اثر کاربرد پس از برداشت برخی اسانس های گیاهی و اسید سالیسیلیک بر کنترل پوسیدگی قارچی پنی سیلیومی و طول عمر انباری پرتقال خونی رقم سانگوئینلا در طول انبارداری

عبدالعلی حسامی۱*، مرضیه نادری۲ و فاطمه جمالی۳

۱- *نویسنده مسئول، استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشگاه خلیج فارس، بوشهر، ایران

پست الکترونیک: Alihesami4400@yahoo.com، تلفن: 09171770740

۲- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم باغبانی، دانشگاه خلیج فارس، بوشهر، ایران

۳- استادیار، گروه اصلاح نباتات، دانشگاه خلیج فارس، بوشهر، ایران

چکیده

طی این پژوهش به بررسی اثر تیمارهای پس از برداشت در کاهش ضایعات میوه پرتقال خونی رقم ساتگولینلا پرداخته شد یکی از اهداف این پژوهش بررسی اثر اسانس های گیاهی و اسید سالسیلیک بر رشد دو گونه قارچ در شرایط درون شیشه ای بود. این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملا تصادفی با چهار تکرار اجرا شد . فاکتورهای آزمایش شامل نوع ماده ضد قارچ (رازیانه، زیره، میخک، اکالیپتوس و آویشن شیرازی و اسید سالیسیلیک)، گونه قارچ (*Pencillium digitatum* و *Pencillium italicum*) و غلظت (۰، ۴۰۰، ۷۰۰ و ۱۰۰۰ میکرولیتر در لیتر برای اسانس و ۰، ۱، ۲,۵ و ۴ میلی مولار برای اسید سالسیلیک) بود. نتایج آزمایش نشان داد اسانس های میخک، آویشن شیرازی و زیره سبز در غلظت مشابه ۱۰۰۰ میکرو لیتر در لیتر بیشترین اثر بر کاهش رشد قارچ نشان دادند در حالی که اسید سالسیلیک و اسانس های اکالیپتوس و رازیانه تاثیر ناچیزی داشتند . بر اساس نتایج این آزمایش، تیمارهای برتر اسانس و اسید سالسیلیک به ترتیب در غلظت های ۱۰۰۰ میکرو لیتر در لیتر و ۴ میلی مولار، جهت بررسی فعالیت ضد قارچی روی میوه های مایه زنی شده انتخاب شدند. این آزمایش بصورت کرت های خرد شده در قالب طرح پایه کاملا تصادفی با چهار تکرار انجام شد. تیمارها شامل گونه قارچ (*P. digitatum* و *P. italicum*)، نوع محلول (آب مقطر سترون، اسید سالسیلیک، اسانس زیره سبز، میخک و آویشن شیرازی) و زمان انبار داری (هیفدهم، بیست و چهارم، سی ویکم، سی و هشتم وچهل و پنجم) بود. نتایج آزمایش نشان داد که بیشترین کنترل پوسیدگی روی میوه های مایه زنی شده با قارچ *P. digitatum* در تیمارهای اسانس های آویشن شیرازی و میخک و روی میوه های مایه زنی شده با قارچ *. italicum*

P در تیمارهای اسانس های زیره سبز و میخک به دست آمد. این تیمارها باعث کاهش معنی دار پوسیدگی نسبت به تیمار شاهد گردیدند

واژه های کلیدی: اسانس، انبارداری، پوسیدگی قارچی، پرتقال خونی

مقدمه

همه محصولات گیاهی در معرض حمله بیماری های پس از برداشت قرار دارند. به طور کلی، هر اندازه بخش بیرونی محصول نرم تر و آبدارتر و مقدار آب کل محصول بیشتر باشد، حساسیت نسبت به ابتلا به قارچ ها و باکتری ها، بیشتر خواهد بود [1] . معمولا میوه ها دارای اسیدیته پایین بوده و مورد حمله قارچ ها قرار می گیرند. میوه های مرکبات دارای اسیدیته کمتر از ۴ هستند بنابر این مورد حمله اغلب قارچ ها قرار می گیرند[10]. قارچ های *Penicillium italicum Wehmer* و *Penicillium digitatum Sacc* به ترتیب پوسیدگی ها ی کپک آبی و کپک سبز را ایجاد می کنند که به آنها پوسیدگی های پنی سیلیومی هم گفته می شود. این پوسیدگی ها شایع ترین و معمولا مخرب ترین بیماری های پس از برداشت هستند که بیشتر انواع میوه و سبزی را آلوده می سازند. در برخی از میوه ها نظیر مرکبات، آلودگی به این بیماری ها ممکن است در باغ روی دهد، ولی کپک های آبی و سبز اساسا بیماری های پس از برداشت هستند [1]. این قارچ ها با تولید اتیلن منجر به تسریع پیری در میوه های مجاور می گردند [10]. این بیماری ها به طور متداول با استفاده از قارچکش های سنتزی مدیریت می شود. البته به دلیل استفاده مداوم از مواد شیمیائی سنتزی بر روی مواد غذائی و تأثیری که آنها بر سلامت انسان و محیط زیست دارند نگرانی ها در سطح جهان رو به افزایش است. مقاومت عامل بیماری زا عامل دیگری جهت محدود کردن استفاده مداوم از این نوع قارچکش ها می باشد [12]. بنابراین امروزه گرایش به سمت استفاده از فرآورده های طبیعی نظیر اسانس گیاهان دارویی جهت جایگزینی قارچکش ها می باشد.

اسانس ها فرآورده های فرّار و معطّر حاصل از متابولیسم ثانویه هستند که اغلب در اندام هایی نظیر برگ، ساقه، پوست یا میوه گیاه تجمع می یابند[6]. اسانس ها از طریق به تاخیر انداختن اکسیداسیون چربی ها یا با کنترل رشد میکروارگانیسم ها، مدت ذخیره و نگهداری مواد غذایی را افزایش می دهند[1] . مطالعات زیادی روی گونه های مختلف گیاهی و تاثیر اسانس آن ها بر میکرو ارگانیسم ها گزارش شده است . فعالیت ضد میکروبی این ترکیبات بستگی به درصد مواد موثره موجود در آن دارد[22] . تا کنون صدها اسانس با خاصیت ضد قارچی شناخته شده است . با وجود آنکه تحقیقات بسیاری

راجع به خواص آنتی اکسیدانتی، ضد باکتریایی و ضد قارچی اساتس های گیاهی صورت پذیرفته ولی مکانبسم فعالیت این ترکیبات دقیق مشخص نمی باشد [2] . تاثیر ضد قارچی اسانس ها به خاصیت آب گریزی و انحلال پذیری آنها در غشاء سیتوپلاسمی میکروارگانیسم وابسته است اسانس با تغییر در نفوذ پذیری غشاء سیتوپلاسمی میکروارگانیسم ها سبب کمبود پروتون، فسفات و پتاسیم داخل سلول می گردد [13] . برخی ترکیبات به عنوان یک یک پوشش می توانند توسط انتشار غیر فعال به سرتاسر غشاء پلاسمایی نفوذ کنند و در واقع از رشد میکروبی جلوگیری کنند که در کل باعث افزایش عمر محصول می گردند[2]. از نظر میزان فعالیت ضد فارچی ترکیبات اسانس ها به ترتیب فنل ها، آلدئیدها، کتون ها، الکل ها، اترها و هیدروکربن ها قرار می گیرند. بیشترین فعالیت برای فنل های تیمول، کارواکرول و اوژنول گزارش شده است که به وسیله طبیعت اسیدی گروه هیدروکسیل که به آسانی با جایگاه فعال آنزیم ها اتصال تشکیل می دهد، شرح داده می شود [21] .

اسانس رازیانه، بی رنگ یا زردرنگ بوده و از میوه خشک گیاه بدست می آید[18] . مهم ترین ترکیب این اسانس را آنتول تشکیل می دهد که نقشی تعیین کننده در کیفیّت اسانس دارد. از دیگر ترکیبات موجود در اسانس می توان به فنکون، استراگول و لیمونن اشاره کرد[16]. اسانس زیره سبز از میوه خشک گیاه بدست می آید. بیشترین ترکیبات شناخته شده آن شامل کومین آلدهید، گاما ترپینن و پاراسیمن می باشد [5,7]. اسانس زیره سبز از میوه خشک گیاه بدست می آید و دارای اثرات ضدقارچی و ضدباکتریایی است[19] . اسانس اکالیپتوس از برگ گیاه بدست می آید. مهمترین ترکیب این اسانس را سینئول تشکیل می دهد. از دیگر ترکیبات موجود در اسانس می توان به لیمونن، آلفا پینن و پاراسیمن اشاره کرد. اسانس میخک از غنچه های خشک گیاه بدست می آید. مهمترین ترکیب این اسانس را اوژنول تشکیل می دهد[18] .

اسانس آویشن شیرازی از سرشاخه های گیاه آویشن بدست می آید. تیمول و کارواکرول اجزای اصلی این اسانس را تشکیل می دهند. اسانس آویشن شیرازی دارای اثرات ضد میکروبی گسترده و ضدنفخ بوده و به منظور تسکین درد مفاصل و رفع سرماخوردگی مورد استفاده قرار می گیرد[17].

