

اثر ضد قارچی چند عصاره خام آبی گیاهی در کنترل بیماری کپک خاکستری (*Botrytis cinerea*) میوه توت‌فرنگی در مرحله پس از برداشت

فریبا یوسفی^{۱*} و نادر حسن‌زاده^۲

*۱- نویسنده مسئول، دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه بیماری‌شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، واحد علوم و تحقیقات تهران،

دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران، پست الکترونیک: yosefifariba@gmail.com

۲- دانشیار، گروه بیماری‌شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

تاریخ پذیرش: خرداد ۱۳۹۵

تاریخ اصلاح نهایی: اردیبهشت ۱۳۹۵

تاریخ دریافت: دی ۱۳۹۴

چکیده

بررسی اثر اسانس گل‌های اسطوخودوس (*Lavandula angustifolia* Mill.)، بذرهای رازیانه (*Foeniculum vulgare* Miller.) و زیره سبز (*Cuminum cyminum* L.) و پیکره رویشی نعنای فلفلی (*Mentha piperita* L.) روی قارچ *Botrytis cinerea* عامل بیماری کپک خاکستری توت‌فرنگی در محیط کشت PDA نشان داد که اسانس‌های رازیانه و زیره سبز دارای بیشترین فعالیت ضد قارچی بوده‌اند. ترکیب‌های موجود در اسانس‌ها با استفاده از دستگاه‌های گاز کروماتوگرافی (GC) و گاز کروماتوگرافی متصل به طیف‌سنج جرمی (GC/MS) جداسازی و شناسایی گردیدند. نتایج روی میوه‌های مایه‌زنی شده با سوسپانسیون 1×10^5 اسپور قارچ در میلی‌لیتر آب مقطر استریل نشان داد که اثر اسانس زیره سبز نسبت به رازیانه در کنترل قارچ *B. cinerea* روی میوه توت‌فرنگی بیشترین تأثیر را داشته است. تیمار با اسانس زیره سبز به روش غوطه‌ورسازی در کنترل پوسیدگی خاکستری میوه توت‌فرنگی بیشترین میزان کنترل‌کنندگی را نشان داد و در مقایسه با قارچ‌کش تیابندازول (۱/۵ در هزار) در یک گروه آماری قرار گرفت.

واژه‌های کلیدی: اسانس‌های گیاهی، اثر ضد قارچی، زیره سبز، رازیانه، بیماری‌های پس از برداشت.

مقدمه

بازمانده‌های سموم، ایجاد سمیت برای انسان، ایجاد نژادهای مقاوم و در برخی موارد هزینه‌های بسیار بالا، مصرف این گونه ترکیب‌ها با محدودیت مواجه است (Rahemi, 2004). توت‌فرنگی از جمله میوه‌هایی است که حساسیت بسیار زیادی به آلودگی‌های میکروبی دارد. قارچ‌های جنس *Botrytis*، *Aspergillus*، *Rhizopus* و *Penicillium* از مهمترین عوامل میکروبی محدودکننده طول عمر پس از برداشت توت‌فرنگی می‌باشند. مؤثرترین روش موجود در کنترل این قارچ‌ها استفاده از سموم

ضایعات میوه و سبزی در اثر آلودگی‌های میکروبی هر ساله خسارات فراوانی را به تولیدکنندگان 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 ترکیب‌های بنزیمیدازول، ایمازلیل، ترکیب‌های گوگردی آلی و معدنی و مواد اکسیدکننده جهت کنترل این بیماری‌ها معرفی شده‌اند. اما در اکثر موارد به علت مشکلات زیست محیطی

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 طیف‌سنجی جرمی (GC-MS) مورد شناسایی قرار گرفتند. به طوری که در ابتدا اسانس‌ها به دستگاه GC تزریق 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 براساس 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. چهار تیمار ما در این آزمایش شامل زیره سبز، رازیانه، نعناع، اسطوخودوس بود (Adams, 1995; Jannings & Shibamoto, 1980).

