# Evaluation The Ability Of Alcoholic Extract Of Pomegranates Husks To Control Early Blight Disease On Tomato

# تقييم كفاءة المستخلص الكحولي لقشور الرمان في السيطرة على مرض اللفحة المبكرة لمحصول الطماطة

م. فاضل سامي زغير
قسم التحليلات المرضية / المعهد التقني/بابل – هيئة التعليم التقني

## Abstract

This study was implemented to evaluate alcoholic extract of pomegranates husks against the causal agent of early blight disease on tomato *A.solani* under laboratory and field conditions.

The results showed that the inhibition percentage was increased significantly with raising concentration. Effected Dosge ($ED_{50}$) was 0.06% and the Minimum Concentration Induce Complete Inhibition And Visible Growth (MIC) was 0.12% for alcohol extraction consequently.

In field experiment the alcoholic extract at 0.12% concentration gave significant reduction in disease percentage and disease intensity 4.31, 1.96% consequently with control treatment 33.78, 17.93% consequently.

## الخلاصة

تضمنت هذه الدراسة تقييم لكفاءة المستخلص الكحولي لقشور الرمان في السيطرة على مرض اللفحة المبكرة على الطماطة المتسبب عن الفطر *Alternaria solani* مختبرياً وحقلياً.

أوضحت النتائج أن هناك زيادة معنوية في النسبة المئوية لتثبيط نمو الفطر *Alternaria solani* مع زيادة تركيز المستخلص الكحولي لقشور الرمان حيث اختزل التركيز 0.06% نصف الجماعة السكانية (Effected Dosge ( $ED_{50}$ ومثل التركيز 0.12% اقل تركيز مثبط (Minimum Concentration Induce Complet Inhibition And (MIC Visible Growth للمستخلص.

اما حقلياً فقد حقق المستخلص الكحولي وبتركيز 0.12% خفضا معنوياً لنسبة وشدة الاصابة اذ بلغتا 4.31 و1.96% على التوالي مقارنةً بمعاملة السيطرة التي بلغتا فيها 33.78 و 17.93% على التوالي.

## المقدمة

تعد معظم المبيدات الكيميائية الفطرية ملوثة للبيئة وسامة للإنسان والحيوانات ومؤثرة بشكل سلبي في أحياء التربة الأخرى، وبالنظر لزيادة عدد السلالات الفطرية المقاومة لفعل المبيدات الكيميائية إضافة إلى تردي كفاءة قسم منها فقد دفع هذا ألامر ببعض المؤسسات الزراعية والبحثية إلى إيجاد حلول بديلة ، عن طريق استخدام النواتج الطبيعية للسيطرة على مسببات الأمراض النباتية [1 و2]. حيث كان لاستعمال المستخلصات النباتية الجانب الكبير من اهتمام الباحثين في مكافحة العديد من مسببات أمراض النبات الفطرية، لما تحتويه هذه المستخلصات من مركبات فعالة ذات صفات مرغوبة بيئياً كتحللها السريع وسميتها القليلة للبائن وتخصصها العالي [3] ، ويعد نبات الرمان *Punica granatum* الذي ينتمي إلى العائلة الرمانية Punicaceae واحداً من النباتات التي استخدمت قديماً لأغراض علاجية ودباغية وغيرها [4].

ولغرض الاستفادة من النواتج الطبيعية الموجودة في نبات الرمان كبديل لبعض المبيدات الكيمياوية وتوظيفها طبيعياً في السيطرة على مسببات الامراض النباتية فقد هدفت الدراسة إلى تقييم كفاءة المستخلص الكحولي لقشور الرمان على نمو الفطر *A.solani* كذلك امكانية السيطرة على مرض اللفحة المبكرة لمحصول الطماطة المتسبب عن هذا الفطر حقليا.

