الترقيم الدولي ٨٦٩٠ - ١٩٩١ ISSN 1991- 8690
website: http://jsci.utq.edu.iq Email :utjsci@utq.edu.iq

حساسية فطر التعفن الأخضر المعزول من الحمضيات تجاه بعض املاح البيكاربونات

صبرية عبدعلي محمد
قسم علوم الحياة – كلية التربية – جامعة البصرة

المستخلص

اجريت الدراسة لمعرفة حساسية الفطر *Penicillium digitatum* تجاه بعض املاح البيكاربونات وهى $NaHCO_3$ و $KHCO_3$ وNH_4HCO_3 بتراكيز مختلفة تراوحت بين (0.0 – 100) مليمول واشارت 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 المستعمره وكان التركيز الذي اعطى اقل تثبيط لنمو الفطر هو التركيز mM (10.0) في حين بلغ مقدار التركيز الذي اعطى اعلى تثبيط mM(50.0) ، 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 تاثيرا على معدل قطر المستعمرات فقد لوحظ انه عند التركيز mM(0.0) كان اقل معدل لقطر التثبيط عند pH = 6.0 واعلاه عند pH 8.5 =للأملاح الثلاثة تقريبا. اما عند التركيز mM(5.0) فقد كان اقل معدل لقطر التثبيط عند pH = 4.0 واعلاه عن pH = 8.5 . وعند التركيز mM(25) كان اقل معدل لقطر التثبيط عند pH = 4.5 واعلاه عند pH = 8.5 . اما عند التركيز mM(50.0) فقد كان اقل معدل لقطر التثبيط عند pH = 4.5 واعلاه عند pH = 8.5 .

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

SABRIYA Abed-Ali Mohammad
Department of biology - Education collge 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 occure 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 اذ ان مرض التعفن الأخضر المتسبب عن الفطر *Penicillium digitatum* (Pers.:Fr) Sacc. من أكثر الأمراض شيوعا . وخلال الفترة الماضية ولمدة طويلة استخدمت العديد من المبيدات الصناعية للقضاء عليه او الحد من انتشاره ولكن تكراراستخدام هذه المبيدات ادى الى ظهورعزلات مقاومة منه مما سبب مشاكل شائعة في الوقت الحاضروتعتبرأملاح البيكاربونات من بين المواد المعروفة والتي تضاف الى الأغذية لتنظيم مستوى الحامضية (pH) والطعم ولتحسين نوعية الغذاء كما أنها من المواد التي تساهم في السيطرة على مسببات أمراض تعفن الأطعمة [1] .

و أشاروا [٢ و ٣ و٤ و٥ و٦] الى قابلية محاليل من البيكاربونات في السيطرة على مسببات الأمراض النباتية . كما لوحظ ان لهذه الأملاح القابلية على الحد من انتشار مرض التعفن الأخضرعلى الحمضيات [٧ و٨ و٩ و١٠] . كذلك أشار كل من [١١ و ١٢] الى ان باستطاعة املاح البيكاربونات تخفيض الأصابة بهذا النوع من الفطريات اضافة الى انخفاض كلفتها وقلة خطورتها من الناحيتين الصحية والبيئية مقارنة بالمبيدات الفطرية الصناعية . واشار [13] الى ان استخدام املاح البيكاربونات في السيطرة على مرض التعفن الأخضر في الحمضيات ساعد على حفظ هذه الفاكهه خلال فترات الخزن الطويلة وذكر ان استخدام هذه الأملاح أدى الى تخفيض نسبة الأصابة بهذا المرض بنسبة (٩٩%) . ولاحظ [14] الفعالية العالية لمحاليل البيكاربونات في السيطرة على الفطر *P.digitatum* كما اشار [15] الى دور هذه الأملاح في السيطرة على عدد كبير من امراض التعفن الأخضر . كذلك أشار [16] الى فعالية بيكاربونات الصوديوم في تثبيط نمو العفن الأخضر والحد من أنتشاره على الحمضيات . كما ابدت هذه المواد مختبريا فعالية ضد مايكروبية تجاه فطريات التعفن الأخضر [١٧ و ١٨]. وتستعمل املاح الكاربونات والبيكاربونات بصورة واسعة في مجال التصنيع الغذائي في الدول الأوربية وامريكا الشمالية [١٩ و ٢٠]. وتنتشر فطريات التعفن الأخضر بصورة كبيرة في معظم المناطق المزروعة بالحمضيات في العالم [21] ان انتشارهذه الممرضات يتسبب في تلف الكثير منها وان اى خدش فيها يسهل دخولها اليها وانتشار المرض بصورة اوسع .

