فعالية مستخلصي القرنفل والديرم في مكافحة الفطر *Fusarium solani* المسبب لموت بادرات القطن

محمد نديم قاسم حنتوش

كلية الزراعة – جامعة ديالى

اجريت هذه الدراسة لتقويم كفاءة المستخلص الكحولي للقرنفل والديرم في تثبيط نمو الفطر *F. solani* المسبب لمرض موت البادرات في القطن مختبرياً وتحت ظروف البيت الزجاجي. اختبرت سمية التراكيز0.5 و1 و 2.5 5 و 10 و 15 و 20 ملغم/ مل من مستخلص القرنفل والتراكيز 5 و 10 و 15 و 20 و30 و40 ملغم / مل لمستخلص الديرم في تثبيط نمو الفطر الممرض. بينت النتائج تفوق مستخلص القرنفل اذ كانت نسبة التثبيط 76.6 و 84.4% للتركيزين الاول والثاني و100% لبقية التراكيز وبلغت نسب التثبيط 43.3 و 57.7 و 70 و 73.3 و 100 و 100% بالتتابع بالنسبة لمستخلص الديرم.. اما في البيت الزجاجي فقد وجد ان معاملة بذور القطن بمستخلص القرنفل بتركيز 2.5 ملغم/ مل وبمستخلص الديرم بتركيز 30 ملغم/مل ادى الى خفض معنوي في النسبة المئوية لموت البادرات قبل وبعد البزوغ قياسا بمعاملة المقارنة. اذ بلغت النسبة المؤية لموت البادرات قبل وبعد البزوغ 12.5 و 20.7 %بالتتابع بالنسبة لمستخلص القرنفل في حين بلغت 20.7 و 37.5 %بالتتابع بالنسبة لمستخلص الديرم قياسا بـ 41.7 و 50 %بالتتابع بالنسبة لمعاملة المقارنة.هذا مما يشير الى فعالية كل من المستخلصين في مكافحة الفطر*F. solani* المسبب لموت البادرات في القطن وامكانية استعمالهما في مكافحة هذا المسبب المرضي.

ACTIVITY OF *SYZYGIUM AROMATICUM* AND *JUGLANS REGIA* EXTRACT IN CONTROLING FUNGUS *FUSARIUM SOLANI* THE CAUSED OF COTTON SEEDLING DAMPING OFF.

Mohammed nadeem kasim Hantoosh

This study was carried out to evaluate the antifungal activity of *Syzygium aromaticum* and *Juglans regia* ethanol extracts against *Fusarium solani* causing cotton seedling damping-off on PDA and under greenhouse condition.Toxicity the concentration, 0.5, 1, 2.5, 5, 10, 15, 20 mg/mg of *S. aromaticum* extracts in growth of fungus pathogen, and was tested the concentration5, 10, 15, 20, 30, 40 mg/mg of *Juglans regia* . Results showed that *S. aromaticum* ethanol extract was mor effective than *J. regia* extract. The inhibition percentage of pathogenic fungal growth was found to be 76.6 , 84.4 with the concentration o.5, 1 mg/mg and found to be 100% with the concentration 5, 10, 15, 20 for the *Syzygium aromaticum* ethanol extract while the inhibition percentage was found to be 43.3, 57.7, 70, 73.3, 100, 100% for the *Juglans regia* ethanol extracts at the concentrations respectively .However; in the green house, the treatment seed with *Syzygium aromaticum* and *Juglans regia* ethanol extracts at 2.5 and 30 respectively was led to significant reduced the percentage of pre and post emeraence damping off compared with control treatment. The percentage of seedling damping off pre and post emerging were reached 12.5, 20.7 respectively with *Syzygium aromaticum* ethanol extract , while it reached 20.7, 37.5 respectively with *Juglans regia* ethanol extracts , compared with 41.7, 50% respectively for the control treatment, which indicate that the active compound in the extracts controling of this pathogen.

