

تداخل إضافة مستخلصات أوراق النعناع مع الفطور ذات الخاصية التضادية على بعض الفطور المرافقة لبذور البقوليات

عبد الرضا طه سرحان

قسم علوم الحياة، كلية العلوم، جامعة القادسية، الديوانية، العراق، البريد الإلكتروني: artsarhan@yahoo.com

الملخص

سرحان، عبد الرضا طه. 2006. تداخل إضافة مستخلصات أوراق النعناع مع الفطور ذات الخاصية التضادية على بعض الفطور المرافقة لبذور البقوليات. مجلة وقاية النبات العربية. 24: 118-124.

اجريت دراسة في مختبرات كلية العلوم بجامعة القادسية، العراق خلال الموسم الزراعي 2001/2000 لمعرفة مدى تأثير تداخل مستخلص أوراق نبات النعناع (*Mentha longifolia* L. Hands (Horse-mint) مع عدد من الفطور المضادة (*Trichoderma harzianum*، *T. pseudokoningii* و *Penicillium pinophilum*) ضد ستة أنواع فطرية مرافقة لبذور البقوليات (*Ascochyta fabae*، *Alternaria alternata*، *Curvularia lunata*، *Drechslera specifera*، *Fusarium solani* و *Macrophomina phaseolina*). أدت معاملات المستخلص النباتي بجميع تراكيزه إلى خفض معنوي في نمو الفطور الممرضة المرافقة للبذور وإنبات أبواغها مقارنة بمعاملة الشاهد، واتضح من نتائج الدراسة أن تأثير المستخلص المثبط للنمو تصاعد طردياً مع زيادة التركيز. فقد وجد أن التركيزين 20 و 30 غ/لتر أعطيا تأثيراً مضاداً قوي الفاعلية ضد الفطور الممرضة (*A. alternata*، *A. fabae*، *M. faseolina* و *F. solani*)، فانخفضت معدلات قطر النمو إلى 2.8، 3.1، 3.9 و 2.5 سم و 2.1، 2.2، 2.0 سم، على التوالي مقارنة بمعاملة الشاهد (8.9، 8.5، 8.8 و 8.2 سم، على التوالي). ووجد أيضاً أن تأثير المستخلص على إنبات الأبواغ اتخذ ذات المنحى فقد خفض معنوياً نسب الإنبات مقارنة بمعاملة الشاهد. وأظهرت نتائج الفطور المضادة وجود تضاد كفوء تميز فيه الفطر *T. harzianum* خاصة ضد الفطرين *A. alternata* و *C. lunata*، حيث أعطى إزاءهما درجة تضاد 1. واتضح من نتائج تداخل المستخلص النباتي مع الفطور المضادة بأن لتداخل نوعي الفطر المضاد *Trichoderma* مع المستخلص تأثيراً مضاداً كاملاً (100%) لجميع الفطور الممرضة، أما الفطر *P. pinophilum* فإظهر تضاداً أقل من الفطرين الآخرين. أما بالنسبة للنمو الشعاعي للفطور الممرضة وإنبات أبواغها، فقد كانت أفضل نتيجة لتأثير تداخل المستخلص مع الفطر المضاد *T. harzianum* هي على النمو الشعاعي للفطر الممرض *A. alternata* والتي انخفض فيها قطر النمو إلى 1.0 سم مقارنة بقطر النمو في معاملة الشاهد (9.0 سم)، لاسيما التأثير في نسبة إنبات الأبواغ فإن أفضل النتائج كانت ضد الفطر الممرض *A. fabae* إذ انخفضت فيها النسبة إلى 8.5% مقارنة بمعاملة الشاهد التي بلغت فيها النسبة 89.5%. ووجدت هذه الدراسة أن لتداخل العاملين الحيويين، مستخلص الأوراق والفطور المضادة دوراً هاماً في تثبيط الفطور المرافقة لبذور البقوليات.

كلمات مفتاحية: فطور مرافقة للبذور، مستخلصات نباتية، فطور مضادة، رشاحة الفطور، العراق.

المقدمة

التعقيم الشمسي للتربة باستخدام الطاقة الشمسية (2، 3، 12)، والأحياء المضادة أو العوامل الحيوية (12، 13، 22، 23)، هذا فضلاً عن العديد من الدراسات التي تشير إلى فعالية مستخلصات بعض النباتات في هذا المجال (10، 11، 13).

هدفت هذه الدراسة إلى التعرف على إمكانية استخدام مستخلصات أوراق نبات النعناع (*Mentha longifolia* L.) كمركبات نباتية نشطة إحيائياً من خلال تداخلها مع ثلاثة فطور ذات خاصية تضادية ضمن برنامج للإدارة المتكاملة لمكافحة عدد من الفطور المرضية المرافقة لبذور البقوليات.

مواد البحث وطرائقه

الاستخلاص المائي لأوراق نبات النعناع

جمعت أوراق نبات النعناع (*Mentha longifolia* L.) من مناطق مختلفة من مدينة الديوانية في وسط العراق خلال شهر تشرين الأول/أكتوبر للموسم الزراعي 2001/2000. جففت الأوراق بعد غسلها جيداً بالماء العادي باستخدام فرن كهربائي عند درجة حرارة 45°س لمدة 24 ساعة، بعدها وضعت في المجفف حتى جفت تماماً. سحقت الأوراق بشكل ناعم باستخدام هاون خزفي، وتم وزن 10 غ من

احتلت المبيدات الكيماوية ومنها مبيدات الفطور دوراً هاماً في مكافحة الآفات الزراعية لسرعة نتائجها في خفض الضرر الناجم عنها وزيادة الانتاج (6، 21). إلا أن زيادة تكاليف هذه المواد من جهة والآثار الجانبية الضارة لها من جهة أخرى، بالإضافة إلى ظهور العديد من حالات التسمم والتلوث واختلال التوازن البيئي نتيجة الاستخدام المفرط والعشوائي للمبيدات، كل هذا حفز الباحثين لدراسة إمكانية استخدام المبيدات من أصل نباتي كأحد عناصر مكافحة المتكاملة للحد من الآفات الزراعية (4، 7، 8). ونظراً لما تحويه البيئة من تنوع حيوي كبير من الفلورا، فإن الاهتمام بالمصادر الطبيعية لموارد مكافحة ودراستها كان وما زال يزداد يوماً بعد آخر، إذ يمكن لمركباتها النباتية المساهمة في مجال مكافحة مسببات المرضية للنباتات (5، 11، 15، 24، 26).

