

اثر ضد قارچی چند اسانس گیاهی بر بیماری‌های پس از برداشت میوه توت فرنگی

• حمید رنجبر

گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی دانشگاه گیلان- رشت

• محسن فرزانه

گروه گیاهپزشکی، دانشکده علوم باغبانی و گیاهپزشکی، دانشگاه تهران - کرج

• جواد هادیان

پژوهشکده گیاهان و مواد اولیه دارویی دانشگاه شهید بهشتی- تهران

• محمدحسین میرجلیلی

پژوهشکده گیاهان و مواد اولیه دارویی دانشگاه شهید بهشتی- تهران

• روح ا... شریفی

گروه گیاهپزشکی، دانشکده علوم باغبانی و گیاهپزشکی، دانشگاه تهران - کرج

تاریخ دریافت: آذر ماه ۱۳۸۵ تاریخ پذیرش: بهمن ماه ۱۳۸۶

Email: mfarzane@ut.ac.ir

چکیده

بررسی اثر اسانس گل های اسطوخودوس (*Lavandula angustifolia*)، بذور رازیانه (*Foeniculum vulgare*) و زیره سبز (*Cuminum cyminum*) و پیکره رویشی نعناع فلفلی (*Mentha piperita*) روی قارچ های عامل پوسیدگی و کپک زدگی پس از برداشت میوه توت فرنگی شامل *Botrytis cinerea*، *Aspergillus niger* و *Rhizopus stolonifer* در محیط کشت PDA نشان داد که اسانس های رازیانه و زیره سبز دارای فعالیت ضدقارچی بالایی بوده و در غلظت ۱۵۰۰ میکرولیتر در لیتر برای آزمایش در شرایط *in vivo* انتخاب گردیدند. نتایج روی میوه های مایه زنی شده با سوسپانسیون 1×10^5 اسپور قارچ در میلی لیتر آب مقطر استریل نشان داد که اسانس زیره سبز نسبت به رازیانه در کنترل قارچ های *R. stolonifer* و *B. cinerea* روی میوه توت فرنگی موثرتر است اما در مورد قارچ *A. niger* تفاوت چندانی در فعالیت بازدارندگی هر دو اسانس مشاهده نشد. هر دو اسانس به روش غوطه وری، باعث کمترین پوسیدگی و کلونیزاسیون قارچی توسط *A. niger* روی میوه شدند. همچنین محلول پاشی اسانس زیره سبز در کنترل *A. niger* روی میوه تاثیر قابل ملاحظه ای نشان داد. اسانس زیره سبز به روش غوطه وری در کنترل پوسیدگی خاکستری میوه توت فرنگی بیشترین تاثیر را نشان داد و با قارچ کش تیابندازول (۱/۵ در هزار) به روش غوطه وری در یک گروه آماری قرار گرفت در صورتیکه اسانس زیره سبز به روش محلول پاشی روی میوه در کنترل بیماری ناشی از *R. stolonifer* موثرتر بود.

کلمات کلیدی: اسانس های گیاهی، اثر ضد قارچی، زیره سبز، رازیانه، بیماری های پس از برداشت، توت فرنگی

Pajouhesh & Sazandegi No:81 pp: 54-60

Classification of selected multi-cut Persian clover germplasm of National Plant Genebank based on agronomic traits

By: Ranjbar, H. Guilan University, Farzaneh, M. and Sharifii, R. Tehran University, Hadian, J. and Mirjalili, M.H. Shahid Beheshti University.

A total of 30 accessions of multi-cut Persian clover (*Trifolium resupinatum*) from three types (early, middle and late ripening) were planted in three Randomly Complete Block designs with 3 replications in the experimental field of SPII in Karaj. The mean of days to flowering, in the first and the second years, and days to ripening in the second year, and results of t-test for paired samples in 3 groups confirmed the classification of the germplasms. Entrance of days to flowering traits to regression equations for forage and seed yield also confirmed using of this trait to grouping Persian clover germplasms. Finally, distribution of accessions on biplot of discrimination analysis completely separated early, middle and late ripening of Persian clovers. F-test analysis was not significant for days to ripening in the early ripening group whereas it was significant in other groups. This test was also performed for others traits/ Non-significant differences in F-test means that all materials of each type had the same potential. Therefore, the selection can be performed based on other traits. All of the germplasms were grouped based on Duncan test for each trait. Combined analysis of variance was performed for all of two years recorded traits. Two years results showed that 50TN0185 and 50TN0161 were earliest and last ripening accessions, respectively. Because of high potential of agronomic traits in these materials, these germplasm can be used for different purposes of Persian clover breeding.