المقدمة

يعد محصول القطن *Gossypium hirsutum* الذي ينتمي الى العائلة الخبازية Malvaceae واحد من اهم مصادر الالياف والزيت في العالم وتبلغ المساحة العالمية المزروعة بهذا المحصول حوالي 33 مليون هكتار اي ما يشكل حوالي 3% من المساحة المزروعة بالمحاصيل (Gopalaswamy وآخرون، 2000 و Mayee وآخرون، 2002).يتعرض محصول القطن للاصابة بالعديد من المسببات المرضية الفطرية والتي تعمل على الحد من نمو وانتاج هذا المحصول خاصة تلك المسببات المرضية التي تسبب موت البادرات قبل وبعد البزوغ والتي منها الفطر (*F. solani* Palmateer وآخرون،2004، Costa وآخرون ، 2005، Omar وآخرون، 2007 ، El-Samawaty وآخرون ، 2008). ان استعمال المبيدات الكيميائية الفطرية التي تعد من اكثر الطرق استخداما في مكافحة هذا المسبب المرضي والكثير من المسببات المرضية (Kaewchai وآخرون، 2009). لتقليل الخسائر في المحصول الناجمة عن هذه المسببات مما ادى الى ضرر كبير بصحة الانسان والحيوان سواء كان بطريقة مباشرة او غير مباشرة نتيجة التأثير الجانبي السئ لهذه المبيدات على المكون النباتي والتربة والحياة البرية وحدوث خلل كبير في التوازن الطبيعي فضلا عن ان استعمالها يؤدي الى تطوير مقاومة تلك المسببات تجاه المبيدات نفسها (Calhelha وآخرون، 2006، Kim و Hwang ،2007، Kaewchai وآخرون، 2009). ظهر استعمال المستخلصات النباتية كرد فعل للاستخدام المكثف وغير الواعي لتلك المبيدات كونها صديقة للبيئة اذ تنعدم تأثيراتها الجانبية على الانسان وعلى جميع مكونات النظام الحيوي (Reddy وآخرون، 2010 ، Yassin وآخرون، 2013). ان المستخلصات النباتية التي هي عبارة عن مركبات ايض ثانوي تنتج داخل خلايـــــــا النباتات تمتلك فعالية تثبيطية للعديد من المسببات المرضية التي منها الفطر *F.* spp. اذ ان هنالك الكثير من المستخلصات النباتية استعملت وبفعالية في مكافحة هذا الفطر(Yasminوآخرون،2008، Rathod وآخرون، 2010 ، Boulenouar وآخرون ،2012). وجد كريم (2000) ان المستخلص الكحولي لنبات القرنفل *Syzygium aromaticum* ذات فعالية تثبيطية عالية للفطـرين *R. solani* و *Pythium aphanidermatum* المسببين لمرض سقوط البادرات في الخيار، كما وجد Bowersو Locke (2000) ان مستخلص القرنفل فعال جداً ضد الفطر *F. oxysporum* وتعود هذه الفعالية الى احتوائه المركبين eugenol و caryophyllene والكثير من المركبات الفينولية المعروفة بتأثيراتها المضادة للفطريات والبكتريا.استعملت المركبات الفعالة في مستخلص القرنفل Thymol و Cinnamaldehyde و Eugenol و Carvancrol كمضادات للفطريات والبكتريا والفايروسات(Pawer و Thaker ، 2006 ، Park وآخرون، 2007، Fu وآخرون، 2007).اما الديرم الذي هو عبارة عن قلف اشجارالجوز Juglans regia فيعتبرمصدرجيد للمركبات Flavonoids و Sterols و Pectic substances وPhenolic acids و related polyphenols ذات الاثر الفعال في تثبيط الفطريات والبكتريا ووجد ان الديرم يمتلك فعالية تثبيطية ضد Candida albicans و Cryptococcus neoformans و Microsporum canis(Pereira وآخرون، 2008). كما اظهر المستخلص الكحولي للديرم فعالية تضادية ضد كل من الفطريات *Aspergilus* niger و Alternaria alternate ومع كل انواع الجنس Candida (Ahmad وآخرون، 1973 ،Upadhyay وآخرون، 2010).ومن هنا هدفت الدراسة الى تقويم فعالية المستخلص الكحولي لكل من القرنفل والديرم في مكافحة الفطر *F. solani* الوسط الزرعـــــــي Potato Dextrose (PDA) Agar مضافاً له المضاد الحيوي Ampicillin بمعدل 100 ملغم / لتر بواقع ثلاث قطع لكل طبق. حضنت الاطباق في درجة حرارة 25 + 2 م لمدة اربعة ايام. نقي الفطر بنقل اطراف من الغزل الفطري الى اطباق بتري حاوية على الوسط الزرعي PDA . حضنت الاطباق في درجة حرارة 25 ±2 م لمدة اربعة ايام. فحصت الاطباق تحت المجهر وشخص الفطر الى مستوى النوع وفقاً للصفات المزرعية والمجهرية باتباع المفتاح التصنيفي الذي وضعه Booth (1977).

