# کاربرد برخی نمک‌های معدنی و باکتری *Bacillus subtilis* برای کاهش پوسیدگی سبز پرتقال ناشی از قارچ *Penicillium digitatum* در شرایط انباری

سیاوش ترابی[1*]، مسعود احمدزاده[2]، سلیمان قاسمی[3]

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین، مدیر کنترل کیفی بخش پروبیوتیک شرکت فناوری زیستی طبیعت گرا (بایوران).

۲- استاد گروه گیاهپزشکی، دانشگاه تهران، کرج، ایران.

۳- دانشجوی دکتری بیماری شناسی گیاهی دانشگاه تربیت مدرس، مدیر تحقیق و توسعه شرکت فناوری زیستی طبیعت گرا (بایوران).

**(تاریخ دریافت: ٩٤/٠٤/٢٤ تاریخ پذیرش: ٩٥/٠١/٢٣)**

## چکیده

فساد میکروبی محصولات غذایی در شرایط انبار، یکی از چالش‌های پیش روی ما در صنایع غذایی کشور است. در این میان پوسیدگی‌های میکروبی میوه‌ها در شرایط انبار و سردخانه از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است.در این بررسی ابتدا قارچ عامل پوسیدگی، از سطح میوه‌های آلوده پرتقال جداسازی و خالص گردید و بیماری‌زایی آن به اثبات رسید. سپس کنترل پوسیدگی پرتقال با استفاده از ریزسازواره‌های جداشده از سطح میوه و نیز تهیه شده از کلکسیون‌های میکروبی، در تلفیق با چند نمک، مورد ارزیابی قرار گرفت. در بررسی اثر جدایه‌های باکتریایی بر کاهش پوسیدگی میوه، بیشترین ممانعت از رشد قارچ و توسعه پوسیدگی توسط سویه *Bacillus subtilis* UTB96 صورت گرفت. در ادامه اثر غلظت‌های یک، سه و پنج درصد (وزنی/حجمی) سه ترکیب کربنات پتاسیم، کربنات سدیم وبیکربنات سدیم روی جوانه‌زنی اسپور عامل پوسیدگی مورد بررسی قرار گرفت، که در این میان با توجه به اثر منفی غلظت پنج درصد بیکربنات سدیم روی زنده‌مانی سلول‌ها، ترکیب سه درصد بیکربنات سدیم بیشترین اثر در ممانعت از جوانه‌زنی اسپورهای عامل پوسیدگی را از خود نشان داد. نتایج این بررسی نشان داد که تلفیق کاربرد سویه *B. subtilis* UTB96 با سه درصد بیکربنات سدیم، منجر به افزایش توانایی بیوکنترلی آن علیه عامل پوسیدگی پرتقال گردید.

**کلید واژگان:** *Penicillium digitatum*، بیکربنات سدیم، پوسیدگی انباری،کنترل زیستی

* مسئول مکاتبات: s.torabi468@yahoo.com



[ Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-08-01 ]

## ۱- مقدمه

پرتقال پس از سیب دومین میوه پر مصرف جهان است. بیماری‌های پس از برداشت، سالیانه منجربه از بین رفتن ۳۰-۱۰ درصدکل محصول مرکبات می‌شود، و در برخی از موارد خسارت بیش از ۳۰ درصد این میوه هم در کشورهای در حال توسعه دیده شده است[۱]. البته میزان این خسارت‌ها در هر سال به شدت تحت تاثیر شرایط آب و هوایی طی فصل رشد، هنگام برداشت و نیز شرایط فیزیولوژیکی خود میوه هنگام داشت و برداشت می‌باشد، که این شرایط تعیین کننده طول دوره سلامتی محصولات در طی انبارداری است[۲].

یکی از رایج‌ترین و پرخسارت‌ترین عوامل پس از برداشت که به انواع مرکبات آسیب می‌رساند، عامل کپک سبز مرکبات (*Penicillium digitatum*) می‌باشد. این عامل در مراحل برداشت، انبارداری و حتی شرایط سردخانه از طریق زخم‌های ایجاد شده، به درون میوه نفوذ کرده و منجر به ایجاد خسارت‌های پس از برداشت در میوه‌ها می‌گردد. کپک سبز مرکبات گرچه در دماهای نسبتا بالا توسعه می‌یابد، اما در حرارت‌های پایین و نزدیک به صفر نیز فعالیت کندی دارد. گونه *P. digitatum* علاوه بر خسارت پوسیدگی، مایکوتوکسین‌های خطرناکی از جمله پاتولین تولید می‌نماید که به اندام‌های داخلی و سیستم عصبی آسیب رسانیده و سرطان‌زا نیز می‌باشد[۳]. قارچ عامل این پوسیدگی تولید اسپورهای هوازاد فراوان می‌کند، لذا توانایی مقاومت به قارچکش‌ها را دارا می‌باشد. درحال حاضر، قارچکش‌ها مهمترین ابزار کنترل این خسارت در مرکبات می‌باشند و تا به حال قارچکش‌های موثری برای کنترل پوسیدگی‌های پس از برداشت در مرکبات بخصوص پرتقال ساخته شده‌اند که بعضی از آنان نظیر بنومیل در کاهش این معضل پس از برداشت و طولانی کردن دوره نگهداری آن‌ها موثر بوده‌اند.

در سال‌های اخیر کاهش پوسیدگی‌های پس از برداشت از جمله کپک سبز پرتقال با استفاده از ریزسازواره‌های با فعالیت آنتاگونیستی(باکتری‌ها، مخمرها و قارچ‌های آنتاگونیست)به عنوان یک روش جایگزین مناسب برای قارچکش‌های صنعتی مورد توجه بسیاری از محققان صنایع غذایی قرار گرفته است. این روش جایگزین، خصوصا در مراحل پس از برداشت به لحاظ سهولت آغشته‌سازی میوه‌ها با ترکیبات آنتاگونیستی، می‌تواند بسیار کاربردی باشد و به این وسیله میتوان از خسارت‌های پس از برداشت در سردخانه و یا انبار که از طریق زخم‌های ایجاد شده در حین برداشت یا پس برداشت گسترش می‌یابد، جلوگیری نمود. تاکنون خسارت برخی پوسیدگی‌های پس از برداشت، روی میوه‌هایی مثل هلو، گیلاس، سیب و نیز انواع مرکبات از طریق کاربرد ریزسازواره‌های با فعالیت آنتاگونیستی کنترل شده است و برخی از این ریزسازواره‌ها به شکل تجاری در آمده و به بازار عرضه شده است [٤]. برای دستیابی به اشکال تجاری این گونه ترکیبات آنتاگونیستی، یافتن سویه‌های پروبیوتیک با کارایی مناسب و مشخص کردن میزان و دامنه اثر آنها جهت استفاده در مبارزه غیرشیمیایی با پوسیدگی‌های انباری و سردخانه‌ای امری ضروری است.