ومن الطرق الروتينية او المعتادة للحد من انتشار هذه الممرضات هى استخدام المبيدات الفطرية الصناعية ومنها الأميزاليل Imazalil [22] ولكن تكرار استخدام هذا المبيد ادى الى ظهور عزلات مقاومة منها لذا توجب التوجه الى ايجاد بدائل وقد اشار[٢٣ و ٢٤] الى امكانية استخدام السيطرة البايولوجية ضد هذا النوع من الممرضات . واشار[25] الى ان اصابة الحمضيات بهذة الفطريات تسبب خسائر فادحة . كما اشار [٢٦] الى ان من أهم الفطريات الممرضة للحمضيات هو الفطر *P. digitatum* . وذكر [٢٧ و ٢٨] بان تكراراستخدام المبيدات الفطرية الصناعية مثل Sodium ortho-phenate وكذلك Thioobendazole ادى الى ظهورعزلات مقاومة من هذه الممرضات. واشار [٢٩ و٣٠] الى ان استخدام مثل هذه المواد الكيميائية ادى الى زيادة تركيزها في البيئة مما يهدد صحة الأنسان والأحياء الأخرى وان استخدام السيطرة البايولوجية تقدم بدائل صحية أقل كلفة وتأثيراعلى البيئة.

ونظرا لأنتشارمرض التعفن الأخضر الذي يسببه الفطر P. digitatum بصورة واسعة على ثمار البرتقال المباع في الأسواق المحلية مما يؤدي الى تلف هذه الفاكهة فقد هد فت 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 تأ ثير قيمة الدالة الحامضية(pH)على نمو الفطر
٤- دراسة تأ ثير 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 :Potato dextrose agar (PDA)

حضر الوسط الزرعي (PDA) بأذابة 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 ١٢١ْم 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 الأستعمال .

٢-٣- المواد المستخدمة :

بيكاربونات الصوديوم ، البوتاسيوم ، الأمونيوم ، على التوالي NaHCO3 و KHCO3 و NH4HCO3 وكذلك HCl و NaOH حضرت من هذه الأنواع الثلاثة من البيكاربونات التراكيز التالية: mM[0,10, 20,30, 40, 50, 0,70 80, 90, 100]

٢-٤- عزل الممرض :

تم عزل الممرض Penicillium digitatum بنقل كونيداته 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 ٢٥ْم ، فحصت بعد مرور ستة الى سبعة ايام ، بعد الحصول على الفطر تم تنقيته بنقل كونيداته 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 لتراكيزاملاح البيكاربونات :

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

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

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

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

٢-٧- اختبار تأثير تداخل قيمة الدالة الحامضية (pH) مع تراكيزالأنواع الثلاثة من البيكاربونات على نمو مستعمرات الفطر

تم تدعيم الوسط PDA بالتراكيز التالية , 5.0 , 0.0) mM(50 , 25 من كل نوع من الانواع الثلاثة من البيكاربونات وضبطت قيم الـ pH بين (4.5 و 5.0 و 5.5 و6.0 و 6.5 و 7.0 و7.5 و8.0 و 8.5) وبواقع ثلاث مكررات لكل معاملة ، لقحت الأطباق الحاوية على الوسط المدعم بكونيدات الفطر بعد تضبيط قيم الدالة الحامضية ثم سجلت اقطار المستعمرات بعد مرور ستة أيام ، جدول (٣ و ٤ و ٥) .

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

٣ – النتائج

اشارت نتائج الدراسةالى 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 قطرالمستعمره وكما يأتي : -

٣-١- حساسية الفطر تجاه تراكيز من بيكاربونات الصوديوم NaHCO3

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 لقطرالتثبيط عند التركيز mM(10) وهو 13.0mm واعلى معدل لقطر التثبيط هو 2.66mm عند التركيز mM(50). ومن خلال نتائج التحليل الأحصائي وجد ان قيمة معامل الأرتباط -0.729 عند مستوى احتمال (0.05) .