مشخصات دستگاه‌های مورد استفاده

دستگاه گازکروماتوگراف Thermoquest مجهز به ستون DB-1 به طول ۱۶ متر و قطر ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه فاز ساکن ۰/۲۵ میکرومتر بود. دمای محفظه تزریق ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد با برنامه‌ریزی 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 گازکروماتوگراف متصل به طیف‌سنج جرمی از نوع Thermoquest-Finnigan، مجهز به ستون DB-1 به طول ۶۰ متر و قطر ۰/۲۵ میلی‌متر، ضخامت لایه فاز ساکن ۰/۲۵ میکرومتر، برنامه‌ریزی دمایی مشابه دستگاه GC، انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت، گاز حامل هلیوم، دمای محفظه تزریق ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد بود.

شیمیایی می‌باشد ولی مشکلات یاد شده را به دنبال دارد. استفاده از اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی در کنترل عوامل میکروبی پس از برداشت رو به پیشرفت است. این ترکیب‌ها نه تنها فاقد اثرات جانبی بوده بلکه به علت خواص اکسیدانی، کیفیت و طول دوره انبارداری میوه‌ها را افزایش می‌دهند (Rustaiyan et al., 2000; Reddy et al., 1997; Anthony et al., 2004; Plaza et al., 2004; Arras & Usai, 2001; Plotto et al., 2003; al., 2003). گیاهان معطر متعلق به خانواده‌های نعناعیان و چتریان غنی از ترکیب‌های ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی هستند (Moretti et al., 1998; Baratta et al., 1998; Pitarokili et al., 1999; Caccioni & Guizzardi, 1994; Faleiro et al., 1999; Ramezani et al., 2003; Rasooli & Mirmostafa, 2003; Couladis et al., 2004).

هدف تحقیق حاضر بررسی پتانسیل اسانس‌های حاصل از برخی گونه‌های متعلق به این خانواده‌ها شامل اسطوخودوس (*Lavandula angustifolia*) و نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.) از خانواده نعناعیان و رازیانه (*Foeniculum vulgare* Mill.) و زیره سبز (*Cuminum cyminum*) از خانواده چتریان در کنترل قارچ *Botrytis cinerea* عامل کپک خاکستری روی میوه‌ها در شرایط پس از برداشت توت‌فرنگی 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 پژوهشکده گیاهان و مواد اولیه دارویی دانشگاه رازی تهیه گردید. هر یک از نمونه‌ها به وسیله 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 به وسیله سولفات سدیم خشک، آبگیری و در

جداسازی قارچ بیمارگر

در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. پس از گذشت ۲۴ ساعت، رشد رویشی هاله قارچ پس از یک هفته تا زمانی که سطح محیط کشت پتری‌های شاهد توسط قارچ به‌طور کامل پوشش داده شود اندازه‌گیری شد. در انجام این آزمایش برای هر تیمار ۴ تکرار در نظر گرفته شد. برای تعیین درصد بازدارندگی غلظت‌های مختلف اسانس‌ها از فرمول Abbott استفاده شد:

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

C= Check: میانگین قطر هاله قارچ در تیمار شاهد

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

حداقل غلظت بازدارندگی کامل اسانس‌ها در جلوگیری از رشد قارچ *B. cinerea* هم محاسبه شد.

قارچ عامل پوسیدگی پس از برداشت میوه توت‌فرنگی یا همان کپک خاکستری توت‌فرنگی از کلکسیون گروه گیاهپزشکی دانشگاه رازی کرمانشاه دریافت شد. برای تهیه زادمایه جدایه مورد نظر از کشت یک هفته‌ای آن روی محیط PDA نگهداری شده و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و دوره نوری معمولی استفاده شد. به این ترتیب که به کشت‌های مورد نظر ۵ میلی‌لیتر آب مقطر سترون حاوی ۰/۰۵٪ توئین ۸۰ افزوده شده و سطح تشتک‌های پتری به کمک یک لوله خمیده شیشه‌ای سترون تراشیده شده و سوسپانسیون حاصل جهت جدا کردن کنیدیوفورها و میسیلیوم‌های همراه از پارچه ممل ۴ لایه عبور داده شده و سپس به کمک هماسیتومتر به غلظت ۱۰^۶ اسپور در هر میلی‌لیتر تعیین شد (Jobling, 2000).

