

بهینه‌سازی اثرات ضدقارچی و حشره‌کشی اسانس آویشن باغی (*Thymus vulgaris* L.) با استفاده از روش سطح پاسخ (RSM)

عسگر عباداللهی^{۱*}، ابراهیم تقی‌نژاد^۲ و مهدی داوری^۳

۱. استادیاران، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی مغان، دانشگاه محقق اردبیلی، ایران

۳. دانشیار، گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، ایران

(تاریخ دریافت: ۹۶/۱۱/۲۵ - تاریخ پذیرش: ۹۷/۰۲/۲۵)

چکیده

در تحقیق حاضر، بهینه‌سازی و مدل‌سازی فعالیت بازدارندگی رشد میسلیمی و سمیت تدخینی اسانس آویشن باغی با استفاده از روش سطح پاسخ، به ترتیب روی دو قارچ مهم بیماری‌زای *Fusarium graminearum* و *Botrytis cinerea* و سوسک زیان‌آور غلات (*Rhyzopertha dominica* F.) مورد بررسی قرار گرفت. همچنین اجزای شیمیایی اسانس مذکور با استفاده از دستگاه گاز کروماتوگرافی-طیف‌سنج جرمی بررسی شد و کارواکرول (۲۷/۹۹ درصد)، تیمول (۱۲/۷۶ درصد)، ژرانیول (۸/۹۱ درصد) و ژرانیل استات (۷/۶۰ درصد) به عنوان ترکیبات عمده آن شناسایی شدند. غلظت‌های مورد استفاده اسانس و افزایش زمان در معرض قرارگیری به صورت معنی‌داری باعث کاهش رشد میسلیمی قارچ‌ها و افزایش مرگ‌ومیر حشره آفت شد. شرایط بهینه جهت حصول بیشینه بازدارندگی از رشد میسلیمی در قارچ *F. graminearum* (۸۸/۶۷ درصد)، زمان ۸۸/۵۹ ساعت و غلظت ۴۸۶/۶۷ پی‌پی‌ام به دست آمد. همچنین زمان ۷۴/۰۱ ساعت و غلظت ۵۵۲/۹۶ پی‌پی‌ام، سبب ایجاد بیشترین بازدارندگی رشدی در قارچ *B. cinerea* (۹۴/۴۳ درصد) می‌شود. غلظت ۴۳/۱۰ میکرولیتر بر لیتر و مدت زمان شصت ساعت به عنوان شرایط بهینه برای دستیابی به مرگ‌ومیر ۷۲/۲۳ درصدی سوسک زیان‌آور غلات برآورد شد. نتایج نشان دادند که اسانس آویشن باغی پتانسیل لازم را برای مدیریت قارچ‌های بیماری‌زای *F. graminearum* و *B. cinerea* و سوسک زیان‌آور غلات دارا می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: اسانس، بازدارندگی رشد میسلیمی، سمیت تدخینی، روش سطح پاسخ.

Optimization of antifungal and insecticidal effects of garden thyme (*Thymus vulgaris* L.) essential oil through response surface methodology

Asgar Ebadollahi^{1*}, Ebrahim Taghinezhad² and Mahdi Davari³

1 and 2. Assistant Professors, Moghan College of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran.

3. Associate Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran.

(Received: February 14, 2018- Accepted: May 15, 2018)

ABSTRACT

In the present study, optimization and modeling of the mycelial growth inhibitory and fumigant toxicity of *Thymus vulgaris* essential oil were investigated using Response Surface Methodology (RSM) against the pathogenic fungi *Fusarium graminearum* and *Botrytis cinerea* and the lesser grain beetle (*Rhyzopertha dominica*), respectively. The chemical composition of this essential oil was also assessed through Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) and carvacrol (27.99%), thymol (12.76%), and geraniol (8.91%) were identified as its main components. Mycelial growth inhibition of pathogenic fungi and insect pest mortality was significantly enhanced with increasing of the essential oil concentrations and the exposure times. Optimum conditions to achieve maximum mycelial growth inhibitory (88.67%) were evaluated as time of 88.59 h and the concentration of 486.66 ppm. Also, a time of 74.01-h and the concentration of 552.96 ppm caused the maximum growth inhibitory of *B. cinerea* (94.43%). The concentration of 43.10 μ l/l and 60 h exposure time were estimated as optimum conditions for achieving 72.23% mortality of *R. dominica*. Results demonstrated that the essential oil of *T. vulgaris* has a high potential for management of *F. graminearum* and *B. cinerea* and the lesser grain beetle.

Key words: Essential oil, Mycelial growth inhibition, Fumigant toxicity, Response Surface Methodology.

* Corresponding author E-mail: ebadollahi@uma.ac.ir

تازه‌های تحقیق

در حال حاضر کنترل این عوامل خسارت‌زایی از قبیل قارچ‌های بیماری‌گر و حشرات آفت با استفاده از سموم شیمیایی انجام می‌گیرد. استفاده از ترکیبات شیمیایی اثرات جانبی متعددی از قبیل آلودگی‌های محیطی و تاثیر روی موجودات غیرهدف را در پی داشته است. از این رو استفاده از ترکیبات جایگزین کم‌خطر و طبیعی در مدیریت آنها ضروری می‌باشد. در پژوهش حاضر، فعالیت بازدارندگی رشد میسلیومی و سمیت تدخینی اسانس آویشن باغی به- ترتیب روی قارچ‌های بیماری‌گر *F. graminearum* و *B. cinerea* و سوسک زیان‌آور غلات ارزیابی شد. علاوه بر آن، اجزای شیمیایی اسانس مذکور با استفاده از دستگاه گاز کروماتوگرافی-طیف‌سنج جرمی شناسایی و با توجه به سایر تحقیقات انجام شده، ارتباط احتمالی این اجزا با فعالیت زیستی اسانس بحث گردید. همچنین نتایج بررسی حاضر نشان داد که روش سطح پاسخ به‌عنوان روشی مناسب در مدل‌سازی و بهینه‌سازی فعالیت ضدقارچی و حشره‌کشی اسانس آویشن می‌تواند مطرح گردد. لازم به ذکر می‌باشد که استفاده از اسانس آویشن باغی در کنترل قارچ‌ها و حشره آفت مذکور و استفاده از روش سطح پاسخ در بهینه‌سازی و مدل‌سازی این اثرات زیستی برای اولین بار انجام شده است.

