

اثر عصاره انار در کنترل پوسیدگی ناشی از کپک سبز (*Penicillium digitatum*) و کپک آبی (*P. italicum*) در نارنگی

فاطمه گیوی^۱ و مهدیه غلامی^{۲*}

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۸/۱۶؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۲/۹)

چکیده

تمایل جهان به سمت استفاده کمتر از آفت‌کش‌های مصنوعی در کشاورزی و به‌ویژه پس از برداشت است. در حال حاضر علاقه رو به رشدی در استفاده از ترکیبات ضدقارچی طبیعی مانند عصاره گیاهان برای حفاظت از مواد غذایی وجود دارد. به‌منظور توسعه تولید قارچ‌کش‌هایی با منشأ طبیعی، این مطالعه فعالیت ضدقارچی عصاره پوست انار (*Punica granatum* L.) رقم شیرین شهوار در برابر نارنگی ساتسوما با دو متغیر غلظت‌های عصاره الکلی (صفر، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد حجمی) و در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار روی میوه آلودگی) انجام شد. میوه‌ها از چهار طرف با سوراخی به قطر و عمق یک و دو میلی‌متر زخمی شدند. تیمارکنترل با غوطه‌وری میوه‌ها در غلظت‌های مشخص از عصاره و سپس با ۲۰ میکرولیتر سوسپانسیون اسپور قارچ با غلظت ۱۰^۶ اسپور در هر میلی‌لیتر آب هر یک از کپک‌های سبز و آبی تلقیح انجام شد. در تیمار درمان پس از تلقیح با اسپور قارچ به همان میزان که در بالا اشاره شد، غوطه‌وری در غلظت‌های مشخص از عصاره انجام گرفت. نتایج نشان داد که عصاره ۷۵ و ۱۰۰ درصد روی نارنگی ساتسوما اثر ضد میکروبی داشت و باعث کاهش قطر مسیلیوم و اسپور، شدت پوسیدگی و شاخص آلودگی و افزایش زمان اسپوردهی شد که می‌تواند به‌دلیل غلظت بالای ترکیبات فنولی در عصاره خالص پوست انار باشد. تیمار عصاره ۱۰۰ درصد به‌طور معنی‌دار درصد میوه‌های سالم را در هر دو آزمایش کنترل و درمان کپک آبی و کپک سبز افزایش و درصد کاهش وزن را کاهش داد. نتایج به‌دست آمده نشان داد که عصاره انار می‌تواند برای کنترل و درمان مؤثر پوسیدگی ناشی از کپک سبز و آبی در نارنگی پیشنهاد شود.

واژه‌های کلیدی: ترکیبات شیمیایی فعال، تنش زنده، قارچ‌کش، مرکبات

۱ و ۲. به‌ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد و استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

*: مسئول مکاتبات: پست الکترونیکی: mah.gholami@cc.iut.ac.ir

مقدمه

آلودگی میوه به وسیله میکروارگانیسم‌های مختلف به سرعت صورت می‌گیرد و طبق برآوردهای انجام شده، میزان ضایعات مرکبات در اثر آلودگی میکروبی بین ۲۸ تا ۳۱ درصد تخمین زده می‌شود (۷). استفاده از قارچ‌کش‌ها و سموم شیمیایی مرسوم‌ترین روش برای کنترل قارچ‌ها است، اما نکته مهم در این زمینه ویژگی تجمع پذیری این مواد در سلول‌های بدن مصرف‌کنندگان، دوره کارنس بالا و همچنین زیان‌های بی‌شمار زیست‌محیطی این ترکیب‌های مصنوعی است که استفاده بی‌رویه آنها را با تردید همراه کرده است (۲۵). وارما و دویی (۲۶) ایجاد نژادهای مقاوم از عوامل بیماری‌زا را از دیگر معضله‌های مهم استفاده از این سموم برشمردند. از این رو، طی دو دهه اخیر به کاربرد برخی ترکیب‌های طبیعی مانند عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی برای کنترل بیولوژیک عوامل بیماری‌زا توجه شده است.

پرورش مرکبات که از جمله درختان مناطق گرمسیری و نیمه‌گرمسیری هستند، از گذشته‌های دور مورد توجه و علاقه بوده است. امروزه تولید مرکبات در دنیا از جنبه‌های اقتصادی، اشتغال‌زایی، تجارت و همچنین تأمین ویتامین‌های مورد نیاز انسان و حتی از جنبه‌های دارویی اهمیت بسزایی دارد (۱). با توجه به pH پایین، رطوبت بالا و مواد غذایی موجود، مرکبات مستعد بیماری‌های قارچی و باکتریایی طی دوره برداشت تا زمان مصرف هستند (۱۲). بیماری‌های پس از برداشت، بیماری‌هایی هستند که در طی دوره‌های برداشت، درجه‌بندی، بسته‌بندی، انبارداری و حمل‌ونقل محصول به وجود می‌آیند و حتی در دمای معمولی اتاق و یا دمای سرد یخچال تا زمان مصرف محصول به گسترش خود ادامه می‌دهند. قارچ‌های جنس‌های *Penicillium*، *Rhizopus*، *Aspergillus*، *Botrytis* بیشتر بیماری‌های پس از برداشت را ایجاد می‌کنند. قارچ‌هایی که بعد از برداشت به میوه‌ها خسارت می‌زنند حتی در مناطقی که انبارهای پیشرفته با فناوری بالا دارند، خسارت‌زا هستند (۳). عصاره‌های گیاهی پتانسیل تبدیل شدن به قارچ‌کش‌ها و

آفت‌کش‌های طبیعی را دارند و می‌توان با موفقیت در برنامه‌های مدیریت تلفیقی از آنها استفاده کرد. عصاره‌های گیاهی از سه جنبه مهم هستند: منشأ طبیعی و دارای ایمنی بیشتر برای مصرف‌کنندگان و محیط زیست هستند، خطر کمتری در توسعه قارچ‌های بیماری‌زا دارند و سوم اینکه این ترکیبات یک منبع غنی دارای پتانسیل فعال زیستی هستند (۱۲). گزارش شده است که عصاره پوست دارچین دارای فعالیت ضدقارچی و فعالیت آن مربوط به حضور سینامالدئید و ایثونول در عصاره دارچین است (۱۰). اثرات ضدقارچی قوی از عصاره به دست آمده از آویشن گزارش شده است (۱۵). عصاره برگ پاپایا و سیب کاستارد در کاهش بیماری‌های پس از برداشت انبه (مانند *Colletotrichum gloeosporioides* و *stolonifer Rhizopus*) اثرات مطلوبی گذاشته است (۵).

حدود ۲۶ تا ۳۰ درصد وزن انار را پوست آن تشکیل می‌دهد، پوست انار حاوی ترکیبات فنولیکی و فلاونوئیدهایی مانند آنتوسیانین، کاتچین و تانن‌های قابل هیدرولیز مانند پونیکالین، پداکولازین، پونیکالازین، گالیک اسید و الازیک اسید است (۱۲). انار با داشتن ترکیبات پکتینی، آسکوربیک اسید، تانن‌ها، آنتوسیانین‌ها و فلاونوئیدها اثرات آنتی‌اکسیدانی بالایی را نشان داده است (۱۸). در مورد ترکیب‌های فنولیک پوست انار و به ویژه پونیکالاجین گزارش‌هایی وجود دارد که بیانگر خاصیت ضد میکروبی آن در برابر قارچ *Candida albicans* است (۲۵). در پژوهشی که توسط اندو و همکاران (۶) انجام گرفت استفاده از عصاره پوست انار فعالیت ضد قارچی قوی در برابر گونه‌های قارچ *Candida* را نشان داد. سوپایانگ و همکاران (۲۳) عصاره الکلی پوست انار را دارای خاصیت ضد میکروبی قوی در برابر باکتری *Escherichia coli* برشمردند و مهم‌ترین محتویات این عصاره را شامل فلاونوئیدها، استرول‌ها، تری‌ترین‌ها، فنل‌ها و تانن‌ها دانستند. گرچه فعالیت ضد قارچی عصاره پوست انار در خصوص مقابله با کپک سبز و آبی در نارنگی گزارش نشده است، تایل و همکاران (۲۴) گزارش کردند که غوطه‌وری میوه لیمو در عصاره پوست انار سبب کنترل پوسیدگی ناشی از کپک

یک بار مصرف ۹ سانتی متری ریخته شد. پس از خنک شدن محیط کشت با استفاده از دیسک‌هایی از کپک سبز و آبی کشت قارچ صورت گرفت و به مدت ۷ تا ۱۰ روز در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد در انکوباتور نگهداری شد تا ریشه‌های قارچ سطح محیط کشت را بپوشانند و کپک‌ها شروع به اسپوردهی کنند (۱۱).

