

حساسية فطر التعفن الأخضر المعزول من الحمضيات تجاه بعض املاح البيكربونات

صبرية عبدعلي محمد

قسم علوم الحياة - كلية التربية - جامعة البصرة

المستخلص

اجريت الدراسة لمعرفة حساسية الفطر *Penicillium digitatum* تجاه بعض املاح البيكربونات وهي NaHCO_3 و KHCO_3 و NH_4HCO_3 بتركيزات مختلفة تراوحت بين (0.0 - 100) مليمول و اشارت نتائج الدراسة الى ان الأملاح الثلاثة اعطت تأثيرا واضحا في تثبيط نمو مستعمرات الفطر كما لوحظ ان هناك علاقة عكسية بين تراكيز الأملاح ومعدل قطر المستعمرة وكان التركيز الذي اعطى اقل تثبيط لنمو الفطر هو التركيز (10.0) mM في حين بلغ مقدار التركيز الذي اعطى اعلى تثبيط (50.0)mM ، اتضح كذلك وجود علاقة عكسية بين مستوى الدالة الحامضية pH ومعدل قطر المستعمرات حيث بلغت قيمة الدالة الحامضية التي اعطت اقل تثبيط لمعدل قطر المستعمرة (7.0) بينما بلغت قيمتها (10.0) والتي اعطت اعلى تثبيطا لمعدل قطر المستعمرة . وكان لتداخل الـ pH مع تراكيز الأملاح تأثيرا على معدل قطر المستعمرات فقد لوحظ انه عند التركيز (0.0)mM كان اقل معدل لقطر التثبيط عند pH = 6.0 و اعلاه عند pH = 8.5 للأملاح الثلاثة تقريبا. اما عند التركيز (5.0)mM فقد كان اقل معدل لقطر التثبيط عند pH = 4.0 و اعلاه عن pH = 8.5 . وعند التركيز (25) mM كان اقل معدل لقطر التثبيط عند pH = 4.5 و اعلاه عند pH = 8.5 . اما عند التركيز (50.0)mM فقد كان اقل معدل لقطر التثبيط عند pH = 4.5 و اعلاه عند pH = 8.5 .

Sensitivity of green mold fungus isolated from citrus toward some Bicarbonate salts

SABRIYA Abed-Ali Mohammad

Department of biology - Education college of pure science - Basrah University

Abstract

This study have been done to know the sensivity of the fungus *Penicillium digitatum* (Pers.:Fr) Sacc.toward some bicarbonat salts (NaHCO_3 , KHCO_3 and NH_4HCO_3) at various concentration ranged between(0.0 – 100.0)mM . The result indicates that the three salts give clear effect to inhibit fungal colonies growth. There were a reversiabl relationship between the salts (bicarbonate) concentration and the means of redial growth of colony. 10.0mM was gave the minimum growth inhibition while 50.0mM gave the maximum growth inhibition. There were a reversiabl relationship between pH and the mean of redial growth.The minimum growth inhibition was at pH = 7.0 while maximum growth inhibition was at pH =

10.0. There were a clear effect on colony diameter when there were an interaction occur between pH and salts concentration, at 0.0mM concentration, the minimum growth inhibition was at pH = 6.0 while maximum growth inhibition was at pH = 8.5, at 5.0mM concentration, the minimum growth inhibition was at pH = 4.5 while maximum growth inhibition was at pH = 8.5, at 25.0mM concentration, the minimum growth inhibition was at pH = 4.5 while maximum growth inhibition was at pH = 8.5, and at 50.0mM concentration, the minimum growth inhibition was at pH = 4.5 while maximum growth inhibition was at pH = 8.5.

١ - المقدمة

تعتبر أمراض التعفن الأخضر من بين أهم الأمراض التي تصيب الحمضيات إذ إن مرض التعفن الأخضر المتسبب عن الفطر *Penicillium digitatum* (Pers.:Fr) Sacc. من أكثر الأمراض شيوعاً. وخلال الفترة الماضية ولمدة طويلة استخدمت العديد من المبيدات الصناعية للقضاء عليه أو الحد من انتشاره ولكن تكرار استخدام هذه المبيدات أدى إلى ظهور عزلات مقاومة منه مما سبب مشاكل شائعة في الوقت الحاضر وتعتبر أملاح البيكاربونات من بين المواد المعروفة والتي تضاف إلى الأغذية لتنظيم مستوى الحمضية (pH) والطعم ولتحسين نوعية الغذاء كما أنها من المواد التي تساهم في السيطرة على مسببات أمراض تعفن الأطعمة [1].

و أشاروا [٢ و ٣ و ٤ و ٥ و ٦] إلى قابلية محاليل البيكاربونات في السيطرة على مسببات الأمراض النباتية. كما لوحظ أن لهذه الأملاح القابلية على الحد من انتشار مرض التعفن الأخضر على الحمضيات [٧ و ٨ و ٩ و ١٠]. كذلك أشار كل من [١١ و ١٢] إلى أن باستطاعة أملاح البيكاربونات تخفيض الإصابة بهذا النوع من الفطريات إضافة إلى انخفاض كلفتها وقلة خطورتها من الناحيتين الصحية والبيئية مقارنة بالمبيدات الفطرية الصناعية. وأشار [13] إلى أن استخدام أملاح البيكاربونات في السيطرة على مرض التعفن الأخضر في الحمضيات ساعد على حفظ هذه الفاكهة خلال فترات الخزن الطويلة وذكر أن استخدام هذه الأملاح أدى إلى تخفيض نسبة الإصابة بهذا المرض بنسبة (٩٩ %) . ولأخذ [14] الفعالية العالية لمحاليل البيكاربونات في السيطرة على الفطر *P. digitatum* كما أشار [15] إلى دور هذه الأملاح في السيطرة على عدد كبير من أمراض التعفن

الأخضر. كذلك أشار [16] إلى فعالية بيكاربونات الصوديوم في تثبيط نمو العفن الأخضر والحد من انتشاره على الحمضيات. كما أبدت هذه المواد مختبرياً فعالية ضد مايكروبية تجاه فطريات التعفن الأخضر [١٧ و ١٨]. وتستخدم أملاح الكاربونات والبيكاربونات بصورة واسعة في مجال التصنيع الغذائي في الدول الأوروبية وأمريكا الشمالية [١٩ و ٢٠]. وتنتشر فطريات التعفن الأخضر بصورة كبيرة في معظم المناطق المزروعة بالحمضيات في العالم [21] إن انتشار هذه الممرضات يتسبب في تلف الكثير منها وإن أي خدش فيها يسهل دخولها إليها وانتشار المرض بصورة أوسع.

