جمهورية العراق

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة القادسية – كلية العلوم

قسم علوم الحياة

عزل وتشخيص فطر *Alternaria sp.* من الترب المزروعة بمحصول الخيار

بحث مقدم إلى مجلس قسم علوم الحياة / كلية العلوم

وهو من متطلبات نيل شهادة البكالوريوس / علوم الحياة

اعداد الطالبة

نور مهدي شنشول

بإشراف

م.م. كريم غافل مهجهج المطوكي

١٤٣٩ هـ

٢٠١٨ م

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَٰنِ الرَّحِيمِ

﴿يَرْفَعِ اللَّهُ الَّذِينَ آمَنُوا مِنكُمْ وَالَّذِينَ أُوتُوا الْعِلْمَ

دَرَجَاتٍ وَاللَّهُ بِمَا تَعْمَلُونَ خَبِيرٌ﴾

صدق الله العلي العظيم

سورة المجادلة الآية (١١)

"الإهـــــــــداء"

إلــى من أملي رضاه ... وغايتي حبهُ ... ورجائي غفرانه...

"" الله رب العالمين ""

إلــى ذو الخلق العظيم ... وآل بيته الطيبين الطاهرين...

"" محمد رسول الله (صلى الله عليه وآله) ""

إلــى من حصد الاشواك عن دربي ليمهد لي طريق العلم ... إلــى القلب الكبير ...

"" والـدي الـعزيــز ""

إلــى ملاكي في الحياة... إلى معنى الحب والحنان... إلــى بسمة الحياة وسر الوجود....

إلــى من كان دعاؤها سر نجاحي... وحنانها بلسم جراحي...

"" أمــي الحبيـبـة ""

إلـــى من ذكرهم قـلبي ولا يـذكــرهم قلمي ...

"" إخـوتـي وأصـدقـائــي""

" الشكر والتقدير "

بسم الله .. اسم ما بَعُدَ عن وجداني أبداً، الهج بذكره دوماً، آملاً راجياً فيه الوصال.

السلام على الحسين (عليه السلام) سيد الشهداء ، أسوة البشرية واسطورتها.

بعد رحلة بحث وجهد تكللت بإنجاز هذا البحث، نحمد الله عز وجل على نعمه التي منَ بها علينا فهو العلي القدير ، كما لا يسعنا إلا أن نخص بأسمى عبارات الشكر والتقدير المشرف " **الاستاذ كريم غافل** " لما قدمهُ لنا من جهد ومعرفة طيلة انجاز البحث.

كما اتقدم بالشكر الجزيل لكل من أسهم في تقديم يد العون لإنجاز هذا البحث وأخص بالذكر:

- **الدكتور علي عبد الهادي**
- **الست ولاء عباس**
- **الدكتورة سولاف**
- **طالب الدراسات الاستاذ غالب**

الخلاصة Abstract :

تضمنت الدراسة عزل وتشخيص فطر *Alternaria sp.* من تربة مزروعة بالخيار في محافظة القادسية على الوسط الغذائي PDA (Patatose Dextrose agar) باستخدام التخفيف 10^{-5} وقد اظهرت نتائج البحث وجود عدة انواع من الفطريات مثل , *Aspergillus sp.* , *Fusarium sp.* , *Candida sp.* *Cladosporium sp.* بالإضافة الى *Alternaria sp.* لان الفطر *Alternaria sp.* هو اكثر الفطريات بعدد المستعمرات والتي بلغت ١٠ مستعمرات تم عزله على الوسط PDA وبالاعتماد على المفاتيح التصنيفية والفحص المجهري تم تشخيص الفطر *Alternaria sp.*.

المـقـدمـــة Introduction:

- الفطر *Alternaria sp.*:

يعتبر فطر *Alternaria sp.* من الفطريات الناقصة واسعة الانتشار في العالم وتوجد في التربة على بقايا النباتات المصابة ويتكاثر هذا الفطر بتكوين الكونيدات.

