



تأثیر مهارکنندگی اسانس مرزنجوش (*Origanum vulgare L.*) و باکتری آنتاگونیست *Basillus subtilis* روی کپک آبی (*Penicillium expansum*) و پارامترهای کیفی پس از برداشت گیلاس

چنور حسینی<sup>۱\*</sup>، محمدرضا اصغری<sup>۲</sup>، مریم خضری<sup>۳</sup>

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

۲- استاد گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

۳- مؤسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران.

چکیده

اطلاعات مقاله

پوسیدگی ناشی از قارچ بیماری‌زای پنی‌سیلیوم از مهم‌ترین عوامل کاهش عمر پس از برداشت محصولات میوه‌ای در سراسر دنیا می‌باشد. در تحقیق حاضر، اثر اسانس گیاه دارویی مرزنجوش (*Origanum vulgare L.*) و باکتری باسیلوس در کنترل پوسیدگی ناشی از کپک آبی میوه گیلاس (*Prunus avium L.*) در آزمایشگاه باغبانی دانشگاه ارومیه بررسی شد. اسانس مرزنجوش در مرحله گل‌دهی با دستگاه کلونجر و به روش تقطیر با آب استخراج شد. ابتدا میوه‌های گیلاس با سوسپانسیون قارچ به غلظت ۱۰<sup>۵</sup> هاگ در میلی‌لیتر آلوده شدند. سپتیمارهای آزمایشی شامل سوسپانسیون با غلظت ۱۰<sup>۸</sup> سویه منتخب باکتری آنتاگونیست و اسانس مرزنجوش در ۵ سطح غلظت (۰، ۲۵۰، ۵۰۰، ۷۵۰ و ۱۰۰۰ میکرولیتر در لیتر) اعمال گردیدند. میوه‌های تیمار شده در سردخانه با دمای صفر درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۹۰-۹۵ درصد به مدت ۳۰ روز نگهداری و در نهایت صفات مختلف کیفی شامل اسیدیته قابل تیتراسیون، pH، مواد جامد محلول، سفتی بافت، میزان کاهش وزن، فعالیت آنتی‌اکسیدانی با روش جاروب‌کنندگی رادیکال DPPH و پوسیدگی قارچ طی سه زمان (۰، ۱۵ و ۳۰ روز) و در سه تکرار مورد اندازه‌گیری قرار گرفتند. تیمار اسانس مرزنجوش در غلظت ۷۵۰ میکرولیتر در لیتر و باکتری باسیلوس مؤثرترین تیمار در حفظ اسیدیته قابل تیتراسیون، کاهش pH و مواد جامد محلول در روز ۱۱۵ام بود. همچنین فعالیت آنتی‌اکسیدانی با افزایش غلظت اسانس تقویت گردید. کمترین میزان کاهش وزن میوه مربوط به غلظت ۵۰۰ میکرولیتر در لیتر اسانس طی روز ۱۱۵ام مشاهده شد. طبق یافته‌های ما، ترکیبات اسانس مرزنجوش به‌ویژه کارواکرول و نیز باکتری باسیلوس به‌عنوان مواد طبیعی و تضمین‌کننده سلامت انسان می‌توانند جایگزین ترکیبات شیمیایی در کنترل قارچ‌های بیمارگر محصولات میوه‌ای پیشنهاد گردند.

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۵/۰۶

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۱/۱۳

کلمات کلیدی:

آنتی‌اکسیدان،  
پس از برداشت،  
کارواکرول، کنترل  
زیستی،  
مرزنجوش.

DOI: 10.22034/FSCT.19.133.43  
DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.133.4.9

\* مسئول مکاتبات:

chnoor.hosseini123@gmail.com

## ۱- مقدمه

کپک‌های ایجاد شده توسط قارچ‌های بیماری‌زا با تولید سموم قارچی در مواد غذایی، خطرات جدی برای سلامتی مصرف‌کنندگان به همراه خواهند داشت. این سموم شامل متابولیت‌های ثانویه بنام مایکوتوکسین‌ها می‌باشند که اثرات مخرب آن‌ها شامل سرطان‌زایی، ناهنجاری‌ها، تأخیر در رشد، کاهش سیستم ایمنی و جهش‌زایی را در موجودات به وجود می‌آورند. از این نمونه‌ها می‌توان به سیتترین<sup>۱</sup> و پاتولین<sup>۲</sup> و پنی‌سیلیک اسید<sup>۳</sup> تولید شده توسط گونه قارچی *Penicillium expensum* اشاره کرد که سبب ناهنجاری در رشد جنین و سرطان‌زایی می‌شوند [۱]. میوه‌ها و سبزی‌ها از مهم‌ترین منابع غذایی بشر و در حقیقت تأمین‌کننده ویتامین‌ها و آنتی‌اکسیدان مورد نیاز بدن بوده و برای حفظ سلامتی ضروری می‌باشند. گیلاس میوه‌ای مغذی، سرشار از پلی‌فنل‌ها و پتانسیل آنتی‌اکسیدانی بالایی دارد. با این حال به دلیل رطوبت زیاد، اسیدیته بالا و نوع مواد غذایی و زخم‌های ناشی از برداشت و حمل و نقل مستعد حمله قارچ‌های بیماری‌زا می‌باشد. با توجه به وجود محدودیت‌هایی در کنترل بیماری‌های قارچی از قبیل کمبود و گرانی داروهای ضد قارچی، عوارض جانبی آن‌ها و نیز مقاومت داروها و یا کاهش حساسیت قارچ‌ها به این نوع داروها موجب شده تا توجه پژوهش‌گران به جستجو برای یافتن متابولیت‌های زیستی به منظور کنترل فساد بیولوژیک و افزایش زمان ماندگاری محصولات فسادپذیر بیش از پیش معطوف شود [۲].

گیاه دارویی مرزنجوش (*Origanum vulgare* L.) از خانواده نعنائیان یکی از مهم‌ترین و پرفروش‌ترین گیاهان دارویی در سراسر جهان می‌باشد. اسانس مرزنجوش‌دارای طیف گسترده‌ای از فعالیت‌های ضد میکروبی می‌باشد که ترکیبات کارواکول و تیمول مسئول این خواص هستند [۳]. مطالعات زیادی اثر حفاظتی اسانس مرزنجوش در میوه‌های مختلف مانند گیلاس، موز، کیوی، انگور، گلابی، آووکادو و توت فرنگی را اثبات نموده‌اند [۴]. علاوه بر ماندگاری میوه‌ها، گزارش‌ها نشان می‌دهد که اسانس مرزنجوش با ۷۱ درصد کارواکول و ۴/۵ درصد تیمول توانایی بهبود ماندگاری مواد غذایی را نیز دارد [۵].

1. citrinin  
2. patulin  
3. penicillic acid

از طرفی کنترل بیولوژیک به تنهایی یا در ترکیب با دیگر روش‌های کنترل عوامل بیماری‌زا، به عنوان یکی از مؤثرترین روش‌های جایگزین در کاهش استفاده از سموم شیمیایی می‌باشد [۶]. باکتری‌های آنتاگونیست جنس باسیلوس با تولید آنتی‌بیوتیک، ترشحات خارج از سلولی و ترکیبات فرار در بازدارندگی عوامل بیماری‌زای قارچی مؤثر هستند. Hadian و همکاران [۷] در مطالعه خود اثر چهار اسانس گیاهان دارویی آویشن شیرازی، آلوئه‌ورا، سیر و زیره سبز و همچنین فعالیت آنتاگونیستی سه جدایه باکتری شامل *Bacillus sp*، *Streptomyces sp* و *Pseudomonas sp* علیه قارچ پنی‌سیلیوم را روی مرکبات مورد بررسی قرار دادند و گزارش نمودند که بالاترین بازدارندگی رشد قارچ مربوط به اسانس آویشن و جدایه *Bacillus cereus* می‌باشد. در یک مطالعه مشابه بر روی مرکبات، Yang و همکاران [۸] به اثرات ضد قارچی کارواکول علیه پنیسیلیوم تأکید داشتند. اسانس گیاه مرزنجوش از ترکیبات ضد قارچی و آنتی‌اکسیدانی برخوردار است که تعدادی از محققان توانایی بازدارندگی رشد میسیلیومی و تولید اسپور قارچ‌های بیمارگر پس از برداشت را در میوه سیب [۹] و میوه انگور [۱۰] گزارش کرده‌اند. با توجه به استفاده از ترکیبات طبیعی مشروط بر جلوگیری از افت شاخص‌های کمی و کیفی محصولات میوه‌ای در پاسخ به فشار مصرف‌کننده در جهت کاهش یا توقف استفاده از مواد شیمیایی سنتزی، می‌توان تا حد زیادی کاربرد آن‌ها را در صنایع غذایی و فرآوری پس از برداشت محصولات کشاورزی عملیاتی نمود. بر این اساس مطالعه حاضر با هدف دستیابی به یک ترکیب با کارکرد ضد قارچی و آنتی‌اکسیدانی بالا از اسانس مرزنجوش و باکتری باسیلوس سابتیلیس علیه قارچ *P. expensum* در جهت حفظ کیفیت ظاهری میوه گیلاس در زمان نگهداری مورد بررسی قرار گرفت.

## ۲- مواد و روش‌ها

## ۲-۱- تهیه میوه

میوه‌های گیلاس رقم تک دانه مشهد در سال ۱۳۹۷ از یک باغ تجاری واقع در شهرستان اشنویه در مرحله رسیدن (TSS=17%) با رعایت نکات فنی برداشت شد. میوه‌های با ویژگی‌های ظاهری سالم، یک شکل و نیز سطح رسیدگی و

بلوغ یکنواخت انتخاب و بلافاصله جهت انجام تیمارها به آزمایشگاه و سردخانه گروه علوم باغبانی دانشگاه ارومیه منتقل شدند.

