تأثير بعض المستخلصات النباتية في نمو ثلاث فطريات مسببة لمرض تبقع أوراق نخيل التمر

The Effect of Some Plant Extracts on the Growth of Date Palm Leaves Spot Fungi

ناصر حميد الدوسري رامز مهدي صالح الأسدي
جامعة البصرة/مركز أبحاث النخيل البصرة

الخلاصة

أجريت الدراسة في مختبرات مركز أبحاث النخيل لمعرفة تأثير بعض المستخلصات النباتية وهي أوراق نبات الياسمين الزفر *Clerodendron inerme* وأوراق نبات اليوكالبتوس *ucalyptus camaldulensis* وثمار نبات السماك *Rhus coriaria* وبثلاث تراكيز هي
1 و0.5 و0.25% لكل مستخلص نباتي على النمو الشعاعي والوزن الجاف لبعض الفطريات المسببة لمرض تبقع أوراق نخيل التمر، فقد تم عزل ثلاث فطريات الأكثر شيوعا وتكراراً وهي *Alternaria alternata* و *Altrnaria Chlamydospora* و*Utocladium atrum*

وأظهرت النتائج أن المستخلصات النباتية الأيثانولية المستخدمة كان لها تأثير تثبيطي على جميع الفطريات فقد تفوق مستخلص السماك الأيثانولي في أحداث تأثير تثبيطي عالي في النمو الشعاعي للفطريات ولجميع التراكيز وقد بلغت 43.23 و 44.59 و42.84% للفطريات الثلاثة المعزولة أعلاه وعلى االتوالي، كما أعطى مستخلص السماك الأيثانولي أعلى نسبة تثبيط في الوزن الجاف ولجميع التراكيز وبلغ 65.38% و53.13% و52.23% للفطريات *A. alternata* و*A. chlamydospora* و*Utocladium atrum* وعلى التوالي. كما لوحظ من خلال الدراسة أنه كلما زاد التركيز للمستخلصات النباتية المستخدمة زاد معها نسبة التثبيط ضد الفطريات المسببة لمرض تبقع أوراق نخيل التمر.

Summary

The present study has been conducted at the laboratories of Date Palm Research Center to evaluate the inhibition efficiency of plant extract which were *Clerodendron inerme*, *Eucalyptus camaldulensis* and *Rhus coriaria* at three concentrations (0.25, 0.5 and1%) on the radial and dry growth of some pathogenic fungi for date palm.Results of survey successed in isolation different groups of fungi ,and the fungi *Alternaria alternata* , *A. chlamydospora* and *Ulocladium atrum*, were the most abundant amongst isolated fungi, results of plant extracts test proved that *Rhus coriaria* Ethanolic extracts had the highest average of fungal growth inhibition percentage which were 43.23, 44.59, and 42.84% respectively, as a percentage of radial growth inhibition, and 65.38, 53.13 and 52.23% respectively, as percentage of dry growth inhibition.From obtained results it was clear the increasing of extract concentration (%) correlated positively with the inhibition percentage, against the growth of date palm leaf spot fungal pathogen

.

المقدمة

يتسبب مرض تبقع الأوراق على نخيل التمر عن العديد من الفطريات وهو يعتبر أكثر الأمراض شيوعاً في معظم أنحاء العالم (عبد القادر ومحمد ،1997)، إذ تختلف أعراض المرض على النخيل بأختلاف الفطريات المسببة لها. إذ ذكر العروسي(1989) إلى أن هناك عدة أشكال من أعراض التبقعات في المملكة العربية السعودية. وعزل الزبيدي(2005) مجموعة من الفطريات من أشكال مختلفة من تبقعات الأوراق على نخيل التمر في محافظة البصرة.