بررسی اثر ضد قارچی اسانس‌ها در شرایط *In vitro*

اثر ضد قارچی اسانس‌های استخراج شده از اسطوخودوس، رازیانه، زیره سبز و نعناع فلفلی روی قارچ عامل پوسیدگی پس از برداشت میوه توت‌فرنگی به روش اختلاط اسانس با محیط کشت بررسی شد. به این منظور از اسانس‌های مورد نظر در محلول توئین ۸۰ (۰/۰۵٪) امولسیون تهیه شد. همچنین محلول توئین ۸۰ (۰/۰۵٪) به‌عنوان تیمار شاهد در نظر گرفته شد. فلاسک‌های حاوی محیط کشت PDA پس از اتوکلاو، در دمای اتاق قرار داده شد تا دمای آنها به ۴۲-۴۵ درجه سانتی‌گراد کاهش 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 بوجود آید. محیط کشت‌های حاصله بلافاصله درون ظروف پتری به قطر ۸ سانتی‌متری پخش گردید. پس از بسته شدن آگار محیط دیسک‌های قارچی به قطر ۵ میلی‌متر توسط چوب پنبه سوراخ‌کن از کشت‌های جوان قارچ مذکور تهیه و یک دیسک قارچ در قسمت وسط ظروف پتری حاوی محیط کشت قرار داده شد. پتری‌های مایه‌زنی شده در انکوباتور

بررسی اثر ضد قارچی اسانس‌ها روی میوه توت‌فرنگی در شرایط *In vivo*

نمونه‌های توت‌فرنگی سالم پس از شستشو و ضدعفونی توسط محلول هیپوکلریت سدیم ۱٪ و دو بار شستشوی مجدد در آب مقطر سترون، خشک شدند. از قارچ مورد آزمایش به میزان ۱۰^۵ 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 قارچ اثر بازدارندگی کامل نشان داده بود (۱۵۰۰ ppm) در محلول توئین ۸۰ (۰/۰۵٪) امولسیون تهیه گردید و میوه‌ها به دو روش غوطه‌ور کردن و محلول‌پاشی تیمار شده و در ظروف پلی‌اتیلن با استفاده از سلفون بسته‌بندی شدند. نمونه‌ها در دمای C ۲۵ تا زمانی که در تیمار شاهد، قارچ سطح میوه را کاملاً پوشاند نگهداری شدند. سپس سطح هر میوه به ۸ قسمت مساوی تقسیم شده و مشاهده نشانه‌های پوسیدگی و کپک‌زدگی (رشد و کلونیزاسیون قارچ) در هر قسمت، معادل ۱۲/۵٪

نتایج

ترکیب‌های عمده اسانس‌های مورد آزمایش

گاما-ترینین (۲/۲۹٪)، بتا-پینین (۱/۲۰٪)، کومین آلدهید (۱/۱۴٪)، پارا-منت-۱ و ۴-دین ۷-آل (۹/۱۳٪) و پارا-منت ۱ و ۳-دین ۷-آل (۲/۱۰٪) ترکیب‌های اصلی شناسایی شده در اسانس گونه *C. cyminum* بودند. ترکیب‌های اصلی اسانس *F. vulgare* شامل آنتول ترانس (۸/۷۵٪)، فنچون (۲/۷٪)، آلفا-فلاندرن (۶/۴٪) و آلفا-توجون (۳/۴٪) بود (جدول ۱). در مورد اسانس گونه *M. piperita* دو ترکیب عمده شامل منتول (۲/۳۶٪) و منتون (۴/۳۲٪) و در خصوص اسانس *R. angustifolia* L. ترکیب‌های اصلی شامل لینانول (۲/۴۹٪)، لینالیل استات (۳/۱۲٪)، لاوندول استات (۵/۶٪) و ۴-تریپتئول (۹/۵٪) بودند (جدول ۲).