مقدمه

قارچ *Fusarium graminearum* Schwabe عامل بیماری بادزدگی (اسکب خوشه^۱) گندم و سایر غلات ریزدانه در سراسر دنیا می‌باشد (Suga et al. 2008). این بیماری در ایران در سواحل دریای خزر از جمله استان گلستان و مازندران و منطقه مغان در استان اردبیل و برخی مناطق گندم‌کاری از اهمیت خاصی برخوردار است (Davari et al. 2012). در اثر این بیماری، محصولی نامرغوب با دانه‌های ریز و چروکیده به‌وجود آمده و وزن هزار دانه کم می‌شود. این بیماری نه تنها باعث از دست رفتن کیفیت و عملکرد محصول می‌شود، بلکه با ایجاد زهرابه‌های قارچی مانند نیوالنول^۲، داکسی‌نیوالنول^۳ و زیرالنون^۴ خطرات جدی

را برای سلامتی انسان و دام به وجود می‌آورد (Windels 2000). قارچ *Botrytis cinerea* Persoon بیماری‌گری خطرناک با طیف میزبانی بسیار وسیع می‌باشد که قبل و پس از برداشت، گیاهان متعددی را آلوده می‌کند. از نظر اهمیت علمی و اقتصادی، این قارچ جایگاه دوم در بین ده قارچ مهم را به خود اختصاص داده است (Dean et al. 2012) که باعث بیماری کپک خاکستری در بسیاری از میوه‌ها، سبزیجات و گیاهان زینتی می‌شود. بیش از دو‌یست گونه گیاهی در سراسر دنیا به‌عنوان میزبان برای *B. cinerea* گزارش شده است (Williamson et al. 2007). از مهم‌ترین میزبان‌های این قارچ می‌توان به سیب، انگور، گوجه‌فرنگی، کیوی، هلو و توت‌فرنگی اشاره کرد (Romanazzi 2013). سوسک زیان‌آور غلات، *Rhyzopertha dominica* F. (Coleoptera: Bostrichidae)، آفتی با گسترش جهانی بوده و خسارت اقتصادی بالایی روی غلات انباری به- خصوص گندم، جو و برنج وارد می‌کند. حشرات کامل معمولاً در سوراخی که روی دانه‌های غلات به‌وجود می- آورند و یا در دانه‌های شکسته تخم‌گذاری کرده و لاروهای خارج شده از محتویات داخل دانه تغذیه می‌کنند (Rees 2007).

استفاده از سموم شیمیایی روش متداول در کنترل حشرات آفت و عوامل بیماری‌زای قارچی محسوب می‌شود. با این حال، کاربرد بی‌رویه چنین ترکیباتی اثرات منفی متعددی از قبیل به‌وجود آمدن جمعیت‌های مقاوم، شیوع عوامل بیماری‌گر ثانویه، اثرات مخرب روی محیط زیست و تهدید سلامتی انسان را در پی داشته است (Jeyasankar and Jesudasan 2005, Cavalcanti et al. 2010, Attia et al. 2013). لذا، جستجو و معرفی ترکیبات طبیعی و کم-خطر برای جایگزینی با سموم شیمیایی ضروری می‌باشد.

اسانس‌های گیاهی در قالب متابولیت‌های ثانویه نقش مهمی در حفاظت گیاهان در برابر قارچ‌ها و حشرات گیاه-خوار دارند. این ترکیب‌ها به‌عنوان ملکول‌های علامت‌دهنده عمل کرده و رابطه‌ای تکاملی با نقش عملکردی خود در گیاه را نشان داده‌اند (Theis and Lerdau 2003, Tholl 2006). در سال‌های اخیر، تحقیقات مختلفی در زمینه استفاده از اسانس‌های گیاهی در کنترل قارچ‌های بیماری‌گر و حشرات آفت انجام شده است (Batish et al. 2008, Bakkali et al. 2008, Pinto et al. 2013). گیاهان جنس

1. Fusarium head blight (FHB)
2. nivalenol
3. Deoxynivalenol
4. zearalenone

اسانس گیری از نمونه های گیاهی به مدت سه ساعت در دستگاه ادامه پیدا کرد. اسانس به دست آمده با استفاده از سولفات سدیم آب گیری شده و پس از پوشانده شدن با فویل آلومینیومی در یخچال با دمای چهار درجه سلسیوس تا زمان استفاده نگهداری شد.

تجزیه شیمیایی اسانس

آنالیز شیمیایی اسانس با استفاده از دستگاه گاز کروماتوگرافی مدل HP 7890A^۷ مجهز به سیستم آشکارساز طیف سنج جرمی مدل 5975C انجام شد.

جداسازی کروماتوگرافیکی در ستون کاپیلاری اچ پی-^{۸۵} (۳۰ متر × ۰/۲۵ میلی متر و ۰/۲۵ میکرومتر ضخامت) صورت گرفت. واسطه دستگاه جی سی مس و منبع یونی در دماهای ۲۸۰ و ۲۳۰ درجه سلسیوس تنظیم شد. دمای تزریق ۲۵۰ درجه سلسیوس و برنامه دمایی ستون در پنجاه درجه سلسیوس به مدت ۳ دقیقه بود که در دقیقه ۱۰ به ۱۱۰ درجه سلسیوس و در ده دقیقه بعدی تا ۱۸۰ درجه سلسیوس رسید. هلیوم (۹۹/۹۹۹ درصد) به عنوان گاز حامل به میزان ۱ میلی لیتر در هر دقیقه استفاده شد. تشخیص طیف ها با مطالعه اجزای آنها و مقایسه طیف های استاندارد موجود در کتابخانه دستگاه (Wiley 7n.1 mass computer library و NIST^۸) صورت گرفت (Adams 2007).

تهیه قارچ های بیماری زا

قارچ های بیمارگر *F. graminearum* و *B. cinerea* از کلکسیون قارچ شناسی گروه گیاه پزشکی دانشگاه محقق اردبیلی که قبلا به ترتیب از سنبله گندم آلوده منطقه مغان و میوه توت فرنگی آلوده جداسازی شده بودند، انتخاب و پس از بازکشت در محیط کشت PDA برای آزمایشات مورد نظر استفاده شدند.