إذ يسبب هذا المرض أضراراً كبيرة لأوراق النخيل وذلك عن طريق موت بعض أنسجة الورقة المصابة وقد يشمل الورقة بأكملها مما يؤدي إلى توقف عملها في تصنيع الغذاء والذي ينعكس سلباً على نمو النخلة وإنتاجها(الزيات وجماعته،2002). لذا أشار عدد من الباحثين إلى أنه يتوجب مكافحة هذا المرض باستخدام المبيدات الكيمائية، ألا أن استخدام هذه المبيدات بشكل مستمر أدى إلى ظهور مشاكل االتلوث البيئي(Goettol & Jaronsk,1997). لذلك يدعو المهتمون بسلامة البيئة إلى استخدام المستخلصات النباتية في مقاومة آفات النبات لما تحتويه من مركبات ثانوية تلعب دوراً وقائياً للنبات نفسه ولنباتات وكائنات أخرى (Lokendra & Sharma, 1978). إضافة إلى تحللها بسهولة وذات تأثير يحتمل أن يكون قليل على البيئة(Suberu.2004).

لذا يلجأ العديد من الباحثين لاستخدام المستخلصات النباتية في مقاومة أمراض النبات كبديل عن المبيدات الكيمائية إذ وجد فرحان(1995) أن المستخلص المائي لبذور العدس كان لها تأثير تثبيطي للفطر *Alternaria alternata* وكما أشار سعدون (2004) إلى أن المستخلص المائي والأسيتوني لجذور الجت ثبط النمو الشعاعي للفطر *Fusarium oxysporum*.

لهذا كان الهدف من هذه الدراسة هو تقييم فعالية بعض المستخلصات النباتية في مقاومة بعض فطريات التبقع على نخيل التمر.

2- المواد وطرائق العمل

2-1 عزل الفطريات.

جلبت أوراق نخيل مصاب بمرض التبقع وغسلت بالماء الجاري لازالة الأتربة ثم قطعت إلى قطع بطول 0.5-1سم وعقمت سطحياً بمحلول هايبوكلورايت الصوديوم بتركيز 10% بعدها نقلت كل أربع قطع إلى طبق بتري حاوي على وسط P.D.A(Potato Dextrose Agar) معقم بجهاز الأتوكليف على درجة حرارة 121مْ والمضاف له المضاد الحيوي Chloramphenicol بمعدل 200ملغم/لتر بعدها حضنت الأطباق على درجة حرارة 25±2مْ لمدة 6-7أيام بعدها نقيت الفطريات وشخصت بالاعتماد على Ellis(1976).

2-2 تحضير المستخلصات النباتية.

تم جمع العينات النباتية وهي أوراق نبات الياسمين الزفر *Clerodendron inerme* وأوراق اليوكالبتوس *Eucalyptus camaldulensis* من حديقة كلية الزراعة جامعة البصرة، أما نبات السماك *Rhus coriaria* جلب من السوق عبارة عن ثمار هذا النبات، جففت هذه العينات باستخدام لفرن الحراري على درجة حرارة 40م^{O} لمدة 24 ساعة وطحنت بعدها وأخذ 10غم من المادة المجففة ووضعت كلاً على حدة في أوعية أستخلاص في جهاز Soxhlet extractor باستخدام 200مل من الأيثانول وتم الاستخلاص بدرجة حرارة 40مْ ولمدة 24ساعة وجفت المستخلصات بواسطة المبخر الدوار للحصول على الثمالة(Harborne,1984). بعدها حضر المحلول المركز Stock solution لكل مستخلص من المستخلصات النباتية وذلك بإذابة 1غم من الثمالة الجافة في 2مل من الأيثانول وأكمل الحجم إلى 10 مل من الماء المقطر المعقم حتى أصبح المحلول بتركيز 10% وعقم باستخدام ورق ترشيح (Millipore filter paper)ثم حضرت تراكيز 1% و0.5% و0.25% لكل مستخلص وذلك بتطبيق قانون الحجوم : $ح_1 \times ت_1 = ح_2 \times ت_2$

حيث أن

$ح_1$ = حجم المستخلص الذي يضاف إلى الوسط الغذائي(مل).

$ت_1$ = تركيز المستخلص (10%).

$ح_2$= حجم المستخلص +الوسط الغذائي(100مل).