المواد وطرائق العمل:

تم عزل الفطر *F. solani* من بادرات قطن مصابة بتلون الجذور واخرى ميتة. غسلت بماء الحنفية وقطعت الى قطع صغيرة بطول 0.5 سم من مناطق الاصابة. عقمت القطع بمحلول هايبوكلورات الصوديوم (1% كلور حر) لمدة دقيقة واحدة وغسلت بماء مقطر معقم ثلاث مرات. جففت القطع على اوراق ترشيح معقمة وزرعت في اطباق بتري قطرها 9 سم حاوية على

تحضير المستخلصات النباتية الكحولية:

شملت الدراسة نباتي القرنفـــــل *Syzygium aromaticum* وقلف اشجار الجوز *Juglans regia* الذي يسمى بالديرم وتم الحصول على القرنفل بشكل مسحوق اما الديرم فقد تم الحصول عليه بشكل قلف ذات قطع صغيرة سحقت بعد ذلك وطحنت ثم حضر المستخلصين باخذ 250 غرام من كل مسحوق نباتي خاضع للدراسة ووضع في 500 مل كحول اثيلي تركيز 96% داخل قناني زجاجية سعة 1لتر. وضعت القناني الحاوية على المزيج في هزاز كهربائي لمدة 24 ساعة. بعد ذلك رشح المستخلصين عبر قماش الململ للتخلص من الاجزاء الصلبة قبل اخضاعهما لعملية طرد مركزي بسرعة 3000 دورة بالدقيقة لمدة 10 دقائق بعدها اخذ الراشح واهمل الراسب. بعد ذلك حفظ المستخلصين بشكل صلب بعد اجراء عملية تبخير المذيب وتم الحصول على 6غم من مستخلص الديرم و7غم من مستخلص القرنفل.

اختبار فعالية مستخلصي القرنفل والديرم في تثبيط نمو الفطر *F. solani* .

بعد تحضير محلول قياس لكل من المستخلصين من خلال اذابة كل من المستخلصين في حجم معلوم من الماء(20مل) أختبرت التراكيز 5 و 10 و15 و 20ملغم/مل ضد الفطر *F.solani* . وذلك باضافة

اختبار فعالية مستخلصي القرنفل والديرم في تثبيط نمو الفطر *F.solani* في البيت الزجاجي.

ملئت اصص بلاستيكية سعة 0.5 كغم معقمة بمحلول هايبوكلورات الصوديوم بخليط من تربة مزيجية وبتموس بنسبة 2: 1 معقم بالموصدة ثلاث مرات تحت درجة حرارة 121 م وضغط 1.5 كغم / سم^2 لمدة ساعة ونصف وبفاصل زمني 48 ساعة لكل مرة. اضيف لقاح الفطر *F. solani* المنمى على بذور الدخن بعمر 14 يوم بمعدل 0.5% وزن : وزن . رطبت الاصص بماء مقطر معقم وغلفت باكياس بولي اثيلين مثقبة وتركت في البيت الزجاجي لمدة ثلاثة ايام وللمقارنة استعملت تربة معقمة فقط.زرعت بذور القطن المعقمة سطحيا بمحلول هيبوكلورات الصوديوم 1% و المنقعة بمحلولي المستخلصين لمدة ربع ساعة وبالتركيزين 2.5 ملغم/مل لمستخلص القرنفل و30 ملغم/مل لمستخلص الديرم، اما معاملة المقارنة فقد تضمنت زراعة بذور قطن منقعة بالماء المقطر المعقم فقط.حسبت النسبة المئوية لموت البادرات قبل البزوغ بعد 7 يوم من الزراعة في تربة الاحجام 0.8، 1.6، 2.4، 3.2 مل من محلول قياس الديرم الى 50مل من الوسط الغذائي . واضافة 0.7، 1.4، 2.1، 2.8مل من محلول قياس القرنفل الى 50مل وسط غذائي وقبل التصلب بدرجة حرارة 45م تقريباً. بعد ذلك صب الوسط الغذائي المعامل بتراكيز المستخلصين كل تركيز على حده في اطباق سعة 9سم وبثلاثة مكررات لكل تركيز. اما معاملة المقارنة فقد احتوت على الوسط الغذائي فقط. بعد تصلب الوسط في الاطباق زرع مركز كل طبق بقرص قطره 0.5ملم اخذ من حافة مستعمرة الفطر *F.solani* بعمر اربعة ايام. اخذت النتائج بعد امتلاء طبق المقارنة وذلك بحساب متوسط قطرين متعامدين لكل مستعمرة ومنه حسبت النسبة المئوية للتثبيط حسب المعادلة :