بررسی اثر ضد قارچی اسانس

اثر ضد قارچی اسانس آویشن باغی روی قارچ های بیماری زا به روش اختلاط اسانس با محیط کشت بررسی شد. لذا، امولسیون هایی از اسانس های مورد نظر با غلظت های ۷۵، ۱۵۰، ۳۰۰، ۶۰۰ و ۱۰۰۰ پی پی ام در محلول توئین ۸۰

Thymus گیاهان دایمی و معطری هستند که به آویشن معروف شده اند. گونه های مختلف آویشن به صورت دم کرده و چاشنی غذایی کاربرد داشته و در بین گیاهان دارویی متداول در سراسر جهان قرار گرفته اند (Hardman 2002, Javed et al. 2013). آویشن باغی، *Thymus vulgaris* L. گیاهی بوته ای با ساقه ای مستقیم به ارتفاع بیست تا سی سانتی متر، برگ های معطر و تا حدودی همیشه سبز و متقابل و گل هایی به رنگ ارغوانی کم رنگ تا سفید می باشد. روش سطح پاسخ^۵ مجموعه ای از طرح های آزمایشی و فن های بهینه سازی است که آزمایشگر را قادر به تعیین رابطه بین پاسخ و متغیرهای مستقل می سازد. این روش برای ترسیم یک سطح پاسخ در محدوده مورد نظر و بهینه سازی پاسخ برای انتخاب شرایط فرآیند به منظور دستیابی به مشخصات هدف یا نیازمندی های مصرف کننده به کار می رود. این روش همچنین برای مدل سازی، بهبود و بهینه سازی شرایط در انواع مختلف فرایندهای زیستی مناسب می باشد (Eren and Kaymak-Ertekin 2007).

با توجه به اهمیت استفاده از ترکیبات طبیعی و کم خطر در کنترل عوامل خسارت زای محصولات کشاورزی، هدف اصلی تحقیق حاضر، بررسی امکان استفاده از اسانس مستخرج از گیاه آویشن باغی در کنترل قارچ های *F. graminearum* و *B. cinerea* و سوسک زیان آور غلات می باشد. به این منظور، مدل سازی و بهینه سازی خواص قارچ کشی و حشره کشی اسانس مذکور با استفاده از روش سطح پاسخ انجام شده و اجزای شیمیایی آن با استفاده از دستگاه گاز کروماتوگرافی-طیف سنج جرمی^۶ بررسی گردید.

مواد و روش ها

تهیه مواد گیاهی و استخراج اسانس

قسمت های هوایی گیاهان آویشن باغی (*T. vulgaris*) از منطقه حسن باروق استان اردبیل (طول جغرافیایی "۹/۵۴۲ و ۱۴' ۴۸°، عرض جغرافیایی "۳۹/۹۳۵ ۱۴' ۳۸° و ارتفاع از سطح دریا ۱۳۶۹/۵ متر) جمع آوری شد. نمونه های گیاهی پس از خشک شدن در دمای اتاق توسط خردکن الکتریکی خرد شده و مقدار یکصد گرم از گیاه برای اسانس گیری در دستگاه کلونجر با حباب دوهزار میلی لیتری ریخته شد.

7. Hewlett-Packard Inc., Palo Alto, CA, USA

8. Capillary HP-5

9. National Institute of Standards Technology

5. Response Surface Methodology

6. Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS)

سمیت تدخینی اسانس‌ها روی حشرات کامل سوسک زیان‌آور غلات

برای بررسی سمیت تدخینی از ظروف پلاستیکی با حجم ۲۳۲ میلی‌لیتر مکعب به‌عنوان اتاق تدخین استفاده شد. بیست عدد حشره کامل یک تا سه روزه سوسک زیان‌آور غلات به‌صورت تصادفی انتخاب و داخل قوطی‌های پلاستیکی استوانه‌ای شکل (۵ × ۳/۵ سانتی‌متری) که یک طرف آن‌ها بریده شده و با پارچه توری پوشانده شده بودند، قرار داده شدند و پس از بستن درپوش آن‌ها، از مرکز ظروف تدخین (۲۳۲ میلی‌لیتر) به‌وسیله نخ آویزان شدند. غلظت‌های محاسبه شده بر پایه آزمایش‌های مقدماتی (۱۲/۹۳، ۱۷/۶۷، ۲۳/۷۱، ۳۱/۹۰ و ۴۳/۱۰ میکرولیتر بر لیتر هوا) روی کاغذهای صافی به ابعاد ۲×۳ سانتی‌متر ریخته شده و درون ظروف تدخین قرار داده شدند. درب ظروف به‌صورت غیرقابل نفوذ به هوا بسته و در شرایط در دمایی 27 ± 2 درجه سلیوس و رطوبت نسبی 65 ± 5 درصد نگه داشته شدند. تمام آزمایش‌ها برای گروه‌های شاهد بدون در نظر گرفتن اسانس‌ها انجام شد و هر آزمایش چهار بار تکرار گردید. تلفات ایجاد شده در زمان‌های ۱۲، ۲۴، ۳۶، ۴۸ و ۶۰ ساعت پس از تیمار با غلظت‌های اسانس ثبت شد (Ebadollahi 2018).

مدل‌سازی فعالیت قارچ‌کشی اسانس و تجزیه آماری داده‌ها

روش سطح پاسخ مجموعه‌ای از تکنیک‌های آماری است که در بهینه‌سازی فرآیندهایی که پاسخ مورد نظر به واسطه تعدادی از متغیرها تحت تأثیر قرار می‌گیرد، به کار می‌رود. شمای گرافیکی مدل ریاضی سبب تعریف واژه‌ی روش سطح پاسخ شده است. با کمک این طرح آماری، کلیه ضرایب مدل رگرسیون درجه دوم و اثر متقابل متغیرها، قابل برآورد هستند. در روش سطح پاسخ، سطح مورد نظر تحت تأثیر متغیرهای بسیاری قرار دارد و هدف، بهینه کردن پاسخ مزبور است. برای به‌دست آوردن مقدار بهینه (Y_i) ، از رابطه زیر استفاده شد (Li et al. 2007):

$$Y_i = \beta_0 + \sum \beta_i X_i + \sum \beta_{ij} X_i X_j + \sum \beta_{ii} X_i^2 + \varepsilon$$

که در آن، β_0 ، β_i و β_{ij} و β_{ii} ضرایب ثابت رگرسیون، x_i و x_j متغیرهای مستقل در فرآیند و ε خطای تصادفی است.

