Effect of *Lawsonia inermis* leaves extracts on the fungus *Rhizoctonia solani*

تأثير مستخلص أوراق نبات الحناء *Lawsonia inermis* على فطر *Rhizoctonia solani*

م . م . سارا حمود عبد الأمير
جامعة كربلاء – كلية التربية / قسم علوم الحياة

الخلاصة :

تم في هذا البحث دراسة تأثير مستخلص أوراق نبات الحناء الكحولي والأسيتوني على نمو فطر *Rhizoctonia solani* ، الممرض للنبات إذ أظهرت الحناء فاعلية تثبيطية عالية ضد الفطر ولكافة التراكيز المستخدمة وقد ازداد التأثير بزيادة التركيز . وقد استخدمت ثلاث تراكيز وهي (8 ، 10 ، 12) ملغم / مل وقد تفوق التركيز 12 ملغم / مل على التركيزين السابقين إذ احدث تثبيطاً كاملاً في نمو الفطر ، فقد بلغت نسبة التثبيط 100% . أي بمعنى انه عند ازدياد التراكيز تزداد نسبة التثبيط وينخفض معدل قطر مستعمرة تلك الفطريات.

Summary :

We studied the effect of Acetate and ethyl *Lawsonia* leaves extracts on growth of the fungus *Rhizoctonia solani* which caused disease to the plant , the *Lawsonia* showed high inhibition activity on this fungus at all the concentrations and the effect increased with increased the concentrations .Three concentrations used (8,10,12) mg/ml , the concentration 12 mg / ml was superior on the concentrations (8,10) mg / ml this concentration showed completely inhibition in growth of this fungus and the inhibition percentage was 100 % . So the inhibition percentage increased with increased the concentrations and the average of colony growth reduced .

المقدمـــــة Introduction

إن الاستخدام الواسع للمركبات الكيميائية في مكافحة الأمراض النباتية وخصوصاً المبيدات الفطرية لها تأثير كبير على صحة الإنسان والحيوان ، إذ وجد إنها تسبب الكثير من التأثيرات البايلوجية الغير مرغوب بها كالتسرطن Carcinogenesis وغيرها , لذا فقد انصب الاهتمام في السنوات الأخيرة إلى الاستعانة بالمبيدات الحيوية Biopesticides بدلاً من المبيدات الكيمياوية ومن أهمها تلك التي تستخدم فيها المنتجات الطبيعية التي ينتجها النبات ، فقد أظهرت المستخلصات النباتية فعالية كبيرة ضد العديد من الممرضات النباتية وخاصة الفطريات (1) .

وقد أشارت العديد من الدراسات فاعلية المستخلصات النباتية في مكافحة المسببات المرضية لأمراض النباتات ، ففي دراسة قام بها (2) ، أشاروا إلى فاعلية مستخلصات نباتات الحنة *Lawsonia alba* والنعناع الفلفلي *Mentha piperta* واليوكالبتوس *Eucalyptus citriodora* في التأثير على بعض الفطريات الممرضة للنبات وهي *Alternaria brassica* و *Colletotrichum* spp. و *Helminthosporium* spp.

كما أشار (3) ، إلى كفاءة فاعلية مستخلص بذور الحرمل ضد فطر *Mauginiella scaettae* المسبب لمرض خياس طلع النخيل .

وفي دراسة أخرى قام بها (4) لدراسة فاعلية عدد من المستخلصات النباتية ضد فطري *Rhizoctonia solani* و *Fusarium solani* المسببة لمرض موت البادرات ، إذ لوحظ فاعلية تلك المستخلصات في إحداث تثبيطاً كاملاً لتلك الفطريات عند بعض التراكيز عند دراستها مختبرياً .

يعتبر فطر *Rhizoctonia* من الفطريات المهمة التي تهاجم النباتات مسببة لها امراضاً عديدة اذ يعيش هذا الفطر بصورة رئيسية متطفلا على الجذور والاجزاء النباتية الاخرى التي تقع تحت سطح التربة (5). ومن أهم الأمراض التي يسببها هذا الفطر موت البادرات Damping-off واللفحة او تبقع الاوراق Foliage blight or spots وتشقق الساق في النباتات الصغيرة Seedling stem canker وتبقع الجذور Root lesions وتعفن الجذور والساق وغيرها من الأمراض التي تصاب بها النباتات في الحقل ، كذلك يهاجم الاجزاء النباتية مسبباً لها التعفن اثناء الخزن مسبباً خسائر كبيرة في المحاصيل (6) .