Key words: Persian clover, Genetic diversity, Multivariate analysis

مقدمه

ضایعات میوه و سبزی در اثر آلودگی‌های میکروبی هر ساله خسارات فراوانی را به تولید کنندگان وارد می‌کند و مقادیر قابل توجهی از این محصولات در اثر فساد ناشی از این آلودگی‌ها دور ریخته می‌شوند. طی سالهای گذشته تعداد زیادی از سموم شیمیایی چون ترکیبات بنزیمیدازول، ایمازالیل، ترکیبات گوگردی آلی و معدنی، و مواد اکسیدکننده جهت کنترل این بیماری‌ها معرفی شده‌اند. اما در اکثر موارد به علت مشکلات زیست محیطی بازمانده‌های سموم، ایجاد سمیت برای انسان، ایجاد نژادهای مقاوم و در برخی موارد هزینه‌های بسیار بالا، مصرف این گونه ترکیبات با محدودیت مواجه است (۱). توت فرنگی از جمله میوه‌هایی است که حساسیت بسیار زیادی به آلودگی‌های میکروبی دارد. قارچ‌های جنس *Penicillium*، *Botrytis*، *Aspergillus*، *Rhizopus* مهم‌ترین عوامل میکروبی محدود کننده طول عمر پس از برداشت توت فرنگی می‌باشند. موثرترین روش موجود در کنترل این قارچها استفاده از سموم شیمیایی می‌باشد ولی مشکلات یاد شده را بدنال دارد. استفاده از اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی در کنترل عوامل میکروبی پس از برداشت رو به پیشرفت است. این ترکیبات نه تنها فاقد اثرات جانبی بوده بلکه به علت خواص آنتی‌اکسیدانتی، کیفیت و طول دوره انبارداری میوه‌ها را افزایش می‌دهند (۲، ۴، ۵، ۱۸، ۱۹، ۲۲، ۲۳). گیاهان معطر متعلق به خانواده‌های نعناعیان و چتریان غنی از ترکیبات ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی هستند (۵، ۶، ۷، ۸، ۱۰، ۱۱، ۱۲، ۱۳، ۱۶، ۱۷، ۲۰، ۲۱، ۲۲).

هدف تحقیق حاضر بررسی پتانسیل اسانس‌های حاصل از برخی گونه‌های متعلق به این خانواده‌ها شامل اسطوخودوس (*Lavandula angustifolia*) و نعناع فلفلی (*Mentha piperita*) از خانواده نعناع و رازیانه (*Foeniculum vulgare* Mill.)، زیره سبز (*Cuminum cyminum* L.) از خانواده چتریان در کنترل قارچ‌های عامل فساد میوه توت فرنگی شامل *Aspergillus niger* و *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb.:Fr.) Vuill. می‌باشد.

مواد و روش‌ها**تهیه مواد گیاهی و استخراج اسانس**

مواد گیاهی گونه‌های مورد آزمایش شامل پیکره رویشی نعناع فلفلی، گل‌های اسطوخودوس و بذور رازیانه و زیره سبز از مزرعه پژوهشگاه گیاهان و مواد اولیه دارویی دانشگاه شهید بهشتی تهیه گردید. هر یک از نمونه‌ها بوسیله آسیاب خرد شده و سپس اسانس آنها به روش تقطیر با آب و به کمک دستگاه کلونجر به مدت ۳ ساعت استخراج گردید. استخراج اسانس برای هر نمونه در سه تکرار و برای هر تکرار ۵۰ گرم نمونه گیاهی استفاده شد. اسانس بدست آمده بوسیله سولفات سدیم خشک، آبگیری و در شیشه‌های تیره در دمای ۴ درجه سانتیگراد درون یخچال تا زمان آنالیز و آزمون بیولوژیک نگهداری شد.

اسانس‌های بدست آمده از نمونه‌های گیاهی با دستگاه‌های گاز کروماتوگرافی (GC) و گاز کروماتوگرافی همراه با طیف سنجی جرمی

(GC-MS) مورد شناسایی قرار گرفتند. بطوریکه در ابتدا اسانس‌ها به دستگاه GC تزریق شده و پس از یافتن برنامه‌ریزی مناسب دمایی ستون برای جداسازی کامل ترکیب‌های اسانس و تعیین درصد و زمان بازداری (Retention time) هر ترکیب، اسانس‌ها به دستگاه GC-MS تزریق شده و طیف جرمی ترکیب‌ها تعیین گردید. شناسایی ترکیب‌ها بر اساس شاخص بازداری (Retention index) و مقایسه طیف جرمی آنها با ترکیب‌های پیشنهادی کتابخانه دستگاه انجام گرفت. درصد هر ترکیب با توجه به سطح زیر منحنی آن در طیف کروماتوگرام حاصل از دستگاه GC با روش نرمال کردن سطح منحنی و بدون محاسبه عامل تصحیح صورت گرفت (۳، ۱۴).

