عزل وتشخيص الفطريات المصاحبة لبذور البزاليا ومقاومتها حيويا وكيميائيا

غيداء صلاح العنزي

قسم العلوم ، كلية التربية الاساسية ، جامعة الموصل ، الموصل ، العراق

(تاريخ الاستلام: ٢٧ / ٤ /٢٠٠٨ ، تاريخ القبول: ٢٩ / ١٠ / ٢٠٠٨)

الملخص :

أوضحت نتائج اختبار سلامة بذوراربعة اصناف من البزاليا وجود ستة اجناس من الفطريات. وكان اكثر الفطريات المعزولة تكرارا الجنس *Rhizopus* وبلغ مجموع تكراره في الاصناف الاربعة ٥٢ يليه الفطر *Penicillium* بمجموع ٣٦ ثم الفطر *Aspergillus niger* ١٩ والفطرين *Aspergillus flavus* و *Rhizoctonia solani* بمجموع ٨ عزلات لأصناف البزاليا الاربعة واقل الفطريات المعزولة تواجدا كان الفطر *Stemphylium spp.* اذ تم عزله من الصنف Lincoln فقط ولم يظهر في الاصناف الاخرى المستخدمة في البحث . تمكن الفطر *Rhizoctonia solani* من تثبيط نسبة انبات بذور البزاليا وبنسب مختلفة اذ بلغت اعلى نسبة تثبيط ٢٨ % للصنفين Alaska و Lincoln بينما كانت اقل نسبة تثبيط هي للصنف المحلي وبلغت ١٨ % . كان زيت نبات القرنفل اكثر الزيوت فعالية في تثبيط نمو الفطر *R.solani* اذ بلغت نسبة التثبيط ١٠٠ % في التراكيز الاربعة المستخدمة للزيت يليه زيت نبات القرفة الذي تراوحت نسبة تثبيطه لنمو الفطر بين ٨٨,٧ % عند التركيز ١٠٠:١ الى ١٠٠ % عند التركيزين ٥٠:١ و ٢٥:١ وكان زيت نبات الاس اقل الزيوت المستخدمة تأثيرا اذ تراوحت نسبة التثبيط به بين ٦٨,٧ % عند التركيز ١٠٠:١ الى ٨٧,٥ % عند التركيز ٢٥:١ أي ازدادت نسبة التثبيط بزيادة تركيز الزيت النباتي المستخدم . وتمكن المبيد المستخدم من تثبيط نمو الفطر *R. solani* بنسبة ١٠٠ % . أظهرت اختبارات المقاومة الحيوية للفطر باستخدام البكتريا *Bacillus subtilis* تثبيط نمو الفطر *R. solani* بنسبة ١٠٠ %.

المقدمة :

تسبب الفطريات المصاحبة للبذور(Seed borne fungi) اختزال في حيوية البذوروالمحصول الناتج (١) وتؤدي الى خفض نسبة الانبات وتلف للبذور المخزونة كما تظهر من الحبوب (البذور) المصابة رائحة غير مستساغة (٢) . وتعد الفطريات المصاحبة للبذور المصدر الرئيسي للسموم الفطرية Mycotoxin اذ تسبب تلوث المنتجات الزراعية خاصة البذور وزيوتها مما يؤدي الى تواجد السموم الفطرية في سلسلة غذاء الانسان والحيوان (٣) . يعد الفطر *Rhizoctonia solani* واحد من اهم فطريات التربة الممرضة والتي تنمو في الترب المزروعة والغير مزروعة مسببة الامراض لمختلف المحاصيل الزراعية مثل الرز والبقوليات والطماطة وغيرها (٤).

