تأثير إحداث الجروح الميكانيكية لثمار التفاح مختبرياً على انتشار الفطريات المسببة للتعفن

أ.م.د. حسين النصراوي
هيئة التعليم التقني

م. ستار جبار فهد
هيئة التعليم التقني

فؤاد سكر
جامعة ميسان

الخلاصة: Summary

تم معاملة عينات من ثمار التفاح السليم في المختبر بأحداث ثقب في جدار الثمرة السليمة لتسهيل طريق دخول الفطريات إليها لتشخيص أنواع وأجناس الفطريات التي تهاجم أصناف التفاح. وتم في الدراسة الحالية عزل وتشخيص الفطريات المصاحبة لثلاثة أصناف من التفاح المستورد وهي صنف Golden Delicious الأصفر الذهبي وصنف Delicious الأحمر وصنف التفاح الأخضر، المعرضة للجروح في المختبر.

أظهرت الدراسة الحالية إن أعلى عدد من الفطريات كانت مرافقة لصنف التفاح الأصفر وبلغت 10 أنواع بينما ظهرت 5 انواع من الفطريات كانت مرافقة لصنف التفاح الاخضر، في حين عثر على 6 أنواع فطرية في صنف التفاح الأحمر.

وكان الفطر *Penicillium expansum* من أكثر الفطريات شيوعا في جميع العينات وفي الاصناف الثلاثة بنسبة اصابة بلغت 100%.

لقد أظهرت نتائج الدراسة ان معظم الأنواع الفطرية التي هاجمت التفاح من الصنف الأصفر تنتمي الى الاجناس *Penicillium* و *Aspergillus* و *Alternaria sp* و *Cladosporium* و *Monilinia sp* بينما تعود الفطريات التي هاجمت صنف التفاح الأحمر الى الاجناس *Penicillium* و *Aspergillus* و *Monilinia* و *Cladosporium* أما الانواع الفطرية المعزولة من صنف التفاح الأخضر فانها تعود الى الاجناس *Penicillium* و *Aspergillus sp* و *Fusarium*.

تم في الدراسة الحالية تسجيل جديد للفطر *Alternaria brassicicola* (Schw.) الذي عزل من عينات التفاح الصنف الأصفر وقد صور ووصف وحفظت مزرعة جافة في معشب الفطريات في معشب ميسان تحت الرقم MSAN 4001.

1- المقدمة Introduction

التفاح *Malus sylvestris* فاكهة تنتمي الى العائلة الوردية *Rosaceae* وتوجد له العديد من الأصناف في العالم، من اشهرها الصنفين الشائعين الاحمر Delicious والاصفر الذهبي Gold

Print to PDF without this message by purchasing novaPDF (http://www.novapdf.com/)

Delicious، بالإضافة للأصناف Wellspar، Very early stark، Red Malba، Shorlam، Golden pearmain، Jansthan ، Canadisca Reneta وأصناف أخرى كثيرة متعددة المناشئ.

تمتاز ثمرة التفاح بكونها غنية بالعناصر الغذائية والفيتامينات والاملاح حيث يحتوي التفاح على 0.44% بروتين و0.22 % دهون و1.33 % سللوز و11-6 % فركتوز وعلى 5-2 % كلوكوز و5.1 - 5.3 % سكروز وعلى 46-4 % فيتامينات من الأنواع A،B،E وحامض الفوليك (النعيمي، 1983).

ونظراً للقيمة الغذائية للتفاح فانة يعتبر وسطا طبيعيا مشجعا لنمو الاحياء المجهرية عليه وخاصة الفطريات حيث يتعرض التفاح خلال عملية الجني والنقل والخزن الى الخدوش مما يسهل دخول الفطريات داخل النسيج السليم للثمرة ومن ثم تعفنه واحداث خسائر اقتصادية كبيرة.