% للتثبيط = (أ – ب /أ) 100

أ = متوسط نمو مستعمرة الفطر في المقارنة

ب = متوسط نمو مستعمرة الفطر في المعاملة

نفذت التجربة وفق التصميم تام التعشية (Completely Randomized Design) وبأقل فرق معنوي 0.05 . كما خفضت التراكيزالى 0.5 و 1 و 2.5 ملغم/مل بالنسبة لمستخلص القرنفل اذ لم يحصل نمو للفطر في تلك التراكيز. بينما رفعت تراكيز الديرم الى 30 و 40 ملغم/مل لزيادة الفعالية.

الاصص وحسبت النسبة المؤية لموت البادرات بعد البزوغ بعد 15من الزراعة واتبع التصميم العشوائي الكامل وبواقع ثلاثة اصص لكل معاملة. وتضمنت التجربة المعاملات التالية: زراعة بذور منقعة بماء مقطر معقم في تربة معقمة، زراعة بذور منقعة بماء مقطر معقم في تربة ملوثة بالفطر *F.solani* ، زراعة بذور منقعة بمحلول مستخلص القرنفل ذات تركيز 2.5 ملغم/مل في تربة معقمة ، زراعة بذور منقعة بمحلول مستخلص الديرم ذات تركيز 30 ملغم/مل في تربة معقمة، زراعة بذور منقعة بمحلول مستخلص القرنفل ذات تركيز2.5 ملغم/مل في تربة ملوثة بالفطر الممرض، زراعة بذور منقعة بمحلول مستخلص الديرم ذات تركيز 30 mg/ml في تربة ملوثة بالفطر الممرض.

النتائج والمناقشة:

العزل وتشخيص الفطر *F. solani*

اوضحت نتائج العزل من بادرات القطن التي ظهرت عليها الاصابة المتمثلة بتلون الجذور الى وجود الفطر *F. solani* . تمثلت صفات هذا الفطر في مستعمراته بتكوين غزل فطر ابيض الى رمادي اللون. واظهر الفحص المجهري تكوين الفطر ثلاثة انواع من الابواغ، ابواغ كونيدية صغيرة وابواغ كونيدة كبيرة مغزلية وابواغ كلاميدية التي تنتج بشكل مفردة او بشكل ازواج وباتباع المفتاح التصنيفي الذي وضعه Booth(1977)ظهر ان الفطر *Fusarium solani*.

اختبار فعالية مستخلصي القرنفل والديرم في تثبيط نمو الفطر *F. solani* .