لقد أصبح واضحاً لجميع المختصين مخاطر الإعتدال على المبيدات الكيماوية فقط في مكافحة مسببات المرضية للنباتات، لذا تم العمل على إيجاد بدائل لها ووضع استراتيجية فعالة وكفوءة للمكافحة المتكاملة للفطور الممرضة للنباتات (1، 25). اشتملت البدائل على

بماء مقطر معقم، وحضنت الشرائح عند درجة حرارة 25 °س لمدة 15-18 ساعة، بعد ذلك تم حساب نسبة إنبات الأبواغ تحت المجهر.

عزل وتعريف الفطور المرافقة لبذور البقوليات

عزلت الفطور المرافقة لبذور البقوليات (الباقلاء/الفاصوليا، الحمص، العدس، الفاصولياء والماش) باستخدام طريقة أطباق الآجار على مستنبت آجار البطاطس/البطاطا. عقت البذور سطحياً وذلك بغمرها لمدة ثلاث دقائق بمحلول هايپوكلوريت الصوديوم بتركيز 1% (كلور حر)، بعدها غسلت البذور بالماء المقطر المعقم ثلاث مرات ثم جففت على ورق ترشيح معقم ووضعت في الأطباق بواقع 5 بذور لكل طبق وحضنت الأطباق عند درجة حرارة 25 °س لمدة أسبوع واحد. فحصت المستعمرات النامية وشخصت الفطور (16، 19) التالية: *Curvularia lunata*, *Alternaria alternata*, *Ascochyta fabae*, *Drechslera specifera* و *Fusarium solani* و *Macrophomina phaseolina*.

تأثير الفطور المضادة في نمو الفطور الممرضة (ظاهرة التضاد)

درست كفاءة التضاد للفطور المضادة *Trichoderma harzianum* و *T. pseudokoningii* ضد *Penicillium pinophilum* الفطور الممرضة باستخدام طريقة الزرع المزدوج في أطباق بتري، وذلك بتلقيح مركز النصف الأول من الطبق بقرص قطره 8 مم من الفطر المضاد ومركز النصف الثاني بقرص قطره 8 مم من الفطر الممرض. أما في معاملة الشاهد فقد لقيح مركزي نصف الطبق بقرصين من الكائن الممرض فقط. اشتملت كل معاملة على ثلاثة مكررات، ثم حضنت عند درجة حرارة 25 °س لمدة سبعة أيام. تم تقدير درجة التضاد بينهما باتباع سلم تقييس خماسي (1-5) حيث: 1= الكائن المضاد يغطي كل الطبق، 2= الكائن المضاد يغطي 4/3 الطبق، 3= الكائن المضاد يغطي نصف الطبق، 4= الكائن الممرض يغطي 4/3 الطبق، 5= الكائن الممرض يغطي كل الطبق. وقد اعتبر الفطر المضاد فعالاً عند اظهار درجة تضاد 2 أو أقل (17).

تأثير رشاحة الفطور المضادة في نمو الفطور الممرضة وإنبات أبواغها

لتحضير رشاحة الفطور المضادة، تم تنميتها في مستنبت البطاطس/البطاطا السائل (PDB) عند درجة حرارة 25 °س ولمدة أسبوعين. رشحت مزارع الفطور خلال ورق ترشيح نوع No.2 Whattman باستخدام قمع بخنر وجهاز التفريغ، ثم أخذ الراشح ومرر من خلال مرشح بكتيري (Millipore 0.4µ) ليكون الراشح معقماً وجاهزاً للإضافة إلى المستنبتات الغذائية (9). حضر مستنبت آجار البطاطس/البطاطا وقسم في دوارق مخروطية زجاجية إلى أربع كميات 100، 95، 90 و 85 مل (تمثل معاملات تراكيز الرشاحة الثلاث مع معاملة الشاهد التي استخدم فيها رشح المستنبت فقط)، ثم عقت.

المسحوق الناعم ونقع في 1000 مل ماء مقطر (كمحلول مائي يحتوي على 10000 جزء بالمليون من مستخلص أوراق النعناع والذي استخدم كتركيز أساس في تحضير التراكيز المطلوبة من المستخلص). بعدها وضع المنقوع على مصدر حراري عند درجة حرارة 40-45 °س لمدة ساعة واحدة، وبعد ذلك ترك لمدة 24 ساعة و فصل السائل الناتج باستخدام مصفاة ناعمة ورشح من خلال ورق ترشيح نوع No.2 Whattman باستخدام قمع بخنر وجهاز التفريغ، ثم أخذ الراشح ومرر من خلال مرشح بكتيري (Millipore 0.4µ) ليكون الراشح معقماً وجاهزاً للإضافة إلى المستنبتات الغذائية.

تأثير المستخلص في نمو الفطور الممرضة على المستنبت الصلب

اتبعت في هذه الطريقة تقنية الغذاء المسموم (18) لتحضير التراكيز الثلاثة من مستخلص الأوراق، وزعت الكميات التالية من التركيز الأساس للمستخلص: 0، 10، 20 و 30 مل انفرادياً في دوارق زجاجية مخروطية، ثم اضيف لها 100، 90، 80 و 70 مل من مستنبت آجار البطاطس/البطاطا المعقم، على التوالي عندما أصبحت درجة حرارته بحدود 45 °س وقبل تصلبه بقليل مزجت جيداً للحصول على بيبات غذائية تحتوي على النسب المئوية 0، 10، 20 و 30% من المستخلص، على التوالي. صبت المستنبتات في أطباق بتري قطر 9 سم وبواقع ثلاثة مكررات لكل تركيز/فطر، وبعد تصلب المستنبت تم نقل قرص قطره 8 مم من مزارع الفطور الممرضة بعمر أسبوع واحد بواسطة ثاقب فلين معقم ووضع بشكل مقلوب على سطح المستنبت في منتصف الطبق وحضنت الأطباق عند درجة حرارة 25 °س. تم تسجيل معدلات النمو الشعاعي للفطور بعد فترة أسبوع من الحضن من خلال قياس قطر متعامد لمستعمرة نمو الفطر وأخذ معدل القرائتين.

