مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم البيولوجية المجلد (36) العدد (3) 2014
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Biological Sciences Series Vol. (36) No. (3) 2014

فاعلية بعض المستخلصات النباتية ضد الفطرين *Alternaria alternata* و *Fusarium oxysporum* ومقارنتها بالمبيدات الفطرية مخبرياً

الدكتور زكريا الناصر*
الدكتور دعاس عز الدين**

(تاريخ الإيداع 22 / 1 / 2014. قبل للنشر في 14 / 5 / 2014)

□ ملخّص □

أُجريَّ هذا البحث في عام 2012– 2013 في جامعة دمشق كلية الزراعة لدراسة تأثير المستخلصات الكحولية والمائية لفصوص الثوم وأوراق الطيون والزعتر والأزدرخت في تثبيط النمو الميسليومي للفطرين *Alternaria alternata* و*Fusarium oxysporum* ومقارنتة بتأثير المبيدات الفطرية (chlorothalonil و carbendazim) على البيئة PDA في المخبر. أظهرت النتائج أن المستخلصات الإيثانولية للأنواع المدروسة أدت إلى تثبيط معنوي لنمو الفطور مقارنة مع الشاهد، وأعطى المستخلص الإيثانولي والمائي للثوم أعلى نسبة تثبيط للفطر *F. oxysporum* وأدى إلى تثبيط 100% عند التركيز 600 و1000 مغ/ليتر على التوالي وأدى إلى تثبيط تام للفطر *A. alternata* عند التركيز 1000 مغ/ ليتر. تلاه بالتأثير المستخلص الايثانولي للطيون. بينما أعطى المستخلص الإيثانولي والمائي للأزدرخت أقل نسبة تثبيط للفطور المدروسة *A. alternata* و*F. oxysporum* حيث لم يعطي تثبيط كلي للنمو عند التركيز 1000 مغ/ليتر. بالمقابل أعطى المستخلص الكحولي للزعتر تأثيراً متوسطاً لتثبيط نمو الفطر *F. oxysporum*. بينما كان تأثيره منخفضاً في الفطر*A. alternata* وقد أعطت المستخلصات الكحولية للنباتات المختبرة فاعلية أعلى من المستخلصات المائية على كلا الفطرين. أظهرت النتائج أن المبيد carbendazim أعطى أعلى نسبة تثبيط للفطر*F. oxysporum* وكانت نسبة التثبيط 100 % للفطر عند التركيز 120 مغ/ليتر مستنبت مغذي، بينما أعطى المبيد chlorothalonil تأثيراً أقل في الفطر. بالمقابل، أعطى المبيد chlorothalonil أعلى نسب تثبيط للفطر *A. alternata* عند التراكيز المستخدمة، حيث أدى إلى تثبيط 100% عند تركيز 150 مغ/ ليتر. ازداد تأثير المستخلصات النباتية والمبيدات الفطرية في تثبيط نمو الفطور المدروسة بزيادة التركيز. ويمكن ترتيب تأثير المستخلصات النباتية تنازلياً على الفطرين المدروسين كالآتي وفقاً لقيم (ED_{50}): الثوم، الطيون، الزعتر، الأزدرخت. ونوصي باستخدام المستخلص الكحولي للثوم والطيون كمبيدات فطرية حيوية صديقه للبيئة.

الكلمات المفتاحية: مستخلصات نباتيه ، مبيدات فطرية ، فطريات

*أستاذ – وقاية النبات – كلية الزراعة – جامعة دمشق– سورية.
**أستاذ مساعد – وقاية النبات – كلية الزراعة – جامعة دمشق– سورية.

مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم البيولوجية المجلد (36) العدد (3) 2014
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Biological Sciences Series Vol. (36) No. (3) 2014

Activity of some plant extracts against *Alternaria alternata* & *Fusarium oxysporum* and compared with fungicides *in vitro*

Dr. Z. A. Al –Naser*
Dr. D. Ezz Al-dden**

(Received 22 / 1 / 2014. Accepted 14 / 5 /2014)

□ ABSTRACT □

This investigation carried out in 2012-2013,in department of plant protection-Damascus Unv., to study the effect of ethanol and water extracts of *Allium sativum* L.**,** *Inula viscos* L., *Thymus vulgaris* L. and *Melia azedarach* L.**,** in inhibition mycelium growth of fungi *Alternaria alternata* and *Fusarium oxysporum* and compared with fungicides (carbendazim and chlorothalonil) on PDA in the laboratory. The result showed that ethanol extracts of studied species gave significant inhibition to growth fungi compared with the control. The ethanol and water extract of the *Allium sativum* gave the superior effect inhibition to *F. oxysporum* where gave 100% inhibition at 600 and 1000 mg/l. at respectively, and gave100% inhibition to *A. alternata* at 1000 mg/l. Followed with the ethanol extract of *Inula viscos***.** While, the ethanol and water extract of the *Melia azedarach* gave the lowest inhibition to growth study fungi. Where didn't gave 100 % inhibition to *F. oxysporum* and *A. alternata* at 1000 mg/l. On the other hand, the ethanol extract of *Thymus vulgaris* gave moderate inhibition to *F. oxysporum*, while the inhibition of *A. alternata* was little. The ethanol extract of tested plants gave the superior effect inhibition to both fungi compared with water extracts. On the other hand, the obtained results showed that carbandazim gave the superior inhibition for *F. oxysporum* ,where gave 100% inhibition at concentration 120 mg/l. While the fungicide chlorothalonil gave the lowest inhibition to *F. oxysporum*. At contrast, the fungicide chlorothalonil gave the highest inhibition to *A. alternata* at used concentration. Where cause 100% inhibition at 150 mg/l**.** On the other hand, Effect of plant extracts and fungicides increased with increase of concentrate. We can arranged the effect of plant extraction at the values (ED_{50}): *Allium sativum* L.**,** *Inula viscos* L., *Thymus vulgaris* L. and *Melia azedarach* L.**,** Therefore we recommended to use the ethanol extract of the *Allium sativum* L.**,** *Inula viscos* L. as environment friendly fungicides.