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

$NaHCO_3$					
التركيز (مليمول)	اقطار المستعمرات (ملم)				
	المكررات			المجموع	المعدل
0.0	27	26	26	80	26.66
10.0	12	13	14	39	13.00
20.0	8	8	8	24	8.00
30.0	6	٦	6	18	6.00
40.0	6	5	4	15	5.00
50.0	3	٣	3	9	3.00
60.0	3	٣	3	9	3.00
80.0	3	٣	٣	9	3.00
100.0	3	٣	٣	9	3.00

٣-٢- حساسية الفطر تجاه تراكيز من بيكاربونات البوتاسيوم KHCO3

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 التثبيط عند التركيز 10mM وهو mm(15.66) واعلى معدل لقطر التثبيط هو mm (5.0)عند التركيز 50mM.ومن خلال نتائج التحليل الأحصائي وجد ان قيمة معامل الأرتباط -0.764 عند مستوى احتمال (0.05) .

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

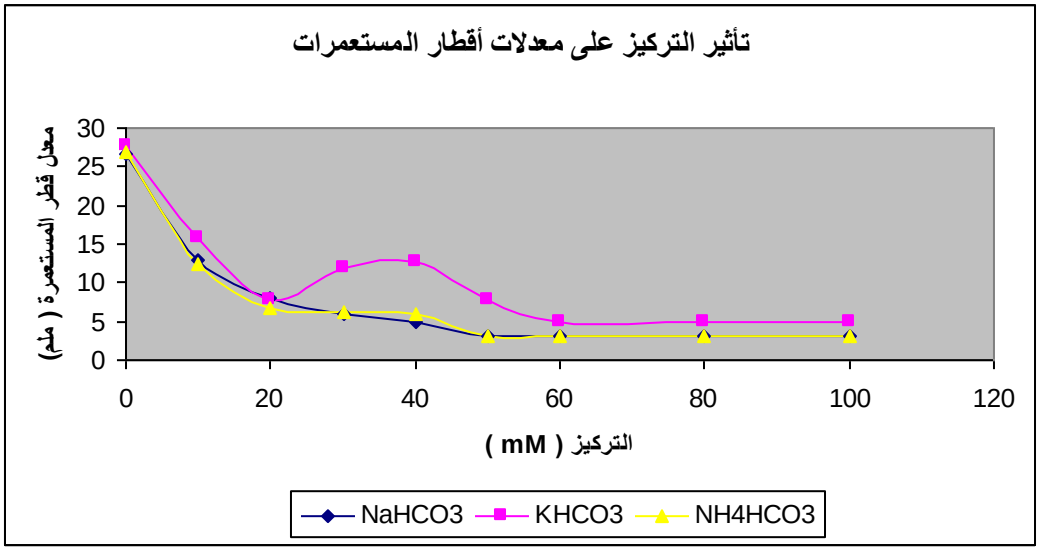
$KHCO_3$					
التركيز(مليمول)	اقطار المستعمرات (ملم)				
	المكررات			المجموع	المعدل
0.0	28	28	27	83	27.66
10.0	15	16	16	47	15.66
20.0	7	7	9	23	7.66
30.0	12	١٢	12	36	12.00
40.0	12	١٤	12	38	12.66
50.0	7	٧	9	23	7.66
60.0	5	٥	5	15	5.00
80.0	5	٥	٥	15	5.00
100.0	5	٥	٥	15	5.00

٣-٣-حساسية الفطر تجاه تراكيز من بيكاربونات الأمونيوم NH4HCO3

لوحظ من خلال النتائج جدول (3) وشكل (1) وجود تحسس واضح لمستعمرات الفطر تجاه تراكيز بيكاربونات الأمونيوم وتبين ان العلاقة عكسية بين التراكيزومعدل قطرالمستعمرات مقارنة بالسيطرة وكان اوطأ معدل لقطر التثبيط عند التركيز 10mM وهو(12.66) ملم واعلى معدل لقطر التثبيط هو(3.0) ملم عند التركيز 50mM. ومن خلال نتائج التحليل الأحصائي وجد ان قيمة معامل الأرتباط −0.728 عند مستوى احتمال (0.05) .

