



بررسی مهارکنندگی و کشندگی قارچ‌های عامل کپک‌زدگی میوه پرتقال (پنی‌سیلیوم دیجیتاتوم و پنی‌سیلیوم ایتالیکوم) با استفاده از عصاره هیدروالکی گیاه اشنان

مصطفی رحمتی جنیدآباد^{۱*}، بهروز عزیزاده بهبهانی^۲، محمد نوشاد^۳

- ۱- استادیار، گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران.
 ۲- استادیار، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران.
 ۳- دانشیار، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران.

چکیده

اطلاعات مقاله

تاریخ‌های مقاله:

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۱/۱۸

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۱/۱۵

کلمات کلیدی:

گیاه اشنان،

عصاره هیدروالکی،

فعالیت ضد قارچی،

اثر آنتی‌اکسیدانی.

در مطالعه حاضر، عصاره هیدروالکی گیاه اشنان (*Seidlitziarosmarinus*) با استفاده از روش خیساندن استخراج گردید و اثر ضد میکروبی آن علیه قارچ‌های عامل کپک‌زدگی میوه پرتقال (پنی‌سیلیوم دیجیتاتوم و پنی‌سیلیوم ایتالیکوم) مطابق آزمون‌های دیسک دیفیوژن آگار، چاهک آگار، حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی مورد بررسی قرار گرفت. علاوه بر این، میزان فنول و فلاونوئید تام و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره هیدروالکی گیاه اشنان تعیین گردید. مطابق نتایج آزمون‌های دیسک دیفیوژن و چاهک آگار، فعالیت ضد قارچی عصاره وابسته به غلظت بود و پنی‌سیلیوم دیجیتاتوم حساس‌ترین سویه قارچی در برابر عصاره بود. بعلاوه، هر دو سویه قارچی در حضور ۳۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره قادر به رشد نبودند و حداقل غلظت کشندگی برای پنی‌سیلیوم دیجیتاتوم برابر با ۵۱۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود. محتوای فنول تام و فلاونوئید تام عصاره به ترتیب برابر با ۲۶/۱۹ mg GAE/g و ۱۱/۱۰ mg QE/g بود. نتایج فعالیت آنتی‌اکسیدانی نشان داد عصاره هیدروالکی گیاه اشنان قادر به مهار رادیکال‌های آزاد DPPH (۱۱۲/۱۴) میکروگرم در میلی‌لیتر) و ABTS (۱۰۳/۴۶) میکروگرم در میلی‌لیتر) می‌باشد. بطور کلی، نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که عصاره هیدروالکی گیاه اشنان حاوی ترکیبات فنولی با قابلیت ضد قارچی و آنتی‌اکسیدانی بالقوه می‌باشد.

DOI: 10.52547/fsct.19.124.127

DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.124.30.7

* مسئول مکاتبات:

Rahmati@asnruk.ac.ir

۱- مقدمه

مرکبات در سراسر جهان شناخته شده هستند و در بیش از ۱۳۷ کشور تولید تجاری دارند. کل سطح تولید مرکبات (شامل پرتقال، گریپ‌فروت، لیمو، لیموترش، نارنگی و غیره) در جهان حدود ۹/۷ میلیون هکتار بوده است که در سال ۲۰۱۸ حدود ۱۳۸/۵ میلیون تن میوه از آن برداشت شده است [۱، ۲]. سهم صنعت مرکبات در اقتصاد جهانی بسیار زیاد است و برای میلیون‌ها نفر در سراسر جهان در عملیات برداشت، جابجایی، حمل‌ونقل، ذخیره‌سازی و بازاریابی شغل ایجاد می‌کند. اهمیت مرکبات به دلیل استفاده متنوع از آن است که به طور گسترده‌ای به عنوان میوه تازه، به عنوان آب میوه و یا در قنادی‌ها مصرف می‌شود. مرکبات دارای طعم دلپذیر، رنگ‌های جذاب و آروما هستند و مورد پسند مصرف‌کنندگان قرار می‌گیرند. همچنین دارای ارزش غذایی بالا و ترکیبات زیست فعال متعددی از جمله اسید اسکوربیک (ویتامین C)، اسیدهای فنولیک، فلاونوئیدها، کاروتنوئیدها، پکتین و سایر ترکیبات می‌باشند. مرکبات به دلیل محتوای آب و ترکیبات مغذی بالاتری که دارند، در طول دوره بین برداشت، حمل‌ونقل و مصرف، بسیار مستعد ابتلا به عفونت توسط عوامل بیماری‌زای میکروبی هستند [۳، ۴].

مرکبات بسیار مستعد ابتلا به انواع بیماری‌های پس از برداشت هستند که باعث خسارات زیادی در مرحله پس از برداشت می‌شود. خسارت پس از برداشت، نه تنها برای مرکبات، بلکه برای تمام محصولات غذایی، به دلیل سوء تغذیه جهانی بیشتر مورد توجه قرار گرفته است و تصور می‌شود که جلوگیری از افت یا خسارت پس از برداشت، هدف مشترک جهانی بشر برای موضوع دستیابی جهانی به امنیت غذایی پایدار است [۵، ۶]. مهم‌ترین خسارت مرکبات پس از برداشت، مانند بسیاری از میوه‌های دیگر، به دلیل کاهش وزن و پوسیدگی است که عمدتاً توسط پنی‌سیلیوم ایتالیکوم^۱ (کپک آبی) و پنی‌سیلیوم دیجیتاتوم^۲ (کپک سبز) ایجاد می‌شود. مجموع خسارت ناشی از این دو عامل بیماری‌زا به ترتیب تا ۸۰ و ۳۰ درصد می‌رسد [۷، ۸].