تشير النتائج الى ان هنالك تبايناً واضحاً في الفعالية التثبيطية لمستخلصي النباتين وتراكيزهما المختلفة في نمو الفطر *F. solani*. فقد وجد ان تثبيط الفطر بتأثير مستخلص الديرم كان اقل فعالية قياساً بفعالية مستخلص القرنفل. بلغت نسب تثبيط الفطر بتأثير سمية مستخلص الديرم 43.3 و 57.7 و 70 و 73.3 % مع التراكيز 5 و 10 و 15 و 20 ملغم/مل بالتتابع قياسا بمعاملة المقارنة التى بلغت نسبة التثبيط فيها 0% جدول رقم (1).وحصل تثبيط تام لنمو الفطر بعد اختبار التركيزين 30 و 40 ملغم/مل. في حين اظهر الفطر *F. solani* حساسية اعلى تجاه مستخلص القرنفل اذ لم يحصل نمو للفطر بالتراكيز5 و 10 و 15 و 20 ملغم/مل اي بلغت نسب التثبيط مع هذه التراكيز 100% قياسا بمعاملة المقارنة التى بلغت فيها نسبة التثبيط 0% جدول رقم(2)، بعد ذلك خفضت التراكيز الى 0.5 و 1 و 2.5 ملغم/مل لغرض البحث عن اوطئ تركيز يعمل على تثبيط تام لنمو الفطرفكانت نسب التثبيط مع هذه التراكيز76.6و84.4و100%بالتتابع.

ان التباين الواضح في الفعالية التثبيطية للمستخلصات النباتية المختلفة في نمو الفطر *F. solani* يعكس طبيعة التباين في المواد والمكونات الفعالة وكميتها المؤثرة في الفعالية التثبيطية. اذ ان نبات القرنفل يحتوي على الكثير من المركبات الفعالة في تأثيراتها المضادة للفطريات والبكتريا مثل caryophyllene و Thymol و Cinnamaldehyde و Eugenol و Carvancrol (Betoni وآخرون، 2006 ، Pawer و Thaker ، 2006 ، Park وآخرون، 2007 ، Fu وآخرون، 2007). ويحتوي الديرم على Flavonoids و Sterols و Pectic substances و Phenolic acids و related polyphenols ذات الاثر الفعال في تثبيط الفطريات والبكتريا (Pereira وآخرون، 2008). ان هذا يتوافق مع الكثير من الدراسات التي تثبت وجود مركبات فعالة ضد الاحياء الدقيقة، وان هذه التأثيرات قد تكون ناجمة عن خفض الكاربوهيدرات والمحتوى البروتيني فضلاً عن انها تعمل على خفض فعالية انزيم Catalase مما يؤدي الى زيادة التسمم وبالتالي خفض معدل نمو الفطر(EL- Mehalawy وآخرون، 2006). كما ان تراكيز المستخلصات النباتية تتناسب عكسياً مع معدل اقطار النمو للفطر على العكس من النسبة المؤية للتثبيط اذ انها تتناسب تناسباً طردياً مع تراكيز المستخلص (Bernard وآخرون، 1997).

- أ - - ب -

شكل 1. أ- فعالية مستخلص الديرم في تثبيط نمو الفطر *F. solani* ب- فعالية مستخلص القرنفل في تثبيط نمو الفطر *F. solani*

جدول رقم1. فعالية* مستخلص الديرم في تثبيط نمو الفطر *F. solani*.

التركيز mg/ml	معدل النمو القطري/سم	% للتثبيط
0	9.0	0.0
5	5.1	43.3
10	3.8	57.7
15	2.7	70.0
20	2.4	73.3
30	0.0	100.0
40	0.0	100.0
(%5) l.s.d.	0.19	

*كل رقم في الجدول يمثل معدل ثلاثة ارقام.

جدول رقم 2. فعالية* مستخلص القرنفل في تثبيط نمو الفطر *F. solani*.

التركيز mg/ml	معدل النمو القطري/سم	% للتثبيط
0	9.0	0.0
0.5	2.1	76.6
1	1.4	84.4
2.5	0.0	100.0
5	0.0	100.0
10	0.0	100.0
15	0.0	100.0
20	0.0	100.0
(%5) l.s.d.	0.09	

*كل رقم في الجدول يمثل معدل ثلاثة ارقام.

فعالية مستخلصي القرنفل والديرم في مكافحة الفطر *F. solani* المسبب لموت بادرات القطن.