جدول (3) تأثيرتراكيزبيكاربونات الأمونيوم NH_4HCO_3 على معدلات اقطار المستعمرات

NH_4HCO_3					
التركيز(مليمول)	اقطار المستعمرات (ملم)				
	المكررات			المجموع	المعدل
0.0	27	27	27	81	27.00
10.0	13	12	12	37	12.33
20.0	7	7	6	20	6.66
30.0	7	٦	6	19	6.33
40.0	6	٦	6	18	6.00
50.0	3	٣	3	9	3.00
60.0	3	٣	3	9	3.00
80.0	3	٣	٣	9	3.00
100.0	3	٣	٣	9	3.00



شكل (1) تأثير تراكيز البيكاربونات على معدلات اقطار المستعمرات

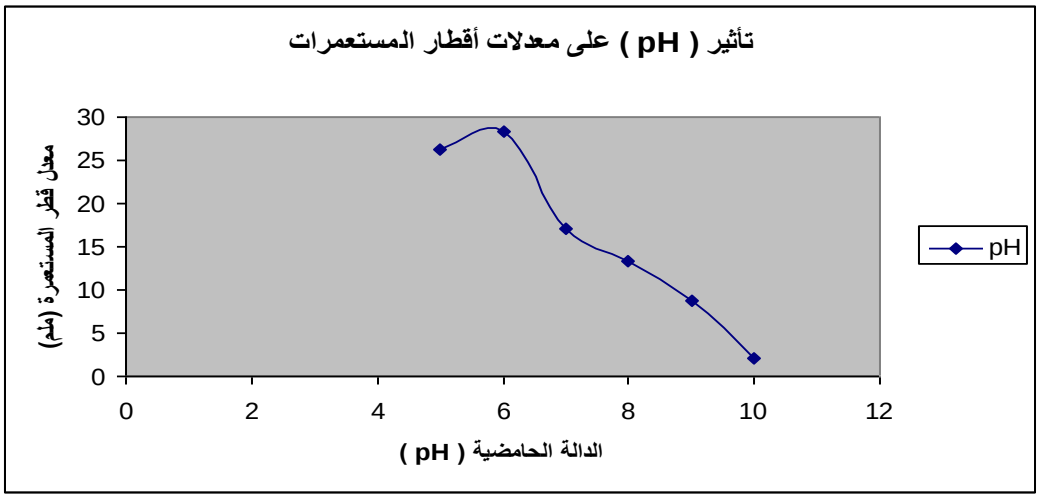
ويتضح من خلال النتائج في جدول (١ و ٢ و ٣) و شكل (1) ان الأملاح الثلاثة كانت مؤثرة على نمو الفطر ومن خلال التحليل الأحصائي تبين انه لاتوجد فروق معنوية بين الأملاح الثلاثة عند مستوى احتمال (0.05) .

٤ – تأثير الـ pH على معدل قطر المستعمرات الفطرية :

تفاوت تاثير 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) حيث بلغت قيمة معامل الأرتباط – 0.969 عند مستوى احتمال (0.01) .

جدول(4) تأثير قيم pH على معدلات اقطار المستعمرات

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



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

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 تاثيرا واضحا على معدل قطر المستعمرات الفطرية وكما يلي:

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

اما عند التركيزين 25)mM و50) فقد كان تاثير التداخل مع pH واضحا جدا وبلغ ادنى معدل لقطر التثبيط 19.66 ملم عند pH= 4.5 بالنسبة للتركيزين واعلاه 6.0 ملم للتركيز 25mM و5.0 ملم للتركيز 5.0 عند pH=8.5 .وتبين من خلال النتائج ان اقل تركيز مؤثر عند تداخله مع pH هو التركيز 25mM وان

القيمة المؤثره للدالة الحامضية هى pH=7.0 . ومن خلال نتائج التحليل الأحصائي (جدول تحليل التباين) تبين انه لايوجد فرق معنوي بين التركيزين mM(0 و5) ولكن هناك فرق معنوي بين التركيزين mM(0 و25) وكذلك بين mM(0 و50) عند مستوى احتمال (0.05) و يوجد فرق معنوي بين mM(5 و25) وكذلك بين mM(5 و50) عند مستوى احتمال (0.05) واتضح انه لايوجد فرق معنوي بين التركيزين mM(25 و50).

