فصلنامه‌ی فیزیولوژی و تکنولوژی پس از برداشت فرآورده‌های باغی
سال اول، شماره‌ی دوم، ۱۳۹۱
صص۷۳-۵۵

کاربرد اسانس گیاهان دارویی در کنترل پوسیدگی پس از برداشت توت فرنگی رقم سلوا ناشی از قارچ *Botrytis cinerea*

سمانه محمدی *
کارشناسی ارشد، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد
حسین آرویی
استادیار ، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد
علی تهرانی فر
دانشیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد
وحید جهانبخش
مربی، گروه گیاه پزشکی، دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد

چکیده

به منظور بررسی فعالیت ضد قارچی پنج اسانس گیاه دارویی علیه کپک خاکستری (*Botrytiscinerea*)، آزمایشی به صورت فاکتوریل و در قالب طرح پایه کاملا تصادفی تحت شرایط درون شیشه ای و بر میوه توت فرنگی رقم سلوا اجرا شد. تیمارها شامل ۵ اسانس رازیانه (*Foenicolumvulgare*)، زیره سیاه (*Corumcarvi*)، اسطوخودوس (*Lavandulaofficinalis*)، زردچوبه (*Curcuma longa*) و انیسون (*Pimpinellaanisum*) در ۵ غلظت ۰، ۲۰۰، ۴۰۰، ۶۰۰ و ۸۰۰ میکرولیتر بر لیتر با ۴ تکرار بود. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت اسانس‌های گیاهی، فعالیت ضد قارچی آنها علیه قارچ افزایش می یابد به طوریکه اسانس زیره سیاه در غلظت ۴۰۰ میکرولیتر بر لیتر و بیشتر از آن به طور کامل از رشد کلنی قارچ *B.cinerea* در محیط کشت حاوی PDA جلوگیری کردند و اسانس های زردچوبه و اسطوخودوس فاقد اثرات قارچ کشی بودند. درصد جوانه زنی اسپور قارچ نیز در محیط کشت حاوی اسانس زیره سیاه کمترین و در محیط کشت حاوی زردچوبه و اسطوخودوس بیشترین مقدار اسپور جوانه زده قارچ بود. میوه‌های تیمار شده با اسانس‌ها در غلظت‌های بالاتر دارای ویژگی های کیفی بهتری از جمله دارای مواد جامد محلول، اسیدیته قابل تیتیراسیون، اسید آسکوربیک و آنتوسیانین بیشتر نسبت به شاهد بودند. بنابراین، نتایج نشان داد که اسانس‌ها

* مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی:s.mohammadi35@yahoo.com
تاریخ دریافت: ۱۳ / ۱ / ۱۳۹۱ ، تاریخ پذیرش: ۱۹ / ۹ / ۱۳۹۱

دارای اثرات قوی در کنترل پوسیدگی و باعث حفظ صفات کیفی توت فرنگی در شرایط پس از برداشت می‌شوند.

واژه‌های کلیدی: زیره سیاه، کپک خاکستری، توت فرنگی، آنتوسیانین

مقدمه

با روند فزاینده افزایش جمعیت در جهان، تأمین امنیت غذایی برای این جمعیت مستلزم توسعه بیشتر در بخش کشاورزی خواهد بود. در این راستا استفاده از ارقام باغی و زراعی با عملکرد بالا و پایدار می‌تواند راه‌گشا باشد، اما نباید از کنترل عوامل محدود کننده نیز غافل شد. یکی از مهم‌ترین عوامل محدود کننده تولید و نگهداری محصولات، آفات و بیماری‌ها می‌باشند. امروزه به منظور بالا بردن میزان تولید، نگهداری محصولات گیاهی پس از برداشت از اهمیت و جایگاه ویژه‌ای برخوردار است. بیماری‌های پس از برداشت سالانه خسارت فراوانی به تولیدکنندگان میوه وارد می‌کند و مقادیر قابل توجهی از این محصولات در اثر فساد ناشی از این آلودگی‌ها غیر قابل مصرف می‌شوند (Rahemi., 2005).

توت فرنگی با نام علمی *Fragaria sp.*، از خانواده‌ی رزاسه و با نام انگلیسی Strawberry است. توت فرنگی به دلیل تنفس بالا، مقدار آب زیاد، فعالیت متابولیکی بالا و حساسیت به پوسیدگی‌های میکروبی و قارچی به خصوص کپک خاکستری حاصل از قارچ *Botrytis cinerea* یکی از میوه‌های بسیار فسادپذیر بوده و طول عمر پایینی دارد. که بیش از ۵۰ درصد آن سالانه از بین می‌رود (Asghari Marjanlo, *et al.*, 2008). مصرف سموم شیمیایی، آلودگی آب‌های زیر زمینی، سطحی، جویبارها، رودخانه‌ها، آب‌های آبیاری و ورود سموم مهلک به داخل زنجیره‌های غذایی مورد حمایت آب را به دنبال خواهد داشت. در آلودگی خاک نیز بر هم خوردن تعادل ظریف جمعیت موجودات خاکزی، جذب سموم توسط گیاهان و در نتیجه مسمومیت محصولات کشاورزی حائز اهمیت می‌باشند. همین امر توجه بیشتر مسئولین امر و هر یک از افراد جامعه را به بهینه‌سازی روش‌های کنترل ضایعات از طریق استفاده از نیروهای بالقوه موجود در طبیعت و در نتیجه جایگزینی عوامل و فاکتورهای فاقد زیان برای انسان و محیط زیست به جای سموم شیمیایی را طلب می‌نماید(Farzad., 2003). با توجه به اینکه زمان بین برداشت و مصرف توت فرنگی بسیار کوتاه است، بنابراین کاربرد قارچ کش ها برای

کنترل بیماری ها و حفظ کیفیت آن باید با دقت بیشتری صورت گیرد تا هیچ بقایای شیمیایی مضری در آن باقی نماند (Bautista-Banos, *et al.,* 2004).