تعتبر فطريات الجنسين *Aspergillus* و *Penicillium* من أكثر الفطريات انتشاراً في الطبيعة ويسببان عفن الخضار والفواكه واللحوم وبعض أنواعه تنتج سموماً فطرية خطرة مثل الفطر *Aspergillus flavus* الذي ينتج السم الفطري الافلاتوكسين Aflatoxin (Jackson واخرون،2003; Westhhoff and Frazier ، 1978).

تتعرض ثمار التفاح أثناء الجني في الحقل الى الإصابة بالعديد من الفطريات وخاصة فطريات الجنس *Penicillium* والجنس *Asprgillus* كذلك تتعرض الثمار للإصابة بفطريات التعفن الأخرى أثناء نقلها من بلد المنشأ الى الدول المستوردة وخاصة عندما لا تتوفر الشروط الملائمة للنقل حيث تتعرض الثمار بفعل العوامل الفيزياوية والميكانيكية الى الجروح والخدوش مما يشجع العديد من الفطريات الى اختراق نسيج الثمرة عن طريق جرح الجدار مما يسهل مهاجمة الفطريات وإحداث للتعفن (ويبستر،1980).

تسبب الإصابات الفطرية التي تصيب التفاح خسائر اقتصادية كبيرة سنوياً، من جهة أخرى فان إحداث الفطريات للتعفن في الثمار وخاصة في ثمار التفاح يشجع بعض السلالات الفطرية الى إنتاج السموم الفطرية المسرطنة، ويعتبر السم الفطري الباتيولين من اخطر السموم الفطرية التي عثر عليها في عينات عديدة من ثمار التفاح المصابة بالتعفن علماً ان النوع الفطري *Penicillium expansum* والمسبب لتعفن التفاح هو من الفطريات الشائعة والغزيرة الإنتاج للسم في التفاح (Stern Dietz and 1999; Jakson وآخرون، 2003).

استهدفت هذه الدراسة عزل وتشخيص الفطريات التي تصيب ثلاثة أصناف من ثمار التفاح السليم والمعرضة الى الجروح في المختبر لغرض معرفة أصناف التفاح المستورد الأكثر مقاومة للإصابات الفطرية.

Print to PDF without this message by purchasing novaPDF (http://www.novapdf.com/)

2- المواد وطرائق العمل: Materials and methods

2-1 جمع العينات

تم جمع عينات ثلاثة اصناف من ثمار التفاح هي الاحمر والاصفر الذهبي والاخضر من الاسواق المحلية في محافظة ميسان بمعدل كيلو غرام لكل نوع وتم مراعات جمع العينات من التفاح السليم غير المعرض للخدوش او الجروح اثناء النقل، وجمعت العينات في شهر كانون الاول 2009.

2-2 معاملة الثمار في المختبر

باستعمال ثاقبة معدنية معقمة تم ثقب ثمار التفاح بعد غسلها جيداً بمحلول هايبوكلورات الصوديوم (0.8%) ثم تجفيفها جيدا، بعدها غرزالثاقب بعمق 0.5 سم في نسيج الثمرة لغرض افساح المجال للفطريات من مهاجمة الثمرة والتعرف على الانواع الفطرية المسببة للتعفن.

2-3 تحضير الوسط الزرعي للفطريات

تم تحضير وسط اكر دكستروز البطاطا Potato Dextrose Agar (PDA) وذلك بوزن 200 غم من البطاطا وتقطيعها الى قطع صغيرة ثم غليت وهرست في جفنة خزفية وثم ترشيحها واضيف اليها 16 غم من مادة سكر الدكستروز و20 غم من الاكار واكمل الحجم الى 1 لتر باضافة الماء المقطر وعقم المزيج في جهاز التعقيم (الموصدة) تحت درجة حرارة 121 م° وضغط 15 باوند / انج^{2} لمدة 15 دقيقة (اضيف 250 ملغم من المضاد الحياتي كلورامفينيكول لتثبيط النمو البكتيري).