$ت_2$=تركيز المستخلص في الوسط الغذائي0(التركيز المطلوبة 1%، 0.5% ،0.25%)

2-3 دراسة تأثير المستخلصات النباتية في النمو الشعاعي لبعض الفطريات المتسببة لمرض تبقع أوراق النخيل.

أضيفت المستخلصات النباتية إلى الوسط الغذائي P.D.A. المعقم بجهاز الاوتوكليف وكل مستخلص على حدة وبالتراكيز المختارة، رجت الدوارق الحاوية على الوسط الغذائي والمضاف إليه المستخلصات لغرض التجانس، صب كل وسط في أطباق بتري معقمة وبعد تصلب الوسط لقح مركز كل طبق بقرص قطره 0.5سم من وسط الغذائي للنامي عليه فطريات تبقع أوراق نخيل التمر وكل فطر على حدة، إما معاملة المقارنة فقد أضيف إلى الوسط الغذائيP.D.A محلول متكون من 2مل ايثانول وأكمل حجمه إلى 10مل بواسطة الماء المقطر(لمعرفة تأثير الكحول الايثانولي في معاملة المقارنة) ،وبمقدار نفس كمية كل تركيز من التراكيز المستخلصات النباتية المستخدمة في التجربة وكلاً على حدة، تمت التجربة بواقع ثلاث مكررات لكل معاملة حضنت الأطباق في الحاضنة على درجة حرارة 25±2م^{O} ولحين وصول نمو الفطر إلى حافة الطبق في معاملة المقارنة، وحسب نمو الفطر بأخذ معدل قطرين متعامدين يمران بمركز الطبق من ظهر المستعمرة وحسبت النسبة المئوية للتثبيط النمو حسب المعادلة.

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

(Lqbal *et al.*,2001).

2-4 دراسة تأثير المستخلصات النباتية في الوزن الجاف لبعض فطريات تبقع أوراق نخيل التمر.

حضر وسط نوع P.D.B. Potato Dextrose Broth ووزع في دوارق زجاجية وأضيف إليه المستخلصات النباتية لكل تركيز على حدة ، لقح كل دورق بقرص قطره 0.5سم ولكل فطر على حدة، إما معاملة المقارنة فقد إضيف إلى الوسط الغذائي.P.D.B محلول متكون من 2مل من ايثانول وأكمل حجمه إلى 10مل بواسطة الماء المقطر وبمقدار كمية كل تركيز من التراكيز المستخلصات النباتية المستخدمة في التجربة وكلاً على حدة. نفذت التجربة بواقع 3مكررات لكل معاملة، حضنت الدوارق في الحاضنة على درجة حرارة 25±2م^{O} ولمدة سبع أيام مع رج الدوارق كل 2-3أيام وفي نهاية فترة التحضين سحب الغزل الفطري وغسل بالماء المقطر المعقم لإزالة بقايا الوسط الغذائي ثم وضع على ورق ترشيح لإزالة الماء الزائد، ووضع في الفرن على درجة حرارة 70م^{O} لمدة 48ساعة بعدها أخذت الأوزان الجافة لها (Suberu,2004).

$$\text{\% لتثبيط الوزن الجاف} = \frac{\text{معدل الوزن الجاف في المقارنة} - \text{معدل الوزن الجاف في المعاملة}}{\text{معدل الوزن الجاف في المقارنة}} \times 100$$

5 التحليل الإحصائي

حللت جميع نتائج التجارب وفق تصميم العشوائي الكامل.Completely Randomized Design C.R.D على أنها تجارب عامليه عاملين، وتمت مقارنة المتوسطات حسب طريقة أقل فرق معنوي المعدل .R.L.S.Dبمستوى احتمالي 0.01(الراوي وخلف الله،1980).

3- النتائج والمناقشة.

3-1 عزل الفطريات

أظهرت نتائج العزل من أوراق النخيل مجموعة من الفطريات ,اختيرت منها ثلاث فطريات لاختبار الفعالية التثبيطية لبعض المستخلصات النباتية عليها وهذه الفطريات هي *A. alternata* و*A. chlamydospora* و*U. atrum* واختيرت هذه الفطريات لسيادتها العالية في بعض أنواع التبقعات التي تم العزل منها وخاصة الفطرين *A. alternata* و*A. chlamydospora* .