## ۲-۲- تهیه اسانس گیاه دارویی مرزنجوش

گیاه دارویی مرزنجوش از مزارع تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه تهیه شد. ماده گیاهی به مقدار ۳۰۰ گرم خرد شدند، سپس اسانس آن‌ها توسط دستگاه کلونجر و به روش تقطیر با آبه مدت ۴ ساعت تهیه گردید. اسانس به دست آمده بعد از آب‌گیری در شیشه‌های تیره رنگ در درون یخچال در دمای ۴ درجه سلسیوس تا زمان انجام آزمون و آنالیز ترکیب‌های آن نگهداری شد [۱۱].

## ۲-۳- تهیه و کشت قارچ بیمارگر

یک سویه قارچ بیمارگر *P. expansum* از کلکسیون میکروبی گروه گیاه پزشکی دانشگاه ارومیه تهیه و بر روی محیط کشت سیب زمینی دکستروز آگار (PDA) کشت شد و در دمای ۲۷ درجه سلسیوس به مدت هفت روز نگهداری شد. پس از کامل شدن رشد پرگنه قارچ در دمای پایین‌تر از ۴ درجه سلسیوس قرار داده شدند [۱۲].

## ۲-۴- تهیه و کشت باکتری آنتاگونیست

سویه‌های باکتری *B. subtilis* از کلکسیون میکروبی گروه گیاه پزشکی دانشگاه ارومیه دریافت شدند. پس از کشت سویه‌ها روی محیط کشت نوترینت آگار (NA) جهت نگهداری کوتاه‌مدت، در دمای ۳۰°C به مدت ۲ روز قرار داده شدند. پس از کامل شدن رشد پرگنه‌های باکتریایی، به دمای پایین‌تر (۴ درجه سلسیوس) منتقل شد. از سویه‌های سوسپانسیون باکتری در گلیسرول ۲۵ درصد در دمای ۲۰- درجه سلسیوس جهت نگهداری بلند مدت باکتری‌ها استفاده شد [۱۳].

## ۲-۵- تهیه سوسپانسیون قارچ عامل بیماری

جهت تهیه سوسپانسیون اسپور قارچ عامل بیماری، از کشت ۷ روزه قارچ روی محیط کشت PDA استفاده شد. به این ترتیب مقداری از اسپور قارچ عامل بیماری برداشته شد و در ده میلی‌لیتر آب مقطر استریل حاوی ۰/۰۵ درصد توین ۸۰ غوطه‌ور گردید. با استفاده از لام هموستیومتر گلبول شمار سوسپانسیون اسپور قارچ با تعداد  $1 \times 10^6$  اسپور در میلی‌لیتر تهیه شد [۱۴].

## ۲-۶- تهیه سوسپانسیون باکتری آنتاگونیست

جهت تهیه سوسپانسیون باکتری باسیلوس، از پلیت حاوی پرگنه باکتری یک لوپ برداشته و با ۵۰ میلی‌لیتر محیط محیط مایع نوترینت برات NA مخلوط شد. سپس ارلن مایرها را روی شیکر با سرعت ۲۰۰۰ دور در دقیقه طی ۴۸ ساعت در دمای ۳۰ درجه نگهداری شدند. سپس توسط سانتریفیوژ  $3000 \times g$  در طول ده دقیقه یاخته‌های باکتری از محیط مایع جداسازی و دو بار با آب مقطر استریل شستشو شدند. در نهایت سوسپانسیون باکتری در غلظت ۱۰۸ یاخته در میلی‌لیتر توسط اسپکتروفتومتر تهیه شد [۱۵].

## ۲-۷- تیمار میوه‌ها با قارچ بیمارگر و باکتری

### آنتاگونیست

آلوده‌سازی میوه‌های گیلاس با سوسپانسیون قارچ بیمارگر در غلظت  $10^6$  اسپور در میلی‌لیتر قارچ بیمارگر به روش غوطه‌وری انجام شد. سپس میوه‌های آلوده به قارچ با سوسپانسیون یاخته باکتری آنتاگونیست در غلظت  $10^8$  محلول‌پاشی شدند. میوه‌های تیمار شده بعد از خشک شدن در ظروف پلی استایلین قرار داده شدند و به مدت ۳۰ روز در دمای  $21 \pm 0$  درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۹۵-۹۰ درصد نگهداری شدند. از آب مقطر سترون برای تیمار میوه‌های شاهد استفاده کردیم.

## ۲-۸- تیمار میوه‌ها با قارچ بیمارگر و اسانس

### گیاه دارویی مرزنجوش

آلوده‌سازی میوه‌های گیلاس با سوسپانسیون قارچ بیمارگر در غلظت  $10^6$  اسپور در میلی‌لیتر قارچ بیمارگر به روش غوطه‌وری انجام شد. امولسیون اسانس در محلول ۰/۰۵ توین ۸۰، تهیه شد سپس پنج سطح (صفر (شاهد)، ۲۵۰، ۵۰۰، ۷۵۰ و ۱۰۰۰ میکرولیتر در لیتر) اسانس گیاه مرزنجوش روی میوه‌های آلوده اسپری شدند. میوه‌های تیمار شده بعد از خشک شدن در ظروف پلی استایلین قرار داده شدند و به مدت ۳۰ روز در دمای  $21 \pm 0$  درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۹۵-۹۰ درصد نگهداری شدند. از آب مقطر سترون برای تیمار میوه‌های شاهد استفاده کردیم.

## ۲-۹- صفات مورد اندازه‌گیری

### ۲-۹-۱- pH عصاره میوه

**۲-۹-۶- محتوای آنتی‌اکسیدان کل به روش DPPH**  
جهت اندازه‌گیری میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل به روش DPPH، ابتدا مقداری از عصاره متانولی را ۱۰ برابر رقیق کرده و با ۲۰۰۰ میکرولیتر محلول DPPH مخلوط نموده سپس محلول حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در دمای آزمایشگاه ۳۰ دقیقه نگهداری شد و قرائت جذب در طول موج ۵۱۷ توسط دستگاه اسپکتروفتومتر صورت گرفت. تهیه شاهد (Blank) نیز به روش بالا صورت گرفت با این تفاوت که از اتانول ۸۰ درصد به جای عصاره ۵۰ میکرولیتر استفاده گردید [۱۸].

$$RSA = \left( \frac{(Abs\ control)t = 30\ min - (Abs\ sample)t = 30\ min}{(Abs\ control)t = 30\ min} \right) \times 100$$

که در آن Abs blank: میزان جذب بلانک و Abs sample: میزان جذب نمونه می‌باشند.

### ۲-۹-۷- میزان پوسیدگی قارچی

به‌عنوان درصد میزان آلودگی میوه به قارچ بیمارگر پنی‌سیلیوم اکسپنسوم می‌باشد. بنابراین با مشاهده چشمی و بصری ارزیابی شدند و به صورت درصد بیان شدند. بر اساس پوسیدگی موجود روی میوه‌ها به صورت نمره‌های ۱: میوه‌های بدون پوسیدگی (عالی)، ۲: خوب (۲۵ درصد پوسیدگی)، ۳: متوسط (۵۰ درصد پوسیدگی)، ۴: ضعیف (۷۵ درصد پوسیدگی) و ۵ (۱۰۰ درصد پوسیدگی) بررسی شدند [۱۶].

### ۲-۱۰- تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

جهت تجزیه و تحلیل آماری داده‌های این پژوهش، از نرم افزار SAS، بر اساس آزمون فاکتوریل سه عاملی در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی استفاده گردید. مقایسه میانگین صفات بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام گرفت و برای ترسیم نمودارها از برنامه Excel 2016 استفاده شد.

### ۳- نتایج و بحث

نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد که اثر ساده اسانس مرزنجوش و زمان نگهداری در سطح احتمال ۱ درصد و اثر باکتری باسیلوس در سطح احتمال ۵ درصد بر میزان اسیدیتیه قابل تیتراسیون معنی‌دار بوده است. همچنین اثرات متقابل اسانس مرزنجوش و باکتری باسیلوس، اسانس مرزنجوش و زمان نگهداری در سطح احتمال ۱ درصد و اثرات متقابل باکتری باسیلوس و زمان نگهداری در سطح احتمال ۵ درصد بر میزان اسیدیتیه قابل تیتراسیون معنی‌دار بود (جدول ۱).

برای اندازه‌گیری pH آب میوه از دستگاه pH متر دیجیتال مدل (pH- Meter CG 82) طبق استاندارد ملی ایران به شماره ۴۱۲۴ استفاده شد (استاندارد ملی ایران، ۱۳۷۵).

### ۲-۹-۲- مواد جامد محلول (TSS)

جهت اندازه‌گیری مواد جامد محلول، از دستگاه رفراکتومتر دستی مدل ATAGO استفاده شد که میزان درصد مواد جامد محلول بر حسب درجه بریکس قرائت گردید.

### ۲-۹-۳- اسیدیتیه قابل تیتراسیون (TA)

ابتدا ۱۰ میلی‌لیتر از عصاره میوه را با ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط کرده و عمل تیتراسیون با قرار گرفتن الکتروود pH متر دیجیتال مدل (pH-Meter CG824) توسط هیدروکسید سدیم ۰/۱ نرمال تا pH=۸/۲ صورت گرفت، بر اساس مقدار هیدروکسید سدیم مصرفی در جریان تیتراسیون مقدار اسید موجود در عصاره میوه به صورت گرم اسید در ۱۰۰ میلی‌لیتر عصاره میوه (گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر) محاسبه شد. مقدار اسیدیتیه قابل تیتراسیون برحسب معادل اسیدیتیه (گیلاس) مطابق رابطه زیر محاسبه گردید.

$$TA = \left( \frac{S \times N \times F \times E}{C} \right) \times 100$$

که در آن TA: مقدار اسیدهای آلی موجود در عصاره میوه (گرم بر ۱۰۰ ml)، S: مقدار NaOH مصرف شده (ml)، N: نرمالته NaOH، F: فاکتور NaOH، C: مقدار عصاره میوه (ml) و E: اکی‌والان اسیدیتیه مورد نظر (اسید مالیک) می‌باشند. لازم به توضیح است که اسید غالب گیلاس (اسید مالیک) با وزن اکی‌والان ۶۷ درصد می‌باشد که اسیدیتیه برحسب این اسید به دست آمده است.

