تأثير استخدام مستخلصات بعض النباتات في مكافحة الفطر الممرض *Fusarium.oxysporum* f.sp. *cucumerinum* المسبب لمرض تعفن جذور الخيار

تاريخ الاستلام2016/5/16 تاريخ القبول 2016/8/10

انتصار مرزوك حسين الحسناوي
جامعة الفرات الأوسط التقنية
المعهد التقني / بابل
Email:entesar00001978@gmail.com

دعاء حسن هادي الخيكاني
جامعة الفرات الأوسط التقنية
المعهد التقني / بابل
Email:duaahassun@yahoo.com

الخلاصة

هدفت هذه الدراسة الى معرفة تأثر فاعلية بعض المستخلصات النباتية والتي شملت مستخلص اوراق الددونيا، السدر، اليوكالبتوز والدفلة وبأربعة تراكيز مختلفة لكل مستخلص نباتي 10% ،20% ،30%، 40% في مكافحة الفطر *Fusarium oxysporum* المسبب لمرض تعفن جذور الخيار . أظهرت النتائج ان جميع المستخلصات النباتية المستخدمة قد حققت تثبيطاً معنوياً في معدل النمو الفطري قياساً بمعاملة المقارنة وكان أكثر التراكيز كفاءة هو التركيز 40% اذ بلغ معدل النمو 4، 3.75، 2.75، 2.12 سم على التوالي ونسبة التثبيط 52.94 %،55.88 % ،67.64% ،75.05% على التوالي. قياسا مع معاملة المقارنة(للفطر الممرض لوحدة) والتي كان معدل النمو لها 8.5 سم. اذ أظهرت النتائج إن أكثر هذه المستخلصات فاعلية في تثبيط نمو الفطر الممرض هو مستخلص نبات الدفلة عند التركيز 40% والذي حقق نسبة تثبيط بلغت 75.05%. في حين أظهرت النتائج ان اقل هذه التراكيز فاعلية في تثبيط نمو الفطر الممرض هو التركيز 10% اذا بلغت نسبة التثبيط لها 25.05%، 23.52%، 28%، 51.52% على التوالي .

كلمات مفتاحية: *Fusarium.oxysporum*، cucumber ، مستخلصات نباتية.

Microbiology Classification QR1 – 75.5

المقدمة

تصاب نباتات العائلة القرعية بعدد من مسببات الذبول الوعائي والمتسببة عن مختلف السلالات الفسيلوجية للفطر *Fusarium oxysporum* وقد وصف مرض الذبول الفيوزارمي لأول مره على نبات الخيار عام 1955 [1]. ويعد الفطر *Fusarium* spp من الفطريات الشائعة بالتربة وذا توزيع جغرافي واسع إذ ينتشر في جميع بقاع العالم وبمختلف انواع الترب إلا ان كثافته تزداد في منطقة حول الجذور (Rhizosphere) لمختلف النباتات [2] [3]. يسبب مرض الذبول الفيوزامي خسائراً كبيرةً في كمية ونوعية المحاصيل وأحياناً يؤدي إلى موت كلي للنبات أو تضرره بشدة قبل حلول موعد جني المحصول [4]. وان الذبول الناتج من تأثير الفطر *Fusarium* spp يعود الى انسداد الاوعية الناقلة بالغزل الفطري والابواغ والمواد البكتينية المتحللة وهذا بطبيعة الحال تأثير ميكانيكي . او ان الذبول ناتج عن افراز مواد سامة تؤدي الى موت الاوعية الناقلة وبالتالي تفقد وظيفتها الحيوية في نقل المواد الاولية الى المجموع الخضري ، والمواد الغذائية المصنعة الى اجزاء النبات وبالتالي يحدث الذبول [5]. هناك أساليب عديدة استخدمت في مكافحة الامراض النباتية الفطرية منها أسلوب المكافحة الكيميائية باستخدام المبيدات الفطرية Fungicides وهذا كان متبع بكثرة في السنوات السابقة .وتعد المبيدات الكيميائية فعالة جدا في مكافحة المسببات المرضية ألا إنها كانت تسبب مشاكل كبيرة من خلال التلوث البيئي اذ تبين ان لها تأثيرات سلبية في البيئة وصحة الإنسان والاحياء غير المستهدفة وظهور سلالات مقاومة لفعل المبيدات [6] ولهذه الاسباب وغيرها اتجهت الأنظار الى استخدام أساليب مكافحة أكثر امناً للصحة والبيئة وتشمل هذه الأساليب استخدام المكافحة الإحيائية والمستخلصات النباتية حيث أثبتت العديد من الدراسات ان بعض المستخلصات النباتية تمتلك فاعلية مضادة للعديد من انواع الفطريات [7] [8]. ونظراً لاهمية مرض الذبول الفيوزارمي على نبات الخيار المتسبب عن الفطر *Fusarium.oxysporum* f.sp. *cucumerinum* فقد جاء هذا البحث بهدف دراسة دور بعض المستخلصات النباتية في مقاومة هذا الفطر الممرض .

