تأثير المستخلصات المائية لأوراق نباتي السدر *Zizphus spina-christi* واليوكالبتوس *Eucalyptus camaldulensis* D. في نمو بعض الفطريات المعزولة من بذور الحنطة

حامد عبدزيد الخفاجي
المعهد التقني /المسيب

الخلاصة :

هدف البحث إلى عزل وتشخيص الفطريات المحمولة على بذور الحنطة واختبار تأثير المستخلصات المائية لأوراق نباتي السدر *Zizphus spina-christi* واليوكالبتوس *Eucalyptus camaldulensis* في النمو الفطري لها . وأظهرت النتائج المختبرية عزل العديد من الفطريات المحمولة على بذور الحنطة ومنها *Alternaria spp*، *Penicillium spp.*، *Aspergillus spp.* ، *Trichoderma spp.*، *Ulocladium spp.* ، *Fusarium spp.* وغيرها من الفطريات. كما بينت النتائج فعالية المستخلصات المائية وبتراكيز0و 25و 50 و 75 ملغم/مل في تثبيط نمو الفطريات المستخدمة في الدراسة (*Alternaria spp.*، *Penicillium spp.*، *Aspergillus spp.*، *Trichoderma spp.*) وبزيادة تركيز المستخلص المائي وبتفوق مستخلص اليوكالبتوس مقارنة بمستخلص السدر، إذ بلغت النسبة المئوية لتثبيط النمو (70.1 و 68.2%) للمستخلص المائي لأوراق اليوكالبتوس والسدر وعلى التوالي.

Effect of aqueous extracts of plant leaves *Zizphus spina-christi* and *Eucalyptus camaldulensis* D. in the growth of some fungi isolation of the seeds of wheat

Hamid A. Alkafaji

Abstract:

The research aimed to isolate and to identify borne fungi on seeds of wheat and the effect of aqueous extracts of plant leaves (*Zizphus spina-christi* and *Eucalyptus camaldulensis* D.) on the fungal growth. The results showed many isolates of borne fungi on seed of wheat, including *Alternaria spp., Penicillium spp., Aspergillus spp., Trichoderma spp., Ulocladium spp., Fusarium spp.* and other fungi. The results also showed the effectiveness of the water extracts and the concentrations of 0, 25 , 50 and 75 mg / ml on inhibition the growth of fungi used in the study (*Alternaria spp., Penicillium spp., Aspergillus spp., Trichoderma spp.*) Increasing the concentration of the extract of the superior extract of *Eucalyptus camaldulensis* D. compared with *Zizphus spina-christi*, as the percentage of inhibition of growth (70.1 and 68.2%) of aqueous extracts of *Eucalyptus camaldulensis* D., *Zizphus spina-christi*, respectively.

المقدمة :

يصاب نبات الحنطة بالعديد من الإمراض بمراحل نموه المختلفة التي تتسبب عن كائنات حية مختلفة وتعد الفطريات المحمولة على بذور الحنطة واحدة من المسببات المرضية المهمة، إذ تتعرض بذور الحنطة للإصابة

ISSN 2072-3875

بفطريات مختلفة من وقت النضج الفسيولوجي إلى أن تستخدم سواءا" للزراعة أو للاستعمالات الأخرى حيث يزيد عددها على 100نوع من الفطريات بعضها يشكل مخاطر مرضية على النباتات الناتجة من زراعة هذه الحبوب، وبعضها الأخر يسبب مشاكل تعفن وإفراز سموم أثناء التخزين مما يجعلها تشكل مخاطر صحية على المستهلكين (Wiese, 1987)، فقد وجد سعيد (1986) بان الفطر *Alternaria spp.* كان أكثر الفطريات وجودا" على بذور الحنطة ثم الفطريات *Stemphylium spp.* و*Fusarium spp.* وذلك لقدرة هذه الفطريات على إصابة الحنطة في الحقل وتكاثرها في المخزن عند توفر الظروف الملائمة ، كما وجد(Al-Rakibah, 1969) عند مسح خمسة وستين حقلا" من القمح المزروع بحبوب مستوردة في القصيم أن هذه الحبوب كانت مصابة بفطريات *Alternaria spp.*، *Aspergillus spp.*، *Fusarium spp.*، *Helminthosporium spp.* وفطريات أخرى. وأوضح عباس (1998) إن النسبة المئوية لتكرار الفطر *Alternaria spp.* المعزول من بذور أصناف مختلفة من الحنطة بلغت50.2 % وجاء بعده من حيث التكرار الفطران *Penicillium spp.* و *Aspergillus spp.* إذ بلغت نسبة تكرارهما 9.8 و 6.6 % على التوالي.