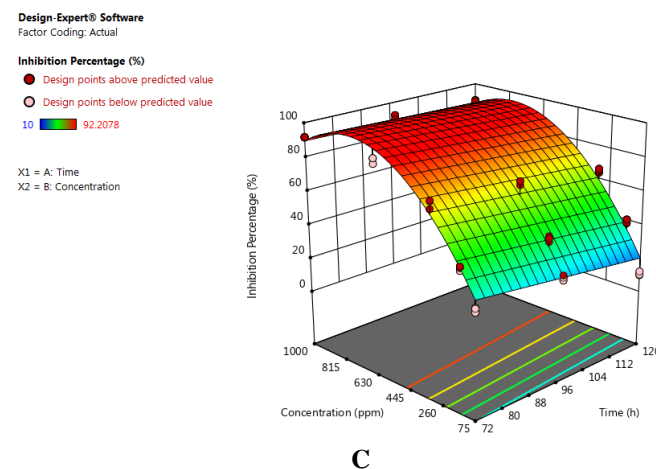
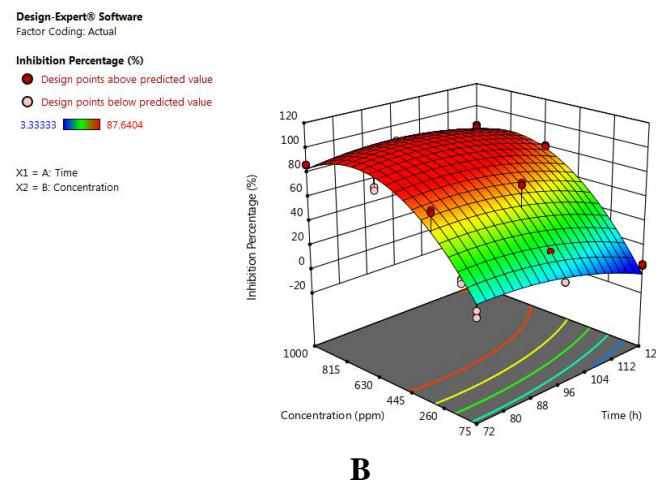
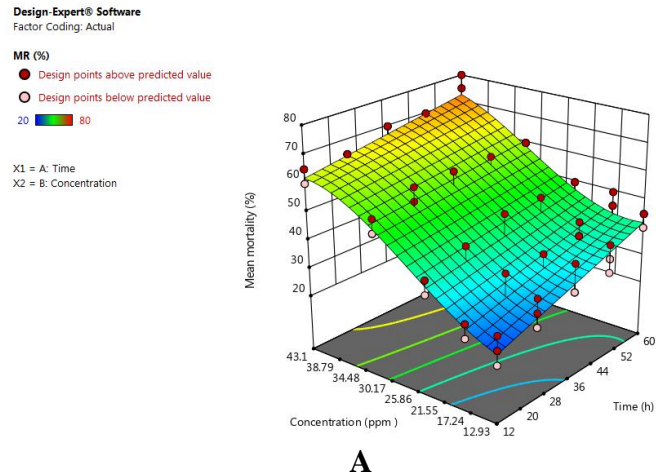
(۰/۰۵ درصد) تهیه شد. همچنین محلول توئین ۸۰ (۰/۰۵ درصد) به‌عنوان تیمار شاهد در نظر گرفته شد. فلاسک‌های حاوی محیط کشت PDA پس از اتوکلاو در دمای اتاق قرار داده شدند تا دمای آنها به ۴۵-۴۲ درجه سلیوس تنزل یابد. غلظت‌های مشخصی از اسانس، بعد از آزمون‌های اولیه به فلاسک‌های حاوی محیط PDA اضافه و به هم زده شدند تا امولسیون یکنواختی به‌وجود آید. محیط کشت‌های حاصله بلافاصله درون تشتک‌های پتری به قطر ۹ سانتی‌متر تقسیم و اجازه داده شد تا جامد گردند. سپس دیسک‌های قارچی توسط چوب‌پنبه سوراخ‌کن از کشت‌های جوان قارچ‌های بیمارگر در قسمت وسط تشتک‌های پتری حاوی محیط کشت اسانس‌دار قرار داده شدند. تشتک‌های پتری مایه‌زنی شده در انکوباتور با دمای بیست و پنج درجه سلیوس قرار داده شدند. رشد رویشی هاله هر قارچ به‌طور روزانه و تا زمانی که سطح محیط کشت تشتک‌های پتری شاهد توسط قارچ به‌طور کامل اشغال شود، اندازه‌گیری شد. در انجام این آزمایش برای هر تیمار ۳ تکرار در نظر گرفته شد. درصد بازدارندگی (IP^1) غلظت‌های مختلف اسانس‌ها با بهره‌گیری از رابطه $IP = C - T/C \times 100$ تعیین شد که در آن C میانگین قطر هاله قارچ در تیمار شاهد و T میانگین قطر هاله قارچ در تیمار مورد نظر است (Amini et al. 2012).

پرورش و هم‌سن‌سازی سوسک زیان‌آور غلات

حشرات کامل سوسک زیان‌آور غلات از دانه‌های گندم آلوده به آفت در دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی مغان جمع‌آوری شدند. برای پرورش حشرات از ظروف استوانه‌ای شکل یک لیتری حاوی دانه‌های گندم (رقم سرداری) استفاده شد. به‌منظور ایجاد تهویه، دهانه ظروف با پارچه توری مسدود شدند. تعداد پنجاه جفت حشره بالغ در هر ظرف پرورشی روی محیط‌های غذایی رها و ۴۸ ساعت بعد از داخل توده‌های غذایی حذف شدند. توده‌های غذایی آلوده به تخم‌های حشره در دمای 27 ± 2 درجه سلیوس و رطوبت نسبی 65 ± 5 درصد به‌مدت ۶ ماه نگه داشته شده و حشرات کامل یک تا سه روزه برای انجام آزمایش‌های زیست‌سنجی انتخاب شدند.

استفاده شد. معنی دار بودن آماری عبارت‌ها در معادله رگرسیونی در سطح اطمینان ۹۵ درصد ($P < 0.05$) بررسی گردید. جهت برازش داده‌ها و رسم نمودارها نیز از نرم‌افزار دیزاین اکسپرت^{۱۱} نسخه ۱۰ (Minnapolis, USA, Statease Inc) استفاده شد.

مدل‌های ریاضی برای هر پاسخ با تجزیه رگرسیون خطی چندگانه ارزیابی شدند. در تحقیق حاضر، به‌منظور تخمین اثر متغیرهای مستقل (غلظت‌های اسانس و زمان‌های در معرض قرارگیری) بر میزان بازدارندگی رشدی قارچ‌های بیماری‌زا، از روش سطح پاسخ و طرح داده‌های واقعی



شکل ۱- سمیت تدخینی و فعالیت بازدارندگی رشدی اسانس آویشن روی سوسک زیان‌آور غلات (A) و قارچ‌های

(B) *graminearum* و (C) *B. cinerea*.

Fig 1. The fumigant toxicity and growth inhibitory effect of *T. vulgaris* essential oil against *R. dominica* (A), *F. graminearum* (B) and *B. cinerea* (C).

جدول ۱- نتایج تجزیہ شیمیایی اسانس آویشن باغی با استفاده از دستگاه گاز کروماتوگرافی-طیف سنج جرمی.

Table 1- Results of the chemical analysis of *Thymus vulgaris* essential oil by Gas Chromatography-Mass spectrometry.