قارچ‌کش‌های شیمیایی اولویت‌های اصلی تولیدکنندگان و صنایع بسته‌بندی برای کنترل پس از برداشت پاتوژن‌ها هستند. با این حال گزارش شده است که استفاده بیش از حد یا

نادرست از مواد شیمیایی کشاورزی منجر به سویه‌های قارچی مقاوم می‌شود که اثربخشی قارچ‌کش‌ها را کاهش می‌دهد و با چندین موضوع زیست‌محیطی و بهداشتی مرتبط است. علاوه بر این، بقایای مواد شیمیایی کشاورزی در مواد غذایی موضوع بحث‌های عمومی متعدد در جهان بوده است که مقبولیت مواد شیمیایی در کشاورزی را کاهش داد. همچنین، سوپرمارکت‌ها، شرکت‌های صادرات مرکبات و کشورها شروع به اتخاذ سیاست‌های سختگیرانه در مورد باقیمانده‌های آفت‌کش‌ها کرده‌اند [۹، ۱۰]. بنابراین، نیاز مهمی به توسعه اقدامات جایگزین کنترل پوسیدگی پس از برداشت برای مواد شیمیایی کشاورزی وجود دارد.

یک روند جهانی جدید برای کشف جایگزین‌هایی که بیماری‌های پس از برداشت را کنترل می‌کنند، با اولویت دادن به روش‌های پیشگیری از پوسیدگی با حداقل تأثیر بر سلامت انسان و محیط‌زیست، پدیدار شده است. در واقع، بهره‌برداری اخیر از محصولات طبیعی برای کنترل فساد بیولوژیکی و افزایش عمر نگهداری مواد فاسدشدنی بیش از پیش مورد توجه قرار گرفته است. به ویژه، آفت‌کش‌های طبیعی مبتنی بر اسانس و عصاره‌های گیاهی به‌عنوان محافظ‌های گیاهی جایگزین حمایت می‌شوند. این ترکیبات طبیعی به طور کلی به عنوان ایمن برای محیط زیست و سلامت انسان شناخته می‌شوند، بنابراین علاقه به استفاده از آن‌ها در هدف کشاورزی پایدار افزایش یافته است و پژوهش‌های زیادی انجام شده است که در بسیاری از موارد ثابت می‌کند که اسانس‌های گیاهی و عصاره‌ها ممکن است نقشی به عنوان مواد دارویی و نگهدارنده مواد غذایی داشته باشند [۱۱-۱۴].

گیاه اشنان (*Seidlitziarosmarinus*) متعلق به خانواده *Chenopodiaceae* است که در مناطق شور قابل انتشار می‌باشد. این گیاه در جیره غذایی گوسفند و شتر استفاده شده و در حاشیه کویر نقش مهمی در حفاظت از خاک ایفا می‌کند [۱۵]. برخی گزارش‌ها حاکی از آن است که این گیاه دارای خواص دارویی بوده و در درماتولوژی استفاده می‌شود. خاکستر باقی مانده پس از سوزاندن برگ‌ها و ساقه‌ها دارای اثر ضد عفونی کننده و ضد باکتریایی است. بافتهای ریشه گیاه اشنان ظرفیت بالایی در جذب مقادیر زیادی مواد قلیایی خاک مانند سدیم و پتاسیم دارند. همچنین گزارش شده است که این

1. *Penicillium italicum*
2. *Penicillium digitatum*

۴-۲- میزان فلاونوئید کل

به طور خلاصه، ۲/۵ میلی لیتر از عصاره با ۲/۵ میلی لیتر معرف AlCl_3 در اتانول ۹۰ درصد مخلوط شد و به مدت ۴۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری گردید. پس از آن، جذب مخلوط در طول موج ۴۱۵ نانومتر با استفاده از اسپکتروفوتومتر اندازه گیری شد. از کوئرستین به عنوان ترکیب استاندارد استفاده شد. همه آزمایش ها در سه تکرار انجام شد و محتوای فلاونوئید کل برای عصاره به صورت میلی گرم معادل کوئرستین در هر گرم (mg QE/g) عصاره بر اساس منحنی کالیبراسیون خطی کوئرستین تعیین شد [۱۹].

۴-۵- فعالیت آنتی اکسیدانی

خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره هیدروالکلی اشنان مطابق روش علیزاده بهبهانی و همکاران (۲۰۱۹) و بر اساس قابلیت آن در مهار رادیکال های آزاد DPPH و ABTS بررسی گردید [۲۰].

