

VPLIV SALICILNE IN METIL-SALICILNE KISLINE NA RAST MICELIJA RAZLIČNIH GLIV TER NA OKUŽBO JABOLK Z GLIVO *Monilinia laxa*

Saša GAČNIK¹, Alenka MUNDA², Maja MIKULIČ PETKOVŠEK³

^{1,3}Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo, Ljubljana

²Kmetijski inštitut Slovenije, Ljubljana

IZVLEČEK

V raziskavi smo preučevali vpliv salicilne (SA) in metil-salicilne kisline (MeSA) na rast micelija različnih vrst gliv (*Monilinia fructicola*, *Monilinia laxa*, *Gnomoniopsis smithogilyvi*, *Colletotrichum fioriniae*, *Colletotrichum godetie*) na PDA gojiščih in na okužbo jabolk z glivo *Monilinia laxa*. Rezultati so pokazali, da je tretiranje z MeSA (2 in 3 mM) povsem zaustavilo rast micelija gliv *G. smithogilyvi* in *M. fructicola*, s koncentracijo 3 mM pa se je zaustavila tudi rast glive *M. laxa*. V prvem terminu meritev (4 dni po inokulaciji) je bila okužba na plodovih, tretiranih s SA, za do 29 % (poškodbe s tipsom; T) ali do 35 % (poškodbe z iglo; I) manjša kot pri kontroli, pri MeSA-tretiranih plodovih pa za 32-52 % (T) ali za 48-70 % (I) manjša v primerjavi s kontrolo.

513

Ključne besede: salicilna kislina, metil-salicilna kislina, *M. fructicola*, *M. laxa*, *G. smithogilyvi*, *C. fioriniae*, *C. godetie*

ABSTRACT

EFFECT OF SALICYLIC AND METHYL-SALICYLIC ACID ON MYCELIAL GROWTH OF DIFFERENT FUNGI AND ON INFECTION OF APPLE FRUITS WITH *Monilinia laxa*

In the study, effects of salicylic acid (SA) and methyl-salicylic acid (MeSA) on mycelial growth of different fungi (*Monilinia fructicola*, *Monilinia laxa*, *Gnomoniopsis smithogilyvi*, *Colletotrichum fioriniae*, *Colletotrichum godetie*) and infection by *Monilinia laxa* on apple fruit was investigated. Results showed that treatment with MeSA (2 and 3 mM) inhibited mycelial growth of *G. smithogilyvi* and *M. fructicola*, 3 mM of MeSA inhibited as well mycelial growth of *M. laxa*. SA-treated apple fruits had (4 days after inoculation) for up to 29 % (tips damaged; T) or up to 35 % (needle damaged; I) lower infection compared to control. MeSA-treated fruits had for up to 32-52 % (T) or 48-70 % (I) lower infection in comparison with control.

Key words: salicylic acid, methylsalicylic acid, *M. fructicola*, *M. laxa*, *G. smithogilyvi*, *C. fioriniae*, *C. godetie*.

¹ mag. inž. hort., Jamnikarjeva 101, SI-1000 Ljubljana, e-pošta: sasa.gacnik@bf.uni-lj.si

² dr., Hacquetova 17, SI-1000 Ljubljana

³ izr. prof., dr., Jamnikarjeva 101, SI-1000 Ljubljana

1 UVOD

Salicilna kislina (SA), znana tudi kot 2-hidroksibenzojska kislina, je rastni hormon, ki ima pomembno vlogo v rastlinah kot signalna molekula, ki pripomore k sistemski inducirani odpornosti (systemic inducing resistance; SAR) na biotični in abiotični stres. Metil-salicilna kislina (MeSA) je derivat SA, ki ima ključno vlogo pri signalizaciji na dolge razdalje iz okuženega na neokuženo tkivo preko floema (Raskin in sod., 1992). Različni avtorji navajajo, da ima SA različne vplive na rast in razvoj različnih sadnih vrst, med drugim večjo maso in trdoto plodov, večjo vsebnost askorbinske kisline, skupnih fenolov in flavonoidov ter boljšo aktivnost nekaterih encimov (Gimenez in sod., 2017; Martinez-Espla in sod., 2018). Poročajo tudi o antifungicidnih učinkih SA na nekatere glive, kot sta *Monilinia fructicola*, (Yao in Shiping, 2005) in *Botrytis cinerea* (Babalara in sod., 2007).

