مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم البيولوجية المجلد (39) العدد (2) 2017
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Biological Sciences Series Vol. (39) No. (2) 2017

تأثير المستخلصات الخلوية لبذور اليانسون في نمو الفطرين الممرضين Fusarium oxysporum و Aspergillus niger

د. نوال علي*
نجاة جنود**

(تاريخ الإيداع 18 / 9 / 2016. قبل للنشر في 7 / 3 / 2017)

□ ملخّص □

درس في هذا البحث تأثير تراكيز مختلفة من مستخلصات بذور نبات اليانسون Pimpinella anisum L. الميتانولية والمائية بالإضافة للزيت في نمو الفطرين Fusarium oxysporum و Aspergillus niger ، وقد أظهرت جميع المستخلصات تأثيراً تثبيطياً واضحاً تجاه الفطرين الممرضين. تباينت الفعالية التثبيطية باختلاف التراكيز المستخدمة من المستخلص ونوع المذيب. عند استخدام المستخلص الميتانولي بالتراكيز (2، 4 و 6) ملغ/ مل بلغت النسبة التثبيطية في اليوم السابع 42.5، 50.6، 64.4 % للفطر F. oxysporum على التوالي. و 23.6، 42.7، و 55.1 % للفطر A. niger على التوالي. و بلغت النسبة التثبيطية لنمو الفطر F. oxysporum في اليوم السابع 59.2، 65.3 و 70 % على التوالي عند استخدام المستخلص المائي بالتراكيز السابقة، و وصلت إلى 46.1، 58، و 61 % عند الفطر A. niger. في حين سجل المستخلص الزيتي أعلى نسبة بلغت 100% عند 50 و 75 ميكرولتر للفطرين المدروسين.

الكلمات المفتاحية: Pimpinella anisum، Fusarium oxysporum، Aspergillus niger، مستخلصات البذور.

* أستاذ ، قسم علم النبات، كلية العلوم، جامعة تشرين، اللاذقية، سورية
** أستاذ مساعد ، قسم علم النبات، كلية العلوم، جامعة تشرين، اللاذقية، سورية.

مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم البيولوجية المجلد (39) العدد (2) 2017
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Biological Sciences Series Vol. (39) No. (2) 2017

In vivo Study of the effect of seeds extraction of Anise plant in the growth of the two pathogenic fungi Fusarium oxysporum and Aspergillus niger

Dr. Nawal Ali [**]
Najat Janoud [**]

(Received 18 / 9 / 2016. Accepted 7 / 3 /2017)

□ ABSTRACT □

A Study was carried out to evaluate the ability of the methanolic, hydro and oily extractions of anise seeds (Pimpinella anisum L.) to inhibit the growth of the pathogenic fungi Fusarium oxysporum and Aspergillus niger. The results showed a good inhibition ability of the alcoholic and hydro extractions on the growth of the studied fungi. The inhibition ability differed due to the used concentrations. When the methanolic extraction was used by concentrations (2, 4, and 6) mlg/ ml at the seventh day, the inhibition ability was (42.5, 50.6 and 64.4)% of the fungus F. oxysporum, respectively. And was (23.6, 42.7 and 55.1)% of the fungus A. niger, respectively. Whereas when the hydro extraction was used by the same concentrations, the inhibition ability was (59.2, 65.3 and 70)% respectively for the fungus F. oxysporum, and (46.1, 58 and 61)% for the fungus A. niger, respectively. The oily extraction showed high inhibition ability, where the inhibition rate was 100% when the extraction was used by the two concentrations 50 and 75 µl for both two studied fungi.

Key words: Pimpinella anisum ،Fusarium oxysporum ،Aspergillus niger, methanolic extract, oily extract and water extract.

[**] **Assistant Professor, Department of Botany, Faculty of Science, Tishreen University, Lattakia, Syria.**
[**] **Assistant Professor, Department of Botany, Faculty of Science, Tishreen University, Lattakia, Syria.**

مقدمة:

استخدمت النباتات الطبية ومنتجاتها على نطاق واسع عبر التاريخ لأهميتها واحتوائها على مركبات حيوية فعالة ذات قيمة علاجية للعديد من الأمراض (Hashem and Alamri, 2010).

ومن أهمها نبات اليانسون Pimpinella anisum L. ، وهو نبات طبي ينتمي للفصيلة الخيمية، موطنه الأصلي منطقة حوض البحر الأبيض المتوسط، يحتوي على مواد يمكن أن تستخدم لخصائصها العلاجية (Ullah et al., 2014) فتأثيراته الطبية تشمل عدة مستويات معالجة الجهاز الهضمي، الجهاز العصبي، والكلى، فهو يعمل كمضاد فطري، جرثومي و فيروسي، مرخي عضلي للقصبات الهوائية، ملين، مضاد حرقة، مضاد اختلاج، فضلاً عن أنه يزيد امتصاص الغلوكوز عند الصائم، فهو يخفض حجم البول عن طريق زيادة نشاط الـ Na= K= Atpase الكلوي. يستخدم كمنبه عطري ومعرق ومنفث وضد انتفاخ الأمعاء، إذ يساعد على طرد الغازات وغسيل الفم وعلاج آلام اللثة والأسنان (الدوغجي وآخرون،2011).

واليانسون نبات عشبي حولي، يفضل الظروف المناخية الدافئة خلال فصل النمو، ويزرع بشكل خاص في المناطق شبه الاستوائية، للحصول على محاصيل جيدة يجب أن تتراوح درجة الحرارة في مناطق الزراعة من 8 إلى 23 °C، مع هطولات تراوحت من 1000– 1300 مم (Ullah et al., 2013)، يصل أعلى ارتفاع لهذا النبات بين 30– 70 سم، وهو ذو أزهار بيضاء صغيرة جداً، الأوراق في الجزء القاعدي للنبات بسيطة يتراوح طولها بين 1.3 – 5.1 سم، بينما الأوراق في الجزء العلوي للساق ريشية الشكل مقسمة إلى وريقات، الثمرة كمثرية أو بيضاوية الشكل، والبذور صغيرة ومنحنية طولها حوالي 0.5 سم رمادية إلى بنية اللون (Ozcan and Chalchat, 2006) ، يورق هذا النبات من شهر أيار حتى شهر تشرين الأول، طور الإزهار في شهر تموز، ونضج الثمار من شهر آب وحتى شهر أيلول (Ullah, 2012)، البذور محاطة بمعطف مكون من بشرة ذات خلايا سمراء متعددة الأضلاع، و الأندوسبرم.

تحتوي خلايا البذور على الزيت الأساس، وعلى حبات الألورون وبروتينات وكريستالات من أوكسالات الكالسيوم (Arslan et al., 2004)، و تقاس نوعية اليانسون وجودته بوساطة محتواه من الزيت وتركيب الزيت. تتراوح نسبة الزيت في البذور من 1.3 – 3.7 % (Aloghareh et al., 2013)، والمكونات الأساسية للزيت المستخلص من بذور اليانسون هي anethole (93.9%)، trans– a estragole (2.4%) ، والمكونات التي تم العثور عليها بكمية أعلى من 0.06% هي (E)– methyeugenol, α– cuparene, α– himachalene, β– bisabolene, p– anisaldehyde and cis– anethole (Ullah, 2012; Aloghareh et al., 2013) .