برای شمارش اسپورها از لام هموسیتومتر استفاده شد. این لام شیشه‌ای سنگین دو کانال عرضی H شکل داشت که در وسط آن پس از قرارگیری لامل منطقه‌ای به عمق ۱/۰ میلی‌متر به وجود می‌آمد. این منطقه با خطوط پوشیده شده توسط یک فلز خاص شبکه‌بندی شده بود. خطوط مذکور قسمت مرکزی لام را به مجموعه‌ای از مربع تقسیم کردند. چهار نقطه از مربع مرکزی متشکل از ۱۶ مربع کوچک‌تر استفاده و تعداد اسپورها از فرمول زیر محاسبه شد (۲۰).

$$\text{میلی متر مکعب} \times 1000 / (50 \times \text{تعداد مربع‌ها} \times \text{اسپورهای شمارش شده}) = \text{میلی لیتر/تعداد اسپورها} \quad (1)$$

اعمال تیمارها

به منظور تهیه سوسپانسیون قارچ با غلظت ۱۰۶ اسپور در هر میلی‌لیتر، یک میلی‌لیتر آب مقطر استریل روی پتری دیش حاوی قارچ که ۱۰ روز از کشت آن گذشته و به میزان کافی اسپور داده بود، اضافه شد. سپس یک قطره توئین ۲۰ درون آن ریخته و تکان داده شد. سپس ۱۰ میکرو لیتر از آن روی لام هموسیتومتر ریخته و زیر میکروسکوپ مشاهده و شمارش شد (۱۸).

پس از شستشو و ضدعفونی میوه‌ها با هیپوکلریت دو درصد به مدت دو دقیقه و اندازه‌گیری وزن اولیه، با استفاده از روش شمارش اسپور سوسپانسیونی با غلظت ۱۰۶ از هر یک از کپک‌های سبز و آبی تهیه شد (۱۵ و ۱۸). پس از ایجاد یک سوراخ (۲×۱ میلی‌متر) (۱۱ و ۱۸) در چهار طرف هر یک از میوه‌ها مایه‌زنی قارچ (۲۰ میکرو لیتر در هر زخم) صورت گرفت (۱۶). آزمایش اول با هدف پیشگیری از آلودگی صورت

سبز در آن شد. مهار رشد و جوانه‌زنی اسپور کپک سبز با استفاده از اسانس پونه کوهی و آویشن با غلظت ۲۵۰ میکرو لیتر در شرایط درون‌شیشه‌ای در مرکبات توسط پلازا و همکاران (۱۵) گزارش شده است ولی به صورت برون‌شیشه‌ای مطالعه نشد.

هدف از این پژوهش کنترل پوسیدگی ناشی از کپک سبز *Penicillium digitatum* و کپک آبی *P. italicum* در نارنگی با استفاده از عصاره پوست انار به عنوان ترکیبی زیست‌تخریب‌پذیر و بدون استفاده از قارچ‌کش‌های شیمیایی است.

مواد و روش‌ها

تهیه و آماده‌سازی میوه نارنگی ساتسوما

میوه‌های سالم، رسیده، متوسط و یک‌شکل نارنگی ساتسوما خریداری شدند، پس از شستشو با آب معمولی با محلول دو درصد هیپوکلریت سدیم به مدت دو دقیقه ضدعفونی و در پایان با آب مقطر شسته شدند و دو ساعت در آزمایشگاه قرار گرفتند تا کاملاً خشک شوند.

تهیه عصاره پوست انار

پوست انار رقم شیرین شهوار جدا و طی ۴۸ ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد در آن خشک و سپس پودر شد. مقدار ۲۵ گرم از پودر پوست انار با یک لیتر اتانول ۶۰ درصد و یک گرم اسید سیتریک مخلوط، به مدت پنج ساعت روی شیکر با دور ۴۰۰ قرار داده شد. سپس از کاغذ صافی شماره یک عبور داده و محلول در شیشه تیره در بسته در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد در فریزر تا زمان استفاده نگهداری شد (۲).

تهیه قارچ پنی سیلیوم و شمارش اسپور

سویه‌های *P. digitatum* کد IRAN ۱۰۳۷C و *P. italicum* کد IRAN ۱۰۵۰C از مرکز تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور اهدایی خانم دکتر بیتا عسکری تهیه شد. محیط کشت PDA (۳۹ گرم در لیتر) تهیه و ضدعفونی شده در پتری دیش‌های

بررسی و زمان شروع به اسپوردهی در محل زخم‌ها یادداشت شد. درصد میوه‌های سالم با شمارش میوه‌های بدون هیچ‌گونه آلودگی نسبت به کل میوه‌های آزمایش شده محاسبه شد. شدت پوسیدگی (Decay severity) با توجه به مقیاس تجربی با شش درجه: ۰: میوه‌های سالم؛ ۱: آلودگی ۱ تا ۲۰ درصدی سطح میوه؛ ۲: آلودگی ۲۱ تا ۴۰ درصدی سطح میوه؛ ۳: آلودگی ۴۱ تا ۶۰ درصدی سطح میوه؛ ۴: آلودگی ۶۱ تا ۸۰ درصدی سطح میوه و ۵: آلودگی بیشتر از ۸۰ درصد سطح میوه ارزیابی شد (۸). شاخص آلودگی (Infection index) یا شاخص مک‌کاینی (McKinney index) که هر دو پارامتر وقوع (Incidence) و شدت پوسیدگی را در هم ادغام می‌کند، از فرمول زیر محاسبه شد:

$$I = \left[\sum \left(\frac{(d \times f)}{(N \times D)} \right) \right] \times 100 \quad (3)$$

که در آن، d ، گروه مربوط به شدت پوسیدگی است که روی میوه انجام شده و f ، فراوانی آن است. N ، تعداد کل میوه‌های آزمایش شده (سالم و آلوده) و D ، بالاترین گروه‌بندی شدت پوسیدگی است که در مقیاس تجربی به ثبت رسیده است (۸).

تجزیه آماری

به منظور بررسی اثرات معنی‌دار تیمارها از نرم‌افزار SAS (۹/۲) و همچنین به منظور رسم نمودار و محاسبات آماری از نرم‌افزار اکسل (۲۰۱۳) استفاده شد. داده‌هایی که به صورت درصد نمایش داده شدند تبدیل زاویه‌ای و سپس تجزیه شدند. مقایسه میانگین‌ها به وسیله آزمون دانکن و در سطح احتمال پنج درصد انجام شد.

نتایج و بحث

درصد کاهش وزن و مواد جامد محلول نارنگی آلوده

اثر تیمار عصاره در سطح احتمال پنج درصد روی کاهش وزن نارنگی‌های آلوده به کپک آبی و سبز معنی‌دار بود. ولی اثر زمان کاربرد و برهم‌کنش این دو اثر معنی‌داری نشان نداد (جدول ۱ و ۲). مشاهدات نشان داد در کاربرد قبل از آلودگی (آزمایش

گرفت به همین دلیل ابتدا میوه‌های زخم زده شده در غلظت‌های مشخص از عصاره پوست انار به مدت یک دقیقه غوطه‌ور شدند و سپس با استفاده از سوسپانسیون ۱۰۶ اسپور در هر میلی‌لیتر، زخم‌ها به اسپور قارچ آلوده شدند (۱۶). ولی در آزمایش دوم که به منظور درمان انجام شد، ۲۴ ساعت پس از تلقیح زخم‌ها با اسپور قارچ، میوه‌ها به مدت یک دقیقه در غلظت‌های مشخص از عصاره غوطه‌ور شدند. در هر دو حالت، میوه‌ها پس از دریافت تیمارهای مورد نظر، بسته‌بندی و به مدت هفت روز در دمای اتاق و رطوبت نسبی ۹۰ درصد نگهداری شدند (۲۴). هفت روز پس از تلقیح اسپور قارچ به نارنگی‌ها، درصد زخم‌های آلوده و قطر ناحیه لهیده، ناحیه دارای مسلیوم و رنگی (دارای اسپور) اندازه‌گیری شد. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با شش تیمار (شاهد، اتانول ۶۰ درصد، عصاره پوست انار ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد) و با سه تکرار (در هر تکرار سه میوه درون یک کیسه پلاستیکی) انجام شد. بر اساس پیشرفت بیماری، میوه‌ها تا هفت روز پس از شروع آزمایش نگهداری شدند.