اظهرت نتائج التجربة كفاءة كل من مستخلصي القرنفل والديرم في خفض النسبة المئوية لموت البادرات في القطن وبدرجات متباينة قياساً بمعاملة المقارنة التي تضمنت اضافة الفطر الممرض لوحده جدول رقم (3). اظهر مستخلص القرنفل كفاءة معنوية اعلى قياسا بمستخلص الديرم في خفض النسبة المؤية لموت البادرات في القطن . بلغت النسبة المؤية لموت البادرات قبل وبعد البزوغ في معاملة مستخلص القرنفل 12.5 و 20.7 % قياسا ب 41.7 و 50 في معاملة المقارنة على الترتيب. كما بلغت النسبة المؤية لموت البادرات قبل وبعد البزوغ في معاملة مستخلص الديرم 20.7 و 37.5% على الترتيب. تتماثل هذه النتائج مع نتائج الكثير من الباحثين التي اشارة الى فعالية كل من مستخلصي القرنفل والديرم في مكافحة الكثير من الفطريات مثل *R. solani* و *Pythium aphanidermatum* و Aspergilus niger و Alternaria alternate و انواع الجنس Candida (Ahmad وآخرون، 1973 ، كريم، 2000، Bowers و Locke ، 2000 ، Betoni وآخرون، 2006 ، Pawer و Thaker ، 2006 ، Park وآخرون، 2007 ، Fu وآخرون، 2007، Upadhyay وآخرون، 2010).

نستنتج من نتائج الدراسة امتلاك مستخلصي القرنفل والديرم الفعالية ضد الفطر *F.solani* وامكانيتهما في توفير حماية جيدة لبادرات القطن من الاصابة بالفطر الممرض.

جدول رقم(3). فعالية مستخلصي القرنفل والديرم في مكافحة الفطر *F.solani* على القطن*

المعاملة	% موت البادرات قبل البزوغ	% موت البادرات بعد البزوغ
1- تربة ملوثة بالفطر *F.solani* + بذور غير معاملة	41.7	50.0
2- تربة مقمة + بذور غير معاملة	0.0	0.0
3- تربة معقمة + بذور معاملة بمستخلص القرنفل	0.0	0.0
4- تربة معقمة + بذور معاملة بمستخلص الديرم	0.0	0.0
تربة ملوثة بالفطر *F.solani* + بذور معاملة بمستخلص القرنفل	12.5	20.7
تربة ملوثة بالفطر *F.solani* + بذور معاملة بمستخلص الديرم	20.7	37.5
l.s.d. (%5)	14.8	13.8

- أ - - ب -

- ج - - د –

شكل 2. تأثير الفطر الممرض *F. solani* على نبات القطن. أ- المقارنة بدون اضافة الفطر الممرض ب- معاملة الفطر الممرض بمفرده. ج- معاملة مستخلص الديرم مع اضافة الفطر الممرض. د- معاملة مستخلص القرنفل مع اضافة الفطر الممرض.

المصادر

كريم، طارق عبدالسادة. 2000. فعالية مستخلص البراعم الزهرية للقرنفل ضد مسبب مرض Rhizoctonia solani و Pythium aphanidermatum سقوط البادرات الخيار. رسالة ماجستير. كلية الزراعة – جامعة بغداد.

Ahmad S, Mukhtar, Wahid A, Bukhari AQS .1973. Fungistatic Action of Juglans. Antimicrob. Agents Chemother., 3:436-438.

Aly, A.A, Omar, M.R., El- Abbasi, I.H., El-Samawaty, A.M.A, Amal, A.A . 2008. Effect of seed mycoflora on incidence of Fusarium wiltdisease in cotton genotypes. J. Agric. Sci.;33: 7243-7251.

Bernard, T. 1997. Reaction in Solution An applied Analytical Approach .*John Wiley and Sons Ltd. England* .pp:554.

Boulenouar, N, Marouf, A., Cheriti, A. and Belboukhari, N. 2012. Medicinal Plants Extracts as Source of Antifungal Agents against *Fusarium oxysporum* f. sp. *Albedinis.* J. Agr. Sci. Tech. ; 14:659-669.

Bowers, J.H, and Locke, J.C . 2000. Effect of botanical extracts on the population density of *Fusarium oxysporum* in soil and control of Fusarium wilt in the greenhouse. Plant Dis.; 84:300-305.