Namen naše raziskave je bil ugotoviti vpliv SA in MeSA na rast različnih vrst gliv (*Monilinia fructicola*, *M. laxa*, *Gnomoniopsis smithogilvyi*, *Colletotrichum fiorinae* in *C. godetiae*) v čisti kulturi na krompirjevem gojišču *in vitro* in na razvoj bolezenskih znamenj *in vivo* na uskladiščenih jabolkih, okuženih z glivo *Monilinia laxa*.

2 MATERIALI IN METODE

514

V poskus učinka SA in MeSA na rast gliv *in vitro* so bili vključeni izolati gliv *Monilinia fructicola*, *M. laxa*, *Gnomoniopsis smithogilvyi*, *Colletotrichum fiorinae* in *C. godetiae* iz zbirke gliv na KIS (Kmetijski inštitut Slovenije). Izolate smo precepili na krompirjevo gojišče (PDA) ter gojišča, ki so jim bili dodani SA (2 mM in 3 mM) in MeSA (2 mM in 3 mM). Glive smo nato 3 tedne gojili pri temperaturi 20 °C v temi in merili polmer v štirih pravokotnih smereh rasti izolatov v treh terminih za glive *M. laxa* (I - 4 dni po inokulaciji; II - 7 dni po inokulaciji; III - 20 dni po inokulaciji), *C. fiorinae* in *C. godetiae* (I - 4 dni po inokulaciji, II - 7 dni po inokulaciji; III - 10 dni po inokulaciji) ter v enem terminu (15 dni po inokulaciji) za glivi *M. fructigena* in *G. smithogilvyi*.

V poskus učinka SA in MeSA *in vivo* je bila vključena sorta jabolk 'Zlati delišes'. Jabolka smo površinsko razkužili z raztopino NaClO (1 % aktivnega klora) in okužili z glivo *M. laxa* prek vbodne rane, na katero smo nanесли 20 µl suspenzije trosov s koncentracijo 5×10^5 trosov/ml. Za pripravo suspenzije trosov smo uporabili predhodno okužene plodove (okužba s koščki agarja, preraščenimi z micelijem glive *M. laxa*) z obilno sporulacijo glive na površju ploda. Trose smo postrgali s površja ploda, jih suspendirali v sterilni destilirani vodi in uravnali do zelene koncentracije. Jabolka smo najprej poškodovali z iglo (I) ali tipsom (T) in na mesto vboda nanесли 20 µl suspenzije trosov. Pri kontrolnih jabolkih smo na mesto vboda nanесли 20 µl sterilne bidestilirane vode. Jabolka smo nato 24 ur inkubirali pri temperaturi 20 °C in 100 % relativni zračni vlagi, nato pa za 30 min namočili v raztopini SA in MeSA (2,5 mM). V našem poskusu smo v preliminarnem testu preizkušali tudi koncentracijo 3,5 mM SA in MeSA ter 45 minutni čas namakanja jabolk. Rezultatov nismo uporabili zaradi fitotoksičnega učinka raztopine na jabolka. Kontrolna jabolka smo namočili v sterilni bidestilirani vodi. Jabolka smo nato 14 dni inkubirali v rastni komori pri temperaturi 17 °C in 100 % relativni zračni vlagi. Meritve smo izvajali v treh terminih - I (3 dni po infekciji), II (7 dni po infekciji), III (10 dni po infekciji), v katerih smo spremljali jakost okužbe, ki smo jo ocenili na podlagi meritev

premera nastalih nekroz v dveh pravokotnih smereh. Podatke smo statistično obdelali s programom Statgraphic Plus 4.0 (enosmerna analiza variance; $p < 0,05$).