یکی از روش‌های نوین مبارزه با آفات و بیماری‌ها، استفاده از عصاره‌های طبیعی گیاهان دارویی و اسانس‌های آن‌ها می‌باشد که اثرات ضد قارچی، باکتریایی، ویروسی و حتی ضد انگلی و آفت‌کشی آن‌ها نیز به اثبات رسیده است. اسانس‌های گیاهی گستره‌ی وسیعی از متابولیت-های ثانویه را شامل می‌شوند که در بیشتر حالات دارای خاصیت ضد میکروبی، آللوپاتی و آنتی اکسیدانی و زیست تنظیمی هستند. از نظر شیمیایی اسانس‌ها، ترکیبات پیچیده‌ای هستند که انواع مختلف مواد شیمیایی شامل هیدروکربن‌ها، الکل‌ها، کتون‌ها، آلدئیدها و غیره در ترکیب آن‌ها وجود دارد (Plotto, *et al.,* 2003).

Bhaskara Reddy و همکاران (1997) اثرات ضد قارچی دو کلونی از گیاه آویشن با نام‌های Laval-1 و Laval-2 روی دو قارچ *B. cinerea* و *R. stolonifer* در میوه‌ی توت فرنگی بررسی کردند. تحقیقات انجام شده بازدارندگی روی قارچ‌های *B. cinerea* و *R. stolonifer*، در دامنه‌ی ۲۶/۵- ۶۳/۵ و ۵/۵- ۵۰/۵ به ترتیب در اسانس Laval-1، موقعی که در غلظتppm ۵۰- ۲۵۰ قرار گرفتند، نشان داد. درحالی‌که دامنه‌ی ۳۶/۹- ۹۰/۵ و ۱۱/۵- ۶۵/۸ درصد به ترتیب در اسانس Laval-2 مشاهده شد. اثرات ضد قارچی هفت اسانس از خانواده‌ی نعناعیان توسط Chebli و همکاران (2003)، روی قارچ *B. cinerea* در محیط کشت مصنوعی بررسی شد. آن‌ها بیان کردند که در بین این اسانس‌ها، اسانس‌های *Origanumcompactum* و *Thymus glandulosus* در غلظت ppm ۱۰۰،اثر بازدارندگی صددرصد روی رشد قارچ *B. cinerea* داشتند. Tian و همکاران (2011)، نشان دادند که اسانس شوید دارای اثر ضد قارچی علیه قارچ‌های *Aspergillusflavus*, *Aspergillusoryzae, Aspergillusniger* و *Alternaria alternate* در شرایط درون شیشه ای و هم روی میوه های گوجه فرنگی بود.

با توجه به پتانسیل بالای اسانس گیاهان دارویی به عنوان ترکیباتی که دارای خواص ضد قارچی بالایی هستند این تحقیق با پنج اسانس گیاهی رازیانه، زیره سیاه، زردچوبه، انیسون و اسطوخودوس علیه قارچ بیماری زای پوساننده میوه توت فرنگی در شرایط درون شیشه ای و طبیعی روی میوه انجام گرفت.

مواد و روش ها

تهیه توت فرنگی، مواد گیاهی و استخراج اسانس ها

میوه توت فرنگی رقم سلوا از گلخانه بهشت در حوالی شهرستان مشهد تهیه گردید. مواد گیاهی گونه های مورد آزمایش شامل بذور زیره سیاه، انیسون و رازیانه، گل های اسطوخودوس و پوست درخت زردچوبه بود که پس از شناسایی، به وسیله آسیاب خرد شده و سپس اسانس آنها به روش تقطیر با آب و به کمک دستگاه کلونجر به مدت سه ساعت استخراج گردید. استخراج اسانس ها برای هر نمونه در سه تکرار و برای هر تکرار ۵۰ گرم نمونه گیاهی استفاده شد. اسانس بدست آمده به وسیله سولفات سدیم خشک، آبگیری و در شیشه های تیره در دمای ۴ درجه سانتی گراد درون یخچال تا زمان آنالیز و آزمون بیولوژیک نگهداری شد.

آنالیز اسانس های گیاهی با دستگاه (GC/MS)

اسانس های مورد استفاده با استفاده از دستگاه گاز کروماتوگرافی(GC) و گاز کروماتوگرافی همراه با طیف سنجی جرمی (GC/MS) آنالیز شد. مدل دستگاه مورد استفاده در آنالیز اسانس ها، شیمادزو سریA_9 ساخت کشور ژاپن، مجهز به ستونDB-5 به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی متر، آشکار ساز FID با دمای ۲۴۰ و دمای محفظه تزریق ۲۲۰ درجه سانتی گراد و گاز حامل هلیوم با درجه خلوص ۹۹/۹۹ درصد بود.

تهیه بیمارگر

سوش خالص قارچ*Botrytis cinerea* از بخش گیاهپزشکی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان خراسان رضوی تهیه شد.

آزمایش اول: شرایط درون شیشه ای

تیمار اسانس ها با غلظت های مختلف روی قارچ *Botrytis cinerea* در شرایط درون شیشه ایبه منظور بررسی میزان تأثیر اسانس های گیاهی مورد آزمایش در ممانعت رشدی ایزوله قارچی، از روش اختلاط اسانس با محیط کشت استفاده شد. به این منظور از اسانس های مورد نظر در محلول توئین ۸۰ (۰/۰۵ درصد) امولسیون تهیه شد و محیط کشت بدون اسانس به عنوان تیمار شاهد در نظر گرفته شد. فلاسک های حاوی محیط کشت PDA به مدت ۲۰

دقیقه در اتوکلاو (دمای ۱۲۱ درجه و فشار ۱/۵ اتمسفر) استریل شد. اسانس ها در غلظت های ۲۰۰، ۴۰۰، ۶۰۰ و ۸۰۰ میکرولیتر بر لیتر به فلاسک های حاوی محیط کشت PDA در دمای ۴۲-۴۵ درجه اضافه و به هم زده شد تا امولسیون یکنواخت به وجود آمد (Oxenham*et al.*,2005). با استفاده از یک چوب پنبه سوراخ کن استریل دیسک هایی به قطر ۵ میلی متر از کشت های ۸ روزه قارچ *B. cinerea* تهیه شد و به صورت معکوس در وسط پتری های محتوی محیط کشت قرار داده شد (Singh, *et al.*, 1980). این بررسی با ۴ تکرار برای هر تیمار و شاهد انجام شد. پتری ها به مدت ۸ روز برای قارچ بوتریتیس در محیطی استریل با درجه حرارت ۲۵- ۲۸ درجه سانتی گراد قرار گرفتند.