3-2 تأثير المستخلصات النباتية في النمو الشعاعي لبعض فطريات تبقع أوراق نخيل التمر.

أظهرت النتائج أن المستخلصات النباتية كان لها أثر تثبيطي للفطريات *A. alternata* و*A. chlamydospora* و*U. atrum*، وسجل لمستخلص السماك فعالية تثبيطية أختلفت بفارق عالي المعنوية عن بقية المستخلصات، إذ بلغت نسبة التثبيط للفطريات *A. alternata* و*A. chlamydospora* و*U. atrum* 43.23% و44.59% و42.84% على التوالي، جدول (1). بينما أعطى مستخلص اليوكالبتوس أقل نسبة تثبيط للفطريات إذ بلغت 21.10% و19.31% و23.02% على التوالي، كما أظهرت النتائج أن تركيز 1%ولجميع المستخلصات قد أعطى نسبة تثبيط أعلى مقارنة بالتركيزين 0.5% و0.25%.

ان نتائج الفعالية لمستخلص السماك اتفقت مع Shadidi Bonjar(2004) و Abu-Shanab *et al.*(2005) إذ ذكروا أن مستخلص السماك له تأثير تثبيطي ضد أنواع من البكتريا، وقد يعود سبب الفعالية التثبيطية إلى أحتوائه على مواد مثل Ellage acid وGallieacid و Isoqercitrum وMyricitrin وMyricetin وQuercetin وQuercitrin وTannic acid(Duke *et al.*, 2003)، وأيضا ربما تكون للمستخلصات النباتية مثبطات للإنزيمات وتأثيرات مختلفة للمركبات الفينولية على إنبات ونمو الممرض (Yehia *et al.*,2004).

أما مستخلص اليوكالبتوس فقد تعود فعاليته التثبيطية المنخفضة إلى أن المواد الموجودة في المستخلص وهي Kinoin وCatechin و Kino-tannic نسبتها قليلة في الأوراق أو ربما تحتاج هذه المواد إلى طريقة استخلاص خاصة بها(داود وجماعته،1990).

كما لاحظنا من النتائج أن كلما قل التركيز ولجميع المستخلصات المستخدمة قلت فاعليتها التثبيطية ضد الفطريات وقد يعزى السبب إلى قلة تركيز المادة الفعالة في التراكيز المنخفضة وبالتالي تقل تأثيرها في تثبيط الفطريات(محمود،1985).

3-3 تأثير المستخلصات النباتية في الوزن الجاف لبعض فطريات تبقع أوراق نخيل التمر.

بينت نتائج هذه التجربة أن مستخلص السماك سبب تثبيطه أعلى مقارن ببقية المستخلصات، إذ بلغت نسبة التثبيط للفطريات *A. alternata* و*A. chlamydospora* و*U. Atrum* 65.38% و53.13% و52.23% على التوالي، في حين أعطى مستخلص اليوكالبتوس نسبة تثبيط أقل للفطريات مقارنة مع مستخلصي نبات السماك والياسمين الزفر، جدول(2).

وجاءت هذه النتيجة مشابهة لما حصل عليها في تجربة تأثير المستخلصات في النمو الشعاعي للفطريات، وأكدت هذه التجربة بأن التراكيز المنخفضة ذات تأثير تثبيطي منخفض للفطريات.

وأظهرت هذه الدراسة أمكانية استخدام هذه المستخلصات النباتية وبتراكيز عالية في مكافحة أو الحد من تأثير فطريات التبقع لفعلها التثبيطي كما توصي الدراسة بأجراء تحليل لمحتوى هذه النباتات من المواد الفعالة واختبار فعاليتها على الفطريات كل على حدة.

جدول(1) تأثير المستخلصات النباتية في النمو الشعاعي لبعض فطريات تبقع أوراق نخيل التمر.