۴-۵-۱- فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH

۱۰۰ میکرو لیتر عصاره یا شاهد با ۳/۹ میلی لیتر از محلول اتانولی رادیکالی DPPH (۰/۱۲ میلی مولار) مخلوط شد. محلول به دست آمده به مدت ۳۰ دقیقه در دمای محیط در مکانی تاریک نگهداری شد و جذب آن در طول موج ۵۱۷ نانومتر قرائت گردید. سپس فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH عصاره به صورت زیر اندازه گیری شد:

$$\text{Inhibition (\%)} = [(A_{\text{blank}} - A_{\text{sample}}) / A_{\text{sample}}] \times 100$$

۴-۵-۲- فعالیت مهار رادیکال آزاد ABTS

کاتیون های ABTS ابتدا با واکنش حجم یکسان محلول ۰/۷ میلی مولار ABTS و محلول ۲/۴۵ میلی مولار پتاسیم پرسولفات پس از نگهداری محلول به دست آمده در دمای اتاق و در شرایط تاریک به مدت ۱۶ ساعت، تولید شدند. سپس محلول ABTS با متانول رقیق شد تا به جذب 0.7 ± 0.2 در طول موج ۷۳۴ نانومتر برسد. پس از آن، ۳/۹ میلی لیتر از محلول رقیق شده رادیکالی با ۱۰۰ میکرو لیتر عصاره یا متانول (به عنوان نمونه شاهد) مخلوط شد. محلول به مدت ۶ دقیقه در دمای محیط نگهداری گردید و جذب در طول موج ۷۳۴ نانومتر قرائت شد. فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH عصاره طبق رابطه زیر محاسبه شد:

$$\text{Inhibition (\%)} = [(A_{\text{blank}} - A_{\text{sample}}) / A_{\text{sample}}] \times 100$$

گیاه دارای خواص دارویی بوده و برای درمان برخی آکنه ها استفاده می شود [۱۶].

هدف از این پژوهش، استخراج عصاره هیدروالکلی گیاه اشنان و بررسی خواص ضد میکروبی آن در برابر قارچ های عامل پوسیدگی پرتقال می باشد. علاوه بر این، میزان فنول کل و فلاونوئید کل و اثر آنتی اکسیدانی این عصاره بررسی گردید.

۲- مواد و روش ها

۲-۱- مواد

لینولئیک اسید، معرف فولین-سیوکالتو، رادیکال آزاد $\text{ABTS}^{\cdot-}$ ، رادیکال آزاد DPPH[•] از شرکت سیگما (آمریکا) و محیط های کشت ساپروز دکستروز آگار و ساپروز دکستروز براث از شرکت مرک (آلمان) تهیه شدند.

۲-۲- استخراج عصاره

گیاه اشنان در سایه خشک و توسط آسیاب آزمایشگاهی پودر شدند. در ادامه، پودر گیاه به حلال اتانول (۵۰ درصد) اضافه شد و دیسپرسیون به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد و روی دستگاه شیکر تکان داده شد. پودر گیاه توسط کاغذ صافی از عصاره جداسازی گردید و حلال تازه روی پودرهای گیاه ریخته شد و عصاره گیری به مدت ۲۴ ساعت دیگر تکرار گردید. عصاره ها با همدیگر ترکیب شدند و محلول نهایی توسط دستگاه روتاری و تحت خلأ در دمای ۴۰ درجه سانتی گراد به منظور تبخیر حلال حرارت داده شد. در نهایت از آون جهت خشک کردن عصاره تغلیظ شده استفاده گردید (۵۰ درجه سانتی گراد، ۳ روز) [۱۷].

۲-۳- میزان فنول کل

جهت تعیین میزان فنول کل عصاره، ۱۰۰ میلی لیتر از آن با ۲/۵ میلی لیتر از معرف فولین-سیوکالتو (رقعت ۱۰ برابر) مخلوط شد و واکنش به مدت ۵ دقیقه انجام گردید. سپس ۲/۵ میلی لیتر محلول Na_2CO_3 اشباع به آن اضافه شد و محلول نهایی به مدت ۱ ساعت در دمای محیط نگهداری گردید. در نهایت جذب مخلوط واکنش در ۷۲۵ نانومتر خوانده شود و محتوای پلی فنول کل عصاره به صورت میلی گرم معادل اسید گالیک در هر گرم ماده خشک گیاه (mg GAE/g) بیان شد [۱۸].

توسط کدورت ایجاد شده با چشم، غلظتی از عصاره که هیچگونه کدورتی در محیط ایجاد نکرده بود، به عنوان حداقل غلظت مهارکنندگی گزارش گردید.

۲-۶-۴-۴- حد اقل غلظت کشندگی

در این آزمون، ۱۰۰ میکرولیتر از محیط کشت فاقد کدورت روی سطح محیط کشت ساپروز دکستروز آگار کشت داده شد. گرمخانه گذاری به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد انجام گردید و سپس حداقل غلظتی که سبب جلوگیری از رشد سویه‌های قارچی گردید، به عنوان حداقل غلظت کشندگی عصاره تعیین و گزارش شد.

۲-۷- آنالیز آماری

کلیه آزمایش‌ها در سه تکرار انجام شدند و از نرم‌افزار SPSS و آزمون چند دامنه‌ای دانکن ($p < 0/05$) مطابق آنالیز واریانس یک‌طرفه جهت آنالیز داده‌های این مطالعه استفاده گردید.

