن ACC deaminase توسط باکتری *B. velezensis* می‌تواند به بهبود شاخص‌های کیفی ظاهری در قارچ‌های خوراکی کمک کند، بررسی اثر این دو ترکیب بر بیان ژن و فعالیت آنزیم یادشده از اهمیت بالایی برخوردار است. علاوه بر این، تعیین غلظت بهینه این ترکیبات (مبتنی بر روغن‌های گیاهی) که در آن، ضمن حفظ خاصیت قارچ‌کشی، آسیبی به جمعیت باکتری وارد نشود و فاقد خاصیت باکتری‌کشی باشد، یکی از محورهای مهم تحقیقات آتی خواهد بود. این اقدام می‌تواند در راستای کنترل مؤثرتر بیماری‌های قارچ خوراکی، افزایش عملکرد، و بهبود شاخص‌های کیفی ظاهری محصول نقش بسزایی ایفا کند. همچنین با توجه به اهمیت بیماری باکتریایی ناشی از *Pseudomonas tolaasii* در ایران و کارهای متعددی که در این زمینه انجام گرفته است (Jafaripour et al., 2024) لازم است اثر این ترکیبات در کنترل این بیماری مورد بررسی قرار گیرد. تحلیل دقیق‌تر نتایج نشان می‌دهد

که اثربخشی بالای روغن مرزه در غلظت ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام احتمالاً ناشی از حضور بالای ترکیبات فنولی نظیر کارواکرول و تیمول است که با تخریب غشای سلولی قارچ کپک سبز و مهار آنزیم‌های حیاتی، رشد میسلیمی را متوقف می‌کنند. نکته حائز اهمیت آن است که این غلظت، ضمن کنترل کامل عامل بیماری، اثر منفی بر عملکرد قارچ خوراکی نشان نداد که این موضوع روغن مرزه را از دیدگاه کاربرد صنعتی، به گزینه‌ای ایمن و قابل توصیه تبدیل می‌کند. برتری این ترکیب نسبت به قارچ‌کش شیمیایی کاربردنازیم، به‌ویژه از منظر پایداری زیست‌محیطی، کاهش خطر بروز مقاومت و سازگاری با سامانه زیستی بستر کشت، اهمیت ویژه‌ای دارد. مطالعات اخیر نیز کارایی اسانس‌های گیاهی را در کنترل بیماری کپک سبز قارچ خوراکی تأیید کرده‌اند. برای مثال (Luković et al., 2021) و (Kredics et al., 2022) بر نقش ترکیبات طبیعی در مدیریت پایدار گونه‌های *Trichoderma* تأکید کرده‌اند. همچنین نتایج (Beki et al., 2024) نشان داد که قارچ‌کش‌های بر پایه روغن‌های گیاهی می‌توانند جایگزین مناسبی برای ترکیبات شیمیایی متداول در سالن‌های پرورش قارچ باشند.

نتیجه‌گیری نهایی

با توجه به روند رو به رشد مصرف قارچ خوراکی در کشور، کاهش یا حذف استفاده از سموم پرخطر در مراکز پرورش، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. از سوی دیگر، با توجه به نقش حیاتی جمعیت میکروبی متنوع، به‌ویژه در خاک پوششی (بستر کشت قارچ)، استفاده از ترکیبات قارچ‌کش نیازمند ملاحظات خاصی است تا از اختلال در این تعادل میکروبی جلوگیری شود. یافته‌های این تحقیق نشان داد که روغن مرزه و همچنین، ترکیب تجاری Xedathane 20 که این ترکیب نیز بر پایه روغن‌های گیاهی است، دارای اثر قارچ‌کشی قابل توجهی هستند. با توجه به تحقیقات متعددی که روی فرمولاسیون روغن مرزه انجام گرفته است، این ترکیب با نام پیشنهادی MoldStop برای مراحل ثبت رسمی، به سازمان حفظ نباتات کشور ارسال شده است. با این حال، به‌منظور دستیابی به حداکثر کارایی این ترکیبات، نحوه کاربرد آن‌ها باید با رعایت نکات فنی و تحت نظارت متخصصان انجام گیرد. همچنین بررسی اثر این ترکیبات بر ساختار و تنوع جمعیت میکروبی بستر پرورش قارچ خوراکی در دست انجام است، که می‌تواند اطلاعات تکمیلی ارزشمندی در راستای بهینه‌سازی مدیریت بیماری‌ها و حفظ سلامت اکوسیستم خاک پوششی ارائه دهد. تحقیقات بعدی به منظور کنترل بیماری باکتریایی قارچ خوراکی در دست انجام است. نتایج این پژوهش می‌تواند به‌عنوان مبنایی برای تدوین دستورالعمل‌های کاربردی استفاده از قارچ‌کش‌های زیستی در صنعت پرورش قارچ‌های خوراکی در کشور مورد استفاده قرار گیرد.