تستعمل بذور اليانسون في الصناعات الصيدلانية والغذائية وصناعة مواد التجميل، وقد جذب الكثير من الانتباه بسبب خواصه المضادة للفطريات، الحشرات، البكتريا، وتأثيراته المضادة للأكسدة على صحة الإنسان (Shojaii and AbdollahiFard, 2012).

يعد الجنس Fusarium من الوجهة الاقتصادية أحد أهم الأجناس الفطرية، فهو يضم أنواعاً ممرضة تحدث مدى واسع من الأمراض النباتية، وأخرى تحدث إصابات للإنسان والحيوان (Bennett, 2001)، ينتشر في مختلف مناطق العالم خاصةً في الترب الحقلية (Burgess et al., 1981)، أو في البقايا النباتية (Rheeder et al., 1990)، يوجد عدد من أنواعه بشكل شائع في التربة على هيئة مترممات، كما تحدث بعض أنواعه تعفنات الجذور والدرنات والأبصال والذبول الوعائي (Zeller et al., 2003; كاظم والجنابي ، 2013)، يعد مرض الذبول الوعائي

الذي يحدثه الفطر F. oxysporum من الأمراض المهمة ذات الانتشار العالمي على كثير من المحاصيل الزراعية (Biddle and Cattlin, 2007).

كما يعد الفطر Aspergillus niger من الفطريات ذات التردد العالي في التربة، وهو من الفطريات الرمية التي لها دوراً مهماً في النظام البيئي والاقتصادي للإنسان، تسبب أمراضاً للنبات والحيوان والإنسان، وخسائر اقتصادية كبيرة (Bennett, 2001).

أهمية البحث و أهدافه:

نظراً لأهمية نبات اليانسون الطبية واحتوائه على العديد من المركبات الفعالة التي تعمل على تثبيط الفطور الممرضة أجري هذا البحث لاختبار القدرة التثبيطية مخبرياً على النوعين F. oxysporum و Aspergillus niger.

طرائق البحث و موادهـ:

أجري البحث في مخابر كلية العلوم جامعة تشرين، خلال 2016.

1 - العزلات الفطرية

تم الحصول على النوع F. oxysporum من نباتات ظهرت عليها أعراض الإصابة بالذبول الوعائي (من اصفرار وذبول عام)، حيث أحضرت النباتات إلى المختبر وغسلت بالماء، ثم أجري مقطع عرضي في الساق لتبيان تلون الحزم الوعائية باللون البني(الشكل 1)، أخذت قطع من المناطق الملونة والمحيطة بها وعقمت سطحياً بمحلول هيبوكلوريد الصوديوم 6-4% لمدة 3 دقائق، ثم غسلت بالماء المقطر المعقم ثلاث مرات، ووضعت على ورق نشاف لتجف، نقلت قطعة صغيرة إلى أطباق بتري (9سم) حاوية على مستنبت PDA 10 مل وحضنت عند الدرجة 26 ±2°C لمدة 7 أيام (Agrios, 2005)، ومن ثم تم عزل وتنقية الأنواع الفطرية النامية وحددت تبعاً لعدد من المعايير المورفولوجية والمجهرية المستخدمة في المراجع التصنيفية التالية (Gerlach and Nirenberg, 1982; Barnett and Hunter, 1972) ، ثم حفظت عزلة الفطر المدروس على وسط PDA ضمن أنابيب اختبار زجاجية عند الدرجة 4°C لحين الاستخدام، وجددت قبل التجربة بأسبوع من أجل الحصول على مستعمرات نشطة.

أما الفطر A. niger فقد عزل من نباتات البصل التي ظهرت على سوقها نموات الفطر (Evan and Baxter, 1999) وتمت تنقية الفطر والتعرف عليه من خلال المواصفات المورفولوجية للمستعمرة و مجهرياً بالاعتماد على المفتاح التصنيفي (Arx, 1970).

الشكل(1): مقطع عرضي في الساق يوضح تلون الحزم الوعائية باللون البني

2 - تحضير مستخلص بذور اليانسون:

2-1- المستخلص (الميثانولي) Methanolic Extract

اتبعت طريقة Ladd et al., (1978) حيث طحن 20 غ بذور، ووضع المسحوق في جهاز الاستخلاص Soxhlet extractor، ثم أضيف لها 200 مل ميتانول Methanol، وتم الاستخلاص بالدرجة 40 مْ لمدة 24 ساعة، رشحت العينة باستخدام ورق الترشيح من النوع Whatman No. 1 أعيدت العملية عدة مرات للحصول على كمية كافية من الخلاصة، و لفصل المستخلص عن المذيب تم استخدام المبخر الدوار بالدرجة 40 مْ، للحصول على محلول مركز، ثمّ وضع المحلول المركز بالفرن عند الدرجة 35 مْ للحصول على مسحوق جاف، بعدها حُفِظَ في الثلاجة عند الدرجة 4 مْ في عبوات زجاجية معقمة معتمة لحين الاستعمال.

2-2- المستخلص المائي Water Extract

تم وزن 100 غ من بذور اليانسون، ووضعت في 1 ليتر ماء مقطر بارد لمدة 15 دقيقة في خلاط كهربائي، ثم عرض المزيج لدرجة حرارة (45- 50 C°) ضمن محرك مغناطيسي حراري، وحرك بشكل متقطع مدة 48 ساعة، ثم رشح المزيج بوساطة ورق ترشيح. تلا ذلك عملية طرد مركزي للرشاحة الناتجة بسرعة 3000 دورة/ دقيقة لمدة 30 دقيقة، أعيدت عملية الطرد ثلاث مرات لضمان التخلص من الرواسب، ومن ثم الترشيح باستخدام ورق ترشيح No. 1 Whatman . وللحصول على مستخلص جاف عرضت الرشاحة النهائية لدرجة حرارة (60°C) ضمن حمام مائي، حصلنا على مستخلص جاف وزنه 6.5غ، حفظ عند الدرجة 4°C لحين الاستخدام.

3 - الحصول على الزيت الطيار Volatile Oil

للحصول على الزيت الطيار إتبعت طريقة التقطير المائي حسب Guenther (1961)، حيث وضع 100غ بذور جافة مطحونة في الدورق الخاص بجهاز Clevenger، أضيف إليها 1ليتر ماء مقطر، سخن الدورق لمدة 3 - 4 ساعات لحين الحصول على أكبر كمية من الزيت، استخلص الزيت باستخدام قمع الفصلSeparator Funnel وحفظ في عبوات زجاجية معتمة عند درجة حرارة 4°C في الثلاجة لحين الاستخدام.

4 - تأثير المستخلص الميتانولي والمائي لبذور اليانسون في نمو الفطرين F. oxysporum و A. niger

اختبرت فعالية مستخلص بذور اليانسون (الميتانولي والمائي) في تثبيط نمو المستعمرة لكلٍّ من النوعين F. oxysporum, A. niger بطريقة الغذاء المسموم The Poison Food Technique (Nene and Thapilyal, 2002)، حضر كل من المستخلصين الميثانولي والمائي بالتراكيز 2 و 4 و 6 ملغ/ مل، وأضيفت إلى المستنبت الغذائي PDA المعقم قبل تصلبه. صب المستنبت الغذائي بعد إضافة التراكيز في أطباق بتري (9 سم) ، لقح مركز كل طبق بقطعة صغيرة 1 سم من أطراف مستعمرة الفطر F. oxysporum بعمر 7 أيام، حضنت الأطباق عند درجة حرارة 25± 2 C° لمدة 7 أيام لاكتمال نمو الفطر.