بررسی فعالیت ۲۵ اسانس از گیاهان مختلف دارویی علیه چهار قارچ بیماری زای گیاهی در شرایط درون شیشه ای نشان داد که میزان فعالیت ضد قارچی به نوع و غلظت اسانس ها بستگی دا رد. همچنین پس از تیمار میوه های نارنگی مایه زنی شده با اسانسی که بهترین عملکرد را داشت مشخص شد فعالیت ضد قارچی با افزایش غلظت اسانس افزایش می یابد[26] .

ارزیابی اثر اسانس گیاهان اکلیل کوهی و میخک بر رشد قارچ *B. cinerea* در شرایط درون شیشه ای مشخص شد که

در غلظت های مشابه، اسانس میخک نسبت به اکلیل کوهی فعالیت ضد قارچی بالاتری نشان دادند. به طور کلی فعالیت ضد قارچی این ترکیبات به گونه گیاهی، نوع فرآورده و میزان غلظت آن بستگی داشت [21] .

بررسی اثر اسانس های گیاهان اسطوخدوس، رازیانه، زیره سبز و نعناع فلفلی روی قارچ های *R. stolonifer* و *B. cinerea* عامل پوسیدگی های پس از برداشت میوه توت فرنگی در شرایط آزمایشگاهی نشان داد که اسانس های رازیانه و زیره سبز دارای فعالیت ضد قارچی بالایی بودند و اسانس زیره سبز نسبت به رازیانه در کنترل این دو قارچ بر میوه های مایه زنی شده با سوسپانسیون اسپور موثرتر بود[7] . طی پژوهشی که اثر اسانس های زنیان و آویشن بر کنترل قارچ *Aspergillus parasiticus* بر میوه های گلابی مایه زنی شده با سوسپانسیون اسپور به مدت سه ماه در سردخانه صورت گرفت مشخص شد که اسانس آویشن نسبت به اسانس زنیان تاثیر بیشتری در جلوگیری از رشد قارچ داشت در بررسی اثر زمانهای انبارداری به طور قابل انتظاری میزان آلودگی طی ماه های اول، دوم و سوم افزایش یافت[13] . همچنین اثر اسانس های گیاهان میخک، رازیانه، زیره سبز و نعناع فلفلی در کنترل بیماری کپک خاکستری سیب، مشخص کرد که اساتس های میخک و رازیانه فعالیت قارچ کش ملاحظه ای را علیه قارچ *B. cinerea* در شرایط درون شیشه ای نشان داد [25].

از طرف دیگر ، در آزمایشی که فعالیت اسانس گیاهان دارچین، میخک و زیره سبز علیه قارچ *P. italicum*، عامل کپک آبی میوه مرکبات در شرایط درون شیشه ای مورد بررسی قرار گرفت مشخص شد که میزان فعالیت ضدقارچی به نوع و غلظت اسانس بستگی داشته و اسانس دارچین حتی در بالاترین غلظت نیز نتوانست به طور کامل از رشد قارچ جلوگیری کند [23] .

اسید سالیسیلیک (ارتو هیدروکسی بنزوئیک اسید) یک نرکیب فنلی ساده با خواص گوناگون است که به دلیل تاثیر بر تعدادی از فرآیندهای فیزیولوژیکی گیاهان به عنوان یک تنظیم کننده رشد گیاهی به رسمیت شناخته شده است[3] . این ترکیب نقش مهمی در افزایش مقاومت به تنش های زنده و غیر زنده بازی می کند [10] . و اثرات ناشی از تنش های خشکی، گرما، سرما، شوری، فلزات سنگین و بیماری های گیاهی را کاهش می دهد[8]. اسید سالیسیلیک باعث افزایش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز می شود که به دنبال آن تولید و تجمع ترکیبات فنلی افزایش یافته و در نهایت ترکیبات فنلی با خواص آنتی آکسیدانی خود، مقاومت بافت به تنش های زنده و غیر زنده را افزایش می دهند[10] . بر همکنش اسید سالیسیلیک با آنزیم

های آنتی اکسیدانی باعث فعال سازی آنزیم های دفاعی و القای مقاومت در مقابل بیماری های پس از برداشت می گردد(۲۶). و کاربرد خارجی این ترکیب باعث کاهش پوسیدگی و گسترش عمر انباری میوه زرد آلو و انبه گردید (۸۳ و۸). کاربرد غلظت های مختلف اسید سالیسیلیک در شرایط آزمایشگاهی در مقایسه با تیمار شاهد به طور معنی داری از رشد میسلیوم قارچ *Fusarium oxysporum* جلوگیری نکرد[28] . در حالی که طی آزمایشی رشد میسلیوم قارچ *F. oxysporum* در شرایط درون شیشه ای تحت تاثیر کاربرد اسید سالیسیلیک قرار گرفت[30]. همچنین با وجود اینکه اسید سالیسیلیک در شرایط درون شیشه ای به طور معنی داری از رشد میسلیوم قارچ *Monilinia fructicola* جلوگیری کرد ولی موجب کاهش معنی دار پوسیدگی در میوه های گیلاس طی انبارداری نگردید[32] .

هدف از اجرای این پژوهش بررسی توانایی اسید سالیسیلیک و اسانس گیاهان رازیانه، زیره سبز، اکالیپتوس، آویشن شیرازی و میخک در کنترل قارچ *P. italicum* و *P. digitatum* عامل پوسیدگی کپک آبی و کپک خاکستری میوه پرتقال بود.

مواد و روشها

این پژوهش طی سال های ۹۴- ۱۳۹۳ در آزمایشگاه گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه خلیج فارس بوشهر اجرا گردید. جدایه های قارچی *Pencillium digitatum* و *Pencillium italicum* از موسسه تحقیقات گیاه پزشکی کشوردریافت و تا زمان استفاده بر روی محیط کشت سیب زمینی – دکستروز – آگار در دمای ۴ درجه سانتی گراد درون یخچال نگهداری گردید و از آنها در ۴ آزمایش به شرح زیر استفاده گردید.

۱- بررسی فعالیت ضد قارچی در شرایط درون شیشه ای

این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملا تصادفی با چهار تکرار اجرا شد. فاکتور اول شامل گونه قارچ در دو سطح (*Pencillium digitatum* و *Pencillium italicum*)، فاکتور دوم شامل نوع ماده ضد قارچ (اسید سالسیلیک، رازیانه، زیره، میخک، اکالیپتوس و آویشن شیرازی) و فاکتور سوم شامل غلظت در چهار سطح (۰، ۴۰۰، ۷۰۰ و ۱۰۰۰ میکرولیتر در لیتر برای اسانس و ۰، ۱، ۲,۵ و ۴ میلی مولار برای اسید سالسیلیک) در نظر گرفته شد. در تیمار شاهد آب مقطر سترون جایگزین اسانس یا اسید سالسیلیک گردید

-مراحل انجام آزمایش

به منظور استخراج اسانس های مورد نیاز، نمونه های گیاهی شامل بذور رازیانه و زیره سبز، غنچه های خشک میخک، سر شاخه های هوایی آویشن شیرازی و برگ های اکالیپتوس تهیه گردید. اسانس گیاهان رازیانه، زیره سبز، میخک، آویشن شیرازی و اکالیپتوس به روش تقطیر با آب به ترتیب از میزان ۳۷۰، ۳۸۰، ۱۵۰، ۱۸۰ و ۱۶۰ گرم نمونه های گیاهی به مدت ۳/۵، ۳/۵ ، ۴/۵، ۴ و ۳ ساعت استخراج گردیدند. پس از جمع آوری اسانس درون ظرف شیشه ای، آبی که همراه با اسانس وارد ظرف گردید، توسط سرنگ جدا و میزان ناچیز آب باقی مانده با افزودن ۰/۲ گرم سولفات سدیم خشک به درون شیشه، به صورت کریستال ته نشین گردید. ظرف شیشه ای پس از پیچیده شدن در ورقه آلومینیومی در دمای ۴ درجه سانتی گراد درون یخچال نگهداری شد.

محلول توئین ۸۰ با غلظت ۰/۰۵ درصد حجمی به عنوان حلال اسانس مورد استفاده قرار گرفت. جهت تهیه محلول اسانس با غلظت ۱۰۰۰ میکرو لیتر، ۱۶۰ میکرو لیتر اسانس به نسبت ۱ به ۲۰ در محلول توئین ۸۰ حل شد. برای تهیه محلول اسانس با غلظت های ۴۰۰ و ۷۰۰ میکرو لیتر در لیتر به ترتیب ۶۴ و ۱۱۲ میکرو لیتر اسانس در میزان مشابه محلول توئین ۸۰ حل شد. محلول سود یک نرمال به عنوان حلال اسید سالسیلیک مورد استفاده قرار گرفت. به این منظور ۱۰ گرم سود در ۲۵۰ میلی لیتر آب مقطر حل گردید. جهت تهیه محلول اسید سالسیلیک با غلظت ۴ میلی مولار، ۰/۶۴ میلی مول اسید سالسیلیک معادل ۰/۰۸۸ گرم در ۷۳۰ میکرو لیتر محلول سود یک نرمال حل شد. برای تهیه محلول اسید سالسیلیک با غلظت ۱و ۲/۵ میلی مولار به ترتیب ۰/۱۶ میلی مول اسید سالسیلیک ۰/۰۲۲ گرم و ۰/۴ میلی مول اسید سالسیلیک معادل ۰/۰۵۵ گرم در میزان مشابه محلول سود یک نرمال حل شد. جهت سترون کردن محلول ها از فیلتر سر سرنگی با قطر منفذ ۰/۲۲ میکرون استفاده گردید.