سپاسگزاری

این تحقیق با حمایت مالی و معنوی دانشگاه تهران، شرکت رازفدک مهرشهر و شرکت دانش میوه خاورمیانه انجام گرفته است. از خانم مهندس مهری علیپوران لشکرشکن به دلیل ارائه نظرات و پیشنهادهای ارزشمندشان در فراهم کردن امکانات و اجرای آزمایش‌های درون بستر طبیعی کشت قارچ درون سالن‌های شرکت، تشکر می‌شود.

REFERENCES

- Abdel-Kader, M., El-Mougy, N., & Lashin, S. (2011). Essential oils and *Trichoderma harzianum* as an integrated control measure against faba bean root rot pathogens. *Journal of Plant Protection Research*, 51(3), 306–313. <https://doi.org/10.2478/v10045-011-0050-8>.
- Angelini P, Pagiotti R, Menghini A, Vianello B.(2006) “Antimicrobial activities of various essential oils against foodborne pathogenic or spoilage moulds.” *Annals of Microbiology (Ann Microbiol)*, 56:65-69
- Arras, G., & Usai, M. (2001). Fungitoxic activity of 12 essential oils against four postharvest citrus pathogens: chemical analysis of *Thymus capitatus* oil and its effect in subatmospheric pressure conditions. *Journal of Food Protection*, 64(7), 1025-1029. <https://doi.org/10.4315/0362-028x-64.7.1025>.
- Aydoğdu, M., Kurbetli, İ., Kitapçı, A., & Sülü, G. (2020). Aggressiveness of green mould on cultivated mushroom (*Agaricus bisporus*) in Turkey. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 127(5), 695-708. <https://doi.org/10.1007/s41348-020-00328-8>.
- Beki, F., Gharari, Z., & Javan-Nikkhah, M. (2024). Evaluation of new biofungicides based on plant essential oils for controlling green mould disease caused by *Trichoderma* spp. in button mushroom cultivation. *Biological Control*, 188, 105337. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2024.105337>.
- Beki, F., Safai, B., Taheri, H., Kord, M., & Jorabian, E. (2024). Efficiency of Xedathane 20 fungicide (Pyrimethanil + Clove oil) with EC formulation for controlling green mold of citrus (*Penicillium digitatum*). *International Plant Protection Congress, 2070-25 IPPC (R1)*. (In Persian).
- Bozhüyük, A. U., Kordali, Ş., & Bölük, G. (2015). *Satureja hortensis* L. uçucu yağının antifungal etkisi. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 46(2), 107–112. <https://doi.org/10.21597/jist.876023>.
- Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International journal of food microbiology*, 94(3), 223-253.
- Chatterjee, S., Sarma, M. K., Deb, U., Steinhäuser, G., Walther, C., & Gupta, D. K. (2017). Mushrooms: from nutrition to mycoremediation. *Environmental Science and Pollution Research*, 24(24), 19480-19493. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-9826-3>.
- Cruz, A., Pimentel, L., Rodríguez-Alcalá, L. M., Fernandes, T., & Pintado, M. (2016). Health benefits of edible mushrooms focused on *Coriolus versicolor*: A review. *Journal of Food and Nutrition Research*, 4(12), 773-781. <https://doi.org/10.12691/jfnr-4-12-2>.
- Delitto, E., et al. (2011). "High-throughout assessment of bacterial growth inhibition by optical density measurements." *BMC Microbiology*, 11: 86. DOI: 10.1002/9780470559277.ch100115.
- Dikbas, N., Kotan, R., Dadasoglu, F., & Sahin, F. (2008). Control of *Aspergillus flavus* with essential oil and methanol extract of *Satureja hortensis*. *International Journal of Food Microbiology*, 124(2), 179–182. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2008.03.034>.
- Dousti, M., Mousavi Jafaripour, E., Ahmadzadeh, M., Falahi Charkhabi, N., & Ahmadzadeh, M. (2024). Upregulation of the ACC deaminase gene in *Bacillus velezensis* UTB96 improved the yield and shelf Life of *Agaricus bisporus*. *Scientific Reports*, 14(1), 1-9. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-82167-3>.
- Fierascu, I., Dinu-Pirvu, C. E., Fierascu, R. C., Velescu, B. S., Anuta, V., Ortan, A., et al. (2018). Phytochemical profile and biological activities of *Satureja hortensis* L.: A review of the last decade. *Molecules*, 23, 2458. <https://doi.org/10.3390/molecules23102458>.
- Hamidpour R, Hamidpour S, Hamidpour M, et al. (2014). Summer savory: from the selection of traditional applications to the novel effect in relief, prevention, and treatment of a number of serious illnesses such as diabetes, cardiovascular disease, Alzheimer’s disease, and cancer. *Journal of Traditional and Complementary*; 4(3):140-144.25161917.