ومن الطرق الروتينية أو المعتادة للحد من انتشار هذه الممرضات هي استخدام المبيدات الفطرية الصناعية ومنها الأميزاليل Imazalil [22] ولكن تكرار استخدام هذا المبيد أدى إلى ظهور عزلات مقاومة منها لذا توجب التوجه إلى إيجاد بدائل وقد أشار [٢٣ و ٢٤] إلى إمكانية استخدام السيطرة البايولوجية ضد هذا النوع من الممرضات. وأشار [25] إلى أن إصابة الحمضيات بهذه الفطريات تسبب خسائر فادحة. كما أشار [٢٦] إلى أن من أهم الفطريات الممرضة للحمضيات هو الفطر *P. digitatum*. وذكر [٢٧ و ٢٨] بأن تكرار استخدام المبيدات الفطرية الصناعية مثل Sodium ortho-phenate وكذلك Thioobendazole أدى إلى ظهور عزلات مقاومة من هذه الممرضات. وأشار [٢٩ و ٣٠] إلى أن استخدام مثل هذه المواد الكيميائية أدى إلى زيادة تركيزها في البيئة مما يهدد صحة الإنسان والأحياء الأخرى وإن استخدام السيطرة البايولوجية تقدم بدائل صحية أقل كلفة وتأثيراً على البيئة.

NaOH حضرت من هذه الأنواع الثلاثة من البيكاربونات التراكيز التالية: [0,10, 20,30, 40, 50, 0,70 80, 90, 100]mM

٢-٤- عزل الممرض :

تم عزل الممرض *Penicillium digitatum* بنقل كونيدياته بواسطة ابرة تشريح معقمة من عينات الثمار المصابة الى اطباق حاوية على الوسط الزرعي PDA المعقم المحضر آنفا وبواقع ثلاث مكررات ، احكم غلق الأطباق ووضعت في جهاز الحاضنة (Incubator) بدرجة حرارة الغرفة ٢٥° م ، فحصت بعد مرور ستة الى سبعة ايام ، بعد الحصول على الفطر تم تنقيته بنقل كونيدياته الى اطباق اخرى تحوى الوسط PDA معقمة وحضنها تحت نفس الظروف كررت العملية حتى تم الحصول على الفطر نقيا ، سجلت المواصفات لثلاث مكررات و شخص الفطر اعتمادا على المصدر [31] .

٢-٥- اختبار حساسية الفطر لتراكيز املاح البيكاربونات :

حضر من كل نوع من الأنواع الثلاثة من البيكاربونات التراكيز التالية:

[0,10, 20,30, 40, 50, 60,70, 80,100] mM

تم تدعيم الوسط PDA بهذه التراكيز وبواقع ثلاث مكررات لكل تركيز من تراكيز البيكاربونات المختلفة مع مراعاة وجود اطباق سيطرة (دون تدعيم) لغرض المقارنة ، لقحت الأطباق بالفطر النقي ثم حضنت بنفس الطريقة الواردة اعلاه ، فحصت الأطباق بعد مرور ستة أيام وسجلت أقطار المستعمرات عند كل تركيز لكل ملح من الأملاح ، جدول (1) .

٢-٦- اختبار تأثير قيمة الدالة الحامضية (pH) على نمو

مستعمرات الفطر :

لغرض معرفة تأثير الـ pH على نمو المستعمرات الفطرية فقد ضبطت لها القيم التالية :
(5.0 و 6.0 و 7.0 و 8.0 و 9.0 و 10.0) في الوسط PDA بواسطة HCl و NaOH ولقحت الأطباق بكونيدات

ونظرا لانتشار مرض التعفن الأخضر الذي يسببه الفطر P. digitatum بصورة واسعة على ثمار البرتقال المباع في الأسواق المحلية مما يؤدي الى تلف هذه الفاكهة فقد هدفت هذه الدراسة الى مايلي :- .

- ١- عزل وتشخيص الفطر المسبب للمرض من فاكهة البرتقال المباعة في الأسواق المحلية
- ٢- دراسة حساسية الفطر لتراكيز مختلفة من أملاح البيكاربونات
- ٣- دراسة تأثير قيمة الدالة الحامضية (pH) على نمو الفطر
- ٤- دراسة تأثير تداخل الدالة الحامضية (pH) مع تراكيز مختلفة من أملاح البيكاربونات على نمو الفطر

٢- المواد وطرائق العمل

٢-١- جمع العينات :

جمعت عينات ثمار البرتقال *Citrus sinensis* المصابة من السوق المحلية ووضعت في اكياس نايلون معقمة ومعلمة ثم احكم غلقها وعلمت ونقلت الى المختبر لأغراض الدراسة .

٢-٢- الأوساط الزرعية :

وسط اكر البطاطا : (PDA) Potato dextrose agar

حضر الوسط الزرعي (PDA) بأدابة 39 غم من طحين الوسط الزرعي في لتر من الماء المقطر في دورق زجاجي معقم ، رج الخليط جيدا ثم احكم اغلاقه وعقم داخل جهاز التعقيم (الموصدة) Autoclave بدرجة حرارة ١٢١° م وتحت ضغط ١٥ باوند/انج ٢ لمدة عشرون دقيقة بعدها برد الوسط قليلا ثم اضيف اليه ٢٥٠ غم من المضاد الحيوي كلورمفينيكول لمنع نمو البكتريا، رج الوسط ثم صب في اطباق بتري معقمة ذات قطر ٩ سم ، اغلقت الأطباق وحفظت في الثلاجة لحين الاستعمال .

٢-٣- المواد المستخدمة :

بيكاربونات الصوديوم ، البوتاسيوم ، الأمونيوم ، على التوالي NaHCO_3 و KHCO_3 و NH_4HCO_3 وكذلك HCl و

الأحصائي وجد ان قيمة معامل الارتباط -0.729 عند مستوى احتمال (0.05) .

جدول (1) تأثير تراكيز بيكاربونات الصوديوم NaHCO_3 على معدلات اقطار المستعمرات

NaHCO ₃					
اقطار المستعمرات (ملم)					التركيز (مليمول)
المعدل	المجموع	المكررات			
26.66	80	26	26	27	0.0
13.00	39	14	13	12	10.0
8.00	24	8	8	8	20.0
6.00	18	6	٦	6	30.0
5.00	15	4	5	6	40.0
3.00	9	3	٣	3	50.0
3.00	9	3	٣	3	60.0
3.00	9	٣	٣	3	80.0
3.00	9	٣	٣	3	100.0

٣-٢ - حساسية الفطر تجاه تراكيز من بيكاربونات البوتاسيوم

KHCO_3

لوحظ من خلال النتائج جدول (2) و شكل (1) وجود تحسس واضح لمستعمرات الفطر تجاه تراكيز بيكاربونات البوتاسيوم وتبين ان العلاقة عكسية بين التراكيز ومعدل قطر المستعمرات مقارنة بالسيطرة وكان اوطأ معدل لقطر التنشيط عند التركيز 10mM وهو (15.66)mm واعلى معدل لقطر التنشيط هو 5.0 mm عند التركيز 50mM. ومن خلال نتائج التحليل الأحصائي وجد ان قيمة معامل الارتباط -0.764 عند مستوى احتمال (0.05) .

