تاثیر اسید سالیسیلیک بر کارایی کنترل زیستی *Pseudomonas fluorescens* علیه کپک آبی میوه سیب

سید اسماعیل رضوی[۱]، سیدجواد صانعی[۲*]

۱- استادیار، گروه گیاه‌پزشکی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
۲- مربی، گروه گیاه‌پزشکی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

(تاریخ دریافت: ۹۵/۱۱/۱۶ تاریخ پذیرش: ۹۷/۰۷/۲۹)

چکیده

کپک آبی با عامل *Penicillium expansum*، یکی از بیماری‌های مهم پس از برداشت میوه‌های سیب می‌باشد. از این رو کارایی غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک به تنهایی یا همراه با *Pseudomonas fluorescens* به‌منظور کنترل کپک آبی میوه سیب بررسی شد و تاثیر آن بر القای برخی از واکنش‌های دفاعی مورد مطالعه قرار گرفت. اسید سالیسیلیک در غلظت ۱۰۰۰ میکروگرم/ میلی‌لیتر جوانه زدن اسپور قارچ را به طور قابل‌توجهی در محیط درون شیشه کاهش می‌داد ($P\leq0.05$)، اما در روی میوه سیب قادر به کنترل موثر بیماری نبود. کاربرد توام اسید سالیسیلیکو *P.fluorescens* نشان داد که کارایی کنترل بیولوژیک آنتاگونیست *P. fluorescens* علیه کپک آبی میوه سیب به‌طور معنی‌داری توسط اسید سالیسیلیک افزایش می‌یابد ($P\leq0.05$). در این رابطه، بیشترین تاثیر اسید سالیسیلیکبه غلظت ۱۰ میکروگرم/ میلی‌لیتر مربوط بوده است و در غلظت‌های بالاتر و کمتر تاثیر آن کاهش می‌یافت. میوه‌های تیمار شده با اسید سالیسیلیک یا *P. fluorescens* به تنهایی میزان ترکیبات فنلی و فعالیت پراکسیداز بیشتری نسبت به میوه‌های شاهد داشتند، اما کاربرد توام *P. fluorescens* واسید سالیسیلیکدر غلظت ۱۰ میکروگرم/ میلی‌لیتر تاثیر بیشتری بر القای مقاومت میوه علیه بیماری داشته است.

کلید واژگان: اسید سالیسیلیک، *Pseudomonas fluorescens*، میوه سیب، کپک آبی، القای مقاومت

* مسئول مکاتبات: sa_nei@yahoo.com

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-10-06]

۱- مقدمه

سیب یکی از مهم‌ترین محصولات کشاورزی در دنیا و ایران است. یکی از مناطق عمده تولید این محصول، در شمال غرب ایران واقع شده است. نظر به استفاده از میوه سیب در تمام سال، نیاز این محصول به انبارداری امری اجتناب ناپذیر می‌باشد که بسته به تکنولوژی مورد استفاده در بسته‌بندی و شرایط انبارداری مانند دما و رطوبت، خسارت متفاوتی به آن وارد می‌شود [۱ و ۲].

میوه‌ها در طول دوره تولید، فروش و توزیع در معرض مشکلات ناشی از اکسایش و آلودگی به قارچ‌ها و باکتری‌های مختلف قرار دارند. این گونه خسارات، اساسا به‌وسیله عوامل قارچی به‌وجود می‌آیند. عوامل قارچی زخم‌هایی که در ضمن برداشت و حمل و نقل و فرآوری ایجاد می‌شوند را آلوده می‌کنند [۳]. میزان خسارت وارده بر میوه‌ها از مزرعه، انبار و تا مصرف به‌دلیل فقدان امکانات انبارداری مناسب در کشورهای توسعه‌یافته تا ۲۵٪ [٤] و در کشورهای در حال توسعه تا ۵۰٪ نیز می‌رسد [۵].

یکی از مهم‌ترین بیماری‌های پس از برداشت میوه سیب کپک آبی می‌باشد که توسط قارچ *Penicillium expansum* Link ایجاد می‌شود [٦]. استفاده از قارچ‌کُش‌ها موثرترین و رایج‌ترین روش کنترل برای بیماری‌های بعد از برداشت سیب‌است، اما نگرانی‌های مربوط به بقایای قارچ‌کش‌ها در محیط و به مخاطره افتادن سلامت انسان از یک طرف و مقاومت عوامل بیماری‌زای پس از برداشت به ترکیبات قارچ‌کش از طرف دیگر، استفاده از روش‌های جایگزین از جمله استفاده از عوامل کنترل مورد توجه قرار گرفته است [۷ و ۸]. در دو دهه‌ی اخیر، تلاش‌های زیادی در رابطه با استفاده از آنتاگونیست‌های میکروبی به‌منظور کنترل بیماری‌های بعد از برداشت صورت گرفته است [۹]. این عوامل به‌تنهایی یا به‌عنوان بخشی از مدیریت تلفیقی آفات و بیمارگرها برای کاهش استفاده از سموم به‌کار گرفته می‌شوند. برخی از این عوامل توان بالایی در کاهش شیوع بیماری‌های قارچی بعد از برداشت روی میوه‌های مختلف در مقیاس آزمایشگاهی داشته‌اند [۱۰]. به‌عنوان مثال، باکتری *Pseudomonas fluorescens* در کاهش بیماری کپک آبی سیب موثر می‌باشد [۱۱].