تأثير المستخلص في إنبات أبواغ الفطور الممرضة

لتحديد تأثير المستخلص على إنبات أبواغ الفطور الممرضة حضرت معلقات أبواغ الفطور من مزارع نقية باضافة كمية من الماء المقطر إلى دوارق مخروطية حجم 250 مل تحتوي على نموات الفطور والتي سبق تنميتها على مستنبت آجار البطاطس/البطاطا (PDA) لمدة 10 أيام. رجبت الدوارق مع تحريك النموات بواسطة قضيب زجاجي ثم جمع المعلق الخاص بكل فطر وجرى ترشيحه عبر ثلاث طبقات من الشاش الطبي وقدرت كثافة الأبواغ بواسطة شريحة عد كريات الدم (هيموسيتوميتر)، وتم التخفيف بالماء المقطر للحصول على التركيز المناسب وهو 2 x 10⁴ بوغ/مل. بعد ذلك تم مزج قطرة واحدة (0.1 مل) من عالق أبواغ كل فطر ممرض بواسطة ماصة دقيقة معقمة مع قطرة من كل تركيز من تراكيز المستخلص الثلاث بنفس حجم قطرة العالق في شرائح زجاجية مقعرة بالإعتماد على تقنية شريحة إنبات الأبواغ (26). وضعت الشرائح على حرف V زجاجي في أطباق بتري قطر 9 سم حاوية على أوراق ترشيح معقمة رطبت

وعندما أصبحت درجات حررتها بحدود 45 °س وقيل أن تتصلب أضيفت لها 0، 5، 10 و 15 مل من الرشاحة، على التوالي للحصول على مستنبتات غذائية تحتوي 0، 5، 10 و 15%، على التوالي، وتم توزيعها على الأطباق. لقت جميع الأطباق بأقراص متساوية قطرها 8 مم أخذت من مزارع الفطور الممرضة. قيست أقطار المستعمرات الفطرية بعد أسبوعين من الحضان عند درجة حرارة 25 °س. ولدراسة تأثير الرشاحة في نسبة إنبات أبواغ الفطور الممرضة استخدمت ذات الطريقة المشار إليها أعلاه في تأثير مستخلص الأوراق في إنبات الأبواغ (26).

التأثير المشترك لمستخلص أوراق النعناع والفطور المضادة في نمو الفطور الممرضة

في هذه التجربة تم اختيار أحد تراكيز المستخلص النباتي اعتماداً على كفاءة تأثيره في الفطور الممرضة وهو التركيز 20 غ/ليتر لغرض إجراء التداخل بينه وبين الفطور المضادة لمعرفة التأثير المشترك لهذين العاملين على الفطور الممرضة. اتبعت ذات الطريقة التي سبق ذكرها أعلاه في طرائق البحث وشملت التجربة المعاملات التالية: (1) المستخلص + الفطر المضاد *T. harzianum*، (2) المستخلص + الفطر المضاد *T. pseudokoningii*، (3) المستخلص + الفطر المضاد *P. pinophilum* و (4) الشاهد.

التأثير المشترك لمستخلص أوراق رشاحة الفطور المضادة في نمو الفطور الممرضة وإنبات أبواغها

أجريت التجربة بغرض التأكد من التأثير التعاضدي للمستخلص النباتي مع الفطور المضادة في الفطور الممرضة. اعتمد ذات الأسلوب الذي ورد أعلاه في تأثير المستخلص وتأثير رشاحة الفطور المضادة في نمو الفطور الممرضة بعد أن تم اختيار التركيز المناسب من الرشاحة وهو 10%. أضيف مستخلص الأوراق بتركيز 20 غ/ليتر ورشاحة الفطور بتركيز 10% إلى مستنبت آجار البطاطس/البطاطا، واتبعت ذات الخطوات الواردة أعلاه في حساب معدلات قطر نمو الفطور الممرضة. ولدراسة تأثير التداخل بين العاملين المذكورين أعلاه في إنبات أبواغ الفطور الممرضة استخدمت ذات التراكيز واتبعت الخطوات المذكورة في إجراء التجربة وتسجيل نسبة الإنبات.

حللت النتائج إحصائياً باستخدام طريقة تحليل التباين ANOVA لجميع العناصر المدروسة وقورنت الفروقات بين المتوسطات باستخدام اختبار دنكن عند مستوى احتمال 5%.

النتائج والمناقشة

تأثير مستخلص أوراق النعناع في نمو الفطور الممرضة المرافقة لبذور البقوليات وإنبات أبواغها

يبين الجدول 1 تأثير المستخلص المائي لأوراق نبات النعناع في النمو الشعاعي للفطور الممرضة المرافقة لبذور البقوليات. أظهرت