به منظور ارزیابی کیفیت میوه دو ویژگی مواد جامد محلول و درصد کاهش وزن اندازه‌گیری شد. میزان مواد جامد محلول با استفاده از رفرکتومتر در دمای محیط اندازه‌گیری و برحسب درجه بریکس بیان شد. برای درصد کاهش وزن، در ابتدا و پایان آزمایش میوه‌های هر تیمار وزن شد و درصد کاهش وزن میوه با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد (۲۷).

$$(2) \quad = \text{درصد کاهش وزن} \\ 100 \times [\text{وزن اولیه} / (\text{وزن ثانویه} - \text{وزن اولیه})]$$

به منظور بررسی میزان و شدت آلودگی و فساد میوه‌ها نیز پارامترهای زیر بررسی شدند:

قطر ناحیه پوسیده شامل میسلیم که با استفاده از کولیس قطر ناحیه‌ای که میسلیم‌ها رشد کردند و قابل مشاهده بودند، اندازه‌گیری شد. قطر ناحیه پوسیده شامل اسپور که با اندازه‌گیری قطر ناحیه رنگی اندازه‌گیری شد. برای زمان اسپوردهی، طی مدت هفت روزه آزمایش، هرروز میوه‌ها

جدول ۱. نتایج تجزیه واریانس مربوط به تیمار غلظت‌های مختلف عصاره، زمان کاربرد عصاره (آزمایش کنترل یا درمان) و اثرات متقابل آنها بر فاکتورهای اندازه‌گیری شده در نارنگی های آلوده به کپک آبی

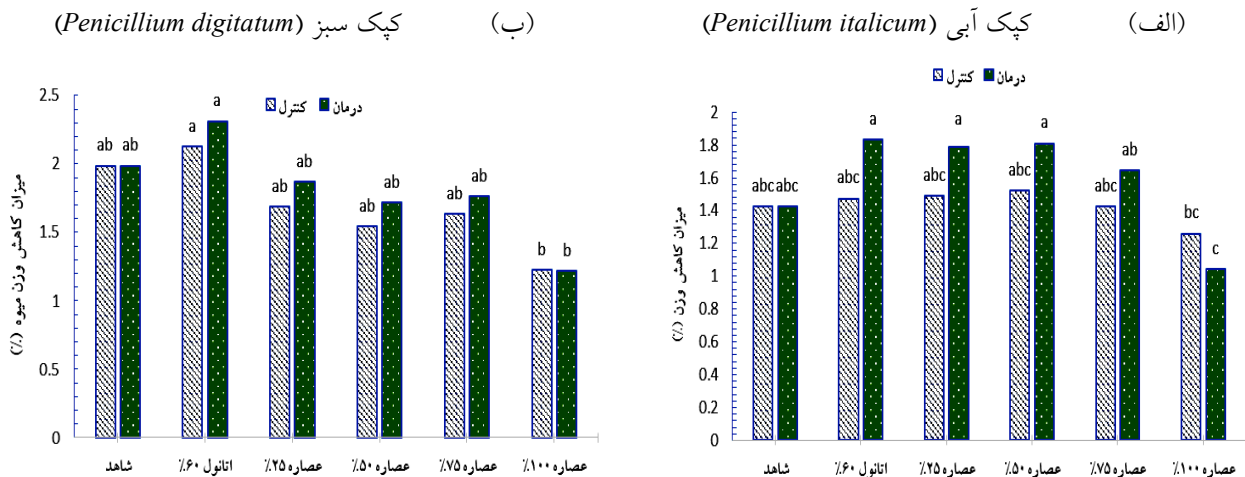
منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات (MS)									
		درصد میوه سالم	درصد کاهش وزن میوه	مواد جامد محلول	قطر ناحیه اسپور	زمان اسپوردهی	شاخص آلودگی	شدت پوسیدگی	قطر ناحیه میسلیم	شدت پوسیدگی	شدت پوسیدگی
غلظت عصاره	۵	۰/۵۰ ^{ns}	۱/۱۸*	۰/۵۰ ^{ns}	۵/۰۴ ^{**}	۱۳۸/۴ ^{**}	۱۲۹۵۶/۲۲ ^{**}	۲/۵۸ ^{**}	۳/۱۲ ^{**}	۱۵/۱۱ ^{**}	۱۶/۲۹ ^{**}
زمان کاربرد عصاره	۱	۰/۰۱ ^{ns}	۰/۲۲ ^{ns}	۰/۰۱ ^{ns}	۱/۲۶ ^{**}	۶۴/۰ ^{ns}	۴۶۶۹/۹۴ ^{**}	۰/۶۶ ^{ns}	۱/۶۰ ^{**}	۸/۶۰*	۱۰/۱۳ ^{**}
(آزمایش کنترل یا درمان)	۵	۰/۳۶ ^{ns}	۰/۲۲ ^{ns}	۰/۲۲ ^{ns}	۰/۸۵ ^{ns}	۳۵۸۰ ^{ns}	۱۰۴۶/۲۲ ^{ns}	۰/۹۳ ^{**}	۰/۵۲*	۰/۸۸ ^{ns}	۰/۹۱ ^{ns}
غلظت عصاره × زمان کاربرد عصاره	۲۲	۰/۰۷	۰/۰۷	۰/۱۷	۰/۰۸	۴۶/۹۰	۳۹۶/۲۳	۰/۲۰	۰/۱۵	۰/۶۳	۰/۴۷
خطا											
ضریب تغییرات (CV) %			۱۸/۲۵		۲۲/۱۴		۲۸/۴۱		۲۲/۸۳		۲۶/۷۵

** و * و ns به ترتیب معنی دار در سطح احتمال یک درصد و پنج درصد و غیر معنی دار

جدول ۲. نتایج تجزیه واریانس مربوط به تیمار غلظت‌های مختلف عصاره، زمان کاربرد عصاره (آزمایش کنترل یا درمان) و اثرات متقابل آنها بر فاکتورهای اندازه‌گیری شده در نارنگی های آلوده به کپک سبز

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات (MS)									
		درصد میوه سالم	درصد کاهش وزن میوه	مواد جامد محلول	قطر ناحیه اسپور	زمان اسپوردهی	شاخص آلودگی	شدت پوسیدگی	قطر ناحیه میسلیم	شدت پوسیدگی	شدت پوسیدگی
غلظت عصاره	۵	۳/۶۴ ^{ns}	۰/۶۹*	۳/۶۴ ^{ns}	۱۵/۷۳ ^{**}	۱۱۶/۰ ^{**}	۵۱۵۲۷۷ ^{**}	۱۵/۱۱ ^{**}	۱۶/۲۹ ^{**}	۱۵/۱۱ ^{**}	۱۶/۲۹ ^{**}
زمان کاربرد عصاره	۱	۰/۰۰ ^{ns}	۰/۱۱ ^{ns}	۰/۰۰ ^{ns}	۹/۸۱ ^{**}	۶۴/۰ ^{ns}	۳۴۰۲۷۷ ^{**}	۸/۶۰*	۱۰/۱۳ ^{**}	۸/۶۰*	۱۰/۱۳ ^{**}
(آزمایش کنترل یا درمان)	۵	۰/۰۱ ^{ns}	۰/۰۱ ^{ns}	۰/۵۱ ^{ns}	۰/۸۳ ^{ns}	۲۵/۶۰ ^{ns}	۷۷/۷۷ ^{**}	۰/۸۸ ^{ns}	۰/۹۱ ^{ns}	۰/۸۸ ^{ns}	۰/۹۱ ^{ns}
غلظت عصاره × زمان کاربرد عصاره	۲۲	۰/۱۹	۰/۱۹	۱/۸۹	۰/۳۳	۴۲/۱۸	۱۹۱/۱۴	۰/۶۳	۰/۴۷	۰/۶۳	۰/۴۷
خطا											
ضریب تغییرات (CV) %			۲۴/۸۶		۲۷/۰۴		۲۶/۱۹		۲۶/۷۵		۲۶/۷۵

** و * و ns به ترتیب معنی دار در سطح احتمال یک درصد و پنج درصد و غیر معنی دار



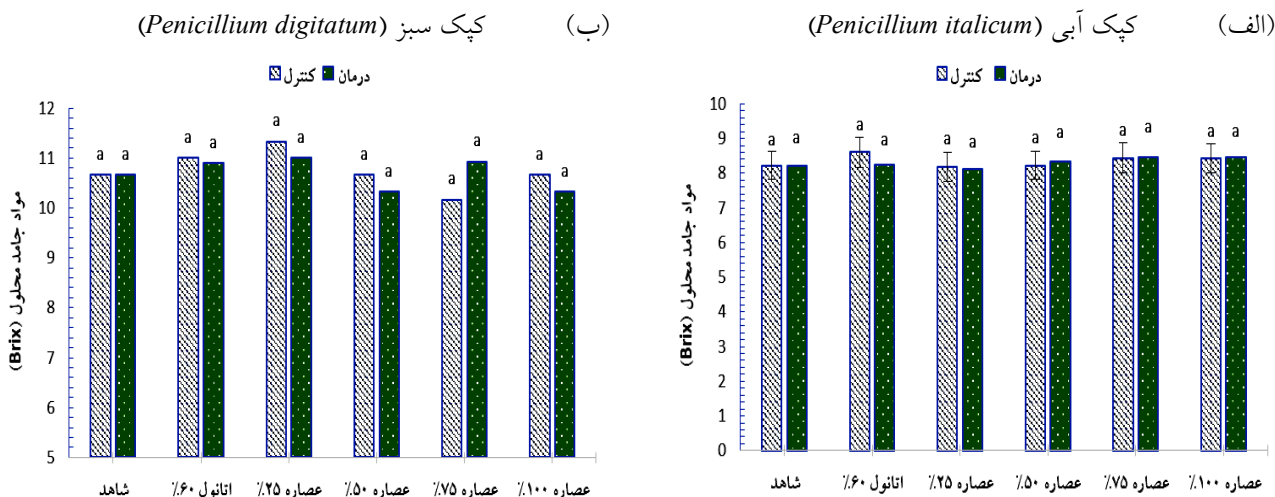
شکل ۱. اثر غلظت‌های مختلف عصاره پوست انار بر درصد کاهش وزن در میوه نارنگی آلوده به: الف) کپک آبی و ب) کپک سبز. در هر نمودار تیمارهایی که حداقل یک حرف مشترک دارند، از نظر آماری در سطح احتمال پنج درصد آزمون دانکن تفاوت معنی‌دار ندارند. آزمایش کنترل و درمان به ترتیب به زمان کاربرد عصاره قبل و پس از آلودگی اشاره دارد.

