تأثير المستخلصات الايثانولية لبعض النباتات في تثبيط نمو بعض الفطريات المسببة لتعفن البصل (*Allium cepa* L.) في المختبر

مضر عواد الحشيش* **د. زكريا الناصر**** **د. جودة فضول****

الملخص

نُفذ هذا البحث خلال عامي 2019– 2020 في قسم وقاية النبات في كلية الزراعة بجامعة دمشق. وهدف الى دراسة تأثير المستخلصات الإيثانولية لأوراق وأزهار الطيون وأوراق المردكوش والأزدرخت والأوكاليبتوس في تثبيط نمو الفطريات *Aspergillus niger* و*F. oxysporum* و*Botrytis cinerea* المعزولة من نبات البصل (*Allium cepa* L.) على المستنبت المغذي PDA في المختبر. أظهرت النتائج أن المستخلصات الإيثانولية للنباتات المدروسة أدت إلى تثبيط معنوي لنمو الفطريات المختبرة مقارنةً مع الشاهد، وأعطى المستخلص الإيثانولي للطيون والمردكوش أعلى نسبة تثبيط للفطرين *A. niger* و*F. oxysporum* حيث بلغت قيم التركيز النصفي (EC_{50}) 365 و 462 ppm (طيون) و456 و617 ppm (مردكوش) للفطرين على الترتيب. في حين أعطى المستخلص الإيثانولي للازدرخت أعلى تثبيط للفطر *A. niger* حيث بلغت قيمة التركيز النصفي EC_{50}=565ppm. من جهة أخرى أعطى المستخلص الايثانولي للأوكاليبتوس أعلى تثبيط للفطر *B. cinerea*، حيث بلغت قيمة التركيز النصفي EC_{50}=653ppm.

الكلمات المفتاحية: مستخلصات نباتية، فطريات، بصل.

* طالب دراسات عليا – قسم النبات – كلية الزراعة – جامعة دمشق– سورية.

** أستاذ – قسم وقاية النبات – كلية الزراعة – جامعة دمشق– سورية

Effect of ethanol extracts of some plants in inhibiting growth of Some fungi that cause Onion rot (*Allium cepa* L.) in the laboratory

M. A. Al-Hasheesh[*] Dr. Z. Al-Nasser[**] Dr. J.Fadoul[**]

Abstract

This investigations carried out in 2019-2020, at Department of Plant Protection-Damascus University, to determine the antifungal activity of Ethanol extracts of leaves and flowers of *Inula* and leaves of *Oregano, Melia azedarach* and *Eucalyptus*, in inhibiting mycelium growth of fungi, *Aspergillus niger, F. oxysporum, Botrytis cinerea* isolated from onion (*Allium cepa* L.) on PDA in laboratory.

The results showed that Ethano extracts of studied species gave significant inhibition to growth the tested fungi compared with the control. Ethanol extract of *Inula* and *Oregano* gave the superior inhibition effect to the *A. niger* and *F. oxysporum* fungi, where gave the median effective dose (EC_{50}) values for inhibition of mycelial growth of fungi 365 and 462 ppm (*Inula*) and 456 and 617 ppm (*Oregano*) for two fungi, respectively.

However, that ethanol extracts of *Melia azedarach* gave the higher inhibition effect on *A. niger* fungus where, the median effective dose (EC_{50} =565ppm). In the other hand, ethanol extracts of *Eucalyptus* gave higher inhibition to the *B. cinerea* fungus, where, the median effective dose (EC_{50}= 653.

Key words: Plant extracts, Fungi، Onion.

[*] Department of plant protection- faculty of agriculture- Damascus University.
[**] Department of plant protection- faculty of agriculture- Damascus University.

المقدمة:

يعد البصل (*Allium cepa* L.) من أهم نباتات العائلة الثومية (Alliaceae) آو النرجسية (Amaryllidaceae) في العالم. يزرع البصل في سورية مروياً وبعلاً، وقد بلغت المساحة المزروعة في عام 2012 حوالي 4196 هكتاراً ووصل الانتاج إلى 64251 طن والغلة15314 كغ/ هكتار (المجموعة الاحصائية، 2012). يتعرض البصل خلال عملية التخزين والتسويق للإصابة بفطريات أعفان التخزين التي تسبب خفض المادة الجافة ونسبة الماء. فقد سُجل حوالي 15 فطراً يهاجم البصل خلال فترة التخزين والنقل، وتسبب فقداً لأكثر من 40% من المحصول (Aiyer, 1980) وقد بينت الدراسات أن أهم أمراض التخزين هي العفن الأسود (*Aspergillus niger*) الذي يصيب البصل في الحقل والمخزن (Tyson,2004، Raju وNaik، 2006 و Agrios,.2005) والعفن الأزرق (*Penicillium* spp.) وعفن الأبصال الفيوزاريومي bulb (*Fusarium* sp) وعفن القاعدة (*Fusarium oxysporum f.sp cepae*). وأعفان الأسبرجلوس (*Aspergillus*) مثل *A. niger* و *A. flavus* وهي تصيب الأبصال في الظروف الرطبة والحارة. في حين أن الفطريات التابعة للجنس *Penicillium* sp تسبب ضرراً كبيراً للأبصال عند درجات الحرارة المنخفضة. تفرز الفطريات *Penicillium* sp. و*Aspergillus* sp سموماً فطرية مثل الاوكراتوكسينات والأفلاتوكسينات الضارة بصحة الإنسان (Overy et al.2005). تنتج بعض أنواع *Fusarium* سموم فطرية مثل fumonisins وtrichothecenes وzearalenone T-2 toxin و HT-2 toxin وتحدث هذه السموم أمراضاً عديدة للإنسان والحيوان (Cawood et al 1991، Chelkowski and Lew1992).

ويصيب الفطر *Botrytis cinerea* البصل في الحقل والمخزن ويعد من أخطر الفطريات التي تسبب العفن الرمادي في جميع مناطق زراعة البصل، ويسبب خسائر للبصل أثناء التخزين والنقل كما تخفض صلاحية البصل للاستهلاك المحلي والتصدير(EL-Abd,2002) وقد تحدث الإصابة بالفطر في الحقل في نهاية الموسم قرب الحصاد عن طريق سقوط

الابواغ الخاصة بالفطر المنتشرة بالهواء على أعناق الأوراق والجروح ويتابع نموه تحت ظروف التخزين (Du Toit 2004).

