

## اثر اسانس اسطوخودوس و متیل سالیسیلات بر کنترل قارچ آسپرژیلوس و کیفیت پس از برداشت میوه توت‌فرنگی رقم سلوا

### Effect of Lavender Essential Oil and Methyl Salicylate on the Control of *Aspergillus* Fungus and Postharvest Quality of Strawberry Cv. Selva

رضا غریبی<sup>۱</sup>، محمد سیاری<sup>۲\*</sup> و خشنود نوراللهی<sup>۳</sup>

تاریخ پذیرش: ۹۴/۱۱/۲۴

تاریخ دریافت: ۹۲/۱۲/۲۴

#### چکیده

توت‌فرنگی یکی از محصولات باغبانی با فسادپذیری زیاد می‌باشد که در مرحله حمل و نقل و انبارمانی، حساسیت بسیار زیادی به بیماری‌های قارچی دارد. در این تحقیق، اثر اسانس اسطوخودوس و متیل سالیسیلات بر فعالیت قارچ آسپرژیلوس در مرحله پس از برداشت توت‌فرنگی مورد بررسی قرار گرفت. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار اجرا شد. فاکتورهای مورد بررسی شامل کاربرد اسانس اسطوخودوس در غلظت‌های صفر، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکرولیتر در لیتر حل و متیل سالیسیلات در غلظت‌های صفر، ۰/۱ و ۰/۲ میلی‌مولار بود. پس از اعمال تیمارها، میوه‌ها با قارچ آسپرژیلوس آلوده‌سازی شده و به انبار با دما ۲ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۸۵ درصد منتقل شده و پس از ۷، ۱۴ و ۲۱ انبارمانی صفات مختلف آن‌ها مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد گسترش رشد قارچ آسپرژیلوس و بروز بیماری در میوه‌های تیمار شده با ۰/۲ میلی‌مولار متیل سالیسیلات و ۱۰۰۰ میکرولیتر در لیتر اسانس اسطوخودوس به ترتیب ۳۹ و ۶۳ درصد کمتر از میوه‌های شاهد بود. با افزایش دوره انبارداری، درصد میوه‌های آلوده افزایش یافت. میوه‌های تیمار شده با ۵۰۰ میکرولیتر در لیتر اسانس و ۰/۱ میلی‌مولار متیل سالیسیلات، ویتامین ث، مواد جامد محلول و فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری نسبت به میوه‌های شاهد داشتند. لذا متیل سالیسیلات و اسانس اسطوخودوس به دلیل داشتن خاصیت قارچ‌کشی بالا می‌توانند جایگزین قارچ‌کش‌های شیمیایی در کنترل بیماری‌های قارچی توت‌فرنگی شده و سبب حفظ کیفیت آن در انبار شوند.

**واژه‌های کلیدی:** بیماری قارچی، انبارمانی، مواد جامد محلول، فعالیت آنتی‌اکسیدانی

۱. دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران

۲. استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی‌سینا، همدان، ایران

۳. استادیار گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران

Email: sayyari\_m@yahoo.com

\* نویسنده مسئول

(ارس و یوسای<sup>۵</sup>، 2001). اسانس به دست آمده از گل داوودی (*Chrysanthemum leucanthemum*) نیز با غلظت ۱۵۰ قسمت در میلیون دارای خاصیت آنتاگونیستی علیه قارچ *Botrytis cinerea* بوده است (چبلی<sup>۶</sup> و همکاران، 2004). گیاهان خانواده نعناعیان از جمله اسطوخودوس (*Lavandula angustifolia*) اثر ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی زیادی دارند که علاوه بر قدرت کنترل رشد قارچها و میکروبها قادر به حفظ کیفیت میوه در انبار نیز میباشند (رنجبر و همکاران، ۱۳۸۷).

متیل سالیسیلات به عنوان یک ترکیب فنولی طبیعی و سالم با پتانسیل بالا در کنترل تلفات پس از برداشت محصولات باغبانی مطرح هست. کاربرد متیل سالیسیلات مقاومت به بیماریها و پوسیدگیهای قارچی در میوه گیلاس (یا/و<sup>۷</sup> و همکاران، 2005) و هلو (وانگ<sup>۸</sup> و همکاران، 2006) انبار شده را افزایش داد. با قرار گرفتن میوههای برداشت شده گوجه فرنگی در معرض بخار متیل سالیسیلات نیز وقوع پوسیدگیهای قارچی و سرمازدگی به شدت کاهش یافت (دینگ<sup>۹</sup> و همکاران، 2002).

با توجه به اثر امیدبخش اسانسهای گیاهی و متیل سالیسیلات در کنترل بیماریهای قارچی میوهها در مرحله پس از برداشت و حساسیت توت فرنگی به عوامل بیماریزا به خصوص قارچ آسپرژیلوس و کاهش رغبت به استفاده از مواد شیمیایی، پژوهش حاضر جهت بررسی اثر متیل سالیسیلات و اسانس اسطوخودوس در کنترل پوسیدگی قارچی و حفظ کیفیت میوه در انبار انجام شد.

### مواد و روشها

**تهیه مواد گیاهی و استخراج اسانس:** سرشاخههای گلدار گیاه اسطوخودوس از محوطه‌ی فضای سبز دانشگاه ایلام تهیه و در دمای اتاق و در سایه خشک شدند. سپس به وسیله آسیاب خرد شده و اسانس آنها به روش تقطیر با آب<sup>۱۰</sup> و به کمک دستگاه کلونجر<sup>۱۱</sup> به مدت ۳ ساعت استخراج گردید. اسانس به دست آمده در شیشه‌های تیره رنگ در دمای ۴ درجه سانتی-گراد درون یخچال تا زمان آزمون بیولوژیک نگهداری شد.