نمک‌های آلی و غیر آلی خاصی وجود دارند که دارای خصوصیات ضدمیکروبی بوده و در صنایع غذایی مصرف زیادی دارند. یکی از این ترکیبات، بیکربنات سدیم است که علاوه بر کنترل و استحکام بافت گیاهی دارای طیف وسیعی از فعالیت قارچی نیز می‌باشد. قدرت و توانایی بیکربنات سدیم معمولا به عنوان یک افزودنی در صنایع غذایی به منظور تعدیل اسیدیته، بهتر کردن طعم ترکیب مواد غذایی و کاهش میزان فساد آنها مورد استفاده قرار می‌گیرد. این ترکیب اثرات کنترلی مطلوبی روی کپک سبز مرکبات نشان داده است[۱۵].

در این تحقیق سعی شد تا با استفاده از تعدادی از پروبیوتیک‌های شناخته شده و مفید و همچنین پروبیوتیک‌هایی که ازسطوح طبیعی میوه‌های پرتقال جداسازی می‌شوند، کنترل و کاهش پوسیدگی میوه پرتقال ناشی از کپک سبز مرکبات مورد بررسی قرار گیرد. در صورت رسیدن به یک سویه با قابلیت تجاری‌سازی، می‌توان مقدمات تولید تجاری آن را در کشور فراهم نمود.

## ۲- مواد و روش‌ها

### ۲-۱- جداسازی عامل پوسیدگی از سطح میوه‌های آلوده

ابتدا چندین پرتقال فاسد با علایم میسلیوم‌های سبز، سبز آبی و پوسیدگی سفید رنگ و نیز چندین پرتقال سالم از سردخانه نگهداری مرکبات واقع در مهرشهر کرج، نمونه برداری و به طور



[ Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-08-01 ]

جداگانه در داخل پلاستیک‌های استریل به آزمایشگاه منتقل شد. از حاشیه لکه‌های ایجاد شده روی میوه‌های آلوده، مقداری از بافت نمونه برداری شد و به مدت ۱ دقیقه در اتانول۷۰ درصد و سپس به مدت ۱ دقیقه در محلول ۱ درصد هیپوکلریت سدیم، غوطه‌ور گردید و پس از آن ۳ مرتبه با آب مقطر سترون آبکشی و پس از خشک شدن روی کاغذ صافی سترون به محیط کشتPDA حاوی ۱/ . درصد سولفات استرپتومایسین برده شد[۵]. به منظور نگهداری طولانی مدت جدایه*P. digitatum*، از لوله‌های حاوی کشت مورب (اسلنت) استفاده شد.

## ۲-۲- تلقیح جدایه عامل پوسیدگی روی سطح میوه

میوه‌های مورد استفاده در این مرحله، از میدان بار محمد شهر کرج تهیه شد. میوه‌های انتخاب شده از نوع پرتقال رقم والنسیا بودند که همگی سالم، دارای اندازه یکنواخت و فاقد هر گونه واکس، تیمار شیمیایی و عارضه فیزیولوژیک بودند. این میوه‌ها داخل نایلون‌های تمیز قرارداده شدند و در سردخانه قرار گرفتند. میوه‌های پرتقال به مدت یک دقیقه در الکل اتانول ۷۰ درصد ضدعفونی سطحی شدند. سپس روی هر میوه در شرایط سترون، ۲ زخم به قطر ۱ میلی‌متر و عمق ۲ میلی‌متر ایجاد شد. به محل زخم پرتقال، ۲۵ میکرولیتر از سوسپانسیون اسپور، با غلظت $10^6$ اسپور در هر میلی‌لیتر تلقیح شد. برای پرتقال شاهد از آب مقطر سترون استفاده شد. برای هر تیمار ۵ میوه به عنوان تکرار در نظر گرفته شد. پس از یک هفته نگهداری در اتاق کشت با دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۵±۸۰ درصد و شرایط سترون، قطر زخم‌های ایجاد شده روی میوه‌ها مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. داده‌ها در قالب طرح کاملا تصادفی تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند[۸].

## ۲-۳- جداسازی ریزسازواره‌های با فعالیت آنتاگونیستی از سطح میوه پرتقال

برای این منظور میوه‌ها به طور جداگانه داخل بشرهای سترون محتوی ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر سترون قرار گرفتند. سپس بشرها روی شیکر در۱۰۰ دور در دقیقه (100 rpm) و به مدت ۱ ساعت قرار داده شدند و ۱۰۰ میکرولیتر از هر کدام روی پلیت‌های محتوی محیط NYDA[1] کشت سطحی شدند. سپس پلیت‌ها به مدت ۲٤ ساعت در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفته و پس از گذشت این زمان، تمامی کلنی‌های متفاوت ایجاد شده، پس از ۳مرحله کشت خطی روی محیط NA (نوترینت آگار) و YGC (ایست اکستراکت گلوگز کلرامفنیکل آگار) از طریق تک کلون کردن خالص‌سازی شدند. همچنین از طریق رنگ‌آمیزی گرم، نوع گرم مثبت و منفی آن‌ها مشخص گردید[۱۱].

در این پژوهش علاوه بر جدایه‌های بدست آمده، جدایه‌های*Bacillus subtills* UTB96 و *Pseudomonas flourescens* UTPf5 نیز از کلکسیون میکروبی گروه گیاهپزشکی دانشگاه تهران دریافت شد. همچنین از بانک میکروبی کارخانه نیز دوازده سویه حاوی دو سویه مخمری و ده سویه باکتریایی انتخاب گردید. لیست سویه‌های اخیر در جدول ۱ آورده شده است.

**Table 1.** Strains name and their characterization, received from the microbial collection of Biorun company

| Strain name | Species name | Source | Code |
|---|---|---|---|
| NBT.Y1 | *Saccharomyces cerevisiae* | IBRC[2] | 30069 |
| NBT.Y2 | *Saccharomyces cerevisiae* | - | - |
| NBT.P9 | *Bacillus licheniformis* | IBRC | 10204 |
| NBT.112 | *Bacillus subtilis* | IBRC | 10696 |
| NBT.P23 | *Lactobacillus casei* | IBRC | 10711 |
| CHAO | *Pseudomonas protegens* | PTCC[3] | 19095 |
| NBT.19 | *Lactobacillus fermentum* | PTCC | 1744 |
| NBT.R169 | *Lactobacillus plantarum subsp. plantarum* | PTCC | 1745 |
| NBT.168 | *Lactobacillus helveticus* | PTCC | 1332 |
| NBT.187 | *Lactobacillus reuteri* | PTCC | 1655 |
| NBT.PS21 | *Pediococcus acidilactici* | PTCC | 1602 |
| NBT.R41 | *Pediococcus acidilactici* | PTCC | 1424 |