مشخصات دستگاه‌های مورد استفاده

دستگاه گاز کروماتوگراف Thermoquest مجهز به ستون ۱-DB به طول ۶۰ متر و قطر ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه فاز ساکن ۰/۲۵ میکرومتر بود. دمای محفظه تزریق ۲۵۰ درجه سانتیگراد با برنامه ریزی دمایی ستون از ۶۰ تا ۲۵۰ درجه با افزایش دمای ۴ درجه در دقیقه، نوع دتکتور FID با دمای ۲۸۰ درجه سانتیگراد، گاز حامل هلیوم با جریان ثابت ۱/۱ میلی‌لیتر در دقیقه به عنوان بهترین شرایط انتخاب گردید. دستگاه گاز کروماتوگراف متصل به طیف سنج جرمی از نوع Thermoquest-Finnigan، مجهز به ستون ۱-DB بطول ۶۰ متر و قطر ۰/۲۵ میلی‌متر، ضخامت لایه فاز ساکن ۰/۲۵ میکرومتر، برنامه ریزی دمایی مشابه دستگاه GC، انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت، گاز حامل هلیوم، دمای محفظه تزریق ۲۵۰ درجه سانتیگراد بود.

تهیه بیمارگر

برای جداسازی اولیه قارچ‌ها از محیط کشت PDA و آب آگار استفاده شد. برای این منظور میوه‌های توت فرنگی پوسیده، پس از جمع آوری از بازار، به آزمایشگاه منتقل شده و در جریان ملایم آب به مدت ۱۵ دقیقه شست و شو گردیدند. میوه‌ها روی کاغذ صافی استریل در زیر هود خشک شده و قسمت‌های آلوده آنها کشت گردید. سپس در انکوباتور در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد قرار گرفتند تا کلونی‌های قارچ‌ها ظاهر شدند. برای خالص سازی قارچ‌ها از روش تک اسپور استفاده شد. بیمارزایی قارچ‌ها بر اساس اصول کخ مورد بررسی قرار گرفت. بدین ترتیب جهت شناسایی قارچ‌های بیمارزا، ریسسه، کنیدیوفور، سلولهای کنیدیوم زاء، اسپور و رشد و رفتار قارچ روی محیط‌های کشت مورد مطالعه قرار گرفت (۱۵، ۱۹، ۲۴) و صحت شناسایی آن‌ها توسط دکتر حجارود و دکتر جوان نیکخواه اساتید قارچ شناسی گروه گیاهپزشکی دانشگاه تهران تایید شد.

بررسی اثر ضد قارچی اسانس‌ها در آزمایشگاه

اثر ضدقارچی اسانس‌های استخراج شده از اسطوخودوس، رازیانه، زیره سبز و نعناع فلفلی روی سه گونه قارچ عامل پوسیدگی پس از برداشت میوه توت فرنگی شامل *Botrytis cinerea*، *Aspergillus niger* و *Rhizopus stolonifer* به روش اختلاط اسانس با محیط کشت بررسی شد. به این منظور از اسانس‌های مورد نظر در محلول توئین ۸۰ (۰/۰۵ درصد)، امولسیون تهیه شد. همچنین محلول توئین ۸۰ (۰/۰۵)

درصد) به عنوان تیمار شاهد در نظر گرفته شد. فلاسک‌های حاوی محیط کشت PDA پس از اتوکلاو، در دمای اطاق قرار داده شد تا دمای آنها به ۴۵-۴۲ درجه سانتی‌گراد تنزل یابد. غلظت‌های ۱۲۵، ۲۵۰، ۵۰۰، ۷۵۰ و ۱۰۰۰ میکرولیتر اسانس در لیتر محیط کشت، به فلاسک‌های حاوی محیط PDA اضافه و به هم زده شد تا امولسیون یکنواخت به وجود آید. محیط‌های حاصل بلافاصله درون ظروف پتری به قطر ۸ سانتی‌متری تقسیم و اجازه داده شد تا محیط جامد گردد. سپس دیسک‌های قارچی به قطر ۵ میلی‌متر توسط چوب پنبه سوراخ کن از کشت‌های جوان قارچ‌های مذکور تهیه و یک دیسک قارچ در قسمت وسط ظروف پتری حاوی محیط کشت قرار داده شد. پتری‌های مایه‌زنی شده در انکوباتور در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد قرار داده شدند. پس از گذشت ۲۴ ساعت، رشد رویشی هاله هر قارچ به طور روزانه و تا زمانی که سطح محیط کشت پتری‌های شاهد توسط قارچ بطور کامل اشغال شود اندازه‌گیری شد. در انجام این آزمایش برای هر تیمار ۴ تکرار در نظر گرفته شد. درصد بازداری‌های مختلف اسانس‌ها با بهره‌گیری از فرمول Abbott:

$$IP = C - T / C \times 100$$

IP=Inhibitory percentage: درصد بازداری

C=Check: میانگین قطر هاله قارچ در تیمار شاهد

T=Treatment: میانگین قطر هاله قارچ در تیمار مورد نظر

تعیین گردید و حداقل غلظت بازداری کامل (Minimum Inhibitory Concentration) اسانس‌ها در جلوگیری از رشد قارچ‌ها محاسبه شد.

هم چنین EC_{50} (Half Maximal Effective Concentration)

غلظتی که باعث ۵۰ درصد بازداری رشد میسلیم قارچ می‌شود) با بهره‌گیری از آنالیز پروبیت نرم افزار (SPSS ۹.۷) محاسبه گردید. به منظور بررسی ویژگی قارچ کشی (Fungicide) یا قارچ ایستایی (Fungistate) اسانس، دیسک قارچی تیمارهایی که رشد قارچی در آنها مشاهده نگردید بر روی محیط کشت PDA واکشت شد و رشد یا عدم رشد قارچ بر روی محیط کشت پس از یک هفته بررسی گردید.

بررسی اثر ضد قارچی اسانس‌ها روی میوه توت فرنگی

نمونه‌های توت فرنگی سالم پس از شستشو و ضدعفونی توسط محلول هیپو کلریت سدیم ۱ درصد و دوبار شستشوی مجدد در آب مقطر سترون، خشک شدند. از هر کدام از قارچ‌های مورد آزمایش به میزان ۱۰۵ اسپور در میلی‌لیتر آب مقطر استریل سوسپانسیون تهیه شد و میوه‌ها به مدت یک دقیقه در سوسپانسیون حاصل فرو برده شدند. سپس با توجه به نتایج بدست آمده از بررسی‌های آزمایشگاهی، از اسانس‌های زیره سبز و رازیانه به مقدار دو برابر حداقل غلظتی که روی رشد رویشی یکی از قارچ‌ها اثر بازداری کامل نشان داده بود (۱/۵ در هزار) در محلول توئین ۸۰ (۰/۰۵ درصد) امولسیون تهیه گردید و میوه‌ها به دو روش غوطه‌ورسازی و محلول پاشی تیمار شده و در ظروف پلی اتیلن با استفاده از سلفون بسته بندی شدند. نمونه‌ها در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد تا زمانی که در تیمار شاهد، قارچ سطح میوه را کاملاً بپوشاند نگهداری شدند. سپس سطح هر میوه به ۸ قسمت مساوی تقسیم شده و مشاهده نشانه‌های پوسیدگی و کپک زدگی (رشد و کلونیزاسیون قارچ) در هر قسمت، معادل ۱۲/۵ درصد آلودگی در

جدول ۲- نوع و درصد ترکیب های عمده شناسایی شده در اسانس

Lavendula angustifolia و *Mentha piperita*

ترکیب	شاخص بازداری (RI)	<i>Mentha piperita</i>	<i>Lavendula angustifolia</i>
myrcene	۹۸۱	-	۱/۴
Cis-ocimene	۱۰۲۴	-	۲/۷
Cineol-۱,۸	۱۰۲۸	۹	-
linalool	۱۰۸۹	۰/۴	۴۹/۲
menthone	۱۱۵۲	۳۲/۴	-
borneol	۱۱۵۵	۱	۱/۲
isoimenthone	۱۱۵۸	۴/۱	-
menthofuran	۱۱۶۲	۳/۵	-
Terpineol-۴	۱۱۶۷	-	۵/۹
α-Terpineol	۱۱۷۸	-	۵/۷
menthol	۱۱۸۰	۳۶/۲	-
pulegone	۱۲۲۶	-	-
Lavandulyl acetate	۱۲۷۲	-	۱۲/۳
menthyl acetate	۱۲۸۲	۱/۵	-
neryl acetate	۱۳۴۲	-	۶/۵
geranyl acetate	۱۳۶۰	-	۱/۵
β-Caryophyllene	۱۴۲۶	-	۲/۹
E-caryophyllene	۱۴۲۷	۲	-
cis-β-Farnesene	۱۴۴۷	-	۱/۹
germacrene D	۱۴۵۸	۲/۳	-

* (Retention indices) شاخص بازداری به نسبت خروج آلکان های (C_n-C_{n+۲}) روی ستون DB-۱ برآورد شده است.