ممانعت از جوانه زنی اسپور قارچ

در این بخش مانند قسمت قبل پس از تثبیت دمای محیط کشت استریل PDA، اسانس های مورد آزمایش در غلظت های ۲۰۰، ۴۰۰، ۶۰۰ و ۸۰۰ میکرولیتر بر لیتر به ارلن های حاوی محیط کشت اضافه و پس از ترکیب با محیط کشت به داخل پتری های استریل انتقال یافتند. به منظور تهیه سوسپانسیون اسپوری با غلظت ۱×۱۰^{۵} کنیدی بر میلی لیتر، از کلنی۸ روزه قارچ *B. cinerea* استفاده گردید. در نهایت تعداد اسپورها در هر میلی لیتر توسط لام هموسیتومتر تعیین و سوسپانسیون اسپوری لازم تهیه شد. تعداد اسپور در مربع کوچک هموسیتومتر از فرمول زیر محاسبه شد: $4000000 \times 0.0025\ mm^2$

۱۰ میکرولیتر از سوسپانسیون اسپور قارچ به وسط ظروف پتری حاوی غلظت های مختلف اسانس ها انتقال یافت. سپس پتری ها در محیط استریل با دمای ۲۵- ۲۸ درجه سانتیگراد قرار گرفتند. پس از گذشت ۲۱ ساعت شمارش اسپورهای جوانه زده قارچ *B. cinerea* انجام شد. با قرار دادن پتری ها در زیر عدسی 10X میکروسکوپ، در هر محدوده شمارش تعداد ۱۰۰ عدد اسپور شمارش و تعداد اسپور های جوانه زده و جوانه نزده تعیین و درصد اسپورهای جوانه زده محاسبه گردید (Xu, *et al.*, 2007).

آزمایش دوم: شرایط طبیعی (روی میوه)

تیمار میوه ها با سوسپانسیون قارچ *B. cinerea*

در این قسمت میوه های توت فرنگی رقم سلوا از لحاظ شکل، رنگ، اندازه، عاری بودن از آفات، بیماری ها و صدمات ظاهری جدا شدند. میوه های انتخاب شده با استفاده از محلول

هیپوکلریت سدیم با غلظت ۱۰۰ میکرولیتر بر لیتر به مدت یک دقیقه ضد عفونی گردیدند پس از ضد عفونی، برای آلوده سازی، سوسپانسیون قارچ با غلظت ۱×۱۰^{۵} روی میوه ها اسپری شدند و سپس به مدت ۱/۵- ۲ ساعت در محیط آزمایشگاه قرار گرفتند تا قارچ روی میوه تثبیت شد (Asghari Marjanlo, *et al*., 2008). پس از تثبیت قارچ، اسانس ها در غلظت های مورد نظر روی میوه ی توت فرنگی در محلول مورد نظر تیمار شدند. برای هر تیمار ۴ تکرار و برای هر تکرار ۱۲ میوه استفاده گردید. بعد از آن میوه در ظروف یکبار مصرف دربدار و در یخچال در دمای ۴ درجه سانتیگراد قرار داده شدند. سپس ۱۵ روز بعد از اعمال تیمارها، فاکتورهای کیفی میوه اندازه گیری شد.

خصوصیات کیفی مورد اندازه گیری میوه

میزان مواد جامد محلول با رفرکتومتر دستی اندازه گیری شد. اسیدیته قابل تیتر با استفاده از سود ۰/۱ نرمال تا رسیدن به اسیدیته ۸/۱ اندازه گیری شد (Horwitz., 2000). درصد کاهش وزن میوه ها به صورت اندازه گیری وزن در قبل از تیمار و همچنین پایان آزمایش انجام شد. اسید آسکوربیک با استفاده از روش تیتراسیون با ید در یدور پتاسیم تعیین شد (Horwitz., 2000). میزان آنتوسیانین با استفاده از روش تغییر اسیدیته تعیین شد (Bacchella, *et al.*, 2009). میزان پوسیدگی میوه ها به صورت ظاهری با استفاده از درجه بندی به شرح زیر ارزیابی شد:

۰= میوه سالم، ۱= کمتر از ۱۰ درصد میوه پوسیده، ۲= ۱۱- ۲۰ درصد، ۳= ۲۱-۳۰ درصد، ۴= ۳۱- ۴۱ درصد، ۵= ۴۱- ۵۰ درصد، ۶= ۵۱- ۶۵ درصد، ۷= ۶۵- ۸۰ درصد و ۸= بیش از ۸۰ درصد میوه ها پوسیده باشند (Asghari Marjanlo, *et al*., 2008).

تجزیه و تحلیل آماری

آنالیز آماری و جدول تجزیه واریانس داده ها از نرم افزار Minitab استفاده شد و مقایسه میانگین ها با استفاده از نرم افزار SAS 9.1 با آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال ۰/۰۵ درصد انجام شد.

نتایج

آنالیز اسانس ها با دستگاه (GC/MS)

نتایج حاصل از آنالیز اسانس ها با دستگاه GC/MS به طور کامل در جدول شماره ۱ آورده شده است. هر کدام از این ترکیبات به گروه های مختلف شیمیایی تعلق داشته و خواص شیمیایی مختلفی دارند.

رشد قطری هاله کلنی قارچ B. cinerea

نتایج تجزیه واریانس داده ها نشان داد که نوع اسانس، غلظت و برهمکنش آنها بر رشد قطری قارچ های مذکور معنی دار بود (جدول ۲). بیشترین رشد قطری قارچ *B. cinerea* در محیط کشت حاوی اسانس اسطوخودوس (۵/۳۳ سانتی متر) و کمترین رشد در تیمار اسانس انیسون (۲/۶۷ سانتی متر) مشاهده شد. با افزایش غلظت اسانس میزان رشد قطری قارچ کاهش یافت. نتایج برهمکنش تیمارها نشان داد که در شاهد رشد کامل مشاهده و در محیط کشت حاوی اسانس زیره سیاه، رازیانه و انیسون در غلظت های ۶۰۰ و ۸۰۰ میکرولیتر بر لیتر رشد قطری قارچ مشاهده نشد (شکل ۱).

