

تأثير المستخلص المائي والكحولي لاوراق نبات الدفلى *Nerium olender L.* على نمو بعض الفطريات الممرضة للنبات

نجلاء طارق التكريتي

قسم علوم الحياة، كلية العلوم، جامعة الموصل، الموصل، العراق

(تاريخ الاستلام: ٣٠ / ١٢ / ٢٠٠٩ ---- تاريخ القبول: ٢٧ / ٤ / ٢٠١٠)

الملخص

تم في هذه الدراسة اختبار الفعالية البيولوجية للمستخلص المائي والكحولي لاوراق نبات الدفلى *Nerium olender L.* الطرية والجافة على نمو بعض انواع الفطريات الممرضة للنبات: *Alternaria alternata*, *Macrophomina phaseolina*, *Fusarium oxysporum*. وتأثير التثبيط للمستخلص المائي الطري بين (٦,٧-٨١,٣) % وما بين (١٢-٥٣,٣) % بالنسبة للمستخلص المائي الجاف لاوراق الدفلى مع كافة الفطريات المستخدمة في الدراسة. وتغوق المستخلص الكحولي الطري والجاف على المستخلصات المائية الطرية والجافة في التثبيط إذ بلغت نسبة التثبيط المئوية (٣٣,٣-٩٣,٣) % عند التركيز ٢ ملغم/مل. وقد استخدم مبيد الكابتان بتركيز مختلفة للمقارنة وحقق مبيد الكابتان اعادة ١٠٠ % عند استخدامه بتركيز (٨,٢٠٠,٢) ملغم/مل. اظهرت نتائج الكشف الكيماوي لبعض المواد الفعالة للنباتات احتواء اوراق نبات الدفلى على الفلويديات والفلافونوات والفينولات والكلايكوسيدات والتانينات والصابونيات التي تم الكشف عنها.

المقدمة

كان لانتشار أمراض النبات اثار واضحة على اقتصاديات الانسان اذ تعد من العوامل الهامة المحددة للانتاج الزراعي والمتسببة في تقليل كميات المواد الغذائية المتوقع الحصول عليها من الزراعة (٧) وتعد الانواع الفطرية العائدة لجنس *Alternaria* من مسببات امراض النبات الواسعة الانتشار في مختلف انحاء العالم مسببة امراض تبقع الاوراق على العديد من النباتات ومنها محاصيل الخضراوات بانناجها ما لا يقل عن ٧٠ نوعا من النواتج الايضية السامة للكائنات الحية التي ينتج بعضها النوع *Alternaria alternata*. وبعد الفطر *Macrophomina phaseolina* طفيلا خطيرا على المحاصيل كونه يسبب التعفن الفحامي لاكثر من ٤٠٠ نوع من النباتات ويستوطن التربة والجذور على شكل اجسام حجرية والتي تعد اساسا لبقائه في التربة وقد تم عزل الفطر من نبات الحمص ومن القطن والقرع والبطاطا والشوفان والخباز والبايما (٩,٨). وقد ذكر (١٠,٩) ان الفطر *Fusarium oxysporum* و *Macrophomina phaseolina* من مسببات تعفن البذور وسقوط بادارت الباميا. وتهدف الدراسة الحالية اختبار تأثير كل من المستخلص الكحولي والمائي لاوراق نبات الدفلى الطرية والجافة لمعرفة تأثيرها التثبيطي في نمو بعض انواع الفطريات الممرضة للنبات وهي فطر *Alternaria alternata* و *Fusarium oxysporum* و *Macrophomina phaseolina* ومقارنة تأثير هذه المستخلصات مع تأثير مبيد الكابتان.

المواد وطرائق البحث

١ - العزلات الفطرية المستخدمة في البحث

استخدمت في هذه الدراسة ثلاثة انواع من الفطريات الممرضة للنبات وهي *Alternaria alternata* و *Fusarium oxysporum* و *Macrophomina phaseolina* تم الحصول على هذه الفطريات من الدكتور نجوى بشير شمعون الاستاذ المساعد في قسم علوم الحياة

ازداد في الآونة الاخيرة اهتمام العلماء بالنباتات ومستخلصاتها في مختلف انحاء العالم لما لها من اهمية في معالجة مختلف الامراض لاحتوائها على مركبات علاجية التي تكون ذات طبيعة مؤثرة وسامة للعديد من الفطريات المسببة لامراض النبات اذ ان مستخلصاتها تحتوي العديد من المركبات الفعالة مثل الفلويديات والتانينات والكومارينات والفينولات وغيرها من المواد التي تؤثر على تكوين المركبات البروتينية وغير البروتينية للفطر بحيث توقف نموه وتكاثره (١).

ويفعل الاثار السلبية التي خلفها الاستخدام المفرط للكيميائيات الزراعية بشكل عام والمبيدات الكيماوية بشكل خاص على الصحة العامة للانسان والحيوان فقد تركزت جهود حديثة اقترتها منظمة الصحة العالمية للتقليل من استخدام المواد الكيماوية حيث ثبت ان العديد من المبيدات عوامل مسرطنة وتحفز حدوث اضطرابات كروموسومية كما ان المبيدات مسؤولة عن تشوه الاجنة بالاضافة الى ان العديد من المبيدات اصبحت عديمة الفعالية في مقاومة مسببات امراض النبات وذلك لنشوء صفة المقاومة في العديد من سلالات هذه المسببات (٢,٣,٤,٥).