تستخدم المبيدات الفطرية في مكافحة أمراض البصل الفطرية في كل من الحقل والمخزن. فقد ذكر Garcia وزملاؤه (1997) أن المبيد Falisolan المكون من المزيج Carbendazim 60% + Bronopol كان الأفضل في مكافحة أمراض البصل خلال فترة التخزين، حيث خفض بشكل كبير نسبة الخسائر الناتجة عن الفطريات التابعة لأجناس (*Aspergillus*) و(*Fusarium*) و(*Botrytis*). كما وجد Ranpise (2001) أنّ رش البصل بالمبيد mancozeb بتركيز 0.25% أو بالمبيد carbendazim بتركيز 0.1% أعطى وقاية من أعفان التخزين لمدة ستة أشهر. في حين أشار Chavan (1992) أنّ تبخير البصل بالكبريت أعطى فاعلية أعلى من مبيد carbendazim (0.1%) في الوقاية من أعفان المخزن. غير أنّ استخدام المواد الكيميائية له أضرار صحية على الإنسان (Pandey، 1992) نتيجة الأثر المتبقي للمبيدات في الغذاء وتراكمها الحيوي، كما تعد المبيدات حالياً من الملوثات العضوية للبيئة، إضافة لظهور صفة المقاومة تجاه المبيدات، وبالتالي صعوبة المكافحة وإدخال مركبات جديدة كبدائل عن المركبات التي حدثت لها مقاومة (Paster and Barkai-Golan ، 2008 و Raja ،2014). بدأ العمل منذ عقود على انتاج مبيدات حيوية من النباتات ضد الميكروبات والفطريات، إذ أن أغلب النباتات تحتوي على مركبات تربينية وفينولات وقلويدات وفلافونات وزيوت طيارة أثبت الكثير منها تضاد ميكروبي وفطري، كما أن هذه المركبات لا تتراكم بالبيئة وليس لها آثار سمية على الإنسان (Kagale، 2005)، إذ تتحلل بسرعة في الظروف الطبيعية (Reddy وزملاؤه،2007 و Anjorin وزملاؤه، 2013). فقد أثبتت الزيوت الأساسية والمستخلصات النباتية للعديد من النباتات الطبية والعطرية منذ زمن طويل فاعليتها في مكافحة الفطريات الممرضة للنبات (Satish,*et al*., 2009). هنالك العديد من الدراسات الصيدلانية والكيميائية التي أثبت فاعلية مستخلصاته

كمضادات فطرية، حيث وجد أنّ المستخلص الايثانولي للنوع *E. camaldulensis* له فاعلية ضد فطر *Alternaria alternata* (Singh وزملاره، 2014). كما بين Katooli وزملاؤه(2011) أنّ المستخلصات المائية والعضوية والزيت الطيار لهذا النوع أبدت فاعلية ضد فطريات التخزين ومنها: *Aspergillus flavus* و*Penicillium digitatum* و*F. graminearum* و*F. sporotrichioide* كما أنه مضاد للفطر*F. graminearum* (Mehani وزملاؤه، *2014*). أشار Gakuubi وزملاؤه (2017) أن الزيت الطيار لهذا النوع ثبط نمو ميسليوم فطري*F. solani* و*F. oxysporum* عند التركيز من 6 –8ميكروليتر/ مل بعد 3 و5 يوم من التحضين على الترتيب. يتضمن الطيون (*Inula* sp) من الفصيلة Asteraceae أكثر من 100نوعاً نباتياً تعيش برياً في منطقة حوض المتوسط، تحتوي نباتات هذه المجموعة مركبات مضادة للفطور لذلك فهي مهمة كمضادات فطرية (Cohen et al., 2002) ومضادات ميكروبات (Stamatis et al., 2003) . ومن أهمها نوع *Inula viscosa* (L.) . فقد ذكر عديد من الباحثين أن مستخلصات الأوراق والأزهار لهذه النباتات فعالة على بعض الفطريات الطبية كفطر *Candida albicans* (Ali Shtayeh وزملاؤه، 1998 وCafarchia وزملاؤه،1999)، وأشار Cohen وزملاؤه (2002) أنّ المستخلص الايثانولي للطيون ثبط نمو فطر*Cladosporium cucumerinum* ، وجد Wang et al. (2004) أن المستخلصات العضوية ل *I. viscosa* فعالة ضد اللفحة المتأخرة على البندورة. كما وجد Abu Jawdah وزملاؤه 2002 أنّ مستخلصات *I. viscosa* ثبطت نمو فطريات *Botrytis cinerea* و*Alternaria solani* و*Penicillium* sp و *Fusarium oxysporum* f. sp. *Melonis* في المختبر عند تركيز 2 مل/ 98 مل وسط مغذي.

الأزدرخت (*Melia azedarach* L.) من فصيلة Meliaceae يحتوي أربعين مركباً حيوياً فعالاً تتركز أساساً في البذور وزيوتها، وقد أثبت Shivpuri وزملائه (1997) أن المستخلصات الكحولية للنيم (*A. indica*) لها فاعلية ضد بعض المسببات الفطرية النباتية:

R. solani و *F. oxysporum*، *Colletotrichum capsici*، *Alternaria brassicola* و*Sclerotinia sclerotiorum* عند اختبارها في المختبر على المستنبت الغذائي عند التراكيز 500 و1000 ميكروغرام/ مل، وجد Carpinella وزملاؤه (2003) أنّ مستخلص الهكسان للأوراق والمستخلص الكحولي لبذور الأزدرخت أعطت أعلى نسبة تثبيط في نمو فطريات *Aspergillus flavus* و*Fusarium oxysporum* و*F. verticillioides* في المستنبت المغذي في المختبر، حيث كان أقل تركيز مثبط 0.5 –25 مغ/مل للأوراق و0.5% –5 مغ/مل للبذور، كما أثبتت Iqbal وزملاؤها (2002) أن مستخلصات الأزدرخت فعالة ضد فطريات مثل *Fusarium chlamydosporum* و*A. Niger*، وجد Neycee وزملاؤه (2012) أنّ المستخلص الكحولي للأوراق وأزهار وثمار الأزدرخت أعطت فاعلية في تثبيط النمو الفطري في المستنبت الغذائي للفطريات *Sclerotium* sp. و*Fusarium oxysporum* و*Rhizoctonia solani* عند التراكيز 100 و150 مغ/مل، بينما لم يظهر التركيز 50 مغ/مل أي تثبيط لنمو الفطريات المدروسة. وقد أعطى المستخلص الكحولي لأوراق الأزدرخت (*M. azedarach*) أعلى فاعلية في تثبيط نمو الفطر *F. oxysporum*. ومن نباتات الفصيلة الشفوية المهمة أيضا المردكوش (*Origanum vulgare* L.) التي موطنها الأصلي جنوب أوربا وحوض البحر المتوسط، ويستخدم المردكوش في الطب الشعبي للعديد من الأمراض التي تصيب الصدر أو الدورة الدموية وغيرها (Sagdiç وزملاؤه، 2002). وجد Kocić-Tanackov وزملاؤه (2012) أن أهم المركبات في نبات المردكوش (*Origanum vulgare*) هي carvacrol و carvone و*p*-cimene و thymol. وقد أثبت أنّ مستخلص المردكوش له فاعلية في تثبيط نمو بعض الفطريات المعزولة من المواد الغذائية منها الجنسين *Penicillium* و*Fusarium*. وازداد التأثير المثبط بزيادة تركيز المستخلص بالوسط الغذائي.