گیاه توت فرنگی با نام علمی *Fragaria ananassa* از جنس *Fragaria* و از خانواده گلسرخیان (Rosaceae) می باشد. میوه توت فرنگی به دلیل تنفس و فعالیت متابولیکی بالا یکی از میوه‌های بسیار فسادپذیر بوده و با حساسیت زیاد به قارچهای آسپرژیلوس (*Aspergillus parasiticus*) و بوتریتیس (*Botrytis cinerea*)، طول عمر پایینی در مرحله پس از برداشت دارد (دیریس<sup>۱</sup> و همکاران، 2001). اگرچه قارچ کشهای شیمیایی در کنترل عوامل بیماریزای قارچی مؤثر هستند ولی استفاده مکرر و مداوم از آنها کنترل بیولوژیکی توسط دشمنان طبیعی را مختل کرده و منجر به شیوع بیماریها و توسعه گسترده مقاومت قارچها به انواع مختلفی از قارچ کشها، سمیت برای موجودات غیرهدف و مشکلات زیست محیطی می شود. شناسایی ترکیبات فعال بیولوژیک که بتوانند در مقیاس تجاری به عنوان سموم بیولوژیک برای کنترل بیماریهای پس از برداشت مورد استفاده قرار گیرند بسیار ارزشمند خواهد بود. لذا استفاده از ترکیبات طبیعی مانند اسانسهای گیاهی و متیل سالیسیلات در کنترل پوسیدگیهای قارچی پس از برداشت به عنوان روشی سالم و بی خطر می باشد (جنورجوپولوس<sup>۲</sup>، 1987؛ استاپ<sup>۳</sup>، 1991؛ الاد<sup>۴</sup> و همکاران، 1995).

در مورد اثر اسانسهای گیاهی بر کیفیت پس از برداشت محصولات باغبانی گزارشهای مختلفی ارائه گردیده است. گزارش گردیده است اسانسهای آویشن (*Thymus glandulosus*) و زنیان (*Trachyspermum copticum*) به ترتیب در غلظت‌های ۲۰۰ و ۳۰۰ میکروگرم در لیتر از رشد قارچ *Aspergillus parasiticus* در میوه گلابی جلوگیری نموده و حتی باعث بهبود طعم میوه شدند (مسکوکوی و مرتضوی، ۱۳۸۳). همچنین گزارش گردیده است کاربرد اسانس بذرهای گیاه باریجه (*Ferula gammosa*) سبب کاهش میانگین رشد قارچ بوتریتیس (*Botrytis cinerea*) گردید که کمترین و بیشترین میزان رشد قارچ به ترتیب در غلظت‌های ۱۲۰۰ و صفر اسانس مشاهده شد (پیغامی آشنایی و همکاران، ۱۳۸۶). همچنین گزارش گردیده است اسانس گیاه آویشن با غلظت ۱۰۰ میکرولیتر در لیتر، در شرایط آزمایشگاه مانع از رشد کامل میسیلیومهای قارچ *Botrytis cinerea* شده است

5. Aras and Usai  
6. Chebli  
7. Yao  
8. Wang  
9. Ding  
10. Hydrodistillation  
11. Clevenger apparatus

1. Dris  
2. Georgopoulos  
3. Staub  
4. Elad

پتری‌های شاهد توسط قارچ به‌طور کامل اشغال شود اندازه-گیری شد. محلول توئین ۲۰ به‌عنوان تیمار شاهد در نظر گرفته شد و هر تیمار در ۳ تکرار و در قالب طرح کاملاً تصادفی مورد بررسی قرار گرفت. درصد بازدارندگی اسانس اسطوخودوس و متیل‌سالیسیلات با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد (رنجبر و همکاران، ۱۳۸۷):

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

$IP^2$  = درصد بازدارندگی،  $C$  = میانگین قطر هاله قارچ در تیمار شاهد،  $T$  = میانگین قطر هاله قارچ در تیمار اسانس اسطوخودوس و متیل‌سالیسیلات

### آزمایش دوم: آلوده‌سازی میوه‌ها با سوسپانسیون قارچ آسپرژیلوس

میوه‌های توت‌فرنگی در مرحله‌ای که ۸۰-۷۰ درصد رنگ قرمز گرفته بودند از مزرعه‌ای در منطقه میشخاص (که در ۲۵ کیلومتری شرق شهر ایلام واقع شده است) اردیبهشت ماه ۱۳۹۲ برداشت و بلافاصله به آزمایشگاه منتقل شد. در آزمایشگاه میوه‌ها از لحاظ شکل، رنگ، اندازه، عاری بودن از آفات و بیماری‌ها و صدمات ظاهری جدا شدند. میوه‌های انتخاب شده با استفاده از محلول هیپوکلریت سدیم با غلظت ۱۰۰ میکرولیتر در لیتر به‌مدت ۳۰ ثانیه ضدعفونی شده و پس از آن دو بار با آب مقطر استریل شستشو داده شدند. از سوسپانسیون قارچ *Aspergillus niger* خالص‌سازی شده برای آلوده‌سازی میوه‌ها استفاده شد. به‌وسیله‌ی لام گلبول شماره ۳ غلظت سوسپانسیون در حدود  $10^6$  اسپور در هر میلی‌لیتر تنظیم شد. سپس برای آلوده‌سازی، میوه‌ها با سوسپانسیون قارچی به‌طور کامل اسپری شدند و به‌مدت ۲ ساعت در هوای معمولی روی فویل استریل قرار گرفتند تا قارچ روی میوه تثبیت شود.

### تیمار میوه‌ها با اسانس اسطوخودوس و متیل‌سالیسیلات

میوه‌های توت‌فرنگی پس از آلوده‌شدن با قارچ‌های عامل پوسیدگی، با غلظت‌های صفر، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکرولیتر در لیتر اسانس اسطوخودوس و غلظت‌های صفر، ۱/۰ و ۰/۲ میلی-مولار متیل‌سالیسیلات در ظروف یکبار مصرف استریل به روش غوطه‌وری و به‌مدت ۳۰ ثانیه تیمار شدند. در هر محلول چند قطره توئین ۲۰ به‌عنوان سورفاکتانت نیز مورد استفاده قرار گرفت. برای هر تیمار ۳ تکرار و برای هر تکرار ۱۵ عدد

متیل‌سالیسیلات مورد استفاده تولید شرکت مرک (آلمان) بود.

