تقويم فاعلية الخميرة *Kluyveromyces marxianus* وحامض السالسلك في مكافحة العفن الأخضر في البرتقال

ناهدة مهدي صالح نادية حنون سلمان
أستاذ مساعد مدرس مساعد
قسم وقاية النبات – كلية الزراعة – جامعة بغداد
alnahida@yahoo.com

المستخلص

اجريت هذه الدراسة بهدف تقييم كفاءة الخميرة *Kluyveromyces marxianus* وحامض السالسلك بتوليفة او منفردين ضد العفن الاخضر على ثمار البرتقال المتسبب عن الفطر *Penicillium digitatum*. اظهرت الخميرة *K. marxianus* فعالية عالية كعامل مكافحة احيائية ضد الفطر *P. digitatum* على الوسط الزرعي PDA اذ بلغت النسبة المؤية للتثبيط 100%عند استخدام الخميرة بتركيز 10^6 خلية /مل، وأن حامض السالسلك قد ثبط نمو الفطر *P.digitatum* بكلا التركيزين 1000 وppm 500 بنسبة 94.3% في حين كانت 0.0% في معاملة المقارنة. ان كل من عالق الخميرة *K. marxianus* بتركيز 10^6 خلية/مل وراشحها قد ثبطا انبات ابواغ الفطر *P. digitatum* بالكامل، وبلغت النسبة المئوية لانبات الابواغ عند استخدام حامض السالسلك بتركيز 100 ppm في الوسط الزرعي السائل PDB 2.3% في حين بلغت النسبة المئوية لانبات الابواغ في معاملة المقارنة 96.6%، وقد بلغ معدل اطوال انابيب الانبات بوجود عالق الخميرة وراشحها وحامض السالسلك 0.0 و0.0 و11.2 مايكروميتر على التتابع قياسا بـ 21.2 مايكروميتر في المقارنة. اظهرت توليفة الخميرة *K. marxianus* وحامض السالسلك كفاءة في مكافحة مرض العفن الاخضر على ثمار البرتقال المجرحة، إذ منعت حدوث المرض بالكامل بعد ثلاثة ايام من التحضين على درجة حرارة 25±2 متفوقة معنوياعلى معاملتي الخميرة او حامض السالسلك منفردين. ان معاملة الثمار بتوليفة من حامض السالسلك والخميرة *K. marxianus* قبل 24 ساعة من اضافة لقاح الفطر *P.digitatum* قد تفوقت معنويا على المعاملات المنفردة منهما في تحفيز المقاومة في الثمار حيث بلغت فعالية انزيم البيروكسيديز POD في قشرة الثمار 5883 وحدة/د/ملغم بعد 96 ساعة من اجراء التجربة وبلغت فعالية انزيم البيروكسيديز في معاملتي حامض السالسلك او الخميرة منفردين 5132 و4544 وحدة/د/ملغم على التتابع قياسا بمعاملتي المقارنة (فطر ممرض او بدون تلقيح بالفطر الممرض) اللتان بلغت فعالية الانزيم فيهما 3193 و3380 وحدة/د/ملغم بالتتابع.

الكلمات المفتاحية: *Kluyveromyces marxianus*، *Penicillium digitatum*.

The Iraqi Journal of Agricultural Sciences – 46(2): 246-253, 2015 Saleh & Selman

EVALUATION THE EFFICACY OF *KLUYVEROMYCES MARXIANUS* AND SALICYLIC ACID FOR CONTROLLING GREEN MOLD ON ORANGE

N. M. Saleh N. H. Selman
Assist. Prof. Assist. Instructor
Dept. of Plant Protection–Coll.of Agric–Univ.of Baghdad
alnahida@yahoo.com

ABSTRACT

This study has been conducted to evaluate the efficacy of the yeast *Kluyveromyces marxianus* and salicylic acid separately or in combination against green mold of orange fruits caused by *Penicillium digitatum*. *K. marxianus* showed high efficacy as a biological agent against *P.digitatum* on PDA with 100% inhibition at 10^6 cells / ml. In addition, salicylic acid in both concentrations 1000 and 500 ppm inhibited *P.digitatum* growth at 94.3%, compared to 0.0% in control. *K. marxianus* suspension at 10^6 cells/ml and its filtrate inhibited spores germination of *P.digitatum* completely. The percentage of spore's germination in liquid PDB containing 100 ppm salicylic acid was found to be 2.3%, compared to 96.6% in control. The average lengths of germ tube in the yeast suspension, yeast filtrate and salicylic acid were found 0.0, 0.0 and 11.2 µm respectively compared to 21.2 µm in control. A combination of *K. marxianus* and salicylic acid Showed higher efficiency in controlling green mold on wounded orange fruits, where it has completely prevented the disease incidence after three days of incubation at 25 ± 2c. compared with yeast or salicylic acid separately. Fruits treatment with combination of salicylic acid and *K. marxianus* 24 hours before inoculation with *P.digitatum* has been found more efficient than salicylic acid and *K. marxianus* individually in stimulating resistance in the fruits.The activity of peroxidase (POD) in fruits peel was 5883 unit/s/mg after 96 hours of treatment, while the activity of peroxidase reached in salicylic acid or *K. marxianus* to 5132 and 4544 units/s/mg respectively, compared with 3193 and 3380 units/s/mg in control treatments (with pathogen or without pathogen) respectively.

