دوماهنامه علمی- پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران
شناسه دیجیتال (DOI): 10.22092/ijmapr.2018.115025.2114
جلد ۳۴، شماره ۳، صفحه ۴۴۲- ۴۳۰ (۱۳۹۷)

القاء واکنش دفاعی پرتقال به کپک آبی (*Pencillium italicum*) با استفاده از اسانس گیاه کک‌گریز (*Francoeuria undulate* (L.) Lack)

محبوبه‌السادات حسینی[۱]، صدیقه محمدی[۲*] و علی‌رضا افتخاریان جهرمی[۳]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه باغبانی، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران

۲*- نویسنده مسئول، استادیار، گروه بیماری‌شناسی، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران

پست الکترونیک: mohammadi.pp@gmail.com

۳- استادیار، گروه باغبانی، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران

تاریخ دریافت: آبان ۱۳۹۶ تاریخ اصلاح نهایی: اسفند ۱۳۹۶ تاریخ پذیرش: اردیبهشت ۱۳۹۷

چکیده

پوسیدگی کپک آبی از مهمترین بیماری‌ها پس از برداشت میوه مرکبات است که توسط قارچ *Pencillium italicum* ایجاد و سالیانه منجر به از بین رفتن مقادیر زیادی از محصولات مرکبات می‌شود. اسانس گیاه کک‌گریز (*Francoeuria undulate* (L.) Lack) دارای خاصیت ضدباکتریایی بالایی بر میکروارگانیسم‌ها است. بدین‌منظور در دو آزمایش جداگانه، تأثیر غلظت‌های مختلف اسانس (چهار سطح: صفر، ۴۰۰، ۸۰۰ و ۱۶۰۰) گیاه مذکور در القاء مقاومت میوه پرتقال در برابر کپک آبی (دو سطح: بدون بیمارگر و بیمارگر) با بررسی آنزیم‌های دفاعی انجام شد. این آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام گردید. در آزمایش دوم اثر اسانس گیاهان بر کنترل بیمارگر در چهار غلظت ۰، ۴۰۰،۸۰۰ و ۱۶۰۰ در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر متقابل غلظت×بیمارگر در دو بازه زمانی ۴۸ و ۹۶ ساعت در سه صفت آنزیم کاتالاز، پراکسیداز و فنول معنی‌دار گردید. همچنین نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر مستقل غلظت اسانس گیاه کک‌گریز بر درصد بازدارندگی از رشد بیمارگر بر روی میوه معنی‌دار گردید. تأثیر متقابل بیمارگر× نوع گیاه نشان داد که بیشترین میزان فنول، پراکسیداز و کاتالاز مربوط به تیمارهای سالم بود اما در تیمارهای بیمار همراه کک‌گریز میزان بالای فنول مشاهده شد. تأثیر متقابل وجود و عدم وجود بیمارگر× غلظت نشان داد که بیشترین میزان فنول در تیمارهای سالم در غلظت صفر و ۸۰۰ppm بود. پراکسیداز نیز در تیمارهای سالم بیشتر بود اما میزان کاتالاز در تیمارهای مختلف تفاوتی نداشت. تأثیر متقابل نوع گیاه- غلظت اسانس نشان داد که اختلاف آماری بین تیمارهای مختلف در میزان فنول، پراکسیداز و کاتالاز نبود.

واژه‌های کلیدی: مقاومت، کک‌گریز (*Francoeuria undulate* (L.) Lack)، اسانس، کپک آبی (*Pencillium italicum*).

مقدمه

ضایعات میوه و سبزی در اثر آلودگی‌های میکروبی هر ساله خسارتهای فراوانی را به تولیدکنندگان وارد می‌کند و مقادیر قابل توجهی از این محصولات در اثر فساد ناشی از این آلودگی‌ها دور ریخته می‌شوند. طی سال‌های گذشته تعداد زیادی از سموم شیمیایی مانند ترکیب‌های

بنزیمیدازول، ایمازالیل، ترکیب‌های گوگردی آلی و معدنی، و مواد اکسیدکننده برای کنترل این بیماری‌ها معرفی شده‌اند. اما در بیشتر موارد به علت مشکلات زیست محیطی بازمانده‌های سموم، ایجاد سمّیت برای انسان، ایجاد نژادهای مقاوم و در برخی موارد هزینه‌های بسیار بالا، مصرف این گونه ترکیب‌ها با محدودیت مواجه است (Swamy & Sinniah, 2015؛ Rahemi, 2003). پوسیدگی کپک آبی یکی از مهمترین بیمارهای پس از برداشت میوه مرکبات است. قارچ *Penicillium* گونه های متعددی دارد که اغلب ساپروفیت یا پارازیت ضعیف هستند. گونه مهم این قارچ *Pencillium italicum* است و سالانه منجر به از بین رفتن ۳۰٪ محصولات مرکبات می‌شود (Singh *et al*., 2014؛ Arras & Usai, 2001). این قارچ موجب اسیدی کردن سطح میوه مرکبات در طی پیشرفت پوسیدگی می شود (Prusky *et al*., 2004). پوسیدگی پنی‌سیلیومی سریعاً در بافت گسترش می‌یابند (Agrios, 2005). کپک آبی ایجاد شده توسط *P. italicum* به‌عنوان یک بیماری شایع مطرح است که موجب فساد انواع مرکبات رسیده می شود (Plaza *et al*., 2004؛ Mahmoud *et al*., 2016). کاربرد اسانس‌ها در کنترل بیماری‌های گیاه، برای گیاهان فاقد سمّیت بوده و کاربرد آنها مقرون به صرفه می‌باشد (Swamy & Sinniah, 2015؛ Tripathi & Dubey, 2004). گیاه کک‌گریز گیاهی گلدار با نام علمی *Francoeuria undulat* L. متعلق به رده دولپه‌ای‌ها، راسته آسترال و تیره گل مینا است (Ghahraman, 1994). اسانس گیاه کک‌گریز دارای خاصیت ضدباکتریایی بالایی بر میکروارگانیسم ها می باشد. حداقل بازدارندگی اسانس این گیاه ۰/۱۶ میکرولیتر بر میلی‌لیتر محاسبه گردید. همچنین مشخص گردید که اسانس بدست آمده از مراحل مختلف برداشت دارای خاصیت ضد میکروبی می‌باشند (Amiri *et al*., 2011). بخش‌های هوایی در حالت تازه کک‌گریز دارای ۰/۷٪ اسانس می‌باشد. آنالیز اسانس توسط GC و GCMS، حاوی ۴۲ ترکیب بود که ۹۶/۶٪ ترکیب ها نماینده روغن‌های فرّار متفاوت در گیاه می باشند. بخش زیادی از این ترکیب ها شامل آلفا-بیسابلول (۵/۱۷٪)، کریزانتنون (۵/۱۲٪)، ۸،۱-سینئول (۷/۱۰٪)، ترانس-توجون(۷/۹٪) و لینالول (۶/۶٪) می‌باشد (Javadinamin & Asgarpanah, 2014).

