College of Basic Education Researchers Journal. ISSN: 7452-1992 *Vol. (19), No.(4), (2023)*

CC BY

المقدرة الامراضية لرواشح انواع من الفطر *Alternaria* sp. والفطر *Fusarium* sp. وبيان تأثيراتها السمية باستخدام تقنية الـ HPLC

ورقاء سعيد قاسم علي هادي حمود

جامعة الموصل كلية العلوم

(قدم للنشر في ٢٠٣٢/١/٣٠ قبل للنشر في ٢٠٢٣/٢/٢٧)

الخلاصة

استعملت ثلاث عزلات عائدة إلى الجنس *Alternaria* sp. منها عزلتان عائدتان للنوع *Alternaria alternata* وعزلة عائدة للنوع *Alternaria dianthi* وثلاث عزلات عائدات للجنس *Fusarium* sp. وواحدة عائدة للنوع *Fusarium solani* والاخرى عائدة للنوع *Fusarium verticilliodies* والثالثة *Fusarium oxysporum* وقد اختبرت المقدرة الامراضية على انبات بذور الفجل وقد اعطت جميع العزلات درجات متفاوتة في مؤشر شدة الامراض (DSI)، اذ حصلت عزلة الفطر *F. verticilliodies* على درجة الامراضية (6.5) وتلتها عزلة الفطر *A. dianthi* بمؤشر شدة الامراضية (5.2) درجة وتعني انها شديدة الامراضية اما بقية العزلات فقد تفاوتت امراضيتها، تبين من التأثير السمي لرواشح الفطريات المدروسة تأثيرها بشكل واضح على ذبول الافرع لنباتات الجربيرا والفيلكس والباذنجان مقارنة بأفرع هذه النباتات المغمورة بالماء مما يدل على التأثير السمي لرواشح هذه الفطريات وقدرتها الامراضية، اكدت اختبار النخرة الموضعية لاوراق هذه النباتات تأثيرات مرضية واضحة من ظهور تبقعات وموت للخلايا في مناطق الوخز. ومن خلال تحليل طيف الامتصاص لرواشح الفطريات بإستخدام جهاز الامتصاص Spectrouv-vis. وقد ظهرت ذروتان للفطر *F.verticilliodies* ، وكذلك ذروتان للامتصاص في منحنيات رواشح الفطرين *A.dianthi* و *A.alternata* مما يدل على سمية الفطريات، واكد التقدير الكمي لرواشح السموم بتقنية الكروماتوكرافيا السائل عالي الكفاءة High Performance Liquid Chromatography (HPLC) فقد اظهرت النتائج ان الفطر *F. verticilliodies* ظهور ذروة واحدة بزمن الاحتباس 2,8 دقيقة/ثانية مما يدل على وجود سم Fumonisin B1 وبتركيز 0.5 مايكروغرام/ مل وايضاً تم الحصول على ذروة في زمن احتباس 2.84دقيقة مما يدل على وجود سم Alternariol (AOH) وبتركيز 1.1مايكروغرام/مل.

الكلمات المفتاحية:، رواشح الفطر، امراضية، تاثيرات سمية، HPLC، *Alternaria*، *Fusarium*

College of Basic Education Researchers Journal. ISSN: 7452-1992 *Vol. (19), No.(4), (2023)*

The Pathogenicity of Strains of Fungi Alternaria sp. and Fusarium sp. and Revealing Their Toxic Effects Using the HPLC Technique

Waqa Saeed Hashim **Ali Hadi Hmood**
University of Mosul College of Science

Abstract

In this study, three isolates of Alternaria sp are used. Two of these are Alternaria alternata, one Alternaria dianthi, and three Fusarium sp. One belonged to the type Fusarium solani, the other belonged to the type Fusarium verticilliodies, and the third was Fusarium oxysporum. The pathogenicity of germinating radish seeds was tested, and all isolates gave varying degrees in disease severity index (DSI), as the F.verticilliodies isolate obtained pathogenicity score of (6.5), followed by isolates fungus A.dianthi has a pathogenicity index of (5.2), which means that it is highly pathogenic. As for the rest of the isolates, their pathogenicity varied. The toxic effect of the studied fungus filtrates showed a clear effect on the wilting of the branches of Gerbera, Felix and Eggplant plants, compared to branches of these plants immersed in water, which indicates the toxic effect. For the infiltrates of these fungi and their pathogenic ability, local necrosis test of leaves of these plants confirmed clear pathological effects of appearance spots and cell death in pricking areas. By analyzing the absorption spectrum of fungal filtrates using the Spectrophotometer. Two peaks appeared for F.verticilliodies, as well as two absorption peaks in curves of the fungus A.dianthi and A.alternata filtrates, which indicates the toxicity of the fungus F. verticilliodies the appearance of one peak with a retention time of 2.8 minutes/sec, which indicates the presence of Fumisen B1 toxin at a concentration of 0.5 µg/ml. Also, a peak was obtained with a retention time of 2.84 minutes, which indicates the presence of Alternariol (AOH) toxin at a concentration of 1.1 µg/ml.

Keywords: filtrate, pathogenicity, toxic effects, HPLC, Alternaria, Fusarium.

المقدمة

المحاصيل الزراعية واحدة من أهم مصادر الدخل لدى شعوب العالم بصفة عامة ودول العالم الثالث بصفة خاصة، فمنذ أن عرف الإنسان القديم الزراعة وهو في صراع دائم مع الأمراض والآفات النباتية الضارة للمزروعات بسبب ما تحدثه من اضرار كبيرة للمحاصيل الزراعية المختلفة ومن بينها الأمراض الفطرية التي تعدَّ الأكثر شيوعا ومن هنا تأتي أهمية البحث عن طرائق جديدة لمكافحة تلك الآفات التي تهدد اقتصاد الدول, عامة والعراق خصوصاً كونه من أهم البلدان الزراعية في المنطقة (Attia *et al.*, 2022).

