تاثير بعض العوامل الفيزياوية والكيمياوية و مستخلصي ثمار الحنظل وقشور الرمان في نمو الفطر *Alternaria alternata* المعزول من ثمار الطماطة في الاسواق المحلية لمحافظة النجف الاشرف

زهراء يوسف خضير

قسم علوم الحياة-كلية العلوم-جامعة الكوفة

الخلاصة

تضمنت الدراسة اختبار تاثير بعض العوامل الفيزياوية والكيمياوية فضلا عن تقييم كفاءة عدد من المستخلصات النباتية في نمو الفطر *Alternaria alternata* المسبب لمرض العفن الاسود Black mold المعزول من ثمار الطماطة . اظهرت نتائج التجارب المختبرية ان افضل درجة حرارة لتنمية الفطر *A.alternata* هي 25 و 30 م° اذ بلغ معدل قطر الستعمرة 7.1 و 7 سم على التوالي لمدة حضن 7 ايام واختلفت بفارق معنوي عن الدرجات الحرارية الاخرى . وافضل الاوساط الزرعية لتنمية الفطر وسط مستخلص الشعير M.E.A اذ بلغ معدل قطر المستعمرة 7.5سم .

كما واظهرت النتائج ان لكلوريد الصوديوم تاثيرات متباينة في نمو الفطر المختبر فالتراكيز الواطئة سببت تثبيطا للفطر بلغت 35.4% عند التركيز 0.1% في حين اثرت التراكيز العالية 1 و 1.5% ايجابيا في زيادة نمو الفطر المختبر . من جانب اخر ظهر ان للمستخلص العام لبذور الحنظل وقشور الرمان فعالية تثبيطية لنمو الفطر *A.alternata* فقد بلغت نسبة التثبيط 76.3% و75.01% عند التركيز 9.8% على التوالي . في حين لم تظهر فروق معنوية في مدى حساسية الفطر المختبر لنوع المستخلص .

المقدمة

تعود الطماطة *Lycopersicon esculentum* Mill الى العائلة الباذنجانية Solaniaceae وتعد من محاصيل الخضر المهمة في العالم (اسطيفان ومحمد ، 1998) ونظرا لاهميتها الغذائية ومردوداتها الاقتصادية توسعت زراعتها بشكل كبير في العراق (الكتاب السنوي للاحصاءات الزراعية العربية ، 2000) . ان ثمرة طماطة طازجة متوسطة الحجم زنة 150غم تعطي 57%من الاحتياج اليومي لانسان بالغ من فيتامين C ، واكثر من 25% من فيتامين A و 8% من الحديد بالاضافة الى فيتامينات B_6 و B_1 والالياف والعناصر المعدنية (مطلوب واخرون ، 1989) . مرض العفن الاسود Black mold يسببه فطر *Alternaria alternata* ويستطيع الفطر ان يهاجم العديد من الثمار والخضار ، من ضمنها الطماطة والفلفل . يؤثر العفن الاسود على الفاكهة الناضجة المعرضة للرطوبة الحرة ، وترتبط عادة بالندى الكثيف ، مطر او الري . الفطر *A.alternata* يمكن ان يوجد على اغلب المواد العضوية المتحللة غالبا ، ويعيش في التربة . يحدث المرض عموما في وحول الجروح على الفاكهة ، لكن المسبب المرضي يمكن ايضا ان يصيب نباتات غير مجرحة ايضا (Schwartz و Gent ، 2007) ويعد استخدام المستخلصات النباتية من الطرق البديلة للمبيدات الكيمياوية المستعملة في تثبيط الفطريات لانها تحتوي على مواد ايضية بعضها سام للافات وخاصة الفطريات الممرضة ، اضافة الى انها تمتلك صفات مرغوبة بيئيا وسميتها القليلة للبائن وتخصصها العالي (Sharma و Vir ، 1987 ; Mandava ، 1985) . واستنادا الى ذلك استهدفت هذه الدراسة المحاور الاتية :

1- اختبار تاثير عدد من درجات الحرارة في نمو الفطر *A.alternata* .

2- اختيار افضل وسط غذائي لنمو الفطر *A.alternata* .

3- تاثير كلوريد الصوديوم في نمو الفطر *A.alternata* .

4- دراسة تاثير عدد من المستخلصات النباتية في نمو الفطر *A.alternata* والمتمثلة بالمستخلص العام لبذور الحنظل وقشور الرمان .

طرائق العمل Methods

1- عزل و تشخيص الفطر *Alternaria alternata* من ثمار الطماطة

تم عزل الفطر من ثمار الطماطة التي ظهرت عليها أعراض الإصابة والتي جلبت من الأسواق المحلية إذ قطعت الثمرة إلى عدة أجزاء وأخذ الجزء المصاب وقطع قطعا صغيرة طولها 0.5 سم ثم عقمت بمادة هايبوكلورات الصوديوم تركيز 5% ولمدة دقيقة واحدة بعدها غسلت بماء معقم ونشفت بأوراق ترشيح وزرعت في أطباق زجاجية حاوية على وسط P.D.A معقم اضيف اليه 25 ملغم/لتر مضاد حيوي Chloramphenicol وبواقع خمس قطع/طبق . وحضنت الأطباق في درجة حرارة 25±1 م° ولمدة خمسة أيام وبعد انتهاء مدة الحضن تم تنقية الفطر بأخذ قرص من كل طبق وزرعه على طبق يحتوي على وسط P.D.A وتكرار العملية عدة مرات (العنسي ، 1999) تم تشخيص العزلة بالاعتماد على الصفات التصنيفية التي ذكرها Ellis (1971).