يرجع تاريخ استخدام المستخلصات النباتية في مكافحة الأمراض النباتية إلى زمن بعيد وكان المصريون والإغريق أول من استعمل المواد النباتية لمعالجة امراض النبات، فمن المعروف أن فعالية المستخلصات النباتية المستخدمة لمكافحة كثير من المسببات المرضية للنبات والحيوان على حد سواء ترجع إلى احتواء هذه المستخلصات على مركبات أيضية ثانوية تنتج في الخلية النباتية. فقد وجدت الحجامي (2006) أن مستخلصات أوراق نبات السدر *Zizphus spina-christi* احتوت على مواد فعالة هي القلويدات والفلافونات والفينولات والراتنجات والصابونيات والعصفيات ، كما أشارت العتيبي (2007) أن الفحص الكيميائي المبدئي لمستخلص أوراق السدر أظهر وجود مواد قلويدية وصابونية ومواد فلافونيدية أهمها Quecitrin ، Apigenin-7-0-glucoide ، Isovitexin ، Rutin وغيرها، والتي جعلت من المستخلص المائي لنبات السدر ذا قدرة على تثبيط الإنزيمات المحللة للسيليلوز والبكتين المصنعة في خلية فطريات تعفن الجذور.

اما بخصوص مستخلص أوراق اليوكالبتوس فقد وجدت آل دوش (2004) إن مستخلص أوراق اليوكالبتوس *Eucalyptus glabules* يحتوي على مركبات فينولية وبتيديه وقلواتية. ووجد (Farrukh *et al.*,2001) أن مستخلصات زيوت النباتات *Menth spp.*، *Syzygium aromaticum* و *Eucalyptus glabules* لها نشاط تضاد للفطريات *Fusarium spp.*، *Alternaria spp.* و *Cladosprium spp.* ووجد أيضا" أن تثبيط النمو الفطري بواسطة المستخلصات النباتية في البيئة السائلة يشبه تثبيط النمو الفطري في البيئة الصلبة، كما وجد(Ribau *et al.*, 1995) أن مستخلص زيوت الطيارة لنبات *Eucalyptus camaldulensis* D. ومستخلصات زيوت نباتات أخرى لها نشاط تضاد فطري ضد العديد من الفطريات منها *Fusarium spp.*، *Rhizoctonia spp.* و *Penicillium spp* هدفت الدراسة الى عزل بعض الفطريات المحمولة على بذور الحنطة واختبار المستخلصات المائية لأوراق نباتي السدر واليوكالبتوس في تثبيط نموها.

المواد وطرائق العمل :

عزل بعض الفطريات المحمولة على بذور الحنطة:

تم أخذ 30 غم من بذور الحنطة وعقمت البذور سطحيا" بمحلول هايبوكلورايت الصوديوم 10% لمدة 3 دقائق وغسلت بعد التعقيم بماء مقطر معقم ونشفت بورق ترشيح معقم نوع Whatman No.1 لإزالة الماء الزائد منها، ثم انتخبت عشوائيا" منها 20 بذرة في كل طبق بتري حاوي على الوسط الغذائي PDA، وضعت الأطباق في الحاضنة في درجة 30 ± 1 م^{o} (El-Eraky *et al.*, 1993). شخصت الفطريات النامية بعد 5 أيام من التحضين بالاعتماد على المصادر التصنيفية Domsch *et al.*,(1980) و Raper and Fenell,(1965) و Raifai (1969) .