2-4 طريقة عزل الفطريات من التفاح

تم اخذ 1 غرام من عينات نسيج التفاح المصاب بالتعفن والذي مر عليه شهر كامل من الإصابة بالفطريات ونثر على سطح الوسط الزرعي الصلب في طبق بتري ذي قطر 9 سم ثم حضنت الأطباق الحاوية على وسط PDA تحت درجة 25°C واستعمل في هذه الطريقة ثلاثة مكررات.

2-5 حضن العينات

تم حضن عينات اصناف التفاح الثلاثة المعرضة للثقب تحت درجة 25 درجة مئوية ولمدة 45 يوماً، مع مراقبة النموات الفطرية اعتباراً من اليوم الخامس للحضن بأخذ الخيوط الفطرية النامية وزرعها مرة أخرى في مزارع نقية مع استمرارية مراقبة ظهور نمو الفطريات وقد تم تأخير حضن العينات لمدة شهر ونصف لغرض فسح المجال امام الفطريات الكيسية بالظهور لكون هذه الفطريات تتميز بتأخر ظهور أجسامها الثمرية التي تحتاج الى فترة اكثر من شهر.

2-6 تصنيف الفطريات المعزولة

تم نقل اللقاح الفطري (Inoculum) من مستعمرات الفطريات من المزارع النقية على الشريحة الزجاجية وأضيف إليها صبغة اللاكتوفينول (إذابة 10 غرام من الفينول البلوري Crystalline phenol في 10 مل من كل من حامض اللاكتيك Lactic acid و كليسرول Glycerol والماء المقطر وتم ترشيح الخليط بورقة ترشيح في قمع زجاجي لمدة ساعة واحدة وجمع راشح الصبغة النقي وأضيف الى الصبغة المذكورة صبغة القطن الزرقاء Cotton blue لإظهار الفطريات ذات اللون

Print to PDF without this message by purchasing novaPDF (http://www.novapdf.com/)

الشفاف Hyaline)، بعدها تم تشخيص وتصنيف الفطريات تحت المجهر الكهربائي بالاعتماد على المفاتيح التصنيفية المعتمدة في المنشورات التالية:

Booth، 1965.،1979; Raper and Fennell،1971 ;Ellis1976; Pitt،1971; Ellis،

3- النتائج والمناقشة:

3-1 النتائج Results

يبين الجدول (1) أن مجموع الفطريات المعزولة من صنف التفاح الأصفر بلغ 10 أنواع وقد سجل الفطر *Penicillium expansum* اعلى نسبة ظهور بلغت 100% تلاه الفطر *Penicillium sp.* وسجل نسبة ظهور بلغت 50%، بينما سجلت الانواع المعزولة الاخرى وهي *Penicillium notatum* و *Aspergillus terreus* و *Aspergillus flavus* و *Aspergillus niger* و *Monilinia sp.* و *Alternaria alternata* و *Alternaria brassicicola* و *Cladosporium sp.* اقل نسبة ظهور بلغت 25%.

وبلغ مجموع الفطريات المعزولة من صنف التفاح الأحمر 6 أنواع وسجل الفطر *Penicillium expansum* اعلى نسبة ظهور بلغت 100%. بينما سجلت اقل نسبة ظهور بلغت 25% بواسطة الانواع *Penicillium sp.* و *Aspergillus terreus* و *Aspergillus sp.* و *Fusarium sp.* كما مبين في جدول 2، وكانت الانواع الفطرية المعزولة من صنف التفاح الأخضر تنتمي الى الأجناس *Penicillium* و*Aspergillus sp* و *Fusarium* كما مبين في جدول 3.

