

مطالعه اثر ژل آلونته ورا، عصاره‌های برگ گیاه نیم و ریشه شیرین بیان در کنترل قارچ آسپرژیلوس نیجر در رطب مضافتی

ابوالفضل گلشن تفتی^{۱*}، مریم روزبه^۲ و سید ذبیح‌الله راوری^۳

۱- دانشیار بخش تحقیقات مهندسی صنایع غذایی و فناوری‌های پس از برداشت، مؤسسه تحقیقات فنی و مهندسی کشاورزی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران.
۲- کارشناس بخش تحقیقات گیاه‌پزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان کرمان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرمان، ایران.
۳- استادیار بخش تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان کرمان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرمان، ایران.
تاریخ دریافت: ۹۷/۵/۱۷؛ تاریخ پذیرش: ۹۸/۵/۲۰

چکیده

در این پژوهش، اثر بازدارندگی عصاره‌های شیرین بیان و برگ گیاه نیم و ژل آلونته ورا بر رشد کپک آسپرژیلوس نیجر جدا شده از رطب مضافتی و نیز کنترل پوسیدگی در میوه مضافتی بررسی شده است. فرآورده‌های گیاهی در غلظت‌های مختلف (۰/۱، ۰/۵ و ۱ درصد برای عصاره‌های شیرین بیان و برگ گیاه نیم و ۰/۲۵، ۰/۳۵ و ۰/۵۰ درصد برای ژل آلونته ورا) به‌طور جداگانه به محیط کشت سیب‌زمینی دکستروز اضافه شدند. دیسک‌هایی از قارچ به قطر ۷ میلی‌متر به مرکز پتری‌های حاوی عصاره گیاهی انتقال داده شدند؛ پتری‌ها نیز در گرمخانه در دمای ۲۵ درجه سلسیوس قرار داده شدند. روزانه رشد قطری قارچ بر حسب میلی‌متر اندازه‌گیری شد. بین عصاره‌های گیاهی و غلظت‌های مورد استفاده در جلوگیری از رشد کپک آسپرژیلوس نیجر اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد وجود داشت. اثر بازدارندگی عصاره شیرین بیان روی رشد قارچ آسپرژیلوس نیجر به‌طور معنی‌داری بیش از اثر بازدارندگی عصاره برگ گیاه نیم و ژل آلونته ورا بود. غلظت بالای عصاره‌ها نیز اثر بازدارندگی بیشتری روی رشد کپک آسپرژیلوس نیجر در محیط کشت داشت. عصاره شیرین بیان در غلظت ۱ درصد بیشترین کاهش را در رشد قارچ آسپرژیلوس نیجر نشان داد و نیز در کنترل پوسیدگی در رطب مضافتی مؤثر بود. عصاره ریشه شیرین بیان طعم و مزه خاص و قابل تشخیصی را در رطب مضافتی ایجاد نکرد و از لحاظ صفات حسی (طعم و مزه، وضعیت ظاهری، قابلیت پذیرش کلی) امتیاز بیشتری توسط گروه ارزیاب دریافت کرد.

واژه‌های کلیدی

آلودگی میکروبی، خرما، عصاره‌های گیاهی، فعالیت ضد قارچی

مقدمه

به دلیل داشتن ویتامین‌ها، ترکیبات نیتروژن دار و ترکیبات فنلی با غلظت پایین در مبارزه با عوامل بیماری‌زای گیاهی مؤثر هستند (Ahmed et al.,

تأثیر بسیاری از فرآورده‌های گیاهی در کاهش بیماری‌های گیاهی ثابت شده است. این گیاهان

قارچ‌های *آسپرژیلوس فلاووس*، *آلترناریا سلانی* و کلادوسپوریوم است ولی عصاره متانولی بیشترین تأثیر را روی قارچ *آسپرژیلوس فلاووس* نشان داده است (Shrivastava & Swarnkar, 2014). شیرین بیان گیاه دارویی دیگری است که عصاره ریشه آن خاصیت ضد قارچی دارد. فعالیت ضد قارچی این عصاره علیه چهار بیمارگر گیاهی شامل *آلترناریا آلترناتا*، *آسپرژیلوس نیجر*، *فوزاریوم سلولانی* و *فوزاریوم اکسیس پوروم* بررسی شده است. قارچ *آسپرژیلوس نیجر* به عصاره متانولی شیرین بیان در مقایسه با عصاره‌های آبی و اتانولی آن بسیار حساس است (Ahmed *et al.*, 2014). ریشه شیرین بیان فعالیت ضد میکروبی نیز علیه باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت نشان داده است. عصاره بر پایه روغن شیرین بیان که دارای ترکیب فعال گلابریدین است، نه تنها روی قارچ‌های رشته‌ای بلکه روی برخی باکتری‌ها مخصوصاً باسیل‌های مقاوم به حرارت مانند جنس *باسیلوس* مؤثر گزارش شده است (Bayati Zadeh *et al.*, 2013). گلابریدین روی مخمرها نیز تأثیر دارد. عصاره الکلی شیرین بیان روی سویه‌های مختلف *کاندیدا آلبیکانس* مؤثر بوده است (Fatima *et al.*, 2009).