آلودگی در نظر گرفته شد. تیمارهای شاهد شامل غوطه‌ورسازی و محلول‌پاشی میوه‌ها با محلول توئین ۸۰ (۰/۰۵٪) و قارچ‌کش 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

تجزیه واریانس و مقایسه میانگین صفات به روش حداقل تفاوت معنی‌دار و با استفاده از روش مدل خطی توسط نرم‌افزار SAS انجام گرفت. در همه آزمایش‌ها از طرح کرت‌های کاملاً تصادفی با حداقل ۴ تکرار استفاده شد. کلیه آزمایش‌ها حداقل دو بار تکرار شدند. همچنین از روش آنالیز Pro bit برای برآورده MIC استفاده شد. از نرم‌افزار Minitab هم برای آنالیز طرح‌های آزمایش و پروبیت استفاده شد.

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

<i>Foeniculum vulgare</i>	<i>Cuminum cyminum</i>	شاخص بازداری (RI)	ترکیب
۴/۳	۰/۴	۹۳۵	α -thujone
۰/۴	۲۰/۱	۹۷۵	β -pinene
۴/۶	۰/۵	۱۰۰۰	α -phellandrene
۰/۳	۵/۸	۱۰۱۶	ρ -cymene
۱/۹	-	۱۰۲۶	β -phellandrene
۰/۵	۲۹/۲	۱۰۵۱	γ -terpinene
۷/۲	-	۱۰۷۱	fenchone
-	۱/۲	۱۱۸۱	perillaldehyde
۳/۰	-	۱۲۲۱	estragol
-	۱۴/۱	۱۲۶۶	cumin aldehyde
-	۱۰/۲	۱۲۶۸	P-mentha-1,3-dien-7-al
-	۱۳/۹	۱۲۷۳	P-mentha-1,4-dien-7-al
۷۵/۸	-	۱۲۷۹	trans anethole

شاخص بازداری (Retention indices) به نسبت خروج آلکان‌های ۶ تا ۲۴ کربنه روی ستون DB-1 برآورد شده است.

جدول ۲- نوع و درصد ترکیب‌های عمده شناسایی شده در اسانس *Mentha piperita* و *Lavendula angustifolia*

<i>Lavendula angustifolia</i>	<i>Mentha piperita</i>	شاخص بازداری (RI)	ترکیب
۱/۴	-	۹۸۱	myrcene
۲/۷	-	۱۰۲۴	cis-ocimene
-	۹	۱۰۲۸	1,8-cineol
۴۹/۲	۰/۴	۱۰۸۹	linalool
-	۳۲/۴	۱۱۵۲	menthone
۱/۲	۱	۱۱۵۵	borneol
-	۱/۴	۱۱۵۸	isoimenthone
-	۳/۵	۱۱۶۲	menthofuran
۵/۹	-	۱۱۶۷	4-terpineol
۵/۷	-	۱۱۷۸	α -terpineol
-	۳۶/۲	۱۱۸۰	menthol
-	-	۱۲۲۶	pulegone
۱۲/۳	-	۱۲۷۲	lavandulyl acetate
-	۱/۵	۱۲۸۲	menthyl acetate
۶/۵	-	۱۳۴۲	neryl acetate
۱/۵	-	۱۳۶۰	geranyl acetate
۲/۹	-	۱۴۲۶	β -caryophyllene
-	۲	۱۴۲۷	E-caryophyllene
۱/۹	-	۱۴۴۷	cis- β -farnesene
-	۲/۳	۱۴۵۸	germacrene D

شاخص بازداری (Retention indices) به نسبت خروج آلکان‌های ۶ تا ۲۴ کربنه روی ستون DB-1 برآورد شده است.