2- دراسة تأثير درجات الحرارة في النمو القطري للفطر *Alternaria alternata*

حضر وسط غذائي P.D.A وعقم في جهاز الموصدة و بعد التبريد وضع المضاد الحيوي Chloramphenicol بتركيز 25 ملغم / لتر و صب في أطباق زجاجية معقمة 9سم و لقح مركز كل طبق بقرص قطره 5ملم من مستعمرة الفطر *A.alternata* النامية على وسط P.D.A بعمر 5 أيام ، حضنت الأطباق في درجات حرارة 4 ، 25 ، 30 ، 35 و 40 م° وبواقع ثلاث أطباق لكل درجة حرارة و تم قياس النمو الفطري للفطر و ذلك بأخذ قطرين متعامدين من ظهر المستعمرة يمران بمركز القرص بعد مرور 7 أيام من عملية الزرع (جاسم ، 1999).

3- دراسة تأثير نوع الوسط ألزرعي على النمو القطري للفطر *Alternaria alternata*

تم تحضير عدد من الأوساط الزرعية و تنمية الفطر عليها ومقارنتها مع الوسط ألزرعي P.D.A لمعرفة أفضل وسط زرعي ينمو فيه الفطر ، والأوساط هي :

1) وسط مستخلص الشعير Malt Extract Agar (M.E.A)

تم تنقيع 75 غم من الشعير في 1 لتر من الماء لمدة 48 ساعة ثم رشح بواسطة قطعة شاش نظيفة ، أضيف إلى الراشح 20 غم من الأكار و 10 غم من سكر السكروز ثم عقم بجهاز المؤصدة بحرارة 25م°وضغط 1 جو و بعد تبريد الوسط وضع فيه المضاد الحيوي Chloramphenicol بتركيز 25 ملغم / لتر (السماك ، 1983).

2) وسط مستخلص الذرة Corn Extract Agar (C.E.A)

حضر الوسط بنفس طريقة تحضير وسط مستخلص الشعير إذ تم تنقيع 100 غم من الذرة الصفراء في 1 لتر من الماء المقطر لمدة 48 ساعة ثم رشح النقيع بقطعة شاش نظيفة ، أضيف إلى الراشح 20 غم من الأكار و 10 غم من سكر السكروز ثم عقم بجهاز المؤصدة لمدة 20 دقيقة و في الظروف المذكورة آنفا وبعد تبريد الوسط أضيف إليه المضاد الحيوي Chloramphenicol وبتركيز 25 ملغم / لتر.

3) وسط مستخلص الخميرة Yeast Extract Agar (Y.E.A)

يحضر هذا الوسط بوضع 23 غم من مسحوق الوسط Yeast Extract Agar في 1 لتر من الماء المقطر ، عقم الوسط في جهاز المؤصدة و في درجة حرارة 121م° و ضغط 1 جو و بعد تبريد الوسط وضع فيه المضاد الحيوي Chloramphenicol و بتركيز 25 ملغم / لتر.

4) وسط المرق المغذي Nutrient Agar (N.A)

حضر هذا الوسط بوضع 28 غم من مسحوق وسط Nutrient Agar في 1 لتر من الماء المقطر ، عقم الوسط بجهاز المؤصدة و في درجة حرارة 121م° و ضغط 1 جو ، و بعد تبريد الوسط وضع فيه المضاد الحيوي Chloramphenicol و بتركيز 25 ملغم / لتر.

5) وسط اغار مستخلص البطاطا والدكستروز Potato dextrose agar (P.D.A)

يحضر من مستخلص البطاطا المتكون من 200 غم بطاطا و ذلك بعد غسلها و تقطيعها إلى قطع صغيرة وضعت في إناء معدني و أضيف لها لتر من الماء المقطر ، و غليت لمدة 30 دقيقة وبعدها رشحت بوساطة قطعة شاش نظيفة ، أضيف إلى الراشح 20 غم من سكر الدكستروز و 20 غم من

الأكار و عقم بجهاز المؤصدة لمدة 20 دقيقة بحرارة 121م° تحت ضغط 1 جو (Collee و آخرون ، 1996).

و صبت الأوساط المذكورة آنفا في أطباق زجاجية معقمة قطر 9 سم و بواقع ثلاث أطباق لكل وسط ، و بعد تصلب الوسط لقح كل طبق بقرص قطره 5 ملم من الوسط ألزرعي P.D.A المنمى عليه الفطر *A.alternata* بعمر أسبوع ثم حضنت الأطباق في درجة حرارة 25 ± 1 م° لمدة أسبوع ، بعدها حسبت معدل أقطار المستعمرات في أطباق (مكررات) كل وسط يأخذ معدل قطرين متعامدين للمستعمرات النامية (Inglis وجماعته 1996a ، Inglis و جماعته 1997a).

4- اختبار كفاءة كلوريد الصوديوم Sodium chloride (Nacl) في تثبيط نمو الفطر *Alternaria alternata*

حضر الوسط الزرعي P.D.A في خمسة دوارق سعة كل منها 250 مل ، عقمت في جهاز المؤصدة وفي الظروف المذكورة انفا ، وبعد التعقيم تركت لتبرد ، وقبل تصلب الوسط وضع فيها المضاد الحيوي (Chloramphenicol) بتركيز 25ملغم/لتر الى الدوارق الخمسة ثم اضيفت الى اربعة منها كلوريد الصوديوم Nacl بالتراكيز 1 ، 5 ، 10 و15 غم/لتر على التتابع للحصول على التراكيز 0.1% ، 0.5% ، 1% و 1.5% وترك الدورق الخامس بكونه معاملة مقارنة ، صبت محتويات الدوارق في اطباق بتري معقمة بواقع ثلاثة اطباق لكل دورق وبعد تصلب الوسط لقحت الاطباق باقراص من مستعمرة الفطر *A.alternata* بعمر اسبوع بواقع قرص واحد في منتصف الطبق .