### ۲-۹-۴- درصد کاهش وزن میوه‌ها

برای تعیین میزان کاهش وزن میوه‌ها پیش از ورود به انبار نگهداری با ترازوی دیجیتالی مدل CANDGL300 وزن شده و بعد از خروج از آن در روزهای ۱۵ و ۳۰ آزمایش، مجدداً توزین شدند و میزان کاهش وزن میوه‌ها از طریق اندازه‌گیری اختلاف بین وزن اولیه و وزن ثانویه طبق رابطه زیر محاسبه گردید [۱۶].

=درصد کاهش وزن میوه

$100 \times \left( \frac{\text{وزن میوه قبل از نگهداری} - \text{وزن میوه در انتهای نگهداری}}{\text{وزن میوه قبل از نگهداری}} \right)$

### ۲-۹-۵- تعیین سختی بافت میوه

به منظور ارزیابی سختی بافت میوه از دستگاه بافت سنج مدل TA-XTPlus ساخت کمپانی استیل میکروسستم انگلستان استفاده گردید. با پروپ ۶ میلی‌متر اندازه‌گیری و برحسب نیوتون بیان گردید [۱۷].

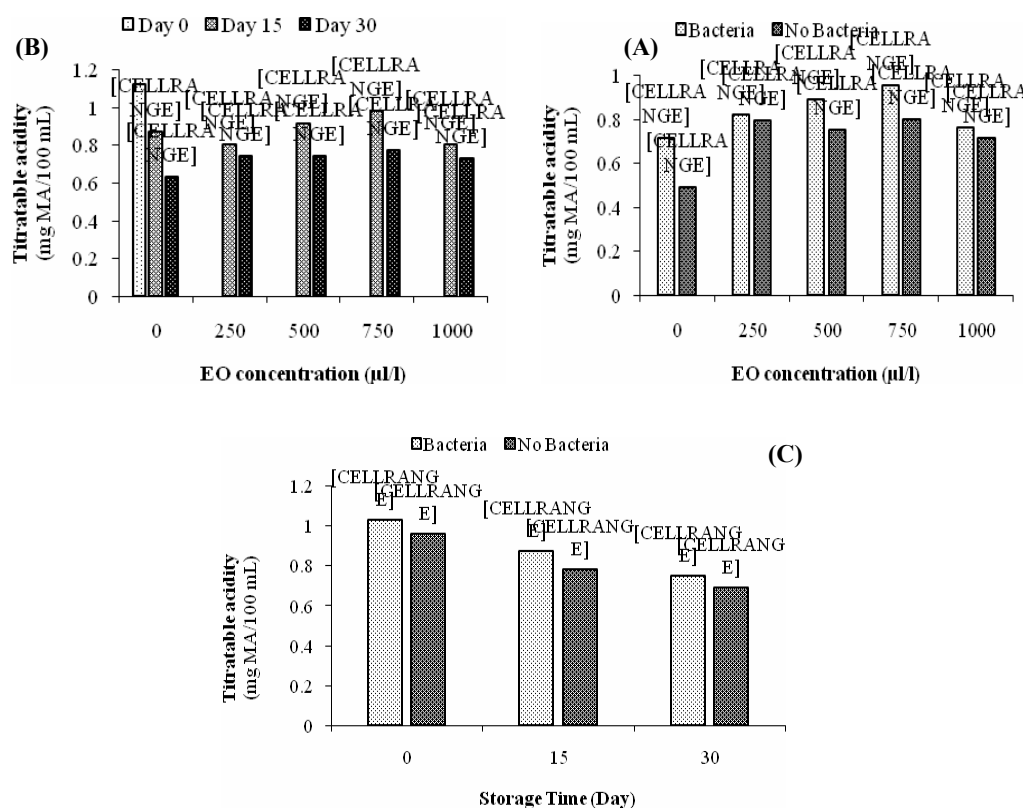
**Table 1** Analysis of variance of studied traits in cherry fruit

S.O.V.	df	Mean square						
		Titratable acidity	pH	Total soluble solids	Firmness	Weight Loss	DPPH	Fungal decay
Bacteria (A)	1	0.016*	0.001 <sup>ns</sup>	0.01 <sup>ns</sup>	0.003**	0.50**	437.9**	25.3**
Essential oil (B)	4	0.02**	0.77**	77.9**	0.011**	0.59**	571.4**	629**
Time (C)	1	0.33**	0.43*	17.1**	0.106**	4.48**	7209**	1000**
A * B	4	0.03**	0.06*	1.4 <sup>ns</sup>	0.0001 <sup>ns</sup>	0.01 <sup>ns</sup>	79.3*	4.22**
A * C	1	0.014*	0.006 <sup>ns</sup>	4.3*	0.0001 <sup>ns</sup>	0.09**	101.8*	8.82**
B * C	4	0.01**	0.11**	2.36*	0.003*	0.14**	157.1**	7.79**
A * B * C	4	0.005 <sup>ns</sup>	0.06*	0.64 <sup>ns</sup>	0.0004 <sup>ns</sup>	0.002 <sup>ns</sup>	14.66 <sup>ns</sup>	0.27 <sup>ns</sup>
Error	40	0.003	0.02	1.10	0.0002	0.011	24.82	1.03

ns, \* and \*\*: Non-significant and significant statistical difference at 5% and 1% probability levels, respectively.

جلوگیری کردند. بر اساس مقایسه میانگین اثرات متقابل باکتری باسیلوس و زمان نگهداری، با افزایش زمان مقدار اسیدهای آلی کاهش پیدا کرده است که این کاهش در میوه‌های بدون تیمار باکتری بیشتر است، تیمار باکتری در روز ۱۵ام بیشترین تأثیر را در حفظ مقدار اسیدهای آلی داشت (شکل ۱ (C).

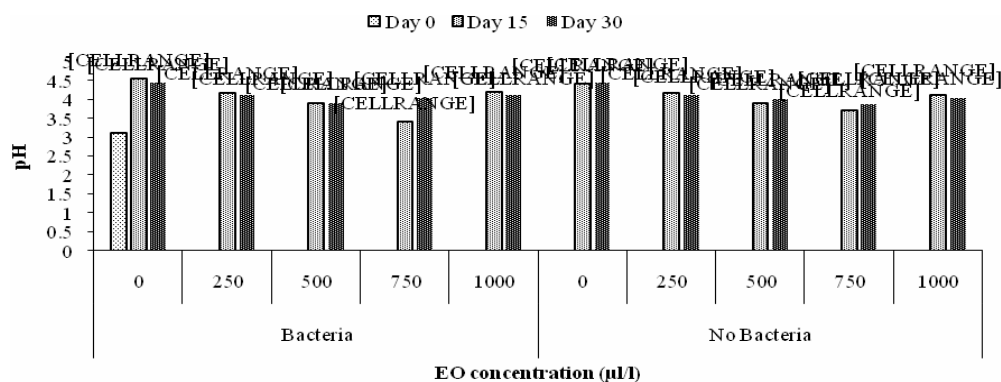
مقایسه میانگین اثرات متقابل اسانس مرزنجوش و زمان نگهداری در شکل ۱ (A) ارائه شده است. بیشترین میزان اسیدیته قابل تیتراسیون مربوط به اسانس ۷۵۰ میکرولیتر در لیتر در روز ۱۵ام بود. شکل ۱ (B) نشان‌دهنده مقایسه میانگین اثرات متقابل اسانس مرزنجوش و باکتری باسیلوس می‌باشد. مطابق آن تیمار ترکیبی اسانس مرزنجوش ۷۵۰ میکرولیتر در لیتر و باکتری باسیلوس از کاهش اسیدیته قابل تیتراسیون



**Fig 1** Comparison of the mean titratable acidity of cherry fruit under the effects of EO \* storage time (A), EO \* *B. subtilis* (B) and *B. subtilis* \* storage time (C). Different letters indicate significant statistical difference ( $p < 0.05$ ).

حالت بدون تیمار باکتری، کمترین pH مربوط به تیمار ۷۵۰ میکرولیتر در لیتر اسانس در روز ۱۵ام بود و بیشترین مقدار آن مربوط به تیمار شاهد در روز ۳۰ام می‌باشد. باتوجه به نتایج مشابه در تیمار باکتری و تیمار بدون آن می‌توان دریافت که تأثیر باکتری باسیلوس روی pH عصاره میوه چشم‌گیر نبوده است.

