



وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة القادسية

كلية التربية / قسم علوم الحياة

Studying the isolation and diagnosis of some fungus species of local vegetables and fruits

دراسة عزل وتشخيص بعض انواع الفطريات من الخضراوات والفواكه المحلية.

بحث مقدم الى رئاسة قسم علوم الحياة/ كلية التربية

كجزء من متطلبات نيل شهادة البكالوريوس

في علوم الحياة

من قبل

آمنة حسين رحمان عباس الغانمي

بإشراف

م.م عبير سامي كاظم العارضي

2019 م

1440 هـ

بِسْمِ اللّٰهِ الرَّحْمٰنِ الرَّحِیْمِ

(وَفَوْقَ كُلِّ ذِي عِلْمٍ عَالِمٌ)

صدق الله العلي العظيم

(سورة يوسف/جزء من الآية 76)

الاهداء

المزكك لله الله بالهبة والوقار....

المز علمني العطاء دور انتظار....

المز حمل اسمه بكل اقتدار....

(والدي العزيز)

الملاكي والحياة.....

المعنى الحب والحنان...

(امي الحبيبة)

المز ساعدتني في هذا البحث وكرست وقتها لي كي اقدم هذا البحث

استاذتي الفاضلة (عير سامي)

والاخوتي الغالية وصدقتي العزيزة

(هدى حسن)

الباحثة

اقرار المشرف

اشهد بأن مشروع البحث المعنون (دراسة عزل وتشخيص بعض انواع
الفطريات من الخضراوات والفواكه المحلية) و قد أجري البحث تحت
اشرافي في قسم علوم الحياة – كلية التربية – جامعة القادسية ، وهو
جزء من متطلبات نيل شهادة البكالوريوس في علوم الحياة .

التوقيع :

الاسم : عبير سامي كاظم

اللقب العلمي: مدرس مساعد

التاريخ :

Abstract : الخلاصة

تم اخذ البرتقال (*Citrus sinensis*) والخيار (*Cucumis sativus*) من ثلاثة أسواق مختارة في الديوانية ، تم جلب (البرتقال ، الخيار) إلى المختبر وسمحنا للفاكهة بأن تفسد في المختبر. تبين وجود علامات تلفية لوجود الفطر المسبب لأمراض التي تحفز التلف. تم عزل الفطريات من البرتقال على وسط دكستروز الباطا (Potato dextrose agar) (PDA) في حين أن من ثمار الخيار كان على أجار مستخلص الشعير (malt extract agar) (MEA). وكان ما مجموعه خمسة (5) عزلات من الفطريات تم الحصول عليها، من بين جميع العينات التي درست *Penicillium* ، *Fusarium solani* ، *A. niger* ، *Aspergillus flavus* ، *Rhizopus stolonifer* ، *digitatum* و *Candida tropicalis*. تم العثور على هذه الأنواع من الفطريات بدرجات متفاوتة ، الأنواع *Aspergillus niger* و *A. flavus* كان أعلى معدل حدوث بين الفطريات المعزولة (17,16) عزلة بنسبة اصابة (53.33%) (56.57%). تبع ذلك *Rhizopus stolonifer* و *Fusarium solani* (22) عزلة بنسبة اصابة (73.33%) بينما *Penicillium digitatum* (11) عزلة بنسبة اصابة (36.66%) و *Candida tropicalis* (12) عزلة بنسبة اصابة (40%). وأشارت النتائج بأن جميع الفطريات المعزولة كانت ممرضة للبرتقال.

من بين جميع الفطريات المعزولة ، كان *Aspergillus niger* شديد العدوى مما أدى إلى تعفن سريع البرتقال في 3-5 أيام في حين كان *R. stolonifer* و *Fusarium solani* ممرضين بنسبة متوسطة ، و *Candida tropicalis* ، *Penicillium digitatum* و *Aspergillus flavus* أقل مسببات الأمراض ، وتسببت في أقل كمية من العفن على البرتقال.

بينما كانت العزلة من ثمار الخيار المتعفنة هي الفطريات *A. wentii* و *A. ustus* ، بنسبة اصابة (15)(18) عزلة بنسبة اصابة (50%) (60%). هذه الدراسة كشفت عن انواع الفطريات التي تسبب المرض في البرتقال و الخيار في مدينة الديوانية ، واجري هذا البحث لوصف مسببات الأمراض المرتبطة بتعفن البرتقال و الخيار التي تم جمعها من ثلاثة اسواق في الديوانية.