وتعد الامراض التي تسببها أنواع الجنس *Alternaria* من بين الامراض الأكثر شيوعاً في النباتات شاملة مدى واسعاً من النباتات الاقتصادية. وهي تهاجم الأجزاء الهوائية من العائل اذ تؤثر في الأوراق والسيقان والازهار والثمار للنباتات الحولية ولاسيما الخضراوات ونباتات الزينة(Bottalico and Logrieco 1998; Pryor and coilbertson 2002).

اما أنواع جنس *Fusarium* sp. فيحدث تتضرراً كبيراً للنباتات بسبب انسداد الأوعية الناقلة، مما تعيق حركة المغذيات في هذه الاوعية والحيوانات في الخشب واللحاء مسببة قتل الخلايا وإجهاد النبات (المعموري, ٢٠١٤)، تسبب الفطريات العديد من الأمراض للإنسان والحيوان والنبات، وقد تكون سامة للإنسان أو للحيوان الذي يتغذى عليها، وهذه السموم قابلة للانتقال عبر السلسلة الغذائية من كائن حيّ إلى آخر (Zhang Q., *et al* ،٢٠١١).

وبشكل عام يبقى تأثير الفطريات الممرضة متميزاً سواء كان ذلك في قلة المحصول النباتي ورداءة نوعيته ام في قضائه على المحاصيل الاقتصادية وهذا ينجم عنه قلة الموارد الغذائية وارتفاع أسعارها وهذا بدوره يؤدي الى سوء التغذية وانتشار الأوبئة وزيادة نسبة الوفيات وبالتالي اضطراب وتدهور الحياة الاقتصادية والاجتماعية فضلاً عن الى السموم التي تنتجها بعض الفطريات في علف الحيوان والحبوب التي تؤثر في الحيوان والانسان (Tien D.C *et al.*, 2008) .

سموم فطرية تسبب ضرراً للإنسان أو الحيوان أو كليهما, وتعرف السموم الفطرية بأنها سموم تفرز بوساطة الفطر خارجيا extracellular وتسبب ضرراً على الإنسان أو الحيوان وترجع أهمية هذه السموم إلى أن الفطر قد يتطفل أو ترمم على الثبات ويفرز سموماً خارجية تنتشر داخل النبات أو أي جزء من اجزائه وعند استهلاك الإنسان أو الحيوان لهذا الجزء النباتي يحدث له ضرراً نتيجة لهذه السموم بالرغم من عدم وجود الفطر المسبب وهذه الحالة المرضية تسمى Mycotoxicosis كما صنف السموم استناداً إلى تخصصها إلى:

وقد ثبت أن جنس *Alternaria* يكون وفير الإنتاج لهذه المركبات الايضية الثانوية (Ding *et al.*, 2018) وقد وصف اكثر من ٧٠ نوعاً من السموم التي ينتجها الجنس *Alternaria* والتي تعد من العوامل الضرورية ذات التفاعلات المحددة وغير المحددة بالعائل.

ومن بين أهم السموم الفطرية للفطر Fusarium هي Trichothecenes وFumonisins تسبب الفورمونيزينات امراضاً قاتلة للماشية ومن المحتمل أن تكون مسببة للسرطان عند البشر في حين أن Trichothecenes هي مثبطات قوية لتخليق البروتين والتي تسبب خطراً على الانسان والحيوان على حد سواء وتكون السموم ذات تأثير تراكمي وتسبب تثبيط المناعة وتسمم الكلى وتشوهات خلقية ولها تأثيرات حادة على الانسان مثل اضطراب الجهاز العصبي والاوعية الدموية (Bahar and Vasanthi, 2003).

الهدف من البحث القيام بإختبار الامراضية لعزلات عائدة للانواع *Fusarium. Sp, Alternaria. SP* باستخدام بذور الفجل وذبول الافرع وتبقع الأوراق, واستخدام تقنية HPLC لتحديد السموم لرواشح العزلات.

المواد وطرائق العمل:

العزلات الفطرية قيد الدراسة

العزلات الفطرية المستخدمة قيد الدراسة ثلاث عزلات عائدة إلى الجنس Alternaria sp. منها عزلتان عائدتان إلى النوع *A.altarnata* وعزلة عائدة إلى النوع *A.dianthi* تم الحصول عليها من (شهاب والطائي, ٢٠١١), وثلاث عزلات عائدات إلى الجنس *Fusarium* sp. واحدة عائدة إلى النوع *F.solani* والأخرى *F.verticillioides* والثالثة *F.oxysporum* تم الحصول عليها من (خلف والطائي, ٢٠٢١) وقد تم استخدامها في جميع التجارب قيد الدراسة.

الأوساط الزرعية

وسط اكار البطاطا والدكستروز (PDA) Potato Dextrose Agar

حضر هذا الوسط حسب تعليمات الشركة المنتجة له (Himedial gndial) وقد وزن (٣٩) غم من هذا الوسط الجاهز وتم وضعه في دورق زجاجي ثم تمت اذابته في كمية معينة من الماء المقطر وتم اكمال الحجم الى (١٠٠٠) مل من الماء المقطر وتم ضبط الـ PH له عند (٦)غم, وبعد ذلك عقم الوسط, واضيف اليه المضاد الحيوي Streptomycin بتركيز (١٠٠) ملغم/لتر بعد ذلك تم وضعه في الاطباق ليتصلب, وتم التعقيم باستخدام المؤصدة وبدرجة حرارة (١٢١) م° وتحت ضغط (١٥) باوند/انج لمدة (١٥) دقيقة (Colaniy and Adebowale, 2017), إن هذه الظروف هي التي استخدمت في تعقيم جميع الأوساط الزرعية.