الفطر ثم حضنت بنفس الطريقة السابقة، سجلت أقطار المستعمرات الفطرية عند كل قيمة من قيم ال pH، جدول (2) .

٢-٧ - اختبار تأثير تداخل قيمة الدالة الحامضية (pH) مع

تراكيز الأنواع الثلاثة من البيكاربونات على نمو مستعمرات الفطر

تم تدعيم الوسط PDA بالتراكيز التالية (0.0 , 5.0 , 25 , 50)mM من كل نوع من الانواع الثلاثة من البيكاربونات وضبطت قيم ال pH بين (4.5 و 5.0 و 5.5 و 6.0 و 6.5 و 7.0 و 7.5 و 8.0 و 8.5) وبواقع ثلاث مكررات لكل معاملة ، لقتح الأطباق الحاوية على الوسط المدعم بكونيدات الفطر بعد تضبيب قيم الدالة الحامضية ثم سجلت اقطار المستعمرات بعد مرور ستة أيام ، جدول (٣ و ٤ و ٥) .

حللت النتائج احصائيا باستخراج معامل الارتباط و باستخدام جدول تحليل التباين ANOVA .

٣ - النتائج

اشارت نتائج الدراسة الى ان لأملاح البيكاربونات تأثيرا واضحا على معدل قطر مستعمرات الفطر P. digitatum كما ان للدالة الحامضية pH دورا في نمو مستعمرات الفطر وتبين ان لتداخل الدالة الحامضية مع تراكيز املاح البيكاربونات تأثيرا على معدل قطر المستعمره وكما يأتي :

٣-١ - حساسية الفطر تجاه تراكيز من بيكاربونات الصوديوم

NaHCO_3

لوحظ من خلال النتائج جدول (1) وشكل (1) وجود تحسس واضح لمستعمرات الفطر تجاه تراكيز بيكاربونات الصوديوم وتبين ان العلاقة عكسية بين التراكيز ومعدل قطر المستعمرات مقارنة بالسيطرة وكان اوطأ معدل لقطر التنشيط عند التركيز 10mM وهو 13.0mm واعلى معدل لقطر التنشيط هو 2.66mm عند التركيز 50mM. ومن خلال نتائج التحليل

ان العلاقة عكسية بين التركيز ومعدل قطر المستعمرات مقارنة بالسيطرة وكان اوطأ معدل لقطر التنشيط عند التركيز 10mM وهو (12.66) ملم واعلى معدل لقطر التنشيط هو (3.0) ملم عند التركيز 50mM. ومن خلال نتائج التحليل الأحصائي وجد ان قيمة معامل الارتباط -0.728 عند مستوى احتمال (0.05) .

جدول (3) تأثير تراكيز بيكاربونات الأمونيوم NH_4HCO_3 على معدلات اقطار المستعمرات

NH_4HCO_3					
التركيز (مليمول)			اقطار المستعمرات (ملم)		
			المجموع	المعدل	المكررات
0.0	27	27	27	81	27.00
10.0	12	12	13	37	12.33
20.0	6	7	7	20	6.66
30.0	6	6	7	19	6.33
40.0	6	6	6	18	6.00
50.0	3	3	3	9	3.00
60.0	3	3	3	9	3.00
80.0	3	3	3	9	3.00
100.0	3	3	3	9	3.00

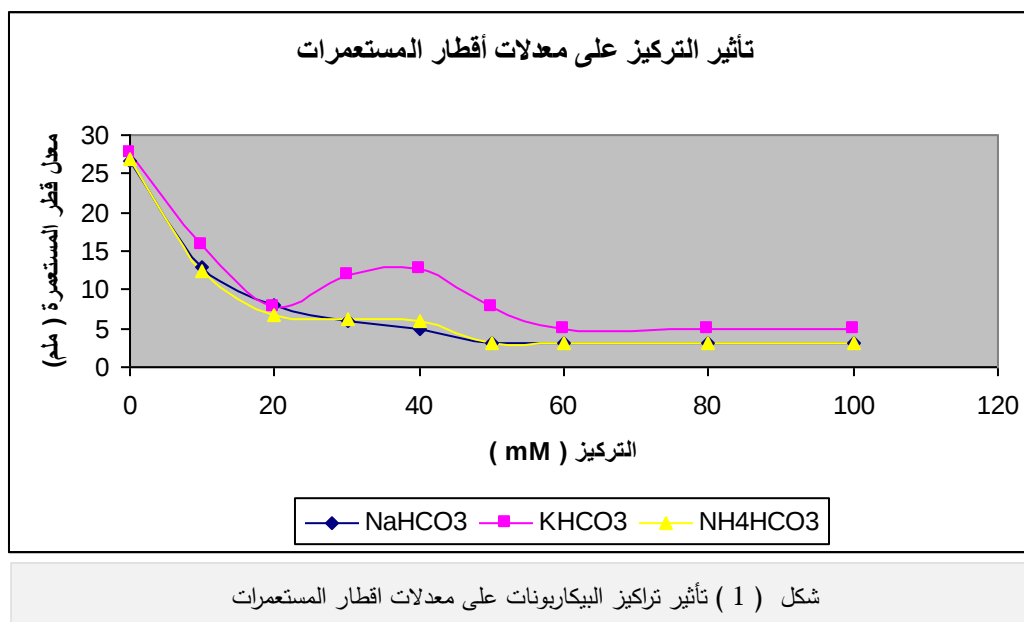
جدول (2) تأثير تراكيز بيكاربونات البوتاسيوم KHCO_3 على معدلات اقطار المستعمرات

KHCO_3					
التركيز (مليمول)			اقطار المستعمرات (ملم)		
			المجموع	المعدل	المكررات
0.0	27	28	28	83	27.66
10.0	16	16	15	47	15.66
20.0	9	7	7	23	7.66
30.0	12	12	12	36	12.00
40.0	12	12	12	38	12.66
50.0	7	7	7	23	7.66
60.0	5	5	5	15	5.00
80.0	5	5	5	15	5.00
100.0	5	5	5	15	5.00

٣-٣- حساسية الفطر تجاه تراكيز من بيكاربونات الأمونيوم

NH_4HCO_3

لوحظ من خلال النتائج جدول (3) وشكل (1) وجود تحسس واضح لمستعمرات الفطر تجاه تراكيز بيكاربونات الأمونيوم وتبين



شكل (2) حيث بلغت قيمة معامل الارتباط - 0.969 عند مستوى احتمال (0.01) .