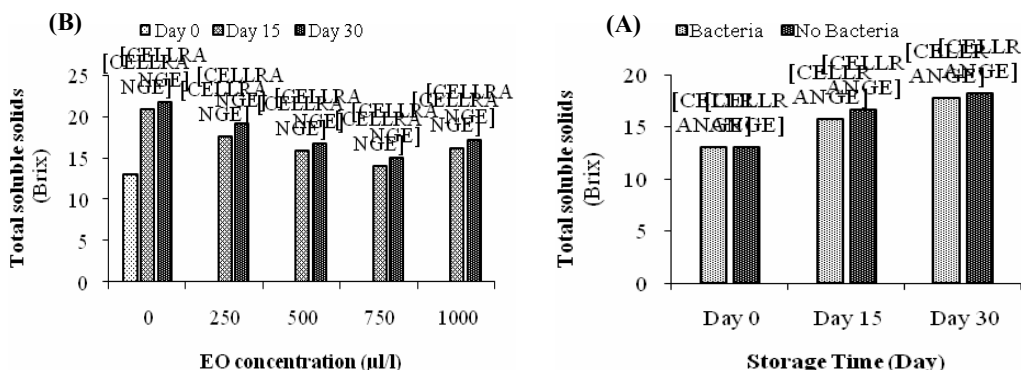
اثرات ساده اسانس مرزنجوش و زمان نگهداری بر میزان pH عصاره میوه گیلاس معنی‌دار بود، در حالی که اثر باکتری باسیلوس غیرمعنی‌دار شد. همچنین اثر متقابل بین این سه عامل نیز در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بوده است (جدول ۱). مطابق شکل ۲ در هر دو حالت تیمار باکتری و بدون آن مقدار pH با افزایش زمان نگهداری افزایش پیدا کرده است. در تیمار ترکیبی اسانس مرزنجوش و باکتری باسیلوس و همچنین در



**Fig 2** Comparison of the mean pH of cherry fruit under the effect of EO \* *B. subtilis* \* storage time. Different letters indicate significant statistical difference ( $p < 0.05$ ).

زمان افزایش پیدا کرده است. تمام غلظت‌های اسانس مرزنجوش با اختلاف معنی‌داری با شاهد باعث جلوگیری از افزایش TSS می‌شوند. کمترین میزان مواد جامد محلول مربوط به تیمار ۷۵۰ میکرولیتر در لیتر اسانس و بیشترین مقدار آن مربوط به داده‌های شاهد در روز ۳۰ام بود (شکل ۳A). همچنین نتایج ما نشان می‌دهند که تیمار باکتری باسیلوس در روز ۱۵ام به خوبی میزان TSS را نسبت به روز ۳۰ام حفظ کرده است (شکل ۳B).

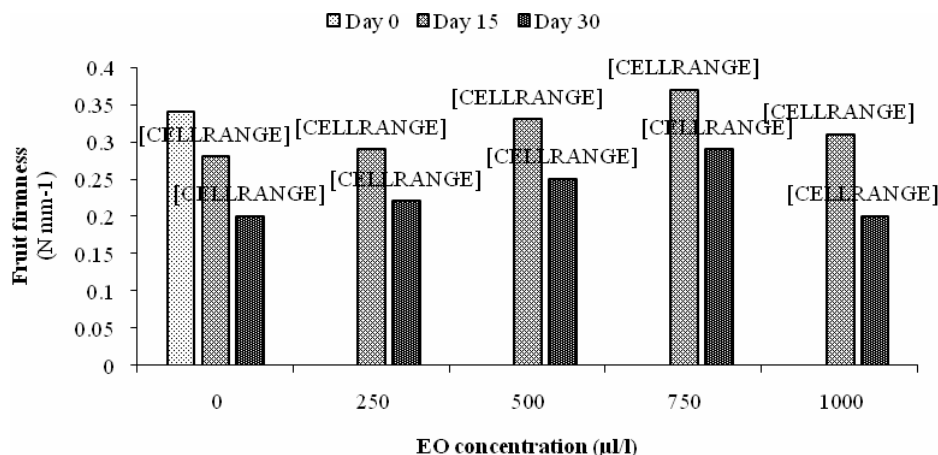
نتایج جدول تجزیه واریانس نشان می‌دهد که اثرات ساده اسانس مرزنجوش و زمان نگهداری بر میزان مواد جامد محلول در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بوده است اما اثر باکتری باسیلوس از نظر آماری معنی‌دار نبوده است. از سویی دیگر، اثرات متقابل اسانس مرزنجوش و زمان نگهداری، باکتری باسیلوس و زمان نگهداری در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود اما اثرات متقابل اسانس مرزنجوش و باکتری باسیلوس از نظر آماری معنی‌دار نشد. در این تحقیق، میزان TSS با افزایش



**Fig 3** Comparison of the mean total soluble solids of cherry fruit under the effects of EO \* storage time (A) and *B. subtilis* \* storage time (B). Different letters indicate significant statistical difference ( $p < 0.05$ ).

مرزنجوش از نظر آماری معنی‌دار نبود (جدول ۱). با توجه به مقایسه میانگین اثرات متقابل اسانس و زمان نگهداری متوجه می‌شویم که با افزایش زمان نگهداری سفتی بافت میوه کاهش پیدا کرده است. تیمار ۷۵۰ میکرولیتر در لیتر در روز ۱۵ام مؤثرترین تیمار در حفظ سفتی بافت میوه بود (شکل ۴).

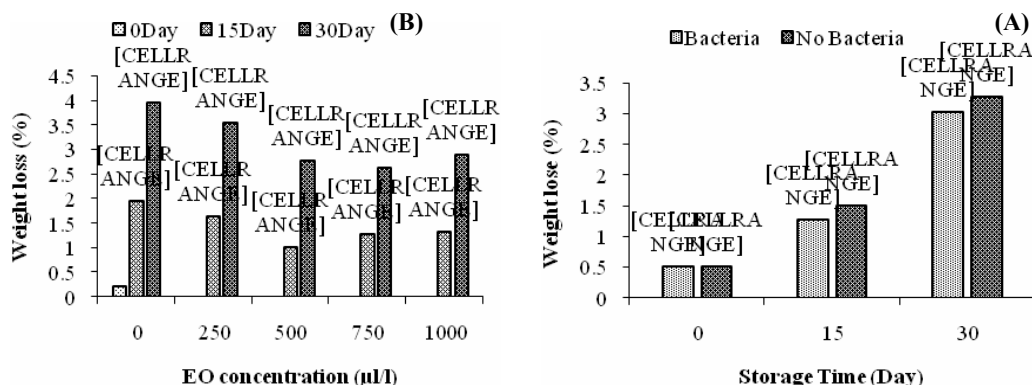
اثر ساده اسانس مرزنجوش، باکتری باسیلوس و زمان نگهداری در سطح احتمال ۱ درصد و همچنین اثرات متقابل اسانس مرزنجوش × زمان نگهداری در سطح احتمال ۵ درصد بر میزان سفتی بافت میوه معنی‌دار بودند. اثرات متقابل باکتری باسیلوس و زمان نگهداری، باکتری باسیلوس و اسانس



**Fig 4** Comparison of the mean firmness of cherry fruit under the effect of EO \* storage time. Different letters indicate significant statistical difference ( $p < 0.05$ ).

نسبت به تیمار شاهد نشان دادند. کمترین میزان درصد کاهش وزن مربوط به تیمار ۵۰۰ میکرولیتر در لیتر و روز ۱۵ام می‌باشد و بیشترین میزان آن مربوط به نمونه شاهد در روز ۳۰ام می‌باشد. از طرفی دیگر، میوه‌های تیمار شده با باکتری در روز ۱۵ام بیشترین تأثیر را در جلوگیری از کاهش وزن میوه داشتند.

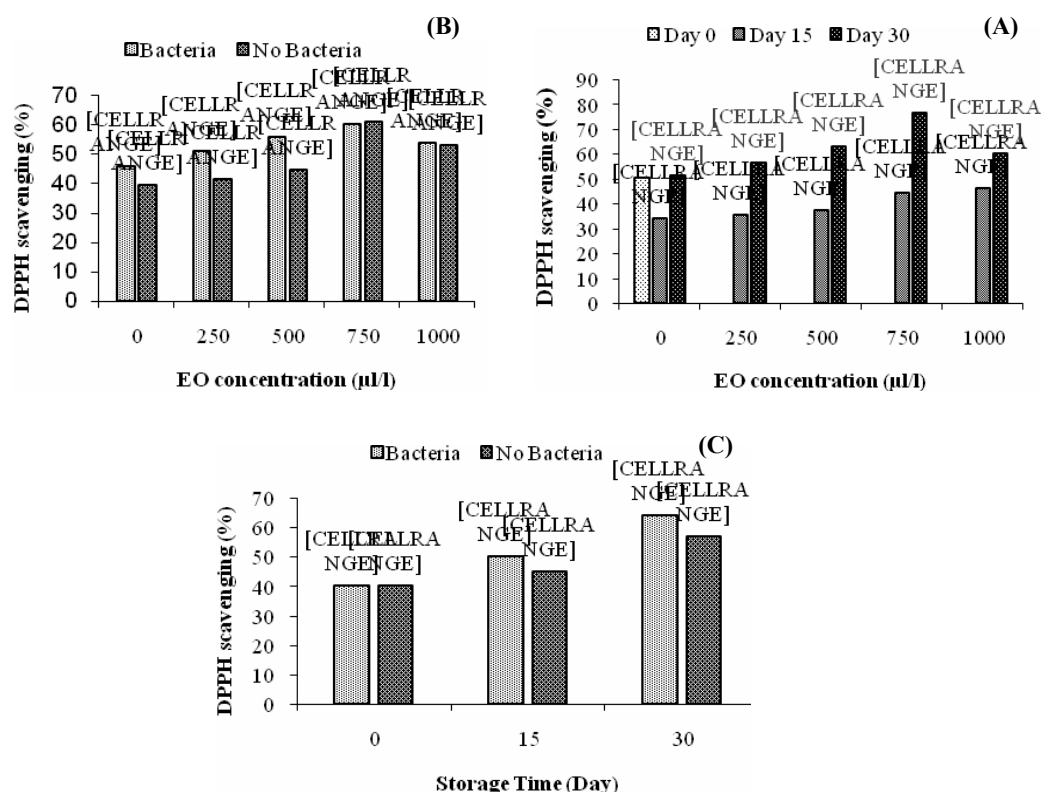
اثرات ساده اسانس مرزنجوش، باکتری باسیلوس، زمان نگهداری و همچنین اثرات متقابل اسانس مرزنجوش × زمان نگهداری و باکتری باسیلوس در زمان نگهداری در سطح احتمال ۱ درصد بر میزان کاهش وزن معنی‌دار بودند (جدول ۱). شکل ۵ مقایسات میانگین تیمارهای مربوطه را بر میزان کاهش وزن نشان می‌دهد که طبق آن میوه‌های تیمار شده با اسانس مرزنجوش با افزایش زمان نگهداری افت وزن کمتری



**Fig 5** Comparison of the mean weight loss of cherry fruit under the effects of EO \* storage time (A) and B. *subtilis* \* storage time (B). Different letters indicate significant statistical difference ( $p < 0.05$ ).