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 تاثيرا واضحا على معدل قطر المستعمرات الفطرية وكما يلي :

عند ما قيمة pH= 6.0,5.5,5.0,4.5 وعند التركيز 0mM لم يتاثر نمو المستعمرات الفطرية ولكن عند pH= 6.5 فما فوق بدا التاثير واضحا على معدل قطر المستعمرات حيث بلغ ادنى معدل لقطر التثبيط 22 ملم عند pH=6.5 واعلاه كان ١١ ملم عند pH= 8.5 وكذلك الحال بالنسبة للتركيز 5mM فقد بلغ معدل قطر التثبيط23ملم عند pH=6.5 في حين كان معدل قطر التثبيط 5.33 ملم عند pH=8.5 .

اما عند التركيزين mM(25 و 50) فقد كان تاثير التداخل مع pH واضحا جدا وبلغ ادنى معدل لقطر التثبيط 19.66 ملم عند pH= 4.5 بالنسبة للتركيزين واعلاه 6.0 ملم للتركيز 25mM و5.0 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 المؤثره للدالة الحامضية هى pH=7.0 .ومن خلال نتائج التحليل الأحصائي (جدول تحليل التباين) تبين انه لايوجد فرق معنوي بين التركيزين mM (0 و5) ولكن هناك فرق معنوي بين التركيزين mM(0 و25) و كذلك بين mM(0 و50) عند مستوى احتمال (0.05) و يوجد فرق معنوي بين mM(5 و25) وكذلك بين mM(5 و50) عند مستوى احتمال (0.05) واتضح انه لايوجد فرق معنوي بين التركيزين mM(25 و50).

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 تاثيرا واضحا على معدل قطرالمستعمرات الفطرية وكما يلي :

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

اما عند التركيزين mM(25 و50) فقد كان تاثيرالتداخل مع pH واضحا جدا وبلغ ادنى معدل لقطر التثبيط 19.66 ملم عند pH= 4.5 بالنسبة للتركيزين واعلاه 6.0 ملم للتركيز 25mM و5.0 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 المؤثره للدالة الحامضية هى pH=7.0 . ومن خلال نتائج التحليل الأحصائي (جدول تحليل التباين) تبين انه لايوجد فرق معنوي بين التركيزين mM(0 و5) ولكن هناك فرق معنوي بين التركيزين mM(0 و25) و كذلك بين mM(0 و50) عند مستوى احتمال(0.05) ويوجد فرق معنوي بين mM(5 و25) وكذلك بين mM(5 و50) عند مستوى احتمال (0.05) واتضح ان لايوجد فرق معنوي بين التركيزين mM(25 و50) .

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

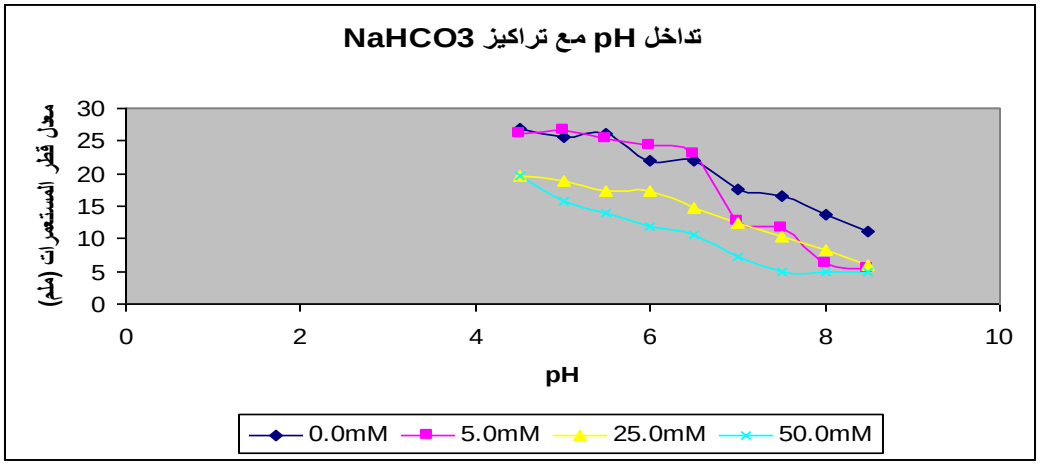
$NaHCO_3$																				
التراكيز ---------- قطر المستعمرة																				pH
50.0mM				المعدل	المجموع	25.0mM			المعدل	المجموع	5.0mM			المعدل	المجموع	0.0mM			المعدل	
المكررات						المكررات					المكررات					المكررات				
18	21	20	19.66	59	19	20	20	26.00	78	26	25	27	27.00	81	27	26	28	19.66	59	4.5
15	15	17	19.00	57	19	20	18	26.66	80	26	27	27	25.66	77	26	26	25	15.66	47	5.0
14	14	14	17.33	52	18	18	16	25.33	76	27	24	25	26.00	78	26	26	26	14.00	42	5.5
13	13	12	17.33	52	17	18	17	24.33	73	23	24	26	22.00	66	20	24	22	12.00	38	6.0
11	11	10	14.66	44	15	15	14	23.00	69	21	24	24	22.00	66	23	22	21	10.66	32	6.5
7	8	7	12.33	37	10	13	14	12.66	38	13	13	12	17.66	53	18	17	18	7.33	22	7.0
5	5	5	10.33	31	10	19	12	11.66	35	10	13	12	16.66	50	17	17	16	5.00	15	7.5
5	5	5	8.33	25	7	8	10	6.33	19	6	6	7	13.66	41	12	15	14	5.00	15	8.0
5	5	5	6.00	18	7	9	5	5.33	16	6	5	5	11.00	33	12	11	10	5.00	15	8.5

