مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم البيولوجية المجلد (38) العدد (4) 2016
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Biological Sciences Series Vol. (38) No. (4) 2016

تأثير مستخلص خشب المسكة *Robinia pseudoacacia* L في الفطريات المرافقة للصنف شام 8 المزروع في منطقة الغاب

الدكتور زكريا الناصر*

الدكتور وسيم الحكيم**

رشا بركات***

(تاريخ الإيداع 27 / 6 / 2016. قبل للنشر في 15 / 8 / 2016)

□ ملخّص □

أجري هذا البحث خلال الفترة بين 2014-2016 بكلية الزراعة بجامعة دمشق وهدف إلى تأثير مستخلص المسكة على الفطريات المرافقة للقمح صنف شام 8 المزروع في منطقة الغاب.

حيث أظهرت النتائج تباين في نسبة المادة المستخلصة من العينات الخشبية للمسكة. إذ كان وزن المادة الجافة (432.23مغ) (716.95مغ) لكل من الخشب العصاري والخشب القلبي على الترتيب، وجد أن أهم الفطريات المرافقة لحبوب القمح المجموعة هي : *Fusarium* sp. (36%) و *Alternaria* sp. (28%) و *Aspergillus* sp. (12%) و *Rhizopus* sp (9%) و *Penicillium* sp (6%) وفطريات غير معرفة بنسبة (9%)، ودلت النتائج على أنّ المستخلصات الخشبية للمسكة تباينت في تثبيط نمو الميسليوم للفطريات المختبرة (*Fusarium* sp. و *Alternaria* sp. و *Aspergillus* sp.) في الوسط المغذي وفقاً لنوع المستخلص والتركيز والفطر المستهدف. وقد ازداد تأثير مستخلصات الخلائط الخشبية بزيادة نسبة المادة الجافة للخشب القلبي فكلما زادت نسبة الخشب القلبي زاد التأثير المثبط في نمو الفطريات. ازدادت فاعلية الخلائط بزيادة تركيز الخشب القلبي. وجد من البيانات اختلاف التركيز النصفي لمستخلصات الخشب القلبي والخشب العصاري والخلائط الخشبية بشكل كبير. فقد أعطى مستخلص الخليط الخشبي (10:10) أعلى فاعلية بين المستخلصات المختبرة على الفطريات الثلاثة، حيث كانت قيم EC_{50} أقل من 46.50 و84.66 و139.54 ppm لكل من الفطريات *Aspergillus* sp. و *Fusarium* sp. و *Alternaria* sp. على الترتيب. بالمقابل أعطى مستخلص الخشب العصاري للمسكة أقل فاعلية على الفطريات المختبرة

الكلمات المفتاحية: مستخلصات خشبية، *Robinia pseudoacacia* L، فطريات، قمح ، *Fusarium* sp.

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

**أستاذ مساعد – قسم الموارد الطبيعية المتجددة والبيئة كلية الزراعة جامعة دمشق– سورية

*** ماجستير – قسم العلوم الاساسية كلية الزراعة جامعة دمشق– سورية

مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم البيولوجية المجلد (38) العدد (4) 2016
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Biological Sciences Series Vol. (38) No. (4) 2016

Robinia pseudoacacia L

Dr. Zakaraia ALnaser*
Wasem ALhakem**
Rasha Barakat***

(Received 27 / 6 / 2016. Accepted 15 / 8 /2016)

□ ABSTRACT □

The results showed a variation in the ratio of dry material derived from wood samples of (Robinia pseudoacacia L.). The dry matter weight was (432.23 mg) (716.95 mg) for each of the waterless wood and internal wood respectively.

It was found that the most important fungi associated with wheat seed group are: Fusarium sp. (36%) and Alternaria sp. (28%) and Aspergillus sp. (12%) and Rhizopus sp (9%) and Penicillium sp (6%) and fungi are not defined by (9%).

It was found that the wood extracts from (Robinia pseudoacacia L.) varied in the of the Almiceleom inhibition to the tested fungi growth (Fusarium sp. , Alternaria sp. and Aspergillus sp.) in the nutritious environment according to the type of the extracts, concentration and targeted fungi. The effect of the wood extracts has increased as the percentage of the dry matter of the heart wood increased. The incremental heart wood ratio increased inhibitory effect on the growth of fungi. On the other hand, the wood extract gave of waterless wood less effect of Miceleom inhibiting on the growth of tested fungi in general. The effectiveness of the mixtures Increased as heart wood concentration increased. It has been Found from the data that there was difference in migraine concentration of the heart wood extracts and waterless wood mixtures largely. the Extract of the mixture wooden gave (10:10) the highest efficiency among the three tested extracts on the fungus, where the EC50 values were less than 46.50, 84.66 and 131.54 ppm for each of the fungus (Aspergillus sp., Fusarium sp. And Alternaria sp. respectively.

* **Professor - Faculty of Agriculture –Damascus university - Syria.**
****Associate Professor - Faculty of Agriculture –Damascus university - Syria.**
*****Master - Faculty of Agriculture –Damascus university - Syria.**

مقدمة

تعد الأمراض الفطرية التي تصيب حبوب المحاصيل الحلقلية والنجليات في الحقل وتنتقل معها إلى المخزن من أهم العوامل التي تخفض من نوعية وإنبات هذه الحبوب، كما تؤدي إلى تخفيض فترة تخزينها وإطالة فترة انباتها وبالتالي إعطاء بادرات ضعيفة أو موتها. وتنتشر فطريات أعفان الحبوب مثل: *Penicillium* sp. و *Aspergillus* sp. و *Rhizopus* sp. و *Botrytis cinerea* و *Fusarium* sp. و *Rhizoctonia solani* وغيرها من الفطريات، بسرعة في ظروف المخزن بسبب توفر الرطوبة العالية ودرجات الحرارة المرتفعة المناسبة. ويمكن أن تحدث إصابة الحبوب بفطريات الأعفان في الحقل أو عن طريق المستودعات والعبوات الملوثة (Agrios ، 2005)، تستخدم عدة طرائق في مكافحة أمراض التخزين الفطرية مثل: التحكم بظروف المخزن من درجة حرارة ورطوبة ونسبة غاز ثاني أوكسيد الكربون إلى الأكسجين أو تستخدم الطرق الكيميائية بمعاملة الحبوب بالمبيدات الفطرية مثل benomyl و thiophanate-methyl و carboxin و thiram إلا أن هذه المعاملة لها آثار سلبية على الصحة وتلوث البيئة (Barkai-Golan, 2001)، أن الاستخدام العشوائي لهذه المبيدات، والتركيز عليها كوسيلة رئيسة أو الوحيدة لمكافحة الآفات، أدى إلى حدوث خلل كبير في التوازن الحيوي بين الكائنات وظهور سلالات مقاومة من الفطريات لبعض المبيدات الفطرية، مما يزيد من التكلفة ، يضاف إلى أن لبعض المبيدات الفطرية سمية نباتية على بعض المحاصيل، وكذلك تأثيرات سامة على الإنسان والكائنات الحية البرية والمائية نتيجة تلوث المنتجات الغذائية والتربة والمصادر المائية (De waard, *et al.*,1993).