ومن بين النباتات المعروفة في استخدامها في هذا المجال هو نبات الدفلى *Nerium olender L.* وهو من النباتات التي تزرع في المناطق الحارة والصحراوية والاستوائية وتحت الاستوائية وهي نبتة سامة، عصارة النبات السامة تكون على شكل سائل حليبي يخرج عند قطع أي جزء من اجزاء النبات وتستخدم احيانا لدواعي طبية بل وحتى كمبيد حشري ويعتبر نبات الدفلى من النباتات الشديدة السمية وتحتوي على مركبات سامة وكثير من هذه المركبات تؤدي لوفاة الانسان في حال تناولها وخاصة الاطفال ومن اهم المركبات السمية في نبات الدفلى (Oleandrin, Nerine) وهي تعتبر من الكلايكوسيدات (٦).

٣-ب- تحضير المستخلصات الكحولية لاوراق نبات الدفلى الطرية والجافة

حضر المستخلص الكحولي لاوراق نبات الدفلى الطرية والجافة حسب طريقة (١٤) المحورة عن الطريقة الاساسية للباحث (١٥) وذلك بسحق ٢٠ غم من اوراق نبات الدفلى واذابتها في ٢٠٠ مل من الكحول الايثيلي ٩٥ % داخل حمام ثلجي ، وبعد رج المزيج جيدا وتركه في الثلجة لمدة ٢٤ ساعة رشح المزيج خلال عدة طبقات من الشاش ، ثم مرر الراشح خلال قمع بخنر ووضع في جهاز المبخر الدوار حيث يعمل على اساس التبخير تحت ضغط مخلخل ودرجة حرارة لا تزيد عن ٤٠°م وبعد تبخير جميع الكحول الايثيلي الموجود في المزيج جفف بالتبريد تحت ضغط مخلخل بجهاز التجفيد حفظت النماذج بالتجميد في قناني زجاجية ذات غطاء محكم لحين الاستخدام . حيث تمت اذابة غرام واحد من مسحوق المستخلص في (٥)مل من مادة Dimethyl Sulfoxid (DMSO) وبذلك تمت معرفة تركيز المستخلص الكحولي ٢٠٠ ملغم / مل كمحلول قياسي ثم تعقيم المستخلص الكحولي بالبسترة عند درجة حرارة ٦٤°م لمدة ١٠ دقائق (١٦) .

وللحصول على التركيز التثبيطي الأدنى (MIC) استخدمت التراكيز الاتية : (٢,٠٠١,٥,١٠,٢٠,٤٠,٨٠,١٦٠,٣٢٠,٦٤٠,١٢٨٠,٢٥٦٠,٥١٢٠,١٠٢٤٠,٢٠٤٨٠,٤٠٩٦٠,٨١٩٢٠,١٦٣٨٤٠,٣٢٧٦٨٠) ملغم / مل من المستخلص مع الوسط (PDA) واتبعت نفس الخطوات السابقة للحصول على MIC.

٤ - استخدام مبيد الكابتان

تم استخدام مبيد الكابتان المجهز من قبل شركة فايكو الاردنية والذي يحوي على المادة الفعالة Captan بتركيز ٥٠% لا يذوب في الماء وانما يذوب بشكل جيد في المذيبات العضوية مثل Acetone و Ethanol و Xylene و Chloroform و Dioxane (٧) استخدم المبيد لمعرفة تأثيره على الفطريات الممرضة للنبات بالتراكيز (2,1,0.8,0.6,0.4,0.2,0.1) ملغم / مل وذلك باضافة المبيد الى الوسط قبل تصلبه ، بعد تصلب الوسط نقلت اقراص بقطر ٥ ملم من مستعمرة الفطر الى الاطباق الحاوية على وسط PDA المضاف اليه المبيد وحضنت الاطباق في درجة ٢٨ ± ٢°م وبمعدل ثلاث مكررات لكل فطر لحين ملئ اطباق المقارنة التي استخدم فيها الوسط PDA بدون اضافة المبيد ، ثم قياس قطرين متعامدين لكل مستعمرة فطرية نامية ومنها تم حساب نسبة النمو .

٥- الكواشف المستخدمة في الكشف الكيمائية لبعض المواد الطبية الفعالة .

٥-١- كاشف دراجندروف (Dragendroffs Reagent)

حضر الكاشف حسب طريقة (١٧) لغرض الكشف عن القلويدات ويتكون المحلول الاول من اضافة ٠,٦ غم من مادة اليزموث Bismuth subnitrate و ٢ مل من حامض الهيدروكلوريك المركز (HCl) الى ١٠ مل من الماء المقطر والمحلول الثاني من اضافة ٦ غم من يوديد البوتاسيوم KI الى ١٠ مل من الماء المقطر. مزج

كلية العلوم/جامعة الموصل. اعيد تنشيطها على الوسط الغذائي المكون من مستخلص البطاطا والدكستروز والاكثار Potato Dextrose Agar (PDA) وحضنت في درجة حرارة ٢٨±٢°م وبعد نمو المستعمرات الفطرية تم التأكد من نقاوة المستعمرات الفطرية عن طريق الفحص المجهرى لها وشكل المستعمرة.

