



الفعالية التثبيطية لبعض المستخلصات النباتية ضد فطر *Harknessia . eucalypti* المسبب لمرض تبقع ولفحة أوراق اليوكالبتوس في ليبيا .

*فرحات علي ابوزخار¹

¹كلية العلوم، قسم النبات، جامعة الزنتان، ليبيا .

الملخص

أجريت هذه الدراسة تحت الظروف المختبرية عام 2016 م؛ وذلك لاختبار القدرة التثبيطية لبعض المستخلصات المائية الساخنة والباردة لأوراق نباتات السكران *Hyoseymus albus*، أوراق نبات الزعتر *Thymus capitatus*، أوراق وأزهار وجذور نبات العنصل *Asphodelus ramosus*، أوراق نبات الشيح *Artemisia herba-alba* التابعة لعائلات نباتية مختلفة على نمو فطر *Harknessia eucalypti* الذي شُخص لأول مرة في ليبيا على أوراق أشجار *Eucalyptus .stricklandii* اختبرت الفعالية التثبيطية المرضية للفطر عند التراكيز (0.05، 0.1، 0.2، 0.4%) . أظهرت النتائج وجود تأثيرات تثبيطية متباينة؛ إذ فشل الفطر في خفض تكوين الغزل الفطري مقارنة بمعاملة الشاهد في بعض المعاملات، وسجل المستخلص المائي الساخن لأوراق نبات الشيح *A. herba-alba* تثبيطاً بنسب (47.7، 55.6، 55.6، 71.2 %) على التوالي، وفي مستخلص أوراق وجذور نبات العنصل *A. ramosus* قدرة تثبيطية بنسب (0، 0، 11.1، 55.5%) (22.2، 22.2، 27.8، 38.9 %) على التوالي، بينما سجل مستخلص جذور النبات بنسب (11.1، 11.1، 22.3، 33.4 %)، كما بينت الدراسة عدم فعالية المستخلصات المائية الباردة لأوراق وأزهار نبات العنصل *A. ramosus* في تثبيط نمو الفطر باستثناء المستخلص المائي البارد للجذور عند التراكيز (0.2، 0.4 %) فقط؛ حيث أمكنها تثبيط الغزل الفطري بنسب قدرها (6.7، 6.7، 5.6 %) على التوالي . بينما كانت المستخلصات المائية الساخنة والباردة لأوراق نبات الزعتر *T. capitatus* فاعلة بنسب (0، 5.5، 87.1، 100 %) والمستخلص البارد لأوراقه بنسب تثبيط قدرها (70، 20، 55.6، 55.6%) على التوالي . وأما المستخلص المائي الساخن والبارد لأوراق نباتات الشيح *A. herba-alba* فقد كانت نسب تثبيط الفطر (47.7، 55.6، 55.6، 71.2%) وفي المستخلص البارد لأوراقه بنسب (16.6، 20، 55.5، 55.5 %) على التوالي . كما كانت في المستخلص الساخن لأوراق نبات السكران *H. albus* بنسب (13.4، 21.2، 33.4، 33.4 %) ولم تسجل أي فعالية للمستخلص البارد لأوراقه في تثبيط نمو الفطر عند التراكيز المستخدمة على التوالي مقارنة بمعاملة الشاهد (100%) وذلك بعد أسبوع من التحضين. عمل المستخلص المائي البارد لأوراق نبات الشيح عند التراكيز المستخدمة على انفصال زوائد الجراثيم/الابواغ الأسكية واعوجاج بعضها وتحطم الجذور الخلوية المعاملة .

الكلمات المفتاحية : المستخلصات النباتية ، الفعالية التثبيطية، *Harknessia .eucalypti*

Inhibitory Activity of Some Plants extracts Against *Harknessia eucalypti* Causing Blight and leaf Spots on *Eucalyptus spp* in Libya.

*F.A. Abouzkar¹

¹Facility science, Department Botany , university of Al-zentan ,Libya

ABSTRACT

This study was conducted in vitro during 2016 to test the antifungal activity of 4 hot and cold aqueous extracts of of *Asphodelus ramosus*, *Thymus capitatus*, *Hyoseymus albus*,



Artemisia herba-alba Which belong to different plant families grows naturally in the Yafran area, Libya on the growth of Pathogen *Harknessia eucalypti*. This fungus was identified for the first time in Libya to infect *Eucalyptus stricklandii* leaves. The inhibitory activity of different plant extracts on the pathogen *H. eucalypti* was tested by using different extract (0.05, 0.1, 0.2 and 0.4%). The results concentrations obtained showed that the fungus failed to produce mycelium compared to the control treatment. The study recorded that hot aqueous extract concentrations of *A. herba-alba* leaves inhibited (47.7, 55.6, 55.6 and 71.2%) of the development of *H. eucalypti*, respectively. The aqueous extract from the leaves of *A. ramosus* caused an inhibition rate of (0 to 55.0, 0.1, 11.1 and 55.5%) respectively, whereas the flower extract produced (22.2, 22.2, 27.8 and 38.9% inhibition rate respectively. The cold root aqueous extract inhibited the fungus development at (11.1, 11.1, 22.3 and 33.4%) inhibition rate respectively. The cold aqueous extracts of leaves and flowers *A. ramosus* were not efficient, whereas cold root aqueous extract at the concentrations (0.2 and 0.4%) concentrations showed (6.7 and 5.6%) inhibition of the mycelium growth respectively. Inhibition rate of hot leaf aqueous extract of *T. capitatus* was (0.5, 5.87.1 and 100%) respectively and that of the cold leaf aqueous extract of *Thymus capitatus* was (70, 20, 55.6 and 55.6%) respectively. Inhibition rate of the hot (20, 55.6 and 55.6%) respectively. Inhibition rate of the hot leaf aqueous extracts of *A. herba-alba* of the fungus development was (47.7, 55.6, 55.6 and 71.2%) and that of the cold leaf aqueous extracts of *A. herba-alba* was (16.6, 20, 55.5 and 55.5%) respectively. Inhibition rate caused by the hot leaf aqueous extracts of *H. albus* was (13.4, 21.2, 33.4 and 33.4%) to *H. eucalypti* development. No antifungal activity was observed for the cold leaf aqueous extracts of *H. akbus* as compared with the control treatment, one week after incubation. The cold leaf aqueous extract of *A. herba-alba* was responsible of the separation of the appendages of the spores and their distortion and the destruction of the cell wall of the treated spores.

Keywords : Extracts plants , *Harknessia. eucalypti* , Inhibitory activity.