## المواد وطرائق العمل

### المسح الميداني

اختيرت مزرعة الشيخ صالح الشبيب بشكل عشوائي من مزارع نبات الطماطة الواقعة على طريق كربلاء- الرزازة (موسم عام 2010) لأجراء المسح الميداني لمعرفة نسبة وشدة الإصابة بمرض اللفحة المبكرة لهذا المحصول. اذ بلغت المساحة المزروعة لهذه المزرعة حوالي 5 دوانم قسمت إلى خمسة أقسام مربعة ومتساوية تقريباً حيث قدرت مساحة كل مربع من هذه المربعات بالدونم وهذا القسم بدوره مقسم إلى مشاعيب طول كل مشعاب حوالي 45-50 متر وبواقع 30-40 مشعاباً للدونم .

أختيرت ثلاثة مشاعيب من الجانب الايسر ومثلها من الجانب الأيمن للمزرعة وحُسبَ فيها العدد الكلي للنباتات المزروعة (والتي كانت بعمر 6 اسابيع) وعدد النباتات التي ظهرت عليها أعراض الإصابة بالمرض. جمعت الأعداد الكلية للنباتات المزروعة والنباتات المصابة ولكل المزرعة وحسبت نسبة الإصابة بالمرض حسب المعادلة التالية:

$$\text{نسبة الإصابة\%} = \frac{\text{عدد النباتات المصابة}}{\text{عدد النباتات الكلي}} \times 100$$

كما وحسبت شدة الإصابة بالمرض وذلك بعمل مفتاح مكون من خمس درجات حسب طريقة [5] والموضحة في ادناه:-

1- الاوراق سليمة = 0
2- الاوراق التي اتلفت الاصابة 1-25 % من انسجتها =1
3- الاوراق التي اتلفت الاصابة 26- 50% من انسجتها =2
4- الاوراق التي اتلفت الاصابة 56-75 % من انسجتها = 3
5- الاوراق التي اتلفت الاصابة 76-100 % من انسجتها = 4

وتم حساب النسبة المئوية لشدة الاصابة حسب المعادلة التالية [6] :-

$$\text{شدة الإصابة (\%)} = \frac{\text{عدد النباتات من الدرجة صفر} \times \text{صفر} + \ldots\ldots\ldots\ldots + \text{عدد النباتات من الدرجة 4} \times 4}{\text{عدد النباتات الكلي} \times 4} \times 100$$

### عزل الفطر *A.solani*

أخذت نباتات طماطة ظاهرة عليها أعراض الإصابة بمرض اللفحة المبكرة، غسلت بالماء المقطر المعقم لمدة عشر دقائق ونشفت بورق النشاف ونقلت ( اجزاء صغيرة من الاوراق التي ظهرت عليها الاصابة ) بواسطة الملقط إلى أطباق بتري حاوية على الوسط الزرعي P.D.A. (potato dextrose agar) المضاف إليه المضاد الحيوي امبسلين بواقع 400 ملغم/ لتر وزرعت أربعة أجزاء نباتية في كل طبق وبثلاثـــــة مكررات. حضنت جميع الأطباق في درجـــــة حرارة25±2 مْ وتم ملاحظة النموات الفطرية بعد يومين إلى أربعة أيام. نقيت الفطريات النامية في الأطباق وزرعت على وسط P.D.A. وحضنت في نفس درجة الحرارة للحصول على مستعمرات الفطر وبشكل نقي .

### تشخيص الفطر

جرى الحصول على عزلات الفطر *A.solani* من الأجزاء النباتية المصابة، حيث تم تنميتها على وسط P.D.A وتنقية الفطر في مزارع نقية Pure Culture وتشخيصه على مستوى النوع من خلال الفحص المجهري واعتماداً على الوصف الأصلي الذي أورده [7] وعلى الصفات التصنيفية التي ذكرها [8 و 9 و10]