به طوری که بیشترین میزان آن مربوط به تیمار ۷۵۰ میکرولیتر در لیتر اسانس مربوط بود و کمترین میزان آن هم به نمونه شاهد و زمان صفر تعلق داشت. در نهایت، با افزایش زمان میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی افزایش پیدا کرد. به صورتی که بیشترین میزان آن مربوط به میوه‌های تیمار شده با باکتری در روز ۳۰ام بود.

مطابق نتایج تمامی اثرات ساده و اثرات متقابل دو جانبه بر محتوای آنتی‌اکسیدانی کل میوه گیلاس معنی‌دار بود (جدول ۱). مقایسه میانگین این اثرات متقابل دو جانبه در شکل ۶ ارائه شده‌اند. بیشترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدان کل مربوط به تیمار ترکیبی باکتری باسیلوس و غلظت اسانس ۷۵۰ میکرولیتر در لیتر بود. همچنین فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل در تمام تیمارها به تدریج با افزایش غلظت اسانس در هر دو زمان افزایش یافت،

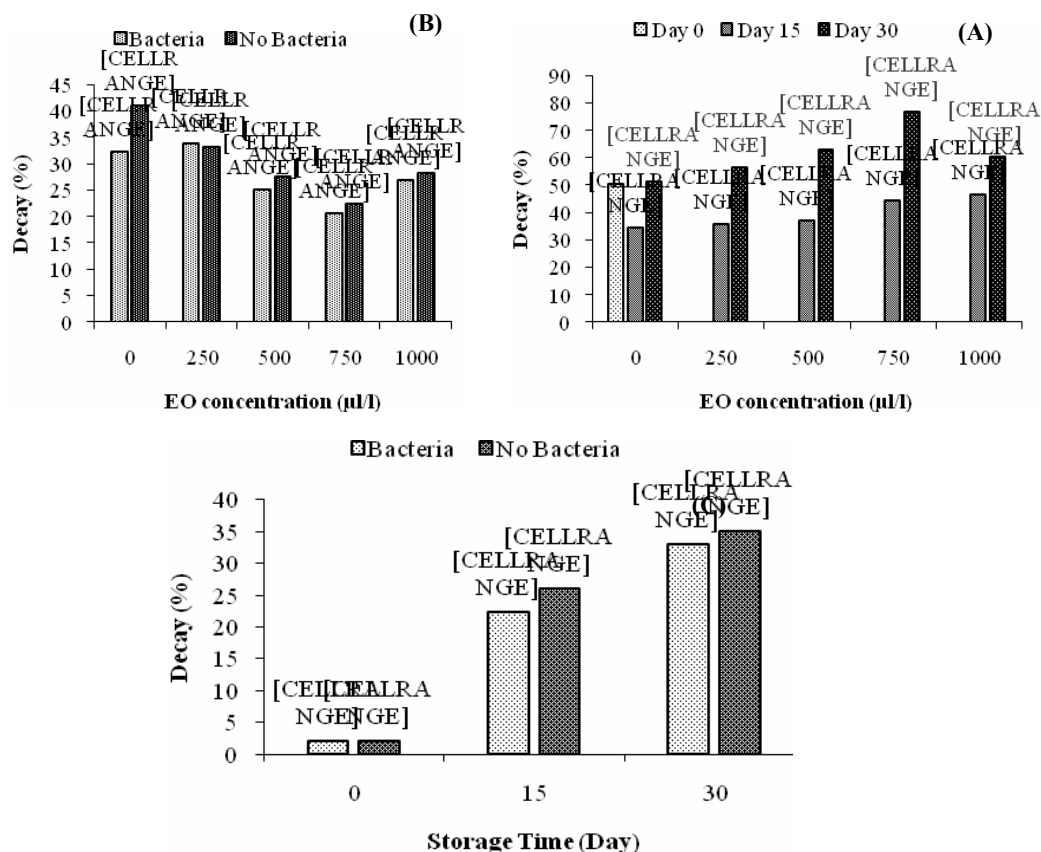


**Fig 6** Comparison of the mean DPPH scavenging capacity of cherry fruit under the effects of EO \* *B. subtilis* (A), EO \* storage time (B) and *B. subtilis* \* storage time (C). Different letters indicate significant statistical difference ( $p < 0.05$ ).

را نشان دادند و بیشترین میزان پوسیدگی مربوط به تیمار شاهد بدون تیمار باکتری بود. در این آزمایش نیز تأثیر باکتری باسیلوس در غلظت صفر اسانس قابل توجه بوده است (شکل ۶A). با افزایش زمان نگهداری میزان پوسیدگی افزایش پیدا کرد. کمترین میزان پوسیدگی مربوط به تیمار ۷۵۰ میکرولیتر بر لیتر بود و بیشترین میزان پوسیدگی در روز ۳۰ام در تیمار شاهد مشاهده شد (شکل ۶B). افزون بر این، با افزایش زمان نگهداری میزان پوسیدگی افزایش پیدا کرده است و کمترین میزان پوسیدگی در روز ۱۵ام در میوه‌های تیمار شده با باکتری مشاهده گردید (شکل ۶C).

نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد که اثرات ساده اسانس مرزنجوش، باکتری باسیلوس و زمان نگهداری در سطح احتمال ۱ درصد بر میزان پوسیدگی معنی‌دار بوده‌اند، از طرفی، اثرات متقابل اسانس مرزنجوش و باکتری باسیلوس، اسانس مرزنجوش و زمان نگهداری و نیز باکتری باسیلوس و زمان نگهداری در سطح احتمال ۱ درصد بر میزان پوسیدگی معنی‌دار بود. میزان پوسیدگی در غلظت‌های مختلف اسانس با اختلاف معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد باعث افزایش کنترل پوسیدگی شدند. تیمار غلظت ۷۵۰ میکرولیتر بر لیتر اسانس مرزنجوش به همراه باکتری باسیلوس کمترین میزان پوسیدگی





**Fig 7** Comparison of the mean decay of cherry fruit under the effects of EO \* *B. subtilis* (A), EO \* storage time (B) and *B. subtilis* \* storage time (C).

Different letters indicate significant statistical difference ( $p < 0.05$ ).

کارواکرو، تیمول، ازنول) روی چند گونه پنیسیلیوم عامل پوسیدگی مرکبات دریافتند که اسانس‌ها و اجزای ترکیبات آن‌ها در کنترل رشد قارچ‌ها قدرت بالایی نشان دادند که بالاترین اثر بخشی مربوط به تیمول بود [۲۱]. با توجه به اینکه مقدار کارواکرو و گاما ترپنین در پژوهش ما تقریباً ۱۰ برابر تیمول می‌باشد، بنابراین ما نتوانستیم خواص اسانس مرزنجوش را به تیمول نسبت دهیم. چنین اثرات ضد قارچی در اسانس مرزنجوش در مطالعات مربوط به افزایش ماندگاری مواد غذایی نیز به اثبات رسیده است [۵]. نتایج پژوهشی که به بررسی اثرات ضد قارچی اسانس مرزنجوش و دارچین در کنترل کپک خاکستری ناشی از قارچ بوتریتیس پرداخته بود، نشان دادند که هر دو اسانس در غلظت ۸۰۰ و ۱۰۰۰ میکرولیتر در لیتر به طور مؤثری رشد قارچ‌ها را کنترل می‌کنند. همچنین به طور غیرمستقیم منجر به افزایش ترکیبات فنلی و فلاوئید و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در میوه میزبان می‌شوند [۲۲].

همان‌طور که ملاحظه شد، اسانس مرزنجوش دارای اثرات کنترلی بر رشد قارچ بیمارگر بود. چنین توانایی در اسانس مرزنجوش را می‌توان به فعالیت ترکیبات مهم آن نظیر کارواکرو نسبت داد. گونه‌های قارچ پنیسیلیوم از مخرب‌ترین فیتوپاتوژن‌ها عوامل فساد پس از برداشت به خصوص در محصولات باغی می‌باشند. حمله عوامل بیماری‌زا اغلب به دنبال صدمات فیزیکی صورت می‌گیرد ولی تعدادی از قارچ‌ها وجود دارند که به بافت‌های سالم نیز حمله برده و شرایط را برای توسعه بقیه عوامل بیماری‌زا هموار می‌سازند [۲]. در خصوص اثر گیاهان معطر و اسانس‌های استخراج شده از آن‌ها به‌عنوان ترکیب ضدقارچ و ضدویروس تاکنون گزارشات مختلفی ارائه گردیده است [۵ و ۱۹]. مکانیسم اثر قارچی اسانس‌ها به خاصیت نفوذپذیری آن‌ها در فسفولیپیدهای غشا سلول‌های قارچی و ایجاد اختلال در غشای عامل بیمارگر بر می‌گردد [۲۰]. در مطالعه‌ای با بررسی فعالیت ضد قارچی ترکیبات اسانس مرزنجوش و میخک

روند در نمونه‌های تیمار شده کندتر بود. اسانس‌ها از طریق کنترل فعالیت اکسیداسیونی بدلیل دارا بودن ترکیبات فنولیک آنتی‌اکسیدانی از کاهش اسیدیت کل میوه ممانعت می‌کنند [۳۰]. در همین باره، بخار اسانس آویشن در میوه گیلاس، منجر به افزایش اسیدیت قابل تیتراسیون نسبت به شاهد شده است [۳۱]. همچنین نتایج تحقیق حاضر نشان داد که باکتری باسیلوس در هردو زمان نگهداری موجب حفظ بهتر میزان اسیدهای آلی شدند. محققان اثبات نموده‌اند که در تیمار میوه‌های لیچی با باکتری *Bacillus amyloliquefaciens* LY-1 اسیدیت قابل تیتراسیون در تمام تیمارها با افزایش زمان کاهش پیدا کرد اما این کاهش در میوه‌های شاهد بیشتر بود [۳۲].