۳- نتایج و بحث

نتایج محتوای فنول کل و فلاونوئید کل عصاره هیدروالکلی گیاه اشنان در شکل ۱ گزارش شده است. میزان فنول کل و فلاونوئید کل عصاره به ترتیب برابر با $0/24 \pm \text{mg GAE/g}$ و $26/19 \pm 0/17 \text{ mg QE/g}$ بود.

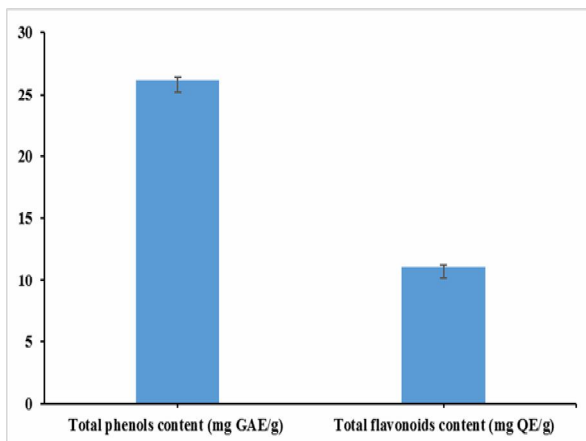


Fig 1 Total phenols and total flavonoids content of *Seidlitziarosmarinus* hydroalcoholic extract.

مطابق نتایج فعالیت آنتی‌اکسیدانی (شکل ۲)، عصاره هیدروالکلی گیاه اشنان قادر به مهار رادیکال‌های آزاد DPPH ($0/36 \pm 112/14$ میکروگرم در میلی‌لیتر) و ABTS ($0/47 \pm 103/46$ میکروگرم در میلی‌لیتر) بود.

لازم به ذکر است که فعالیت آنتی‌اکسیدانی نهایی عصاره بر حسب IC₅₀ (میکروگرم در میلی‌لیتر) گزارش گردید.

۲-۶-۲- فعالیت ضد قارچی

به منظور بررسی فعالیت ضد قارچی عصاره هیدروالکلی گیاه اشنان در برابر سویه‌های قارچی پنی‌سیلیوم دیجیتاتوم و پنی‌سیلیوم ایتالیکوم، از روش‌های ضد میکروبی دیسک دیفیوژن آگار، چاهک آگار، حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی، مطابق روش رحمتی جنیدآباد و علیزاده بهبهانی (۱۴۰۰) استفاده گردید [۲۱].

۲-۶-۲-۱- دیسک دیفیوژن آگار

برای این منظور، ابتدا عصاره (۳۰، ۶۰، ۹۰ و ۱۲۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) توسط فیلتر غشایی با قطر منافذ ۰/۲۲ میکرون استریل گردید. در ادامه، دیسک‌های استریل به مدت ۱۵ دقیقه در عصاره غوطه‌ور و سپس روی سطح محیط کشت ساپروز دکستروز آگار استریل، که قبلاً ۱۰۰ میکرولیتر از هر سویه قارچی روی آن کشت داده شده بود، قرار داده شدند. سپس محیط کشت به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد و در نهایت قطر هاله عدم رشد بر حسب میلی‌متر اندازه‌گیری و به عنوان فعالیت ضد قارچی عصاره گزارش گردید.

۲-۶-۲-۲- انتشار چاهک در آگار

در این روش ضدقارچی، ابتدا چاهک‌هایی با قطر مشخص روی سطح محیط ساپروز دکستروز آگار ایجاد شدند و سپس با ۲۰ میکرولیتر از عصاره استریل (۳۰، ۶۰، ۹۰ و ۱۲۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) و سویه‌های قارچی پر شدند. در ادامه، محیط کشت به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه گذاری شد و در نهایت قطر هاله عدم رشد اطراف هر چاهک بر حسب میلی‌متر اندازه‌گیری گردید.

۲-۶-۲-۳- حداقل غلظت مهارکنندگی

برای انجام این روش ضد قارچی، ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون میکروبی در لوله‌های آزمایش ریخته شد و سپس ۵ میلی‌لیتر از غلظت‌های مختلف عصاره (۴، ۸، ۱۶، ۳۲، ۶۴، ۱۲۸، ۲۵۶ و ۵۱۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) به آن اضافه گردید. لوله‌های آزمایش به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. با بررسی رشد سویه‌های قارچی

نتایج آزمون چاهک آگار نیز در راستای مشاهدات آزمون دیسک دیفیوژن آگار بود (شکل ۴). بطوریکه قطر هاله عدم رشد با افزایش غلظت عصاره بطور معنی داری افزایش یافت و قارچ پنی سیلیوم دیجیتاتوم نسبت به پنی سیلیوم ایتالیکوم در برابر عصاره حساس تر بود. در این راستا، قطر هاله عدم رشد برای سویه های پنی سیلیوم دیجیتاتوم و پنی سیلیوم ایتالیکوم در حضور غلظت ۱۲۰ میلی گرم در میلی لیتر عصاره به ترتیب برابر با ۱۵/۳ و ۱۳/۴ میلی متر بود.