تحضير وسط جابك دوكس Czabek's Dox Agar (CDA)

يحضر وسط جابك دوكس بإذابة (٣) غم/لتر KCL, (١) غم/لتر $FeSO_4$, (٠.٥) غم/لتر $MgSO_4.7H_2O$, (٠.٠١) غم/لتر K_2HPO_4,NaNO, (٠.٥) غم/لتر , (٣٠) غم/لتر Sucarose في (٥٠٠) مل من الماء المقطر ثم يكمل الحجم الى اللتر، ثم يضبط الأس الهيدروجيني للوسط عند (٦) ويضاف المضاد الحيوي Streptomycin بتركيز (١٠٠) ملغم/لتر بعد التعقيم كما ذكر سابقا (Mahapatra and Koley, 2015; Kadem and AL-Shamary).

وسط Water Agar

اضيف ١٥غم من الأكار وتمت اذابته بكمية معينة من الماء المقطر وبعدها اكمل الحجم الى (١٠٠٠) مل من الماء المقطر وبعدها تم تعقيم الوسط ثم اضيف اليه المضاد الحيوي Streptomycin (١٠٠) ملغم/لتر (الطائي, ٢٠٠٧).

الراشح الفطري والاختبارات الكيموحيوية

تحضير الراشح الفطري

للحصول على راشح السم الفطري استخدم وسط جابك دوكس Czabek's Dox السائل والمحضر سابقاً كما في باستثناء عدم إضافة الاكار. قسم الوسط على قنانٍ حجمية سعة (٢٥٠) مل بواقع (٥٠) مل ثم عقمت القاني ولقحت بأُخذ قرصان بقطر ٥ ملم من حافة مستعمرة فطرية فتية بعمر ٥ ايام ولقحت جميع الفلاسكات وحضنت بدرجة (٢٥±٢) م° لمدة (٢١) يوماً مع مراعاة رج الفلاسكات كل يوم إلى انتهاء مدة التحضين ثم رشحت المزارع الفطرية باستخدام ورق ترشيح Whatman no$_1$ ولإزالة خيوط المايسليوم ثم أجري الطرد المركزي باستخدام النبذ المركزي (Centervuge) وبسرعة (٢٠٠٠) دورة في الدقيقة ولمدة (١٠) دقائق للحصول على الراشح الفطري لاستخدامه وحفظ بدرجة (٤) م° لحين اجراء التجارب (Kohmoto *et al.*, 1979).

تأثير الراشح الفطري في نسبة انبات بذور الفجل Raphanus Sativus

اختبرت المقدرة الامراضية للفطريات المدروسة حسب طريقة (Sneh *et al.*, 2004) باستخدام بذور الفجل إذ حضر الوسط الغذائي Water Agar بتركيز (٢)% وصبت في اطباق بتري بقطر (٩) سم وبعد تصلبه أخذ قرص بقطر (٠.٥) سم من طرف مستعمرة بعمر (٥) أيام ولقح في وسط الطبق وحضنت في درجة حرارة (٢٥±٢) م° لمدة (٣) أيام ثم أخذت بذور الفجل وعقمت بالقاصر (هايبوكلورايد الصوديوم) ٢٪ بعد ذلك تم غسلها بماء مقطر للتخلص من بقايا القاصر ثم وضعت على ورق نشاف لغرض تجفيفها وزرعت بواقع (٢٠) بذرة لكل طبق دائرياً بالقرب من حافة المزرعة الفطرية بشكل دائري وأجريت التجربة بواقع (٣) اطباق لكل عزلة مع (٣) اطباق زرعت بذور فقط للمقارنة, حضنت الاطباق في درجة حرارة (٢٥±٢) م° لمدة (٩) أيام, وقد اعتمد انبات البذور في اطباق المقارنة بشكل كامل وتم تقيم شدة المرض باستخدام مؤشر شدة المرض Disease Severity Index (DIS) اذا يتراوح هذا المؤشر (٠–٥) إذ نأخذ معدل طول العفن الذي سببه الفطر بالساق لـ (٦٠) بادرة (٣ اطباق وكل طبق ٢٠ بذرة) لكل عزلة وحسب المقياس في ادناه

صفر-< ١ ملم= وهذا الرقم يمثل Aviruleatغير ممرض.

١– ٣ ملم= ٢ هذا الرقم يمثل Low uiruleat ضعيف الامراضية.

٣–< ٥ ملم = ٣ هذا الرقم يمثل Moderately viruleat متوسط الامراضية.

٥–< ٧ ملم= ٤ هذا الرقم يمثل Viruleat ممرض

٥=< ٧ ملم = ٥ هذا الرقم يمثل Strongly viruled شديد الامراضية.

ثم تم حساب نسبة الانبات لبذور الفجل حسب المعاملة الآتية:

اختبار ذبول الافرع

تم اخذ افرع حديثة القطع متجانسة للنباتات (جربيرا, فلكس, الباذنجان) وغرست نهايات الافرع المقطوعة في انابيب اختبار تحتوي على راشح من وسط جابك دوكس Czabek's Dox وبتركيز (١٠٠)% لمدة (٢٤-٤٨) ساعة في درجة حرارة المختبر وبواقع ثلاثة مكررات لكل معاملة ولكل مكرر يحتوي على فرع واحد أما معاملة المقارنة فقد غمرت الافرع بماء معقم (Yoder *et al.*, 1977).

اختبار النخرة الموضعية

تم وضع أوراق النباتات الثلاثة (جربيرا, الفلكس, الباذنجان) في اطباق زجاجية تحتوي على أوراق ترشيح مبللة بالماء المقطر وتم تعقيمها بالمؤصدة بواقع ثلاثة مكررات لكل راشح سمي لكل فطر ثم عملت وخزات لكل ورقة في مواقع مختلفة باستخدام ابرة معقمة وبعدها تمت إضافة راشح المزرعة الفطرية الى المواقع التي عملت لها وخزات وقد اضيف راشح فطر *Fusarium* الى نبات الباذنجان وراشح فطر *A. dianthi* الى أوراق نبات الفلكس وراشح فطر *A. altarnata* الى أوراق نباتات جربيرا ثم بعد ذلك حضنت الاطباق بدرجة حرارة (٢٥±٢) م° واخذت النتائج بعد (٢٨ -٧٢) ساعة بملاحظة اعراض الاصفرار وموت الانسجة في مناطق الوخز.