الهدف من البحث:

هدف هذا البحث إلى دراسة تأثير المستخلصات الإيثانولية للمردكوش والأوكاليبتوس والأزدرخت والطيون في تثبيط نمو مشيجة بعض فطريات أعفان البصل في المختبر.

المواد وطرائق البحث

– مكان تنفيذ البحث:

أجري هذا البحث خلال عامي 2019 –2020 في مختبرات قسم وقاية النبات في كلية الزراعة جامعة دمشق.

– جمع وتحضير المستخلصات النباتية:

تم جمع الأوراق النباتية لكل من المردكوش والأوكاليبتوس والأزدرخت وخليط أوراق وأزهار الطيون من محافظة ريف دمشق بوزن 1 كغ لكل منها غسلت بالماء الجاري للتخلص من الأتربة. وتم تجفيفها هوائياً لمدة 10 أيام عند درجة حرارة المختبر في الظل. ثم طُحنت العينات باستخدام مطحنة كهربائية للحصول على بودرة.

– تحضير المستخلص الايثانولي:

تم استخلاص العينات النباتية باستخدام جهاز السوكسليت: تم وزن 30 غرام من العينة النباتية المطحونة ووضعت في زجاجة جهاز السوكسوليت (Soxhlet extractor) وأُضيف لها 300 مل من المُحل العضوي ايثانول 99.5%. ثم سخنت لمدة 3 ساعات عند درجة حرارة 35–40 °س. نُقل ناتج الاستخلاص كمياً إلى حوجلة المبخر الدوراني لتبخير المذيب العضوي منه عند درجة حرارة (35–40 °س) حتى الوصول إلى طبقة ميكروفيلم(Dagostin وزملاؤه، 2010). تم تجفيف المستخلص بوضع الدورق الزجاجي الحاوي على المستخلص في مجففة (Dessiccateur) لمدة 24 ساعة (يوزن الدورق قبل وبعد تجفيف المستخلص)، من فرق وزن الدورق يتم معرفة وزن المستخلص النباتي، أُخذ 1 غ من المستخلص الجاف

لكلٍ من النباتات المدروسة وتم حله في 10 مل من الإيثانول ونُقل إلى زجاجة حافظة بنية اللون، وحُفظ في البراد لحين الاستخدام عند درجة 4 °س.

- **عزل الفطريات من البصل:**

جمعت عينات من البصل الأحمر (وزن كل عينة 1 كغ) ظهرت عليها أعراض أعفان التخزين وتغيرات لونية على الحراشف بصورة عشوائية من سوق محلي بدمشق. وضع نصف العينات في أكياس ورقية تحت ظروف المختبر لحين العزل. نُقلت الأبصال إلى حجرة العزل، ومن ثم استخدم مشرط حاد معقم وأخذت قطع من قشور البصل ظهرت عليها أعراض الأعفان ووضعت في طبق بتري يحوي 70% ايثانول لمدة 3 دقائق للتعقيم السطحي، ثم غُسلت ثلاث مرات بماء معقم مقطر لإزالة الكحول، ووضعت على ورق ترشيح معقم للتخلص من الماء. ثم نقلت إلى أطباق بتري تحتوي مستنبت غذائي PDA، والمضاف إليها المضادات الحيوية Ampicillin (100 جزء بالمليون) و Streptomycin (100 جزء بالمليون) بمعدل ثلاث قطع لكل طبق وبمعدل عشرة أطباق. حُضّنت الأطباق عند درجة حرارة 25 ± 2°س لمدة 7 أيام.

وضعت عينات النصف الثاني في أوعية زجاجية سعة5 ليتر معقمة وقابلة للأغلاق تحوي طبقة من القطن المعقم والمشبع بالماء المعقم بمعدل أربع بصلات لكل وعاء، ووضعت في ظروف المختبر لمدة أسبوع حتى ظهر ميسليوم الفطريات على الأبصال. أُخذت اجزاء من حراشف البصل (5 مم) ومعها مشيجة الفطر ووضعت بمعدل 3 قطع في كل طبق بتري يحوي PDA. حُضّنت الأطباق عند درجة حرارة 25 ± 2°س لمدة 7 أيام. نقيت العزلات عن طريق نقل جزء من المشيجة تحت المكبرة إلى أطباق بتري جديدة تحوي وسط PDA (Hye Ji وزملاؤه، 2018)، وتم تعريفها وفقاً لصفاتها المورفولوجية وصفات الابواغ وشكل ولون المستعمرة ووفقاً للمراجع Dimond (1952) و Booth (1971) و Booth (1984). و Barnett and Hunter. 1987 .

–تقييم فاعلية المستخلصات الكحولية لنباتات المدروسة في تثبيط نمو الفطريات في المستنبت المغذي:

تم اختبار فاعلية **المستخلصات العضوية** في تثبيط نمو الفطريات المختبرة (*Aspergillus niger* و*F. oxysporum* و*Botrytis cinerea*) في المستنبت المغذي بطريقة تسميم البيئة The Poison Food Technique الموصوفة من قبل Falck (1907) بالتراكيز الآتية: 125 و250 و500 و750 و1000 و1500 و2000 و2500 و3000 ppm مستنبت مغذي. (تم التأكد بتجارب أولية عدم تأثير المذيبات المستخدمة على نمو الفطريات المدروسة عند استخدام المحلات العضوية بالكمية العظمى). تم تحضير دوارق سعة 250 مل ووضع فيها 100 مل مستنبت غذائي PDA وتم تعقيمها في جهاز التعقيم الرطب/ الاوتوكلاف/. تم إضافة كمية مناسبة من المستخلصات المختبرة إلى المستنبت المغذي عند درجة حرارة 50°س بعد عملية التعقيم لإعطاء التركيز المناسب، وقد أضيف للمستنبت مادة Tween 20 بنسبة (0.1%) للمساعدة على الاستحلاب بشكل جيد. صُب المستنبت المغذي المعامل في أطباق بتري معقمة قطر 90 مم وتركت حتى تتصلب. وتم بعد ذلك عدوى الأطباق بالفطور المدروسة وذلك بوضع قرص 5 مم من ميسليوم الفطر، وبمعدل ثلاثة أطباق لكل تركيز (مكررات)، وحضنت الأطباق على درجة حرارة 23± 2°س لمدة 7 أيام. تم قياس متوسط قطر المستعمرات بقياس قطرين متعامدين لكل مستعمرة.

