نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۲۹، شماره ۴، زمستان ۱۳۹۴، ص. ۶۷۰-۶۶۲
شاپا: ۴۷۳۰ - ۲۰۰۸

Journal of Horticultural Science
Vol. 29, No. 4, Winter 2016, P. 662-670
ISSN: 2008 - 4730

اثر اسانس اسطوخودوس و متیل سالیسیلات بر کنترل کپک خاکستری و کیفیت میوه توت فرنگی در انبار

محمد سیاری[1]* - رضا غریبی[2]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۰۹/۲۵
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۰۷/۱۴

چکیده

توت فرنگی یکی از محصولات باغبانی با فسادپذیری بالا می باشد که در مرحله حمل و نقل و انبارمانی، حساسیت زیادی به بیماری‌های قارچی دارد. در این تحقیق، اثر اسانس اسطوخودوس و متیل سالیسیلات بر فعالیت قارچ عامل بیماری کپک خاکستری (*Botrytis cinerea*) در مرحله پس از برداشت توت فرنگی مورد بررسی قرار گرفت. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار اجرا شد. پس از اعمال تیمارها، میوه‌ها با اسپور قارچ آلوده سازی شده و به انبار با دمای ۲ درجه سانتی گراد و رطوبت نسبی ۸۵ درصد منتقل شده و پس از ۷، ۱۴ و ۲۱ روز انبارمانی صفات مختلف آنها مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد گسترش رشد قارچ کپک خاکستری در میوه‌های تیمار شده با متیل سالیسیلات با غلظت ۰/۱ میلی مولار و اسانس اسطوخودوس با غلظت ۱۰۰۰ میکرو لیتر در لیتر به ترتیب ۶۴ و ۳۲ درصد کمتر از میوه‌های شاهد بود. با افزایش دوره انبارداری، درصد میوه‌های آلوده افزایش یافت. به علاوه، متیل سالیسیلات و اسانس اسطوخودوس اثر مثبت و معنی داری بر برخی شاخص‌های کیفی میوه توت فرنگی از جمله اسید قابل تیتراسیون، میزان مواد جامد محلول، میزان ویتامین ث و فعالیت آنتی اکسیدانی داشتند به طوری که میوه‌های تیمار شده با متیل سالیسیلات و اسانس اسطوخودوس، ویتامین ث، مواد جامد محلول و فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری نسبت به میوه‌های شاهد داشتند. در نتیجه متیل سالیسیلات با غلظت ۰/۱ میلی مولار و اسانس اسطوخودوس با غلظت ۱۰۰۰ میکرو لیتر در لیتر به دلیل داشتن خاصیت قارچ‌کشی بالا می‌توانند جایگزین قارچ‌کش‌های شیمیایی در کنترل بیماری‌های قارچی توت‌فرنگی و سبب حفظ کیفیت آن در انبار شوند.

واژه‌های کلیدی: بیماری قارچی، شاخص‌های کیفی، فعالیت آنتی اکسیدانی، ویتامین ث

مقدمه

توت فرنگی با نام علمی فراگاریا آناناسا[3] از خانواده روزاسه بوده که به دلیل تنفس و فعالیت متابولیکی بالا یکی از میوه‌های بسیار فسادپذیر با حساسیت زیاد به قارچ‌های *آسپرژیلوس* و *کپک خاکستری* به شمار آمده و عمر پائینی در مرحله پس از برداشت دارد (۶). اگرچه قارچ‌کش‌های شیمیایی درکنترل 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 قارچ‌کش‌ها، سمیت برای موجودات غیر هدف و مشکلات زیست محیطی می شود (۷، ۸ و ۱۸).

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 در کنترل پوسیدگی‌های قارچی پس از برداشت به عنوان روشی سالم و بی خطر می باشد (۲).

تحقیقات نشان داده است گیاهان معطر متعلق به خانواده نعناعیان، کاسنی و چتریان غنی از ترکیبات ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی هستند که با داشتن سمیت بسیار پایین برای انسان و سایر پستانداران از مقبولیت فراوانی نیز در اغلب جوامع بشری برخوردار هستند. در خصوص اثر اسانس‌های گیاهی بر کنترل رشد قارچ‌های بیماریزا و کیفیت پس از برداشت محصولات باغبانی گزارش‌های مختلفی ارائه گردیده است. اسانس‌های آویشن[4] و زنیان به ترتیب در غلظت‌های ۲۰۰ و ۳۰۰ میکروگرم در لیتر از رشد قارچ آسپرژیلوس

۱- استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینای همدان
(*- نویسنده مسئول: Email: m.sayyari@basu.ac.ir)
۲- دانشجوی سابق کارشناسی ارشد گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام

3 - *Fragaria ananassa*

4 - *Thymus capitatus*

پارازیتیکوس[1] در میوه گلابی جلوگیری نموده و حتی باعث بهبود طعم میوه شدند (۱۰). اسانس بذرهای گیاه باریجه[2] سبب کاهش میانگین رشد قارچ کپک خاکستری گردید که کمترین و بیشترین میزان رشد قارچ به ترتیب در غلظت‌های ۱۲۰۰ و صفر میکرولیتر در لیتر اسانس بذور گیاه باریجه مشاهده شد (۱۳). همچنین گزارش گردیده اسانس گونه گلندولوس گیاه آویشن[3] با غلظت ۱۰۰ میکرولیتر در لیتر، در شرایط آزمایشگاه به میزان ۱۰۰ درصد مانع از رشد میسلیوم‌های قارچ کپک خاکستری شده است (۱). اسانس به دست آمده از گل داوودی نیز با غلظت ۱۵۰ میکرو لیتر در لیتر دارای خاصیت آنتاگونیستی علیه قارچ کپک خاکستری بوده است (۴). گیاهان خانواده نعناعیان از جمله اسطوخودوس[4] 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 (۱۴).