ارلن‌های حاوی محیط کشت PDA درون دستگاه اتوکلاو در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار ۱/۲ اتمسفر به مدت ۱۵ دقیقه سترون گردید و سپس در محیط اتاق قرار داده شد تا دمای آن‌ها کاهش یابد. سپس محلول های تهیه شده بطور جداگانه به ۱۶۰ میلی لیتر از محیط کشت افزوده وبه هم زده شد تا محیط کشتی یکنواختی حاصل گردد. محیط های حاصل بلافاصله به میزان ۲۰ میلی‌لیتر به ظروف پتری یک‌بار مصرف سترون به قطر ده سانتی‌متر منتقل شدند. پس از انعقاد محیط کشت، دیسک‌های قارچی به قطر پنج میلی‌متر توسط چوب‌پنبه سوراخ‌کن سترون از کشت‌های هفت روزه قارچ

Pencillium digitatum و *Penicillium italicum* جداسازی و یک عدد به‌طور واژگون در مرکز هر پتری قرار داده شد. ظروف پتری پس از درزبندی با پارافیلم در دستگاه انکوباتور به مدت هفت روز در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند[31].

در تیمار شاهد، آب مقطر سترون جایگزین اسانس یا اسید سالیسیلیک گردید. پس از گذشت هفت روز میزان رشد قارچ براساس نرخ‌بندی ارزیابی گردید. عدد صفر فاقد رشد، عدد یک رشد کم، عدد دو رشد متوسط و عدد سه رشد زیاد در نظر گرفته شد[27].

۲- بررسی فعالیت ضد قارچی حلال ها

به منظور بررسی اثر احتمالی حلال ها در بازدارندگی از رشد قارچ، در آزمایشی جداگانه به بررسی فعالیت ضد قارچی حلال ها پرداخته شد. این آزمایش در قالب طرح پایه کاملا تصادفی با چهار تکرار انجام شد. تیمارها شامل گونه قارچ در دو سطح، (*P.digitatum* و *P. italicum*) و حلال در سه سطح (محلول توئین ۸۰، محلول سود ۱ نرمال و آب مفطر سترون) بود. مراحل انجام آزمایش، میزان حلال و ارزیابی میزان رشد قارچ به شیوه آزمایش قبل اجرا شد.

۳- بررسی فعالیت ضد قارچی در شرایط انبار داری

این آزمایش به صورت کرت های خرد شده در قالب طرح پایه کاملا تصادفی با چهار تکرار انجام شد. تیمارها شامل مایه زنی با قارچ در دو سطح (*Pencillium digitatum* و *Pencillium italicum*)، نوع ماده ضد قارچ در پنج سطح (اسید سالسیلیک، رازیانه، زیره، میخک، اکالیپتوس و آویشن شیرازی) و زمان انبارداری (روزهای هفدهم، بیست و چهارم، سی و یکم، سی و هشتم و چهل و پنجم) در نظر گرفته شد.

مراحل انجام آزمایش

میوه‌های پرتقال خونی رقم سانگوئینلا (*Citrus sinensis cv. Sanguinello*) از یک باغ تجاری واقع در شهرستان کازرون در استان فارس برداشت و بلافاصله به آزمایشگاه منتقل شدند. میوه‌های سالم از میوه‌های زخمی جدا و با آب معمولی شسته شدند. در شرایط سترون، میوه‌ها پس از ضدعفونی سطحی با الکل اتانول ۷۰ درصد، با آب مقطر سترون شسته و خشک شدند. توسط اسکالپل دو زخم افقی روبروی هم در ناحیه استوایی میوه با عمق و عرض پنج میلی‌متر ایجاد شد. سوسپانسیون اسپور از کشت هفت روزه جدایه ها تهیه و غلظت آن با استفاده از لام گلبول‌شمار برابر با ۴×۱۰^{۶} اسپور در

میلی‌لیتر آب مقطر تعیین گردید. سپس ۳۰ میکرولیتر از سوسپانسیون اسپور توسط نمونه‌بردار درون زخم‌ها تزریق گردید. براساس نتایج آزمایش درون‌شیشه‌ای، از بین تیمارهای اسانس‌های مختلف، سه اسانس برتر در بهترین غلظت واز تیمارهای اسید سا لیسیلیک نیز بهترین غلظت جهت انجام این آزمایش انتخاب شدند. پس از گذشت یک ساعت، میوه‌ها درون بشر حاوی محلول اسانس با غلظت ۱۰۰۰ میکرولیتر بر لیتر به مدت پنج دقیقه غوطه‌ور گردیدند. میوه‌ها پس از خشک شدن در کیسه‌های پلاستیکی بدون منفذ بسته‌بندی شدند. سپس به مدت ۴۵ روز در دستگاه اتاقک رشد در دمای هفت درجه سانتی گراد نگهداری شدند. در تیمار شاهد، آب مقطر سترون جایگزین اسانس گردید[23].

میزان پوسیدگی قارچی در شرایط سترون طی پنج بار داده برداری در روزهای هفدهم، بیست و چهارم، سی و یکم، سی و هشتم و چهل و پنجم پس از تیمار به صورت زیر ارزیابی گردید: سطح هر میوه به طور فرضی به هشت قسمت مساوی تقسیم شد و مشاهده آثار رشد قارچ در هر قسمت برابر ۱۲/۵ درصد پوسیدگی در نظر گرفته شد [17].

۴ - مقایسه میوه های سالم و مایه زنی شده

به منظور بررسی اثر آلودگی احتمالی و مداخله گر سردخانه ای، این آزمایش به صورت طرح کرت های خرد شده در قالب طرح پایه کاملا تصادفی با چهار تکرار انجام شد. تیمارها شامل مایه زنی یا عدم مایه زنی در سه سطح، (*P.digitatum* و *P. italicum* و سالم)، و زمان انبارداری (روزهای هفدهم، بیست و چهارم، سی و یکم، سی و هشتم و چهل و پنجم) در نظر گرفته شد. مراحل انجام آزمایش و ارزیابی میزان پوسیدگی قارچی به شیوه آزمایش قبل اجرا شد.

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل آماری داده ها با استفاده از نرم افزار آماری SAS ورژن ۹,۱ انجام شد. مقایسه میانگین تیمارها با آزمون چنددامنه ای دانکن در سطح احتمال۱ و ۵ درصد صورت گرفت.

نتایج

بررسی فعالیت ضد قارچی در شرایط درون شیشه ای

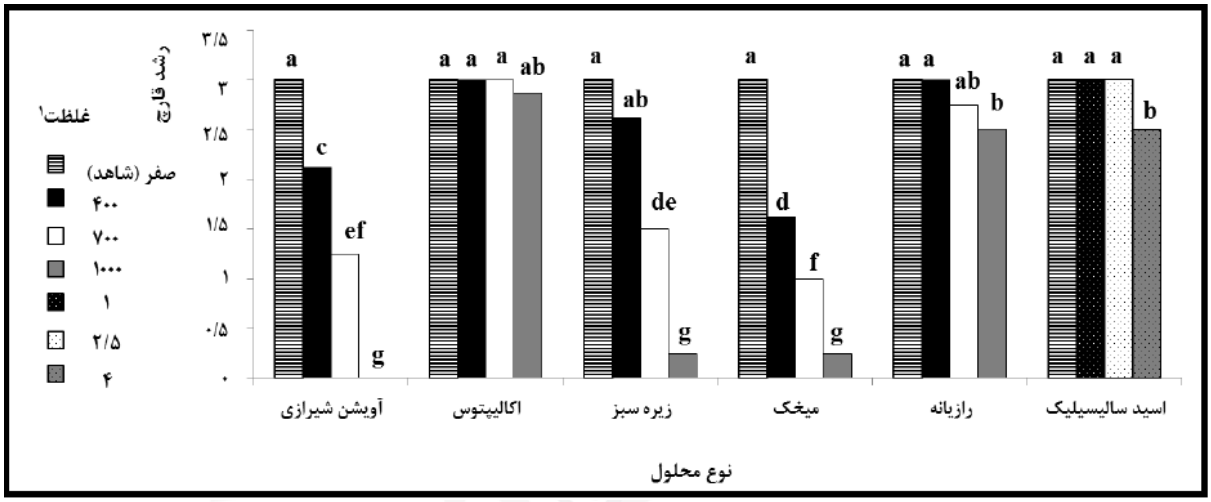
بر اساس جدول نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱)، اثرات مستقل محلول های اسانس یا اسید سالیسیلیک و غلظت محلول و اثر متقابل این دو عامل بر صفت رشد قارچ در سطح احتمال ۱ درصد معنی دار بودند. اثرات متقابل دو گانه غلظت محلول و گونه قارچ، محلول های اسانس یا اسید سالیسیلیک و گونه قارچ و نیز اثر متقابل سه گانه محلول های اسانس یا اسید سالیسیلیک، غلظت آن و گونه قارچ بر صفت رشد قارچ در سطح احتمال ۵ درصد معنی دار بودند. اثر مستقل گونه قارچ بر صفت مذکور معنی دار نشد. نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل محلول های اسانس یا اسید سالیسیلیک و غلظت آن بر رشد قارچ نشان داد که بیشترین میزان رشد قارچ متعلق به تیمارهای شاهد، اسید سالیسیلیک با غلظت های ۱ و ۲/۵ میلی مولار، اسانس های اکالیپتوس با غلظت ۴۰۰ و ۷۰۰ میکرولیتر در لیتر و رازیانه با غلظت ۴۰۰ میکرو لیتر در لیتر بودند که تفاوت معنی داری را در سطح احتمال ۵ درصد با تیمارهای اسانس های زیره سبز، اکالیپتوس و رازیانه به ترتیب با غلظت های ۴۰۰، ۱۰۰۰ و ۷۰۰ میکرو در لیتر نشان ندادند .