٢- جمع النبات وتصنيفه

تم جمع اوراق نبات الدفلى *Nerium olender L.* والذي يعود الى عائلة Apocynaceae من حدائق جامعة الموصل بعد التأكد من تصنيفها في المعشب التابع لكلية العلوم/ قسم علوم الحياة/ جامعة الموصل، تم تنظيف النماذج من الاتربة والاساخ وحفظت في ظروف خالية من الرطوبة في مغلفات ورقية لحين الاستخدام.

٣- تحضير مستخلصات اوراق الدفلى

٣-أ- تحضير المستخلص المائي لاوراق نبات الدفلى الطرية والجافة تم تحضير المستخلص المائي لاوراق نبات الدفلى حسب طريقة (١٢,١١) حيث اضيف ٤٠ غم من اوراق الدفلى الى ١٦٠ مل من الماء المقطر (٤:١ وزن : حجم) وسحق النموذج باستخدام خلاطة كهربائية (Blender) بوجود الثلج وحرك بعدها المزيج بوساطة المحرك الكهربائي مدة ٦٠ دقيقة لتحطيم الجدر الخلوية للنباتات ، ثم ترك المزيج بدرجة حرارة ٤٠°م لمدة ٢٤ ساعة لغرض النقع ثم رشح بعد ذلك خلال عدة طبقات من الشاش، تم تركيز المستخلصات باستخدام جهاز المبخر الدوار (Rotary evaporater) المجهز من شركة (Electrotherma) الانكليزية في درجة حرارة ٤٠°م جفدت المستخلصات الناتجة فيما بعد بالتبريد تحت ضغط مخلخل بجهاز التجفيد (Lyophilizer) المجهز من شركة (Edwards) الانكليزية ثم حفظت العينات في قناني زجاجية ذات غطاء محكم عند درجة -٥°م لحين الاستخدام ، حيث تمت اذابة غرام واحد من مسحوق المستخلص في (٥) مل من الماء المقطر المعقم للحصول على تركيز (٢٠٠) ملغم / مل كمحلول قياسي ثم تعقيم المستخلص بالترشيح عبر المرشحات الغشائية (Membrane filters) دقيقة الفتحات بقطر ٠,٢٢ وللحصول على التركيز التثبيطي الأدنى Minimum Inhibitory Concentration (MIC) استخدمت التراكيز الاتية (٤٠,٣٠,٢٠,١٠) ملغم/مل من الوسط الزرعي (PDA) واستخدمت ايضا معاملة المقارنة وهي وسط زرعي (PDA) بدون أي اضافة كعينة سيطرة واختبرت حساسية الفطريات تجاه هذه المستخلصات باخذ مزرعة نقية بعمر ٧ ايام ومحضنة بدرجة حرارة ٢٨ ± ٢°م حيث اخذت الحواف الخارجية للمستعمرات الفطرية على شكل اقراص بقطر ٥ ملم بواسطة ثاقبة الفلين في ظروف معقمة ثم زرعت في وسط طبق حاوي على الوسط الزرعي وبالتراكيز المذكورة سابقا وبثلاث مكررات لكل تركيز ثم حضنت الاطباق بدرجة ٢٨ ± ٢°م ولحين ملئ اطباق المقارنة للفطر واخذت النتائج بحساب متوسط قياس قطرين متعامدين لكل مستعمرة فطرية ومنها تم حساب نسبة النمو (١٣).

المحلولة اعلاه واضيف الناتج الى ٧ مل من حامض الهيدروكلوريك المركز، ثم اكمل الحجم الى ٤٠٠ مل بالماء المقطر.

٢-٥- كاشف ماير (Mayer Reagent)

تم تحضيره حسب طريقة (١٨) لغرض الكشف عن القلويدات، وذلك باذابة ١,٨٥ غم من كلوريد الزئبقيك (HgCl) في ٦٠ مل ماء مقطر اولا ثم ٥ غم من يوديد البوتاسيوم في ١٠ مل من الماء المقطر، ثم مزج المحلولان اعلاه واكمل الحجم الى ١٠٠ مل بالماء المقطر.

٣-٥- كاشف واكنر (Wagner Reagent)

حضر حسب طريقة (١٨) للكشف عن القلويدات باذابة ٢ غم من يوديد البوتاسيوم في ٥ مل ماء مقطر، ثم اضيف اليه ١,٢٧ غم من اليود ومزجا حتى الذوبان ثم اكمل الحجم الى ١٠٠ مل بالماء المقطر وحفظ في الثلاجة لحين الاستخدام.