Key words: Plant Extract, Fungicides, Fungi.

* **Professor, Department of Plant Protraction, Faculty of Agriculture, Damascus University, Damascus, Syria.**
** **Assistant Professor, Depart. of Plant Protraction, Faculty of Agriculture, Damas. Univers., Damascus, Syria.**

مقدمة:

تعد الفطور العائدة للجنس *Alternaria* من الفطور واسعة الانتشار بصورة رمية أو ممرضة للنباتات مسببة مدى واسعاً من الأمراض ذات التأثير الاقتصادي في العديد من نباتات محاصيل الحبوب والمحاصيل الزيتية والخضروات والحمضيات وعديد من نباتات الزينة ونباتات الأعشاب [35]. الفطور التابعة للجنس *A. alternate* (Fr.) Keissler من الفطور المصاحبة للبذور وهي مصدر الاصابة الأولية، كما تنتقل إلى النباتات عن طريق التربة الملوثة [15]. يتميز الفطر *A. alternata* بقدرته على إنتاج أنواع مختلفة من السموم التي تساهم في غزو النسيج النباتي وإحداث الاصابة [44] . تحدث الفطور التابعة للجنس *Fusarium* العديد من أمراض النبات بما فيها أعفان الجذور وأعفان البذور والثمار على العديد من الأنواع النباتية [3 و20]. تستخدم العديد من المبيدات الفطرية منذ 1970 في مكافحة فطر *Fusarium oxysporum* Schlechtend:Fr. (emend. Snyd. & Hans.) و*Botrytis cinerea* Pers. :Fr. وأهمها المبيدات الفطرية الجهازية التابعة لمجموعة Dicarboximides (procymidone) ومجموعة Benzimidazoles (carbendazim) على التوالي [3]. ذكر العديد من الباحثين استخدام عدد من المبيدات الفطرية في مكافحة الأمراض المتسببة عن فطر *Alternaria* sp. مثل: mancozeb و chlorothalonil وتستخدم المبيدات الفطرية مثل: mancozeb و thiophenate– methyl و carbendazim في مكافحة الأمراض المتسببة عن فطر *Fusarium* sp. [25 و27]. أشار Maloy (1993)، أن المبيدات benomyl و mancozeb لها فاعلية في تخفيض النمو الفطري للفطريات التابعة للجنس *Fusarium* sp. عند تراكيز منخفضة على المستنبت المغذي. لقد ساعدت المبيدات الكيميائية ومازالت في القضاء على مسببات الأمراض وفي حماية الإنتاج الزراعي من الآفات، إلا 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 الفطور تجاه بعض المبيدات الفطرية، مما يزيد من التكلفة [24] ، يضاف إلى أن لبعض المبيدات الفطرية سمية نباتية على بعض المحاصيل، وكذلك تأثيرات سامة على الإنسان والكائنات الحية البرية والمائية نتيجة تلوث المنتجات المغذية والتربة والمصادر المائية [4 و11]. لذلك بدأ البحث عن بدائل للمبيدات تكون أقل سميه للنباتات والبيئه والانسان ومن أهمها المستخلصات النباتيه التي تحوي زيوت طياره، ومركبات فينوليه وفلافونيدات وغيرها من المركبات، التي أثبتت فاعليتها في مكافحة الحشرات والفطريات والنيماتودا [33]. تعد النباتات الطبيه والعطرية هي مصدر مهم لكثير من المركبات الكيميائية والزيوت العطرية التي يمكن تطويرها كمبيدات آفات، لكونها مركبات آمنه للبيئه والانسان [8]. وقد أشارت منظمة الصحة العالمية في كثير من التقارير أن النباتات الطبيه والعطرية يمكن أن تكون أفضل مصدر للعقاقير ولمبيدات الآفات، لا بد من معرفة خصائصها الطبيعية والفيزيائية والكيميائية والحيوية [14]. يعد مستخلص فصوص الثوم مثبط قوي لإنبات أبواغ الفطر المسبب لذبول البطيخ *Fusarium oxysporum* Schlechtend:Fr. (emend. Snyd. & Hans.) f. sp. *melonis* (Leach & Curr.)، ويزداد التأثير المثبط للأبواغ ونمو المشيجة الفطرية بزيادة تركيز المستخلص، وقد توقف نمو الفطر تماماً عند إضافة المستخلص المائي غير المخفف من نبات الثوم 100% إلى بيئة نمو الفطر، بينما ثبط المبيد الفطري بينوميل نمو الفطر عند تركيز 25 جزءاً بالمليون [17]. كما أن مركب Ajoene الموجود في الثوم له فاعلية قوية في تثبيط نمو الفطريات مقارنة مع المركبين Allicin و Thiosulphonate [47]. أكد العديد من الباحثين أن المركبات مثل: Allicin و Thiosulphonate وغيرها من المركبات الموجودة في مستخلصات الثوم لها فاعلية في تثبيط نمو الفطور التابعة للجنس *Aspergillus* sp.