درصد جوانه زنی اسپور قارچ B. cinerea

نتایج تجزیه واریانس داده ها حاکی از تأثیر معنی دار نوع اسانس و غلظت بر درصد جوانه زنی اسپور قارچ در سطح ۵ درصد بود (جدول ۲). در نمونه شاهد صد در صد جوانه زنی اسپور قارچ و در محیط کشت های غلظت ۸۰۰ میکرولیتر بر لیتر حاوی اسانس رازیانه، زیره سیاه و انیسون بدون جوانه زنی اسپور بودند (شکل ۲). نتایج نشان داد که در محیط کشت حاوی اسانس ها با افزایش غلظت اسانس درصد جوانه زنی اسپور قارچ کاهش یافت.

میزان مواد جامد محلول

میزان مواد جامد محلول تحت تأثیر اثر ساده غلظت های مختلف اسانس ها قرار گرفت و تغییرات معنی داری در سطح احتمال یک درصد در آن ایجاد شد ولی تفاوت معنی داری بین اسانس ها و اثرات متقابل اسانس و غلظت مشاهده نشد (جدول ۳).

نتایج نشان داد که با افزایش غلظت اسانس ها میـزان مـواد جامـد محلـول افـزایش یافـت بطوریکه میوه هـای تیمـار شـده بـا غلظـت ۸۰۰ میکـرو لیتـر برلیتـر دارای بیشـترین میـزان (۱۱/۸۳درجه بریکس) و تیمار شاهد کمترین میزان (۸/۶۲ درجه بریکس) مواد جامد محلول را دارا بود.

اسیدیته قابل تیتراسیون

تیمار میوه ها با اسانس ها و غلظت های مختلف اثر معنی داری در سطح احتمال یک درصد بر میزان اسیدیته قابل تیتر توت فرنگی نشان داد (جدول ۳). میوه های تیمار شده بـا اسـانس زیره سیاه دارای بیشترین میزان اسیدیته قابل تیتر بودند (۰/۹۱ گرم بر ۱۰۰ گـرم وزن تـازه). نتایج برهمکنش داده‌ها نشان داد که اسانس زیـره سـیاه بـا غلظـت ۸۰۰ میکرولیتـر بـر لیتـر بیشترین و تیمار شاهد کمترین میزان اسیدیته قابل تیتر را دارا بودند (شکل ۳).

درجه پوسیدگی

نتایج آنالیز واریانس نشان داد که اثر ساده اسانس و غلظت و همچنین بـرهمکنش تیمارهـا تأثیر معنی داری بر میزان پوسیدگی نرم توت فرنگی دارند (جدول ۳). میوه های تیمار شده بـا اسانس زیره سیاه دارای کمترین میزان پوسیدگی (۱/۵) و تیمار اسانس رازیانه بیشترین میزان پوسیدگی (۲/۷۵) را داشتند. اسانس زیره سیاه با غلظت ۶۰۰ و ۸۰۰ میکرو لیتر بر لیتر و تیمار اسانس رازیانه و انیسون در غلظت ۸۰۰ میکرولیتـر بـر لیتـر دارای بیشـترین تـأثیر در کنتـرل پوسیدگی بودند و فاقد آلودگی در پایان آزمایش بودند (شـکل ۴). میـوه هـای تیمـار شـده بـا غلظت های بالای اسانس های مذکور، پس از ۱۴ روز بدون آلودگی بودند ولی میوه های شاهد به طور کامل آلوده و پوسیده بودند.

درصد کاهش وزن

نتایج تجزیه واریانس داده ها نشان داد که اثر معنـی داری بـین نـوع اسـانس و بـرهمکنش تیمارها بر درصد کاهش وزن میوه ها وجود ندارد ولی بین غلظت های مختلف اسانس ها تفاوت معنی داری مشاهده شد (جدول ۳). تیمار شاهد دارای بیشترین درصد کـاهش وزن (۱۱/۴۶٪) و تیمار غلظت ۶۰۰ میکرو لیتر بر لیتر دارای کمترین درصد کاهش وزن بود (۷/۵۴٪).

میزان آنتوسیانین

نتایج اطلاعات بدست آمده حاکی از آن است کـه تیمارهـا دارای اثـر معنـی دار بـر میـزان آنتوسیانین توت فرنگی بودند (جدول ۳). اسانس انیسون دارای کمترین میزان آنتوسیانین بـود (۲۵/۱۳ میلی گرم بر ۱۰۰ گرم). با افزایش غلظت تا ۶۰۰ میکرولیتر بر لیتر میزان آنتوسـیانین افزایش و بعد از آن کاهش یافت. اسانس زیره سیاه بـا غلظـت ۶۰۰ میکرولیتـر بـر لیتـر دارای بیشترین میزان آنتوسیانین در توت فرنگی های تیمار شده بود (شکل ۵).

میزان اسید آسکوربیک

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که غلظت اسانس ها دارای اثر معنی دار ولی نـوع اسـانس و برهمکنش اسانس و غلظت تأثیر معنی داری بر میزان اسید آسکوربیک نداشتند (جدول ۳). در غلظت ۸۰۰ میکرو لیتر بر لیتر بیشترین میزان اسید آسکوربیک (۳۱/۰۱ میلـی گـرم بـر ۱۰۰ گرم وزن تازه) مشاهده شد.