**تهیه قارچ آسپرژیلوس:** قارچ بیماری‌زای آسپرژیلوس (*Aspergillus niger*) از سطح میوه‌های آلوده توت‌فرنگی جدا شده و در ظروف پتری‌دیش حاوی محیط‌کشت PDA<sup>۱</sup> کشت گردید. سپس در انکوباتور در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد تا قارچ‌ها رشد کنند. برای خالص‌سازی قارچ از روش تک اسپور استفاده شد. جهت شناسایی قارچ بیماری‌زا ریسه، کنیدیوفور، اسپور و رشد و رفتار قارچ روی محیط‌کشت مورد مطالعه قرار گرفت. پس از تأیید صحت شناسایی، قارچ در لوله‌های حاوی PDA در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد درون یخچال نگهداری شد. آزمایش به دو صورت درون شیشه‌ای (*In vitro*) و درون بدنی (*In vivo*) انجام شد.

### آزمایش اول: بررسی اثر ضدقارچی اسانس اسطوخودوس و متیل‌سالیسیلات در شرایط درون شیشه‌ای

در این آزمایش اسانس اسطوخودوس و متیل‌سالیسیلات با محیط‌کشت PDA مخلوط شد (اصغری مرجانلو و همکاران، ۱۳۸۷). محیط‌کشت به‌مدت ۲۰ دقیقه در اتوکلاو (دمای ۱۲۱ درجه و فشار ۱/۵ اتمسفر) استریل و سپس جهت حذف آلودگی باکتریایی، میزان ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر آموکسی‌سیلین در دمای ۴۵-۴۰ درجه سانتی‌گراد به آن افزوده گردید. پس از آن اسانس اسطوخودوس در توئین ۲۰ با غلظت ۰/۰۵ درصد حل و وقتی که دمای محیط به ۴۵-۴۰ درجه سانتی‌گراد رسید به محیط‌کشت اضافه و بلافاصله در پتری‌دیش‌های یکبار مصرف استریل توزیع شد. بعد از آماده‌سازی محیط‌کشت قارچ آسپرژیلوس که قبلاً از روی میوه توت‌فرنگی خالص‌سازی و تکثیر شده بود برای آلوده‌سازی محیط‌کشت استفاده شد. برای آلوده‌سازی دیسک‌هایی به قطر ۵ میلی‌متر از میسیلیوم‌های قارچ را برداشته و به‌صورت معکوس در روی محیط‌کشت قرار گرفت به طوری که میسیلیوم‌ها کاملاً با محیط‌کشت تماس حاصل نمایند. در روش ترکیب اسانس اسطوخودوس و متیل‌سالیسیلات با محیط‌کشت بلافاصله بعد از کشت قارچ، دور پتری‌ها پارافیلیم کشیده شد. قارچ کشت شده در انکوباتور با دمای ۲۴ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و میزان رشد رویشی هاله قارچ به‌صورت روزانه و تا زمانی که سطح محیط‌کشت

2. IP = Inhibitory Percentage

3. Haemocytometer

4. Tween 20

1. Potato Dextrose Agar

تجزیه آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS (نسخه ۹/۲) و مقایسه میانگین‌ها در هر دو آزمایش با روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام گردید.

### نتایج

**آزمایش اول: بررسی اثر ضدقارچی اسانس اسطوخودوس و متیل سالیسیلات در شرایط درون شیشه‌ای**

نتایج نتایج نشان داد که غلظت‌های به کار رفته اسانس اسطوخودوس (۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکرولیتر در لیتر) و متیل سالیسیلات (۰/۱ و ۰/۲ میلی‌مولار) به طور قابل ملاحظه‌ای از رشد قارچ اسپرژیلوس در روش اختلاط ترکیبات با محیط‌کشت جلوگیری کردند. اثر بازدارندگی تیمارها اختلاف معنی‌داری با شاهد (حاوی محلول توئین ۲۰) داشتند (جدول ۱).

**آزمایش دوم: ارزیابی میزان پوسیدگی قارچی میوه در انبار**

نتایج نشان داد که تیمارهای اسانس اسطوخودوس و متیل سالیسیلات در مقایسه با شاهد رشد قارچ را به طور مؤثری کاهش دادند. کاربرد غلظت ۰/۱ میلی‌مولار متیل سالیسیلات مؤثرتر از غلظت ۰/۲ میلی‌مولار آن و غلظت ۱۰۰۰ میکرولیتر در لیتر اسانس اسطوخودوس مؤثرتر از غلظت ۵۰۰ میکرولیتر در لیتر آن بود. اثرات متقابل اسانس اسطوخودوس و متیل سالیسیلات و دوره انباری حاکی از تأثیر مثبت و معنی‌دار تیمارها در کاهش پوسیدگی در هر سه سطح دوره انباری بود. با افزایش دوره انباری درصد میوه‌های آلوده افزایش یافت (نمودار ۱ و ۲).

### درصد کاهش وزن

بیشترین میزان درصد کاهش وزن (۰/۵۴ درصد) در تیمار ۱۰۰۰ میکرولیتر در لیتر اسانس اسطوخودوس بود و استفاده از متیل سالیسیلات در هر سه غلظت اسانس اسطوخودوس باعث کاهش معنی‌دار درصد کاهش وزن نسبت به شاهد شد. با افزایش دوره انباری درصد کاهش وزن میوه‌ها افزایش یافت. کمترین درصد کاهش وزن در ترکیب تیماری ۵۰۰ میکرولیتر در لیتر اسانس اسطوخودوس و ۰/۱ میلی‌مولار متیل سالیسیلات مشاهده گردید.

میوه داخل ظرف یکبار مصرف استریل درب دار (ردی<sup>۱</sup> و همکاران، ۱۹۹۷) قرار داده شد. درب ظروف حاوی میوه با ایجاد کمی فشار به‌طور کامل بسته شده به‌نحوی که امکان نفوذ هوا به داخل ظرف و تبخیر اسانس و متیل سالیسیلات وجود نداشت. سپس ظروف حاوی میوه‌های تیمار شده در انکوباتور با دمای  $1 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد نگهداری شده و در دوره‌های انبارمانی ۷، ۱۴ و ۲۱ روز مورد ارزیابی قرار گرفتند.