Key words: ***Kluyveromyces marxianus, Penicillium digitatum*.**

المقدمة

يعد مرض العفن الاخضر المتسبب عن الفطر (Pers. Fr. Penicillium digitatum (Sacc. من بين اهم الامراض التي تصيب ثمار الحمضيات بعد الجني، ويسبب خسائر كبيرة خلال الخزن والنقل (1 و9). يعد استخدام المبيدات الكيمياوية اجراء تقليدي لمكافحة هذا المرض ولها دور مهم في السيطرة على الاصابة بالفطر *P.digitatum* (13 و14 و23 و24 و33 و34)، ونظرا لسمية المبيدات وظهور صفة المقاومة لدى الكائنات الممرضة ضدها ادى الى تطور مفهوم عالمي حول الحاجة الى بدائل للمبيدات الكيمياوية (38). حالياً يعد استخدام الخمائر في المكافحة الاحيائية لامراض مابعد الجني في ثمار الفواكه والخضر من الطرق الفعالة ويمكن اعتبارها بديلا للمبيدات الكيمياوية (10 و13 و17 و29). استخدمت الخميرة *Debaryomyces hansenii* بنجاح في مكافحة مرضي العفن الاخضر والعفن الازرق في ثمار البرتقال (5 و32)، وتتوفر في الاسواق بعض الخمائر المضادة لأمراض ما بعد الجني كـ *Candida oleophilla* و*C. sake* و*Cryptococcus albidus* و *Metschnikowia fructicola* بشكل مستحضرات تجارية (11 و17 و25 و26). إن الآليات الرئيسة للخمائر في مكافحة امراض ما بعد الجني تشمل المنافسة مع المسبب المرضي على الغذاء والمكان، انتاج المضادات الفطرية المتطايرة او المنتشرة diffusible، انتاج الانزيمات المحللة للجدر الخلوية مثل B-1,3-glucanase وChitinase، تحفيز مقاومة النبات والتطفل (10)، وقد امكن زيادة كفاءة الخمائر بخلطها مع مواد اخرى لتكون اكثر فاعلية في مكافحة امراض ما بعد الجني (7 و17)، اذ استخدمت بعض المواد الآمنة لهذا الغرض مثل Salicylic acid (28 و38)، ونظرا لزيادة الاهتمام بتحفيز المقاومة باعتبارها عاملا مهما في وقاية النبات ومكافحة امراض ما بعد الجني في ثمار الفواكه والخضروات (19 و20)، فقد هدف هذا البحث الى تقييم كفاءة الخميرة *Kluyveromyces marxianus* وحامض السالسلك بتوليفة اومنفردين ضد العفن الاخضر على ثمار البرتقال المتسبب عن الفطر *Penicillium digitatum*.

المواد والطرائق

تأثير الخميرة *K. marxianus* و حامض السالسلك في تثبيط نمو الفطر *P. digitatum* في الوسط الزرعي

حضر حامض السالسلك بالتركيزين 500 و1000 ppm في الوسط الزرعي PDA وصب في أطباق بتري قطر 9 سم، اضيف للوسط الزرعي PDA في أطباق اخرى 1 مل/طبق من مزرعة سائلة للخميرة *K. marxianus* تركيز 10^6خلية/مل منماة في الوسط الزرعي السائل Nutrient Yeast Dextrose (NYD: 8 غم nutrient broth و5 غم yeast extract و20 غم dextrose و1 لتر distled water) بعمر 48 ساعة، وللمقارنة استخدمت اطباق حاوية على الوسط الزرعي PDA فقط. بعد تصلب الوسط الزرعي لقح مركز كل طبق بقرص قطر 0.5 سم من مزرعة للفطر *P. digitatum* المنمى على الوسط الزرعي PDA بعمر اسبوع. اجريت التجربة بثلاثة مكررات من كل معاملة وحضنت الأطباق بدرجة حرارة 25±2 م^{o}. قيست اقطار المستعمرات كل 24 ساعة، حتى امتلاء اطباق المقارنة بالنمو الفطري وحسبت النسبة المئوية للتثبيط حسب المعادلة الآتية:

$$\% \text{ للتثبيط} = \frac{\text{متوسط قطر المقارنة} - \text{متوسط قطر المعاملة}}{\text{متوسط قطر المقارنة}} \times 100$$