تمّ إجراء أربعة مكررات لكل مستخلص ولكل تركيز على حده وللأطباق الشاهدة أيضاً، رسم قطرين متعامدين في مركز كل طبق على الوجه السفلي للطبق، و أخذت قياسات أقطار النمو الفطري في كافة الأطباق في اليوم الثالث والخامس والسابع من التلقيح، بحساب متوسط القطرين المتعامدين لكل مستعمرة. وحسبت النسبة المئوية للتثبيط من المعادلة:

$$\text{النسبة المئوية للتثبيط} = \frac{\text{متوسط قطر مستعمرة الشاهد} - \text{متوسط قطر مستعمرة المعاملة}}{\text{متوسط قطر مستعمرة الشاهد}} \times 100$$

أعيدت التجربة بتلقيح الأطباق بالفطر A. niger بنفس الخطوات السابقة.

5 - تأثير الزيت الطيار لبذور اليانسون في نمو عزلات الفطرين F. oxysporum و A. niger

حضر المعلق البوغي من كلا الفطرين بتركيز 1×10^6 بوغة/ مل، وذلك بإضافة ماء مقطر معقم إلى المستعمرة الفطرية المتبوغة وكشطت باستخدام إبرة تلقيح معقمة لضمان الحصول على أكبر قدر من الأبواغ، ثم رشحت باستخدام ورق ترشيح لإزالة قطع الميسيليوم، وحسب التركيز باستخدام شريحة مالاسييه، وعدل بالماء المقطر المعقم إلى التركيز المطلوب.

تم صب 10 مل من المستنبت الغذائي PDA في كل طبق بتري وقبل تصلبه أضيف 1 مل من المعلق البوغي من كلا الفطرين المدروسين على حده؛ وأضيف الزيت 25، 50، و 75 ميكرولتر كل على حدة، وذلك بواقع أربعة مكررات لكل معاملة، أجريت معاملة الشاهد بدون إضافة الزيت، حضنت الأطباق عند درجة حرارة 25± 2 C°. درس تأثير الزيت الطيار في نمو الفطرين المدروسين بعد 6 أيام من التحضين، واعتمد النمو الفطري كمعيار لتقدير تأثير الزيت الطيار في تثبيط نمو الفطر وفق الجدول الآتي:

جدول (1): النمو الفطري على المستنبت الغذائي PDA

الدرجة	النمو الفطري
4	الفطر يغطي كامل الطبق
3	النمو الفطري يغطي ثلاثة أرباع الطبق
2	نمو الفطر يغطي نصف الطبق
1	الفطر يغطي ربع الطبق
0	تثبيط كامل لنمو الفطر

التحليل الإحصائي:

نفذت التجارب باستخدام القطاعات العشوائية الكاملة، وأجري اختبار التباين والفروق المعنوية بين المعاملات ANOVA عند مستوى احتمال ($P<0.05$) باستخدام البرنامج الإحصائي SPSS.

النتائج:

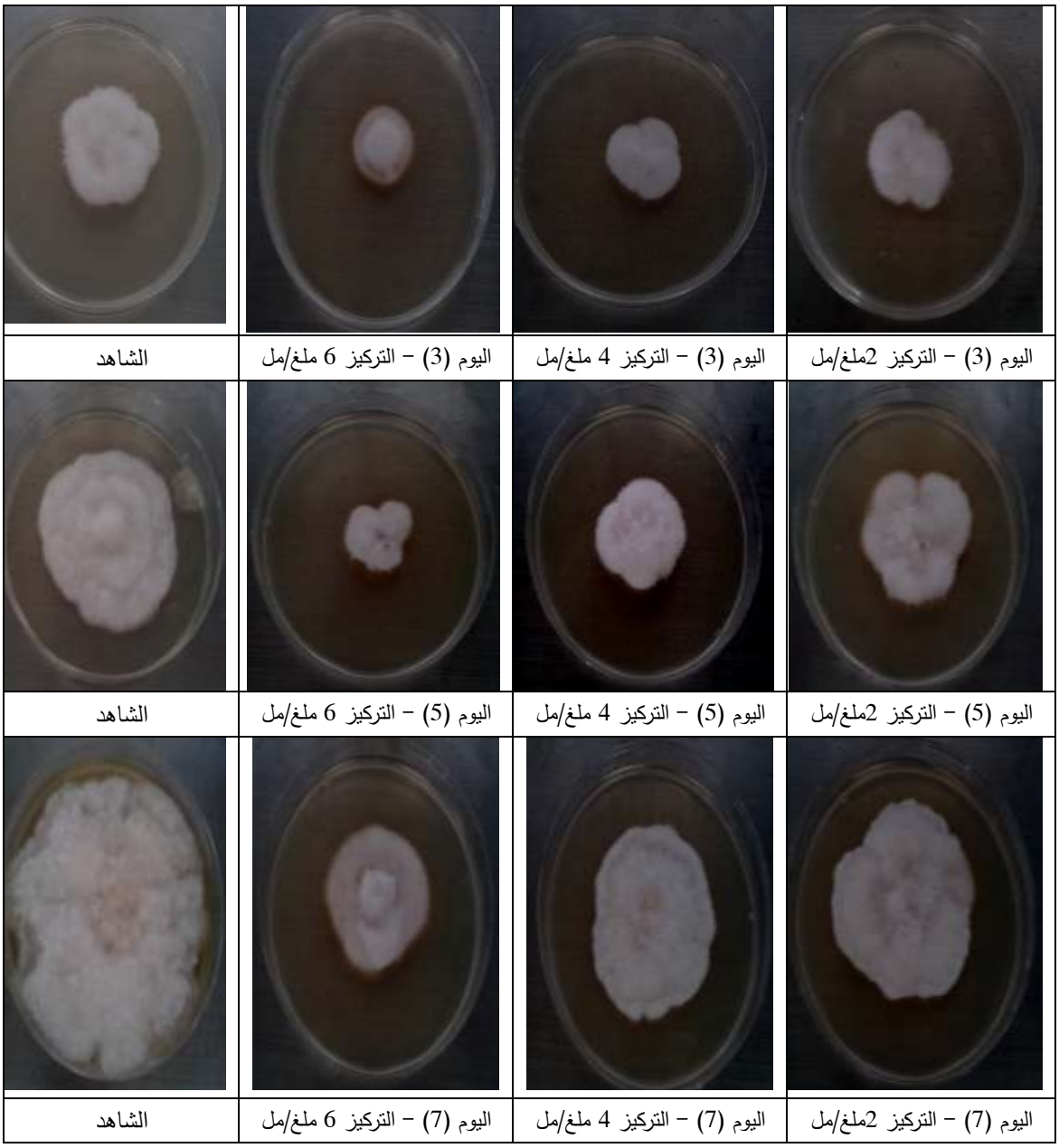
تأثير المستخلص الميتانولي لبذور اليانسون في نمو الفطرين F. oxysporum و A. niger

بينت النتائج تأثيراً واضحاً للمستخلص الميتانولي بالتراكيز المستخدمة في نمو الفطرين المدروسين، مع تفوق معنوي للتركيزين 4، 6 ملغ/ مل، ومن خلال النتائج لوحظ وجود علاقة طردية بين نسب التثبيط وازدياد التركيز، وكذلك بين نسب التثبيط والزمن الجدول (2، 3). انخفض قطر المستعمرة الفطرية للفطر F. oxysporum في اليوم الثالث للتجربة من 3 سم في معاملة الشاهد إلى 2.5، 2.0، 1.6 سم عند التراكيز 2، 4، 6 ملغ /مل على التوالي، وزادت الفروق المعنوية بين المعاملات مع بعضها والمعاملات والشاهد مع مرور الوقت، ففي اليوم السابع وصل النمو الفطري في معاملة الشاهد إلى 8.7 سم بينما بلغ 5، 4.3، 3.1 سم للتراكيز 2، 4، 6 ملغ /مل على التوالي. و بلغ 6.8، 5.1، و 4 سم عند الفطر A. niger على التوالي مقارنة مع الشاهد (8.9) سم.