نتيجة لذلك فقد بدأ الاتجاه الآن إلى التقليل من استخدام المبيدات بشكل عام وفي معاملة الحبوب بشكل خاص والبحث عن بدائل أخرى. فقام العديد من الباحثين بدراسة تأثير المستخلصات النباتية في تثبيط نمو الفطريات، وذلك كونها منتجات طبيعية وأمنه بيئياً ونادراً ما يكون لها سمية للانسان أو تلوث البيئة. حيث تعد النباتات الطبيه والعطرية مصدر هام وطبيعي لمركبات هامة في مكافحة الآفات (Bobbarala *et al.*, 2009) . ذكر Veitch وزملاؤه أنّ التركيب الكيميائي لمستخلصات أشجار المسكة *R. pseudoacacia* L. هي مركبات فلافونية مثل المركب robinin (kaempferol-3-*O*-ramnozilgalactozil- 7-ramnozide) ومركب acacetin-7-*O*-rutoside و apigenin و diosmetin وغيرها التي لها صفات صيدلانية هامة. ومن المعروف أن نبات المسكة من النباتات المقاومة للفطريات والأعفان إذ يعطي كميات كبيرة من المركبات الحيوية، وتحتوي أوراق شجرة المسكة تانيينات ومركبات فينولية وفلافونات التي لها نشاط حيوي (Nasir, *et al.*, 2005 و Putman, et al., 1989,). مستخلص الخشب القلبي للمسكة يعمل كمضاد فطري (Schultz and Nicholas, 2000). وجد Zhang *et al.,* 2008 أن المستخلص الكحولي للمسكة *Robinia pseudoacacia* بتركيز 80 مغ/ ليتر كان له دور في مكافحة البياض الدقيقي *Sphaerotheca fuliginea* على الخيار. أثبت الباحثان Hosseinihashemi و Kanani(2012) وجود العديد من المركبات في خشب المسكة *Robinia pseudoacacia* المستخلص بالكحول والهكسان وهذه المركبات معروفة في تثبيط العديد من الفطريات والبكتريا من أهمها: Hexadecanoic acid و31و-(Z,Z) 9,12-Octadecadienoic acid و Stigmasterol و Phenol و Octadecane . أثبت Rosu وزملاؤه (2012) أن المستخلص الكحولي لأوراق وحبوب ولحاء المسكة ثبط العديد من الميكروبات وفسر سبب تأثيرها على الميكروبات وجو كميات عالية من المركبات الفينولية والزيوت الطياره والفلافونيات والتانينات ومن أهم هذه الميكروبات: *Escherichia coli,* ، *Pseudomonas aeruginosa,* ، *Salmonella choleraesuis,* ,

Candida albicans. . واستنتج إمكانية استخدام بعض مستخلصات المسكة كبديل طبيعي في التأثير على الميكروبات والفطريات. وجد Hossseinihashemi وزملاؤه (2016) أنّ مستخلص خلات الايثيل لقشر شجرة للمسكة أعطى أعلى فاعلية في تثبيط نمو فطر *Trametes* versicolor عند التراكيز 12.5 و25 و50 مغ/ليتر في الوسط المغذي تلاه مستخلص الخشب القلبي في حين أعطى مستخلص الأوراق أقل فاعلية في تثبيط نمو ميسليوم الفطر المختبر.

وجد الناصر وزملاؤه (2013) أنّ تأثير المستخلص الزيتي لأزهار و الحبوب الخضراء والجافة للأزدرخت في نمو الفطريات *B. cinerea* و*P. digitatum* كانت متباينة. حيث أعطى المستخلص الزيتي لأزهار الأزدرخت تأثيراً منخفضاً نسبياً في نمو المشيجة لكلا الفطرين فقد كانت نسبة التثبيط 55.29% و68.23% و81.81% للفطر *B. cinerea* و51.43 % و 62.86% و 70 % للفطر *P. digitatum* عند التراكيز المرتفعة 300 و 400 و 500 ميكروليتر/ ليتر الوسط المغذي. وجدت Horita و Kodama (1996) أن المستخلصات المائية والزيوت الأساسية لكل من الشيح الأبيض والقرطوفة والنعناع الفلفي والزعتر أدت إلى خفض معدل إنبات الأبواغ والنمو الشعاعي للفطر *Fusarium oxysporum* f.sp*. albedinis* المسبب لمرض البيوض على النخيل وازداد تأثير المستخلصات بزيادة التركيز. وجد Nguefack وزملاؤه (2004) أن الزيوت الطيارة لكل من *Ocimum gratissimum* و *Thymus vulgaris* و *Cymbopogon citrates* كانت فعالة في تثبيط نمو الفطريات *Fusarium moniliforme* و *Aspergillus flavus* و *Aspergillus fumigates* عند التراكيز 800 و 1000 و 1200 ppm على الترتيب. وجده Siva وزملاؤه (2008) أنّ تأثير المستخلصات النباتية تتباين وفقاً لنوع المذيب المستخدم في الاستخلاص والتركيز. فقد أعطى المستخلص الأسيتوني لأوراق *Azadirachta indica* نسبة تثبيط 98% للفطر *F. oxysporum* ، بينما أدى المستخلص الايثانولي والمائي إلى نسبة تثبيط 96%. وقد أعطى المستخلص المائي لأوراق نبات *Adhatoda vasica* نسبة تثبيط للفطر 72% و100 % عند التراكيز 10% و40% على التوالي.

طرائق البحث و موادها

- مكان وتاريخ البحث :

كلية الزراعة جامعة دمشق خلال الفترة بين 2014 - 2016

- جمع العينات:

- أشجار المسكة بعمر 35 سنة تقريباً للحصول على الخشب العصاري والخشب القلبي – كلية الزراعة جامعة دمشق.

- تم جمع عينات حبوب القمح (*Triticum aestivum* L.) صنف شام 8 ، من منطقة الغاب (في شهر أيلول موسم 2014، غير معقمة بالمبيدات الفطرية خالية من الكسر أو الإصابات الحشرية). كل عينة تقريباً 200 غ وتم دمج العينات لتشكل عينة كاملة بوزن 5 كغ . وضعت الحبوب في كيس ورقي وخزنت في براد عند درجة حرارة 5-7 ^{o}C لحين الاستخدام.

- تحضير نشارة الخشب العصاري والقلبي للمسكة:

تم أخذ عدد من السبرات الخشبية على مستوى ارتفاع الصدر من أشجار (عمر 35 سنة فما فوق) للمسكة ومن ثم جففت هوائياً، حتى الوصول إلى نسبة رطوبة 10% (تم قياس الرطوبة بميزان الحرارة المدمج). وفصل منها الخشب

القلبي عن الخشب العصاري الذي تم طحنه للحصول على النشارة الخشبية اللازمة للاستخلاص (نشارة بأبعاد ميليمترية) وذلك باستخدام مطحنة من طراز TR 20. ثم حُضر خليط من الخشب القلبي والخشب العصاري (وزن/وزن) بالنسب التالية : 17.5:2.5 و 5: 15 و12.5:7.5 و10:10 على الترتيب.

-تقدير المحتوى الرطوبي لكل من نشارة الخشب القلبي و العصاري للمسكة بطريقة حميد (2007) كما يلي:

مبدأ تقدير الرطوبة: تعتمد هذه الطريقة على مبدأ تقدير النسبة المئوية للفقد الرطوبي لدى تجفيف العينات على درجة حرارة 103 ± 2 مئوية حتى ثبات الوزن (عادة أكثر من 18 ساعة). والمقصود بثبات الوزن ألا يكون الفرق بين وزنتين متتاليتين كل 2 ساعة أكثر م 0.002 غ.

حيث وُزنت العينات قبل التجفيف وبعد التجفيف (بدقة 0.001غ) حيث توضع في الوعاء الزجاجي الذي يحوي على مادة السيليكات (الديسيكاتور) بعد التجفيف كي تبرد. وبعد ذلك تحسب نسبة الرطوبة من العلاقة التالية:

$$H(\%) = \frac{m_H - m_O}{m_O}.100$$

حيث أن: H(%) الرطوبة كنسبة مئوية. m_H: وزن العينة الرطب (الخضراء) غ. m_O: وزن العينة بعد التجفيف غ.