ومن أهم انواعه *Rhizoctonia solani* . اذ يعرف الطور اللاجنسي لهذا الفطر بالرايزوكتونيا ويعني قاتل الجذور , حيث يتواجد في التربة العضوية وعلى بقايا النباتات المصابة بهيئة غزل فطري واجسام حجرية Sclerotia الى مدة زمنية غير محددة , يصيب هذا الفطر مدى واسع من النباتات المضيفة كالخضروات والمحاصيل الحقلية والأشجار ويسبب امراضاً عديدة ومنها سقوط البادرات وتعفن الجذور واللفحة وتسوس الساق وتعفن الثمار وغيرها0(7) ومن الأمراض المهمة التي يسببها مرض القشرة السوداء في البطاطس Black scurf إذ يسبب هذا المرض انخفاضاً في معدلات نمو تلك النباتات فضلا عن ظهور النبات بمظهراً مشوهاً إذ تبدو الدرنات متشققة ومتصدعة بالاضافة لظهور القشرة السوداء على سطح الدرنات مما يسبب انخفاضا في كمية المحصول. (8).

لذلك ولأهمية المستخلصات النباتية في مكافحة العديد من مسببات الأمراض النباتية فقد هدفت الدراسة إلى :-

- اختبار فاعلية مستخلص أوراق نبات الحناء ضد فطر *Rhizoctonia solani* المسبب لمرض القشرة السوداء في البطاطس.

المواد وطرائق العمل Materials & Methods

اولاً / عزل الفطر *Rhizoctonia solani*.

جلبت عينات من البطاطا المصابة بمرض القشرة السوداء , كشطت القشرة الحاوية على الاصابة وذلك باستخدام مشرط معقم وعقمت سطحيا باستخدام محلول هايبو كلوريت الصوديوم بتركيز 10% لمدة دقيقتين ثم غسلت بالماء المقطر المعقم وجففت بأستخدام أوراق ترشيح ثم زرعت على اطباق بتري حاوية على وسط P.D.A بواقع اربع قطع في كل طبق وبمعدل ثلاث مكررات ، ثم حضنت الاطباق جميعها في الحاضنة تحت درجة حرارة 2±25 مْ لمدة اسبوع بعدها نقي الفطر للحصول على مستعمرات نقية . تم التشخيص بالأعتماد على المصادر (5 , 9) 0

ثانياً / جمع العينات النباتية :

تم جمع أوراق نبات الحناء *Lawsonia inermis* ، ثم غسلت بالماء الجاري لازالة الاتربة وبعدها غسلت بالماء المقطر ، جففت هوائيا وطحنت باستخدام جهاز الخلاط الكهربائي ، ثم نخلت لازالة الاجزاء الكبيرة وحفظت في اكياس ورقية لحين الاستخدام .

ثالثاً / استخلاص العينات النباتية :

1- المستخلص الكحولي :

تم تحضير المستخلصات الكحولية وذلك بمزج 20 غم من مسحوق أوراق الحناء مع 100 مل كحول اثيلي 70% في بيكر زجاجي أي بنسبة (1غم من المسحوق لكل 5 مل من السائل) وترك الخليط في حمام مائي هزاز Shaker Water Bath وبدرجة حرارة 37مْ ولمدة 24 ساعة (10) , ثم رشحت اولاً باستخدام عدة طبقات من الشاش الطبي ثم بأستخدام أوراق ترشيح whatman N0.1 ، ثم وضع الراشح في اطباق بتري نظيفة و معقمة (11) ووضعت في الحاضنة بدرجة حرارة 37 مْ لمدة (3 - 2) ايام لحين جفاف المستخلص ، ثم تم كشط المستخلص بواسطة سكينة نظيفة ومعقمة ، ثم حفظ المسحوق في اوعية بلاستيكية نظيفة ومحكمة لحين الاستعمال وكررت العملية عدة مرات للحصول على كمية كافية من المستخلص .

2-المستخلص الاسيتوني :

اتبعت خطوات تحضير المستخلص الكحولي نفسها مع استبدال الكحول الاثيلي بالاسيتون 70%.