المقدمة

تعرض أشجار الكافور *Eucalyptus spp* للعديد من الأمراض النباتية في كثير من دول العالم، وسجل أكثر من أربعمئة نوعٍ لأمراض تبقيات ولفحات الأوراق في العالم [1]. ويعتبر فطر *Harknessia. eucalypti* من الفطريات الذي تم تسجيله في ليبيا وفي كثير من دول العالم على النوع *E. stricklandii*؛ حيث يتميز ميسليوم الفطر باللون الأبيض الشفاف الرقيق Fluffy المقسم والسريع النمو على سطح PDA، ويصل نموه إلى حافة الطبق بعد أسبوع من التلقيح، ثم يتغير لونه من اللون الأبيض الكريمي إلى اللون الأخضر الزيتوني بعد تقدمه في العمر، وله رائحة مميزة بعد 16 يوماً، وينتمي الفطر للفطور الاسكية، رتبة Diaporthales، ويتميز طوره الجنسي بتكوين Pycnidial بنية اللون، وأبواغ أسكية بنية اللون تحمل زوائد شفافة لها قاعدة متطاولة [2] [3]. أدى الإفراط في استخدام المواد الكيميائية المختلفة، وخاصة المبيدات الجهازية في مقاومة الأمراض النباتية التي تصيب الأشجار والمحاصيل الحقلية والبساتين إلى تلوث بيئي ضار على الإنسان والحيوان والنبات والتربة والمياه والهواء؛ إذ تعد مشكلة التلوث البيئي اليوم مشكلة العصر، ليس فقط على مستوى دول العالم الثالث فحسب بل على مستوى العالم أجمع، فأصبحت أمراً ملحاً يتعايش معه الإنسان، وتعزى مقاومة النباتات للفطريات عموماً إلى عوامل وراثية أو قد ترجع مقاومتها إلى وجود مواد في النباتات تمنع نمو الفطريات [4]. وتعتبر طرق المكافحة التي تستخدم بنجاح حالياً في مقاومة المسببات المرضية

هي المستخلصات النباتية كبداية واحدة عن طرق المقاومة الكيميائية، إذ أثبتت العديد منها فاعليةً في مقاومة المسببات الفطرية وغيرها، ولكونها رخيصة الثمن وآمنة الاستخدام وعدم ترك أي متبقيات سمية على النباتات بالإضافة إلى سهولة الحصول عليها لتوفرها بكثرة في الطبيعة [5]. كما أشارت منظمة الصحة العالمية في كثير من التقارير أن النباتات الطبية والعطرية يمكن أن تكون أفضل مصدر للعقاقير ولمبيدات الآفات؛ فلابد من معرفة خصائصها الطبيعية والفيزيائية والكيميائية والحيوية [6]. وكذلك أوضحت العديد من الدراسات إلى تواجد 985 نوع نباتي في منطقة البحر الأبيض المتوسط منها 406 نوع طبي، وأن تواجد هذا الكم الهائل من هذه النباتات يحتاج إلى المزيد من الدراسات مستقبلاً لمعرفة محتواها الكيميائي وتأثيراتها الطبية [7]. وتعد منطقة جبل نفوسة في ليبيا من المناطق الغنية بالنباتات الطبية والعطرية التي يمكن استخدامها كمبيدات حيوية آمنة على البيئة والإنسان والحياة البرية، وتضم المملكة النباتية العديد من الأصناف النباتية التي تعد مصدراً ذات التأثير التثبيطي لأنواع مختلفة من الأحياء المجهرية، وهي عبارة عن نواتج أيضية ثانوية تعمل في الأساس على حماية النبات من هجومها، وازداد الاهتمام باستخدام منتجات الأعشاب في العالم كله، ففي الولايات المتحدة وصلت هذه الزيادة إلى 38% بين عام 1997-1990 وتحتوي هذه الأعشاب على المركبات الفعالة مثل الزيوت العطرية والفينولات والالدهيدات والقلويدات وغيرها التي كان لها العديد من التطبيقات العلاجية ضد أمراض عديدة [8]. ويعتبر نبات *Hyoscyamus* من النباتات الغنية على مصادر Tropane, Alkaloids, Hoscyamine، كما يعد نبات *Hyoscyamus albus* من أهم النباتات الطبية المنتشرة في مدينة يفرن الليبية الذي يستخدم في عدة استخدامات طبية متنوعة؛ حيث تحتوي جذور نباته على المواد الفعالة مثل Arginine, Decarboxylase, Topane, Alkaloids، وعلى كميات مضاعفة من Ornithine De-carboxylase ومواد أخرى [9]. كما ينتشر نبات الشيح *Atrémisia herb-alba* في ليبيا وفي جنوب تونس، وبناء على نتائج التحليل الكروموتوجرافي GC / MC / GC احتوت أوراقه على 100 زيت أساسي ومركبات منها: Tineole, Chrysanthenyl Acetate, Sabinyl Acetate, Thujones, Chrysanthenone, Camphor, Borneol، ويحتوي نبات *Asphodelus ramosus* على مركبات Flavonoids ومركبين ناديرين هما C-glycoside, glycosylflavons [11]. وتحتوي أوراق نبات الزعتر *Thymus vulgaris* على مركبات فينولية مثل: Carvacrol, Thymol، المثبطة أو القاتلة للأحياء المجهرية [12]. كما وجد أن التأثيرات الفسيولوجية للمركبات الفعالة المثبطة لنمو الفطريات قد تكون ناجمة عن خفض الكربوهيدرات والمحتوى البروتيني الكلي، كما تعمل على زيادة فعالية الأنزيمات Fumaras و Malik Dehydrogenas و Succinic Dehydrogenase، وفي نفس الوقت تعمل على خفض فعالية انزيم Catalase في الفطر *F. oxysporum* مما يؤدي إلى زيادة التسمم وبالتالي خفض معدل النمو للفطر [13]. وتعد مكافحة الحيوية للفطريات المسببة للأمراض النباتية من أكثر الطرق التي تلقى إقبالا متزايداً من قبل الباحثين في الوقت الحاضر وبالرغم من أن معظم محاولات مكافحة الحيوية مازالت في مراحلها البحثية إلا أن التطور الهائل والاكتشافات الكثيرة في هذا المجال تؤذن بظهور العديد من التحضيرات التجارية التي يمكن استخدامها على النطاق التجاري [14]. هدفت هذه الدراسة إلى معرفة تأثير بعض المستخلصات المائية الباردة والساخنة لبعض النباتات التابعة لعائلات نباتية مختلفة بجبل نفوسة في تثبيط النمو الفطري للفطر *Harknessia eucalypti*، وتحديد التراكيز المثبطة الدنيا MIC وذلك بتقييم فاعليتها تبعاً للأجزاء النباتية المختلفة.

