تأثير بعض المستخلصات النباتية و المخلفات النباتية والحيوانية في اصابة نبات اللوبياء *Vigna Unguiculata* بمرض التعفن الفحمي Charcoal Rot المتسبب عن الفطر *Macrophomina Phaseolina* (Tassi) Goid

محمد عامر فياض و محمود عودة جعفر

قسم وقاية النبات ، كلية الزراعة ، جامعة البصرة

الخلاصة :

اجريت هذه الدراسة في حقول كلية الزراعة ومختبراتها في جامعة البصرة للعام الدراسي 2013 – 2014 وقد اظهرت نتائج الدراسة عزل 6 عزلات من الفطر ***Macrophomina phaseolina*** من عوائل نباتية ومناطق جغرافية مختلفة وقد اظهرت العزلات تبايناً في القدرة الامراضية لاصابة نبات اللوبيا بالفطر *M. phaseolina* فقد اظهرت نتائج الدراسة ان المستخلص الكحولي لجميع اوراق النباتات المستعملة اليوكاليبتوس والكاربس واللهانة ثبط نمو الفطر *M. phaseolina* الا ان مستخلص اوراق اليوكاليبتوس واللهانة كان اكثر تاثيرا في نمو الفطر فقد بلغت النسبة المئوية للتثبيط 62.49 ، 60.55 % على التوالي مقارنة بـ 52.77 لمستخلص اوراق الكاربس وقد بينت النتائج ان التركيز 1% لجميع المستخلصات المستعملة كان اكثر فعالية في تثبيط نمو الفطر الممرض مقارنة مع التركيز 0.5 % فقد بلغت النسبة المئوية للتثبيط 79.57 ، 38.27 % على التوالي وفي تجربة الاصص وجد ان استعمال المخلفات الحيوانية والنباتية أدّى الى خفض نسبة وشدة اصابة نبات اللوبيا بمرض التعفن الفحمي المتسبب عن الفطر *M. phaseolina* اما نتائج التجربة الحقلية فقد اظهرت ان معاملة اوراق الكاربس كانت الافضل في خفض الاصابة بالمرض اذ بلغ معدل نسبة وشدة الاصابة في هذه المعاملة 10.1 و 5.5 % على التوالي مقارنة بـ 48.2 و 34.4 % لمعاملة الفطر الممرض تلتها معاملة اوراق اليوكاليبتوس ومخلفات الاغنام والتي بلغ معدل نسبة الاصابة وشدتها فيها 19.6 و 10.9 و 19.9 و 12.5 على التوالي .

الكلمات المفتاحية :

animal manure – charcoal rot – cowpeu – plant extract – *M. phaseolina*

---

* البحث مستل من رسالة ماجستير للباحث الثاني

المقدمة :

استعملت المبيدات الكيمياويه في مكافحة امراض النبات منذ زمن بعيد وتوسع استعمالها بشكل كبير لسرعة تأثيرها وسهولة استعمالها الا ان الاستعمال المفرط لهذه المركبات ادى الى حصول اضرار كبيره في النظام البيئي بشكل عام بالاضافه الى تأثيرها في صحة الانسان واخلالها بالتوازن الطبيعي مما حفز المشتغلين في هذا المجال على ايجاد وسائل اكثر امانا" للبيئة وكان من بين هذه الوسائل هو العودة الى استعمال مركبات مستخلصة من النباتات (3).

ويعود استعمال المستخلصات النباتية الى زمن بعيد فقد اوصى سقراط (400 سنه قبل الميلاد) باستعمال بقايا ثمار الزيتون بعد العصر في مكافحة امراض اللفحة Agrios (16). ولان مستخلصات هذه النباتات غير سامة وأقل ضررا" بيئياً مقارنة بأضرار المواد الكيميائية فقد امكن استعمالها.وقد أدت الدراسات في هذا المجال الى اكتشاف عدة مركبات لها فعل تثبيطي لنمو الفطريات الممرضة للنبات او خفض الامراض الناجمة عنها. فقد اشار Anesini و Perez (18) الى امتلاك المستخلص المائي لقشور الرمان *Punica granatun* فعالية تثبيطية ضد الفطر *Aspergillus niger* . وقد وجد Ahmed و Agnithori (17) ان مستخلص نبات الداتورا *Datura stramonium* والحنة *Lawsonia alba* والنعناع الفلفلي *Mentha piperta* واليوكالبتوس *Eucalyptus citriodora* اثرت في نمو الفطريات *Alternaria brassica* و *Colletotrichum* spp و *Helminthosporium* spp وقد اشار Dubey واخرون (24) الى ان مستخلص النيم بتركيز 10 % سجل اعلى تثبيط للفطر *M. phaseolina* كذلك ثبط نمو الفطرين *A. flavus* و *A. parasiticus* (20،40) ووجد ان مستخلص اوراق اليوكالبتوس ثبط نمو الفطر *M. phaseolina* المسبب لتعفن جذور نبات نبات السمسم وذبوله (9). وان الفعل التثبيطي لمستخلص اوراق اليوكاليبتوس يعود الى احتوائه على زيوت طيارة مثل Ceniole و Citronilal و Phelandrene و Geraniol و Sitrpenol و Piperitone (4)، واشار Ramizani واخرون (35) الى ان الزيوت الطيارة لليوكاليبتوس ثبطت النمو الشعاعي للفطرين *Rhizoctonia solani* و *H. oryzae* .

وتتميز الاسمدة العضوية بدورها الكبير في تحسين صفات التربة الفيزيائية مما يوفر بيئة ملائمة لنمو النبات فيما يتعلق التهوية والاحتفاظ بالماء وحركته وتجهيز العناصر الغذائية فقد تشجع نمو الجذور وتحسن من امتصاصها للعناصر الغذائية مما يساعد على قدرة النبات على حماية نفسه من الممرضات (19 و 33 و 37) .

