Food Hygiene, Vol. 13, No. 50, Summer 2023

"Research article" **DOI: 10.30495/JFH.2023.1984868.1398**

Induced defense responses and control of blue mold of apple fruit by Zaatar (*Zataria multiflora*) extract

Alimosazadeh, P. [1], Sanei, S.J.[2*], Taheri, A.[3]

1. B.Sc. student, Department of Plant Protection, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran
2. Assistant professor, Department of Plant Protection, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran
3. Associate professor, Department of Plant Protection, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

*Corresponding author: sanei@gau.ac.ir
(Received: 2023/5/5 Accepted: 2023/8/17)

Abstract

Blue mold, caused by *Penicillium expansum*, is considered one of the most serious postharvest diseases of apple fruits. This study was conducted to evaluate the efficacy of thyme methanol extract to control the postharvest blue mold of apple fruit and its possible modes of action through on induction of biochemical defense mechanisms. In this study, the effect of thyme methanol extract was tested on spore germination and colony growth *in vitro* and peroxidase activity and total phenolic in fruit tissue were evaluated by calorimetric assay. The results showed the inhibitory activity of thyme extract on *P. expansum*. The extract with 8-20 µg/ml concentrations had 17-33% and 24-36% inhibition of spore germination and colony growth diameter, respectively. Thyme extract decreased blue mold area by 23.63-61.20% and the most effective extract was at 13.88 mg/ml concentration. The relationship between time and thyme extract concentration in relation to decay area was described by the quadratic model. Fruits treated with thyme extract had significantly higher phenolic content and peroxidase activity than the control fruits. The highest content of phenolic compounds and peroxidase activity were achieved in the 6th and 9th days after inoculation. The results of the induction of resistance in this study suggest that the natural products used have the potential for use in the integrated management of blue mold.

Conflict of interest: None declared.

Keywords: Peroxidase, Total phenol, Blue mold, Apple, Shirazi thyme

«مقاله پژوهشی» DOI: 10.30495/JFH.2023.1984868.1398

القای پاسخ‌های دفاعی و کنترل بیماری کپک آبی میوه سیب توسط عصاره آویشن شیرازی (*Zataria multiflora*)

القای پاسخ‌های دفاعی سیب توسط عصاره آویشن شیرازی

پدرام علی‌موسی‌زاده[۱]، سیدجواد صانعی[۲*]، عبدالحسین طاهری[۳]

۱. دانشجوی کارشناسی، گروه گیاه‌پزشکی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
۲. استادیار گروه گیاه‌پزشکی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
۳. دانشیار گروه گیاه‌پزشکی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
*نویسنده مسئول مکاتبه: sanei@gau.ac.ir

(دریافت مقاله: ۱۴۰۲/۲/۱۵ پذیرش نهایی: ۱۴۰۲/۵/۲۶)

چکیده

کپک آبی (عامل *Penicillium expansum*)، یکی از مهم‌ترین بیماری‌های پس از برداشت میوه سیب در نظر گرفته می‌شود. از این رو کارایی غلظت‌های مختلف عصاره متانولی آویشن شیرازی به‌منظور کنترل بیماری و تاثیر آن بر القای برخی از واکنش‌های دفاعی بافت میوه مورد بررسی قرار گرفت. در این مطالعه، تاثیر عصاره متانولی آویشن شیرازی در شرایط آزمایشگاه بر جوانه‌زنی اسپور و رشد پرگنه کپک بررسی شد و میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز و فنل کل در بافت میوه به روش رنگ‌سنجی صورت گرفت. نتایج نشان داد که عصاره آویشن شیرازی بر قارچ *پنیسیلیوم اکسپنسوم* فعالیت ممانعتی داشته و اضافه نمودن عصاره در غلظت‌های ۲۰-۸ میلی‌گرم/ میلی‌لیتر جوانه‌زنی اسپور و رشد پرگنه قارچ را به‌ترتیب به‌میزان ۳۳-۱۷ و ۳۶-۲۴ درصد کاهش می‌داد. عصاره آویشن شیرازی مساحت لکه پوسیدگی را به میزان ۶۱/۲۰-۲۳/۶۳ درصد کاهش می‌داد و بیشترین تاثیر عصاره در غلظت ۱۳/۸۸ میلی‌گرم/ میلی‌لیتر مشاهده شد. در این رابطه، ارتباط بین زمان و غلظت عصاره با منطقه پوسیدگی به‌صورت مدل درجه دو به‌دست آمد. میوه‌های تیمار شده با عصاره آویشن شیرازی میزان فنل و فعالیت پراکسیدازی بیشتری نسبت به میوه‌های شاهد داشتند. در این رابطه، بیشترین فعالیت آنزیم پراکسیداز و فنل کل در روزهای ششم و نهم بعد از مایه‌زنی عامل بیماری مشاهده شد. نتایج القای مقاومت در این بررسی، پتانسیل فرآورده‌های طبیعی را برای استفاده در مدیریت تلفیقی کپک آبی سیب پیشنهاد می‌کند.