1. Nutrient Yeast Dextrose Agar



[ Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-08-01 ]

## ۲-٤- نگهداری باکتری‌ها

نگهداری باکتری‌ها به دو صورت انجام گرفت. در روش اول، مطابق روش ولر و کوک از محلول سترون گلیسرول استفاده شد. به داخل هر لوله اپندورف سترون، ٦۰۰ میکرولیتر از محلول ٤۰٪ گلیسرول در آب مقطر ریخته شد. سه حلقه کامل از کشت جوان هر جدایه به درون لوله منتقل و پس از محکم نمودن درب آن کاملا با ورتکس مخلوط شد. این لوله‌ها درون فریزر ۸۰- نگهداری شدند. در روش دوم، درون لوله‌های مک کارتی کوچک، پنج میلی‌لیتر محلول سولفات منیزیوم ۰/۱ مولار ریخته شد و لوله‌ها اتوکلاو شدند. چند حلقه از هر باکتری رشد یافته روی NA به لوله‌های جداگانه منتقل شد. این لوله‌ها قابل نگهداری در شرایط معمول آزمایشگاه هستند. برای نگهداری کوتاه مدت و تهیه کشت جوان برای آزمایشات جاری پژوهش، از کشت روی NA به صورت مورب (اسلنت) یا درون پلیت استفاده شد[۷].

## ۲-۵- غربالگری جدایه‌ها

در این بررسی از روش کشت متقابل (Dual culture) جدایه‌های باکتریایی با قارچ *P. digitatum* در پتری‌دیش استفاده شد.درون ویال‌های ۱/۵میلی‌لیتری به میزان ۱ میلی‌لیتر از محیط کشت (NYDB) ریخته شد. سپس به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد اتوکلاو شدند. سپس به درون هر اپندورف یک لوپ از کشت جوان جدایه‌های میکروبی اضافه شد. سپس ویال‌ها به مدت ۷۲ ساعت در شیکر انکوباتور در دمای ۲٤ درجه سانتی‌گراد و ۱٦۰ تکان در دقیقه قرار گرفتند. پس از پایان این مدت ویال‌ها در۱٤۰۰۰g به مدت ۳۰ ثانیه سانتریفوژ شده و رسوب حاصله، مجددا درون ۱ میلی‌لیتر از آب مقطر سترون سوسپانسیون شدند. در مرحله بعد، از قارچ *P. digitatum* سوسپانسیون اسپور تهیه شد و بوسیله لام هموسیتومتر به غظت نهایی$^{٦}$ ۱۰ اسپور در هر میلی‌لیتر رسید. سپس ۱۰ میکرولیتر از این سوسپانسیون در مرکز پتری دیش‌های محتوی NYDA قرار گرفت. پتری‌دیش‌ها در شرایط دمایی ۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲٤ ساعت نگهداری شدند. در آخرین مرحله، ۱۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتریایی با غلظت $^{۸}$۱۰ باکتری برداشته و در ۳ نقطه روی پلیت‌ها قرار داده شدند. در تیمار شاهد تنها از سوسپانسیون قارچ در مرکز پلیت استفاده شد. پلیت‌ها در دمای۳۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. میزان بازدارندگی از رشد قارچ توسط هر کدام از جدایه‌های میکروبی زمانی که پرگنه قارچ در پتری شاهد به انتهای پتری رسید، اندازه‌گیری و به صورت درصدی از رشد پرگنه قارچی در پتری شاهد محاسبه شد. برای هر تیمار ۳ پلیت و در هر پلیت سه لکه باکتریایی قرار داده شد. نتایج با نرم‌افزار SPSS تجزیه و تحلیل گردید و میانگین‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن مقایسه شدند[۸].

## ۲-٦- بررسی تاثیر جدایه‌ها روی درصد جوانه‌زنی اسپورهای عامل کپک سبز

۵ میلی‌لیتر محیط PDB درون لوله‌های درپیچ‌دار کوچک ریخته شد و سپس ۱۰۰ میکرولیتر سوسپانسیون اسپور *P. digitatum* با غلظت $^{٦}$۱۰ اسپور در هرمیلی‌لیتر و ۱۰۰ میکرولیتر از سلول‌های با فعالیت آنتاگونیستی انتخاب شده در مرحله قبل با غلظت $^{۷}$۱۰سلول در هر میلی‌لیتر به آن اضافه گردید. لوله‌ها به مدت ۱۳ ساعت درون شیکر انکوباتور تنظیم شده روی ۱۱۰ دور در دقیقه و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و پس از ۱۳ ساعت، تعداد اسپورهای جوانه زده، با استفاده از میکروسکوپ و لام هموسیتومتر شمارش شده و مورد مقایسه قرار گرفتند.

## ۲-۷- تلقیح میوه‌ها

در شرایط سترون، زخم‌های ایجاد شده روی میوه با ۲۵ میکرولیتر از سوسپانسیون عامل پوسیدگی با غلظت $^{٦}$۱۰ اسپور در هر میلی‌لیتر آلوده شدند و پس از گذشت یک ساعت و خشک شدن زخم‌ها، ۲۵ میکرولیتر از سوسپانسیون جدایه‌های باکتریایی با غلظت $^{۷}$۱۰، به درون زخم‌ها تلقیح شدند. سپس میوه‌ها به منظور حفظ رطوبت، درون کیسه‌های پلاستیکی سترون قرار داده شدند و پس از چیده شدن روی صفحات فیبری مخصوص به اتاق کشت تنظیم شده در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد انتقال یافتند. در این آزمایش برای هر جدایه با فعالیت آنتاگونیستی تعداد ۱۰ میوه و روی هر میوه ۲ نقطه زخم (جمعا ۲۰ منطقه زخم) در نظر گرفته شد و زخم‌های تیمار شاهد (۱۰ پرتقال) با آب مقطر سترون تلقیح شدند. ۱۰ میوه پرتقال نیز به عنوان تیمار کنترل در نظر گرفته شدند که فقط به آن سوسپانسیون اسپور زده شد. داده‌ها در قالب طرح کاملا تصادفی

2. Iranian Biological Resource Center
3. Persian Type Culture Collection



[ Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-08-01 ]

مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند و مقایسه میانگین ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح ٪١ انجام شد.