Calhelha, R.C, Andrade, J.V., Ferreira, I.C. and Estevinho, L.M. 2006. Toxicity effects of fungicide residues on the wine-producing process. Food Microbiol.; 23:393-398.

Costa, M.L.N, Dhingra, O.D. and Da-Silva, J.L. 2005. Influence of internal seed bore *Fusarium semitectum* on cotton seedlings. Fitopatologia Brasileira.; 30:183-186.

El-Samawaty, A.M.A**,** Abdel-Reheem, M.A.T.,Abd-Esalam, K.A. and Omar M.R. 2008. Use of random amplified polymorphic DNA (RAPD) todifferentiate among isolates of Fusarium spp. Pathogenic on cotton. J Biol Chem Environ Sci,; 3(1):811-827.

EL-Mehalawy , A.A. 2006. Effect of antifungals on physiological activity of some plant pathogenic fungi. The Internet Journal of Microbiology. 2(2).

Fu, Y. Y. ZU, L. Chen, X. Shi, Z. Wang, S. Sun and T. Efferth. 2007. Anti microbial activity of clove and rosemary essential oils alone and in combination. Phytother. Res. 21 (10): 189-194.

Gopalaswamy, S.V.S., N.H.P. Rao and V. Hanumantha Rao.,.2000.Insecticides in the control of pink bollworm, Pectinophora . gossypiella Saunders in cotton. Pestology, 24(7): 7 -11.

Kaewchai, S., Soytong, K. and Hyde, K.D. 2009. Mycofungicides and fungal biofertilizers . Fungal Diversity; 38:25 -50.

Kim, B.S. and Hwang, B.K. 2007. Microbial fungicides in the control of plant diseases. J. Phytopathol.; 155: 641-653.

Mayee, C.D., T.P. Rajendran and M.V. Venugopalan. 2002. Surviving under pressurised trade. The Hindu Survey of Indian Agriculture, Kasthuri and Sons Ltd., Chennai, pp: 129-132.

Omar, M.R,El-Samawaty, A.M.A.

Rathod, L.R., Jadhav, M.D, Awate, M.K.,Surywanshi, A.M. and Deshmukh, P.S. 2010. Utilization of medicinal plants to control seed borne pathogens of selected legumes seeds. Inter.J. Advan. Biotechnol. and Res.; 1(2):57-59.

Reddy, K.R.N., Nurdijati, S.B. and Salleh, B. 2010. An overview ofplant-derived products on control of mycotoxigenic fungi and mycotoxins. Asian J. Plant Sci.; 9(3):126-133.

Upadhyay V, Kambhoja S, Harshaleena K .2010. Antifungal activity and preliminary phytochemical analysis of stem bark extracts of *Juglans regia* linn. IJPBA., 1:442-447.

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

Yassin, M.A., Moslem, M.A., El-Samawaty,A.M.A., El-Shikh, M.S. 2013. Effectiveness of *Allium sativum* in Controlling Sorghum Grain Molding Fungi. J. Pure Appl. Microbiol.; 7(1):101-107.

and El- Wakil, D.A . 2007. Suppression of *Pythium ultimum* involved in cotton seedling damping - off by *Trichoderma* spp. Egypt. J. Phytopathol.;35:111-124.

Palmateer, A.J., McLean, K.S., Morgan-Jones G.and Van Santen, E. 2004. Frequency and diversity offungi colonizing tissues of upland cotton. Mycopathol.; 157: 303-316.

Park, M.J., K.S. Gwak, I. Yang, W.S. Chai. 2007. Antifungal activities of the essential oils Syzygium aromaticum (L.) merr. E. Perry and Leptospermum betrsonni Bailey and their constituents various dermatsiphtes. J. Microbial. 45(50): 460-465.

Pawer, V.C. and V.S. Thaker .2006. In Vitro efficacy of oil against Aspergillus niger. Mycosis. 49(4): 316-323.

Pereira JA, Oliveira I, Sousa A, Ferreira ICFR, Bento A, Estevinho L .2008. Bioactive properties and chemical composition of six walnut (*Juglans regia* L.) cultivars. Food Chem. Toxicol., 46: 2103-2111.