أما معاملة المقارنة فقد عوملت بالماء المقطر فقط (Yoder *et al.*, 1977).

تحديد طيف الامتصاص للاشعة الفوق البنفسجية لرواشح مستخلصات الفطريات المدروسة

حدد طيف الامتصاص للاشعة الفوق البنفسجية لمستخلص راشح الفطر *A.altarnata* و *A. dianthi* و *F.verticillioides* في وسط جابك دوكس Czabek's Dox باستخدام جهاز المطياف Spectophotometer نوع (Spectro UV-Vis Auto) ضمن الطول الموجي (٢٠٠-٤٠٠) نانوميتر وتم العمل في المختبر المركزي/ كلية الزراعة والغابات/ جامعة الموصل.

اجراء المسح لرواشح الفطريات باستخدام تقنية High Performance Liquid(HPLC)

اخذ راشح الفطريات الثلاثة المدروسة والتي سبق أن نميت على وسط جابك دوكس Czabek's Dox وتم اجراء المسح الكروماتوغرافي عالي الأداء High Performance Liquid Chromoatography(HPLC) . بالاعتماد على زمن الاحتباس (Retention time) ومساحة المنحنيات في كل راشح لسموم الفطريات الثلاثة المذكورة منفرداً ضمن الطول الموجي (230) نانومتر وتمت واجري العمل في المختبر المركزي في كلية الزراعة والغابات/جامعة الموصل.

النتائج والمناقشة

اختبار المقدرة الامراضية للعزلات الفطرية على انبات بذور الفجل مختبرياً

أظهرت نتائج اختبار المقدرة الامراضية على انبات بذور الفجل كما في الجدول (٤-١) إن جميع العزلات أعطت درجات متفاوتة في مؤشر شدة الامراضية (DSI) حسب ماوصفه (Sneh *et al.,* 2004) إذ حصلت عزلة الفطر *F.verticilloi* على (٦.٥) درجة وتلتها عزلة الفطر *A.dianthi* بمؤشر شدة الامراضية (٥.٢) درجة وتعني هذه الدرجات انها شديدة الامراضية. ثم حققت عزلة الفطر *A.alternata* 1 بدرجة (٤.١٢) درجة والتي كانت ممرضة بشكل واضح أما بقية العزلات فقد تفاوتت في شدة الامراضية وكان اقلها عزلة *A.dianthi* 1 محققة (٢.٨٥) والتي تدل على أنها ضعيفة الامراضية, وقد يعود السبب في ذلك الى الاختلاف في الظروف البيئية للنبات الذي عزلت منه العينات او الاختلاف في التركيب الوراثي للفطر او التفاوت في تحمل درجات الحرارة من (٨-٣٢) م° مما يسمح بانتشار الفطر بشكل واسع (Shankar, 2014), وكذلك تكرار زراعته في الأرض نفسها كل موسم من دون الاعتماد على طرائق الإدارة الصحيحة للأرض بسبب حصول تغاير للمسبب مما زاد من شراسة المسبب المرض في الإصابة, وكما أن الرش المتكرر للمبيدات الكيميائية جعل المسبب للممرض ينتج سلالات مقاومة, لذلك يصبح اكثر قوة في احداث المرض كما افاد (Thomas *et al.,* 2012), فضلاً عن قدرة المسبب العالية على التكيّف وقوة المرض في احداث المرض.

الجدول (١) اختبار المقدرة الامراضية للعزلات الفطرية على انبات بذور الفجل

ت	اسم الفطر	اسم العائل النباتي	DSI	الامراضية
.١	*A.dianthi*	نبات اريسيا	٢.٨٥	ضعيف الامراضية
.٢	*A.dianthi*	نبات الفلكس	٥.٢	شديد الامراضية
.٣	*A.alternata*	نبات الجربيرا	٤.١٢	ممرض
.٤	*A.alternata*	نبات الجمبد	٣.٨٤	متوسط الامراضية
.٥	*Fusarium solani*	نبات الفلفل الأخضر	٣.٢٨	متوسط الامراضية
.٦	*F.verticillioidess*	نبات الباذنجان	٦.٥	شديد الامراضية
.٧	المقارنة		٠.٦	غير ممرض

DSI=Disease Severity index

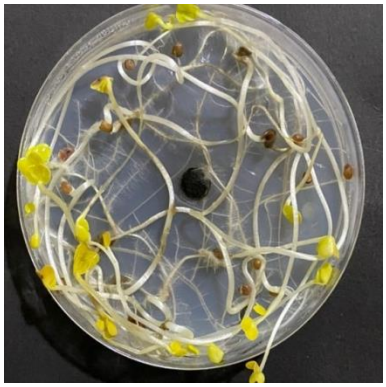
* وبناءً عليه تم اختيار العزلات *A.alternata* المعزولة من نبات جربيرا والعزلة *A.dianthi* المعزولة من نبات الفلكس والعزلة *F.verticillioidess* المعزولة من نبات الباذنجان

A.alternata

A.dianthi

*F.verticillioides*s

F.solani



A.dianthi

A.alternata

الشكل (١): اختبار المقدرة الامراضية للفطريات المدروسة على بذور نبات الفجل بعد ٧ ايام من التحضين

اختبار ذبول الافرع:

اخذت افرع حديثة القطع متجانسة لنبات الجربيرا والفيلكس والباذنجان وغرست نهايات الافرع المقطوعة في انابيب حاوية على الراشح السمي لوسط التشابك دوكس Gzapek Dox وبتركيز ١٠٠٪ لمدة ٢٤–٤٨ ساعة في درجة حرارة المختبر استعملت كل معاملة على ثلاثة مكررات وكل مكرر يحتوي على فرع واحد اما المعاملة للمقارنة فقد غرست افرعها بالماء معقمة فقط (إبراهيم, ١٩٩٦).