علاوه بر استفاده از آنتاگونیست‌ها به‌عنوان روش‌هایی کم‌زیان و ایمن، امروزه القای مقاومت به‌عنوان یک روش مدیریتی مهم برای حفاظت گیاهان و کنترل بیماری‌های بعد از برداشت میوه‌ها و سبزی‌ها مورد توجه قرار گرفته است [۱۲]. از طرفی، تاثیر برخی از مخمرها به‌عنوان عامل کنترل بیولوژیک، به القای مقاومت در میوه‌های برداشت شده نسبت داده می‌شود [۷ و ۱۲]. تاثیر محرک‌های فیزیکی و شیمیایی از جمله نور فرابنفش، کیتوزان، هارپین، متیل‌جازمونات و اسید سالیسیلیک[1] نیز قادر به بهبود کنترل بیولوژیک در رابطه با برخی از مخمرهای عامل بیولوژیک بوده‌اند [۱۳، ١٤ و ۱۵].

گیاهان می‌توانند در برابر آلودگی عوامل بیماری‌زا به‌واسطه‌ی یک‌سری سازوکارهای متنوع موضعی یا سیستمیک از خود دفاع کنند. یکی از این واکنش‌ها مقاومت سیستمیک اکتسابی[2] است که شامل تغییر پاسخ‌های دفاعی گیاه در حضور عامل بیماری‌زای معین یا ترکیبات شیمیایی در گیاه تحریک می‌باشد[١٤]. اسید سالیسیلیک یک مولکول سیگنال‌دهنده طبیعی با ماهیت فنلی است که در فیزیولوژی گیاه به‌ویژه تحریک واکنش‌های دفاعی گیاه علیه عوامل بیماری‌زا نقش دارد[١٦].عمل اسید سالیسیلیک در افزایش مقاومت سیستمیک اکتسابی در مطالعات مختلف شناخته شده است و کاربرد خارجی آن سبب بیان مقاومت و افزایش ظرفیت دفاعی بافت‌ها به‌صورت بروز مقاومت سیستمیک اکتسابی می‌گردد [۱۷]. این ترکیب در سیستم‌های بعد از برداشت فعالیت ضدمیکروبی را در میوه‌های مختلف افزایش می‌دهد [۱۸]. هم‌چنین پیری را در موز به‌تاخیر می‌اندازد [١٦] و مقاومت به بیماری را در گیلاس کاهش می‌دهد [١٤].

با توجه به تاثیر آنتاگونیستی باکتری *P. fluorescens* بر *P. expansum* و بررسی‌های محدود در رابطه با تاثیر توام اسید سالیسیلیک و آنتاگونیست‌ها [١٦و١٩]، در این مطالعه غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک به تنهایی یا همراه با باکتری *P. fluorescens* به‌منظور کنترل کپک آبی بعد از برداشت در میوه سیب بررسی شده است.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- عامل بیماری و میوه‌های سیب

1. Salicylic acid
2. Systemic acquired resistance

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-10-06]

قارچ *P. expansum* از کلکسیون گروه گیاه پزشکی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان تهیه شد. این جدایه از میوه‌های آلوده سیب از کرج جدا و خالص‌سازی شده بود. نگه‌داری قارچ روی محیط سیب‌زمینی دکستروز آگار[3] و در دمای ۷-۵ درجه سلسیوس بوده است. به‌منظور تهیه مایه تلقیح بیمارگر، سوسپانسیون اسپور *P. expansum* از کشت ۱۰- ۷ روزه روی محیط سیب‌زمینی دکستروز آگار در ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر استریل تهیه شد و با افزودن آب مقطر استریل غلظت 1×10^5 اسپور/ میلی‌لیتر به‌دست آمد [۲۰]. در این آزمون از میوه‌های سالم و بدون زخم سیب رقم Golden delicious با اندازه یکسان که از میدان میوه شهرستان گرگان در آبان ماه ۱۳۹۵تهیه شده بود، استفاده گردید. میوه‌ها پس از شست‌وشو با آب، به‌مدت یک دقیقه در محلول هیپوکلریت‌سدیم ۰/۱٪ قرار داده شد و سپس به‌مدت ۳۰ ثانیه در اتانول ۹۵٪ شسته شدند و سرانجام سه بار با آب مقطر سترون آب کشیده شدند [۲۰].