٤-٥- كاشف فهلنك (Fehlings Reagent)

حضر الكاشف حسب طريقة (١٩)، حضر المحلول الاول باذابة ٣٥ غم من كبريتات النحاس (CuSO₄) في ١٠٠ مل من الماء المقطر ثم اكمل المحلول الى ٥٠٠ مل. والمحلول الثاني باذابة ٧ غم من هيدروكسيد الصوديوم (NaOH) و ١٧٥ غم من ملح روشيل (Rochells Salt) في ١٠٠ مل من الماء المقطر ثم اكمل الحجم الى ٥٠٠ مل من الماء المقطر. مزجت حجوم متساوية من هذين المحلولين عند الاستعمال وذلك للكشف عن الكلايكوسيدات الموجودة في الاجزاء النباتية.

٥-٥- كاشف بندكت (Banadects Reagent)

حضر الكاشف حسب طريقة (٢٠) وكما يلي: المحلول الاول باذابة ١٣٧ غم من سترات الصوديوم (Na₂SO₃) احادية الماء في ٧٠٠ مل من الماء المقطر، والمحلول الثاني باذابة ١٧,٣ غم من كبريتات النحاس (CuSO₄) في ١٠٠ مل من الماء المقطر. مزج هذان المحلولان ببطء مع الرج ثم اكمل الحجم الى ١٠٠٠ مل بالماء المقطر واستخدم لغرض الكشف عن الكلايكوسيدات الموجودة في النباتات المستخدمة.

٦- الكشف الكيمياوي عن بعض المواد الفعالة الموجودة في عينات نبات الدفلى:

١-٦- الكشف عن القلويدات (Alkaloids)

اتبعت طريقة (٢١) وذلك بغلي ١٠ غم من العينات النباتية في ٥٠ مل من الماء المقطر المحض بحامض الهيدروكلوريك ٤٠% ثم رشح المحلول بعد تبريده وتم اختبار ٠,٥ مل من الراشح في انبوبة اختبار مع كل من الكوشف التالية:

| الانبوية | ٠,٥ مل من الكاشف | لون الراسب الذي يدل على وجود القلويد |
|----------|------------------|--------------------------------------|
| الاولى | دراجندروف | برتقالي |
| الثانية | ماير | ابيض |
| الثالثة | واكنر | بني |

٦-٢- الكشف عن الكلايكوسيدات (Glycosides)

مزج جزأً متساويان من كاشف فهلنك مع المستخلصات النباتية المائية، ثم ترك المزيج في حمام مائي مغلي لمدة ١٠ دقائق، ويستدل على ايجابية الفحص من خلال ظهور راسب احمر وهو دليل على وجود السكريات وللتأكد من هذه النتيجة تم اضافة ١ مل من المستخلصات النباتية المائية الى ٥ مل من كاشف بندكت حيث يؤكد ظهور اللون البني على وجود السكريات (٢٢).

٦-٣- الكشف عن التانينات (Tannins)

تم غلي ١٠ غم من العينات النباتية في ٥٠ مل من الماء المقطر ثم رشح المحلول ثم ترك ليبرد، وقسم الى جزئين اضيف لاحدهما بضع قطرات من خلات الرصاص ١%، حيث يستدل على وجود التانينات بظهور راسب هلامي القوام. واضيف للجزء الاخر قطرتين من محلول كلوريد الحديدك ١% حيث يدل اللون الاخضر المزرق على وجود التانينات (٢٣).

٦-٤- الكشف عن الفلافونات (Flavonates)

حضر المحلول الاول باذابة ١ غم من العينات النباتية في ٥ مل من الكحول الايثيلي ٩٥% ثم رشح المحلول بعد ٦ ساعات، حضر المحلول الثاني باضافة ١٠ مل من الكحول الايثيلي بتركيز ٥٠% الى ١٠ مل من المحلول هيدروكسيد البوتاسيوم ٥٠%. مزجت كميات متساوية من المحلولين اعلاه وظهر اللون الاصفر يدل على وجود الفلافونات (٢٤).

٦-٥- الكشف عن الفينولات (Phenol)

اضيف ٣ مل من المستخلصات المائية للنباتات الى ٢ مل من محلول كلوريد الحديدك FeCl₃ المحضر باذابة ١ غم من كلوريد الحديدك في ١٠٠ مل من الماء المقطر وظهر اللون الاخضر المزرق يدل على ايجابية الكشف (١٧).

٧- تصميم التجارب وتحليل النتائج

تم اجراء التحليل الاحصائي للبيانات باستخدام التصميم العشوائي الكامل (CRD) لتجربة عاملية واختبرت معنوية المتوسطات باستخدام طريقة دنكن المتعددة المدى (٢٥).

النتائج والمناقشة

اظهرت نتائج الجدول (١) ان اوراق نبات الدفلى تحتوي على القلويدات والكلايكوسيدات والتانينات والصابونيات والفلافونات والفينولات. كذلك اظهرت النتائج ان للمستخلص المائي والكحولي الطري والجاف تأثيرا تثبيطيا واضحا اذ لم تكن هنالك اية مقاومة مطلقة لجميع انواع الفطريات الممرضة للنبات المستخدمة في البحث، اذ كانت جميعها حساسة وينسب متفاوتة.