### اندازه‌گیری صفات

پس از خارج نمودن میوه‌ها از انبار در زمان‌های مختلف صفات زیر ارزیابی شدند:

میزان پوسیدگی میوه‌ها بر اساس روش اصغری و همکاران (۱۳۸۷) و با درجه‌بندی به شرح زیر مورد ارزیابی قرار گرفت: (۰ = میوه سالم، ۱ = کمتر از ۱۰ درصد میوه پوسیده، ۲ = ۲۰-۱۱ درصد، ۳ = ۳۰-۲۱ درصد، ۴ = ۴۰-۳۱ درصد، ۵ = ۵۰-۴۱ درصد، ۶ = ۶۵-۵۱ درصد، ۷ = ۸۰-۶۵ درصد، و ۸ = بیش از ۸۰ درصد میوه‌ها پوسیده شده باشند). درصد کاهش وزن میوه در طول دوره انبارمانی با توزین میوه‌ها در قبل و بعد از انبار، محاسبه شد. pH با استفاده از دستگاه پی‌اچ متر (مدل Istek-200L pH، ساخت کشور کره جنوبی) و مواد جامد محلول با استفاده از رفراکتومتر دستی (مدل ATC-1E-ATAGO، ساخت کشور ژاپن) و اسیدیته قابل تیتراسیون با استفاده از سود ۰/۱ نرمال تا رسیدن به pH ۸/۱ اندازه‌گیری شدند. ویتامین ث (اسید آسکوربیک) با استفاده از روش تیتراسیون با یدور پتاسیم تعیین شد (ماجدی، ۱۳۷۳). فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل بر اساس روش مون و ترائو<sup>۲</sup> (۱۹۹۸) از طریق غیرفعال کردن رادیکال‌های آزاد توسط ماده‌ی دی فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل<sup>۲</sup> اندازه‌گیری شد.

### روش آماری

آزمایش اول در شرایط درون‌شیشه‌ای انجام شد و از طرح کاملاً تصادفی جهت تجزیه آماری استفاده شد. آزمایش دوم به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ فاکتور و ۳ تکرار (هر تکرار شامل ۱۵ عدد میوه) انجام شد که فاکتور اول غلظت اسانس اسطوخودوس (۰، ۵۰۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر)، فاکتور دوم غلظت متیل سالیسیلات (۰، ۰/۱ و ۰/۲ میلی‌مولار) و فاکتور سوم دوره انبارداری ۷، ۱۴ و ۲۱ روز بود.

1. Reddy
2. Moon and Terao
3. 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

جدول ۱: میزان بازدارندگی اسانس اسطوخودوس و متیل سالیسیلات در جلوگیری از رشد قارچ آسپرژیلوس میوه توت‌فرنگی در شرایط درون شیشه‌ای  
 Table 1: Inhibition rate of methyl salicylate and lavender essential oil on *Aspergillus niger* fungi growth of strawberry at *In vitro* condition

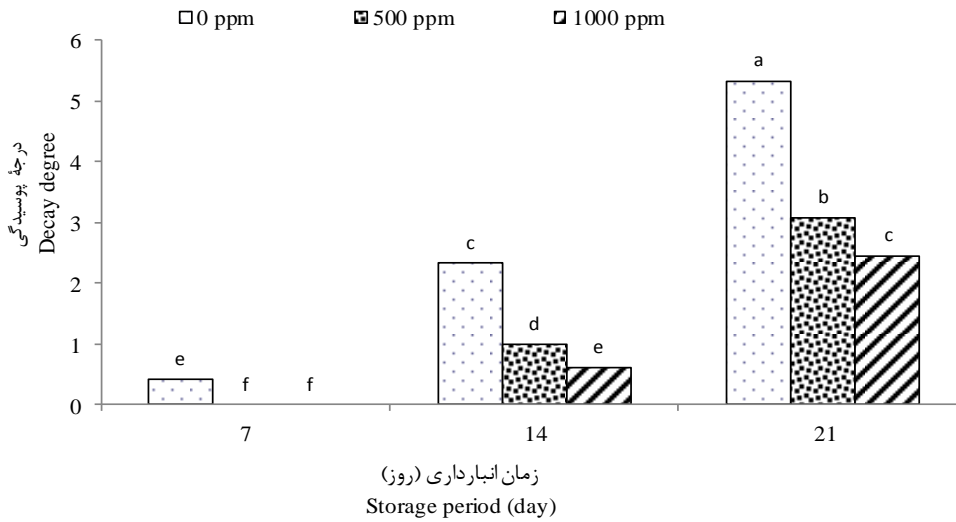
متیل سالیسیلات (میلی‌مولار) Methyl salicylate (mM)	آسپرژیلوس نیگر (میزان بازدارندگی) <i>Aspergillus niger</i> (Inhibition rate)	اسانس اسطوخودوس (میکرولیتر در لیتر) Lavender essential oil ( $\mu\text{L L}^{-1}$ )	آسپرژیلوس نیگر (میزان بازدارندگی) <i>Aspergillus niger</i> (Inhibition rate)
0	0 <sup>c</sup>	0	0 <sup>c</sup>
0.1	58.9 <sup>b</sup>	500	73.33 <sup>b</sup>
0.2	90.41 <sup>a</sup>	1000	96.66 <sup>a</sup>

میانگین‌هایی که در هر ستون حروف مشترک دارند دارای اختلاف معنی‌دار براساس آزمون دانکن در سطح ۵ درصد نیستند  
 Means, in each column, followed by similar letter(s) are not significantly different at 5% probability level

جدول ۲: تجزیه واریانس اثر اسانس اسطوخودوس، متیل سالیسیلات، زمان و اثرهای متقابل آنان بر صفات مورد بررسی میوه توت‌فرنگی تلقیح شده با قارچ آسپرژیلوس  
 Table 2: ANOVA of Lavender essential oil, Methyl salicylate, storage time and their interaction effects on evaluated parameters of strawberry cv. Selva inoculated with *Aspergillus niger*