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس صفت رشد گونه های قارچ *P. italicum* و *P. digitatum* تحت تیمار غلظت های مختلف محلول های اسید سالسیلیک یا اسانس

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات
		رشد قارچ
عامل A (غلظت محلول)	3	۲۲/۶۷**
عامل B (گونه قارچ)	1	۰/۱۸^{ns}
عامل C (نوع محلول)	5	۱۵/۵۴**
A*B	3	۰/۱۴*
A*C	15	۲/۹۱**
B*C	5	۰/۱۸*
A*B*C	15	۰/۰۹ *
خطا	144	۰/۱۲۸
ضریب تغییرات (cv)		۱۵/۸۵

ns، * و ** به ترتیب عدم وجود اختلاف معنی دار، معنی دار در سطح ۵ و ۱۰ درصد

کمترین میزان رشد قارچ (صفر) در تیمار اسانس آویشن شیرازی با غلظت ۱۰۰۰ میکرولیتر در لیتر به دست آمد که در مقایسه با تیمارهای اسانس میخک و زیره سبز با غلظت مشابه تفاوت معنی داری را در سطح احتمال ۵ درصد نشان نداد (شکل ۱). در تیمارهای اسانس های آویشن شیرازی، زیره سبز و میخک، با افزایش غلظت از میزان رشد قارچ کاسته شد. این در حالی است که در تیمارهای اسید سالیسیلیک و رازیانه تنها در بیشترین غلظت به میزان ناچیزی رشد قارچ کاهش یافت. بنابراین در هر یک از انواع محلول، بیشترین فعالیت ضد قارچی در بالاترین غلظت به دست آمد (شکل ۱)



شکل ۱- مقایسه میانگین اثر متقابل محلول های اسانس یا اسید سالیسیلیک و غلظت های مختلف آن بر صفت میزان رشد قارچ میانگین های دارای حروف مشترک از لحاظ آماری در سطح احتمال ۵ درصد آزمون دانکن تفاوت معنی داری با یکدیگر ندارند

نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل محلول های اساتس یا اسید سالیسیلیک و گونه قارچ بر رشد قارچ نشان داد که کمترین میزان رشد قارچ (۱/۳۷) در تیمار اسانس میخک روی گونه P. digitatum مشاهده گردید که با تیمار اسانس آویشن شیرازی روی همین گونه قارچ و نیز تیمار اسانس میخک روی گونه P. italicum فاقد تفاوت معتی دار در سطح احتمال ۵ درصد بود. بیشترین میزان رشد قارچ (۳) نیز متعلق به تیمار اسانس اکالیپتوس روی گونه قارچ P. digitatum بود. پس از آن تیمارهای اسید سالیسیلیک و اسانس رازیانه روی هر دو گونه و نیز تیمار اساتس اکالیپتوس روی گونه P. italicum قرار گرفتند که در مقایسه با هم در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی دار نشان ندادند (جدول ۲).

جدول ۲- مقایسه میانگین اثر متقابل محلول های اسانس یا اسید سالیسیلیک و گونه قارچ بر صفت رشد قارچ

		صفت / نوع محلول	رشد قارچ
گونه قارچ	*P. digitatum*	اسانس آویشن شیرازی	۱/۴۳d
		اسانس اکالیپتوس	۳/00 a
		اسانس زیره سبز	۱/۸۷ b
		اسانس میخک	۱/۳۷ d
		اسانس رازیانه	۲/۸۱ a
		اسید سالیسیلیک	۲/۸۷ a
	P. italicum	اسانس آویشن شیرازی	۱/۷۵ bc
		اسانس اکالیپتوس	۲/۹۳ a
		اسانس زیره سبز	۱/۸۱ bc
		اسانس میخک	۱/۵۶ cd
		اسانس رازیانه	۲/۸۱ a
		اسید سالیسیلیک	۲/۸۷ a

میانگین های دارای حروف مشترک از لحاظ آماری در سطح احتمال ۵ درصد آزمون دانکن تفاوت معنی داری با یکدیگر ندارند

بر اساس داده های جدول ۲ می توان نتیجه گرفت تیمارهای اسید سالیسیلیک و اسانس های اکالیپتوس و رازیانه کمترین تاثیر را بر کنترل رشد گونه های قارچ *P. italicum* و *P. digitatum* داشتند. بیشترین فعالیت علیه گونه قارچ *P. digitatum* متعلق به تیمارهای میخک و بیشترین فعالیت علیه گونه قارچ *P. italicum* متعلق به تیمارهای میخک، آویشن شیرازی و زیره سبز بود

بررسی فعالیت ضد قارچی در شرایط انبار داری

بر اساس جدول نتایج تجزیه واریانس (جدول ۳)، به جز اثر متقابل ماده ضد قارچ و زمان انبارداری برصفت درصد پوسیدگی که در سطح احتمال ۵ درصد معنی دار بود، سایر اثرات اعم از اثرات مستقل گونه قارچ، ماده ضد قارچ و زمان انبارداری، اثرات متقابل دو گانه گونه قارچ و ماده ضد قارچ، گونه قارچ و زمان انبار داری و نیز اثر متقابل سه گانه گونه قارچ، ماده ضد قارچ و زمان اتبارداری بر صفت درصد پوسیدگی در سطح احتمال ۱ درصد معنی دار بودند.

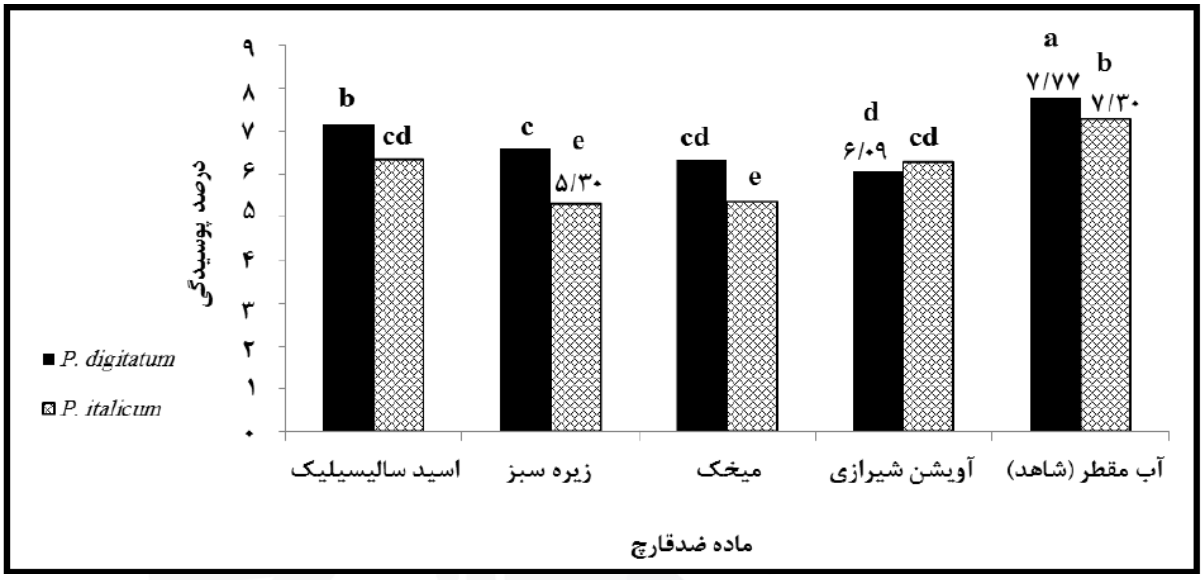
جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس صفت درصد پوسیدگی میوه های مایه زنی شده تحت تیمار محلول های اسید سالسیلیک یا اسانس طی انبارداری