المقدمة Introduction

البرتقال والخضروات مهمة جدا و لديها صفات غذائية عالية ، وان الاستهلاك من منتجات الفاكهة والخضروات ارتفع وبشكل كبير بأكثر من 30% خلال العقود القليلة الماضية (1). خلال الفترة 1970-2004 ، نصيب الفرد في الولايات المتحدة قد ازداد من استهلاكه للفواكه والخضروات بنسبة 19.9 % ، إلى 694.3 جنيهاً سنوياً للفرد (2). ويقدر أيضا أن حوالي 20 % من انتاج البرتقال والخضار المنتجة يتم فقدانها كل عام بسبب التلف (1 : 3) ، تلعب الفاكهة دوراً حيوياً في تغذية الإنسان من خلال توفير النمو اللازم عوامل مثل الفيتامينات والمعادن الأساسية في الإنسان النظام الغذائي اليومي والتي يمكن أن تساعد في الحفاظ على جيد وطبيعي الصحة (4). و يقدر أن حوالي 20-25% من الفاكهة المحصودة تفسد من قبل مسببات الأمراض خلال النقل ما بعد الحصاد حتى في الدول المتقدمة (5 ؛ 6). بصرف النظر عن كونها كغذاء أيضا لديها بعض الأهمية الطبية . يتكون جدار الخلية الأولى من الفاكهة ما يقرب من 10 % من البروتينات و 90 % من السكريات (7؛8؛9؛10) . في البلدان النامية تعتبر خسائر ما بعد الحصاد هي في كثير من الأحيان أكثر حدة بسبب عدم كفاءة التخزين و اليات النقل (11؛ 12؛ 13). العدوى الفطرية قد تحدث في البرتقال والخضار خلال موسم النمو وموسم الحصاد ، وكذلك النقل غير الجيد وسوء التخزين ما بعد الحصاد هي من العوامل المهمة لحدوث تلف البرتقال والخضار أو بعد الشراء من قبل مستهلك غير مهتم بالشروط الأساسية لحفظ البرتقال والخضار. البرتقال يحتوي على مستويات عالية من السكريات و وتعتبر منخفضة الرقم الهيدروجيني جعلها مرغوب فيه بشكل خاص للفطريات المتعفنة (14). وأشار (15) أن الفطريات يمكن أن تبقى أو تنمو على المنتجات الطازجة وكذلك يعتبر محتوى المواد الغذائية (الكربوهيدرات والبروتين والدهون) من المنتجات الطازجة عامل مهم من مسببات الأمراض. ومع ذلك يتأثر البرتقال من قبل مجموعة واسعة من الكائنات الدقيقة مما تسبب في تلف البرتقال والخضار . يشير التلف إلى أي تغيير في حالة الطعام الذي يصبح فيه الطعام غير مستساغ ، أو حتى سام ؛ هذه التغييرات قد تكون يرافقها تغيرات في الذوق والرائحة والطعم والمظهر الخارجي (16). تنتج الفطريات على وجه الخصوص كميات كبيرة من pectinase خارج الخلية و hemicellulases التي هي عوامل مهمة للتلف الفطري (17،18). بعض الاحياء المجهرية قادرة على خلق الآفات على الأنسجة النباتية غير التالفة (19).

ان حدوث الهجوم الميكروبي على هذه الفاكهة يتطلب الاهتمام بالأليات المهمة لتخزين ونقل البرتقال والخضار على مدار الموسم الانتاجي . كانت هناك زيادة في الحاجة إلى تحديد وعزل الفطريات المرتبطة بتلف البرتقال.

الهدف من هذه الدراسة :

هو عزل وتحديد الفطريات التي ترتبط مع تلف البرتقال والخيار ، وعادة ما تزرع على طول حدود المزرعة أو منتشرة على نطاق واسع داخل المحاصيل الرئيسية (الدخن ، الذرة ، اللوبيا) ان إنتاج الخيار يلاحظ على مدار السنة بواسطة أصحاب المزارع الصغيرة باستخدام الري ، يتم تقديمه و يؤكل في المنزل أو في المطاعم بسرعة خاصة المؤسسات الغذائية (20). ويزرع المحصول على نطاق واسع بسبب الأهمية الغذائية والطبية للفاكهة (21) ، والفاكهة هي مصدر حقيقي للفيتامينات مثل فيتامين A ، C ، K ، E ، من بين أمور أخرى ؛ المعادن مثل المغنيسيوم والبوتاسيوم والمنغنيز ، الفوسفور والكالسيوم والزنك .