النتائج بأن التراكيز الثلاثة للمستخلص (10، 20 و 30 غ/ليتر) خفضت معنوياً من معدلات النمو الشعاعي لجميع الفطور الممرضة على مستنبت آجار البطاطا/البطاطس بالمقارنة مع معاملة الشاهد. واتضح أن تأثيرات المستخلص المضادة والمثبطة لنمو الفطور الممرضة تصاعدت مع زيادة التركيز، فقد انخفضت معدلات نمو الفطور الممرضة *D. specifera*، *A. fabae*، *A. alternata* و *F. solani* إلى 2.8، 3.1، 4.7 و 2.5 سم، على التوالي عند التركيز 20 غ/ليتر وإلى 2.1، 2.2، 2.2 و 2.0 سم، على التوالي عند التركيز 30 غ/ليتر، مقارنة بمعاملة الشاهد التي وصلت فيها معدلات نمو الفطور إلى 8.9، 8.5، 8.8 و 8.2 سم، على التوالي. وتتفق هذه النتائج مع دراسات سابقة وصفت فيها التأثيرات المضادة لمستخلصات عدد من النباتات على مجموعة من الفطور الممرضة للنبات (10، 13، 25). كما أبدأ مستخلص الأوراق بالتركيزين 20 و 30 غ/ليتر تأثيراً مثبطاً قوياً ومعنوياً في النمو الشعاعي للفطور الممرضة مقارنة بمعاملة الشاهد وكذلك بالمقارنة مع التركيز 10 غ/ليتر (جدول 1). ويمكن أن يفسر ذلك بأن مستخلص أوراق النعناع يحتوي على مركبات مضادة لنمو الفطور منها بعض الجليكوزيدات Glycosides والزيت الطيار Pal Yellow Oil (5، 10). وضمن تجارب قياس فعالية المستخلص على إنبات الأبواغ وجد أن نسبة الإنبات اتخذت ذات المنحى وبمعدلات متقاربة نسبياً وتأثرت مع زيادة تركيز المستخلص. ويفسر هذا الإنحدار إلى التأثيرات السامة للمستخلص الذي يحتوي على بعض المواد التي تؤثر في حيوية وإنبات أبواغ الفطور مثل المركبات الصابونية Saponins (5، 10). ولقد وجد أن لجميع تراكيز مستخلص الأوراق كفاءة عالية تجاه تثبيط إنبات الأبواغ، إذ انخفضت نسبة الإنبات لجميع الفطور الممرضة معنوياً مقارنة بمعاملة الشاهد. وانخفضت معدلات إنبات أبواغ الفطور *A. fabae*، *A. alternata* و *F. solani* عند التركيز 30% بشكل حاد حتى وصلت إلى 25.0، 21.1 و 24.3%، على التوالي مقارنة بمعاملة الشاهد التي أعطت نسبة إنبات مرتفعة (80.0، 82.4 و 88.0%)، وهذا يتوافق مع ماتم تسجيله لنباتات أخرى وفطور أخرى (8، 24).

تأثير الفطور المضادة في نمو الفطور الممرضة المرافقة لبذور البقوليات (ظاهرة التضاد)

يوضح جدول 2 فعالية الفطور المضادة في خفض نمو الفطور الممرضة المرافقة لبذور البقوليات، إذ أبدت الفطور المضادة الثلاثة المستخدمة قدرة تضادية معنوية ضد الفطور الممرضة مقارنة بمعاملة الشاهد. ولكن يتضح جلياً من النتائج أنه بالرغم من أن الفطور المضادة الثلاث أعطت درجات تضاد متقاربة مع بعضها تجاه الفطور الممرضة، إلا أن نوعي الفطر المضاد *Trichoderma* قد أعطيا نشاطاً تضادياً أفضل إزاء جميع الفطور الممرضة لأن درجات التضاد كانت 2 أو أقل، حيث تراوحت درجات التضاد ما بين 1.0-1.6 بالقياس إلى معاملة الشاهد التي بلغت فيها درجة التضاد في جميع المعاملات 5.0.

وهذا يعني أن الفطر فعال جداً إزاء الفطور الممرضة فيما عدا الفطر *M. phaseolina* الذي كان تأثيره بالفطر المضاد نوعاً ما أقل. ويعود السبب إلى ضعف تأثير هذا الفطر بالفطور المضادة حيث أظهر درجات تضاد أكثر من 2 مع الفطور المضادة الثلاث، فقد تراوحت الدرجات ما بين 2.3-2.9 مقارنة بمعاملة الشاهد التي أعطت درجة تضاد 5.0. ويعزى تفوق أنواع الفطر *Trichoderma spp.* لأنها من الفطريات المضادة الأكثر تأثيراً في الفطور الممرضة بسبب قدرتها العالية على التطفل والتضاد والتنافس على الغذاء (20). وهذه النتيجة تتفق مع نتائج توصل إليها عدد من الباحثين في استخدام هذا الفطر في مجال مكافحة الحويبة (12، 17). أما الفطر المضاد *P. pinophilum* فقد أظهر نشاطاً تضادياً أقل معنوياً من الفطرين المضادين الآخرين على الأوساط الزرعية ضد الفطور الممرضة *A. fabae*، *D. specifera* و *F. solani*. وربما يعود ذلك لطبيعة ما يفرزه هذا الفطر من مواد مثبته للنمو ومضادات حيوية تختلف في طبيعتها تأثيرها وعملها عن ما ينتجه نوعي الفطر الآخر من مواد مثبته ومواد انزيمية محللة. فبالإضافة للمضاد الحيوي البنسلين فهو ينتج مضادات حيوية أخرى منها *Fumagillin*، *Griseofulvin* و *Patulin* (11).

جدول 1. تأثير المستخلص المائي لأوراق النعناع في النمو الشعاعي للفطور الممرضة وفي إنبات أبواغها .

Table 1. Effect of Horse-mint water leaf extract on radial mycelial growth and spore germination of pathogenic fungi.