وقد استخدمت طرائق عديدة للسيطرة على الفطر *R. solani* منها طرائق كيميائية واخرى حيوية و طورت هذه الطرائق بنجاح خلال السنوات الاخيرة لاختزال الفعالية الامراضية للاحياء المجهرية بصورة عامة . من الطرائق الحيوية المستخدمة لمكافحة الفطر *R. solani* استخدام انواع تعود لاجناس البكتريا *Bacillus* و *Pseudomonas* (٥) اما بالنسبة للمقاومة الكيميائية وكما هو معروف فان استخدام المبيدات الفطرية الكيميائية مثل Methyl Bromide يؤثر على البيئة ويسبب اخطار كبيرة على حياة الكائنات الحية الاخرى كالانسان والحيوان والنبات . لذلك زاد الاهتمام في الاونة الاخيرة بدراسة المستخلصات النباتية ومكوناتها الفعالة من قبل العديد من الباحثين للحد من انتشارالامراض المختلفة التي تسببها الفطريات للنبات والانسان (٦ ، ٧) لذلك جاءت الدراسة الحالية استخدام الطرائق الحيوية والكيميائية لمكافحة الفطر *R.solani* مع الاستعاضة عن المبيدات الكيميائية الضارة للبيئة بمركبات فعالة مستخلصة من النباتات مثل الزيوت النباتية .

المواد وطرائق العمل :

١. العزل من البذور

١,١ عزل الفطريات

اجري اختبار سلامة بذور اربعة اصناف من البزاليا (*Pisium sativum* L.) هي Alaska و Alderman و Lincoln والتي تم الحصول عليها من الشركة العامة لانتاج البذور ، والصنف المحلي الذي تم الحصول عليه من الاسواق المحلية في مدينة الموصل . واستخدمت طريقة اطباق الاكار Agar plate method المعتمدة من قبل المنظمة الدولية المتخصصة باختبارات البذور International Seeds Testing Assocciation (٨)، اذ عقمت ١٠٠ بذرة من كل صنف سطحيا بمحلول هايبوكلورات الصوديوم (NaOCl ١%) لمدة ٣ دقائق ، وغسلت بالماء المقطر المعقم لازالة التاثير السمي . بعدها نقلت البذور الى اطباق بتري زجاجية بقطر ٩ مل حاوية على الوسط الغذائي Potato Dextros Agar (PDA) المضاف اليه المضاد الحيوي ستربتومايسين بتركيز ١٠٠ ملغم /مل وبمعدل ١٠ بذور لكل طبق وكررت التجربة مرتين.

حضنت الاطباق في درجة حرارة ٢٥ مْ لمدة عشرة ايام ، وشخصت الفطريات المعزولة بالاعتماد على المفاتيح التصنيفية المعروفة (٩ ، ١٠).

٢,١ عزل البكتريا

عقمت بذور البزاليا سطحيا بمحلول هايبوكلورات الصوديوم (NaOCl ١ %) بعدها نقلت الى اطباق بتري حاوية على الوسط Nutrient Agar ، حضنت الاطباق في درجة حرارة ٢٨ مْ لمدة اسبوع بواقع ١٠ بذور لكل طبق وبمعدل ثلاث مكررات لكل صنف من اصناف البزاليا . شخصت البكتريا المعزولة بالاعتماد على المفاتيح التصنيفية المعروفة (١١).

٢. اختبار القدرة الامراضية للفطريات

اختبرت القدرة الامراضية للفطر المعزول من بذور البزاليا باستخدام اطباق بتري بقطر ٩ مل حاوية على الوسط الغذائي PDA وملقحة بالفطر المعزول وبعد ملئ الفطر للاطباق وزعت عليها بذور البزاليا اذ عقمت ١٠٠ بذرة من كل صنف سطحيا بمحلول صوديوم هايبوكلورايت (NaOCl ١ %) وزرعت بمعدل ١٠ بذور لكل طبق وكانت اطباق

المقارنة حاوية على الوسط الغذائي فقط . تركت الاطباق لمدة اسبوع في الحاضنة بدرجة حرارة ٢٥ مْ (١٢) .