الوضع التصنيفي للفطر *Alternaria* spp. :

Kingdom: Fungi

Phylum: Ascomycota

Class: Ascomycetes

Order: Pleosporales

Family: Pleosporaceae

Genus: Alternaria

حيث تتواجد انواع الالترناريا في مختلف البيئات وعندما تسنح الفرصة تتحول الى انواع ممرضة تسبب اضرار اقتصادية للمحاصيل الحقلية وتعتبر ابواغ هذه الفطريات من محسسات الجهاز المناعي للإنسان. كما ان بعض هذه الانواع قد تصيب الافراد خصوصاً المثبطين مناعياً، وبسبب قدرة هذا النوع من الفطريات على اصابة العديد من النباتات وقدرتها على انتاج العديد من السموم بحيث كل نوع له القدرة على اصابة مضيف نباتي معين.

وتعتبر هذه السموم الفطرية منتجات ايضية ثانوية (Secondary Metabolites)، ويعتبر فطر *Alternaria sp.* من الفطريات المرافقة للبذور بحيث يحافظ على حيويته وقابليته على الاصابة لمدة ١٥ شهر عند الخزن في ظروف المختبر. ويعد هذا الفطر من الملوثات الشائعة على البقايا المتحللة للفواكه والخضروات حيث ينتشر بصورة واسعة في التربة ومخازن الاغذية والنواتج المتحللة للمركبات العضوية ويتطفل هذا الفطر على النباتات ويسبب لها خسائر حسب شدة الاصابة حيث وصف لأول مرة مرض تبقع الاوراق الالترناري في استراليا عام (١٩٣٠م).

تختلف انواع الالترناريا من حيث طبيعة التطفل فبعضها غير متخصص تجاه مضيف نباتي واحد مثل *A. brassica*. الذي يصيب مختلف العوائل للنباتات الزهرية والزينة ونباتات منتجة للزيوت ويصيب ايضاً

مدى واسع من نباتات العائلة الصليبية والبعض الاخر يكون متخصص تجاه عائل نباتي واحد مثل *A.citri* وجد بأن العزلة التي تصيب الفاصوليا من *A. alternata.* غير قادرة على اصابة نباتات اخرى.

حيث يحدث هذا النوع من الالترناريا اصابة الاجزاء الخضرية لنبات الباقلاء حيث تنتشر الكونيدات هذا الفطر بواسطة الرياح. ويصيب فطر *Alternaria sp.* نباتات الطماطة حيث تحدث عمليات الاصابة من خلال تكوين الفطر انبوب انبات فوق سطح الورقة وينتهي بعضو الالتصاق ذو نهاية مدببة يستطيع بواسطتها ان يخترق الورقة عبر الكيوتكل والبشرة.

وجد بأن الفطر *A.alternata* ينتج ما يقارب الأربعين مركباً والاغلبية ذو تأثير سام للأحياء وتناول عدد من الباحثين القدرة المرضية لهذا الفطر (سرحان وجماعته، ١٩٩٥)، (ميخائيل وآخرون، ١٩٨٢).

ومن الأمراض التي يسببها فطر *Alternaria sp.* التعفن واللفحة والتبقع والتلوث وغيرها من الامراض، حيث يسبب هذا الفطر تلف لثمار القرعيات وضمنها الخيار حيث يسبب (تعفن الثمار) ويحدث غالباً بسبب سوء الخزن أو تعرض الثمار في الحقل بسعفة شمس أو ضرر البرد.

يظهر العفن على ثمار الكوسه والقرع والخيار حيث يتكون بقع دائرية الشكل بنية اللون ويسبب أيضاً لفحة الأوراق التي تصيب معظم عائلة القرعيات وبالتالي تعتبر المسببات المرضية عوامل مهمة ومؤثرة على النبات وتطوره حيث تؤثر على كمية ونوعية الانتاج ويتعرض لها النبات من مرحلة بذاره وحتى مرحلة انتاجه وتلعب الظروف البيئية دوراً مهماً في إحداث الاصابة بطرق شتى. ويعتبر الخيار من المحاصيل الزرعية التي اثبتت دراسات عديدة تأثره بالمسببات المرضية المختلفة.