تحضير المستخلصات المائية لأوراق نباتي السدر واليوكالبتوس :

اعتمدت طريقة (Hernadez *et al.*, 1994) في تحضير المستخلصات المائية لأوراق نباتي السدر

ISSN 2072-3875

واليوكالبتوس وذلك بعد جمع الأوراق النباتية الغضة لنباتي السدر واليوكالبتوس من الأشجار مباشرة وتنظيفها ثم نشرت على أكياس من الجوت في منطقة مظللة جيدة التهوية مع التقليب بين مدة وأخرى منعا" للتعفن وبعد جفافها طحنت وأخذ 10 غم من المسحوق الجاف ومزج مع 200 مل من الماء المقطر البارد باستعمال الخلاط الكهربائي وترك المزيج مدة 24 ساعة بدرجة حرارة الغرفة بعدها رشح الخليط باستخدام عدة طبقات من الشاش الطبي للتخلص من العوالق بعدها طرد مركزيا" بسرعة 3000 دورة/دقيقة لمدة 15 دقيقة ثم رشح المستخلص باستخدام أوراق ترشيح للحصول على محلول رائق، جفف المستخلص باستعمال الفرن الكهربائي بدرجة 40 م° ، ثم حضر المحلول ألأساسي للمستخلص المائي وذلك بأخذ 2 غم من مسحوق المستخلص النباتي وأذيب في 10 مل ماء مقطر معقم فأصبح لدينا محلول خزني بتركيز 200 ملغم/مل، رشح المحلول بورق ترشيح نوع Whatman No.1. استخدم هذا المحلول كمصدر لعمل التراكيز 25 و 50 و 75 ملغم/مل لإجراء الاختبار.

اختبار تأثير المستخلصات النباتية في نمو بعض الفطريات المحمولة على بذور الحنطة:

تم تحضير الوسط الغذائي أكار البطاطا والدكستروز Potato Dextro Agre (PDA) باستخدام 200غم من البطاطا و 20 غم دكستروز و 20 غم أكار في لتر ماء ووزع في دوارق 250مل ثم وضع في جهاز الموصدة (Autoclave) على درجة حرارة 121 م° وضغط 1.5 بار/ سم^2 ولمدة 30 دقيقة، بعد أنتهاء فترة التعقيم وانخفاض درجة حرارة الوسط الى ماقبل التصلب اضيفت له المضاد الحيوي Chloromphencol بتركيز 250 ملغم/لتر المستخلصات المائية لاوراق نباتي السدر واليوكالبتوس وبتراكيز (0، 25 ، 50 و 75 ملغم / مل) مع ترك وسط غذائي دون اضافة اي مستخلص كمعاملة مقارنة، رجت الدوارق الحاوية على الاوساط الغذائية والمضاف اليها المستخلصات لغرض تجانسها. صبت الأوساط بأطباق بتري معقمة بقطر 9 سم ولقحت بعد تصلبها بقرص قطره 1 سم من مزارع الفطريات قيد الدراسة وبأربعة مكررات لكل معاملة. حضنت الأطباق عند درجة حرارة 25 ± 1 م^o وتم قياس النمو القطري للفطر النامي وذلك بأخذ معدل قطرين متعامدين من ظهر مستعمرة الفطر يمران بمركز القرص كل 24 ساعة لحين وصول النمو في معاملة المقارنة الى حافة الطبق ، وحسبت النسبة المئوية لتثبيط النمو الفطري وفق المعادلة التالية (شعبان و الملاح، 1993) :

$$\% \text{ لتثبيط النمو الفطري} = \frac{\text{معدل النمو القطري في المقارنة - معدل النمو القطري في المعاملة}}{\text{معدل النمو القطري في المقارنة}} \times 100$$

التصميم والتحليل الإحصائي :

نفذت التجارب كتجارب عاملية وفق التصميم العشوائي الكامل Complete Randomized Design (CRD) وجرى تحليل التباين للعوامل الداخلة في التجربة تحت اختبار اقل فرق معنوي (L.S.D) Least Significant Difference تحت مستوى احتمالية 0.05% (الراوي وخلف الله،1980).