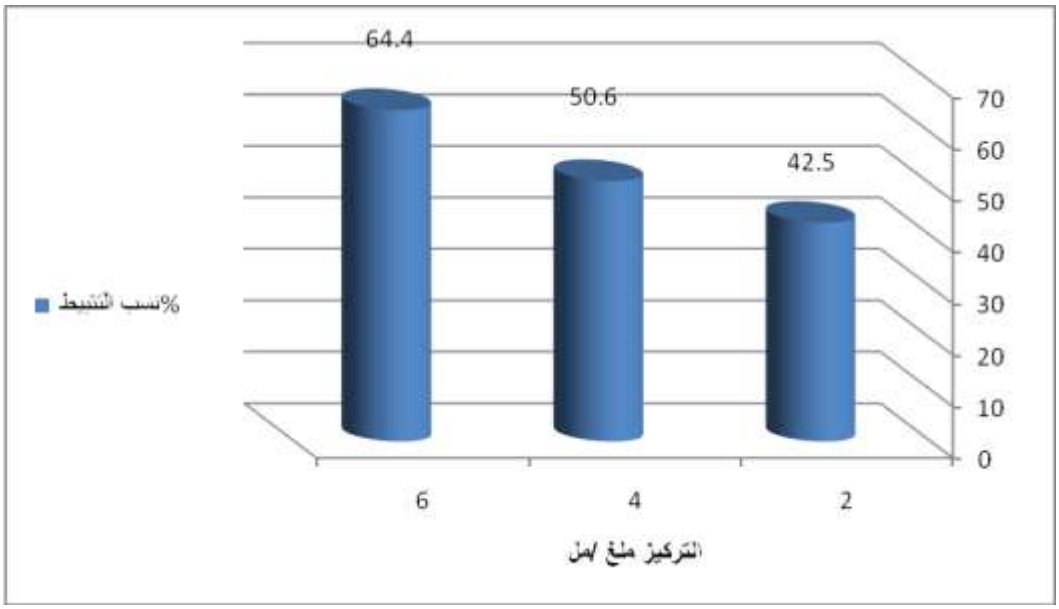
الجدول (2): تأثير المستخلص الميتانولي لبذور اليانسون بالتركيز (2، 4، 6) ملغ/ مل في نمو الفطر F. oxysporum (سم) على مستنبت PDA بعد 3 ، 5 و 7 أيام من التحضين

الزمن (يوم)	التركيز (ملغ/مل)			الشاهد Control	LSD (p<0.05)
	2	4	6		
3	2.5bc*	2.0ab	1.6a	3c	0.5
5	3.8c	2.9b	2.2a	6e	
7	5b	4.3b	3.1a	8.7c	

***الأحرف المختلفة ضمن السطر الواحد تدل على وجود فروق معنوية**



الشكل (2) : الفعالية التثبيطية للمستخلص الميتانولي لبذور اليانسون تجاه فطر F. oxysporum

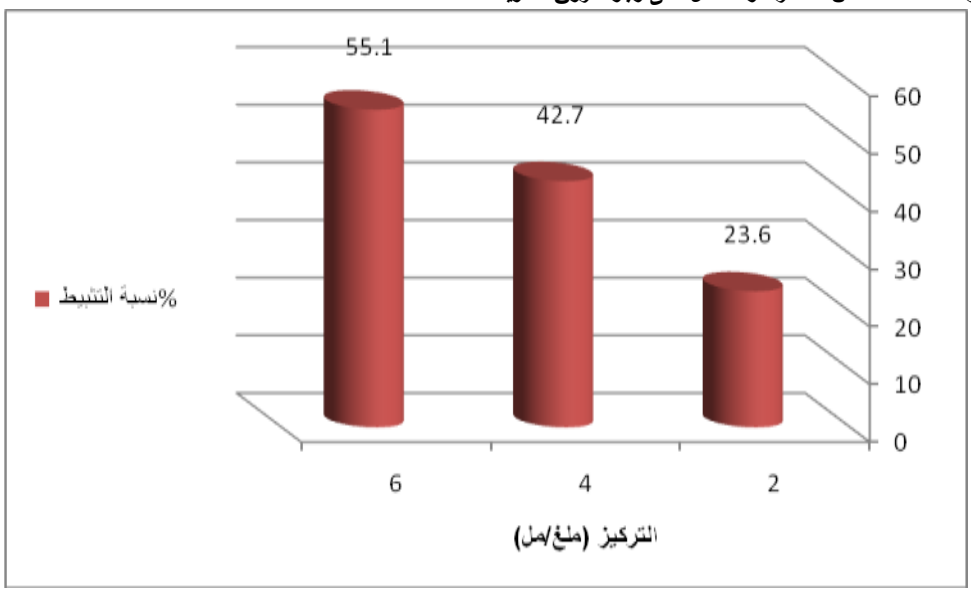


الشكل (3): نسب التثبيط (%) للفطر F.oxysporum عند استخدام المستخلص الميتانولي لبذور اليانسون بعد 7 أيام من التحضين