خرما از محصولات مهم کشاورزی در کشور است که در معرض تهاجم مخمرها، کپک‌ها و باکتری‌ها قرار دارد و قارچ‌ها نقش عمده‌ای در فساد و پوسیدگی این محصول دارند. رطب مضافتی از ارقام خرما غالب و تجارتي در استان کرمان است که به دلیل بالابودن رطوبت آن در معرض فساد و پوسیدگی‌های قارچی قرار دارد. در این پژوهش، فعالیت ضد قارچی ژل آلوئه ورا و عصاره‌های گیاهی (ریشه شیرین بیان، برگ گیاه نیم)، روی قارچ *آسپرژیلوس نیجر* جدا شده از رطب مضافتی، در

2014). از جمله ترکیبات طبیعی گیاهی که استفاده از آن علیه بیمارگرهای پس از برداشت بررسی شده، ژل آلوئه ورا است. ژل آلوئه ورا از فشردن ماده ژل مانند شفاف بافت پاراننشیم برگ‌های آلوئه ورا به دست می‌آید (Garcia *et al.*, 2014) و دارای چندین ترکیب بالقوه فعال زیستی شامل سالیسیلات، لاکتات منیزیم، اسمانان، لوپئول، کامپسترول، بتاسیتواسترول، آلوئین آ و آنتراکواینون است. ژل آلوئه ورا همچنین دارای حداقل ۷ سوپراکسید دیسموتاز با فعالیت آنتی‌اکسیدانی است (Lawrence *et al.*, 2009). این ژل دارای دامنه‌ای وسیع از فعالیت ضد باکتریایی علیه باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی است. مواد ضد میکروبی موجود در ژل آلوئه ورا سبب کشتن و یا کاهش رشد باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس*، *اشریشیا کلی*، *سالمونلا تایفی*، *کلبسیلا نومونیا*، *استرپتوکوکوس پیوژنز*، *سودوموناس اروجنوزا* و *هلیکوباکتر پیلوری* شده‌اند. پژوهشگران، ترکیبات با حداکثر فعالیت ضد باکتریایی را از استخراج متانولی و اتانولی شناسایی کردند که شامل پی‌کوماریک اسید، آسکوربیک اسید، پیروکتکول و سینامیک اسید بودند (Lawrence *et al.*, 2009). درخت نیم گیاهی است همیشه سبز و سریع‌الرشد که عمدتاً در هندوستان، آفریقا و آمریکا یافت می‌شود. گیاه نیم دارای خواص آنتی‌اکسیدانی، ضد قارچی، باکتریایی و ویروسی است (Subapriya & Nagini, 2005). بیش از ۱۴۰ ترکیب از قسمت‌های مختلف این گیاه جداسازی شده‌اند (Adyanthaya *et al.*, 2014). ترکیبات تری ترپنوییدی و تترا نورتری ترپنویید در گیاه نیم از اجزای شیمیایی اصلی با خواص ضد قارچی هستند (Mossini *et al.*, 2009). عصاره اتانولی و متانولی برگ گیاه نیم دارای اثر بازدارندگی روی رشد

استفاده شد. پودر شیرین‌بیان در حلال متانول به مدت ۲۴ ساعت و روی شیکر خیسانده و پس از آن به‌طور ساکن تا تبخیر کامل حلال و خشک شدن عصاره، در دمای اتاق قرار داده شد (Ahmed *et al.*, 2014). عصاره برگ نیم نیز، برابر روش مشروح برای شیرین‌بیان، استخراج شد.

جداسازی و شناسایی قارچ غالب در رطب مضافتی

میوه‌های رطب مضافتی با نشانه‌های پوسیدگی از نخلستان‌های مختلف شهرستان بزم جمع‌آوری شدند و پس از انتقال به آزمایشگاه، به‌صورت بلاترا کشت داده شدند. میوه‌ها با اسکالپل به قطعات مربعی‌شکل با ابعاد ۵ میلی‌متر بریده شدند. قطعات بریده‌شده در محلول ۱ درصد هیپوکلریت سدیم به مدت ۳۰ ثانیه ضد عفونی و با آب مقطر استریل آبکشی و با کاغذ صافی استریل خشک شدند. پنج تکه از میوه در هر پتری روی محیط کشت سیب زمینی دکستروز آگار^۱ قرار داده شد و در دمای ۲۵ درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری گردید. با ظهور پرگنه‌های قارچی، به روش نوک ریشه خالص‌سازی و پس از آن به محیط کشت سیب‌زمینی دکستروز آگار منتقل شدند و سپس شناسایی آنها آغاز شد. گونه‌هایی از قارچ *آسپرژیلوس سیاه‌رنگ* متعلق به شاخه *آسپرژیلوس نیجر* بر اساس مشخصات مورفولوژیکی و مشاهدات میکروسکوپی (با کلید تشخیص^۲ گونه‌های *آسپرژیلوس* در محصولات انباری^۳) به روش توالی‌یابی مولکولی شناسایی شد. پرگنه این قارچ ابتدا سفید و گاهی متمایل به زرد کم‌رنگ است که به سرعت با تولید کنیدیوم‌ها سیاه می‌شود و به زرد مایل به خاکستری تغییر می‌کند. این قارچ در زیر میکروسکوپ کنیدیوفور و اسپوره‌های

سطح آزمایشگاهی و نیز کنترل این کپک در رطب مضافتی بررسی شده‌است.

مواد و روش‌ها

مواد

ریشه شیرین‌بیان از بازار محلی شهر کرمان، برگ‌های تازه آلوئه ورا و گیاه نیم به ترتیب از مرکز آموزش کشاورزی کرمان و مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان هرمزگان تهیه شدند. مواد شیمیایی و محیط‌های کشت میکروبی مورد استفاده در این پژوهش نیز از شرکت مرک آلمان خریداری شدند.