جدول 1: انواع الفطريات المعزولة من التفاح الاصفر

ت	الفطريات	النسبة المئوية للظهور
1	**Penicillium expansum*	% 100
2	*** P.notatum*	% 25
3	*Penicillium sp.*	% 50
4	*Aspergillus terreus*	% 25
5	*A.flavus*	% 25
6	*A.niger*	% 25
7	*Monilinia sp.*	% 25
8	*Alternaria alternata*	% 25
9	*Alternaria brassicicola*	% 25
10	*Cladosporium sp.*	% 25

*** ظهر في جميع العينات الاربعة ** ظهر في عينة واحدة فقط من مجموع اربع عينات**

Print to PDF without this message by purchasing novaPDF (http://www.novapdf.com/)

جدول 2: انواع الفطريات المعزولة من التفاح الاحمر

ت	نوع الفطر	النسبة المئوية للظهور
1	*Penicillium expansum*	% 100
2	*Penicillium sp.*	% 25
3	*Aspergillus terreus*	% 25
4	*Aspergillus sp.*	% 25
5	*Monilinia sp.*	% 25
6	*Cladosporium sp.*	% 25

جدول 3: انواع الفطريات المعزولة من التفاح الاخضر

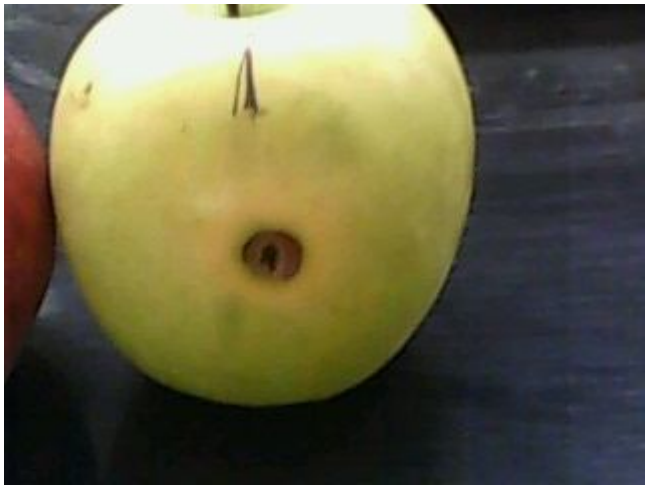
ت	نوع الفطر	النسبة المئوية للظهور
1	*Penicillium expansum*	% 100
2	*Penicillium sp.*	% 25
3	*Aspergillus terreus*	% 25
4	*Aspergillus sp.*	% 25
5	*Fusarium sp.*	% 25

صورة 1: عينات أصناف التفاح الثلاثة السليمة قبل الثقب المختبري

صورة 2: عينات أصناف التفاح الثلاثة بعد خمسة أيام من الثقب ألمختبري

Print to PDF without this message by purchasing novaPDF (http://www.novapdf.com/)

صورة 3: عينة تفاح صنف اصفر بعد شهر من الثقب ألمختبري



صورة 4: عينة تفاح صنف اخضر بعد شهر من الثقب ألمختبري

صورة 5: عينة تفاح صنف احمر بعد شهر من الثقب ألمختبري

Print to PDF without this message by purchasing novaPDF (http://www.novapdf.com/)

وصف الفطر *Alternaria brassicicola* (Schw.) Wiltshire **المسجل لأول مرة في العراق:**

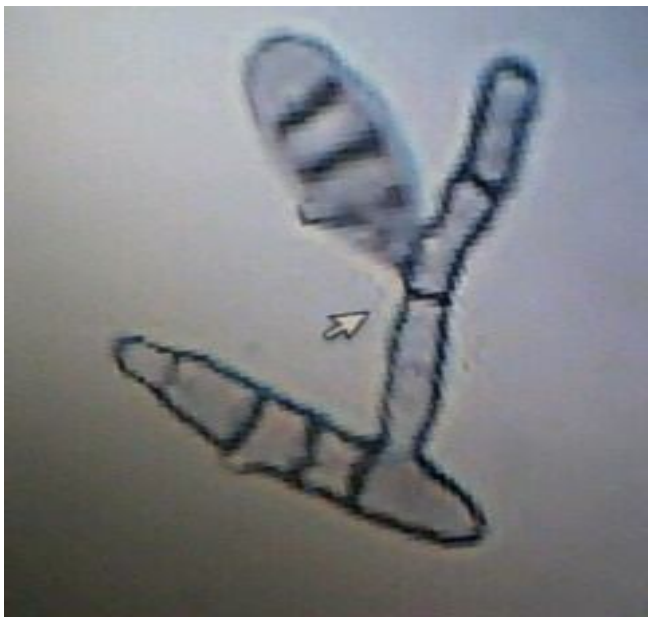
المستعمرة ذات لون بني الى اسود والغزل الفطري مغمور في الوسط.الخيوط الفطرية شفافة متفرعة ومقسمة بحواجز، سمك الخيط الفطري 2–8 µ.