استعملت المخلفات العضوية الحيوانية والنباتية في مختلف طرق الزراعه وقد نجحت في التاثير في بعض المسببات الممرضة للنبات في الترب الزراعيه فقد ادت الى تقليل اعدادها وانخفاض تاثيراتها الامراضية (1). وان افضل نتائج في المقاومة الاحيائية يمكن ان ينجز من خلال اضافة الاسمده الخضراء وبقايا الحاصل وعدد من الطرق الزراعية الاخرى (16). ونظرا لاهمية مرض التعفن الفحمي المتسبب عن الفطر *M. phaseolina* فقد يصيب عدداً كبيراً من النباتات من بينها نبات اللوبيا ولصعوبة مكافحة هذا المرض بالطرائق الكيمياوية لطول مدة بقائه في التربة بهيئة اجسام حجرية بالاضافة الى ان اعراض المرض في اغلب الاحيان لاتظهر الا في وقت متأخر من نمو المحصول فقد جاءت هذه الدراسة بهدف تقييم تاثير بعض المخلفات النباتية والحيوانية في مكافحة مرض التعفن الفحمي بوصفها بدائل عن لمكافحة الكيمياوية

المواد وطرائق العمل :

عزل الفطر الممرض *Macrophomina phaseolina*

جمعت نباتات مختلفة وهي اللوبيا وزهرة الشمس والرقي وخيار القثاء والبطيخ والطماطة والذرة البيضاء التي تبدو عليها اعراض الاصفرار والذبول وتعفن الجذور ومن مناطق مختلفة كانت حقول كلية الزراعة وبساتين شط العرب ومزارع المدينة والناصرية. وقد جلبت النباتات الى المختبر في اكياس بلاستيكية وغسلت تلك النباتات بماء جاري لمدة نصف ساعة لغرض التخلص من الاتربة ثم قطعت الى قطع صغيرة بطول 0.5 –1 سم ثم عقمت قطع الجذور بمحلول هايبوكلورات الصوديوم (NaOCl) بتركيز 10% من المستحضر التجاري لمدة 2–3 دقيقة ثم غسلت بماء مقطر معقم لازالة بقايا محلول التعقيم،ثم نقلت الى اوراق ترشيح Whatman N0.1 لغرض تجفيفها.بعد ذلك نقلت 4–5 قطع الى اطباق بتري حاوية على وسط P.D.A المعقم المضاف اليه المضاد الحيوي Chloramphenicol بمقدار 250 ملغم/لتر.

استعملت اربعة اطباق لكل نبات ثم حضنت الاطباق في الحاضنة على درجة حرارة 28±2 م° لمدة ثلاثة ايام.

بعد ذلك تم تنقية عزلات الفطر بنقل اجزاء من طرف الخيط الفطري لمستعمرة الفطر الممرض بوساطة ابرة معقمة الى اطباق بتري حاوية على الوسط الغذائي P.D.A المعقم وحضنت الاطباق في الحاضنة تحت درجة حرارة 28±2م لمدة ثلاثة ايام بعد ذلك شخص الفطر اعتمادا على الصفات التشخيصية (23) . وحفظت عزلات الفطر على وسط غذائي صلب مائل slant في الثلاجة تحت درجة 4 لحين الاستعمال مع مراعاة تجديدها عند الحاجة.

اختبار القدرة الامراضية لعزلات الفطر *M. phaseolina* في اصابة نبات اللوبيا:

جلبت تربة مزيجية وخلطت مع البتموس بنسبة 1:3 وعقمت التربة بأستعمال الفورمالين بنسبة 50−1 (أستعمل محلول الفورمالين بنسبة 3 لتر / 1 متر مكعب تربة) (10) فقد وضعت التربة في اكياس من البولي اثيلين ورطبت بمحلول الفورمالين واغلقت بشكل جيد لمدة ثلاثة ايام،بعد ذلك فتحت الاكياس ونثرت التربة وقلبت بشكل جيد تحت اشعة الشمس لغرض تطاير المادة المعقمة. لوثت التربة بلقاح ا لعزلات المختلفة للفطر الممرض المحمل على بذور الدخن بنسبة 0.5% وزن/وزن ومزج اللقاح جيدا مع التربة لضمان تجانس اللقاح معها وكل على انفراد .

وضعت بعدها التربة الملوثة باللقاح في اصص بلاستيكية سعة 1 كغم وبعد ثلاثة ايام من تلويث التربة بالفطر الممرض *M. phaseolina* وزرعت بذور اللوبيا المعقمة سطحيا بمحلول هايبوكلورات الصوديوم تركيز 10% وبمعدل 10 بذور لكل اصيص وبثلاثة مكررات لكل عزلة وتضمنت معاملة المقارنة زراعة بذور اللوبيا في اصص خالية من الفطر.

وبعد اسبوعين من الزراعة حسبت النسبة المئوية للانبات. وحسبت نسبة الاصابة وشدتها حسب المقياس الاتي (صورة1) :

الدرجة	الوصف

0: النبات سليم لاتوجد اعراض ظاهرية .

1: الاصابة خفيفة وتلون بسيط في الجذور واصفرار ربع المجموع الخضري .

2: تلون نصف المجموع الجذري بلون بني مع اصفرار نصف المجموع الخضري .

3: تلون ثلاثة ارباع المجموع الجذري مع اصفرار كامل للمجموع الخضري.

4: موت كامل للنبات مع ملاحظة الاجسام الحجرية في منطقة الاصابة .

وحسبت شدة الاصابة حسب معادلة Mckinney (32) الواردة في (6) .

$$\text{شدة الإصابة} = \frac{\text{مجموع عدد النباتات من الدرجة 0} \times 0 + \ldots\ldots + \text{مجموع عدد النباتات من الدرجة 4} \times 4}{\text{العدد الكلي للنباتات المفحوصة} \times \text{أعلى درجة}} \times 100$$

وحسبت نسبة الاصابة حسب المعادلة التالية :

$$\%\ \text{للإصابة} = \frac{\text{عدد النباتات المصابة في اللوح}}{\text{العدد الكلي للنباتات في اللوح}} \times 100$$

صورة(1) درجات شدة الاصابة لنبات اللوبياء بالفطر ***Macrophomina phaseolina***

تأثير المستخلص المائي والكحولي لبعض النباتات المختبرة في نمو الفطر *Macrophomina phaseolina*

جمع العينات النباتية:

جمعت اوراق نبات اليوكالبتوس *Eucalyptus camaldulensis* والاكونوكاربس *Conocarpus lancifolius* من حقول كلية الزراعة.اما اللهانة الحمراء *Brassica oleracea* var. *capitate* فقد جمعت من الاسواق المحلية.

تحضير المستخلص المائي للنباتات المختبرة:

حضر المستخلص المائي حسب طريقة قاسم (12) فقد اخذ 30 غم من الاوراق النباتية لكل نبات من النباتات المختبرة وبعد غسلها وضعت في خلاط كهربائي نوع National واضيف اليها 250 مل ماء مقطر ثم مزجت لمدة 15 دقيقة وترك الخليط نصف ساعة ، بعدها رشح بواسطة قماش ململ لفصل العوالق،ثم نقل الى جهاز الطرد المركزي(Centerfuge) نوع Hettich بعد

ان وضع في انابيب اختبار وبسرعة 3000 دورة/دقيقة لمدة 15 دقيقة .