استخراج عصاره گیاهی

از برگ‌های تازه آلوئه ورا برای استخراج ژل استفاده شد. پس از شستشوی برگ‌ها و آبکشی با آب مقطر، پوست خارجی و ضخیم آلوئه ورا با چاقو جدا و پارانشیم بی‌رنگ (ژل) در داخل یک همزن یکنواخت شد. ماده به‌دست آمده از کاغذ صافی واتمن شماره ۱۰۰ عبور داده شده تا فیبرها جدا شوند. پس از پاستوریزاسیون ژل و سرد شدن آن تا دمای محیط، میزان pH ژل با دستگاه pH متر دیجیتال (مدل ۶۹۱، شرکت متروهم سوئیس) و با افزودن آسکوربیک اسید، روی ۴ تنظیم شد. از این مایع حاوی ژل آلوئه ورا برای بررسی خاصیت ضد قارچی استفاده گردید (Sophia *et al.*, 2015). ریشه شیرین‌بیان و برگ گیاه نیم نیز پس از شستشو با آب و آبکشی با آب مقطر استریل، در دستگاه آن (مدل ۶۰۰، شرکت ممرت آلمان) در دمای ۵۰ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت خشک شدند. فرآورده‌های گیاهی خشک، آسیاب شدند و به‌صورت پودر درآمدند. برای استخراج عصاره، از حلال متانول

1- Blotter

3- *Aspergillus* species on stored products

2- PDA

رشد قطری قارچ تا زمانی ادامه داشت که قارچ سطح پتری شاهد را به طور کامل فراگرفت. این زمان در این پژوهش ۸ روز به طول انجامید.

بررسی اثر فرآورده‌های گیاهی در کنترل پوسیدگی در رطب مضافتی

میوه‌های خرمای مضافتی از ایستگاه تحقیقاتی مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان کرمان برداشت و پس از انتقال به آزمایشگاه، میوه‌های یکسان از نظر اندازه، ظاهر، رسیدگی، عاری بودن از آسیب‌های مکانیکی و آلودگی‌های قارچی انتخاب شدند. میوه‌ها با محلولی از غلظت‌های مختلف فرآورده‌های گیاهی اسپری شدند و در گرمخانه در دمای ۲۵ درجه سلسیوس قرار گرفتند و روزانه از نظر پوسیدگی بررسی شدند.

ارزیابی حسی

برای تشخیص تأثیر عصاره‌های گیاهی (شیرین‌بیان، برگ گیاه نیم) و ژل آلونته ورا روی صفات حسی میوه مضافتی، از ۱۵ نفر ارزیاب آموزش دیده استفاده شد. برای این منظور، پرسشنامه تهیه و از گروه ارزیاب خواسته شد تا نمونه‌های مختلف را از لحاظ صفات حسی ارزیابی و میزان رضایت یا نارضایتی خود را نسبت به هر نمونه با عدد مناسب زیر شماره نمونه مشخص کنند. مقیاس اندازه‌گیری بر مبنای ۵-۱ بود، عدد ۱ معادل غیرقابل قبول، عدد ۳ معادل رضایت‌بخش و عدد ۵ معادل عالی در نظر گرفته شد.

تجزیه و تحلیل آماری

آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی و با ۴ تکرار اجرا شد. داده‌ها با نرم‌افزار سس^۱ تجزیه و تحلیل و میانگین داده‌ها با آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد مقایسه شدند.

بی رنگ و صاف دارد. در انتهای کنیدیوفور، کروی و قهوه‌ای تیره است که چندین ستون از آن منشعب می‌شوند و روی ستون‌ها اسپورها قرار می‌گیرند. این گونه، در مقایسه با سایر گونه‌های آسپرژیلوس، اسپورهای سیاه یا قهوه‌ای تیره تولید می‌کند که از این رنگ تیره در تشخیص آن استفاده می‌شود. تولید اسپور در این قارچ به صورت متراکم است و اطراف وزیکول را می‌گیرد. اسپورها کروی‌اند و اندازه آنها ۳ تا ۴ میکرومتر است که دیواره اسپورها با رسیدن به مرحله بلوغ، ناصاف می‌شود.

بررسی اثر ضد قارچی فرآورده‌های گیاهی در محیط کشت آزمایشگاهی

از کشت ۷ روزه گونه‌هایی از قارچ آسپرژیلوس سیاه‌رنگ متعلق به شاخه آسپرژیلوس نیجر روی محیط کشت سیب‌زمینی دکستروز آگار که در دمای ۲۵ درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری شده بود، به عنوان منبع قارچی استفاده شد. غلظت‌های عصاره‌ها و ژل با توجه به نتایج به دست آمده از بررسی‌های سایر پژوهشگران انتخاب شدند. در مورد عصاره شیرین‌بیان و عصاره برگ گیاه نیم، از غلظت‌های ۰/۱، ۰/۵ و ۱ درصد و برای ژل آلونته ورا از غلظت‌های ۰/۲۵، ۰/۳۵ و ۰/۵۰ درصد استفاده شد. عصاره‌ها در غلظت‌های مختلف به طور جداگانه به محیط کشت سیب‌زمینی دکستروز در دمای ۴۵- ۴۰ درجه سلسیوس اضافه و به درون ظروف پتری ریخته شدند. پس از سرد و منجمد شدن محیط کشت، دیسک‌هایی از قارچ به قطر ۷ میلی‌متر با کرک بورر به مرکز پتری‌ها با قطر ۸ سانتی‌متر انتقال داده شد و پتری‌ها در گرمخانه در دمای ۲۵ درجه سلسیوس قرار داده شدند. روزانه رشد قطری قارچ بر حسب میلی‌متر اندازه‌گیری و به طور دقیق یادداشت برداری شد (Mondal et al., 2009). اندازه‌گیری