الحامل الكونيدي منفرد أو على شكل حزمة حوامل كونيدية (2–12)، اسطوانية منتفخة من القاعدة، مستقيمة او منحنية قليلاً ذات لون زيتي الى بني. طول الحامل الكونيدي حوالي 70 مايكرون وسمك 5–8 مايكرون.

الكونيديا على شكل سلاسل وبعضها مفردة متفرعة أحياناً ترتبط الكونيديا بالحامل الكونيدي من خلال انتفاخ اسطواني وتكون الخلية القاعدية مستديرة، الكونيديا مقسمة ب 3– 5 حاجز مع وجود حواجز طولية في بعض الخلايا تمتد بشكل دقيق شفاف. طول الكونيديا 18 – 130 مايكرون وسمكها 8–20 مايكرون.

تتميز العزلة المحلية الموصوفة من قبلنا بوجود بروزات في منتصف الكونيديا مع وجود حاجز غير مستقيم (معقوف من الوسط) في منتصف الكونيديا بالإضافة الى ارتباط الكونيديا القاعدية بالحامل الكونيدي بواسطة خلية على شكل قدم تمتد بعكس اتجاه الكونيديا على شكل حرف L. علماً انه تم عزل النوع *Alternaria mali* Roberts في عام 1958 في الولايات المتحدة الأمريكية من ثمرة تفاح وهو قريب الصلة بالنوع المعزول من قبلنا وقد سبب تعفناً يشبه بقعة فلين سمي بالتعفن الفليني Cork rot.

تم عزل الفطر الموصوف من نسيج ثمرة تفاح من الصنف الأصفر الذهبي التي تم جمعها من الأسواق المحلية في محافظة ميسان في شهر كانون الأول عام 2009 وقد احتفظ بمزرعة جافة في معشب ميسان تحت الرقم MSAN 4001.



صورة 6 : الفطر *Alternaria brassicicola* (Schw.)

Print to PDF without this message by purchasing novaPDF (http://www.novapdf.com/)

Kingdom*: Fungi*
Phylum: *Ascomycota*
Class: *Ascomycetes*
Order*: Pleosporales*
Family: *Pleosporaceae*
Genus: *Alternaria*
Species: *Alternaria brassicicola* (Schwein.)

الاسماء المرادفة (synonyms.):

Alternaria circinans، Alternaria oleracea، Helminthosporium brassicae، Helminthosporium brassicicola، Macrosporium circinans، Sporidesmium septorioides، Sporidesmium exitiosum forma luxuriosum، Sporidesmium exitiosum forma alternarioides، Alternaria brassicae var. minor، Polydesmus exitiosus forma alternarioides، Polydesmus exitiosus forma luxuriosum، Macrosporium cheiranthi var. circinans، Macrosporium commune var. circinans، Alternaria brassicae forma microspora.

2-3 المناقشة Discussion

اظهرت نتائج الدراسة الحالية عزل عدد من الفطريات ومنها الفطر *Penicilium expansum* من اصناف التفاح الثلاثة حيث كان الفطر سائداً ومنافساً شديداً لبقية الانواع الفطرية التي عثر عليها مرافقة للعينات قيد الدراسة.

يعتبر الفطر *Penicilium expansum* من الفطريات الكيسية Ascomycota التي تمتاز بتنافسها الشديد مع الفطريات الاخرى، اما بقية الانواع الفطرية المعزولة في الدراسة الحالية فشملت انواع الاجناس *Aspregillus* و *Alternaria* و *Cladosporium* و *Monilinia* و *Fusarium* كما مبين في جدول 1 و 2 و 3.