- الحصول على مستخلص الإيثانول /سيكلوهكسان (Fengel and Przyklenk, 1983) و (Lelis, 1995) : تم الحصول على مستخلص الإيثانول / سيكلوهكسان من نشارة الخشب العصاري والقلبي للمسكة والخلائط المحضرة مسبقاً باستخدام جهاز سوكسيليت بوضع عينة بوزن 20 غ من نشارة الخشب الجافة في فلتر أنبوبي الشكل من السللوز (كشتبان) إذ تم الاستخلاص باستخدام 200 مل من مزيج الإيثانول /سيكلوهكسان بنسبة حجمية 2:1 توضع في دورق زجاجي (يوزن الدورق مسبقاً) بعد وضع حجارة منظمة للغليان ويستمر الاستخلاص مدة ست ساعات بجهاز السوكسيليت بعد ذلك تم تكثيف المستخلص باستخدام جهاز المبخر الدوراني تحت تفريغ. تم تجفيف المستخلص بوضع الدورق الزجاجي الحاوي على المستخلص في مجففة (الديسيكاتور) مدة 24 ساعة (يوزن الدورق بعد تجفيف المستخلص)، من فرق وزن الدورق تمت معرفة وزن المستخلص الخشبي، بعد ذلك تم حل المستخلص في 10 مل من محلول الإيثانول/سيكلوهكسان للحصول على المحلول الأساسي، ونقلت إلى زجاجة بنية اللون حافظة وحفظت في البراد لحين استخدامه.

-تحضير أوساط زراعة الفطريات:

تم تحضير بيئة البطاطا دكستروز الأجار (PDA) كوسط لزراعة الفطريات في المخبر والمضاف إليه المضادات الحيوية Ampicillin (100 جزء بالمليون) و Streptomycin (100 جزء بالمليون). وفقًا لطريقة Riker and Riker (1936).

- التجارب:

أ - عزل الفطريات وتعريفها:

استخدمت طريقة International Seed Testing Association (Anonymous, 1976.) مع التعديل إذ استخدم وسط الزراعة الصناعي (PDA) بدل أوراق الترشيح (فقد أثبت العديد من الباحثين أنّ استخدام وسط الزرع بطاطا دكستروز أجار أفضل من استخدام ورق الترشيح في عزل الفطريات المحمولة عن طريق الحبوب(Khattak, *et*

al., 1993 و Nasir,2003). تم تحضير 25 طبق بتري قطر 9 سم معقمة ثم مُلئت بـ 15 مل وسط مغذي (بيئة PDA) معقم وتركت حتى درجة التصلب وضعت 4 حبوب قمح صنف شام 8 في كل طبق وحضنت الأطباق في حاضنات خاصة على درجة حرارة 25 درجة وإضاءة (12 إضاءة: 8 ظلام) لمدة 7 أيام لتسمح للفطريات المحمولة على الحبوب بالنمو. تم تعريف الفطريات وفقاً لصفات المستعمرة الشكلية واللون وصفات الميسليوم والأبواغ تحت الميكروسكوب وفقاً للمفاتيح التصنيفية (Kamal & Mughal, 1968 (Booth (1971 و .Barnett, and Hunter 1987. و Khan *et al*., 1994) . تم عد المستعمرات الفطرية وحسبت النسبة المئوية لتردد الفطريات.

ب – **تنقية وإكثار الفطريات الأكثر تردداً في الحبوب(** *Alternaria* sp. **و** *Fusarium* sp. **و** *Aspergillus* sp.):

تم أخذ أطباق بتري تحتوي على مستعمرات بعمر ثلاثة أيام من الفطريات (*Alternaria* sp. **و** *Fusarium* sp. **و** *Aspergillus* sp.). تم إكثارها بأخذ أقراص بقطر 5 مم من أطراف المستعمرة وتوضع في مركز أطباق بتري تحتوي على وسط مغذي بطاطا دكستروز أجار PDA وتم تحضينها على درجة حرارة 25 ± 2 درجة مئوية المناسبة للفطر لمدة 7 أيام .

ت – تحضير المستخلصات:

تم اختبار كل من مستخلص الخشب العصاري لوحده، ومستخلص الخشب القلبي لوحده، ومستخلصات الخلائط للخشب القلبي والعصاري بالنسب المذكورة سابقاً.

ث– اختبار تأثير المبيد الفطري القياسي والمستخلصات الخشبية للمسكة في تثبيط نمو الميسيليوم لكل من الفطريات الثلاثة:

تم اختبار فاعلية المستخلصات الخشبية للمسكة في تثبيط نمو الفطريات المختبرة في المستنبت المغذي بطريقة تسميم البيئة The Poison Food Technique الموصوفة من قبل المعمار وزملاؤه (2015) بالتراكيز الآتية: 0، 50 ، 100، 150، 300،500، ppm750 . (تم التأكد بتجارب أولية عدم تأثير المذيبات المستخدمة على نمو الفطريات المدروسة عند استخدام المحلات العضوية بالكمية العظمى).

في حين تم استخدام التراكيز التالية للمبيد 0 (شاهد)، 12.5، 25، 50، 100، 150، 200 ، ppm 250 . تم تحضير المعلق المائي للمبيد الفطري بإذابة كمية مناسبة من المبيد في الماء المقطر والمعقم لتشكيل المعلق الأساسي (Stock) بتركيز ppm 1000، وتم تحضير التراكيز المتتالية. تم اعتماد التراكيز المختبرة للمستخلصات والمبيد بعد القيام بتجارب أولية تمهيدية لتحديد مجال الفاعلية . تم تحضير دوارق سعة 250 مل ووضع فيها 100 مل مستنبت غذائي بطاطا دكستروز أجار وتم تعقيمها في جهاز التعقيم الرطب/ الاوتوكلاف/. تم إضافة كمية مناسبة من معلق المبيد أو المستخلصات المختبرة إلى المستنبت المغذي عند درجة حرارة 50 درجة مئوية بعد عملية التعقيم لإعطاء التركيز المناسب وقد أضيف للوسط مادة Tween 20 بنسبة (0.1%) للمساعدة على الاستحلاب بشكل جيد. صُب الوسط المغذي المعامل في أطباق بتري قطر 90 مم معقمة وتركت حتى تتصلب. وبعد ذلك تم عدوى الأطباق بالفطر المدروس وذلك بوضع قرص 5 مم من ميسليوم الفطر (كل فطر على حدة)، وبمعدل ثلاثة أطباق لكل تركيز (مكرارت)، وحضنت الأطباق على درجة حرارة 25± 2 درجة مئوية لمدة 7 أيام. تم قياس المستعمرات وذلك بقياس قطرين متعامدين للمستعمرة وأُخذ المتوسط .

وحسبت نسبة التثبيط وفقاً لمعادلة(1947):Vincent

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

رسم خطوط السمية تحديد قيمة التركيز المثبط النصفي (EC_{50}):

تم حساب قيمة تركيز المبيد الفطري المسبب لتثبيط 50 % من نمو الميسليوم لكل فطر (EC_{50})عن طريق رسم خطوط السمية التي تربط العلاقة بين التركيز ونسبة التثبيط وفقاً لطريقة رسم منحنى السمية Beck وزملاؤه(1989).

ج - التحليل الاحصائي:

تم تحليل النتائج وفق برنامج التحليل الإحصائي SPSS. 20، حيث استخدم التصميم العشوائي الكامل وتم حساب قيمة أقل فرق معنوي(L.S.D) بمستوى معنوية 0.05.

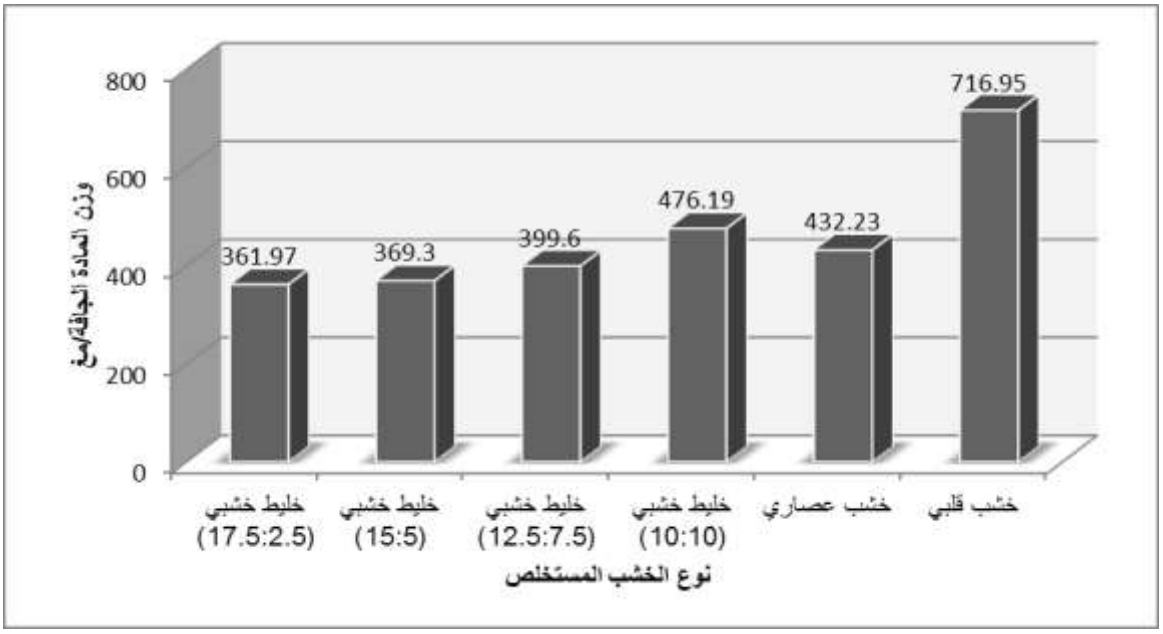
التحليل الإحصائي:

تم تحليل النتائج وفق برنامج التحليل الإحصائي SPSS. 20، حيث استخدم التصميم العشوائي الكامل وتم حساب قيمة أقل فرق معنوي(L.S.D) بمستوى معنوية 0.05.

النتائج والمناقشة

أولاً: نسبة الرطوبة والمادة الجافة في الخشب العصاري والخشب القلبي والخلائط من نوعي الخشب المسكة:

أظهرت النتائج تباين في نسبة المادة الجافة المستخلصة من العينات الخشبية للمسكة شكل (2). إذ كان وزن المادة الجافة (432.23 مغ) (716.95 مغ) لكل من الخشب العصاري والخشب القلبي على الترتيب. في حين كان وزن المادة الجافة في حالة الخلائط من الخشب القلبي والخشب العصاري (17.5:2.5 و 15:5 و 12.5:7.5 و10:10) كالتالي: 361.97 و 369.3 و 399.6 و 432.23 مغ على الترتيب. ونلاحظ زيادة نسبة المادة الجافة المستخلصة بزيادة تركيز الخشب القلبي. **وكانت نسبة الرطوبة في الخشب القلبي 6.37% وفي الخشب العصاري 7.25%.**



شكل 2: نسبة المادة الجافة في الخشب العصاري والخشب القلبي والخلائط من نوعي خشب المسكة.

ثانياً : نسبة تردد الفطريات المحمولة على بذار القمح شام 8 المجموعة من منطقة الغاب:

وجد أن أهم الفطريات المحمولة على حبوب القمح المجموعة من منطقة الغاب (صنف شام 8) هي: *Fusarium* sp.(36%) و *Alternaria* sp. (28%) و *Aspergillus* sp. (12%) و *Rhizopus* sp (9%) و *Penicillium* sp (6%) وفطريات غير معرفة بنسبة (9%) جدول (1) وشكل(3). تتوافق نتائجنا مع كثير من الباحثين، فقد ذكر وجود الفطريات المحمولة عن طريق حبوب القمح من قبل العديد من الباحثين وأهم الفطريات: *Fusarium* sp. و *Alternaria* sp. و *Aspergillus* sp. (Hossain and Schlosser, 1993 و Rajput *et al*. 2005 و Fakhrunnisa *et al*. 2006 و Pathak and Zaidi 2013). فقد ذكر Awad و Baka (2014) أنّ أهم الفطريات المحمولة عن طريق حبوب القمح *Aspergillus flavus* و *A. niger* و *F. moniliforme* و *Curvularia lunata* و *Penicillium chrysogenum* . وتتوافق هذه النتائج أيضاً مع Islam وزملاؤه (2015b) إذ وجدو أنّ أكثر الفطريات تواجداً على حبوب القمح هي *Bipolaris* و *Alternaria* و *Fusarium* و *Aspergillus* .

جدول 1: تردد الفطريات المرافقة لحبوب القمح صنف شام 8 والمجموعة من منطقة الغاب لموسم عام 2014.

اسم الفطر	حبوب قمح صنف شام 8
	النسبة المئوية لتردد الفطريات %
***Alternaria* sp.**	**28**

***Fusarium* sp.**	**36**
Aspergillus sp.	**12**
***Rhizopus* sp.**	**9**
***Penicillium* sp.**	**6**
فطريات غير محددة	**9**

شكل 3: تردد الفطريات المرافقة لحبوب القمح صنف شام 8 والمجموعة من منطقة الغاب لموسم عام 2014.

ثالثاً- تأثير مستخلصات خشب المسكة (*R. pseudoacacia* L.) في نمو الفطريات *Aspergillus* sp. و*Fusarium* sp. و*Alternaria* sp. في الوسط المغذي بالمخبر:

تم في هذه التجربة دراسة تأثير مستخلصات خشب المسكة (مستخلص الخشب العصاري ومستخلص الخشب القلبي والخلائط من الخشب القلبي والخشب العصاري (17.5:2.5 و15:5 و12.5:7.5 و10:10) وزن / وزن في نمو الفطريات الثلاثة (*Aspergillus* sp. و*Fusarium* sp. و*Alternaria* sp.) بطريقة تسميم الوسط المغذي في المخبر، ولسهولة الدراسة سوف نناقش كل مستخلص على حدا:

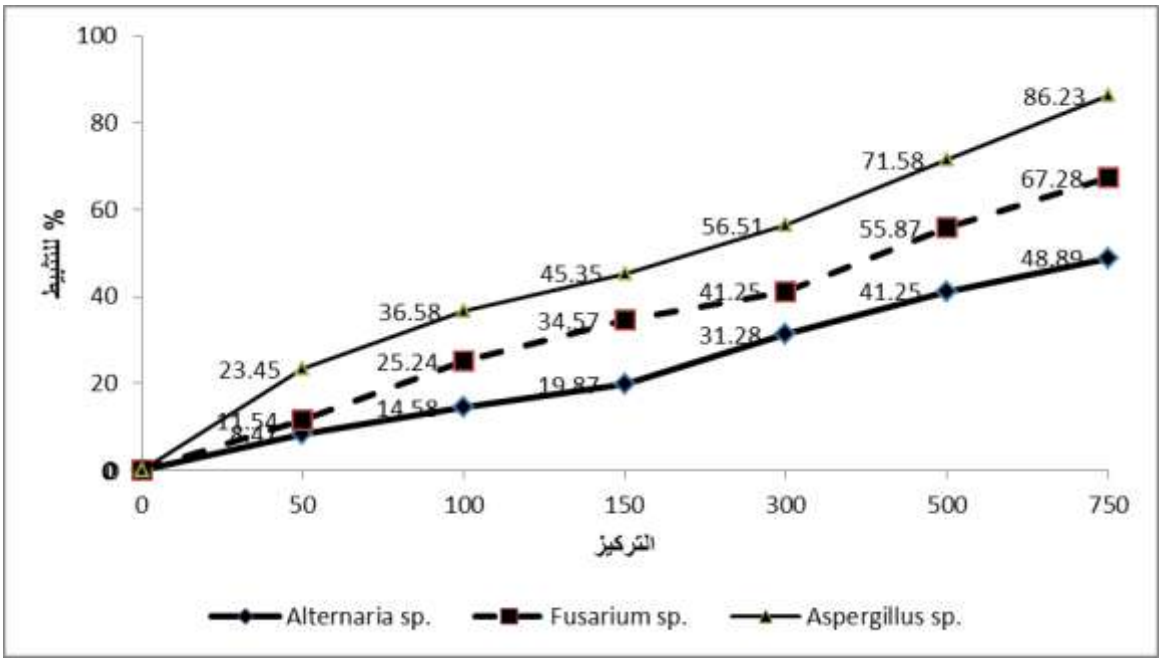
تأثير مستخلص الخشب العصاري للمسكة:

تظهر النتائج في الجدول 2 والشكل 4 أن مستخلص الخشب العصاري للمسكة أعطى تأثيراً منخفضاً في تثبيط نمو الفطريات الثلاثة المختبرة من التركيز 50 -150ppm. إذ كانت نسب تثبيط نمو الميسليوم الفطري 19.87% و 34.57% و45.35% لكل من الفطريات *Alternaria* sp. و*Fusarium* sp. و*Aspergillus* sp. عند التركيز 150ppm على الترتيب. وقد ازدادت فاعلية مستخلص الخشب العصاري للمسكة تدريجياً بزيادة التركيز. إلا أنه لم يحدث تثبيطاً كلياً لنمو الميسليوم للفطريات الثلاثة عند التركيز الأعظمي المختبر (750 ppm) إذ كانت نسب التثبيط لنمو الميسليوم: 48.89% و67.28% و86.23% لكل من الفطريات *Alternaria* sp. و*Fusarium* sp. و *Aspergillus* sp. على الترتيب. وقد أعطى المستخلص الخشب العصاري تثبيط معنوي لفطر *Aspergillus* sp. مقارنة بالفطر *Fusarium* sp. والفطر *Alternaria* sp. . وكان الفطر *Alternaria* sp. أكثر مقاومةً لمستخلص الخشب العصاري للمسكة وبفرق معنوي مقارنة مع الفطران الآخران. وهذه النتائج تتوافق مع Rosu وزملاؤه (2012) أن المستخلص الكحولي لأوراق وحبوب ولحاء المسكة ثبط العديد من الميكروبات وفسر سبب تأثيرها على الميكروبات وجود كميات عالية من المركبات الفينولية والزيوت الطياره والفلافونيات والتانينات. ومع ماوجده Hossseinihashemi (2016) أنّ مستخلص خلات الايثيل لقشر شجرة للمسكة أعطى أعلى فاعلية في تثبيط نمو فطر *Trametes* versicolor عند التراكيز 12.5 و25 و50 مغ/ليتر في الوسط المغذي.

جدول 2 : تأثير مستخلص الخشب العصاري للمسكة (*R. pseudoacacia*) في في النسبة المئوية لتثبيط الميسليوم (%) للفطريات المختبرة بعد 7 أيام من التحضين في المخبر.

التركيز Ppm	*Aspergillus* sp.	*Fusarium* sp.	*Alternaria* sp.
	النسبة المئوية لتثبيط نمو الميسليوم(%)		
0	0	0	0
50	23.45	11.54	8.47
100	36.58	25.24	14.58
150	45.35	34.57	19.87
300	56.51	41.25	31.28
500	71.58	55.87	41.25
750	86.23	67.28	48.89

قيم L.S.D 5% = 2.17 بين التراكيز ، وبين الفطريات = 3.24



شكل 4: تأثير مستخلصات الخشب العصاري للمسكة (*R. pseudoacacia* L.) في الفطريات المختبرة.

تأثير مستخلص خليط الخشب القلبي والعصاري (17.5:2.5) للمسكة:

أعطى مزيج مستخلص الخشب القلبي والعصاري **(17.5:2.5)** أعلى فاعلية في تثبيط النمو الميسليومي لفطر *Aspergillus* sp. وبفرق معنوي مقارنةً بالفطر *Fusarium* sp. والفطر *Alternaria* sp. (جدول 3 وشكل 5). إذ أعطى المزيج نسبة تثبيط أعلى من 50% لنمو الفطر *Aspergillus* sp. عند التركيز 150 ppm ، في حين أعطى

نسبة تثبيط 37.84% لفطر *Fusarium* sp. و 26.57% لفطر *Alternaria* sp. عند ذات التركيز. وقد ازداد التأثير المثبط لخليط الخشب القلبي والعصاري في نمو الفطريات المختبرة الثلاثة بزيادة التركيز وبفروق معنوية بين التراكيز. وكان الفطر *Aspergillus* sp. أكثر الفطريات المختبرة حساسية لمزيج الخشب القلبي والعصاري (17.5:2.5) تلاه في ذلك الفطر *Fusarium* sp. . بالمقابل كان الفطر *Alternaria* sp. أكثر الفطريات مقاومة لفاعلية الخليط الخشبي .

إذ بلغت نسبة التثبيط 88.56% و 71.58% و 55.25% لكل من الفطريات *Aspergillus* sp. و *Fusarium* sp. و *Alternaria* sp. على الترتيب. وهذه النتائج تتوافق مع والناصر وابراهيم (2011) والناصر وحميد 2011.

تأثير مستخلص خليط الخشب القلبي والعصاري (15:5) للمسكة:

تشير البيانات في الجدول 4 والشكل 6 أنّ مزيج مستخلص الخشب القلبي والعصاري (15:5) أعطى فاعلية منخفضة ومتدرجة في تثبيط نمو الفطر *Alternaria* sp. وأعطى فاعلية متوسطة في تثبيط نمو الفطر *Fusarium* sp. . في حين أعطى أعلى فاعلية معنوية في تثبيط نمو الفطر *Aspergillus* sp.إذ بلغت نسب التثبيط 45.87% و 55.87% و74.25% عند التركيز 300 ppm لكل من الفطريات الثلاثة على الترتيب. وكان واضحاً من البيانات زيادة فاعلية مستخلص الخشب القلبي والعصاري (15:5) بزيادة التركيز في تثبيط نمو ميسليوم الفطريات الثلاثة المختبرة. وأظهر التحليل الإحصائي فروق معنوية في تأثير الخليط بين الفطريات وكذلك بين التراكيز. فقد كانت نسب التثبيط 96.23% و 77.98% و 67.58% لكل من الفطريات *Aspergillus* sp. و *Fusarium* sp. و *Alternaria* sp.، عند التركيز 750ppm على الترتيب. وهذه النتائج تتوافق مع وجده Siva وزملاؤه (2008) أنّ تأثير المستخلصات النباتية تتباين وفقاً لنوع المذيب المستخدم في الاستخلاص والتركيز. وتتوافق مع Yasmin, وزملاؤه (2008) .

– تأثير مستخلص خليط الخشب القلبي والعصاري (12.5:7.5) للمسكة:

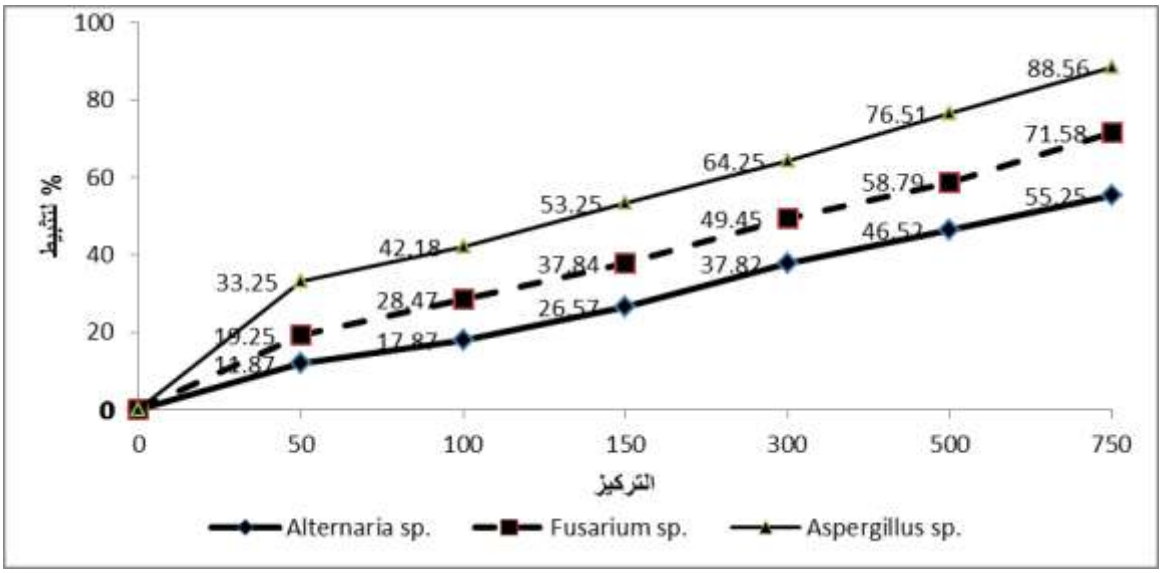
أعطى مستخلص خليط الخشب القلبي والعصاري (12.5:7.5) للمسكة فاعلية عالية في تثبيط نمو الفطريات *Aspergillus* sp. و *Fusarium* sp. و *Alternaria* sp. عند التركيز 150 ppm وازداد التأثير بشكل كبير بزيادة التركيز (جدول، 5 وشكل،7). فقد كانت نسب التثبيط 82.68% و 67.21% و 51.13% لكل من *Aspergillus* sp. و *Fusarium* sp. و *Alternaria* sp. عند التركيز 300ppm على الترتيب. وكان هناك فروق معنوية في تأثير الخليط بين الفطريات وكذلك بين التراكيز. بالمقابل كان الفطر *Aspergillus* sp. أكثر الفطريات المختبرة حساسية لمستخلص خليط الخشب القلبي والعصاري (12.5:7.5) تلاه في ذلك الفطر *Fusarium* sp. إذ كانت نسب التثبيط لنمو الفطرين في الوسط المغذي 100% و93.78% عند التركيز 750ppm على الترتيب. في حين كان الفطر *Alternaria* sp. متحمل الخليط إذ كانت نسبة التثبيط 79.80% عند التركيز نفسه. وهذه النتائج تتوافق مع درس الباحثان Moslem و El–Kholie (2009) تأثير مستخلصات الايثانول – الهكسان والميثانول لحبوب وأوراق النيم (*Azadirachta indica*) على الفطريات الممرضة للنباتات التالية : *Alternaria solani* و *F. oxysporum* و *Rhizoctonia solani* و*Sclerotinia sclerotiorum* وجدا أن هذه المستخلصات تثبط نمو الفطريات المختبرة، وقد تفاوتت نسبة تثبيط الفطور المختبرة وفقاً لنوع المستخلصات والتراكيز المختلفة. ووجد أنها كانت

فعالة في تثبيط كل الفطور المختبرة وكانت الفطريات *F. oxysporum* و *Rhizoctonia solani* أكثر الفطريات حساسيةً له.

جدول 3: تأثير مستخلص خليط الخشب القلبي والعصاري (17.5:2.5) للمسكة (*R. pseudoacacia*) في النسبة المئوية لتثبيط الميسليوم (%) للفطريات المختبرة بعد 7 أيام من التحضين في المخبر.

التركيز Ppm	*Aspergillus* sp.	*Fusarium* sp.	*Alternaria* sp.
	النسبة المئوية لتثبيط الميسليوم (%)		
0	0	0	0
50	33.25	19.25	11.87
100	42.18	28.47	17.87
150	53.25	37.84	26.57
300	64.25	49.45	37.82
500	76.51	58.79	46.52
750	88.56	71.58	55.25

قيم L.S.D 5% = 2.78 بين التراكيز ، وبين الفطريات = 3.52

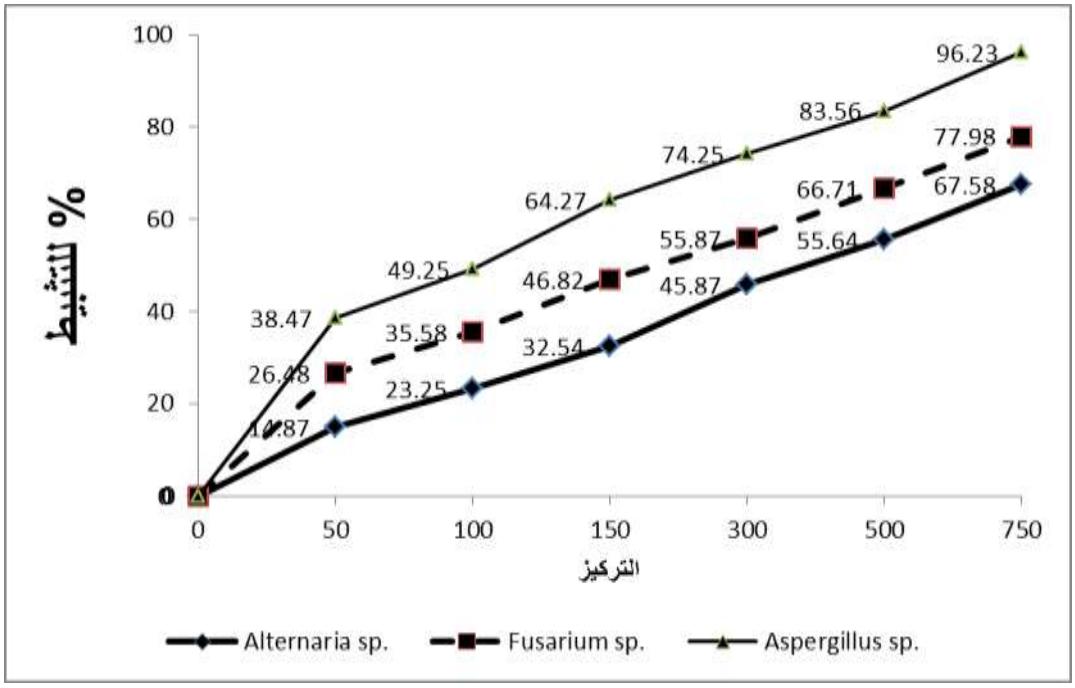


شكل5: تأثير مستخلص خليط الخشب القلبي والعصاري (17.5:2.5) المسكة (*R. pseudoacacia* L.) الفطريات المختبرة.

جدول 4 : تأثير مستخلص خليط الخشب القلبي والعصاري (15:5) للمسكة (*R. pseudoacacia*) في النسبة المئوية لتثبيط الميسليوم (%) للفطريات المختبرة بعد 7 أيام من التحضين في المخبر.

Alternaria sp.	*Fusarium* sp.	*Aspergillus* sp.	التركيز Ppm
النسبة المئوية لتثبيط الميسليوم (%)			
0	0	0	0
14.87	26.48	38.47	50
23.25	35.58	49.25	100
32.54	46.82	64.27	150
45.87	55.87	74.25	300
55.64	66.71	83.56	500
67.58	77.98	96.23	750

قيم L.S.D 5% = 3.24 بين التراكيز ، وبين الفطريات = 4.52



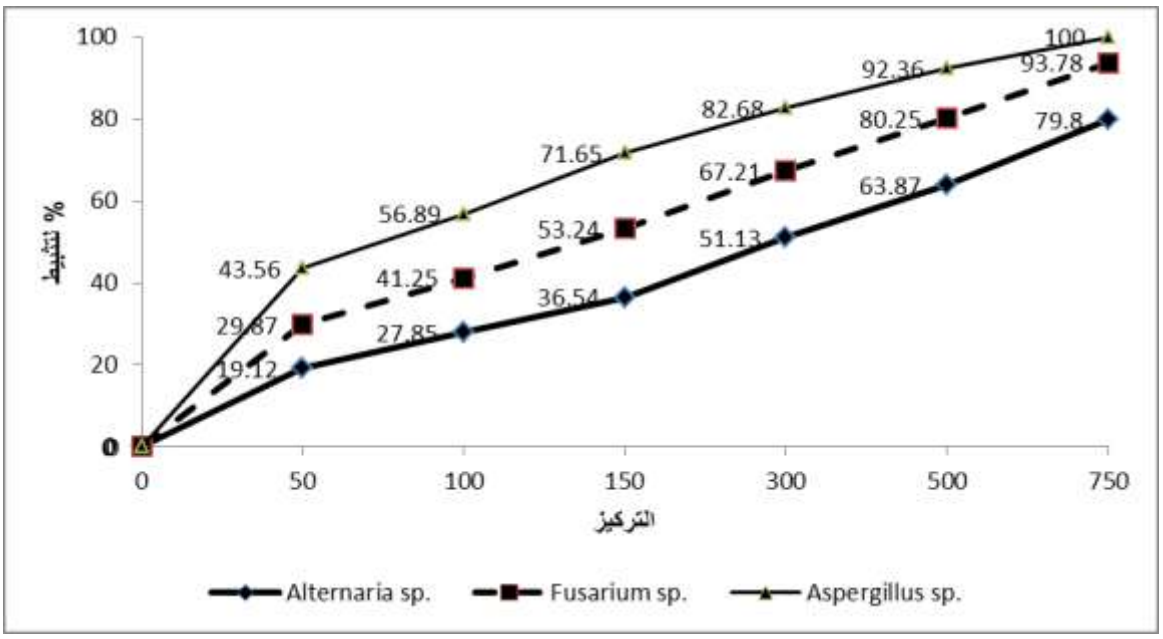
شكل 6: تأثير مستخلص خليط الخشب القلبي والعصاري (15:5) المسكة (*R. pseudoacacia* L.) في الفطريات المختبرة.