### اختبار القابلية الامراضية للفطر

بعد ان حضر لقاح الوسط الزرعي P.D.A ، صب في اطباق بتري معقمة قطرها 9 سم لقح مركز كل طبق بقرص قطره 1سم للفطر *A.solani* وبعد سبعة ايام من نمو المزرعة الفطرية على درجة حرارة 25 م ، ثم حضر لقاح الفطر وذلك بوضع 25 مل ماء مقطر معقم ثم جمع العالق الفطري في قمع نظيف للحصول على 300 مل لقاح الفطر وبعدها عوملت النباتات المعدة مسبقاً والمزروعة في اصص بلاستيكية قطر 25 سم وبثلاث مكررات للمعاملة ومثلها للمقارنة وباستخدام مرشة يدوية سعة 1 لتر، تمت المعاملة بواقع 100 مل لكل اصيص ومع المتابعة يومياً لحين ظهور اعراض الاصابة اعقب ذلك اجراء عزل رجعي للتأكد من نوع الفطر المسبب للمرض.

### تحضير المستخلص الكحولي لقشور ثمار الرمان

أخذت كمية 50 غم من قشور ثمار الرمان *P.gramatum* وقطعت إلى قطع صغيرة جداً، وضعت في دورق زجاجي نظيف ثم أضيف إليها 100 مل كحول أثيلي 80% وتركت في درجة حرارة المختبر لمدة 24 ساعة، رشح المستخلص باستعمال قطع من الشاش النظيف مع تكرار عملية الترشيح، ركز الراشح الناتج من عملية الاستخلاص بتركه في درجة حرارة المختبر ولعدة أيام

للتخلص من المذيب وتم الحصول على سائل كثيف القوام بعدها ترك ليجف تماماً. حفظ في قنانٍ زجاجية معلمة ومحكمة الغلق ووضع في الثلاجة لحين الاستعمال[11].

### اختبار تأثير المستخلص الكحولي لقشور ثمار الرمان في تثبيط نمو الفطر *A. solani* مختبرياً.

تم تحضير تراكيز مختلفة من المستخلص الكحولي لقشور الرمان المعد للاختبار، حضر المحلول الاساسي من المستخلص بتركيز 2% باذابة 2 غرام من المستخلص في 90 مل من الماء المعقم المقطر وبعد تجانس المحلول اكمل الحجم الى 100 مل ثم حضرت التراكيز 0.05 ، 0.06 ، 0.07 ، 0.09 ، 0.10 ، 0.12% بأخذ 2.5 ، 3.0 ، 3.5 , 4.5 ، 5.0 ، 6.0 مل من هذا المحلول وأضيفت إلى 97.5 ، 97.0 ، 95.5 ، 96.5 ، 95.0 ، 94.0 مل من الوسط الزرعي PDA على التوالي لاختبار فعالية المستخلص ضد الفطر الممرض *A.solani* وحضر وسط زرعي أخر بدون إضافة المستخلص إليه. صبت الأوساط الزرعية في أطباق بتري وبعد التصلب لقح مركز كل طبق بقرص 1سم للفطر الممرض أعلاه مع معاملة المقارنة والتي لم تتضمن إضافة المستخلص وبواقع ثلاثة مكررات لكل معاملة [12].

حضنت جميع الأطباق في درجة حرارة25 ±2 مْ وبعد 5 أيام حسبت النسبة المئوية للتثبيط حسب المعادلة التالية [13]

$$\text{النسبة المئوية للتثبيط\%} = \frac{\text{معدل قطر مستعمرة المقارنة} - \text{معدل قطر مستعمرة المعاملة}}{\text{معدل قطر مستعمرة المقارنة}} \times 100$$

### التجربة الحقلية

لبيان تاثير المستخلص الكحولي بتركيز 0.12% لثمار الرمان في خفض نسبة وشدة الاصابة لنباتات نفس الحقل التي حسبت لها نسبة وشدة الاصابة مسبقاً (بعمر 6 اسابيع) استخدمت في هذه التجربة المرشة اليدوية سعة 1 لتر ولمرتين بفاصل زمني عشرة ايام بين رشة واخرى.