واژه‌های کلیدی: پراکسیداز، فنل کل، کپک آبی، سیب، آویشن شیرازی

مقدمه

میوه‌ها در طول دوره تولید، فروش و توزیع بسته به تکنولوژی مورد استفاده در بسته‌بندی و شرایط انبارداری مانند دما و رطوبت در معرض تنش‌های غیرزنده (محدوده‌ای از عوامل محیطی) و زنده (آفات و بیمارگرهای گیاهی) قرار می‌گیرند. این عوامل از طریق سازوکارهای مختلف باعث کاهش عملکرد می‌شوند (Vico *et al*., 2014; He *et al*., 2019). تنش‌های زنده در صنعت سیب به ویژه در شرایط نامطلوب جمع‌آوری میوه سیب و یا در شرایط نامناسب انبارداری با تولید زهرابه‌های مختلف از جمله پاتولین (Patulin)، به عنوان تضعیف‌کننده سیستم ایمنی و افزایش ریسک ابتلا به سرطان، از اهمیت زیادی برخوردار می‌باشند (Zhong *et al*., 2018; Loncaric *et al*., 2021). نظر به استفاده از برخی میوه‌ها نظیر سیب در تمام طول سال، نیاز این محصول به انبارداری امری اجتناب ناپذیر می‌باشد و خسارت در سطح بالایی ممکن است به آن وارد می‌شود. این گونه خسارت‌ها، اساسا به‌وسیله عوامل قارچی به‌وجود می‌آیند. عوامل قارچی نظیر *Penicillium expansum*، عامل کپک آبی سیب؛ *Botrytis cinerea*، عامل کپک خاکستری سیب و گونه‌های مختلف *Alternaria* زخم‌هایی که در ضمن برداشت و حمل و نقل و فرآوری میوه سیب ایجاد می‌شوند را آلوده می‌کنند و در انبار به میوه خسارت می‌زنند (Spadaro *et al*., 2004; Luciano-Rosario *et al*., 2020). میزان خسارت وارده بر میوه‌ها از مزرعه، انبار و تا مصرف به‌دلیل فقدان امکانات انبارداری مناسب در کشورهای توسعه‌یافته تا ۲۵ درصد و در کشورهای در حال توسعه تا بیش از ۴۶ درصد نیز می‌رسد (Ntasiou *et al*., 2021; Wang *et al*., 2022). از آن‌جایی که میوه‌ها به‌دلیل داشتن ویتامین‌ها، مواد معدنی و ترکیبات آنتی‌اکسیدان بخش مهمی از رژیم غذایی انسان را تشکیل می‌دهند و سلامتی انسان با نوع رژیم غذایی رابطه دارد، غذایی عاری از ریزموجودات مضر و زهرابه‌های تولید شده از اهمیت خاصی برخوردار است (Li *et al*., 2020).

استفاده از قارچ‌کُش‌ها موثرترین و رایج‌ترین روش کنترل برای بیماری‌های بعد از برداشت سیب است، اما نگرانی‌های مربوط به بقایای قارچ‌کش‌ها در محیط و به مخاطره افتادن سلامت انسان از یک طرف و مقاومت عوامل بیماری‌زای پس از برداشت به ترکیبات قارچ‌کش از طرف دیگر، استفاده از روش‌های جایگزین از جمله روغن‌های ضروری، اسید سالیسیلیک و عصاره‌های گیاهی را به منظور اجتناب از بیماری مورد توجه قرار داده است (Haider *et al*., 2020; Magri *et al*., 2023). این ترکیبات به‌عنوان روش‌هایی کم‌زیان و ایمن، به‌عنوان یک مولکول سیگنال‌دهنده طبیعی در فیزیولوژی گیاه به‌ویژه تحریک واکنش‌های دفاعی در میوه‌های برداشت شده علیه عوامل بیماری‌زا نقش دارند (de Capdeville *et al*., 2002; Cindi *et al*., 2016; Shokri *et al*., 2017; Cheng *et al*., 2019).

گیاه آویشن شیرازی با نام علمی *Zattaria multiflora* گیاهی پایا با بوته‌هایی به ارتفاع ۸۰-۴۰ سانتی‌متر، سبز متمایل به سفید و معطر، با ساقه‌های متعدد محکم و مقاوم با پوست خاکستری متمایل به سفید یا کمی متمایل به قهوه‌ای است. برگ آویشن شیرازی کوچک و دارای دمبرگ کوتاه می‌باشد. این گیاه انتشار وسیعی در ایران دارد و اثرات ضدمیکروبی آن به‌ویژه ویژگی ضدقارچی عصاره آن مورد توجه بوده است

(Shokri *et al*., 2017; Karimi and Meiners, 2021). با توجه به اهمیت انبارداری در کنترل قیمت و افزایش حساسیت میوه سیب به قرار گرفتن طولانی‌مدت در انبار، هم‌چنین نظر به جایگاه عصاره‌های گیاهی در فیزیولوژی بعد از برداشت میوه و سبزی، در این مطالعه تاثیر عصاره آویشن شیرازی بر کنترل کپک آبی بعد از برداشت میوه سیب و سازوکار احتمالی آن بررسی شده است.

مواد و روش‌ها

این بررسی در سال ۱۴۰۲ در آزمایشگاه تحقیقات بیماری‌های گیاهی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام شد.

-عامل بیماری و میوه‌های سیب

قارچ *پنیسیلیوم اکسپنسوم* از میوه‌های آلوده سیب جدا و خالص‌سازی شد. این جدایه روی محیط کشت سیب‌زمینی دکستروز آگار (Potato dextrose Agar- PDA, Himedia, india) در دمای ۵ درجه سلسیوس نگه‌داری گردید. به‌منظور تهیه مایه تلقیح بیمارگر، سوسپانسیون اسپور *پنیسیلیوم اکسپنسوم* از کشت ۱۰-۷ روزه روی محیط PDA در ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر استریل تهیه شد. از سوسپانسیون حاصل با استفاده از لام هماسیتومتر و افزودن آب مقطر استریل غلظت مورد نیاز (۱×۱۰^{۵} اسپور/ میلی‌لیتر) به‌دست آمد (Sanderson *et al*., 1995). سیب‌های مورد استفاده در این بررسی، میوه‌های سالم با اندازه یکسان، بدون هر گونه زخم، لهیدگی و یا سوراخ از رقم Golden delicious بوده است که از میدان میوه شهرستان گرگان تهیه شد. میوه‌ها پس از شست‌وشو با آب، به‌مدت یک دقیقه در محلول هیپوکلریت‌سدیم ۰/۱ درصد قرار داده شدند، سپس به‌مدت ۳۰ ثانیه در اتانول ۹۵ درصد ضدعفونی و سرانجام سه بار با آب مقطر سترون آب کشیده شدند.