بعدها رشح الرائق باوراق ترشيح Millipore ذات قطر 0.25 مايكرومتر وجهزت كمية مناسبة من مستخلص كل نوع وعد المستخلص كامل القوة 100% بوصفه محلولا" اساسا" stock solution . وتم وضع المستخلصات في قناني محكمة الغلق وحفظت في الثلاجة على درجة حرارة 4^{0}م لحين الاستعمال.

تحضير المستخلص الكحولي :

اخذ 60 غم من اوراق النباتات المختبرة (اليوكالبتوس و الكاربس و اللهانة الحمراء) كل عينة على حدة، ووضعت في خلاط كهربائي نوع National واضيف لها 300 مل كحول اثيلي 90% وخلطت لمدة 15 دقيقة بعدها نقل المزيج الى دوارق وحرك في محرك مغناطيسي حراري (Hot plate magnatic stirrer) لمدة 48 ساعة بدرجة 50 ^{0}م بصورة متقطعة. بعدها رشح المحلول بوساطة قطعة قماش واخذ الراشح ووضع في انابيب اختبار سعة 10مل ووضعت في جهاز الطرد المركزي (Centerfuge) نوع Hettich بعد ان وضع في انابيب اختبار وبسرعة 3000 دورة/دقيقة لمدة 30 دقيقة. وقد اهمل الراسب واخذ الراشح ، كررت العملية ثلاث مرات لضمان التخلص من الرواسب،بعدها جفف الراشح باستعمال الحمام المائي بدرجة حرارة 50 ^{0}م ووضع في قناني معقمة ومحكمة وحفظ في الثلاجة على درجة حرارة 4 ^{0}م لحين الاستعمال.

تاثير المستخلص المائي للنباتات المختبرة في نمو الفطر *M. phaseolina*

استعمل مستخلص اوراق نباتات اليوكالبتوس والكاربس واللهانة الحمراء المائي بتركيز 10 و 20 و 30% بعد خلطها مع الوسط الغذائي المعقم PDA . رجت الدوارق الحاوية على الوسط المعقم والمخلوط بالتراكيز السابقة لغرض تجانس المستخلص معه وبعد الامتزاج صب الوسط في اطباق زجاجية بقطر 9 سم بثلاثة مكررات لكل تركيز من التراكيز السابقة، وبعد تصلب الوسط لقح مركز كل طبق بقرص قطره 0.5 سم اخذ من حافة مزرعة الفطر *M. phaseolina* بعمر 5 ايام بوساطة ثاقب فليني معقم وحضنت الاطباق على درجة حرارة 28±2 م^o لمدة ثلاثة ايام. بعدها قيست فعالية المستخلص في تثبيط الفطر الممرض وذلك بأخذ معدل قطرين متعامدين يمران بمركز الطبق من ظهر المستعمرة وتم قياس التثبيط وفق المعادلة:

$$\% \text{ للتثبيط} = \frac{\text{معدل نمو مستعمرة الفطر في المقارنة} - \text{معدل نمو مستعمرة الفطر في المعاملة}}{\text{معدل نمو مستعمرة الفطر في المقارنة}} \times 100$$

تاثير المستخلص الكحولي للنباتات المختبرة في نمو الفطر *M. phaseolina* :

استعمل المستخلص الكحولي لاوراق النباتات المختبرة بتركيز 0.5 و 1% غرام/لتر ثم اذيبت الكمية المستعملة من كل مستخلص في 1 مل من الكحول الاثيلي 90% قبل اضافتها الى الوسط الزرعيP.D.A.

خلط المستخلص الكحولي للنباتات المختبرة بشكل جيد مع الوسط الغذائي ثم صب في اطباق بتري قطر 9 سم وبعد تصلب الوسط لقح مركز كل طبق بقرص قطره 0.5سم من مزرعة الفطر *M. phaseolina* بعمر 5 ايام.

حضنت الاطباق في الحاضنة بدرجة حرارة 28±2 م^o لمدة 5 ايام ، وقد نفذت التجربة بثلاثة مكررات لكل تركيز ولكل مستخلص وتضمنت معاملة المقارنة اطباق حاوية على الوسط الغذائي فقط.

بعد مدة الحضن قيست فعالية المستخلص في تثبيط الفطر الممرض وذلك باخذ معدل قطرين متعامدين يمران بالمركز في ظهر المستعمرة وحسب النسبة المئوية للتثبيط على وفق المعادلة الوارده سابقا.

النتائج والمناقشة:

عزل وتشخيص الفطر *M.phaseolina*

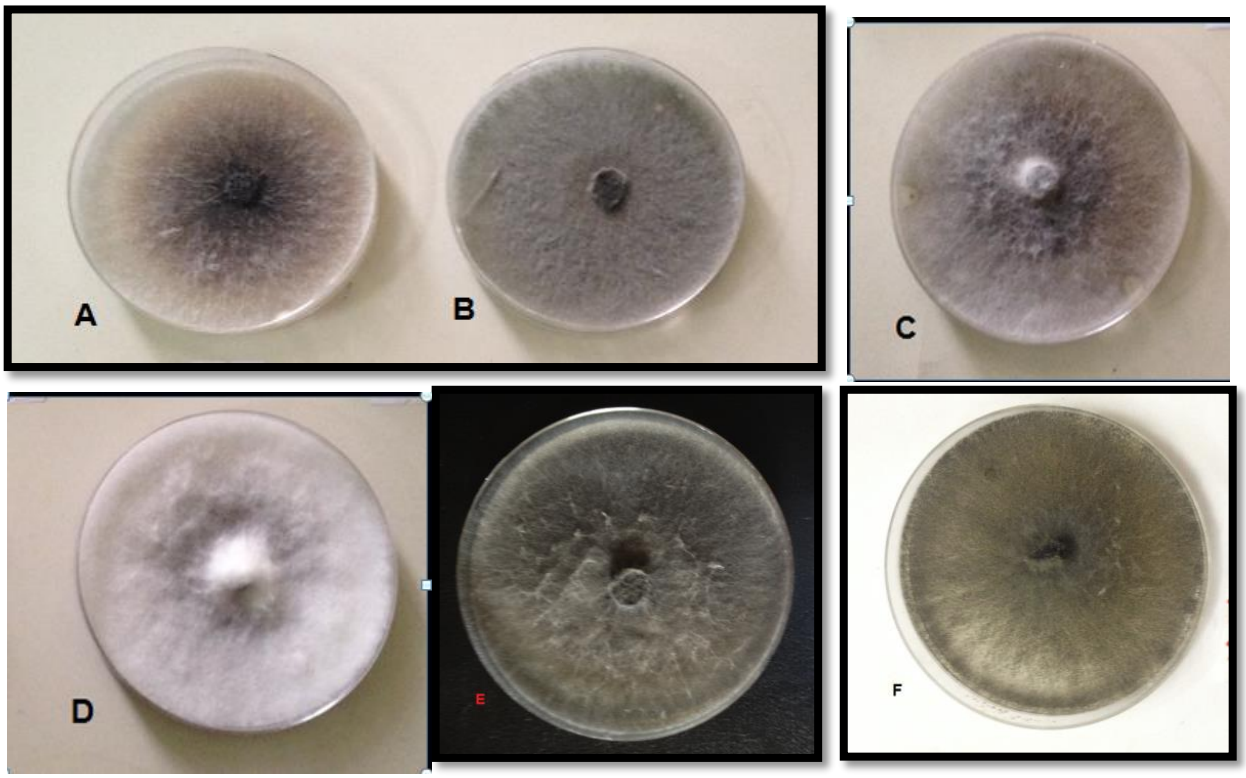
تم عزل 6 عزلات مختلفة من الفطر *M.phaseolina* من عوائل نباتية متعددة ومن مناطق مختلفة من محافظة البصرة ظهرت عليها أعراض الإصابة بمرض التعفن الفحمي ، أعطيت كل عزلة رمزا" دالا" على اسم النبات العائل . (جدول 1) .