النتائج والمناقشة :

*** عزل بعض الفطريات المحمولة على بذور الحنطة:**

أظهرت نتائج العزل المختبري المبينة في جدول (1) عزل العديد من الفطريات من بذور الحنطة، حيث تم عزل الفطريات *Alternaria spp.* ، *Penicillium spp.*، *Aspergillus spp.* ، *Trichoderma spp.*، *Ulocladium spp.* ، *Fusarium spp.* و غيرها من الفطريات. واتفقت هذه النتائج مع ماذكره (Al-Rokibah, 1996 ؛ عباس، 1998 ؛ Shabana and Kumar, 2000 و Malaker and Mian, 2002).. تم انتخاب الفطريات *Alternaria spp.* و *Penicillium spp.* و *Aspergillus spp.* و *Trichoderma spp.* لغرض استكمال البحث لظهورها بنسب أعلى من بقية الفطريات إثناء التجربة.

ISSN 2072-3875

جدول (1) الفطريات المعزولة التي تم الحصول عليها من على بذور الحنطة.

ت	الفطر	ت	الفطر
1	*Alternaria spp.*	2	*Penicillium spp.*
3	*Aspergillus spp.*	4	*Trichoderma spp.*
5	*Ulocladium spp.*	6	*Fusarium spp.*
7	*Verticillium spp.*	8	*Epicoccum spp.*
9	*Drechslera spp.*	10	*Phoma spp.*

***تأثير المستخلص المائي لأوراق نبات السدر في نمو بعض الفطريات المحمولة على بذور الحنطة:**

أظهرت نتائج التحليل الإحصائي أن للتراكيز المستخدمة من المستخلص المائي لأوراق نبات السدر تأثيرا" معنويا" في تثبيط النمو الفطري للفطريات قيد الدراسة (*Alternaria spp.* و *Penicillium spp.* و*Aspergillus spp.* و*Trichoderma spp.*) ، اذ يوضح الجدول (2) التأثير الايجابي للمستخلص المائي في تثبيط النمو حيث زادت النسبة المئوية للتثبيط من 54.2% في معاملة التركيز 25 ملغم/مل من المستخلص المائي لتصل إلى 65.1 و 85.2 % في معاملة التراكيز 50 و 75 ملغم/مل على التوالي، كما ويلاحظ من نفس الجدول أن التركيز 75 ملغم/مل حقق أعلى نسبة تثبيطية لنمو الفطريات، إذ بلغت النسبة المئوية للتثبيط 90.0 % في نمو الفطر *Alternaria spp.* عند استخدام هذا التركيز من المستخلص المائي لأوراق السدر، وأن اقل معدل للنسبة التثبيطية للنمو الفطري باستخدام التراكيز المختلفة من المستخلص المائي بلغت 64.6% في نمو الفطر *Trichoderma spp.* في حين بلغ أعلى معدل لها 71.0 % عند الفطر *Penicillium spp.* .

أن التأثير التثبيطي للمستخلص المائي لأوراق نبات السدر في نمو الفطريات قيد الدراسة قد يعود إلى احتواء المستخلص على مركبات فعالة ومنها القلويدات والفلافونات والفينولات والراتنجات والعصفيات والتي لها القدرة على تثبيط نمو بعض الفطريات ويزداد تركيز هذه المركبات بزيادة تركيز المستخلص النباتي، وقد اتفقت هذه النتائج مع ماذكره الكوري، (2000)، والذي وجد أن المستخلص المائي لأوراق السدر يحوي على مواد صابونية وأخرى فلافونيدية، وقد تمتاز المركبات الثانوية الفعالة مثل الصابونيات والفينولات بقدرتها على تثبيط نمو بعض الفطريات (العتيبي، 2007).

أن نتائج زيادة النسبة المئوية لتثبيط النمو الفطري بزيادة تركيز المستخلص النباتي جاءت متفقة مع ماذكرته العتيبي (2007) والتي أشارت إلى وجود علاقة عكسية بين تراكيز المستخلصات النباتية ومنها مستخلص السدر وعدد الجراثيم النابتة لبعض الفطريات.