وحسبت نسبة التثبيط وفقاً لمعادلة Vincent:(1947)

$$\% \text{ لتثبيط نمو المشيجة} = \frac{\text{قطر المستعمرة في الشاهد} - \text{قطر المستعمرة في المعاملة}}{\text{قطر المستعمرة في الشاهد}} \times 100$$

رسم خطوط السمية لتحديد قيمة التركيز المثبط النصفي (EC_{50}) للمستخلصات المستخدمة:

تم حساب قيمة تركيز المستخلصات النباتية المسببة لتثبيط 50% من نمو المشيجة (EC_{50}) عن طريق رسم خطوط السمية التي تربط العلاقة بين التركيز ونسبة التثبيط وفقاً لطريقة رسم منحنى السمية (Finney, 1978.).

التحليل الإحصائي:

تم تحليل النتائج وفق برنامج التحليل الإحصائي SPSS. 20، حيث استخدم التصميم العشوائي الكاملCompletely Randomized Design كما تم تحليل التباين عند مستوى معنوية 0.01.

النتائج والمناقشة:

- **تعريف الفطريات المعزولة من البصل:**

تم توصيف وتعريف الفطريات المعزولة وفقاً للصفات المورفولوجية والمجهرية للمشيجة والابواغ واستخدمت المراجع المتخصصة (Barnett and Hunter. 1987 و Booth(1984).) وبالمقارنة مع عزلات مرجعية موجودة في مختبرات أمراض النبات وتم تسميتها وفقاً ل Index Fungorum 2004. واظهرت النتائج أن الفطريات المعزولة هي: *Aspergillus niger* Van Tieghem و*F. oxysporum* (Sacc.) W.C. Snyder & H.N. Hansen و*Botrytis cinerea* Pers.. تتوافق النتائج مع Onuorah و Ifeanyi (2015) اللذين عزلا الفطرين *Aspergillus niger* و *F. oxysporum* من عينات البصل المجموعة من الأسواق، ومع El-Gali وزملاؤه (2012) اللذين عزلوا فطر *Botrytis cinerea* من عينات البصل المجموعة من الأسواق، وكذلك مع لهمود ومنحر (2017) اللذين عزلوا الفطريات *Aspergillus niger* و *F. oxysporum* و *Botrytis cinerea* من البصل الاحمر والأبيض.

– تأثير المستخلصات الايثانولية لبعض النباتات في تثبيط نمو الفطريات المختبرة في الوسط المغذي.

اظهرت نتائج دراسة فاعلية المستخلصات الايثانولية لكل من المردكوش (*O. vulgare*) والطيون (*I.viscosa*) والأزدرخت (*M. azedarach*) والأوكاليبتوس(*E. camaldulensis*) في تثبيط النمو الميسليومي للفطريات*A. niger* و *F. oxysporum* و*B. cinerea* المسببة لأعفان البصل في المختبر في المستنبت الغذائي الصناعي (PDA). واظهرت النتائج تباين التأثير المثبط لهذه المستخلصات في نمو الميسليوم الفطري وفقاً لنوع الفطر والنبات والتركيز المستخدم.

– تأثير مستخلصات الايثانول للنباتات المدروسة على الفطر*A. niger* في الوسط المغذي.

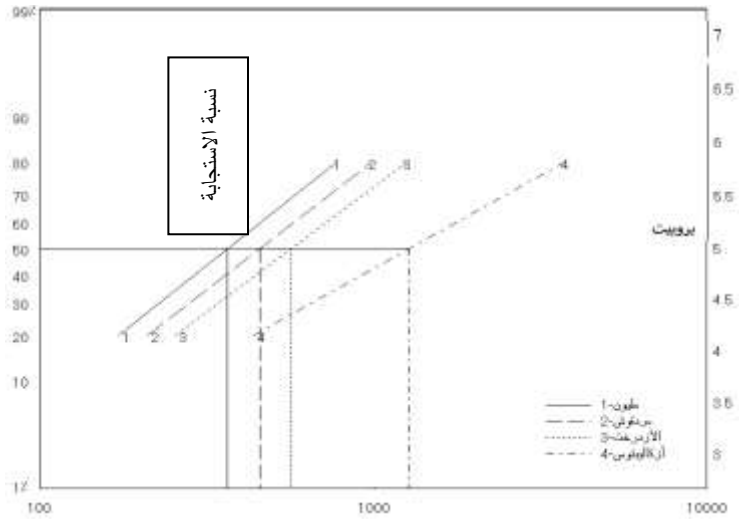
تظهر النتائج في الجدول 1 والشكل (1) أنّ التأثير المثبط للمستخلصات الايثانولية لكل من النباتات المدروسة في نمو مشيجة الفطر *A. niger* قد ازداد معنوياً بفارق معنوي بزيادة التركيز، فقد أعطى التركيز المنخفض (ppm125) نسب تثبيط للفطر 17.3 و12.6 و6.1 و9.2% لكل من مستخلصات الطيون والمردكوش والأزدرخت والإوكاليبتوس على الترتيب. بالمقابل أدى أعلى تركيز مستخدم (ppm3000) للمستخلصات تثبيطاً تاماً لنمو الفطر(100%) ماعدا مستخلص الأوكاليبتوس حيث كانت نسبة التثبيط 82.3%. من جهة أخرى، وجد أنّ مستخلص الايثانول للطيون أعطى أعلى نسبة تثبيط للفطر في الوسط المغذي عند جميع التراكيز مقارنة بباقي النباتات وبفروق معنوية، إذ أعطى نسبة تثبيط أعلى من 50% عند التركيز 500 ppm. وأدى الى تثبيط تام لنمو الفطر (100%) في الوسط المغذي عند التركيز ppm2000 . تلاه المستخلص الايثانولي للمردكوش إذ كانت نسبة التثبيط أعلى من 50% عند التركيز ppm750. وأدى الى تثبيط تام لنمو الفطر (100%) في الوسط المغذي عند التركيز ppm2000. في حين أعطى المستخلص

الايثانولي للأزدرخت، أعلى نسب تثبيط لنمو الفطر بفروق معنوية مقارنة مع مستخلص الأوكاليبتوس. حيث كانت نسب تثبيط نمو الفطر 83.8% و96.2%عند التركيزين 1500 و2000 ppm على الترتيب. من جهة أخرى أعطى مستخلص الايثانول للأوكاليبتوس تخفيضاً متدرجاً لتثبيط نمو الفطر المختبر عند التراكيز المنخفضة، إذ بلغت نسبة التثبيط 36.2% و45.2 و66.3 و75.6% عند التراكيز1000 و1500 و2000 و2500 ppm على الترتيب.