متیل سالیسیلات از مواد طبیعی گیاهی بوده و در رشد و نمو، پاسخ‌های دفاعی گیاهی، تحریک مقاومت سیستمیک اکتسابی و انتقال علائم نقش مهمی را ایفا می‌کند. این ترکیب در گیاه از اسید سالیسیلیک سنتز شده و زمانی در گیاه خاصیت اثر بخشی دارد که مجدداً به اسید سالیسیلیک تبدیل گردد (۱۶). 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 (۲۰) و هلو (۱۹) انبار شده را افزایش داد. با قرار گرفتن میوه‌های برداشت شده گوجه‌فرنگی (۵) و انار (۱۶) در معرض بخار متیل-سالیسیلات نیز وقوع پوسیدگی‌های قارچی و سرمازدگی به شدت کاهش یافت.

با توجه به اثر امید بخش اسانس‌های گیاهی و مواد طبیعی از جمله متیل سالیسیلات در کنترل بیماری های قارچی میوه‌ها در مرحله پس از برداشت و حساسیت توت فرنگی به عوامل بیماریزا به خصوص قارچ کپک خاکستری و کاهش رغبت به استفاده از مواد شیمیایی توسط مصرف کنندگان، پژوهش حاضر جهت بررسی اثر متیل سالیسیلات و اسانس اسطوخودوس در کنترل پوسیدگی قارچی و حفظ کیفیت میوه توت فرنگی 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 سایه خشک شدند. سپس به وسیله آسیاب خرد شده و اسانس آنها به روش تقطیر با آب[5] و با کمک دستگاه کلونجر[6] به مدت ۳ ساعت استخراج گردید (۱). اسانس به دست آمده در شیشه-های تیره رنگ در دمای ۴ درجه سانتیگراد درون یخچال تا زمان آزمون بیولوژیک نگه‌داری شد. متیل سالیسیلات مورد استفاده نیز تولید شرکت مرک آلمان بود که از شرکت نوین طب آزما خریداری شد.

تهیه اسپور قارچ کپک خاکستری

اسپور قارچ بیماریزای کپک خاکستری از سطح میوه‌های آلوده توت فرنگی جدا شده و در ظروف پتری دیش حاوی محیط کشت PDA[7] کشت گردید. سپس در انکوباتور در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد سانتیگراد قرار داده شد تا قارچ‌ها رشد کنند. برای خالص سازی قارچ از روش تک اسپور استفاده شد (۱). جهت شناسایی قارچ بیماریزا ریسه، کنیدیوفور و اسپور، رشد و رفتار قارچ روی محیط کشت مورد مطالعه قرار گرفت. پس از تأیید صحت شناسایی و کنترل خصوصیات اسپور قارچ تولیدی با مشخصات قارچ کپک خاکستری (۱)، قارچ در لوله‌های حاوی PDA در دمای ۴ درجه سانتیگراد درون یخچال نگه داری شد. آزمایش به دو صورت درون شیشه‌ای (In vitro) و در زیوه (In vivo) انجام شد.

بررسی اثر ضد قارچی اسانس اسطوخودوس و متیل سالیسیلات در شرایط درون شیشه‌ای

در این آزمایش اسانس اسطوخودوس و متیل سالیسیلات با محیط کشت PDA مخلوط شد (۱۳). محیط کشت به مدت ۲۰ دقیقه در اتوکلاو (دمای۱۲۱ درجه و فشار ۱/۵ اتمسفر) استریل و سپس جهت حذف آلودگی باکتریایی، میزان ۱۰۰ میلی گرم در لیتر آموکسی سیلین در دمای ۴۵-۴۰ درجه سانتیگراد به آن افزوده شد. 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 محیط کشت اضافه و بلافاصله در پتری دیش‌های یکبار مصرف استریل توزیع شد. بعد از آماده سازی محیط کشت قارچ که قبلاً از روی میوه توت-فرنگی خالص سازی و تکثیر شده بود برای آلوده سازی محیط کشت استفاده شد. برای آلوده سازی دیسک‌هایی به قطر ۵ میلیمتر از میسلیوم‌های قارچ را برداشته و به صورت معکوس در روی محیط کشت قرار گرفت به طوری که میسلیوم‌ها کاملاً با محیط کشت تماس حاصل نمایند. در روش ترکیب اسانس اسطوخودوس و متیل

1 - *Aspergillus parasiticus*
2 - *Ferula gammosa*
3 - *Thymus glandulosus*
4 - *Lavandula angustifolia*
5 - Hydro distillation
6 - Clevenger
7 - Potato Dextrose Agar