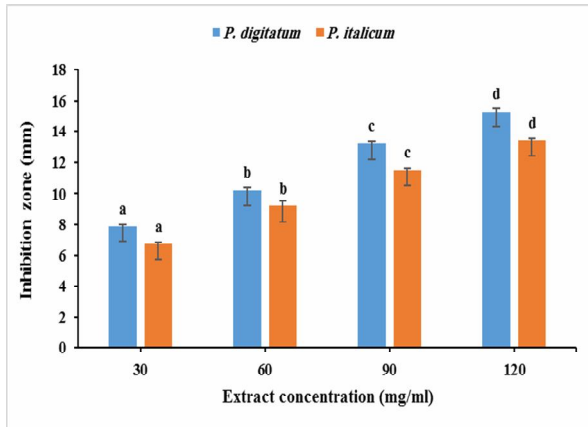


Fig 4 Antifungal activity of *Seidlitziarosmarinus* hydroalcoholic extract, based on well diffusion agar.

لازم به ذکر است که قطر هاله عدم رشد در آزمون چاهک آگار بزرگتر از آزمون دیسک دیفیوژن آگار بود. این حالت ممکن است به دلایلماس مستقیم بینعصاره و میکروارگانیسم در روش چاهک آگار باشد. در حالی که، انتشار عصاره از سطح دیسک به محیط، اثر قارچی آن را در روش دیسک دیفیوژن آگار تعیین می کند [۱۲-۱۴، ۲۰-۲۴].

نتایج آزمون حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی در جدول ۱ ارائه شده است.

سویه های قارچی در حضور غلظت پایین عصاره ($16 \leq \text{mg/ml}$) قادر به رشد بودند. اما غلظت های بالاتر عصاره هیدروالکلی گیاه اشنان ($\geq 32 \text{ mg/ml}$) از رشد سویه های قارچی جلوگیری نمود.

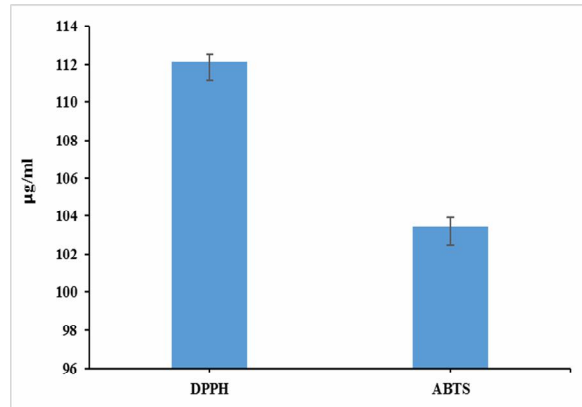


Fig 2 Antioxidant activity of *Seidlitziarosmarinus* hydroalcoholic extract.

نتایج فعالیت ضد قارچی عصاره هیدروالکلی گیاه اشنان بر پایه روش دیسک دیفیوژن آگار در شکل ۳ ارائه شده است. اثر ضد قارچی عصاره وابسته به غلظت بود. افزایش غلظت عصاره از ۳۰ به ۱۲۰ میلی گرم در میلی لیتر سبب افزایش معنی دار قطر هاله عدم رشد از ۷/۲ میلی متر به ۱۴/۵ میلی متر برای قارچ پنی سیلیوم دیجیتاتوم و ۶/۶ میلی متر به ۱۳ میلی متر برای قارچ پنی سیلیوم ایتالیکوم گردید. علاوه بر این، سویه های قارچی رفتار متفاوتی نسبت به اثر ضد قارچی عصاره نشان دادند و پنی سیلیوم دیجیتاتوم حساسیت بیشتری نسبت به پنی سیلیوم ایتالیکوم نشان داد.

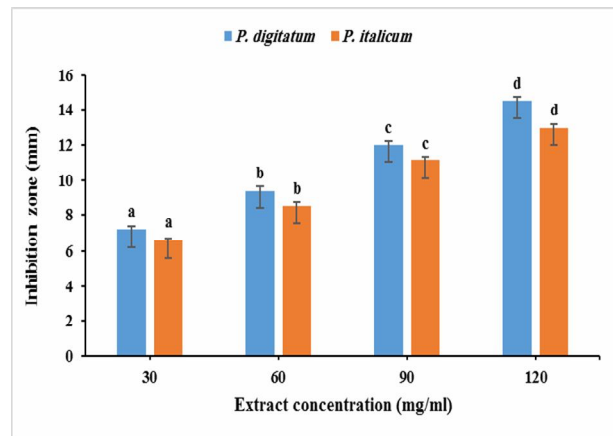


Fig 3 Antifungal activity of *Seidlitziarosmarinus* hydroalcoholic extract, based on disk diffusion agar.

Table 1 Minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum fungicidal concentration (MFC) of *Seidlitziarosmarinus* hydroalcoholic extract

Fungi species	MIC (mg/ml)									MFC (mg/ml)
	Extract concentration (mg/ml)									
	4	8	16	32	64	128	256	512	Control	
<i>P. digitatum</i>	+	+	+	-	-	-	-	-	-	512
<i>P. italicum</i>	+	+	+	-	-	-	-	-	-	> 512

+, grow; -, not grow.