۲-۲- تاثیر اسید سالیسیلیکو باکتری *P. fluorescens*بر کنترل کپک آبی

روی هر سیب، چاهکی با میخ استریل به قطر ۲/۵ میلی‌متر و به عمق ۳ میلی‌متر زده شد. سپس چاهک‌ها با ۲۰ میکرولیتر از سوسپانسیون اسپور قارچ مایه‌زنی شدند. به منظور حفظ رطوبت لازم سیب‌ها با پلاستیک پوشانده و به انبارهای مورد نظر با دمای مشخص (۱± ۵ درجه سلسیوس) انتقال داده شدند[۱۰].زخم‌های شاهد با آب استریل تیمار شدند. قطر لکه‌ها هر ۵ روز یک‌بار به‌مدت ۲۰ روز اندازه‌گیری گردید. برای هر تیمار ٤ تکرار در نظر گرفته شد. آزمایش به‌صورت طرح کاملا تصادفی انجام شد.

۲-۳- تاثیر اسید سالیسیلیکبر جوانه زدن اسپورهای *P. expansum* در شرایط آزمایشگاه

تاثیر اسید سالیسیلیک بر جوانه زدن اسپورهای *P. expansum* در محیط سیب زمینی دکستروز براث[4] بررسی شد. در این رابطه، ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون اسپور بیماری‌زا (5×10^6 اسپور/ میلی‌لیتر) به لوله‌های شیشه‌ای حاوی ۱۰ میلی‌لیتر محیط سیب‌زمینی دکستروز براث اضافه گردید. به منظور تاثیر اسید سالیسیلیک، غلظت‌های ۰ (آب مقطر استریل)، ۱، ۱۰، ۱۰۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم/ میلی‌لیتر تهیه و محلول‌ها توسط صافی‌های میکرو استریل شدند. لوله‌ها در شرایط تاریکی و دمای ۲۸ درجه سلسیوس نگه‌داری شدند. پس از ۱۲ ساعت ۱۵۰ الی ۲۰۰ اسپور در هر تکرار از نظر جوانه‌زدن مورد بررسی میکروسکوپی قرار گرفت [۱۸]. تیمارها دارای ٤ تکرار بوده است و آزمایش ۲ مرتبه تکرار شد.

۲-٤- تاثیر اسید سالیسیلیک بر جمعیت باکتری *P. fluorescens*

فلاسک‌های ۵۰ میلی‌لیتر حاوی ۱۰ میلی‌لیتر محیط کشت نوترینت مخمر دکستروز براث[5] تهیه و محلول‌های اسید سالیسیلیکبا غلظت‌های ۰ (آب مقطر استریل)، ۱، ۱۰، ۱۰۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم/ میلی‌لیتر که توسط صافی‌های میکرو استریل شده بودند به آن‌ها اضافه گردید. سپس یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون باکتری با 2×10^4 سلول/ میلی‌لیتر به هر فلاسک اضافه شد. ظرف‌های کشت به‌مدت ٤۸ ساعت روی شیکر با سرعت ۲۰۰ دور در دقیقه و دمای ۲۸ درجه سلسیوس تهیه گردید. سپس به‌مدت ۲۰ دقیقه با سرعت ٤۵۰۰ در دقیقه سانتریفیوژ گردید و باکتری‌های ته‌نشین شده در لوله سانتریفیوژ با آب مقطر سترون شست‌وشو داده شد و عدد جذب سوسپانسیون حاصل به‌کمک دستگاه اسپکتروفتومتر تعیین گردید. برای تهیه سوسپانسیون باکتری با غلظت مورد نظر در این مطالعه (10^9 CFU/ml) از طول موج ۵۹۰ نانومتر استفاده شد[۲۱].تیمارها دارای ٤ تکرار بوده است و آزمایش ۲ مرتبه تکرار شد.

۲-۵- اندازه‌گیری میزان فنل کل و تغییرات آنزیم پراکسیداز

آزمایش‌های مربوط به اندازه‌گیری میزان فنل کل و تغییرات آنزیم پراکسیداز در روزهای ۳، ٦، ۹ و ۱۲ روز پس از مایه‌زنی میوه‌ها صورت گرفت. میزان فنل با استفاده از معرف فولین- سیوکالتو در طول موج ۷۲۵ نانومتر اندازه‌گیری شد و

3. Potato dextrose agar
4. Potato dextrose broth
5. Nutrient yeast dextrose broth

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-10-06]

منحنی کالیبراسیون با استفاده از غلظت‌های مختلف اسید گالیک تهیه گردید[۲۲]. اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز بر اساس روش جیانگ و همکاران[۲۳]با استفاده از H_2O_2 و فنیل‌دی‌آمین با استفاده از تغییرات جذب نور در طول موج ٤٨٥ نانومتر بوده است. میزان پروتئین کل موجود در عصاره‌ی بافت گیاه با استفاده از معرف برادفورد صورت گرفت و میزان جذب در ٥٩٥ نانومتر (محدوده‌ی نور آبی) با استفاده از اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد[٢٤].