وبعد مرور سبعة ايام تم حساب مقدار التثبيط لنمو الفطر وفق معادلة Abbott (1925)

$$\text{Inhibition percentage} = \frac{R_1 - R_2}{R_1} \times 100$$

R_1 : أقصى نمو شعاعي لمستعمرة الفطر في معاملة المقارنة.

R_2: أقصى نمو شعاعي لمستعمرة الفطر في الأطباق الحاوية على الملح.

5- تقييم الفعالية الحيوية لمكونات ثمار الحنظل و قشور الرمان

5-1 الاستخلاص العام لثمار الحنظل

وزن 100 غم من مسحوق ثمار الحنظل في دورق زجاجي سعة 1000 مل ، و أضيف له 200 مل من كحول الأثيل و ترك لمدة 48 ساعة مع مراعاة الرج بين فترة و أخرى ، ثم رشح المستخلص باستخدام قمع بخنر و ورق ترشيح (Whatman NO.4) و بالتفريغ الهوائي . وركز المستخلص باستخدام جهاز التبخر الفراغي الدوار (Rotary Vacuum Evaporator) في درجة حرارة 45 م° ثم وزن المستخلص المركز (العثماني ، 1997) . ولغرض اختبار الفعالية البايلوجية للمستخلص الخام في فطر الاختبار أخذ 3.6 غم من المستخلص الجاف و أذيب في 1 مل من الكحول الأثيلي 99% ومن ثم أكمل الحجم إلى 10 مل بواسطة الماء المقطر فيكون التركيز 36% ، اما بالنسبة للسيطرة فيتكون من 1 مل من كحول أثيلي و أكمل الحجم بالماء المقطر إلى 10مل .

5-2 الاستخلاص العام لقشور الرمان

طبقت الخطوات الواردة نفسها في الفقرة السابقة باستثناء اضافة مسحوق قشور الرمان بدل مسحوق بذور الحنظل .

6- فعالية المستخلص العام لبذور الحنظل في تثبيط نمو الفطر *A.alternata*

حضر الوسط ألزرعي P.D.A في دورقين سعة كل واحد منهما 500 مل بواقع 400 مل وسط / دورق ، عقم في جهاز المؤصدة ، وبعد التعقيم ترك الوسط ليبرد ، و قبل تصلب الوسط صبت محتوياته في 18 طبقا بمعدل

20 مل / طبق ، 9 اطباق منها حاوية على المستخلص العام و بواقع 0.5 ،1 و1.5 مل لكل طبق (ثلاثة اطباق لكل تركيز) فتكون التراكيز 3.6% ، 7.2% و 9.8% على التوالي أما 9 اطباق المتبقية تحتوي على محلول الكحول الأثيلي والماء المقطر (معاملة سيطرة) و بمعدل 0.5 ، 1 و 1.5 مل / طبق أيضا وبمعدل ثلاثة اطباق لكل تركيز (3.6% ، 7.2% و 9.8% على التوالي)، و بعد تصلب الوسط لقح بأقراص من مستعمرات الفطر و بقطر 5 ملم مأخوذة من حافة المستعمرة و بعمر أسبوع واحد بمعدل قرص واحد / طبق و بثلاثة مكررات ، حضنت جميع الأطباق في درجة حرارة 25 ± 1 م° . و بعد سبعة أيام حسبت أقطار المستعمرات و مقدار التثبيط للنمو القطري بأخذ معدل قطرين متعامدين للمستعمرات النامية و طبقت معادلة Abbott الواردة في الفقرة (4) .

7- فعالية المستخلص العام لقشور الرمان في تثبيط نمو الفطر *A.alternata*

طبقت الخطوات الواردة نفسها في الفقرة السابقة باستثناء اضافة المستخلص العام لقشور الرمان بدل المستخلص العام لبذور الحنظل .

8- التحليل الاحصائي :

نفذت جميع التجارب على وفق التصميم كامل العشوائية C.R.D كتجارب احادية وثنائية العوامل وتم مقارنة المتوسطات بحسب طريقة اقل فرق معنوي بين متوسطين L.S.D وفي مستوى احتمال (0.05) (الراوي وخلف الله ، 1980) .

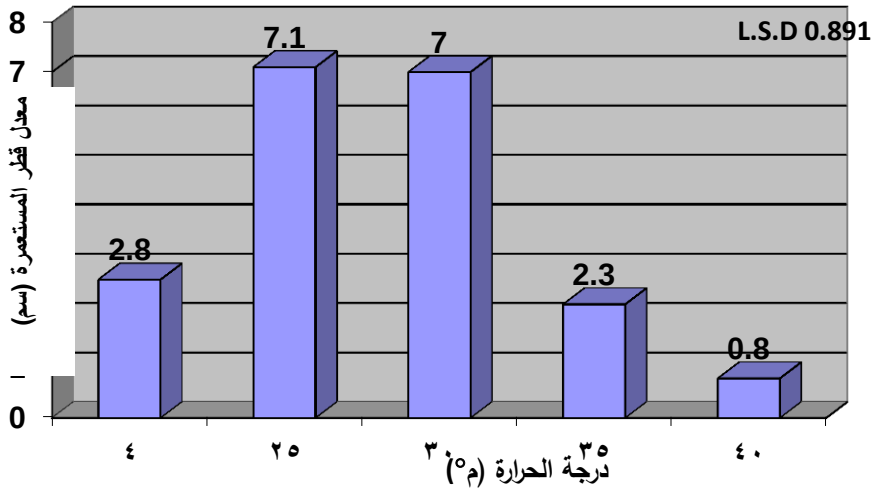
النتائج والمناقشة

1- تاثير درجات الحرارة في النمو الشعاعي للفطر *Alternaria alternata*

تباينت تاثيرات درجات الحرارة في نمو الفطر *A.alternata* بعد الانتهاء من عملية التحضين . اذ ظهر افضل نمو للفطر عند درجتي الحرارة (25 ، 30)م° اذ بلغ معدل اقطار مستعمرات الفطر (7.1 ، 7)سم على التوالي بتفوق معنوي على درجات الحرارة الاخرى .