يشير الجدول (2) الى معدل اقطار المستعمرات الفطرية الناتجة من تأثير المستخلصات المائية لاوراق نبات الدفلى الطرية والجافة حيث لوحظ تناقص تدريجي في نمو الفطريات بزيادة تركيز المستخلصات المائية الطرية وذلك من خلال قياس اقطار مستعمرات الفطر، اعطى المستخلص المائي الطري نسبة تثبيط ٨١,٣% للفطر *Alternaria*

الفطر *Macrophomina phaseolina* حيث بلغت نسبة التثبيط فيه ٦٠% عند التركيز ٢ ملغم/مل، وكان اقل تاثير للمستخلص الكحولي الطري للفطر *Fusarium oxysporum* تراوحت بين (٢٠-٤٦,٧%) عند التركيز (٢٠-٥٠) ملغم/مل ونلاحظ في نفس الجدول تاثير المستخلص الكحولي الجاف حيث تراوحت النسبة المئوية للتثبيط (٤٥,٣-٦٥,٣) % للفطر *Alternaria alternata* اما النسبة المئوية للتثبيط للفطر *Macrophomina phaseolina* فقد تراوحت بين (٦,٧-٤٩,٣) % بينما بلغت النسبة المئوية للتثبيط للفطر *Fusarium oxysporum* بين (٢٠-٣٣,٣) % مما سبق يتضح لنا ان للمستخلص الكحولي لاوراق نبات الدفلى تاثيرا تثبيطيا اعلى مما هو عليه عند استخدام المستخلص المائي لاوراق نبات الدفلى قد يعود السبب الى قابلية ذوبان بعض المركبات مثل الالديهيدات والكيوتونات والفلافونويدات والمركبات الكلايكوسيدية على الذوبان في المذيبات العضوية مثل الايثانول وعدم ذوبانها في الماء (٢٩,٢٨)

الجدول رقم (١) : الكشف الكيمياوي عن المواد الفعالة في مستخلصات النباتات المدروسة .

| المواد الفعالة | اوراق نبات الدفلى |
|--------------------------|-------------------|
| القلويدات Alkaloids | + |
| الكلايكوسيدات Glycosides | + |
| التانينات Tanins | + |
| الصابونيات Saponines | + |
| الفلافونات Flavones | + |
| الفينولات Phenol | + |

• (+) وجود المادة الفعالة

alternata عند التركيز ٤٠ ملغم /مل بينما بلغت نسبة التثبيط على معدل اقطار مستعمراته ٢٤% عند استخدام الفطر *Macrophomina phaseolina* عند نفس التركيز، وبلغت نسبة التثبيط ٣٦% عند استخدام الفطر *Fusarium oxysporum* . أما عند استخدام المستخلص المائي الجاف ف لوحظ انخفاض في معدل اقطار المستعمرات الفطرية بزيادة تركيز المستخلص مما انعكس على النسبة المئوية للتثبيط حيث بلغت اعلى نسبة للتثبيط ٥٣,٣% عند استخدام الفطر *Fusarium oxysporum* عند التركيز ٤٠ ملغم/مل تلاه الفطر *Macrophomina phaseolina* حيث بلغت نسبة التثبيط ٤٠% عند نفس التركيز وقد اعطى المستخلص المائي الجاف اقل نسبة تثبيطية عند استخدام الفطر *Alternaria alternata* وتراوحت النسبة (١٢-٣٣,٣) % عند التركيز (١٠-٤٠) ملغم /مل، ويعزى تاثير المستخلصات المائية لاوراق نبات الدفلى الى احتوائها على المركبات الفينولية الذائبة في الماء والمثبطة لنمو الاحياء المجهرية التي تؤثر على طبيعة البروتينات والغشاء الخلوي والبلاستيدات الخضراء والميتوكوندريا ، وقد يعود سبب اختلاف حساسية الفطريات المدروسة اتجاه المستخلص المائي لاوراق الدفلى الى طبيعة التركيب الخلوي والجدار الخلوي لكل فطر (٢٦). وقد اظهر المستخلص المائي لازهار نبات الدفلى تأثيرا تثبيطيا ضد الفطر *Alternaria alternata* بلغت (٢٧).

أما الجدول (٣) فيمثل معدل أقطار المستعمرات والنسب المئوية للتثبيط عند استخدام المستخلص الكحولي لاوراق نبات الدفلى الطرية والجافة ضد الفطريات الممرضة للنبات قيد الدراسة. حيث نلاحظ ان هنالك زيادة معنوية في النسب المئوية للتثبيط بزيادة تراكيز المستخلص، اعلى نسبة تثبيط للمستخلص الكحولي الطري بلغت 93.3% للفطر *Alternaria alternata* عند التركيز ٢ ملغم/مل يليه

الجدول رقم (2) : تاثير المستخلصات المائية الطرية والجافة لاوراق نبات الدفلى على نمو بعض انواع الفطريات الممرضة للنبات .