الشكل (٢): تاثير راشح الفطر *F.verticillioidess* في افرع نبات الباذنجان

الشكل (٣): تاثير راشح الفطر *A.dianthi* في افرع نبات الجربيرا

الشكل (٤): تاثير راشح الفطر *A.alternata* في افرع نبات فلكس

اختبار النخرة الموضعية

وضعت أوراق نباتات الجربيرا والفيلكس والباذنجان في اطباق بتري زجاجية حاوية على ورق ترشيح مبلل بماء مقطر وعقمت بجهاز الاوتوكليف وعلمت ثلاثة مكررات لكل راشح سمي من وسط تشابك دوكس Gzapek Dox وتم وخز كل ورقة في عدة مواقع باستخدام ابرة معقمة ثم اضيف راشح المزرعة الفطرية الى مواقع الوخز وتمت إضافة فطر *F.verticillioides* الى نبات الباذنجان وراشح فطر *A.dianthi* الى نبات الفيلكس واضافة راشح فطر *A. altarnata* الى ورق نبات الجربيرا حضنت الاطباق في درجة حرارة 25±2° وأخذت النتائج بعد ٢٨– ٧٢ ساعة لملاحظة اعراض الاصفرار وموت الانسجة في منطقة الوخز أما معاملة المقارنة فقد عوملت بالماء المقطر فقط (Lou *et al.*, 2013).

الشكل (٥): تأثير راشح الفطر *A.dianthi* في اختبار النخرة الموضعية لاوراق نبات الفلكس

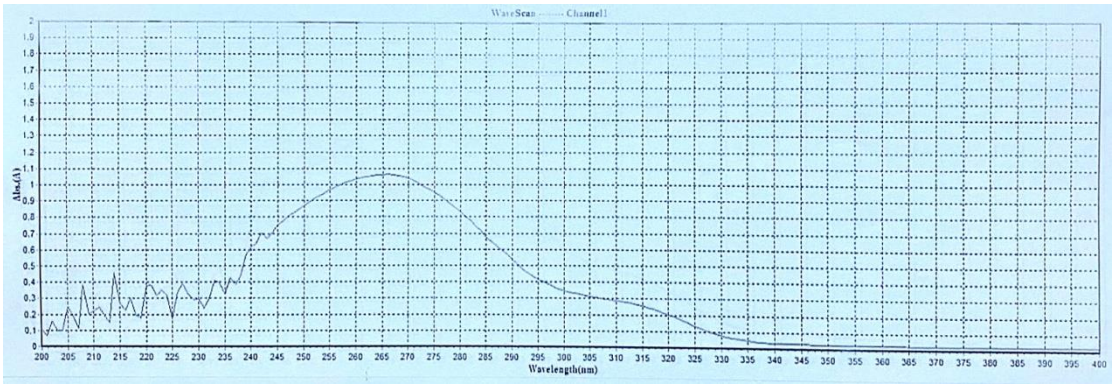
الشكل (٦): تأثير راشح الفطر *F.verticillioides* في اختبار النخرة الموضعية لاوراق نبات الباذنجان

الشكل (٧): تأثير راشح الفطر *A.alternata* في اختبار النخرة الموضعية لاوراق نبات **الجربيرا**

تحديد طيف الامتصاص لرواشح الفطريات من وسط جابك دوكسGzapek Dox

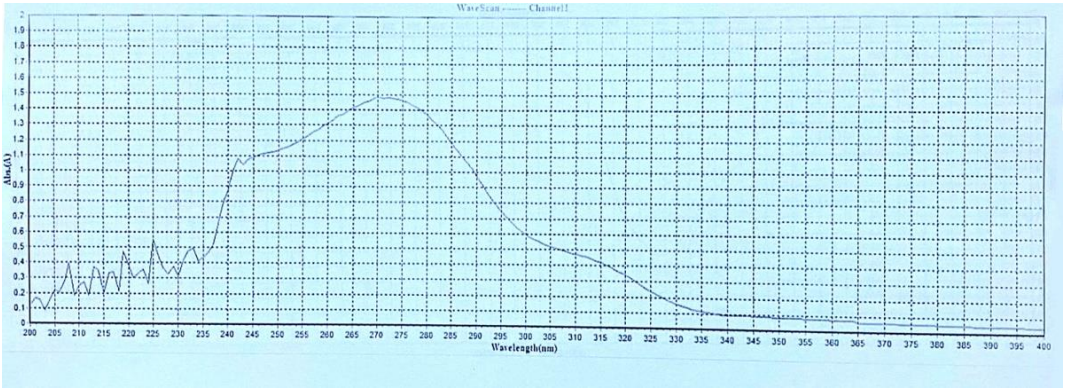
من نتائج تحليل جهاز الامتصاص Spectro UV-Vis نلاحظ من الشكل(٧) ظهور نتائج تحليل الجهاز لراشح الفطر *F.verticillioides* فقد ظهرت ذروتان (Peak), الذروة الأولى بالطول الموجي ٣٤٣ نانوميتر وقمة امتصاص ٠.١٧ اما الذروة الثانية فقد ظهرت بطول موجي ٦٦٥ نانوميتر وبقمة امتصاص ١.٠٥ اما نتائج تحليل جهاز Spectero للفطر *A.dianthi* كما في الشكل (٩) ايضاً ظهرت بذروتين, الأولى كانت بطول موجي (٢٤٢) نانوميتر وبقمة امتصاص (١.١) اما الذروة الثانية, فقد ظهرت بطول موجي (٢٧٠) نانوميتر وبقوة امتصاص (١.٥) اما نتائج تحليل الفطر *A.alternata* فقد أظهرت كما في الشكل (٤-١٠)

ظهور ذروتين, كانت الذروة الأولى (٢٤٢) نانوميتر وبقيمة امتصاص (٠.٨) اما الذروة الثانية فقد ظهرت بطول موجي (٢٧٣) نانوميتر وبقيمة امتصاص (١.٤٥).