سالیسیلات با محیط کشت بلافاصله بعد از کشت قارچ، دور پتری‌ها پارافیلم کشیده شد. قارچ کشت شده در انکوباتور با دمای ۲۴ درجه سانتیگراد قرار گرفت و میزان رشد رویشی هاله قارچ به صورت روزانه و تا زمانی که سطح محیط کشت پتری‌های شاهد توسط قارچ به طور کامل اشغال شود اندازه گیری شد. محلول توئین ۲۰ به عنوان تیمار شاهد در نظر گرفته شد و در قالب طرح کاملاً تصادفی هر تیمار در ۳ تکرار مورد بررسی قرار گرفت. درصد بازدارندگی اسانس اسطوخودوس و متیل‌سالیسیلات با استفاده از فرمول ۱ و بر اساس روش اصغری مرجانلو و همکاران (۲) محاسبه شد:

$$IP=C - T/C\times100 \qquad (۱)$$

IP (Inhibitory Percentage) = درصد بازدارندگی

C (Check) = میانگین قطر هاله قارچ در تیمار شاهد

T (Treatment) = میانگین قطر هاله قارچ در تیمار اسانس اسطوخودوس و متیل سالیسیلات

آلوده سازی میوه‌ها با سوسپانسیون قارچ کپک خاکستری

زمان برداشت تجاری میوه‌های توت فرنگی مرحله‌ای است که ۸۰–۷۰ درصد رنگ قرمز گرفته باشند (۱۴) لذا میوه‌ها در این مرحله از یک مزرعه توت‌فرنگی در منطقه میشخاص شهرستان ایلام در ۲۵ اردیبهشت ماه ۱۳۹۲ برداشت و 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 به مدت ۳۰ ثانیه با استفاده از محلول هیپوکلریت سدیم با غلظت ۱۰۰ میکرولیتر در لیتر ضد عفونی شده و پس از آن دو بار با آب مقطر استریل شستشو داده شدند. از سوسپانسیون قارچ *Botrytis cinerea* خالص سازی شده برای آلوده سازی میوه‌ها استفاده شد. به وسیله‌ی لام گلبول شمار یا هموسایتومتر[1] غلظت سوسپانسیون در حدود 10^6 اسپور در هر میلی لیتر تنظیم شد. سپس برای آلوده سازی، میوه‌ها با سوسپانسیون قارچی به طور کامل اسپری شدند و به مدت ۲ ساعت در هوای معمولی روی فویل استریل قرار گرفتند تا قارچ روی میوه تثبیت شود (۲).

تیمار میوه‌ها با اسانس اسطوخودوس و متیل سالیسیلات

میوه‌های توت فرنگی پس از آلوده شدن با قارچ‌های عامل پوسیدگی در ظروف یکبار مصرف استریل حاوی اسانس اسطوخودوس (نگهداری شده در شیشه‌های تیره رنگ در دمای ۴ درجه سانتیگراد یخچال) به طور جداگانه در غلظت‌های صفر، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکرولیتر در لیترحل شده در محلول توئین۲۰ و متیل سالیسیلات در غلظت‌های صفر، ۱ /۰ و ۰/۲ میلی مولار به روش غوطه وری به مدت ۳۰ ثانیه تیمار شدند. برای هر تیمار ۳ تکرار و برای هر تکرار ۱۵ عدد میوه داخل ظرف یکبار مصرف استریل درب دار قرار داده شد. درب ظروف حاوی میوه به طور کامل بسته شد تا از نفوذ هوا به داخل ظرف و تبخیر اسانس اسطوخودوس و متیل سالیسیلات جلوگیری شود. سپس ظروف حاوی میوه‌های تیمار شده در انکوباتور با دمای۱ ± ۲ درجه سانتیگراد و رطوبت نسبی ۸۵–۹۰ درصد 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 به صورت ظاهری و با استفاده از درجه بندی به شرح زیر ارزیابی شد (۲):

(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. پی اچ آب میوه با استفاده از دستگاه پ اچ متر (مدل pH–200 L شرکت Istek ساخت کشور کره)، مواد جامد کل محلول (TSS) با استفاده از رفراکتومتر دستی (شرکت ATAGO و مدل ATC – 1E، واحد بریکس 32% – 0 ساخت کشور ژاپن) و اسیدیته قابل تیتراسیون (TA) با استفاده از روش تیتراسیون با سود ۰/۱ نرمال تا رسیدن به پی اچ ۸/۱ و ثبت میزان سود مصرفی اندازه-گیری شد. ویتامین ث (اسید آسکوربیک) با استفاده از روش تیتراسیون با محلول یدور پتاسیم و در حضور معرف نشاسته تعیین شد. بدین منظور ۵ میلی لیتر آب میوه با ۲۰ میلی لیتر آب مقطر و ۲ میلی لیتر نشاسته ۱ درصد مخلوط شده و سپس با محلول یدیدور پتاسیم تیتر گردید و پس از ثبت میزان یدیدور مصرفی، ویتامین ث بر اساس فرمول شماره ۲ محاسبه گردید (۱۷).

$$C=\frac{0.88\times V}{5}\times100 \qquad (۲)$$

در فرمول فوق C میزان ویتامین ث بر حسب میلی گرم در ۱۰۰ میلی لیتر آب میوه و V حجم یدیدور پتاسیم مصرفی بر حسب میلی لیتر می باشد.