المستخلص	نسبة تثبيط الفطر *A. alternata*				معدل نسبة التثبيط لنوع المستخلص
	التركيز %				
	1	0.5	0.25	0 (المقارنة)	
ياسمين الزفر	42.09	33.20	25.09	0	33.73
السماك	53.03	43.77	32.58	0	43.23
يوكالبتوس	29.62	22.96	10.74	0	21.10
معدل تأثير التركيز	41.68	33.31	23.08	0	
$R.L.S.D_{0.01}$	للتركيز=2.68	نوع النبات=2.68		للتداخل= N.S	
المستخلص	نسبة التثبيط الفطر *A. chlamydospora*				معدل نسبة التثبيط لنوع المستخلص
	التركيز %				
	1	0.5	0.25	0 (المقارنة)	
ياسمين الزفر	44.59	31.18	29.02	0	34.93
السماك	55.55	44.03	34.18	0	44.59
يوكالبتوس	25.05	22.59	9.95	0	19.36
معدل تأثير التركيز	41.08	32.60	24.38	0	
$R.L.S.D_{0.01}$	للتركيز=4.37	نوع النبات=4.37		للتداخل= N.S	
المستخلص	نسبة تثبيط الفطر *U. atrum*				معدل نسبة التثبيط لنوع المستخلص
	التركيز %				
	1	0.5	0.25	0 (المقارنة)	
ياسمين الزفر	44.44	31.59	27.29	0	34.44
السماك	56.65	41.15	30.73	0	42.84
يوكالبتوس	27.40	21.66	19.99	0	23.02
معدل تأثير التركيز	42.83	31.47	26.00	0	
$R.L.S.D_{0.01}$	للتركيز=3.92	نوع النبات=3.92		للتداخل= 7.8	

N.S =غير معنوي.

جدول(2) تأثير المستخلصات النباتية في الوزن الجاف لبعض فطريات تبقع أوراق نخيل التمر.

المستخلص	نسبة تثبيط الفطر *A. alternata*				معدل نسبة التثبيط لنوع المستخلص
	التركيز %				
	1	0.5	0.25	0 (المقارنة)	
ياسمين الزفر	40.08	34.09	28.05	0	34.07
السماك	77.26	63.86	55.03	0	65.38
يوكالبتوس	35.66	27.06	20.98	0	27.90
معدل تأثير التركيز	51.00	41.67	34.69	0	
$R.L.S.D_{0.01}$	للتركيز=1.93	نوع النبات=1.93		للتداخل= 3.73	
المستخلص	نسبة التثبيط الفطر *A. chlamydospora*				معدل نسبة التثبيط لنوع المستخلص
	التركيز %				
	1	0.5	0.25	0 (المقارنة)	
ياسمين الزفر	44.29	33.55	28.38	0	35.41
السماك	64.33	53.72	41.36	0	53.13
يوكالبتوس	30.81	24.51	18.83	0	24.71
معدل تأثير التركيز	46.48	37.26	29.52	0	
$R.L.S.D_{0.01}$	للتركيز=3.55	نوع النبات=3.55		للتداخل= N.S	
المستخلص	نسبة تثبيط الفطر *U. atrum*				معدل نسبة التثبيط لنوع المستخلص
	التركيز %				
	1	0.5	0.25	0 (المقارنة)	
ياسمين الزفر	39.83	36.01	27.31	0	34.38
السماك	61.13	52.98	42.58	0	52.23
يوكالبتوس	31.24	25.52	18.81	0	25.19
معدل تأثير التركيز	44.07	38.17	29.57	0	
$R.L.S.D_{0.01}$	للتركيز=2.24	نوع النبات=2.24		للتداخل= 29.57	

N.S =غير معنوي.

المصادر :

الراوي،خاشع محمود وخلف الله،عبد العزيز(1980). تصميم وتحليل التجارب الزراعية.وزارة التعليم العالي والبحث العلمي.جامعة الموصل.