٣. المقاومة :

١,٣ استخدام الزيوت النباتية

حضرت الزيوت النباتية لكل من نبات الاس *Myrtus communis* العائد للفصيلة Myrtaceae ونبات القرنفل *Dianthus caryophyllus* العائد لفصيلة Caryophyllaceae ونبات القرفة *Cinnamomum aromaticum* وذلك حسب طريقة (١٣) اذ تم مزج ٥٠ غم من كل نبات على انفراد مع ٧٥٠ مل ماء مقطر في دورق سعة ٢ لتر ، تم الحصول على الزيت بعملية التقطير البخاري ، جمع الزيت وجفف باستخدام كبريتات الصوديوم اللامائية .بعدها حضرت تراكيز مختلفة من الزيوت وذلك باذابة واحد مل من كل زيت نباتي على انفراد في ٩ مل من الاثلين كلايكول Ethylene glycol ثم عقمت الزيوت بطريقة البسترة عند درجة حرارة ٦٤ مْ لمدة ١٠ دقيقة (١٤) واستخدمت الزيوت المعقمة هذه لتحضير التراكيز (١ : ٢٥ و ١ : ٥٠ و ١ : ٧٥ و ١ : ١٠٠ حجم : حجم) لكل زيت نباتي مع وسط PDA . حيث اضيف كلا من الزيوت النباتية الى الوسط قبل التوزيع على الاطباق للحصول على التراكيز السابقة وبعد تصلب الوسط نقلت اقراص بقطر ٩ ملم من المستعمرة الفطرية الى الاطباق وبمعدل ثلاث مكررات لكل تركيز ، حضنت الاطباق في درجة ٢٥ مْ لحين ملئ الفطر اطباق المقارنة التي استخدم فيها وسط PDA بدون اضافة الزيت . وبحساب متوسط قياس قطرين متعامدين لكل مستعمرة في اطباق المعاملة استخرجت منها نسبة التثبيط للزيوت باستخدام المعادلة الاتية والمقترحة من قبل (١٥).

$$\% \text{ للتثبيط} = \frac{\text{متوسط قطر مستعمرة المقارنة} - \text{متوسط قطر مستعمرة المعاملة}}{\text{متوسط قطر مستعمرة المقارنة}} \times ١٠٠$$

٢,٣ استخدام المبيد Vitavax

تم اختبار تاثير المبيد فيتافاكس Vitavax على الفطروذلك بنقل اقراص بقطر ٩ ملم من مستعمرة الفطر الى اطباق بتري حاوية على وسط PDA والمبيد Vitavax بالتركيزالموصى به وهو ١ غم / لتر . حضنت الاطباق في درجة حرارة ٢٥ مْ بمعدل ثلاثة مكررات لحين ملئ الفطر اطباق المقارنة . وبحساب متوسط قياس قطرين متعامدين لكل مستعمرة في اطباق المعاملة ومنها استخرجت نسبة التثبيط للمبيد .

٣,٣ استخدام البكتريا المعزولة

تم فرش البكتريا المعزولة من بذور اصناف البزاليا في اطباق حاوية على الوسط PDA وتركت الاطباق لمدة ٢ ساعة في الحاضنة في درجة حرارة ٢٥ مْ ثم نقلت اقراص بقطر ٩ ملم من مستعمرة الفطر المعزول الى الاطباق ، حضنت الاطباق في درجة حرارة ٢٥ مْ بمعدل ثلاثة مكررات لحين ملئ الفطر اطباق المقارنة. وبحساب متوسط قياس قطرين متعامدين لكل مستعمرة في اطباق المعاملة استخرجت نسبة التثبيط للبكتريا المستخدمة .

النتائج والمناقشة :

أوضحت نتائج اختبار سلامة بذورأربعة اصناف من البزاليا وجود ستة اجناس من الفطريات (جدول ١) وكان اكثر الفطريات تكرارا الجنس *Rhizopus*وبلغ مجموع تكراره في الاصناف الاربعة ٥٢ يليه الفطر *Penicillium* بمجموع ٣٦ ثم الفطر *Aspergillus niger* ١٩ والفطرين*Aspergillus flavus* و *Rhizoctonia solani* بمجموع ٨ عزلات للاصناف الاربعة واقل الفطريات المعزولة تواجدا كان الفطر *Stemphylium spp.* اذ تم عزله من الصنف Lincoln فقط ولم يظهر في الاصناف الاخرى المستخدمة في البحث .

الجدول (١) : الفطريات المعزولة من بذور اصناف البزاليا على وسط PDA .