جدول 5 : تأثير مستخلص خليط الخشب القلبي والعصاري (12.5:7.5) للمسكة (*R. pseudoacacia*) في النسبة المئوية لتثبيط الميسليوم (%) للفطريات المختبرة بعد 7 أيام من التحضين في المخبر.

Alternaria sp.	*Fusarium* sp.	*Aspergillus* sp.	التركيز Ppm
النسبة المئوية لتثبيط الميسليوم(%)			
0	0	0	0
19.12	29.87	43.56	50

27.85	**41.25**	**56.89**	**100**
36.54	**53.24**	**71.65**	**150**
51.13	**67.21**	**82.68**	**300**
63.87	**80.25**	**92.36**	**500**
79.80	**93.78**	**100**	**750**

قيم L.S.D 5% = 3.48 بين التراكيز ، وبين الفطريات = 4.36



شكل 7: تأثير مستخلص خليط الخشب القلبي والعصاري (12.5:7.5) لروبينيا (*R. pseudoacacia* L.) في الفطريات المختبرة.

تأثير مستخلص خليط الخشب القلبي والعصاري (10:10) للمسكة:

توضح البيانات في الجدول 6 والشكل 8 أنّ مستخلص خليط الخشب القلبي والعصاري (10:10) للمسكة أعطى فاعلية كبيرة في تثبيط نمو الفطريات الثلاثة المختبرة الفطريات *Aspergillus* sp. و *Fusarium* sp. و *Alternaria* sp.. إذ كانت نسب التثبيط 74.14 % و 56.58% و 46.58% لكل من الفطريات *Aspergillus* sp. و *Fusarium* sp. و *Alternaria* sp. عند التركيز 100 ppm على الترتيب. في حين كانت نسب التثبيط عند التركيز الأعظمي (750ppm) كالتالي: 100% و 98.16% و 96.25% لكل من الفطريات الثلاثة السابقة على الترتيب. وقد ازدادت فاعلية المزيج بزيادة التركيز والعكس بالعكس. وبالتحليل الإحصائي وجد فروق معنوية بين التراكيز وكذلك بين الفطريات. وهذه النتائج تتوافق مع Fawzi و زملاؤه (2009)

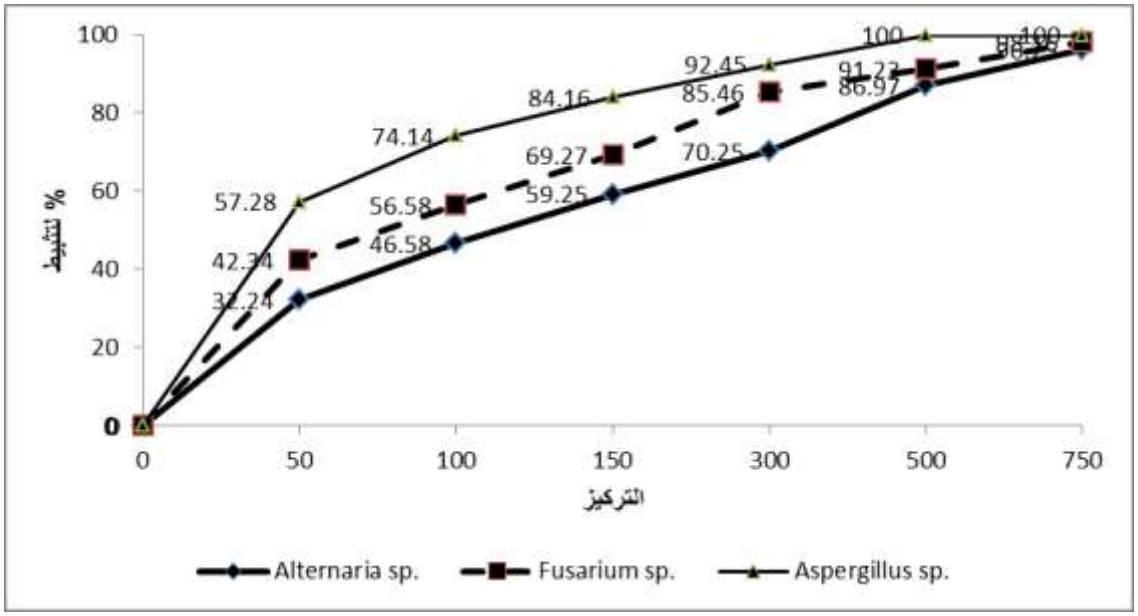
تأثير مستخلص الخشب القلبي للمسكة:

أعطى التحليل الإحصائي فروق معنوية في تأثير مستخلص الخشب القلبي للمسكة في تثبيط نمو الفطريات الثلاثة المختبرة. كما كان واضحاً وجود فروق معنوية بين التراكيز المستخدمة فكلما زاد التركيز زادت الفاعلية (جدول 7 وشكل 9). فقد كان الفطر *Alternaria* sp. أقل حساسية تجاه المستخلص الخشب القلبي للمسكة، في حين كان الفطر *Aspergillus* sp. أكثر الفطريات الثلاثة المختبرة حساسية لمسخلص الخشب القلبي. وأعطى مستخلص الخشب القلبي للمسكة أعلى فاعلية في تثبيط نمو الفطريات الثلاثة المختبرة فقد تراوحت نسب التثبيط بين (77.25% – 100 %) لنمو الفطر *Aspergillus* sp. و (62.57% – 98.16%) لنمو الفطر *Fusarium* sp. و(41.23% – 83.25%) لنمو الفطر *Alternaria* sp. عند التركيزين 150 و ppm750 على الترتيب. وهذه النتائج تتوافق مع Hosseinihashemi و Kanani (2012) إذ اثبتا وجود العديد من المركبات في خشب المسكة *Robinia pseudoacacia* المستخلص بالكحول والهكسان وهذه المركبات معروفة في تثبيط العديد من الفطريات والبكتريا من أهمها: Hexadecanoic acid و31و–(Z,Z) Octadecadienoic acid–9,12 و Stigmasterol و Phenol و Octadecane .

جدول 6 : تأثير مستخلص خليط الخشب القلبي والعصاري (10:10) للمسكة (*R. pseudoacacia*) في النسبة المئوية لتثبيط الميسليوم (%) للفطريات المختبرة بعد 7 أيام من التحضين في المخبر.