Components	Retention Time (minute)	%
α -Thujene	5.795	0.15
α -Pinene	5.969	0.72
Camphene	6.351	0.5
β -Pinene	7.095	0.13
6-Methyl-5-hepten-2-one b	7.336	0.14
β -Myrcene	7.489	0.81
α -Terpinene	8.220	0.29
o-Cymene	8.466	5.95
1,8-Cineole	8.628	1.22
β -Ocimene	9.152	0.14
γ -Terpinene	9.443	0.31
trans-Sabinene hydrate	9.695	0.13
N,N-Dimethyl benzenamine	10.342	0.24
Linalool	10.691	4.34
Camphor	11.940	0.42
p-Menthan-3-one	12.250	0.22
Borneol	12.600	1.87
L-Menthol	12.800	0.16
Terpinene-4-ol	12.929	0.62
α -Terpineol	13.376	6.64
Geranyl Alcohol	14.450	1.88
1-Methoxys-4-methyl-2-(1-methylethyl) benzene	14.786	2.22
Geraniol	15.219	8.91
Citral	15.646	1.13
p-Propenylanisole	16.008	1.48
Thymol	16.332	12.76
Carvacrol	16.668	27.99
1,2,3,4,4a,5,6,7-Octahydro-4a-methyl naphthalene	17.697	0.23
α -Copaene	18.415	0.15
Geranyl acetate	18.635	7.60
Caryophyllene	19.560	1.73
Germacrene	19.806	0.18
Aromadendrene	20.038	0.13
α -Caryophyllene	20.381	0.12
β -Cubebene	20.621	0.12
α -Amorphene	20.951	0.97
α -Selinene	21.449	0.44
β -Bisabolene	21.727	0.62
δ -Cadinene	22.089	0.92
β -Bisabolene	22.509	0.36
3,7-Dimethyl-2,6-octadienyl ester, (E)-butanoic acid	22.898	0.30
Spathulenol	23.409	0.33
Caryophyllene oxide	23.538	1.26
Geranyl butyrate	23.861	0.46
Eremophilene	24.198	0.22
β -Patchoulene	25.155	0.19
1-Methyl-6-methylenebicyclo[3/2/0]heptane	25.511	0.15
(3S,4R,5S,6R,7S)-Aristol-9-en-3-ol	25.841	0.13
6,10,14-trimethyl-2-Pentadecanone	29.088	0.18
Nonadecane	30.168	0.26
Phytol	34.192	0.14
Isooctyl phthalate	44.302	0.79
Total		99.35

(۷/۶۰ درصد)، آلفا-ترپینئول^{۱۵} (۶/۶۴ درصد)، سایمن^{۱۶}

(۵/۹۵ درصد) و لینالول^{۱۷} (۴/۳۴ درصد) ترکیبات عمدہ موجود در این اسانس هستند. اثر زمان و غلظت‌های مختلف اسانس آویشن باغی در میزان بازدارندگی رشد میسلیمی قارچ‌ها و مرگ‌ومیر حشرات کامل سوسک زیان-آور غلات در شکل ۱ نشان داده شده است. با افزایش غلظت اسانس و زمان در معرض قرارگیری، رشد میسلیمی

نتایج و بحث

نتایج بررسی اجزای شیمیایی اسانس آویشن باغی در جدول ۱ نشان داده شده است. در مجموع، ۵۲ ترکیب در اسانس آویشن باغی شناسایی شد که ۹۹/۳۵ درصد از کل اسانس را شامل می‌شد. تجزیہ شیمیایی اسانس آویشن باغی نشان داد که کارواکرول^{۱۱} (۲۷/۹۹ درصد)، تیمول^{۱۲} (۱۲/۷۶ درصد)، ژرانئول^{۱۳} (۸/۹۱ درصد)، ژرانئیل استات^{۱۴}

15. α -Terpineol
16. o-Cymene
17. Linalool

11. Carvacrol
12. Thymol
13. Geraniol
14. Geranyl acetate

در رشد میسلیومی قارچ های بیمارگر داشته است. بر اساس نتایج جدول ۲، تاثیر فاکتورهای زمان در معرض قرارگیری (A)، غلظت اسانس (B)، و اثرات متقابل آنها (AB) روی مرگومیر سوسک زیان آور غلات از نظر آماری معنی دار بود ($P < 0.01$). همچنین تاثیر فاکتورهای AB^2 و B^3 هم بر مقدار کشندگی معنی داری بود ($P < 0.05$). با توجه به مقادیر مجذور امگا (ω^2) برای دو فاکتور زمان و غلظت اسانس (به ترتیب ۰/۱۸۵ و ۱/۶۰۶) مشخص می شود که بیشترین تاثیر بر مقدار کشندگی توسط فاکتور غلظت اسانس آویشن باغی می باشد که نشان دهنده اهمیت بیشتر آن است. عبارت هایی که اثر آن بر پاسخ معنی دار نبودند، از مدل حذف شدند.

قارچ های بیمارگر کاهش و مرگومیر حشرات کامل سوسک زیان آور غلات افزایش یافته است. نتایج تجزیه واریانس داده های حاصل از اثر بازدارندگی رشد میسلیومی و سمیت تدخینی اسانس آویشن باغی به- ترتیب روی قارچ های *F. graminearum* و *B. cinerea* و سوسک زیان آور غلات در جدول ۲ نشان داده شده است. تاثیر فاکتورهای A (زمان) و B (غلظت اسانس)، AB و B^2 روی بازدارندگی رشد میسلیومی قارچ های بیمارگر از نظر آماری معنی دار بود. مقادیر مجذور امگای (ω^2) اثر دو فاکتور زمان و غلظت اسانس در بازدارندگی رشد میسلیومی قارچ *F. graminearum*، به ترتیب ۰/۴۵۰ و ۶/۹۲۵ برآورد شد. مقادیر مذکور در مورد قارچ *B. cinerea* به ترتیب ۰/۲۰۴ و ۱۱/۷۲۶ بود. لذا، فاکتور غلظت بیشترین تاثیر را

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس داده های حاصل از سمیت تدخینی و اثر بازدارندگی رشد میسلیومی اسانس آویشن باغی روی سوسک زیان آور غلات و قارچ های

B. cinerea و *F. graminearum*

Table 2- Results of the analysis of variance of data on the fumigant toxicity and mycelial growth inhibitory of *T. vulgaris* essential oil against *R. dominica*, *F. graminearum* and *B. cinerea* fungi.