تأثير الخميرة *K. marxianus* وحامض السالسلك في انبات ابواغ الفطر *P. Digitatum*

نميت الخميرة *K. marxianus* على الوسط الزرعي السائل NYDB وحضر راشح الخميرة بأمرار مزرعتها السائلة بعمر 48 ساعة خلال مرشح غشائي بفتحات قطرها 0.45µm، وحضر حامض السالسلك بتركيز 100 ppm في الوسط الزرعي السائل PDB. نقل 5 مل من عالق الخميرة بتركيز 10^6 خلية/مل وراشح الخميرة وحامض السالسلك الى انابيب اختبار معقمة على انفراد واضيف اليها 1 مل من عالق ابواغ الفطر *P. digitatum* بتركيز 10^6 بوغ/مل، حضر بإضافة 10 مل ماء مقطر معقم الى مزرعة للفطر بعمر 10 ايام نامية على الوسط الزرعي PDA، حرك بلطف بواسطة قضيب زجاجي معقم ثم سحب بواسطة ماصة معقمة وحسب التركيز بواسطة شريحة العد Hamocytomete،

وللمقارنة استخدم عالق ابواغ الفطر في الوسط الزرعي PDB، وبعد 12 ساعة من التحضين في درجة حرارة 25 ±2 م°. فحص 100 بوغ مجهريا من كل مكرر وحسبت النسبة المئوية للانبات كما قيست اطوال انابيب الانبات. اجريت التجربة بثلاثة مكررات لكل معاملة على وفق التصميم التام التعشية.

تأثير الخميرة *K. marxianus* وحامض السالسلك في مكافحة العفن الأخضر في ثمار البرتقال المجرحة

اختيرت ثمار برتقال متماثلة بالحجم وخالية من الجروح والخدوش. غسلت الثمار بمحلول التنظيف ثم بماء الحنفية الجاري وعقمت بغمرها في الكحول الأثيلي 70% لمدة دقيقة، وتركت لتجف. جرحت كل ثمرة بجرح واحد في احد جانبيها ابعاده 2×3 ملم بواسطة مشرط معقم. قسمت الثمار الى ست مجاميع. اضيف الى المجموعة الاولى 20 مايكروليتر/جرح من عالق الخميرة *K. marxianus* بتركيز 10^6خلية/مل وبعد ساعة اضيف فوقه 10 مايكروليتر/جرح من عالق ابواغ الفطر *P. digitatum* بتركيز 10^4 بوغ/ مل، واضيف الى مجموعة ثانية 20 مايكروليتر/جرح حامض السالسلك بتركيز 100 ppm وبعد ساعة اضيف فوقه 10 مايكروليتر/جرح من عالق ابواغ الفطر *P. digitatum* بتركيز 10^4 بوغ/مل، وللمجموعة الثالثة اضيف 20 مايكروليتر/جرح حامض السالسلك بتركيز 100 ppm وبعد ساعة اضيف فوقه 20 مايكروليتر/جرح من عالق الخميرة *K. marxianus* بتركيز 10^6 خلية/مل وبعد ساعة اضيف فوقه 10 مايكروليتر/جرح من عالق ابواغ الفطر *P. digitatum* بتركيز 10^4 بوغ/مل وللمقارنة اضيف 10 مايكروليتر/جرح من عالق ابواغ الفطر *P. digitatum* بتركيز 10^4 بوغ/مل تمثل المجموعة الرابعة، كما اضيف الى المجموعة الخامسة 20 مايكروليتر/جرح من عالق الخميرة *K. marxianus* بتركيز 10^6 خلية/مل، وتركت الجروح في المجموعة السادسة بدون معاملة. اجريت التجربة على وفق للتصميم العشوائي الكامل بثلاثة كررات واربع ثمار لكل معاملة. وضعت كل ثمرة في كيس من البولي اثلين وجمعت ثمار كل مكرر في كيس آخر، حضنت الثمار في درجة حرارة 25 ±2 م° لمدة اسبوع، حسبت النسبة المئوية للاصابة وقيست اقطار البقع المتعفنة كل 24 ساعة.

تأثير الخميرة *K. marxianus* وحامض السالسلك في استحثاث المقاومة في الثمار وفاعلية انزيم البيروكسيديز