قارچ های جداسازی شده که روی میوه توت فرنگی پوسیدگی و کپک زدگی ایجاد نمودند به گونه های *Aspergillus niger*، *Bortytis cinerea* و *Rhizopus stolonifer* مربوط بودند که به ترتیب با کدهای UTCF_{۱۱۳}، UTCF_{۱۱۸} و UTCF_{۱۱۱} در کلکسیون قارچ شناسی گروه گیاه پزشکی دانشگاه تهران نگهداری می شوند.

بررسی اثر ضدقارچی اسانس ها

نتایج بدست آمده از بررسی اثر ضدقارچی اسانس ها بر روی رشد قارچ ها نشان می دهد که به طور کلی اسانس زیره سبز نسبت به سه اسانس دیگر خاصیت ضد قارچی بیشتری نشان داده و اسانس نعناع دارای کمترین تاثیر می باشد (جدول ۳). به طوری که حداقل غلظت بازدارندگی کامل اسانس زیره سبز بر روی هر سه قارچ ۷۵۰ میکرو در لیتر بوده و در مورد اسانس نعناع بیشتر از ۱۰۰۰ میکرو در لیتر است. در مورد قارچ *B. cinerea* اسانس های رازیانه و زیره سبز با حداقل غلظت بازدارندگی کامل برابر ۷۵۰ میکرو لیتر در لیتر محیط کشت (MIC=۷۵۰ L/Lμ) فعالیت ضد قارچی بیشتری نشان داده و اسانس اسطوخودوس (MIC=۱۰۰۰ L/Lμ) در مرتبه بعدی بود. در مورد قارچ *R. stolonifer* اسانس زیره سبز خاصیت بازدارندگی

نظر گرفته شد. تیمارهای شاهد شامل غوطه ور سازی و محلول پاشی میوه ها با محلول توئین ۸۰ (۰/۰۵ درصد) و قارچ کش تیابندازول با غلظت ۱/۵ در هزار بود. در این آزمایش برای هر تیمار ۴ تکرار و برای هر تکرار ۸ واحد آزمایشی (میوه) در نظر گرفته شد.

تجزیه و تحلیل آماری

به علت وجود عدد صفر در بین داده ها از تبدیل $\sqrt{X+0.5}$ استفاده شد. تجزیه و تحلیل داده های آزمایش با استفاده از نرم افزار آماری MSTATC انجام گردید. میانگین داده ها با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح ۰/۰۱ مقایسه شد.

نتایج و بحث

ترکیبات عمده اسانس های مورد آزمایش

گاما ترپینن (۲۹/۲٪)، بتا پینون (۲۰/۱٪)، کومین آلدهید (۱۴/۱٪)، پی منتا (۴-۷-آل (۱۳/۹٪) و پی منتا ۱ و ۳-دین ۷-آل (۱۰/۲٪) ترکیب های اصلی شناسایی شده در اسانس گونه *C. cyminum* می باشند. ترکیب های اصلی در اسانس *F. vulgare* شامل آنتول ترانس (۷۵/۸٪)، فنچون (۷/۲٪)، آلفا-فلاندرن (۴/۶٪) و آلفا-توجون (۴/۳٪) می باشند (جدول ۱).

منتانول (۳۶/۲٪) و منتون (۳۲/۴٪) ترکیب های اصلی شناسایی شده در اسانس گونه *M. piperita* می باشند. ترکیب های اصلی در اسانس *L. angustifolia* شامل لینانول (۴۹/۲٪)، لینالیل استات (۱۲/۳٪)، لاوندول استات (۶/۵٪) و ۴-ترپینول (۵/۹٪) می باشند (جدول ۲).

جدول ۱- نوع و درصد ترکیب های عمده شناسایی شده در اسانس *Foeniculum vulgare* و *Cuminum cyminum*

ترکیب	شاخص بازداری (RI)	Cuminum cyminum	Foeniculum
α-thujone	۹۳۵	۰/۴	۴/۳
β-pinene	۹۷۵	۲۰/۱	۰/۴
α-phellandrene	۱۰۰۰	۰/۵	۴/۶
p-cymene	۱۰۱۶	۵/۸	۰/۳
β-phellandrene	۱۰۲۶	-	۱/۹
Y-terpinene	۱۰۵۱	۲۹/۲	۰/۵
fenchone	۱۰۷۱	-	۷/۲
perill aldehyde	۱۱۸۱	۱/۲	-
estragol	۱۲۲۱	-	۳/۰
cumin aldehyde	۱۲۶۶	۱۴/۱	-
P-mentha-۱,۳-dien-۷-al	۱۲۶۸	۱۰/۲	-
P-mentha-۱,۴-dien-۷-al	۱۲۷۳	۱۳/۹	-
Anethole trans	۱۲۷۹	-	۷۵/۸

* (Retention indices) شاخص بازداری به نسبت خروج آلکان های (C_n-C_{n+۲}) روی ستون DB-۱ برآورد شده است.