Pathogenic Fungus /Insect pest	Source	df	Mean Square	F value	p-value
<i>R. diominica</i>	Model	5	3696.20	261.23	< 0.0001
	A	1	297.89	21.05	< 0.0001
	B	1	2471.47	174.67	< 0.0001
	AB	1	88.46	6.25	0.0141
	AB^2	1	91.74	6.48	0.0125
	B^3	1	145.86	10.31	0.0018
	Residual	94	14.15		
	Pure Error	75	15.50		
Cor Total	99				
<i>F. graminearum</i>	Model	5	8636.55	105.75	< 0.0001
	A	1	1989.20	24.36	< 0.0001
	B	1	29436.23	360.42	< 0.0001
	AB	1	643.03	7.87	0.0078
	A^2	1	694.74	8.51	0.0058
	B^2	1	9447.86	115.68	< 0.0001
	Residual	39	81.67		
	Pure Error	30	1.92		
Cor Total	44				
<i>B. cinerea</i>	Model	4	7651.94	251.96	< 0.0001
	A	1	426.44	14.04	0.0006
	B	1	22755.16	749.27	< 0.0001
	AB	1	135.54	4.46	0.0409
	B^2	1	7143.75	235.23	< 0.0001
	Residual	40	30.37		
	Pure Error	30	2.30		
	Cor Total	44			

A and B are time (h) and concentration of essential oil (ppm), respectively.

جدول ۳- بهینه‌سازی سمیت تدخینی و اثر بازدارندگی رشدی اسانس آویشن باغی به ترتیب روی سوسک زیان‌آور غلات و قارچ‌های *F. graminearum* و *B. cinerea*

Table 3. Optimization of the fumigant toxicity and the mycelial growth inhibitory effect of *T. vulgaris* essential oil, respectively, against *R. dominica* and *F. graminearum* and *B. cinerea*.

Insect/Pathogenic fungus	Response variable	Time (h)	Concentration (ppm)	Desirability
<i>R. dominica</i>	Mortality (%) = 50	59.00	25.86	100
	Mortality (%) = 72.23	60.00	43.10	0.87
<i>F. graminearum</i>	IP = 50	77.85	193.86	100
	IP = 88.67	88.59	486.67	100
<i>B. cinerea</i>	IP = 50	72.89	161.56	100
	IP = 94.43	74.01	552.96	100

IP is Inhibition Percentage

اسانس آویشن باغی غلظت ۱۹۳/۸۶ پی‌پی‌ام و زمان ۷۷/۸۵ ساعت کافی خواهد بود. برای بازدارندگی ۵۰ درصدی رشد میسلیمی در قارچ *B. cinerea*، غلظت ۱۶۱/۵۶ پی‌پی‌ام و زمان ۷۲/۸۹ ساعت مورد نیاز خواهد بود. با به کارگیری تابع مطلوبیت، غلظت ۴۳/۱۰ میکرولیتر بر لیتر و مدت زمان ۶۰ ساعت به‌عنوان شرایط بهینه برای مرگومیر ۷۲/۲۳ درصدی سوسک زیان‌آور غلات با دقت ۸۷ درصد به‌دست آمد. برای مرگومیر پنجاه درصد جمعیت آفت از اسانس آویشن باغی، غلظت ۲۵/۸۶ میکرولیتر بر لیتر و زمان ۵۹ ساعت کافی خواهد بود.

اثرات ضد قارچی اسانس‌های آویشن روی برخی قارچ‌های بیمارگر توسط برخی محققین مطالعه شده است. برای مثال، فعالیت ضدقارچی اسانس آویشن باغی روی قارچ *Aspergillus niger* بررسی (Moghtader 2012) و نشان داده شد که فعالیت ضدقارچی اسانس آویشن باغی از آنتی-بیوتیک‌های استرپتومایسین سولفات و جنتامایسین بالاتر است. در تحقیقی دیگر، اثرات ضدقارچی اسانس آویشن باغی روی قارچ‌های بیمارگر *Pythium aphanidermatum* و *Fusarium graminearum* *Rhizoctonia solani* و *Sclerotinia sclerotiorum* بررسی شد.

نتایج نشان داد که اسانس مذکور به‌صورت معنی‌داری باعث بادارندگی رشد میسلیمی در قارچ‌های بیمارگر شدند (Amini et al. 2012). نتایج این تحقیقات از نظر داشتن اثرات ضدقارچی اسانس آویشن باغی با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد. همچنین تحقیقات اخیر نشان داده‌اند که اسانس آویشن باغی روی برخی از آفات مهم محصولات کشاورزی سمیت قابل توجهی داشته‌اند. برای مثال، سمیت

با توجه به مقدار ضریب تغییرات و ضرایب خطا، بهترین مدل برای تخمین اثر غلظت‌های اسانس آویشن باغی (B) و زمان (A) روی بازدارندگی رشدی قارچ‌های *F. graminearum* و *B. cinerea* به ترتیب برابر با مدل درجه دوم $-68.844 + 2.115 A + 0.205 B + 5.689E-4 A \times B - 40.58 - 0.310 A + 0.201 B$ و $0.0145 A^2 - 1.713E-4 B^2 + 2.61E-4 A \times B - 1.489E-4 B^2$ است که A و B به ترتیب معادل زمان (h) و غلظت اسانس (ppm) می‌باشد. در حالی که بهترین مدل برازش شده بر مرگومیر حشرات کامل سوسک زیان‌آور غلات مدل درجه سوم $49.64 + 3.97 A + 23.49 B - 1.88 A \times B + 3.26 A \times B^2 - 6.27 B^3$ است.

همان‌طور که در مدل‌های ارائه شده مشاهده می‌شود، ضرایب متغیرهای مستقلی که مثبت هستند، بر افزایش هر یک از متغیرهای نامبرده اثری افزایش‌دهنده در مدل ارائه شده دارند. همچنین علامت منفی متغیرها در مدل، بیانگر اثر کاهش آن متغیر بر مقدار بازدارندگی رشدی قارچ است. نتایج بهینه‌سازی اثر بازدارندگی رشدی اسانس آویشن باغی در رشد میسلیمی قارچ‌های *F. graminearum* و *B. cinerea* و مرگومیر حشرات کامل سوسک زیان‌آور غلات در جدول ۳ نشان داده شده است. بر این اساس، زمان ۸۸/۵۹ ساعت و غلظت ۴۸۶/۶۷ پی‌پی‌ام از اسانس آویشن باغی باعث بازدارندگی رشد میسلیمی در قارچ *F. graminearum* به میزان ۸۸/۶۷ درصد خواهد شد. همچنین برای ۹۴/۴۳ درصد بازدارندگی رشدی در قارچ *B. cinerea* به ترتیب ۷۴/۰۱ ساعت زمان و ۵۵۲/۹۶ پی‌پی‌ام غلظت مورد نیاز است. جدول ۳ برای بازدارندگی ۵۰ درصدی رشد میسلیمی در قارچ *F. graminearum*، از

2015). تحقیقات اخیر نشان داده‌اند که اثرات زیستی اسانس‌های گیاهی ارتباط مستقیمی با ترکیبات عمده موجود در این اسانس‌ها و اثرات سینرژیستی آنها با سایر اجزا دارد (Bakkali et al. 2008, Batish et al. 2008). علاوه بر آن، فعالیت‌های ضدقارچی برخی از ترکیبات ترینی موجود در اسانس‌های گیاهی هم شناسایی شده است (Pina-Vaz et al. 2004, Soković et al. 2008, Pinto et al. 2013). لذا، خواص ضدقارچی اسانس آویشن باغی را می‌توان به وجود چنین ترکیباتی در این اسانس آویشن باغی نسبت داد.