٢-٦- تجزیه‌وتحلیل داده‌ها

مطالعه در چهار تکرار به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی انجام شد و نتایج به‌دست آمده با روش آنالیز واریانس (ANOVA) مورد تجزیه‌وتحلیل قرار گرفت و مقایسه‌ی میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال $P\leq0.05$ انجام شد. تجزیه‌وتحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار R 3.3.1 صورت گرفت و ترسیم شکل‌ها توسط نرم‌افزار Excell 2007 انجام شد.

٣- نتایج

٣-١-تاثیر اسید سالیسیلیک و *P. fluorescens* بر کنترل کپک آبی

باکتری *P. fluorescens* به تنهایی ایجاد پوسیدگی و مساحت منطقه پوسیده را در سیب‌های تیمار شده در مقایسه با شاهد کاهش می‌داد (جدول ١)، اما اسید سالیسیلیک به‌تنهایی تاثیری بر کاهش ایجاد پوسیدگی و مساحت منطقه پوسیده در سیب‌های تیمار شده در مقایسه با شاهد نداشته است ($P\leq0.05$، جدول ١). اضافه نمودن اسید سالیسیلیک در غلظت ١٠ میکروگرم/ میلی‌لیتر یا کمتر با افزایش فعالیت آنتاگونیستی باکتری علیه قارچ *P. expansum* همراه بود ($P\leq0.05$، جدول ١). کارایی تیمار توام اسید سالیسیلیکو باکتری *P. fluorescens* با کاهش غلظت اسید سالیسیلیکبه ١ میکروگرم/ میلی‌لیتر یا افزایش آن به ١٠٠ میکروگرم/ میلی‌لیتر کاهش می‌یافت ($P\leq0.05$، جدول ١). و در غلظت ١٠٠٠ میکروگرم/ میلی‌لیتر تاثیری بر فعالیت آنتاگونیستی باکتری *P. fluorescens* علیه قارچ *P. expansum* نداشت ($P\leq0.05$، جدول ١).

Table 1 Effects of salicyclic acid on control of blue mold on apple fruit wounds

Treatment	Decay incidence (%)	Lesion diameter (mm)
Control	100 ±0 [a]*	22.8 ±3.3 [a]
1000 µg ml^{-1} SA	100 ±0 [a]	24.8 ±2.8 [a]
100 µg ml^{-1} SA	100 ±0 [a]	23.0 ±4.4 [a]
10 µg ml^{-1} SA	100 ±0 [a]	22.6 ±2.6 [a]
1 µg ml^{-1} SA	100 ±0 [a]	21.2 ±2.6 [a]
P. fluorescens	55.5±5.19[b]	11.25±2.2[bc]
1000 µg ml^{-1} SA+ *P. fluorescens*	98.5 ±0 [a]	21±1.8[a]
100 µg ml^{-1} SA + *P. fluorescens*	52.3±4.32[b]	12.75±1.7[b]
10 µg ml^{-1} SA + *P. fluorescens*	10.75±2.75 [d]	8.75±1.7 [c]
1 µg ml^{-1} SA + *P. fluorescens*	24.5±3.41[c]	12.5±1.9 [b]

*Data are means ± standard deviations of four replicates. Different lowercase letters indicate significant differences ($P\leq0.05$) according to Duncan's multiple range test.

٣-٢- تاثیر اسید سالیسیلیک بر جوانه زدن اسپورهای *P. expansum* در شرایط آزمایشگاه

نتایج تاثیر اسید سالیسیلیکبر جوانه‌زدن اسپورهای *P. expansum* در شرایط آزمایشگاه نشان داد که اگرچه غلظت ١ میکروگرم/ میلی‌لیتر تاثیری بر کاهش درصد جوانه‌زدن اسپور بیمارگر نداشته است، اما غلظت‌های ١٠، ١٠٠ و ١٠٠٠ میکروگرم/ میلی‌لیتر اسید سالیسیلیک به‌ترتیب ٩/٢٥، ٣٦ و ٩٤ درصد جوانه زدن اسپور بیمارگر را کاهش می‌داد ($P\leq0.05$، شکل ١).

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-10-06]

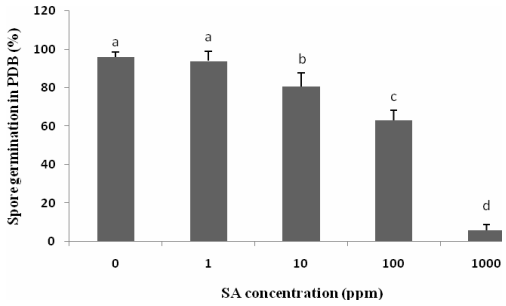

Fig 1 Spore germinations of *Penicillium expansum* in potato-dextrose broth (PDB) containing salicylic acid (SA) at the selected concentrations (1000, 100, 10, 1, 0 l µg ml^{-1}). Different letters indicate significant differences (P≤0.05) according to Duncan's multiple range tests (cv=5.97).