### التحليل الإحصائي

استعمل التصميم العشوائي التام Complete Random Design (CRD) في التجارب المختبرية. أما في التجربة الحقلية فقد استعمل تصميم القطاعات العشوائية الكاملة Random Complete Blocks Design (R.C.B.D). حللت النتائج وقورنت المتوسطات الحسابية باختبار أقل فرق معنوي Least Significant Difference (LSD) تحت مستوى معنوي 0.05 [14].

## النتائج والمناقشة

### نسبة وشدة الاصابة

من خلال الزيارة الميدانية لمزارع الطماطة في صحراء كربلاء تبين أن المرض واسع الانتشار وبلغت نسبة الإصابة وشدة الإصابة في مزرعة الحاج صالح الشبيب 35.62 و 18.49% على التوالي ولذلك عد المرض على أنه من الأمراض المهمة التي تصيب الطماطة.

### تشخيص الفطر *A.solani*

بعد الحصول على عزلات الفطر *A.solani* من الأجزاء النباتية المصابة، والتي تم تنميتها على وسط P.D.A وتنقية الفطر في مزارع نقية Pure Culture اوضحت نتائج دراسة الصفات المظهرية للمستعمرات والصفات المجهرية والتشخيصه ووفق المفاتيح التصنيفية اعلاه ان العزلة كانت عائدة للفطر *A.solani*

### اختبار تأثير المستخلص الكحولي لقشور ثمار الرمان في تثبيط نمو الفطر *A. solani* مختبرياً.

يوضح الجدول رقم (1) أن هناك فروقات معنوية واضحة عند مستوى 0.05 في تأثير تراكيز مختلفة من المستخلص الكحولي لقشور ثمار الرمان في تثبيط النمو الشعاعي للفطر الممرض *A.solani* على الوسط الزرعي P.D.A، حيث أظهر التركيز 0.12% نسبة تثبيط بلغت 100% وقد مثل هذا التركيز اقل تركيز مثبط (MIC) Minimum Concentration Induce Complet Inhibition And Visible Growth وأتضح أن التركيز 0.06 % كان يمثل الجرعة مؤثرة على نصف الجماعة السكانية Effected Dosge ($ED_{50}$) في حين تراوح تأثير بقية التراكيز ما بين 50-100% للمستخلص الكحولي لقشور الرمان في تثبيط النمو الشعاعي الفطر*A.solani* .

| التركيز % | معدل قطر المستعمرة(سم) | نسبة التثبيط % |
|---|---|---|
| 0.05 | 5.0 | 44.4 |
| *0.06 | 4.6 | 48.8 |
| 0.07 | 3.7 | 58.8 |
| 0.09 | 2.5 | 72.2 |
| 0.10 | 1.0 | 88.8 |
| **0.12 | 0.0 | 100.0 |
| 0.0 (المقارنة ) | 9.0 | 0.0 |
| L.S.D عند مستوى 0.05 | 0.34 | 4.31 |

جدول رقم (1) تأثير تراكيز مختلفة من المستخلص الكحولي لقشور ثمار الرمان في تثبيط نمو الفطر *A.solani*

كل رقم في الجدول يمثل معدل ثلاثة مكررات.

$ED_{50}$ *
MIC **

ان قدرة قشور الرمان او مستخلصه الكحولي في تثبيط نمو الفطر يعود الى احتواءها على العديد من المواد التي يمكن ان تعد مضادات فطرية اومضادات لبعض الخمائر والطفيليات ومن هذه المواد هي
Punicin : Pelletierine و Isopelletierine : Pseudopelletierine و Methylispelle وGranatin و Tannin و Fruite peel tannin وMucilage و Resin sugar إضافة إلى Invert-sugar وEnzyme malic acid و Citric acid [15].

ويعتقد أن من بين أكثر هذه المواد تأثيراً في تثبيط نمو الفطريات هو التانين الذي يعدّ مادة طبيعية موجودة في العديد من النباتات ومنها الرمان وهو ذو لون أحمر ويعدّ مضاداً فطرياً قوياً جداً في مقاومة العديد من الممرضات [16].