الجدول (1) تأثير مستخلص الايثانول للنباتات المدروسة في نمو الفطر *Aspergillus niger* بعد 7 أيام من التحضين في المختبر عند درجة حرارة 2±23° س

التركيز (ppm)	% للتثبيط			
	الطيون	المردكوش	الازدرخت	الاوكاليبتوس
125	17.3	12.6	9.2	6.1
250	32.1	28.6	21.3	14.2
500	52.3	44.3	36.9	19.5
750	75.8	63.2	55.6	28.7
1000	89.2	78.6	72.4	36.2
1500	98.3	90.8	83.8	45.2
2000	100	100	96.2	66.3
2500	100	100	100	75.6
3000	100	100	100	82.3

- لا يوجد تثبيط في الشاهد (وسط مغذي لم يضاف له مستخلص).
- قيم L.S.D. 0.01 بين المستخلصات=6.82 وبين التراكيز =12.6



الشكل (1) خطوط السمية لمستخلص الايثانول للنباتات المدروسة على الفطر *Aspergillus niger*

– تأثير مستخلص الايثانول للنباتات المدروسة على الفطر *F. oxysporum* في الوسط المغذي.

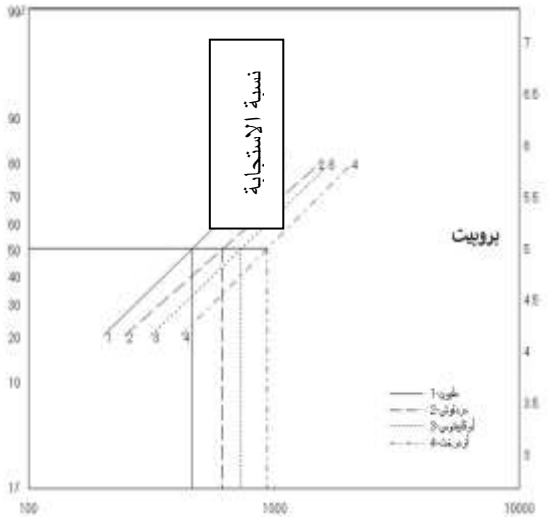
تشير النتائج في الجدول 2 والشكل 2 أن المستخلص الايثانولي للطيون أعطى أعلى فعالية في تثبيط الفطر *F. oxysporum* في الوسط المغذي وبفارق معنوي مع باقي النباتات. إذ بلغت نسب التثبيط 98.7 و100 و100% عند التراكيز 2000 و2500 وppm3000 على الترتيب. تلاه في الفعالية المستخلص الايثانولي للمردكوش حيث أعطى نسبة تثبيط أعلى من 50% عند التركيز ppm1000 وتثبيط تام للفطر (100%) عند التركيز ppm2500. نجد أيضاً أنّ المستخلص الايثانولي للأوكاليبتوس أعطى تثبيطاً متوسطاً للفطر وازداد التأثير المثبط بزيادة التركيز حيث كانت نسب التثبيط 80.3 و93.5 و100%عند التراكيز 2000 و2500 وppm3000 على الترتيب. من جهة أخرى أعطى مستخلص الأزدرخت تثبيطا متدرجاً وبطيئاً لنمو الفطر في الوسط المغذي (الشكل 2)، حيث كانت نسبة التثبيط 5.8% عند أدنى تركيز

مختبر ppm125 . بينما أعطى التركيز 1500 ppm تثبيطاً أعلى من 50%. إلا أنّ قدرة المستخلص في تثبيط نمو الفطر زادت بشكل مضطرد بزيادة التركيز حتى أدت لوقف تام لنمو الفطر عند أعلى تركيز مستخدم (ppm3000). وقد ازدادت فاعلية المستخلصات النباتية في تثبيط الفطر *F. oxysporum* بزيادة التركيز، إذ أعطى أعلى تركيز مستخدم لجميع لمستخلصات النباتية الايثانولية تثبيط تام للفطر في الوسط المغذي.

الجدول(2) تأثير مستخلص الايثانول للنباتات المدروسة في نمو الفطر *F. oxysporum* بعد 7 أيام من التحضين في المختبر عند درجة حرارة 2±23° س

التركيز (ppm)	% للتثبيط			
	الطيون	المردكوش	الازدرخت	الاوكاليبتوس
125	14.3	10.6	5.8	7.4
250	29.2	24.2	11.2	17.3
500	45.8	36.5	21.6	31.9
750	59.3	48.9	33.4	42.6
1000	77.3	62.8	47.8	58.6
1500	86.5	77.9	61.2	72.9
2000	98.7	87.3	75.8	80.3
2500	100	100	88.9	93.5
3000	100	100	100	100

- لا يوجد تثبيط في الشاهد (وسط مغذي لم يضاف له مستخلص).
- قيم L.S.D. 0.01 بين المستخلصات=5.32 وبين التراكيز =9.65



الشكل (2) خطوط السمية لمستخلص الايثانول للنباتات المدروسة على الفطر *F. oxysporum*

– تأثير مستخلص الايثانول للنباتات المدروسة على الفطر *B. cinerea* في الوسط المغذي.

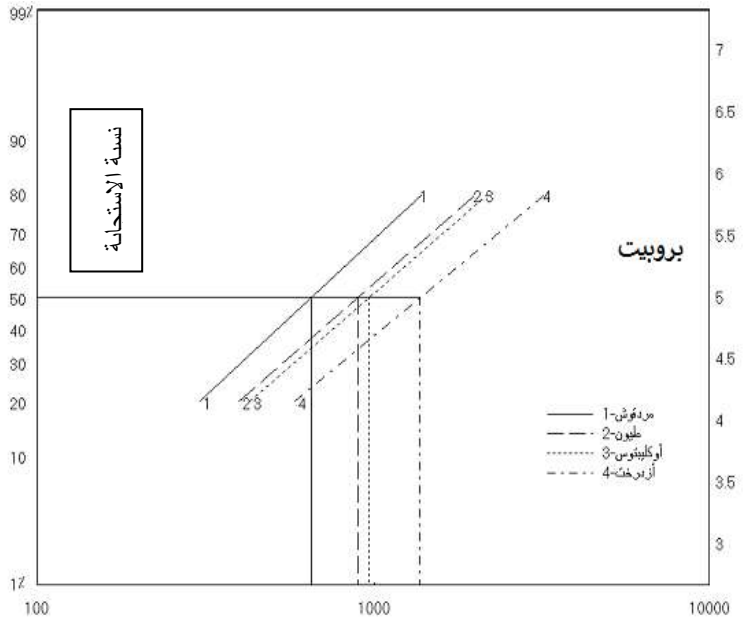
تظهر النتائج بالجدول 3 والشكل 3 أنّ المستخلص الايثانولي للمردكوش أعطى أعلى فعالية في تثبيط مشيجة الفطر *B. cinerea* وبفروق معنوية مع باقي النباتات وعند كل التراكيز. إذ بلغت نسبة التثبيط 7.6% عند أقل تركيز مستخدم (ppm125). وزاد التأثير المثبط بزيادة التركيز حتى أعطى تثبيط تام للفطر (100%) عند التركيز ppm2500. تلاه في ذلك مستخلصي الايثانول للطيون والأوكاليبتوس حيث أعطيا فاعلية عالية في تثبيط نمو مشيجة الفطر *B. cinerea* في الوسط المغذي دون وجود فروق بينهما عند جميع التراكيز المختبرة. فقد بلغت نسب التثبيط (77.1 و74.8%) و(88.5 و85.9%) و(100%) عند التراكيز 2000 و2500 و3000ppm. وقد ازداد التأثير المثبط للمستخلصين في نمو الفطر