-تهیه عصاره

با توجه به تاثیر بیشتر عصاره‌های متانولی از فرآورده‌های گیاهی (Gholamnejad, 2017)، پنج گرم از ماده خشک و پودر شده گیاه آویشن شیرازی در ۱۰۰ میلی‌لیتر متانول خالص (Merck, Germany) به‌مدت ۲۴ ساعت خیسانده شد. سپس مخلوط حاصل در یک هاون چینی همگن‌سازی و محلول حاصل صاف و به‌مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ گردید. عصاره متانولی جهت تبخیر متانول در زیر هود لامینار قرار گرفت (Regnier *et al*., 2014).

-تاثیر عصاره گیاه آویشن شیرازی بر کنترل کپک آبی

روی هر سیب در قسمت گوشتی وسط میوه، چاهکی با میخ استریل به قطر ۲/۵ میلی‌متر و به عمق ۳ میلی‌متر زده شد. پس از گذشت یک ساعت و خشک شدن زخم‌ها، چاهک‌ها با ۲۰ میکرولیتر از سوسپانسیون اسپور قارچ مایه‌زنی شدند. به‌منظور بررسی تاثیر عصاره، میوه‌ها با غلظت‌های ۱، ۲، ۴ و ۶ در هزار از محلول‌های تهیه شده از عصاره محلول‌پاشی شدند. به‌منظور حفظ رطوبت لازم، سیب‌ها با پلاستیک پوشانده و به انبارهای مورد نظر با دمای مشخص (۵ درجه سلسیوس) انتقال داده شدند. زخم‌های شاهد با آب استریل تیمار شدند. قطر لکه‌ها هر ۵ روز یک‌بار به‌مدت ۲۰ روز اندازه‌گیری گردید (Smith *et al*., 2013).

-تاثیر ضدقارچی عصاره گیاه آویشن شیرازی در شرایط آزمایشگاه

تاثیر عصاره گیاه آویشن شیرازی بر جوانه‌زدن اسپورهای *پنیسیلیوم اکسپنسوم* در محیط مایع سیب-زمینی دکستروز (Potato dextrose broth- PDB, Himedia, india) بررسی شد. در این رابطه، ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون اسپور بیمارگر (۵×۱۰^{۶} اسپور/ میلی‌لیتر) به لوله‌های شیشه‌ای حاوی ۱۰ میلی‌لیتر محیط PDB اضافه گردید. به‌منظور تاثیر عصاره گیاهی، غلظت‌های ۰ (آب مقطر استریل)، ۱، ۲، ۴ و ۶ در هزار تهیه و محلول‌ها توسط صافی‌های میکرو، سترون شدند. جوانه‌زنی اسپورها پس از ۱۲ ساعت در شرایط تاریکی و دمای ۲۷ درجه سلسیوس مورد بررسی میکروسکوپی قرار گرفت. به‌منظور بررسی تاثیر ضدقارچی عصاره بر رشد میسلیومی، مقادیر مختلف عصاره (۰ الی ۲۰ میلی‌گرم/میلی‌لیتر) به محیط کشت PDA اضافه گردید. برای انجام آزمون، دیسک-های ۵ میلی‌متری از حاشیه پرگنه‌های دو روزه‌ی قارچ رشد کرده روی PDA در مرکز تشتک‌های پتری حاوی محیط کشت PDA دارای مقادیر مختلف عصاره کشت شد. تشتک‌های پتری در شرایط دمایی ۲۷ درجه سلسیوس و تاریکی قرار گرفتند و پس از هفت روز درصد بازدارندگی رشد میسلیومی از فرمول آبوت محاسبه شد (Oroojalian *et al*., 2010):

-اندازه‌گیری میزان فنول کل و تغییرات آنزیم پراکسیداز

آزمایش‌های مربوط به اندازه‌گیری میزان فنل کل و تغییرات آنزیم پراکسیداز در روزهای ۳، ۶، ۹ و ۱۲ روز در تیمارهای مختلف صورت گرفت. برای ارزیابی میزان فنل کل، عصاره به‌دست آمده از له کردن دو گرم میوه سیب (محل مایه‌زنی) در ۱۰ میلی‌لیتر اتانل اسیدی ۱ درصد سرد به‌مدت ۱۰ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. میزان فنول کل با استفاده از معرف فولین- سیوکالتو در طول موج ۷۲۵ نانومتر اندازه‌گیری شد و بر حسب میلی‌گرم اسید گالیک در یک گرم بافت به‌دست آمد (Malencic *et al*., 2007).

به‌منظور اندازه‌گیری میزان آنزیم پراکسیداز، ابتدا در محیط یخ، دو گرم از بافت میوه سیب (از محل مایه‌زنی شده) در ۱۵ میلی‌لیتر بافر فسفات (pH =۷، 0.05M) در یک هاون چینی کاملا له شد. پس از سانتریفیوژ مخلوط حاصل به‌مدت ۱۵ دقیقه با ۱۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز بر اساس روش جیانگ و همکاران (Jiang *et al*., 2002) با استفاده از H_2O_2 و فنیل‌دی‌آمین و تغییرات جذب نور در طول موج ۴۸۵ نانومتر بوده است. مقدار فعالیت آنزیم بر حسب تغییرات جذب نور بر دقیقه بر میلی‌گرم پروتئین (Δ OD/min/mg.protein) بیان شد. میزان پروتئین کل موجود در عصاره‌ی بافت گیاه با استفاده از معرف برادفورد صورت گرفت و میزان جذب در ۵۹۵ نانومتر (محدوده‌ی نور آبی) با استفاده از اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. رسم منحنی استاندارد با استفاده از سرم آلبومین گاوی و محاسبه میزان بر حسب میلی‌گرم در هر گرم بافتِ تر گیاه محاسبه گردید (Bradford, 1976).