رابعاً / تحضير التراكيز المختلفة لمستخلص نبات الحناء الكحولي والاسيتوني :

اتبعت طريقة (12) في تحضير التراكيز ، إذ تم تحضير ثلاث تراكيز من مستخلص الحناء الكحولي والاسيتوني وهي (8 , 10 , 12) ملغم\مل وذلك لدراسة تاثيرها على فطر *Rhizoctonia solani* , إذ اضيفت إلى الدوارق الزجاجية الحاوية على وسط (P . D . A) المعقم ، بعدها صب الوسط الزرعي في اطباق بتري بمعدل ثلاث مكررات لكل تركيز ، بالاضافة إلى المقارنة ، إذ لم يضف إلى الوسط أي مستخلص ، ثم لقحت الاطباق جميعها بقرص قطره 6 ملم من مزرعة الفطر *R. solani* بواسطة ثاقب فليني Cork Borer وحضنت الاطباق جميعها في حاضنة تحت درجة حرارة 2±25 مْ ثم حسبت نسبة تثبيط الفطر بأخذ معدل قطرين متعامدين يمران بمركز الطبق وذلك بعد انتهاء فترة الحضانة بوصول نمو الفطر إلى حافة الطبق في معاملة المقارنة ، إذ تم حساب نسبة التثبيط حسب القانون الاتي :

$$\text{نسبة التثبيط} = \frac{\text{معدل قطر الفطرفي اطباق المقارنة} - \text{معدل قطر الفطرفي اطباق المعاملة}}{\text{معدل قطر الفطر في اطباق المقارنة}} \times 100$$

خامساً / التحليل الإحصائي:

صممت تجربة عاملية (2×4) لنوع المستخلص والتركيز على التوالي وبأستخدام التصميم التام العشوائية Complete Randomized Design (C. R. D) وبثلاثة مكررات وقورنت المتوسطات باستعمال قيمة اقل فرق معنوي L.S.D وعند مستوى احتمال 0.01 (13).

النتائج والمناقشة results & discussion :

تأثير مستخلص أوراق الحناء على النمو القطري لفطر *Rhizoctonia solani*

أظهرت النتائج فاعلية مستخلص أوراق نبات الحناء في تثبيط النمو القطري لفطر *R. Solani* وقد اعتمد التأثير على التركيز ، إذ أظهرت جميعها فعالية في تثبيط نمو قطر المستعمرة مقارنة بالمجموعة الضابطة ، ولوحظ ايضاً انه عند زيادة تركيز المستخلص تزداد معه نسبة التثبيط وينخفض معدل قطر المستعمرة ، إذ بلغ معدل قطر المستعمرة 24 ملم الجدول رقم (1) ونسبة التثبيط 71.75 % الجدول رقم (2) وذلك عند التركيز 8 ملغم / مل مقارنة بالمجموعة الضابطة التي بلغ قطر المستعمرة فيها 85 ملم ولم تظهر النتائج فروقات معنوية بين التركيزين 8 و 10 ملغم / مل إذ كان تأثيرهما متقارباً وكانت معدلات أقطار المستعمرة متقاربة جداً عند معاملتها بكلا التركيزين .

جدول -1- : تأثير مستخلص أوراق نبات الحناء على معدل النمو القطري لفطر *Rhizoctonia solani*

التراكيز (ملغم/مل) / نوع المستخلص	معدل قطر التثبيط (ملم)				
	0	8	10	12	المعدل
الكحولي	85	24 . 3	23 .7	0	33 . 25
الاسيتوني	85	23 . 3	20	0	32 . 18
المعدل	85	24	21 . 85	0	

ملاحظة : كل رقم يمثل معدل ثلاث مكررات
L . S . D لتركيز المستخلص عند مستوى معنوية 0.01 هو 2 . 8

جدول -2- : تأثير مستخلص أوراق نبات الحناء على النسبة المئوية لتثبيط أقطار مستعمرات فطر *Rhizoctonia solani*

التراكيز (ملغم/مل) / نوع المستخلص	0	8	10	12
الكحولي	0	71 . 4	72 . 1	100
الاسيتوني	0	72 . 1	76 . 5	100
المعدل	0	71 . 75	74 . 3	100

بينما تفوق التركيز 12 ملغم / مل على هذين التركيزين وبفارق عالي المعنوية إذ سبب هذا التركيز تثبيطاً كاملاً لنمو الفطر في اطباق بتري إذ بلغ معدل قطر الفطر 0 ملم وكانت نسبة التثبيط التي اظهرها هذا التركيز 100 % .
ولم يكن لنوع المذيب المستخدم أي تأثير معنوي ايضاً على معدل نمو الفطر وكما اوضحته نتائج التحليل الإحصائي ، بل اعتمد التأثير على التركيز ولوحظ زيادة التأثيرالتثبيطي بزيادة التركيز وهذا قد يعود ايضاً لزيادة تركيز المركبات الفعالة في المستخلص .