## ٢-٨- بررسی اثر برخی نمک‌ها در کنترل *P. digitatum*

### ٢-٨-١- بررسی اثر نمک‌های مختلف روی جوانه‌زنی اسپورهای *P. digitatum*

غلظت‌های ١، ٣ و ٥ درصد (وزنی/ حجمی) از ترکیبات کربنات سدیم، بیکربنات سدیم وکربنات پتاسیم تهیه گردید. سوسپانسیون اسپور از قارچ عامل فساد در غلظت $10^6$ اسپور در هر میلی‌لیتر تهیه گردید و سپس ١٠ میکرولیتر از این سوسپانسیون با غلظت‌های مختلف محلول‌های نمکی فوق تا رسیدن به حجم نهایی ١ میلی‌لیتر مخلوط گردیدند. پس از گذشت ٣٠ ثانیه ١٠٠ میکرولیتر از سوسپانسیون‌های اسپور بدست آمده روی محیط آب آگار (WA) کشت سطحی داده شد و بعد از ٧٢ ساعت نگهداری در دمای ٢٠ درجه سانتی‌گراد کلنی‌های تشکیل شده روی محیط شمارش گردید و داده‌ها در قالب طرح کاملا تصادفی مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت[٧].

### ٢-٨-٢- بررسی اثر بیکربنات سدیم روی رشد باکتری‌ها

سوسپانسیون با غلظت $10^7$ سلول در میلی‌لیتر از هر کدام از جدایه‌ها تهیه گردید و پس از سانتریفوژ در ١٢٠٠٠g، رسوب حاصله در ٤٠٠ میکرولیتر از محلول‌های ١، ٣ و ٥ درصد از نمک بیکربنات سدیم، درون چاهک‌های پلیت الایزا سوسپانسیون گردید. پس از گذشت ١، ١٢ و ٢٤ ساعت، از هر نمونه سری رقت تهیه شد و با کشت روی NA، جمعیت سلولی باکتری‌ها تعیین گردید. در این آزمایش برای هر تیمار ٣ تکرار در نظر گرفته شد و تیمار شاهد در آب مقطر سترون سوسپانسیون گردید. داده‌ها در قالب طرح فاکتوریل به صورت کاملا" تصادفی با دو فاکتور رقت و زمان برای هر جدایه تجزیه و تحلیل آماری گردید[٨].

### ٢-٨-٣- بررسی اثر غلظت‌های بیکربنات سدیم بر پوست میوه پرتقال

غلظت‌های ١، ٣ و ٥ درصد بیکربنات سدیم آماده گردید. میوه‌های پرتقال درون این غلظت‌ها غوطه‌ور گردیدند و پس از خشک شدن در هوای آزاد روی صفحات فیبری مخصوص چیده شده و به دمای ١٠ درجه سانتیگراد انتقال یافتند و به مدت ٤ هفته در این دما نگهداری شدند. میوه‌هاهر هفته از نظر ایجاد خسارت سوختگی در سطح پوست مورد بررسی قرار گرفتند. میوه‌های شاهد درون آب مقطر سترون غوطه‌ور گردیدند و برای هر تیمار ٣ تکرار و هر تکرار شامل ٥ میوه پرتقال در نظر گرفته شد. داده‌های آزمایش در قالب طرح کاملا" تصادفی مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند.

### ٢-٨-٤- بررسی اثر بیکربنات سدیم (٣٪) در تلفیق با جدایه‌های باکتریایی در کنترل *P. digitatum* روی میوه پرتقال در دمای ٤ و ٢٠ درجه سانتی‌گراد

در این آزمایش اثر بیکربنات سدیم با غلظت ٣ درصد که در بخش قبل انتخاب شده بود، در تلفیق با باکتری‌های با فعالیت آنتاگونیستی در کنترل رشد قارچ *P. digitatum* روی میوه پرتقال در دو دمای ٤ و ٢٠ درجه سانتیگراد مورد ارزیابی قرار گرفت. بدین ترتیب که سلول‌های باکتری‌های با فعالیت آنتاگونیستی مورد نظر، طبق روش ذکر شده در بالا آماده گردید و سپس در محلول ٣ درصد از بیکربنات سدیم سوسپانسیون شد. برای پرتقال‌های شاهد از آب مقطر سترون استفاده شد. میوه‌های پرتقال پس از آلوده شدن به *P. digitatum* به مدت ٢ دقیقه در داخل سوسپانسیون نمک باکتری غوطه‌ور گردیدند و پس از خشک شدن در مجاورت هوای آزاد روی صفحات فیبری چیده شده و در دماهای ٤ و ٢٠ درجه سانتی‌گراد قرارداده شدند. برای هر تیمار ٣ تکرار شامل ١٥ میوه پرتقال در نظر گرفته شد. پس از یک هفته نگهداری پرتقال‌ها در اتاق کشت با دمای ٤ و ٢٠درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ٥±٨٠ درصد و شرایط سترون، قطر پوسیدگی ایجاد شده روی میوه‌های تیمار شده مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. شدت اثر یا درصد بازدارندگی ، از طریق مقایسه قطر پوسیدگی در تیمارها با تیمار شاهد مورد محاسبه قرار گرفت و داده‌ها در قالب طرح کاملا تصادفی تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند[٨].

## ٢-٩- روش تجزیه و تحلیل داده‌ها

برای تجزیه و تحلیل داده‌های بدست آمده از نرم‌افزار SPSS استفاده شد. طرح مورد استفاده، طرح کاملا" تصادفی بود. پس از تجزیه واریانس، در صورت معنی‌دار بودن اثر هر یک از عوامل از روش دانکن برای مقایسه میانگین‌ها استفاده شد. کلیه نمودارها توسط نرم‌افزار Excel رسم شد.



[ Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-08-01 ]

## ۳- نتایج

### ۳-۱- نتایج مربوط به جداسازی قارچ عامل پوسیدگی

در این تحقیق مطابق روش ذکر شده، یک جدایه قارچی بدست آمد. پس از یک هفته، این قارچ با سرعت خوبی روی محیط PDA رشد کرد و میانگین قطر پرگنه قارچ مذکور بعد از ١٤ روز گرمخانه‌گذاری در دمای ٢٤ درجه سانتی‌گراد در حدود ١٠ تا ٣٠ میلی‌متر بود که به شکل انبوه اسپورزایی می‌کرد.

**۳-۲- اثبات توانایی ایجاد پوسیدگی جدایه قارچی روی میوه**

پس از گذشت ١٠ روز نگهداری پرتقال‌ها در دمای آزمایشگاه، جدایه قارچی روی پرتقال‌های تیمار، اسپورزایی نمودند. در صورتیکه در پرتقال‌های شاهد هیچ رشدی مشاهده نشد و میوه‌ها کاملا سالم بودند. پرتقال‌های آغشته به کپک بافت نرمی پیدا کرده و رشد کپک‌ها کاملا محسوس بود و حتی میسلیوم در حال رشد با قطر ٥ سانتمیتر مشاهده شد که بافتی حدود ٧ سانتیمتر را نرم نموده بودند.