نتایج و بحث

داشتند. کنیدیوفور با دیواره صاف و بی‌رنگ، و وزیکول، نیمه کروی و به اندازه ۱۰۰-۵۰ میکرومتر دیده می‌شد. کنیدی‌ها به رنگ قهوه‌ای با تزئینات و به شکل نیمه‌کروی و به قطر ۵-۳/۵ میکرومتر بودند. دامغانی (Damghani, 1998) گونه‌های قارچ آسپرژیلوس، رایزوپوس و فوزاریوم را از میوه‌های پوسیده خرمای مضافتی جدا کرد. بررسی کیفیت میکروبی برخی ارقام خرمای مراکش حاکی از وجود کپک آسپرژیلوس نیجر به‌عنوان فراوان‌ترین گونه قارچی بود (Hasnaoui et al., 2010). آسپرژیلوس نیجر، کپک غالب در ارقام خرمای جمع‌آوری شده از بازار محلی شهرهای ساحلی لیبی (ارقام خرمای الاک^۱، دگلیت^۲ و آسابی الاروس^۳) گزارش شد (Atia, 2011).

در این پژوهش، میوه‌های خرمای مضافتی با نشانه‌های پوسیدگی از لحاظ آلودگی قارچی بررسی شدند تا بتوان قارچ غالب و عامل پوسیدگی را در آنها شناسایی کرد. گونه‌های قارچ رایزوپوس، پنی‌سیلیوم، فوزاریوم، آلترناریا و قارچ سیاه‌رنگ آسپرژیلوس متعلق به شاخه آسپرژیلوس نیجر از میوه‌های پوسیده خرمای مضافتی جداسازی شدند ولی گونه‌هایی از قارچ آسپرژیلوس سیاه‌رنگ متعلق به شاخه آسپرژیلوس نیجر در تمامی نمونه‌ها (رطب مضافتی) غالب بود (شکل ۱). پرگنه این قارچ روی محیط کشت CZA به رنگ سیاه با کنیدیوفورهای متراکم مشاهده شد. کنیدی‌ها به شکل شعاعی روی وزیکول قرار



شکل ۱- قارچ آسپرژیلوس نیجر جدا شده از رطب مضافتی

کشت استفاده شد. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که بین عصاره‌های گیاهی و غلظت‌های مورد استفاده در جلوگیری از رشد کپک آسپرژیلوس نیجر در سطح احتمال ۱ درصد اختلاف معنی‌داری وجود دارد (جدول ۱). در روز اول اندازه‌گیری، میانگین

اثر فرآورده‌های گیاهی در جلوگیری از رشد کپک آسپرژیلوس نیجر در این پژوهش، از عصاره متانولی شیرین‌بیان، برگ گیاه نیم و آلونه ورا در غلظت‌های مختلف برای جلوگیری از رشد قارچ آسپرژیلوس نیجر در محیط

1- Elak

3- Asabei Elaros

2- Deglate

بنابراین، اثر بازدارندگی عصاره شیرین بیان روی رشد قارچ آسپرژیلوس سیاه‌رنگ به‌طور معنی‌داری بیش از اثر بازدارندگی عصاره برگ گیاه نیم و ژل آلوئه‌ورا بود. استفاده از غلظت‌های بالای هر یک از عصاره‌ها (۱ درصد برای عصاره‌های شیرین بیان و برگ نیم و ۰/۵ درصد برای آلوئه‌ورا) به‌طور معنی‌داری سبب رشد کمتر (۲۸/۹۲ میلی‌متر) پرگنه قارچ آسپرژیلوس سیاه‌رنگ در محیط کشت PDA گردید؛ بنابراین، غلظت بالای عصاره‌ها اثر بازدارندگی بیشتری روی رشد قارچ آسپرژیلوس سیاه‌رنگ در محیط کشت داشته‌است (شکل ۳).

قطر پرگنه آسپرژیلوس سیاه‌رنگ در محیط کشت برای تیمار شاهد (بدون عصاره گیاهی)، ۱۴ میلی‌متر بود که به تدریج افزایش یافت و در روز هشتم اندازه‌گیری به ۸۰ میلی‌متر رسید. اثر ژل آلوئه‌ورا، عصاره شیرین بیان و عصاره برگ نیم روی رشد پرگنه قارچ آسپرژیلوس نیجر در شکل ۲ نشان داده شده است. میانگین قطر پرگنه آسپرژیلوس سیاه‌رنگ در محیط کشت برای تیمارهای ژل آلوئه‌ورا، عصاره شیرین بیان و عصاره برگ گیاه نیم به ترتیب ۴۵/۴، ۲۳/۸۸ و ۳۴/۹۸ میلی‌متر گزارش گردید.