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات
		رشد قارچ
عامل A (گونه قارچ)	۱	۲۳/۰۲**
عامل B (ماده ضد قارچ)	۴	۱۹/۳۵**
عامل C (زمان انبارداری)	۴	۱۶۵/۵۶**
A*B	۴	۳/۳۵**
A*C	۴	۲۵/۳۵**
B*C	۱۶	۰/۵۷*
A*B*C	۱۶	۰/۹۱**
خطا	۱۲۰	۰/۳۷
ضریب تغییرات (cv)		۹/۴۳

* و ** به ترتیب معنی دار در سطح ۵ و ۱۰ درصد

نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل گونه قارچ و ماده ضد قارچ بر درصد پوسیدگی میوه نشان داد که کمترین درصد پوسیدگی (۵/۳۰ درصد) در تیمار اسانس زیره سبز مایه زنی شده با قارچ *P. italicum* به دست آمد که با تیمار اسانس میخک مایه زنی شده با همین قارچ تفاوت معنی داری را در سطح احتمال ۵ درصد نشان نداد. بیشترین درصد پوسیدگی (۷/۷۷ درصد) نیز متعلق به تیمار شاهد مایه زنی شده با قارچ *P. digitatum* بود که با سایر نیمارها تفاوت معنی داری را در سطح احتمال ۵ درصد نشان داد. پس از آن تیمار شاهد مایه زنی شده با قارچ *P. italicum* قرار گرفت (شکل ۲).

در تیمار قارچ *P. digitatum*، کمترین درصد پوسیدگی (۶/۰۹ درصد) و در نتیجه بیشترین فعالیت ضد قارچی متعلق به تیمار اسانس آویشن شیرازی بود که با تیمار اسانس میخک تفاوت معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد نشان نداد بیشترین درصد پوسیدگی (۷/۷۷ درصد) در تیمار شاهد مشاهده گردید و پس از آن تیمار اسید سالیسیلیک قرار گرفت (شکل ۲)



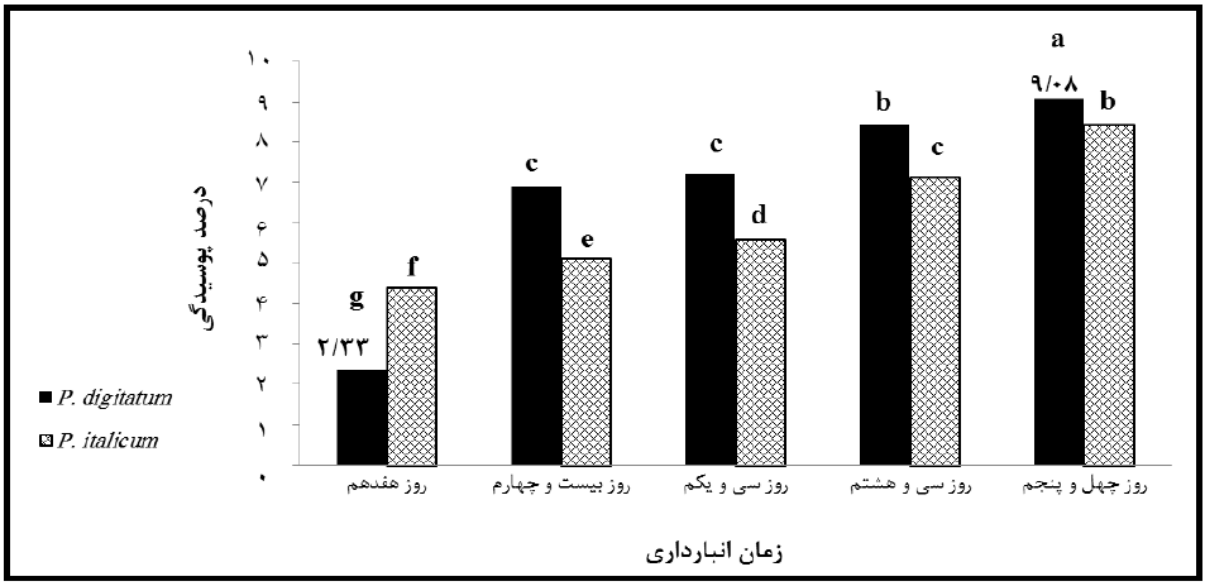
شکل ۲- مقایسه میانگین اثر متقابل گونه قارچ و ماده ضد قارچ بر صفت درصد پوسیدگی ،
میانگین های دارای حروف مشترک از لحاظ آماری در سطح احتمال ۵ درصد آزمون دانکن تفاوت معنی داری با یکدیگر ندارند

در تیمار قارچ *P. italicum*، کمترین درصد پوسیدگی (۵/۳۰ درصد) و در نتیجه بیشترین فعالیت ضد قارچی متعلق به تیمار اسانس زیره سبز بود که با تیمار اسانس میخک تفاوت معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد نشان نداد. بیشترین درصد پوسیدگی (۷/۳۰ درصد) در تیمار شاهد مشاهده گردید وپس از آن تیمار اسید سالیسبلیک قرار گرفت که تفاوت معنی داری با تیمار اسانس آویشن شیرازی نشان نداد (شکل ۲) .

همان گونه که در شکل ۲ مشاهده می گردد، درصد پوسیدگی میوه های مایه زنی شده با قارچ *P. digitatum* در مقایسه با قارچ *P. italicum* در همه تیمارها به جز تیمار اسانس آویشن شیرازی بیشتر بود.

نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل زمان انبارداری و گونه قارچ بر درصد پوسیدگی نشان داد که کمترین درصد پوسیدگی (۲/۳۳) در تیمار قارچ *P. digitatum* در روز هفدهم انبارداری به دست آمد که با سایر تیمارها تفاوت معنی داری را در سطح احتمال ۵ درصد نشان داد. پس از آن نیز تیمار قارچ *P. italicum* در روز هفدهم انبار داری قرار گرفت. بیشترین درصد پوسیدگی (۹/۰۸ درصد) نیز متعلق به تیمار قارچ *P. digitatum* در آخرین روز انبارداری بود که با سایر تیمارها تفاوت معنی داری را در سطح احتمال ۵ درصد نشان داد. پس از آن تیمار قارچ *P. italicum* در آخرین روز انبارداری و

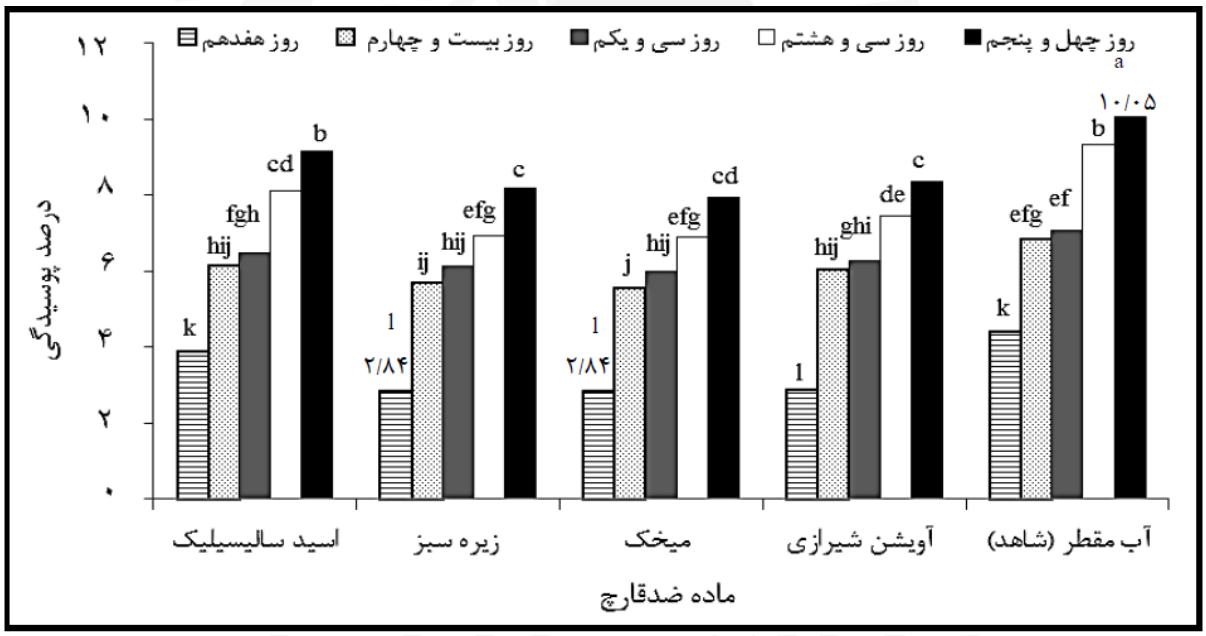
تیمار قارچ *P. digitatum* در روز سی وهشتم انبارداری قرار گرفتند که در مقایسه با هم تفاوت معنی دار نشان ندادند (شکل ۳). بدیهی است که درصد پوسیدگی با گذشت زمان افزایش یافت. درصد پوسیدگی میوه های مایه زنی شده با قارچ P. digitatum در مقایسه با قارچ *P. italicum* در همه زمان ها به جز روز هفدهم انبارداری بیشتر بود (شکل ۳).