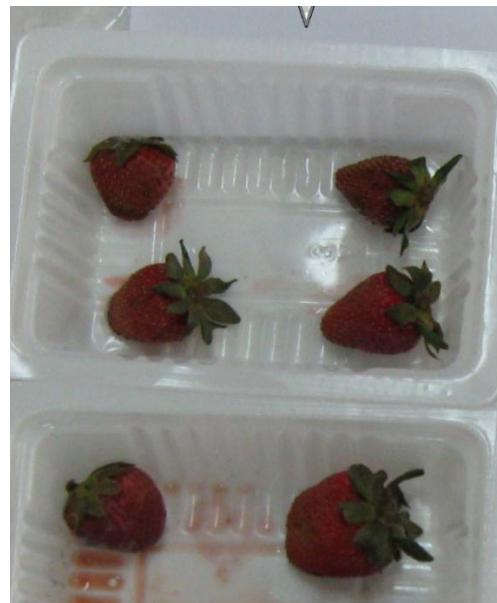
بررسی اثر ضد قارچی اسانس‌ها

نتایج بدست آمده از بررسی اثر ضد قارچی اسانس‌ها بر روی رشد قارچ نشان داد که به طور کلی اسانس زیره سبز نسبت به سه اسانس دیگر خاصیت ضد قارچی بیشتری داشته و اسانس نعناع دارای کمترین تأثیر بود. به طوری که حداقل غلظت بازدارندگی کامل اسانس زیره سبز بر روی قارچ ۷۵۰ میکرولیتر در لیتر بوده و در

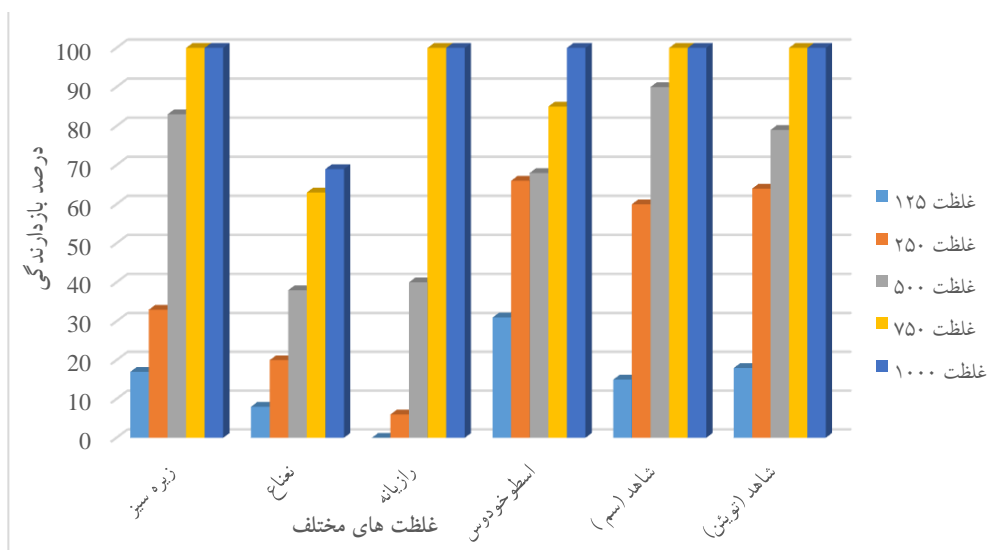
مورد اسانس نعناع این مقدار به بیشتر از ۱۰۰۰ میکرولیتر در لیتر رسید. در مورد قارچ *B. cinerea* اسانس‌های رازیانه و زیره سبز با حداقل غلظت بازدارندگی کامل برابر ۷۵۰ میکرولیتر در لیتر محیط کشت (MIC=750 μ L/L) فعالیت ضد قارچی بیشتری نشان داده و اسانس اسطوخودوس (MIC=1000 μ L/L) در مرتبه بعدی قرار گرفت (شکل ۱-۳).



شکل ۱- توت‌فرنگی‌های آلوده به بیماری کپک خاکستری توت‌فرنگی (سمت راست)
و توت‌فرنگی‌های سالم (سمت چپ)



شکل ۲- ظهور نشانه‌های بیماری پس از گذشت یک هفته که نشان‌دهنده فعالیت قارچ ایستایی
هر دو عصاره گیاهی بوده است. سمت راست (زیره سبز) و سمت چپ (نعناع)



شکل ۳- بررسی درصد بازدارندگی غلظت‌های مختلف اسانس‌های چهار گونه گیاه دارویی

جدول ۳- بررسی درصد بازدارندگی (IR) غلظت‌های مختلف اسانس چهار گونه گیاهی دارویی در جلوگیری

از رشد قارچ *B. cinerea* در شرایط *In vitro*

اسطوخودوس	رازیانه	نعناع	زیره سبز	غلظت (µL/L)
۳۱/۱۶	۰	۸/۹۵	۱۷/۵۱	۱۲۵
۶۶/۸۱	۶/۳۲	۲۰/۹۵	۳۳/۸۳	۲۵۰
۶۸/۳۸	۴۰/۵۵	۳۸/۳۹	۸۳/۸۲	۵۰۰
۸۵/۷۵	۱۰۰	۶۳/۷	۱۰۰	۷۵۰
۱۰۰	۱۰۰	۶۹/۸۶	۱۰۰	۱۰۰۰

درصد بازدارندگی در هر تیمار مربوط به میانگین ۴ تستک پتری به قطر ۸ سانتی‌متر است.