| نوع المستخلص | تراكيذها ملغم/مل | أقطار المستعمرات الفطرية (سم) | | | | | | | |
|--------------------------------|---------------------|-------------------------------|------|------|------|------|-----|-----|------|
| | | النسبة المئوية للتثبيط % | | | | | | | |
| المستخلص المائي الطري | الفطريات | ٤٠ | ٣٠ | ٢٠ | ١٠ | ٤٠ | ٣٠ | ٢٠ | ١٠ |
| | | ٨١,٣ | ٥٧,٣ | ٥٢ | ٤٤ | ١,٤ | ٣,٢ | ٣,٦ | ٤,٢ |
| | | أ | أ | أ | أ | أ | أ | أ | أ |
| <i>Macrophomina phaseolina</i> | | ٢٤ | ٨ | ٨ | ٦,٧ | ٥,٧ | ٦,٩ | ٦,٩ | ٧ |
| | | هـ | و | هـ | و | هـ | هـ | هـ | هـ |
| | | ج | د | ج | د | د | ج | ج | ب |
| <i>Fusarium oxysporum</i> | | ٣٦ | ٣٤,٧ | ٢٩,٣ | ٢١,٣ | ٤,٨ | ٤,٩ | ٥,٣ | ٥,٩ |
| | | د | ج | ج | ج | د | ب ج | ج | ب |
| | | ب | ب | ب | ب | ب | ب | ب | ب |
| المستخلص المائي الجاف | | ٣٣,٣ | ٢١,٣ | ٢٠ | ١٢ | ٥ | ٥,٦ | ٦ | ٦,٦ |
| | | د | هـ | د | هـ | د هـ | د | د | د هـ |
| | | ب | ب | ب | ب | ب | ب | ب | ب |
| <i>Macrophomina phaseolina</i> | | ٤٠ | ٣٠,٧ | ٢٠,٠ | ١٧,٣ | ٤,٥ | ٥,٢ | ٦,٠ | ٦,٢ |
| | | ج | د | د | د | د ج | ج | د | د ج |
| | | ب | ب | ب | ب | ب | ب | ب | ب |
| <i>Fusarium oxysporum</i> | | ٥٣,٣ | ٤٠ | ٣٧,٣ | ٢٤ | ٣,٥ | ٤,٥ | ٤,٧ | ٥,٧ |
| | | ب | ب | ب | ب | ب | ب | ب | ب |
| | | ب | ب | ب | ب | ب | ب | ب | ب |

• كل معاملة تمثل متوسط ثلاث مكررات.

• قطر مستعمرة الفطر في طبق المقارنة ٧,٥ سم .

- القيم التي تشترك عموديا بحرف ابجدي واحد او اكثر ليس بينها
- فرق معنوي عند مستوى احتمال ٠,٠٥ .

الجدول رقم(3) : تأثير المستخلص الكحولي الطري والجافة لاوراق نبات الدفلى على نمو بعض انواع الفطريات الممرضة للنبات .

| النسبة المئوية للتثبيط % | | | | أقطارالمستعمرات الفطرية (سم) | | | | تراكيذها ملغم/مل | نوع المستخلص |
|--------------------------|------|------|------|------------------------------|-----|-----|-----|-----------------------------|------------------------|
| ٢ | ١,٥ | ١ | ٠,٥ | ٢ | ١,٥ | ١ | 0.5 | | |
| ٩٣,٣ | ٨٤ | ٤٩,٣ | ٤٠ | ٠,٥ | ١,٢ | ٣,٨ | ٤,٢ | <i>Alternaria alternata</i> | المستخلص الكحولي الطري |
| أ | أ | أب | أ | أ | أ | أب | أب | | |
| ٦٠ | ٥٢ | ٢٠ | ١٣,٣ | ٣ | ٣,٦ | ٦ | ٦,٥ | | |
| ٤٦,٧ | ٤٠ | ٢٩,٣ | ٢٠ | ٤ | ٤,٥ | ٥,٣ | ٦ | <i>Fusarium oxysporum</i> | |
| ٦٥,٣ | ٦٢,٧ | ٥٠,٧ | ٤٥,٣ | ٢,٦ | ٢,٨ | ٣,٧ | ٤,١ | <i>Alternaria alternata</i> | المستخلص الكحولي الجاف |
| ب | أب | أ | أ | ب | أ | أ | أ | | |
| ٤٩,٣ | ٣٢,٣ | ٢١,٣ | ٦,٧ | ٣,٨ | ٥,٠ | ٥,٩ | ٧ | | |
| ٣٣,٣ | ٣٠,٧ | ٢٥,٣ | ٢٠ | ٥ | ٥,٢ | ٥,٦ | ٦ | <i>Fusarium oxysporum</i> | |
| د | د | ج د | ب ج | ج د | د ج | ب | ج | | |

- قطر مستعمرة المقارنة في طبق المقارنة ٧,٥ سم .
- كل معاملة تمثل متوسط ثلاث مكررات.
- القيم التي تشترك عموديا بحرف ابجدي واحد او اكثر ليس بينها
- فرق معنوي عند مستوى احتمال ٠,٠٥ .