والخيار **Cucumis sativus** هو نبته من النوع المتسلق تُزرع في البساتين والحقول لأنها من المنتجات الغذائية المهمة للإنسان وتكون من الفصيلة القرعية. يزرع الخيار في الأرض على عمق ١٢ – ١٨ملم يجب أن تكون المساحة التي يُزرع فيها الخيار معرضة للشمس بشكل كامل ، أما في المناطق التي يكون فيها الجو حار يزرع في مكان فيه ظل مثلاً إلى جانب جدار.

من الأمراض التي تصيب الخيار : البياض الزغبي Down Mildew، ويعد هذا المرض من الأمراض التي تصيب العائلة القثائية ومنها الخيار، ويعتبر هذا المرض وبائياً ويسبب خسائر اقتصادية عندما تتوفر الظروف البيئية المناسبة تنتج فطريات البياض الزغبي سبورات وتتميز الحوامل السبورية عن بعضها بطريقة تفرعها حيث تحمل السبورات على التفرعات ومن خلال هذه التفرعات يمكن معرفة اجناسها.

العفن الرمادي (Gray Mold) كذلك يعتبر أحد الامراض المهمة التي تصيب الخيار ويكون واسع الانتشار ويتوفر هذا المرض في الرطوبة العالية وتعد ثمار الخيار اكثر قابلية للأصابة حيث تصاب عن طريق الابواغ التي تحمل في الهواء والمسبب المرضي يعتبر متطفل ضعيف ويستطيع العيش بشكل رمي في التربة.

ومن الامراض التي تصيب الخيار هو العفن السكليروتيني وذبول الخيار وتبرقش الخيار وغيرها من الأمراض التي تسبب أضرار اقتصادية للمزارعين.

ولمكافحة الآفات التي تصيب الخيار على المزارع أن يقوم بتوفير ظروف بيئية غير مناسبة للآفة وذلك بالتخلص من عوائلها الغذائية أو بتوفير ظروف مناسبة لأعدائها الحيوية لكي يقضي عليها مثلاً حرث الارض وهي رطبة يساعد على تعريض (الجعال) لسطح التربة وإظهارها أمام اعدائها الحيوية. وإن طرق المكافحة هي الحرث ، التسميد ، المكافحة البايلوجية، التخلص من الحشائش وبقايا المحاصيل، والمكافحة الحيوية .

إن الخيار يحتوي كمية كبيرة من الماء في حين يحتوي على نسبة منخفضة من الدهون والسعرات الحرارية والصوديوم والكوليسترول.

يوجد الخيار بعدة احجام والوان ومنها اللون الاصفر والابيض والبرتقالي ويكون موسم الخيار من الشهر الخامس وحتى الشهر السابع كما يدخل الخيار في كثير من المنتجات التجميلية كما يحتوي الخيار فيتامين B1 (الثيامين) وفيتامين B2 (الرايبوفلافين) وفيتامين B3 (النياسين) بالإضافة الى فيتامين A . يحتوي الخيار على عدد من العناصر الغذائية والمركبات المهمة التي تكسبه عدد من الفوائد الصحية للإنسان ومن هذه الفوائد هو ترطيب الجسم لأنه يحتوي على نسبة عالية من الماء فيساعد على الوقاية من الجفاف خلال فصل الصيف والايام شديدة الحرورة حيث يساعد الجسم على الحصول على ما يحتاجه من السوائل لكي يحافظ على صحة الامعاء وتجنب تكوين حصى الكلى.

كما يساعد الخيار على فقدان الوزن لتناول كميات كبيرة منه تحتوي على سعرات حرارية منخفضة وكمية كبيرة من الماء يساعد فقدان الوزن وللخيار دور كبير في الوقاية من الامراض المزمنة لأنه يحتوي على مجموعة من مضادات الاكسدة بما في ذلك Tannin , Flavoniod ويحتوي ايضاً على المنغيز والموليبوديوم حيث لهذه المركبات دور في منع تراكم الجذور والتقليل من الاصابة بالأمراض المزمنة يعتبر الخيار مصدر جيد للألياف وبالتالي يساعد على منع تراكم الكوليسترول في الاوعية الدموية ويقلل من الاصابة يمرض تصلب الشرايين لذلك تشجع جمعية القلب الامريكية على تناول الالياف.