در این تحقیق اثر القاء مقاومت و واکنش‌های دفاعی پرتقال به کپک آبی (*Pencillium italicum*) با استفاده از اسانس گیاه کک گریز مورد ارزیابی قرار گرفت، همچنین شناسایی ترکیبات گیاه کک گریز و بررسی اثر اسانس گیاه کک‌گریز روی القاء مقاومت پرتقال به کپک آبی با ارزیابی میزان پراکسیداز، کاتالاز و فنل کل میوه و مقایسه غلظت های مختلف اسانس کک گریز در کنترل بیمارگر و القاء مقاومت میوه انجام شد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در بهار و تابستان ۱۳۹۵ در شرایط آزمایشگاهی دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز انجام شد. این پژوهش شامل دو آزمایش کاملاً مجزا بود که در یک آزمایش، تأثیر غلظت‌های مختلف اسانس گیاه مذکور در القاء مقاومت میوه پرتقال در برابر کپک آبی با بررسی آنزیم های دفاعی انجام شد که این آزمایش بر پایه طرح کاملاً تصادفی با آزمایش فاکتوریل با سه تکرار بود. در آزمایش دیگر روی پرتقال رقم والنسیا اثر اسانس گیاه بر کنترل بیماری ایجاد گردید. سپس با استفاده از اسانس گیاه کک گریز در غلظت ۰، ۴۰۰، ۸۰۰ و ۱۶۰۰ppm، میزان درصد بازدارندگی از بیماری در مقایسه با شاهد (بدون اسانس) در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام گردید.

تهیه اسانس و تجزیه اسانس

گیاه کک‌گریز از رویشگاه طبیعی آن در استان هرمزگان جمع‌آوری گردید. پس از انتقال نمونه‌ها به آزمایشگاه عملیات آماده‌سازی و خشک کردن در سایه انجام شد. ۱۰۰ گرم از اندام هوایی هر نمونه از بین نمونه اولیه انتخاب و برای اسانس‌گیری آماده گردید. بدین‌منظور ۱۰۰ گرم

نمونه تهیه شده مربوط به هر گیاه را بلافاصله بعد از آسیاب کردن در داخل بالن کلونجر دو لیتری ریخته و ۱۰۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر به بالن اضافه شد (روش تقطیر با آب). حدود سه ساعت پس از به جوش آمدن آب، اسانس‌گیری پایان یافت و اسانس در محل مدرج دستگاه تجمع پیدا کرد. پس از جداسازی اسانس از سطح آب، توسط سولفات سدیم آبگیری انجام و تا زمان انجام آزمایش در شیشه‌های تیره رنگ و در دمای یخچال (دمای ۴ درجه سلسیوس) نگهداری شدند (Mahboubi *et al*., 2008). پس از تهیه اسانس ها، به‌منظور انجام عملیات تجزیه دستگاهی و شناسایی اجزاء اسانس، از دستگاه کروماتوگراف گازی مدل 7890A ساخت شرکت Agilent آمریکا و مجهز به آشکارساز طیف‌سنج جرمی (مدل 5975C) واقع در مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان فارس استفاده گردید. شناسایی طیف‌ها به شیوه Mahboubi و همکاران (۲۰۰۸) به کمک شاخص بازداری و با تزریق هیدروکربن‌های نرمال (C_8-C_{25}) در شرایط یکسان با تزریق اسانس‌ها و توسط برنامه کامپیوتری محاسبه گردید.

تهیه جدایه بیمارگر

بدین‌منظور از میوه های پرتقال آلوده به کپک آبی، قطعه کوچک قارچ رشد کرده روی آن را برداشته و روی محیط کشت PDA کشت داده شد و در داخل انکوباتور در دمای ۲۵ درجه سلسیوس در تاریکی به مدت پنج روز نگهداری گردید. پس از رشد کامل نمونه ها در محیط کشت، از کناره‌های محیط کشت تکه‌هایی از میسیلیوم برداشته و به محیط کشت Water-Agar برای خالص‌سازی منتقل شد و نمونه به مدت دو روز در انکوباتور در دمای ۲۵ درجه سلسیوس در تاریکی نگهداری شد. پس از رشد میسیلیوم قارچ از انتهای ریسه قطعه‌ای برداشته و به محیط کشت WA منتقل و پس از رشد و اطمینان از خالص بودن برای تکثیر به محیط کشت PDA منتقل گردید. پس از یک هفته که قارچ به‌طور کامل در محیط کشت رشد کرد توسط کلید (Barnet & Hunter, 1998) شناسایی و برای اثبات بیماری‌زایی آماده شد.

تهیه سوسپانسون اسپور قارچ

برای این منظور روی قارچ خالص شده که روی محیط PDA کشت شده بود ۱cc آب‌مقطر استریل ریخته تا سوسپانسیون غلیظی ایجاد شود، سپس با استفاده از آب‌مقطر استریل غلظت سوسپانسیون به میزان ۱×۱۰^{۶}cfu/ml با لام گلبول‌شمار تنظیم شد.

ایجاد زخم و تلقیح میوه‌ها با اسپور قارچ بیماری‌زا

پس از ضدعفونی کردن میوه و خشک شدن آنها، به‌وسیله سوزن آغشته به اسپور قارچ، میوه‌ها مایه‌کوبی شدند. برای نفوذ اسپور قارچ، به مدت دو ساعت فرصت داده شده تا نفوذ اسپور قارچ به داخل میوه ها انجام شود. سپس به مدت سه تا پنج دقیقه در محلول حاوی اسانس در غلظت‌های مورد نظر قرار داده شد، بعد از اینکه خشک شدند درون کیسه فریزر گذاشته و در شرایط دمایی حدود ۲۵ درجه سلسیوس نگهداری شدند. براساس پژوهش Zakerian و همکاران (۲۰۱۱) یک گروه از میوه ها پس از زخم‌زنی و تزریق با سوسپانسیون اسپور قارچ به‌عنوان شاهد بیمار در نظر گرفته شدند و برای تیمار شاهد سالم محل زخم با آب تیمار شد.