عصاره گیاه اشنان تائید گردید [۲۷]. تفاوت‌های مشاهده شده در میزان ترکیبات فنولی/فلاونوئیدی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضد قارچی عصاره گیاه اشناندر این مطالعه در مقایسه با یافته‌های سایر محققین ممکن است به روش‌های مختلف استخراج و قسمت‌های گیاهی مورد استفاده برای استخراج اسانس/عصاره نسبت داده شود. علاوه بر این، منشأ، تنوع، بلوغ در هنگام برداشت و کیفیت مواد خام در کنار پیش تیمارها و روش‌های استخراج، عملکرد و ترکیب اسانس/عصاره حاصل را تحت تأثیر قرار می‌دهند [۱۳، ۲۰، ۲۸، ۲۹].

۴- نتیجه‌گیری نهایی

مطابق نتایج این مطالعه، عصاره هیدروالکلی گیاه اشنان بطور مؤثری سبب مهار رادیکال‌های آزاد DPPH و ABTS گردید که عمدتاً ناشی از حضور ترکیبات فنولی زیست فعال در گیاه اشنان می‌باشد. علاوه بر این، قارچ‌های عامل فساد و پوسیدگی پرتقال (پنی‌سیلیوم دیجیتاتوم و پنی‌سیلیوم ایتالیكوم) در حضور غلظت‌های بالای عصاره هیدروالکلی اشنان قادر به رشد نبودند. بنابراین، عصاره هیدروالکلی گیاه اشنان قابلیت استفاده بعنوان ترکیب ضد میکروب و آنتی‌اکسیدان طبیعی جهت جلوگیری از بیماری‌های پس از برداشت میوه‌ها و سبزیجات و درمان بیماری‌های ناشی از استرس‌های اکسیداتیو را دارا می‌باشد. با اینحال، با شناسایی نوع ترکیبات مؤثره در عصاره هیدروالکی گیاه اشنان می‌توان مطالعات جامع‌تری در ارتباط به ویژگی‌های بیولوژیکی آن انجام داد.

۵- تقدیر و تشکر

نویسندگان مقاله بر خود لازم می‌دانند از معاونت پژوهشی و فناوری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان به دلیل حمایت‌های مادی و معنوی صمیمانه تشکر و قدردانی نمایند.

۶- منابع

- [1] F. Fao, "Food and agriculture organisation of the United Nations," vol. 15, 2016.
- [2] M. Ismail and J. Zhang, "Post-harvest citrus diseases and their control," *Outlooks on Pest Management*, vol. 15, no. 1, p. 29, 2004.

نتایج آزمون حداقل غلظت کشندگی نشان داد که پنی‌سیلیوم دیجیتاتوم نسبت به پنی‌سیلیوم ایتالیكوم در حضور غلظت کمتری از عصاره غیرفعال می‌گردد که در راستای نتایج آزمون‌های دیسک دیفیوژن آگار و چاهک آگار می‌باشد.

فعالیت ضدقارچی عصاره هیدروالکلی گیاه اشنان ممکن است ناشی از این حقیقت باشد که به علت ماهیت آبگریز اسانس و عصاره‌های هیدروالکلی، این ترکیبات زیست فعال قادر به نفوذ در میسلیم قارچ و جلوگیری از رشد آن می‌باشند. اگرچه، مکانیسم دقیقی در ارتباط با اثر ضدقارچی آن‌ها وجود ندارد و این حالت عمدتاً بدلیل حضور ترکیبات مختلف در اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی می‌باشد. با اینحال، گزارش شده است که این ترکیبات قادر به افزایش نفوذپذیری و تخریب غشاء، کاهش اندازه قارچ و اصلاح مورفولوژی سلولی می‌باشند [۲۱]. تاکنون مطالعات کمی در مورد ترکیبات فیتوشیمیایی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و فعالیت ضد قارچی عصاره هیدروالکلی گیاه اشنان صورت گرفته است. عزیزیان شرمه و طاهری زاده (۲۰۱۴) گزارش نمودند که عصاره اتانولی گیاه اشنان حاوی $7/26 \text{ mg GAE/g}$ فنول کل و $48/36 \text{ mg QE/g}$ فلاونوئید کل می‌باشد و فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن بر اساس قدرت مهار رادیکال آزاد DPPH برابر با $73/63$ میکروگرم در میلی‌لیتر گزارش گردید [۲۵]. عزیزیان شرمه و همکاران (۱۳۹۶) با بررسی میزان فنول کل، فلاونوئید کل، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و فعالیت ضد میکروبی عصاره‌های آبی، متانولی و اتانولی گیاه اشنان بیان نمودند که عصاره متانولی و آبی به ترتیب دارای بیشترین و کمترین قدرت مهار رادیکال آزاد DPPH (۱۵۰ - ۱۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر بر حسب IC_{50})، محتوای فنول ($25 - 15 \text{ mg GAE/g}$)، محتوای فلاونوئید ($20 - 12 \text{ mg QE/g}$) و فعالیت ضد قارچی علیه *آسپیرژیلبوس* نایجر (۱۱ - ۵ میلی‌متر) و *کاندیدا آلبیکنز* (۱۵ - ۱۰ میلی‌متر) می‌باشند [۲۶]. در مطالعه‌های دیگر، دوابی و همکاران (۱۳۹۹) بیان داشتند که عصاره اتانولی دارای بیشترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی و عصاره آبی کمترین میزان اثر آنتی‌اکسیدانی را دارا می‌باشد که این حالت به قطبیت کمتر اتانول نسبت به آب ارتباط داده شد که از طریق اثر بر روی دیواره سلولی و بر هم زدن ساختارهای بافتی توانایی بیشتری در استخراج ترکیبات فنولی دارند. علاوه بر این، حضور ترکیبات آلکالوئیدی، فلاونوئیدی، استروئیدی، ساپونینی، گلیکوزیدی و تاننی در