في حين كانت تاثيرات درجات الحرارة الاخرى في النمو سلبية اذ انخفض معدل اقطار مستعمرات الفطر عند درجة (4 ، 35 ،40) م° الى (2.8 ، 2.3 ، 0.8) سم على التوالي. (الشكل 1) .

وقد يعود السبب في ذلك الى ان الدرجات الحرارية الواطئة تقلل من نشاط الخلية الايضي كما ويعمل على تكوين بلورات ثلجية داخل الخلية مما يؤثر هذا على وظائف الاغشية وخاصة تبادل المواد عبرها مؤديا ذلك الى موت المايكروب في حين درجات الحرارة العالية تسبب مسخ الانزيمات وبروتينات الخلية (Denaturation) . (السعد،1990).



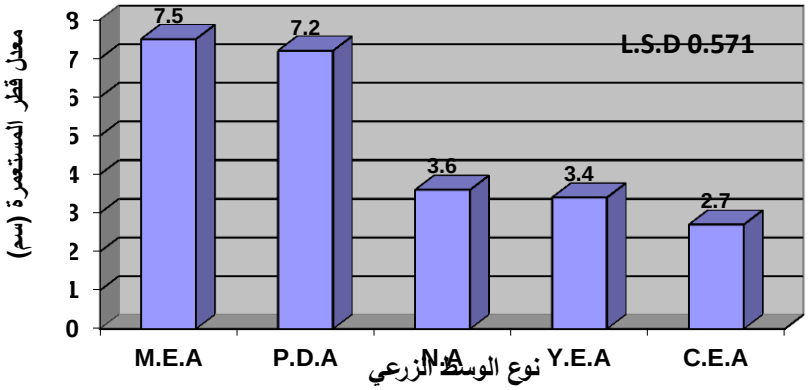
شكل (1) تاثير درجات الحرارة المختلفة في نمو الفطر *A.alternata* بعد مدة حضن 7 ايام

2- تاثير نوع الوسط الزرعي في النمو القطري للفطر *A.alternata*

اظهرت النتائج قدرة الفطر الممرض *A.alternata* على النمو في جميع الاوساط المستخدمة في هذه الدراسة وكما موضح في الشكل (2) اذ ظهر ان وسط مستخلص الشعير هو افضل الاوساط ، بلغ معدل قطر الفطر 7.5 سم ولكن بدون فرق معنوي على وسط P.D.A اذ بلغ معدل قطر الفطر 7.2 سم . في حين انخفض معدل نمو الفطر في الاوساط الاخرى N.A و Y.E.A ومستخلص الذرة الى 3.6 ، 3.4 ،2.7 سم .

وقد يعود سبب التباين في معدلات النمو الفطري الى اختلاف المكونات الغذائية للاوساط التي قد تكون ملائمة او اقل ملائمة لنمو الفطر الممرض (عبد الرزاق،1997) .

وقد يعود السبب(N.A) في ذلك الى طبيعة المكونات الغذائية للوسط الزرعي والمكون اساسا من مستخلص الخميرة ومستخلص اللحم وبالتالي يكون هذا الوسط فقيرا بالسكريات الثنائية والاحادية والضرورية لنمو الفطريات بصورة عامة اذ ان وسط N.A يعتبر مصدر جيد للنتروجين ويلبي احتياجات البكتريا (الخفاجي والرحالي،1993) .



شكل (2) تاثير نوع الوسط الزرعي في النمو الشعاعي للفطر *A.alternata*

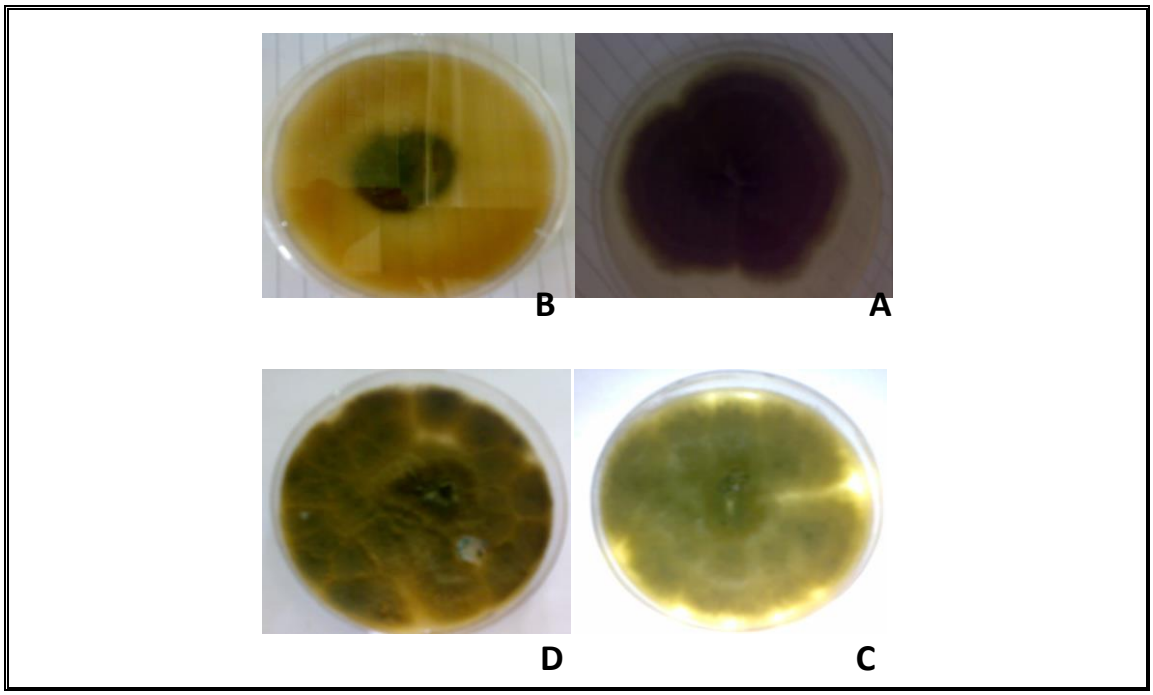
3- تاثير تراكيز مختلفة من كلوريد الصوديوم في نمو الفطر *A.alternata*