عُزل الفطر على الوسط الغذائي P.D.A وتم متابعة نموه الذي كان شفافاً ثم مع تقدم عمر العزلة تحول إلى الرمادي فالأسود أذ تكونت أجسام حجرية صغيرة (Microsclerotia) سوداء اللون مختلفة الأشكال والأحجام ومنها الكروية والمتطاولة . ولوحظ أن هناك اختلافاً في لون المستعمرات وكثافة الغزل الفطري بين العزلات المعزولة من نباتات مختلفة (صورة 2).

وشُخص الفطر على انه *M.phaseolina* اعتمادا على الصفات التشخيصية (23) .

جدول (1) عزلات الفطر *M.phaseolina* والعوائل النباتية التي عزلت منها ومنطقة الجمع.

رقم العزلة	رمزها	النبات العائل	منطقة الجمع
1	Mph Su	زهرة الشمس	حقول كلية الزراعة / البصرة
2	Mph Sn	خيار القثاء	شط العرب
3	Mph Wm	الرقي	المدينة
4	Mph Me	البطيخ	الزبير
5	Mph To	الطماطة	حقول كلية الزراعة / البصرة
6	Mph Co	اللوبيا	حقول كلية الزراعة / البصرة



صورة (2) عزلات الفطر *M.phaseolina* المعزولة من نباتات مختلفة ومن مناطق مختلفة .

A: عزلة الرقي . B:عزلة زهرة الشمس . C: عزلة البطيخ . D: عزلة خيارالقثاء . E : عزلة اللوبياء . F: عزلة الطماطة.

اختبار القدرة الامراضية لعزلات الفطر *M.phaseolina* في إنبات بذور اللوبيا .

أظهرت نتائج التجربة وجود تباين في تاثير عزلات الفطر *M.phaseolina* في النسبة المئوية لانبات بذور اللوبيا الا ان الفروقات بين العزلات كانت متباينة معنويا" من الناحية الاحصائية (جدول 2). كما اظهرت نتائج جدول (3) ان عزلة اللوبيا(Mph Co) هي الاكثر تاثيرا من بين العزلات المختبرة في نسبة الاصابة وشدتها اذ اعطت هذه العزلة نسبة وشدة اصابة بلغت 55.8 ، 41.0 % على التوالي . وقد يعود ذلك إلى ميل هذه العزلة لإصابة نبات اللوبيا دون العوائل الأخرى فقد أشار Pearson وآخرون (34) إلى وجود نوع من التفضيل العائلي لدى عزلات الفطر *M.phaseolina* . وقد أشار فياض (11) الى أن تأثير العزلة المأخوذة من محصول معين يكون اشد تأثيراً في المحصول نفسه من العزلات المأخوذة من محاصيل أخرى وقد وجد أن العزلة المأخوذة من فول الصويا والسمسم كانت أكثر تأثيراً في نسبة إنبات هذين المحصولين من العزلات الأخرى .

جدول (2) تأثير عزلات الفطر *M.phaseolina* في النسبة المئوية لإنبات بذور اللوبيا.

ت	العزلة	% للإنبات
1	Mph Su	83.33
2	Mph Sn	83.33
3	Mph Wm	80.00
4	Mph Me	76.66
5	Mph To	93.33
6	Mph Co	76.33
7	Control	100
8	R.L.S.D P=0.05	2.26

*كل رقم داخل الجدول يمثل معدلات ثلاثة مكررات

جدول (3) تأثير عزلات الفطر *M.phaseolina* في نسبة الإصابة وشدتها لنبات اللوبيا.

ت	العزلة	% للإصابة	% لشدة الإصابة
1	Mph Su	40.3	24.0
2	Mph Sn	38.1	35.0
3	Mph Wm	36.5	29.5
4	Mph Me	52.5	36.5
5	Mph To	48.1	34.2
6	Mph Co	55.8	41.0
7	Control	0	0
8	R.L.S.D P=0.05	14.95	12.11

*كل رقم داخل الجدول يمثل معدلات ثلاثة مكررات

تأثير المستخلص المائي لأوراق بعض النباتات في تثبيط الفطر *M.phaseolina*

أوضحت النتائج عدم كفاءة المستخلص المائي لأوراق نباتات اللهانه واليوكالبتوس والكاربس في تثبيط نمو الفطر *M.phaseolina* وقد يعود السبب في عدم كفاءة المستخلص المائي إلى عدم الكفاءة في استخلاص المواد الفعالة من الأوراق النباتية ا والى قلة التركيز المستخدم. وهذا يتفق مع ماتوصل اليه الباحثون من أن المستخلص المائي للنباتات المستخدمة كان ذو فعالية تثبيطية منخفضة ضد العديد من الفطريات ومنها *M.phaseolina* (26، 13).

تأثير المستخلص الكحولي لأوراق النباتات المختبرة في تثبيط نمو الفطر *M.phaseolina* لعزلة نبات اللوبيا.