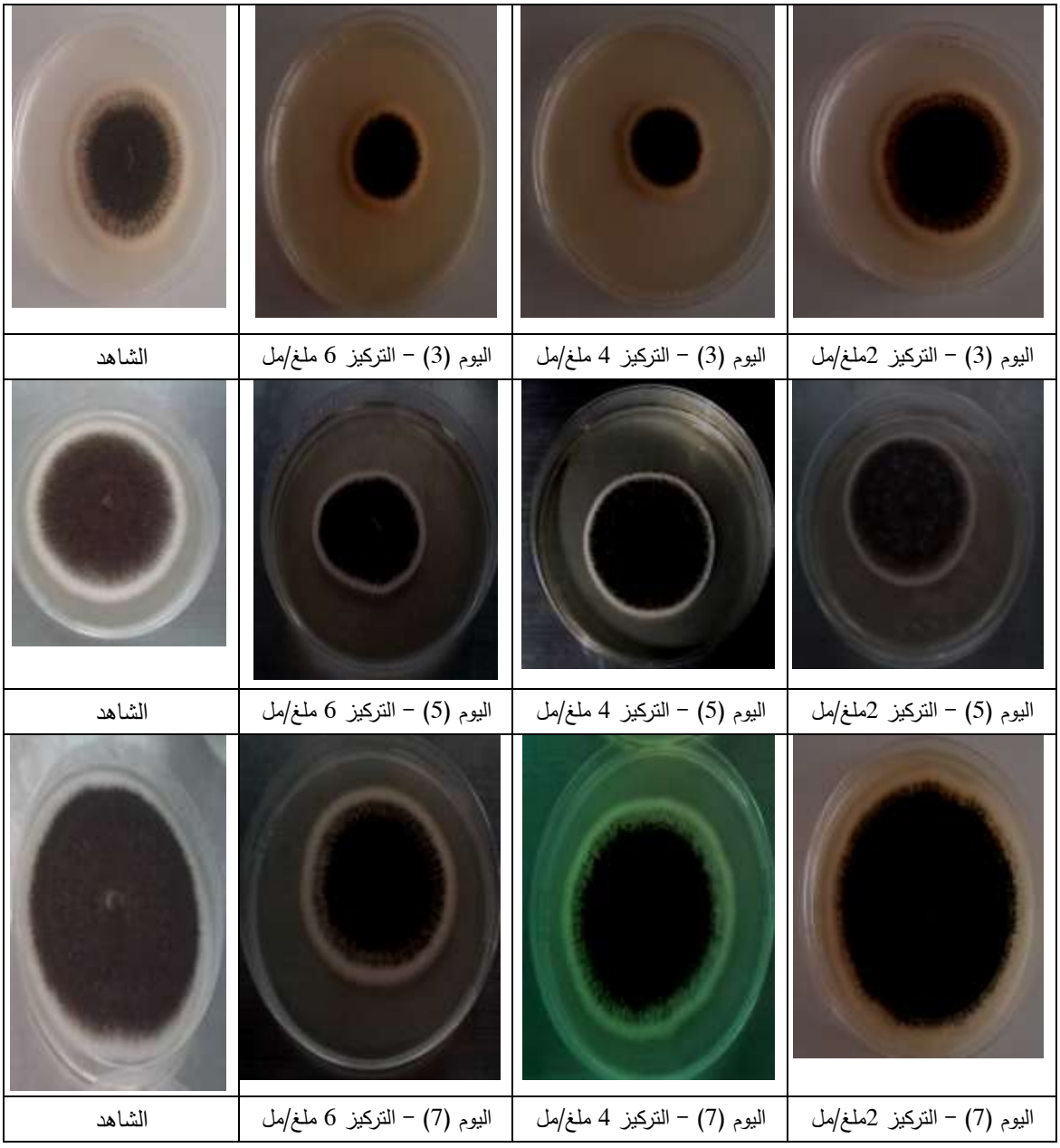
الجدول (3): تأثير المستخلص الميتانولي لبذور اليانسون بالتركيز (2، 4، 6) ملغ/ مل على قطر نمو الفطر A. niger (سم) على مستنبت PDA بعد 3 ، 5 و 7 أيام من التحضين

الزمن (يوم)	التركيز (ملغ/مل)			الشاهد Control	LSD (p<0.05)
	2	4	6		
3	3.0ab	2.1a	2.0a	3.4b	1.02
5	4.5b	3.8ab	3.0a	6c	
7	6.8c	5.1b	4a	8.9e	

*: الأحرف المختلفة ضمن السطر الواحد تدل على وجود فروق معنوية



الشكل (4): نسب التثبيط (%) للفطر A. niger عند استخدام المستخلص الميتانولي لبذور اليانسون بعد 7 أيام من التحضين



الشكل (5) : الفعالية التثبيطية للمستخلص الميتانولي لبذور اليانسون تجاه فطر A. niger

وبلغت نسب التثبيط عند التركيز 6 ملغ/مل في اليوم السابع 64.4 و 55.1 % عند الفطرين F. oxysporum و A. niger على التوالي. بينما عند التركيز 4 ملغ/ مل (50.6 و 42.7)% للفطرين F. oxysporum و A. niger على التوالي في اليوم السابع.

تأثير المستخلص المائي لبذور اليانسون في نمو الفطرين F. oxysporum و A. niger

أظهرت نتائج تأثير المستخلص المائي بالتراكيز المستخدمة في تثبيط نمو الفطرين المدروسين، حيث لوحظ التناسب الطردي لنسب التثبيط مع الوقت، ومع ازدياد التركيز، وتفوق التركيز 6 ملغ /مل معنوياً على باقي المعاملات الجدول (4)، (5).

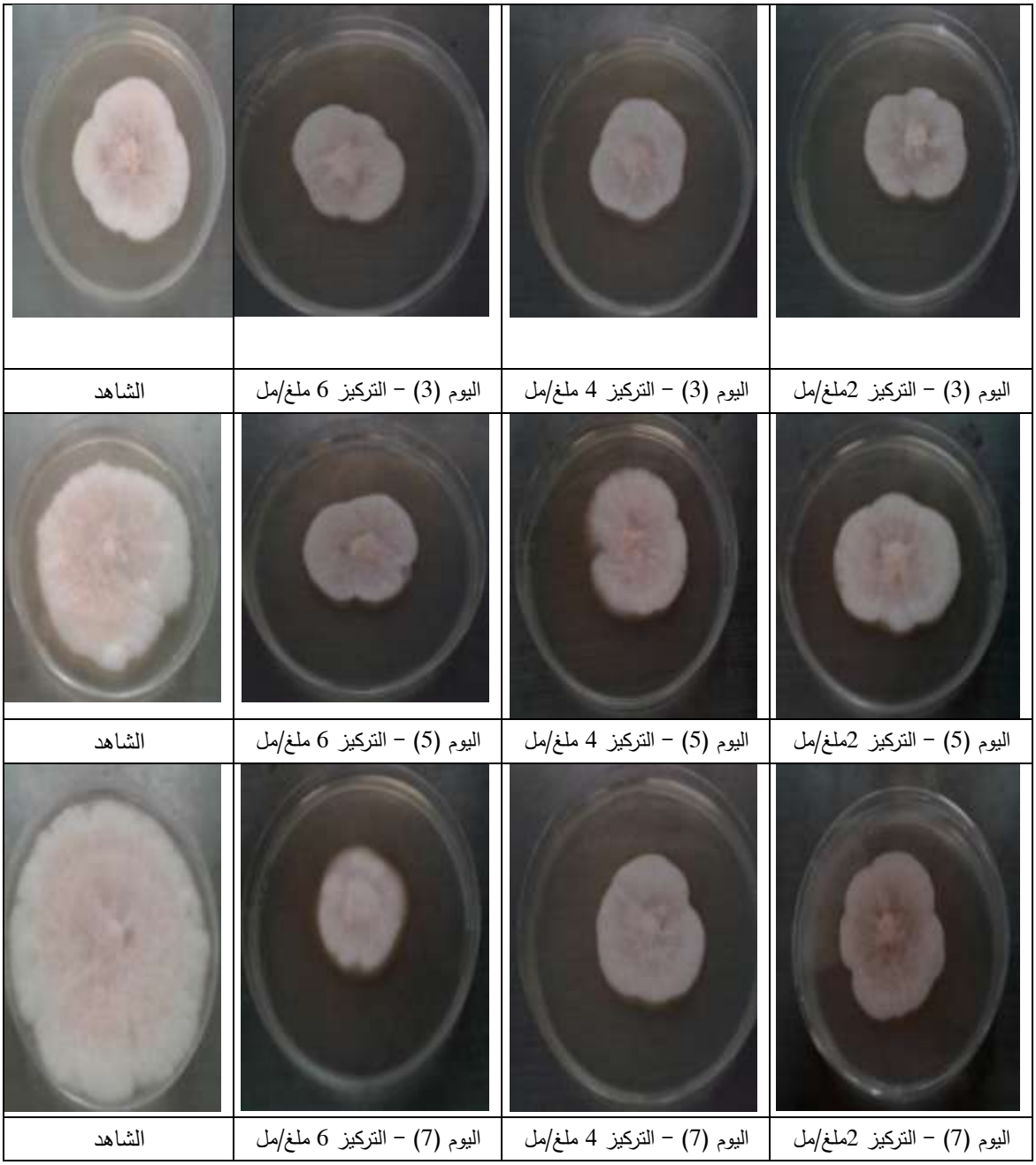
الجدول (4): نسب تثبيط (%) المستخلص المائي لبذور اليانسون عند التراكيز 2، 4، 6 ملغ/مل لنمو الفطر A. niger