- Isman, M. B., Wan, A. J., & Passreiter, C. M. (2001). Insecticidal activity of essential oils to the tobacco cutworm, *Spodoptera litura*. *Fitoterapia*, 72(1), 65-68. [https://doi.org/10.1016/s0367-326x\(00\)00253-7](https://doi.org/10.1016/s0367-326x(00)00253-7).
- Jafaripour, E.M., Ahmadzadeh, M., Falahi Charkhabi, N. *et al.* (2024). Bacteria antagonistic to *Pseudomonas tolaasii* and their control of brown blotch of the cultivated mushroom *Agaricus bisporus*. *Journal Plant Pathology* 107, 537–549. <http://dx.doi.org/10.1007/s42161-024-01795-w>.
- Khabaz H., Rahimian H. 2002. Brown blotch disease of cultivated mushroom in Iran. *Iranian Journal of Plant Pathology* 38:1-10. (In Persian with abstract in English).
- Kredics, L., Antal, Z., Szekeres, A., Manczinger, L., Hatvani, L., & Nagy, E. (2022). Green mould disease of *Agaricus* and *Pleurotus* mushrooms: Etiology, epidemiology and biological control. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 106, 5129–5144. <https://doi.org/10.1007/s00253-022-11978-3>.
- Kredics, L., Hatvani, L., Allaga, H., Büchner, R., Cai, F., Vágvolgyi, C., & Naeimi, S. (2022). *Trichoderma* green mould disease of cultivated mushrooms. In *Advances in Trichoderma Biology for Agricultural Applications* (pp. 559-606). Cham: Springer International Publishing. http://dx.doi.org/10.1007/978-3-030-91650-3_21.
- Kredics, L.; Naeimi, S.; Hatvani, L.; Vágvolgyi, C.; Cai, F.; Druzhinina, I.S.; Manczinger, L (2021). 'The good, the bad and the ugly' in the shades of green: The genus *Trichoderma* in the spotlight. *Indian Phytopathol.* 74, 403–411.
- Liu Q, Li L, Yang Z, Xiong X, Song Q, Li B, Zou H, Zhang L, Liu T. (2016). Antifungal Effect of Oregano Essential Oil Against *Penicillium expansum* on *Pyrus sinkiangensis*. *Journal of Fungi*. 2024; 10(11):752. <https://doi.org/10.3390/jof10110752>.
- Liufang, Y.; Wu, Y.; Zhou, H.; Qu, H.; Yang, H. (2024). Recent advances in the application of natural products for postharvest edible mushroom quality preservation. *Foods*, 13, 2378. <https://doi.org/10.3390/foods13152378>.
- Luković, J., Stepanović, M., Todorović, B., Milenković, I., & Duduk, N. (2021). Green mould disease of cultivated mushrooms: Occurrence, causal agents and control strategies. *Journal of Fungi*, 7(11), 939. <https://doi.org/10.3390/jof7110939>.
- Luković, J.; Milijašević-Marčić, S.; Hatvani, L.; Kredics, L.; Szűcs, A.; Vágvolgyi, C.; Duduk, N.; Vico, I.; Potočnik, I. (2021). Sensitivity of *Trichoderma* strains from edible mushrooms to the fungicides prochloraz and metrafenone. *Journal of Environmental Science and Health*, 56, 54–63. <https://doi.org/10.1080/03601234.2020.1838821>.
- Madadkhah E. (2018). Physiological, biochemical and yield traits evaluation of greenhouse cucumber grafted on some cucurbit rootstock under NaCl salinity stress in hydroponic conditions. PhD. Thesis University of Tabriz.
- Mahboobi, M., & Feyzabadi, M. M. (2010). Antimicrobial effects of essential oils of thyme, savory, and eucalyptus on *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, and *Aspergillus* species. *Journal of Medicinal Plants*, 81, 80. (In Persian).
- Mihajilov-Krstev T, Radnovic D, Kitic D, et al. (2009). Antimicrobial activity of *Satureja hortensis* L. essential oil against pathogenic microbial strains. *Biotechnol Biotec Eq* 23:1492–6. <http://dx.doi.org/10.2298/ABS1001159M>.
- Nasiri, M., Barzegar, M., Sahari, M. A., & Niakousari, M. (2018). Application of Tragacanth gum impregnated with *Satureja khuzistanica* essential oil as a natural coating for enhancement of postharvest quality and shelf life of button mushroom (*Agaricus bisporus*). *International Journal of Biological Macromolecules*, 106, 218-226.
- Neslihan, D., Recep, K., Fatih, D., & Fikretin, S. (2008). Control of *Aspergillus flavus* with essential oil and methanol extract of *Satureja hortensis*. *International Journal of Food Microbiology*, 124, 179–182. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2008.03.034>.
- Omid Beygi, M., Barzegar, M., Hamidi, Z., & Naghdibadi, H. (2007). Antifungal activity of thyme, summer savory and clove essential oils against *Aspergillus flavus* in liquid medium and tomato paste. *Food Control*, 18(12), 1518-1523.