أظهرت نتائج الجدول (4) إن المستخلص الكحولي لجميع أوراق النباتات المستخدمة ثبط نمو الفطر *M.phaseolina* ، إلا إن مستخلصي أوراق اليوكاليبتوس واللهانة كانا أكثر تأثيرا في نمو الفطر فقد بلغت النسبة المئوية للتثبيط 62.49 ، 60.55 % على التوالي مقارنة بـ 53.77 % لمستخلص أوراق الكاربس كما بينت نتائج الجدول نفسه إن التركيز 1 % لجميع المستخلصات المستخدمة كان أكثر فعالية في تثبيط نمو الفطر الممرض مقارنة مع التركيز 0.5 %، إذ بلغت النسبة المئوية للتثبيط 79.57 و 38.27% على التوالي أما مايخص التداخل فقد أظهرت النتائج إن التركيز 1 % لمستخلص أوراق اللهانة كان الأكثر تأثيرا في تثبيط نمو الفطـــر الممرض وبفروقات معنويـــة عن بقية المستخلصات إذ بلغت نسبة التثبيط 98.86 % (صورة 3).

إن اختلاف تأثير التراكيز للمستخلص نفسه قد تعود إلى الاختلاف قي تركيز المادة الفعالة المستخلصة كما إن الاختلاف بين مستخلصات النباتات قد يعود إلى نوع المادة المستخلصة. وإن نتائج هذه الدراسة تتفق مع عدة دراسات أشير فيها الى تأثير المستخلص الكحولي لليوكاليبتوس في نموالفطريات نظرا لاحتوائه على الراتنجات و التانينات و الكلايكوسيدات و الصابونيات و الفينولات و الفلافونات (5) وقد أشارت صيداوي (9) إلى فعالية المستخلص الكحولي لليوكاليبتوس في تثبيط الفطر *M.phaseolina* المسبب لذبول جذور السمسم وتعفنها في الوسط الزرعي P.D.A .

وتتفق النتائج كذلك مع ماتوصل إليه Ahmed و Anithori (17) من إن مستخلص اليوكاليبتوس كان له تأثير في نمو الفطريات *Colletotrichum* ، *Helminthosporium* spp وتتطابق نتائج التثبيط لمستخلص أوراق اللهانة مع ماذكره بعض الباحثين من احتواء مستخلصات العائلة الصليبية على مواد ذات اثر سام منها Glucosinolate إذ تتواجد بتراكيز عالية فيها والتي عندما تتحلل بالماء تنتج مواد سامة للفطريات و منها ايونات السيانيد وثاني كبريتيد الكاربون (22 و 30) وتنطبق النتائج كذلك مع ما بينه Traw (39) إلى إن نباتات العائلة الصليبية تنتج مركب Glucosinolate السام لفطريات التربة. كما ذكر ان مركبات إن مركبات Glucosinolate مثل مركب sinigrin هي سامة لفطريات التربه وكذلك تخفض من اصابة جذور النباتات بالماكورايزا (29 و 36).

اما تثبيط مستخلص أوراق الكاربس فقد جاء متطابقاً مع ما اشار اليه ياسر (14) في احتواء مستخلص الكاربس على الكلايكوسيدات والقلويدات والمركبات الفينولية والتانينات و الراتنجات والصابونيات والتربينات والستيرويدات والتي كان لها الأثر الفعال في تثبيط الفطرين *Alternaria solani* ، *Ulocladium botrytis* المعزولين من جذور نبات خيار القثاء .

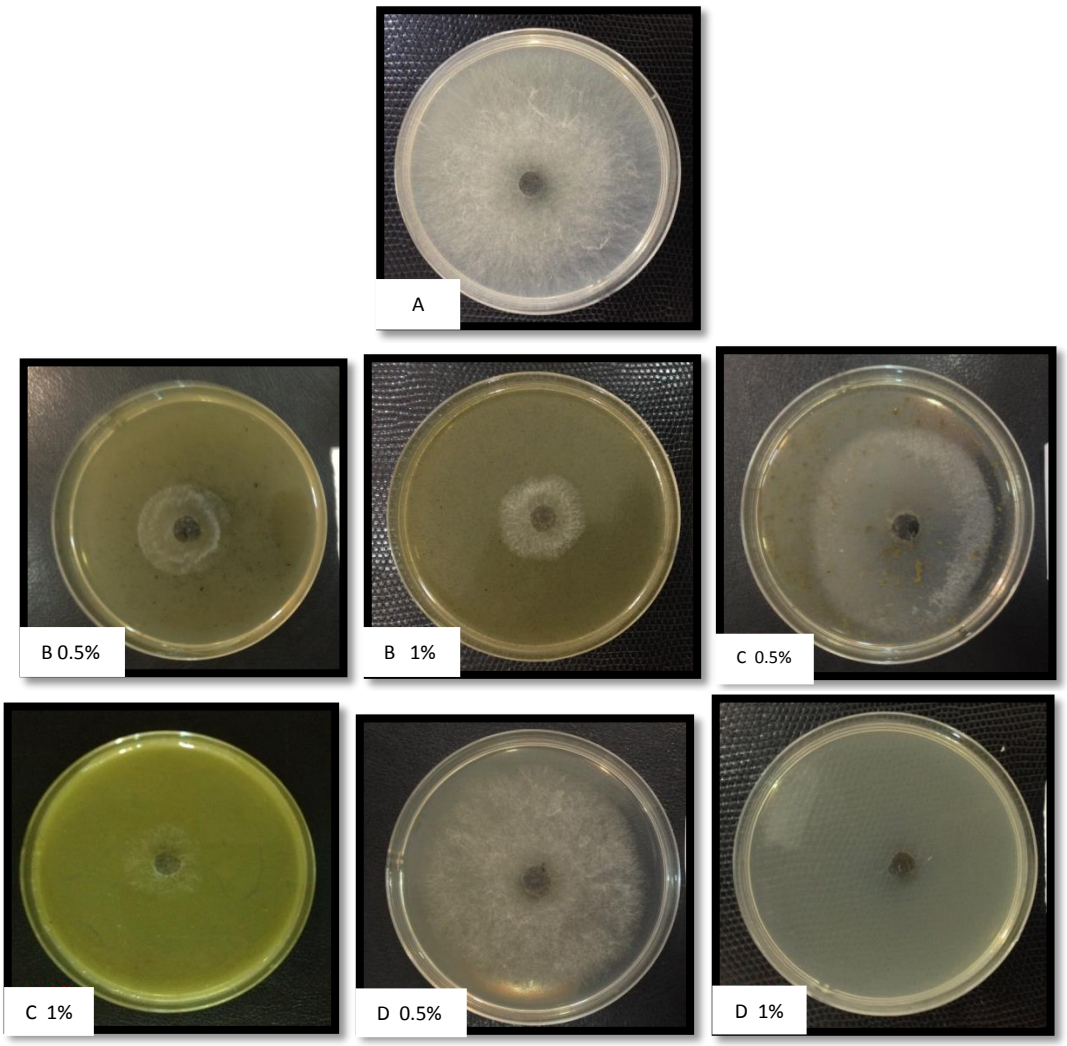
جدول (4) تأثير المستخلصات الكحولية للنباتات المختبرة في نمو الفطر *M.phaseolina*