اخذت ثمار برتقال سليمة غسلت وعقمت وجرحت كما في الفقرة السابقة وعوملت الجروح اما بعالق الخميرة *K. marxianus* 20 مايكروليتر/جرح بتركيز 10^6 خلية/مل او بحامض السالسلك 20 مايكروليتر/جرح بتركيز 100 ppm أو بالخميرة وحامض السالسلك معا بنفس الكميات والتراكيز السابق ذكرها، أو بالماء المقطر المعقم للمقارنة وبعد 24 ساعة اضيف عالق ابواغ الفطر *P. digitatum* بتركيز 10^4 بوغ/مل الى الجروح في المعاملات التي تتطلب اضافة اللقاح وحفظت الثمار في درجة حرارة 25±2 م°. نزعت قشور البرتقال حول الجروح وقدرت فعالية انزيم Peroxidase بعد 96 ساعة حسب ما ذكر سابقا (16) باستخدام مادة guaiacol كمادة اساس وتمت متابعة التغير في الامتصاص كل 30 ثانية لمدة 3 دقائق على طول موجي 420 نانوميتر وحسب التغير في الامتصاص حسب المعادلة الآتية:

$$\text{التغيرفي الامتصاص} = \frac{\frac{\Delta A}{\Delta T}}{0.1 \times 1 \times 0.001}$$

اذ ان:

ΔA= مقدار التغير في الامتصاصية.

$\Delta t.(O.D)$ = مقدار التغير في الزمن.

0.1= حجم الانزيم المستعمل (متغير).

1 = طول المسار الضوئي (ثابت).

0.001 = كمية الانزيم التي تسبب زيادة في امتصاص الضوء عند طول موجي مقداره 420 نانوميتر في الدقيقة الواحدة (ثابت).

النتائج والمناقشة

تأثير الخميرة *K. marxianus* وحامض السالسلك في تثبيط نمو الفطر *P. digitatum* في الوسط الزرعي

اظهرت الخميرة *K. marxianus* فعالية عالية كعامل مكافحة احيائية ضد الفطر *P. digitatum* على الوسط الزرعي PDA اذ بلغت النسبة المؤية للتثبيط 100% عند استخدام الخميرة بتركيز 10^6 خلية/مل (جدول 1). تتفق هذه

النتائج مع نتائج دراسة اخرى اشارت الى كفاءة الخميرة *K. marxianus* في تثبيط نمو الفطر *Aspergillus* section flavi بنسبة تثبيط تراوحت بين 75-100% (21)، كما اشارت دراسات اخرى الى نتائج مماثلة اثبتت ان هذه الخميرة كانت فعالة في تثبيط نمو كل من الفطرين *Pythium aphanidermatum* و*Rhizochtonia solani* على الوسط الزرعي PDA (15 و16)، كما اظهرت النتائج جدول 1، ان حامض السالسلك قد ثبط نمو الفطر *P. digitatum* بكلا التركيزين 1000 و500 جزء بالمليون بنسبة 94.3% في حين كانت 0.0% في معاملة المقارنة، وانخفض معدل اقطار مستعمرات الفطر الممرض *P. digitatum* معنويا باستخدام الخميرة او حامض السالسلك بكلا التركزين المسعملين في الاختبار قياسا بمعاملة المقارنة، الا انها لم تختلف معنويا فيما بينها.

جدول 1. تأثير حامض السالسلك والخميرة *K. marxianus* في نمو الفطر *P. digitatum* على الوسط الزرعي PDA

المعاملات	% للتثبيط	قطر المستعمرة (سم)
SA,1000ppm	94.3	0.5
SA,500ppm	94.3	0.5
K.m	100	0.0
Control	0.0	8.8
LSD(P=0.05)		2.3

Kluyveromyces = K.m ،Salicylic acid = SA .marxianus

تأثير الخميرة *K. marxianus* وحامض السالسلك في انبات ابواغ الفطر *P. digitatum* واطوال انابيب الانبات

بينت نتائج هذا الاختبار (جدول 2)، ان كل من عالق الخميرة *K. marxianus* بتركيز 10^6 خلية/مل وراشحها قد ثبط انبات ابواغ الفطر *P. digitatum* بالكامل، تتفق هذه النتائج مع نتائج سابقة اظهرت ان الخميرة *K. marxianus* قد ثبطت انبات ابواغ الفطر *P. digitatum* المسبب لمرض العفن الاخضر على ثمار اللالنكي (12)، كما اظهرت دراسات سابقة مقدرة هذه الخميرة على خفض نسبة الانبات ومعدل استطالة انابيب الانبات لسلالات عديدة من الفطر *Aspergillus* (21 و22)، وبلغت النسبة المئوية لانبات الابواغ عند استخدام حامض السالسلك بتركيز 100 ppm في الوسط الزرعي السائل PDB 2.3% في حين بلغت النسبة المئوية لانبات الابواغ في معاملة المقارنة 96.6%، وتتماثل هذه النتيجة مع نتائج دراسة اخرى اثبتت ان حامض السالسلك بتركيز 100 ppm في الوسط الزرعي السائل PDB قد ثبط انبات ابواغ الفطر *P. expansum* (38)، وفيما يخص معدل اطوال انابيب الانبات فقد بلغ معدل اطوال انابيب الانبات بوجود عالق الخميرة وراشحها وحامض السالسلك 0.0 و0.0 و11.2 مايكروميتر بالتتابع قياسا بمعاملة المقارنة 21.2 مايكروميتر، واظهر كل من عالق الخميرة *K. marxianus* وراشحها تفوقا معنويا (p=0.05) على حامض السالسلك في خفض معدل اطوال انابيب انبات الفطر *P. digitatum*، ولم يظهر عالق الخميرة فرقا معنويا عن راشحها في خفض اطوال انابيب الانبات.