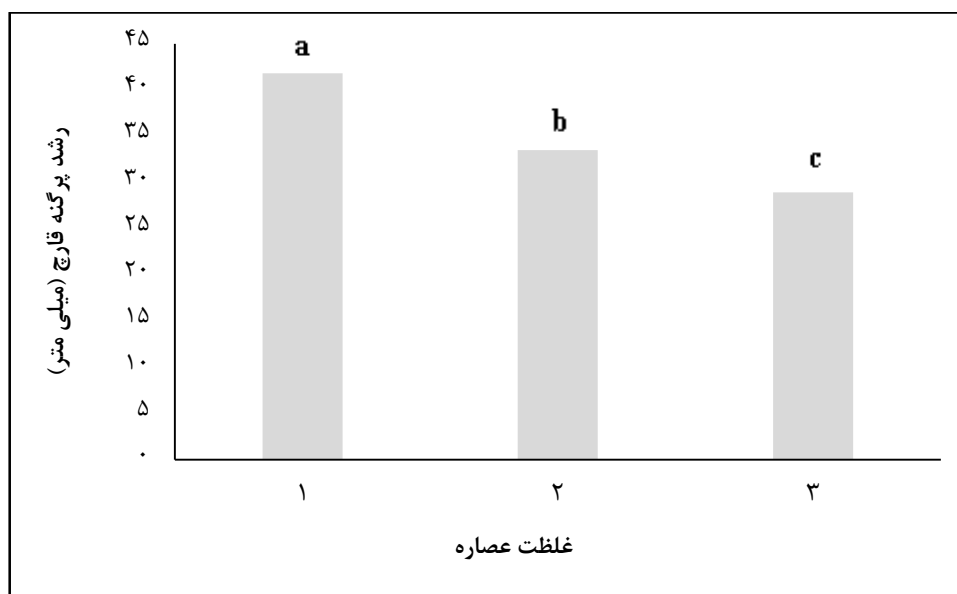
جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس اثر عصاره‌های گیاهی در رشد قارچ آسپرژیلوس نیجر

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات
عصاره گیاهی (A)	۲	۱۱۱۰۷/۳۷۸**
غلظت (B)	۲	۴۰۹۶/۶۹۰**
B × A	۴	۵۹۵/۵۷۶*
احتمال خطا	۱۸۹	۲۱/۴۵۸
ضریب تغییرات (درصد)		۱۳/۳۳
C.V. (%)		

* اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد و ** اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد.



شکل ۲- اثر عصاره‌های گیاهی در رشد قارچ آسپرژیلوس نیجر



شکل ۳- اثر غلظت‌های مختلف عصاره‌های گیاهی روی رشد قارچ *آسپیرژیلوس نیجر*

(۱: غلظت ۰/۱ درصد برای عصاره‌های شیرین بیان و برگ نیم و ۰/۲۵ درصد برای آلوئه ورا، ۲: غلظت ۰/۵ درصد برای عصاره‌های شیرین بیان و برگ نیم و ۰/۳۵ درصد برای آلوئه ورا، ۳: غلظت ۱ درصد برای عصاره‌های شیرین بیان و برگ نیم و ۰/۵۰ درصد برای آلوئه ورا)

استفاده در این پژوهش، اثر بازدارندگی متفاوتی روی قارچ *آسپیرژیلوس نیجر* نشان دادند، زیرا فعالیت بازدارندگی عصاره‌های گیاهی علاوه بر نوع عصاره و غلظت آن، به نوع میکروارگانیسم و نوع حلال نیز بستگی دارد. در این مطالعه، عصاره ریشه شیرین بیان بیشترین اثر بازدارندگی را در رشد قارچ *آسپیرژیلوس نیجر* از خود نشان داده است. اثر ضد باکتری عصاره شیرین بیان در محیط کشت و با روش‌های دیسک و چاهک روی باکتری‌های بیماری‌زای مختلف بررسی شده است. باکتری‌های *سالمونلا تیفی*، *سالمونلا پاراتیفی*، *شیگلا سونی*، *شیگلا فلکسنری* در غلظت‌های بالا (بیش از ۷/۵ درصد) نسبت به عصاره شیرین بیان حساس بودند. اثر ضد باکتری عصاره اتانولی شیرین بیان روی باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* با قطر هاله ۱۵-۱۰ میلی‌متر بسیار قوی گزارش شده است (Bayati Zadeh et al., 2013)

مقایسه میانگین اثر متقابل عصاره‌های گیاهی و غلظت در رشد قارچ *آسپیرژیلوس نیجر* در جدول (۲) آورده شده است. بیشترین رشد پرگنه قارچ مربوط به غلظت ۰/۲۵ درصد ژل آلوئه ورا با قطر ۴۷/۰۶ میلی‌متر بود. ژل آلوئه ورا در غلظت‌های مختلف و عصاره برگ گیاه نیم در غلظت ۰/۱ درصد از لحاظ اثر بازدارندگی در رشد قارچ *آسپیرژیلوس نیجر* اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشتند و بیشترین رشد پرگنه قارچ مربوط به این تیمارها بود. عصاره ریشه شیرین بیان در غلظت‌های ۱ و ۰/۵ درصد به ترتیب بیشترین کاهش را در رشد پرگنه قارچ *آسپیرژیلوس نیجر* داشته و در مقایسه با عصاره برگ گیاه نیم و ژل آلوئه ورا به‌طور معنی‌داری اثر بازدارندگی بیشتری از خود نشان داده است. قطر پرگنه قارچ در غلظت‌های ۱ و ۰/۵ درصد شیرین بیان به ترتیب ۱۵/۰۶ و ۲۱/۹۳ میلی‌متر گزارش شد (جدول ۲). عصاره‌های گیاهی مورد