کنترل) مربوط به کپک آبی، کمترین درصد کاهش وزن میوه مربوط به تیمار عصاره ۱۰۰ درصد بود. در کاربرد پس از آلودگی (آزمایش درمان) نیز کمترین درصد کاهش وزن میوه مربوط به تیمار عصاره ۱۰۰ درصد و بیشترین مقدار مربوط به تیمار اتانول ۶۰ درصد بود. تفاوت معنی‌داری در درصد کاهش وزن میوه بین تیمارهای کاربرد قبل و بعد از آلودگی کپک آبی مشاهده نشد (شکل ۱). در آزمایش کنترل مربوط به کپک سبز، بیشترین درصد کاهش وزن میوه مربوط به تیمار اتانول ۶۰ درصد بود که نسبت به تیمار شاهد ۷/۲۱ درصد بیشتر بود و کمترین مقدار مربوط به تیمار عصاره ۱۰۰ درصد بود که نسبت به تیمار شاهد ۳۸/۴۲ درصد و نسبت به تیمار اتانول ۶۰ درصد ۴۲/۵۶ درصد کمتر بود. در آزمایش درمان بیشترین درصد کاهش وزن میوه مربوط به تیمار اتانول ۶۰ درصد و کمترین مقدار مربوط به تیمار عصاره ۱۰۰ درصد بود. تفاوت معنی‌داری در درصد کاهش وزن میوه بین نتایج آزمایش کنترل و درمان وجود نداشت (شکل ۱).

کاهش وزن میوه در اثر از دست رفتن آب از پوست آن و یا تغییرهای زیستی در آن اتفاق می‌افتد. کاهش سریع محتوای آب در میوه، شاخص خوبی برای پیری آن هست (۱۳). آزمایش‌های متعددی نشان داده‌اند که استفاده از پوشش‌های طبیعی نظیر

کیتوزان اثر مثبتی در حفظ رطوبت میوه‌ها و سبزی‌ها در انبار داشته است. سوسن کواسی و همکاران (۲۲) بیان کردند استفاده از اسانس دارچین با ترکیب در سیمول ژل و واکس و حل شدن در این پوشش‌ها می‌تواند از دست رفتن آب و کاهش وزن مرکبات را کاهش داده و به‌عنوان یک پوشش نازک در تماس با سطح پوست میوه قرار بگیرد، همچنین اثرات سودمندی در کنترل کپک سبز و آبی در کاهش پوسیدگی دارد. افزایش کاهش وزن در میوه‌ها به دلیل افزایش تنفس، افزایش تعرق و یا هر دو آنها است. کاهش وزن میوه در اثر از دست رفتن آب از پوست آن و یا تغییرهای زیستی در آن اتفاق می‌افتد. ترکیبات موجود در عصاره خالص پوست انار به احتمال با نفوذ در منافذ ریز پوست میوه توانست از کاهش وزن میوه طی مدت هفت‌روزه نگهداری به‌طور چشمگیری جلوگیری و شبیه به یک پوشش طبیعی نازک عمل کند. علاوه بر این در تیمارهایی که درصد زخم‌های آلوده و رشد قارچ بیشتر بود درصد کاهش وزن بیشتری مشاهده شد که شاید بتوان گفت پوسیده شدن بافت میوه در اثر حمله قارچ عامل این کاهش وزن است.

اثر تیمارهای مختلف بر میزان مواد جامد محلول در آزمایش کنترل و درمان کپک آبی معنی‌داری نبود (شکل ۲). همانند مشاهدات صورت گرفته برای کپک آبی، میزان مواد



شکل ۲. اثر غلظت‌های مختلف عصاره پوست انار بر مواد جامد محلول در میوه نارنگی آلوده به: الف) کپک آبی و ب) کپک سبز. در هر نمودار تیمارهایی که حداقل یک حرف مشترک دارند، از نظر آماری در سطح احتمال پنج درصد آزمون دانکن تفاوت معنی‌دار ندارند. آزمایش کنترل و درمان به ترتیب به زمان کاربرد عصاره قبل و پس از آلودگی اشاره دارد.

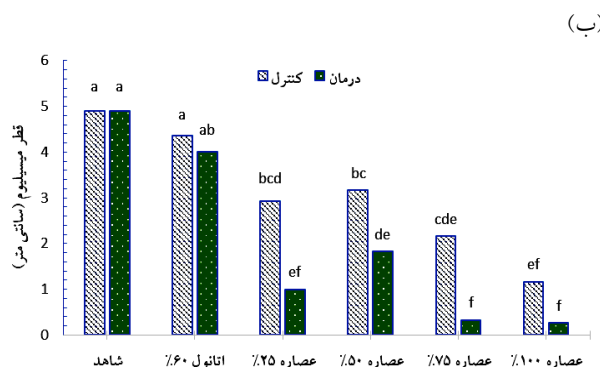
جامد محلول در آزمایش کنترل و درمان کپک سبز به‌دنبال تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌داری نشان نداد (شکل ۲)، که می‌تواند به دلیل کوتاه بودن دوره نگهداری میوه در این آزمایش باشد. در مطالعه‌ای روی پرتقال‌های توسرخ ارقام "تاراکو" و "مورو" و پرتقال "تامسون" بیان شد که میزان مواد جامد محلول پرتقال‌های خونی در طی انبارداری کاهش معنی‌داری یافت، اما در پرتقال "تامسون" تقریباً بدون تغییر ماند (۱۷).

قطر میسلیم کپک سبز مربوط به تیمار عصاره ۱۰۰ درصد بود که نسبت به شاهد ۷۶/۱۹ درصد و نسبت به اتانول ۶۰ درصد ۷۳/۲۸ درصد کمتر بود. در آزمایش درمان (کاربرد پس از آلودگی) بیشترین میزان قطر میسلیم مربوط به تیمار شاهد بود که نسبت به تیمار اتانول ۶۰ درصد بیشتر بود و کمترین مقدار مربوط به تیمار عصاره ۱۰۰ درصد بود که نسبت به شاهد ۹۴/۵۵ درصد و نسبت به اتانول ۶۰ درصد ۹۳/۳۳ درصد کمتر بود (شکل ۳-ب).