المواد و طرق العمل Material and Methods

(البرتقال و الخيار) على حد سواء تم شراؤها من ثلاثة أسواق مختلفة تقع في الديوانية . أجريت هذه الدراسة في مدينة الديوانية ، تتميز المدينة بمستوى منخفض من بيئة الصرف الصحي وسوء المساكن وقلة المياه الصالحة للشرب و سوء إدارة النفايات وخاصة في المناطق الأساسية التي تتميز بكثافة سكان عالية و ذوي دخل مادي منخفض.

عزل الفطريات

تم اختيار ما مجموعه 30 عينة من كل من البرتقال والخيار عشوائيا ، صحية ونظيفة تم شراء الثمار (10 منها من كل سوق). تم تعقيم السطح بتعريضه في دقيقة واحدة 90% الكحول الإيثيلي ثم تشطف ثلاث مرات في الماء المقطر. تم قطع جزء من الثمار المتعفنة بمقدار (3 - 5 سم) من نهايات المناطق المتعفنة بواسطة مشرط معقم ووضعها في PDA و MEA في أطباق بتري وحضنت في $28 \pm 1^{\circ}C$ لمدة 5 أيام .

تحديد نوع الفطريات

تم التعرف على الفطريات المعزولة النقية باستخدام السمات المظهرية وفقا لمعظم مفاتيح موثقة في تحديد الفطرية.

النتائج Results

تم التعرف على الفطريات المرتبطة بالتلف في البرتقال والخيار. فالمستعمرات الفطرية في البرتقال والخيار ادت الى تدهور في الثمار. تم الحصول عليها عندما تم عزل الفطريات لأول مرة على البطاطا دكستروز و مستخلص الشعير أجار.

ومن خلال المراقبة للبرتقال المصاب لوحظت بقع بنية اللون على البرتقال . وفي حالة الخيار كانت البقع مائلة للبياض قليلا ثم تحولت تدريجيا الى سوداء في اليوم الثالث

تم الحصول على ما مجموعه 5 اجناس من الفطريات من البرتقال ، والتي تم تحديد جنسها وانواعها كالآتي: *Penicillium* ، *Fusarium solani* ، *A. niger*، *Aspergillus flavus* و *Rhizopus stolonifer*، *digitatum* و *Candida tropicalis* . منها وكانت أنواع *niger* ، *Aspergillus Flavus*، هي الفطريات الأكثر اصابة للبرتقال ، يليها *Rhizopus stolonifer* و *Fusarium solani* مع معدل الإصابة بينما *Pencillium digitatum* وكان *Candida tropicalis* هي الأقل اصابة كما هو مبين في الجدول 1. في حين بينت نتائج الفطريات التي اصابته الخيار تركزت في جنس الرشاشيات ونوعين وهي كالآتي : *Aspergillus Wentii* , *A. ustus* ولم نشخص اصابة بأجناس او انواع اخرى.

الجدول 1: (يبين حدوث الاصابة ونسبتها في ثمار كل من البرتقال والخيار)

الخيار (%)	عدد العزلات	البرتقال (%)	عدد العزلات	Isolates	ت
(0.0)	0	36.66	11	<i>Penicillium digitatum</i>	1
(00.0)	0	73.33	22	<i>Rhizopus stolonifera</i>	2
-	-	53.33	16	<i>Aspergillus flavus</i>	3
-	-	56.57	17	<i>Aspergillus. Niger</i>	4
50	15	-	-	<i>Aspergillus. ustus</i>	5
60	18	-	-	<i>Aspergillus. Wentii</i>	6
0	0	73.33	22	<i>Fusarium solani</i>	7
0	0	40	12	<i>Candida tropicalis</i>	8