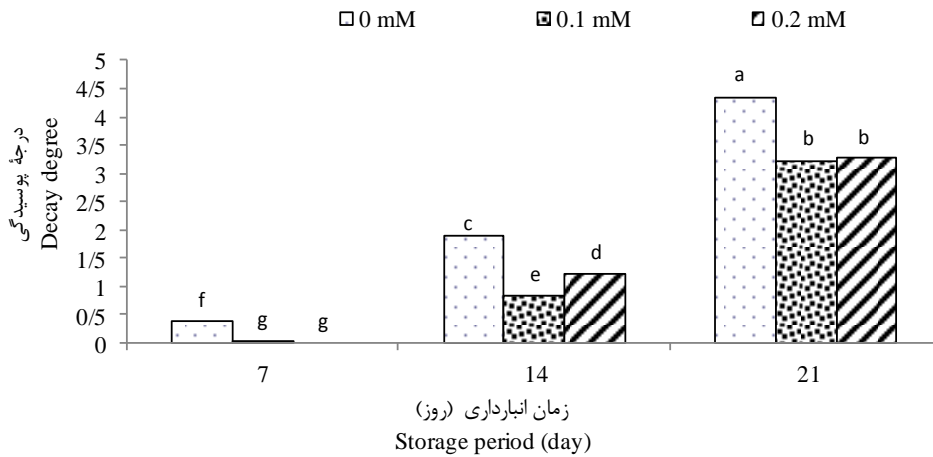
ویتامین ث Vitamin C	فعالیت آنتی‌اکسیدانی Antioxidant Activity	شاخص طعم TA/TSS	مواد جامد محلول TSS	پی‌اچ pH	اسیدیته قابل تیتراسیون TA	کاهش وزن Weight loss	پوسیدگی Decay	درجه آزادی df	منبع تغییر Source of variation
45.77*	38.52**	1.45*	2.42**	0.001 <sup>ns</sup>	0.024**	0.147**	20.8**	2	اسانس Essential oil (EO)
75.21**	0.48 <sup>ns</sup>	1.5*	2.78**	0.004 <sup>ns</sup>	0.024**	0.167**	5.66**	2	متیل سالیسیلات Methyl salicylate (MeSA)
51.18**	44.6**	19.25**	0.5*	1.82**	0.026**	1.65**	84.47**	2	زمان انبارداری Storage time (T)
27.64 <sup>ns</sup>	32.69**	2.45**	1.07**	0.001 <sup>ns</sup>	0.008*	0.01**	8.81**	4	اسانس × متیل سالیسیلات EO × MeSA
0.45 <sup>ns</sup>	2.35 <sup>ns</sup>	1.13 <sup>ns</sup>	0.35*	0.006 <sup>ns</sup>	0.003 <sup>ns</sup>	0.01**	3.59**	4	زمان انبارداری × اسانس EO × T
0.22 <sup>ns</sup>	1.51 <sup>ns</sup>	0.14 <sup>ns</sup>	0.16 <sup>ns</sup>	0.004 <sup>ns</sup>	0.007 <sup>ns</sup>	0.004*	0.56**	4	متیل سالیسیلات × زمان انبارداری MeSA × T
0.14 <sup>ns</sup>	1.54 <sup>ns</sup>	0.36 <sup>ns</sup>	0.1 <sup>ns</sup>	0.006 <sup>ns</sup>	0.002 <sup>ns</sup>	0.004*	1.16**	8	اسانس × متیل سالیسیلات × زمان انبارداری EO × MeSA × T
9.88	7.85	9.93	7.88	3.04	7.85	8.52	13.07	-	ضرب تغییرات C.V.

ns, \* و \*\*: به ترتیب فاقد تفاوت معنی‌دار و دارای تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ و ۱ درصد  
 ns: Means no significant, \*\* and \* show being significant ( $\alpha=0.05$  and  $0.01$ , respectively)



شکل ۱: اثر متقابل اسانس اسطوخودوس و دوره انباری بر میزان پوسیدگی میوه توت‌فرنگی تلقیح شده با قارچ اسپرژیلوس میانگین‌هایی که در هر ستون حروف مشترک دارند دارای اختلاف معنی‌دار براساس آزمون دانکن در سطح ۵ درصد نیستند  
 Fig. 1: Interaction effects of lavender essential oil and storage time on decay rate of strawberry fruits inoculated with *Aspergillus niger*

Means, in each column, followed by similar letters are not significantly different at 5% probability level



شکل ۲: اثر متقابل متیل سالیسیلات و دوره انباری بر میزان پوسیدگی میوه توت‌فرنگی تلقیح شده با قارچ اسپرژیلوس میانگین‌هایی که در هر ستون حروف مشترک دارند دارای اختلاف معنی‌دار براساس آزمون دانکن در سطح ۵ درصد نیستند  
 Fig. 2: Interaction effects of methyl salicylate and storage time on decay rate of strawberry fruits inoculated with *Aspergillus niger*

Means, in each column, followed by similar letters are not significantly different at 5% probability level

دست آمد و بقیه تیمارها اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نشان ندادند (جدول ۳).

### فعالیت آنتی‌اکسیدانی

اثر تیمار اسانس اسطوخودوس بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی میوه‌ها در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. بیشترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی مربوط به هر دو غلظت اسانس اسطوخودوس بود. با افزایش دوره انباری فعالیت آنتی‌اکسیدانی میوه‌ها بیشتر شد. مقایسه میانگین اثرات متقابل اسانس اسطوخودوس و متیل سالیسیلات بر این صفت نشان داد که استفاده از متیل سالیسیلات در غلظت ۵۰۰ میکرولیتر در لیتر اسانس اسطوخودوس سبب افزایش معنی‌دار میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی میوه‌ها نسبت به شاهد گردید (جدول ۴).

### ویتامین C

نتایج نشان داد که بیشترین میزان ویتامین C در میوه‌های تیمار شده با ۵۰۰ میکرولیتر در لیتر اسانس اسطوخودوس و ۰/۱ میلی‌مولار متیل سالیسیلات وجود دارند (جدول ۴). استفاده از متیل سالیسیلات در هر دو غلظت سبب افزایش معنی‌دار ویتامین C نسبت به شاهد گردید. با افزایش دوره انباری میزان ویتامین C کاهش پیدا کرد. اثرات متقابل تیمارها بر این صفت معنی‌دار نشد (جدول ۲).

### میزان اسیددیده قابل تیتراسیون (TA)

تیمار اسانس اسطوخودوس و متیل سالیسیلات اثر معنی‌داری در سطح ۵ درصد روی اسیددیده قابل تیتراسیون میوه گذاشت. اسیددیده قابل تیتراسیون میوه‌های تیمار شده با اسانس اسطوخودوس در غلظت‌های ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکرولیتر در لیتر و متیل سالیسیلات در غلظت ۰/۲ میلی‌مولار بیشتر از میوه‌های شاهد بود. با افزایش دوره انباری میزان اسیددیده قابل تیتراسیون کاهش یافت (جدول ۳).