افزایش مقدار pH آب میوه می‌تواند نشان‌دهنده مصرف اسیدهای آلی در طول زمان نگهداری باشد. pH پایین میوه‌های تیمار شده با اسانس مرزنجوش را می‌توان با نقش مثبت اسانس به واسطه ترکیبات فنلی موجود در کاهش فرایند-های متابولیکی خصوصاً تنفس و اتیلن و در نتیجه کاهش هیدرولیز کربوهیدرات‌ها و در نهایت حفظ pH توجیه نمود [۳۳]. در تحقیق حاضر با افزایش زمان نگهداری، میزان pH در همه تیمارها نسبت به شاهد با اختلاف معنی‌داری در سطوح پایین‌تری حفظ گردید؛ که پایین‌ترین سطح pH مربوط به تیمار غلظت ۷۵۰ میکرولیتر در لیتر بود. نتایج این بررسی هماهنگ با نتایج محققین دیگر بر روی میوه هلو [۳۰] و میوه انار [۳۴] بود. ملاحظه گردید که اعمال تیمار اسانس مرزنجوش و باکتری باسیلوس سبب کاهش میزان مواد جامد محلول در میوه‌ها گردید. به‌طوریکه TSS در میوه‌های تیمار شده به مراتب کمتر از نمونه شاهد بود. افزایش TSS در میوه‌های تیمار نشده به علت شکستن کربوهیدرات‌ها، هیدرولیز پلی‌ساکاریدها و مواد پکتینی دیواره سلولی می‌باشد. اسانس‌های گیاهی همانند یک عایق در اطراف میوه با جلوگیری از اتلاف آب که منجر به افزایش غلظت قند در میوه می‌شوند و همچنین مانع از تخریب سلولی باعث کاهش TSS میوه طی زمان نگهداری می‌شوند [۳۵]. در توافقی با یافته‌های این پژوهش، محققان تأثیر اسانس گیاه دارویی خوشاریزه بر کاهش میزان TSS در زمان نگهداری توت‌فرنگی را اثبات نموده‌اند [۳۶]. از طرفی دیگر، با کاربرد باکتری *Bacillus amyloliquefaciens* LY-1 روی میوه لیچی گزارش شد که اگرچه در پایان دوره نگهداری، سطح مواد جامد محلول

فعالیت آنتی‌اکسیدان یکی از فاکتورهای مهم کیفی میوه‌ها و سبزی‌ها است که بر سلامتی انسان موثر است. طی این پژوهش در میوه‌های تیمار شده فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری نسبت به نمونه شاهد مشاهده شد که احتمالاً به این دلیل باشد که تولید رادیکال‌های آزاد در میوه‌های تیمار شده کمتر بوده است و در نتیجه آنتی‌اکسیدان کمتری برای حذف آن‌ها مصرف شده‌اند. تیمار اسانس‌های گیاهی در طی دوره نگهداری با حفظ ترکیبات فنلی موجب حفظ فعالیت آنتی‌اکسیدانی میوه شده‌اند [۲۳]. وجود ترکیبات فنلی و خواص آنتی‌اکسیدانی در گیاه دارویی مرزنجوش به اثبات رسیده است [۲۴]. به نظر می‌رسد، ترکیبات عمده اسانس مرزنجوش شامل کارواکول، آنتول‌ها و فنل‌ها باعث افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی میوه میزبان شده و در نتیجه به کاهش پیری و تحریک پاسخ‌های دفاعی در برابر عوامل بیماری‌زای میکروبی منجر می‌گردد [۲۵]. مشابه نتایج ما، محققان تأثیر اسانس‌های گیاهان دارویی نظیر آویشن باغی و شیرازی، میخک و دارچین را به منظور کنترل پوسیدگی ناشی از کپک سبز در میوه لیمو بررسی کردند؛ نتایج نشان دادند که اسانس‌های گیاهی تأثیر معنی‌داری بر حفظ فعالیت آنتی‌اکسیدانی نسبت به نمونه شاهد داشت [۲۶]. از سوی دیگر، آنتاگونیست‌های میکروبی با تحریک سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی و بیان ژن‌های مقاوم باعث کاهش آسیب اکسیداتیو در میزبان می‌شوند [۲۷]. با بررسی دقیق‌تر مکانیسم‌های کنترل باکتری *Bacillus subtilis* JK-14 علیه بیماری‌های پس از برداشت میوه هلو نتیجه‌گیری شد که تیمار باکتری باسیلوس منجر به افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌گردد [۲۸] که نتایج ما را مورد تأیید قرار داد. همچنین با بررسی ترکیبات آلی فرار تولید شده توسط باکتری *Bacillus subtilis* CF-3 علیه قارچ بیماری‌زای *C. gloeosporioides* روی میوه لیچی گزارش کردند که ترکیبات فرار تولید شده با کاهش فعالیت آنزیم‌های تجزیه‌کننده بافت گیاهی تولیدی از قارچ بیمارگر باعث از بین رفتن گونه‌های فعال اکسیژن و کاهش آسیب سلولی می‌گردند [۲۹]. اسیدیت قابل تیتراسیون طی انبارداری در میوه‌ها کاهش می‌یابد و منجر به شکستن اسیدها به قند در طول تنفس می‌شود و در نتیجه میزان اسیدیت میوه کاهش می‌یابد که این کاهش رابطه مستقیمی با فعالیت‌های متابولیکی دارد. در این پژوهش نیز با گذشت زمان میزان اسیدیت کاهش یافت اما این

افزایش پیدا می‌کند، ولی در میوه‌های تیمار شده TSS کمتر از شاهد بود [۳۲]. به نظر میرسد، کاهش میزان TSS به دلیل فعالیت آنزیم‌های هضم کننده دیواره سلولی و تبدیل پکتین به اسیدگالاکترونیك محلول باشد [۳۲]. سفتی میوه یکی از فاکتورهای مهم در جلب نظر مصرف کننده محسوب می‌شود. نرم شدن بافت میوه‌ها در زمان نگهداری ناشی از افزایش فعالیت آنزیم‌های تجزیه کننده می‌باشد. در تحقیق حاضر با گذشت زمان میزان سفتی میوه‌ها کاهش یافت، منتهی میوه‌های تیمار شده با اسانس مرزنجوش بهتر از شاهد توانستند سفتی میوه را حفظ کنند. اسانس‌های گیاهی به‌عنوان پوشش خوراکی از اتلاف آب و نرم شدن جلوگیری می‌کنند. از طرفی اسانس‌های گیاهان دارویی به واسطه دارابودن ترکیباتی همانند کارواکرول و دیگر ترکیبات فنلی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه میوه‌ها را بالا برده و منجر به کاهش سرعت پیری و نرم‌شدگی میوه‌ها می‌شوند [۳۷]. یکی از دلایلی که اسانس‌ها افت وزن را کاهش می‌دهند، مربوط به ویژگی چربی بودن آن‌هاست که سطح میوه را می‌پوشانند و باعث کاهش میزان تنفس و افت وزن می‌شود و به دنبال آن سفتی میوه حفظ می‌شود. مطالعه ما نشان داد که غلظت ۱۰۰۰ میکرولیتر در لیتر اسانس مرزنجوش هم در ترکیب با باکتری و هم به تنهایی تأثیر کمتری در حفظ سفتی بافت میوه داشت که شاید به این دلیل باشد که غلظت بالای اسانس به‌عنوان تنش عمل کرده و باعث افزایش متابولیسم‌های سلولی می‌گردد، در حالی که در تیمارهای ترکیبی با باکتری مانع از رشد باکتری و تأثیرگذاری آن شده است. در مطالعه‌ای که با هدف کنترل قارچ پنی‌سیلیوم انجام گرفته بود، نتیجه‌گیری شد که سفتی بافت در میوه‌های ازگیل ژاپنی تیمار شده با *Bacillus amyloliquefaciens* B4 نسبت به نمونه‌های شاهد کاهش می‌یابد [۳۸]. مشابه این تأثیر سویه باکتری *Pseudomonas putida* BP25 جهت افزایش عمر انبارداری میوه انبه بررسی شد و نتایج نشان داد سویه باکتری باعث حفظ و افزایش سفتی و پایین آوردن روند کاهش وزن میوه گردید [۳۹].