المعاملات Treatments				
تركيز المستخلص (غ/لتر) Extract concentration (g/l)		الشاهد		
30	20	10	Control	الفطور الممرضة Pathogenic fungi
النمو الشعاعي للفطور الممرضة (سم) Radial growth of pathogenic fungi (cm)				
2.2 d	3.1 d	6.2 bc	8.5 a	<i>Ascochyta fabae</i>
3.4 cd	3.9 cd	5.3 c	8.6 a	<i>Macrophomina phaseolina</i>
2.1 d	2.8 d	4.8 c	8.9 a	<i>Alternaria alternate</i>
2.2 d	4.7 c	5.9 bc	8.8 a	<i>Dreschslera specifera</i>
2.0 d	2.5 d	5.1 c	8.2 a	<i>Fusarium solani</i>
3.8 cd	4.4 c	7.3 c	8.6 a	<i>Curvularia lunata</i>
معدل إنبات أبواغ الفطور الممرضة (%) Spore germination rate of pathogenic fungi (%)				
25.0 d	41.3 bc	50.6 b	80.0 a	<i>Ascochyta fabae</i>
30.1 c	45.0 b	51.8 b	79.3 a	<i>Macrophomina phaseolina</i>
21.1 d	39.4 bc	48.0 b	82.4 a	<i>Alternaria alternate</i>
38.5 c	50.2 b	63.2 b	86.6 a	<i>Dreschslera specifera</i>
24.3 d	35.4 c	48.1 b	88.0 a	<i>Fusarium solani</i>
30.9 c	43.0 bc	52.2 b	79.4 a	<i>Curvularia lunata</i>

المتوسطات الأفقية التي لها نفس الأحرف لا تختلف معنوياً عن بعضها حسب اختبار دنكن عند مستوى احتمال 5%.

Means in each line with the same letters are not significantly different using Duncan's test at P=0.05.

تأثير رشاحة الأحياء المضادة في النمو الشعاعي وإنبات أبواغ الفطور الممرضة المرافقة لبذور البقوليات

يبين جدول 3 تأثير التركيزات المختلفة من رشاحة الفطور المضادة في نمو الفطور الممرضة. ويظهر من النتائج بأن رشاحات الفطور المضادة عند التركيزين 10 و 15% قد خفضت معنوياً من

معدل النمو الشعاعي للفطور الممرضة مقارنة بمعاملة الشاهد. وكانت رشاحة الفطر المضاد *T. harzianum* عند التركيز 15% أشد الرشاحات تأثيراً في نمو جميع الفطور الممرضة وخاصة *C. lunata*، *M. phaseolina* و *A. fabae* التي أعطت معدلات نمو بلغت 2.2، 3.0 و 3.3 سم، على التوالي، في حين بلغت معدلات نمو الفطور في معاملة الشاهد 8.8، 8.5 و 8.3 سم، على التوالي. وقد يعزى هذا التأثير إلى قدرته على إفراز عدد من المواد المثبته لنمو الفطور كالمضادات الحيوية والسموم مثل *Emodin*، *Gleotoxin*، *Pachybasin*، *Trichodermin* و *Trichodermol* بالإضافة للمواد الأنزيمية المحللة التي ينتجها هذا الفطر مثل *Chitinase* و *Proteolytic enzymes* (20). أما بخصوص تأثير رشاحة الفطور المضادة في إنبات أبواغ الفطور الممرضة فقد لوحظ بأن جميع رشاحات الفطور المضادة وبكافة التركيزات قد خفضت معنوياً من نسبة إنبات الأبواغ مقارنة بمعاملة الشاهد. وكانت أشد الرشاحات تأثيراً هي رشاحة الفطر المضاد *T. harzianum* التي احتلت المرتبة الأولى، إذ اختزلت نسبة الإنبات بمعدلات عالية جداً عند تركيز 15% بالمقارنة بالرشاحات الأخرى وبمعاملة الشاهد. وانخفضت بذلك نسبة إنبات الأبواغ بشكل مميز في بعض الفطور الممرضة فبلغت 12.2% للفطر *A. fabae* و 16.5% للفطر *F. solani* مقارنة بمعاملة الشاهد التي كانت فيها نسبة الإنبات مرتفعة جداً بلغت 92.0% و 95.5%، على التوالي. إن تأثير إنبات أبواغ الفطور الممرضة برشاحة الفطر *T. harzianum* قد أكد نتائج تأثيره في النمو الشعاعي للفطور الممرضة المذكورة أعلاه.

جدول 2. درجات تضاد الفطور المضادة للفطور الممرضة على مستنبت أجار البطاطس/البطاطا (PDA).

Table 2. Levels of antagonism (*in vitro*) of the antagonistic fungi against pathogenic fungi.

المعاملات/الفطور المضادة* Treatments/ Antagonistic fungi*				
الشاهد				الفطور الممرضة
<i>P.p</i>	<i>T.p</i>	<i>T.h</i>	Control	Pathogenic fungi
درجة التضاد (1-5)**				
2.6 b	1.5 c	1.2 c	5.0 a	<i>Ascochyta fabae</i>
2.5 b	2.3 b	2.9 b	5.0 a	<i>Macrophomina phaseolina</i>
1.8 c	1.5 c	1.0 c	5.0 a	<i>Alternaria alternate</i>
2.0 b	1.8 c	1.6 c	5.0 a	<i>Dreschslera specifera</i>
2.0 b	1.4 c	1.5 c	5.0 a	<i>Fusarium solani</i>
2.2 b	2.0 b	1.0 c	5.0 a	<i>Curvularia lunata</i>

* *T.h*= *Trichoderma harzianum*, *T.p*= *Trichoderma pseudokoningii*, *P.p*= *Penicillium pinophilum*

** استخدم مقياس مكون من خمس درجات (1-5) لحساب المساحة التي يغطيها كل من المضاد والممرض على المستنبت.

المتوسطات الأفقية التي لها نفس الأحرف لا تختلف معنوياً عن بعضها حسب اختبار دنكن عند مستوى احتمال 5%.

** A scale of 1-5 was used to estimate the level of the antagonism on PDA.

Means in each line with the same letters are not significantly different using Duncan's test at P=0.05.

جدول 3. تأثير رشاحة الفطور المضادة في النمو الشعاعي للفطور الممرضة وفي إنبات أبواغها.

Table 3. Effect of filtrate of antagonistic fungi on radial growth and spore germination of pathogenic fungi.