شکل ۳- مقایسه میانگین اثر متقابل زمان انبارداری و گونه قارچ بر صفت درصد پوسیدگی ،
میانگین های دارای حروف مشترک از لحاظ آماری در سطح احتمال ۵ درصد آزمون دانکن تفاوت معنی داری با یکدیگر ندارند

نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل ماده ضد قارچ و زمان انبارداری بر درصد پوسیدگی نشان داد که کمترین درصد پوسیدگی (۲/۸۴ درصد) در تیمارهای اسانس زیره سبز و میخک در روز هفدهم انبارداری به دست آمد که با تیمار اسانس آویشن شیرازی در این روز فاقد تفاوت معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد بودند. بیشترین درصد پوسیدگی (۱۰/۰۵ درصد) متعلق به تیمار شاهد در آخرین روز انبارداری بود که با سایر تیمارها تفاوت معنی داری را در سطح احتمال ۵ درصد نشان داد. پس از آن تیمارهای شاهد در روز سی هشتم انبارداری و اسید سالیسیلیک در آخرین روز انبارداری قرار گرفتند که در مقایسه با هم فاقد تفاوت معنی دار بودند (شکل ۴)

همان گونه که در شکل 4 مشاهده می گردد، در روز هفدهم انبارداری، تیمار شاهد بیشترین درصد پوسیدگی را نشان داد که با تیمار اسید سالیسیلیک فاقد تفاوت معنی دار بود. اسانس های مختلف نیز در این روز با یکدیگر تفاوت معنی دار نداشتند و دارای کمترین درصد پوسیدگی بودند. در روزهای بیست وچهارم و سی و یکم انبارداری بیشترین درصد پوسیدگی در تیمار شاهد مشاهده شد و در تیمارهای اسید سالیسیلیک و اسانس های مختلف کمترین میزان پوسیدگی مشاهده شد ولی اختلاف معنی دار بین آنها وجود نداشت در روز سی وهشتم انبارداری، تیمار شاهد بیشترین درصد پوسیدگی را نشان داد. بیشترین فعالیت ضد قارچی در این روز مربوط به اسانس میخک، زیره سبز و آویشن شیرازی بود که در مقایسه با هم تفاوت معنی دار نشان ندادند. پس از این تیمارها، تیمار اسید سالیسیلیک قرار گرفت که البته با تیمار اسانس آویشن شیرازی فاقد تفاوت معنی دار بود.



شکل ۴ – مقایسه میانگین اثر متقابل محلول های اسانس یا اسید سالیسیلیک و غلظت های مختلف آن بر صفت میزان رشد

میانگین های دارای حروف مشترک از لحاظ آماری در سطح احتمال ۵ درصد آزمون دانکن تفاوت معنی داری با یکدیگر ندارند

به طورکلی در روزهای انبارداری مورد بررسی، بیشترین درصد پوسیدگی همان گونه که انتظار می رفت، به تیمار شاهد تعلق گرفت. از لحاظ میزان کنترل پوسیدگی قارچی، تیمار اسانس میخک، زیره سبز و آویشن شیرازی و در نهایت تیمار اسید سالیسیلیک قرار گرفت. قابل ذکر است که در هیچکدام از زمان های مورد بررسی، اسانس های مختلف با یکدیگر اختلا ف معنی دار نشان ندادند. بنابراین در مجموع تیمارهای اسانس نسبت به اسید سالیسیلیک به طور موثرتری پوسیدگی قارچی را کنترل نمودند.

بررسی فعالیت ضد قارچی حلال ها

در هر سه تیمار آب مقطر سترون، محلول توئین ۸۰ و محلول سود یک نرمال در همه تکرارها، به دلیل رشد فراوان قارچ، بر اساس نرخ بندی عدد سه تعلق گرفت. از آن جا که همه داده ها یکسان بودند از آنالیز داده ها صرفنظر شد. نتیجه می شود تیمارهای محلول توئین ۸۰ و محلول سود یک نرمال، فاقد فعالیت ضد قارچی بودند.

مقایسه میوه های سالم و مایه زنی شده

بر اساس جدول نتایج تجزیه واریانس (جدول ۴) اثرات مستقل مایه زنی یا عدم مایه زنی و زمان انبارداری و اثر متقابل این دو عامل بر صفت درصد پوسیدگی در سطح احتمال ۱ درصد معنی دار بود

جدول ۴ – نتایج تجزیه واریانس میزان پوسیدگی میوه های مایه زنی شده یا سالم طی انبارداری

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات
		رشد قارچ
عامل A (مایه زنی یا عدم مایه زنی)	۲	۲۳۰/۸۱**
عامل B (زمان انبارداری)	۴	۳۷/۹۱**
A*B	۸	۴/۸۲**
خطا	۴۵	۰/۳۱
ضریب تغییرات (cv)		۱۰/۰۸

** معنی دار در سطح ۱٪

نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل مایه زنی یا عدم مایه زنی و زمان انبارداری بر درصد پوسیدگی نشان داد که بیشترین درصد پوسیدگی (۱۰/۰۵ درصد) متعلق به تیمارهای مایه زنی با هر دو گونه قارچ در آخرین روز انبارداری بود که با تیمارهای مایه زنی با هر دو گونه قارچ در روز سی و هشتم انبارداری تفاوت معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد نشان ندادند. کمترین

درصد پوسیدگی (۱ درصد) نیز در تیمارهای میوه سالم در روزهای هفدهم، بیست وچهارم و سی و یکم انبارداری به دست آمد که با سایر تیمارها تفاوت معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد نشان داد. پس از آن نیز تیمارهای میوه سالم به ترتیب در روز سی و هشتم و آخرین روز انبارداری قرار گرفتند. بروز پوسیدگی در تیمار میوه سالم فقط در دو زمان انتهایی رخ داد. بیشترین پوسیدگی در تیمار میوه سالم که متعلق به آخرین روز انبارداری بود با درصد پوسیدگی میوه های مایه زنی شده با قارچ *P. digitatum* در روز هفدهم انبارداری فاقد تفاوت معنی دار بود . (جدول ۵)

جدول ۵ – مقایسه میانگین اثر متقابل مایه زنی یا عدم مایه زنی و زمان انبارداری بر صفت درصد پوسیدگی

صفت / زمان انبارداری			درصد پوسیدگی
مایه زنی یا عدم مایه زنی	*P. digitatum*	روز هفدهم	۳/ ۶۷e
		روز بیست و چهارم	۷/۷۶b
		روز سی ویکم	۷/۹۷b
		روز سی و هشتم	۹/۴۱a
		روز چهل و پنجم	۱۰/۰۵a
	P. italicum	روز هفدهم	۵/۱d
		روز بیست و چهارم	۵/۹۲c
		روز سی ویکم	۶/۲c
		روز سی و هشتم	۹/۲۳a
		روز چهل و پنجم	۱۰/۰۵a
	سالم	روز هفدهم	۱g
		روز بیست و چهارم	۱g
		روز سی ویکم	۱g
		روز سی و هشتم	۲/۳۳f
		روز چهل و پنجم	۳ef

بحث

بر اساس نتاج این آزمایش، اسانس های آویشن شیرازی و میخک بیشترین اثر بازدرندگی بر رشد و درصد آلودگی قارچ *P. italicum* داشت و پس از آن اسانس زیره سبز قرار گرفت اسانس های زیره سبز و میخک بیشترین اثر بازدرندگی را بر قارچ *P. digitatum* داشت و پس از آن اسانس آویشن شیرازی قرار گرفت بر اساس داده ها مشخص شد که اسانس های اکالیپتوس و رازیانه کمترین تاثیر را بر رشد دو گونه قارچ مورد نظر داشت