اندازه گیری فعالیت آنتی اکسیدانی کل بر اساس روش مون و ترائو (۱۱) و از روی غیر فعال کردن رادیکال های آزاد تولید شده توسط ماده ۲،۲– دی فنیل–۱– پیکریل هیدرازیل و بی رنگ کردن آن صورت پذیرفت. بر این اساس ۱۰۰ میکرو لیتر از آب میوه تازه انار با ۹۰۰ میکرولیتر از بافر Tris-HCl (۱۰۰ میلی مولار، pH =۷/۴) مخلوط شده و ۱ میلی لیتر DPPH (۵۰۰ میکرو مولار) به آن اضافه گردید. محلول حاصل به طور کامل مخلوط و به مدت ۳۰ دقیقه به

1 - Haemocytometer

حال خود باقی گذاشته شد. پس از آن جذب محلول در طول موج ۵۱۷ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل Perkin Elmer Lambda EZ 201) اندازه گیری شد. نمونه شاهد در واقع دارای کلیه محتویات به جز آب میوه بود که به جای آب میوه از آب مقطر استفاده گردید. درصد فعالیت آنتی اکسیدانی (AA) بر اساس فرمول (۳) محاسبه گردید:

$$\%AA = (1 - \frac{A517(Sample)}{A517(Control)}) \times 100 \qquad (۳)$$

روش آماری

آزمایش در روی میوه به صورت 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 در ۳ سطح ۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکرولیتر در لیتر، فاکتور دوم غلظت متیل سالیسیلات در ۳ سطح ۰ ، ۰/۱ و ۰/۲ میلی مولار و فاکتور سوم دوره انبارمانی در ۳ سطح ۷، ۱۴و ۲۱ روز بود. مقایسه میانگین با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد انجام گردید. آزمایش در شرایط درون شیشه‌ای به صورت طرح کاملاً تصادفی با ۲ فاکتور متیل سالیسیلات در ۳ سطح ۰، ۰/۱ و ۰/۲ میلی مولار و اسانس اسطوخودوس در ۳ سطح ۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکرولیتر در لیتر در ۳ تکرار (هر تکرار شامل ۱ پتری دیش) انجام گردید.

نتایج

نتایج حاصل از بررسی اثر اسانس اسطوخودوس و متیل سالیسیلات بر رشد قارچ کپک خاکستری در شرایط درون شیشه‌ای نشان داد که غلظت‌های به کار رفته اسانس اسطوخودوس (۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکرولیتر در لیتر) و متیل‌سالیسیلات (۰/۱ و ۰/۲ میلی مولار) به طور قابل ملاحظه‌ای از رشد قارچ کپک خاکستری در روش اختلاط ترکیبات با محیط کشت جلوگیری کردند. اثر بازدارندگی تیمارها اختلاف معنی‌داری با شاهد (محلول توئین ۲۰) داشتند (جدول ۱).

پوسیدگی قارچی میوه در انبار

نتایج نشان داد که اثرات ساده تیمارهای اسانس اسطوخودوس و متیل سالیسیلات در مقایسه با شاهد رشد قارچ را به طور مؤثری در میوه‌های انبار شده کاهش دادند. کاربرد غلظت ۰/۱ میلی مولار متیل سالیسیلات مؤثرتر از غلظت ۰/۲ میلی مولار آن و غلظت ۱۰۰۰ میکرولیتر در لیتراسانس اسطوخودوس مؤثرتر از غلظت ۵۰۰ میکرولیتر در لیتر آن بود (جدول ۲). اثرات متقابل اسانس اسطوخودوس و متیل سالیسیلات و دوره انبارمانی حاکی از تأثیر مثبت و معنی دار تیمارها در کاهش پوسیدگی در هر سه دوره انبارمانی بود. با افزایش دوره انبارمانی درصد میوه‌های آلوده افزایش یافت (نمودار ۱ و ۲).

درصد کاهش وزن

با افزایش دوره انبارمانی درصد کاهش وزن میوه‌ها افزایش یافت. کمترین درصد کاهش وزن در ترکیب تیماری ۵۰۰ میکرولیتردر لیتر اسانس اسطوخودوس و ۰/۲ میلی مولار متیل سالیسیلات مشاهده گردید. مقایسه میانگین اثرات متقابل اسانس اسطوخودوس و متیل سالیسیلات بر این صفت نشان داد که استفاده از متیل سالیسیلات در غلظت صفر و ۱۰۰۰ میکرو لیتر در لیتر اسانس سبب کاهش میانگین این صفت نسبت به شاهد شد (جدول ۴).

جدول ۱- میزان بازدارندگی اسانس اسطوخودوس و متیل سالیسیلات در جلوگیری از رشد قارچ کپک خاکستری میوه توت‌فرنگی در شرایط درون شیشه‌ای

Table 1- Inhibition rate of Lavender essential oil and methyl salicylate on *Botrytis cinerea* growth at in vitro condition

Methyl salicylate (mM) متیل سالیسیلات (میلی مولار)	*Botrytis cinerea* (growth Inhibition rate) قارچ عامل کپک خاکستری (نرخ بازدارندگی رشد قارچ)	Lavender essential oil ($\mu l\ L^{-1}$) اسانس اسطوخودوس (میکرولیتر در لیتر)	*Botrytis cinerea* (growth Inhibition rate) قارچ عامل کپک خاکستری (نرخ بازدارندگی رشد قارچ)
0	0	0	0
0.1	75	500	68.75
0.2	89.62	1000	93.75

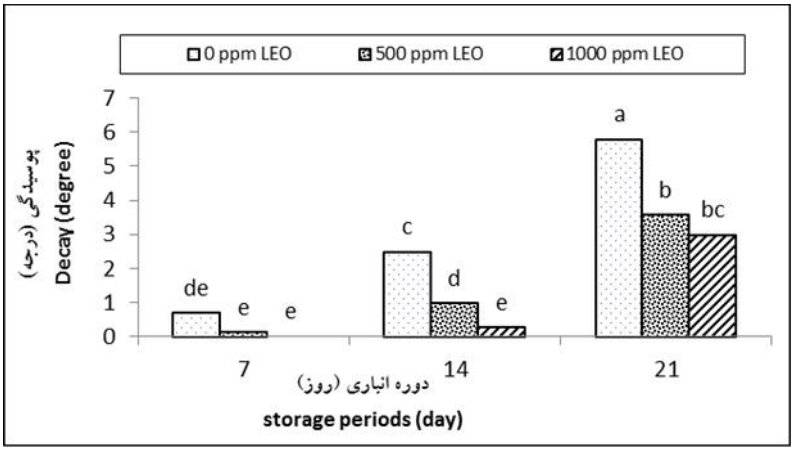
جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس صفات مورد بررسی در میوه توت فرنگی تلقیح شده با قارچ کپک خاکستری تحت تأثیر اسانس، متیل سالیسیلات، زمان و اثرات متقابل آنها