الزمن (يوم)	التركيز (ملغ/مل)			الشاهد Control	LSD (p<0.05)
	2	4	6		
3	18.5b	23ab	25a	0c	5.2
5	38b	40b	50.4a	0c	
7	46.1c	58ab	61a	0e	

الشكل (6) : الفعالية التثبيطية للمستخلص المائي لبذور اليانسون تجاه فطر A. niger

الجدول (5): نسب تثبيط (%) المستخلص المائي لبذور اليانسون عند التراكيز 2، 4، 6 ملغ/مل لنمو الفطر F. oxysporum

الزمن (يوم)	التركيز (ملغ/مل)			الشاهد Control	LSD (p<0.05)
	2	4	6		
3	14b	25.4a	27.1a	0c	5.04
5	44b	50a	55a	0c	
7	59.2c	65.3b	70b	0e	



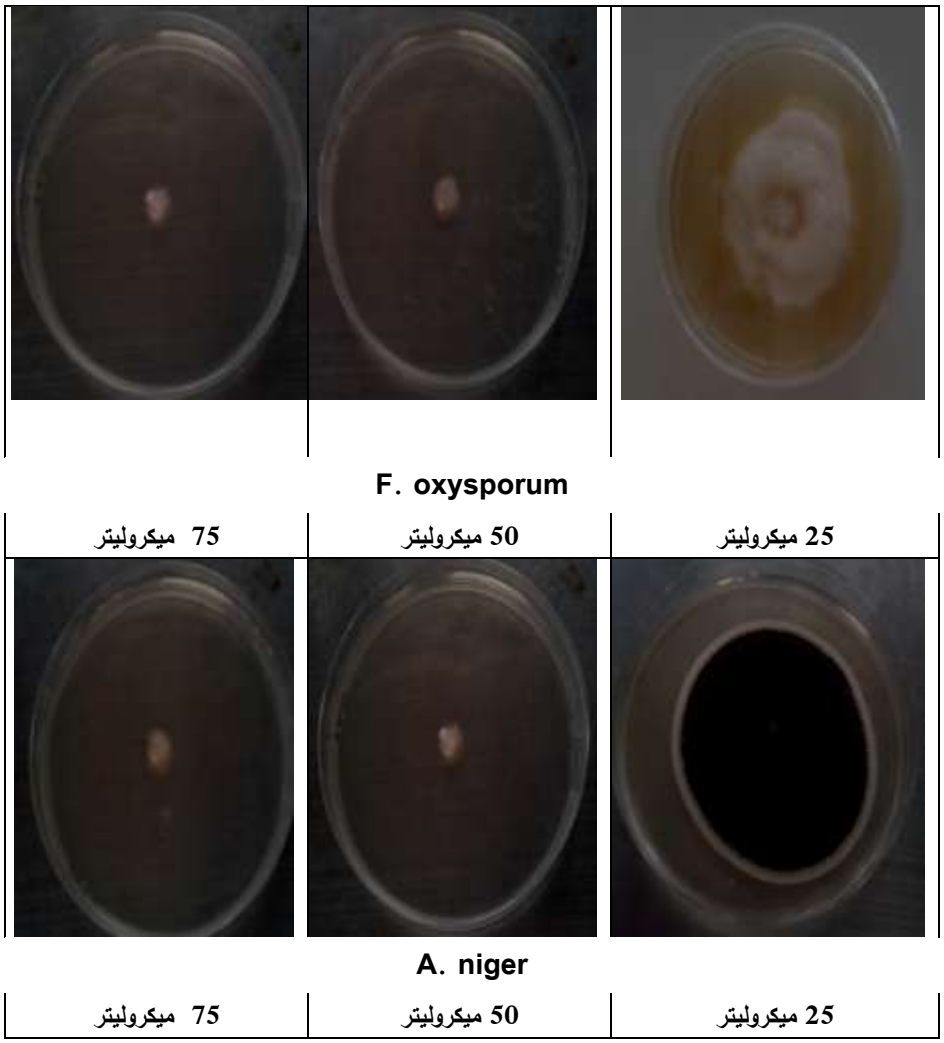
الشكل (7) : الفعالية التثبيطية للمستخلص المائي لبذور اليانسون تجاه فطر F. oxysporum

تأثير الزيت الطيار لبذور اليانسون في نمو عزلات الفطرين F. oxysporum و A. niger

بينت النتائج تثبيط تام لنمو الفطرين المدروسين عند استخدام الزيت الطيار بالكمية (50 و 75) ميكرولتر، بينما لوحظ تأثير أقل عند استخدام الكمية 25 ميكرولتر الجدول (6).

الجدول (6): تأثير(25، 50 و 75) ميكرولتر من زيت اليانسون في نمو الفطرين F. oxysporum و A. niger

الفطر المدروس	نمو الفطر عند الكمية (ميكرولتر)		
	25	50	75
F. oxysporum	2	0	0
A. niger	3	0	0



الشكل (8) : تأثير الزيت لبذور اليانسون في نمو عزلات الفطرين F. oxysporum و A. niger

وكما ذكر سابقاً فإن الدرجة (0) تشير إلى تثبيط تام لنمو الفطر، بينما الدرجة (3) تشير إلى أن الفطر غطى ثلاثة أرباع الطبق، والدرجة (2) تشير إلى أن الفطر غطى نصف الطبق.

المناقشة:

يبين الجدول (6,5,4,3,2) تأثير مستخلصات نبات اليانسون *Pimpinella anisum L.* (المائية، الميتانولية و الزيت) في نمو الخيوط الفطرية للنوعين *Fusarium oxysporum, A. niger*. و أظهرت النتائج بأن المستخلصات خفضت معنوياً من معدلات النمو بالمقارنة مع المعاملة الشاهد، كما تباينت النتائج اعتماداً على نوع الفطر، التركيز المذيب و الجزء النباتي (البذور أو الزيت).

بينت النتائج قدرة عالية لمستخلصات بذور اليانسون الحاوية على الزيت الأساسي وعلى حبات الألورون المتضمنة البروتين وكريستالات أوكسالات الكالسيوم على تثبيط نمو الفطرين الممرضين *F.oxysporum* و *A.niger*، وتناسبت هذه القدرة طرداً مع مرور الزمن ومع ازدياد التركيز. فبينما بلغت نسب تثبيط **المستخلص المائي** للفطر *F.oxysporum* في اليوم الثالث 14% و24.5% و27% عند استخدام التراكيز 2، 4 و6 ملغ / مل، ارتفعت هذه النسب إلى 59.2% و65% و70% في اليوم السابع. وظهر هذا الارتباط واضحاً كذلك بالنسبة للفطر *A.niger* فكانت نسب التثبيط في اليوم الثالث 18%، 23% و25% للتراكيز 2، 4 و6 ملغ /مل على التوالي، وارتفعت في اليوم السابع إلى 46%، 58% و 61% على التوالي. كذلك أشار عبدالله وياسين (2011) إلى تأثر نمو الفطر *A.niger* بالمستخلص المائي بنسبة تثبيط بلغت 58.8%.