وتأتي هذه النتائج متفقة مع ما وجده [17] من أن المستخلص الكحولي الخام والمستخلص المائي ومستخلص أثير الأسيتون للتانين قد ثبط أنواع جنس الـ *Candida* ومنها *C.albicans* و *C.parapsilosis* و *C.tropicalis* و *C.krusei* وبتركيز (1000µg/ml) ولجميع هذه الأنواع ونسبة تثبيط بلغت 100%.

ولما كان الاعتقاد بأن التانين هو ذو الفعالية العالية في تثبيط نمو الفطريات [16] ولقابلية هذه المادة على الذوبان بالكحول فقد أدى المستخلص الكحولي نتائج جيدة وبتراكيز واطئة مقارنةً بما وجده [4] من المستخلص المائي لقشور الرمان ادت الى تثبيط نمو الفطر *A.solani* بنسبة 100% عند التركيز 10%.

## تأثير المستخلص الكحولي لقشور الرمان في خفض نسبة وشدة الإصابة حقلياً.

يتضح من الجدول رقم (2) ان لمعاملة الرش بالمستخلص الكحولي لقشور الرمان وبتركيز 0.12% تأثير معنوي في خفض نسبة وشدة الإصابة حقلياً حيث بلغتا 32.43 و18.27% قبل المعاملة وصولاً الى نسبة خفض بلغت 13.87 و 6.55% بعد المعاملة الاولى و4.31 و 1.96% بعد المعاملة الثانية وعلى التوالي.

وتاتي هذه النتائج متفقة مع ما توصل اليه [18] من هناك قدرة عالية لمسحوق قشور ثمار الرمان في تثبيط نمو العديد من مسببات امراض النباتات الفطرية ومنها الفطرين *P.aphanidermatum* و *F.solani* حقلياً حيث أثر وبشكل معنوي في زيادة النسب المئوية لإنبات بذور الطماطة كذلك خفض النسبة المئوية لموت بادراتها ولمعاملة كلا الفطرين وهذا ما يؤكد ان للنواتج الطبيعية لقشور الرمان قدرة في السيطرة على مسببات الامراض النباتية ومنها الفطر *A.solani* ليس مختبرياً فقط وانما حقلياً وبتراكيز واطئة جداً ومن الممكن الاستفادة منها في مجال البحث عن بدائل المبيدات الكيميائية.

| المعاملات | نسبة الإصابة% | شدة الإصابة% |
|---|---|---|
| قبل المعاملة | *32.43 | * 18.27 |
| بعد الرشة الأولى | 13.87 | 6.55 |
| بعد الرشة الثانية | 4.31 | 1.96 |
| السيطرة | * 33.78 | * 17.93 |
| L.S.D. | 4.33 | 2.16 |

جدول رقم (2) تأثير تركيز 0.12% للمستخلص الكحولي لقشور الرمان في خفض نسبة وشدة الإصابة المتسببة عن الفطر *A.solani* حقلياً.

كل رقم في الجدول يمثل معدل ثلاثة مكررات.
* تشير الى عدم وجود فرق معنوي بين المعاملات.

وعلى ضوء ما تقدم يتضح ان مرض اللفحة المبكرة لمحصول الطماطة منتشر في مزارع كربلاء الصحراوية ويعد الفطر *A.solani* المسبب الرئيسي للمرض. كما اكدت النتائج كفاءة النواتج الطبيعية الايضية لقشور الرمان في تثبيط نمو الفطر *A.solani* وبالتالي السيطرة على مرض اللفحة المبكرة لمحصول الطماطة. وعليه يمكن اعتماد النواتج الطبيعية لقشور ثمار الرمان كبديل للمبيدات الكيميائية في السيطرة على مرض اللفحة المبكرة لمحصول الطماطة المتسبب عن الفطر *A.solani* بتركيز لا يقل عن 0.12% ودراسة المجاميع الفعالة لنواتج قشور الرمان كذلك دراسة امكانية انتاجها تجارياً والتأكد من كفاءة النواتج الطبيعية الايضية لقشور الرمان في السيطرة على مسببات امراض نباتية اخرى.