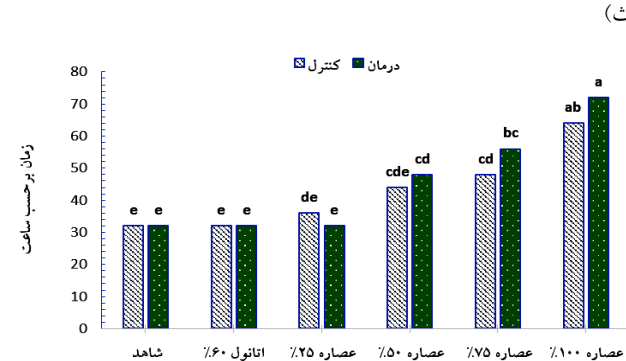
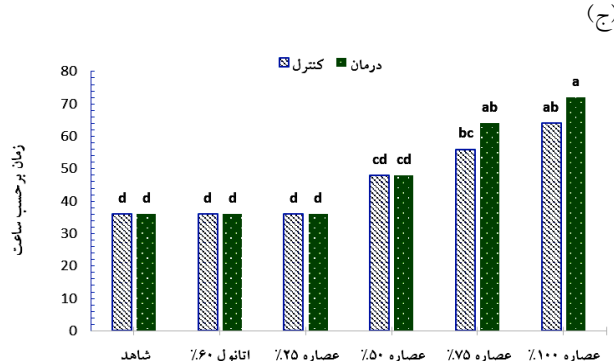
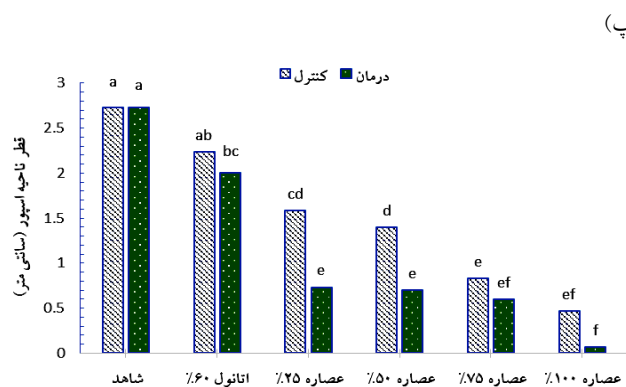
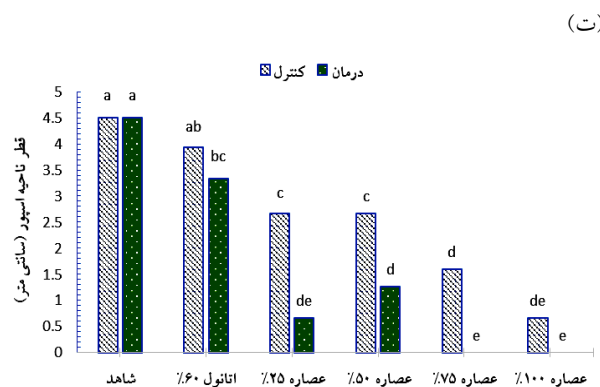
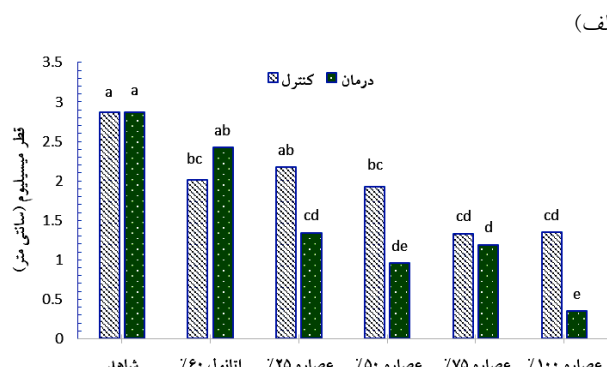
بیشترین میزان قطر ناحیه اسپور کپک آبی در آزمایش کنترل مربوط به تیمار شاهد کمترین میزان مربوط به تیمار عصاره ۱۰۰ درصد بود. بیشترین میزان قطر ناحیه اسپور در آزمایش درمان مربوط به تیمار شاهد بود که نسبت به تیمار اتانول ۶۰ درصد ۳۶/۶۶ درصد بیشتر بود، کمترین میزان نیز مربوط به تیمار عصاره ۱۰۰ درصد است که نسبت به شاهد ۹۷/۵۶ درصد و نسبت به اتانول ۶۰ درصد ۹۶/۶۶ درصد کمتر بود. نتایج تفاوت معنی‌داری را بین آزمایش کنترل و درمان قطر ناحیه اسپور در کپک آبی نشان ندادند (شکل ۳-پ). بیشترین میزان قطر ناحیه اسپور کپک سبز در آزمایش کنترل مربوط به تیمار شاهد بود که نسبت به تیمار اتانول ۶۰ درصد ۱۴/۴۰ درصد

قطر ناحیه میسلیم و اسپور و زمان اسپوردهی تیمار غلظت عصاره و زمان کاربرد هر کدام به‌تنهایی به‌طور معنی‌دار بر قطر ناحیه اسپور و میسلیم اثر داشتند ولی برهم‌کنش آنها معنی‌دار نبود (جدول ۱ و ۲). در آزمایش کنترل کپک آبی، بیشترین میزان قطر میسلیم مربوط به تیمار شاهد بود که نسبت به تیمار اتانول ۶۰ درصد ۴۲/۱۴ درصد بیشتر بود، کمترین مقدار مربوط به تیمار عصاره ۷۵ درصد بود که نسبت به شاهد ۵۳/۴۸ درصد کمتر بود. در آزمایش درمان کمترین مقدار مربوط به تیمار عصاره ۱۰۰ درصد بود که نسبت به شاهد ۸۷/۶۷ درصد کمتر بود. همچنین آزمایش کنترل و درمان در تیمار عصاره ۱۰۰ درصد اختلاف معنی‌دار با یکدیگر داشتند (شکل ۳-الف). کمترین مقدار

کیک سبز (*Penicillium digitatum*)



کیک آبی (*Penicillium italicum*)



شکل ۳. اثر غلظت‌های مختلف عصاره پوست انار بر قطر میسیلیوم (الف، ب) و ناحیه اسپور (پ، ت) و زمان اسپوردهی (ث، ج) به ترتیب در کیک آبی و کیک سبز در میوه نارنگی آلوده. در هر نمودار تیمارهایی که حداقل یک حرف مشترک دارند، از نظر آماری در سطح احتمال پنج درصد آزمون دانکن تفاوت معنی‌دار ندارند. آزمایش کنترل و درمان به ترتیب به زمان کاربرد عصاره قبل و پس از آلودگی اشاره دارد.

به تیمار عصاره ۱۰۰ درصد بود. اختلاف معنی‌داری بین آزمایش کنترل و درمان در تیمار عصاره ۲۵ درصد وجود داشت و در آزمایش درمان قطر اسپور کمتر بود (شکل ۳-ت). بافت پوست میوه این قدرت را دارد که اگر در شرایط

بیشتر بود و کمترین میزان مربوط به تیمار عصاره ۱۰۰ درصد بود که نسبت به شاهد ۸۵/۱۸ درصد و نسبت به اتانول ۶۰ درصد ۸۳/۰۵ درصد کمتر بود. بیشترین میزان قطر ناحیه اسپور در آزمایش درمان مربوط به تیمار شاهد و کمترین میزان مربوط

کپک آبی روی میوه‌های نارنگی ۶۴ ساعت مربوط به تیمار عصاره ۱۰۰ درصد بود که نسبت به شاهد و اتانول ۶۰ درصد ۱۰۰ درصد بیشتر بود و کمترین میزان مربوط به تیمار شاهد و اتانول ۶۰ درصد بود. در آزمایش درمان بیشترین زمان سپری‌شده تا اسپوردهی ۷۲ ساعت مربوط به عصاره ۱۰۰ درصد بود که نسبت به تیمار شاهد و اتانول ۶۰ درصد ۱۲۵ درصد بیشتر بود و کمترین میزان مربوط به تیمار شاهد و اتانول ۶۰ درصد بود (شکل ۳-ث). در آزمایش کنترل بیشترین زمان سپری‌شده تا اسپوردهی کپک سبز روی میوه‌های نارنگی، ۶۴ ساعت مربوط به تیمار عصاره ۱۰۰ درصد بود که نسبت به شاهد و اتانول ۶۰ درصد ۷۷/۷۷ درصد بیشتر بود. در آزمایش درمان بیشترین زمان سپری‌شده تا اسپوردهی ۷۲ ساعت مربوط به عصاره ۱۰۰ درصد بود. تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای آزمایش کنترل و درمان در کپک سبز و آبی وجود نداشت. نتایج نشان می‌دهد که تفاوت چندانی بین زمان اسپوردهی در کپک سبز و آبی وجود نداشت (شکل ۳-ج).

بر اساس این مشاهدات استفاده از عصاره پوست انار باعث تأخیر در اسپوردهی قارچ‌ها شد که با نتایج ساکس و گلان (۱۹) مطابقت دارد، آنها با استفاده از ژل آلوئه‌ورا روی گریپ‌فروت تأخیر چشمگیری در پوسیدگی ناشی از کپک سبز روی میوه گریپ‌فروت مشاهده کردند. عصاره پوست انار با اثرات آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات ضدقارچی خود توانسته است جوانه‌زنی اسپور قارچ‌ها را مهار کند. از آنجا که شرایط برای همه تیمارها یکسان بوده است تأخیر در اسپوردهی را می‌توان به غلظت بالای ترکیبات فنولی در عصاره خالص پوست انار نسبت داد، این ترکیبات با مهار جوانه‌زنی اسپور قارچ، اسپوردهی را در سطح میوه‌های آلوده شده کاهش دادند و با گذشت مدت زمان بیشتری پس از تلقیح، اسپور در سطح میوه مشاهده شد.