جدول (4) تأثير قيم pH على معدلات اقطار المستعمرات

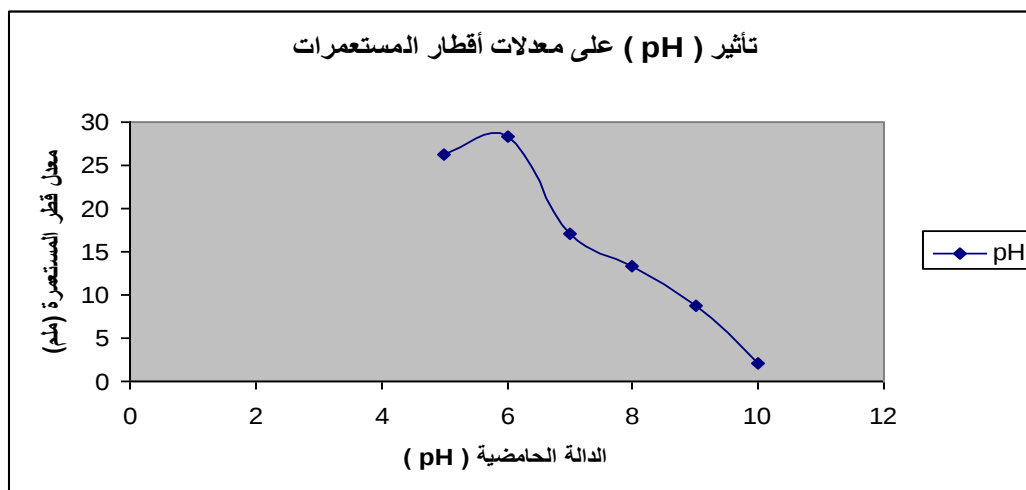
اقطار المستعمرات (ملم)					pH
المعدل	المجموع	المكررات			
26.33	79	26	26	27	5.0
28.33	85	28	29	28	6.0
17.00	51	14	18	19	7.0
13.33	40	13	١٢	15	8.0
8.66	26	8	٩	9	9.0
2.00	6	2	٢	2	10.0

ويتضح من خلال النتائج في جدول (١ و ٢ و ٣) و شكل (1) ان الأملاح الثلاثة كانت مؤثرة على نمو الفطر ومن خلال التحليل الأحصائي تبين انه لا توجد فروق معنوية بين الأملاح الثلاثة عند مستوى احتمال (0.05) .

٤ - تأثير الـ pH على معدل قطر المستعمرات

الفطرية :

تفاوتت تأثير قيم الـ pH فكلما زادت قيمتها انخفض معدل نمو المستعمرات الفطرية ولم تكن هناك فروق ملحوظة بين (pH 5.0- 7.0) ولكن بعدها بدا قطر المستعمرات بالتناقص حتى توقف النمو عند القيمة (10) pH وكما موضح في جدول (4) و



شكل (2) تأثير قيم الـ pH على معدلات أقطار المستعمرات

لقطر التنشيط 22 ملم عند pH=6.5 واعلاه كان ١١ ملم عند pH= 8.5 وكذلك الحال بالنسبة للتركيز 5mM فقد بلغ معدل قطر التنشيط 23 ملم عند pH=6.5 في حين كان معدل قطر التنشيط 5.33 ملم عند pH=8.5 .
اما عند التركيزين (25 و 50)mM فقد كان تأثير التداخل مع pH واضحا جدا وبلغ ادنى معدل لقطر التنشيط 19.66 ملم عند pH= 4.5 بالنسبة للتركيزين واعلاه 6.0 ملم للتركيز 25mM و 5.0 ملم للتركيز 5.0 عند pH=8.5 . وتبين من خلال النتائج ان اقل تركيز مؤثر عند تداخله مع pH هو التركيز 25mM وان

5- حساسية الفطر تجاه تداخل pH مع تراكيز من بيكاربونات الصوديوم

اشارت نتائج الدراسة جدول (5) و شكل (3) الى انه عند تداخل pH مع تراكيز من بيكاربونات الصوديوم يوجد تأثيرا واضحا على معدل قطر المستعمرات الفطرية وكما يلي:
عند ما قيمة pH= 6.0, 5.5, 5.0, 4.5 وعند التركيز 0mM لم يتأثر نمو المستعمرات الفطرية ولكن عند pH= 6.5 فما فوق بدا التأثير واضحا على معدل قطر المستعمرات حيث بلغ ادنى معدل

احتمال (0.05) واتضح انه لا يوجد فرق معنوي بين التركيزين (25 و 50)mM).

7- حساسية الفطر تجاه تداخل pH مع تراكيز من

بيكاربونات الامونيوم

اشارت نتائج الدراسة جدول (7) وشكل (5) الى انه عند تداخل pH مع تراكيز من بيكاربونات الامونيوم يوجد تأثيرا واضحا على معدل قطر المستعمرات الفطرية وكما يلي :

عند ما قيمة $pH = 6.0, 5.5, 5.0, 4.5$ وعند التركيز 0mM لم يتأثر نمو المستعمرات الفطرية ولكن عند $pH = 6.5$ فما فوق بدا التأثير واضحا على معدل قطر المستعمرات حيث بلغ ادنى معدل لقطر التنشيط 22 ملم عند $pH = 6.5$ واعلاه كان ١١ ملم عند $pH = 8.5$ وكذلك الحال بالنسبة للتركيز 5mM فقد بلغ معدل قطر التنشيط 23 ملم عند $pH = 6.5$ في حين كان معدل قطر التنشيط 5.33 ملم عند $pH = 8.5$.

اما عند التركيزين (25 و 50)mM فقد كان تأثير التداخل مع pH واضحا جدا وبلغ ادنى معدل لقطر التنشيط 19.66 ملم عند $pH = 4.5$ بالنسبة للتركيزين واعلاه 6.0 ملم للتركيز 25mM و 5.0 ملم للتركيز 5.0mM عند $pH = 8.5$. وتبين من خلال النتائج ان اقل تركيز مؤثر عند تداخله مع pH هو التركيز 25mM وان القيمة المؤثرة للدالة الحامضية هي $pH = 7.0$. ومن خلال نتائج التحليل الأحصائي (جدول تحليل التباين) تبين انه لا يوجد فرق معنوي بين التركيزين (0 و 5) ولكن هناك فرق معنوي بين التركيزين (0 و 25) وكذلك بين (0 و 50) عند مستوى احتمال (0.05) ويوجد فرق معنوي بين (5 و 25)mM وكذلك بين (5 و 50) عند مستوى احتمال (0.05) واتضح ان لا يوجد فرق معنوي بين التركيزين (25 و 50) .

القيمة المؤثرة للدالة الحامضية هي $pH = 7.0$. ومن خلال نتائج التحليل الأحصائي (جدول تحليل التباين) تبين انه لا يوجد فرق معنوي بين التركيزين (0 و 5) ولكن هناك فرق معنوي بين التركيزين (0 و 25) وكذلك بين (0 و 50) عند مستوى احتمال (0.05) و يوجد فرق معنوي بين (5 و 25) وكذلك بين (5 و 50) عند مستوى احتمال (0.05) واتضح انه لا يوجد فرق معنوي بين التركيزين (25 و 50) .