المواد وطرائق العمل Meterials and Methods

1-عزل وتشخيص الفطر الممرض *Fusarium.oxysporum* f.sp. *cucumerinum*

تم عزل الفطر الممرض من نباتات الخيار التي ظهرت عليها أعراض الذبول وموت جزئي او كلي للنبات كما موضح في الشكل(1و2). حيث أخذت 50 عينه من جذور النباتات المصابة وتم غسلها بماء جاري لمدة ساعة لإزالة الأتربة العالقة بها ثم قطعت الجذور إلى قطع صغيرة بطول 0.5 – 1 سم وعقمت سطحياً بغمرها لمدة 3 دقائق بمحلول هايبوكلورات الصوديوم (1% كلور حر) غسلت بعدها بماء مقطر معقم وجففت بورق نشاف معقم. وزرعت بواقع 4 قطع في كل طبق بتري بقطر 9 سم يحتوي على 15-20سم^3 من الوسط الزرعي Potato Dextrose Agar (PDA)معقم بجهاز الموصدة ومضاف إليه المضاد الحيوي Tetracycline . حضنت الاطباق على درجة حرارة 25 ± 2 مْ لمدة 4 أيام.ثم نقيت مستعمرات الفطريات لغرض التشخيص وذلك بأخذ جزء صغير من طرف النمو الفطري بواسطة needle معقم ونقل الى اطباق جديدة من الوسط الزرعي (PDA) وحضنت الاطباق على درجة حرارة 25 ± 2 مْ لمدة 7 أيام . شخص الفطر ***Fusarium.oxysporum*** استنادا الى الصفات التي ذكرها[9] [10].

شكل(1) يوضح اعراض الاصابة على المجموع الخضري لنبات الخيار.

شكل(2) يوضح اعراض الاصابة على المجموع الجذري لنبات الخيار

2- تحضير المستخلصات المائية لاوراق النباتات المطلوبة

اتبعت طريقة[11] في تحضير المستخلصات المائية وذلك بعد جمع اوراق النباتات المطلوبة من اشجار الحدائق المنزلية بشكل مباشر والتي شملت اوراق الدفلة ،الكالبتوز ،السدر والددونيا . غسلت الاوراق بالماء للتخلص من الشوائب والأتربة العالقة وبعد تنظيفها جيداً نشرت على اكياس من الجوت في مكان مظلل جيد التهوية مع التقليب المستمر للاوراق بين فترة واخرى حتى لاتتعفن وبعد تجفيفها جيداً طحنت بمطحنة كهربائية كل نبات على انفراد ووضعت المساحيق في اكياس من البولي اثلين وحفظت في مكان جاف لحين استخدامها. حضر مستخلص اوراق النباتات وذلك بإضافة 200 غم من مسحوق اوراق الدفلة في 500 مل ماء مقطر وخلط بخلاط كهربائي ثم وضع المخلوط في دوارق

زجاجية وترك لمدة 6 ساعات بعدها رشح المخلوط بواسطة اربع طبقات من الشاش الطبي للتخلص من الشوائب واجزاء الاوراق الكبيرة. رشح المستخلص بواسطة اوراق الترشيح من نوع Milipour filter papor 0.22nm لغرض تعقيم المستخلص. اتبعت نفس الخطوات مع باقي اوراق النباتات الاخرى ثم وضعت المستخلصات في أوعية زجاجية محكمة الغلق وحفظت في الثلاجة بدرجة حرارة 4م لحين الاستخدام .