المواد وطرق العمل

جمع النباتات وتحضير المستخلصات النباتية:

تعد أوراق النباتات هي المكان الرئيسي لتخليق المواد العضوية، وأن أفضل الأوقات لاختيار العينات النباتية من بدء تفتح الأزهار حتى بداية اكتمالها؛ حيث توجد المواد الفعالة في أعلى معدل لها من المراحل المختلفة لنمو النباتات . جمعت العينات النباتية (جدول، 1) خلال شهر مارس 2016 م من مدينة يفرن بليبيا بوزن كيلوجرام لكل نبات؛ حيث وضعت في أكياس جافة من النايلون لحين الاستعمال، ثم غسلها بالماء الجاري للتخلص من الأتربة والغبار العالقة على النباتات، وفصل كل جزء من أجزائه على حدا: (أوراق ، أزهار ، جنور) ثم أرسلت إلى مختبر قسم النبات بكلية العلوم / جامعة الزنتان لغرض الدراسة .

مصدر الفطر الممرض *Harknessia eucalypti* المستخدم في الدراسة

تم الحصول على الفطر *Harknessia eucalypti* من أوراق نباتات *Eucalyptus stricklandii* ظهرت عليها أعراض مرض تنبوع ولفحة الأوراق في مدينة سرت الذي جرى عزله وتعيينه استناداً إلى [19] جدول 1 : النباتات والجزء النباتي المستخدم .

الجزء المستخدم Part Use	الفصيلة Family	الاسم العلمي Scientific Name	الاسم الإنجليزي English Name	الاسم المحلي Common Name
الأوراق والأزهار والجنور	Xanthorrhoeaceae	<i>Asphodelus ramosus</i>	Branched asphodel	البصيلة (عنيصل)
الأوراق	Asteraceae (compositate)	<i>Artemisia herba-alba</i>	White wormwood	أعزاز (الشيح)
الأوراق	Lamiaceae	<i>Thymus capitatus</i>	Thyme	الزعرتر
الأوراق	Solanaceae	<i>Hyoseymus albus L .</i>	Frederick stem	الفينقيط (السكران)

تحضير المستخلصات النباتية :

المستخلص المائي الحار

قطعت أوراق وأزهار النباتات الخامة *Asphodelus ramosus* *Thymus capitatus* , *Hyoseymus albus* إلى قطع صغيرة بحجم 3 سم بأوزان 25 ، 50 ، 100 ، 200 جرام / 500 مل ماء مقطر أي بتركيز قدرها (0 ، 0.05 ، 0.1 ، 0.2 ، 0.4 %) ، وأزيلت قشرة البصيلات Tubers للنباتات *A. ramosus* بسكين معقم وقطعت إلى قطع صغيرة بحجم 3 سم ، ثم وضعت كل قطعة كل على حدة في دورق زجاجي حجمه 500 مل يحتوي على 500 مل ماء مقطر، وسخن فوق لهب بنزن لمدة (20 - 30 دقيقة)، وبعد

انتهاء مدة الغليان رشح المخلوطين في دورق آخر بواسطة قطعة من الشاش الطبي المعقم للتخلص من بقايا الأنسجة النباتية، ومن ثم إعادة ترشيح المستخلص بواسطة ورق الترشيح مقاس 12.5 سم باستخدام قمع Bukhner للحصول على درجة نقاوة لها واستقبل المستخلص في زجاجات معقمة بنية اللون محكمة الغلق، ووضعت في الثلاجة ليكون الراشح جاهزا للإضافة للوسط الغذائي PDA . وقد تم تحضير الوسط الغذائي وقسم في دوارق مخروطية زجاجية بمعدل 45 مل / دورق، وأضيف لها 5 مل من كل تركيز، وعقمت الدوارق في جهاز الأوتوكلاف لمدة 15 دقيقة، ثم تركت لتبرد هوائياً، وأضيف إليها كمية قليلة من المضاد الحيوي Amoxynail 500/ mg، وسكبت في أطباق بتري زجاجية معقمة قطرها 9 سم لعدد ثلاثة مكررات لكل مستخلص وكل تركيز على حدة وللأطباق الشاهدة بدون إضافة المستخلصات إليها، أيضاً وذلك حسب طريقة [15] [16] مع بعض التحوير بما يتناسب ظروف الدراسة .

المستخلص المائي البارد

ثم تحضير المستخلص المائي البارد بدون غليان؛ وذلك بقطع الأجزاء النباتية إلى قطع صغيرة بحجم 3 سم ووضعها في خلاط كهربائي لمدة دقيقتين باتباع خطوات تحضير المستخلص السابق نفسها، مع ترك المستخلص لمدة 24 ساعة مع الرج بين الحين والآخر.

تأثير المستخلصات المائية في النمو القطري

استخدمت طريقة الغذاء المسمم Food Poison Technique؛ حيث لقت مراكز الأطباق الحاوية على المستخلصات النباتية الخام الباردة والحارة كل على حدة بأقراص من حافة مستعمرة الفطر وهي النهاية البعيدة لطرف الغزل الفطري والتي تسمى منطقة Extension zone والخالية من تراكم النواتج الأيضية التي يفرزها الفطر ماعدا الحويصلات التي يحتويها الفطر، وهي المسؤولة عن النمو لفطر *Harknessia. eucalypti* وبقطر 10mm سم والنامية في الوسط الغذائي PDA ويعمر أسبوع، ووضعت هذه الأقراص مقلوبة بواسطة الثاقب cork borer (قرص / طبق)، وبواقع ثلاثة مكررات للفطر لكل معاملة، وحضنت الأطباق في الحضان الكهربائي على درجة حرارة 25 م⁰، وقيس النمو القطري بعد اكتمال نمو الفطر ووصول قطر المستعمرة الفطرية في معاملة الشاهد إلى حافة القطر؛ وذلك بقياس كل قطرين متعامدين بمسطرة قياس، وتقسيم الناتج على 2 لكل الأطباق، وذلك حسب طريقة [15]. % لتثبيط نمو الفطر = قطر المزرعة في الشاهد - قطر المزرعة في المعاملة ÷ قطر المزرعة في الشاهد 100 x ، مع اعتبار أن المادة المضافة ليس لها أي تأثير للتثبيط لنمو الفطر إذا كانت نسبة التثبيط أقل من 16% [18].