- Rao, A., Zhang, Y., Muend, S., & Rao, R. (2010). Mechanism of antifungal activity of terpenoid phenols resembles calcium stress and inhibition of the TOR pathway. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 54(12), 5062. <https://doi.org/10.1128/AAC.01050-10>.
- Royse, D. J., Baars, J., & Tan, Q. (2017). Current overview of mushroom production in the world. In D. C. Zied & A. Pardo-Giménez (Eds.), *Edible and medicinal mushrooms: Technology and applications*, 5–13. DOI: 10.1002/9781119149446.ch2.
- Singh, M., Kamal, S., & Sharma, V. P. (2021). Species and region-wise mushroom production in leading mushroom producing countries-China, Japan, USA, Canada, and India. *Mushroom research*, 30(2). DOI: 10.36036/MR.30.2.2021.119394.
- Singh, M., S. Kamal. and V.P. Sharma. (2017). Status and trends in world mushroom production-I. *Mushroom Research* 26(1): 1-20
- Tajkarimi, M., Ibrahim, S. A., & Cliver, D. (2010). Antimicrobial herb and spice compounds in food. *Food Control*, 21(9), 1199-1218. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2010.02.003>.
- Tian, J., Ban, X., Zeng, H., He, J., Huang, B., and Wang, Y. (2011). Chemical composition and antifungal activity of essential oil from *Cicuta virosa* L. var. *latisecta* Celak, *International Journal of Food Microbiology*, 145, 464e470. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.01.023>.
- Usanmaz Bozhüyük, A., Kordali, Ş., & Bölük, G. (2016). *Satureja hortensis* L. Uçucu Yağının Antifungal Etkisi. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 46(2), 107-112.
- Yazdanpanah, L., Amini, M., Panahi, B., Emamifar, M., & Mahdian, M. (2010). Effect of antifungal essential oil from *Satureja hortensis* on *Alternaria citri*. *Technology of Plant Production*, 10(2), 84-90.