جدول (1) يوضح أسماء النباتات المستخدمة في الدراسة .

ت	الاسم المحلي	الاسم الإنكليزي	الاسم العلمي	الجزء المستخدم
1	الددونيا	Monterey cypress	*Dodonea viscosa*	الأوراق
2	اليوكالبتوز	Eucalypts	*Eucalypts camaldulensis*	الأوراق
3	السدر	Christs thorm	*Zizyphus Vulgaris*	الأوراق
4	الدفلة	Oleander	*Nerium Oleander*	الأوراق

3- اختبار تأثير المستخلصات النباتية في تثبيط نمو الفطر الممرض *Fusarium.oxysporum* .

حضر الوسط الزرعي Potatoes Dextrose (PDA) Agar وذلك بأخذ 39غم من الوسط الزرعي مع لتر ماء حسب توصيات الشركة المنتجة . عقم الوسط بجهاز الموصدة Autoclave بدرجة حرارة 121 م° وضغط 1.5كغم /سم^2 لمدة 20 دقيقة بعد التعقيم برد الوسط الى 45 م° و أضيف اليه المضاد الحيوي Tetracycline بنسبة 250 ملغم /لتر. حضرت التراكيز(0%,10%,20%,30%,40%) المطلوبة بإضافة المستخلصات النباتية للوسط الزرعي وكما يلي :

1- 20 مل مستخلص + 180مل وسط زرعي PDA.
2- 40 مل مستخلص + 160مل وسط زرعي PDA.
3- 60 مل مستخلص + 140مل وسط زرعي PDA.
4- 80 مل مستخلص + 120مل وسط زرعي PDA.
5- 200 مل وسط زرعي PDA بدون مستخلص .

صبت الاوساط في اطباق بتري وبعد التصلب لقح مركز كل طبق بقرص قطر 0.5 ملم اخذ من حافة مستعمرة الفطر *F.oxysporum* بعمر 7 ايام . حضنت الاطباق في الحاضنة على درجة حرارة 25 ± 2 مْ لمدة 7 ايام لحين وصول نمو الفطر في المقارنة الى حافة الطبق . وحسبت النسبة المئوية للتثبيط على وفق معادلة [12].

$$Inhibition= (R_1-R_2)/R_1\times100$$

R_1 أقصى نمو شعاعي لمستعمرة الفطر الممرض فقط(معاملة السيطرة).

R_2 أقصى نمو شعاعي لمستعمرة الفطر الممرض في اطباق المعاملة .

***تصميم التجارب وتحليلها**

استخدم التصميم تام التعشية Complete Random Design (C.R.D) للتجارب وقورنت المعدلات على اختبار اقل فرق معنوي Least Significant Difference (L.S.D) وتحت مستوى احتمالية (0.05) [13].

النتائج والمناقشة Results and Discussion

أوضحت النتائج في الجدول (2) ان جميع المستخلصات النباتية لأوراق الأشجار المستخدمة في التجربة (الددونيا،السدر ،اليوكالبتوز والدفلة) قد حققت انخفاضاً معنوياً في معدل النمو ونسبة التثبيط للفطر الممرض *F.oxysporim* المسبب لمرض تعف الجذور لنباتات الخيار ولكافة التراكيز المستخدمة 10% ، 20% ، 30% ، 40 % وكان اكثرها فاعلية مع معاملة التركيز 40% والتي بلغ معدل النمو الفطري لها 4، 3.75، 2.75، 2.12 سم على التوالي ونسبة التثبيط 52.94 %، 55.88 % ،67.64% ،75.05% على التوالي واختلفت معنويا عن معاملاتها مع التراكيز الاخرى وكانت هذه النتائج ايجابيا قياسا مع معاملة المقارنة للفطر الممرض لوحدة والتي