-تجزیه‌وتحلیل داده‌ها

مطالعه در چهار تکرار در قالب طرح کاملا تصادفی انجام شد و نتایج به‌دست آمده با روش آنالیز واریانس (ANOVA) مورد تجزیه‌وتحلیل قرار گرفت. مقایسه‌ی میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال

$p\leq$۰/۰۱ انجام شد. تجزیه‌وتحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار R 4.2.1 صورت گرفت و شکل‌ها توسط نرم‌افزار Excell 2007 ترسیم شدند.

یافته‌ها

-تاثیر عصاره آویشن شیرازی بر کنترل کپک آبی

نتایج تجزیه واریانس داده‌های مربوط به تاثیر عصاره آویشن شیرازی بر ایجاد مقاومت در مقابل پوسیدگی نشان می‌دهد که توسعه لکه تحت‌تاثیر زمان، غلظت عصاره و برهم‌کنش زمان × غلظت عصاره است (جدول ۱). اضافه نمودن عصاره با غلظت هشت میلی-گرم/میلی‌لیتر با کاهش ۲۳/۶۳ درصد مساحت لکه پوسیدگی توسط قارچ *پنیسیلیوم اکسپنسوم* همراه بود ($p\leq$۰/۰۵، شکل ۱). با افزایش غلظت عصاره به ۱۵ میلی‌گرم/میلی‌لیتر میزان مساحت لکه پوسیدگی تا ۶۱/۲۰ درصد کاهش می‌یافت. در این رابطه، بیشترین تاثیر عصاره به غلظت ۱۳/۸۸ میلی‌گرم/ میلی‌لیتر مربوط بوده و در غلظت‌های بالاتر میزان تاثیر عصاره تغییر معنی‌داری نداشته است. در این رابطه، مدل درجه دوم $Y= 2094.78 + 72.802T – 413.83C – 7.25 TC + 4.66 T^2 + 18.38 C^2$ با ضریب تعیین ۰/۹۸ و سطح احتمال کمتر از ۰/۰۱ برای تغییرپذیری توسعه لکه بر اساس غلظت عصاره و زمان به‌دست آمد (C، غلظت عصاره؛ T، زمان و Y، مساحت لکه پوسیدگی، شکل ۱).

-تاثیر عصاره بر جوانه‌زدن اسپور و و رشد پرگنه *پنیسیلیوم اکسپنسوم* در شرایط آزمایشگاه

نتایج تجزیه واریانس داده‌های مربوط تاثیر عصاره آویشن شیرازی بر جوانه‌زدن اسپور و رشد پرگنه *پنیسیلیوم اکسپنسوم* نشان داد که جوانه‌زدن اسپور و رشد پرگنه تحت‌تاثیر غلظت عصاره متفاوت است (جدول ۱). اضافه نمودن عصاره در غلظت ۱۰-۸ میلی-گرم/ میلی‌لیتر با کاهش جوانه‌زدن به‌میزان ۱۹-۱۷ درصد همراه بود. افزایش غلظت عصاره در دامنه ۱۲ الی ۲۰ میلی‌گرم/ میلی‌لیتر فاقد تاثیر معنی‌دار بر کاهش جوانه‌زدن اسپور بود. در این دامنه میانگین جوانه‌زدن اسپور کاهش ۳۳ درصدی داشته است (شکل ۲). مدل رگرسیونی $Y= -0.129C^2 – 0.737C + 99.06$ (C، غلظت عصاره و Y، درصد جوانه‌زدن اسپور) با ضریب تعیین ۰/۸۸ و سطح احتمال کمتر از ۰/۰۱ برای تاثیر عصاره آویشن شیرازی بر جوانه‌زدن اسپور *پنیسیلیوم اکسپنسوم* به‌دست آمد. غلظت ۳ میلی‌گرم/ میلی‌لیتر عصاره آویشن شیرازی کمترین غلظت بازدارنده رشد پرگنه قارچ بوده است. میزان ممانعت از رشد پرگنه در این غلظت ۱۱/۵ درصد بود که با افزایش غلظت عصاره به ۲۰ میلی‌گرم/ میلی‌لیتر محیط به حدود ۳۶ درصد می‌رسید (شکل ۲). مدل رگرسیونی $Y= -0.140C^2 + 4.777C - 3.484$ (C، غلظت عصاره و Y، درصد بازدارنده رشد پرگنه) با ضریب تعیین ۰/۹۵ و سطح احتمال کمتر از ۰/۰۱ برای تاثیر عصاره آویشن شیرازی بر رشد پرگنه قارچ مورد بررسی به‌دست آمد.

-تاثیر عصاره بر القای مقاومت

نتایج تجزیه واریانس داده‌های مربوط تاثیر عصاره آویشن شیرازی بر القای مقاومت بافت سیب در منطقه مایه‌زنی نشان می‌دهد که القای مقاومت تحت‌تاثیر زمان، غلظت عصاره و برهمکنش زمان × غلظت عصاره است (جدول ۱). بررسی میزان تغییرات فنول کل در میوه‌های تیمار شده با عصاره نشان داد که میزان فنول کل در

روزهای دوم، چهارم و ششم افزایش می‌یابد، ولی به‌تدریج در روز هشتم کاهش داشته است. این کاهش در روز دهم نیز ادامه داشت (شکل ۳ الف). تاثیر عصاره آویشن شیرازی بر تغییرات آنزیم پراکسیداز بافت سیب در منطقه مایه‌زنی در شکل (۳ب) آمده است. نتایج نشان داد که فعالیت آنزیم در روز سوم در سیب‌های آلوده تیمار شده با عصاره در مقایسه با سیب‌های آلوده و سالم شاهد بیشتر بوده است. این افزایش در روز چهارم ادامه داشت و در روز ششم بیشترین میزان فعالیت آنزیم در تیمارهای مربوط به عصاره مشاهده شد. در روز هشتم فعالیت آنزیم کاهش یافت و روند کاهش فعالیت آن تا روز دهم ادامه پیدا کرد (شکل ۳ب).