بحث

همانطور که نتایج نشان داد نوع اسانس و غلظت آنها در کنترل قارچ در شرایط درون شیشه ای و طبیعی روی میوه بر صفات اندازه گیری شده مانند اسیدیته قابل تیتراسیون، آنتوسیانین و میزان پوسیدگی میوه های آلوده به قارچ *B. cinerea* تأثیر معنی دار داشت. نتایج آزمـایش در شرایط درون شیشه ای نشان داد که اسانس زیره سیاه در غلظت های ۴۰۰، ۶۰۰ و ۸۰۰ میکرو لیتر بر لیتر دارای اثرات قارچ کشـی بـالایی بـوده کـه بـا نتـایج Sekine و همکـاران (2007) مطابقت داشت. آنها اعلام کردند که اسانس زیره سـیاه در شـرایط درون شیشـه ای در کنتـرل قارچ های فوزاریوم دارای فعالیت ضدقارچی بالایی بود. که علت تفاوت در فعالیت ضـد قـارچی اسانس های گیاهی را به اجزای تشکیل دهنده آنها وابسته دانستند. نتایج آزمایش نشان داد که محیط کشت حاوی اسانس زیره سیاه، انیسون و رازیانه در غلظت هـای بـالا فاقـد جوانـه زنـی اسپور قارچ بودند.

Bhaskara Reddy و همکاران (1997) گزارش کردند که اسانس ها اثر کشندگی بـر اسـپور قارچ ندارند، بلکه جوانه زنی و رشد میسیلیوم را کاهش می دهند، نتایج این پژوهش نیز نشـان داد که با افزایش غلظت اسانس درصد جوانه زنی اسپور قارچ کاهش یافت. ترکیب غالب اسانس رازیانه آنتول، زیره سیاه کومین آلدهید و انیسون انیس آلدهید می باشد که این ترکیبات طبق

گزارشات قبلی دارای خاصیت ضد قارچی بالایی هستند (Farzad 2003; Sekine, *et al*., Ranjbar, *et al.*, 2007). بنابراین به نظر می رسد اثر ضد قارچی قابل توجه اسانس های زیره سیاه و رازیانه ضمن اینکه تحت تاثیر ترکیب غالب اسانس می باشد، اما اثر تشدید کنندگی بین تمام ترکیب ها فاکتور عمده تعیین کننده فعالیت ضد قارچی بالای اسانس است (Farzad., 2003). میوه های تیمار شده با اسانس دارای اسیدیته قابل تیتر، اسید آسکوربیک، آنتوسیانین، مواد جامد محلول بیشتر و اسیدیته، کاهش وزن و پوسیدگی کمتری بودند که با Asghari Marjanlo و همکاران (2008 و2009) روی میوه توت فرنگی و Maqbool و همکاران (2011) روی میوه موز و پاپایا مطابقت دارد. آنها گزارش کردند که میوه های آلوده به قارچ تیمار شده با اسانس دارای ماندگاری بالا بوده و باعث حفظ کیفیت میوه در طول انبارداری می‌شوند.

Wang و همکاران (2003)، گزارش کردند که میوه های کیوی و رازبری تیمار شده با اسانس دارای میزان پوسیدگی پایین تری نسبت به شاهد بودند. آنها بیان نمودند که اسانس ها علاوه بر اینکه اثر مستقیم بر قارچ دارد باعث تحریک پاسخ دفاعی میوه ها نیز می شود. نتایج پژوهش حاضر نیز نشان داد که میوه های تیمار شده با اسانس زیره سیاه در غلظت های بالا نسبت به تیمار شاهد حدود ۱۰ روز ماندگاری بیشتری داشتند. Serrano و همکاران (2005)، گزارش کردند که انگورهای تیمار شده با تیمول، اوژنول و منتول دارای کاهش وزن کمتری نسبت به شاهد در پایان دوره انبارداری بودند. میوه های توت فرنگی به دلیل مقاومت نفوذی کم پوست و میزان بالای تنفس، به سرعت آب خود را از دست می‌دهند و روند کاهش وزن سریعی دارند(Asghari Marjanlo, *et al.*,2008 & 2009). غلظت بالای اسانس ها (۸۰۰ میکرو لیتر بر لیتر) باعث افزایش درصد کاهش وزن میوه ها شد که با نتایج Asghari Marjanlo و همکاران (2008)، Maqbool و همکاران (2011) مطابقت دارد. آنها گزارش کردند که کاهش وزن به دلیل افزایش شدت تنفس میوه بوده که غلظت بالای اسانس به عنوان یک عامل تنش زا باعث افزایش فعالیت های حیاتی سلول شده و مواد غذایی ذخیره میوه را به مصرف می رساند. میوه های تیمار شده با اسانس انیسون و زیره سیاه دارای بیشترین میزان آنتوسیانین بودند. در طی رسیدن میوه میزان اسیدیته افزایش می‌یابد، که با افزایش میزان اسیدیته آب میوه فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز افزایش می‌یابد که باعث افزایش سریع تخریب آنتوسیانین ها می‌شود. Tian و همکاران (2004) بیان کردند که فعالیت آنزیم پلی فنل

اکسیداز در گوشت گیلاس لاپیز در زمان برداشت پایین بود و با گذشت زمان انبارداری افزایش یافت. که احتمالا علت کاهش آنتوسیانین در طی زمان به تجزیه آن توسط ایـن آنـزیم مربـوط می‌شود.

نتیجه گیری کلی

با توجه به نتایج پژوهش حاضر می توان نتیجه گرفت که تیمار زیره سیاه در غلظت های ۶۰۰ و ۸۰۰ میکرولیتر بر لیتر قویترین اسانس و بدنبال آن اسانس رازیانه و انیسون در غلظت ۸۰۰ میکرولیتر بر لیتر بود که دارای اثرات قابل توجهی در کنترل رشد قارچ بوتریتیس در شرایط درون شیشه ای بودند و اسانس های زردچوبه و اسطوخودوس فاقد اثرات قارچ کشی علیه قارچ مذکور بودند. آزمایش در شرایط طبیعی روی میوه ها نشان داد که تیمار ۶۰۰ میکرولیتر بر لیتر اسانس زیره سیاه بهترین تیمار بوده که دارای کمترین پوسیدگی، اسیدیته و درصد کاهش وزن بوده همچنین بیشترین میزان مواد جامد محلول و آنتوسیانین را داشت. بر این اساس می توان این اسانس را به عنوان قارچ کش طبیعی جایگزین مواد شیمیایی به منظور کنترل بهینه پوسیدگی کپک خاکستری قارچی پس از برداشت در توت فرنگی توصیه کرد.