التركيز / المستخلص	النسبة المئوية للتثبيط في نمو الفطر		متوسط تأثير نوع النبات
	% 0.05	% 1	
الكاربس	33.41	74.14	53.77
اليوكاليبتوس	59.25	65.73	62.49
اللهانة	22.17	98.86	60.55
المعدل	38.27	79.57	

R.L.S.D P=(0.01) للتركيز = 2.86

R.L.S.D لنوع المستخلص = 3.50

R.L.S.D للتداخل بين التركيز ونوع النبات = 4.96



صوره (3) **تأثير المستخلص الكحولي لأوراق النباتات المختبرة في تثبيط نمو الفطر *M.phaseolina*** .

A: Control B: مستخلص اليوكالبتوز C: مستخلص الكاربس D: مستخلص اللهانة .

تأثير المخلفات الحيوانية والنباتية في نسبة وشدة الأصابة بالفطر الممرض *M.phaseolina* .

أظهرت نتائج هذه التجربة ان اضافة المخلفات الحيوانية والنباتية ادت الى خفض نسبة وشدة اصابة نبات اللوبيا بمرض التعفن الفحمي المتسبب عن الفطر *M.phaseolina* أذ ان معاملة اوراق الكاربس كانت الافضل في خفض الاصابة بالمرض فقد بلغ معدل نسبة وشدة الاصابة في هذه المعاملة 10.1 و 5.5 % على التوالي مقارنة بـ 48.2 و 34.4 لمعاملة الفطر الممرض، وتلتها معاملة اوراق اليوكالبتوس ومخلفات الاغنام والتي بلغ معدل نسبة الاصابة وشدتها فيها 19.6 و 10.9 و 19.9 و 12.5 على التوالي (جدول 5).

ان دور المخلفات الحيوانية و النباتية في خفض شدة الاصابة لبعض مسببات امراض النبات اشير اليه في دراسات سابقة وقد يعود ذلك لواحد او اكثر من الاسباب منها ان تحلل الاوراق النباتية للنباتات المستعملة قد ينتج عنه مواد متطايرة او مركبات قلويدية او فينولية تؤثر في نمو الفطر الممرض او ان تحلل اوراق تلك النباتات يزيد من نشاط بعض الاحياء المفيدة مثل *Pseudomonas* و *Trichoderma* فقد وجد ان استعمال مخلفات الاغنام يخفض من شدة الاصابة بمسببات تعفن الجذور نتيجة لزيادة نشاط الاحياء الدقيقة المضادة للفطريات المسببة لتعفن الجذور (25) وان مخلفات الدواجن تخفض من شدة اصابة نبات الخيار بالفطر *Pythium aphanidermatum* (7) واشار السامرائي واخرون (2) الى دور الاسمدة العضوية الايجابي في خفض اعداد الاجسام الحجرية للفطر الممرض *M.phaseolina*

وقد وجد ان استعمال تركيبة او مخلوط (Composed) مكون من بقايا ثمار الطماطة بعد العصر والسماد الحيواني وبعض الحشائش قد خفض من اصابة نباتات الطماطة بمرض الانثراكنوز *colletotrichum coccoids* سيما في ظروف الزراعة العضوية وقد اعزي ذلك الى ان المخلفات العضوية تسبب زيادة في نشاط الاحياء المجهرية المفيدة وتزيد من نفاذية التربة وتحسن من تهويتها، اضافة الى زيادة جاهزية بعض العناصر المعدنية الضرورية لنمو النبات (15) كذلك وجد Jardin (28) ان اضافة السماد العضوي يخفض من نسبة الاصابة بمرض التعفن الفحمي ويساعد في خصوبة التربة.

ولوحظ ان اضافة مساحيق اوراق نباتات اليوكاليبتوس والشيح الابيض والقرطوف ادت الى خفض كثافة الفطر *Fusarium oxysporum.* f. sp *albedinis* المسبب لمرض البيوض على النخيل (8) كذلك اشار Ramizani واخرون (35) الى ان الزيوت الطيارة لليوكاليبتوس قد ثبطت النمو الشعاعي للفطرين *Rhizoctonia* و *Helminthosporium* .

لقد اضحى استعمال المخلفات النباتية في مكافحة امراض النبات من الطرائق الشائعة وتعرف هذه الطريقة في الوقت الحاضر بالتبخير الحيوي Biofumigation خاصة عندما تستعمل مخلفات نباتات العائلة الصليبية ، وقد وجد ان خلط اوراق وجذور وسيقان نباتات العائلة الصليبية مع التربة يكون لها تاثير سام على معظم الفطريات الممرضة للنبات في التربة ومنها الفطر*M.phaseolina* وذلك لاحتوائها على المركب Glucosinolate (21،38) واشار Mari واخرون (31) الى ان تحلل مركب Singrin الموجود في انسجة انواع من نباتات العائله الصليبيه ينتج عنه مركبات allyliso thiocyanate التي يمكن من ان تقتل وحدات التكاثر للفطر .كذلك وجد ان استعمال عجينة النيم (بقايا بذور النيم بعد استخلاص الزيت) قد خفض من اصابة نبات الحمص بالفطر *Fusarium oxysporium.* f. sp *ciceris* خاصة في المعاملات المشتركة مع البكتريا *Pseudomonas flurescens* (27) ,

جدول(5) تأثير المخلفات الحيوانية والنباتية في النسبة المئوية للاصابة وشدة الاصابة لنبات اللوبيا في تربة ملوثة بالفطر *M.phaseolina* .