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

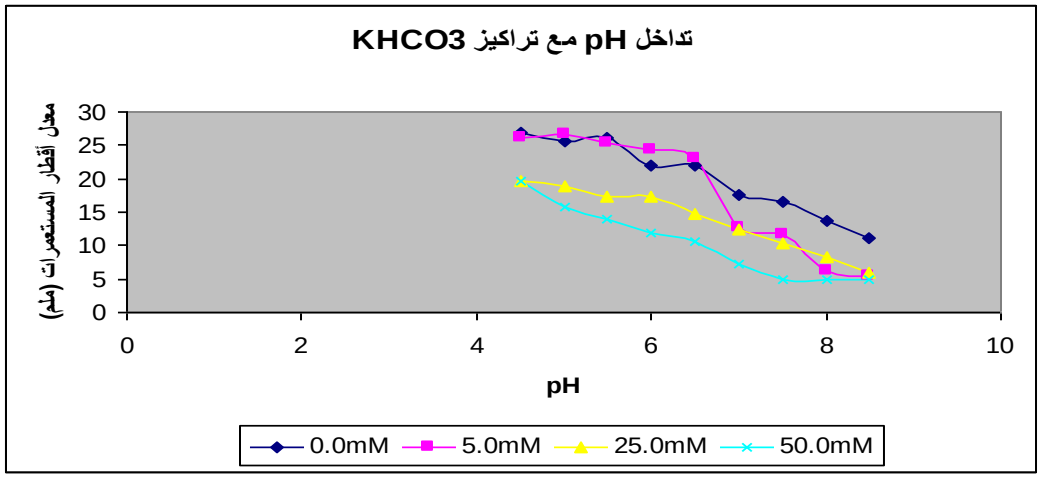
$KHCO_3$																				
التراكيز ---------- قطر المستعمرة																				pH
50.0mM				المعدل	المجموع	25.0mM			المعدل	المجموع	5.0mM			المعدل	المجموع	0.0mM			المعدل	
المكررات						المكررات					المكررات					المكررات				
18	21	20	19.66	59	19	20	20	26.00	78	26	25	27	27.00	81	27	26	28	19.66	59	4.5
15	15	17	19.00	57	19	20	18	26.66	80	26	27	27	25.66	77	26	26	25	15.66	47	5.0
14	14	14	17.33	52	18	18	16	25.33	76	27	24	25	26.00	78	26	26	26	14.00	42	5.5
13	13	12	17.33	52	17	18	17	24.33	73	23	24	26	22.00	66	20	24	22	12.00	38	6.0
11	11	10	14.66	44	15	15	14	23.00	69	21	24	24	22.00	66	23	22	21	10.66	32	6.5
7	8	7	12.33	37	10	13	14	12.66	38	13	13	12	17.66	53	18	17	18	7.33	22	7.0
5	5	5	10.33	31	10	19	12	11.66	35	10	13	12	16.66	50	17	17	16	5.00	15	7.5
5	5	5	8.33	25	7	8	10	6.33	19	6	6	7	13.66	41	12	15	14	5.00	15	8.0
5	5	5	6.00	18	7	6	5	5.33	16	6	5	5	11.00	33	12	11	10	5.00	15	8.5