الشكل (٨): نتائج تحليل طيف الامتصاص لراشح فطر *F.verticillioides*

الشكل (٩): نتائج تحليل طيف الامتصاص لراشح فطر *A.dianthi*



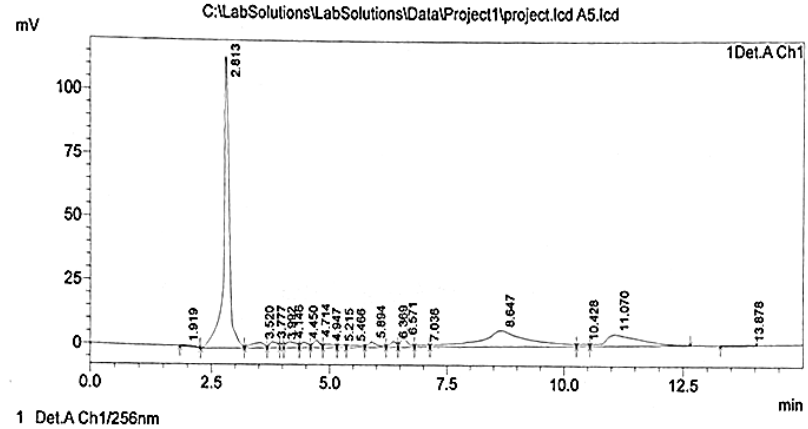
الشكل (١٠): نتائج تحليل طيف الامتصاص لراشح فطر *A.alternata*

التقدير الكمي لرواشح سموم الفطريات بتقنية الكروماتوكرافيا السائل عالي الكفاءة HPLAC

اظهرت نتائج التقدير الكمي لرواشح سموم الفطريات المدروسة أن راشح الفطر *F.verticillioides* له القدرة على انتاج سم (Fuminisin) كما في الشكل (١١) تبين ظهور ذروة واحدة (Peak) إذ بلغ زمن الاحتباس Retention time ٢.٨ دقيقة/ثانية بمساحة مئوية للمنحني بلغت ٤٧.٠٩٢٪ في حين بلغت مساحة المنحني ٩٥٥١٢٤ وظهر من الشكل أن زمن الاحتباس الخاص بالعينة مطابق لزمن الاحتباس الذي ظهر ٢.٧٨ دقيقة الخاص بالمحلول القياسي مما يدل على وجود سم Fuminisin في هذا الفطر

بتركيز ٠.٥ مايكروغرام/مل ولوحظ أن هذا الفطر قادر على انتاج السم بهذا التركيز في الظروف الطبيعية وهذه النتائج تتفق مع ما توصلت اليه دراسة (Fried and Duffy,1996).

أوضحت نتائج التقدير الكمي للسم Fuminisin المنتج من قبل الفطر *F.verticillioides* والتي أعطت اعلى شدة تألق بالمقارنة مع Fuminisin القياس وكان مقدار السم ٢٢.١ نانوغرام/٢٥مل (WHO-١٩٩٠)



PeakTable

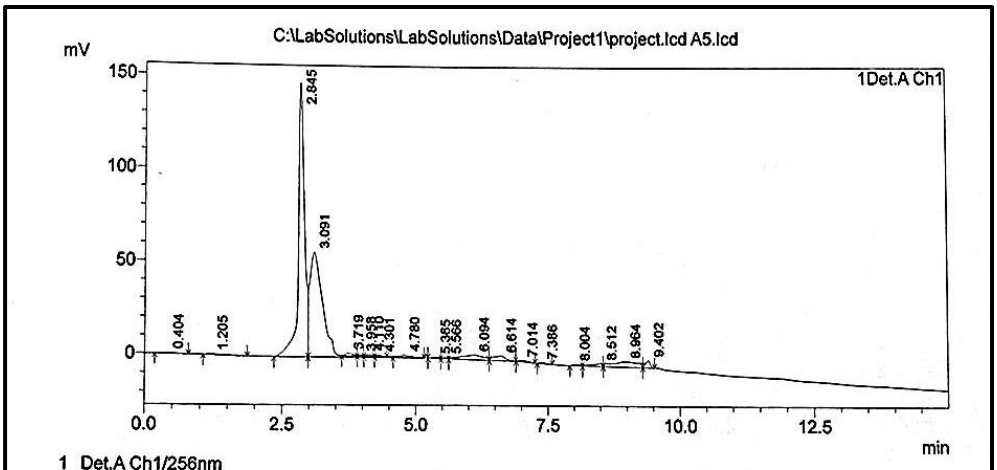
Detector A Ch1 256nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	1.919	7939	215	0.391	0.140
2	2.813	955124	115257	47.092	75.057
3	3.520	40004	2088	1.972	1.359
4	3.777	28376	2369	1.399	1.543
5	3.992	8683	1738	0.428	1.132
6	4.146	39363	2459	1.941	1.601
7	4.450	23682	2119	1.168	1.380
8	4.714	29902	2870	1.474	1.869
9	4.947	21322	1342	1.051	0.874
10	5.215	11336	993	0.559	0.647
11	5.466	19944	957	0.983	0.623
12	5.894	30806	2176	1.519	1.417
13	6.369	23522	2255	1.160	1.468
14	6.571	42868	3632	2.114	2.365
15	7.036	18611	990	0.918	0.645
16	8.647	468137	6433	23.081	4.189
17	10.428	16860	1010	0.831	0.658
18	11.070	239554	4596	11.811	2.993
19	13.878	2166	60	0.107	0.039
Total		2028198	153559	100.000	100.000

الشكل (١١): منحني الراشح المستخلص من فطر *F.verticillioides* المعزول من نبات الباذنجان والمقدر بتقنية كروماتوغرافيا السائل عالي الأداء HPLC.

أما بالنسبة للفطر *A.alternata* فقد تم تقدير السم Alternariol (AOH) كمياً ونوعياً باستخدام تقنية HPLC (Fried and Duffy, 1996).