ت	المعاملة	% للاصابة	% لشدة الاصابة
1	Mph+Sh	19.9	12.5
2	Mph+Cw	23.3	15.2
3	Mph+He	27.2	17.1
4	Mph+Ca	29.4	19.8
5	Mph+Cc	10.1	5.5
6	Mph+Eu	19.6	10.9
7	Mph	48.2	34.4
8	المقارنة (بدون فطر)	0.0	0.0
	R.L.S.D عند مستوى معنوية 0.05	14.7	13.6

Mph+Sh – 1 مخلفات الأغنام مع الفطر **Mph+Cw – 2 مخلفات الأبقار مع الفطر**

Mph+He – 3 مخلفات الدواجن مع الفطر **Mph+Ca – 4 اوراق اللهانــة مع الفطر**

Mph+Cc – 5 اوراق الكاربس مع الفطر **Mph+ Eu– 6 اوراق الكالبتوس مع الفطر**

Mph – 7 الفطر فقط **8 – المقارنة بدون فطر**

المصادر :

1- **اصطيفان، زهير عزيز ومحمد صادق حسن وابراهيم خليل حسون (2002)** . الفينامیفوس والفطرين *Trichoderma harzianum* و *Paecilomyces* وبعض مضافات التربة العضويه في مكافحة المعقد المرضي لنيماتودا تعقد الجذور وفطريات الذبول على الباذنجان. مجلة وقاية النبات العربية .20: 1-5 .

2- **السامرائي ، فاضل حسن ياسين (1986)** . مقارنة انماط مختلفة من تعقيم الترب ودور الفطريات اللامرضية في مقاومة بعض امراض الجذور . رسالة ماجستير كلية الزراعة. جامعة بغداد . 74 صفحة

3- **العادل، خالد محمد ومولود كامل عبد (1979).** المبيدات الكيمياوية في وقاية النبات .دار الكتب للطباعة والنشر- جامعة الموصل . 397 صفحة .

4-**العودات، محمد (2001)** . موسوعة التداوي بالنباتات الطبية. ص 41 الثوم، دار الأهالي، دمشق، سورية 504صفحة

5- **النعيمي، حنان عدنان و آمنة نعمة الشويلي وفريد جميل الطمان (2008).** تقييم فعالية المستخلصين المائي والكحولي لاوراق الايوكالبتوس *Eucalyptus camaldulensis* في تثبيط البكتريا المرضية الموجبة لصبغة كرام المعزولة من مرضى مصابين بالتهاب البلعوم واللوزتين . المجلة العراقية للعلوم . 99(2): 82-89.

6- **جبر ، كامل سلمان (1996) . المقاومة الإحيائية للمعقد المرضي بين ديدان تعقد الجذور**

Meloidogyne javanica والفطر *Fusarium solani* في الباذنجان . أطروحة دكتوراه – كلية الزراعة – جامعة بغداد.

7- **حسن، محمد صادق وبشرى جبير المالكي وعبد الله صادق الكويتي (2003)** . استعمال المخلفات الحيوانية والفطر *Trichoderma harzianum* في مكافحة الفطر *Pythium aphanidermatum* على الخيار . مجلة الزراعة العراقية . 8 (3):96 -103 .

8- **سي موسى، علي ومخضر بلعيد وعائشة تاج الدين وميلاد بلحسين وبسام بياعة (2010)** . تاثير اضافة مستخلصات بعض النباتات الطبية ومساحيقها في فطر *Fusarium oxysporum* f.sp *albedinis* .مجلة وقاية النبات العربية. 28:71-79 .

9- **صيداوي، أمل و غادة ابو عمار وعبد الحكيم يوسف وزينب الخضر و قاطع العريفي و صفاء العليص وسليم خروب (2014)**. مكافحة ذبول و تعفن جذور السمسم الفحمي باستخدام بعض المستخلصات النباتية . المجلة الاردنية في العلوم الزراعية . 10(1): 167-178.

10- **طواجن ، احمد محمد موسى. 1975** . بيئة البيوت الزجاجية .مطبعة جامعة البصرة . ص 571 – 573.

11- **فياض، محمد عامر (1997)**. استجابة تراكيب وراثية مختلفة من زهرة الشمس *Helianthus annuus* L. للإصابة بالفطر *Macrophomina* (Tassi) *phaseolina* ودور بعض الطرق الإحيائية في المقاومة. أطروحة دكتوراه – كلية الزراعة – جامعة بغداد. 91صفحه .

12-**قاسم، جمال راغب (1993)** . التأثيرات المثبطة لبعض الأعشاب الشائعة في حقول الحبوب على محصولي القمح والشعير . مجلة دراسات.المجلد 2: 7 – 28.

13- **كريم، طارق عبد السادة . (2000)** .فعالية مستخلصات البراعم الزهرية للقرنفل ضد مسببي مرض سقوط البادرات *Rhizoctonia solani* و *Pythium* على *aphanidermatum* (Edson) Fitzpatrick. الخيار .رسالة ماجستير كلية الزراعة –جامعة بغداد .

14- **ياسر،محمد هاشم (2012)**. تاثير مستخلص اوراق الكاربس *Conocarpus erectus* L على الفطرين *Ulocladium botrytis* و *Alternarai solani* المعزولين من جذور نبات خيارالقثاء *Cucumis melo* L. جامعة ذي قار.كلية العلوم.2(1):120-129.

15- **Abbasi, P.A.; All-Dahmani, J.; Sahin, F.; Hoitink, H.A.J.; and Miller, S.A. (2002).** Effect of Compost amendment on disease severity and yield of tomato in organic and conventional production. Plant Disease. 86:156-161.

16- **Agrios, G.N. (2005).** Plant pathology . New York . Academic Press . 903 pp.

17- **Ahmed, S.R. and Agnithori, J.P. (1977).** Antifungal activity of some plant extracts . Indian Mycology and Plant Pathology . 7(2): 180 – 181 .

18- **Anesini, C. and Perez (1993)** . Screening of plants used in Argentine flok medicine for antimicrobial activity . Journal Ethinophar . 39: 119-123.

19- **Baver, L. D. ; Gardner,W. H. and W.R. Gardner, (1972).** Soil physics , 4th edition, John wiley and Sons Inc, New York . p. 154.

20- **Bhatnagar, D.; Zeringue, H.J. and McCormick, S.P. (1990).** Neem leaf extracts inhibit aflatoxin biosynthesis in *Aspergillus flavus* and *A.parasiticus* . p. 118 - 127 . In Proceeding of the USDA Neem Workshop , Beltsville , Maryland . U. S. Department of Agriculture , Washington , D. C.

Rhizonacterial isolates and neem cale application on control of chick pea wilt caused by *Fusarium oxysporum* f.sp *ciceris*. Arab Journal of plant protection. 27:103-110.