- [13] F. Falah, K. Shirani, A. Vasiee, F. T. Yazdi, and B. Alizadeh Behbahani, "In vitro screening of phytochemicals, antioxidant, antimicrobial, and cytotoxic activity of Echinops setifer extract," *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, vol. 35, p. 102102, 2021.
- [14] M. Yeganegi, F. T. Yazdi, S. A. Mortazavi, J. Asili, B. Alizadeh Behbahani, and A. Beigbabaei, "Equisetum telmateia extracts: Chemical compositions, antioxidant activity and antimicrobial effect on the growth of some pathogenic strain causing poisoning and infection," *Microbial pathogenesis*, vol. 116, pp. 62-67, 2018.
- [15] M.R. Hadi, R. Taheri, and M. A. Sharif, "Study effects of salinity on the seed germination of *Seidlitzia rosmarinus*," *Pajouhesh & Sazandegi*, vol. 20, no. 76, pp. 151-157, 1386.
- [16] M. Ahmadi *et al.*, "The efficacy of hydro alcoholic extract of *Seidlitzia rosmarinus* on experimental zoonotic cutaneous leishmaniasis lesions in murine model," (in eng), *Avicenna J Phytomed*, vol. 4, no. 6, pp. 385-391, 2014.
- [17] B. Garmehei and E. Mahdian, "Evaluation the antimicrobial activity of *Rubia Florida* alcoholic extract on some pathogenic bacteria in foods," *Journal of food science and technology(Iran)*, vol. 15, no. 75, pp. 259-266, 2018.
- [18] S. P. Wong, L. P. Leong, and J. H. W. Koh, "Antioxidant activities of aqueous extracts of selected plants," *Food chemistry*, vol. 99, no. 4, pp. 775-783, 2006.
- [19] J. O. Olugbami, M. A. Gbadegesin, and O. A. Odunola, "In vitro free radical scavenging and antioxidant properties of ethanol extract of *Terminalia glaucescens*," *Pharmacognosy research*, vol. 7, no. 1, p. 49, 2015.
- [20] B. Alizadeh Behbahani, M. Noshad, and F. Falah, " Study of chemical structure, antimicrobial, cytotoxic and mechanism of action of *syzygium aromaticum* essential oil on foodborne pathogens," *Potravinarstvo Slovak Journal of Food Sciences*, vol. 13, no. 1, pp. 875-883, 2019.
- [21] M. Rahmati-Joneidabad and B. Alizadeh Behbahani, "Identification of chemical compounds, antioxidant potential, and antifungal activity of *Thymus daenensis* essential oil against spoilage fungi causing apple rot," (in fa), *Iranian Food Science and*
- [3] P. J. Chien and C. C. Chou, "Antifungal activity of chitosan and its application to control post - harvest quality and fungal rotting of Tankan citrus fruit (*Citrus tankan Hayata*)," *Journal of the Science of Food and Agriculture*, vol. 86, no. 12, pp. 1964-1969, 2006.
- [4] M. G. L. D. Nicosia *et al.*, "Control of postharvest fungal rots on citrus fruit and sweet cherries using a pomegranate peel extract," *Postharvest Biology and Technology*, vol. 114, pp. 54-61, 2016.
- [5] E. Feliziani, M. Santini, L. Landi, and G. Romanazzi, "Pre-and postharvest treatment with alternatives to synthetic fungicides to control postharvest decay of sweet cherry," *Postharvest Biology and Technology*, vol. 78, pp. 133-138, 2013.
- [6] S. Bautista-Baños, *Postharvest decay: Control strategies*. Elsevier, 2014.
- [7] M. El-Otmani, A. Ait-Oubahou, and L. Zacarías, "Citrus spp.: orange, mandarin, tangerine, clementine, grapefruit, pomelo, lemon and lime," in *Postharvest biology and technology of tropical and subtropical fruits*: Elsevier, 2011, pp. 437-516e.
- [8] R. Porat, A. Daus, B. Weiss, L. Cohen, E. Fallik, and S. Droby, "Reduction of postharvest decay in organic citrus fruit by a short hot water brushing treatment," *Postharvest Biology and Technology*, vol. 18, no. 2, pp. 151-157, 2000.
- [9] P. Nicolopoulou-Stamati, S. Maipas, C. Kotampasi, P. Stamatis, and L. Hens, "Chemical pesticides and human health: the urgent need for a new concept in agriculture," *Frontiers in public health*, vol. 4, p. 148, 2016.
- [10] J. Huang, R. Hu, C. Pray, F. Qiao, and S. Rozelle, "Biotechnology as an alternative to chemical pesticides: a case study of Bt cotton in China," *Agricultural economics*, vol. 29, no. 1, pp. 55-67, 2003.
- [11] M. D. C. Antunes and A. M. Cavaco, "The use of essential oils for postharvest decay control. A review," *Flavour and Fragrance Journal*, vol. 25, no. 5, pp. 351-366, 2010.
- [12] B. Alizadeh Behbahani and F. Shahidi, "Melissa officinalis essential oil: Chemical compositions, antioxidant potential, total phenolic content and antimicrobial activity," *Nutrition and Food Sciences Research*, vol. 6, no. 1, pp. 17-25, 2019.