Table 2- ANOVA of Lavender essential oil, Methyl salicylate, storage time and their interaction effects on evaluated parameters of strawberry cv. Selva inoculated with *Botrytis cinerea*

منابع تغییرات Source of variation	درجه آزادی df	شاخص طعم TA/TSS	مواد جامد محلول TSS	پی اچ pH	اسیدیته قابل تیتراسیون TA	کاهش وزن Weight loss	میزان پوسیدگی Decay	ویتامین ث Vitamin C	فعالیت آنتی اکسیدانی Antioxidant Activity
Essential oil (EO) اسانس اسطوخودوس	2	7.53**	1.97**	0.004^{ns}	0.036**	0.12**	26.85**	48.65**	40.35**
Methyl salicylate (MeSA) متیل سالیسیلات	2	12.71**	0.16^{ns}	0.00003^{ns}	0.008**	1.53**	4.12**	93.28**	1.41^{ns}
Storage time (T) زمان انبارمانی	2	65.51**	1.51**	0.17**	0.037**	10.07**	1.7**	806**	667**
EO×MeSA	4	7.46**	0.98**	0.0005^{ns}	0.012**	0.48**	8.6**	40.62**	21.44**
EO×T	4	3.21^{ns}	0.3*	0.0003^{ns}	0.0012^{ns}	0.04**	2.95**	2.03^{ns}	0.45^{ns}
MeSA×T	4	2.07^{ns}	0.08^{ns}	0.002^{ns}	0.001^{ns}	0.21**	0.27**	1.02^{ns}	0.45^{ns}
EO×MeSA×T	8	2.07^{ns}	0.19^{ns}	0.002^{ns}	0.002^{ns}	0.05**	0.83**	1.33^{ns}	0.48^{ns}
C.V ضریب تغییرات		10.02	6.61	3.71	8.45	8.48	11.81	6.65	4.33

ns، * و ** به ترتیب فاقد تفاوت معنی‌دار و دارای تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ و ۱ درصد

* and ** show being significant at p<0.05 and p< 0.01, respectively, ns means no significant



نمودار ۱- اثر متقابل اسانس اسطوخودوس (LEO) و دوره انبارمانی بر میزان پوسیدگی میوه توت‌فرنگی تلقیح شده با قارچ کپک خاکستری (میانگین‌هایی که در هر ستون دارای حروف مشترک هستند، بر اساس آزمون دانکن اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد ندارند)

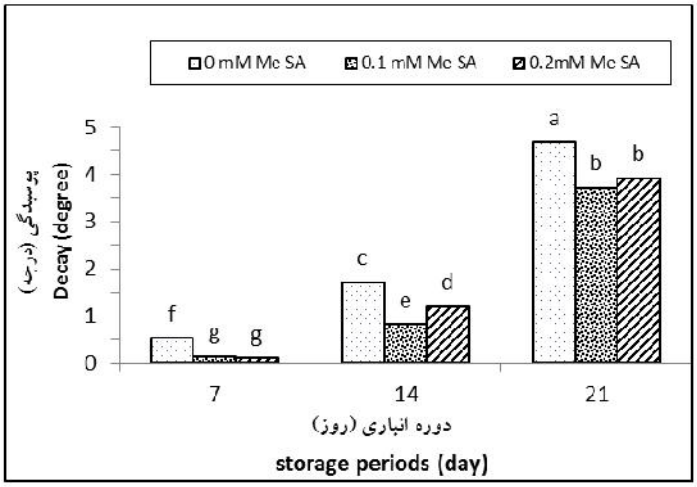
Figure 1- Interaction effects of Lavender essential oil (LEO) and storage time on decay rate of strawberry fruits inoculated with *Botrytis cinerea*

اسید قابل تیتراسیون (TA)

تیمار با اسانس اسطوخودوس و متیل سالیسیلات اثر معنی داری در سطح یک درصد روی TA داشت. اسید قابل تیتراسیون میوه‌های تیمار شده با اسانس اسطوخودوس در غلظت‌های ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکرولیتر در لیتر و متیل سالیسیلات در غلظت ۰/۲ میلی مولار بیشتر از میوه‌های شاهد بود. با افزایش دوره انبارمانی میزان اسید قابل تیتراسیون افزایش یافت (جدول ۳).

کل مواد جامد محلول (TSS)

اثر متقابل اسانس اسطوخودوس و متیل سالیسیلات بر مواد جامد محلول در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود. تیمارهای شاهد و ۰/۱ میلی مولار متیل سالیسیلات با کمترین میزان TSS، با تیمارهای اسانس اسطوخودوس با بیشترین میزان TSS اختلاف معنی داری داشتند. با پیشرفت دوره انبارمانی میزان کل مواد جامد محلول میوه‌ها کاهش یافت (جدول ۳).