۳-۳- تاثیر اسید سالیسیلیک بر جمعیت باکتری *P. fluorescens*

نتایج تاثیر اسید سالیسیلیک بر جمعیت باکتری *P. fluorescens*در شرایط آزمایشگاه نشان داد که غلظت‌های ۱، ۱۰ میکروگرم/ میلی‌لیتر اسید سالیسیلیک تاثیری بر کاهش جمعیت باکتری نداشته است، اما غلظت‌های ۱۰۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم/ میلی‌لیتراسید سالیسیلیک جمعیت باکتری را به ترتیب ۵۱/۲۱ و ۶۵/۸۵ درصد کاهش می‌داد (P≤0.05، شکل ۲).

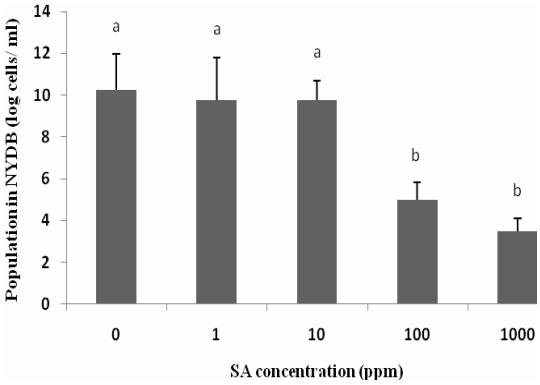

Fig 2 Populations of *Pseudomonas fluorescens* in nutrient yeast dextrose broth (NYDB) containing salicylic acid (SA) at the selected concentrations (1000, 100, 10, 1, 0 l µg ml^{-1}). Different letters indicate significant differences (P≤0.05) according to Duncan's multiple range tests (cv=17.62).

۴-۳- تاثیر اسید سالیسیلیک و *P. fluorescens* بر القای مقاومت

برررسی میزان تغییرات فنل در میوه‌های تیمار شده با باکتری آنتاگونیست نشان داد که میزان فنل در روزهای دوم، چهارم و ششم افزایش می‌یابد، ولی به‌تدریج در روز هشتم کاهش داشته است. این کاهش در روز دهم نیز ادامه داشت (شکل ۳).

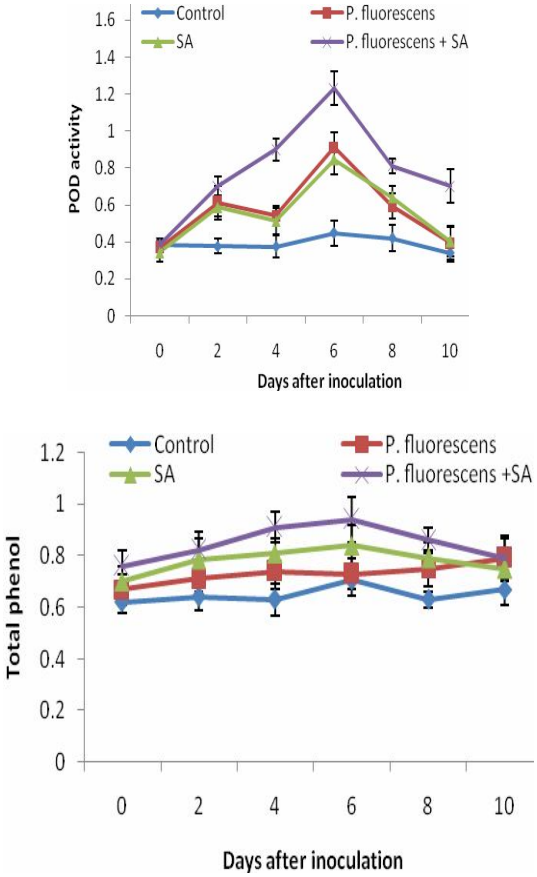

Fig 3 Effects of salicylic acid (10 µg ml^{-1}SA) and *Pseudomonas fluorescens*on the peroxidase activities (ΔOD 485/min/mg, top) and total phenol (mg/g, below) in apple wounds at the local wound site. Standard errors of four replications are given as the short bars.

تغییرات آنزیم پراکسیداز در شکل ۳ آمده است. نتایج نشان داد که فعالیت آنزیم درروز دوم در سیب‌های آلوده تیمار شده با باکتری آنتاگونیست در مقایسه با سیب‌های آلوده و سالم شاهد بیشتر بوده است. این افزایش در روز چهارم ادامه داشت و در روز ششم بیشترین میزان فعالیت آنزیم در تیمارهای مربوط به باکتری آنتاگونیست مشاهده شد. در روز هشتم فعالیت آنزیم کاهش می‌یافت و روند کاهش فعالیت آن تا روز دهم ادامه پیدا کرد (شکل ۳).