المعاملات/رشاحة الفطور المضادة										الفطور الممرضة Pathogenic fungi
Treatments/ filtrate of antagonistic fungi										
تركيز الرشاحة (%) (Filtrate concentration (%))										
<i>Penicillium pinophilum</i>			<i>Trichoderma pseudokoningii</i>			<i>Trichoderma harzianum</i>			الشاهد	Control
15	10	5	15	10	5	15	10	5		
النمو الشعاعي للفطور الممرضة (سم)										
4.9 c	6.5 b	7.9 ab	4.5 c	5.2 b	7.1 ab	3.3 c	3.8 c	6.0 b	8.3 a	<i>Ascochyta fabae</i>
5.5 bc	7.0 ab	7.3 ab	4.6 c	5.6 bc	6.2 b	3.0 c	4.2 c	6.7 b	8.5 a	<i>Macrophomina phaseolina</i>
9.0 a	4.9 c	6.2 b	6.9 ab	5.0 bc	4.4 c	6.5 b	3.8 c	4.4 c	5.8 bc	<i>Alternaria alternata</i>
5.3 bc	5.9 bc	6.2 b	6.2 b	5.3 bc	7.3 ab	4.6 c	5.1 bc	6.0 b	9.0 a	<i>Dreschlera specifera</i>
4.7 c	5.8 bc	7.4 ab	5.1 b	4.6 c	6.0 b	4.0 c	4.2 c	6.8 ab	8.5 a	<i>Fusarium solani</i>
3.8 c	6.9 ab	6.8 ab	4.0 c	4.4 c	5.5 bc	2.2 d	2.6 d	5.9 bc	8.8 a	<i>Curvularia lunata</i>
معدل إنبات أبواغ الفطور الممرضة (%)										
28.5 c	43.0 c	78.5 b	18.5 d	22.0 cd	71.0 b	12.2 d	18.0 d	66.6 b	92.0 a	<i>Ascochyta fabae</i>
55.0 c	68.0 a	73.0 b	42.2 c	50.0 c	69.2 b	30.0 c	38.5 c	62.5 b	81.0 a	<i>Macrophomina phaseolina</i>
44.5 c	56.1 bc	70.6 b	49.6 b	61.7 b	74.5 b	37.0 c	42.0 c	70.0 b	82.5 a	<i>Alternaria alternata</i>
42.5 c	66.0 ab	73.5 b	41.0 c	58.0 bc	70.1 b	20.5 cd	23.5 cd	69.7 b	80.0 a	<i>Dreschlera specifera</i>
40.0 c	40.5 c	69.9 b	24.7 cd	28.8 cd	64.4 b	16.5 d	18.0 d	71.0 b	95.5 a	<i>Fusarium solani</i>
48.9 b	66.0 a	70.0 b	45.5 c	61.0 b	70.0 b	20.0 cd	23.5 cd	68.2 b	88.0 a	<i>Curvularia lunata</i>

المتوسطات الأفقية التي لها نفس الأحرف لا تختلف معنوياً عن بعضها حسب اختبار دنكن عند مستوى احتمال 5%.

Means in each line with the same letters are not significantly different using Duncan's test at P=0.05.

التأثير المشترك لمستخلص أوراق نبات النعناع والفطور المضادة في نمو الفطور الممرضة المرافقة لبذور البقوليات وإنبات أبواغها

أظهرت طريقة تداخل مستخلص أوراق النعناع مع الفطور المضادة نتائج ممتازة توضح إمكانية اعتماد هذا الأسلوب في مكافحة الفطور الممرضة المرافقة لبذور البقوليات (جدول 4). فقد تم الحصول على مكافحة كاملة 100% وبأعلى درجة تضاد هي 1 لجميع الفطور الممرضة باستخدام المستخلص النباتي تركيز 20 غ/لتر مع نوعي الفطر المضاد *Trichoderma*. أما التداخل بين المستخلص والفطر المضاد *P. pinophilum* فكانت درجات تضاده معنوية مقارنة بمعاملة الشاهد، إلا أنها أقل معنوياً من درجات تضاد الفطور المضادة الأخرى. وقد يعزى سبب ذلك إلى تحسس هذا الفطر المضاد للمواد السامة التي يحتويها المستخلص النباتي والمعروفة بنشاطها التثبيطي لطيف واسع من الفطريات (5، 10). والدليل على ذلك هو أن نتائج استعمال الفطر المضاد لوحده في هذه الدراسة كانت أفضل (جدول 2)، مما هو عليه في تداخله مع المستخلص. كما أن نتائج استعمال المستخلص لوحده بتركيز 20% (جدول 1) قاربه إن لم تكن مماثلة لنتائج تداخله مع الفطر المضاد مما يؤكد الدور التثبيطي لمستخلص أوراق النعناع ضد الفطر المضاد. ويتفق هذا مع ما تم ذكره من أن المستخلص يحتوي مركبات مثبطة لنمو ونشاط الفطور الممرضة (10). أما بخصوص نتائج تأثير التداخل بين المستخلص النباتي ورشاحة الفطور المضادة في النمو الشعاعي للفطور الممرضة (جدول 4)، فقد وجد أنها مقاربة لنتائج التضاد مع الفطور الممرضة حيث انخفضت معدلات النمو الشعاعي معنوياً بالمقارنة مع معاملة الشاهد. وكانت أفضل نتيجة لهذا الإنحدار هي من تأثير تداخل المستخلص مع الفطر المضاد *T. harzianum* في الفطر الممرض *A. alternata*، حيث انخفض معدل قطر النمو من 9.0 سم في معاملة الشاهد إلى 1.0 سم في معاملة

جدول 4. التأثير المشترك لمستخلص الأوراق والفطور المضادة أو رشاحتها في درجة التضاد، النمو الشعاعي وإنبات الأبواغ للفطور الممرضة.

Table 4. The combined effect of leaf extract and antagonistic fungi or its filtrate on antagonism level, radial growth and spore germination of pathogenic fungi.