### مواد جامد محلول (TSS)

جدول تجزیه واریانس نشان داد اثر متقابل اسانس اسطوخودوس و متیل سالیسیلات بر مواد جامد محلول در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). میوه‌های شاهد و تیمار شده با ۰/۱ میلی‌مولار متیل سالیسیلات با کمترین میزان TSS، با تیمارهای اسانس اسطوخودوس و ۰/۲ میلی‌مولار متیل سالیسیلات با بیشترین میزان TSS، اختلاف معنی‌داری داشتند (جدول ۳).

### شاخص طعم (TSS/TA)

بیشترین شاخص طعم در تیمارهای ۱۰۰۰ میکرولیتر در لیتر اسانس اسطوخودوس و ۰/۲ میلی‌مولار متیل سالیسیلات به-

جدول ۳: اثر غلظت‌های مختلف اسانس اسطوخودوس و متیل سالیسیلات بر شاخص‌های کیفی میوه توت‌فرنگی رقم سلوا در انبار سرد  
Table 3: The effect of different concentration of lavender essential oil and methyl salicylate on qualitative parameters of strawberry cv. Selva in cold storage

پارامترهای کیفی Qualitative parameters				غلظت Concentration
شاخص طعم TSS/TA	مواد جامد محلول TSS	اسیددیده قابل تیتراسیون TA	پی‌اچ pH	
اسانس (میکرولیتر در لیتر) Essential oil (µl/l)				
6.87 <sup>ab</sup>	4.31 <sup>c</sup>	0.64 <sup>b</sup>	3.17 <sup>a</sup>	0
6.65 <sup>b</sup>	4.52 <sup>b</sup>	0.68 <sup>a</sup>	3.16 <sup>a</sup>	500
7.11 <sup>a</sup>	4.91 <sup>a</sup>	0.7 <sup>a</sup>	3.15 <sup>a</sup>	1000
متیل سالیسیلات (میلی‌مولار) Methyl salicylate (mM)				
6.92 <sup>b</sup>	4.44 <sup>b</sup>	0.64 <sup>b</sup>	3.15 <sup>a</sup>	0
6.62 <sup>b</sup>	4.35 <sup>b</sup>	0.67 <sup>b</sup>	3.17 <sup>a</sup>	0.1
7.08 <sup>a</sup>	4.95 <sup>a</sup>	0.70 <sup>a</sup>	3.17 <sup>a</sup>	0.2

میانگین‌هایی که در هر ستون حروف مشترک دارند دارای اختلاف معنی‌دار براساس آزمون دانکن در سطح ۵ درصد نیستند

Means, in each column, followed by similar letter(s) are not significantly different at 5% probability level

جدول ۴: اثر اسانس اسطوخودوس و متیل سالیسیلات بر میزان پوسیدگی، درصد کاهش وزن، ویتامین C و فعالیت آنتی اکسیدانی توت‌فرنگی رقم سلوا در انبار سرد

Table 4: The effect of lavender essential oil and methyl salicylate on decay, weight loss, vitamin C and antioxidant activity of strawberry cv. Selva in cold storage

پارامترها Parameters		غلظت Concentration	
درجه پوسیدگی Decay degree	کاهش وزن (درصد) Weight loss (%)	ویتامین ث (میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم وزن تازه) Vitamin C (mg/100 g FW)	فعالیت آنتی‌اکسیدانی (درصد) Antioxidant activity (%)
اسانس (میکرولیتر در لیتر) Essential oil (µl/l)			
2.68 <sup>a</sup>	0.51 <sup>b</sup>	35 <sup>b</sup>	23 <sup>b</sup>
1.36 <sup>b</sup>	0.4 <sup>c</sup>	37 <sup>a</sup>	25 <sup>a</sup>
1.02 <sup>c</sup>	0.54 <sup>a</sup>	35 <sup>b</sup>	25 <sup>a</sup>
متیل سالیسیلات (میلی‌مولار) Methyl salicylate (mM)			
2.21 <sup>a</sup>	0.57 <sup>a</sup>	34 <sup>b</sup>	24 <sup>a</sup>
1.35 <sup>c</sup>	0.43 <sup>c</sup>	37 <sup>a</sup>	24 <sup>a</sup>
1.5 <sup>b</sup>	0.46 <sup>b</sup>	36 <sup>a</sup>	24 <sup>a</sup>

میانگین‌هایی که در هر ستون حروف مشترک دارند دارای اختلاف معنی‌دار براساس آزمون دانکن در سطح ۵ درصد نیستند  
Means, in each column, followed by similar letter(s) are not significantly different at 5% probability level

#### بحث

فعال زیستی بوده که قادرند به‌عنوان رده‌ی جدیدی از قارچ-کش‌های تجاری ایمن توسعه یابند. متیل سالیسیلات نیز به‌عنوان یک ترکیب فنولی طبیعی و سالم با پتانسیل بالا در کنترل تلفات پس از برداشت محصولات باغبانی مؤثر می‌باشد که در کاهش پوسیدگی میوه‌های توت‌فرنگی در این پژوهش مفید واقع گردید (جدول ۴). متیل سالیسیلات باعث کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز در میوه شده و به‌دنبال آن افزایش تجمع مولکول‌های پراکسید هیدروژن صورت می‌گیرد. بالا رفتن غلظت پراکسید هیدروژن می‌تواند به‌عنوان پیام‌بر ثانویه در فعال‌سازی پروتئین‌هایی با وزن مولکولی کم مرتبط با بیماری‌زایی عمل نموده و از طریق افزایش بیان و فعالیت آنزیم‌های دفاعی گیاه مانند کیتیناز، گلوکوناز و فنیل آلانین آمونیلایز باعث افزایش مقاومت گیاه در مقابل عوامل بیماری‌زا گردد که به این مقاومت، مقاومت اکتسابی سیستمیک گفته می‌شود (نیشیکاو<sup>۶</sup> و همکاران، ۲۰۰۳). نتایج این آزمایش با یافته‌های دینگ و همکاران (۲۰۰۲) در میوه‌های گوجه‌فرنگی و ونگ و همکاران (۲۰۰۶) در هلو مطابقت دارد که اثر متیل سالیسیلات بر کاهش پوسیدگی و سرمازدگی را ثابت کرده‌اند. با افزایش دوره انباری میزان پوسیدگی افزایش یافت (شکل ۲). چنین نتایجی توسط پیغامی‌آشنایی و همکاران (۱۳۸۶) در