بالنسبة **للمستخلص الميتانولي** ، بلغت نسب تثبيطه للفطر *F.oxysporum* في اليوم الثالث 16.7%، 33.4% و46.7% عند استخدام التراكيز 2 و4 و6 ملغ/ مل على التوالي، ووصلت في اليوم السابع إلى 42.5%، 50.6% و64.4%، وبلغت نسب تثبيطه للفطر *A.niger* عند استخدام نفس التراكيز 11.8%، 38.3% و41.2% في اليوم الثالث على التوالي، بينما ارتفعت في اليوم السابع إلى 23.6%، 42.7% و55.1% على التوالي. وتتوافق هذه النتائج مع *Yazdani et al.,* (2009) حيث أشارت دراستهم إلى أن المستخلص الميتانولي لبذور اليانسون أظهر قدرة عالية في تثبيط نمو الفطر *A.niger*. وكذلك مع دراسة *Huda et al.,* (2015) حيث بيّنت تفوق المستخلص الميتانولي في حين المستخلص المائي لم يظهر أي فاعلية تجاه النوع *A.niger*.

تفوق **المستخلص الزيتي** على كل من المستخلصين الميتانولي والمائي بنسبة تثبيط وصلت إلى 100% عند استخدام التراكيز 50 و 75 ميكرولتر لكلا الفطرين المدروسين، في حين لم تتجاوز أعلى نسبة تثبيط للمستخلص المائي 70% و 61% للفطرين *F.oxysporum* و *A.niger* على التوالي، وذلك عند استخدام التركيز الأعلى 6 ملغ /مل. وأعلى نسبة تثبيط للمستخلص الميتانولي بلغت 64.4 و55.1% على التوالي عند استخدام التركيز الأعلى 6 ملغ/ مل وبعد مرور سبعة أيام من التحضين.

كما تتفق نتائجنا مع نتائج *Bayram et al.* (2007) الذي عزى الفعالية إلى المركبات الموجودة في المستخلصات، فزيت اليانسون *Anise oil* يحتوي على 85 % من مركب *anothol* والذي يعد العنصر الفعال في زيت البذور، فضلاً عن وجود *eugenol* ، *methylchavicol* ، *estragol* ، *anisaldehyde*.

أوضحت العديد من الدراسات فاعلية الزيوت على الفطريات، حيث تعد الزيوت ذات قدرة عالية في مكافحة وتثبيط نمو الكثير من الفطريات (López–meneses et al., 2015). فكما أشار *Kosalec et al.* (2005)

أن المستخلص المائي لثمار اليانسون وزيوتها الطيارة تتميز بفعالية تثبيطية ضد أربعة أنواع من الخمائر وهيCandida albicans, C.parapsilosis, C. tropicalis, C. pseudotropicalis ، وأربعة أنواع من الفطريات الخيطية الجلدية وهي Trichophyton rubrum, T. mentagrophytes Microsporum canis , و M. gypseum.

كما أكد الباحث (Gemeda et al., 2014) تأثير الزيت الطيار في التثبيط التام في النمو الخيطي و إنتاش الأبواغ لعدد من الفطريات من بينها أنواع الجنس Fusarium. و كما هو معروف فأن الزيوت غنية بمحتواها من للتربينات و التربينويدات التي تكمن فاعليتها في خصائصها الوظيفة كونها محبة للدهون lipophilic إذ أنها تتفاعل مع الاجزاء الدهنية في الأغشية الخلوية وبالتالي تؤدي إلى عرقلة عمل الخلية الفطرية Knobock et al., (Cowan, 1999 1989).

ويعود سبب تأثر هذان الفطرين F.oxysporum وA.niger وغيرهما من الفطريات بالعديد من المستخلصات النباتية، إلى أنها تمتلك محتوى غني بالتنوع الكيميائي كـ المركبات الفينولية ، الفلافونيدات و التربينات...الخ، وهي مركبات أظهرت عبر الدراسات المدى الواسع للفاعلية الحيوية كمضادات أكسدة مضادات للالتهابات، مضادات سرطانية، مضادات فيروسية بكتيرية وفطرية. (Abd El-Ghany ,2015; Wang et al. صيداوي وآخرون 2015, 2014 Wongkaew & Sinsiri, 2013; Al-Rahmah et al. 2015)

الاستنتاجات والتوصيات

الاستنتاجات

أظهرت مستخلصات بذور اليانسون قدرة تثبيطية عالية تجاه الفطرين الممرضين F.oxysporum و A.niger، وازدادات هذه القدرة مع ازدياد التركيز المستخدم وزمن المعاملة.

تفوق المستخلص الزيتي في تثبيط النمو الفطري للفطور المدروسة مقارنة مع المستخلصين الميتانولي والمائي.

التوصيات

ينصح باختبار مستخلصات بذور نبات اليانسون تجاه فطريات أخرى ممرضة للنبات، حيث تعد هذه المستخلصات واعدة في مجال مكافحة الفطريات وذلك باستخدام مواد ذات منشأ حيوي فعالة دون الضرر بالبيئة و التقليل من استخدام الكيماويات.

المراجع العربية:

1 - الدوغجي، عصام حسين علي ؛ سميره عبد الكريم مطرود و وجية موسى عيسى (2011). استجابة نبات اليانسون المزروع في البصرة لمواعيد الزراعة والرش بالخارصين وتداخلاتهما في Pimpinella anisum L . (Anise) مجلة جامعة الكوفة لعلوم الحياة،١٦٣-١٥٤ :(٣) النمو والحاصل.

2 - صيداوي، أمل؛ فراس عزام؛ أحمد عبد العزيز ؛ طوني طلب و عيسى كساب (2015). مكافحة مرضي الذبول وتعفن الجذور الفيوزاريومي على البندوره باستخدام بعض المستخلصات النباتية. المجلة الأردنية للعلوم الزراعية، المجلد 11، العدد 3، ص 815- 826.

3 - عبدالله، زينب خلف و أمل علي ياسين (2011). دراسة الفعالية لمستخلص نبات الحامول **Cuscuta campestris Yunker** تجاه أربعة أنواع من الفطر Aspergillus. مجلة أبحاث البصرة (العلميات) العدد 37، الجزء الرابع، 123- 129.

4 - كاظم ، سارة كريم وجواد كاظم الجنابي. (2013). دراسة الخصائص المظهرية والمجهرية لأنواع الفطر Fusarium . وتأثير الظروف البيئية في نموه وتكاثره. مجلة جامعة بابل للعلوم الصرفة والتطبيقية. ٢١(٣) 871-891.

المراجع الأجنبية:

1- Abd El-Ghany T. M, Roushdy M. M, Mohamed A. 2015 Efficacy of Certain Plant Extracts as Safe Fungicides Against Phytopathogenic and Mycotoxigenic Fungi. Agricultural and Biological Sciences Journal .Vol. 1, No. 3 , pp. 71-75.

2- Agrios, G.N. 2005. Plant Diseases Caused By Fungi. In Plant Pathology, 5th ed.; Agrios, G.N., Ed.; Academic Press: San Diego, CA, USA,; Chapter Eleven; pp. 385–614.

3- Al-Rahmah A. N, Mostafa A. A, Abdel-Megeed A, Yakout S. M, and Hussein S. A. 2013 Fungicidal activities of certain methanolic plant extracts against tomato phytopathogenic fungi. African Journal of Microbiology Research Vol. 7(6), pp. 517-524.