ويساعد الخيار على خفض مستوى السكر في الدم فهو يزود الجسم بالعناصر الغذائية دون أن يرتفع السكر في الدم كما أنه يحتوي على بعض المركبات النباتية التي تحفز افراز هرمون الانسولين ويمتلك الخيار خصائص مضادة للالتهاب ولأن الخيار يحتوي على مضادات الاكسدة ومركبات نباتية مثل (Lignuns, Cucurbitacin). فهو يساعد على الوقاية من السرطان.

عند عملية شراء الخيار يجب تجنب الخيار الحاوي على بقع طرية حيث يشير اللون الاخضر المائل الى الاصفرار بأن الخيار ليس طازجاً. ومثل ما للخيار فوائد كثيرة ومختلفة ايضاً اثبتت الدراسات بأن له اضرار

يجب الحذر منها حيث يؤدي الافراط في تناوله الى عسر الهضم وانتفاخ البطن نتيجة لتراكم الغازات وبالتالي اضطراب في عمليه الهضم.

ويسبب الخيار ايضاً ارتفاع ضغط الدم في حالة تناوله على شكل مخلل وايضاً ظهور طفح جلدي في حالة امتلاك الفرد حساسية اتجاه الخيار بالإضافة الى احمرار الجلد وحكه، وكذلك يسبب تورم الاطراف السفلية والعينين وغيرها من الاضرار ولكن رغم هذا فوائد الخيار اكثر بكثير من اضراره لأنه لا يسبب ضرر إلا في حالة تناوله بشكل مفرط .

لنبات الخيار فوائد صحية أخرى أهمها:

- يعتبر مدر جيد للبول لاحتوائه على نسبة عالية من الماء.
- ويكون غني بفيتامين C , A اللازمين لتقوية المناعة فهو يساهم في العلاج من التهابات البرد والرشح والانفلونزا.
- يحتوي الخيار على السيلكون والكبريت الذي يساعد على نمو وتقوية الشعر، كما يساعد في علاج الصداع وإزالة الشوائب من المثانة.
- يوجد في الخيار عنصر يعمل كعمل الانسولين.

الهدف من الدراسة:

هدفت الدراسة الحالية الى عزل وتشخيص فطر *Alternaria sp.* من الترب المزروعة بمحصول الخيار.

المواد وطرائق العمل:

١. المـــواد:

١. عينة تربة مزروع فيها محصول الخيار.

٢. اطباق بتري.

٣. وسط PDA

٤. أنابيب اختبار.

٥. ماء مقطر.

٦. ماصات معقمة بأحجام ٠,٥ مل و ١,٠ مل.

٧. بيكرات بحجم ٢٥٠ مل.

٢. طـرائـق العمـل:

أولاً : الطريقة المباشرة: **Direct Planting Method**

في هذه الطريقة نأخذ ذرات من التربة المراد عزل الفطريات منها بواسطة ملقط معقم وتوضع داخل أطباق معقمة وحاوية على الوسط الزرعي PDA ثم تحضن الأطباق عند درجة حرارة ٢٥ مْ ويتابع النمو الفطري الذي يحصل على الوسط بعد ٤٨ ساعة من الحضن.

ثانياً : طريقة التخفيف: **Dilution Method**

١. وزن ١٠ غم من عينة التربة وتوضع داخل بيكر زجاجي ٢٥٠ مل ويضاف إليها ٩٠مل ماء مقطر ويتم تحريكها لمدة ٥ – ١٠ دقائق ليتم مزج العينة جيداً.
٢. تعمل تخافيف عشرية من عينة التربة

.