اوضحت النتائج ان كلوريد الصوديوم بتركيز 0.1% كان الاكثر تاثيرا في نمو الفطر اذ بلغ معدل القطر 4.7 سم ومعدل التثبيط 35.4% اما التركيز 0.5% فكان القطر 6.8 سم ومعدل التثبيط 6.2% في حين اثرت بقية التراكيز ايجابيا في زيادة معدل اقطار النمو اذ ارتفعت معدلات قطر المستعمرات الى 8.3 و 8.2 سم في التركيزين 1% و 1.5% على التوالي (جدول1 ، صورة1) .

ومن هذه النتائج يظهر ان التراكيز الواطئة تكون ذات تاثيرات سلبية على النمو في حين التراكيز العالية كانت مفيدة في زيادة معدل نمو الفطر . وقد يعود سبب التباين الحاصل في نتائج التراكيز الى ان معظم الخلايا المايكروبية يكون الضغط الازموزي داخلها Intracellular osmotic pressure يعادل تلك القوة المتولدة من محلول تركيزه 0.85-0.9% ولذلك في المحاليل الملحية للتخفيفات البكتيرية تحضر بهذه التراكيز لكي لا يحدث تغير داخل الخلية . (المصلح،1990) . وهذا يفسر النتيجة الحاصلة مع فطر *A.alternata* فالتركيزين 1و1.5% من كلوريد الصوديوم لم تؤثرا على النمو الطبيعي للفطر في الوسط الزرعي . وهذا يؤكد ان الضغط الازموزي داخل الفطر يعادل هذين التركيزين وبهذا لم يحصل أي تغير فسلجي في الفطر . في حين التراكيز الواطئة 0.1و0.5% اثرت سلبا على نمو الفطر وسببت انخفاضا ملحوظا في معدل قطر المستعمرة . ويمكن تفسير هذه النتيجة بان الخلية الفطرية للفطر *A.alternata* عند تنميتها في التركيز 0.1% تكون الخلايا في وسط ذو تركيز اقل من تركيزها داخل الخلية الفطرية وبهذا ينفذ الماء من خارج الخلية الى داخلها حتى تمتلىء ويتكون ضغط اوزموزي عال داخل الخلية Osmotic pressure وتسمى هذه الظاهرة Plasmophlysis التي تؤدي الى انفجار الخلية او فقدان الغشاء الخلوي فعاليته التناضحية (داود وجماعته،1991) .

جدول (1) تاثير تراكيز مختلفة من كلوريد الصوديوم في نمو الفطر *A.alternata*

التركيز(%)	معدل قطر الفطر(سم)	معدل نسبة التثبيط(%)
0	7.28	0
0.1	4.7	35.43
0.5	6.8	6.2
1	8.3	-14.44
1.5	8.2	-12.70
L.S.D	0.57	8.89



صورة (1) تاثير تراكيز مختلفة من كلوريد الصوديوم في نمو الفطر *A.alternata* لمدة اسبوع بحرارة 25±1م° بمعدل ثلاث مكررات

A- المقارنة التراكيز B- 0.1% C- 1% D- 1.5%

4- تاثير المستخلص الخام لبذور الحنظل وقشور الرمان على معدلات النمو الشعاعي للفطر *A.alternata*

- تاثير نوع المستخلص في نمو الفطر *A.alternata*

اظهرت النتائج المبينة في الجدول (2) عدم وجود فروق معنوية في مدى حساسية الفطر *A.alternata* لنوع المستخلص حيث كان معدل نسبة التثبيط للفطر *A.alternata* للمستخلص العام لبذور الحنظل وقشور الرمان هي 45.6% و47.7% على التوالي . ومن هذه النتيجة يمكن القول ان المستخلصين ذات تاثير متقارب على هذا الفطر .

جدول(2) تاثير نوع المستخلص في نمو الفطر *A.alternata*

نوع المستخلص	معدل قطر الفطر(سم)	معدل نسبة التثبيط(%)
بذور الحنظل	**3.9**	**45.68**
قشور الرمان	3.7	47.74
L.S.D	**0.23**	**3.52**

- تاثير تراكيز المستخلصين بذور الحنظل وقشور الرمان في نمو الفطر *A.alternata*

اظهرت نتائج التحليل الاحصائي ان للتراكيز المستعملة من المستخلصين فعالية تثبيطية لنمو الفطر *A.alternata* بنسب متفاوتة بحسب التركيز المستعمل ، فقد بلغت اعلى نسبة تثبيط للفطر المختبر عند المعاملة بالتركيز 9.8% كانت 75.69% ، وبفارق معنوي عن معاملة التركيز 7.2%و3.6 % التي بلغت 62.39 و48.77% (الجدول3) . يلاحظ ان عملية التثبيط في الفطر تتناسب طرديا مع زيادة التركيز فقد ذكر Hernandez وجماعته (1994) ان سبب ذلك يعود الى زيادة تركيز المادة المثبطة في المستخلص بزيادة تركيزه أي انه كلما زاد تركيز المستخلص الفعال زاد تاثيره في الاحياء المجهرية .