كان معدل النمو لها 8.5 سم. في حين كان اقل هذه التراكيز فاعلية هو التركيز 10% ولكافة المستخلصات والذي بلغت معدل النمو لها 6.37 ، 6.5 ،6.12 ، 4.12سم على التوالي ونسبة التثبيط 25.05%،23.52%،28%،51.52% على التوالي . ومن النتائج يتضح لنا ان اكثر هذه المستخلصات فاعلية في نسبة تثبيط نمو الفطر هو مستخلص نبات الدفلة والذي حقق نسبة تثبيط بلغت75.05% . وكانت هذه النتائج متفقة مع نتائج الدراسة التي اظهرت فعالية تثبيطية عالية لمستخلصات اوراق وثمار نبات الدفلة ضد فطريات التربة الممرضة *F.oxysporim* ، *F.solani* ، *R. solani* ، *A . alternate* [14].وتلاه في المرتبة الثانية مستخلص نبات اليوكالبتوز الذي حقق نسبة تثبيط 67.64% وقد يعود السبب في ذلك لما يحتويه هذا المستخلص من مجموعة من المركبات الكلايكوسيدية والفينولية والعفصيات ووالراتنجات والفلافونويدات والتي لها تأثيراً فعالاً تجاه تثبيط الاحياء الدقيقة [15] وتتفق هذه النتائج مع ما توصل اليه [16] من خلال استخدام المستخلص المائي لنبات اليوكالبتوز في نسبة تثبيط الفطر *F.oxysporim* والتي بلغت 59.25 % عند التركيز 25%. في حين حققت معاملة مستخلصين اوراق السدر والددونيا تأثيراً في معدل النمو القطري للفطر الممرض والتي بلغت 3.75 و4 سم على التوالي ومعدل نسبة التثبيط لها 55.88 و52.94% على التوالي عند التركيز 40% ولم تختلف معنوياً عند هذا التركيز. وقد يعود السبب في فعالية مستخلص اوراق نبات السدر الى ما يحتوي هذا المستخلص من مواد مضادة إذ أثبتت بعض الدراسات أن نبات السدر يحتوي على العديد من المكونات الفعالة ومن أهمها أشباه القلويدات وتضم Spinanina و jujube المسئولة عن الفعالية المضادة للأحياء المهجرية [17].

جدول (2) يوضح تأثير بعض المستخلصات النباتية في معدل النمو ونسبة تثبيط الفطر الممرض*F.oxysporim* على الوسط الزرعي PDA .

% للتركيز	مستخلص نبات الددونيا		مستخلص نبات السدر		مستخلص نبات الكالبتور		مستخلص نبات الدفلة	
	معدل النمو	%للتثبيط	معدل النمو	%للتثبيط	معدل النمو	%للتثبيط	معدل النمو	%للتثبيط
10	6.37_a	25.05	6.5_a	23.52	6.12_a	28	4.12_a	51.52
20	5.37_b	36.82	5.87_b	30.94	5.25_b	38.23	3.25_b	61.76
30	4.5_c	47.05	5.37_b	36.82	3.75_c	55.88	2.87_b	66.23
40	4_c	52.94	3.75_c	55.88	2.75_d	67.64	2.12_c	75.05
(0) Control	8.5_d	0.0	8.5_d	0.0	8.5_e	0.0	8.5_d	0.0
L.S.D عند 0.05	0.54		0.15		0.06		0.14	

كل رقم في الجدول يمثل معدل أربعة مكررات

المصادر References

1-Zittter,T.A.; Hopkins, D.L.; Thomas ,C.E. 1996.Compendium of cucurbit diseases Aps press ,st. Panl.MN., p.11-17.

2-Marasas,W.F.O;Lamprecht, S.C.Van Wyk,p.s.andAnelich,R.Y.1987.Bibliography of *usarium*(Fungi:Hyphomycetes)in south Africa,1945-1985.Bothalia 17:97-104.

3-Agrios,G.N; 1988.plant pathology ,(Third edition) Academic press,INC.803 pp.

4-Agrios , G.N. 1997. Plant pathology (Fourth edition). Academic Press. 919 pp.

5-ديوان ، مجيد متعب وعلي حسين البهادلي. 1985.كتاب امراض النبات.وزارة التعليم العالي والبحث العلمي مؤسسة المعاهد الفنية – بغداد.

6-AL-Zaidi,A.A. Elhag.E.A. Al-otaibi.S.H. and Baig.M.B.2011. Negative effects of pesticides on the environment and the farmers awareness in Saudi Arabia: A case study The Journal of Animal & Plant Sciences, 21(3): 2011, Page: 605-611.