الفطريات	% لعزل الفطريات			المجموع
	الصنف Alaska	الصنف Alderman	الصنف Lincoln	الصنف المحلي	
Aspergillus flavus	_	٨	_	_	٨
Aspergillus niger	_	٦	٧	٦	١٩
Penicilium spp.	٨	١٠	١٠	٨	٣٦
Rhizoctonia solani	٢	٤	١	١	٨
Rhizopus spp.	١٦	٦	١٠	٢٠	٥٢
Stemphylium spp.	_	_	٤	_	٤

وفي دراسة تأثيرعزلة الفطر *R.solani* المعزولة من بذور اصناف البزاليا المستخدمة على انبات هذه البذور اوضحت النتائج تمكن الفطر من تثبيط

نسبة انبات البذور(شكل ١) وبنسب مختلفة (جدول ٢) اذ بلغت اعلى نسبة تثبيط ٢٨ % للصنفين Alaska و Lincoln بينما كانت اقل نسبة تثبيط هي للصنف المحلي وبلغت ١٨ %.

.

الشكل (١) : تاثير الفطر *R.solani* على إنبات بذور البزاليا

الجدول (٢) : تاثير الفطر *Rhizoctonia solani* على نسبة انبات بذور أصناف البزاليا

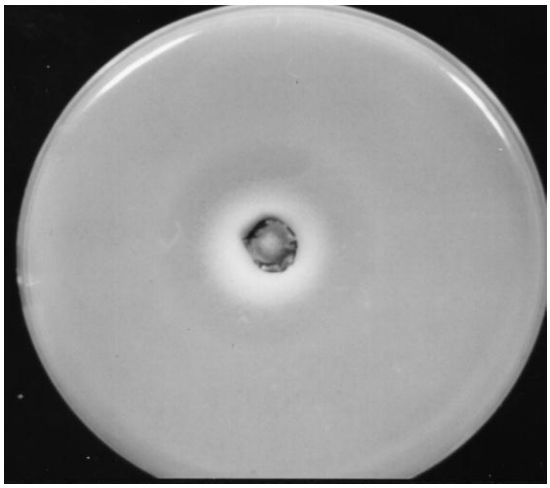
الاصناف	% لانبات بذور المقارنة	% لانبات البذور المصابة	% *للتثبيط*
الصنف Alaska	٩٢	٦٤	٣٠
الصنف Alderman	١٠٠	٧٨	٢٢
الصنف Lincoln	٩٦	٦٨	٢٩
الصنف المحلي	٨٦	٦٨	٢٠

اما في اختبارات المقاومة الكيميائية للفطر *R. solani* باستخدام الزيوت النباتية فقد كان للزيوت المستخدمة تاثيرا واضحا على تثبيط النمو الفطري (جدول ٣) واوضحت النتائج ان زيت نبات القرنفل كان اكثر الزيوت فعالية في تثبيط نمو الفطر اذ بلغت نسبة التثبيط ١٠٠ % في التراكيز الاربعة المستخدمة للزيت (شكل ٢) ، اذ يعد الزيت الاساسي Essential oil المفصول من نبات القرنفل من الزيوت المستخدمة في المجال الطبي وبشكل واسع فقد ثبت ان لهذا الزيت فاعلية تثبيطية عالية ضد الجراثيم الموجبة والسالبة لصبغة كرام (١٦) ، وقد وجد (١٧) ان انسجة نبات القرنفل تحتوي على مواد فينولية عديدة سامة ومثبطة لنمو الفطر *Fusarium oxysporum* .

الجدول : (٣) تأثير تراكيز مختلفة من الزيوت النباتية على نمو الفطر *R. solan* على وسط PDA

الزيوت النباتية	قطر المستعمرة الفطرية قبل المعاملة(مل)	قطرالمستعمرة الفطرية بعد المعاملة بالزيوت النباتية							
		التركيز ٢٥:١	% للتثبيط	التركيز ٥٠:١	% للتثبيط	التركيز ٧٥ :١	% للتثبيط	التركيز ١٠٠:١	% للتثبيط

زيت الاس	٨	١	٨٧,٥	١,٦	٨٠	١,٨	٧٧,٥	٢,٥	٦٨,٧
زيت القرنفل	٨	٠	١٠٠	٠	١٠٠	٠	١٠٠	٠	١٠٠
زيت القرفة	٨	٠	١٠٠	٠	١٠٠	٠,٥	٩٣,٧	٠,٩	٨٨,٧