### ۳-۳- جداسازی باکتری‌های با فعالیت آنتاگونیستی از سطح میوه پرتقال و محیط

پس از سه روز گرمخانه‌گذاری، رشد قابل ملاحظه‌ای در پلیت‌ها مشاهده شد و تمامی کلنی‌های متفاوت موجود، از طریق تک کلون کردن خالص‌سازی شدند و سپس کشت خطی و لام گرم از آنها تهیه شد. در این بررسی مجموعا ٦ جدایه میکروبی از پرتقال‌های سردخانه مهرشهر کرج جداسازی و خالص‌سازی شد که با عنوان NBT نامگذاری شدند. نتایج نشان داد که از مجموع جدایه‌ها، ٥٠٪ متعلق به باکتری‌های گرم مثبت،٣٣٪ متعلق به باکتری‌های گرم منفی و حدود ١٦٪ نیز متعلق به مخمرها بوده است. در ادامه جدایه‌های بدست آمده در این مرحله، به همراه سویه‌های دریافتی از دو کلکسیون میکروبی، برای غربالگری و بررسی‌های بیشتر استفاده شدند.

### ۳-٤- غربال جدایه‌های میکروبی مناسب

#### ۳-٤-۱- نتایج کشت متقابل

در این تحقیق مجموعا" اثر ٢٠ جدایه میکروبی روی بازدارندگی رشد *P. digitatum* بررسی گردید و نتایج به صورت جدول ٢ بدست آمد.

**Table 2.** Inhibition of *P. digitatum* spores growth by isolates in dual culture assay

| No. | Strain/ Isolate name | Growth Inhibition % |
|---|---|---|
| 1 | UTB96 | 69.2 a |
| 2 | ST.6 | 61.3 b |
| 3 | NBT.Y1 | 20.8 k |
| 4 | ST .4 | 59.2 bc |
| 5 | ST. 2 | 56.3 bc |
| 6 | NBT.P9 | 25.4 ghk |
| 7 | ST.3 | 66.3 a |
| 8 | ST.1 | 53.8 c |
| 9 | NBT.Y2 | 22.5 hk |
| 10 | CHAO | 58 bc |
| 11 | UTPF5 | 54.6 c |
| 12 | ST .5 | 27.5 gh |
| 13 | NBT.112 | 28.8 fg |
| 14 | NBT.P23 | 33 def |
| 15 | NBT.19 | 35 de |
| 16 | NBT.R169 | 30 efg |
| 17 | NBT.168 | 37 d |
| 18 | NBT.187 | 33 def |
| 19 | NBT.PS21 | 28 Fg |
| 20 | NBT.R41 | 30 efg |

میکروب‌های با فعالیت آنتاگونیستی به کار برده شده در این پژوهش، روی درصد جوانه‌زنی اسپورهای کپک سبز تاثیر بسیار خوبی از خود نشان دادند (جدول٣).

**Table 3** Germination percent of *P. digitatum* spores in PDB culture medium containing microbial isolates

| grouping | Germination inhibition % | Spore germination % | Isolate |
|---|---|---|---|
| a | 88 | 12 | UTB96 |
| b | 79 | 21 | ST-3 |
| b | 78 | 22 | ST-6 |
| c | 65 | 35 | CHA 0 |



[ Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-08-01 ]

**۳-٤-۲- تاثیر چهار جدایه منتخب بر مهار رشد کپک سبز روی میوه‌های پرتقال در شرایط دمایی ٤ و ۲۰ درجه سانتی‌گراد**

بررسی کاربردی اثر باکتری UTB96 و سه جدایه دیگر در دماهای ٤ و ۲۰ درجه سانتی‌گراد نشان داد که جدایه UTB96 قادر به کنترل مناسب خسارت ناشی از کپک سبز در دو دمای مذکور می باشد(جدول ٤). این باکتری، در دماهای مورد آزمایش، خسارت پوسیدگی کپک سبز را تا ۸۳ درصد کاهش داد.

**Table 4.** Comparison of isolates in controlling green mold on orange at 4 and 20 ° C

| 20 ° C | 4 °C | Strains |
|---|---|---|
| 77 a | 83 a | UTB96 |
| 60 b | 68 b | ST.3 |
| 57 b | 65 b | ST.6 |
| 55 b | 62 b | CHA 0 |

**۳-٥- اثر نمک‌های کربنات و بیکربنات به تنهایی و یا در تلفیق با جدایه های باکتریایی در کنترل *P. digitatum*.**

**۳-٥-۱- اثر ترکیبات شیمیایی مختلف روی جوانه‌زنی اسپورهای *P. digitatum***

کلیه ترکیبات مورد استفاده در غلظت‌های مختلف باعث ممانعت از جوانه‌زدن اسپورهای قارچ گردیدند.طبق تجزیه و تحلیل‌های آماری بیکربنات سدیم(SB) به عنوان موثرترین ترکیب به منظور انجام آزمایش‌های بعدی مورد استفاده قرار گرفت (جدول ٥).

**Table 5** Different mineral salts effect on *P. digitatum* spores germination

| spore germination % | | | Mineral salt |
|---|---|---|---|
| Concentration of 5**%** | Concentration of 3**%** | Concentration of 1**%** | |
| 83.1 c | 77.6 c | 57.6 c | Potassium Carbonate |
| 21 b | 28.9 b | 44.5 b | Sodium Carbonate |
| 9.5 a | 15.2 a | 30 a | Sodium Bicarbonate |
| 99.1 d | 100 d | 100 d | Distilled water |

**اثر نمک بیکربنات سدیم روی رشد چهار جدایه میکروبی**

نتایج این بخش از پژوهش نشان داد که رشد جدایه‌های میکروبی تحت تاثیر هر دو فاکتور غلظت بیکربنات سدیم و مدت زمان قرارگیری باکتری در معرض این نمک بود. جدایه‌های باکتریایی در محلول شاهد، یک و سه درصد از بیکربنات سدیم در هر سه زمان به صورت نرمال رشد کردند. اما در مورد محلول پنج درصد در هر سه زمان اختلاف معنی‌داری با شاهد دیده شد. تعیین جمعیت باکتریایی از رقت‌های تهیه شده و کشت روی محیط کشت، کاهش بیش از ٤٥ درصدی سلول‌های باکتریایی در غلظت ٥ درصد از بیکربنات سدیم را نشان داد. با توجه به نتایج فوق، غلظت سه درصد از بیکربنات سدیم برای ادامه آزمایشات مورد استفاده قرار گرفت (جدول ٦).



[ Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-08-01 ]

**Table 6.** Effect of different concentration of sodium bicarbonate (%) and treatment time (hour) on bacterial isolates growth.

| Treatments | | Isolates | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Time (hour) | Concentration (%) | CHA 0 | NBT.6 | NBT.3 | UTB96 |
| 1 | 0 | 79 a | 94 a | 80 a | 100 a |
| | 1 | 77 a | 96 a | 78 a | 98 a |
| | 3 | 71 ab | 95.6 a | 70 ab | 95.5 b |
| | 5 | 66 b | 84 b | 65 b | 51 c |
| 12 | 0 | 86 a | 98 a | 86 a | 99 a |
| | 1 | 74 a | 100 a | 75 a | 90 b |
| | 3 | 69 ab | 96 a | 70 ab | 90 b |
| | 5 | 51 c | 44 c | 52 c | 45 d |
| 24 | 0 | 73 ab | 100 a | 72 ab | 100 a |
| | 1 | 69 ab | 98 a | 70 ab | 98 a |
| | 3 | 71 ab | 98 a | 70 ab | 95 b |
| | 5 | 34 d | 32 d | 35 d | 31 e |

**۳-۵-۲- اثرنمک بیکربنات سدیم روی پوست میوه پرتقال**

نتایج این بخش مشخص کرد که پس از گذشت ٤ هفته نگهداری در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد، هیچ اثری از سوختگی ناشی از تیمار با نمک روی پوست هیچکدام از میوه‌ها ایجاد نشده است. همچنین هیچ خسارت داخلی یا کاهش وزنی بارز روی میوه‌های تیمار شده در مقایسه با شاهد دیده نشد.

**۳-۵-۳- اثر تلفیقی بیکربنات سدیم و ٤ باکتری منتخب، در کنترل کپک سبز میوه پرتقال**

در بررسی اثرتوام جدایه‌های با فعالیت آنتاگونیستی و بیکربنات سدیم، در مهاررشد کپک سبز مشاهده شد که، کاربرد توام غلظت ۳ درصد این نمک و جدایه UTB96، بیشترین جلوگیری از رشد کپک سبز را باعث شد (جدول ۷).

**Table 7.** Effect of bacterial isolates in combination with Sodium bicarbonate (3%) on inhibition the growth of green mold on orange at 4 and 20 ℃.

| Inhibition (%) at 20 ℃ | Inhibition (%) at 4 ℃ | bacterial isolate |
|---|---|---|
| 80 a | 88 a | UTB96 |
| 71 b | 74 b | ST.3 |
| 61 b | 66 c | ST.6 |
| 63 b | 69 c | CHA 0 |

## ٤- بحث

پرتقال پس از سیب دومین میوه پرمصرف در جهان می‌باشد. اما پوسیدگی‌های پس از برداشت همواره منجر به زیان‌های عمده‌ای در مراحل پس از برداشت این محصول باارزش می‌گردد. تخمین زده می‌شود که ۳۰ درصد کل محصولات مرکبات دنیا، سالانه در اثر عوامل پوسیدگی پس از برداشت از بین می‌رود. هیچکس از زیان‌های فزاینده پس از برداشت مرکبات، که در طی عملیات برداشت، فرآوری و انبارداری، حمل و نقل، در قفسه مغازه‌ها و خانه‌ها پیش می‌آید، اطلاع دقیقی ندارد. بعلاوه در کشورهای در حال توسعه که امکانات بهداشتی و سردخانه‌ای ناچیز است، زیان‌های پس از برداشت مطمئنا" بیشتر است. این مقدار در بسیاری از حالات به بیش از ۳۰ درصد از محصولات برداشت شده می‌رسد.

پوسیدگی‌های ناشی از کپک سبز و آبی به عنوان شایع‌ترین میکروارگانیسم‌هایی هستند که با مرکبات همبستگی ویژه‌ای یافته‌اند و به ترتیب توسط قارچ‌های *Penicillium digitatum* و *Penicillium italicum* ایجاد می‌شوند. این کپک‌ها در همه مناطق مرکبات خیز دنیا به ویژه در مناطق دارای بارندگی تابستانه شیوع بیشتری دارند. از مشخصه‌های هر دو پوسیدگی، می‌توان به نرمی آب‌گونه‌ای که روی پوست نمایان می‌شود، اشاره کرد. به این ترتیب که کپک به سرعت تکثیر شده و محل زخم به وسیله



[ Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-08-01 ]

اسپورهای سفیدرنگ پوشیده می‌شود و البته حضور این دو قارچ در بیشتر موارد توأم با هم است.

از آنجائی که امروزه تاکید بر تیمار میوه‌ها با مواد بی‌خطر است و همچنین با توجه به نتایج آزمایش، می‌توان توصیه نمود، در زمان برداشت و بسته‌بندی حتی‌الامکان سعی شود که پوست میوه زخم نگردد و به جهت بالا بردن ضریب اطمینان از سلامت میوه‌ها در انبار، قبل از بسته‌بندی، میوه‌ها به مدت ٥ دقیقه در آب حاوی بیکربنات سدیم یک درصد تیمار شوند. در صورت در دسترس بودن انبار سرد، نگه‌داری میوه‌ها در دمای حدود ٦ درجه سانتی‌گراد به حفظ ظاهر آنها کمک کرده و میوه‌ها آب کمتری از دست داده، کاهش وزن کمتری داشته، شاداب‌تر باقی مانده و از کیفیت غذائی بهتری برخوردار خواهند شد.

نظر به اهمیت مرکبات در امر تغذیه و مصارف داخلی و خارجی، بررسی مشکلات ماندگاری میوه و یافتن راه کارهای مقابله با آن به ویژه کاهش کیفیت و کمیت این محصولات در شرایط انبارداری، عدم توجه به موارد مورد اشاره، خسارت زیادی را به تولیدکنندگان و بهره‌برداران وارد می‌سازد. این میوه‌ها در انبار بر اثر آلودگی به تعدادی از بیماری‌های قارچی به ویژه دو گونه قارچ از جنس پنی‌سیلیوم به نام‌های *پنی‌سیلیوم ایتالیکوم* (کپک آبی) و *پنی‌سیلیوم دیجیتاتیوم* (کپک سبز ) ضایعات و خسارات زیادی را به بار می‌آورند. تاثیر مواد شیمیایی مجاز روی محصولات مرکبات (پرتقال و نارنگی) در شرایط انبار تفاوت معنی‌داری داشته است. میوه‌های پرتقال و نارنگی را به صورت قیچی‌چین و با حذف میوه‌های زخمی و با محلول‌های مجاز به مدت دو دقیقه آغشته نموده و پس از آن، میوه‌ها در جعبه‌های پلاستیکی که برای اولین بار به کار گرفته شده قرار داده می‌شوندو به انبار انتقال می‌یابند (تعداد پرتقال و نارنگی در داخل جعبه‌ها طبق عرف منطقه است). شایان ذکر است پژوهشگران اعلام نموده‌اند، اندود کردن میوه‌های پرتقال و نارنگی با واکس‌های مجاز، کارآیی خوبی در جلوگیری از پوسیدگی میوه‌ها در انبار داشته است.