۴- بحث

امروزه به دلیل توجه ویژه به سلامتی انسان و محیط زیست، هم‌چنین مقاوم شدن برخی از جدایه‌های عوامل بیماری‌زای

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-10-06]

پس از برداشت به سموم انگیزه‌ها برای یافتن روش‌های جایگزین برای سموم بسیار بیشتر شده است [۷]. در این بین کنترل بیولوژیک به تنهایی و یا در تلفیق با سایر روش‌های کنترل بیماری آینده امیدوارکننده‌ای از خود نشان داده است. در این راستا به‌منظور تقویت هر چه بیشتر کنترل بیولوژیک، القای مقاومت در میوه‌ها و استفاده از فراورده‌های گیاهی و یا حیوانی که خاصیت بیمارگرکُشی دارند نیز مورد توجه قرار گرفته است [۲۵ و ۲۶]. در این رابطه، گزارش‌های متعددی در رابطه با کنترل بیماری‌های بعد از برداشت از جمله کپک آبی با استفاده از آنتاگونیست‌های باکتریایی، قارچی و مخمری وجود دارد.

در این مطالعه، جوانه‌زدن اسپور *P. expansum* در محیط کشت PDB با افزایش غلظت اسید سالیسیلیکبه ۱۰۰ میکروگرم/ میلی‌لیتر و بالاتر به‌طور معنی‌داری تحت‌تاثیر قرار می‌گرفت ($P\leq0.05$، شکل ۱)، اما تاثیر غلظت‌های ۰ تا ۱۰۰ میکروگرم/ میلی‌لیتر اسید سالیسیلیکبر ایجاد پوسیدگی و مساحت لکه‌ایجاد شده توسط بیمارگر معنی‌دار نبوده است ($P\leq0.05$، جدول ۱). تاثیر متفاوت اسید سالیسیلیک روی *P. expansum* در محیط کشت و روی میوه‌ی سیب در نتایجال-غوث و همکاران [۲۵] و یو و ژنگ [۱۵] نیز مشاهده می‌شود. این مشاهده‌هابیان‌کننده آن است که نتایج مطالعات انجام شده در محیط درون شیشه[6] همواره با شرایط محیط زنده[7] مطابقت ندارد [۲۷]. در این مطالعه، راندمان *P. fluorescens* علیه *P. expansum* در حضور ۱۰۰ میکروگرم/ میلی‌لیتر اسید سالیسیلیکو غلظت‌های بالاتر به‌طور قابل‌توجهی کاهش می‌یابد (جدول ۱) که مشابه نتایج به‌دست آمده توسط یو و ژنگ [۱۵] در رابطه با تاثیر توام *P. fluorescens* و اسید سالیسیلیکبر *P. expansum* می‌باشد.

در زمان تهاجم قارچ به میوه، عامل بیماری‌زا با راهبردهای دفاعی میزبان مانند تجمع عناصر تشکیل‌دهنده سدهای دفاعی و تولید ترکیبات ضدمیکروبی مانع تهاجم عامل بیماری‌زا می‌شوند. در این رابطه، گزارش‌های متعدد نقش دفاعی آنزیم پراکسیداز و میزان فنل کل را علیه بیمارگرهای مختلف نشان داده‌اند [۲۶]. تحریک مقاومت به بیماری در ارتباط با واکنش سریع دفاعی از جمله افزایش ترکیبات فنلی و افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز علیه مراحل مختلف ورود بیمارگر می‌باشد [۲۳].تجمع ترکیبات فنلی در محل آلودگی باعث توقف و یا کُند شدن رشد عامل بیماری‌زا می‌شود. تنش‌های شیمیایی، مکانیکی و یا بیولوژیکی متابولیسم ترکیبات فنلی را در میوه سیب تغییر می‌دهند [۱۹و۲۸].

از نتایج آزمایش‌های مربوط به القای سازوکارهای دفاعی به‌وسیله *P. fluorescens* به نظر می‌رسد که باکتری آنتاگونیست به عنوان محرک مناسب در القا و سنتز آنزیم پراکسیداز و میزان فنل کل می‌باشد و افزایش دفاع بافت میوه علیه قارچ بیمارگر را ایفا می‌کند [۲۸]. نتایج این بررسی نیز نشان می‌دهد که تیمار توام اسید سالیسیلیکو *P. fluorescens* موجب افزایش واکنش‌های مرتبط با دفاع گیاه علیه ورود و استقرار بیمارگر می‌شود. تغییر در واکنش‌های دفاعی از نفوذ و توسعه عامل بیماری به قسمت‌های دیگر گیاه جلوگیری می‌نماید (جدول ۱).این نتایج با عمل اسید سالیسیلیک در افزایش ترکیبات دفاعی در گیاهان [۱۳] و تغییر مقاومت سیستمیک اکتسابی مطابقت دارد [۱۵].