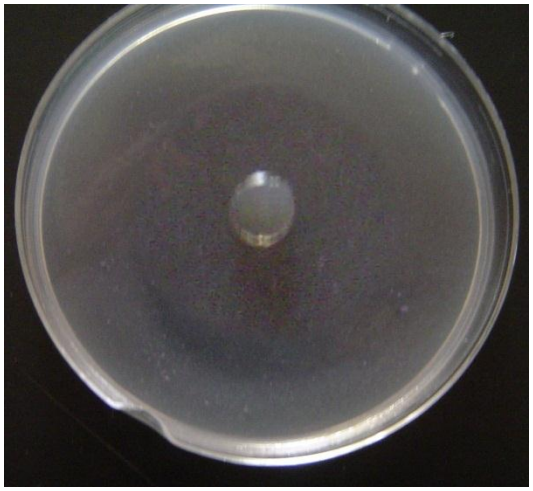


الشكل (٢) : التاثير التثبيطي لزيت القرنفل على نمو الفطر *R.solani* بجميع التراكيز

اما زيت نبات القرفة فقد تراوحت نسبة تثبيطه لنمو الفطر بين ٨٨,٧ % عند التركيز ١٠٠:١ الى ١٠٠ % عند التركيزين ٥٠:١ و ٢٥:١ وقد وجد (١٨) ان الزيوت العطرية لنبات القرفة ذات فاعلية ضد نمو انواع من الفطر *Candida* والتي لم تتمكن الادوية المضادة مثل Fluconazol من ايقاف نموها كما اظهرت القرفة تفوقا مقارنة باحد عشر من الزيوت العطرية الطبيعية في مقاومة نمو البكتريا *Bacillus cereus* . وكان زيت نبات الاس اقل الزيوت المستخدمة تأثيرا اذ تراوحت نسبة التثبيط به بين ٦٨,٧ % عند التركيز ١٠٠:١ الى ٨٧,٥ % عند التركيز ٢٥:١ أي ازدادت نسبة التثبيط بزيادة تركيز الزيت النباتي المستخدم (شكل٣) ان لمستخلص الاس تأثيرا مثبطا لفطريات *Trichophyton rubrum* و *T. mentagrophytes* و *Candida albicans* (١٩) ، كما لمستخلصه فعالية تثبيطية ضد الفطر *Aspergillus fumigatus* بنسبة ٩٧ % عند التركيز ١٢,٥% و ثبط نمو الفطر *Trichphyton mentagrophytes* كليا (١٠٠ %) عند التركيز ٢٠ ملغم/مل . (٢٠).

الشكل (٣) : التاثير التثبيطي لزيت الآس على نمو الفطر *R.solani* عند التركيز ٢٥:١

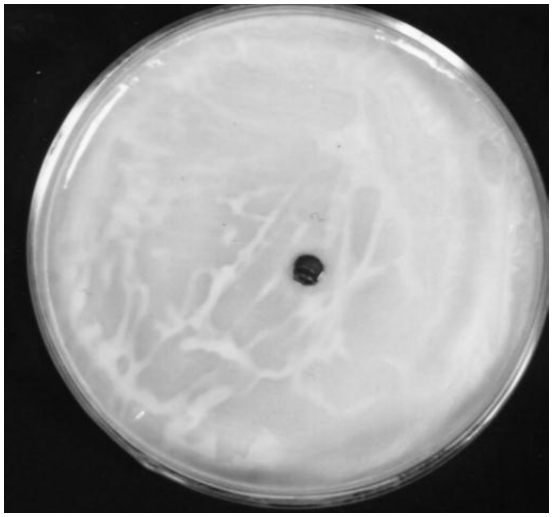
وعند اختبار تأثير المبيد Vitavax على نمو الفطر *R. solani* تمكن المبيد من تثبيط النمو الفطري بنسبة ١٠٠ % (شكل٤،) أي تساوى في تاثيره مع زيت القرنفل عند كل التراكيز ومع زيت القرفة عند التركيزين ٥٠:١ و ٢٥:١ .