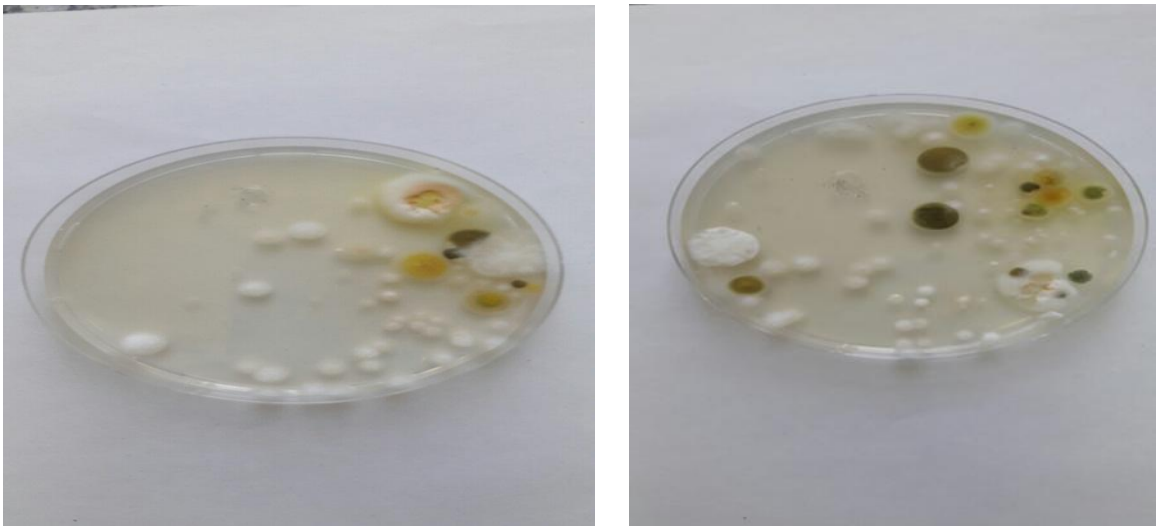
٣. تم أخذ التخفيف 10^{-5} وزرعه على طبق حاوي على وسط PDA بواقع ثلاث مكررات وتم نقل الأطباق إلى الحاضنة بدرجة حرارة ٢٥ مْ بعد فترة ٧ أيام تم ملاحظة النمو على الوسط وبعدها تم عزل الفطر المطلوب *Alternaria sp.* على الوسط PDA .

– بالاعتماد على المفاتيح التصنيفية والفحص المجهري تم تشخيص الفطر *Alternaria sp.* بالاعتماد على صفاته التي ذكرت في تلك المفاتيح (Barnett. Domsch. *et. al.*,1980).

النتائج والمناقشة:

أظهرت نتائج البحث بعد أن تم عزل فطر *Alternaria sp.* من الترب المزروعة بمحصول الخيار وجود عدة أنواع من الفطريات المرافقة للفطر المطلوب (الشكل رقم ١).

شكل رقم (١) يوضح مستعمرات لعدة أنواع من الفطريات بالطبق PDA



وتم أخذ عينة من مستعمرة فطر *Alternaria sp.* وزرعها في مزرعة نقية لمدة أسبوع بعدها ثم ملاحظة النمو الفطري وأخذ عينة من النمو الموجود و وضعها على شريحه زجاجية تحت المجهر لغرض التشخيص. حيث تم ملاحظة الفطر *A. alternata* والتي تكون كونيداته محمولة على حامل داكن وتكون بهيئة سلاسل وتتميز الكونيدات بكونها مقسمة بحواجز مستعرضة وطولية (الشكل رقم ٢)، (أبو هيلة، وآخرون ، ١٩٨٧م).