**المصادر**


1- Taylor, R.J.; B. Solani; G.A. Secor; V. Rivera and N.C. Gudenestad. 2002. Sensitivity of north American isolated of *Phytophthora erythoroseptica* and *pythium ultimum* mefooxam (metalaxyl). Plant Dis. 86: 797-802.

2- Montealegre, J.R.; R. Reyes; L.M. Perez; R. Herrera; P. silva and X. Besoain. 2003. Selection of bioantagonistic bacteria to be used in biological control of *Rhizoctonia solani* inb tomato. Enviro. Biotechnol, 6: 1-8.

3- Lokendra, C. and B. Sharma. 1978. Antifungal properties of some plant extracts. Geobios. 5: 186-190.

4- مجيد، قيثارة رشيد والشطي، صباح مالك حبيب. 2005. تأثير الفعالية التضادية لبعض المستخلصات المائية على نمو بعض الأحياء المجهرية. مجلة التقني. المجلد (18). العدد 3: 1-10.

5- Horsfall.J.G. and Heuberger,J.W.1945 . Measuring magnitude of a defoliation disease of tomatoes Phytopathology ,32:226-232 .

6- Mckinney, H.H. 1923. Influence of soil temperature and moisture on infection of wheat by *Helminthosporium sativum*. J. Agric. Research, 26 : 195 – 219.

7- Holliday, P. 1989. A dictionary of plant pathology Cambridge University Press. 369 pp.

8- Alexopoulas, C.J. ; C.W. Mims and M.Blackwell. 1996. Introdaction Mycology, 4th Ed. ,869 pp. John Wiley and sons , New York.

9- Barnett, H.L. and B.B. Hunter. 1973. Illustrated genera of imperfect fungi. 240 pp.

10- Kirk P. M., Cannon P. F., David J. C., Stalpers J. A. 2001. Ainsworth & Bisby's dictionary of the fungi. Ninth Edition. CAB International.

11- Harborne, J.B. 1973. Y. Phytochemical methods. Champman and Hal., London, New York. Pp. 273.

12- الجبوري، حرية حسين شهاب. 2002. تأثير استخدام معيق النمو كلتار Cultar وبعض المستخلصات النباتية على إصابة نباتات الباقلاء بمسببات تعفن الجذور. رسالة ماجستير، كلية الزراعة، جامعة بغداد.

13- Abbot, W.S. 1925. A method of computing the effectsrness of an insecticide,. J. Ent., 18: 264-265.

14- الراوي، خاشع محمود وعبدالعزيز خلف الله. 1980. تصميم وتحليل التجارب الزراعية. دار الكتب للطباعة والنشر، جامعة الموصل.

15- Al-Rawi, A. and H.L. Chakravarty. 1964. Medicenal plant of Iraq. Government press, Baghdad. 109 pp.

16- Latte, k.P. and H. Kolodziey. 2000. Antifungal effects of hydrolysable and related compound on *dermatophytes*. Mold fungi. Institute for phormacie, pharma zeutisch Biology, freie Unversitat Berlin., Germany.

17- Sanches, A.C.C.; G.C. Lopes; C.V. Nakamura; P.D. Filho and J.C.P. Mello. 2005. Antiaxidant and antifungal activities of extract and condensed tannins from *stryphnodendron obovatum*.

18- زغير، فاضل سامي وعبد علي عبيد عبيس واحمد حميد رشيد.2010. تأثير مسحوق قشور الرمان في تثبيط نمو الفطرين *Pythium aphanidermatum* و *Fusarium solani* المسببين لتعفن البذور وموت بادرات الطماطة. مجلة جامعة بابل المجلد الثامن عشر العدد الثاني.