چشمگیری داشت. با توجه به نتایج جدول (۵) اسانس اسطوخودوس در جلوگیری از رشد قارچ *B. cinerea* و اسانس زیره سبز در جلوگیری از رشد قارچ‌های *R. stolonifer* و *A. niger* کمترین EC_{50} را داشته و اسانس نعناع روی هر سه قارچ EC_{50} بیشتری نشان داد. نتایج بدست آمده از واکنش دیسک‌های قارچی که در تیمارهای اسانس رشد قارچی نداشتند نشان داد هر سه قارچ بعد از گذشت یک هفته در غلظت‌های مورد نظر اسانس هر چهار گونه گیاهی، رشد کردند که این حالت نشان دهنده فعالیت قارچ ایستایی هر چهار اسانس می باشد. با توجه به نتایج جدول (۶) بین سطوح اسانس، دو روش کاربرد و قارچ‌ها اختلاف معنی دار در سطح ۰/۰۱ وجود دارد. اثر متقابل بین اسانس، روش

قابل ملاحظه‌ای داشت در حالی که اسانس رازیانه و اسطوخودوس در مرتبه بعدی بوده و اسانس نعناع کم اثرترین بود. برای قارچ *A. niger* اسانس زیره سبز بیشترین فعالیت ضد قارچی را نشان داد و اسانس اسطوخودوس در مرتبه بعدی بود. با توجه به نتایج جدول (۴) در غلظت‌های پایین اسانس، اسانس اسطوخودوس در جلوگیری از رشد میسلیموم *B. cinerea* و اسانس‌های زیره سبز و رازیانه روی رشد میسلیمومی قارچ *A. niger* بیشترین فعالیت ضد قارچی نشان دادند و اسانس نعناع روی هر سه قارچ فعالیت ضد قارچی کمتری داشت. با توجه به نتایج دو جدول (۵ و ۳) با بالارفتن غلظت اسانس، فعالیت ضد قارچی اسانس زیره سبز روی هر سه قارچ و فعالیت ضد قارچی اسانس رازیانه روی قارچ *B. cinerea* افزایش

جدول ۳- بررسی درصد بازدارندگی (RI) غلظت‌های مختلف اسانس‌های چهار گونه گیاه دارویی در جلوگیری از رشد قارچ‌های عامل پوسیدگی میوه توت فرنگی در شرایط آزمایشگاه

غلظت L/L μ	<i>B. cinerea</i>				<i>R. stolonifer</i>				<i>A. niger</i>			
	ز	ن	ر	الف	ز	ن	ر	الف	ز	ن	ر	الف
۱۲۵	۱۷/۵۱**	۸/۹۵	۰	۳۱/۱۶	۱۰	۸/۴۴	۲/۱۹	۸/۶۴	۲۵/۱۳	۸/۸	۳۳/۲۴	۷/۵۴
۲۵۰	۳۳/۸۳	۲۰/۹۵	۶/۳۲	۶۶/۸۱	۲۸/۱۳	۳۲/۰۴	۴/۰۹	۱۹/۶۷	۳۸/۶۵	۲۴/۸۶	۴۲/۷۹	۳۶/۶۵
۵۰۰	۸۳/۸۲	۳۸/۳۹	۴۰/۵۵	۶۸/۳۸	۴۹/۴۴	۴۴/۳۵	۴۹/۲۵	۴۶/۵۲	۹۰/۲۲	۴۲/۲۷	۵۵/۶۳	۵۴/۲۹
۷۵۰	۱۰۰	۶۳/۷	۱۰۰	۸۵/۷۵	۱۰۰	۶۱/۷۵	۷۳/۳	۹۷/۲۴	۱۰۰	۵۰/۰۶	۷۴/۹۵	۹۱/۱۲
۱۰۰۰	۱۰۰	۶۹/۸۶	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۷۰/۱۲	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۶۲/۲۹	۹۷/۵۵	۱۰۰

*z= زیره سبز، ن= نعناع، ر= رازیانه، الف= اسطوخودوس ** درصد بازدارندگی در هر تیمار مربوط به ۴ تکرار (۴ تستک پتری بقطر ۸ سانتیمتر) است