تاکنون مطالعات بسیاری در خصوص فعالیت ضدقارچی اسانس‌های گیاهی صورت پذیرفته است که از آن جمله می توان بر قابلیت بالای اسانس میخک در کاهش رشد میسیلیوم و کاهش جوانه زنی اسپور قارچ *P. italicum* در میوه های مرکبات و تاثیر بسزای اسانس زیره سبز در کنترل پوسیدگی کپک خاکستری میوه توت فرنگی اشاره نمود[14,7] . فعالیت اسانس ها در مقابل قارچ ها بسته به نوع اسانس و گونه قارچ متفاوت است [21] . میزان فعالیت ضد قارچی متفاوت اسانس های مختلف روی یک گونه قارچی ممکن است ناشی از مکانیسم عمل متفاوت این ترکیبات باشد و یا به این علت باشد که متابولیسم قارچ قادر به غلبه بهتر بر اثرات ضد قارچی برخی از اسانس هاست[24] . تفاوت در فعالیت ضد قارچی اسانس ها به اجزاء تشکیل تشکیل دهنده آنها بستگی دارد[7] . اسانس ها از گروه های شیمیایی متعدد تشکیل شده اند که این گروه ها مکانیسم های متفاوتی در نابودی میکروارگانیسم ها دارند[1] . رابطه ای بین ساختار شیمیایی ترکیبات با فراوانی بیشتر در اسانس و اثرات ضد قارچی آنها وجود دارد. از نظر میزان فعالیت ضدقارچی ترکیبات عمده اسانس‌ها به ترتیب فنل‌ها (بیشترین فعالیت)، الکل‌ها، آلدئیدها، کتون‌ها، اترها و هیدروکربن‌ها قرار می‌گیرند[21] . بنابراین اسانس های شامل ترکیبات عمده فنلی، بیشترین فعالیت را علیه قارچ ها نشان می دهند، این ترکیبات هم در غشاء سلول نفوذ می کنند و هم می توانند در لخته شدن محتویات سلول نقش داشته باشد [15] . بیشترین فعالیت ضد قارچی برای فنل های تیمول، کارواکرول و اوژنول گزارش شده است [21] . تیمول و کارواکرول از نظر شیمیایی بسیار به هم شبیه اند و فقط جایگاه گروه هیدروکسیل در آن ها متفاوت است و از اجزای اصلی اسانس آویشن شیرازی به شمار می روند [15]. اوژنول نیز مهمترین ترکیب اسانس میخک می باشد [18] . سینئول جزء اصلی اسانس اکالیپتوس است که از گروه اترها بوده و دارای فعایت ضد قارچی ضعیف می باشد. مکانیسم عمل اسانس ها علیه میکروارگانیسم ها پیچیده است و هنوز کاملا مشخص نیست [21] . تاثیر ضد قارچی اسانس ها به خاصیت آب گریزی و انحلال پذیری آنها در غشاء سیتوپلاسمی میکروارگانیسم وابسته است[13] . اسانس ها با

تخریب دیواره سلولی و پروتئین ها، اثر بر سنتز DNA و RNA ، اختلال در غشای سلولی و با واکنش با جایگاه فعال آنزیم‌ها باعث نابودی میکروارگانیسم ها می شوند[24] . خسارت به دیواره سلولی و غشاء می تواند منجر به نشت درشت مولکول ها و زوال سلول شود. به نظر می رسد زنجیره انفعالات از دیواره سلولی شروع می شود و تمام غشاهای اندامک های مختلف نظیر پراکسی زوم ها و میتوکندری ها را شامل می شود[21] .

بررسی تأثیر اسانس ۱۳ گونه گیاه دارویی در غلظت‌های مختلف بر رشد قارچ *Botrytis cinerea* در شرایط آزمایشگاهی نشان داد که میزان فعالیت ضدقارچی به نوع اسانس بستگی دارد و در عین حال به‌موازات افزایش غلظت، میزان این فعالیت افزایش می‌یابد[25].

همچنین اثر اسانس گیاهان آنیسون، رازیانه، نعنا و دارچین بر رشد قارچ *B. cinerea*، عامل کپک خاکستری میوه توت فرنگی را در شرایط درون‌شیشه‌ای مشخص کرد که اسانس‌های آنیسون، رازیانه و دارچین در برخی غلظت‌ها به‌طور کامل از رشد قارچ جلوگیری کردند. علاوه بر آن، این چهار اسانس در بالاترین غلظت باعث بازدارندگی کامل از رشد قارچ مذکور روی میوه‌های توت‌فرنگی گردیدند[29] .

نتایج پژوهش حاضر نیز حاکی از دارا بودن فعالیت ضدقارچی قابل‌توجه برخی اسانس‌های گیاهی است که می‌توانند گزینه مناسبی جهت جایگزینی قارچ‌کش‌های سنتزی در کنترل پوسیدگی کپک آبی میوه‌های پرتقال باشند.

بر اساس شکل ۴ اسید سالیسیلیک در بین تیمارهای مختلف کمترین تاثیر را در کنترل پوسیدگی هر دو گونه قارچ نشان داد. در گزارشی نیز عنوان شده که کاربرد اسید سالیسیلیک موجب کاهش معنی دار رشد قارچ *M. fructicola* در میوه های گیلاس نگردید[32]. از سوی دیگر اسید سالیسیلیک به ترتیب باعث کاهش درصد پوسیدگی و افزایش مقاومت به بیماری در میوه های انبه گردید[33]. اسید سالیسیلیک در غلظت های غیر سمی بیماری های پس از برداشت در میوه ها را کاهش می دهد. احتمال می رود اسید سالیسیلیک مقاومت به بیماری ها را به طور مستقیم با جلوگیری از رشد میسیلیوم ها و جوانه زنی اسپورهای قارچ و یا به طور غیر مستقیم از طریق افزایش فعالیت فنیل آلانین آمونیلیاز و بتا ۱ و ۳ – گلوکاتاز افزایش دهد[9] . بتا ۱ و ۳- گلوکاتاز پلی مرهای دیواره سلولی قارچ ها را هیدرولیز می کند[32] و فنیل آلانین آمونیلیاز یک آنزیم کلیدی برای ساخت فنل های مربوط به مقاومت است [20] .

منابع

1 – آبرومند آذر، پ.، ز. متقیان پور، ا. شریفان و ک. لاریجانی. (۱۳۸۹). بررسی اثر روش استخراج بر ترکیب شیمیایی و فعالیت ضد میکروبی اسانس گیاه زنیان (Carum copticum). مجله علوم غذایی و تغذیه، ج ۷، ش ۲ ، صص ۱۸-۱۰ .

ایزدپناه، ک.، س. م. اشکان، ض. بنی هاشمی، ح. رحیمیان و و. میناسیان. (۱۹۳۸) . بیماری شناسی گیاهی ۲. تهران: انتشارات آییژ، ۶۷۸ ص.

2- ابراهیم پور کومله، ا.، ع. غنی و م. عزیزی. (۱۳۸۷). اثر دما، پوشش و استفاده از برخی ترکیبات طبیعی در افزایش عمر انبار مانی آلبالو (*Prunus cerasus* L.). مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی، ج ۱۵، ش ۱.

3- اردکانی، ا.، غ. داوری نژاد و م. عزیزی. (۱۳۹۱). تاثیر کاربرد محلول پاشی اسید سالیسیلیک قبل از برداشت بر ماندگاری، کیفیت پس از برداشت و فعالیت آنتی اکسیدانتی زردآلو رقم نوری. نشریه علوم باغبانی، ج ۲۶ ، ش ۴ ، صص ۴۵۹ – ۴۴۸ .

4 – ایزدپناه، ک.، س. م. اشکان، ض. بنی هاشمی، خ. رحیمیان و و. میناسیان. (۱۳۸۹). بیماری شناسی گیاهی ۲ . تهران: انتشارات آییژ، ۶۷۸ ص.

5- پژوهی الموتی، م. ر.، تاجیک، ح.، آخوندزاده، آ.، گندمی نصرآبادی، ح. و احسانی، ع.، ۱۳۹۱. مطالعه ترکیب شیمیایی و فعالیت ضدمیکروبی اسانس‌های پونه کوهی (*Mentha longifolia* L.) و زیره سبز (*Cuminum cyminum* L.) در سوپ. فصل‌نامه علوم و صنایع غذایی، ۳۶(۹): ۳۳-۴۵.

6 – جهانسوز، ف.، ح. ابراهیم زاده، ع. ا. نجفی، م. ر. تقوی و ح. فرزانه. (۱۳۸۷)بررسی تاثیر مثبت و منفی اسانس نمونه های مختلف باریجه (*Ferula gummosa* Boiss.) بر روی دو قارچ بیماری زای گیاهی. فصل نامه علمی پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، ج ۲۴، ش ۱، صص ۱۷ – ۱۰.

7- رنجبر، ح.، م. فرزانه، ج. هادیان، م. ح. میر جلیلی و ر. شریفی. (۱۳۸۷). اثر ضد قارچی چند اسانس گیاهی بر بیماری های پس از برداشت میوه توت فرنگی. مجله پژوهش و سازندگی در زراعت و باغبانی، ش ۸۱ ، صص ۶۰- ۵۴ .

8 – سلطانی دلربا، ن.، ر. کرمیان و م. رنجبر. (۱۳۹۰). اثر بر همکنش سالیسیلیک اسید و تنش سرما بر فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی در گیاه شیرین بیان (*Glycyrrhiza glabra* L.) . فصل نامه داروهای گیاهی ، ج ۲ ، ش ۱ ، صص ۱۳-۷.

9- سلیمانی اقدم، م.، ی. مستوفی، ع. مطلبی آذر، ج. فتاحی مقدم، م. قاسم نژاد و پ. ملک زاده. (۱۳۹۰). بررسی سیستم آنتی اکسیدانتی و پوسیدگی پس از برداشت در میوه های کیوی رقم هایوارد تیمار شده با بخار متیل سالیسیلات. مجله زیست شناسی ایران، ج ۲۴ ، ش ۲ ، صص ۲۷۱- ۲۵۸ .