تتميز الفطريات التي تهاجم التفاح وخصوصاً من الجنسين *Penicilium* و *Monilinia* بانهما يمتلكان معقداً انزيمياً مكوناً من الانزيمات المحللة للمركبات البكتيكية في جدران الثمرة pectic compounds وهي pectic enzymes وخصوصاً انزيمات التحلل من نوع polygalacturonase التي لها القدرة على كسرالاواصر البكتينية الطويلة الموجودة في جدار الثمرة وتحولها الى مركب حامضي هو galacturonic acid (Bilai.، 1963) بالاضافة الى ذلك فان هذه الانزيمات تعمل على اذابة المركبات شبه الجيلاتينية الموجودة في جدار الثمرة مما يجعلها على شكل عفن جيلاتيني متحلل والنسيج ينفصل بسهولة عن الثمرة وهذا ما لوحظ في التفاح المصاب بالتعفن المائي الذي عزل منه الفطر *Penicilium expansum* المسؤول عن هذا النوع من التعفن في حين عثر على الفطر *Monilinia sp.* في عينات التفاح المصابة بالتعفن الصلب الذي لا يصاحبه تمييع لنسيج الثمرة وبالتالي تكون منطقة التعفن غير مائية وتبقى ملتصقة مع نسيج الثمرة ولا تنفصل بسهولة.

Print to PDF without this message by purchasing novaPDF (http://www.novapdf.com/)

يتميز الفطران المذكوران بكونهما المسببان الرئيسيان للتعفن في التفاح، علماً ان هذين الفطرين يمكن ان يصيبا الصنف ذاته وكما هو ظاهر في جدول 1 و2.

ان من اهم مميزات الفطر *Penicilium expansum* انه يصنف من الفطريات التي تهاجم المحاصيل والفواكه بعد عملية الحصاد او الجني، لذلك فان وجوده مرافقاً للفواكه يكون بسبب تعرض الفواكه الى الجروح الميكانيكية وهذا ما حصل في الدراسة الحالية عندما تم تعريض الثمار السليمة الى الجروح في المختبر مما سهل دخول الفطر الى نسيج الثمرة.

لقد ظهر من نتائج الدراسة الحالية ان الفطريات المعزولة من ثمار التفاح الاصفر كانت اكبر عددا من الفطريات المعزولة من صنفي التفاح الاحمر والاخضر وربما يعود السبب في ذلك الى ان صنفي التفاح الاحمر والاخضر يتميزان بسمك جدار الثمرة وصعوبة تعرضها الى الخدوش مما يؤخر في ظهور التعفن بينما يتصف التفاح من الصنف الاصفر برقة جدار الثمرة الذي يكون عادة عرضة للاصابة بالتعفن عند اي شدة او خدش يحدث في الجدار بالإضافة الى ان نسيج الثمرة يكون رخواً وعصيرياً مما يسهل في سرعة انتشار وتوسع منطقة التعفن بعكس نسيج الثمرة في الصنفين الاخرين اللذان يتميزان بقوة تماسك نسيج الثمار وصلابته وهذه صفة مهمة تقاوم الإصابات الفطرية.

3-3 الاستنتاجات Conclusions

1. أظهرت الدراسة الحالية ان التفاح من الصنف الاصفر كان اكثر الاصناف تعرضاً للتعفن من بقية اصناف التفاح قيد الدراسة وانه كان عرضة للإصابة بالفطريات وبعدد اكبر من حيث الانواع الفطرية المسببة للعفن مقارنة بالاصناف الاخرى.
2. ان سرعة الاصابة بالتعفن ظهرت في ثمار صنف التفاح الاصفر بشكل ملحوظ مقارنة ببقية الاصناف كذلك كبر مساحة التعفن في ثمار صنف التفاح الاصفر كانت اكبر باضعاف من مساحة الاصابة في ثمار صنفي التفاح الاحمر والاخضر.