جدول ۴- حداقل غلظت اسانس‌ها برای بازدارندگی کامل (MIC) از رشد قارچ‌های عامل پوسیدگی میوه توت فرنگی در شرایط آزمایشگاه

	<i>B. cinerea</i>	<i>R. stolonifer</i>	<i>A. niger</i>
زیره سبز	۷۵۰	۷۵۰	۷۵۰
نعناع	۱۰۰۰<	۱۰۰۰<	۱۰۰۰<
رازیانه	۷۵۰	۱۰۰۰	۱۰۰۰<
اسطوخودوس	۱۰۰۰	۱۰۰۰	۱۰۰۰<

* غلظت اسانس برحسب میکرو لیتر در لیتر

جدول ۵- غلظت اسانس‌ها برای بازدارندگی پنجاه درصد رشد میسلیمومی EC_{50} قارچ‌های عامل پوسیدگی میوه توت فرنگی در شرایط آزمایشگاه (میکرو لیتر در لیتر)

	<i>B. cinerea</i>	<i>R. stolonifer</i>	<i>A. niger</i>
زیره سبز	۳۱۸/۵۴۶	۴۱۹/۰۴۸	۲۸۲/۱۹۲
نعناع	۶۷۴/۹۳	۶۴۶/۳۴۹	۷۴۴/۱۶۱
رازیانه	۵۰/۱۳	۵۵۹/۶۸۸	۴۱۳/۰۶۰
اسطوخودوس	۳۱۱/۲۴۳	۴۵۲/۲۲۹	۴۲۶/۵۴۶
	(۲/۰۰۷-۵۷۸/۹۲۴)	(۳۶۹/۳۵۵-۵۵۰/۵۶۳)	(۳۲۳/۸۶۹-۵۴۶/۱۸۰)

*اعداد داخل پرانتز نشان‌دهنده حدود ۹۵٪ اطمینان بوسیله آنالیز پروبیت می باشد.

مختلف آن متفاوت است. تفاوت در فعالیت ضد قارچی اسانس‌های گیاهی به اجزای تشکیل دهنده آنها بستگی دارد. یک ترکیب ممکن است به تنهایی یا به صورت تشدیدکننده همراه با سایر ترکیب‌ها فعالیت ضد قارچی اسانس را باعث شود (۱۹). بنابراین به نظر می‌رسد اثرات ضد قارچی قابل توجه اسانس‌های رازیانه و زیره سبز ضمن اینکه تحت تاثیر ترکیب غالب اسانس می‌باشد، اما اثرات تشدیدکنندگی بین تمام ترکیب‌ها فاکتور عمده تعیین کننده فعالیت ضد قارچی بالای اسانس این دو گیاه می‌باشد.

مسکوکوی و همکاران (۲) تاثیر اسانس‌های آویشن و زنیان در کنترل رشد قارچ *Aspergillus parasiticus* روی گلابی موثر دانستند. فرزانه و همکاران (۱۱، ۱۲) و Hadian و همکاران (۱۳) نشان دادند که اسانس گیاهان درمنه شرقی، درمنه دشتی، درمنه خراسانی و درمنه کوهی از رشد برخی قارچ‌های خاکزی در شرایط آزمایشگاه جلوگیری می‌کند. بنابراین با توجه به نتایج این تحقیق، کاربرد اسانس زیره سبز به روش غوطه ورسازی میوه توت فرنگی در کنترل *B. cinerea*، به روش محلول پاشی روی میوه در کنترل *R. stolonifer* و به هر دو روش در کنترل *A. niger* موثر و قابل توصیه می‌باشد. همچنین کاربرد اسانس رازیانه به هر دو روش غوطه ورسازی میوه و محلول پاشی روی میوه در کنترل *A. niger* موثر می‌باشد.

منابع مورد استفاده

۱. ارحمی، م. ۱۳۸۲. فیزیولوژی پس از برداشت: مقدمه‌ای بر فیزیولوژی و جابه جایی میوه، سبزیها و گیاهان زینتی. انتشارات دانشگاه شیراز. ۴۳۷ ص.
۲. مسکوکوی، ع. مرتضوی، س.ع. ۱۳۸۳. تاثیر اسانسهای آویشن و زنیان در کنترل رشد قارچ *Aspergillus parasiticus* روی گلابی در سردخانه. علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی جلد ۸ شماره ۲، ص. ۲۱۵-۲۰۷.

3-Adams, R. P. 1995; Identification of essential oil components by gas chromatography/ mass spectroscopy. Allured Publishing. Carol stream.IL.404p.