شدت پوسیدگی، شاخص مک‌کاینی و درصد میوه‌های سالم
کمترین شدت پوسیدگی در میوه‌های آزمایش کنترل مربوط به

مناسب قرار گیرد التیام پیدا کند و با بهبود زخم راه نفوذ قارچ به داخل میوه بسته شود و در حقیقت این یک سیستم دفاعی خود میوه است که از این طریق مانع فسادش می‌شود (۱۴). پژوهش‌های رنگیر و همکاران (۱۸) روی ۵۹ اسانس مختلف نشان داد که استفاده از غلظت‌های بالای اسانس در کنترل قارچ‌های بیماری‌زا سبب سوختگی در پوست میوه پرتقال می‌شود. توسعه ضایعات ناخوشایند روی پوست میوه پس از استفاده از برخی اسانس‌ها گزارش شده است (۱۵) درحالی‌که نتایج آزمایش نشان داد استفاده از عصاره اتانولی خالص هیچ‌گونه اثر بدی بر ظاهر و پوست میوه نارنگی نداشته و به‌طور قابل‌توجهی در مهار بیماری مؤثر بود. نتایج آزمایش سوسن‌کواسی و همکاران (۲۲) نشان داد درصد زخم‌های آلوده در آزمایش تلقیح کپک سبز و آبی روی میوه مرکبات در تیمار اتانول و شاهد (آب مقطر) ۱۰۰ درصد بود و با استفاده از اسانس دارچین درصد زخم‌های آلوده کاهش پیدا کرد. فعالیت ضدقارچی پوست انار در آزمایش‌های متعدد به اثبات رسیده و گزارش شده که عصاره پوست انار از رشد *P. citrinum* به‌مدت هشت روز، رشد *P. patulum* به‌مدت چهار روز و رشد *P. roquefortii* و *Aspergillus* به‌مدت سه روز ممانعت می‌کند و استفاده از این ماده در مقایسه با مقادیر مجاز قارچ‌کش‌های شیمیایی نظیر ایمازیلیل نتایج بهتری در کنترل بیماری داشته است (۴). گرچه فعالیت ضدقارچی عصاره پوست انار در خصوص مقابله با کپک سبز و آبی در نارنگی گزارش نشده بود، تایل و همکاران (۲۴) گزارش کردند که غوطه‌وری میوه‌ها در غلظت یک گرم در لیتر عصاره پوست انار به‌مدت سه دقیقه، سبب کنترل پوسیدگی ناشی از کپک سبز روی لیمو شد که با نتایج این پژوهش هم‌راستا است. آنها اثر ضدقارچی عصاره پوست انار را به برهم‌کنش هم‌راستای ترکیبات فعال پوست مانند گالوتانین، الازیک اسید، کاتچین و فلاونول‌ها با ترکیبات ضد میکروبی پوست مانند پونیکالازین، کاستالازین، کاتچین و غیره نسبت دادند.

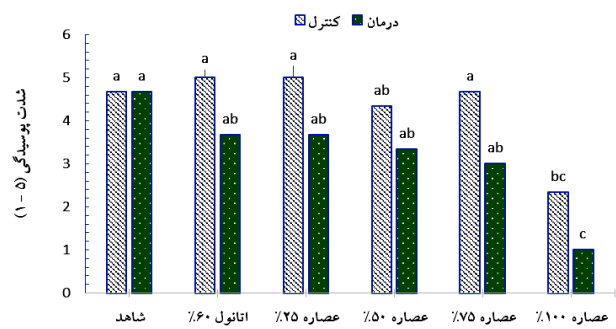
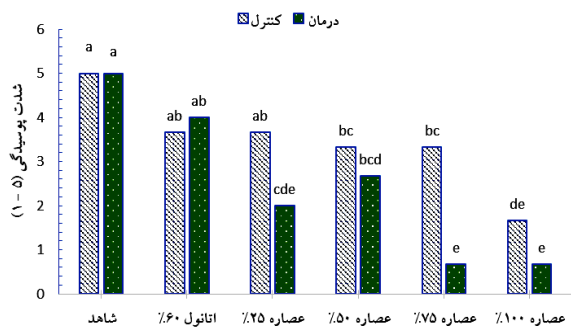
در آزمایش کنترل بیشترین زمان سپری‌شده تا اسپوردهی

کیک سبز (*Penicillium digitatum*)

کیک آبی (*Penicillium italicum*)

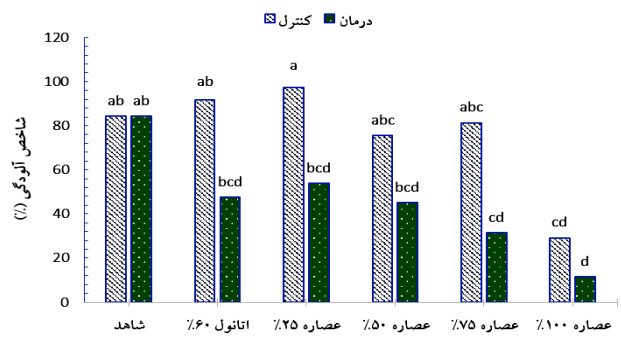
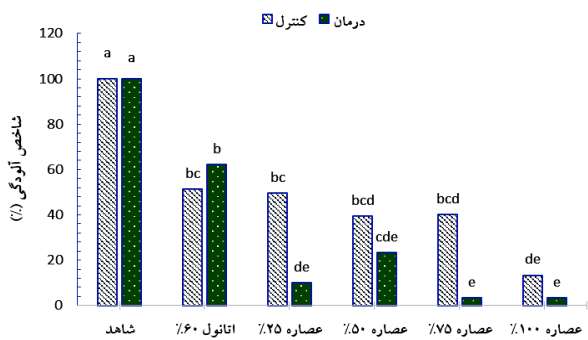
(ب)

(الف)



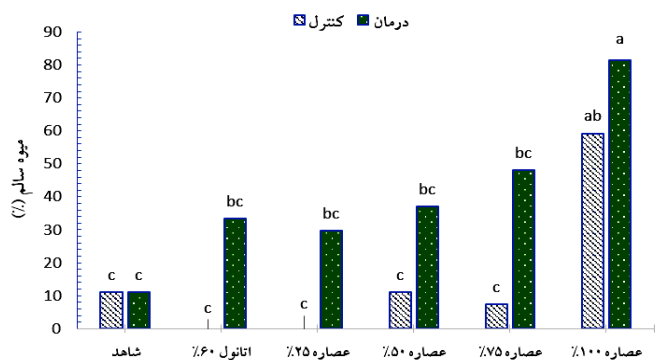
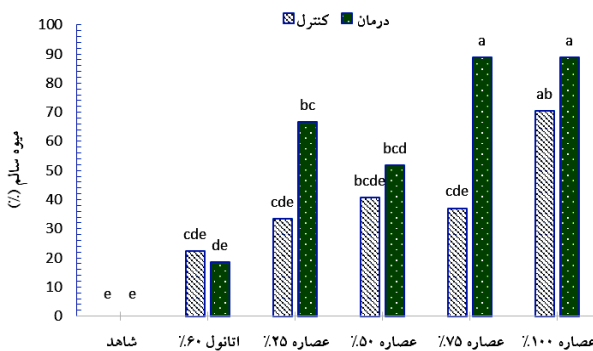
(ت)

(پ)



(ج)

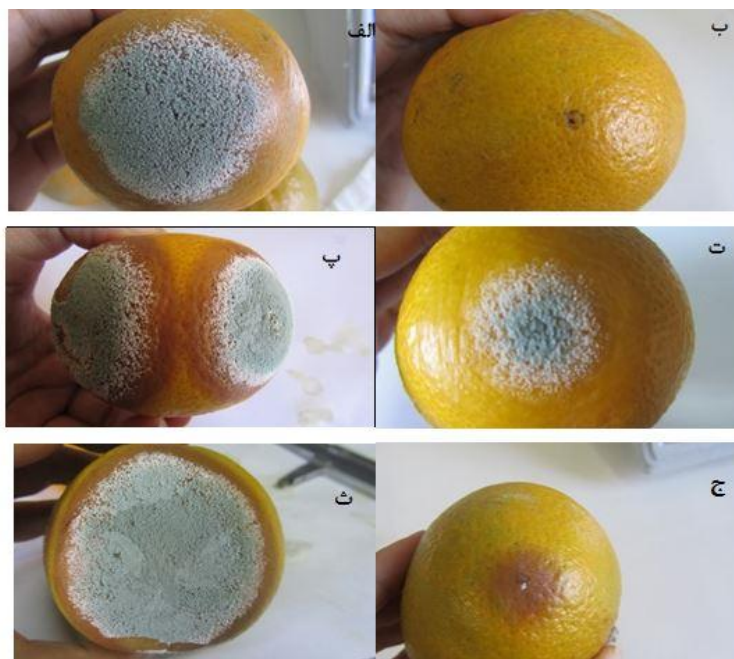
(ث)



شکل ۴. اثر غلظت‌های مختلف عصاره پوست انار بر شدت پوسیدگی (الف، ب)، شاخص آلودگی (پ، ت) و درصد میوه‌های سالم (ث، ج) در نارنگی آلوده به کیک آبی و کیک سبز. در هر نمودار تیمارهایی که حداقل یک حرف مشترک دارند، از نظر آماری در سطح احتمال پنج درصد آزمون دانکن تفاوت معنی‌دار ندارند. آزمایش کنترل و درمان به ترتیب به زمان کاربرد عصاره قبل و پس از آلودگی اشاره دارد.