المناقشة Discussion

أظهرت نتائج هذه الدراسة ان الفطريات التي تم العثور عليها في البرتقال الذي يباع في الأسواق الرئيسية في الديوانية هي *Fusarium* ، *A. niger* ، *Aspergillus flavus* ، كانت الفطريات الخمسة المعزولة من البرتقال هي التي ساهمت بتعفن البرتقال وبالتالي تم التأكيد على أنها المسبب لتلف فاكهة البرتقال (16). الأفلاتوكسين سموم فطرية مرتبطة بمرض سرطان الكبد (hepatoma) ، وأيضا مع التهاب الكبد الحاد في البشر ، وخاصة في دول العالم النامي (12،6). يمكن للفطريات الممرضة من ناحية أخرى ان تسبب الالتهابات أو الحساسية (11) (14) والفطريات المسماة بالرشاشيات يمكنهم إنتاج سموم *Ochratoxins* ، *mycotoxin* وهما من السموم الفطرية المهمة جدا في جميع أنحاء العالم بسبب الخطر الذي تشكله على الإنسان والحيوان (15) وبالتالي ينبغي اتخاذ مزيد من الحذر خلال التعامل من قبل الأفراد مع هذه الفاكهة ؛ مثل الحصاد والتنظيف والفرز والتعبئة والنقل والتخزين (6). *Aspergillus spp.* كانت منتشرة في كل من عينات (البرتقال والخيار) التالفة (17) والتفاح (20). وقد تسببت *A.niger* في تلف البرتقال ما بعد الحصاد. في دراسة قام بها (6) ، 83% من عينات الحمضيات أظهرت النمو للفطريات عند مستويات تتراوح بين 25 و 100% من الفواكه التي تم اختبارها و *Fusarium spp.* كانت الفطريات الأكثر شيوعاً في الحمضيات (19). وفي دراستنا تبين ان فطريات *Aspergillus niger* نمت بمعدل أسرع من الفطريات المتبقية والتي كانت واضحة في سبب تلفها للثمار بمعدل أسرع بالمقارنة مع الفطريات الأخرى . كما لوحظ ظهور *Aspergillus niger* أولاً على الثمار قبل الفطريات الأخرى.

اما بالنسبة لثمار الخيار فقد كانت نسبة الإصابة واضحة جدا ومميزة لأنواع الفطريات التي تم ذكرها في النتائج وهذا ما يتفق مع كل من العلماء (10,18). وقد بين العالم (5) في دراسة خاصة ان الخيار يتأثر جدا بالعوامل المحيطة به من بيئة وظروف جوية ودراجات الحرارة والرطوبة لما لها من تأثير على نمو المسببات المرضية ومن اهمها الفطريات.

تلوث الفاكهة والخضار يمكن أن تكون بسبب الفطريات أيضا نتيجة لسوء الممارسات في سلسلة إمدادات الغذاء ، ظروف التخزين ، التوزيع ، ممارسات التسويق والنقل (21:20). هذه التعفن الذي حدث بسبب الفطريات الممرضة تطلب تهيئة الظروف (الحالة الفسيولوجية للفاكهة ، وجود الجرح والإصابة ، وما إلى ذلك).

الاستنتاجات

هذه الدراسة أظهرت أن الفطريات كانت تشارك في تلف العديد من الثمار، وان الإصابات الميكانيكية مثل الكدمات أو الجروح التي تحدث أثناء الحصاد أو ما بعد الحصاد والتصنيف والتعبئة يمكن أن توفر مواقع الإصابة لمسببات الأمراض . ومع ذلك يمكن السيطرة على تلف الثمار من خلال القيام بالممارسات التالية :

غسل الثمار المحصودة بالمياه النظيفة أو النقية ؛ التنظيف السليم والصرف الصحي للمستودعات وتطهير العبوة والنقل الحاويات؛ التعامل السليم مع الفاكهة أثناء الحصاد لمنع الكدمات والندوب أو غيرها من الاصابات الميكانيكية. تثبيط نمو الفطريات عن طريق خفض درجات حرارة التخزين من خلال التخزين تحت التبريد واستخدام مبيدات الفطريات ، كذلك يجب على المزارعين الذين يحصدون الثمار في أكياس للنقل ، والمسوقين و المستهلكين اتخاذ الاحتياطات اللازمة في الوقاية التلوث والأكل من البرتقال الملوثة ، والحد من مخاطر الأفلاتوكسين والسموم الفطرية الأخرى الضارة بصحة الإنسان التي تنتجها هذه الفطريات .