6- حساسية الفطر تجاه تداخل pH مع تراكيز من

بيكاربونات البوتاسيوم

اشارت نتائج الدراسة جدول (6) وشكل (4) الى انه عند تداخل pH مع تراكيز من بيكاربونات البوتاسيوم يوجد تأثيرا واضحا على معدل قطر المستعمرات الفطرية وكما يلي :

عند ما قيمة $pH = 6.0, 5.5, 5.0, 4.5$ وعند التركيز 0mM لم يتأثر نمو المستعمرات الفطرية ولكن عند $pH = 6.5$ فما فوق بدا التأثير واضحا على معدل قطر المستعمرات حيث بلغ ادنى معدل لقطر التنشيط 22 ملم عند $pH = 6.5$ واعلاه كان ١١ ملم عند $pH = 8.5$ وكذلك الحال بالنسبة للتركيز 5mM فقد بلغ معدل قطر التنشيط 23 ملم عند $pH = 6.5$ في حين كان معدل قطر التنشيط 5.33 ملم عند $pH = 8.5$.

اما عند التركيزين (25 و 50)mM فقد كان تأثير التداخل مع pH واضحا جدا وبلغ ادنى معدل لقطر التنشيط 19.66 ملم عند $pH = 4.5$ بالنسبة للتركيزين واعلاه 6.0 ملم للتركيز 25mM و 5.0 ملم للتركيز 5.0mM عند $pH = 8.5$. وتبين من خلال النتائج ان اقل تركيز مؤثر عند تداخله مع pH هو التركيز 25mM وان القيمة المؤثرة للدالة الحامضية هي $pH = 7.0$. ومن خلال نتائج التحليل الأحصائي (جدول تحليل التباين) تبين انه لا يوجد فرق معنوي بين التركيزين (0 و 5) ولكن هناك فرق معنوي بين التركيزين (0 و 25) وكذلك بين (0 و 50) عند مستوى احتمال (0.05) ويوجد فرق معنوي بين (5 و 25)mM وكذلك بين (5 و 50) عند مستوى

جدول (5) تأثير تداخل الـ pH مع تراكيز بيكربونات الصوديوم NaHCO_3 على معدلات أقطار المستعمرات

NaHCO ₃																															
التراكيز																					pH										

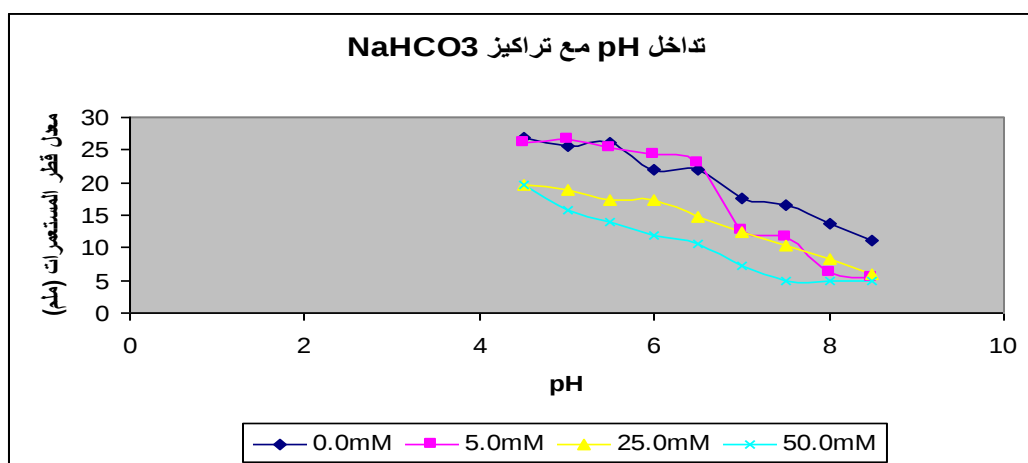
قطر المستعمرة																															
المعدل		المجموع			50.0mM			المعدل		المجموع			25.0mM			المعدل		المجموع				5.0mM			المعدل		المجموع			0.0mM	
					المكررات								المكررات								المكررات								المكررات		
19.66	59	18	21	20	19.66	59	19	20	20	26.00	78	26	25	27	27.00	81	27	26	28	4.5											
15.66	47	15	15	17	19.00	57	19	20	18	26.66	80	26	27	27	25.66	77	26	26	25	5.0											
14.00	42	14	14	14	17.33	52	18	18	16	25.33	76	27	24	25	26.00	78	26	26	26	5.5											
12.00	38	13	13	12	17.33	52	17	18	17	24.33	73	23	24	26	22.00	66	20	24	22	6.0											
10.66	32	11	11	10	14.66	44	15	15	14	23.00	69	21	24	24	22.00	66	23	22	21	6.5											
7.33	22	7	8	7	12.33	37	10	13	14	12.66	38	13	13	12	17.66	53	18	17	18	7.0											
5.00	15	5	5	5	10.33	31	10	19	12	11.66	35	10	13	12	16.66	50	17	17	16	7.5											
5.00	15	5	5	5	8.33	25	7	8	10	6.33	19	6	6	7	13.66	41	12	15	14	8.0											
5.00	15	5	5	5	6.00	18	7	9	5	5.33	16	6	5	5	11.00	33	12	11	10	8.5											

جدول (6) تأثير تداخل الـ pH مع تراكيز بيكربونات البوتاسيوم KHCO_3 على معدلات أقطار المستعمرات