جدول ۴- حداقل غلظت اسانس‌ها برای بازدارندگی کامل (MIC) از رشد قارچ عامل پوسیدگی میوه توت‌فرنگی

در شرایط *In vitro*

<i>B. cinerea</i>	اسانس (µL/L)
۷۵۰	زیره سبز
۱۰۰۰<	نعناع
۷۵۰	رازیانه
۱۰۰۰	اسطوخودوس

غلظت اسانس برحسب میکرولیتر در لیتر

کرده است. اسانس های گیاهی با داشتن ریزمغذی ها در افزایش رشد گیاه نیز مفید بوده و برای انسان و محیط زیست بی خطرند. همچنین استفاده از اسانس های گیاهی در کنترل بیماری های پس از برداشت میوه و سبزی به عنوان روشی ارگانیک در چند سال اخیر مطرح گردیده است و به عنوان روشی مؤثر و در عین حال ایمن توجه بسیاری از محققین را به خود جلب کرده است. استفاده از اسانس های گیاهی ضمن تأمین سلامت و ایمنی محصول باعث کاهش ضایعات میوه می گردد. حساسیت گونه های قارچی بسته به نوع اسانس و غلظت های مختلف آن متفاوت است. تفاوت در فعالیت ضد قارچی اسانس های گیاهی به اجزای تشکیل دهنده آنها بستگی دارد. یک ترکیب ممکن است به تنهایی یا به صورت تشدیدکننده همراه با سایر ترکیب ها فعالیت ضد قارچی اسانس را باعث شود. بنابراین به نظر می رسد که اثرات ضد قارچی قابل توجه اسانس های رازبانه و زیره سبز ضمن اینکه تحت تأثیر ترکیب غالب اسانس می باشد، اما اثرات تشدیدکنندگی بین تمام ترکیب ها فاکتور عمده تعیین کننده فعالیت ضد قارچی بالای اسانس این دو گیاه می باشد.

Farzaneh و همکاران (۲۰۰۶) تأثیر اسانس های رازبانه و زیره سبزه در کنترل قارچ *R. stolonifer* روی میوه توت فرنگی مؤثر دانستند و حتی نسبت به قارچ کش تیابندازول اثر بیشتری را شاهد بودند.

تحقیقات Omidbeygi و همکاران (۲۰۰۷) نیز نشان داد که عصاره های روغنی آویشن، میخک و مرزه توانایی مهار رشد قارچ آسپرزیلوس فلاووس را در محیط کشت مایع و خمیر گوجه فرنگی داشته و عصاره روغنی آویشن و مرزه قوی ترین اثر مهاری را به ترتیب با ۳۵۰ ppm و ۵۰۰ ppm نشان دادند. همچنین اسانس حاصل از گیاهان درمنه شرقی، درمنه دشتی، درمنه خراسانی و درمنه کوهی از رشد برخی قارچ های خاکی در شرایط آزمایشگاه جلوگیری می کند (Hadian et al., 2007).

بنابراین با توجه به نتایج این تحقیق، به جرأت می توان گفت کاربرد اسانس زیره سبز به روش غوطه ورسازی میوه توت فرنگی در کنترل *B. cinerea* مؤثر می باشد.

با توجه به نتایج جدول های ۳ و ۴ در غلظت های پایین، اسانس گیاه اسطوخودوس در جلوگیری از رشد میسلیم قارچ *B. cinerea* بیشترین فعالیت ضد قارچی را از خود نشان داد و اسانس نعنای روی قارچ فعالیت ضد قارچی کمتری داشت. همچنین نتایج بدست آمده از واکنش دیسک های قارچی که در تیمارهای اسانس رشد طبیعی نداشتند نشان داد که قارچ تیمار شده بعد از گذشت یک هفته در غلظت های مورد نظر اسانس هر چهار گونه گیاهی، شروع به رشد کرده که این نشان دهنده فعالیت قارچ ایستایی هر چهار اسانس می باشد.