جدول (2) تأثير تداخل تراكيز المستخلص المائي البارد لأوراق نبات السدر في تثبيط النمو الفطري لبعض الفطريات المحمولة على بذور الحنطة.

تركيز مستخلص اوراق السدر (ملغم/مل)	% لتثبيط النمو الفطري للفطريات				المعدل
	Alternaria spp.	*Penicillium spp.*	*Aspergillus spp.*	*Trichoderma spp.*	
25	50.2	56.6	55.5	54.4	54.2
50	67.7	67.7	64.4	60.6	65.1
75	90.0	88.8	83.3	78.7	85.2
المعدل	69.3	71.0	67.7	64.6	68.2
L.S.D. (0.05)		بين الفطريات	بين التراكيز	التداخل	
		1.063	5.113	7.521	

ISSN 2072-3875

***تأثير المستخلص المائي لأوراق نبات اليوكالبتوس في نمو بعض الفطريات المحمولة على بذور الحنطة:**

بين الجدول (3) تأثير المستخلص المائي لأوراق نبات اليوكالبتوس في تثبيط النمو الفطري للفطريات قيد الدراسة، حيث يلاحظ إن التراكيز المستخدمة من المستخلص أثرت معنويا" في زيادة النسبة المئوية لتثبيط النمو الفطري وبنسب مختلفة، اذ يلاحظ من الجدول إن بزيادة تركيز المستخلص تزداد النسبة المئوية لتثبيط النمو الفطري حيث بلغت نسبة التثبيط 85.7 % عند التركيز75 ملغم/مل في حين بلغت 56.1% عند استخدام التركيز25 ملغم/مل. وبين الجدول (3) إن أعلى نسبة تثبيطية للنمو الفطري بلغت 88.8 % لمستعمرات الفطر *Aspergillus spp.* عند استخدام التركيز 75ملغم/مل، وبلغ أعلى معدل تثبيطي عند استخدام تراكيز مختلفة من المستخلص المائي لأوراق اليوكالبتوس نسبة مئوية قدرها 75.1 % من نمو الفطر *Alternaria spp.* . أن هذه النتائج جاءت متفقة مع ماذكره (Ribau *et.al.*,1995 ، Farrukh *et.al.*,2001 و آل دوش، 2004).

جدول (3) تأثير تداخل تراكيز المستخلص المائي البارد لأوراق نبات اليوكالبتوس في تثبيط النمو الفطري لبعض الفطريات المحمولة على بذور الحنطة .

تركيز مستخلص اوراق اليوكالبتوس (ملغم/مل)	% لتثبيط النمو الفطري للفطريات				المعدل
	Alternaria spp.	*Penicillium spp.*	*Aspergillus spp.*	*Trichoderma spp.*	
25	60.0	54.4	57.7	52.2	56.1
50	77.7	64.4	68.8	63.3	68.6
75	87.7	85.5	88.8	80.0	85.7
المعدل	75.1	68.1	71.8	65.2	70.1
L.S.D. (0.05)		بين الفطريات	بين التراكيز	التداخل	
		1.213	4.942	7.060	

بينت نتائج الجدولين (2 و 3) تفوق المستخلص المائي لأوراق نبات اليوكالبتوس في تثبيط النمو الفطري للفطريات قيد الدراسة وبالتداخل مع التراكيز المختلفة من المستخلص على المستخلص المائي لأوراق نبات السدر ، إذ بلغت النسبة المئوية لتثبيط النمو الفطري للفطريات قيد الدراسة نسبة مقدارها 70.1 و 68.3 % لمستخلصات اليوكالبتوس والسدر وعلى التوالي، وقد يعزى ذلك إلى قدرة الزيوت الطيارة لليوكالبتوس في تثبيط النمو ألشعاعي للفطريات (Farrukh *et.al.*, 2001)

من ذلك نستنتج بان استخدام المستخلصات المائية لأوراق نباتي اليوكالبتوس والسدر لها القدرة على خفض معدل نمو الفطريات المحمولة على بذور الحنطة صنف مكسيباك بزيادة تركيز المستخلصات.