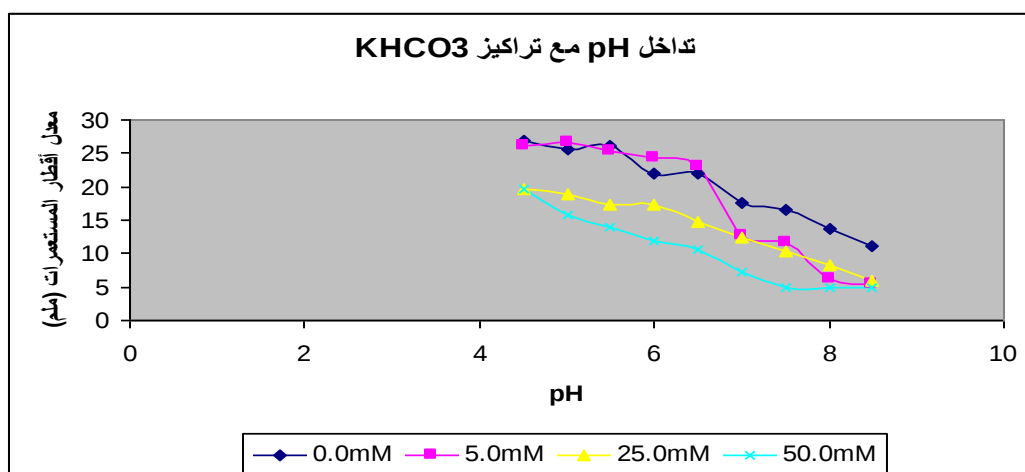
KHCO ₃																				
التراكيز																				pH
قطر المستعمرة																				
50.0mM					25.0mM					5.0mM					0.0mM					
المعدل	المجموع				المعدل	المجموع				المعدل	المجموع				المعدل	المجموع				
	المكررات					المكررات					المكررات					المكررات				
19.66	59	18	21	20	19.66	59	19	20	20	26.00	78	26	25	27	27.00	81	27	26	28	4.5
15.66	47	15	15	17	19.00	57	19	20	18	26.66	80	26	27	27	25.66	77	26	26	25	5.0
14.00	42	14	14	14	17.33	52	18	18	16	25.33	76	27	24	25	26.00	78	26	26	26	5.5
12.00	38	13	13	12	17.33	52	17	18	17	24.33	73	23	24	26	22.00	66	20	24	22	6.0
10.66	32	11	11	10	14.66	44	15	15	14	23.00	69	21	24	24	22.00	66	23	22	21	6.5
7.33	22	7	8	7	12.33	37	10	13	14	12.66	38	13	13	12	17.66	53	18	17	18	7.0
5.00	15	5	5	5	10.33	31	10	19	12	11.66	35	10	13	12	16.66	50	17	17	16	7.5
5.00	15	5	5	5	8.33	25	7	8	10	6.33	19	6	6	7	13.66	41	12	15	14	8.0
5.00	15	5	5	5	6.00	18	7	6	5	5.33	16	6	5	5	11.00	33	12	11	10	8.5

جدول (7) تأثير تداخل الـ pH مع تراكيز بيكربونات الأمونيوم NH_4HCO_3 على معدلات أقطار المستعمرات

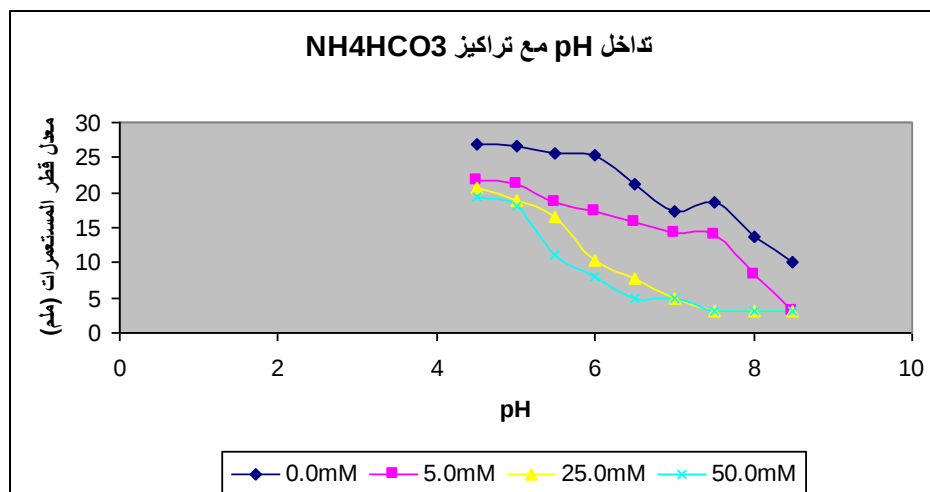
NH ₄ HCO ₃																																
التراكيز																					pH											
قطر المستعمرة																																
المعدل		المجموع			50.0mM			المعدل		المجموع			25.0mM			المعدل		المجموع				5.0mM			المعدل		المجموع			0.0mM		
					المكررات								المكررات									المكررات								المكررات		
19.33	58	19	19	20	20.66	62	21	21	20	21.66	65	22	22	22	27.00	81	27	27	27	27	4.5											
18.00	54	19	17	18	19.00	57	19	18	20	21.33	64	21	21	22	26.66	70	27	26	27	27	5.0											
11.00	33	10	11	12	16.66	50	17	17	16	18.66	56	17	19	20	25.66	78	26	25	26	26	5.5											
8.00	25	7	9	9	10.33	31	10	10	11	17.33	52	15	18	19	25.33	76	24	26	26	26	6.0											
5.00	15	5	5	5	7.66	23	8	7	8	15.66	47	15	15	17	21.33	64	21	20	23	23	6.5											
5.00	15	5	5	5	5.00	15	5	5	5	14.33	43	13	16	14	17.33	52	15	19	18	18	7.0											
3.00	9	3	3	3	3.00	9	3	3	3	14.00	42	13	13	16	18.66	54	16	19	19	19	7.5											
3.00	9	3	3	3	3.00	9	3	3	3	8.33	25	8	8	9	13.66	41	14	13	14	14	8.0											
3.00	9	3	3	3	3.00	9	3	3	3	3.00	9	3	3	3	10.00	30	8	10	12	12	8.5											



شكل (3) تأثير تداخل pH مع تراكيز بيكربونات الصوديوم على معدلات أقطار المستعمرات



شكل (4) تأثير تداخل pH مع تراكيز بيكربونات البوتاسيوم على معدلات أقطار المستعمرات



شكل (5) تأثير تداخل pH مع تراكيز بيكاربونات الأمونيوم على معدل قطر المستعمرات

٤ - المناقشة

تبين من خلال النتائج أن املاح البيكاربونات تثبط نمو مستعمرات فطر التعفن الأخضر *P. digitatum* وأتضح أن للفطر حساسية مختلفة تجاه البيكاربونات من خلال تفاوت معدلات التثبيط وكذلك تجاه التراكيز المختلفة منها ولوحظ أن لبيكاربونات الصوديوم والبوتاسيوم نفس التأثير من حيث تثبيط نمو الفطر ولكن لوحظ نمو غير طبيعي عند التراكيز العالية إلى KHCO_3 ولربما بسبب أن كاتيون البوتاسيوم مركب حساس بالنسبة لجدار الخلية ولكن الصوديوم لا يستعمل من قبل الخلية كما هو الحال بالنسبة للبوتاسيوم ان هذا التفاوت في العمليات الأيضية يفسر ارتفاع نسبة نمو الفطر في بعض التراكيز العالية للبوتاسيوم .اما بالنسبة إلى كاتايونات الأمونيوم فانها تكتسب الكثر لتتحول إلى غاز الأمونيا وهو كفيل بمنع نمو مستعمرات الفطر. وقد أشار [32] إلى قابلية NH_4HCO_3 لمنع سكلروشيا الفطر *Sclerotium rolfsii* من الأنبات عند التركيز 50mM. كما أشار [33] إلى قابليته للسيطرة على مرض تعفن جذور الجزر. وأشار [34] إلى قابلية NaHCO_3 لتثبيط نمو الفطر *Rhizoctonia carotae* كلياً عند تركيز 100mM. وقد استطاعت بيكاربونات الصوديوم والبوتاسيوم والأمونيوم اختزال نمو مستعمرات الفطر *Alternaria cucumerina* [35].