اسانس زیره سبز به روش غوطه ورسازی میوه در مقایسه به روش محلول پاشی در کنترل پوسیدگی خاکستری میوه توت فرنگی بیشترین تأثیر را داشت و با قارچ کش تیابندازول به روش غوطه ورسازی میوه در یک گروه آماری قرار گرفت.

بحث

یکی از روش های نوین در جهت کنترل آفات و بیماری های گیاهی به ویژه برای تولید محصولات ارگانیک استفاده از مواد و ترکیب های طبیعی با منشأ میکروبی و گیاهی است. در این بین نقش و اهمیت ترکیب های طبیعی گیاهان در کنترل انواع بیماری های گیاهی از جمله بیماری های قارچی و باکتریایی بسیار بارز و برجسته است، زیرا از یک سوی برای تعدادی از عوامل بیماری زای خاکزاد و بذرزاد روش کنترل مؤثر و پایداری وجود ندارد و از سوی دیگر پیدایش پدیده های مقاومت به انواع سموم به ویژه آنتی بیوتیک ها، مسمومیت های ناشی از مصرف سموم شیمیایی به جانوران، آبیان و حشرات مفید و نیز اثرات سوء باقیمانده های سموم مشکلات عدیده ای را برای سلامت انسان و محیط زیست فراهم آورده است.

قابلیت تجزیه پذیری اسانس های گیاهی در طبیعت و سمیت پایین آنها برای انسان و سایر پستانداران و اثرات مخرب کمتر آنها در محیط، این ترکیب ها را به جایگزین و یا مکمل سموم شیمیایی جهت حفاظت محصولات کشاورزی و انباری تبدیل

Gas Chromatography. New York, Academic Press, 375p.