المصادر :

الحجامي، اسيا ناجي عبد، 2006. تاثير بعض المستخلصات النباتية في نمو وفعالية خميرة المبيضات Candide albicans المعزولة في حالات مرضية . رسالة ماجستير. كلية التربية ابن الهيثم. جامعة بغداد. العراق.

آل دوش، ساهرة عباس محمد، 2004. تاثير المستخلصات المائية لاوراق وحرائر الذرة الصفراء في السيطرة على نمو الطحلب Cladophora glomerata . اطروحة دكتوراه . كلية التربية ابن الهيثم. جامعة بغداد. العراق.

الراوي، خاشع محمود و عبدالعزيز خلف الله.1980. تصميم وتحليل التجارب الزراعية. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي. مطبعة مؤسسة دار الكتب للطباعة والنشر. جامعة الموصل.488 صفحة.

العتيبي، فاطمة بنت عليان ناصر، 2007. فعالية بعض المستخلصات النباتية ضد فطريات تعفن الجذور. رسالة ماجستير. جامعة الملك سعود. المملكة العربية السعودية.

ISSN 2072-3875

الكوري، طلال عبدالرزاق علي، 2000. استخلاص بعض المركبات الفلافونويدية في اوراق نبات السدر واستعمالها مواد مضادة للاكسدة ومقيدة للمعادن في زيت زهرة الشمس . اطروحة دكتوراه. كلية الزراعة. جامعة بغداد. العراق.

سعيد، كامل كزار. 1986. دراسة تاثير الفطريات المعزولة من الحنطة وافرازاتها على الانبات. المجلة العراقية للعلوم الزراعية (زانكو) . 4 (4): 163- 171.

شعبان، عواد ونزار مصطفى الملاح.1993. المبيدات . دار الكتب للطباعة والنشر. جامعة الموصل. العراق.

عباس، محمد حمزة.1998. دراسة حياتية للفطر Kuhn *Rhizoctania solani* المسبب لتعفن بذور وموت بادرات الحنطة. رسالة ماجستير. كلية الزراعة. جامعة البصرة. العراق.

Al-Rakibah, A.A. 1996. Fungi and Bacteria associanted with Wheat seed in AlQassim region of Sauai Arabia Bulletin of faculty of Agriculture, Universtiy of Cairo 47 (3): 513-522.

Domsch, K.H. ; Gams, W. and Anderson, T.H. 1980. Compendium of soil fungi. Academic Press. Vol.(1).

EL-Eraky, A. ; Saeed, F.A. ; Mohamed, M.S. and Amein, A.M. 1993. Fungi associated with wheat grains in upper Egypt and their chemical control. Assiut J. of Agric. Sc. 24: 245-262.

Farrukh, A. ; Beg, A. Z. ; Iqbal, A. ; Sushil, K. ; Hasan, S. A. ; Samresh, D. ; Kukreja, A. K. ; Srikant, S. and Rakesh, T. 2001. In vitro toxicity of plant essential oils Fungi. Journal of Medicinal and Aromatic plant Sciences. 23: 177-181.

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.

Malaker, P.K. and Mian, St. H. 2002. Effect of black point on seed quality and yield of wheat . Bangladesh Journal of Plant pathology. 18 (1 – 2): 65-70.

Raper, K.H. and Fenell, D.I. 1965. The genus *Aspergillus*. William and Wilkins Baltimore. 686 pp.

Rifai, M.A. 1969. Arevision of the genus Trichoderma. Commonw. Mycol. Inst. Mycol. Papers. 116:n1-56.

Riebau, M. ; Berge, F. and Yegen.O. 1995. Chemical composition and fungitoxic properties to phytopathogenic fungi of essential oils of selected aromatic plants growing wild in Turkey. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 43: 2262-2266.

Shabana, P. and Kumar, V.R. 2000. Seed-borne mycoflora of wheat collected from Rajasthan, with special reference of Alternaria species. Journal of Phytological Research. 13 (2) 13 : 183-186.

Wiese, M.V. 1987. 2nd Ed. Compendium of Wheat Diseases. The American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota, USA.

ISSN 2072-3875