آنزیم پراکسیداز

برای اندازه‌گیری میزان غلظت آنزیم پراکسیداز از روش Hammer و همکاران (۱۹۹۹) با اندکی تغییرات استفاده شد. اندازه‌گیری براساس اکسید شدن گوایکول توسط این آنزیم انجام شد. یک گرم بافت گیاهی وزن کرده با دو میلی‌لیتر بافر تریس هموژن گردید. سپس به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴°C دور ۵۰۰۰ سانتریفیوژ شد (سانتریفیوژ یخچال‌دار). آنگاه مایع رویی (آنزیم استخراج شده خام) را به میزان ۱۰۰ میکرولیتر با ۵۰ میکرولیتر گایاکول ۱٪،

۵۰ میکرولیتر پراکسیداز هیدروژن ۱٪ و ۳ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم ترکیب گردید. پس از آن در دمای ۲۵ درجه سلسیوس به مدت ۵ دقیقه نگهداری شد و بعد توسط اسپکتوفتومتر با طول موج ۴۳۶ نانومتر به مدت ۱/۵ دقیقه اندازه‌گیری گردید.

آنزیم کاتالاز

برای اندازه‌گیری میزان غلظت آنزیم کاتالاز از روش Aebi (۱۹۸۴) با اندکی تغییرات استفاده شد. یک گرم از بافت نمونه در هاون چینی با ۱۰ میلی‌لیتر محلول هموژنه با بافر فسفات پتاسیم ۲۰۰ میلی‌مولار با pH=7 هموژنه گردیدند. پس از هموژنه کامل بافت، ۱۰ میکرولیتر تریتون ایکس-۱۰۰ به آرامی اضافه و مخلوط گردید، به‌طوری که محلول هموژنه کف نکند؛ محلول حاصل به آرامی توسط پارچه ململ صاف گردید و به عنوان عصاره خام برای تعیین فعالیت آنزیم کاتالاز استفاده شد. کلیه مراحل آزمایش در دمای حدود چهار درجه سلسیوس (درون ظرف یخ) انجام شد. کاهش جذب نور توسط اسپکتوفتومتر در طول موج ۲۴۰ نانومتر به مدت ۱/۵ دقیقه اندازه‌گیری شد.

آنزیم فنل کل

برای این منظور به یک گرم از عصاره میوه یا گیاه ۱۰cc استون ۸۰٪ اضافه شد. سپس به مدت یک ساعت در شرایط تاریکی (مثل پیچیدن در فویل) شیک گردید. سپس ۱۰ دقیقه با دور ۳۵۰۰ سانتریفیوژ شد. ۵۰ میکرولیتر از عصاره با ۴۵۰ میکرولیتر آب مقطر و ۲/۵cc معرف فولین کالینو (۰/۱٪) مخلوط گردید. سپس ۲cc محلول کربنات‌سدیم ۷/۵٪ (Na_2CO_3) ۷/۵٪=۷/۵ گرم در ۱۰۰cc یا ۰/۷۵ گرم در ۱۰cc آب) به آن اضافه شد. آنگاه به مدت ۱۵ دقیقه در بن‌ماری یا حمام آب گرم در دمای ۴۵ درجه گذاشته شد. سپس صبر کردیم به دمای اتاق (۲۵°C-۲۲) برسد. آنگاه در طول موج ۷۶۵ نانومتر میزان آن خوانده شد.

اندازه‌گیری تأثیر اسانس در بازدارندگی از رشد بیمارگر روی میوه

برای محاسبه درصد بازدارندگی از رشد بیمارگر از فرمول Abbott (۱۹۲۵) که به‌شرح زیر است استفاده می‌شود:

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

IP: درصد بازدارندگی، C: میانگین قطر رشد قارچ در تیمار شاهد، T: میانگین قطر رشد قارچ در تیمار مورد نظر

نتایج

تجزیه واریانس داده‌های حاصل از تأثیر اسانس گیاه کک‌گریز (*Francoeuria undulata*) بر میزان فنول، پراکسیداز و کاتالاز در القاء مقاومت پرتقال در بازه زمانی ۴۸ ساعت نشان داد که اثر ساده بیمارگر در مورد میزان فنول اختلاف معنی داری را نشان داد. در صورتی‌که در پراکسیداز و کاتالاز در سطح ۵٪ معنی‌دار است. همچنین اثر ساده غلظت و اثر متقابل بیمارگر در غلظت در تمامی صفات معنی دار گردید. همچنین تجزیه واریانس داده‌های حاصل از تأثیر اسانس گیاه کک‌گریز بر میزان فنول، پراکسیداز و کاتالاز در القاء مقاومت پرتقال در بازه زمانی ۹۶ ساعت نشان داد که اثر ساده بیمارگر و غلظت اختلاف معنی داری در مورد آنزیم کاتالاز نداشت، در صورتی که اثر ساده بیمارگر، غلظت و اثر متقابل آنها در مورد میزان فنول کل و پراکسیداز معنی‌دار بود (جدول ۱).

در صورتی که اثر متقابل معنی‌دار شده باشد، نمی‌توان به‌طور مستقل در مورد غلظت و بیمارگر اظهارنظر نمود و مفهومش این است که بیمارگر مختلف در سطوح غلظت ها پاسخ‌های متفاوتی را نشان می‌دهند.

جدول ۱- تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه در القاء مقاومت پرتقال در بازه زمانی ۴۸ و ۹۶ ساعت

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات					
		۴۸ ساعت			۹۶ ساعت		
		فنل کل	پراکسیداز	کاتالاز	فنل کل	پراکسیداز	کاتالاز
بیمارگر	۱	۰/۰۰ns	۰/۱۸**	۰/۸۳**	۰/۰۰**	۰/۲۴**	۰/۰۳ns
غلظت	۳	۰/۰۰**	۰/۰۲**	۰/۱۷*	۰/۰۰**	۰/۰۰*	۰/۰۳۹ns
بیمارگر×غلظت	۳	۰/۰۰*	۰/۰۱*	۰/۴**	۰/۰۰*	۰/۰۰*	۰/۰۹*
اشتباه آزمایشی	۱۶	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۳	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۲
ضریب تغییرات (٪)	-	۱/۶۰	۱۹/۷۹	۱۹/۸۴	۱/۶۰	۲۰/۳۳	۱۷/۸۸