كما اشار [36] إلى فعالية البيكاربونات تجاه بعض الفطريات و اشار ايضا إلى قابلية البيكاربونات على تثبيط نمو وانبات سكلروشيا بعض الفطريات كلياً عند التركيز 50mM. وذكر ان معظم الفطريات تنمو في الظروف الحامضية إلى متعادلة اكثر مما هي في الظروف القاعدية فمثلاً يثبط انبات سكلروشيا الفطر *S. rolsfii* عند الـ pH (7.0). ولاحظ [37] ان عدد من الفطريات تثبت في الظروف الحامضية. كما اشار [38] إلى نفس الملاحظة بالنسبة للفطر *Penicillium citri*. ان تركيز البيكاربونات له تأثيراً مباشراً على الـ pH ولكنها غير مؤثرة في الظروف الحامضية عند (4.5) pH بسبب سيادة حامض الكربونيك في المحلول والذي يكون غير مستقر ويتفكك إلى الماء و ثاني أكسيد الكربون ، وكلما ارتفعت قيمة الـ pH كلما ازداد تركيز البيكاربونات حتى يصل مستواها (8.5) pH عندها يبدأ مستواها بالانخفاض ويزداد تركيز الكربونات . ان بيكاربونات الأمونيوم تمتلك جزئين فعالين وهما كاتايون الأمونيوم الذي يتحول إلى غاز الأمونيا و أنايون البيكاربونات . وعند الـ pH الواصله تتحول بيكاربونات الأمونيوم إلى أمونيا و ماء و ثاني أكسيد الكربون وبما أنه لا يحدث تثبيط عند الـ pH المنخفضة فانه من غير المتوقع مشاركة أيون الأمونيوم في تثبيط نمو الفطر. وعند (7.0) pH تتحلل بيكاربونات الأمونيا إلى غاز الأمونيا و الماء والكربونات وعندها فأن تحرر غاز الأمونيا يضيف مكوناً آخر

- 2- Fallik,E.;Grinberg,S. and Ziv, O.(1997).Potassium bicarbonate reduce postharvest decay development on bell pepper fruits. J. Horti Sci.,72: 35-41.
- 3- Horst,R.K.;Kawamoto,S.O. and Porter, L.L.(1992). Effect of sodium bicarbonate and oils on the control of powdery mildew and blak spot of roses.Plant Dis.,76:247-251
- 4- Oliver,C.; Halseth,D.E.; Mizubuti,E.S.G. and Loria, R.(1998) . Postharvest application of organic salts for suppression of silver scurf on potatotubers. Plant Dis., 82:213-217.
- 5- Punja, Z.K. and Grogan, R.G.(1982). Effect of inorganic salts, carbonate-bicarbonate anions, ammonia, and the modifying influence of pH on sclerotial germination of *Sclerotium rolfsii*. Phytopathology., 72:635-639.
- 6- Ziv,O. and Zitter,T.A.(1992).Effects of bicarbonate and film-forming polymers on cucurbit foliar diseases. Plant Dis.,76:513-517.
- 7- Houck, L.G. (1965). *Penicillium* development in lemons treated with 2,6-dichloro-4-nitroaniline.Plant Dis. Rep., 49:715-719.
- 8- Klotz, L.J.(1973).Color Handbook of Citrus Diseases.University of California, Berkeley.
- 9- Pelser, P. du T.(1974) . Recommendations for the Control of Post- harvest Decay of Citrus Fruits. South African Co-operative Citrus Exchange Ltd.
- 10- Smilanick, J.L.; Mackey, B.E.; Reese,R.,Usall, J. and Margosan, D. A.(1997). Influence of the concentration of soda ash, temperature, and immersion

من المكونات الفعالة . وذكر [39] بان انتشار بكتاريونات الأمونيوم الى داخل الخلية الفطرية يكون سلبيا . ان الفطر يفرز حامضا لمعادلة الحامضية في محيطه وهنا يكون دور البكتاريونات في تنظيم الحامضية مؤثرا مما يؤدي الى تثبيط أفرزالفطر للحامض وينتج عن هذا تثبيط لنمو الفطر نفسه لأن الفطر أستخدم مخزونه من الطاقة لمعادلة الظروف الحامضية بدلا من استخدامها في بناء الخيوط الفطرية (الهايفات) . وأشار [40] الى أن البكتاريونات ترفع من مستوى الحامضية داخل كونيديات الفطر *Sphaerothca pannosa f.sp. roseae* والفطر *A. brassicae* . كما لاحظ [41] ارتفاع مستوى الحامضية في داخل خلايا الفطر *P. grieofulvum* و الفطر *Fusarium graminearum* بعد معاملتها بالبكتاريونات. وأشار [42] الى أن الكاريونات في بادئ الأمر تتسبب بانتفاخ سبورات الفطر *Penicillium . Italicum* ولكنها فيما بعد تثبط ظهوراتكوين انبوبة الأنبات. ان ارتفاع مستوى الحامضية قد يسمح بانتفاخ السبورات ولكنه يتداخل مع الأنزيمات الخارجية والضرورية لأذابة وتمدد الجداروالغشاء الخلوي . وذكر [43] في دراسة له لبعض أنواع *Penicillium* بان بكتاريونات الصوديوم تثبط نشاط الأنزيمات الخارجية اضافة الى انها قد تتداخل مباشرة مع الأغشية فتغير طبيعتها ولربما تؤدي الى تلف الخلية عند التراكيز المشبعة. ويبدو عند مقارنة نتائج الدراسة الحالية أنها تتفق مع مذكرته الدراسات الوارده أعلاه والتي تناولت أملاح البكتاريونات كعامل سيطرة لبعض أنواع الفطريات كما انه يمكن استخدام بكتاريونات الصوديوم للحد من الأصابات بهذا المرض او القضاء عليه حيث ان تأثير الأنواع الثلاثة من الأملاح متقارب في التأثير في نمو الفطر وان بكتاريونات الصوديوم اقل كلفة ويسهل الحصول عليها .

٥- المصادر

- 1- Corral,L.G ; Post,L.S. and Montville,T.J. (1988). Antimicrobial activity of sodium bicarbonate. J.Food Sci.,53:981-982 .