جدول(3) تاتير التراكيز المختبرة من المستخلصات المدروسة في نمو الفطر *A.alternata*

التركيز(%)	معدل قطر المستعمرة(سم)	معدل نسبة التثبيط(%)
0	**7.2**	**0**
3.6	**3.6**	**48.77**
7.2	**2.7**	**62.39**
9.8	**1.7**	**75.69**
L.S.D	**0.408**	**6.191**

- تاثير التداخل بين نوع المستخلص والتراكيز المستعملة في تثبيط النمو الشعاعي للفطر *A.alternata*

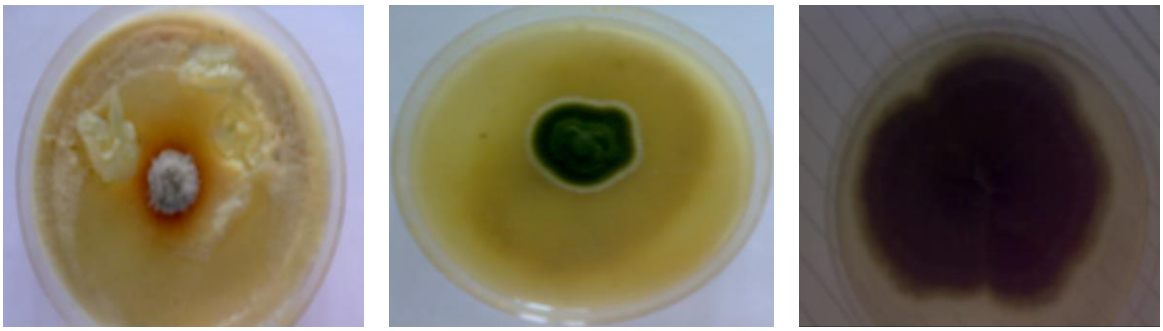
اظهرت نتائج التحليل الاحصائي تاثير كلا المستخلصين وبجميع التراكيز المستعملة بالدراسة من المستخلص وبمعدلات تباينت فيما بينها معنويا حسب نوع المستخلص والتركيز المستعمل من المستخلص ، فقد بلغت اعلى نسبة تثبيط في نمو الفطر *A.alternata* عند التركيز 9.8 % للمستخلص العام للحنظل وقشور الرمان اذ بلغت 76.37% و75.01% على التوالي . في حين انخفضت نسبة التثبيط وبفارق معنوي الى 64.32% و 60.46% على التوالي عند التركيز 7.2% وانخفضت نسبة التثبيط وبفارق معنوي الى 42.03% و 55.52% على التوالي عند التركيز 3.6% (جدول 4 ، صورة 2). وقد يعود اسباب ذلك لطبيعة المواد المستخلصة مثل المركبات القلوانية فقد فسرت الية التثبيط لهذه المركبات على اساس تماسها المباشر مع الكائنات الحية المجهرية وتحطيم غشاء البلازما وما يحويه من دهون وبروتينات ، او بسبب تداخل تلك المركبات في سلسلة التفاعلات الايضية اللازمة للنمو والتكاثر (Anthony ، 1976) . وكذلك مركبات الصابونين ايضا التي لها تاثير سلبي على الفطريات . وقد يعزى سبب التثبيط الى المركبات الفينولية التي اظهرت فعالية تثبيطية لتطور مختلف الامراض الفطرية خلال اليات مختلفة تتضمن تثبيط الانزيمات الفطرية خارج خلوية (cellulases ، lactase ، xylanase ، pectinases ....) ، تثبيط الفسفرة التاكسدية الفطرية ، الحرمان الغذائي (معقدات المعادن ، البروتينات غير الذائبة) والفعالية المضادة للاكسدة في انسجة النبات (Scalbert ، 1991 ؛ MacRae و Towers ، 1984 ؛ Jersh وجماعته ، 1989) . فقد ذكر Al-Rawi و Chakaravarty (1988) ان ثمار