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

3.1 Vpliv SA in MeSA *in vitro*

V prvem delu poskusa smo ugotavljali vpliv SA in MeSA na rast micelija različnih vrst gliv v čisti kulturi na krompirjevem gojišču (*in vitro*). Rezultati poskusa so prikazani na sliki 1. Pričakovano so vse testirane glive najbolj rastle na kontrolnem gojišču brez dodane SA in MeSA. Z dodatkom SA oziroma MeSA, pa se je rast gliv značilno zmanjšala. SA ima po navajanju različnih avtorjev antifungicidne učinke tudi proti glivam *Monilinia fructicola* na češnjah (Yao in Tian, 2005), *Botrytis cinerea* na jagodah (Babalar in sod., 2007) in *Colletotrichum gleosporioides* na mangu (Joyce in sod., 2001).

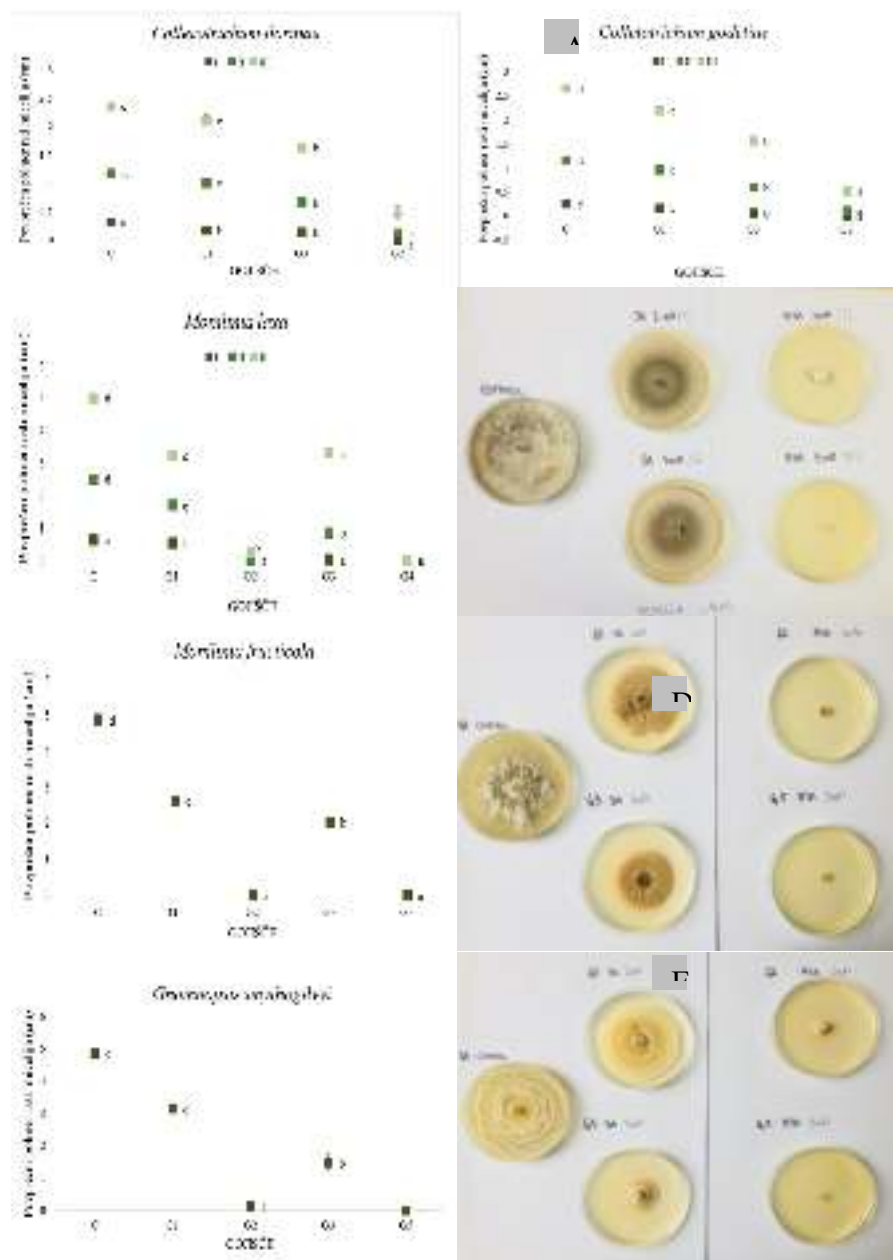
V našem primeru je imela SA, v primerjavi z MeSA, značilno slabši zaviralni učinek na rast micelija gliv, vendar značilno boljši kot kontrola ($p < 0,05$). Pri zaviranju rasti micelija gliv *G. smithogilyvi* in *M. fructicola* na PDA gojiščih je imela najboljši učinek MeSA (2 in 3 mM), ki je povsem zavrla rast, s koncentracijo 3 mM pa se je zaustavila tudi rast glive *M. laxa*. Na rast gliv iz rodu *Colletotrichum* sp. je imela prav tako najboljši zaviralni učinek 2 mM MeSA, ki je rast v III. terminu meritev v primerjavi s kontrolo zmanjšala za 58 – 100% pri *C. fiorinae* in za 77-100% pri *C. godetiae*.