وتتفق هذه النتائج مع ماتوصل اليه (14) إذ أشار إلى فاعلية مستخلص نبات الحناء في تثبيط عدد من الفطريات الممرضة للنبات وهي *Pythium* sp. , *Fusarium* sp. , *Curvularia* sp. , *Alternaria* sp. وفطريات أخرى عديدة ممرضة للنبات وبنسبة تثبيط تزيد عن 50 % .

وتماشت ايضاً مع ما توصل اليه (15) في دراسة قاموا بها لمعرفة تأثير عدد من المستخلصات النباتية ضد فطر *Fusarium moniliforme* ، إذ أشارت إلى إن مستخلص نبات الحناء قد اظهر اعلى نسبة تثبيط بلغت 60.65 % تلته النباتات الاخرى .

بالاضافة إلى دراسات أخرى عديدة أشارت إلى كفاءة مستخلص نبات الحناء في تثبيط العديد من الفطريات الممرضة للنبات . (16 , 17) .

كما ذكرت دراسات أخرى فاعلية مستخلص الحناء في تثبيط عدد من الفطريات والبكتريا المسببة للامراض الجلدية في الإنسان (18 , 19 , 20 , 12) .

وقد يعود التأثير التثبيطي لمستخلص نبات الحناء على ذلك الفطر إلى احتواءها على عدد من المركبات الفعالة كالتانينات ومادة Lawsone التي لها دور كبير في التأثير على الجراثيم والفيروسات (21) .

فقد ذكر(22) ، إن النباتات بصورة عامة تنتج عددا كبيراً من النواتج الايضية الثانوية التي تمتلك خاصية مضادة للمايكروبات ومنها Tannins ، Flavonoids ، Isoflavonoids ، Alkaloids ، Terpens ، Glygosides ، Cumarins والمركبات الفينولية .

وقد اثبت (12) ، في دراسة قام بها لمعرفة تأثير بعض المستخلصات النباتية على نوعين من الفطريات الجلدية وجود العديد من المركبات الفعالة في مستخلص أوراق الحناء من خلال الكشوفات التي قام بها وهي الصابونينات والكلايكوسيدات والراتنجات والفلافونيدات والفيوكومارينات والتانينات ، وقد اثبت فعالية مركبات التانينات في القضاء على الفطريات عند دراسة تأثيرها بصورة نقية ،كما أشارإلى حدوث تكتل في بروتوبلاست الخلايا الفطرية بالاضافة إلى تأثر الغشاء الخلوي عند معاملتها بذلك المستخلص .

وقد أشار (23) ، في دراسة قام بها لمعرفة تأثير عدد من المستخلصات النباتية على عدد من الاعفان ، إن الفعالية التثبيطية لمنتجات تلك النباتات تمثلت بتكتل سايتوبلازم الخلايا الفطرية وتمزق الغشاء البلازمي وتثبيط عمل الانزيمات داخل وخارج الخلايا وهذه الاحداث كلها تؤدي بالتالي إلى تثبيط نمو الفطر .

المصادر :-

1- Shafique , S . ; Javaid , A . ; Bajwa , R . and shafique , S . (2007) . Effect of Aqueous leaf extracts of Allelopathic Trees on germination and seed borne .Mycoflora of wheat .Pak . J . Bot. 39 (7) :2619 – 2624 .

2-Ahmed , S .R . and Agnithori , J . P . (1997) . Antifungal activity of some plant extracts Indian mycology and plant pathology. 7 (2) : 180 – 181

3-اسدي ، رامز مهدي صالح . (2008) . دراسة تأثير مستخلصات نباتي الاراك والحرمل في تثبيط نمو الفطر *Mauginiella scaettae* مختبرياً . مجلة البصرة لابحاث نخلة التمر . المجلد 7 . العدد 1 .