نمودار ۲- اثر متقابل متیل سالیسیلات و دوره انبارمانی بر میزان پوسیدگی میوه توت فرنگی تلقیح شده با اسپور قارچ کپک خاکستری (میانگین-هایی که در هر ستون دارای حروف مشترک هستند، بر اساس آزمون دانکن اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد ندارند)

Figure 2- Interaction effects of methyl salicylate (MeSA) and storage time on decay rate of strawberry fruits inoculated with *Botrytis cinerea*

شاخص طعم (TSS/TA)

بیشترین شاخص طعم در تیمار۵۰۰ میکرولیتر در لیتر اسانس اسطوخودوس به دست آمد. متیل سالیسیلات در غلظت‌های بکار رفته شاخص طعم را نسبت به شاهد کاهش داد (جدول ۳).

فعالیت آنتی اکسیدانی

اثر تیمارها با اسانس اسطوخودوس بر فعالیت آنتی اکسیدانی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. بیشترین میزان فعالیت آنتی اکسیدانی مربوط به هر دو غلظت اسانس اسطوخودوس بود. با پیشرفت دوره انبارمانی بر میزان این صفت افزوده شد. مقایسه میانگین اثرات متقابل اسانس اسطوخودوس و متیل سالیسیلات بر این صفت نشان داد که استفاده از متیل سالیسیلات در غلظت ۰/۱ میلی مولار و ۵۰۰ میکرولیتر در لیتر اسانس اسطوخودوس سبب افزایش میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی میوه‌ها نسبت به شاهد گردید (جدول ۴).

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 at cold storage

اسانس (میکرولیتر در لیتر) Essential oil (µL/L)	شاخص‌های کیفی Qualitative parameters			
	پی اچ pH	اسیدیته قابل تیتراسیون TA	مواد جامد محلول TSS	شاخص طعم TSS/TA
0	2.94 [a]	0.37 [b]	4.78 [c]	12.98 [ab]
500	2.93 [a]	0.38 [b]	4.97 [b]	13.34 [a]
1000	2.94 [a]	0.44 [a]	5.32 [a]	12.30 [b]
متیل سالیسیلات (میلی مولار) Methyl salicylate (mM)				
0	2.94 [a]	0.38 [b]	5.01 [a]	13.30 [a]
0.1	2.93 [a]	0.41 [a]	4.95 [a]	12.08 [b]
0.2	2.93 [a]	0.39 [b]	5.11 [a]	13.24 [a]

میانگین‌هایی که در هر ستون دارای حروف مشترک هستند، بر اساس آزمون دانکن اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد ندارند

Means, in each column, followed by similar letter (s) are not significantly different at $p<0.05$

ویتامین ث

بیشترین میزان ویتامین ث در تیمار ۵۰۰ میکرولیتر در لیتر اسانس اسطوخودوس مشاهده شد و غلظت ۱۰۰۰ میکرولیتر در لیتر تأثیر معنی داری بر این صفت نداشت. استفاده از متیل سالیسیلات در هر دو غلظت سبب افزایش معنی‌دار ویتامین ث نسبت به شاهد گردید. با افزایش دوره انبارمانی میزان ویتامین ث کاهش پیدا کرد (جدول ۴).

جدول ٤- اثر اسانس اسطوخودوس و متیل سالیسیلات بر میزان پوسیدگی، درصد کاهش وزن، ویتامین C و فعالیت آنتی‌اکسیدانی توت فرنگی 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

اسانس (میکرولیتر در لیتر) Essential oil (µL/L)	شاخص‌ها Parameters: فعالیت آنتی اکسیدانی (درصد) Antioxidant activity (%)	ویتامین ث (میلی گرم در ۱۰۰ گرم وزن تر) Vitamin C (mg/100 g FW)	کاهش وزن (درصد) Weight loss (%)	پوسیدگی (درجه) Decay (degree)
0	24.82 c	40 b	1.17 a	2.98 a
500	26.54 b	42 a	1.07 b	1.54 b
1000	27.19 a	40 b	1.20 a	1.08 c
متیل سالیسیلات (میلی مولار) Methyl salicylate (mM)				
0	26.41 a	39 b	1.41 a	2.31 a
0.1	26.19 a	42 a	1.06 b	1.56 c
0.2	25.95 a	41 a	0.96 c	1.74 b

میانگین‌هایی که در هر ستون دارای حروف مشترک هستند، بر اساس آزمون دانکن اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد ندارند

Means, in each column, followed by similar letter (s) are not significantly different at $p<0.05$