نتایج این بررسی نشان داد که تیمار ۵۰۰ میکرولیتر در لیتر اسانس مرزنجوش مؤثرترین تیمار در جلوگیری از کاهش وزن میوه گیلاس بود. یافته‌های این تحقیق با نتایج آزمایش Dehestani-Ardakani، Mostofi و [۴۰] در مورد تأثیر اسانس آویشن و پوشش خوراکی چیتوزان روی

میوه انگور مطابقت دارد. افزایش درصد کاهش وزن طی مدت نگهداری در نتیجه تبخیر آب از سطح میوه‌ها است. به طور کلی، تبخیر و تعرق و تنفس محصولات برداشت شده موجب کاهش وزن می‌شود. با گذشت زمان کاهش وزن میوه در تیمارهای مختلف افزایش یافت، اما شدت کاهش وزن در میوه‌های تیمار شده کمتر مشاهده شد، میزان کاهش وزن با افزایش فساد قارچی همبستگی دارد. به احتمال زیاد، اثر بازدارندگی اسانس‌های گیاهی در برابر رشد قارچ‌ها و سایر میکروارگانیسم‌ها می‌تواند سبب کاهش تلفات وزن و از دست دادن آب در میوه‌های تیمار شده شود. اسانس‌های گیاهی با محدود کردن تبادل  $O_2$ ،  $CO_2$  و آب و ایجاد یک اتمسفر تغییر یافته در اطراف سلول‌های میوه میزان تنفس و تولید اتیلن را به حداقل می‌رسانند [۴۱]. در مورد تأثیر کاربرد باکتری باسیلوس محققان گزارش کرده‌اند که روند کاهش وزن در میوه‌های زغال اخته تیمار شده با باکتری باسیلوس سویه *Bacillus subtilis* KLBC BS6 در طول زمان نگهداری نسبت به شاهد آهسته‌تر صورت می‌گیرد. دلیل این امر مربوط به رشد باکتری بر سطح میوه و تشکیل بیوفیلم می‌باشد که مانند یک مانع تبادل  $O_2$  و  $CO_2$  را محدود می‌کند که میزان تنفس و هدر رفتن آب میوه را کاهش می‌دهد و از این طریق باعث کاهش افت وزن میوه می‌شود [۴۲]. اثر کنترل-کنندگی *Bacillus subtilis* L1-21 روی رشد قارچ پنیسیلیوم در میوه پرتقال گزارش شده است [۴۳] که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد. در یک تحقیق دیگر، کنترل بیولوژیک باکتری *Bacillus licheniformis* HG03 علیه عوامل بیماری‌زای میوه هلو در زمان پس از برداشت بررسی شد و نتایج نشان داد که تیمار باکتری باعث القای مقاومت و پاسخ‌های دفاعی شامل افزایش فعالیت آنزیم‌های دفاعی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی می‌شود [۴۴].

#### ۴- نتیجه‌گیری کلی

بر طبق نتایج پژوهش حاضر، نتیجه‌گیری می‌شود که فعالیت آنتی‌اکسیدانی میوه گیلاس با افزایش غلظت اسانس مرزنجوش تقویت می‌گردد. چنین کاربردی از اسانس گیاه دارویی مرزنجوش به‌ویژه در غلظت ۷۵۰ میکرولیتر و باکتری باسیلوس اثرات قابل قبولی در حفظ خصوصیات کیفی میوه گیلاسو کنترل رشد قارچ پنی‌سیلیوم روی میوه گیلاس دارد.

- Minas cheese manufacture. LWT, 157, 113063.
- [6] Dukare, A.S., Prasanna, R., Dubey, S.C., Chaudhary, V., Nain, L., Singh, R. and Saxena, A.K. 2011. Evaluating novel microbe amended composts as biocontrol agents in tomato. *Crop Protection*, 30, 436-442.
- [7] Hadian, Sh., Hassanzadeh, N., Aghajani, M.A., Pordeli, H.R. and Cirvilleri, G. 2019. Evaluation and comparison of the antifungal effect of essential oil of four medicinal plants and molecular identification antagonistic bacteria against fungi decay cause of orange post-harvest by *Penicillium digitatum*. *Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants*, 27(3), 64-76 (In Persian).
- [8] Yang, R., Miao, J., Shen, Y., Cai, N., Wan, C., Zou, L., Chen, C. and Chen, J. 2021. Antifungal effect of cinnamaldehyde, eugenol and carvacrol nanoemulsion against *Penicillium digitatum* and application in postharvest preservation of citrus fruit. LWT, 141, 110924.
- [9] Nikkhah, M., Habibi Najafi, M.B., Hashemi, M. and Farhoosh, R. 2019. Antifungal activity and synergistic effects of thyme, cinnamon, rosemary and marjoram essential oils in combination, against apple rot fungi. *Journal of Food Research (Agricultural Science)*, 29(1), 43-54. (In Persian).
- [10] Rabbani nasab, H., Mousavi, S.A. and Heidarzadeh, N. 2012. Study of antifungal effects of some medicinal plants effect on suppression of growth of post-harvest disease fungal agent of grape in north Khorasan. *Postharvest Physiology and Technology of Horticultural Crops*, 1(3), 91-106 (In Persian).
- [11] Moradi, M., Hassani, A., Sefidkon, F. and Maroofi, H. 2015. Chemical composition of leaves and flowers essential oil of *Origanum vulgare* ssp. *gracile* growing wild in Iran. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 18(1), 242-247.
- [12] Etebarian, H.R., Sholberg, P.L., Eastwell, K.C. and Saylor, R.J. 2005. Biological control of apple blue mold with *Pseudomonas fluorescens*. *Canadian Journal of Microbiology*, 51, 591-598.
- [13] Ahmadzadeh, M. 2013. Biological control of plant diseases- plant probiotic bacteria (2th). University of Tehran Institute Publications (In Persian).
- همچنین اعمال تیمار اسانس مرزنجوش و باکتری باسیلوس سبب حفظ سفتی میوه و کاهش میزان مواد جامد محلول در آن‌ها گردید. غلظت ۱۰۰۰ میکرولیتر در لیتر اسانس مرزنجوش در بهبود برخی از پارامترهای کیفی میوه تأثیر کمتری داشت که ضروری است در انتخاب غلظت مناسب دقت کافی لحاظ شود. در نهایت، با توجه به تأثیرات سوء مواد شیمیایی روی سلامت انسان و محیط‌زیست و همچنین مقرون به صرفه‌تر بودن ترکیبات طبیعی، می‌توان اسانس گیاهان دارویی را به‌عنوان جایگزین بالقوه و مناسبی برای ترکیبات شیمیایی در جهت افزایش مدت زمان نگهداری محصولات میوه‌ای در زمان پس از برداشت پیشنهاد نمود. در همین راستا لازم است، تحقیقات آتی نیز در این زمینه افزایش یابد.

## ۵- منابع

- [1] Barad, S., Sela, N., Kumar, D., Kumar-Dubey, A., Glam-Matana, N., Sherman, A. and Prusky, D. 2016. Fungal and host transcriptome analysis of pH-regulated genes during colonization of apple fruits by *Penicillium expansum*. *BMC Genomics*, 17(1), 1-27.
- [2] Zhou, T., Wang, X., Ye, B., Shi, L., Bai, X. and Lai, T. 2018. Effects of essential oil decanal on growth and transcriptome of the postharvest fungal pathogen *Penicillium expansum*. *Postharvest Biology and Technology*, 145, 203-212.
- [3] Elshafie, H.S. and Camele, I. 2016. Chapter 5: Investigating the effects of plant essential oils on postharvest fruit decay. In *Fungal Pathogenicity*, Intech: Rijeka, Croatia, ISBN 978-953-51-4624-7.
- [4] Tzortzakis, N., Taybi, T., Antony, E., Singleton, I., Borland, A. and Barnes, J. 2013. Profiling shifts in protein complement in tomato fruit induced by atmospheric ozone-enrichment and/or wound-inoculation with *Botrytis cinerea*. *Postharvest Biology and Technology*, 78, 67-75.
- [5] de Campos, A.C.L.P., Nandi, R.D.S., Scandorieiro, S., Gonçalves, M.C., Reis, G.F., Dibo, M., Medeiros, L.P., Panagio, L.A., Fagan, E.P., Kobayashi, R.K.T. and Nakazato, G. 2022. Antimicrobial effect of *Origanum vulgare* (L.) essential oil as an alternative for conventional additives in the