28- **Jardine, D. (2003).** Charcoal rot of soybean. Soybean Research, Plant Health. 1-2.

29- **Lankau, R.A. and Strauss, S.Y. (2007).** Matual feed blacks maintion both genetic and species diversity in a plant community . Science. 317: 1561-1563.

30- **Mayton, H.S.; Olivier, C. and Vayghsf, L.R. (1996).** Correlation of fungicidal activity of *Brassica* species with allyl Isothiocyanate production in macerated leaf tissue. Phytohology. 86: 267 – 271.

31- **Mari, M.; Leoni, O.; Iori, R. and Cembali, T. (2002).** Antifungal vapor-phase activity of allyl-isothiocyanate against *Penicillium expansum* on pears . Plant Pathology. 51: 231- 236 .

32- **Mickenny, H.H. (1923).** Influence of soil temperature and moisture on infection of wheat seedling by *Helminthosporium sativum*. Agri. Research. 26: 195 – 217.(C.F.) Juber, K.S. (1996) . Biological Control for disease complex of Root-Knot nematode Meloidogyne javanica and the fungi Fusarium solani. Ph.D.thesis College of Agri. University of Baghdad.

33- **Muhammad, S.; Suberu, H. A.; Amusa, N.A. and Agail, M.D. (2001).** The effect of soil amendment with saw dust

21- **Blok,W.J.; Lamers, J.G.; Termorshuizen, S.K. and Gerrit, J.B (2000).** Control of soil borne plant pathogens by incorporating fresh organic amendments followed by tarping. phytopathology. 90: 235-259.

22- **Brown, P.D.; Morra, M.J.; Mc Caffrey, J.P.; Auld, D.L.; and Williams, L. (1991).** Allelochemicals produced during glucosinolate degradation in soil. Journal of Chemical Ecology. 17: 2021-2034.

23- **Dhingra, O.D. and Sinclair, J.B. (1973).** Variation among isolates of *Macrophomina phaseolina* from different regions . Phytopathology . 76(2): 200 – 204 .

24- **Dubey, R.C.; Harish, K. and Pandey, R.R. (2009).** Fungitoxic effect of neem extracts on growth and sclerotial survival of *Macrophomina phaseolina in vitro*. Journal of American Science. 5(5): 17-24.

25- **El-Masry, M.H.; A.I. Khalil; M.S. Hassouna and H.A.H. Ibrahim (2002).** In vitro and vivo suppressive effect of agricultural compost and their water extracts on some phytopathogenic fungi world. Journal of Microdiology and Biotechnology. 18:551-558.

26- **Gupta, S.K. and Banerjee, A.B. (1972).** Screening of selected west Bengal plants for antifungal activity. Economic Botany. 26: 255-259.

27- **Inam-ul-Haq, M.; S.El-Hassan, S.G. and Javed, N. (2009).** Effect of two

K. M.; MacDonld, D. W.; Padal, S.; Tattersall, F. H.; Wolf, M. S. and Watson, C. A. (2001). Agronomic and enviromental implication of organic farming system. Advances in Agronomy. 70: 261-323.

38- Subbarao, K.V.; tlubbard, J.C. and Koike, S.T. (1999). Evaluation of broccoli residue incorporation into field soil for Verticillium wilt control in couliflower. Plant Disease. 83:124-129.

39- Traw, M.B. (2002). Is induction response negatively correlated with constitutive resistance in blank mustard . Evolution . 56: 2196-2205.

40- Zeringue , H. J. J. and Bhatnagar, D. (1990). Inhibition of aflatoxin production in *Aspergillus flavus* infected cotton bolls after treatment with neem (*Azadirachta indica*) leaf extract . Journal of American Oil Chemists Society. 67: 215-216.

and rice husks on the growth and incidence of seedling blight of *Tamarrindus indica* linn caused by *Macrophomina phaseolina* and *Rhizoctonia solani* Moor. Journal Agricultural Research. Z: 40-46.

34- Pearson, C.A.S.; Leslie, J.F. and Schwenk, F.W.(1987). host preference correlated with chlorate resistance in *Macrophomina phaseolina* . Plant Disease . 71: 828-831.

35- Ramezani, H.; Singh, H.P.; Batish, D.R.; Kohli, R.K. and Dargan, J.S. (2002). Fungicidal effect of volatile oils from *Eucalyptus citriodora* and its major constituent citronella. New Zealand Plant Protection. 55: 327-330.

36- Roberts, K.J. and Anderson, R.C. (2001). Effect of garlic mustard Al-liaria petiolata (beib . cavarad grand) extracts on plants and arbuscular mycorrizal (AM) fungi. AM Midl Nat . 146(1): 146-152.

37- Stockdale, E.A.; Lampkin, N. H.; Hovi, M.; Keatinge, R.; Lennartsson, E.

Effect of some plants extracts and plant residues and animal manure on cowpea infection with charcoal rot disease caused by *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid

Mohammed Amer Fayadh and Mahmood Oda Jaafar

Plant Protection Dept.,Agric.College ,Basrah Univ. Basrah, Iraq

SUMMARY:-

This study was carried out in plant protection Department labs and Fields of Agriculture college in period during 2013-2014 in order to study the effect of leaves extracts of three plant, Conocarpus, Eucalyptus and Cabbege, as well as, the effect of three types of organic wastes cow, sheep, poultry for reducing charcoal rot disease caused by *Macrophomina phaseolina* on cowpea.

Six isolates of *M. phaseolina* were isolated from different host-plant and different regions at Basrah provence Pathogenisity test showed that cowpea isolate was the most virulent against cowpea seedling. Laboratory experiments showed that the Alkohol extract of Eucalyptus, Conocarpus, and cabbage were effective in inhibition of the growth of *M.phaseolina* . The percentage of inhibition were 62.4, 60.5 and 52.7 % for Eucalyptus, Cabbage and conocarpus extract respectively .In addition the concentration of (1%) for all extract was more effective in inhibition of the growth of fungus *M.phaseolina* , in comparison with other evaluates concentrates.

The percentages of inhibition reach 79.57 , 38.27 % respectively .In pots experiment it was also found that organic wastes for cow, sheep and poultry decreased the incidence and disease severity caused by *M. phaseolina.* Field experiments explained that soil amended with cow, sheep and poultry waste and plant extracts such as Conocarpus, Eucalyptus and Cabbage decreased cowpea charcoal rot caused by *M.phaseolina* as disease incidence and severity reached 48.2 and 34.4 % respectively.

Key word : *M. phaseolina* - plant Extract – cowpea - characoal rot - animal manure.