بحث

اسانس اسطوخودوس بطور متوسط حاوی ۴۹/۲ درصد لینالول[1] و ۱۲/۳ درصد لاواندولیل استات[2] می‌باشد که یک ترپنوئید با ساختار الکلی بوده و فعالیت ضد قارچی بالایی در برابر قارچ کپک خاکستری دارد (۱۴). اثر اسانس اسطوخودوس در غلظت‌های ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکرولیتر بر لیتر درکاهش میزان پوسیدگی قارچی دلیل بر این مدعاست که با یافته‌های رنجبر و همکاران (۱۴) همخوانی دارد. نتایج این آزمایش نشان داد میوه‌های تیمار شده با اسانس اسطوخودوس در مقایسه با شاهد میزان پوسیدگی پائین‌تری داشتند (جدول ۴) که با نتایج مسکوکی و همکاران (۱۰) نیز مطابقت دارد. به طور کلی فعالیت سمیت سلولی اسانس عمدتاً به دلیل حضور فنول‌ها، آلدئیدها و الکل-هاست. اسانس ها در سلول‌های یوکاریوتی می‌توانند قطب زدایی غشاهای میتوکندری را بوسیله کاهش پتانسیل غشا و تأثیر بر چرخه یونی کلسیم و دیگر کانال‌های یونی و شیب پی‌اچ تحریک کنند. اسانس‌ها سیالیت غشاها را تغییر می‌دهند به طوری که غشا بطور غیر طبیعی نفوذپذیر شده و منجر به نشت رادیکال‌ها، سیتوکروم c، یون-های کلسیم و پروتئین‌ها گردیده و در نهایت باعث تنش اکسیداتیو می شود (۳). لذا اسانس‌های گیاهی مانند اسانس گیاه اسطوخودوس ممکن است در حال حاضر با عوامل کنترل بیماری (قارچ‌کش‌های شیمیایی) جایگزین شود چرا که ترکیبات اسانس‌ها منبع غنی از مواد شیمیایی فعال زیستی هستند و می‌توانند به عنوان رده‌ی جدیدی از قارچ‌کش‌های تجاری و ایمن توسعه یابند.

متیل سالیسیلات نیز به عنوان 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 تحقیق هم مفید واقع گردید. متیل سالیسیلات یک مولکول سیگنالی در گیاهان می‌باشد که به عنوان یک شبه هورمون گیاهی نقش بسیار مهمی در تنظیم پاسخ‌های تنشی و رشد و نمو گیاهان بازی می‌کند. این ترکیب باعث کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی کاتالاز (CAT) و آسکوربات پراکسیداز (APX) در میوه شده و به دنبال آن افزایش تجمع مولکول‌های پراکسید هیدروژن (H_2O_2) صورت می-گیرد. بالا رفتن غلظت پراکسید هیدروژن می‌تواند به عنوان پیام بر ثانویه در فعال سازی پروتئین‌هایی با وزن مولکولی کم مرتبط با بیماری زایی[3] عمل نموده و از طریق افزایش بیان و فعالیت آنزیم‌های دفاعی گیاه مانند کیتیناز، گلوکوناز و فنیل آلانین آمونیالیاز[4] سبب بالا

1 - Linalool
2 - Lavandulyl acetate
3 - Pathogen related proteins (PR proteins)
4 - Phenylalanine amonialyase (PAL)

رفتن مقاومت گیاه در مقابل عوامل بیماریزا گردد که به این مقاومت، مقاومت اکتسابی سیستمیک گفته می‌شود (۱۲). دینگ و همکاران (۵) گزارش کردند قرار گرفتن میوه‌های گوجه‌فرنگی در معرض بخار متیل سالیسیلات از وقوع پوسیدگی‌های قارچی و سرمازدگی جلوگیری می‌کند. در تحقیق حاضر با افزایش دوره انبارمانی میزان کاهش وزن میوه هم به طور قابل ملاحظه‌ای افزایش یافت.

کاهش وزن پس از برداشت محصولات نیز از عوامل کاهش کیفیت است که معمولاً در اثر کاهش آب محصول با تعرق رخ می‌دهد. این کاهش وزن می‌تواند سبب پژمردگی و پلاسیدگی شود که میزان بازار پسندی و مقبولیت مصرف کننده 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 و متیل سالیسیلات در این تحقیق سبب کم کردن کاهش وزن نسبت به شاهد شدند. همچنین مشخص گردید که غلظت بالای اسانس اسطوخودوس باعث افزایش درصد کاهش وزن شد. این نتایج با یافته‌های اصغری مرجانلو و همکاران (۲) که گزارش کردند غلظت بالای اسانس ریحان باعث افزایش درصد کاهش وزن میوه توت فرنگی می‌شود مطابقت دارد. شاید غلظت بالای اسانس به عنوان یک عامل تنش‌زا سبب افزایش فعالیت‌های حیاتی سلول شده و مواد غذایی ذخیره میوه را به مصرف برساند. در تحقیق قبلی (۱۶) نیز مشاهده کردیم بخار دهی میوه‌های انار با متیل‌سالیسیلات سبب کاهش معنی‌دار درصد کاهش وزن در طول دوره انبارمانی می شود.

هم اسانس اسطوخودوس و هم متیل‌سالیسیلات به طور مؤثری سبب کاهش پوسیدگی ناشی از قارچی کپک خاکستری در دوره‌های ۷، ۱۴ و ۲۱ روز انبارمانی شدند که تأثیر اسانس اسطوخودوس بیشتر از متیل‌سالیسیلات بود. به علاوه این مواد طبیعی آثار سوء بر روی کیفیت میوه نداشتند و در اکثر موارد باعث حفظ کیفیت از جمله افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی، ویتامین C، مواد جامد کل محلول، اسیدیته قابل تیتراسیون، شاخص طعم و جلوگیری از کاهش وزن میوه در طول انبارداری شدند. مشابه این نتایج را مسکوکی و موتضوی (۱۰) در گلابی گزارش کردند که اسانس‌های آویشن و زنیان علاوه بر کنترل رشد قارچ *Aspergillos parasiticus* در سردخانه، باعث بهبود طعم میوه نیز شدند. کاربرد اسانس‌های گیاهی رازیانه، زنیان، پونه و دارچین نیز علاوه بر افزایش دوره انبارمانی میوه‌ها اثر مثبتی بر روی فاکتورهای کیفی پس از برداشت میوه داشتند (۱).