تأثير المستخلص المائي البارد لأوراق نبات الشيح *A. herba-alba* على شكل الجراثيم الكونيدية الفطر

Harknessia. eucalypti

اجري اختبار تأثير المستخلص البارد لأوراق نبات الشيح على شكل الجراثيم الكونيدية؛ وذلك بوضع جراثيم الفطر على سطح شرائح زجاجية نظيفة معقمة، وجافة وأضيف إليها قطرات من المستخلص المائي البارد بتركيز 200 جم / لتر، ثم وضعت الشرائح على عصي بلاستيكية محفوظة داخل طبق بتري يحتوي على ورق ترشيح مبلل بالماء المقطر المعقم لعدد أربعة مكررات، ثم حضنت في درجة حرارة الغرفة لمدة يومين، وفي نهاية فترة التحضين ثم فحص الشكل المورفولوجي للجراثيم الاسكية ومقارنتها بالشاهد [2] .

التحليل الإحصائي

حللت النتائج إحصائياً باستخدام اختبار (T) لمعرفة مدى وجود فروق معنوية في متوسطات النتائج المتحصل عليها.



النتائج والمناقشة

تأثير المستخلصات المائية الساخنة في النمو الفطري

بينت نتائج الدراسة في وجود فعالية عالية لبعض المستخلصات النباتية المختبرة بطريقة الطبق المسموم على نمو *Mycobacterium tuberculosis* Harknesia. eucalypti في الوسط الغذائي PDA وبينت النتائج حدوث اختلاف في فعالية المستخلصات باختلاف النوع النباتي، وتركيز المستخلص وتثبيتها لنمو الفطر مقارنة بالشاهد، كما لوحظ أن مستخلصات بعض النباتات كان لها فاعلية حتى في التراكيز المنخفضة (جدول 2)؛ حيث لم يظهر الفطر حساسية كافية للمستخلص الساخن لأوراق نبات *Asphodelus. ramosus* عند التراكيز (0.05 ، 0.1 ، 0.2 %)؛ حيث قدرت نسبة التثبيط (0 ، 0 ، 11.1%) على التوالي، وأن عدم الفعالية التثبيطية تجاه الفطر قيد الدراسة ربما بسبب مقاومة مكونات جدار خلية الفطر [20]، أو احتمال قدرة الفطر الدفاعية على إفراز إنزيمات وسموم فطرية قادرة على تحطيم هذه المركبات؛ مما تزيد من مقاومته لتلك المواد الفعالة أو يكون السبب هو كون المواد العضوية الكيماوية المؤثرة بتراكيز قليلة [21] [22]، أو لعدم ذوبان المواد الفعالة للنبات بشكل جيد في الماء [23]، أو لعدم كفاية هذه التراكيز في إحداث التأثير المطلوب وهذا يتفق مع الدراسة التي قام بها [36] في عدم وجود فعالية المستخلص المائي لأوراق وسيقان وبنور نبات الحرمل *Peganium.harmala* على نمو فطر *Aspergillus sp* وفطر *Candida sp*. ومع ما وجدته [13] في انخفاض تأثير مستخلص أوراق نبات الشيح *Artemisia herba-alba* وأوراق نبات الكيصوم *Achillea. santolina* في نمو فطر *Fusarium sp*. كما عمل المستخلص *A. ramosus* عند تركيز (200 جم / لتر) على تثبيط نمو الفطر بنسبة (55.5%) مقارنة بمعاملة الشاهد (100%) وأن تأثير المستخلص يعود إلى وجود مركبات فلافونيدية Flavonids ومركبين ناديرين هما C-glycoside, Glycosylflavons [11]. كما سجلت نسبة تأثير مستخلص أزهار النبات *A. ramosus* عند تركيز (50,25 جم / لتر) بنسبة (22.2، 22.2%) على التوالي، وتركيز (0.2، 0.4%) بنسبة (27.8، 38.9%)، مقارنة بالشاهد (100%)، وأن تأثير مستخلص أزهار النبات يعود إلى احتوائه على مركبات Luteolin, Caffeic acid, Chlorogenic acid، وكميات قليلة من Alkanes, Fatty acid Ketones، ومركب Luteolin وهو من مضادات الأكسدة، كما يعد *P.hydroxy-benzoic acid*، من المضادات الفطرية والبكتيرية في النبات [24]. كما سجلت نسبة تثبيط جذور (بصيلات) نبات *A. ramosus* عند استخدام المستخلص بتركيز (0.05، 0.1%) بنسبة تثبيط (11.1، 11.1%) وتركيز (0.2، 0.4%) بنسبة تثبيط (22.3، 33.4%) على التوالي مقارنة بالشاهد (100%) وأن تأثير المستخلص في تثبيط نمو الفطر يعود إلى احتوائه على بصيلات النبات *Asphodelus ramosus* على 135 مركب منها: bianthrone c-glycosides، gluco-pyranosyl، 1,1,8.8.10.10-hexahydroxy-3,3-dimethyl-10,7-bianthracene-9-9-dione والتي تعمل على تثبيط نمو بعض الفطريات [25]. كما أوضحت النتائج عند استخدام مستخلص أوراق نبات *Artemisia. herb-alb* بتركيز (0.05) قد تثبط نمو الفطر بنسبة (47.7%)، وتركيز (0.1) بنسبة (55.6%)، وتركيز (0.2) بنسبة (55.6%)، وتركيز (0.4) بنسبة تثبيط (71.2%) كما في (الشكل 1) ونمو الفطر بلون أبيض قطني بشكل كثيف عند مركز الطبق وعلى ارتفاع (1 سم)، مقارنة بمعاملة الشاهد (100%). وقد يعزي تأثير المستخلص المائي الحار في نمو الفطر إلى احتواء هذه المستخلصات على بعض المركبات الثانوية الفعالة؛ مثل: الصابونيات والفينولات [15]