فرآیندهای نگهداری میوه به روش سنتی و در فضای معمولی دارای برخی نارسایی‌ها است که مهمترین آن، کاهش وزن میوه‌های ذخیره شده و پیروی فرآیند از شرایط غیر قابل کنترل محیطی می‌باشد. علیرغم بزرگی مسئله، کارشناسان صنایع غذایی به پوسیدگی پس از برداشت اولویت لازم را نداده‌اند. بخشی از این مسئله بخاطر تولید انبوه این محصولات در کشورهای پیشرفته می‌باشد که تا حدی وخامت زیان‌های پس از برداشت را می‌پوشاند. این نقیصه در برنامه‌های تحقیقاتی دانشگاهی نیز به صورت توجه اندک به پوسیدگی‌های پس از برداشت منعکس می‌گردد. تا بحال تعداد زیادی از قارچکش‌ها، برای کنترل پوسیدگی‌های پس از برداشت در میوه‌ها شناخته شده‌اند که برخی از آنها نظیر بنومیل در کاستن میزان آلودگی‌های پس از برداشت و طولانی‌تر کردن دوره نگهداری میوه‌ها موثرند. ولی این قارچکش‌های شیمیایی، بتدریج با افزایش مقاومت عوامل پوسیدگی پس از برداشت، کم اثر می‌شوند [١٠].از طرف دیگر بخاطر امکان آلودگی مواد غذایی به سموم و مشکلات باقیمانده سموم روی محیط زیست، گرایش عمومی بر کاهش مصرف سموم تاکید دارد.آژانس‌های بین المللی تولید محصولات غذایی در سراسر دنیا، همواره از خسارت‌های عمده این عوامل پوسیدگی در امان نبوده و پیوسته به دنبال راهکارهای مناسب برای کاهش آن بوده‌اند، اما اثرات جنبی و جدی قارچکش‌ها نشان می‌دهد که می‌بایست یک روش جایگزین، که هم موثر و هم ایمن برای سلامتی مصرف‌کنندگان ومحیط زیست باشد مورد استفاده قرار گیرد.استفاده از ترکیبات شیمیایی نظیر کربنات سدیم، بیکربنات سدیم و ... و تیمارهای فیزیکی نظیر تیمارهای حرارتی، دمای پایین نگهداری در انبار، پرتوتابی و... می‌تواند به صورت قاطع اما ایمن، سطح خسارت پس از برداشت را کاهش دهد.اما مشکل در اینجا بروز می‌کند که اثرات قارچکشی این روش‌ها ناپایدار و محدود بوده و طول مدت محافظت میوه در تیمار با این روش‌ها طولانی نمی‌باشد. به عنوان مثال تحقیقات تکسیدو و همکاران نشان داد که بیکربنات سدیم روی اسپورهای عامل پوسیدگی، دارای اثر کشندگی ضعیفی بوده و اثرات کنترلی آن چندان پایدار نمی‌باشد. لذا با استفاده توام این ترکیبات با یک جدایه با فعالیت آنتاگونیستی موفق با پایداری طولانی، می‌توان اثرات کنترلی آنها را بهبود بخشید[١١].

یکی از عوامل پوسیدگی پس از برداشت در میوه‌های مرکبات ***P. digitatum*** می‌باشد.این عامل پوسیدگی یکی از اصلی‌ترین و مخرب‌ترین عوامل فساد میوه پرتقال می‌باشد. علائم اولیه این فساد به صورت لکه‌های نرم در محل زخم‌ها می‌باشد که میسلیوم سفید رنگ قارچ در مرکز لکه شکل گرفته و بعد اسپورهای زیتونی رنگ آن روی این رشته‌ها ایجاد می‌شوند و در مدت کوتاهی تمام سطح



[ Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-08-01 ]

میوه با اسپورهای رنگی قارچ پوشیده می‌شوند.نتایج بدست آمده از علائم فساد در طی آزمایش‌های اثبات بیماریزایی در این تحقیق بر علائم ذکر شده توسط سایر محققین منطبق است[۱۲،۱۳].

در آزمون بررسی مکانیسم‌های باکتری‌های با فعالیت آنتاگونیستی روی درصد جوانه‌زنی اسپورهای جدایه کپک سبز، نتایج خوبی بدست آمد که این نتایج با نتایج سایر محققین مطابقت داشته است. قرشی بررسی اثر ضد قارچی باکتری *Bacillus subtilis* UTB96را بر رشد برخی قارچ‌های مضر انباری انجام داد که نشان داد این باکتری رشد قارچ را به طور معنی‌داری نسبت به شاهد کاهش می دهد[ ۱۶].

عواملی از جمله حساسیت میوه به پوسیدگی، مقدار مایه تلقیح عامل پوسیدگی و شیوه‌های استفاده از باکتری‌های با خاصیت آنتاگونیستی نیز ممکن است بر کارایی عامل بیوکنترل تاثیرگذار باشند[۱٤]. برخی محققین اشاره کرده‌اند که نوع زخم و مکان قرارگیری آن روی پوست مرکبات تاثیر مهمی در سطح آلودگی ایجاد شده توسط قارچ پنیسیلیوم دارد. بطوریکه یک پژوهش نشان داده است که معمولا زخم‌هایی که درون مزوکارپ نفوذ کرده و عموما" دو میلی‌متر یا بیشتر عمق دارند، بیشترین آلودگی را سبب می‌شوند. زخم‌هایی که کمتر از یک میلی‌متر عمق دارند، آلودگی کمتری می‌دهند. پوسیدگی میوه مرکبات یکی از عوامل مهم و محدود کننده در طول دوره انباری می‌باشد پس از مسئله پوسیدگی، مهم‌ترین عامل زوال پس از برداشت میوه مرکبات، از دست دادن آب از پوست و پژمرده شدن پوست میوه می‌باشد. بنابراین روش‌هایی که تعرق میوه را کاهش می‌دهند، باعث افزایش عمر انباری این محصولات می‌گردد. کاهش دما در یک حد بهینه همراه با رطوبت بالای انبار باعث کاهش تنفس، تأخیر در پیری و رسیدن، کند کردن تغییرات متابولیکی نامناسب و کاهش پوسیدگی خواهد شد. نگهداری صحیح در انبارهای با دمای پائین می‌تواند با تیمارهایی نظیر مواد شیمیایی، پوشش واکس، کیسه‌های پلاستیکی و کاغذهای مومی تکمیل گردد. فقدان روش‌های مناسب برداشت و بسته‌بندی، نبود صنایع تبدیلی کافی و حمل و نقل و توزیع نامناسب تولیدات، موجب افزایش تلفات محصول تولیدی و کاهش بازده تولید داخلی می‌شود. کنترل بیولوژیک پوسیدگی‌های پس از برداشت میوه‌ها توسط باکتریای مفید به عنوان بهترین جایگزین سموم شیمیایی در چند سال اخیر مطرح شده است.