الحنظل تحتوي على القلويدات Alkaloid والراتنجات Resin ومواد صمغية Gum ومواد فعالة اخرى مثل Pectin ، Elaterin و Colocynthin ، Phytosterol فضلا على احتواء البذور على زيوت ثابتة واحماض دهنية وتانينات وهايدروكاربونات وسكريات متعددة . وقد ذكر Watt و Breyer (1962) و Claus (1956) ان قشور الرمان والسيقان والجذور تحتوي على ما يقل عن 20% من العفصات وقد عزلت منها اربع انواع من القلويدات هي قلويد Pelletierine الذي يسمى Punicine ايضا ، وقلويد isopelletirine ، وقلويد ethyl pelletierine وقلويد pseudo pelleticrue الذي يسمى methyl grantanine وتحتوي قشور الرمان والساق والجذور على pelletierine بنسبة 5.2% وpseudopelletierine بنسبة 17.9% وisopelletierine بنسبة 0.15% فضلا عن methylisopelletirien . تكون قشرة الرمان غنية بـ Ellagitannins (ETs) مثل Punicalagin وشبيهه-4,6-(2,3-hexahydroxydiphenoyl) gallagylglucose) (Chirikdjian ، 1974) ، بالاضافة الى الكميات الاقل من Punicalin (-4,6 gallagylglucose) (Cerda وجماعته ، 2003) ، Gallagic acid (GA) (Cerda وجماعته ، 2003) ، EA-glycosides (EA) ellagic acid (Ohigashi ، 1997) و pentoside ، hexoside ، rhamnoside ...الخ) (Gil وجماعته ، Aviram ; 2000 وDornfield ، 2001) . وقد عزل Guo وجماعته (2009) من قشور الرمان مضاد فطري ببتيدي جديد سمي بـPomegranin ، له القدرة على منع نمو الغزل الفطري للفطرين *Botrytis cinerea* و *Fusarium oxysporium* . التاثيرات التثبيطية لمستخلصات قشور الرمان يمكن ان تنسب الى الفينولات ومحتواه من الانثوسيانين والفلافونات والاحماض العضوية (Duman وجماعته ، 2009) . وتتفق هذه النتائج مع ما ورد في دار الكتاب الحديث (1988) ان المنقوع المائي لثمار ولب الحنظل في علاج امراض العيون بقتل البكتريا والفطريات المصابة بها ، كما يفيد في علاج بعض الامراض الجلدية . وتتفق مع ما ذكره Watt و Breyer (1962) ان قشور الرمان له فعالية ضد الجراثيم . كما وجد الجنابي (1996) ان المستخلصات المائية والكحولية للرمان فعالة ضد الفطريات خصوصا *E.floccosum* و *T.mentagrophytes* و *T.tonsuraus* .

كما وجد الحازمي 2007 ان استخدام المستخلص المائي الحار والكحولي لاوراق نبات الكافور كان فعالا في السيطرة على الفطريات *Aspergillus* , *Penicillium* , *Rizoctonia* , *Alternaria* النامية على الحبوب كالرز والذرة الصفراء والمكسرات وذلك لاحتواء المستخلص على التانينات مثل Flavonoids و Triterpens .

جدول (4) تاثير التداخل بين نوع المستخلص والتراكيز المستعملة في نمو الفطر *A.alternata*

نوع المستخلص	التركيز(%)	معدل الاقطار(سم)	نسب التثبيط(%)
حنظل	**0**	**7.2**	**0**
	3.6	**4.16**	**42.03**
	7.2	**2.56**	**64.32**
	9.8	**1.7**	**76.37**
قشور الرمان	**0**	**7.2**	**0**
	3.6	**3.2**	**55.52**
	7.2	**2.83**	**60.46**
	9.8	**1.8**	**75.01**
L.S.D		**0.578**	**8.755**



صورة (2) تاثير المستخلص العام لثمار الحنظل وقشور الرمان في النمو الشعاعي للفطر *A.alternata*على وسط P.D.A لمدة اسبوع بدرجة حرارة 25±1م°A- معاملة المستخلص العام لالمقارنة B- ثمار الحنظل C- قشور الرمان

المصادر

ابو هيلة ، عبد الله ناصر ، 1987 . اساسيات علم الفطريات . عمادة شؤون المكتبات – جامعة الملك سعود ، الرياض . 325 صفحة .

الجنابي ، علي عبد الحسين صادق . 1996 . تاثير بعض المستخلصات النباتية على نمو بعض الفطريات الممرضة لجلد الانسان . اطروحة ماجستير - كلية العلوم - الجامعة المستنصرية .

الخفاجي ، علي حسين دمن وابراهيم محمد خضر الرحالي . 1993 . علم الاحياء المجهرية . دار الكتب للطباعة والنشر – جامعة الموصل .

الراوي ، خاشع محمود وعبد العزيز خلف الله .. 1980 تصميم وتحليل التجارب الزراعية – وزارة التعليم العالي والبحث العلمي – مطبعة مؤسسة دار الكتب للطباعة والنشر – جامعة الموصل .

السماك ، مهدي . 1983 . التقنية المختبرية في الجراثيم المرضية لمعاهد المهن الصحية . شركة المطابع النموذجية المساهمة المحدودة (تيبكو) . 945 صفحة .

العثماني ، فراس غسان مطلك ، 1997. عزل واختبار المادة الفعالة في مستخلص نبات الروجة Hypericum triqhetrifolium Turra ضد فطرين ممرضين للنبات. رسالة ماجستير، كلية الزراعة / جامعة بغداد.

العنسي، عادل عبد الغني لطف ، 1999. المقاومة المتكاملة لمرض الذبول الفيوزارمي في الطماطة المتسبب عن الفطر *Fusarium oxysporium f.*sp. *lycopersici* . رسالة ماجستير ، كلية الزراعة-جامعة البصرة . 97 صفحة .

الكتاب السنوي للاحصاءات الزراعية العربية . (2000) . المنظمة العربية للتنمية الزراعية ، جامعة الدول العربية .

اسطيفان ، زهير عزيز ، محمد ، حازم عبد العزيز. آفات الطماطة، الطبعة الأولى ، بغداد 1998 .

السعد ، مها رؤوف . 1990 . مبادئ فسلجة الاحياء المجهرية . دار الكتب للطباعة والنشر – جامعة الموصل .

السهيلي ، إبراهيم عزيز ، و قصير نجيب صالح وعبد اللطيف سالم. 1982. الفطريات. دار الكتب للطباعة والنشر.

المصلح ، رشيد محجوب . 1990 . الاحياء المجهرية في الاغذية ، الطبعة الثانية . مطابع التعليم العالي في الموصل . 554 صفحة .

جاسم ، ناجي سالم ، 1999 . المقاومة الحيوية والكيمياوية للفطر *Fusarium graminearum* Sch wab المسبب لمرض لفحة الفيوزاريوم في الحنطة . رسالة ماجستير . كلية الزراعة – جامعة البصرة .