جدول 2. تأثير الخميرة *K. marxianus* وحامض السالسلك في انبات ابواغ الفطر *P. digitatum* واطوال انابيب الانبات

المعاملات	% لانبات الابواغ	طول انابيب الانبات (مايكروميتر)
عالق الخمبرة *K.marxianus*	0.0	0.0
راشح الخميرة *K.marxianus*	0.0	0.0
حامض السالسلك 100ppm	2.3	11.1
Control	96.6	21.2
LSD=0.05	1.5	0.6

اختبار كفاءة الخميرة *K. marxianus* وحامض السالسلك في مكافحة العفن الاخضر في ثمار البرتقال المجرحة

تشير نتائج هذا الاختبار (جدول 3) الى كفاءة توليفة الخميرة *K. marxianus* وحامض السالسلك في مكافحة مرض العفن الاخضر على ثمار البرتقال المجرحة، إذ منعت حدوث المرض بالكامل متفوقة معنويا (p=0.05) على معاملتي الخميرة او حامض السالسلك منفردين إذ بلغت النسبة المئوية لحدوث المرض و0.0 و11.1 و11.1 بالتتابع بعد ثلاثة ايام من التحضين على درجة حرارة 25±2، كما تفوقت معاملة التوليفة من الخميرة وحامض السالسلك او كل منهما على انفراد على معاملة المقارنة (فطر ممرض فقط) التي بلغت فيها النسبة المئوية لحدوث المرض 100% ولم تختلف معنويا (p=0.05) عن معاملة المقارنة (ثمار مجرحة بدون تلقيح بالممرض). اشارت نتائج مماثلة سابقة الى ان الخلط بين حامض السالسلك والخميرة *Cryptococcus laurentii* كان فعالا في خفض النسبة

المئوية لحدوث مرض عفن ثمار التفاح المتسبب عن الفطر *P. expansum* (38)، وفي ما يخص معدل اقطار البقع المتعفنة فقد اظهرت معاملة التوليفة من الخميرة وحامض السالسلك أو كل منهما على انفراد تفوقا (p=0.05) على معاملة المقارنة (فطر ممرض فقط) إذ بلغت 0.0 و1.0 و0.6 ملم بالتتابع، وان هذه المعاملات الثلاث لم تختلف معنويا (p=0.05) فيما بينها، كما انها لم تختلف (p=0.05) عن معاملة المقارنة (ثمار مجرحة بدون تلقيح بالممرض) بعد ثلاثة ايام من اجراء التجربة، وبعد ستة ايام من اجراء التجربة تفوقت (p=0.05) معاملة التوليفة من الخميرة *K. marxianus* وحامض السالسلك على معاملتي الخميرة او حامض السالسلك منفردين، إذ بلغت اقطار البقع المتعفنة في كل منها 19.0 و30.6 و28.3 ملم بالتتابع ولم تختلف (p=0.05) الخميرة عن حامض السالسلك منفردين الا انهما تفوقا (p=0.05) على معاملة المقارنة (فطر ممرض) التي بلغ فيها معدل اقطار البقع المتعفنة 61.0 ملم. يتفق ذلك مع نتائج سابقة اثبتت فعالية الخميرة *K. marxianus* في خفض النسبة المئوية لحدوث مرض العفن الاخضر المتسبب عن الفطر *P.digitatum* فضلا عن اقطار البقع المتعفنة في ثمار الحمضيات المجرحة والملقحة اصطناعيا بالفطر الممرض بعد ثلاثة ايام او ستة ايام من اجراء التجربة وتحضين الثمار في درجة حرارة 25±1 ْم (12). بينت دراسة اخرى ان الخميرة*Kluyveromyces lactis* استخدمت بنجاح في مكافحة مرض عفن التفاح المتسبب عن الفطر *P.expansum* في المخزن (3). قد يعود السبب في فعالية الخميرة *K. marxianus* الى افرازها مواد متطايرة تعمل على تثبيط نمو الفطر الممرض مثل iso –valeric acid وiso-amyl alcohol وethyl acetate و-fenil iso-butyrate وiso-butyric acid (2 و3)، او قد يعود الى تنافس هذه الخميرة مع الممرض على المواد الغذائية والمكان لقدرتها العالية على التكاثر السريع فقد اشارت دراسات سابقة الى القدرة التنافسية العالية للخمائر (35)، فضلا عن قدرتها على انتاج بعض الانزيمات والكحول الاثيلي (18 و30 و36) التي تعمل على القتل المباشر للفطر الممرض وتحليله، كما ان لهذه الخميرة القدرة على استحثاث المقاومة الجهازية من خلال تحفيزها لزيادة فعالية انزيم peroxidase (15 و16)، ويعد حامض السالسلك محفز طبيعي للمقاومة في النبات ويمتلك فعالية مضادة للفطريات ضد بعض المسببات الممرضة للمانكو والحمضيات والكمثرى (4 و31 و39).