- 19- Lindsay RC.(1985). Food additives, in Food chemistry, ed by Fennema OR, Chapter 10, Marcel Decker, New York .
- 20- Multon JL.(1988). Aditivos y auxiliaries de fabricaci' on en las industrias agroalimentarias, Editorial Acribia, Zaragoza, Spain .
- 21- Palou L.; Smilanick J.L.; Usall J.and Viñas I.(2001).Control of postharvest decay blue and green molds of oranges by hot water,sodium carbonate and sodium bicarbonate. Plant Disease.,85: 371- 376.
- 22- Eckert J.W.(1990). Recent development in chemical control of ostharvest diseases. Acta Horticulture ., 296:477-494.
- 23- Conway W.S.; Janisiewicz W.J.;Klein J.D.and Sams C.E.(1999). Sterategy for combining heat treatment, calcium infiltration and biological control to reduce postharvest decay of "Gala"apples. HortScience ., 34:700-704.
- 24- El-Ghaouth A.; Smilanick J.L.and Wilson C.L.(2000).Enhancement of the performance of Candida sitoana by the addition of glycolchitosan for the control of postharvest decay of apple and citrus fruit. Postharvest Biology and Technology., 19:103-110.
- 25-W.J.Janisiewicz and L.Korsten. (2002). "Biological control of postharvest diseases of fruits", Annu. Rev. Phytopathol., 40, 411- 441.
- 26- G.E. Brown; C. Davis and M. Chambers. (2000) ."Control of citrus green mold with Aspire is impacted by the type of injury", Postharvest Biol.Technol., 18,57-65.
- 27- G.J. Holmes and J. W. Eckert.(1999) . Sensitivity of Penicillium digitatum and P. period on the control of postharvest green mold of oranges. Plant Dis., 81:379-382.
- 11- Bus, V. G.; Bongers, A. J. and Risse, L. A .(1991). Occurrence of Penicillium digitatum and P.italicum resistant to benomyl, thiabendazole, and imazalil on citrus fruit from different geographic origins. Plant Dis. 75:1098-1100.
- 12- Eckert, J.W.; Sievert, J. R. and Ratnayake, M.(1994). Reduction of imazalil effectiveness against citrus green mold in California packinghouses by resistant biotypes of Penicillium digitatum. Plant Dis.,78:971-974.
- 13- Smilanick, J. L.; Margosan, D.A. and Henson, D.J.(1995).Evaluation of heated solutions of sulfur dioxide, ethanol, and hydrogen peroxide to control postharvest green mold of lemons. Plant Dis., 79:742-747.
- 14- Miyasaki, K.T.; Genco, R. J. and Wilson, M. E.(1986). Antimicrobial properties of hydrogen peroxide and sodium bicarbonate individually and in combination against selected oral, gram- negative, facultative bacteria. J.Dent.Res., 65:1142.
- 15- Winston, J.R.(1935). Reducing decay in citrus fruits with borax. U.S.Dep.Agric.Tech. Bull.488.
- 16- Lurie S. (1998) . Postharvest heat treatments. Postharvest Biol Technol .,14:257–269 .
- 17- Corral LG, Post LS and Montville TJ. (1990). Antimicrobial activity of sodium bicarbonate. J Food Sci .,53:981–982
- 18- Marloth RH. (1931). The influence of hydrogen-ion concentration and of sodium bicarbonate and related substances on Penicillium italicum and P digitatum.Phytopathology .,21:169–198 .

- 36- Punja, Z. K. and Grogan, R. G.(1982). Effects of inorganic salts, carbonate- bicarbonate anions, ammonia, and the modifying influence of pH on sclerotial germination of *Sclerotium rolfsii*. *Phytopathology*, 72:635-639.
- 37- Webb, R.W.(1919). Studies in the physiology of the fungi. X. Germination of the spores of certain fungi in relation to hydrogen ion concentration. *Ann. Mo.Bot. Gard.*, 6:201-222.
- 38- Homma, Y.; Arimoto, Y. and Misato, T.(1981). Studies on the control of plant diseases by sodium bicarbonate formulation. 1. Effects of emulsifiers and surfactants on the protective values of sodium bicarbonate. *J. Pestic. Sci.*, 6:145 -153.
- 39-MacMillan, A.(1954).The entry of ammonia into fungal cells. *J.Exp. Bot.*,7:113-126.
- 40- Porter, L. L.; Urbina-Reyes, R. N. and Horst, R. K.(1992). Bicarbonate inhibition of phytopathogenic fungi in vitro. (Abstr.)*Phytopathology* 82:247.
- 41- DePasquale, D. A., and Montville, T. J. (1990). Mechanism by which ammonium bicarbonate and ammonium sulfate inhibit mycotoxigenic fungi. *Appl.Environ. Microbiol.*, 56:3711- 3717.
- 42- Marloth, R. H.(1931). The influence on hydrogen- ion concentration and of sodium bicarbonate and related substances on *Penicillium italicum* and *P. digitatum*. *Phytopathology*, 21:169-198.
- 43- Nobecourt, P.(1922). Sur le mecanisme de l'action parasitaire du *Penicillium glaucum* Link et du *Mucor stolonifer* Ehrb. *Compt.Rend. Acad. Sci. (Paris)*., 174:1720-1722.
- italicum to postharvest citrus fungicides in California", *Phytopathol.*, 89, 716-721.
- 28-M.Zamani, A.S.Tehrani, M. Ahmadzadeh, and A.A.Abadi (2006). Effect of fluorescent pseudomonades and *Trichoderma* sp. And their combination with two chemicals on *Penicillium digitatum* caused agent of citrus green mold", *Commun. Agric. Appl. Biol.Sci.*, 2006, 71(3 Pt B), 1301-1310.
- 29- E.A.B. Emmert and J.Handelsman.(1999) . Biocontrol of plant disease:a (Gram-) positive perspective, *FEMS Microbiol. Lett.*, 171, 1-9.
- 30- D.Spadaro and M.L. Gullino .(2004) . State of the art and future prospects of the biological control of postharvest fruit diseases", *Int. J. Food Microbiol.*, 91, 185-194.
- 31- John, I. Pitt and Ailsa, D. Hocking.(2009) . Fungi and . food Spoilage. 519 p ages .
- 32- Punja, Z. K. and Grogan, R.G.(1982). Effects of inorganic salts, carbonate-bicarbonate anions, ammonia, and the modifying influence of pH on sclerotial germination of *Sclerotium rolfsii*. *Phytopathology* 72:635-639.
- 33- Punja, Z. K.; Grogan, R. G. and Unruh, T. (1982).Chemical control of *Sclerotium rolfsii* on golf greens in Northern California. *Plant Dis.*, 66:108-111.
- 34- Ricker, M. D and Punja, Z. K.(1991). Influence of fungicide and chemical salt dip treatments on crater rot caused by *Rhizoctonia carotae* in long-term storage.*Plant Dis.*, 75:470-474.
- 35- Ziv, O. and Zitter, T. A.(1992). Effects of bicarbonate and film- forming polymers on cucurbit foliar diseases. *Plant Dis.*, 76:513-517.