**، * و ns: به‌ترتیب معنی‌داری در سطح ۱٪، ۵٪ و عدم معنی‌داری

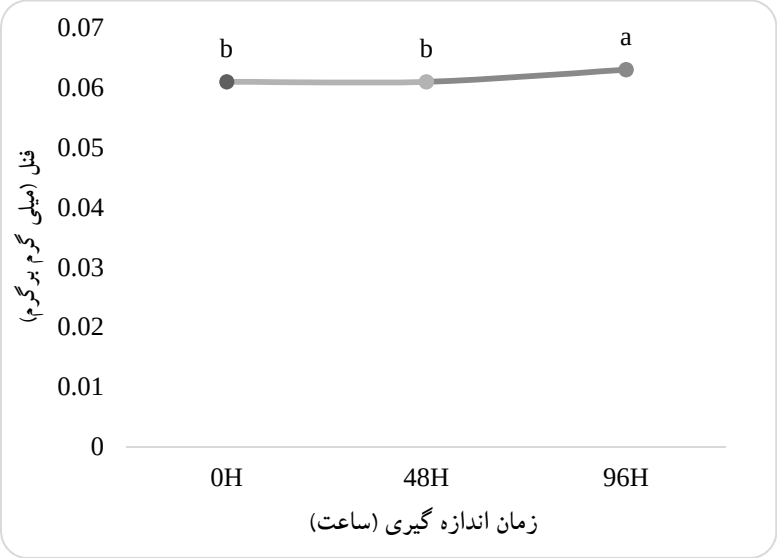
نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل بیمارگر×غلظت در دو بازه زمانی نشان داد که ترکیب تیماری بدون بیمارگر×غلظت صفر دارای بیشترین میزان فنول در هر دو بازه زمانی بود. همچنین در دو بازه زمانی ۴۸ و ۹۶ ساعت به‌ترتیب ترکیب تیماری بدون بیمارگر×غلظت ۱۶۰۰ و ترکیب تیماری بیمارگر×غلظت ۸۰۰ دارای کمترین میزان فنول بودند (جدول ۲).

جدول ۲- مقایسه میانگین اثر متقابل بیمارگر× غلظت بر میزان فنل در القاء مقاومت پرتقال در بازه زمانی ۴۸ و ۹۶ ساعت

۴۸ ساعت				
تیمار	غلظت صفر	غلظت ۴۰۰	غلظت ۸۰۰	غلظت ۱۶۰۰
بیمارگر	۰/۰۶±۰/۰۰۵bc	۰/۰۶±۰/۰۰bc	۰/۰۶±۰/۰۰ab	۰/۰۶±۰/۰۰bc
بدون بیمارگر	۰/۰۶±۰/۰۰۵a	۰/۰۶±۰/۰۰bc	۰/۰۶±۰/۰۰۵bc	۰/۰۶±۰/۰۰۵c
۹۶ ساعت				
تیمار	غلظت ۰	غلظت ۴۰۰	غلظت ۸۰۰	غلظت ۱۶۰۰
بیمارگر	۰/۰۶±۰/۰۰c	۰/۰۶±۰/۰۰c	۰/۰۶±۰/۰۰c	۰/۰۶±۰/۰۰bc
بدون بیمارگر	۰/۰۶±۰/۰۰a	۰/۰۶±۰/۰۰ab	۰/۰۶±۰/۰۰a	۰/۰۶±۰/۰۰a

میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک می‌باشند از نظر آماری اختلافی با یکدیگر ندارند.

میزان تغییرات فنل در سه بازه زمانی صفر (زمان تلقیح بیمارگر و اسانس)، ۴۸ و ۹۶ ساعت پس از تلقیح مشخص شد. در مجموع تمام غلظت‌ها در زمان صفر و ۴۸ ساعت میزان فنل در کمترین مقدار خود بود و با گذشت زمان در ۹۶ ساعت پس از تلقیح به حداکثر میزان خود رسید (شکل ۱).



شکل ۱- مقایسه میانگین تغییرات میزان فنل در سه بازه زمانی صفر (زمان تلقیح)، ۴۸ و ۹۶ ساعت پس از تلقیح براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵٪

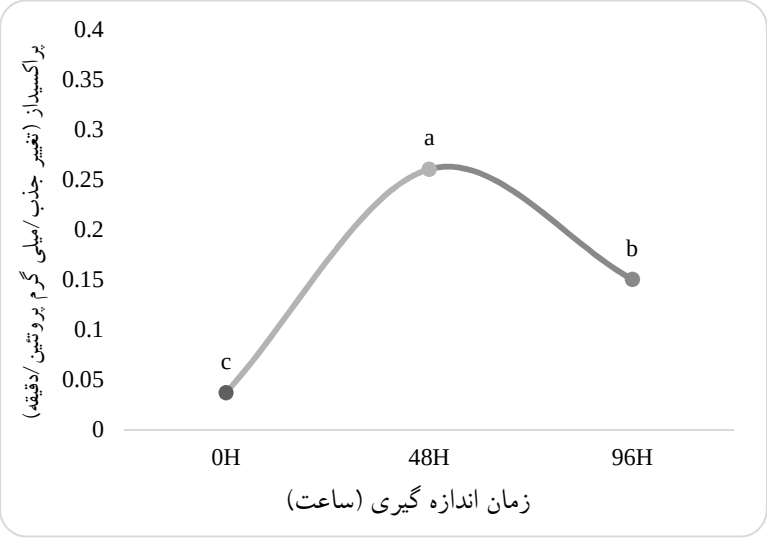
نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل بیمارگر×غلظت در دو بازه زمانی ۴۸ و ۹۶ ساعت در مورد آنزیم پراکسیداز نشان داد که در دو زمان ۴۸ و ۹۶ ساعت به‌ترتیب دو ترکیب تیماری بدون بیمارگر×غلظت صفر و بدون بیمارگر×غلظت ۴۰۰ دارای بیشترین میزان پراکسیداز بود. همچنین در دو بازه زمانی ۴۸ و ۹۶ ساعت به‌ترتیب ترکیب تیماری بیمارگر غلظت ۸۰۰ و ترکیب تیماری بیمارگر غلظت ۴۰۰ دارای کمترین میزان آنزیم پراکسیداز بودند (جدول ۳).

میزان تغییرات پروکسیداز در سه بازه زمانی صفر (زمان تلقیح بیمارگر و اسانس)، ۴۸ و ۹۶ ساعت پس از تلقیح مشخص شد. درمجموع غلظت‌ها زمان صفر میزان پروکسیداز در کمترین مقدار خود بود و با گذشت زمان در ۴۸ و ۹۶ ساعت پس از تلقیح به حداکثر میزان خود رسید (شکل ۲).