المعاملات*				الفطور الممرضة Pathogenic fungi
مستخلص T.p + Extract + P.p	مستخلص T.p + Extract + T.p	مستخلص T.h + Extract + T.h	الشاهد Control	
درجة التضاد (5-1)**				
3.0 b	1.0 c	1.0 c	5.0 a	<i>Ascochyta fabae</i>
3.2 b	1.0 c	1.0 c	5.0 a	<i>Macrophomina phaseolina</i>
2.8 b	1.0 c	1.0 c	5.0 a	<i>Alternaria alternata</i>
3.5 b	1.0 c	1.0 c	5.0 a	<i>Dreschlera specifera</i>
2.7 b	1.0 c	1.0 c	5.0 a	<i>Fusarium solani</i>
3.2 b	1.0 c	1.0 c	5.0 a	<i>Curvularia lunata</i>
النمو الشعاعي للفطور الممرضة (سم)				
Radial growth of pathogenic fungi (cm)				
2.7 d	1.9 d	1.5 d	8.8 a	<i>Ascochyta fabae</i>
2.8 d	2.0 d	1.2 d	8.5 a	<i>Macrophomina phaseolina</i>
1.6 d	2.2 d	1.0 d	9.0 a	<i>Alternaria alternata</i>
2.0 d	2.0 d	1.6 d	8.6 a	<i>Dreschlera specifera</i>
2.0 d	1.6 d	1.4 d	8.2 a	<i>Fusarium solani</i>
1.5 d	2.2 d	1.2 d	8.6 a	<i>Curvularia lunata</i>
معدل إنبات أبواغ الفطور الممرضة (%)				
Spore germination rate of pathogenic fungi (%)				
27.6 d	10.0 d	8.5 de	89.5 a	<i>Ascochyta fabae</i>
31.3 d	28.0 d	15.6 d	82.0 a	<i>Macrophomina phaseolina</i>
28.2 d	21.0 d	12.0 d	91.6 a	<i>Alternaria alternata</i>
40.5 cd	19.9 d	26.4 d	84.0 a	<i>Dreschlera specifera</i>
32.0 d	26.0 d	20.5 d	90.0 a	<i>Fusarium solani</i>
38.6 cd	29.0 d	22.0 d	86.6 a	<i>Curvularia lunata</i>

* T.h= *Trichoderma harzianum*, T.p= *Trichoderma pseudokoningii*, P.p= *Penicillium pinophilum*

** استخدم مقياس مكون من خمس درجات (5-1) لحساب المساحة التي يغطيها كل من المضاد والممرض على المستنبت.

المتوسطات الأفقية التي لها نفس الأحرف لا تختلف معنوياً عن بعضها حسب اختبار دنكن عند مستوى احتمال 5%.

** A scale of 1-5 was used to estimate the level of antagonism on PDA.

Means in each line with the same letters are not significantly different using Duncan's test at P=0.05.

الفطر الممرض. وقد جاءت نتائج تجربة التأثير المتعاودي بين المستخلص النباتي ورشاحة الفطور المضادة في إنبات أبواغ الفطور الممرضة (جدول 4) لتؤكد بشكل واضح كفاءة وفعالية التأثير المشترك للعاملين. وتميز مرة أخرى هذا التعااضد مع رشاحة الفطر المضاد *T. harzianum* والتي أعطت أقل نسبة إنبات لأبواغ الفطر الممرض *A. fabae* وهي 8.5% مقارنة بمعاملة الشاهد التي بلغت

فيها النسبة 89.5%. أكدت نتائج هذه الدراسة أن تعااضد مستخلص أوراق نبات النعناع مع الفطر المضاد *T. harzianum* أو رشاحته كان له دور هام في تثبيط الفطور الممرضة المرافقة لبذور البقوليات. ولذلك فإن مكافحتها يمكن أن يتحقق بشكل أفضل عند استخدام أسلوب تعااضد العاملين معاً عما لو استخدم أي من العاملين بشكل منفرد.

Abstract

Sarhan, A.R.T. 2006. Interaction of Horse-mint Leaf Extract with Fungal Antagonists on Some Legume Seed Borne Fungi. Arab J. Pl. Prot. 24: 118-124.

This study was conducted during 2000/2001, to investigate the efficiency of the combined effect of hot water leaf extract of horse-mint (*Mentha longifolia* L. Hands) and three antagonistic fungi: *Trichoderma harzianum*, *T. pseudokoningii* and *Penicillium pinophilum* against six pathogenic fungi associated with legume seeds: *Ascochyta fabae*, *Macrophomina phaseolina*, *Alternaria alternata*, *Dreschlera specifera*, *Fusarium solani* and *Curvularia lunata*. All tested concentrations of the leaf extract were found to reduce significantly mycelium growth and spore germination of pathogenic fungi associated with legume seeds. The concentrations of 20 and 30 g/l were effective in suppressing radial growth of *A. alternata*, *A. fabae*, *M. phaseolina* and *F. solani* to 2.8, 3.1, 3.9 and 2.5 cm and 2.1, 2.2, 2.2 and 2.0, for both concentrations, respectively, as compared with the control 8.9, 8.5, 8.8 and 8.2 cm. Similar results were obtained for spore germination. The results also showed that *T. harzianum* gave good level of antagonism against *A. alternata* and *C. lunata*. Interaction of the leaf extract and antagonistic fungus *Trichoderma* spp. resulted in 100% control of all pathogenic fungi followed by the interaction with *P. pinophilum*. The best combined to reduce radial growth and spore germination of pathogenic fungi was leaf extract with *T. harzianum*, which reduced the radial growth of *A. alternata* to 1.0 cm as compared to 9.0 cm for the control. Concerning the spore germination, the best result was against the pathogenic fungus *A. fabae*, where germination rate reached 8.5% as compared with 89.5% for the control. Results of this study indicated that interaction of leaf extract and antagonistic fungi or its filtrate inhibited completely mycelial growth and spore germination of the pathogenic fungi as compared with the application of each treatment alone.

Key words: seed borne fungi, plant extracts, antagonistic fungi, fungal filtrates, Iraq.