جدول 3. تأثير الخميرة *K. marxianus* وحامض السالسلك في النسبة المئوية لحدوث مرض العفن الاخضر في البرتقال ومعدل اقطار البقع المتعفنة

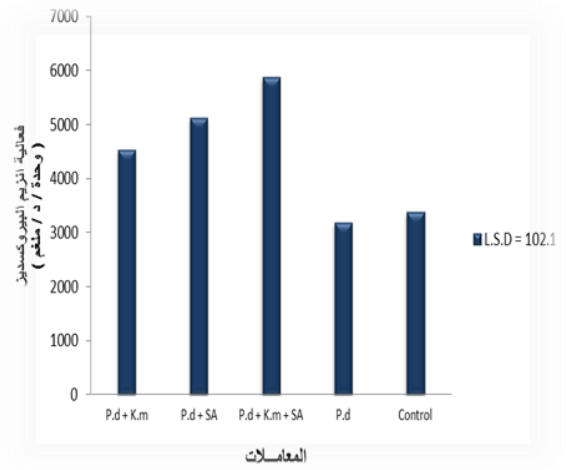
المعاملات	% حدوث المرض بعد ثلاثه ايام	معدل اقطارالبقع المتعفه(ملم)	
		بعد ثلاثه ايام	بعد سته ايام
P.d	100	16.6	61.0
Control	0.0	0.0	0.0
k.m	0.0	0.0	0.0
SA+P.d	11.1	0.6	28.3
k.m+P.d	11.1	1.0	30.6
Km+SA+P.d	0.0	0.0	19.0
LSD(P=0.05)	19.7	1.8	3.5

Penicillium digitatum =P.d، *Kluyveromyces marxianus* =K.m، Salicylic acid =SA.

تأثير الخميرة *K. marxianus* وحامض السالسلك في استحثاث المقاومة في الثمار وفاعلية انزيم البيروكسيديز

اظهرت النتائج شكل 1 حصول استحثاث للمقاومة في ثمار البرتقال بواسطة حامض السالسلك والخميرة *K. marxianus* منفردين او مجتمعين، وان معاملة الثمار بتوليفة من حامض السالسلك والخميرة *K. marxianus* قبل 24 ساعة من اضافة لقاح الفطر *P. digitatum* قد تفوقت معنويا (p=0.05) على المعاملات المنفردة منهما في تحفيز المقاومة في الثمار إذ بلغت فعالية انزيم البيروكسيديز POD في قشرة الثمار 5883 وحدة/د/ملغم بعد 96 ساعة من اجراء التجربة وبلغت فعالية انزيم البيروكسيديز في معاملتي حامض السالسلك او الخميرة منفردين 5132 و4544 وحدة/د/ملغم بالتتابع متفوقتين (p=0.05) على معاملتي المقارنة (فطر ممرض او بدون تلقيح بالفطر الممرض) اللتان بلغت فعالية الانزيم فيهما 3193 و3380 وحدة/ د/ ملغم بالتتابع. اظهرت دراسات سابقة نتائج مماثلة اشارت الى ان توليفة من حامض السالسلك والخميرة *Cryptococcus laurentii* احدثت زيادة في فعالية انزيم البيروكسيديز بمقدار ثمانية اضعاف في ثمار التفاح الملقحة بالفطر *P. expansum* فضلا عن حصول زيادة في فعالية انزيم البيروكسيديز بواسطة حامض السالسلك او الخميرة منفردين مقارنة بمعاملة المقارنة الا انهما اقل من معاملة التوليفة منهما (38). ان انزيم البيروكسيديز

يعمل على اكسدة المواد الفينولية وتحويلها الى مواد اكثر سمية مثل H_2O_2 و Quinine فضلا عن انه يمكن ان يحرر جذورا حرة مثل OH– وO_2– مما يؤدي الى تحفيز الجينات المسؤلة عن بلمرة اللكنين مما يعمل على زيادة تثخن جدران الخلايا(6 و27). يستنتج من هذه النتائج امكانية استعمال خليط من الخميرة *K. marxianus* وحامض السالسلك في ادارة مرض العفن الاخضر في البرتقال بديلا عن المبيدات الكيميائية.