التي لها المقدرة على تغيير طبيعة البروتينات والأضرار بالأغشية الخلوية للخلية الفطرية من خلال ارتباطها بالمواقع الفعالة للإنزيمات الخلوية، وتنشيط عملها أو احتوائها على مركبات كيميائية ذات تأثير سلبي في نمو الفطر التي تحررت عند إضافتها للوسط الغذائي؛ مما أدى إلى تغيير خواص الوسط الغذائي الطبيعية، وجعله وسطاً أقل ملائمة لنمو الفطر، وأن فعالية المستخلص تتفق على ما ذكره [10] باحتواء النبات على 100 زيت أساسي، وعلى مركبات مختلفة؛ وهي: خليط من الزيوت الطيارة، ومكونات غير طيارة أخرى. كما تؤثر المركبات الفعالة تأثيراً فسيولوجياً مثبطاً لنمو الفطريات بسبب خفض الكربوهيدرات والمحتوى البروتيني الكلي، كما تعمل هذه المواد على زيادة فعالية الأنزيمات *Dehydracgenas*, *Fumaras*، وفي نفس الوقت تعمل على زيادة خفض فعالية أنزيم *Catalase* في الفطر؛ وبالتالي يؤدي إلى زيادة التسمم، وخفض نمو الفطر [26]، أو إلى حدوث تكثف في السيتوبلازم داخل الخيط الفطري، وإحداث تشوهات لطرف الخيط الفطري، وصغر في قطره؛ مما أدى إلى ضعف نمو المستعمرات الفطرية [35]. وأن التباين الواضح في الفعالية التنشيطية للمستخلصات النباتية الساخنة في نمو الفطر قد يعكس طبيعة الاختلاف في المكونات الفعالة وكمياتها المؤثرة في التنشيط كاحتواء نبات الشيح *Artemisin herba-alba* على *Santonin* و *Thuyone glcosides* و *Absinthin* . وأوضحت نتائج تأثير أوراق مستخلص نبات الزعتر *Thymus capitatus* على نمو الفطر بتباين التراكيز المستعملة؛ حيث سجلت الدراسة بتنشيط نمو الفطر بنسب (0 ، 5.5، 87.1، 100 %) للتراكيز المستخدمة على التوالي؛ إذ زادت نسبة التنشيط بزيادة التراكيز المستعملة ، فقد سجل التركيز (0.4 %) أعلى نسبة التنشيط وقدرها 100 %، ولم يلاحظ ظهور أي نمو للفطر، يليه تركيز 0.2 % بنسبة 87.1 % مقارنة بالشاهد 100% . كما بينت نتائج تأثير أوراق مستخلص نبات *Hyoseymus. albus L* . على نمو الفطر بتباين التراكيز المستعملة؛ حيث سجلت التراكيز نسبة تنشيط قدرها (13.4، 21.2، 33.4 ، 33.4 %) على التوالي مقارنة بالشاهد 100 % .



شكل 1 : النباتات المستخدمة في الدراسة - A, B, C أوراق وأزهار وأبصال(جذور) نبات *Asphodelus. ramosus* ، D نبات

Hyoseymus. Albus G, Artemisia. herba-alba , E,Thymus .capitatus
جدول 2 : التأثير المثبط للمستخلصات المائية الساخنة نمو الفطر *Harknesia eucalypti*

0.4	0.2	0.1	0.05	التراكيز النسبة المئوية للتثبيط %	المستخلصات النباتية الباردة
55.1	11.1	00	00		أوراق نبات <i>A.ramosus</i>
38.9	27.8	22.2	22.2		أزهار نبات <i>A.ramosus</i>
33.4	22.3	11.1	11.1		جذور نبات <i>A.ramosus</i>
71.2	55.6	55.6	47.7		أوراق نبات <i>A. herba-alba</i>
100	87.1	5.5	00		أوراق نبات <i>T.capitatus</i>
33.4	33.4	21.2	13.4		أوراق نبات <i>H.albus</i>
100					CONTROL

تأثير المستخلص المائي البارد

تشير الدراسة (جدول،3) أن الفطر لم يظهر أي حساسية للمستخلص المائي البارد لأزهار وأوراق نبات *Asphodelus ramosus*. عند التراكيز (0.4 ، 0.2 ، 0.1 ، 0.05) حيث بلغت نسبة التثبيط (0 ، 0 ، 0 ، 0) على التوالي مقارنة بالشاهد. بينما أوضحت النتائج بأن مستخلص الجذور عند التراكيز (0.4 ، 0.2 ، 0.1 ، 0.05) قد سبب تثبيط نمو الفطر بنسبة (0 ، 0 ، 6.7 ، 5.6) على التوالي، وقد يفسر ذلك إلى أن المستخلصات المائية الباردة لها أقل قدرة على انحلالية أغلب المواد الفعالة (الفينولية والتربينات والفلافونيدية وغيرها) التي لها التأثير المثبط في نمو الآفات. وهذا يتفق مع الدراسة التي قام بها [28] في انخفاض تأثير المستخلصات المائية لأوراق نباتات الزردخت والزعرتر وفصوص الثوم على نمو الفطور *Fusarium .oxysporium* , *Alternaria. alternate* ، وأن استخدام مستخلص أوراق الشيح قد سبب في تثبيط نمو الفطر بنسب (16.6 ، 20 ، 55.6 ، 55.6 %)؛ حيث شوهد نمو الفطر عمودياً على الوسط الغذائي مقارنة بالشاهد وبنسبة 100 % . كما سبب مستخلص أوراق نبات الزعرتر تثبيط نمو الفطر بنسبة مميزة؛ حيث كانت (70 ، 100 ، 100 ، 100) التي لم تظهر أي نمو فطري عند التراكيز (0.1 ، 0.2 ، 0.4 %) وهذا يعود إلى احتواء المستخلص على المواد الفعالة Terpinene التي لها فعالية في تثبيط نمو الفطور في المختبر [27]. وهذا يتفق مع ما ذكره [28] عند دراسة تأثير نبات الزعرتر على نمو فطر *Botrytis. cinerea* حيث زادت نسبة التثبيط بزيادة تركيز المستخلص التي بلغت نسب التثبيط فيها 50 و 100 % عند التراكيز (100 و 400 ميكروليتر / لتر)، ولاحتماء أوراق النباتات على بعض الزيوت الأساسية سواء كان في نبات الزعرتر أو في الشيح أو غيره من النباتات التي تملك فعالية مضادة للفطريات الممرضة [29]. ولم يحدث أي تأثير تثبيطي للمستخلص المائي البارد لنبات *Hyoseymus albus L* . على الفطر باستخدام التراكيز المستعملة مقارنة بالشاهد؛ إذ كانت نسبة التثبيط (0) وأن الفطر قد نما بصورة طبيعية، وهذا يتفق مع الدراسة التي قام بها [30] في الجزائر بعدم كفاءة المستخلص الكحولي لأوراق نبات *Hyoscyamine. albus* على نمو فطر *Candida*.