سوسک زیان‌آور غلات و قارچ‌های بیمارگر *Fusarium Botrytis* از جمله عوامل زیان‌آور اقتصادی در جهان و ایران هستند که روی بسیاری از محصولات در حین تولید و روی مواد غذایی پس از برداشت خسارت می‌زنند. در حال حاضر، کنترل این عوامل مخرب با استفاده از سموم شیمیایی انجام می‌گیرد و استفاده از ترکیبات شیمیایی اثرات جانبی متعددی از قبیل آلودگی‌های محیطی و تاثیر روی موجودات غیرهدف را در پی داشته است. از این رو استفاده از ترکیبات جایگزین کم‌خطر و طبیعی در مدیریت آنها ضروری می‌باشد.

در پژوهش حاضر، فعالیت بازدارندگی رشد میسلیمی و سمیت تدخینی اسانس آویشن باغی به ترتیب روی قارچ‌های بیمارگر *F. graminearum* و *B. cinerea* و سوسک زیان‌آور غلات نشان داده شد. علاوه بر آن، اجزای شیمیایی اسانس مذکور با استفاده از دستگاه گاز کروماتوگرافی-طیف‌سنج جرمی شناسایی و با توجه به سایر تحقیقات انجام شده، ارتباط احتمالی این اجزا با فعالیت زیستی اسانس بحث گردید. همچنین نتایج بررسی حاضر نشان داد که روش سطح پاسخ به‌عنوان روشی مناسب در مدل‌سازی و بهینه‌سازی فعالیت ضدقارچی و حشره‌کشی اسانس آویشن می‌تواند مطرح گردد.

سپاسگزاری

نویسندگان مقاله از معاونت محترم پژوهشی و فناوری دانشگاه محقق اردبیلی بابت حمایت مالی از پژوهش حاضر کمال تشکر و قدردانی را دارند.

اسانس آویشن باغی روی شپشه ذرت^{۱۸}، سوسک لوبیا^{۱۹} (Bittner et al. 2008)، سوسک گرده‌خوار کلزا^{۲۰} (Pavela 2011) و شته مومی سبب^{۲۱} (Ateyyat et al. 2012) ثبت شده است. تحقیقات مذکور از نظر ارائه خواص آفت‌کشی اسانس آویشن باغی با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد. با این وجود، سمیت اسانس مذکور برای اولین بار در تحقیق حاضر روی سوسک زیان‌آور غلات ارزیابی شده است. اجزای شیمیایی اسانس آویشن باغی در برخی از تحقیقات گذشته بررسی شده است. برای مثال، تیمول (۴۶/۲ درصد)، آلفا-تریپنین (۱۴/۱ درصد)، پنتا-سایمن (۹/۹ درصد) و آلفا-پینن (۳/۰ درصد) به‌عنوان اجزای اصلی اسانس آویشن باغی از کشور ترکیه معرفی شدند (Özcan and Chalchat 2004).

در تحقیق حاضر هم ترکیبات مذکور در اسانس آویشن باغی بومی منطقه اردبیل شناسایی شدند اما مقدار این ترکیبات با تحقیق بالا متفاوت بود. برای مثال، آلفا-پینن و آلفا-تریپنین به ترتیب ۰/۷۲ و ۰/۲۹ درصد از اسانس را شامل شدند. در تحقیقی دیگر، اجزای شیمیایی اسانس آویشن باغی در مراکش مطالعه شده و کامفور (۳۸/۵۴ درصد)، کامفن (۱۷/۱۹ درصد)، آلفا-پینن (۹/۳۵ درصد)، ۸،۱-سینئول (۵/۴۴ درصد) و بورنئول (۴/۹۱ درصد) به‌عنوان ترکیبات عمده موجود در این اسانس شناسایی شدند (Imelouane et al. 2009). این ترکیبات درصد بسیار پایین‌تری در تحقیق حاضر داشتند. در مقابل ترکیبات دیگری از قبیل کارواکرول، تیمول، ژرانیول، ژرانیل استات و آلفا-تریپینئول اجزای اصلی اسانس آویشن باغی را در تحقیق حاضر به‌خود اختصاص دادند.

بنابراین، علاوه بر نوع ترکیبات، در مقدار ترکیبات شناسایی شده در تحقیق حاضر و نتایج تحقیقات مذکور تفاوت وجود دارد. این تفاوت‌ها ممکن است به دلیل وجود یکسری عوامل تاثیرگذار خارجی و داخلی باشد. از مهمترین این عوامل می‌توان به تغییرات عوامل فصلی و جغرافیایی، محتوای ژنتیکی گیاهان مورد استفاده و مرحله زیستی آنها و روش استخراج اسانس‌ها اشاره کرد (Özgülven et al. 2008, Ben Jemâa et al. 2012, Dokhani et al. 2012, Zandi-Sohani and Ramezani

18. *Sitophilus zeamais* Motschulsky
19. *Acanthoscelides obtectus*
20. *Meligethes aeneus* (F.)
21. *Eriosoma lanigerum* Hausmann