References

1. Barth M, Hankinson TR, Zhuang H, Breidt F. Microbiological Spoilage of Fruits and Vegetables. W.H. Sperber, M.P. Doyle (eds.), Compendium of the Microbiological Spoilage of Foods and Beverages, Food Microbiology and Food Safety. C Springer Science+Business Media, LLC, 2009; pp135-183.
2. Chiejina, N.V. and Onaebi, C.N. 2013. In vitro fungicidal activity of two plant extracts against five phytopathogenic fungi of cucumber (*Cucumis sativus*L.) fruit. *Int. J. Appl. Natural Sci.*, 2(3): 61-68.
3. Al-Hindi RR, Al-Najada AR, Mohamed SA. Isolation and identification of some fruit spoilage fungi: Screening of plant cell wall degrading enzymes. *African Journal of Microbiology Research*, 2011; 5(4): 443-448.
4. Akinmusire OO. Fungal Species Associated with the Spoilage of Some Edible Fruits in Maiduguri Northern Eastern Nigeria. *Advances in Environmental Biology*, 2011; 5(1): 157-161.
5. Vimale, P., Ting, C.C., Salbiah, H., Ibrahim, B. and Ismail, L. 1999. Biomass production and nutrient yields of four green manures and their effects on the yield of cucumber. *J. Trop. Agri. Food Sci.*, 27: 47-55.
6. Chulze SN, Magnoli CE, Dalcerro AM. Occurrence of ochratoxin A in wine and ochratoxigenic mycoflora in grapes and dried vine fruits in South America. *Intl. J. Food Microbiol.*, 2006;111:S5-S9.
7. Li-Cohen, A. E. And Bruhn, C. M., (2002). Safety of Consumer Handling of Fresh Produce. *Journal of Food Production*, 65(8): 1287-1296.

8. Monso EM (2004). Occupational asthma in greenhouse workers, *Curr. Opin. Pulm. Med.*,10: 147-150.
9. Oduola T, Adeniyi FAA, Ogunyemi EO, Bello IS, Idowu TO, Subair HG. Toxicity studies on an unripe *Carica papaya* aqueous extract: biochemical and haematological effects in wistar albino rats. *Journal of Medicinal Plants Research*, 2007; 1(1): 14.
- 10.Oelofse D, Dubery IAM, Arendse S, Mm S, Gazendam I, Berger DK. Apple polygalacturonase inhibiting protein expressed in transgenic tobacco inhibits polygalacturonases from fungal pathogens of apple and the anthracnose pathogen of lupins, *Phytochemistry*, 2006; 67: 255-263.
- 11.Prasad T. Plant pathogenesis and diseasecontrol. *Plant Dis. J. of Japan Acado.*, 1992; 56:367.
- 12.Raven PH, Evert RF, Eichhorn SE. 14-Fungi. *Biology of Plants*. 7th edition. WH Freeman., 2005; pp 105, 186, 290.
- 13.Reiser MJ, Hui YH, Rupprecht JK, Kozlowski JF, Wood KV, McLaughlin JL, Hoye T, Hanson PR, Zhuang ZP. Determination of absolute configuration of stereogenic carbinol centres in annonaceous acetogenins by IH and 19F-NMR analysis of Mosherester derivatives”, 1992; 114:10203-10213.
- 14.Sage L, Krivobok S, Delbos E, Seigle-murandi F, Creppy EE. Fungal floral and Ochratoxin A production in grapes and musts from France. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 2002; 50:1306-1311
- 15.Samson RA, Varga J. *Aspergillus systematics in the genomic era*. CBS Fungal Biodiversity Centre, Utrecht, 2007; p. 206.
- 16.Singh D, Sharma RR. Postharvest diseases of fruit and vegetables and their management. In: Prasad, D. (Ed.), *Sustainable Pest Management*. Daya Publishing House, New Delhi, India,2007.

17. Sinha S. On decay of certain fruits in storage. *Proceedings: Plant Science*, 1946, 24: 198-205.
18. Tomassini A, Sella L, Raiola A, D'Ovidio R, Favaron F. Characterization and expression of *Fusarium graminearum* endopolygalacturonases in vitro and during wheat infection. *Plant Pathology*, 2009; 58: 556-564.
19. Tournas VH, Katsoudas E. Mould and yeast flora in fresh berries, grapes and citrus fruits. *International Journal of Food Microbiology*, 2005; 105: 11-17.
20. Tournas VH, Stack ME. Production of alternariol and alternariol methyl ether by *Alternaria alternata* grown on fruits at various temperatures. *J. Food Prot.*, 2001; 64: 528-532.
21. Zhu SJ. Non-chemical approaches to decay control in postharvest fruit. In: Noureddine B, Norio S. (Eds.), *Advances in Postharvest Technologies for Horticultural Crops*. Research Signpost, Trivandrum, India, 2006; pp. 297–313.