با افزایش دوره انبارمانی فعالیت آنتی‌اکسیدانی افزایش یافت که با یافته‌های سیاری و همکاران (۱۶) مطابقت داشت که گزارش کردند آنتی‌اکسیدان‌های محلول در آب میوه انار در طول دوره انبارداری روند افزایشی داشتند. میزان ویتامین ث محصولات باغی که جزء آنتی اکسیدان‌های مهم است در طول دوره پس از برداشت کاهش پیدا می‌کند که در تحقیق حاضر نیز این اتفاق افتاد اما اثر تیمارها در کاهش روند زوال ویتامین ث چشمگیر بود (جدول ۴) . تیمار میوه‌های کیوی با متیل‌سالیسیلات نیز سبب شد میزان ویتامین C در میوه‌های تیمار شده نیز مانند میوه‌های شاهد در طول دوره انبارمانی کاهش پیدا کند ولی سرعت این کاهش کندتر بوده و میوه‌های تیمار شده در پایان دوره انبارمانی میزان ویتامین ث بیشتری داشتند (۹) که نتایج آن مشابه یافته‌های این تحقیق بود. لذا جلوگیری از زوال مواد آنتی اکسیدانی مهم از جمله ویتامین ث توسط تیمارهای بکار برده شده بسیار ارزشمند خواهد بود که شاید به دلیل کند نمودن متابولیسم درونی بافت میوه این اتفاق بیافتد. داده‌های این پژوهش نشان داد با افزایش زمان انبارمانی اکثر صفات کیفی کاهش پیدا می‌کند که نشان دهنده حساس بودن میوه توت‌فرنگی به انبارمانی طولانی می باشد.

به طور 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 انبارمانی توصیه می‌شود. البته می‌بایست تحقیقات زیادی انجام شود تا امکان استفاده از اسانس‌های گیاهی و متیل‌سالیسیلات در فرمولاسیون‌های مناسب برای هر کدام از محصولات فراهم شود. چرا که استفاده از ترکیبات طبیعی مانند اسانس‌های گیاهی و متیل-سالیسیلات، از جمله روش‌های سالم و بی‌خطر برای کنترل بیماری-های پس از برداشت محصولات می‌باشد.

منابع

1- Aras G., and Usai M. 2001. Fungitoxic activity of 12 essential oils against four postharvest citrus pathogen: chemical analysis of *Thymus capitatus* oil and its effect in sub-atmospheric pressure conditions. Food Protection, 64:1009-1025.

2- Asgharimarjanlo A., Mostofi Y., Shoaib S.H., and Moghavemi M. 2008. Effect of Basil essential oil on gray mold control and postharvest quality of strawberry. Journal of Medicinal Plants, 28: 131 – 139. (In Persian with English abstract).

3- 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 *Ocotea quixos* (lam) kosterm. (lauraceae) flower calkes. Food Chemistry, 85: 415- 421.

4- Chebli B., Hmamouchi M., Achouri M., and Idrissi-Hassani L.M. 2004. Composition and in vitro fungi toxic activity of 19 essential oils against two post-harvest pathogens. Journal of Essential oil Research, 16:507-511.

5- Ding C.K., Wang C.Y., Gross K.C., and Smith D.L. 2002. Jasmonate and salicylate induce the expression of

pathogensis-related-protein genes and increase resistance to chilling injury in tomato fruits. Planta, 214:895-901.
6- Dris R., Nishkanen R., and Jain S.M. 2001. Crop management and postharvest handling of horticultural product. Science Publishers, 1:363-370.
7- Elad Y., Gulliono M.L., Shtienbery D., and Aloli C. 1995. Managing *Botrytis cinerea* on tomatoes in greenhouses in the Mediterranean. Crop Protection, 14:105-109.
8- 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: 239-251.
9- 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.
10- Maskoki A., and Mortazavi S.A. 2004. Effect of carum copticom and thyme essential oils on *Aspergillus parasiticus* fungi growth control on pear in cold storage. Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources, 8:207- 215. (In Persian with English abstract).
11- 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.
12- Nishikawa F., Kato M., Hyodo H., Ikoma Y., Sugiura M., and Yano M. 2003. Ascorbate metabolism in harvested broccoli. Journal of Experimental botany, 54: 2439-2448.
13- Payghamiashnai S., Farzaneh M., Hadian J., Sharifitehrani A., and Ghorbanpor M. 2007. Study effect of some plant essential oil on gray mold control in apple. Journal of Research Agricultural water, soil and plant in Agriculture, 3:1–10. (In Persian with English abstract).
14- Ranjbar H., Farzaneh H., Hadian J., Mirjalili M.H., and Sharifi R. 2008. Antifungal effects of some plant essential oils on postharvest diseases in strawberry fruit. Journal of Research and Reconstruction in Agriculture and Horticulture, 81:54–60. (In Persian with English abstract).
15- 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: 1515-1520.
16- Sayyari M., Babalar M., Kalantari S., Martinez-Romero D., Guillen F., and Valero D. 2011. Vapor treatment with methyl salicylic or methyl jasmonate alleviated chilling injury and enhanced antioxidant potential during postharvest storage of pomegranates. Food Chemistry, 124: 964-970.
17- Shafie M. 2007. Effect of salicylic acid and some postharvest treatments on fruit quality of strawberry. MSc thesis. Tehran University. *Tehran.* (In Persian with English abstract).
18- Staub T. 1991. Fungicide resistance; practical experience with anti resistance strategies and role of integrated use. Annual Review of Phytopathology, 29:421-442.
19- 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.
20- Yaoa 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 Technology, 35:253-262.