جدول 3 : التأثير التثبيطي للمستخلص النباتي المائي البارد على الفطر *Harknesia eucalypti*

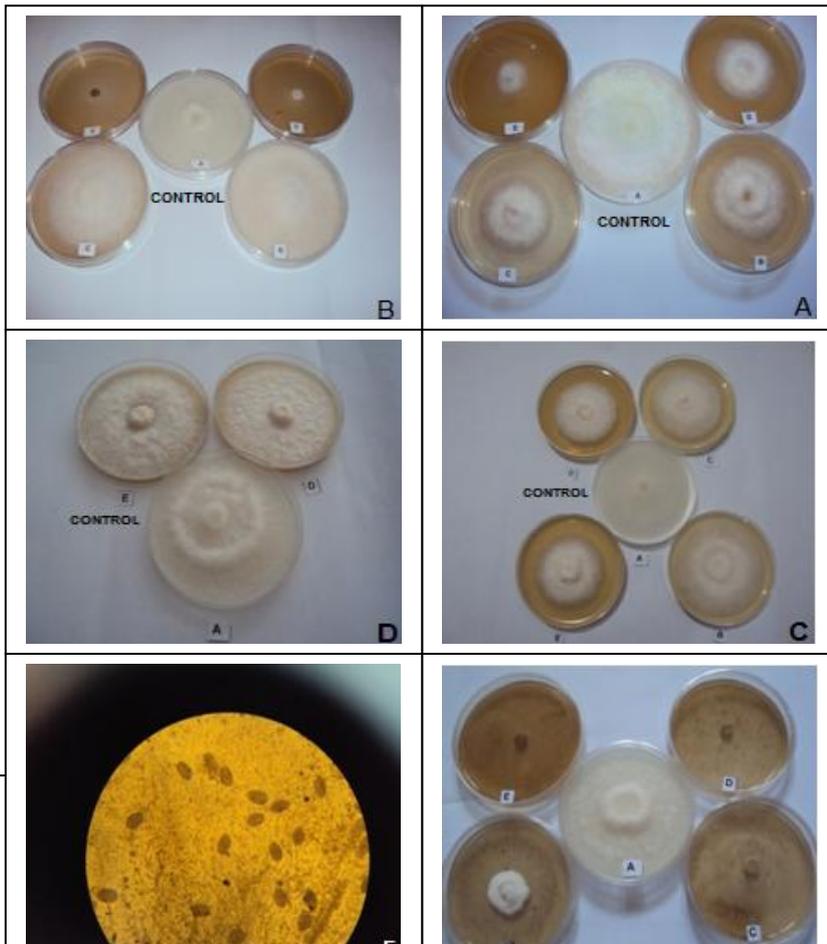
0.4	0.2	0.1	0.05	التركيز النسبة المئوية للتثبيط %	المستخلصات النباتية الباردة
00	00	00	00		أوراق نبات <i>A. ramosus</i>
00	00	00	00		أزهار نبات <i>A. ramosus</i>
5.6	6.7	00	00		جذور نبات <i>A. ramosus</i>
55.6	55.6	20	16.6		أوراق نبات <i>A. herba-alba</i>
100	100	100	70		أوراق نبات <i>T. capitatus</i>
00	00	00	00		أوراق نبات <i>H. albus</i>
00					CONTROL

أظهرت نتائج الدراسة المعملية أن المستخلصات المائية للنباتات المائية قيد الدراسة أعطت نسب تثبيط متباينة لنمو الفطر في المستنبت الغذائي؛ إذ سجلت فروقات معنوية في تأثير المستخلصات المائية للنباتات المختبرة على تثبيط نمو الفطر بالمقارنة بالشاهد؛ وذلك بسبب وجود مركبات الثانينات والصابونيات والفلافونيدات والزيوت الطيارة وغيرها من المركبات في هذه المستخلصات المائية. ويمكن أن يعزى ذلك إلى الفعالية العالية لبعض المستخلصات في هذا البحث تجاه الفطر المدروس إلى استخدام المستخلصات الخامة؛ وهي مزيج من المركبات وليست كمركبات معزولة بشكل انفرادي، وقد بينت الدراسات أن الفائدة من استخدام المستخلصات الخامة هو التأثير المتكامل لمزيج المركبات، إضافة إلى أنها تملك مدى واسع من الكائنات الدقيقة، وقلة مخاطر مقاومة الممرضات النباتية لها [29]، إلا أن المستخلص المائي البارد والساخن لأوراق نبات الشيح أعطى تثبيط أعلى من المستخلص المائي لنبات *Asphodelus ramosus* عند التركيزات المختبرة. أما قيم MIC (Minimum Inhibitory Concentration)؛ فقد اختلفت أيضاً تبعاً للمذيب المستخدم والجزء النباتي، وأظهرت المستخلصات أوراق نبات الزعتر تثبيطاً كاملاً لنمو الفطر (100%) عند التركيز 0.4 % في جميع المذيبات الساخنة والباردة، بينما المستخلصات الساخنة لأوراق وأزهار وجذور نبات *A. ramosus* هي الأقل فعالية، وكانت قيم MIC تساوي صفر في جميع التركيزات المختبرة، وكذلك المستخلصات الباردة لنبات السكران عند جميع التركيزات المختبرة. ويعد التركيز المثبط الأدنى MIC من المستخلصات النباتية من التركيزات التي لا تؤثر على نمو الفطر؛ وذلك بسبب احتواء جدر خلايا الفطر على كميات من Galactose amine الذي يعد من المكونات الرئيسية لجدر خلايا الفطريات الاسكية، أو لتفاعل السكريات المكونة له كسكر Galactose

mannose وبالتالي قلت فعالية المستخلص، وإن هذه المواد لا تمنع من نفاذ المركبات الفعالة إلى داخل الخلية، وبالتالي عدم تأثيرها على التنشيط أو بسبب وجود إنزيمات يفرزها الفطر التي تزيد من مقاومة تلك المواد الفعالة أو عدم كفاية التركيز المستخدم لإحداث التأثير المطلوب [22].

تأثير المستخلص المائي البارد لأوراق نبات الشاي *A. herba-alba* على شكل الجراثيم الكونيدية الفطر
Harknessia eucalypti

بينت نتائج ثائر المستخلص المائي البارد عند تركيز 200 جم / لتر حدوث انفصال لزوائد الفطر Appendage عن الجراثيم الاسكية، والتواء بعض الزوائد، وتغيير في لون الجراثيم إلى اللون البني الباهت بعد 48 ساعة من المعاملة، واعوجاج بعض الزوائد وحدث تكسير للجراثيم الاسكية وتحللها مقارنة بمعاملة الشاهد، وأن هذا التأثير قد يعود إلى وجود الزيوت الطيارة التي تعمل على حدوث تغيرات فسيولوجية على الخلية الفطرية، وهذا يتفق مع الدراسة التي قام بها [31] عند معاملة الجراثيم الكونيدية ببيرونات الصوديوم بتركيز 5 %؛ حيث سبب المركب في فقد الجراثيم لشكلها ومظهرها الخارجي، وكذلك سماكتها، وحدث انهيار لجدار الميسليوم، وانكماش وتقلص في الجراثيم المعاملة. بينما لاحظ [32] عند معاملة الفطرين *Botrytis cinerea* و *Rhizoctonia solani* بالزيوت الطيارة حدوث تشوه في الخيوط الفطرية، إضافة إلى انتقال قممها، وتعود حساسية الفطريات تجاه المستخلصات النباتية إلى طبيعة الكائن الحي نفسه، وإلى نوعية المستخلص المستخدم، ويمكن أن يفسر الأسلوب المثبط للمستخلصات النباتية تجاه الأحياء المجهرية بتنشيط الجدار الخلوي للخلية، أو تنشيط تخليق بعض البروتينات الأساسية، أو تمزيق الحمض النووي (DNA) أو التغيير الوظيفي لأغشية الخلية [33] [34].