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر متقابل بیمارگر× غلظت بر میزان پراکسیداز در القاء مقاومت پرتقال در بازه زمانی ۴۸ و ۹۶ ساعت

۴۸ ساعت				
تیمار	غلظت صفر	غلظت ۴۰۰	غلظت ۸۰۰	غلظت ۱۶۰۰
بیمارگر	۰/۲۶±۰/۰۴b	۰/۱۰۵±۰/۰۰c	۰/۱۰±۰/۰۱c	۰/۲۶±۰/۰۱b
بدون بیمارگر	۰/۴۰±۰/۰۶a	۰/۴۰±۰/۰۵a	۰/۲۷±۰/۰۶b	۰/۳۵±۰/۰۹ab
۹۶ ساعت				
تیمار	غلظت صفر	غلظت ۴۰۰	غلظت ۸۰۰	غلظت ۱۶۰۰
بیمارگر	۰/۰۷±۰/۰۲c	۰/۰۴±۰/۰۰c	۰/۰۵۳±۰/۰۰c	۰/۰۵±۰/۰۱c
بدون بیمارگر	۰/۲۴±۰/۰۴ab	۰/۲۹±۰/۰۴a	۰/۲۱±۰/۰۶b	۰/۲۷±۰/۰۱ab

میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک می‌باشند از نظر آماری اختلافی با یکدیگر ندارند.



شکل ۲- مقایسه میانگین تغییرات میزان پروکسیداز در سه بازه زمانی صفر (زمان تلقیح)، ۴۸ و ۹۶ ساعت پس از تلقیح براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵٪

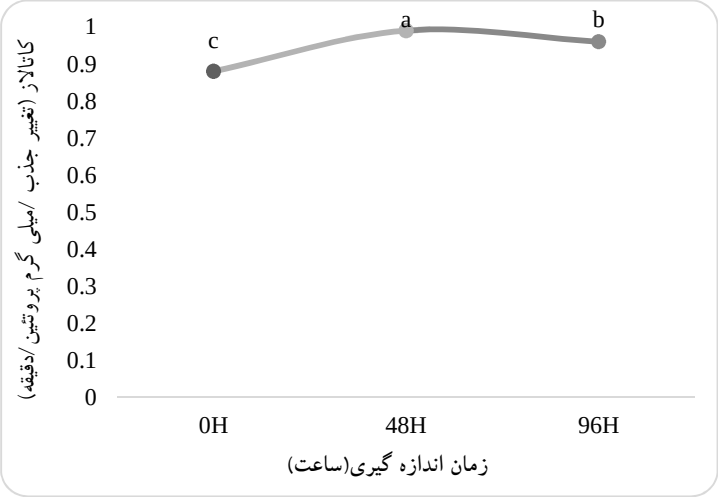
نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل بیمارگر×غلظت در دو بازه زمانی ۴۸ و ۹۶ ساعت در مورد آنزیم کاتالاز نشان داد که در دو زمان ۴۸ و ۹۶ ساعت به‌ترتیب دو ترکیب تیماری بدون بیمارگر×غلظت صفر و بیمارگر×غلظت ۸۰۰ دارای بیشترین میزان کاتالاز بودند. همچنین در دو بازه زمانی ۴۸ و ۹۶ ساعت ترکیب تیماری بیمارگر×غلظت ۱۶۰۰ دارای کمترین میزان آنزیم پراکسیداز بودند (جدول ۴).

جدول ۴- مقایسه میانگین اثر متقابل بیمارگر× غلظت بر میزان کاتالاز در القاء مقاومت پرتقال در بازه زمانی ۴۸ و ۹۶ ساعت

		۴۸ ساعت		
تیمار	غلظت صفر	غلظت ۴۰۰	غلظت ۸۰۰	غلظت ۱۶۰۰
با بیمارگر	۰/۸۶±۰/۰۹b	۰/۸۱±۰/۰۷b	۰/۹۵±۰/۰۰b	۰/۶۱±۰/۰۵b
بدون بیمارگر	۱/۴۱±۰/۴۳a	۰/۷۲±۰/۰۷b	۰/۹۵±۰/۲۵b	۱/۶۳±۰/۱۹a
		۹۶ ساعت		
تیمار	غلظت صفر	غلظت ۴۰۰	غلظت ۸۰۰	غلظت ۱۶۰۰
بیمارگر	۰/۹۰±۰/۱۵abc	۰/۸۲±۰/۰۷bc	۱/۱۹±۰/۲۷a	۰/۷۹±۰/۱۶c
بدون بیمارگر	۰/۹۱±۰/۱۳abc	۰/۹۹±۰/۲۲abc	۰/۹۶±۰/۰۸abc	۱/۱۵±۰/۱۷ab

میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک می‌باشند از نظر آماری اختلافی با یکدیگر ندارند.

میزان تغییرات کاتالاز در سه بازه زمانی صفر (زمان تلقیح بیمارگر و اسانس)، ۴۸ و ۹۶ ساعت پس از تلقیح مشخص شد. در مجموع غلظت‌ها زمان صفر میزان کاتالاز در کمترین مقدار خود بود و با گذشت زمان در ۴۸ ساعت پس از تلقیح به بیشترین میزان خود رسید و دوباره در ۹۶ ساعت پس از تلقیح کاهش یافت (شکل ۳).



شکل ۳- مقایسه میانگین تغییرات میزان کاتالاز در سه بازه زمانی صفر (زمان تلقیح)، ۴۸ و ۹۶ ساعت پس از تلقیح براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵٪

تأثیر اسانس گیاه کک‌گریز بر بازدارندگی از رشد *Penicillium italicum* عامل بیماری کپک آبی روی میوه به‌عنوان شاخص مقاومت میوه پرتقال

این آزمایش به صورت جداگانه انجام شده است. با مقایسه نتایج مشخص می‌شود در تیمارهایی که بیشترین درصد بازدارندگی را داشته است بیشترین القاء واکنش‌های دفاعی مانند فنول، کاتالاز و پراکسیداز انجام شده است.

جدول ۵ تجزیه واریانس داده‌های حاصل از تأثیر اسانس گیاه کک کریز بر درصد بازدارندگی از رشد بیمارگر را بر روی میوه نشان می‌دهد و اختلاف معنی‌داری بین غلظت‌ها در سطح ۱٪ معنی‌دار وجود دارد.

جدول مقایسه میانگین (جدول ۶) نشان داد از نظر آماری اختلافی بین تأثیر اسانس گیاه در غلظت‌های مختلف بر درصد بازدارندگی از رشد بیمارگر وجود ندارد اما درصد بازدارندگی از رشد بیمارگر توسط این اسانس نسبت به شاهد تفاوت معنی‌داری داشت، به‌طوری که اسانس گیاه توانایی کنترل بیمارگر را داشت.