اسانس اسطوخودوس حاوی لینالول<sup>۱</sup> (۴۹/۲ درصد) و لواندولیل استات<sup>۲</sup> (۱۲/۳) می‌باشد که یک ترپنئید با ساختار الکلی بوده و فعالیت ضدقارچی بالایی در برابر قارچ آسپرژیلوس دارد (رنجبر و همکاران، ۱۳۸۷). اثر اسانس اسطوخودوس در غلظت‌های ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکرولیتر در لیتر در کاهش میزان پوسیدگی قارچی در این آزمایش (جدول ۴) دلیل بر این مدعاست که با یافته‌های رنجبر و همکاران (۱۳۸۷) و مسکوکی و همکاران (۱۳۸۳) همخوانی دارد. سمیت سلولی اسانس عمدتاً به دلیل حضور فنول‌ها، آلدئیدها و الکل‌هاست که مانع فعالیت قارچ‌ها می‌شود (برونی<sup>۳</sup> و همکاران، ۲۰۰۳). اسانس‌ها در سلول‌های یوکاریوتی می‌توانند قطب‌زدایی غشاهای میتوکندری را به‌وسیله کاهش پتانسیل غشاء و تأثیر بر چرخه یونی کلسیم و دیگر کانال‌های یونی و شیب pH تحریک کنند (ریشتر و شگل<sup>۴</sup>، ۱۹۹۳). اسانس‌ها سیالیت غشاها را تغییر می‌دهند به‌طوری‌که غیرطبیعی نفوذپذیر می‌شوند و منجر به نشت رادیکال‌ها، سیتوکروم c، یون‌های کلسیم و پروتئین‌ها شده و باعث تنش اکسیداتیوی می‌گردند (یون<sup>۵</sup> و همکاران، ۲۰۰۰). لذا می‌توان گفت اسانس‌های گیاهی منبع غنی از مواد شیمیایی

1. Linalool
2. Lavandulyl acetate
3. Bruni
4. Rishter and Shegel
5. Yoon

6. Nishikawa



کاربرد اسانس اسطوخودوس و متیل سالیسیلات علاوه بر کنترل آلودگی قارچی و کاهش وزن، آثار سوء بر روی کیفیت میوه نداشتند و در اکثر موارد باعث حفظ کیفیت از جمله افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی، ویتامین C، مواد جامد محلول، اسیدیته قابل تیتراسیون، شاخص طعم و جلوگیری از کاهش وزن در طول انبارداری شدند (جدول ۳ و ۴). نتایج مشابهی توسط مسکوکوی و موتضوی (۱۳۸۳) گزارش شده که با کاربرد اسانس‌های آویشن و زنیان رشد قارچ *Aspergillus parasiticus* را در میوه‌های گلابی کنترل و باعث بهبود طعم میوه نیز شدند.

به‌طور کلی، با در نظر گرفتن نتایج این آزمایش و سایر تحقیقات در درجه اول تیمار اسانس اسطوخودوس و در درجه دوم تیمار متیل سالیسیلات برای حفظ کمیت و کیفیت میوه توت‌فرنگی در دوره انبارداری توصیه می‌شود. البته می‌بایست تحقیقات زیادی انجام شود تا امکان استفاده از اسانس‌های گیاهی و متیل سالیسیلات در فرمولاسیون‌های مناسب برای هر کدام از محصولات فراهم شود.

سبب نیز گزارش شده که میزان آلودگی میوه با قارچ *Botrytis cinerea* پس از ۱۰ و ۲۰ روز به شدت افزایش یافت.

کاهش وزن میوه در طول دوره انبار می‌تواند سبب پژمردگی و پلاسیدگی شود که میزان بازارپسندی و مقبولیت مصرف‌کننده را کاهش می‌دهد. از طرف دیگر این کاهش وزن از لحاظ اقتصادی باعث افت کمی محصول می‌شود. بنابراین هر تیماری که سبب جلوگیری از این کاهش وزن شود ارزشمند خواهد بود که استفاده از تیمارهای اسانس اسطوخودوس در غلظت ۵۰۰ میکرولیتر در لیتر و متیل سالیسیلات ۰/۱ میلی-مولار سبب کم شدن معنی دار کاهش وزن میوه‌ها شدند. از طرفی غلظت بالای اسانس اسطوخودوس باعث افزایش درصد کاهش وزن شد (جدول ۴). غلظت بالای اسانس شاید به‌عنوان یک عامل تنش‌زا باعث افزایش فعالیت‌های حیاتی سلول شده و در نتیجه منجر به مصرف بیشتر مواد غذایی ذخیره میوه و کاهش وزن بیشتر میوه‌ها شود. در تحقیقی بخاردهی با متیل-سالیسیلات سبب کاهش معنی‌دار درصد کاهش وزن میوه‌های انار در طول دوره انباری شد (سیاری و همکاران، ۲۰۱۰) که در این پژوهش هم نتایج مشابهی با کاربرد متیل سالیسیلات حاصل شد.