- Congress, Vali-e-Asr University of Rafsanjan, 2014.
- [26] O. Azizian Shermeh, M. Taherizadeh, M. Valizadeh, and A. Qasemi, "Antimicrobial and Antioxidant Activities and Determining Phenolic and Flavonoid Contents of the Extracts of Five Species from Different Families of the Medicinal Plants Grown in Sistan and Baluchestan Province," *Journal of Advanced Biomedical Sciences*, vol. 7, no. 4, pp. 465-479, 2018.
- [27] M. Davabi, R. Azadi, M. Kolahi, and N. Pourreza, "Identification of Phytochemical, Determination of Some Primary Metabolites and Antioxidant Capacity in Ashnan (Seedlitzia rosmarinous)," *Journal of Developmental Biology*, vol. 12, no. 4, pp. 9-18, 2020.
- [28] Alghooneh A, Alizadeh Behbahani B, Noorbakhsh H, Yazdi FT. Application of intelligent modeling to predict the population dynamics of *Pseudomonas aeruginosa* in Frankfurter sausage containing *Saturejabachtiarica* extracts. *Microbial pathogenesis*. 2015;85:58-65.
- [29] Kiarsi Z ,Hojjati M, Alizadeh Behbahani B, Noshad M. In vitro antimicrobial effects of *Myristica fragrans* essential oil on foodborne pathogens and its influence on beef quality during refrigerated storage. *Journal of Food Safety*. 2020;40(3):e12782.
- Technology Research*, vol. 17, no. 5, pp. 691-700, 2021.
- [22] H. Barzegar, B. Alizadeh Behbahani, and M. A. Mehrnia, "Quality retention and shelf life extension of fresh beef using *Lepidium sativum* seed mucilage-based edible coating containing *Heracleum lasiopetalum* essential oil: an experimental and modeling study," *Food Science and Biotechnology*, vol. 29, no. 5, pp. 717-728, 2020.
- [23] M. Rahmati-Joneidabad and B. A. Behbahani, "Identification of chemical compounds, antioxidant potential, and antifungal activity of *Thymus daenensis* essential oil against spoilage fungi causing apple rot," *Iranian Food Science and Technology Research*, vol. 17, no. 5, pp. 691-700, 2021.
- [24] M. Noshad, B. Alizadeh Behbahani, H. Jooyandeh, M. Rahmati - Joneidabad, M. E. Hemmati Kaykha, and M. Ghodsi Sheikhjan, "Utilization of *Plantago major* seed mucilage containing *Citrus limon* essential oil as an edible coating to improve shelf - life of buffalo meat under refrigeration conditions," *Food Science & Nutrition*, vol. 9, no. 3, pp. 1625-1639, 2021.
- [25] O. Azizian-Shermeh and M. Taherizadeh, "Phytochemical investigation, antioxidant and antimicrobial activities of *Seidlitzia rosmarinus* L. from Sistan and Baluchestan," presented at the 17th Iranian Chemistry



Inhibitory and lethality effect of *Seidlitziarosmarinus* hydroalcoholic extract on mold fungi causing orange fruit rot (*Penicillium digitatum* and *Penicillium italicum*)

Rahmati-Joneidabad, M. ^{1*}, Alizadeh Behbahani, B. ², Noshad, M. ³

1. Assistant Professor, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran.
2. Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran.
3. Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran.

ABSTRACT

In the present study, the hydroalcoholic extract of *Seidlitziarosmarinus* was obtained using maceration method and its antifungal effect against fungi species causing orange fruit rot (*Penicillium digitatum* and *Penicillium italicum*) according to disk diffusion agar, well diffusion agar, minimum inhibitory concentration, and minimum fungicidal concentration were evaluated. In addition, the content of total phenols and flavonoids and the antioxidant activity of the hydroalcoholic extract of *S. rosmarinus* were determined. According to the results of disk diffusion and well diffusion agar tests, the antifungal activity of the extract was dependent on its concentration and *P. digitatum* was the most sensitive fungal strain to the extract. Moreover, both fungal strains were unable to grow in the presence of 32 mg/ml extract and the minimum fungicidal concentration for *P. digitatum* was 512 mg/ml. The contents of total phenols and total flavonoids of the extract were 26.19 mg GAE/g and 11.10 mg QE/g, respectively. The results of antioxidant activity showed that the hydroalcoholic extract of *S. rosmarinus* is able to scavenge DPPH (112.14 µg/ml) and ABTS (103.46 µg/ml) free radicals. In general, the results of this study show that the hydroalcoholic extract of *S. rosmarinus* plant contains phenolic compounds with antifungal and antioxidant potential.

ARTICLE INFO

Article History:

Received 2022/ 02/ 07
Accepted 2022/ 04/ 04

Keywords:

Seidlitziarosmarinus,
Hydroalcoholic extract, Antifungal activity,
Antioxidant effect.

DOI: 10.52547/fsct.19.124.127

DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.124.30.7

*Corresponding Author E-Mail:
Rahmati@asnrukh.ac.ir