- sinensis* (L.) Osbeck cv. Salustiana) juice produced under organic and integrated farming system in Greece. *Scientia Horticulturae*, 129(2), 253-258.
- [24] Jafari Khorsand, G., Morshedloo, M.R., Mumivand, H., Emami Bistgani, Z., Maggi, F. and Khademi, A. 2022. Natural diversity in phenolic components and antioxidant properties of oregano (*Origanum vulgare* L.) accessions, grown under the same conditions. *Scientific Reports*, 12(1), 1-9.
- [25] Jin, P., Wang, S.Y., Gao, H., Chen, H., Zheng, Y. and Wang, C.Y. 2012. Effect of cultural system and essential oil treatment on antioxidant capacity in raspberries. *Food Chemistry*, 132, 399-405.
- [26] Abbasi, M., Mirzaalian Dastjerdi, A., Askari Seyahooei, M., Shamili, M. and Madani, B. 2021. Inhibitory effect of some essential oils on control of green mold (*Penicillium digitatum*) and postharvest quality parameters of lime fruit. *Journal of Food Science and Technology*, 17(109), 167-181 (In Persian).
- [27] Liu, J., Sui, Y., Wisniewski, M., Droby, S. and Liu, Y. 2013. Review: utilization of antagonistic yeasts to manage postharvest fungal diseases of fruit. *International Journal of Food Microbiology*, 167, 153-160.
- [28] Zhang, S., Zheng, Q., Xu, B. and Liu, J. 2019. Identification of the fungal pathogens of postharvest disease on peach fruits and the control mechanisms of *Bacillus subtilis* JK-14. *Toxins*, 11(6), 322.
- [29] Zhao, P., Li, P., Wu, S., Zhou, M., Zhi, R. and Gao, H. 2019. Volatile organic compounds (VOCs) from *Bacillus subtilis* CF-3 reduce anthracnose and elicit active defense responses in harvested litchi fruits. *AMB Express*, 9(1), 1-13.
- [30] Alikhani-Koupaei, M. and Khosravinejad, A. 2019. Effect of microencapsulated essential oils on the storage life of peach fruit (*Prunus persica*, cv *Elberta*). *Iranian Journal of Plant and Biotechnology*, 13(4), 51-60 (In Persian).
- [31] Maghzenani, M., Chiabrand, V., Santoro, K., Spadaro, D. and Giacalone, G. 2018. Effects of treatment by vapour of essential oil from *Thymus vulgaris* and *Satureja montana* on postharvest quality of sweet cherry (cv. Ferrvio). *Journal of Food and Nutrition Research*, 57(2), 161-169.
- [32] Wu, Y., Lin, H., Lin, Y., Shi, J., Xue, S., Hung, Y., Chena, Y. and Wang, H. 2017.
- [14] Gullino, M.L., Migheli, Q. and Mezzalama, M. 1995. Risk analysis in the release of biological control agents: antagonistic *Fusarium oxysporum* as a case study. *Plant Disease*, 79, 1193-1201.
- [15] Janisiewicz, W.J. and Marchi, A. 1992. Control of storage rots on various pear cultivars with a saprophytic strain *Pseudomonas syringae*. *Plant Disease*, 76, 550-560.
- [16] Zhu, S. and Zhou, J. 2007. Effect of nitric oxide on ethylene production in strawberry fruit during storage. *Food Chemistry*, 100, 1517-1522.
- [17] Vargas, J.M., Albors, A., Chiralt, A. and Gonzalez-Martinez, C. 2006. Quality of cold stored strawberries as affected by chitosan-oleic acid edible coatings. *Postharvest Biology and Technology*, 41, 164-171.
- [18] Nakajima, J.I., Tanaka, I., Seo, S., Yamazaki, M. and Saito, K. 2004. LC/PDA/ESI-MS profiling and radical scavenging activity of anthocyanins in various berries. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 5, 241-247.
- [19] Alizadeh Behbahani, B., Falah, F., Lavi Arab, F., Vasiee, M. and Tabatabaee Yazdi, F. 2020. Chemical composition and antioxidant, antimicrobial, and antiproliferative activities of *cinnamomum zeylanicum* bark essential oil. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 5190603-5190608.
- [20] Hyldgaard, M., Mygind, T. and Meyer, R.L., 2012. Essential oils in food preservation: mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. *Frontiers in Microbiology*, 3(12), 1-24.
- [21] Moussa, H., El Omari, B., Chefchaou, H., Tanghort, M., Mzabi, A., Chami, N. and Remmal, A. 2021. Action of thymol, carvacrol and eugenol on *Penicillium* and *Geotrichum* isolates resistant to commercial fungicides and causing postharvest citrus decay. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 43(1), 26-34.
- [22] Almasaudi, N.M., Al-Qurashi, A.D., Elsayed, M.I. and Abo-Elyousr, K.A. 2022. Essential oils of oregano and cinnamon as an alternative method for control of gray mold disease of table grapes caused by *Botrytis cinerea*. *Journal of Plant Pathology*, 1-12.
- [23] Roussos, P.A. 2011. Phytochemicals and antioxidant capacity of orange (*Citrus*

- [39] Archana, T.J., Gogoi, R., Kaur, C., Varghese, E., Sharma, R.R., Srivastav, M., Tomar, M., Kumar, M. and Kumar, A. 2021. Bacterial volatile mediated suppression of postharvest anthracnose and quality enhancement in mango. *Postharvest Biology and Technology*, 177, 111525.
- [40] Dehestani-Ardakani, M. and Mostofi, Y. 2019. Effect of chitosan edible coating and thymus essential oil on postharvest life of 'shahroudi' table grape. *Plant Production Technology*, 11(2), 97-111 (In Persian).
- [41] Nasrollahzadeh Asl, N. 2013. The effect of food coatings on maintaining quality and increasing the shelf life of fruits and vegetables. *Agricultural and Natural Resources Engineering*, 11(42), 31-36 (In Persian).
- [42] Lu, Y., Ma, D., He, X., Wang, F., Wu, J., Liu, Y., Jiao, J. and Deng, J. 2021. *Bacillus subtilis* KLBC BS6 induces resistance and defence-related response against *Botrytis cinerea* in blueberry fruit. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 114, 101599.
- [43] Li, Y., Xia, M., He, P., Yang, Q., Wu, Y., He, P., Ahmed, A., Li, X., Wang, Y., Munir, S. and He, Y. 2022. Developing *Penicillium digitatum* management strategies on post-harvest citrus fruits with metabolic components and colonization of *Bacillus subtilis* L1-21. *Journal of Fungi*, 8(1), 80.
- [44] Wang, Y., Wang, X., Zhu, J., Wei, H., Ding, Z., Li, X., Liu, Z. and Wang, H. 2022. Biological Control Efficacy of *Bacillus Licheniformis* Hg03 Against Soft Rot Disease of Postharvest Peach. Available at SSRN 4000312.
- Wanga e-ffects of biocontrol bacteria *Bacillus amyloliquefaciens* LY-1 culture broth on quality attributes and storability of harvested litchi fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 132, 81-87.
- [33] Hazbavi, I., Khoshtaghaza, M.H., Mostaan, A. and Banakar, A. 2013. Effect of postharvest hot- water and heat treatment on quality of date palm (cv. Stamaram). *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 14, 153-159.
- [34] Ghfour, M., Soleimani, A., Rabie, V. and Hemmati, R. 2016. Effect of postharvest application of thyme essential oil on quality and shelf-life of pomegranate (*Punica granatum* cv. Tarom red skin) fruit. *Journal of Horticultural Science*, 29(4), 547-555 (In Persian).
- [35] Anusuya, P., Nagaraj, R., Janavi, G.J., Subramanian, K.S., Paliyath, G. and Subramanian, J. 2016. Pre-harvest sprays of hexanal formulation for extending retention and shelf-life of mango (*Mangifera indica* L.) fruits. *Scientia Horticulturae*, 211, 231-240.
- [36] Mozafari, A., Rahimi, R. and Abdossi, V. 2017. Effects of *Echinophora platyloba* essential oil on quantitative and qualitative characteristics of two varieties of strawberries during shelf-life. *Journal of Food Research (Agricultural Science)*, 27(4), 870-102 (In Persian).
- [37] Vilaplana, R., Perez-Revelo, K. and Valencia-Chamorro, S. 2018. Essential oil as an alternative postharvest treatment to control fusariosis, caused by *Fusarium verticillioides*, in fresh Pineapples (*Ananas comosum*). *Scientia Horticulturae*, 238, 255-563.
- [38] Ye, W.Q., Sun, Y.F., Tang, Y.J. and Zhou, W.W. 2021. Biocontrol potential of a broad-spectrum antifungal strain *Bacillus amyloliquefaciens* B4 for postharvest loquat fruit storage. *Postharvest Biology and Technology*, 174, 111439.



## Inhibitory effect of *Origanum vulgare* L. essential oil and *Bacillus subtilis* antagonist on blue mold (*Penicillium expansum*) and post-harvest quality parameters of sweet cherry (*Prunus avium* L.)

Hosseini, Ch. <sup>1\*</sup>, Asghari, M. <sup>2</sup>, Khezri, M. <sup>3</sup>

1. Former M.Sc. Student, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran.

2. Professor, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran.

3. Iranian Research Institute of Plant Protection, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran.

### ARTICLE INFO

### ABSTRACT

#### Article History:

Received 2022/ 07/ 28

Accepted 2023/ 02/ 02

#### Keywords:

Antioxidant,  
Post-harvest,  
Carvacrol, Biological control,  
Marjoram.

**DOI:** 10.22034/FSCT.19.133.43

**DOR:** 20.1001.1.20088787.1401.19.133.4.9

\*Corresponding Author E-Mail:  
[chnoor.hosseini123@gmail.com](mailto:chnoor.hosseini123@gmail.com)

Fruit rot caused by the pathogenic fungus *Penicillium* is one of the most critical factors in reducing the post-harvest life of fruit crops worldwide. In the present study, the effects of marjoram essential oil and *Bacillus* bacteria on the control of rot caused by a blue mold of cherry (*Prunus avium* L.) in the horticultural laboratory of Urmia University was evaluated. Marjoram essential oil was extracted at the flowering stage by Clevenger apparatus and hydro-distillation. First, cherry fruits were infected with mushroom suspension at a concentration of  $10^5$  ha/ml. Then, experimental treatments, including suspension with a concentration of  $10^8$  ha/ml selected strains of antagonist bacteria and marjoram essential oil, were applied at five levels of concentration (0, 250, 500, 750, and 1000  $\mu$ l/l). The fruits were stored in the refrigerator at a temperature of 0 °C and relative humidity of 90-95% for 30 days. Finally, different qualitative traits including titratable acidity, pH, soluble solids, tissue firmness, weight loss, antioxidant activity (DPPH) and fungal rot of the fungus were evaluated at three times (0, 15 and 30 days) and in three replications. The marjoram essential oil at a concentration of 750  $\mu$ l/l and *Bacillus* bacteria was the most effective treatment in maintaining titratable acidity, lowering pH and soluble solids on the 15th day. Also, antioxidant activity was enhanced by increasing the concentration of marjoram essential oil. The lowest rate of fruit weight loss was observed at a concentration of 500  $\mu$ l/l of essential oil during the 15th day. According to our findings, marjoram essential oil compounds, especially carvacrol, as well as *Bacillus* bacteria, as natural compounds and guaranteeing human health, can be suggested as alternatives to chemical compounds in the control of pathogenic fungi in fruit products.