جدول ۲- مقایسه میانگین اثر متقابل عصاره‌های گیاهی و غلظت در رشد قارچ *آسپریژیلوس نیجر*

تیمار	رشد پرگنه قارچ (میلی متر)
آلونه ورا در غلظت ۰/۲۵ درصد	۴۷/۰۶ ^a
آلونه ورا در غلظت ۰/۳۵ درصد	۴۵/۵۹ ^a
عصاره برگ نیم در غلظت ۰/۱ درصد	۴۳/۶۸ ^a
آلونه ورا در غلظت ۰/۵ درصد	۴۳/۵۳ ^a
عصاره ریشه شیرین بیان در غلظت ۰/۱ درصد	۳۴/۶۵ ^b
عصاره برگ نیم در غلظت ۰/۵ درصد	۳۲/۹۳ ^{bc}
عصاره برگ نیم در غلظت ۱ درصد	۲۸/۱۵ ^c
عصاره ریشه شیرین بیان در غلظت ۰/۵ درصد	۲۱/۹۳ ^d
عصاره ریشه شیرین بیان در غلظت ۱ درصد	۱۵/۰۶ ^e

میانگین‌ها با حروف مشابه اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند ($P < 0.01$).

احتمال ۱ درصد معنی‌دار است. مقایسه میانگین اثر متقابل عصاره‌های گیاهی و غلظت بر میزان پوسیدگی در رطب مضافتی در جدول ۳ آورده شده است. عصاره برگ گیاه نیم در تمامی غلظت‌های مورد استفاده (۰/۱ درصد، ۰/۵ درصد و ۱ درصد) و عصاره ریشه شیرین بیان در غلظت ۱ درصد به‌طور معنی‌داری بیشترین تأثیر را در کاهش میزان آلودگی در رطب مضافتی داشتند. خاصیت ضد میکروبی قوی برگ گیاه نیم به وجود غلظت‌های بالای ترکیباتی مانند آزادی‌راچتین، کوئرسیتین و بتاسیتوسترول در آن مرتبط است (Adyanthaya et al., 2014). اثر عصاره‌های آبی، اتانولی و اتیل استات برگ گیاه نیم را روی رشد قارچ‌های *آسپریژیلوس نیجر*، *آسپریژیلوس فومیگاتوس*، *آسپریژیلوس فلاووس* و *آسپریژیلوس ترئوس* در محیط کشت آزمایشگاهی بررسی کردند. غلظت ۲۰ درصد از عصاره اتیل استات برگ گیاه نیم، بالاترین فعالیت بازدارندگی را علیه قارچ‌های مورد مطالعه نشان داد. اثر بازدارندگی کامل (۱۰۰ درصد) در رشد قارچ *آسپریژیلوس نیجر*

گلابریدین موجود در عصاره شیرین بیان دارای حداقل غلظت بازدارندگی ۰/۲۵ میلی گرم بر میلی لیتر بر علیه قارچ‌های *آسپریژیلوس نیجر* و *آسپریژیلوس فلاووس* بوده است (Fatima et al., 2009). برابر گزارش احمد و همکاران (Ahmed et al., 2014)، عصاره‌های آبی و آلی (متانولی، اتانولی) شیرین بیان پتانسیل ضد قارچی قابل توجهی روی قارچ‌های *آلترناریا آلترناتا*، *آسپریژیلوس نیجر*، *فوزاریوم سلوانی* و *فوزاریوم اکسیس پوروم* دارند. قارچ‌های *فوزاریوم اکسیس پوروم* (هاله بازدارندگی ۳۳/۳۷ میلی متر)، *آسپریژیلوس نیجر* (هاله بازدارندگی ۲۹/۲۷ میلی متر) و *فوزاریوم سلوانی* (هاله بازدارندگی ۲۷/۲۶ میلی متر) به ترتیب به عصاره‌های اتانولی، متانولی و آبی شیرین بیان بسیار حساس بودند.

اثر فرآورده‌های گیاهی در کنترل پوسیدگی در رطب مضافتی

نتایج بررسی‌های آماری نشان داد که اثر عصاره‌های گیاهی، غلظت و اثر متقابل عصاره در غلظت بر میزان آلودگی در رطب مضافتی در سطح

با استفاده از غلظت ۲۰ درصد عصاره آبی برگ گیاه نیم به دست آمد. توانایی کشندگی عصاره‌های گیاه نیم به زمان و غلظت عصاره بستگی دارد و به دیواره سلولی مرتبط است. عصاره آبی و اتانولی برگ گیاه نیم اثر ضد قارچی روی کپک‌های آسپرژیلوس و رایزوپوس دارد. عصاره حاصل از برگ‌های رسیده گیاه نیم (برگ‌های ۹-۷ روزه) در مقایسه با عصاره حاصل از برگ‌های جوان (۴-۲ روزه) اثر بازدارندگی بیشتری روی رشد کپک‌های آسپرژیلوس و رایزوپوس دارند. این اختلاف می‌تواند به دلیل وجود ترکیبات اصلی فعالی باشد که با حلال‌های مختلف استخراج شده‌اند که ممکن است تحت تأثیر عواملی مانند سن گیاه، روش استخراج و نوع حلال باشد (Mondal et al., 2009).