درصدی نسبت به شاهد متعلق به تیمار عصاره ۱۰۰ درصد بود. نتایج تیمارهای آزمایش کنترل و درمان تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند (شکل ۴-الف). در هر دو آزمایش کنترل و درمان کیک سبز بیشترین شدت پوسیدگی در تیمار شاهد و

کیک آبی در تیمار عصاره ۱۰۰ درصد مشاهده شد و سایر تیمارها در شدت پوسیدگی تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند، گرچه اختلاف آنها با تیمارهای شاهد معنی‌دار بود. در آزمایش درمان نیز کمترین شدت پوسیدگی با کاهش حدود ۷۸



شکل ۵. تصویر میوه‌های نارنگی هفت روز پس از نگهداری در دمای ۲۵ درجه سلسیوس به دنبال غلظت‌های مختلف عصاره پوست انار و تلقیح اسپورهای کپک آبی: الف) تیمار اتانول ۶۰ درصد، ب) تیمار عصاره ۱۰۰ درصد، پ) تیمار عصاره ۲۵ درصد، ت) تیمار عصاره ۵۰ درصد، ث) تیمار شاهد و ج) تیمار عصاره ۷۵ درصد

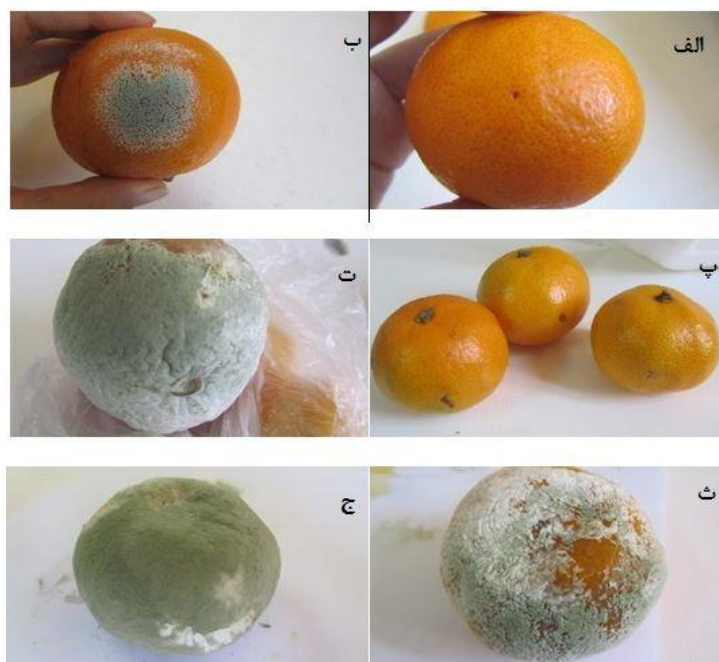
(شکل ۴-ت).

همان‌طور که از شکل ۳-ث مشخص است تیمار عصاره ۱۰۰ درصد به‌طور معنی‌دار درصد میوه‌های سالم را در هر دو آزمایش کنترل و درمان کپک آبی افزایش داد. تمام میوه‌هایی که با اتانول ۶۰ درصد و عصاره ۲۵ درصد تیمار شده بودند آلودگی با کپک آبی را نشان دادند (شکل ۵). در خصوص کپک سبز نیز تیمار میوه‌ها با عصاره ۱۰۰ درصد به‌طور موفقیت‌آمیز توانست کنترل آلودگی میوه‌ها مؤثر باشد (شکل ۶) ولی بیشترین اثر عصاره‌ها در خصوص درمان آلودگی با کپک سبز و بهترین تیمار، تیمارهای عصاره ۷۵ و ۱۰۰ درصد بودند که به ترتیب باعث افزایش ۸۸ درصدی میوه‌های سالم نسبت به شاهد شدند (شکل ۴-ج). اختلاف معنی‌داری بین آزمایش درمان و پیشگیری در درصد میوه‌های سالم وجود داشت و میوه‌های سالم آزمایش درمان بیشتر از کنترل بود.

گزارش شده است که پوست انار منبع غنی از آنتی‌اکسیدان و مواد فنولیکی است و فعالیت آنتی‌اکسیدانی انار را به ترکیبات

پس از آن در تیمار اتانول ۶۰ درصد مشاهده شد. تیمار عصاره ۷۵ درصد در آزمایش درمان و تیمار عصاره ۷۵ درصد در هر دو آزمایش کنترل و درمان کمترین شدت پوسیدگی را به خود اختصاص دادند (شکل ۴-ب).

بررسی شاخص آلودگی (شاخص مک‌کاینی) در آزمایش کنترل کپک آبی نشان داد، به‌جز تیمار عصاره ۱۰۰ درصد شاخص آلودگی در سایر تیمارها با یکدیگر تفاوت معنی‌دار نشان نداد. ولی در آزمایش درمان تیمارهای عصاره ۱۰۰ درصد و ۷۵ درصد سبب کاهش معنی‌دار شاخص آلودگی نسبت به شاهد شدند (شکل ۴-پ). اثر تیمارهای استفاده شده در این آزمایش بر کنترل و درمان شاخص آلودگی کپک سبز مشهودتر از کنترل و درمان کپک آبی بود. در آزمایش کنترل کپک سبز هر چهار غلظت عصاره سبب کاهش معنی‌دار شاخص آلودگی نسبت به شاهد شدند. در آزمایش درمان تیمارهای عصاره علاوه بر کاهش معنی‌دار شاخص مک‌کاینی نسبت به شاهد سبب کاهش معنی‌دار نسبت به اتانول ۶۰ درصد نیز شدند



شکل ۶. تصویر میوه‌های نارنگی هفت روز پس از نگهداری در دمای ۲۵ درجه سلسیوس به دنبال غلظت‌های مختلف عصاره پوست انار و تلقیح اسپورهای کپک سبز: الف) تیمار عصاره ۱۰۰ درصد، ب) تیمار عصاره ۵۰ درصد، پ) تیمار عصاره ۷۵ درصد، ت) تیمار اتانول ۶۰ درصد، ث) تیمار عصاره ۲۵ درصد و ج) تیمار شاهد

سوختگی در پوست میوه پرتقال می‌شود. درحالی که نتایج آزمایش نشان داد استفاده از عصاره اتانولی خالص هیچ‌گونه اثر بدی بر ظاهر و پوست میوه نارنگی نداشته و به‌طور قابل‌توجهی در مهار بیماری مؤثر بود.

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که استفاده از عصاره پوست انار با خاصیت ضدقارچی در برابر کپک سبز و آبی می‌تواند زمان اسپوردهی را به تأخیر اندازد و به احتمال با تأثیر مثبت روی کاهش تخریب ترکیبات فنولی قطر آلودگی (قطر میسلیم و اسپور) و درصد زخم‌های آلوده را کاهش دهد. در ضمن عصاره خالص و ۷۵ درصد بهترین نتایج را نشان دادند که نشان می‌دهد، هرچه درصد خلوص عصاره بیشتر باشد، ترکیبات فنولی و به‌دنبال آن خاصیت ضدقارچی بیشتر است. در کل این تیمارها نتایج بهتری در خصوص درمان کپک سبز به همراه داشتند.