جدول ۵- تجزیه واریانس داده‌های حاصل از تأثیر اسانس گیاه کک‌گریز بر درصد بازدارندگی از رشد بیمارگر روی میوه

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات
غلظت	۳	۲۳۷۳/۵۵**
اشتباه	۸	۱۰۴/۴۱
ضریب تغییرات (٪)	-	۲۴/۳۲

**: معنی‌داری در سطح ۱٪

جدول ۶- مقایسه میانگین تأثیر اسانس گیاه کک‌گریز بر درصد بازدارندگی از رشد بیمارگر روی میوه

تیمار	غلظت صفر	غلظت ۴۰۰	غلظت ۸۰۰	غلظت ۱۶۰۰
کک‌گریز	۰±۰b	۵۲/۳۳±۱۹/۵۰a	۵۸/۶۶±۴/۰۴a	۵۷±۴/۵۸a

میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک می‌باشند از نظر آماری اختلافی با یکدیگر ندارند.

بحث

نتایج حاصل از کروماتوگرافی اسانس کک گریز نشان داد که دارای ترکیب های فنلی و ترکیب های ضد میکروبی فراوانی بود. ترکیب‌های مهم از نظر مقدار عبارت بودند از: ۲۱/۷۲٪ اندیکین، ۸/۹۷٪ بتا-مالین،۸/۶۲٪ کاریوفیلن، ۸/۴۷٪ تیمول، ۷/۴۷٪ داندودکین، ۶/۹۷٪ پارا-سیمن، ۶/۶۲٪ گاما-ترپینن و ۵/۷۲٪ کارواکرول. براساس تحقیقات بسیاری در زمینه کنترل بیولوژیک قارچ‌ها مشخص شده که تیمول و کارواکرول از ترکیب های مهم ضد قارچی هستند. البته در اسانس کک‌گریز نیز به میزان بالایی وجود داشت. ترتیب و میزان ترکیب های این گیاه در منابع مختلف متفاوت است. دلایل زیادی را می‌توان در ایجاد این تفاوت دخیل دانست اما کیفیت و کمّیت ترکیب‌های اسانس می‌تواند برحسب اقلیم، ترکیب‌های خاک، اندام گیاه، سن و مرحله چرخه رویشی متفاوت باشد (Bakkali *et al*., 2008). به‌منظور تعیین میزان مقاومت القاء شده در پرتقال در مقابل کپک آبی توسط اسانس گیاه کک گریز میزان فنول و آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز در دو بازه زمانی ۴۸ و ۹۶ ساعت پس از تلقیح میوه با بیمارگر و عامل القاء مقاومت بررسی شد. نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل بیمارگر×غلظت اسانس نشان داد که میزان فنول، کاتالاز و پراکسیداز در حالتی که بدون بیمارگر و با غلظت پایین اسانس بکار می‌رود میزان این سه صفت بالاتر است. به‌عبارتی بیشترین القاء مقاومت توسط غلظت پایین اسانس بوده، چون این حالت در تیمارهای بدون بیمارگر بوده و مشخص می شود که القاء مقاومت توسط اسانس با غلظت کم بوده نه به دلیل وجود بیمارگر. اما در حضور بیمارگر میزان آنزیم‌های دفاعی کاهش یافته است که با وجود غلظت‌های بالای اسانس نیز اثر کاهش آن بارز است. به نظر می‌آید غلظت بالای اسانس تأثیر مثبت در القاء واکنش‌های دفاعی نداشته و افزایش غلظت تاحدودی در افزایش القاء مقاومت تأثیرگذار است. همچنین زمانی که بیمارگر با غلظت بالای اسانس بکار می‌رود میزان این سه صفت کاهش می‌یابد.

همچنین نتایج نشان می‌دهد که میزان فنول کل با افزایش زمان افزایش یافت، در صورتی‌که میزان کاتالاز و پراکسیداز تا زمان ۴۸ ساعت افزایش یافت و در زمان ۹۶ ساعت شروع به کاهش کرد. با توجه به اینکه فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز در زمان دوم پس از تلقیح اسپور قارچ نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری نشان داد، چنین به نظر می‌رسد که این قارچ یک محرک در القاء و سنتز آنزیم پراکسیداز و کاتالاز می باشد که نقش دفاعی در بافت میوه علیه قارچ عامل بیماری ایفاء می‌کند. براساس نتایج آزمایش مربوط به میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در میوه سیب، چنین استنباط شد که *Botrytis mali* فعالیت آنزیم کاتالاز را در میوه سیب افزایش داد. یکی از وظایف پراکسیداز افزایش میزان ترکیب های فنولی است که می‌توان گفت افزایش میزان فنول به‌علت افزایش میزان پراکسیداز است. از سویی مشاهده می‌گردد که میزان کاتالاز در هر سه بازه زمانی از میزان پراکسیداز بیشتر است. همچنین می‌توان گفت با گذشت زمان کپک به اسانس مقاوم شده است و دو آنزیم کاتالاز و پراکسیداز بعد از افزایش در زمان ۴۸ ساعت، شروع به کاهش کردند. نتایج نشان داد که میزان فعالیت آنزیمی کاتالاز در بازه زمانی ۴۸ ساعت بالاتر از ۹۶ ساعت بود. طبق تئوری "self-amplifying feedback loop" پراکسید هیدروژن سبب تولید بیشتر سالسیلیک اسید می‌گردد. سالسیلیک اسید با باند شدن با آنزیم کاتالاز فعالیت آن را کاهش می‌دهد (Jayakannan *et al*., 2015). Willekens و همکاران (۱۹۹۷) گزارش کردند که کاتالاز و پراکسیداز نقش مکمل در مقابله با پراکسید هیدروژن دارند، به‌طوری که کاهش پراکسیداز موجب تولید کاتالاز می شود و این آنزیم نقش پراکسیداز را در جهت مقابله با پراکسید هیدروژن جبران می کند. کاتالاز وظیفه شکستن ترکیب های رادیکال های آزاد اکسیژن به‌ویژه پراکسید هیدروژن را دارد (Du *et al*., 2008). در تحقیقی که توسط Wang و همکاران (۲۰۰۴) انجام شد آنتاگونیست *Cryptococcus laurentii* باعث افزایش فعالیت پراکسیداز در میوه هلو