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر متقابل عصاره‌های گیاهی و غلظت بر میزان پوسیدگی در رطب مضافتی

درصد پوسیدگی	تیمار
۶۳/۳۳ ^a	عصاره ریشه شیرین بیان در غلظت ۰/۱ درصد
۲۵ ^c	عصاره ریشه شیرین بیان در غلظت ۰/۵ درصد
۱۸/۳۳ ^{cd}	عصاره ریشه شیرین بیان در غلظت ۱ درصد
۱۱/۶۶ ^d	عصاره برگ نیم در غلظت ۰/۱ درصد
۱۵ ^d	عصاره برگ نیم در غلظت ۰/۵ درصد
۱۵ ^d	عصاره برگ نیم در غلظت ۱ درصد
۲۶/۶۶ ^{bc}	آلوئه ورا در غلظت ۰/۲۵ درصد
۱۱/۶۶ ^d	آلوئه ورا در غلظت ۰/۳۵ درصد
۳۱/۶۶ ^b	آلوئه ورا در غلظت ۰/۵ درصد

میانگین‌ها با حروف مشابه اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند ($P < 0.01$).

عطر و بو، رنگ و وضعیت ظاهری، طعم و مزه و قابلیت پذیرش کلی دارد.

عصاره ریشه شیرین بیان طعم و مزه خاص و قابل تشخیصی را در رطب مضافتی ایجاد نکرد و نمونه‌های تیمار شده با این عصاره از لحاظ طعم و مزه، وضعیت ظاهری و قابلیت پذیرش کلی بیشترین امتیاز را در مقایسه با سایر عصاره‌ها به دست آورده‌اند (جدول ۴).

ارزیابی حسی

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر نوع و غلظت عصاره و نیز اثر متقابل عصاره در غلظت بر صفات حسی مورد مطالعه (عطر و بو، رنگ و وضعیت ظاهری، طعم و مزه، قابلیت پذیرش کلی) در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار است. نمونه‌های رطب مضافتی تیمار شده با عصاره برگ گیاه نیم به‌طور معنی‌داری کمترین امتیاز را از لحاظ صفات حسی

جدول ۴- مقایسه میانگین اثر عصاره‌های گیاهی روی صفات حسی در رطب مضافتی

تیمار	عطر و بو	رنگ و وضعیت ظاهری	طعم و مزه	قابلیت پذیرش کلی
ریشه شیرین بیان	۴/۵۳ ^a	۴/۷۷ ^a	۴/۴۶ ^a	۴/۵۷ ^a
آلوئه ورا	۴/۵۸ ^a	۴/۵۷ ^b	۴/۳۳ ^b	۴/۶۵ ^a
برگ گیاه نیم	۳/۷۸ ^b	۴/۱۴ ^c	۴/۲۸ ^b	۳/۸۵ ^b

در هر ستون، میانگین‌ها با حروف مشابه اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند ($P < 0.01$).

نتیجه‌گیری

تیمار شده با این عصاره، از لحاظ طعم و مزه، وضعیت ظاهری و قابلیت پذیرش کلی امتیاز بیشتری توسط گروه ارزیاب به دست آورده است. با توجه به نتایج ارزیابی حسی میوه‌های مضافتی تیمار شده با عصاره‌های برگ گیاه نیم، ریشه شیرین بیان و ژل آلئوئه ورا و نیز نتایج حاصل از بررسی اثر این عصاره‌ها در کاهش میزان آلودگی در رطب مضافتی، استفاده از عصاره ریشه شیرین بیان در غلظت ۱ درصد می‌تواند روشی غیر شیمیایی برای کاهش میزان آلودگی در رطب مضافتی پیشنهاد شود. با توجه به اثرهای مخاطره‌انگیز سموم شیمیایی، پژوهش در زمینه استفاده از روش‌های فیزیکی از جمله تولیدات گیاهی (اسانس‌ها، عصاره‌ها، ژل‌ها) در کنترل بیماری‌های پس از برداشت ارقام خرما پیشنهاد می‌شود.

نشان داده شد که عصاره‌های گیاهی (برگ گیاه نیم، ریشه شیرین بیان) و ژل آلئوئه ورا در غلظت‌های مورد استفاده، اثر بازدارندگی روی رشد قارچ *آسپرژیلوس نیجر* جدا شده از رطب مضافتی دارند ولی عصاره ریشه شیرین بیان، در مقایسه با عصاره برگ گیاه نیم و ژل آلئوئه ورا، به‌طور معنی‌داری از رشد قارچ *آسپرژیلوس نیجر* جلوگیری می‌کند. غلظت‌های بالای عصاره‌های ریشه شیرین بیان و برگ گیاه نیم و ژل آلئوئه ورا به‌طور معنی‌داری اثر بازدارندگی بیشتری در رشد قارچ *آسپرژیلوس نیجر* نشان داده‌اند.