10- سیاری، م.، م. بایالار و س. کلانتری. (۱۳۹۰). تاثیر کاربرد سالیسیلیک بر افزایش مقاومت به سرمازدگی، فعالیت آنتی اکسیدانتی و کیفیت انار رقم رباب فارس طی دوره سرد انباری. مجله علوم باغبانی ایران، ش ۴ ، صص ۳۴۷-۳۳۹ .

11- صفایی خرم، م.، جعفرنیا، س. و خسروشاهی، س.، ۱۳۸۹. مهم‌ترین گیاهان دارویی جهان (ترجمه). انتشارات مجتمع آموزش کشاورزی سبز ایران (با همکاری انتشارات سخن گستر)، مشهد، ۴۴۲ صفحه.

12 – عزیزی یگانه، م.، ا. ارشادی و ا. هادوی. (۱۳۸۹). اثر اسید سالیسیلیک بر کیفیت، کنترل پوسیدگی قارچی و عمر انباری انگور (*Vitis vinifera* L.) رقم بی دانه سفید. پنجمین همایش ملی ایده های نو در کشاورزی، اصفهان، ایران.

13 – علی خانی، م.، م. شریفاتی، م. عزیزی، خ. همتی و س. ج. موسوی زاده. (۱۳۸۸) . تاثیر ترکیبات طبیعی گیاهی بر عمر انبارمانی و ودژگی های کیفی گلابی (رقم شاه میوه اصفهان). مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی، ج ۱۶ ، ش ۳ .

14 – کریمی، ز. و م. راحمی. (۱۳۸۷). مقایسه عصاره های روغنی آویشن و میخک و قارچکش ایمازالیل بر پوسیدگی کپک آبی (*Penicillium italicum*) میوه های مرکبات در انبار سرد. مجله علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی، ش ۴۵، صص ۲۳۷- ۲۳۱.

15 – لاهوجی، ع.، م. میر ابوالفتحی و ر. کرمی اسبو. (۱۳۸۹). اثر اسانس های آویشن شیرازی و مرزه و مواد تیمول و کارواکرول بر *Fusarium graminearum* و *داکسی تیوالنول. مجله بیماری های گیاهی، ج ۴۶، ش ۱، صص ۳۳-۲۵.*

16- مرادی، ر.، نصیری محلاتی، م.، رضوانی مقدم، پ.، لکزیان، الف. و نژاد علی، ع.، ۱۳۹۰. تأثیر کودهای بیولوژیک و آلی بر کمیت و کیفیت اسانس گیاه رازیانه (*Foeniculum vulgare*). نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)، ۲۵(۱): ۲۵-۳۳.

17- مسکوکی، ع. و مرتضوی، س.ع.، ۱۳۸۳. تأثیر اسانس‌های آویشن و زنیان در کنترل رشد قارچ *Aspergillus parasiticus* روی گلابی در سردخانه. مجله علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی، ۲: ۲۱۵-۲۰۷.

18- مؤمنی، ت. و شاهرخی، ن.، ۱۳۷۷. اسانس‌های گیاهی و اثرات درمانی آن‌ها. انتشارات دانشگاه تهران، ۱۷۱ صفحه.

19- مینوئیان حقیقی، م. ح. و خسروی، ع.، ۱۳۸۸. اثرات اسانس‌های گیاهی بر دو گونه مهم آسپرژیلوس. فصل‌نامه افق دانش دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی گناباد، ۱۵(۴): ۵-۱۶.

20- ناصری نسب، ف.، ن. صاحباتی و ح. ر. اعتباریان. (۱۳۹۰). بررسی اثر تلفیقی سالیسیلیک اسید و قارچ *Trichoderma harzianum* BI بر مقاومت گیاه گوجه فرنگی علیه نماتد گره زای ریشه Meloidogyne javanica. نشریه حفاظت گیاهان (علوم و صنایع کشاورزی)، ج ۲۵ ، ش ۴ ، صص ۴۲۵ - ۴۱۷

21- وصال طلب، ز. و م. غلامی. (۱۳۹۱). اثرات ضد قارچی عصاره و اسانس گیاهان اکلیل کوهی و میخک بر رشد قارچ *Botrytis cinerea*. مجله فناوری تولیدات گیاهی، ج۱۱، ش ۲ ، صص ۱۱-۱

22 – هادی پناه، ا.، ا. ر. گل پرور، ع. قاسمی پیر بلوطی و ح. زینلی. (۱۳۹۰). تعیین بهترین زمان برداشت برای دست یابی به بیشترین بازدهی اسانس و تیمول در آویشن (*Thymus vulgaris*) باغی در شرایط اصفهان. فصل نامه داروهای گیاهی، ش ۱، صص ۳۲-۲۳.

23- Anjum T and Akhtar N. (2012). Antifungal activity of essential oils extracted from clove, cumin and cinnamon against blue mold disease on citrus fruit. International Conference on Applied Life Sciences. Turkey, 10-12 September: 321-326.

24- Arsalan M and Dervis S. (2010). Antifungal activity of essential oils against three vegetative compatibility groups of *Verticillium dahliae*.World Journal of Microbiology and Biotechnology, 26: 1813-1821.

25- Behdani M, Pooyan M and Abbasi S. (2012). Evaluation of antifungal activity of some medicinal plants essential oils against *Botrytis cinerea*, causal agent of postharvest apple rot, *in vitro*. International Journal of Agriculture and Crop Sciences, 4(14): 1012-1016.

26- Bouchra CH, Mohamed A, Hassani M I and Hmamouchi M. (2003). "Antifungal activity of essential oils from several medicinal plants against four postharvest citrus pathogens." *Phytopathologia of Mediterranea*, Vol. 42, No. 3, pp. 251–256.

27- Hall DJ. and Fernandez YJ. (2004). *In vitro* evaluation of selected essential oils as fungicides against *Penicillium digitatum* Sacc. Procedure Florida State Horticulture Society, 117: 377-379.

28- Mandal S, Mallick N and Mitra A. (2009). "Salicylic acid-induced resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. Lycopersici in tomato." *Journal of Plant Physiology and Biochemistry*, Vol. 47, pp. 642–649.

29- Mohammadi S, Aroiee H, Aminifard MH and Jahanbakhsh V. (2012). *In vitro* and *in vivo* antifungal activates of the essential oils of various plants against strawberry grey mold disease agent *Botrytis cinerea*. Archives of Phytopathology and Plant Protection, 45(20): 2474-2484.

30-Wu HS, Raza W, Fan JQ, Sun YG, Bao W, Liu DY, Huang QW, Mao ZS, Shen QR and Miao WG. (2008). "Antibiotic effect of exogenously applied salicylic acid on *in vitro* soilborne pathogen, *Fusarium oxysporum* f. sp. Niveum." *Chemosphere*, Vol. 74, pp. 45–50.

31- Yahyazadeh M, Omidbaigi R, Zare R and Taheri H. (2008). Effect of some essential oils on mycelial growth of *Penicillium digitatum* Sacc. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 24: 1445-1450.

32- Yao H and Tian SH. (2005). "Effects of pre and postharvest application of salicylic acid or methyl jasmonate on inducing disease resistance of sweet cherry fruit in storage." *Journal of Postharvest Biology and Technology*, Vol. 35, pp. 253–262.

33- Zeng K F, Cao J K and Jiang WB. (2006). "Enhancing disease resistance in harvested mango (*Mangifera indica* L. cv. Matisu) fruit by salicylic acid." *Journal of the Science of Food and Agriculture*, Vol. 86, pp. 694-698.

The effect of postharvest application of plant essential oils and chemical treatment on penicillium fungal decay and storage life of sanguinello blood orange fruit

This study was conducted to evaluate the effect of postharvest treatments on quality maintain and losses reduce of sanguienello blood orange fruits. The aim of this study was evaluation the effect of salicylic acid (SA) and essential oils (EOs) application on fungal growth under *in vitro* conditions.The experiment was performed in a Factorial using Completely Randomized Design with four replications. Factors of the experiment included fungal species (*Penicillium italicum* and *Penicillium digitatum*), solutions (fennel, cumin, eucalyptus, clove and Shiraz thyme EOs and SA) and concentrations (0, 400, 700 and 1000 µL/L for EO and 0, 1, 2.5 and 4 mM for SA).Results revealed that clove, Shiraz thyme and cumin EOs in 1000 µL/L concentration showed most effect on fungal growth reduce however eucalyptus and fennel EOs and SA had little effect. Based on *in vitro* screening, the best treatments of EOs and SA in 1000 µL/L and 4 mM concentration respectively, were screened to evaluate their antifungal activity on inoculated fruits.The experiment was performed in a split-plot using Completely Randomized Design with four replications. Treatments of the experiment included fungal species (*P. italicum* and *P. digitatum*), solutions (cumin, clove and Shiraz thyme EOs, SA and sterile distilled water) and storage times (17, 24, 31, 38 and 45 days after treatment). Results showed that maximum rot control on inoculated fruits with *P. digitatum* were performed at Shiraz thyme and clove EOs and on inoculated fruits with *P. italicum* were performed at cumin and clove EOs treatments. These treatments were caused significant decrease rot compared to control treatment.

Key word: plant essential oils, storage, fungal decay, blood orange