شكل رقم (٢) يوضح فطر *Alternaria alternata* تحت المجهر

جدول رقم (١) يوضح عدد المستعمرات الفطرية النامية على الوسط الزرعي

اسم الفطر	عدد المستعمرات
١. *Aspergillus sp.*	١٠ مستعمرة
٢. *Cladosporium sp.*	٨ مستعمرة
٣. *Fusarium sp.*	٢ مستعمرة
٤. *Candida sp.*	٩ مستعمرة
٥. *Penicillium sp.*	٢ مستعمرة
٦. *Alternaria sp.*	٤ مستعمرة

المصادر باللغة العربية:

١. جرجيس ، ميسر مجيد ورقيب عاكف العاني واياد عبد الواحد الهيتي (١٩٩٣). أمراض النباتات ، مطبعة دار الحكمة– بغداد ، ٥٦٩.

٢. مطلوب ، عدنان ناصر وعز الدين سلطان محمد وكريم صالح عبدول (١٩٨٩). انتاج الخضروات، ج٢. مديرية دار الكتب للطباعة والنشر. جامعة الموصل – العراق. ٣١٧.

٣. ميخائيل ، سمير حسني وعبد المجيد طرابية وعبد الجواد الزرري (١٩٨١). أمراض البساتين والخضر، مطبعة جامعة الموصل . العراق . ٢٨١.

٤. الزوبعي، اسماعيل احمد اسماعيل، ٢٠٠٠، تحديد مصادر العدوى الأولية وبعض الظروف المهيئة لإصابة البطاطا بأنواع من الجنس *Fusarium* ومقاومته أحيائيا ، رسالة ماجستير، كلية الزراعة، جامعة بغداد.

٥. سعيد، كامل كزاز (١٩٨٥)، وجود الافلاتوكسين والزيراليون في بعض الحبوب منتجاتها الغذائية في بعض المحافظات العراقية. المجلة العراقية للعلوم الزراعية، (زانكو) المجلد ٣ ، العدد٢: ١٦٥ – ١٧٧.

٦. عبود ، ميثاق ستار (٢٠٠٦). الفعالية السمية والانزيمية للفطريات والخمائر الانتهازية المعزولة في عينات سريرية من مستشفى الناصرية العام، رسالة ماجستير ، كلية العلوم ، جامعة ذي قار.

٧. ابراهيم ، اسماعيل خليل وآخرون، ١٩٩٨. السموم الفطرية أثارها ومخاطرها ، دار الكتب والوثائق ببغداد الطبعة الأولى.

٨. ابو هيلة ، عبد الله بن ناصر ، ١٩٨٧، اساسيات علم الفطريات ، كلية العلوم، جامعة سعود، المملكة العربية السعودية.

٩. الحوامدة، اشرف صابر، وآخرون، ٢٠٠٨، الخيار: المكافحة المتكاملة واهم الآفات الرئيسة، المملكة الاردنية الهاشمية، عمان، وزارة الزراعة.

١٠. اسماعيل، عبد اللطيف سالم، ١٩٨٨. أسس علم الامراض النباتية، جامعة البصرة، وزارة التعليم العالي والبحث العلمي، جمهورية العراق.

١١. الشكري، ١٩٩١. اساسيات الفطريات وامراضها النباتية ، مطابع دار الحكمة للطباعة والنشر ، جامعة بغداد وزارة التعليم العالي والبحث العلمي، جمهورية العراق.

١٢.الشيخلي، جودة سامي، ١٩٦٨. الميكروبيولوجي العام والتطبيقي، مطبعة المعارف ، بغداد، كلية الزراعة، جامعة بغداد.

المصادر باللغة الانكليزية:

1. Aderotimi Banso, 2009, Effect of exract of *Monodora myristica* and Zingiber officinale African jornal of Microbiology Research Vol. 3(g)pp. (487 – 490).

2. Banett, H. L. (1965). Illustrated genera of imperfect fungi , 2nd ed. Buiyess Publishing Co. U.S.A. 126 pp.

3. Domsch, K.H. Gams , W. and Anderson, T. H. (1980). Compendium of soil fungi (vol.I) Academic Press of Harcot Brace Javanovich, publishers, London.

4. Satio, M. and Machida, S. (1999). Arapid identification method for aflatoxin producing strains of *Aspergillus flavus* and *A. parasiticus* by ammonical vapor. Myco. Science, 40: 205 – 208.