منابع

Asghari Marjanlo, A., Mostofi, Y., Shoeibi, S., & Maghumi,M., (2008). The Effect Basil oil on Postharvest Decay and Some Quality Factors of Strawberry (Selva). Journal of Medicinal Plants, 8 (28): 130- 139.

Asghari Marjanlo, A., Mostofi, Y., Shoeibi, S., & Fattahi, M., (2009). Effect of Cumin Essential Oil on Postharvest Decay and Some Quality Factors of Strawberry. Journal of Medicinal Plants, 8 (31): 25- 43.

Bacchella, R., Testoni, A., & Lo Scalzo, A., (2009). Influence of genetic and environmental factors on chemical profile and Antioxidant potential of commercial Strawberry (Fragaria×ananassa Duchesne). Electronical Journal of environmental, Agricultural and Food Chemistry, 8 (4): 230-242.

Bautista-Banos, S., Garcia-Dominguez, E., Barrera-Necha, L. L., Reyes-Chilpa, R., & Wilson, C. L., (2004). Seasonal evaluation of the postharvest fungicidal activity of powders and extracts of huamuchil (Pithecellobiomdulce): action against possessing immunomodulatory activity. Journal Phytochemistry, 65: 1983-1992.

Bhaskara Reddy, M. V., Angers, P., & Arul, J., (1997). Characterization and use of essential oil from Thymus vulgaris against Botrytis cinerea and Rhizopusstolonifer in strawberry fruits. Phytochemistry, 8: 1515-1520.

Chebli, B., Achouri, M., Idrissi, H., & Hmamouchi, M., (2003). Chemical composition and antifungal activity of essential oils of seven Moroccan Labiatae against Botrytis cinerea Pers. Journal of Ethnopharmacology, 89: 165–169.

Farzad, S., (2003). Application of essential oils on control of fungi postharvest disease of citrus. M.Sc. thesis, Ferdowsi university of Mashhad. Mashhad, Iran.

Horwitz, W., (1975). Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemist (AOAC). Washington, USA.

Maqbool, M., Ali, A., Peter, G. A., Tengku, M., Mohamed, M., Siddiqui, Y., & Zahida, N., (2011). Postharvest application of gum Arabic and essential oils for controlling anthracnose and quality of banana and papaya during cold storage. Postharvest Biology and Technology.

Oxenham, S. K., Svoboda, K. P., & Walters, D. R., (2005). Antifungal activity of the essential oil of Basil (*Ocimum Basilicum*). Journal Phytopathology, 153: 174 - 80.

Plotto, A., Roberts, R. G., & Roberts, D. D., (2003). Evaluation of plant essential oils as natural postharvest disease control of tomato (Lycopersiconesculentum), Acta Horticulture, 628: 737–745.

Rahemi, M., (2005). Physiology of postharvest (An introduction to the physiology and handling of fruit, vegetables and ornamental plants). Forth Edition, Press Shiraz University, Iran.

Ranjbar, H., Farzane, M., Hadian, J., Mirjalili, M., & Sharifi, R., (2007). The effect of fungicide of some essential oils on strawberry fruit postharvest diseases. Pajouhesh & Sazandegi, 81: 54-60.

Serrano, M., Martinez-Romero, D., Castillo, S., Guillen, F., & Valero, D., (2005). The use of the natural antifungal compounds improves the beneficial effect of MAP in sweet cherry storage. Innovative Food Science and Emerging Technology, 6: 115-121.

Sekine, T., Sugano, M., & Azizi, M., (2007). Antifungal effects of volatile compounds from Black Zira and other spices and Herbs. Journal chemistry Ecology, 33: 2123-2132.

Singh, A., Dikshit, K., Sharma, A., & Dixit, S. N., (1980). Fungitoxic activity of some essential oils.Econ. Bot., 34: 186-190.

Tian, J., Ban, X., Zeng, H., Huang, B., He, J., & Wang, Y., (2011). In vitro and in vivo activity of essential oil from dill (*Anethumgraveolens L.*), against fungal spoilage of cherry tomatoes. Food Control, 22: 1992-1999.

Tian, S., Jiang, A., Xu, Y., & Wang, Y., (2004). Responses of physiology and quality of sweet cherry fruit to different atmospheres in storage. Food chemistry, 87: 43-49.

Wang, C. Y., (2003). Maintaining postharvest quality of raspberries with natural volatile compounds. Postharvest Biology and Technology, 28: 181-186.

Xu, W., Huang, K., Guo, F., Qu, W., Yang, J., Liang, Z., & Luo, Y., (2007). Postharvest grapefruit seed extract and chitosan treatments of table grapes to control Botrytis cinerea. Postharvest Biology and Technology, 46: 86–94.

جدول ۱- نوع و درصد ترکیبات عمده شناسایی شده در اسانس اسطوخودوس، رازیانه، زیره سیاه و انیسون

Table 1-Typical and percentage of major composition in lavender, fennel, black caraway and anis essential oils

%	Retention Index (RI)	Compound	Essential oil
2.1	981	Myrecene	Lavander (*Lavandula officinalis*)
2	1024	Cis- ocimene	
45.2	1089	Linalool	
0.7	1155	Borneol	
9.1	1167	Terpineol-4	
7.5	1178	α -Terpineol	
17.5	1272	Lavandulyl acetate	
0.73	935	α-Thujone	Fennel (*Foeniculum vulgare*)
0.43	981	Myrcene	
2.74	1000	α- Phelandrene	
9.37	1071	Fenchone	
0.54	1016	p-Cymene	
3.51	1221	Estragole	
2.23	975	β-Pinene	
75.15	1279	Anethole	
0.7	975	β- Pinene	Black cumin (*Carum carvi*)
4.5	1000	α- Phelandrene (4.5%)	
4.3	1016	Para- Cymene	
10	1060	Gama- Terpinene	
50	1266	Cumin Aldehyde	
21.8	1181	perill aldehyde	
0.19	939	α- Pinene	
4.3	1163	Estragole	Anis (*Pimpinella anisum*)
2.5	1200	Anisaldehyde	
90.7	1254	Trans-Anethole	
0.3	1778	Trans-Psedoisoeugeuyl 2-methylbutyrate	