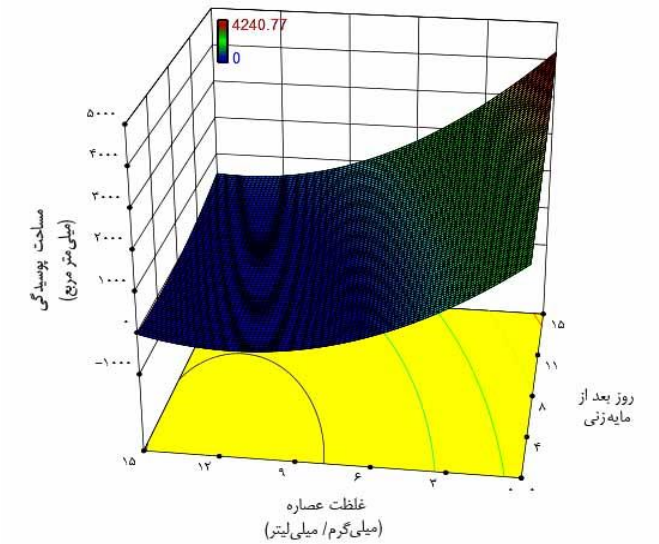
جدول (۱)- جدول تجزیه واریانس مربوط به میانگین مربعات تاثیر غلظت‌های مختلف عصاره آویشن بر القای پاسخ‌های دفاعی و کنترل بیماری کپک آبی میوه سیب

منبع تغییرات	جوانه‌زنی اسپور[a]	کاهش رشد پرگنه[a]	مساحت پوسیدگی[b]	فنل کل[b]	فعالیت پراکسیداز[b]
غلظت عصاره	۹۷۵/۰^{*c}	۸۶۲/۶**	۲۵۷۲۲۷۶۰*	۰/۱۹۲۱**	۰/۲۰۵۰*
زمان	–	–	۲۶۳۲۵۸*	۰/۴۴۰۹*	۰/۴۶۰۲*
غلظت عصاره × زمان	–	–	۶۷۷۱۹*	۰/۰۵۸۹*	۰/۰۶۶۴*
باقیمانده	۲۴/۶	۴/۴	۲۵۹۶۶	۰/۰۰۲۵	۰/۰۰۳۴
ضریب تغییرات	۶/۰۲	۱۰/۰۴	۱۱/۲۸	۹/۸۴	۱۱/۴۹

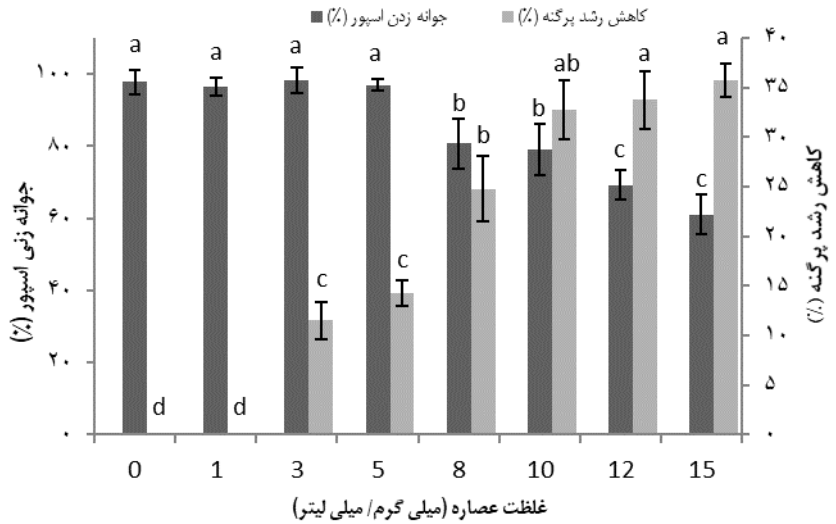
a درجه آزادی به‌ترتیب ۸، ۰، ۰ و ۲۷

b درجه آزادی به‌ترتیب ۵، ۳، ۱۵ و ۴۸

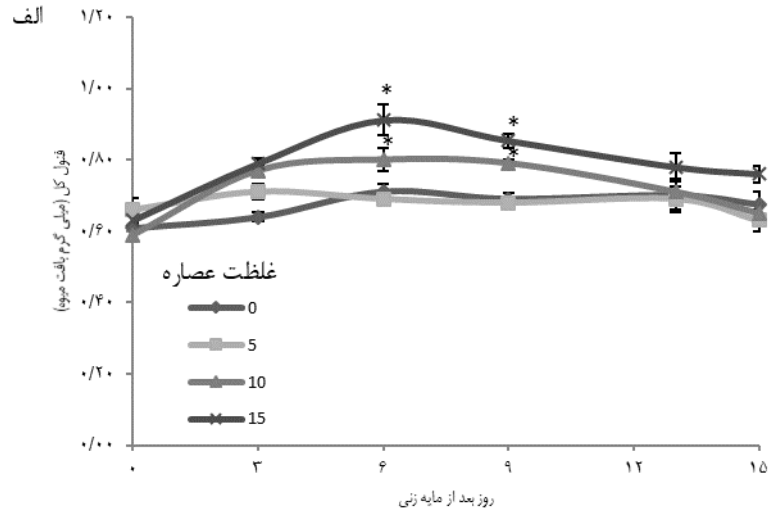
c **= سطح احتمال یک درصد؛ *= سطح احتمال پنج درصد