4-3 التوصيات Recommendations

1. ضرورة استيراد التفاح من الصنف الأحمر والأخضر لكون هذان الصنفان ذات مقاومة نسبية للاصابة بالفطريات والتعرض البطيء للتعفن بعكس الصنف الأصفر الذي أظهر سرعة في الإصابة التعرض للتعفن.
2. ضرورة حفظ ولف ثمار التفاح بواقيات من الورق الصحي المعامل بمضادات فطرية كالفينولات واحاطة الصناديق بواقيات تفادياً لحدوث الأضرار الميكانيكية أثناء النقل لمنع تعرض الثمار للجروح.
3. ضرورة استخدام أماكن خزن جيدة التهوية أثناء خزن التفاح وإتباع شروط الخزن القياسية في مخازن مبردة تمنع نمو الفطريات وإحداث التعفن.

Print to PDF without this message by purchasing novaPDF (http://www.novapdf.com/)

المصادر:

- النعيمي، جبار حسن (1983) الفاكهة. مطبعة جامعة البصرة – كلية الزراعة، 552 صفحة.
- ويبستر، جون (1980) مدخل الى الفطريات، ترجمة الدكتور ابراهيم عزيز خالد السهيلي، مطبعة جامعة بغداد 638 صفحة.
- **Bilai,V. I.** (1963).Antibiotic -producing microscope fungi. Elsevier,N. Y. 215 pp.
- **Booth, C**.(1971). The genus *Fusarium*. Commonwealth Mycological Institute. Kew, Surrey, England. pp445.
- **Dietz, W.H. and L. Stern** (1999) " Expanding your baby's diet. "American Academy of Pediatrics, Ch. 2, p 33. Villard Books.
- **Ellis, M.B.**(1971). Diatomaceous Hyphomycetes. Commonwealth Mycological Institute. Kew, Surrey,England.pp.608.
- **Ellis, M.B**.(1976). More diatomaceous Hyphomycetes. Commonwealth Mycological Institute.Kew, Surrey, England.pp.507.
- **Frazier, W. C. and D. C. Westhhoff**, (1978). Food microbiology. Third edition. New York.474 pp.
- **Jackson, L.S.T. Beacham -Bouden, SE. Keller, C.A dhikari, KT. Tylor, S.,J. Chartel, R.I. Merker** (2003).Apple quality, storage and washing treatment affects patulin levels in apple cider. Journal of Food protection 66:618-624.
- **Pitt, J.I.**(1979).The genus *penicillium* and its teleomorphic states. Academic press, London, New York, Toronto, Sydney, San Francisco.pp.634.
- **Raper,K and Fnnell,D**(1965).The genus *Aspergillus*.The Williams and Wilkins Company. 447 pp.

Impact of In vitro injury of apple fruits on distribution of rot fungi

Dr. Hussein Al-Nasrawi — **Foundation of Technical Education**
Sattar Fahad — **Foundation of Technical Education**
Fua`ad Siker — **Missan university**

Abstract

During the present study, three apple varieties were injured In vitro to facilitate a route for fungi to attack apple samples. The present study revealed that, most number of fungi was 10 species recorded by yellow apple variety, and the lowest was 5 fungal species isolated from red apple variety, whereas 6 fungal species recorded in green apple variety.

The most appearance percentage was 100% recorded by *Penicillium expansum* in all varieties, and the most abundant fungi genera associated with yellow apple are *Aspergillus, Penicillium, Alternaria*, *Monilinia* and *Cladosporium*.whereas the fungi genera which were isolated from red apple variety belong to *Aspergillus, Penicillium, Cladosporium and Monilinia.*

Three genera of fungi were isolated from Green apple variety which was *Aspergillus, Penicillium* and *Fusarium*.

Also in the present study the first record of fungus *Alternaria brassicicola* (Schw.) was isolated from yellow apple variety, was described and illustrated.

Print to PDF without this message by purchasing novaPDF (http://www.novapdf.com/)