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس رشد قطری هاله کلنی قارچ و درصد جوانه زنی اسپور قارچ *B. cinerea*

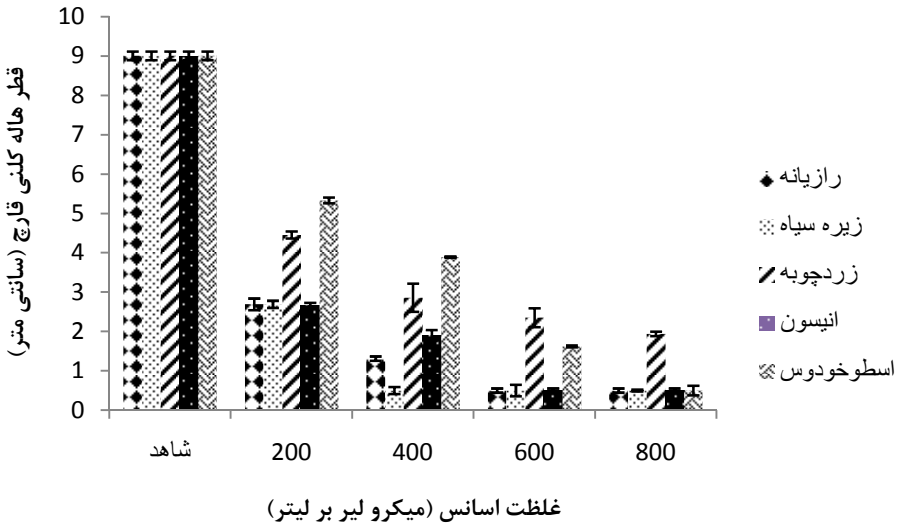
Table 2- Results of analysis of variance mycelial radial growth and spore germination assay of *B. cinerea* fungus

Mean square			
% Spore germination	Radial growth	df	Source of variable
3291.53**	9.9**	4	Essential oil
27900.23**	226.1**	4	Concentration
306.48**	1.77**	16	Interaction
38	0.035	75	Error
		99	Total

جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس صفات کیفی مورد بررسی میوه‌های توت فرنگی آلوده به قارچ *B. cinerea*

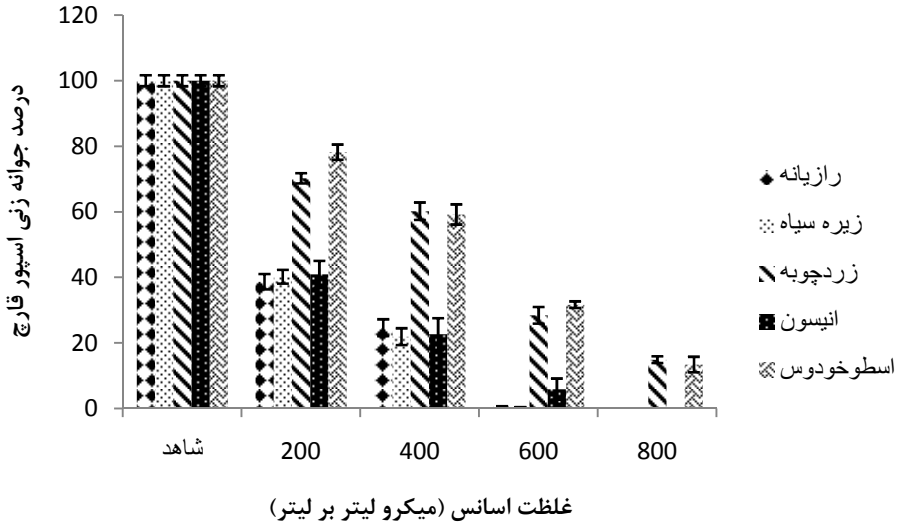
Table 3- Results of analysis of variance quality factors of *B. cinerea*-inoculated strawberry fruits

Mean square							
Anthocyanin	Weight of loss %	Decay	Ascorbic acid	Titrable acidity	Total soluble solids	df	Source of variable
104.08**	۰/۱۶ns	1.02*	0.16ns	0.08**	0.404ns	2	Essential oil
365.07**	۳۸/۷۲**	**	164.03**	0.24**	20.33**	4	Concentration
		131.27					
49.64**	۰/۷۶ns	0.48*	1.38ns	0.01**	0.55ns	8	Interaction
3.39	0.59	0.27	2.52	0.001	0.24	45	Error
						59	Total



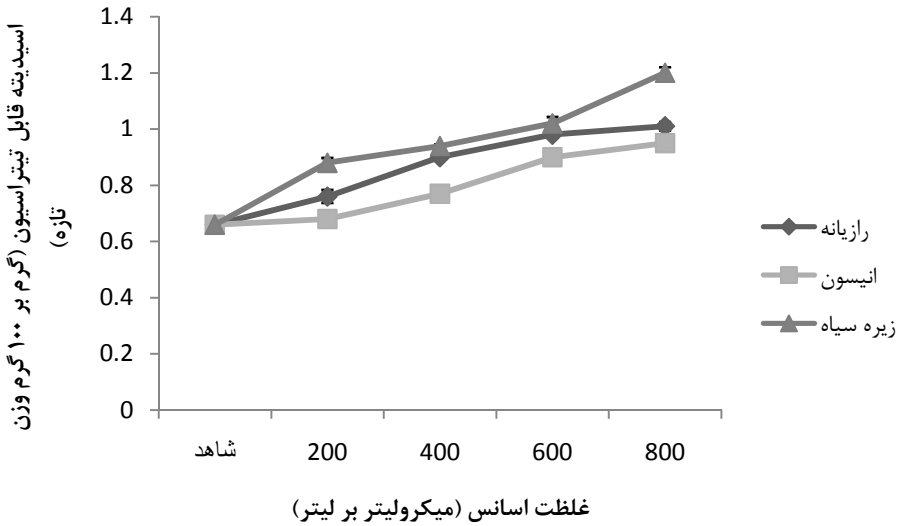
شکل ۱- تأثیر غلظت های مختلف اسانس های مورد آزمایش بر رشد قطری قارچ *B. cinerea*