3.2 Vpliv SA in MeSA *in vivo*

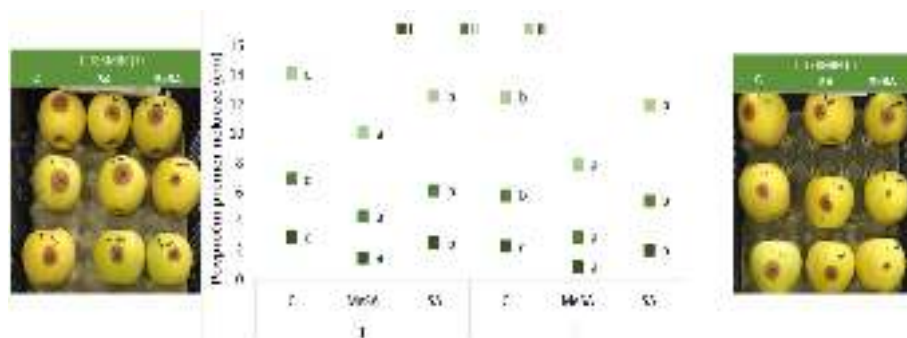
Namen drugega dela poskusa je bil ugotoviti vpliv SA in MeSA na razvoj bolezenskih znamenj *in vivo* na uskladiščenih jabolkih, okuženih z glivo *Monilinia laxa*. Jakost okužbe pri jabolkih, tretiranih s SA in MeSA, je bila pri vbodnih ranah s tipsom (T) v primerjavi s kontrolo značilno manjša v vseh treh terminih meritev. Tudi pri vbodnih ranah z iglo (I) smo v prvem terminu meritev dobili podobne rezultate. V II. (7 dni po infekciji) in III. terminu (10 dni po infekciji) meritev pa med kontrolnimi in SA-tretiranimi jabolki nismo zaznali značilnih razlik v jakosti okužbe ($p > 0,05$).

Pri obeh načinih okužbe (vbodna rana prek tipsa ali igle) je imela MeSA najboljši učinek na zmanjšanje nekroz, ki jih je povzročila *M. laxa*. V I. terminu meritev (3 dni po infekciji) je bila okužba na plodovih tretiranih s SA za do 29 % (T) ali do 35 % (I) značilno manjša kot pri kontroli, pri z MeSA-tretiranih plodovih pa za 32-52% (T) ali za 48-70% (I) značilno manjša v primerjavi s kontrolo.