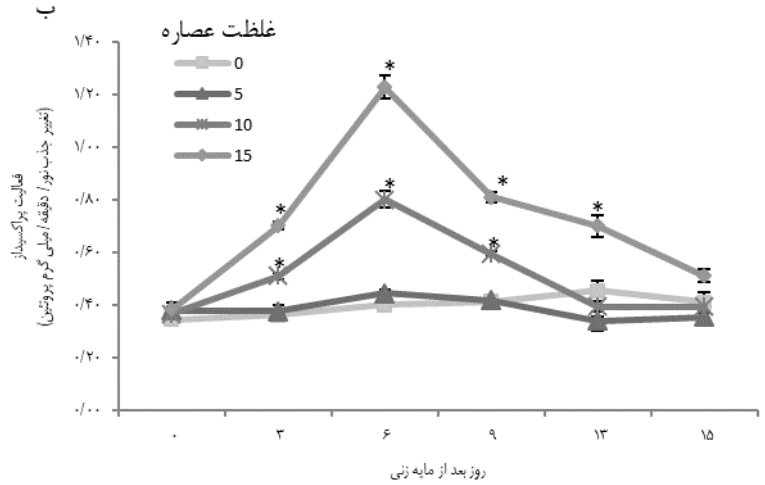


شکل (۱)- تاثیر غلظت‌های مختلف عصاره آویشن و زمان بعد از مایه‌زنی *پنیسیلیوم اکسپنسوم* بر کنترل بیماری کپک آبی میوه سیب



شکل (۲)- تاثیر غلظت‌های مختلف عصاره آویشن بر درصد جوانه‌زنی اسپور و کاهش رشد پرگنه *پنیسیلیوم اکسپنسوم* ستون‌ها با حداقل یک حرف مشابه بیانگر فقدان اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون LSD در سطح $p\leq ۰/۰۵$ است





شکل (۳)- تاثیر غلظت‌های مختلف عصاره آویشن بر مقدار فنول کل (الف) و فعالیت پراکسیداز (ب) در منطقه مایه‌زنی شده میوه سیب. خطوط عمودی انحراف معیار هر میانگین را نشان می‌دهد. میانگین‌های ستاره‌دار بیانگر اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون LSD در سطح $p\leq ۰/۰۵$ است

بحث و نتیجه‌گیری

امروزه به‌دلیل توجه ویژه به سلامتی انسان و محیط زیست، هم‌چنین مقاوم شدن برخی از جدایه‌های عوامل بیماری‌زای پس از برداشت به سموم، انگیزه‌ها برای یافتن روش‌های جایگزین برای سموم بسیار بیشتر شده است (۷). استفاده از عصاره‌های گیاهی به‌دلیل خاصیت تجزیه‌پذیری در طبیعت، سمیت پایین آن‌ها برای انسان و سایر پستانداران، هم‌چنین اثرات مخرب کمتر آن‌ها بر محیط‌زیست، به‌تنهایی و یا در تلفیق با سایر روش‌های کنترل بیماری، آینده امیدوارکننده‌ای از خود نشان داده است (Terry *et al*., 2004).

تیمول و کارواکرول از اجزای ضدمیکروبی بسیار موثر در عصاره‌های گیاهی از جمله عصاره آویشن شیرازی هستند. این دو ترکیب از نظر شیمیایی بسیار مشابه و تنها در جایگاه گروه هیدروکسیل متفاوت هستند. این دو ترکیب با نفوذپذیر نمودن غشای سلول و کلاته شدن با کاتیون‌های سطح غشا، فعالیت‌های حیاتی را مختل می‌کنند (Shokri *et al*., 2017). گزارش‌های متعدد تاثیر ضدقارچی عصاره آویشن شیرازی را در محیط کشت بر گونه‌های مختلف *Aspergillus*، *Botrytis cinerea*، گونه‌های مختلف *Candida*، *Fusarium graminearum*، گونه‌های مختلف *Malassezia*، *Penicillium citrinum*، *Pythium aphanidermatum*، *Rhizoctonia solani*، *Rhizopus stolonifer*، *Saprolegnia parasiticus* و *Sclerotinia sclerotiorum* نشان داده است (Gandomi *et al*., 2010; Tobudic *et al*., 2010; Amini *et al*., 2012; Khosravi *et al*., 2012; Mohammadi-Pourfard and Kavoosi, 2012; Noori *et al*., 2012; Naseri *et al*., 2015; Gholamnejad, 2017). این مطالعه نیز اثر ضدقارچی عصاره آویشن شیرازی را در محیط کشت علیه جوانه‌زدن اسپور و رشد میسلیومی قارچ *پنیسیلیوم اکسپنسوم* نشان داد (شکل ۲).

علیرغم مطالعات متعدد از تاثیر ضدقارچی عصاره‌های گیاهی در محیط کشت و به‌ویژه تاثیر آن بر رشد پرگنه قارچ، بررسی‌های محدود تاثیر ضدقارچی عصاره را بر روی گیاه نشان می‌دهد (Cindi *et al.*, 2016; Gholamnejad, 2017). در این مطالعه، جوانه‌زنی اسپور و رشد پرگنه *پنیسیلیوم اکسپنسوم* در محیط کشت و مساحت لکه پوسیدگی روی میوه سیب با افزایش غلظت عصاره به هشت میلی‌گرم/ میلی‌لیتر و بالاتر به‌طور معنی‌داری تحت‌تاثیر قرار می‌گرفت ($p\leq 0.05$، شکل ۱)، اما نتایج تاثیر غلظت‌های مختلف عصاره در محیط کشت با روی میوه هماهنگ نبوده است (شکل ۱ و ۲). تاثیر متفاوت ترکیبات شیمیایی روی *پنیسیلیوم اکسپنسوم* در محیط کشت و روی میوه‌ی سیب در نتایج ال‌غوث و همکاران (El-Ghaouth *et al.*, 2000) نیز مشاهده می‌شود. این مشاهده‌ها بیان‌کننده آن است که نتایج مطالعات انجام شده در محیط درون شیشه همواره با وضعیت گیاه مطابقت ندارد و ممکن است تاثیر القایی عصاره را بر کنترل فعالیت بیمارگر و توسعه بیماری نشان دهد (Ntasiou *et al.*, 2021).