REFERENCES

- Adams RP** (2007) Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry. 4th ed. Allured Publishing Corporation, Carol Stream, USA.
- Amini M, Safaie N, Salmani MJ, Shams-Bakhsh M** (2012) Antifungal activity of three medicinal plant essential oils against some phytopathogenic fungi. *Trakia Journal of Sciences* 10(1): 1-8.
- Ateyyat M, Abdel-Wali M, Al-Antary T** (2012) Toxicity of five medicinal plant oils to woolly apple aphid, *Eriosoma lanigerum* (Homoptera: Aphididae). *Australian Journal of Basic and Applied Sciences* 6(9): 66-72.
- Attia S, Grissa KL, Lognay G, Bitume E, Hance T, Maillieux AC** (2013) A review of the major biological approaches to control the worldwide pest *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) with special reference to natural pesticides. *Journal of Pest Science* 86(3): 361-386.
- Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M** (2008) Biological effects of essential oils – A review. *Food and Chemical Toxicology* 46(2): 446-475.
- Batish DR, Singh HP, Kohli RK, Kaur S** (2008) Eucalyptus essential oil as a natural pesticide. *Forest Ecology and Management* 256(12): 2166-2174.
- Ben Jemâa JM, Haouel S, Bouaziz M, Khouja ML** (2012) Seasonal variations in chemical composition and fumigant activity of five Eucalyptus essential oils against three moth pests of stored dates in Tunisia. *Journal of Stored Products Research* 48: 61-67.
- Bittner M, Casanueva M, Arbert C, Aguilera M, Hernandez V, Becerra J** (2008) Effect of essential oils from plant species against the granary weevils, *Sitophilus zeamais* and *Acanthoscelides obtectus* (Coleoptera). *Chilean Journal of Agricultural Research* 53: 1455-1459.
- Cavalcanti SCH, Niculau ES, Blank AF, Câmara CAG, Araújo IN, Alves PB** (2010) Composition and acaricidal activity of *Lippia sidoides* essential oil against two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae* Koch). *Bioresource Technology* 101(2): 829-832.
- Davari M, Van Diepeningen AD, Babai-Ahari A, Arzanlou M, Najafzadeh MJ, Van der Lee TAJ, de Hoog GS** (2012) Rapid identification of *Fusarium graminearum* species complex using Rolling Circle Amplification (RCA). *Journal of Microbiological Methods* 89(1): 63-70.
- Dean R, Van Kan JAL, Pretorius ZA, Hammond-Kosack KE, Pietro AD, Spanu PD, Rudd JJ, Dickman M, Kahmann R, Ellis J, Foster GD** (2012) The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology* 13(4): 414-430.
- Dokhani S, Durance TD, Cottrell T, Mazza G** (2012) Drying effects on major volatile and phenolic components of *Achillea filipendulina* Lam. *Journal of Essential Oil Bearing Plants* 15(6): 885-894.
- Ebadollahi A** (2018) Fumigant toxicity and repellent effect of seed essential oil of celery against lesser grain borer, *Rhyzopertha dominica* F. *Journal of Essential Oil Bearing Plants* 21(1): 146-154.
- Eren İ, Kaymak-Ertekin F** (2007) Optimization of osmotic dehydration of potato using response surface methodology. *Journal of Food Engineering* 79(1): 344-352.
- Hardman R** (2002) Thyme. 1th ed. CRC Press, London.
- Imelouane B, Amhamdi H, Wathelet JP, Ankit M, Khedid K, Bachiri AE** (2009) Chemical composition of the essential oil of thyme (*Thymus vulgaris*) from Eastern Morocco. *International Journal of Agriculture and Biology* 11: 205-208.
- Javed h, Erum S, Tabassum S, Ameen F** (2013) An overview of medicinal importance of *Thymus vulgaris*. *Journal of Asian Scientific Research* 3(10): 974-982.
- Jeyasankar A, Jesudasan RWA** (2005) Insecticidal properties of novel botanicals against a few lepidopteran pests. *Pestology* 29: 42-44.
- Li Jw, Ding SD, Ding XI** (2007) Optimization of the ultrasonically assisted extraction of polysaccharides from *Zizyphus jujuba*. *Journal of Food Engineering* 80(1): 176-183.
- Moghtader M** (2012) Antifungal effects of the essential oil from *Thymus vulgaris* L. and comparison with synthetic thymol on *Aspergillus niger*. *Journal of Yeast and Fungal Research* 3(6): 83-88.
- Özcan M, Chalchat JC** (2004) Aroma profile of *Thymus vulgaris* L. Growing wild in turkey. *Bulgarian Journal of Plant Physiology* 30(68-73).
- Özgülven M, Şener B, Orhan I, Şekeroğlu N, Kirpik M, Kartal M, Peşin I, Kaya Z** (2008) Effects of varying nitrogen doses on yield, yield components and artemisinin content of *Artemisia annua* L. *Industrial Crops and Products* 27(1): 60-64.
- Pavela R** (2011) Insecticidal and repellent activity of selected essential oils against of the pollen beetle, *Meligethes aeneus* (Fabricius) adults. *Industrial Crops and Products* 34(1): 888-892.
- Pina-Vaz C, Gonçalves Rodrigues A, Pinto E, Costa-de-Oliveira S, Tavares C, Salgueiro L, Cavaleiro C, Gonçalves MJ, Martinez-de-Oliveira J** (2004) Antifungal activity of Thymus oils and their major compounds. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology* 18(1): 73-78.

- Pinto E, Gonçalves MJ, Hrimpeng K, Pinto J, Vaz S, Vale-Silva LA, Cavaleiro C, Salgueiro L** (2013) Antifungal activity of the essential oil of *Thymus villosus* subsp. lusitanicus against *Candida*, *Cryptococcus*, *Aspergillus* and *dermatophyte* species. *Industrial Crops and Products* 51: 93-99.
- Rees D.** (2007) *Insects of stored grain: a pocket reference*. 3th ed. CSIRO Publishing.
- Romanazzi G** (2013) Innovative control strategies for *Botrytis cinerea* in different postharvest fruit system. In *Processing of XVI International Botrytis Symposium*, 72. Locorotondo, Italy.
- Soković M, Glamočlija J, Ćirić A, Kataranovski D, Marin PD, Vukojević J, Brkić D** (2008) Antifungal activity of the essential oil of *Thymus vulgaris* L. and thymol on experimentally induced Dermatofungi. *Drug Development and Industrial Pharmacy* 34(12): 1388-1393.
- Suga H, Karugia GW, Ward T, Gale LR, Tomimura K, Nakajima T, Miyasaka A, Koizumi S, Kageyama K, Hyakumachi M** (2008) Molecular characterization of the *Fusarium graminearum* species complex in Japan. *Phytopathology* 98(2): 159-166.
- Theis N, Lerdau M** (2003) The evolution of function in plant secondary metabolites. *International Journal of Plant Sciences* 164(S3): 93-102.
- Tholl D** (2006) Terpene synthases and the regulation, diversity and biological roles of terpene metabolism. *Current Opinion in Plant Biology* 9(3): 297-304.
- Williamson B, Tudzynski B, Tudzynski P, Van Kan JAL** (2007) *Botrytis cinerea*: the cause of grey mould disease. *Molecular Plant Pathology* 8(5): 561-580.
- Windels CE** (2000) Economic and social impacts of *Fusarium* head blight: changing farms and rural communities in the Northern great plains. *Phytopathology* 90(1): 17-21.
- Zandi-Sohani N, Ramezani L** (2015) Evaluation of five essential oils as botanical acaricides against the strawberry spider mite *Tetranychus turkestanii* Ugarov and Nikolskii. *International Biodeterioration and Biodegradation* 98: 101-106.