فنولی به‌ویژه الارژیک اسید و پونیکالاجین نسبت می‌دهند. نتایج آزمایش گاتو و همکاران (۹) روی کپک سبز در پرتقال نشان داد که عصاره گیاه *Sanguisorba minor* حاوی ترکیبات فنولیک فراوان بود و بهترین اثر را بر کاهش قطر آلودگی روی میوه‌ها داشت. این ترکیبات فنولی شامل کافئیک اسید و فلاونوئیدهایی نظیر اپی جنین، کوئرستین و کامفرول بودند. به‌طور خاص کوئرستین-۳-گلوکوزید و کامفرول-۳-گلوکوزید فراوان‌ترین فلاونوئیدهای یافت شده است همچنین ترکیبات گالیک اسید، الارژیک اسید، کوئرستین، مشتقات کامفرول و کومارین در عصاره این گیاه گزارش شده است که با ترکیبات فنولی به‌دست آمده از پوست انار مشابهت دارد. قیمت بالا، بو و اثر اسانس‌ها بر عطر و طعم میوه از شایع‌ترین مشکلات استفاده از اسانس‌های گیاهی است (۲۱) و این مشکلات در استفاده از عصاره‌های گیاهی در کنترل بیماری‌های پس از برداشت تاکنون گزارش نشده است. پژوهش‌های رنگیر و همکاران (۱۸) نشان داد که استفاده از غلظت‌های بالای اسانس در کنترل قارچ‌های بیماری‌زا سبب

منابع مورد استفاده

1. Abbasi, F., H. Rastegar, M. Fayyazi and A. Tavakoli. 2004. Citrus Orchard Organization in Fars Provenance. Fars Agriculture Jahad Institute. (In Farsi)
2. Amyrgialaki, E., D. P. Makris, A. Mauromoustakos and P. Kefalas. 2014. Optimisation of the extraction of pomegranate (*Punica granatum*) husk phenolics using water/ethanol solvent systems and response surface methodology. *Industrial Crops and Products* 59: 216–222.
3. Arras, G. and 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. *Journal of Food Protection* 64: 1025–1029.
4. Azzouz, M. and L. B. Bullerman. 1982. Comparative antimycotic effects of selected herbs, spices, plant components and commercial antifungal agents. *Journal of Food Protection* 45: 1298–1301.
5. Bautista, S., M. Hernandez, E. Bosquez and C. L. Wilson. 2003. Effects of chitosan and plant extracts on growth of Colletotrichum gloeosporioides, anthracnose levels and quality of papaya fruit. *Journal of Food Protection* 22: 1087–1092.
6. Endo, E. H., D. A. G. Cortez, T. Ueda-Nakamura, C. V. Nakamura and B. P. D. Filho. 2010. Potent antifungal activity of extracts and pure compound isolated from pomegranate peels and synergism with fluconazole against Candida albicans. *Journal of Microbiology* 161: 534–540.
7. Fattahimoghadam, J. and M. Fagghih Nasiri. 2005. Citrus degreening methods. In: Proceeding of the First National Citrus Symposium. Sari. P.220 (In Farsi)
8. Feliziani, E., L. Landi and G. Romanazzi. 2015. Preharvest treatments with chitosan and other alternatives to conventional fungicides to control postharvest decay of strawberry. *Carbohydrate Polymers* 132: 111–117.
9. Gatto, M. A., A. Ippolito, V. Linsalata, N. Cascarano, F. Nigro, S. Vanadia and D. D. Venere. 2011. Activity of extracts from wild edible herbs against postharvest fungal diseases of fruit and vegetables. *Journal of Postharvest Biology and Technology* 61: 72–82.
10. He, Z. D., C. F. Qiao, Q. B. Han, C. L. Cheng, H. X. Xu, R. W. Jiang, P. H. But and P. C. Shaw. 2005. Authentication and quantitative analysis on the chemical profile of cassia bark (*Cortex cinnamomi*) by high-pressure liquid chromatography. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 53: 2424–2428.
11. Hernández-Montiel. L. G., J. L. Ochoa., E. Troyo-Diéguez and C. P. Larralde-Corona. 2010. Biocontrol of postharvest blue mold (*Penicillium italicum* Wehmer) on Mexican lime by marine and citrus Debaryomyces hansenii isolates. *Journal of Postharvest Biology and Technology* 56: 181–187.
12. Ismail, T., P. Sestili and S. Akhtar. 2012. Pomegranate peel and fruit extracts: A review of potential anti-inflammatory and anti-infective effects. *Journal of Ethnopharmacology* 143: 397–405.
13. Khosravi, S, G. R. Sharifi-Sirchi and A. Baghizade. 2015. Genetic and phytochemical diversity of Punica granatum germplasm in Kerman province using molecular markers and chromatography. *Recent Genetic* 10: 209-220 (In Farsi)
14. Orr, G. and C. Brady. 1993. Relationship of endopolygalacturonase activity to fruit softening in a freestone peach. *Journal of Postharvest Biology and Technology* 3: 121-130 .
15. Plaza, P., R. Torres, J. Usall, N. Lamarca and I. Vinas. 2004. Evaluation of the potential of commercial post-harvest application of essential oils to control citrus decay. *Journal of Horticulture Science and Biotechnology* 79(6): 935–940.
16. Plooy, W., T. Regnier and S. Combrinck. 2009. Essential oil amended coatings as alternatives to synthetic fungicides in citrus postharvest management. *Journal of Postharvest Biology and Technology* 53: 117-122.
17. Rahemi, M. 2010. Postharvest Physiology, An Introduction to the Physiology and Handling of Fruits, Vegetables and Ornamentals. Shiraz University. (In Farsi).
18. Regnier, T., S. Combrinck, W. Veldman and W. Du Plooy. 2014. Application of essential oils as multi-target fungicides for the control of Geotrichum citri-aurantii and other postharvest pathogens of citrus. *Industrial Crops and Products* 61:151–159.
19. Saks, Y. and R. B. Golan. 1995. Aloe vera gel activity against plant pathogenic fungi. *Journal of Postharvest Biology and Technology* 6:159-165 .
20. Sanei, J., M. Okhovat, M. Javan Nikkhah and A. Razavi. 2004. Methods and Instruments in Plant Disease. Peyke Reyhan, Gorgan. (In Farsi).
21. Sivakumar, D. and S. Bautista. 2014. A review on the use of essential oils for postharvest decay control and maintenance of fruit quality during storage. *Journal of Crop Protection* 64: 27-37.
22. Sosthene Kouassi, K. H., M. Bajji and H. Jijakli. 2012. The control of postharvest blue and green molds of citrus in relation with essential oil–wax formulations, adherence and viscosity. *Journal of Postharvest Biology and Technology* 73: 122-128.
23. Supayang, P. V., T. Sirirak, S. Limsuwan, T. Supawita, T. Iida and T. Honda. 2005. Inhibitory effect of active compounds from Punica granatum on verocytotoxin production by enterohaemorrhagic Escherichia coli. *Journal of*

Health Science 51: 590-596.

24. Tayel, A. A., A. F. El-Ba, M. F. Salem and M. H. El-Had. 2009. Potential applications of pomegranate peel extract for the control of citrus green mould. *Journal of Plant Disease Protection* 116 (6): 252-256.
25. Tehranifar, A., Y. Selahvarzi, M. Kharraz and V. Jahan Bakhsh. 2011. High potential of agro-industrial by-products of pomegranate (*Punica granatum* L.) as the powerful antifungal and antioxidant substances. *Industrial Crops and Products* 34: 1523–1527.
26. Varma, J. and N. K. Dubey. 1999. Prospectives of botanical and microbial products as pesticides of tomorrow. *Current Science* 76: 172-178.
27. Xia, Z., Y. Luo, Y. Luo and Q. Wang. 2011. Combined effects of sodium chlorite dip treatment and chitosan coatings on the quality of fresh-cut d'Anjou pears. *Journal of Postharvest Biology and Technology* 62: 319-326.

Effect of Pomegranate Peel Extract on Green (*Penicillium digitatum*) and Blue Molds (*P. italicum*) of Mandarin Fruit

F. Givi¹ and M. Gholami^{2*}

(Received: November 7-2017; Accepted: April 29-2019)

Abstract

The global trend has shifted towards the reduction of synthetic pesticide application in agriculture in general and in postharvest in particular. Currently there is a growing interest in using natural antifungal compounds, like plant extracts for the preservation of foods. In order to develop fungicide formulation of natural origin as postharvest treatments, this study was conducted on the antifungal activity of pomegranate (*Punica granatum* L.) extract against *Penicillium italicum* and *P. digitatum*. The experiment was set up according to a completely randomized design with 4 replications using 'Satsuma' mandarin. The experimental factors included extract concentration (0, 25%, 50%, 75% or 100%) and the effect of treatments (preventive or curative). The fruits were wounded on the outer surface on four locations to a depth of 2 mm and a diameter of 1 mm. Preventive treatments were carried out by dipping wounded fruit into the formulations of extract and thereafter, each wound site was infected by inoculating 20 µL of the inoculum of *P. italicum* or *P. digitatum*. For curative treatments, fruits were wounded as above, and then inoculated with *P. italicum* or *P. digitatum* (20 µL of inoculum per wound site). The results showed that the 75% or 100% pomegranate extract applied to 'Satsuma' mandarin produced a significant antimicrobial effect, reduced spore or mycelium diameter, decay severity and infection index and increased sporing time and healthy fruit percentage. Our study showed that 100% pomegranate peel extract application could decrease weight loss rate during storage of "Satsuma" mandarin fruit inoculated with spores of *P. digitatum* or *P. italicum*. The obtained results showed that the tested pomegranate extract can be effectively utilized for controlling and curing infections caused by *P. italicum* and *P. digitatum*.

Keywords: Bioactive compounds, Biotic stress, Fungicide, Citrus

1, 2. MSc. Student and Assistant Professor, Respectively, Department of Horticulture, College of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran.

*: Corresponding Author, Email: mah.gholami@cc.iut.ac.ir