4- ALOGHAREH, R.R., B. K. TAHMASEBI, A. SAFARI, R. ARMAND, and A.G. ODIVI, Change in Essential Oil Content and Yield Components of Anise (Pimpinella anisum L.) under Different Irrigation regimes. International Journal of Agriculture and Crop Sciences. 6 (7), 2013, 364- 369.

5- ARSLAN,N., B. GüRBüZ, E. O. ARIHAN, and A. GüMüFICü, Variation in Essential Oil Content and Composition in Turkish Anise (Pimpinella anisum L.) Populations. TüBITAK. 28, 2004, 173- 177.

6- ARX, J.A.V. The Genera of Fungi Sporulating in Pure Culture. J. Cramer. Vaduz, 2nd ed. 1970, 315.

7- BARNETT, H and B. HUNTER, Illustrated Genera of impact fungi .library of congress, America, 1972, 250.

8- BAYRAM, I., I.S. CETINGUL, B. AKKAYA and C. UYARLAR. Effect of aniseed (Pimpinella anisum L.) on egg production ,quality, cholesterol levels ,hatching results and the antibody values in blood for laying quails(Coturnix coturnix Japanica). National Animal Nutrition Congress, 2007, 184-190.

9- BENNETT,J, W and Koji : Aspergillus history ,practice and molecular biology .Soc.Indust.biol.News**.** 51, 2001, 65-71

10- BIDDLE, A. J. and N.D. CATTLIN, Pests, Diseases and Disorders of Peas and Beans. Manson Publishing Ltd, London, 2007, 128.

11- BURGESS, L. W., R.L. DODMAN, W. PONT, and P. MAYERS, Fusarium Diseases of wheat, maize and grain. In Nelson, P.E., Toussoun, T.A. and Cook, R.J. (Eds.), Fusarium: Diseases, biology and taxonomy. Pennsylvania State University Press,University Park, Pennsylvania, 1981, 64-76.

12- COWAN M. M. Plant products as antimicrobial agents. Clinical Microbiology Review 12(4), 1999, 564–582.

13- EVAN, L. and A. BAXTER, Collection and Preserving fungi. Bio NET-international, Plant Protection ,South Africa, 1999, 1-98.

14- GEMEDA, N., WOLDEAMANUE, Y., ASRAT, D., DEBELLA, A.. Effect of essential oils on Aspergillus spore germination, growth and mycotoxin production: a potential source of botanical food preservative .Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. Addis Ababa, Ethiopia. Asian Pac J Trop Biomed; Vol.4, No. 1, 2014,373-381.

15- GERLACH, W. and H. NIRENBERG, The genus Fusarium- a Pictorial Atlas .2,Berlin, 1982, 404.

16- GUENTHER, E. The essential oils., Vol. IV. Nostrand Co. Inc., New York. 1961, 350.

17- HASHEM, M. and S. ALAMRI, S. Contamination of common spices in Saudi Arabia markets with potential mycotoxin-producing fungi. Saudi Journal of Biological Sciences, 17: 2010, 167-175.

18- HUDA S. A. A. MOHAMED1, WARDA S. ABDELGADIR, AISHA Z. I. ALMAGBOUL. In vitro antimicrobial activity of Anise seed (Pimpinella anisum L.) International Journal of Advanced Research, Vol 3, No 1, 2015, 359-367.

19- KNOBOCK, K.; PAULI, A.; IBERI, B.; WEGAND, H. AND WEIS, N. Antibacterial and antifungal properties of essential oil components. J. Essen. Oil Res., 1: (1989). 119 – 128.

20- KOSALEC, I., S. PEPELJNJAK, and D. KUSTRAK, Antifungal activity of fluid extract and essential oil from anise fruits (Pimpinella anisum L., Apiaceae). Acta Pharm, 55: 2005, 377–385.

21- LADD, T.L., M. JACOBSON, and C.R. BURIFF, Japanese Beetles :Extracts from Neem tree seeds as feeding deterrents. J.Econ.Entomol, 7:1978, 810-813.

22- López-Meneses, A. K., Plascencia-Jatomea, M., Lizardi-Mendoza, J., Rosas-Burgos, E. C., Luque-Alcaraz, A,G., Cortez-Rocha, M., O.. Antifungal and antimycotoxigenic activity of essential oils from Eucalyptus globulus, Thymus capitatus and Schinus molle. Food Sci. Technol, Campinas, Out.-Dez, Vol. 35, No. 4, 2015, 664-671.

23- Nene, Y., THapilya, I.. Poisoned food technique of fungicides in plant disease control .(3rd eds). Oxford and IBH Publishing Company, New Delhi. 2002.

24- OZCAN, M,M., and J.C. CHALCHAT, Chemical composition and antifungal effect of anise (Pimpinellaanisum L.) fruit at ripening stage. Annals of microbiology. 56(4), 2006, 353- 358.

25- Rheeder, J. P., P.S. Van Wyk, and W.F.O. Marasas, Fusarium species from Marion and Prince Edward Islands: sub-Antarctic. S. Afr. J. Bot., 56: 1990, 482-486.

26- SHOJAII, A., M. ABDOLLAHIFARD, Review of Pharmacological Properties and Chemical Constituents of Pimpinella anisum. International Scholarly Research Network ISRN Pharmaceutics. Iran. 2012, 8.

27- ULLAH, H. Fruit Yield and Quality of Anise (Pimpinellaanisum L.) in Relation to Agronomic and Environmental Factors. 1_{st}, VVB LAUFERSWEILER VERLAG, Germany, 2012, 112.

28- ULLAH, H., A. MAHMOOD, and B. HONERMEIER, Essential Oil And Composition Of Anise (Pimpinella Anisum L.)With Varying Seed Rates And Row Spacing. Pak. Pakistan. 46(5), 2014, 1859 – 1864.

29- ULLAH, H., A. MAHMOOD, A. IJAZ, B. TADESSE, B. and B. HONERMEIER, Evaluation of anise (Pimpinella anisum L.) accessions with regrard to morphological characteristics, fruit yield, oil contents and composition. Journal of Medicinal Plants Research. 7(29), 2013, 2177- 2186.

30- YAZDANI ,D. , S.H. REZAZADEH, G.H. AMIN, M.A. ZAINAL ABIDIN , S. ,SHAHNAZI , and H. JAMALIFAR , Antifungal activity of dried extract of Anise (Pimpinella anisum L.) and star aniseLIIicium verum hook.f against dermatophyte and saprophyte fungi . Journal of medicinal plant ,Volume 8,Supplement, No.5: 2009, 24-29

31- ZELLER, K. A., B.A. SUMMERELL, AND J.F. LESLIE, Gibberella konza (Fusarium konzum) sp. nov. from prairie grasses, a new species in the Gibberella fujikuroi species complex. Mycologia. 95: 2003, 943-954.

32- WANG, Q., WU, R, WU. X, TAI. W, DAI., N, WU. J .. Three flavonoids from the leaves of Astragalus membranaceus and their antifungal activity. Monatsh. Chem – Chemical Monthly., Vol.146, No. 10. 2015, 1771–1775.

33- WONGKAEW, P. SINSIRI, W. Effectiveness of Ringworm Cassia and Turmeric Plant Extracts on Growth Inhibition against Some Important Plant Pathogenic Fungi. American Journal of Plant Sciences, Vol. 5, 2014, 615-626.