## منابع

- اصغری مرجانلو، ا.، مستوفی، ی.، شعیبه، ش. و مقومی، م. ۱۳۸۷. تأثیر اسانس ریحان بر کنترل پوسیدگی خاکستری و کیفیت پس از برداشت توت‌فرنگی، فصلنامه گیاهان دارویی، ۲۸: ۱۳۹-۱۳۱.
- پیغامی آشنایی، س.، فرزانه، م.، هادیان، ج.، شریفی تهرانی، ع. و قربانیور، م. ۱۳۸۶. بررسی اثر چند اسانس گیاهی در کنترل کپک خاکستری سیب در اثر *Botrytis cinerea*. مجله پژوهش کشاورزی آب، خاک و گیاه در کشاورزی، ۳: ۱-۱۰.
- رنجبر، ح.، فرزانه، ه.، هادیان، ج.، میر جلیلی، م. ح. و شریفی، ر. ۱۳۸۷. اثر ضدقارچی چند اسانس گیاهی بر بیماری‌های پس از برداشت میوه توت‌فرنگی، مجله پژوهش و سازندگی در زراعت و باغبانی، ۸۱: ۵۴-۶۰.
- ماجدی، م. ۱۳۷۳. روش‌های آزمون شیمیایی مواد غذایی. انتشارات جهاد دانشگاهی دانشگاه تهران، ۱۰۸ صفحه.
- مسکوک، 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، ۸ (۲): ۲۰۷-۲۱۵.
- Aras, G. and Usai, M. 2001. Fungitoxic activity of 12 essential oils against four postharvest citrus pathogen: chemical analysis of *Thymus capitatus* soil and its effect in sub-atmospheric pressure conditions, Food Protection, 64: 1009-1025.
- Bruni, R., Medici, A., Andreotti, E., Fantin, C., Muzzoli, M. and Dehesa, M. 2003. Chemical composition and biological activities of Isphingo essential oil, a traditional Ecuadorian spice from *Ocoteaquixos* (lam) kosterm. (Lauraceae) flower calks. Food Chemistry, 85: 415-421.
- Chebli, B., Hmamouchi, M., Achouri, M. and Idrissi-Hassani, L. M. 2004. Composition and *in vitro* fungitoxic activity of 19 essential oils against two post-harvest pathogens. Journal of Essential Oil Research, 16: 507-511.
- Ding, C. K., Wang, C. Y., Gross, K. C. and Smith, D. L. 2002. Jasmonate and salicylate induce the expression of pathogenesis-related-protein genes and increase resistance to chilling injury in tomato fruits. Planta, 214: 895-901.
- Dris, R., Nishkanen, R. and Jain, S. M. 2001. Crop management and postharvest handling of horticultural product. Science Publishers, 1: 363-370.
- Elad, Y., Gullionio, M. L., Shtienbery, D. and Aloli, C. 1995. Managing *Botrytis cinerea* on tomatoes in greenhouses in the Mediterranean. Crop Protection, 14: 105-109.
- Georgopoulos, S. G. 1987. The development of fungicide resistance In: Wolf, M., Catan C. E. Populations of plant pathogens-their dynamics and genetics Blank Well Scientific Publications, oxford, pp. 239-251.
- Lee, S. O., Choi, G. L., Jang, K. S., Lim, H. K., Cho, K. I. and Cheol Kim, J. 2007. Antifungal activity of five plants essential oils as fumigant against postharvest and soil-borne plant pathogenic fungi. Plant Pathology Journal, 23: 97-102.
- Moon, J. H. and Terao, J. 1998. Antioxidant activity of caffeic acid and dihydrocaffeic acid in lard and human low-density lipoprotein. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 46: 5062-5065.
- Nishikawa, F., Kato, M., Hyodo, H., Ikoma, Y., Sugiura, M. and Yano, M. 2003. Ascorbate metabolism in harvested broccoli. Journal of I- aminocyclopropane- 1- carboxylic acid and emission in apple fruit flesh disks during storage. Postharvest Biology and Technology, 1: 101-109.
- Reddy Bhaskara, M. V., Angers, P., Gosselin, A. and Arul, J. 1997. Characterization and *Rhizopus stolonifer* in strawberry fruits. Phytochemistry, 47: 1515-1520.
- Sayyari, M., Babalar, M., Kalantari, S., Martinez-Romero, D., Guillen, F. and Valero, D. 2011. Vapour treatment with methyl salicylic or methyl jasmonate alleviated chilling injury and enhanced antioxidant potential during postharvest storage of pomegranates. Food Chemistry, 124: 964-970.
- Staub, T. 1991. Fungicide resistance; practical experience with antiresistance strategies and role of integrated use. Annual Review of Phytopathology, 29: 421-442.
- Wang, L., Chen, S., Kong, W., Li, S. and Archbold, D. 2006. Salicylic acid pretreatment alleviates chilling injury and affects the antioxidant system and heat shock protein of peaches during cold storage. Postharvest Biology and Technology, 41: 244-251.
- Yao, H. and Tiana, S. 2005. Effects of pre- and post-harvest application of salicylic acid or methyl jasmonate on inducing disease resistance of sweet cherry fruit in storage. Postharvest Biology and Technology, 35: 253-262.

## Effect of Lavender Essential Oil and Methyl Salicylate on the Control of *Aspergillus* Fungus and Postharvest Quality of Strawberry Cv. Selva

Gharibi<sup>1</sup>, R., Sayyary<sup>2\*</sup>, M. and Norollahi<sup>3</sup>, K.

### Abstract

Strawberry, one of the perishable important horticultural crops, is sensitive to fungal pathogens especially during handling and storage. In this research, the effects of lavender essential oil (LEO) and methyl salicylate (MeSA) on the control of *Aspergillus*-caused fungal disease were investigated. The study was conducted as a factorial experiment based on a completely randomized design (CRD) with 3 replications. The treatments were 3 concentrations of LEO including 0, 500 and 1000  $\mu\text{L}^{-1}$  and 3 levels of MeSA including 0, 0.1 and 0.2 mM. After treatment, the fruits inoculated by *Aspergillus* suspension and transferred to cold storage (2°C and 85% humidity) and after 7, 14 and 21 days, some parameters were evaluated. The results showed that diseases incidence of treated fruits with 1000  $\mu\text{L}^{-1}$  LEO and 0.1 mM MeSA were 39 and 63% lower than untreated fruits, respectively. With increasing the storage period, the percentage of infected fruits increased. Treated fruits with 500  $\mu\text{L}^{-1}$  LEO and 0.1 mM MeSA had high content of soluble solids, vitamin C and antioxidant activity. Therefore, LEO and MeSA having fungicide effect could be used instead of with synthetic fungicides to controlling fungal disease of strawberry and maintain fruits quality during storage.

**Keywords:** Fungal disease, Cold storage, Soluble solid content, Antioxidant activity

---

1. M.Sc. Graduated, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, University of Ilam, Ilam, Iran  
2. Assistant Professor, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, University of Bu-Ali Sina, Hamedan, Iran  
3. Assistant Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Ilam, Ilam, Iran  
\*: Corresponding author                      Email: sayyari\_m@yahoo.com