الشكل (٤) : تاثير المبيد Vitavax على نمو الفطر *R.solani*

كانت البكتريا المعزولة من البذور هي *Bacillus subtilis* و أظهرت اختبارات المقاومة الحيوية للفطر باستخدام هذه البكتريا قدرتها على تثبيط نمو الفطر *R. solani* بنسبة ١٠٠ % (شكل ٥). وهذه النتائج تتفق مع ما وجده (٢١) حيث تمكنت كل من بكتريا *B.subtillis* و *B.lentimorbus* والمعزولة من الطماطة من التثبيط الكامل لنمو الفطر *R.solani* والمعزول من نفس النبات واعتبرت هذه الانواع من البكتريا العامل الاكثر اهمية في المقاومة الحيوية للفطر *R.solani* المعزول من

نبات الطماطة ، وقد سببت البكتريا *B.subtilis* تثبيطا وصل الى ٩٧,١ مع الفطر *R solani* المعزول من بذور البنجر السكري (٢٢) .



الشكل (٥) : التاثير التثبيطي لبكتريا *Bacillus subtilis* على نمو الفطر *R. solani* .

المصادر :

1. Sanchis, V. ; A.S. Anclemente, J.Usall and I. Vinas. 1993.Incidence of Mycotoxigenic *Alternaria alternata* and *Aspergillus flavus* in Barley.Journ-al of Food Protection, 56 : 246 – 248

2. Flannigan, B. 1978 . Primary contamination of barley and Wheat grains by storage fungi . Trans. Br. Mycol. Soc. 7 : 37 – 42

3. Scott, P.M. ; H.L. Trenholm,and M.D. Sutton .1985. Mycotoxins: A Canadian
Perspective . Publication , NRCC /CNRC, Ottawa , 185pp.

4. Sneh, B. and Akira, O. Identification of Rhioctonia species . 1991 . The American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota, USA, 129P.

5. Gasoni, L. ; Kobayashi, K. ; Yossen, V. ; Zumelzu, G. and Babbitt, S. 1998 . Supprssive effect and Potato in Argentina field plots .In : Iternational Congress of Plant Pathology . P. 5. 2. 44

6. Dubey, N.K. ; Yadav, P. and Joshi, V.K. 1998 . Screening of some essential oils against dermatophyes. Philippine, J .Sci. 127: 139- 147.

7. Bagy, M. M. ; El- Shanawany A.A. and Abdl – Mallek Ay. 1998 . Saprophytic and cycloheximide resistant fungi isolated from golden hamster . Acta Microbiol. Immun . Hung. 45 : 195 – 207.

8. I. S. T. A. 1979 . Proceeding of the international seed testing . International Rukes of seed testing. Wogeningen.Netherlands

9. Parameter, J. R. 1970 . *Rhizoctonia*, Biology and Pathology Univ. Coll. Press Barkly and los Angelos. 255pp.

10.Pitt, J. I. and Hocking, A. D.1997 . Fungi and Food Spoilage. 2nd . ed. Gailhersburg, Maryland : Chapman and Hall. 593 pp. USA.

11. Koneman, E. W. ; Allen, S. D. ; Janda, W. M. ; Schreken berge, P. C. and Winn, W. C. 1997. Color Atlas and text book of Diagnostic Microbiology 5th ed., Lippincott. Raven. Publisher, Philadelphia, USA, 983 – 1053.

١٢ . رمضـان ، نـديم أحمـد. ٢٠٠٦. فعاليـة الفطـر *Trichoderma herzanum* في المقاومة الحيوية لنوعين من الفطر *Fusarium* المعزولة من بذور القرنفل. مجلة التربية والعلم، المجلد ١٩، العدد ٣ : ٦٨ – ٧٦.

١٣. Farag, R. S. ; Daw, Z. Y. ; Hewedi , F.M. ; and El – Baroty , G. S. A. 1989 . Antimicrobial activity of some Egyption spice essential oils , J. Food Prot. 52(9) : 665 – 669.
against dermal fungi. M.Sc. Thesis, College of Medicine, Tikrity Unvi. Iraq.