گردید. در این تحقیق میوه هلو با قارچ بیماری‌زای *Penicillium expansum* و یا آنتاگونیست *Cryptococcus laurentii* مایه‌زنی شد، آنتاگونیست و عامل بیماری، هر دو باعث افزایش فعالیت پراکسیداز در میوه هلو شدند. پراکسیدازها نقش های متفاوتی در مقاومت گیاهان علیه پاتوژن‌ها دارند که می‌توان به اکسیداسیون فنول‌ها، اتصالات عرضی پلی ساکاریدها، استحکام دیواره آوند چوب، سنتز فیتوالکسین ها و تجمع ترکیب های فنلی در دیواره سلولی گیاهان، محدود کردن گسترش پاتوژن و تولید لیگنین اشاره کرد (Deepak *et al*., 2007). براساس گزارش Daly و همکاران (۱۹۷۱) در بیشتر موارد فعالیت پراکسیدازها در واکنش‌های ناسازگار (مقاومت) بیشتر از واکنش‌های سازگار (حساس) است. در گیاهانی که دفاع خیلی دیر اتفاق می‌افتد، عامل بیماری به راحتی بافت گیاه را کلونیزه می‌کند (Kuć, 2001). آنزیم کاتالاز H_2O_2 را به آب و O_2 تجزیه می‌کند و پراکسیداز با اکسیداسیون ترکیب‌های فنلی H_2O_2 را تجزیه می‌کند. این آنزیم ها به همراه آنزیم سوپراکسید دیسموتاز سیستم‌های اصلی آنزیمی سلول در برابر صدمات اکسیداتیو هستند (Vero *et al*., 2002). De Gara و همکاران (۲۰۰۳) بیان کردند که H_2O_2 با تسهیل و کاتالیز واکنش‌های پراکسیداز در ترکیب‌های ساختاری دیواره سلولی و پلیمریزاسیون لیگنین و سفت شدن دیواره سلولی باعث کاهش سرعت نفوذ عامل بیماری می شود. با این حال گونه‌های فعال اکسیژن در غلظت‌های بالا در طی بیماری‌زایی ممکن است موجب انجام واکنش‌های تجزیه‌ای، پراکسیداسیون لیپیدها، تخریب غشاء سلولی، تجزیه پروتئین و خاموش شدن کلروفیل شوند (Bowler *et al*., 1992). بنابراین میزان مورد نیاز فعالیت آنتی‌اکسیدانتی برای نگه داشتن غلظت گونه های فعال اکسیژن در سطوح نسبتاً پایین ضروری می‌باشد (Larrigaudiere *et al*., 2004). نتایج این آزمایش نشان داد که تیمار میوه‌ها با قارچ *Pencillium italicum* ممکن است بر متابولیسم H_2O_2 تأثیر بگذارد و مقاومت را در میوه القاء کند.

از نتایج آزمایش مربوط به میزان ترکیب های فنل چنین استنباط شد که *Pencillium italicum* باعث افزایش القاء و سنتز ترکیب های فنلی در میوه با افزایش زمان می شود. تنش‌های شیمیایی، مکانیکی یا بیولوژیکی در متابولیسم فنلی سیب تغییراتی ایجاد می‌کنند. این تغییرات در سطح میزان فنل می‌تواند در حفاظت گیاه بر علیه تنش نقش داشته باشد (Mayr *et al*., 1993). تحقیقات Walker و همکاران (۱۹۹۵) نشان می‌دهد که کاربرد قبل از برداشت عوامل بیوکنترل ممکن است از طریق افزایش سطح آنزیم های دفاعی و مواد فنلی به مغلوب شدن آلودگی‌های قبل و بعد از برداشت کمک نماید.

نتایج نشان داد که اسانس گیاه کک گریز دارای خاصیت ضد قارچی قوی علیه قارچ *Pencillium italicum* در شرایط طبیعی و روی میوه می باشد. نتایج بدست آمده به این صورت بود که بین سه دوز مختلف ۴۰۰، ۸۰۰ و ۱۶۰۰ppm اختلافی وجود ندارد اما با غلظت صفر و شاهد اختلاف وجود دارد. با توجه به اثرات مخرب زیست محیطی ناشی از استفاده بی‌رویه از سموم و مواد شیمیایی و ضرورت تولید هر چه بیشتر محصولات ارگانیک که می‌تواند کمک مؤثری به سالم‌سازی و حفظ محیط‌زیست و بهداشت عمومی جامعه برای استفاده از روش‌های غیرشیمیایی و کاهش مصرف بنماید؛ سموم یکی از انگیزه‌های مهم استفاده از اسانس‌های گیاهی می‌باشد (Alpsoy, 2010).

منابع مورد استفاده

- Abbott, W.S., 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. Journal of Economic Entomology, 18(2): 265-267.
- Aebi, H., 1984. [13] Catalase in vitro. Methods in Enzymology, 105: 121-126.
- Agrios, G., 2005. Plant Pathology. Dana Dreibelbis, 24p.
- Alpsoy, L., 2010. Inhibitory effect of essential oil on aflatoxin activities. African Journal of Biotechnology, 9(17): 2474-2481.
- Amiri, H., Lari Yazdi, H., Dusti, B. and Samsam Nia, F., 2011. Essential oil composition and anatomical study of *Oliveria decumbens* vent. Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 26(4): 513-520.