اسید سالیسیلیک به تنهایی در غلظت‌های نسبتا پایین (۱۰ میکروگرم/ میلی‌لیتر) قادر به تاثیر بر جمعیت *P. fluorescens* در محیط شیشه و روی میوه سیب یا جوانه‌زدن اسپور *P. expansum* نیست، اما کاربرد توام آن با *P. fluorescens* به‌طور قابل‌توجهی در کنترل بیماری کپک آبی نسبت به کاربرد باکتری آنتاگونیست به‌تنهایی موثر می‌باشد (جدول ۱). تاثیر تیمار توام اسید سالیسیلیکو *P. fluorescens* در کاهش ایجاد بیماری نسبت به افزایش لکه موثرتر بوده است (جدول ۱). این موضوع تحریک مقاومت را در ضمن مراحل اولیه پیشرفت بیماری نشان می‌دهد. پس از ایجاد بیماری و ظهور لکه، الیسیتورها قادر به جلوگیری از استقرار بیمارگر و پیشرفت بیماری نمی‌باشند [۱۹]. به‌علاوه، نتایج جدول ۱ هم‌چنین نشان می‌دهد که بیشترین بهبود فعالیت بیوکنترلی باکتری آنتاگونیست توسط اسید سالیسیلیکدر غلظت ۱۰ میکروگرم/ میلی‌لیتر است. این نتیجه با نظر کلی در رابطه با بیشترین عملکرد ترکیبات تنظیم‌کننده رشد هنگامی که در غلظت بهینه استفاده شوند مطابقت دارد.

۵- منابع

[1] Droby, S. 2006. Improving quality and safety of fresh fruits and vegetables after harvest by the use of biocontrol agents and natural materials. Acta Horticulturae, 709(1), 45-51.

6. in vitro
7. in vivo

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-10-06]

[2] Okigbo, R.N., and Ikediugwu, F.E.O. 2001. Biological control of tuber surface mycoflora of yam (*Dioscorea rotundata*). Tropical Science, 41(2), 85-89.

[3] Spadaro, D., Gullino, M.L. 2004. State of the art and future prospects of the biocontrol of postharvest fruit diseases. International Journal of Food Microbiology, 91(1), 185-194.

[4] Harvey, J.M. 1978. Reduction of losses in fresh fruits and vegetables. Annual Review of Phytopathology, 16(2), 321-341.

[5] Eckert, J.W., and Ogawa, J.M. 1985. The chemical control of post-harvest diseases: subtropical and tropical fruits. Annual Review of Phytopathology, 23(2), 421-454.

[6] Vico, I., Duduk, N., Vasić, M., and Nikolić, M. 2014. Identification of *Penicillium expansum* causing postharvest blue mold decay of apple fruit.PesticidesandPhytomedicine,29(4), 257-266.

[7] Droby, S., Vinokur, V., Weiss, B., Cohen, L., and Daus, A. 2002. Induction of resistance to *Penicillium digitatum* in grapefruit by the yeast biocontrol agent *Candida oleophila*. Phytopathology, 92(2),393-399.

[8] Janisiewicz, W.J., and Korsten, L. 2002. Biological control of postharvest diseases of fruits. Annual Review of Phytopathology, 40,411-441.

[9] Guerrero, V., Guigon, C., Berlanga, D., and Ojeda, D. 2014. Complete control of *Penicillium expansum* on apple fruit using a combination of antagonistic yeast *Candida oleophila*. Chilean Journal of Agricultural Research, 74(4), 427-431.

[10] Gholamnejad, J., Etebarian, H.R., and Sahebani, N. 2010. Biological control of apple blue mold with *Candida membranifaciens* and *Rhodotorula mucilaginosa*. African Journal of Food Science, 4(1),1-7.

[11] El Ghaouth, A., Wilson, C.L., and Wisniewski, M. 2003. Control of postharvest decay of apple fruit with *Candida saitoana* and induction of defense responses. Phytopathology,93(3), 344-348.

[12] de Capdeville, G., Beer, S.V., Wilson, C.L., and Aist, J.R. 2002. Alternative disease control agents induce resistance to blue mold in harvested Red Delicious_ apple fruit. Phytopathology, 92 (8), 900-908.

[13] Qin, G.Z., Tian, S.P., Xu, Y., Wan, Y.K. 2003. Enhancement of biocontrol efficacy of antagonistic yeasts by salicylic acid in sweet cherry fruit. Physiological Molecular Plant Pathology, 62(1),147-154.

[14] Yao, H.J., and Tian, S.P. 2005. Effects of a biocontrol agent and methyl jasmonate on postharvest diseases of peach fruit and the possible mechanisms involved.Journal of Applied Microbiology, 98(10),94-950.