شكل 1. تأثير الخميرة *K. marxianus* و حامض السالسلك في فاعلية انزيم البيروكسديز في ثمار البرتقال

SA= Salicylic acid; K.m= *K luyveromyces marxianus*; P.d= *Penicillium digitatum*

المصادر

1. Ballester, A. R., M. T. Lafuente and L. Conzales-Candelas. 2013. Citrus phenylpropanoids and defense against pathogens. Part II: Gene expression and metabolite accumulation in the response of fruits to *Penicillium digitatum* infection. Food Chem. 136: 285-291.

2. Bruckner, A., Cs. Mohacsi-Farkas, C. Balla and G. Kisko. 2005. Mode of action of *Kluyveromyces lactis* in biocontrol of *Penicillium expansum*. Acta Alimentaria. 34(2): 153-160.

3. Bruckner, A., C. Mohacsi-Farkas, C. Balla and G. Kisko. 2005. Comparison of biocontrol activity of *Kluyveromyces lactis* with other yeast strains against *Penicillium-expansum*. Acta Alimentaria. 34(1): 71-80.

4. Cao, J., K. Zeng and W. Jiang. 2006. Enhancement of postharvest disease resistance in Ya Li Pear (*Pyrus bretschneideri*) fruit by salicylic acid sprays on the trees during fruit growth. European J Plant Pathol. 114(4): 363-370.

5. Chalutz, E. and C. L. Wilson. 1990. Postharvest bio-control of green and blue mold and sour rot of citrus fruit by *Debaryomyces hansenii*. Plant Disease. 74: 134-137.

6. Chen, C., R. Belanger, N. Benhamou and T. C. Paulitz. 2000. Defense enzymes induced in cucumber roots by treatment with plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) and *Pythium aphanidermatum*.Physiogical and Molecular Plant Pathology. 56: 13-23.

7. Droby, S., M. Wisiniewski, A. El-Ghaouth and C. Wilson. 2003. Biological control of postharvest diseases of fruits and vegetables: current achievements and future challenges. Acta. Hort. 628: 703-713.

8. Droby, S., V. Vinokur; B. Weiss, L. Cohen; A. Daus, E. E. Gold-Schmidtand R. Porat, 2002. Induction of resistance to *Penicillium digitatum* in grapefruit by the yeast biocontrol agent *Candida oleophila*. Phytopathology. 92: 393-399.

9. Eckert, J. W. and I. L. Eaks. 1989. Postharvest disorders and diseases of citrus fruit. In: W. Reuther, E. C. Calavan and G. E. Carman, (edrs.). The Citrus Industry. Univ. of California Press, Berkeley, USA. p. 179-260.

10. El-Tarabily, K. A. and K., Sivasithamparam. 2006. Potential of yeast as biocontrol agents of soil borne fungal plant pathogens and as plant growth promoters. Mycoscience. 47: 25-35.

11. Fravel, D. R. 2005. Commercialization and implementation of bio-control. Annl. Rev., of Plant Biol. 43: 337-359.

12. Geng, P., S. Chen, M. Hu, M. Rizwan-Ul-Haq, K. Lai, F. Qu, Y. Zhang. 2011. Combination of *Kluyveromyces marxianus* and sodium bicarbonate for controlling green mold of citrus fruit. Inte. J., of Food Microbiol. 151: 190-194.

13. Holmes, G. J. and J. M. Eckert. 1999. Sensitivity of *Penicillium digitatum* and *P. italicum* to postharvest citrus fungicides in California. Phytopo Thology. 89: 716-721.

14. Ismail, M. and J. Zhang. 2004. Postharvest citrus diseases and their control. Outlooks Pest Manage. 15: 29-35.

15. Issa, A. A., N. M. Saleh and R. A. Hamad. 2012. Inhibitory effects of *Saccharomyces cerevesiae* and *Kluyveromyces marxianus*