## ۵- نتیجه‌گیری کلی

در این بررسی جمعا ۲۰ جدایه میکروبی روی قارچ *P. digitatum* مورد بررسی قرار گرفت که ٦ جدایه آن، از سطح میوه‌های پرتقال و سطوح سردخانه مهرشهر جداشده بود. از میان۲۰ جدایه فوق، ٤ جدایه در کشت متقابل، هاله بازدارندگی قابل قبول نشان دادند. همچنین در همین راستا، چند ترکیب نمکی با غلظت‌های مختلف، روی میزان ممانعت در جوانه‌زنی کپک سبز در پلیت مورد آزمون قرار گرفتند که بیکربنات ۳ درصد بهترین گزینه برای تلفیق با باکتری‌های با فعالیت آنتاگونیستی بکارگرفته شد. سعی شد که شرایط آزمایش تا حد ممکن به شرایط کاربردی و آن چیزی که به شکل طبیعی اتفاق می افتد نزدیکتر باشد. باکتری*Bacillus subtilis* UTB96 در تلفیق با غلظت ۳ درصد بیکربنات توانست به عنوان بهترین گزینه در این تحقیق شناخته شود.

## ٦- منابع


[1] Agrios, G.N. 2005. Plant Pathology (5th Ed.) Academic press. San Diego, U.S.A.

[2] Brown, G.E. 1994. Green mold. University of Florida, Cooperative Extension Service Fact Sheet. Pp-13.

[3] Fan, Q. and Tian, S. 2001. Postharvest biological of grey mold and blue mold on apple by *Cryptococcus allbidus* (Saito). Skinner. Postharvest biology and technology. 21; 341-350.

[4] Hidch, D. P., and Gruenwedel, S. H. 1995. Microbial toxin in; Chemicals in the human food chain, Van Nostrand REINOLD. Pp. 239-276.

[5] Huang. Y., Deverall. B.J. and Morris, S.C. 1993. Effect of *Pseudomonas cepacia* on postharvest biocontrol of *Penicilliumdigitatum* infection and wound responses of citrus fruit. Australas. Pathol. 22; 84-93.

[6] Huang. Y., Deverall. B.J. and Morris, S.C. 1993. Effect of *Pseudomonas cepacia* on postharvest biocontrol of *Penicilliumdigitatum* infection and wound responses of citrus fruit. Australas. Pathol. 22; 84-93.

[7] Janisiewicz, W. J. and Jeffers. S. 1997. Efficacy of commercial formuation of two biofungicides for control of blue mould and gray




[ Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-08-01 ]

mould of apples in cold storage. Crop Prot. 16: 629-633.

[8] Leelasuphakul, W., Hemmanee,P., Chuenchtt, S. 2008. Growth inhibitory properties of *Bacillus subtilis* strain and their metabolits against the green mold pathogen (*Penicillium. digitatum*) of citrus fruits.Songkla.Thailand.

[9] Ongena, M. and Jacques. P. 2008. *Bacillus*lipopeptides: versatile weapons for plant disease biocontrol Trends Microbiol., 16, 115-125

[10] Sholberg, P.L. and Conway, W.S. 2000. Postharvest pathology. Agricieand AGRI-Food Canada. Pacific Agri-Food, Research Centeh Summerland, B.C, Canada.

[11] Teixido, N,.Usall, J., Plaou. L., Asensio, A., Nunes, C. and Vinas, l. 2001. Improving contrl of green and blue mold of oranges by combining *Pantoeaagglomerans* (CPA-2) and sodium bicarbonate. Eur. J. Plant pathlo, 107: 685-694.

[12] Teixido, N,.Usall, J., Plaou. L., Asensio, A., Nunes, C. and Vinas, l. 2001. Improving control of green and blue mold of oranges by combining *Pantoeaagglomerans* (CPA-2) and sodium bicarbonate. Eur. J. Plant pathlo, 107: 685-694.

[13] Vinas, I., Usall, J., and Sanchis, V. 1991. Tolerance of *Penicilliumexpansum* to postharvest fungicide treatments in apple packinghouses in Lerida (Spain).

[14] Weller, D. M. and Cook, R. J. 1983. Suppression of take-all of wheat by seed treatments with *pseudomonads fluorescent* . Phytopathology, 73:463-469

[15] Baligh, M. 1991.Potential of pseudomonas cepacia as a biological control agent for selected soliborne pathogens. (MS thesis). Stillwarker(OK): Oklahoma state University. 107P

[16] Ghoreshi SS. 2011. Study on biological control of *Aspergillus flavus* in pistachio by using some antagonistic bacterial strains. A thesis submitted to the Graduate degree of MSc in Plant Pathology. [Iran]: Tehran University.InPersian.



[ Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-08-01 ]

# Application of some mineral salts and bacterium *Bacillus subtilis* for reduction of green decay of orange caused by *Penicillium digitatum* in storage conditions

**Torabi, S.[1*],Ahmadzadeh, M.[2],Ghasemi, S.[3]**

1. Department of Food Science and Technology, Azad University, Varamin-pishva, Tehran, Iran. Head of Quality Control, Nature Biotechnology Company, Goldasht, Karaj, Iran.
2. Department of Plant protection, University of Tehran, Karaj, Iran
3. Ph.D. student of plant pathology. Tarbiat Modares University, Tehran. Head of R&D, Nature Biotechnology Company, Goldasht, Karaj, Iran.

**(Received: 2015/07/15 Accepted: 2016/04/11)**

Microbial spoilage of food products under storage conditions is one of the challenges facing our country's food industry. In the meantime, microbial spoilage of fruits specially is important. In this survey, *Penicillium digitatum* , the causal agent of greendecay, was isolated from the infected fruits and its pathogenicity was proved. The orange rot biological control was evaluated using microorganisms isolated from the fruit and prepared from microbial collections, combined with some salts. According to the results, *Bacillus subtilis* UTB96 had the highest inhibitory effects on growth offungusand development of decay. Then, the effect of one, three and five percent (w / v) from three salts including potassium carbonate, sodium carbonate and sodium bicarbonate were evaluated on the germination of spores. In the meantime, due to the negative effect of five percent concentration of sodium bicarbonate on the viability of cells, three percent of sodium bicarbonate solution wasmost effective in preventing from germination of spores. Finally the results showed that,application of *B. subtilis* UTB96, in combination with three percent sodium bicarbonate, result in increasebiocontrol capacity ofthe bacterium.

**Key words:** *Penicillium digitatum*, Sodium bicarbonate, Storage rot, Biocontrol

∗ Corresponding Author E-Mail Address: s.torabi468@yahoo.com



[ Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-08-01 ]