ونتج منها رسم المنحني الخاص بالسم الذي ظهر بالذروة عند زمن احتباس ٢.٨٤ دقيقة. وظهر أن زمن الاحتباس الذي ظهر على Chromatogaram الخاص بالعينة مطابق لزمن الاحتباس ٢.٨١ دقيقة الخاص بمحلول القياس مما يدل على وجود AOH Alternaria بتركيز ١.٠ مايكرو غرام/مل، وكما في الشكل (١٢) ظهور ذروتين (Peak) لراشح سم الفطر اذ بلغ زمن الاحتباس للذروة الأولى ٢.٣٤ دقيقة/ثانية بمساحة مئوية للمنحني بلغت ٤٧.٢٤٩ في حين بلغ زمن الاحتباس للذروة الثانية والفطر ٣.٠٩ نفسه بمساحة مئوية للمنحني ٣٨.٦٥٧ في حين بلغت مساحة المنحني ٩٦٣٦٤١.



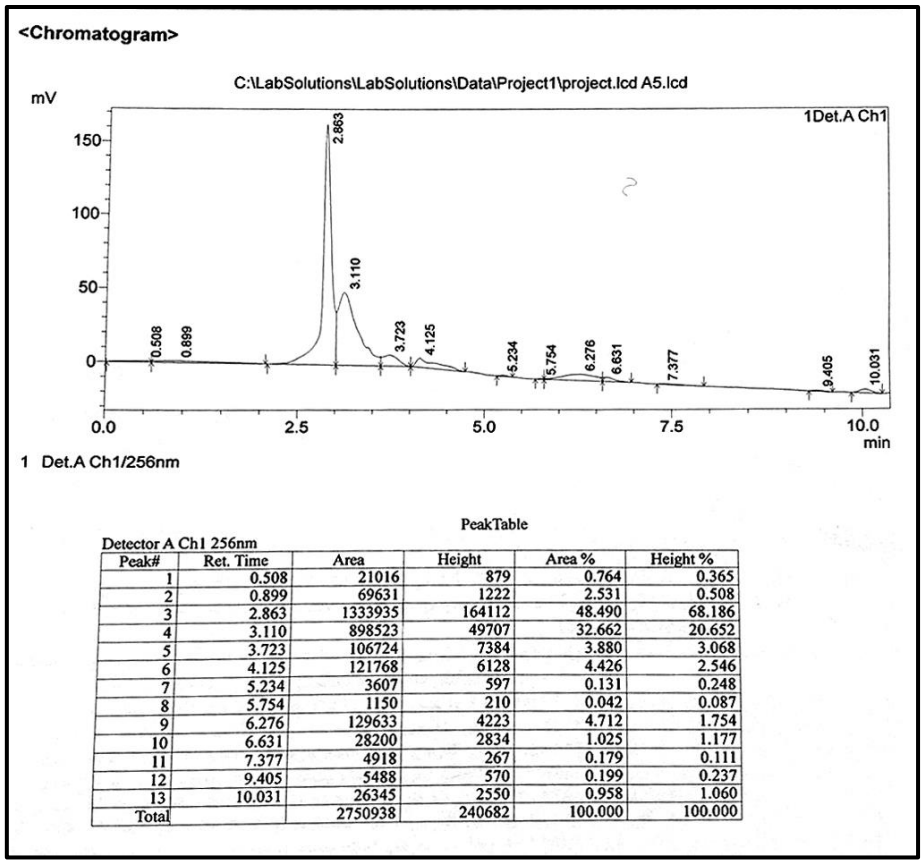
PeakTable

Detector A Ch1 256nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	0.404	5572	333	0.224	0.147
2	1.205	6223	340	0.250	0.150
3	2.845	1177822	147859	47.249	65.252
4	3.091	963641	56725	38.657	25.034
5	3.719	15594	1514	0.626	0.668
6	3.958	5438	757	0.218	0.334
7	4.110	9924	1055	0.398	0.465
8	4.301	6771	805	0.272	0.355
9	4.780	15861	1288	0.636	0.569
10	5.365	3633	362	0.146	0.160
11	5.566	4059	510	0.163	0.225
12	6.094	70376	2474	2.823	1.092
13	6.614	39130	2479	1.570	1.094
14	7.014	6396	629	0.257	0.277
15	7.386	3546	439	0.142	0.194
16	8.004	7898	767	0.317	0.338
17	8.512	23484	1456	0.942	0.642
18	8.964	101613	2861	4.076	1.263
19	9.402	25802	3944	1.035	1.741
Total		2492784	226595	100.000	100.000

الشكل (١٢): منحني الراشح المستخلص من فطر *A.altarnata* المعزول من نبات الجربيرا والمقدر بتقنية كروماتوغرافيا السائل عالي الأداء HPLC.

أما نتائج تحلل راشح الفطر *A.dianthi* فقد تبين ظهور ذروتين (Peak) لراشح الفطر في زمنين متصلين إذ بلغ زمن الاحتباس للذروة الأولى ٢.٨٦ بمساحة مئوية للمنحني بلغت ٤٨.٤٩٠ % في حين بلغت مساحة المنحني ١٣٣٣٩٣٥ أما زمن الاحتباس للذروة الثانية فقد بلغ ٣.١١ دقيقة/ثانية بمساحة مئوية للمنحني بلغت ٣٢.٦٦٢٪بمساحة منحني بلغت ٨٩٨٥٢٣.



PeakTable

Detector A Ch1 256nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	0.508	21016	879	0.764	0.365
2	0.899	69631	1222	2.531	0.508
3	2.863	1333935	164112	48.490	68.186
4	3.110	898523	49707	32.662	20.652
5	3.723	106724	7384	3.880	3.068
6	4.125	121768	6128	4.426	2.546
7	5.234	3607	597	0.131	0.248
8	5.754	1150	210	0.042	0.087
9	6.276	129633	4223	4.712	1.754
10	6.631	28200	2834	1.025	1.177
11	7.377	4918	267	0.179	0.111
12	9.405	5488	570	0.199	0.237
13	10.031	26345	2550	0.958	1.060
Total		2750938	240682	100.000	100.000

الشكل (١٣): منحني الراشح المستخلص من فطر *A.dianthi* المعزول من نبات فليكس والمقدر بتقنية كروماتوغرافيا السائل عالي الأداء HPLC.