التركيز Ppm	*Aspergillus* sp.	*Fusarium* sp.	*Alternaria* sp.
	النسبة المئوية لتثبيط الميسليوم(%)		
0	0	0	0
50	57.28	42.34	32.24
100	74.14	56.58	46.58
150	84.16	69.27	59.25
300	92.45	85.46	70.25
500	100	91.23	86.97
750	100	98.16	96.25

قيم L.S.D 5% = 2.89 بين التراكيز ، وبين الفطريات = 3.87

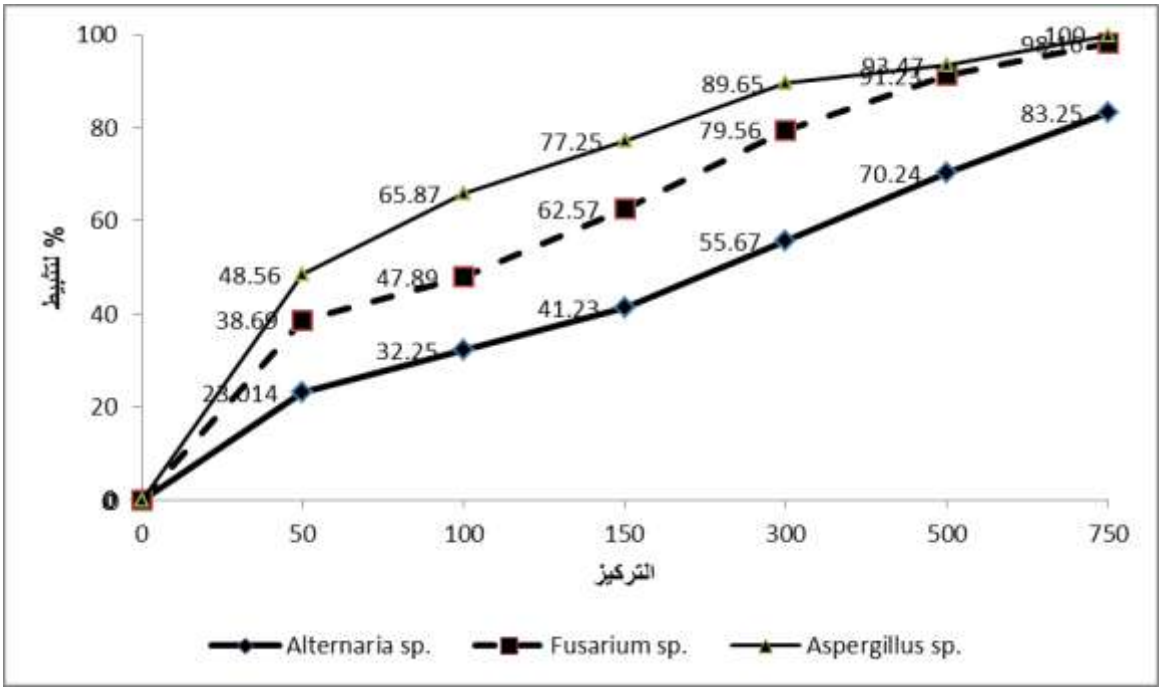


شكل 8: تأثير مستخلص خليط الخشب القلبي والعصاري (10:10) لروبينيا (*R. pseudoacacia* L.) في الفطريات المختبرة.

جدول 7 : تأثير مستخلص الخشب القلبي للمسكة (*R. pseudoacacia* L.) في النسبة المئوية لتثبيط الميسليوم (%) للفطريات المختبرة بعد 7 أيام من التحضين في المخبر.

Alternaria sp.	*Fusarium* sp.	*Aspergillus* sp.	التركيز Ppm
النسبة المئوية لتثبيط الميسليوم (%)			
0	0	0	0
23.014	38.69	48.56	50
32.25	47.89	65.87	100
41.23	62.57	77.25	150
55.67	79.56	89.65	300
70.24	91.23	93.47	500
83.25	98.16	100	750

قيم L.S.D 5% = 1.89 بين التراكيز ، وبين الفطريات = 2.14



شكل 9: تأثير مستخلص الخشب القلبي لروبينيا (*R. pseudoacacia* L.) في الفطريات المختبرة.

الاستنتاجات

-أعطى مستخلص الخشب القلبي أعلى وزن مادة جافة مستخلصة.

-كانت الفطريات الأكثر تردداً المحمولة مع بذار القمح المجموعة من منطقة الغاب صنف شام 8 *Alternaria* sp. و *Fusarium* sp. و *Aspergillus* sp.

-أظهرت المستخلصات الخشبية تثبيط في نمو الميسليوم الفطري لكل من *Alternaria* sp. و *Fusarium* sp. و *Aspergillus* sp. في المخبر، وزادت نسب التثبيط بزيادة نسبة الخشب القلبي بالخليط الخشبي.

-كان مستخلص الخشب العصاري أقل تثبيط في نمو الفطريات المختبرة.

المقترحات

-نوصي بإجراء تجارب على فطريات أخرى في المخبر والحقل.

-اجراء تجارب السمية النباتية لمستخلصات خشب المسكة على المحاصيل الأخرى .

المراجع الأجنبية :

- **Agrios, G.N. (2005)** Plant Pathology.fifth Edition. Printed in the United States of America (New York).PP. 948

- **Barkai-Golan, R. 2001.** Postharvest diseases of fruit and vegetables: development and control. Elsevier, Amsterdam, pp 27-32

- **De Waard, P.; Ragsdale, N.N. and Schwinn, F.J.(1993).**Chemical control of plant diseases: Problems and prospects. Annual Review of *Phyopathology*. 31: 403-23.

- **Bobbarala, V., Katikala, P. K., Naidu , K.C. and Penumajji, S. (2009).** Antifungal activity of selected plant extracts against phytopathogenic fungi *Aspergillus niger*. *Indian J. Sci. Technol*. **2(4)**: 87-90.

- **Veitch, N.C.; Elliott, P.C.; Kite, G.C.; Lewis, G.P. 2010.** Flavonoid glycosides of the black locust tree, *Robinia pseudoacacia* (*Leguminosae*). *Phytochemistry, 71*, 479–486.

- **Putman, L. J. , Laks, P.E. and Pruner, M.S. 1989.** Chemical constituents of blak locust bark and their biocidal activity.Holzforschung. 43 (4) 219-244.

- **Nasir, N., 2005.** Detecting seed borne fungi of soybean by different incubation methods. Pakistan Journal of Plant Pathology. Vol. 2, No.2, 114-118.

- **Schultz, T. P. and Nicholas, D.D. 2000** . Naturally durable heartwood: Evidence for a proposed dual defensive function of extractives, Phytochem.54(1), 47-52

- **Zhang, Z.Y., Dai G.H., Zhuge Y.Y. & Li Y.B. 2008.** Protective effect of *Robinia pseudoacacia* Linn1 extracts against cucumber powdery mildew fungus, *Sphaerotheca fuliginea*, *Crop Protection*, *27,* No. 6, pp. (920-925).

- **Hosseinihashemi S. K. and S. Kanani 2012** . Heartwood Extractives of *Robinia Pseudoacacia* Wood. *J. Adv. Lab. Res. Biol.* 133

- **Rosu, A.F.; Bita, A.; Calina, D.; Rosu, L.; Zlatian, O.; Calina,** V. **2012.** Synergic antifungal and antibacterial activity of alcoholic extract of the species *Robinia pseudoacacia* L. (Fabaceae). *Eur. J. Hosp. Pharm. 19*, 216,

- **Hossseinihashemi, S. K., Hsseinashrafi, S.K., Goldeh, A.J. and Salem,M.2016.** Z. Antifungal and antioxidant activites of Heartwood bark, and leaf extracts of *Robinia pseudocacacia*. BioResources 11(1), 1634-1646

- **Horita, H. and F. Kodama, 1996.**Bud rot of chrysanthemum caused by *Fusarium avenaceum.* Annual Report of the Socitey of Plant Protection of North Japan. 47: 75-77.

- **Nguefack, J.; Letha, V.; Amvam Zollob, P.H. and Mathura, S.B. (2004).** Evaluation of five essential oils from aromatic plants of Cameroon for controlling food spoilage and mycotoxin producing fungi. International Journal of Food Microbiology 94 (3): 32

- **Siva, N., S. Ganesan , N. Banumathy and Muthuchelian,2008.** Antifungal Effect of Leaf Extract of Some Medicinal Plants Against *Fusarium oxysporum* Causing Wilt Disease of *Solanum melogena* L. *Ethnobotanical Leaflets* 12: 156-163.

المراجع العربية :

الناصر، زكريا وباسل إبراهيم وأحمد فلاح . 2013. تحليل زيت حبوب وأزهار الأزدرخت *Melia azedaracht* L. وتقييم كفاءتها في تثبيط نمو الفطريات على الوسط المغذي. مقبول للنشر في مجلة جامعة دمشق للعلوم الزراعية.