516



Slika 1: Povprečen polmer rasti micelija (cm) pri glivah A- *Colletotrichum fioriniae*, B- *Colletotrichum godetiae*, C- *Monilinia laxa*, D- *Monilinia fructicola* in E- *Gnomnopsis smithogilyvi*, na PDA gojiščih (C- kontrola, G1- 2 mM SA, G2- 2 mM MeSA, G3- 3 mM SA, G4- 3 mM MeSA) v različnih terminih meritev



Slika 2: Nekroze na jabolkih, ki jih je povzročila gliva *M. laxa* po okužbi preko vbodne rane s tipsom (T; levo) ali iglo (I; desno) v I. terminu (3 dni po infekciji) meritev in grafični prikaz povprečnih premerov nekroz po terminih in načinu okužbe.

4 SKLEPI

Varstvo rastlin pred boleznimi predstavlja velik izziv zaradi spremenjene klime in predvsem zaradi splošnega zavedanja javnosti o škodljivosti uporabe učinkovitih fitofarmacevtskih sredstev in posledično opuščanja le teh. Na podlagi naših in tujih rezultatov bi lahko tretiranje rastlin s SA in predvsem z MeSA predstavljalo uspešno alternativo uporabi fitofarmacevtskih sredstev. V našem poskusu smo dokazali antifungicidni učinek SA in MeSA na rast micelija različnih gliv *in vitro* in na *in vivo* rast glive *Monilinia laxa* na jabolkih. Dokazali smo, da je metilsalicilna kislina v primerjavi s salicilno kislino bolj učinkovita in da je zaviralni učinek na rast gliv ob uporabi 3 mM raztopine večji od uporabe 2 mM raztopine. Potrebni bi bilo še več podobnih raziskav, ki bi testirale vpliv več različnih koncentracij SA in njenih derivatov ter različnega časa namakanja v njihovih raztopinah na okuženost z različnimi glivami. Potrebno bi bilo testirati tudi vpliv različnih koncentracij in časa namakanja na fiziološke karakteristike rastlin, saj ob uporabi previsoke koncentracije in predolgega časa namakanja rastlin v raztopino SA in MeSA lahko vodi k fitotoksičnemu učinku omenjenih snovi. Preliminarni testi so pokazali fitotoksični učinek, ko smo jabolka sorte 'Zlati delišes' za 45 minut namočili v 3,5 mM raztopino SA in MeSA.

5 LITERATURA

- Babalar M., Asghari M., Talaei A., Khosroshahi A. 2007. Effect of pre-and postharvest salicylic acid treatment on ethylene production, fungal decay and overall quality of Selva strawberry fruit. *Food Chemistry*, 105, 2: 449-453.
- Yao H., Tian S. 2005. Effects of pre-and post-harvest application of salicylic acid or methyl jasmonate on inducing disease resistance of sweet cherry fruit in storage. *Postharvest Biology and Technology*, 35, 3: 253-262.
- Giménez M. J., Serrano M., Valverde J. M., Martínez-Romero D., Castillo S., Valero D., Guillén F. 2017. Preharvest salicylic acid and acetylsalicylic acid treatments preserve quality and

- enhance antioxidant systems during postharvest storage of sweet cherry cultivars. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97, 4: 1220-1228.
- Joyce D., Wearing H., Coates L., Terry L. 2001. Effects of phosphonate and salicylic acid treatments on anthracnose disease development and ripening of 'Kensington Pride' mango fruit. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 41, 6: 805-813.
- Martínez-Esplá A., Zapata P. J., Valero D., Martínez-Romero D., DÍaz-Mula H. M., Serrano M. 2018. Preharvest treatments with salicylates enhance nutrient and antioxidant compounds in plum at harvest and after storage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98, 7: 2742-2750.
- Raskin I. 1992. Salicylate, a new plant hormone. *Plant Physiology*, 99, 3: 799 str.