الاستنتاجات

١- إن الفطريات المدروسة لها قدرة عالية على الامراضية

٢- امكانية الكشف عن السموم الفطرية لانواع الفطر *F.verticillioides* بوجود سم Fuminisin والنوع *A.alternatea* بوجود سم Alternariol (AOH).

المصادر

ابراهيم، بسا يحيى (١٩٩٦). دراسة امراضية وسمية الفطر *Alternari citri* على الحمضيات، رسالة ماجستير، كلية الزراعة والغابات، جامعة الموصل.

خلف، تماضر تركي والطائي، ورقاء سعيد قاسم. (٢٠٢١)، الفعالية التثبيطية للمستخلصات الكحولية لنباتات الكركم والبابونج وإكليل الجبل ضد بعض أنواع الفطر Fusarium المشخصة جزيئيا.رسالة ماجستير ،كلية العلوم ،جامعة الموصل ،العراق.

شهاب، نور أحمد والطائي، ورقاء سعيد قاسم (٢٠١٩). التحري عن الانواع المختلفة لفطر *Alternaria* المسببة لمرض تبقع الاوراق في بعض نباتات الزينة في مدينة الموصل. رسالة ماجستير، كلية العلوم، جامعة الموصل، العراق.

الطائي، ورقاء سعيد قاسم (٢٠٠٧). دراسة تصنيفية لانواع جنس *Alternaria* المسبب لمرض تبقع الاوراق وتهيئة موديل للسيطرة البايولوجية لمدينة الموصل، اطروحة دكتوراه، كلية العلوم، جامعة الموصل، العراق، ١٥٣ ص.

المعموري، علي حسين عبدالله (٢٠١٤)، تقييم المايكورايزا وعوامل احيائية اخرى في مقاومة بعض الفطريات المسببة لمرض تعفن جذور الباذنجان *Solanum melongena* L في محافظة بابل، جامعة الفرات الاوسط التقنية الكلية التقنية المسيب، العراق.

Attia, M. S.; Abdelaziz, A. M.; Al-Askar, A. A.; Arishi, A. A.; Abdelhakim, A. M. and Hashem, A. H. (2022). Plant growth-promoting fungi as biocontrol tool against fusarium wilt disease of tomato plant. Journal of Fungi, 8(8): 775.

Bahar, M., V., (2003). Misconceptions in biology education and conceptual change strategies. Educational Sciences: Theory & Practice, 3(1), 55-64.

Bottalico, A. and Logrieco, A. (1998). Toxigenic Alternaria species of Economic Importance. In: H.K. Sinha and D. Bhatnagar (eds.). Mycotoxins in Agriculture and Food Safety. Marcel Dekker, Inc. New York. pp. 65-108.

Colaniy, O. O., and Adebowale, O. (2017). Production and partial purification of beta-mannanase from Aspergillus niger associated with Ilaje Lake, Ondo State, Nigeria. *Journal of Bacteriology & Mycology: Open Access*, *5*(3), 281-285.

Dang, H.X., Pryor, B., Peever, T., and Lawerence, C.B. (2015). The Alternaria genomes database: acomprehensive resource for a fungal genus comparised of saprophytes, plant patHogans, and allergic species. *BMC* Genomics 16:239.

Ding. Kubátová and M. Melichar: (2018) "Post Processing of Roughness Raw Data", Solid State Phenomena, Vol. 278, pp. 15-22, 2018.

Fried, M., and Duffy, P. E. (1996). Adherence of Plasmodium falciparum to chondroitin sulfate A in the human placenta. Science, 272(5267), 1502-1504.

Kadem, B., and Hassan, A. (2015). The effect of fullerene derivatives ratio on P3HT-based organic solar cells. Energy Procedia, 74, 439-445.

Kohmoto, K; R.P. sheffer and J.O. whiteside. (1979). Host selective toxins from Alternaria Citri phytopathol. 69:661-671.

Lou, H., Wang, M., Lai, H., Lin, X., Zhou, M., Yang, D., and Qiu, X. (2013). Reducing non-productive adsorption of cellulase and enhancing enzymatic hydrolysis of lignocelluloses by noncovalent modification of lignin with lignosulfonate. Bioresource technology, 146, 478-484.

Mahapatra, D. K., Bharti, S. K., and Asati, V. (2015). Anti-cancer chalcones: Structural and molecular target perspectives. European journal of medicinal chemistry, 98, 69-114.

Sneh, B., Yamoah, E., and Stewart, A. (2004). Hypovirulent Rhizoctonia spp isolates from New Zealand soils protect radish seedlings against dampingoff caused by R solani. *New Zealand Plant Protection*, *57*, 54-58.

Thomas, M. K., Kremer, C. T., Klausmeier, C. A., & Litchman, E. (2012). A global pattern of thermal adaptation in marine phytoplankton. Science, 338(6110), 1085-1088.

Tien D.C., Tseng K.H., Liao C.Y., and T.T. (2008). Colloidal silver fabrication using the spark discharge system and its antimicrobial effect on Staphylococcus aureus. Med. Eng. Phys. 30:948-952.

World Health Organization. (2015). Trends in maternal mortality: 1990-2015: estimates from WHO, UNICEF, UNFPA, World Bank Group and the United Nations Population Division. World Health Organization.

Yoder, O.C.; G.A. Gregory and V.E Grescen (1977). Bioassay for detection and quantification of Helminthosporium Maydis race T. toxin a Comparison. Physiological Plant Pathology 10:232-245.

Zhang Q., Li N., Goebl J., Lu Z., and Y. (2011). A systematic study of the synthesis of silver nanoplates: Is citrate a "magic" reagent? J. Am. Chem. Soc. 133:18931-18939.