شكل 2 : تأثير المستخلصات النباتية المائية الساخنة والباردة على نمو فطر *Harknessia eucalypti* . (A) التأثير التثبيطي للمستخلص الساخن لأوراق نبات *A.herba-alba* عند التراكيز (E 0.4% , D 0.2 , C 0.1 , B 0.05) . (B).المستخلص الساخن لأوراق نبات *T. capitatus* . (C) المستخلص الساخن لأوراق نبات *H.albus.L* (D) المستخلص البارد لأوراق نبات *H.albus* . (E) المستخلص البارد لأوراق نبات *T. capitatus* . (E) . انفصال زوائد الجراثيم الاسكية عند معاملتها بالمستخلص المائي البارد لأوراق نبات الشيح واعوجاج بعضها وتحطم للجراثيم .

الاستنتاجات والتوصيات

نستنتج من نتائج الدراسة أنه رغم التباين في الفعالية التثبيطية للمستخلصات النباتية قيد البحث إلا أن مستخلص نبات *Thymus. capitatus* ومستخلص أوراق *Artemisia. herba-alba* قد أظهر تثبيطاً واضحاً في نمو الفطر؛ مما جعله أداة للمقاومة الإحيائية مقارنة ببقية المستخلصات -الذي يحتاج إلى المزيد من الدراسات لتقييم هذه الفعالية التثبيطية الحيوية- وإلى وجود درجات تثبيطية متباينة ضد الفطر المستخدم في الدراسة؛ إذ اختلف تأثيرها باختلاف نوع النبات، وتركيز المستخلص، وأن الاستخدام الفعال للمستخلصات النباتية كمضادات طبيعية ضد الفطريات في المجال الزراعي لم يستغل بالقدر الكافي مقارنة بالمجالات الطبية الأخرى؛ لذلك لابد من بدل المزيد من الدراسات عليها كوسيلة رخيصة وطبيعية، ولمنع نمو هذه الممرضات النباتية، وعلى الرغم من أن هذه الدراسة تحتاج إلى دراسات مستقبلية داخل البيوت المحمية لتعزيز نتائجها العملية المتحصل عليها؛ حتى يمكن استخدام هذه المستخلصات المختبرة ضد هذه الممرضات لحماية النبات من العدوى.

قائمة المراجع :

- [1] **Abouzkhar**,F.A ;Islem,Y ;Chokri,M;Mohamed,L.B.2022.Eucalyptus leaf diseases associated with *Neofusicoccum* spp.in north africa,journal of Arid environments ,197 :1-9 ,www.elsevier.com/locate/jaridenv .
- [2] **ابوزخار** ، فرحات علي الشروي . 2008. حصر لأمراض الورد الفطرية بمدينة سرت ومكافحة البياض الدقيقي على الورد باستخدام بعض المستخلصات النباتية وبيكربونات الصوديوم . رسالة ماجستير ، جامعة التحدي ، سرت ، ليبيا .
- [3]**Crous** ,P.W ., B.A . Summerell ., R.G . Shivas ., A.J . Carnegie ., J.Z . Groenewald . 2012 .Are-appraisal of *Harknessia* (Diaporthales) and introduction of Harknessiaceae fam.nov. Research article.persoonia ,28 : 49 – 65 .www.ingentconnect.com /content/nhn/pim .
- [4]**اليحيى** ، سامي بن عبد العزيز . 2007 . دور المستخلصات النباتية الطبيعية في مقاومة الفطريات المسببة لأمراض النباتية . رسالة ماجستير ، جامعة الملك سعود ، المملكة العربية السعودية .
- [5]**Morsy**, T.A.; Shoukry, A.; Mazyad, S.A. and Makled, K.M., 1998. The effect of the



volatile oils of *Chenopodium anbersoioides* and *Thymus vulgaris* against the larvae of *Lucilia serucala* (Meigen). J. Egypt Soc. Parasitol., 28: pp.503–510.

[6] جلال الدين ، انفال مؤيد . 2009. تأثير المكافح الحيوي *T. harzianum* والمبيدات ومستخلصات النباتات على الفطر *Alternaria. alternata*. المسبب لمرض تبقع أوراق الباقلاء في البيت الزجاجي . مجلة علوم الرافدين ، مجلد 20 ، العدد 2 : 33 – 45 .

[7] Gonzalez–Tejero, R. M., Casares–Porcel, M., Sanchez–Rojas, P. C., Ramiro–Gutierrez, M. J., MoleroMesa, J., Pieroni, A., Giusti, E.M., Censori, E., De Pasquale, C., Della, A., Paraskeva, Hadijchambi, D., Hadjichambis, A., Houmani, Z., El–Demerdash, M., El–Zayat, M., Hmamouchi, M., ElJohrig, S. 2008 . Medicinal plants in the Mediterranean area: Synthesis of the results of the project Rubia. Journal of Ethno pharmacology . 1:1 6 : 341–357.

[8] EL Astal, Z. Y.; Ashour, A. and Kerrit, A. A. M. 2005. Antimicrobial activity of some medicinal plant extracts in Palestine. Pak Jmed. Sci. 21 (2):187–193.

[9] Hashimoto ,T ; Yukihiro,Y and Yamada,Y . 1989 .Putrecine and Putrescine N–methyltransferase in the biosynthesis of tropane alkaloids in cultured roots of *Hoscyamus albus* .Planta ,178 :123 –130

[10]Mohsean,H * and Ali ,F . 2009 . Essential Oil Composition of *Artemisia herba–alba* from Southern Tunisia . *Molecules*, 14: 1585–1594 , www.mdpi.com/journal/molecules

[11]Reynaud,J ; Lussignol ,M ;Flament,M.M and Becchi,M . 1997 .Flavonoid content of *Asphodelus ramosus* (Liliaceae) .Canadian Journal Of Botany ,75(12) :2105 – 2107 .

[12] العامري ،هديل أحمد ومحمد ، صالح عيسى . 2006. دراسة التأثير التثبيطي لبعض المستخلصات النباتية المائية ضد فطر *Geotrichum candidum* . مجلة علوم الرافدين . مجلد (17) ، عدد(10) : 90 – 99 .

[13] إسماعيل ، فائزة خليل . 2010. تقييم الفعالية التثبيطية لمستخلصات بعض النباتات في نمو الفيوزاريوم . مجلة العلوم الزراعية العراقية . 41 (2) : 165 – 172 .