النسب التثبيطية العالية التي اظهرها مبيد الكابتان ضد الفطريات المدروسة الا ان الباحثين ينصحون بعدم استخدام المبيدات بصورة عامة وذلك نتيجة الاضرار السلبية السامة التي تحدثها حيث ثبت ان المبيدات عوامل مسرطنة اذ ان لها القدرة على توليد السرطان وتحفز حدوث اضطرابات كروموسومية كما ان المبيدات مسؤولة عن تشوه الاجنة وتسبب تهيج الجلد والعين (٤,٦)

وعند ملاحظة نتائج الجدول(٤) نلاحظ ان مبيد الكابتان اظهر تاثيرا تثبيطيا بنسبة ١٠٠% عند استخدام الفطر *Alternaria alternata* عند التراكيز (٢,١,٠,٠,٨) ملغم/مل اما عند استخدام الفطر *Macrophomina phaseolina* فقد بلغت نسبة التثبيط ١٠٠% عند التراكيز (٢,٠١) ملغم/مل بينما بلغت اعلى نسبة للتثبيط ٩٣,٣% للفطر *F.oxysporum* عند التراكيز (٢) ملغم/مل وعلى الرغم من

الجدول رقم(٤) : تأثير مبيد الكابتان على نمو بعض أنواع الفطريات الممرضة للنبات.

| النسبة المئوية للتثبيط % | | | | اقطار المستعمرات الفطرية / (سم) | | | | | | | | الصفات المدروسة | | |
|--------------------------|------|------|------|---------------------------------|------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----------------|-----|-------------------------------|
| ٢ | ١ | ٠,٨ | ٠,٦ | ٠,٤ | ٠,٢ | ٠,١ | ٢ | ١ | ٠,٨ | ٠,٦ | ٠,٤ | | ٠,٢ | ٠,١ |
| ١٠٠ | ١٠٠ | ١٠٠ | ٨٦,٧ | ٨٠ | ٢٨ | ٠ | ٠ | ٠ | ٠ | ١,٠ | ١,٥ | ٥,٤ | ٧,٥ | <i>Alternaria alternata</i> |
| أ | أ | أ | أ | أ | ب | أ | أ | أ | أ | أ | أ | ب | أ | |
| ١٠٠ | ١٠٠ | ٨٦,٧ | ٢٨ | ١٣,٣ | ٠ | ٠ | ٠ | ٠ | ١ | ٥,٤ | ٦,٥ | ٧,٥ | ٧,٥ | <i>Macrophomin phaseolina</i> |
| أ | أ | ب | ج | ج | ج | أ | أ | أ | أب | ج | ج | ج | أ | |
| ٩٣,٣ | ٥٨,٧ | ٥٦ | ٤٩,٣ | ٤٦,٧ | ٣٣,٣ | ٠ | ٠,٥ | ٣,١ | ٣,٣ | ٣,٨ | ٤ | ٥ | ٧,٥ | <i>Fusarium oxysporum</i> |
| ب | ب | ج | ب | ب | أ | أ | ب | ب | ب | ب | ب | أ | أ | |

- قطر مستعمرة المقارنة في طبق المقارنة ٧,٥ سم .
- كل معاملة تمثل متوسط ثلاث مكررات.

فرق معنوي عند مستوى احتمال ٠,٠٥ .