[15] Yu, T., and Zheng, X.D. 2006. Salicylic acid enhances biocontrol efficacy of the antagonist*Cryptococcuslaurentii* in apple fruit. Journal *of* Plant Growth Regulation,25(2),166-174.

[16] Srivastava, M.K., Dwivedi, U.N. 2000. Delayed ripening of banana fruit by salicylic acid. Plant Science, 158(1), 87-96.

[17] Terry, L.A., and Joyce, D.C. 2004. Elicitors of induced disease resistance in postharvest horticultural crops: a brief review. Postharvest Biology and Technolgy,32(1),1-13.

[18] Yousefi, H., Sahebani, N., Mirabolfathy, M., Faravardeh, L., and Mahdavi, V. 2010. The effect of salicylic acid and *Bacillus subtilis* on cucumber root and stem rot, caused by *Fusarium oxysporum*f.sp. *radicis cucumerinum*. Iranian Journal of Plant Paththology,46(4), 85-87

[19] Fajardo, J.E., McCollum, T.G., McDonald, R.E., Mayer, R.T. 1998. Differential induction of proteins in orange Flavedo by biologically based elicitors and challenged by *Penicillium digitatum* Sacc. Biological Control,13(1), 143-151.

[20] Sanderson, P.G., and Spotts, R.A. 1995. Postharvest decay of winter pear and apple fruit caused by species of Penicillium. Phytopathology, 85 (1), 103-110.

[21] Gong, Y., Toivonen, P., Lau, O.L., and Wiersma, P.A. 2001. Antioxidant system level in `Braeburn` apple is related to its browning disorder. Botanical Bulletin of Academia Sinica,42(2), 259-264.

[22] Malencic, D., Popovic, M., and Miladinovic, J. 2007. Phenolic content and antioxidant properties of soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) seeds.Molecules,12(3), 576-581.

[23] Jiang, A.L., Tian, S.P., Xu, Y. 2002. Effects of controlled atmosphere with high CO_2 concentartions on post-harvest physiology and storability of Napoleon sweet cherry. Acta Botanica Sinica,44(8), 925-930.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-10-06]

[24] Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. Analytical Biochemistry, 72(2), 248-254.

[25] El-Ghaouth, A., Smilanick, J.L., Wisniewski, M., Wilson, C.L. 2000. Improved control of apple and citrus fruit decay with a combination of *Candida saitoana* and 2-deoxy-D-glucose. Plant Disease, 84(3),249-253.

[26] Droby, S., Wsiniewski, M., Ei-Ghaouth, A., and Wilson, C. 2003. Biological control of postharvest diseases of fruits and vegetables: current achievements and future challenges. Acta Horticulturae,628 (6),703-713.

[27] Rotem, J., Cohen, Y., Bashi, E. 1978. Host and environmental influences on sporulation *in vivo*. Annual Review of Phytopathology, 16,83-101.

[28] Diby, P., and Sharma, Y.R. 2005.*Pseudomonas fluorescens* mediated systematic resistance in black pepper (*Piper nigrum* L.) is driven through an elevated synthesis of defense enzymes. Archives of Phytopathology and Plant Protection, 38(2), 139-149.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-10-06]

Effect of salicylic acid on biocontrol efficacy of *Pseudomonas fluorescens* against blue mold of apple fruit

Sanei, S. J. [2*], Razavi, S. E. [1]

2. Instructor , Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Department of Plant Protection, Gorgan, Iran
1. Assistant Professor, G, organ University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Department of Plant

(Received: 2017/02/04 Accepted:2018/10/21)

Blue mold, caused by *Penicillium expansum*, is a major postharvest disease of apple fruits.This study was conducted to evaluate the efficacy of salicylic acid at various concentrations alone or in combination with *Pseudomonasfluorescens* to control the postharvest blue mold of apple fruit and investigated its possible modes of action through the measurements of salicylic acidon induction of biochemical defense mechanisms.salicylic acidat the concentration of 1000 µg ml^{-1} significantly inhibited the spore germination of *P. expansumin vitro*, but it was not effective in controlling the disease *in vivo*.Simultaneous application of salicylic acidand *P.fluorescens* showed that the biological efficacy of *P.fluorescens* against *P. expansum* on apple fruit could be significantly enhanced by adding salicylic acid, which was most effective at 10 µg ml^{-1} but less effective at a higher or lower concentrations. Fruits treated with salicylic acidor *P.fluorescens* alone had significantly higher phenolic content and proxidase activity than the control fruits but the combination of *P.fluorescens* with salicylic acidat 10 µg ml^{-1}also had a synergistic effect on the induction of fruit resistance to the disease.

Key words: Salicylic acid, Biocontrol, *Pseudomonasfluorescens*, Apple fruit, Blue mold, Induced resistance.

* Corresponding author E-Mail Address: sa_nei@yahoo.com

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-10-06]