7-بوسكاني،جلال حمه صالح اسماعيل.2008.تأثير مستخلصات بعض النباتات البرية في مكافحة مرضي اللفحة الأسكوكايتية و الذبول الفيوزاريومي في الحمص في محافظة السليمانية. أطروحة تقدم بها الى مجلس كلية الزراعة-جامعة بغداد.

8-Charles A. Onyeani, S.O.x Osunlaja, O.O. Oworu, A.O. Joda.2012. Evaluation of Effect of Aqueous Plant Extract in the Control of Storage Fungi.

9-Gerlach.W,Nirenberg.H.1982.the Genus Fusarium-a pictorial Atlas. printed in Germany by Arno brynda Gmb H.345pp.

10-Leslie, J. F., and B.A. Summerell . 2006 . The *Fusarium* Laboratory manual pp212 www.blackwellprofessional.com .

11-Hernadez, M. ; Lopez, R. ; Abanas, R.M. ; Paris, V. and Arias, A. 1994. Antimicrobial activity of Visnea mocanera Leaf extracts. J. Ethnopharmacology, 41: 115-119.

12-Paultiz T.C ,T. Zhou and L. Rankin 1992.Selection of Rhizosphere bacteria for biological control of *pythium aphanidermatum* on hydroponically grown cucumber. Biological control 2:22-237.

13-الراوي،خاشع محمود وعبد العزيز محمد خلف الله.2000.تصميم وتحليل التجارب الزراعية. كلية الزراعة. الطبعة الثانية . جامعة الموصل. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي. جمهورية العراق.

14-Hadizadeh,I.,Peivastegan,B.and Kolahi,M.2009.Antifungual activity of Nettle (Urtica dioica L.)Colocynth (Citrullus colocynthis L.Schrad) oleander (Nerium oleander L.)and Konar(Ziziphus spina-christi L.) Extracts of plants pathogenic fungi. Pakistan Journal of Biological Science 12(1):58-63.

15-جاسم،عبد القادر محمد نوري .2005 . دراسة بعض مكونات اوراق نبات اليوكالبتوز وتأثير مستخلصاتها على نمو بعض الاحياء الدقيقة . مجلة علوم المستنصرية.المجلد 16العدد2 .

16-Satish, A. ; M. P. Raghavenra and K. A. Raveesha . 2009 . Antifungal potentiality of some plant extracts against Fusarium sp. . India . J. Archives of phytopathology and plant protection . 42 (7) : 618-625 .

17-العابد، كوثر فؤاد . 2008. النشاط المضاد للبكتريا والمضاد للكانديدا في الزيوت الطيارة لبعض النباتات الطبية في المملكة العربية السعودية ـ علم الاحياء الدقيقة. رسالة ماجستير- كلية التربية -جامعة الرياض .

Effect of the use Extracts of some Plants to Control *Fusarium.oxysporum* f.sp. *cucumerinum* Causing root rot cucumber disease

Receved :16/5/2016 Accepted :10/8/2016

Duaa Hassan Hadi
Email:duaahassun@yahoo.com

Entesar Marzook Hussain
Email:entesar00001978@gmail.com

Al-Furat Al-Awsat Technical University
Babylon Technical Institute

Abstract:

The aim of this study is to know the active influence of some extracts plants which include the extraction of Monterey cypress leaf, Christs thorm , Eucalypts and Oleander in four different concentration in every extraction plant 10%, 20%, 30%, 40% for control *Fusarium oxysporum* fungus caused root rot cucumber disease . The results appear that all the extraction plants which are used made a inhibition in the growth rate of the fungi . The 40% concentration is more efficiency ,the growth rate is 4, 3.75 , 2.75 ,2.12 Cm respectively and the inhibition rate is 52.94%, 55.88%, 67.64%,75.05% respectively. compared to the control treatment (*F.oxysporum* only) was growth rate 8.5cm. The most actively plant to reduce the growth of the fungi is the extraction of Oleander plant in the 40% concentration which made the inhibition rate 75.05%. The lowest rate of concentration to reduce the growth of the fungi is 10%.The inhibition rate is 25.05%,23.52%,28%,51.52%respectively.

Key word :-: *Fusarium.oxysporum* ، cucumber

Microbiology Classification QR1 – 75.5