١٤ . النعمان ، اديبة يونس شريف حمو . ١٩٩٨ . التأثيرالجزيئي لبعض المستخلصلت النباتية على نمو وايض عدد من الجراثيم الموجبة والسالبة لصبغة كرام . اطروحة دكتوراه ، كلية العلوم ، جامعة الموصل ، العراق .

١٥. Krishnappa, M. and Shetty, H. S. 1987. Control of seed borne fungi in sunflower. Goobios 14: 204 – 208.

١٦ . محمد ، مثنى جاسم و عمرموسى رمضان و رغيد يوسف غزال . ٢٠٠٦ . تأثير الزيت الاساسي ومكوناته الفعالة لنبات القرنفل *Eugenia caryophyllus* في نمو عدد من الجراثيم السالبة والموجبة لصبغة كرام . مجلة التربية والعلم، المجلد ١٨ ، العدد ٢ :١١ –١٩ .

١٧. Curir, P. ; Dolci, M. ; Dolci, P. ; Lanzotti, V. and De Cooman, L. 2003 .Fungitoxic phenols frum carnation (*Dianthus caryophyllus*) effective against *Fusarium oxysporum* f. sp. *Dianthi*. Wiley & Sons, Inc. Ltd. 14: 8 – 12.

1٨. Schoene NW, Graves DJ. Kalemba D and Kunicka A. 2003. Antibacterial and antifungal properties of essential oils. Curr Med Chem ,10(8) : 13-29.

19. Al – Tikrity, T.A. 1997 . Evaluation of antifungal activity of some plants extracts against dermal fungi. M. Sc. Thesis, College of Medicine, Tikrit Univ., Iraq.

٢٠ . العنزي ،مشعل علي محمود .٢٠٠١ . دراسة التالف بين مستخلص الثوم ومستخلصات نباتات صبية ضد بعض الفطريات الممرضة للانسات ، رسالة ماجستير ، كلية العلوم ، جامعة الموصل ، العراق.

2١. Montealegre, J.R. ; Reyes, R. ; Perez, L. M. ; Herrera, R. ; Silva, P. and Besoain, X. 2003.Selection of bioantagoisitic bacteria to be used in biological control of Rhizoctonia solani in tomato. Electronic jornal of Biotechnology, 6 : 117 – 127 .

٢٢ . العبيدي ، نور عامر . عزل وتشخيص الفطريات المصاحبة لبذور البنجر السكري .*Betavulgaris* L ومكافحتها كيمياويا وبايولوجيا . ٢٠٠٤ . رسالة ماجستر ، كلية العلوم ، جامعة الموصل ، العراق

Isolation and Identification of Fungi from Peas seeds and its Biochemical Resistance

Ghaydaa S. Alinizy
Science Department , Basic Education College , Mosul University, Mosu l, Iraq
(Received 27 / 4 / 2008 , Accepted 29 / 10 / 2008)

Abstract

The Result of this experiment show that Peas' seed safety tests revealed six fungi species. *Rhizopus* species was the most frequent isolated species with frequency rate of 52, followed by *Penicillium* fungus 36, *Aspergillus niger* 19, while the frequency rate of both *Aspergillus flavus* and *Rhizoctonia solani* was 8 isolations for the four varieties. The least frequent fungus species was *Stemphylium spp*. This fungus was isolated from Lincoln variety only, and didn't appear in any of the four varieties which tested in this study. *Rhizoctonia solani* fungus inhibited seed growth rate by various percentages; highest inhibitory percentage reached to 28% for Lincoln and Alaska varieties, meanwhile the lowest inhibitory percentage was 18% for the local varieties. Dianthus oil had the inhibitoriest effect on fungus growth, with inhibitory rate reaching 100% for the four Dianthus oil concentrations used, followed by Cinnamon oil with fungus growth inhibition range of 100% at 100:1 concentration to 100% at 50:1 and 25:1 concentrations. Myrtle oil was the least effective in growth inhibition, with inhibition rate of 68.7% at 100.1 concentration, and 87%.5 at 25:1 concentration, the inhibition rate increased with the increase of oil concentration. The Herbicide used was able to inhibit the growth of *Rhizoctonia solani* fungus by 100%. Fungi bio-resistance tests using *Bacillus subtilis* bacteria showed the inhibition of *R.solani* Fungus by 100%.