• القيم التي تشترك عموديا بحرف ابجدي واحد او اكثر ليس بينها

المصادر

- the tree, Savannah sengal. (West-Africa), 11-Antimicrobial activity of 33 species. J.Ethnoph., 22:25-31.
15. Verpoort, R., Tgianastoi, A., Vandoorne, H. and Svendsen, A.B.(1982):Medicinal plant of Surinam,1-Antimicrobial activity of some medicinal plant. J. Ethanopharma col.5:221-226.
١٦. النعمان، ادبية يونس(١٩٩٨):التأثير الجزيئي لبعض المستخلصات النباتية على نمو وايض عدد من الجراثيم الموجبة والسالبة لصيغة كرام. اطروحة دكتوراه،كلية العلوم،جامعة الموصل،العراق.
17. Harborn, J.B.(1973): Phytochemical Methods, Aguide to Modern Techniques of Plants Analysis. Champan and Hall Ltd.London.pp159-165.U.K.
18. Smolensk, S.J.; Silinis,H and Fransworth, N.R.(1972):Alkaloid screening of Libya.35:31-34.
١٩. سركييس، جورج جوناثان وقاسم محمد علي الراوي و جاسم محمد كاطع(١٩٨٠):تشخيص المركبات العضوية(الطرق الكيمائية)،مطبعة جامعة بغداد،بغداد،العراق.
20. Stahl, E.(1969):Thin layer Chromatochraphy,2nd ed.By Springerverlag. Berlin Heidelberg. NewYourk. pp421-462.USA.
21. Fahmy, I.R. (1933): Constituent of Plant crude drugs, 1sted., Poul Barby. Cario. Egypt.
٢٢. الشيلخي،محمد عبد الستار و فريال حسن العزاوي وعبدالجليل حسن فياض(١٩٩٣):الكيمياء الحياتية العملي.الجامعة المستنصرية،العراق.
٢٣. دلالي،باسل كامل و صادق،حسن الحكيم(١٩٨٧):تحليل الاغذية.دار الكتب،جامعة الموصل،العراق.
٢٤. العاني،اوس هلال(١٩٩٨):دراسة مكونات الحبة السوداء المحلية *Nigella sativa* وتأثير مستخلصاتها على بعض الاحياء المجهرية. رسالة ماجستير ،كلية العلوم،الجامعة المستنصرية، بغداد،العراق.
25. Steel, R.G.D. and Torrie, J.H. (1980):Principles and Procedures of Statistics. 2nd ed.Mc Graw-Hill Company, Inc., London.
26. Rai, M;K. Qureshi and Pandy, A.K.(1999): Invitro susceptibility of opporatunistic *Fusarium spp.*to essential oils. Mycoses 42:97-101.
٢٧. الطائي، ورفاء سعيد قاسم محمد(٢٠٠٧):دراسة تصنيفية لاناوع جنس *Alternaria* المسبب لمرض يتقع الاوراق وتهينة موديل للسيطرة البايولوجية في مدينة الموصل/اطروحة دكتوراه/كلية العلوم/قسم علوم الحياة/جامعة الموصل،العراق.
1. Eregene, A.; P. Guler; S. Tan; S. Mirici; E. Hamzigla and ADunan(2006): Antibacteria and antifungal activity of *Heracleum sphondylium* sub sp. Artinense .African,J.Biotech,5(22):1087-1089.
2. Appleton,JA. and Tansey,M.R. (1975):Inhabition of growth of zoo pathogenic fungi.Mycologya.57:882-885.
3. Johnson, S.L.(1995):Cyproconazole, Pesticide to Lerance. Federal Register Environmental Documents. V.S. Environmental Protection Agency,60 ,40, 40545-40548.
4. Gherbawy, Y.A(1996): Keratinolytic and Kerationphilic fungi of mangrove soil and air in the city of Dena and their response to garlic extracts and onion oil treatements .Acta Mycologica 31:87-99.
5. Jones, J.(1998):Cyproconazole, Pesticide to Lerance. Federal Register Environmental
٦. حسين، فوزي طه قطب(١٩٨١):النباتات الطبية زراعتها ومكوناتها.دار المريخ للنشر،الرياض،٣٥٦ص.
٧. العروسي، حسين و سمير،ميخائيل و محمد علي عبد الرحيم (٢٠٠٣): مكافحة الامراض النباتية.مكتبة المعارف الحديثة، الاسكندرية، مصر، ٢٧٣صفحة.
8. Botalico, A. and Logrieco, A.(1998): Toxigenic *Alternaria* species of Economic Importancce. In: H.K. Sinha and D. Bhatagar (eds.) Mycotoxins in Agriculture and Food Safety, Marcel Dekker, Inc. NewYourk.pp65-108.
٩. اللشي،نجوى بشير شمعون(٢٠٠٣):المقاومة المتكاملة لبعض امراض جذور السمسم الفطري في محافظة نينوى.اطروحة دكتوراه،كلية الزراعة والغابات،جامعة الموصل،العراق.
١٠. الساعدي،هادية علوان محمد(١٩٨٨):دراسةتعفن بذور وسقوط بادرات الباميا في محافظة نينوى-العراق.رسالة ماجستير،كلية الزراعة والغابات،جامعة الموصل،العراق.
11. Rahan, I.J.; Abd, A.A. and Aziz ,A.A. (1992): Further observations on the pharmacological activities of the aqueous extract of *Aristolochia bottae* stems. Fitoterpia LXIII(4):350-352.
١٢. السميري،احسان عيدان عبد الكريم(١٩٩٩):دراسة الفعالية المضادة للجراثيم للمستخلصات المائية لنبات الثوم.المجلة الصحية للشرق المتوسط،المجلد٥،عدد٤،ص٨٠٣-٨١٠.
13. Pitt,J.I and Hoking, A.D. (1997): Fungi and Food Spoilage,2nd ed. Gailhersburg, Maryland: Chapman and Hall.593 pp. USA.
14. Grand, A.; Verpoort, R.; Wondergem, P.A. and Ponsset, J.L.(1998): Anti-infection phytotherapies of

29. Cowan, V.(1973):Statistics and Analysis in Geology. John Wiley and Sons,Inc.,NewYourk.Pp27-85.

28. Lawrence, Ch.; Mitchell, Th.; Craven, K.; Cho, Y.; Cramer, R. and Kim,K. (2008): At deaths door: Alternaria Pathogenicity mechanisms. Plant Pathol. 24(2):101-111.

Effect of aqueous and alcoholic extracts of *Nerium oleander* L. leaves on the growth on some phytopathogenic Fungi

Najla Tariq Al-Tikriti

Dept. of biology, Science College , Univirsity of Mosul, Mosul, Iraq.

(Received: 30 / 12 / 2009 ---- Accepted: 27 / 4 / 2010)

Abstract

The study was conducted to explore the biological activity of water and alcoholic extracts of *N.oleander L*: leaves (Fresh & dry)against the growth of some plant pathogenic fungi namely; *Alternaria alternata*, *Macrophomina phaseolina* & *fusarium oxysporum* In general the inhibition effects of water extracts varied between(6.7-81.3)% while the alcoholic extracts achieved different percentage and the inhibition effects varied between (33.3 & 93.3)% in both fresh and dry leaves . For comparison purposes Captan was used at different concentrations and achieved 100% inhibition at (0.8,1 & 2 mg/ml). Chemical analysis of *Nerium oleander L*. leaves proved the presence of alkaloids , flavenoids ,resins phenols, tanins,saponis & glycosides .