Fig. 1- Effect of different concentrations of used essential oils on radial growth (cm) of *B. cinerea*



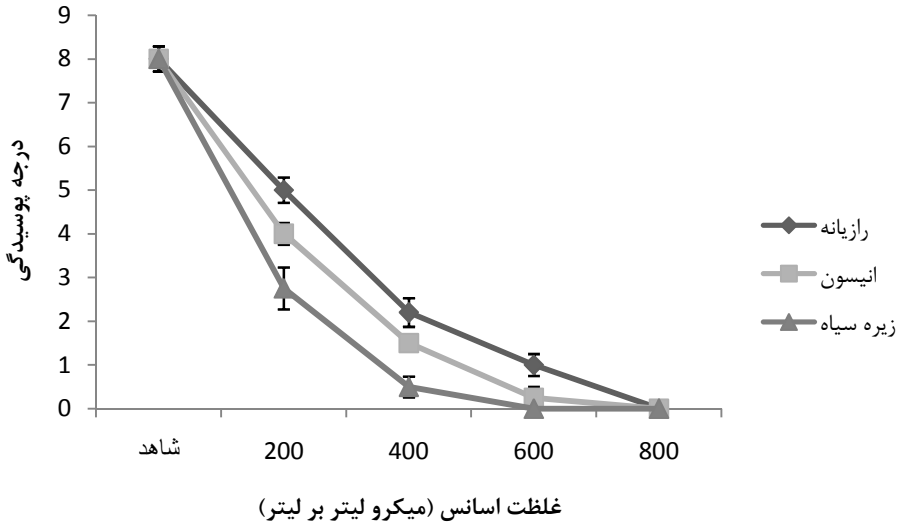
شکل ۲- تأثیر غلظت های مختلف اسانس های مورد آزمایش بر درصد جوانه زنی اسپور قارچ *B. cinerea*

Fig. 2- Effect of different concentrations of used essential oils on spore germination (%) of *B. cinerea*



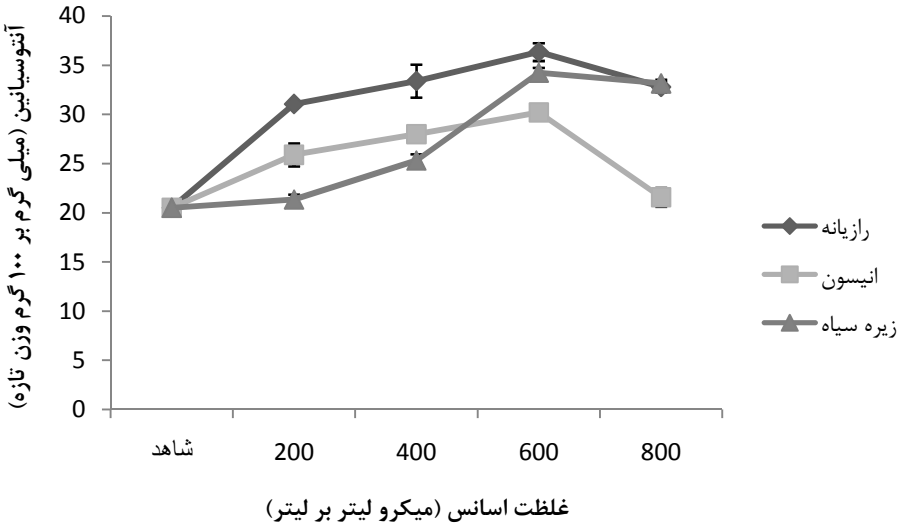
شکل ۳- تأثیر غلظت های مختلف اسانس های مورد آزمایش بر میزان اسیدیته قابل تیتر (گرم بر ۱۰۰ گرم وزن تازه) توت فرنگی رقم سلوا در پایان انبارداری

Fig. 3- Effect of different concentrations of used essential oils on TA (g per 100g fresh weight) of strawberry fruits cv.Selva during storage



شکل ۴- تأثیر غلظت های مختلف اسانس های مورد آزمایش بر درجه پوسیدگی میوه توت فرنگی رقم سلوا در پایان انبارداری

Fig. 4- Effect of different concentrations of used essential oils on decay of strawberry fruits cv.Selva during storage



شکل ۵- تأثیر غلظت های مختلف اسانس های مورد آزمایش بر میزان آنتوسیانین (میلی گرم بر ۱۰۰ گرم) توت فرنگی رقم سلوا در پایان انبارداری

Fig. 5- Effect of different concentrations of used essential oils on anthocyanin (mg per 100g) of strawberry fruits cv.Selva during storage

Postharvest Physiology and Technology of Horticultural Crops
Year 1, No. 2, 2012: 55-73

Application of essential oils in control postharvest decay of strawberry fruit caused by Bottrytis cinerea fungus

S. Mohammadi, H. Aroiee, A. Tehranifar, and V. Jahanbakhsh

Abstract

In order to investigation the effects fungicide of five essential oils against gray mold (*Botrytis cinerea*) an experiment was conducted in a factorial layout based on a completely randomized design in the experimental laboratory *in vitro* and *in vivo* conditions. The treatments were included five essential oils: fennel (*Foenicolum vulgare*), black caraway (*Corum carvi*), anise (*Pimpinella anisum*), turmeric (*Curcuma longa*) and lavander (*Lavandula officinalis*) and five concentrations of essential oils (0, 200, 400, 600 and 800 µL L^{-1}) with four replications. The results *in vitro* showed that black caraway essential oil perfectly inhibited growth of *B.cinerea* fungus at concentration 400 µL L^{-1} and higher than its in PDA medium. Percentage of fungus spore germination was the lowest in medium black caraway essential oil contained and was the highest in turmeric and lavender oils. The results of *in vivo* showed that all of used essential oils at higher concentrations had positive effects on fruit quality characteristics such as total soluble solids, titrable acidity, ascorbic acid and anthocyanin content in comparison to controls. Results of present paper confirmed antifungal effect of essential oils in both *in vitro* and on fruit postharvest.

Keywords: Black caraway, Gray mold, Strawberry, Anthocyanin,