against *Rhizoctonia solani* causative agent of seed rot and seedling damping off disease in tomato. Iraqi J. of Agric. Sci. 43(2):85-94.
16. Issa, A. A. and N. M. Saleh. 2012. Biological control of tomato seedling damping off caused by *Pythium aphanidermatum*. Iraqi J. of Agric. Sci. 43(5): 52-62.
17. Janisiewicz, W. J. and L. Korsten. 2002. Biological control of postharvest diseases of fruits. Annual Review of Phytopathology. 40: 411-441.
18. Kabli, S. A. 2007. Purification and characterization of protopectinase produced by *Kluyveromyces marxianus*. J. Kau. Sci. 19: 139-153.
19. Kogel, K. and L. Gregor. 2005. Induced disease resistance and gene expression in cereals. Cell Microbiol. 7: 1555-1564.
20. Kuc, J. 2001. Concepts and direction of induced systemic resistance in plants and its application. Eur. J. Plant Pathol. 107: 7-12.
21. La Penna, M., A. Nesci and M. Etcheverry. 2004. In vitro studies on the potential for biological control on *Aspergillus* section flavi by *Kluyveromyces spp*. Letters in Applied Microbiol. 38: 257-264.
22. La Penna, M. and M. Etchererry. 2006. Impact on growth and aflatoxins B1 accumulation by Kluyveromyces isolates at different water activity conditions. Mycopathologia. 162: 347-353.
23. Lahlali, R., M. N. Serrhini and M. H. Jijakli, 2005. Development of a biological control method against post-harvest diseases of citrus fruits. Communications in Agric., and Appl. Biol. Sci., Ghent Univ. 70: 47-58.
24. Lahlali, R., M. N. Serrhini and M. H. Jijakli. 2004. Efficacy assessment of *Candida oleophila* (strain O) and *Pichia anomal*(strain K) against major post-harvest diseases of citrus fruits in Morocco. Communications in Agric., and Appl. Biol. Sci., Ghent Univ. 69: 601-609.
25. Lahlali, R., Y. Brostaux and M. H. Jijakli, 2011. Control of apple blue mold by the antagonistic yeast *Pichia anomala* strain K: Screening of UV protectants for pre-harvest application. Plant Disease. 95: 311-316.
26. Lahlali, R., Y. Hamadi, M. E. Guilli and M.H. Jijakli. 2011. Efficacy assessment of *Pichia guilliermondii* strain Z1, a new biocontrol agent, against citrus blue mould in Morocco under the influence of temperature and relative humidity. Biol. Control. 56: 217-224.
27. Lavania, M. P., S. Ghauhan, H. B. Singh and C. S. Nautiyal. 2006. Induction of plant defense enzymes and phenolic by treatment with plant growth promoting rhizobacteria *Serratia marcescens* NBRI 1213. Curr. Microbiol. 52: 363-368.
28. Qin, G. Z., S. P. Tian, Y. Xu and Y. K. Wan. 2003. Enhancement of bio-control efficacy of antagonistic yeasts by calicylic acid in sweet cherry fruit. Physiol. Mol. Plant Pathol. 62: 147-154.
29. Richard, W. J. and D. Prusky. 2002. Expression of an antifungal peptide in Saccharom-yces: anew approach for biological control of the postharvest desease caused by *Colletotri-chum coccodes*. Phytopathology. 92: 33-37.
30. Serrat, M., R. C. Bermudez and T. G. Villa. 2004. Polygalacturonase and ethanol production in *Kluyveromyces marxianus*. Appl. Biochem., and Biotechnol. 117(1): 49-64.
31. Shaat, M. N. M. and A. A. Galal. 2004. Response of citrus fruits to pre-harvest antioxidant spraying and infection with Alternaria fruit rot and green mould. Annl. Agric. Sci. (Cairo). 49(2): 747-758.
32. Singh, D. 2002. Bio-efficacy of *Debaryom-yces hansenii* on the incidence and growth of *Penicillium italicum* on Kinnow fruit in combination with oil and wax emulsions. Annals of Plant Protection Sci. 10: 272-276.
33. Smilanick, J. L., G. E. Brownm J. W. Eckert. 2006. Postharvest citrus diseases and their control. in: Fresh Citrus Fruit. W. F. Wardowski, W. M. Miller, D. J. Hall and W. Grierson (edsr.). Florida Sci. Source, Inc., Longboat Key, FL, USA. p. 339-396.
34. Smilanick, J. L., M. F. Mansour, D. A. Margosan, F. Mlikota Galber and W. R. Goodwine. 2005. Influence of pH and NaHCO3 on effectiveness of imazalil to inhibit germination of *Penicillium digitatum* and to control postharvest green mold on citrus fruit. Plant Disease. 89: 640-648.
35. Spadaro, D., R. Vola, S. Piano and M. L. Gullino. 2002. Mechanisms of action and efficiency of four isolates of the yeast

Metschnikowia pulcherrima active against postharvest pathogens on apples. Postharvest Biol. Technol. 24: 123-134.

36. Wilkins, M. R., S. Lilis and N. O. Maness. 2007. Ethanol production by *Saccharomyces cerevisiae* and *Kluyv-eromyces marxianus* in the presence of orange-peel oil. World J. Microbiol. Biotechnol. 23: 1161-1168.

37. Yao, H. and S. Tian. 2005. Effects of pre- and postharvest application of salicylic acid or methyl jasmonate on inducing disease resist-ance of sweet cherry fruit in storage. Postharvest Biol. Technol. 35: 253-262.

38. Yu, T. and X. D. Zheng. 2006. Salicylic acid enhances bio-control efficacy of the antagonist *Cryptococcus laurentii* in apple fruit. J. Plant Growth Reg. 25: 166-174.

39. Zainuri, J. D. C., A. H. Wearing, L. Coates and L. Terry. 2001. Effects of phosphonate and salicylic acid treatments on anthracnose disease development and ripening of Kensington Pride' mango fruit. Aust. J. Ex. Agric. 41: 805-813