نتایج ارزیابی حسی نمونه‌های رطب مضافتی تیمار شده با این تولیدات گیاهی نشان داد که عصاره ریشه شیرین بیان، اثر قابل تشخیص و معنی‌داری بر طعم و مزه رطب مضافتی ایجاد نکرد و نمونه‌های

مراجع

- Adyanthaya, S., Pai, V. and Maji Jose, M. D. S. 2014. Antimicrobial potential of the extracts of the twigs of *Azadirachta indica* (Neem): An in vitro study. *Journal of Medicinal Plants Studies*. 2 (6): 53-57.
- Ahmed, M., Khaleeq, A. and Ahmad, S. 2014. Antioxidant and antifungal activity of aqueous and organic extracts of liquorice. *World Applied Sciences Journal*. 30 (11): 1664-1667.
- Atia, M. M. M. 2011. Efficiency of physical treatments and essential oils in controlling fungi associated with some stored date palm fruits. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*. 5 (6): 1572- 1580.
- Bayati Zadeh, J., Moradi Kor, Z. and Karimi Gofatar, M. 2013. Licorice (*Glycyrrhiza glabra* Linn) as a valuable medicinal plant. *International Journal of Advanced Biology and Biomedical Research*. 1(10): 1281- 1288.
- Damghani, R. 1998. Investigating the causes of falling and date fruit rotting and ways of preventing it. Research Report, Iranian Research Institute of Plant Protection. (in Persian)
- Fatima, A., Gupta, V. K., Luqman, S., Negi, A. S., Kumar, J. K., Shanker, K., Saikia, D., Srivastava, S., Darokar, M. P. and Khanuja, S. P. S. 2009. Antifungal activity of *Glycyrrhiza glabra* extracts and its active constituent Glabridin. *Phytotherapy Research*. 23 (8): 1190-1193.
- Garcia, M. A., Ventosa, M., Diaz, R., Falco, S. and Casariego, A. 2014. Effects of *Aloe vera* coating on postharvest quality of tomato. *Fruits*. 69 (2):117-126.
- Hasnaoui, A., El-Houmaizi, M. A., Asehrou, A., Sindic, M., Deroanne, C. and Hakkou, A. 2010. Chemical composition and microbial quality of dates grown in Figuig oasis of Morocco. *International Journal of Agriculture and Biology*. 12 (2): 311-314.

- Lawrence, R., Tripathi, P. and Jeyakumar, E. 2009. Isolation, purification and evaluation of antibacterial agents from *Aloe vera*. Brazilian Journal of Microbiology. 40 (4): 906-915.
- Mahmoud, D. A., Hassanein, N. M., Youssef, K. A. and Abou Zeid, M. A. 2011. Antifungal activity of different neem leaf extracts and the nimonol against some important human pathogens. Brazilian Journal of Microbiology. 42 (3): 1007-1016.
- Mondal, N. K., Mojumdar, A., Chatterje, S. K., Banerjee, A., Datta, J. K. and Gupta, S. 2009. Antifungal activities and chemical characterization of Neem leaf extracts on the growth of some selected fungal species in vitro culture medium. Journal of Applied Sciences and Environmental Management. 13: 49-53.
- Mossini, S. A. G., Arrotéia, C. C. and Kimmelmeier, C. 2009. Effect of neem leaf extract and neem oil on *Penicillium* growth, sporulation, morphology and ochratoxin A production. Toxins. 1 (1): 3-13.
- Shrivastava, D. K. and Swarnkar, K. 2014. Antifungal activity of leaf extract of neem (*Azadirachta Indica* Linn). International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences. 3 (5): 305-308.
- Sophia, O., Robert, G. M. and Ngwela, W. J. 2015. Effect of Aloe vera gel coating on postharvest quality and shelf life of mango (*Mangifera indica* L.) fruits Var. 'Ngowe. Journal of Horticulture and Forestry. 7 (1): 1-7.
- Subapriya, R. and Nagini, S. 2005. Medicinal properties of neem leaves: A review. Current Medicinal Chemistry- Anti-Cancer Agents. 5 (2): 149-156.

Study of the Effect of *Aloe vera* Gel, Neem Leaf and Licorice Extracts in Controlling *Aspergillus Niger* in Mazafati Rutab

A. Golshan Tafti*, M. Rouzbeh and S. Z. Ravari

* Corresponding Author: Assistant Professor, Food and Postharvest Technology Division, Agricultural Engineering Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran.

Email: golshan_ta@yahoo.com

Received: 8 August 2018, Accepted: 11 August 2019

Abstract

In this study, inhibitory effects of herbal products (licorice root and neem leaf extracts, *Aloe vera* gel) on *Aspergillus niger* growth isolated from Mazafati palm dates and control of this mold in Mazafati palm dates were studied. The mold was isolated from rotten Mazafati palm dates. Herbal products were added to melted potato dextrose agar medium in different concentrations (0.1, 0.5 and 1% for Licorice root and neem leaf extracts and 0.25, 0.35 and 0.50% for *Aloe vera* gel). Plates containing the herbal products were inoculated with fungi discs (7mm diameter) and incubated at $25^{\circ}\text{C} \pm 1$. The diameter of fungus colonies (mm) were measured daily. There was significant difference ($P < 0.01$) among the herbal extracts and also their concentrations in preventing *Aspergillus niger* growth. The results showed that inhibitory effects of licorice root extract on *Aspergillus niger* growth were significantly more than that of neem extract and *Aloe vera* gel. High concentration of the extracts had also more inhibitory effects on the mold growth. The licorice root extract at 1% concentration showed more reduction in the growth of *Aspergillus niger* and also was effective on control of rot in Mazafati palm dates. The licorice root extract did not make any special taste in Mazafati palm dates and obtained the more score in the sensory attributes (taste, appearance, acceptability).

Keywords: *Aloe vera* gel, Antifungal activity, *Aspergillus niger*, Mazafati palm dates, herbal products