بزيادة التركيز، وقد لوحظ أنّ مستخلص الأزدرخت كان متوسط التأثير في تثبيط نمو الفطر، حيث أعطى نسب تثبيط لنمو الفطر 42.8% و61.8 و74.6 و87.2% عند التراكيز 1500 و2000 و2500 و3000ppm على الترتيب، وجد الناصر وابراهيم (2012) أنّ مستخلص الايثانول/سيكلوهكسان لأوراق الأوكاليبتوس وثمار الأزدرخت كانت فعالة في تثبيط نمو الفطرين *Botrytis cinerea* و*Fusarium oxysporum* على البيئة الاصطناعية. وتتوافق مع الناصر واليونس (2017) في أنّ المستخلصات الإيثانولية لكل من المردكوش والمريمية يمكن أنّ تستخدم في مكافحة الفطور *A. niger* و*P. digitatum* و*Botrytis cinerea*

الجدول (3) تأثير مستخلص الايثانول للنباتات المدروسة في نمو الفطر *Botrytis cinerea* بعد 7 أيام من التحضين في المختبر عند درجة حرارة 2±23° س

التركيز (ppm)	% للتثبيط			
	الطيون	المردكوش	الازدرخت	الاوكاليبتوس
125	4.2	7.6	2.1	3.9
250	12.3	18.2	7.9	11.5
500	26.4	32.5	14.6	23.6
750	37.8	44.9	23.6	34.2
1000	49.5	63.8	36.9	46.3
1500	61.8	78.9	42.8	57.5
2000	77.1	93.3	61.8	74.8
2500	88.5	100	74.6	85.9
3000	100	100	87.2	100

- لا يوجد تثبيط في الشاهد (وسط مغذي لم يضاف له مستخلص).
- قيم L.S.D. 0.01 بين المستخلصات=5.33 وبين التراكيز =11.3



الشكل (3) خطوط السمية لمستخلص الايثانول للنباتات المدروسة على الفطر *Botrytis cinerea*

ـ قيم التركيز النصفي المثبط لنمو الفطريات المختبرة (EC_{50}) للمستخلصات الايثانولية لكل من الطيون والمردكوش والأزدرخت والأوكاليبتوس.

تظهر النتائج في الجدول4 والأشكال (1 و2 و3) قيم التركيز النصفي (EC_{50}، ppm) المثبط لنمو الفطريات *A. niger* و*B. cinerea* و*F. oxysporum* للمستخلصات العضوية لكل من الطيون والمردكوش والأزدرخت والأوكاليبتوس. وفقاً لقيم EC_{50} فأن المستخلصات النباتية تباينت في تأثيرها المثبط لنمو الفطريات المختبرة في الوسط المغذي وفقاً للنبات المستخدم والفطر المختبر. فقد أعطى الطيون والمردكوش أقل قيم EC_{50} للفطرين *A. niger* (365و456ppm) و *F. oxysporum* (462 و617 ppm) على الترتيب. في حين أعطى

مستخلص الأزدرخت أقل قيمة EC_{50} **(ppm 565)** للفطر *A. niger* . وأعطى مستخلص الأوكاليبتوس أقل قيم EC_{50} (ppm**653**) للفطر *B. cinerea*. كما وجد أن المستخلصات الايثانولية للنباتات المدروسة أعطت أعلى فاعلية في تثبيط نمو الفطر *A. niger* تلاه الفطر *F. oxysporum* في حين كان الفطر *B. cinerea* أكثر مقاومة للمستخلصات الايثانولية. تعود فاعلية المستخلصات الكحولية لكونها من المُحلات العضوية القطبية التي لها قدرة كبيره في حلّ المواد الفعالة من الأنسجة النباتية(Cowan,1999 و Pundir, and Pranay 2010.). تتوافق هذه النتائج مع Vitoratos وزملاؤه (2013) في أن الزيت الطيار لأوراق المردكوش ثبط نمو مشيجة الفطر *B. cinerea* بشكل تام عند التركز 0.02 ميكروليتر/ مل وبلغت قيم EC_{50} 0.0075 ميكروليتر/ مل. ووجد Ibrahim وEbady (2014) أنّ فاعلية الزيت الطيار لنبات المردكوش في تثبيط نمو الفطريات يختلف وفقاً لجنس الفطر المختبر فقد بلغت قيم أقل تركيز مثبط لمشيجة فطر *Fausarium* sp (0.8 مغ/مل) ولفطر *A.niger* (1 مغ/ مل).

الجدول (4) قيم التركيز النصفي المثبط لنمو الفطريات المختبرة (EC_{50}،ppm)
للمستخلصات الايثانولية لكل من الطيون والمردكوش والأزدرخت والأوكاليبتوس

النباتات	(EC_{50} (ppm		
	A. niger	*F. oxysporum*	*B. cinerea*
الطيون	365	462	898
المردكوش	456	617	653
الأزدرخت	565	938	1379
الاوكاليبتوس	1275	733	972

A: حسبت القيم على أساس تركيز المستخلص في المستنبت المسبب لتخفيض 50 % لنمو مشيجة الفطر مقارنة مع نمو المشيجة على المستنبت دون مستخلص(الشاهد)

الاستنتاجات:

أظهرت النتائج أن كلاً من المستخلصات الايثانولية للطيون و المردكوش لها فعالية قوية في تثبيط نمو الفطريات ***A. niger*** و ***F. oxysporum*** و ***B. cinerea*** . إذ كانت نسبة تثبيط الفطريات المختبرة أعلى من 90% عند التركيز ppm3000. ويمكن ترتيب مستخلصات النباتات وفقاً لفاعليتها في تثبيط الفطر المختبر كالتالي: الطيون> المردكوش> اوكاليبتوس> أزدرخت. بالتالي نستنتج إمكانية استخدام المستخلصات الإيثانولية لكلٍ من الطيون والمردكوش في مكافحة الفطريات المختبرة، إلا أنّ هذه النتائج تحتاج إلى دراسات أخرى لمعرفة التراكيز المناسبة في التطبيقات العملية.