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

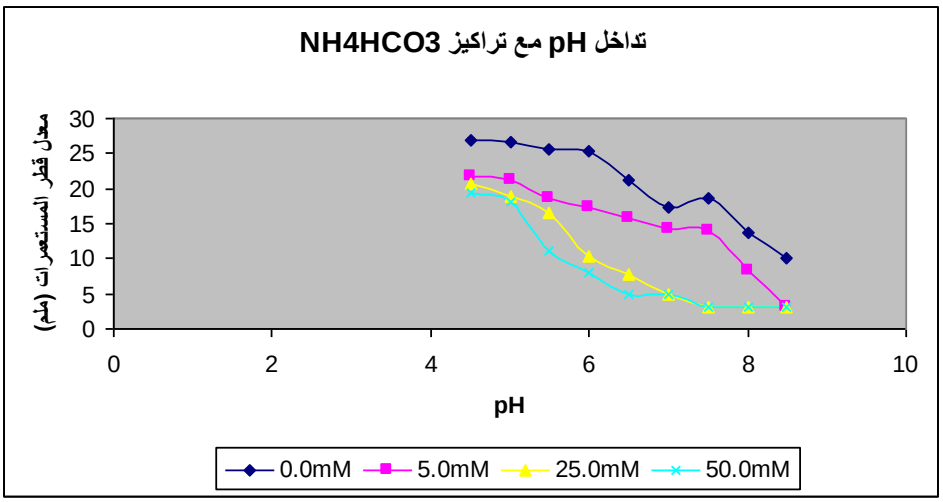
NH_4HCO_3																				
التراكيز --- قطر المستعمرة																				pH
50.0mM				المعدل	المجموع	25.0mM			المعدل	المجموع	5.0mM			المعدل	المجموع	0.0mM				
المكررات						المكررات					المكررات					المكررات				
20	19	19	58	19.33	20	20.66	62	21	21	20	21.66	65	22	٢٢	٢٢	27.00	81	27	27	27	4.5
18	17	19	54	18.00	20	19.00	57	19	18	20	21.33	64	21	21	22	26.66	70	27	26	27	5.0
12	11	10	33	11.00	16	16.66	50	17	17	16	18.66	56	17	19	20	25.66	78	26	25	26	5.5
9	9	7	25	8.00	11	10.33	31	10	10	11	17.33	52	15	18	19	25.33	76	24	26	26	6.0
5	5	5	15	5.00	8	7.66	23	8	7	8	15.66	47	15	15	17	21.33	64	21	20	23	6.5
5	5	5	15	5.00	5	5.00	15	5	5	5	14.33	43	13	16	14	17.33	52	15	19	18	7.0
3	3	3	9	3.00	3	3.00	9	3	3	3	14.00	42	13	13	16	18.66	54	16	19	19	7.5
3	3	3	9	3.00	3	3.00	9	3	3	3	8.33	25	8	8	9	13.66	41	14	13	14	8.0
3	3	3	9	3.00	3	3.00	9	3	3	3	3.00	9	3	3	3	10.00	30	8	10	12	8.5



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



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



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

٤- المناقشة

تبين من خلال النتائج أن املاح البيكاربونات ثبطت 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 التأثيرمن حيث تثبيط نمو الفطر ولكن لوحظ نمو غير طبيعي عند التراكيز العالية الى $KHCO_3$ ولربما بسبب أن كاتيون البوتاسيوم مركب حساس بالنسبة لجدارالخلية ولكن الصوديوم لايستعمل من قبل الخلية كما هو الحال بالنسبة للبوتاسيوم ان هذا التفاوت في العمليات الأيضية يفسرارتفاع نسبة نمو الفطرفي بعض التراكيز العالية للبوتاسيوم .اما بالنسبة الى كاتايونات الأمونيوم فانها تكتسب الكترونا لتتحول الى غاز الأمونيا وهو كفيل بمنع نمو مستعمرات الفطر.وقد أشار [32] الى قابلية NH4HCO3 لمنع سكلروشيا الفطر Sclerotium rolfsii من الأنبات عند التركيز 50mM .كما أشار[33] الى قابليته للسيطرة على مرض تعفن جذورالجزر .واشار [34] الى قابلية NaHCO3 لتثبيط نمو الفطر Rhizoctonia carotae كليا عند تركيز 100mM . وقد استطاعت بيكاربونات الصوديوم والبوتاسيوم والأمونيوم اختزال نمو مستعمرات الفطر Alternaria cucumerina [35].