Corresponding author: A.R.T. Sarhan, Biology Department, College of Science, Al-Qadisiya University, Diwaniya, Iraq, Email: artsarhan@yahoo.com

References

1. أبو قمر، معين وأحمد الرداد. 2000. المكافحة المتكاملة لمرض الذبول الفيترتيسيليومي على الزيتون باستخدام الكريبتونول بالاشتراك مع الغرفة الشمسية والسماذ. مجلة وقاية النبات العربية، 18(2): 199.
2. الو نداوي، إحسان شفيق و اردلان أحمد دزي. 2000. تأثير البسترة بالطاقة الشمسية على حدوث اصابة الطماطة بفيروس موزايك الطماطة وعلى الإنتاجية. مجلة الزراعية العراقية، 5(7): 81-89.
3. حسن، محمد صادق. 1989. استخدام الطاقة الشمسية في بسترة التربة الزراعية بالعراق. مجلة وقاية النبات العربية، 7(2): 127-122.
4. لبابيدي، محمود صبري وهشام الزينب. 1994. المبيدات وحيوانات التربة. جامعة حلب، حلب، سورية. 297 صفحة.
5. مجيد، سامي هاشم ومهند جميل محمود. 1988. النباتات والأعشاب العراقية بين الطب الشعبي والبحث العلمي. مجلس البحث العلمي، مركز بحوث علوم الحياة، بغداد، العراق. 274 صفحة.
6. صلاح الشعبي، جورج ملوحي ولينا مطرود. 2001. تقدير فاعلية المبيدات الفطرية بينسيكورون وتولكلوفوس-ميثيل في مكافحة الفطر *Rhizoctonia solani* kuhn على البطاطا/البطاطس. مجلة وقاية النبات العربية، 19(2): 101-106.
7. عبد المنعم، عبد الله محمود ومحمد رفعت رسمي. 2000. الفطور والبكتريا المصاحبة لبذور المانجروف (*Avicennia* sp.) وبعض أساليب مكافحتها. مجلة وقاية النبات العربية، 18(1): 28-34.
8. سرهان، عبد الرضا طه. 2001. تأثير مستخلصات البذور على نمو اثنين من الفطريات الممرضة للنبات. مجلة القادسية، 6(1): 23-35.
9. سرهان، عبد الرضا طه وماجد هزاع البياتي. 1991. التضاد الحيوي للفطر *Alternaria alternata* باستخدام بعض الفطريات والبكتريا. مجلة العلوم الزراعية العراقية، 22(1): 205-215.
10. سرهان، عبد الرضا طه وعبد الأمير سمير سعدون. 1999. كفاءة مستخلص أوراق النعناع البري (*Mentha longifolia* L.) في التأثير على نمو الفطر *Fusarium solani*. مجلة القادسية، 14(1): 12-20.
11. سرهان، عبد الرضا طه وعبد الأمير سمير سعدون. 2000. دراسة تأثير بعض المستخلصات النباتية في الفطريات المرافقة لبذور الشعير المخزونة. المجلة العراقية للعلوم، 41(2): 122-139.
12. سرهان، عبد الرضا طه وعبد الأمير سمير سعدون. 2003. المكافحة الحيوية للفطور الممرضة المرافقة لحبوب الرز. مجلة وقاية النبات العربية، 21(2): 102-108.
13. سرهان، عبد الرضا طه وماجد كاظم الشبلي. 2000. المكافحة الإحيائية للفطرين *Fusarium solani* و *Curvularia lunata* المرافقة لبذور الرز. مجلة الزراعة العراقية، 5(6): 30-39.
14. سرهان، عبد الرضا طه ونيران عبيد جاسم. 2000. استخدام الطاقة الشمسية في تعقيم تربة البيوت البلاستيكية في حقول محافظة القادسية. مجلة علوم المستنصرية، 12(6): 447-454.
15. Al-Abed, A.S., J.R Qasem and H.A. Abo Blan. 1993. Antifungal effects of some common wild species on certain plant pathogenic fungi. Dirasat, 20B(3):178-179.
16. Barnett, H.L. and B.B. Hunter. 1972. Illustrated genera of imperfect fungi. 2nd ed. Burgess Publishing Com. Minnesota, USA. 241 pp.
17. Bell, D.K., H.O. Wells and C.R. Mar Kham. 1982. In vitro antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens. Phytopathology, 72: 379-382.

المراجع

23. **Luz, W.C.D.** 1994. Effect of microbes associated with seeds on the control of wheat pathogenic fungi. *Fitopathology Brasileira*, 19(2): 144-148.
24. **Qasem, J.R.** 1996. Fungicidal activity of *Ranunculus asiaticus* and other weeds against *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*. *Annals of Applied Biology*, 128: 533-540.
25. **Sarhan, A.R.T. and F.M. Sharif.** 1986. Integrated control of *Fusarium* wilt of pepper. *Acta Phytopathologica Academicae Scientiarum Hungarica*, 21(1-2): 123-126.
26. **Srivastava, S.I. and U.I. Kediya.** 1984. Effect of fern extracts on conidial germination and germ tube growth of two pathogenic fungi. *Indian Phytopathology*, 137: 561-563.
18. **Dixit, S.N., S.C. Tripathy and R.R. Upadhyey.** 1974. The anti-fungal substances of rose flower (*Rose indica*). *Economic Botany*, 30: 371-374.
19. **Domsch, K.H., W. Grams and T.H. Andersm.** 1980. *Compendium of soil fungi*. vol. 1 & 2 Academic Press, London (Newyork), Toronto, sydney, San Francisco. 404 pp.
20. **Dossantos, A.F. and O.D. Dhingra.** 1982. Pathogenicity of *Trichoderma* spp. on *Sclerotinia sclerotiorum*. *Canadian Journal of Botany*, 60: 472-475.
21. **Indu Jalali and N. Metha.** 1994. Evaluation of preplanting and post-harvest seed tuber treatment for the control of black scurf of potato. *Journal of the Indian Potato Association*, 21(3/4):226-230.
22. **Lifshitz, R., M.T. Windham and R. Baker.** 1986. Mechanism of biological of preemergence damping -off of pea by seed treatment with *Trichoderma* spp. *Phytopathology*, 76: 720-725.

Received: April 23, 2005; Accepted: July 6, 2006

تاريخ الاستلام: 2005/4/23؛ تاريخ الموافقة على النشر: 2006/7/6