[14] حسن ، أحمد عبد المنعم . 2000م .الأساليب الزراعية المتكاملة لمكافحة أمراض وآفات وحشائش الخضر، المكتبة الأكاديمية، القاهرة، مصر .

[15]الركابي، فراس علي وديوان ، مجيد متعب . 2009. تأثير المستخلص المائي لبعض الأدغال على الفطريات الممرضة لجذور الطماطم وعلى فطر المقاومة الإحيائية *T.harzianum* . مجلة الكوفة للعلوم الزراعية ، مجلد 1 ، العدد 1 : 41 – 50

[16]الجالي ، زهرة إبراهيم وهيبة ، نسرين محمد . 2018. الفعالية التثبيطية لمستخلصات ثلاث نباتات طبية ومساحيقها ضد الفطر *Sclerotinia sclerotiorum* . مجلة الجامعة العربية الأمريكية للبحوث ، مجلد 4 ، 2 :



- [17] **Datta** ,B .S ; Das , A.K and Ghosh ,S.N . 2004.Fungal antagonists of some plant pathogens .J.Mycol .Plant Path , 42 : 15 – 17 .
- [18]**Henderson** ,C.F and Tilton , E.W . 1955 . Mechanism for induced systemic resistance in cucumber .Physiology and Plant Pathology . 20 : 61–71 .
- [19]**ابوزخار** ، فرحات علي واليانقي ، إسلام بن فوزي و بن جامع ، محمد الحبيب بن إدريس . 2020 . عزل وتعريف مسبب مرض تبقع ولفحة أوراق اليوكالبتوس (*Harknessia eucalypti*) في ليبيا وتأثير درجة الحرارة في نموه مخبرياً . مجلة وقاية النبات العربية ، مجلد 38 ، 4 : 296 – 303 .
- [20]**Books** ,G.F ; Butel ,J.S and Ornston ,L.N . 1995 .Medical microbiology ,Medical book Appleton and Lange ,20 : 137 – 142 .
- [21] **Agrios** , G. N. 1978. Plant Pathology . 2 nd ed, Academic Press. New York: 703
- [22]**الرحمة** ، عبد الله بن ناصر . 2005 . أساسيات علم الفطريات . جامعة الملك سعود ، الطبعة الرابعة : 179 – 242 .
- [23]**الساعدي** ، هادي علون محمد وعبد الله ، نجم والزيدي ،جمعة وينوس، ابتهاق قاسم . 2012 . الفعالية التثبيطية للمستخلصات النباتية الخام لنباتي الزعتر *Thymus vulgaris* والنعناع *Mentha piperita* ضد الفطر *Candida albicans* . مجلة ديالي للعلوم الزراعية ، 4 (1) : 128 – 139 .
- [24]**Chimona**,C ; Karioti,A ; Skaltsa,H and Rhizoooulou,S. 2014. Occurrence of secondary metabolites in tepals of *Asphodelus ramosus* .L .Plant Biosystem.vol .148(1) :31 – 34 .
- [25] **Adinolfi**,M;Corsaro,M.M;Lanzetta,R;Parrilli,M and Scope,A (1989).Abianthrone c–glycoside from *Asphodelus* tuber .Photochemistry .28(1) : 284 – 288
- [26]**Hoffman** , B.R;Delas ,A ; Blanteo,K ;Wielderhold ,N;Lewis.R.E and William ,L . 2004 .Screening of antibacterial and antifungal activities of ten medicinal plants from chana .Pharm.Biol .42 : 13 –17.
- [27]**Sacchetti** ,G ; Silva ,M ; Mariavittoria , M ; Matriona ,S ; Stefano , M ; Matteo ,R ; Renato ,B . 2005.Comparative evaluation of 11 essential oil different origin as functional anti–oxidants ,antiradicals and antimicrobials in foods .food chemistry Volume: 621–632
- [28]**الناصر** ، زكريا وعز الدين ،عباس . 2014 . فاعلية بعض المستخلصات النباتية ضد الفطرين *Alternaria alternate* و *Fusarium oxysporum* ومقارنتها بالمبيدات الفطرية مخبرياً . مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية – سلسلة العلوم البيولوجية ، مجلد (36) ، العدد(3) : 31 – 46 .
- [29] **يازجي** ، ميساء والعويس ، دانيال وجريكوس ، بلسم . 2015 . دراسة الفعالية التثبيطية لمستخلصات نبات النعناع *Mentha longifolia* تجاه عزلة من الفطر *Drechslera dematioidea* . مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية – سلسلة العلوم البيولوجية ، المجلد (37) العدد (1) : 113 – 124 .



[30] **Benhouda** , A ; Yahia, M ; Bnhouda,D ; Bousnane ,N ;Bebia,S ; Hannachi,N and Ghecham,A .2014 . Antimicrobial and Antioxidant activities of various extracts of *Hyoscyamus albus* L. and *Umbilicus rupestris* L. leaves . *Algerian Journal of Natural Products* 2:1 (2014) 4–17 .

[31] **Reuveni**,R; Agapov,V;Reuveni,Mand Raviv,M .1994.Effect of foliar sprays of phosphates' on powdery mildew (*Spherotheca pannosa*) of rose ,Journal of Phytopathology ,142 : 331 – 337 .

[32] **Banjole**, S.A. and Joda, A.O. 2004. Effect of lemon grass (*Cymbopogon citrates Stap*) powder and essential oil on mould deterioration and aflatoxin contamination of melon seeds (*Colocynthis citrullus* L.). *Afr. J. Biotech.*, 3: 52– 59.

[33] **العنزي**، مهدي عبد الحسن كريم . 2004 . تأثير المستخلصات الخام لنبات الجرجير *Eruca sativa* M. في نمو بعض الجراثيم الممرضة. رسالة ماجستير. جامعة بغداد ، كلية العلوم

[34] **Tyler**, V. E. , Lynn, R. B. and James, E. R. .1988. *Pharmacognosy*. 9th ed . Lea and Fibiger Philadelphia, P. A. USA.

[35] **سعدون** ، عبد الأمير سمير وماهود ، علي عبد الهادي . 2010. تقويم كفاءة بعض المستخلصات النباتية في نمو بعض فطريات الخزن لحبوب الحنطة في مخازن الديوانية . مجلة الكوفة لعلوم الحياة ، مجلد (2) .

[36] **أبو قميرة** ، عبد الله فرج وتواتي، عطية خليل والرطيل أمنة . 2024. التأثير التثبيطي لمستخلصات نبات الحرمل *Peganum harmala* على بعض الفطريات الممرضة . مجلة العلوم الأساسية ، مجلد 37، العدد 1 : 1-13 .