كما اشار [36] الى فعالية البيكاربونات تجاه بعض الفطريات و اشار ايضا الى قابلية البيكاربونات على تثبيط نمو وانبات سكلروشيا بعض الفطريات كليا عند التركيز 50mM .وذكر ان معظم الفطريات تنمو في الظروف الحامضية الى متعادلة اكثر مما هى في الظروف القاعدية فمثلا يثبط انبات سكلروشيا الفطر S.roslfii عند الـ pH (7.0) . ولاحظ [37] ان عدد من الفطريات تنبت في الظروف الحامضية. كما اشار [38] الى نفس الملاحظة بالنسبة للفطر *Penicillium . citri* . ان تركيز البيكاربونات له تأثيرا مباشرا على الـ pH ولكنها غير مؤثره في الظروف الحامضية عند pH (4.5) بسبب سيادة حامض الكاربونيك في المحلول والذي يكون غير مستقر ويتفكك الى الماء و ثانى أكسيد الكاربون ، وكلما ارتفعت قيمة الـ pH كلما ازداد تركيز البيكاربونات حتى يصل مستواها pH (8.5) عندها يبدأ مستواها بالأنخفاض ويزداد تركيز الكاربونات . ان بيكاربونات الأمونيوم تمتلك جزئين فعالين وهما كاتايون الأمونيوم الذي يتحول الى غاز الأمونيا و أنايون البيكاربونات . وعند الـ pH الواطئه تتحول بيكاربونات الأمونيوم الى أمونيا و ماء و ثاني أوكسيد الكاربون وبما أنه لايحدث تثبيط عند الـ pH المنخفظة فانه من غير المتوقع مشاركة آيون الأمونيوم في تثبيط نمو الفطر. وعند pH (7.0) تتحلل بيكاربونات الأمونيا الى غاز الأمونيا و الماء والكاربونات وعندها فأن تحرر غاز الأمونيا يضيف مكونا آخر

من المكونات الفعالة . وذكر [39] بان انتشار بيكاربونات الأمونيوم الى داخل الخلية الفطرية يكون سلبيا . ان الفطر يفرز حامضا لمعادلة الحامضية في محيطه وهنا يكون دور البيكاربونات في تنظيم الحامضية مؤثرا مما يؤدي الى تثبيط أفرازالفطر 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) . واشار [40] الى أن البيكاربونات ترفع من مستوى الحامضية داخل كونيدات 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 بالبيكاربونات. واشار [42] الى أن الكاربونات في بادئ الأمر تتسبب بانتفاخ سبورات الفطر Penicillium . Italicum ولكنها فيما بعد تثبط ظهوراوتكوين 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 بيكاربونات الصوديوم تثبط نشاط الأنزيمات الخارجية اضافة الى انها قد تتداحل مباشرة مع الأغشية فتغير طبيعتها ولربما تؤدي الى تلف الخلية عند التراكيز المشبعة. ويبدو عند مقارنة نتائج الدراسة الحالية أنها تتفق مع ماذكرته الدراسات الوارده أعلاه والتي تناولت أملاح البيكاربونات كعامل سيطرة لبعض أنواع الفطريات كما انه يمكن استخدام بيكاربونات الصوديوم للحد من الأصابات بهذا المرض او القضاء عليه حيث ان تأثير الأنواع الثلاثة من الأملاح متقارب في التاثير في نمو الفطر وان بيكاربونات الصوديوم اقل كلفة ويسهل الحصول عليها .

٥- المصادر References

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

2- Fallik,E.;Grinberg,S. and Ziv, O.(1997).Potassium bicarbonate reduce postharveste decay development on bell pepper fruits. J. Hortic 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

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 .

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.

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.