الزبيدي، علاء عودة مانع(2005). دراسة حول مرض تبقع أوراق النخيل ومكافحته كيميائياً في محافظة البصرة. رسالة ماجستير، كلية الزراعة، جامعة البصر، 67 صفحة.

الزيات، محمد محمود القعيط، صالح إبراهيم ولقمة، حسن عصام الدين متولي وظفران، هاني عبد الرحمن وآل عبد السلام، خالد سعد(2002). أهم أمراض وآفات نخيل التمر بالمملكة العربية السعودية وطرق مكافحتها المتكاملة. وزارة الزراعة والمياه، منظمة الأغذية والزراعة للأمم المتحدة، الرياض- السعودية.101-110.

العروسي، حسين محمد(1989). أمراض النخيل في المملكة العربية السعودية. مجلة الخفجي.(12)34:11-39.

داود، عواد وشعبان وقاسم، نبيل عزيز والملاح، نزار مصطفى(1990). دارسة مقارنة لتأثير بعض المستخلصات النباتية والمبيدات في بعض الفطريات المسببة لأمراض النبات. مجلة زراعة الرافدين. 22(4):227-236.

سعدون، عبد الأمير سمير(2000). تأثير مستخلص جذور الجت .L *Medicago sativa* على نمو الفطر *Fusarium oxysporum* مختبرياً. مجلة القادسية. العلوم الصرفة، 6(4):74-80.

عبد القادر، هشام هاشم ومحمد، صلاح الدين الحسيني(1997). أمراض النخيل المشاكل تشخيص الأمراض الوقاية والعلاج. دار المريخ للنشر، الرياض، المملكة العربية السعودية. 130صفحة.

فرحان، عبد الرضا طه(1995). تأثير مستخلصات بعض لبذور على نمو أثنين من الفطريات الممرضة للنبات، المؤتمر القطري للجامعات العراقية، بغداد.

محمود، انتصار عبد الحميد(1985). تأثير المستخلصات النباتية على بعض الفطريات المسببة للأمراض النباتية، رسالة ماجستير، كلية الزراعة جامعة بغداد. 83 صفحة.

Abu- Shanab, Bassam; Adwan, Ghaleb; Abu-Safiya, dauod; Adwan, Kamel & Abu-Shanab, Moad.(2005). Antibacterial activity of *Rhus coriaria.* L. extracts growing in Palestine. Journal of The Islamic university of Gaza. 13(2):147-153.

Duke, J. A.; JoBogenschutz-Godwin M.; Ducellier, J.; Duke, P. AK.(2003). CRC Hand book of medical plant. CRC press, Boca. Raton. 269-270

Ellis, M. B.(1976). Domatiaceous Hyphomycetes. Common Weelth. Mycological instate. London. 608.

Goettel, M. S., Jaronski, S. T.(1997). Safty & registration of microbial agents for control grasshopper & locusts. Memoirs of the Entomological Society of Canada. 171:83-99.

Harborne, J.B.(1984).Phyochemical methods, Chapman & hall. NY.288.

Lokendra, S & Sharma, M.(1978). Antifungal properties of same plant extracts, Gerobios.5(2):49-53.

Lqbal, M. C.; Meiyalaghan, S.; Wijesekara, K. B.& Abeyrate, K. P.(2001). Antifungal activity from water extracts of some common weeds. Pakistan Journal of Biological Scienes. 4(7):843-845.

Shahidi Bonjar, G. H.(2004). Evaluation of antibacterial properties of Iranian medicinal – plants against *Micrococcus luteus*, *Serratia marcescens*, *Klebsiella pneum* & *Bordetella bronchoseptica*. Asian Journal of Plant Sciences. 3(1):82-86.

Suberu, H.(2004). Preliminary studies of inhibition in *Aspergillus flavus* with extracts of two lichens and Bentex-T fungicide. African Journal of Biotechnology. 3(9):468-472.

Yehia, A. G.M.; Mohsen, K. H. E.; Magda, M. A.(2004). Influence of some plants extracts and Microbio agents on some physiological traits of Faba Bean Infeeted eith *Botrytis fabae.* Turk. J. Bot.; 28:519-528.