Blanquilla pears treated with 1-methylcyclopropene during cold storage. Journal of the Science of Food and Agriculture, 84(14): 1871-1877.
- Mahboubi, M., Feizabadi, M.M., Haghi, G. and Hosseini, H., 2008. Antimicrobial activity and chemical composition of *Oliveria decumbens* Vent. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 24(1): 56-65.
- Mahmoud, A.M., El-Baky, R.M.A., Ahmed, A.B.F. and Gad, G.F.M., 2016. Antibacterial activity of essential oils and in combination with some standard antimicrobials against different pathogens isolated from some clinical specimens. American Journal of Microbiological Research, 4(1): 16-25.
- Mayr, U., Batzdorfer, R., Treutter, D. and Feucht, W., 1993. Surfactant-induced changes in phenol content of apple leaves and fruit skins. Paper Presented at the International Symposium on Natural Phenols in Plant Resistance, 381: 479-487.
- Plaza, P., Sanbruno, A., Usall, J., Lamarca, N., Torres, R., Pons, J. and Viñas, I., 2004. Integration of curing treatments with degreening to control the main postharvest diseases of clementine mandarins. Postharvest Biology and Technology, 34(1): 29-37.
- Prusky, D., McEvoy, J.L., Saftner, R., Conway, W.S. and Jones, R., 2004. Relationship between host acidification and virulence of *Penicillium* spp. on apple and citrus fruit. Phytopathology, 94(1): 44-51.
- Rahemi, M., 2003. Post-harvest physiology: Introduction to physiology and the displacement of fruits, vegetables and ornamental plants. Shiraz University Press, 437p.
- Singh, S., Das, S., Singh, G., Schuff, C., de Lampasona, M.P. and Catalán, C.A., 2014. Composition, in vitro antioxidant and antimicrobial activities of essential oil and oleoresins obtained from black cumin seeds (*Nigella sativa* L.). BioMed Research International, 1-10.
- Swamy, M.K. and Sinniah, U.R., 2015. A comprehensive review on the phytochemical constituents and pharmacological activities of *Pogostemon cablin* Benth.: an aromatic medicinal plant of industrial importance. Molecules, 20(5): 8521-8547.
- Tripathi, P. and Dubey, N., 2004. Exploitation of natural products as an alternative strategy to control postharvest fungal rotting of fruit and vegetables. Postharvest Biology and Technology, 32(3): 235-245.
- Vero, S., Mondino, P., Burgueno, J., Soubes, M. and Wisniewski, M., 2002. Characterization of biocontrol activity of two yeast strains from Uruguay against blue mold of apple. Postharvest Biology and Technology, 26(1): 91-98.
- Walker, G.M., Mcleod, A.H. and Hodgson, V.J., 1995.
- Arras, G. and Usai, M., 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(7): 1025-1029.
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D. and Idaomar, M., 2008. Biological effects of essential oils-a review. Food and Chemical Toxicology, 46(2): 446-475.
- Barnet, H.L. and Hunter, B.B., 1998. Illustrated Genera of Imperfect Fungi. The American Phytopathological Society, Minnesota, 218p.
- Bowler, C., Montagu, M.V. and Inze, D., 1992. Superoxide dismutase and stress tolerance. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 43(1): 83-116.
- Daly, J.M., Ludden, P. and Seevers, P., 1971. Biochemical comparisons of resistance to wheat stem rust disease controlled by the Sr6 or Sr11 alleles. Physiological Plant Pathology, 1(4): 397-407.
- De Gara, L., de Pinto, M.C. and Tommasi, F., 2003. The antioxidant systems vis-à-vis reactive oxygen species during plant-pathogen interaction. Plant Physiology and Biochemistry, 41(10): 863-870.
- Deepak, S., Niranjan-Raj, S., Shailasree, S., Kini, R.K., Boland, W., Shetty, H.S. and Mithöfer, A., 2007. Induction of resistance against downy mildew pathogen in pearl millet by a synthetic jasmonate analogon. Physiological and Molecular Plant Pathology, 71(1): 96-105.
- Du, Y.Y., Wang, P.C., Chen, J. and Song, C.P., 2008. Comprehensive functional analysis of the catalase gene family in *Arabidopsis thaliana*. Journal of Integrative Plant Biology, 50(10): 1318-1326.
- Ghahraman, A., 1994. Iranian Color Flora,. Tehran University, 73-1357.
- Hammer, K.A., Carson, C. and Riley, T., 1999. Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. Journal of Applied Microbiology, 86(6): 985-990.
- Javadinamin, A. and Asgarpanah, J., 2014. Essential oil composition of *Francoeuria undulata* (L.) Lack. growing wild in Iran. Journal of Essential Oil Bearing Plants, 17(5): 875-879.
- Jayakannan, M., Bose, J., Babourina, O., Rengel, Z. and Shabala, S., 2015. Salicylic acid in plant salinity stress signalling and tolerance. Plant Growth Regulation, 76(1): 25-40.
- Kuć, J., 2001. Concepts and direction of induced systemic resistance in plants and its application. European Journal of Plant Pathology, 107(1): 7-12.
- Larrigaudiere, C., Vilaplana, R., Soria, Y. and Recasens, I., 2004. Oxidative behaviour of

Interactions between killer yeasts and pathogenic fungi. FEMS Microbiology Letters, 127(3): 213-222.

- Wang, Y.S., Tian, S.P., Xu, Y., Qin, G.Z. and Yao, H., 2004. Changes in the activities of pro-and anti-oxidant enzymes in peach fruit inoculated with *Cryptococcus laurentii* or *Penicillium expansum at* 0 or 20C. Postharvest Biology and Technology, 34(1): 21-28.
- Willekens, H., Chamnongpol, S., Davey, M., Schraudner, M., Langebartels, C., Van Montagu, M. and Van Camp, W., 1997. Catalase is a sink for H_2O_2 and is indispensable for stress defence in C3 plants. The EMBO Journal, 16(16): 4806-4816.
- Zakerian, A.S.R., Aboutalebi, A.S. and Safi Zadeh, M.R., 2011. Effect of extracts of medicinal plants and clay on post-harvest quality of Novel oranges. The first National Conference on Modern Topics in Agriculture, Saveh Branch, Science Islamic Azad University, Saveh, 8 November.

Inducing resistance reaction of orange against blue mold *Pencillium italicum* using the essential oil of *Francoeuria undulata* (L.) Lack

M.S. Hosseini[1], S. Mohammadi[2*] and A.R. Eftekhariyan Jahromi[3]

1- M.Sc. student, Department of Horticultural Science, Shiraz Branch, Science Islamic Azad University, Shiraz, Iran
2*- Corresponding author, Department of Plant Pathology, Shiraz Branch, Islamic Azad University, Shiraz, Iran
E-mail: mohammadi.pp@gmail.com
3- Department of Horticultural Science, Shiraz Branch, Islamic Azad University, Shiraz, Iran

Received: November 2017 Revised: March 2018 Accepted: April 2018

Abstract

Mold decay is one of the most important diseases after harvesting citrus fruits, produced by *Pencillium italicum* fungi. It annually causes high amount of losses in citrus products. The essential oil of coca bush, *Francoeuria undulata* (L.) Lack, has high antibacterial properties on microorganisms. Therefore, in two separate experiments, the effect of various concentrations of essential oils (four levels including 0, 400, 800 and 1600) on inducing resistance of orange's fruit was evaluated against blue mold (two levels: without pathogen and with pathogen) via studying the defense enzymes. The present study was conducted as factorial based on completely randomized design with three replications. In second experiment, the effect of essential oil on pathogen control was studied at concentrations of 0, 400, 800, and 1600 in a completely randomized design. Results of analysis of variance showed that the interaction of concentration×pathogen at 48 and 96- hour time periods was significant on three enzymes including catalase, peroxidase and phenol. Also, the results of analysis of variance showed that the effect of coca bush essential oil concentration on inhibitory of pathogen growth on fruit was significant. The interaction of pathogen× plant type showed that the highest content of phenol, peroxidase and catalase was associated with control treatments, while high phenol content was observed in pathogenic treatments with coca bush. The interaction of presence and absence of pathogen×concentration showed that the highest phenol content was obserevd in control treatments at 0 and 800 ppm concentrations. Peroxidase content was high in healthy treatments, while there was no difference among various treatments in terms of catalase content. The interaction of plant type×essential oil concentration showed that there was no significant difference among various treatments in terms of phenol, peroxidase and catalase content.

Keywords: Resistance, coca bush (*Francoeuria undulata* (L.) Lack), essential oil, *Pencillium italicum*.