المراجع:

1. لهمود، ولاء ياس ومنحر، لمى فؤاد. 2017. عزل وتشخيص الفطريات المصاحبة لنمو البصل بأنواعه الأبيض والأصفر والأخضر والأحمر المزروع في المناطق المحيطة بمحافظة القادسية. مجلة القادسية للعلوم الصرفة. المجلد 22 والعدد 1. ص 149–156.
2. المجموعة الإحصائية الزراعية السنوية، 2012. الجمهورية العربية السورية وزارة الزراعة والإصلاح الزراعي مديرية الإحصاء والتخطيط، قسم الإحصاء. سورية2012.
3. الناصر، زكريا وفاديا يونس.2017. تأثير الزيوت الطيارة والمستخلص الايثانولي للمردكوش (*Origanum vulgare* L.) والمريمية (*Salvia officinalis* L.) في تثبيط نمو بعض الفطور في المخبر. المجلة العربية للبيئات الجافة (أكساد).
4. الناصر، زكريا وغسان إبراهيم .2012. دراسة مقارنة بين فاعلية بعض المستخلصات النباتية والمبيدات الفطرية القياسية في تثبيط نمو *Fusarium oxysporum* و*Botrytis cinerea* على البيئة الصناعية. مجلة جامعة الفرات للدراسات والبحوث العلمية. سلسلة العلوم الأساسية. العدد 19. ص 300–321.
5. Agrios, G.N. 2005. Plant Pathology.fifth Edition. New York, USA. : 948
6. Aiyer, A.K.N. 1980. Field crops of India with special reference to Karnataka, (7^{th} ed.). Bangalore. BAPPCO.
7. Ali Shtayeh, M.S, M. Reem, R. Yaghmour, Y. R. Faidi, K. Salam, M. A AL-Nuri. 1998. Antimicrobial activity of 20 plants used in folkoric medicine in the Palestinian area. J. Ethnopharmacologie, 60: 265-271.
8. Anjorin, T. S., E. A. Salako, and H. A. Makun, 2013. "Control of toxigenic fungi andmycotoxins with phytochemicals: potentials and challenges," in Mycotoxin and Food Safety in Developing Countries, H. A. Makun, Ed., pp. 181–202, InTech, Rijeka, Croatia, 2013.
9. Barnett, H. L. and Barry B. Hunter. 1987. Illustrated Genera of Imperfect Fungi. Fourth Edition. New York.
10. Booth, C. 1971. The genus *Fusarium*. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England 237. pp.

11. Booth, C. 1984. The *Fusarium* problem: Historical, economic, and taxonomic aspects pages 1 – 13 in: The Applied Mycology of *Fusarium*. M.O. Moss and J.E. Smith, eds. Cambridge University Press, Cambridge.
12. Cafarchia C, N. De Laurentis, M. A. Milillo, V. Losacco, V. Puccini. 1999. Research on antifungal activity of flowers and leaves of *Inula viscosa* (Asteraceae). Parasitologia, 41: 579-582.
13. Cafarchia C, N. De Laurentis, M. A. Milillo, V. Losacco. 2001. Fungistatic activity of a sesquiterpene lactone (Tomentosin) isolated from fresh *Inula viscosa* (Asteraceae) flowers from the Puglia region. Parasitologia, 43: 117-121.
14. Carpinella, M.C., L.M. Giorda and S.M. Palacios. 2003. Antifungal effects of different organicextracts from *Melia azedarach* L., on phytopathogenic fungi and their isolated activeomponents. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 51(9): 2506-2511.
15. Cawood, M. E., W. C. A. Gelderblom, R. Vleggaar, Y. Behrend, P. G. Thiel, and W. F. O. Marasas. 1991. Isolation of the fumonisin mycotoxins—a quantitative approach. J. Agric. Food Chem. 39:1958–1962.
16. Chavan, V.B., T.F. D Souza, S.B. Kokate and D.M. Sawant.,1992, Efficacy of chemicals in restricting onion bulb rots in storage. Maharashtra Journal of Horticulture. 6(2): 92-94.
17. Chelkowski, J., and H. Lew. 1992. *Fusarium* species of *Liseola* Section—occurrence in cereals and ability to produce fumonisins. Microbiologie Aliments Nutr. 10:49–53.
18. Cohen, Y, A. Baider, B. H. Ben-Daniel, Y. Ben-Daniel. 2002). Fungicidal preparations from *Inula viscosa*. Plant Protection. Sciences, 38: 629-630.
19. Cowan, M.M., 1999. Plant products as antimicrobial agents. Clin. Microbiol. Rev. 12(4), 564-582.
20. Dagostin, S, T. Formolo and O. Giovannini. 2010. *Salvia officinalis* extract can protect grapevine against *Plasmopara viticola*. Plant. Dis., V. 95, 5: 575-580.
21. Dimond, A.E., Davis, D., Chapman, R.A., and Stoddard, E.M. 1952. Plant chemotherapy as evaluated by the Fusarium wilt assay on tomato. The Connecticul Agric. Exp. St. Bull. 557. 82 pp .
22. Du Toit, L. J., M. L. Derie, and G. Q. Pelter 2004. *Botrytis* species associated with onion seed crops in Washington State. Plant Dis. 88:1061-1068.
23. EL-Abd, S.M. 2002. Studies on some fungal diseases infection crop in Egypt. Ph. D. Thesis Submitted to Univ. of Alexandria. p 204.