4-Anthony, S., K. Abeyvikrama, W. S. Wilson., 2003; The effect of spraying essential oils of *Cymbopogon nardus*, *Cymbopogon flexuosus* and *Ocimum basilicum* on postharvest diseases and storage life of Embul banana. The Journal of Horticultural Science and Biotechnology December, vol. 78, no. 6, pp. 780-785

5-Arras G, M. Usai, 2001; Fungitoxic activity of 12 essential oils against four postharvest citrus pathogens: Chemical analysis of *Thymus capitatus* oil and its effect in subatmospheric pressure conditions. J. Food Prot. 64(7):1025-9.

6-Baratta, T.M., M. T. Baratta, H. J. D. Dorman, S. G. Deans, A. C. Figueiredo, J. G. Barroso, G. Ruberto, 1998; Antimicrobial and antioxidant properties of some commercial oils. Flavour and Fragrance J., 13:235-244.

7-Caccioni, D.R.L. and M. Guizzardi, 1994; Inhibition of germination and growth of fruit and vegetable postharvest pathogenic fungi by essential oil compounds. J. Esse. Oil Res. 6:173 - 179.

کاربرد و قارچ، اسانس و روش کاربرد، اسانس و قارچ و روش کاربرد و قارچ در سطح ۰/۰۱ معنی دار می‌باشد. اسانس زیره سبز نسبت به رازیانه در کنترل *B. cinerea* و *R. stolonifer* روی میوه توت فرنگی موثرتر است اما در مورد قارچ *A. niger* تفاوت چندانی در فعالیت بازدارندگی هر دو اسانس مشاهده نشد.

در کاربرد اسانس‌های رازیانه و زیره سبز به روش غوطه وری علیه *A. niger*، کمترین پوسیدگی و کلونیزاسیون قارچی روی میوه دیده شد. محلول پاشی اسانس زیره سبز علیه *A. niger* در مرتبه بعدی کنترل بود و از قارچ کش تیابندازول اثر بیشتری نشان داد. اسانس زیره سبز به روش غوطه ورسازی میوه در مقایسه به روش محلول پاشی در کنترل پوسیدگی خاکستری میوه توت فرنگی بیشترین تاثیر را نشان داد و با قارچ کش تیابندازول به روش غوطه ورسازی میوه در یک گروه آماری قرار گرفت ولی در مورد *R. stolonifer* کاربرد اسانس زیره سبز به روش محلول پاشی روی میوه در کنترل بیماری موثرتر بوده و حتی نسبت به قارچ کش تیابندازول اثر بیشتری نشان داد. استفاده از اسانس‌های گیاهی در کنترل بیماری‌های پس از برداشت میوه و سبزی به عنوان روشی ارگانیک در چند سال اخیر مطرح گردیده است و به عنوان روشی موثر و در عین حال ایمن توجه بسیاری از محققین را به خود جلب کرده است. استفاده از اسانس‌های گیاهی ضمن تامین سلامت و ایمنی محصول باعث کاهش ضایعات میوه می‌گردد. حساسیت گونه‌های قارچی بسته به نوع اسانس و غلظت‌های

جدول ۶- تاثیر اسانس‌های رازیانه و زیره سبز به دو روش محلول پاشی و غوطه وری در کاهش پوسیدگی ناشی از قارچ‌های *A. niger*، *B. cinerea* و *R. stolonifer* در توت فرنگی

تیمار	درصد بیماری	تیمار	درصد بیماری
°-R-م	۳۳/۵	**g	۲۵/۷۵
ر-م-R	۶۰	e	۸۷/۵
ر-م-B	۶۲/۵	e	۷۵
ر-غ-A	۱۰۰	a	۱۳/۷
ر-غ-R	۱۰۰	a	۸۰/۷۵
ر-غ-B	۱۰۰	a	۷۵/۶۲
ز-م-A	۱۰۰	a	۲۲
ز-م-R	۱۰۰	a	۷۴/۷۵
ز-م-B	۱۰۰	a	۴۵/۳
ز-غ-A	۱۳/۲۵	j	۱۳/۰۵
ز-غ-R	۱۹/۵۵	i	۴۸/۲۵
ز-غ-B	۲۰/۸۲	i	۷۳/۷۵
ت-م-A	۵/۷۵	k	۳۳/۵
ت-م-R	۱۲/۰۷	j	۶۲/۸
ت-م-B	۱۳/۳۲	j	۴۶/۵

*ر= رازیانه، ز= زیره سبز، ت= تیابندازول، آ= آلوده، س= سالم، م= محلول پاشی، غ= غوطه وری، *Aspergillus niger*= A، *Rhizopus stolonifer* = R، *Bortyitis* = B، *cinerea* = B** حروف غیرمتشابه بیانگر اختلاف معنی دار در سطح ۰/۰۱ می‌باشد.