گیاهان با راهبردهای دفاعی از جمله تولید ترکیبات ضدمیکروبی مانع از تهاجم عامل بیماری‌زا می‌شوند. گزارش‌های متعدد نقش دفاعی آنزیم پراکسیداز و میزان فنول کل را بر کاهش رشد و اسپورزایی بیمارگرهای مختلف نشان داده است (Droby *et al.*, 2003). تحریک مقاومت به بیماری در ارتباط با واکنش سریع دفاعی از جمله افزایش ترکیبات فنولی و افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز علیه مراحل مختلف ورود بیمارگر پیشنهاد شده است (Jiang *et al.*, 2002). تجمع ترکیبات فنولی در محل آلودگی توقف و یا کُند شدن رشد عامل بیماری‌زا به همراه دارد. تنش‌های شیمیایی، مکانیکی و یا زیستی سوخت‌وساز ترکیبات فنولی را در میوه سیب تغییر می‌دهند (Fajardo *et al.*, 1998).

یکی از سازوکارهای عصاره‌های گیاهی در کنترل بیماری‌های بعد از برداشت تحریک واکنش‌های بیوشیمیایی بافت میزبان گیاهی علیه عوامل بیماری‌زا می‌باشد. نتایج این بررسی نشان می‌دهد که عصاره آویشن شیرازی به‌عنوان محرک مناسب در القا و سنتز آنزیم پراکسیداز و مقدار فنول کل می‌باشد و افزایش واکنش‌های مرتبط با دفاع گیاه علیه ورود و استقرار بیمارگر را به همراه دارد. تغییر در واکنش‌های دفاعی از توسعه عامل بیماری به قسمت‌های دیگر گیاه جلوگیری می‌نماید.

نتیجه این پژوهش نشان داد که عصاره آویشن شیرازی اثر بازدارنده‌ای بر فعالیت قارچ *پنیسیلیوم اکسپنسوم* در محیط کشت دارد و با القای مقاومت، از توسعه پوسیدگی میوه‌های سیب در طی دوره انبارداری ممانعت می‌کند. بنابراین، از این تیمار می‌توان جهت کنترل پوسیدگی و بازارپسندی محصول استفاده کرد.

تعارض و منافع

نویسندگان تعارض منافعی برای اعلام ندارند.

منابع

- Amini, M., Safaie, N., Salmani, M.J. and Shams-Bakhsh, M. (2012). Antifungal activity of three medicinal plant essential oils against some phytopathogenic fungi. Trakia Journal of Sciences, 10: 1-8. [In Persian].
- Bradford, M.M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. Analytical Biochemistry, 72: 248-254.
- Cheng, H., Mou, Z., Wang, W., Zhang, W., Wang, Z. and Zhang, M. (2019). Chitosan-catechin coating as an antifungal and preservable agent for postharvest Satsuma oranges. Journal of Food Biochemistry, 43:e12779.
- Cindi, M.D., Sivakumar, D., Romanazzi, G. and Soundy, P. (2016). Differential defense responses and brown rot control after essential oil fumigation in two Prunus persica cultivars during storage. Postharvest Biology and Technology, 19: 9-17.
- De Capdeville, G., Beer, S.V., Wilson, C.L., and Aist, J.R. (2002). Alternative disease control agents induce resistance to blue mold in harvested red delicious apple fruit. Phytopathology. 92: 900-908.
- Droby, S., Wsiniewski, M., Ei-Ghaouth, A. and Wilson, C. (2003). Biological control of postharvest diseases of fruits and vegetables: current achievements and future challenges. Acta Horticulture, 628: 703-713.
- El-Ghaouth, A., Wilson, C.L. and Wisniewski, M. (2003). Control of postharvest decay of apple fruit with Candida saitoana and induction of defense responses. Phytopathology, 93: 344-348.
- El-Ghaouth, A., Smilanick, J.L., Wisniewski, M. and Wilson, C.L. (2000). Improved control of apple and citrus fruit decay with a combination of Candida saitoana and 2-deoxy-D-glucose. Plant Disease, 84: 249-253.
- Fajardo, J.E., McCollum, T.G., McDonald, R.E. and Mayer, R.T. (1998). Differential induction of proteins in orange Flavedo by biologically based elicitors and challenged by Penicillium digitatum Sacc. Biological Control, 13:143-151.
- Gandomi Nasr-Abadi, H., Misaghi, A., Akhoundzadeh Basti, A. and Khosravi, A.R. (2008). Effects of Zataria multiflora Boiss essential oil on Aspergillus flavus. Journal of Medical Plants. 7: 45-451. [In Persian].
- Gholamnejad, J. (2017). Effect of plant extracts against apple gray mold caused by Botrytis cinerea. Applied Microbiology in Food Industries, 3: 53-66.
- Gholamnejad, J., Etebarian, H.R. and Sahebani N. (2010). Biological control of apple blue mold with Candida membranifaciens and Rhodotorula mucilaginosa. African Journal of Food Science, 4: 1-7.
- Haider, S.A., Ahmad, S., Khan, A.S., Anjum, M.A., Nasir, M. and Naz, S. (2020). Effects of salicylic acid on postharvest fruit quality of “Kinnow” mandarin under cold storage. Scientia Horticulturae, 259: 108843.
- Hasani, A., Jalili Marandi, R. and Ghosta, Y. (2009). Use of essential oils in control of grey mold (Botrytis cinerea) infection in of pear fruits. Iranian Journal of Horticultural Science 2009; 40: 85-94.
- He. J.H., Ma, L.J., Wang, D.J., Zhang, M.Y. and Zhou, H.L. (2019). Ferulic acid treatment reinforces the resistance of postharvest apple fruit during gray mold infection. Journal of Plant Pathology, 101: 503-511.
- Jiang, A.L., Tian, S.P. and Xu, Y. (2002). Effects of controlled atmosphere with high CO2 concentartions on post-harvest physiology and storability of napoleon sweet cherry. Acta Botanica Sinica, 44: 925-930.
- Karimi, A. and Meiners, T. (2021). Antifungal activity of Zataria multiflora Boiss. Essential oils and changes in volatile compound composition under abiotic stress conditions, Industrial Crops and Products, 171: 113888.
- Khosravi, A.R., Shokri, H., Sharifrohani, M., Ebrahimzadeh Mousavi, H. and Moosavi, Z. (2012). Evaluation of the antifungal activity of Zataria multiflora, Geranium herbarium, and Eucalyptus camaldolensis essential oils on Saprolegnia parasitica-infected rainbow trout (Oncorhynchus mykiss) eggs. Foodborne Pathogen Disease, 9: 674-679.