4 - EL- Mougy , N. and Abdel – Kader M . M . (2007) . Antifungal effect of powdered spices and their extract on growth and activity of some fungi in Relation to Damping off Disease control . Journal of plant protection Research Vo . 47 . No . 3.

5-Barnett , H . L . and Hunter , B. B . (1972) . Illustrated genera of Imperfect fungi.3rd edition . Burgess publishing company . U.S.A.

6 - Agrios , G . N . (2005) plant pathology . 5 th edition . Elsevier academic press , U. S . A

7 - الشكري ، مهدي مجيد . (1994) . مبادئ الفطريات وامراضها النباتية . منشورات جامعة السابع من ابريل . مكتب التعريب والترجمة والنشر. ليبيا .

8 - EL- Hussieni , S . (2004) . Virulence of potato geographic isolated of *Rhizoctonia solani* . Saudi . J. Biol . sci . 11 (2) : 153 – 161 .

9 – Joseph , C . Gilman . (1957) . Amannual of soil fungi . second edition . The Lowa State University Press . Ames . Lowa . U . S . A .

10 - الجنابي ، علي عبد الحسين صالح . (1996) . تأثير بعض المستخلصات النباتية على نمو بعض الفطريات الممرضة لجلد الإنسان . رسالة ماجستير . كلية العلوم . الجامعة المستنصرية .

11 – الظويهري ، زهير حميد عبود . (2007) . تأثير مستخلصات نبات القرنفل والعفص والاهليلج في معالجة بعض اخماج البكتريا والفطريات الجلدية . اطروحة دكتوراه . كلية العلوم – الجامعة المستنصرية .

12 - الدعمي ، علاء عبد الحسين كريم . (2009) . تأثير بعض المستخلصات النباتية في نمو الفطريين الجلديين *Trichophyton mentagrophytes* و *Epidermophyton floccosum* .رسالة ماجستير. كلية التربية – جامعة كربلاء.

13 -الامام ، محمد محمد الطاهر. (1994) . تصميم وتحليل التجارب . دار المريخ للنشر. الرياض . المملكة العربية السعودية .

14- Wangkiat , A . (1995) . Anti fungal effect of medicinal herb extracts on some plant pathogenic fungi . Agris – FAO . of United Nations . Thailand .

15-Yasmin , M . ; Hossain , K . S . and Bashar . M . A . (2008) Effect of some Angiospermic plant extracts on in vitro vegetative growth of *Fusarium moniliforme* . Bangladsh . J . Bot . 37 (1): 85 - 88 .

16- Vivek , S .and Jyoti , S . (2007) . Evaluation of plant extracts against *Alternaria* Blight of Linseed (*Linum usitatissimum*) . Indian Journal . Vo . 15 . lssue : 2

17-Ashrafuzzaman , M . H . and Khan , A . R . (1992) Antifungal activity *in vitro* of some plant extracts on *Rhizoctonia solani* [in Bangladesh – short communication] . Bangladesh Journal of scientific research . 10 (2): 243 – 244 .

18-Malekzaden , F. (1968) . Anti microbial activity of *Lawsonia inermis*. Microbiology . 16 (4) : 663 – 664 .

19 - العليمي ، مهيوب شرف قاسم اسماعيل . (2001) . دراسة الكائنات الدقيقة المقاومة للعلاج وتأثير بعض النباتات الطبية على هذه الكائنات . المركز الوطني للمعلومات . اليمن .

20 - صديق ، صديق رشوان ; عبد القادر ، حسين علي والشنواني ، عبد الرحيم (2003) . استخدام عصارة الثوم والحناء وحبة البركة في علاج فطريات الجلد . المؤسسة السعودية للبحث العلمي والنشر . العدد 9106 .

21 - سعد ، شكري ابراهيم . (1977) . نباتات العقاقير والتوابل . القاهرة .

22-Mello , J .C . P ; Mentz , L . A .؛Simoes , C. M .O . ; Schenckel , E .P . ; Gosman ,G . and perovick , P . R . (1999) Farmacognosia. A : daplanta aomedi amento . Santa catarina . Florianopolis : ed . da .of sc .p.821 . porto Alegre.

23-Cowan , M.M. (1999) Plant products as antimicrobial agents Clini . Microbiol . Rev . 12 : 564 – 582 .