دار الكتاب الحديث (1988). التداوي بالأعشاب وأسرار الطب العربي الحديث ص22-23.

داوود ، خلف صوفي ، اليس كريكود ، رشيد محجوب مصلح ، طالب كاظم المفرجي ، ضحى سعد صالح ، مها رؤوف السعد ، نظام كاظم الحيدري ، هدى صالح مهدي عماش ، 1991 . علم الاحياء المجهرية – وزارة التعليم العالي والبحث العلمي – دار الحكمة للطباعة والنشر . جامعة الموصل .

عبد الرزاق ، جنان خزعل . 1997 . دراسات في مرض تقرح ساق الطماطة المتسبب عن الفطر *Alternaria lycopersici* . (fr.) alternaria . رسالة ماجستير . كلية الزراعة – جامعة بغداد .

مطلوب ، عدنان ناصر، عز الدين سلطان وكريم صالح عبدول (1989). أنتاج الخضراوات-الجزء الأول، مطبعة التعليم العالي- جامعة الموصل،العراق .

Abbott,w.s.1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. J.Ent.18: 265-267.

Al-Rawi, A. and Chakaravarty, H.L.(1998). Medicinal plants of Iraq. 2nd Ministry Agric. Iraq, Baghdad., p26-27.

Anthony , H. R. 1976 . Chemical microbiology . An introduction to microbial physiology . 3rd . Ed. Butterorth and Co. (publishers) Ltd. , London .

Claus , E. P. and Henry Kimptom . 1956 . Wirth pharmacognosy . Pennsylvania , p.432 .

Collee.G. ; Fraser, A.G. ; Marm: on, B.P. and Simmons, A.1996. Practical medical Microbiology. Mackie and Macarthey, Pearson professional limited 14th ed.

Duman , A.D. ; Ozgen , M. ; Dayisoylu , K.S. ; Erbil , N. and Durgac , C. (2009) . Antimicrobial Activity of Six Pomegranate (*Punica granatum* L.); 14:1808-1817 .

Ellis, N.B. , 1971. Dematiaceous hyphomycetes. C.M.I.Kew, surrey, England, 465-466.

Guo , G. ; Wang , H. X. and Ng , T. B. (2009) . Pomegranin , An Antifungal Peptide from Pomegranate Peels . Protein and peptide letters , Vol. 16, No. 1 , p.(82-85) .

Hernandez , M. ; Lopez , P. ; Abonal , R.M. ; Darias , V. and Arias , A. (1994). Antimicrobia activity of *Visnea mocanera* leaf extracts . J.Ethnopharma Cology . 41:115-119 .

Inglis , G. D. ; Johnson , D. and Geottel , M. S. 1996 a . Effect of temperature and the more regulation on mycosis by *Beauveria bassiana* in grasshopper .. Academic press . Inc. 7:133-139 .

Inglis , G. D. ; Johnson , D. L. and Geottel , M. S. 1997 a . Field and laboratory evaluation of two conidial batches of *Beauveria bassiana* (Balsoma) Vuillemin against grasshopper . Environ . Entomol . p 305-316 .

Jersh, S., Scherer, C., Huth, G., and Schlosser, E. 1989. Proanthocyanidins as basis for quiescence of Botrytis ciberea in immature strawberry. Journal of Plant pathology 22, 67-70.

MacRae, W.D. and Towers, G.H.N. 1984. Biological activity of lignans. Phytochemistry 23, 1207-1220.

Mandava, B.N. 1985 . Handbook of natural pesticides : methods . 1:e .

Pitt, J.I. and Hocking, A.D. 1985 . Fungi and Food Spoilage . Sydney, N.S.W.: Academic Press . 413 pp .

Scalbert, A. 1991. Antimicrobial properties of tannins. Phytochemistry 30: 3875-3883.

Schwartz , H.F. and Gent , D.H. (2007) . Eggplant , Pepper ,and Tomato , Disease , Black Mold . High Plains IPM Guide , a cooperative effort of the University of Wyoming .

Sharma , R.C. and Vir , D. (1987) . Post harvest diseases of grapes and studies on their control with benzimidazole derives and other fungicides . Pesticides (Bombay) ; 20:14-15 .

Watt , J.M. and Breyer – Brandwijk , M.G . 1962 . The medicinal and poisons plants of southern and eastern Africa . E. and S. livingstoun Ltd . Edinburgh and London . pp. 875-876 .

The effect of some physical and chemical agents and both extracts of Colocynth fruits and Pomegranate peels on the growth of the fungus Alternaria alternata that isolated from Tomato in markets domestic in Alnajaf Alashref

Abstract

The study included test the effect of some physical and chemical agents as well as evaluating the efficiency of a number of plant extracts in the growth of fungus *Alternaria alternata* that causes black mold disease isolated from tomato fruits . The results of laboratory experiments showed that the optimal degree of temperature for growth of the fungus *A.alternata* was 25 and 30 c^{o} , where the range of colony diameter reached 7.1 and 7 cm respectively at 7days of incubation period , with significantly different from the other temperature . The results show that the best culture media for cultivation growth is Malt extract agar medium M.E.A and the range of fungal colony 7.5 cm . The results show that the sodium chloride different effects on the experimented fungus growth . The low concentrations are caused inhibition of the fungus where the rate of inhibition percentage reached 35.4% in concentration 0.1% , while high concentration had a positive effect to increase the growth of the experimental fungus On the other hand it showed that the general extract of Colocynth seeds and Pomegranate peels give efficiency inhibition to the growth of fungus *A.alternata* where the inhibition percentage reached 76.37% and

75.01% in the concentration for general extract of Colocynth seeds and Pomegranate peels respectively . While did not show significant differences in the sensitivity of the experiment fungus for the extract type .