24. El-Gali, Z. I.; N. A. Mohamed and A. A. Larbod. 2012. Variability in virulence of five isolates of *Botrytis cinerea* on three onion cultivars. J. Plant Prot. and Path., Mansoura Univ., Vol. 3 (11): 1129 – 1136.
25. Falck, R. 1907. Walchstumesetze, Wachstumtaktoren und temperature wertter Holzerstercn-den. Mycelien., 1 :153-154.
26. FAO. Available online: http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize (accessed on 4 November 2018).
27. Finney, D.J. 1978. Statistical method in biological assay. 3rd ed. Charles Griffin and Company LTD, London and High Wycombe.
28. Gakuubi,M.M. , Maina, A.W. and Wagacha, J.M. 2017. Antifungal Activity of Essential Oil of *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. against Selected *Fusarium* spp. International Journal of Microbiology . Volume 2017, Article ID 8761610, 7 pages.
29. Garcia, J.L., M.T. Lopez, E.T. Perera, H. Berkmunn, and L.A. Gonzalez. 1997. Investigations on chemical control during storage of onion bulbs. Agrotecnia-de -Cuba, 27(1): 8-10.
30. Hye Ji, S.,T. Kwang Kim, Y. S. Keum and Se-Chul Chun. 2018. The Major Postharvest Disease of Onion and Its Control with Thymol Fumigation During Low-Temperature Storage, Mycobiology, 46:3, 242-253,
31. Ibrahim, FAA, N.A. Ebady. 2014. Evaluation of Antifungal Activity of Some Plant Extracts and their Applicability in Extending the Shelf Life of Stored Tomato Fruits. J. Food Process Technol V. 5: 340.
32. Index Fungorum,CABI Bioscience Databases (2004)
33. Iqbal, Z., Shaheen, M., Hussain, F., Baig, S., Ismail, M., Zakir, S. and Ahmad, B. 2002. Antifungal properties of some indigenous plants from Peshawar valley. Asian Journal Plant Sci., 6: 708-709.
34. Kagale, S, T. Marimuthu, B. Thayumanavan, R Nandakumar, R Samiyappan. 2005. Antimicrobial activity and induction of systemic resistance in rice by leaf extract of *Datura metel* against *Rhizoctonia solani* and *Xanthomonas* pv *oryzae*. Physiological and Mole. Plant Pathol., 65: 91-100.
35. Katooli, N., R. Maghsodlo, and S. E. Razavi. 2011. "Evaluation of eucalyptus essential oil against some plant pathogenic fungi," *Journal of Plant Breeding and Crop Science*, vol. 3, no. 2, pp. 41–43.
36. Kocić-Tanackov, S. D., R. Dimić, J. I. Tanackov, D. J. Pejin, L. V. Mojović and J. D. Pejin. 2012. Antifungal activity of Oregano (*Origanum vulgare* L.)

extract on the growth of *Fusarium* and *Penicillium* species isolated from food. Hem. Ind. 66 (1): 33–41.

37. Mehani, M., N. Salhi, T. Valeria, andS.Ladjel, 2014 "Antifungal effects of essential oil of *Eucalyptus camaldulensi*s plant on *Fusarium graminearum* and *Fusarium sporotrichioides*," *International Journal of Current Research*, vol. 6, no. 12, pp. 10795–10797,.
38. Neycee, M. A., Nematzadeh, G.H.A., Dehestani, A., Alavi. M. 2012. Assessment of antifungal effects of shoot extracts in chinaberry (*Melia azedarach*) against 5phytopathogenic fungi. International Journal of Agriculture and Crop Sciences.. Vol., 4 (8), 474-477, 2012
39. Onuorah, S., , O. Ifeanyi. 2015. Fungi Associated with the Deterioration of Post-harvest Onion Bulbs Sold in Some Markets in Awka, Nigeria. Bioengineering and Bioscience 3(5): 90-94.
40. Overy, D.P., Frisvad, J.C., Steinmeier, U. and Thrane, U. 2005. Clarification of the agents causing blue mold storage rot upon various flower and vegetable bulbs: implications for mycotoxin contamination. *Postharvest Biology and Technology*. 35(2): 217-221.
41. Pandey, JC, R. Kumar, R. C. Gupta. 1992. Possibility of biological control of rhizome rot of ginger by different antagonists. Progressive Hortic., 24: 227-232.
42. Paster, N. and R. Barkai-Golan, "Mouldy fruits and vegetables as a source of mycotoxins: part 2," *World Mycotoxin Journal*, vol. 1, no. 4, pp. 385–396, 2008.
43. Pundir, R. K. and J. Pranay . 2010. Antifungal activity of twenty two ethanolic plant extracts against food-associated fungi. Journal of Pharmacy Research, 3, 1,506-510.
44. Raja,N. 2014."Botanicals: sources for eco-friendly biopesticides," Journal of Biofertilizers and Biopesticides, vol. 5, no. 1, p. 1.
45. Raju,K. M.K. Naik.2006. Effect of Pre-harvest spray of fungicides and botanicals on storage diseases on onion. Indian Phyto-Pathology. Vol.59, No.2, 133-141.
46. Ranpise, S.A., R.M. Birade, B.T. Patil and S.V. Swant., 2001, Factors affecting the storage of onion: A review. Orissa Journal of Horticulture, 29(1): 1-12.

47. Reddy,V, S. K., R.N. Reddy, M. Prameela,U.N.Mangala, and K. Muralidharan, 2007 "Identification of antifungal component in clove that inhibits *Aspergillus* spp. colonizing rice grains," *Journal ofMycology and Plant Pathology*, vol. 37, no. 1, pp. 87–94,.
48. Sagdiç, O, Kusçu, A, Ozcan, M and S. Ozçelik. 2002. Effects of Turkish spices extracts at various concentrations on the growth of *Escherichia coli* O157:H7. Food Microbiol 19: 473-480.
49. Satish, S, Raghavendra, M.P., Raveesha, K.A. 2009. Anti-fungal Potentiality of Some Plant Extracts against Fusarium spp. Archives of Phytopath and Pl. Prot. ;42:618-625.
50. Shivpuri, A, Sharma, O.P. and Jhamaria, S.L. 1997. Fungitoxic properties of plant extracts against pathogenic fungi. J. Mycol. and Pl. Pathol., 27(1):29-31.
51. Singh, G., S. Gupta, and N. Sharma, 2014 "*In vitro* screening of selected plant extracts against *Alternaria alternate*," *Journal of Experimental Biology*, vol. 2, no. 3, pp. 344–351,.
52. Stamatis, G, Kyriazopoulos P, Golegou S, Basayiannis A, Skalts S, Skaltsa H 2003. *In vitro* anti-*Helicobacter pylori* activity of Greek herbal medicines. J. Ethnopharmacol., 88: 175-179.
53. Tyson, J.L., R.A. Fullerton. 2004. Effect of soil borne-inoculum on incidence of onion black mould (Aspergillus niger). New Zealand Plant Protection, Vol. 57, 138-141.
54. Vincent, J. M. 1947. Distortion of fungal hyphae in presence of certain inhibitors. Nature,850-853.
55. Vitoratos, A. B. Dimitrios, A. Karkanis and A. and Efthimiadou. 2013. Antifungal Activity of Plant Essential Oils Against *Botrytis cinerea*, *Penicillium italicum* and *Penicillium digitatum*. Not Bot Horti Agrobo, 41(1):86-92.
56. Wang, WQ, Ben-Daniel BH, Cohen, Y. 2004. Extracts of *Inula viscosa* control downy mildew caused by *Plasmopara viticola* in grapevines. Phytoparasitica, 32: 208.