- Li, S., Jiang, H., Wang, Y., Lyu, L., Prusky, D. and Ji, Y. (2020). Effect of benzothiadiazole treatment on improving the mitochondrial energy metabolism involved in induced resistance of apple fruit during postharvest storage. Food Chemistry, 302:125288.
- Loncaric, A., Sarkanj, B., Gotal, A.M., Kovač, M., Nevistić, A., Fruk, G., Skendrović Babojelić, M., Babić, J., Miličević, B. and Kovač, T. (2021). Penicillium expansum Impact and patulin accumulation on conventional and traditional apple cultivars. Toxins (Basel), 4; 13(10):703.
- Luciano-Rosario, D., Keller, N.P. and Jurick, W.M. (2020). Penicillium expansum: biology, omics, and management tools for a global postharvest pathogen causing blue mold of pome fruit. Molecular Plant Pathology, 21; 1391-1404.
- Magri, A., Curci, M., Battaglia, V., Fiorentino, A. and Petriccione, M. (2023). Essential oils in postharvest treatment against microbial spoilage of the Rosaceae family fruits. Applied Chemistry, 3: 196-216.
- Malencic, D., Popovic, M. and Miladinovic, J. (2007). Phenolic content and antioxidant properties of soybean (Glycine max (L.) Merr.) Seeds. Molecules, 12: 576-581.
- Mohammadi-Pourfard, A., and Kavoosi, G. (2012). Chemical composition, radical scavenging, antibacterial and antifungal activities of Zataria multiflora Bioss essential oil and aqueous extract. Journal of Food Safety, 32: 326-32.
- Naseri, M., Arouiee, H., Golmohammadzadeh, S., Jaafari, M.R. and Neamati, H. (2015). Antifungal effects of Zataria multiflora essential oil on the inhibitory growth of some postharvest pathogenic fungi. Notulae Scientia Biologicae, 7: 412-416.
- Noori, N., Yahyaraeyat, R., Khosravi, A.R., Atefi, P., Akhondzadeh Basti, A., and Akrami, F. (2012). Effect of Zataria multiflora Bioss. Essential oil on growth and citrinin production by Penicillium citrinum in culture media and mozzarella cheese. Journal of Food Safety, 32: 445-451.
- Ntasiou, P., Samaras, A., Karaoglanidis, G. (2021). Apple fruit core rot agents in Greece and control with succinate dehydrogenase inhibitor fungicides. Plant Disease, 105: 3072-3081.
- Oroojalian, F., Kasra-Kermanshahi, R., Azizi, M. and Bassami, M.R. (2010). Phytochemical composition of the essential oils from three Apiaceae species and their antibacterial effects on food-borne pathogens. Food Chemistry, 120: 765-770.
- Regnier, T., Combrinck, S., Veldman, W. and Duplooy, W. (2014). Application of essential oils as muti-target fungicides for the control of Geotrichum citri- aurantii and other postharvest pathogens of citrus. Industrial Crops and Products, 61: 151-159.
- Sanderson, P.G. and Spotts, R.A. (1995). Postharvest decay of winter pear and apple fruit caused by species of Penicillium. Phytopathology, 85: 103-110.
- Shokri, H. and Sharifzadeh, A. (2017). Zataria multiflora Boiss. A review study on chemical composition, antifungal and anti-mycotoxin activities, and ultrastructural changes. Journal of Herbmed Pharmacology, 6: 1-9.
- Smith, K., SHewfeltoK, R.L., Maclcan, D.D. and Mehra, l.K. (2013). Effect of postharvest biofumigation on fungal decay, sensory quality, and antioxidant levels of blueberry fruit. Postharvest Biology and Technology, 85: 109-115.
- Spadaro, D. and Gullino, M.L. (2004). State of the art and future prospects of the biocontrol of postharvest fruit diseases. International Journal of Food Microbiology, 91: 185-194.
- Terry, L.A. and Joyce, D.C. (2004). Elicitors of induced disease resistance in postharvest horticultural crops: a brief review. Postharvest Biology and Technology, 32: 1-13.
- Tobudic, S., Kratzer, C. and Presterl E. (2010). Azole-resistant Candida spp.-emerging pathogens? Mycoses, 55: 24-32.
- Vico, I., Duduk, N., Vasić, M. and Nikolić, M. (2014). Identification of Penicillium expansum causing postharvest blue mold decay of apple fruit. Pesticides and Phytomedicine, 29: 257-266.
- Wang, X., Zhang, X., Sun, M., Wang, L., Zou, Y., Fu, L., Han, C., Li, A., Li, L., Zhu, C. (2022). Impact of vanillin on postharvest disease control of apple. Frontiers in Microbiology, 13:979737.

- Zhong, L., Carere, J., Lu, Z., Lu, F. and Zhou, T. (2018). Patulin in apples and apple-based food products: The burdens and the mitigation strategies. Toxins, 10:475.