- Jobling, J., 2000. Essential oils: a new idea for postharvest disease control. Good Fruit and Vegetables magazine, 11(3): 1-3.
 - Moretti, M., Moretti, M.D.L., Peana, A.T., Franceschini, A. and Carta, C., 1998. *In vivo* activity of *Salvia officinalis* oil against *Botrytis cinerea*. Journal of Essential Oil Research, 10(2): 157-160.
 - Omidbeygi, M., Barzegar, M., Hamidi, Z. and Naghdibadi, H., 2007. Antifungal activity of thyme, summer savory and clove essential oils against *Aspergillus flavus* in liguide medium and tomato paste. Food Control, 18(12): 1518-1523.
 - Pitarokili, D., Tzakou, O., Couladis, M. and Verykokidou, E., 1999. Composition and antifungal activity of essential oil of *Salvia pomifera* subsp. *calycina* growing wild in Greece. Journal of Essential Oil Research, 11(5): 655-659.
 - Plaza, P., Torres, R., Usall, J., Lamarca, N. and Vinasa, I., 2004. Evaluation of the potential of commercial post-harvest application of essential oils to control citrus decay. The Journal of Horticultural Science and Biotechnology, 79(6): 935-940.
 - Plotto, A., Roberts, D. and Roberts, R.G., 2003. Evaluation of plant essential oils as natural postharvest disease control of tomato (*Lycopersicon esculentum*). Acta Horticulturae, 628: 737-745.
 - Ramezani, M., Behravan, J. and Yazdinejad, A., 2004. Composition and antimicrobial activity of the volatile oil of *Artemisia khorassanica* Podl. from Iran. Pharmaceutical Biology, 42(8): 1-4.
 - Rasooli, S. and Mirmostafa, A., 2003. Bacterial susceptibility to and chemical composition of essential oils from *Thymus kotschyanus* and *Thymus persicus*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 51: 2200-2205.
 - Rahemi, M., 2004. Postharvest Physiology. Shiraz University Press, 437p.
 - Rustaiyan, A., Masoudi, S., Yari, M., Rabbani, M., Motiefar, H.R. and Larijani, K., 2000. Essential oil of *Salvia lerifolia* Benth. Journal of Essential Oil Research, 12(5): 601-602.
 - Reddy Bhaskara, M.V., Angers, P., Gosselin, A. and Arul, J., 1997. Characterization and use of essential oil from *Thymus vulgaris* against *Botrytis cinerea* and *Rhizopus stolonifer* in strawberry fruits. Phytochemistry, 47(8): 1515-1520.
- منابع مورد استفاده**
- Adams, R.P., 1995. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectroscopy. Allured Publishing Carol stream, IL, 404p.
 - Anthony, S., Abeyvikrama, K. and Wilson, W.S., 2003. The effect of spraying essential oils of *Cymbopogon nardus*, *Cymbopogon flexuosus* and *Ocimum basilicum* on postharvest diseases and storage of Embul banana. The Journal of Horticultural Science and Biotechnology, 78: 780-785.
 - Arras, G. and Usai, M., 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. Journal of Food Protection, 64(7): 1025-1029.
 - Baratta, T.M., Dorman, H.J.D., Deans, S.G., Figueiredo, A.C., Barroso, J.G. and Ruberto, G., 1998. Antimicrobial and antioxidant properties of some commercial oils. Flavour and Fragrance Journal, 13(4): 235-244.
 - Caccioni, D.R.L. and Guizzardi, M., 1994. Inhibition of germination and growth of fruit and vegetable postharvest pathogenic fungi by essential oil compounds. Journal of Essential Oil Research, 6: 173-179.
 - Couladis, M., Tzakou, O., Kujundzi, S., Sokovi, M. and MimicaDukic, N., 2004. Chemical analysis and antifungal activity of *Thymus striatus*. Phytotherapy Research, 18: 40-42.
 - Faleiro, L., Miguel, G.M., Guerrero, C.A.C. and Brito, J.M.C., 1999. Antimicrobial activity of essential oils of *Rosmarinus officinalis* L., *Thymus mastichina* (L.) L. ssp. *mastichina* and *Thymus albicans* Hofmanns & Link. Acta Horticulturae, 501: 45-48.
 - Farzaneh, M., Ghorbani-Ghouzhdhi, H., Ghorbani, M. and Hadian, J., 2006. Composition and antifungal activity of essential oil of *Artemisia sieberi* Bess. on soil-born phytopathogens. Pakistan Journal of Biological Sciences, 9(10): 1979-1982.
 - Hadian, J., Farzaneh, M., Ghorbani, M. and Mirjalili, M.H., 2007. Chemical composition and antifungal activity of the essential oil of *Artemisia khorasanica* on soil-born phytopathogens. Journal of Essential Oil Research, 10(1): 53-58.
 - Jannings, W. and Shibamoto, J., 1980. Qualitative Analysis of Flavour and Fragrance by Capillary

Antifungal effects of four herbal essential oils on *Botrytis cinerea*, the causal agent of strawberry grey mould disease under storage condition

F. Yosefi^{1*} and N. Hasanzadeh²

1*- Corresponding author, M.Sc. student, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

E-mail: yosefifariba@ymail.com

2- Department of Plant Pathology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Received: January 2016

Revised: May 2016

Accepted: May 2016

Abstract

This research was aimed to study the effects of essential oil of Lavandula (*Lavandula angustifolia* Mill.) flowers, fennel (*Foeniculum vulgare* Miller.) and cumin (*Cuminum cyminum* L.) seeds, and peppermint (*Mentha piperita* L.) shoots on the fungus *Botrytis cinerea*, causing strawberry gray mold. The study was conducted in PDA medium. The results showed that the essential oils of fennel and cumin had the highest antifungal activity. The essential oil compounds were isolated and identified by GC and GC/MS. The results obtained for the fruits inoculated with a spore suspension (1×10^5 spores in ml) indicated that the cumin oil was more effective in controlling the fungus *B. cinerea* on strawberry fruits as compared with fennel oil. The cumin oil had the highest effect in controlling strawberry gray mold, placed in one statistical group with thiabendazole.

Keywords: Essential oils, antifungal effects, *Lavandula angustifolia* Mill., *Cuminum cyminum* L., *Foeniculum vulgare* Miller., *Mentha piperita* L., postharvest diseases.