A. flavus Link.) و *A. fumigates* Fr. و (*A. terreus Thom.* و *A. niger* Van. والفطر [2 و19 و22] (7). كما وجد Irkin & Korukluoglu (2007) أن لمركب Allicin المتحصل عليه من المستخلص الكحولي للثوم يثبط بشدة فطر *A. niger* والفطر (Robin) Berk hout *Candida albicans*. وقد ثبط مستخلص الثوم بتركيز 10% نمو الفطر *F. oxysporum* على المستنبت المغذي، حيث لم يزيد نمو مستعمرة الفطر أكثر من 2 مم [37]. في حين ثبط المستخلص الكحولي نمو المشيجة الفطرية للفطور التابعة للجنس *Aspergillus* sp. [36]. وجد Maoz &Neeman (1998) أن المستخلصات المائية للطيون *Innula viscose* L. لها فاعلية في تثبيط نمو الفطور في المخبر. وقد أثبت Cohen *et al.*, (2002) أن المستخلصات الكحولية وخلات الايثيل والأستون والكلورفورم والهكسان – ن لأوراق الطيون فاعلية في تثبيط الفطور. كما يحتوي مستخلص نبات الطيون *Innula viscose* على زيوت نباتيه لها تأثير فعال على مرض البياض الزغبي على العنب الذي يسببه فطر *Plasmopara viticola* Berk. & M. A. curtis [10]. وجد العديد من الباحثين أن المواد الفعَّالة في زيت نباتات الزعتر (*Thymus vulgaris* L. و *T. zygis* L. و *Majorana syriaca* L.) هي carvacrol وthymol وg–terpinene و pcymene التي لها فاعلية في تثبط نمو الفطور والبكتريا في المخبر [34 و40 و42]. وكلما زاد تركيز زيت *Thymus kotschyanus* L. في بيئة نمو فطر *Botrytis cinerea* زادت نسبة تثبيط النمو، حيث كانت نسبة التثبيط 50% و100% عند التراكيز 100 و 400 ميكروليتر/ ليتر [29]. تم إختبار فاعلية 17 مستخلصاً نباتياً على النمو الميسليومي للفطر *F .moniliforme* Sheldon على المستنبت المغذي، وجد أن مستخلص أوراق نبات الحناء *Lawsonia inermis* L. قد أعطى أعلى تثبيط للنمو (60.65%)، بينما أعطى مستخلص أوراق *Eucalyptus citriodora* Hook. أقل تثبيط للنمو الفطر (25%) عند تركيز 20% [48]. نجح الكيميائيون في الكشف عن أربعين مركباً حيوياً فعالاً تتركز أساساً فى البذور وزيت البذور، والقلف والأوراق في نباتات النيم *Azadirachta indica* A. Juss. والأزدرخت *Melia azedarach* L.، وهي مركبات تتصف بتركيب كيميائي معقد من نوع " ثلاثية التربينات " Triterpenes [1 و23]. وجد Siva *et al.*, (2008) أن المستخلص الأسيتوني لأوراق *Azadirachta indica* أعطى نسبة تثبيط 98% للفطر *F. oxysporum* ، بينما أدى المستخلص الكحولي والمائي إلى نسبة تثبيط 96%. وقد أعطى المستخلص المائي لأوراق نبات حلق السبع الشجيري *Adhatoda vasica* Ness. نسبة تثبيط للفطر بلغت 72% و100% عند التراكيز 10% و 40% على التوالي. وأنّ تأثير المستخلصات تباين وفقاً لنوع المذيب المستخدم في الاستخلاص والتركيز. درس Moslem& El–Kholie (2009) تأثير مستخلصات الايثانول – الهكسان والميثانول لبذور وأوراق النيم *Azadirachta indica* على الفطور الممرضة للنبات التالية : *F. oxysporum* و *Rhizoctonia solani* Kühn و *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary و *Alternaria solani* (Ell. and Mart.) Jones and Grout وجدوا أن هذه المستخلصات تقوم بتثبيط نمو الفطور المختبرة، وقد تفاوتت نسبة تثبيط الفطور المختبرة وفقاً لنوع المستخلصات والتراكيز المختلفة. ووجد أنها كانت فعالة في تثبيط كل الفطور المختبرة وكانت الفطور *F. oxysporum* و*Rhizoctonia solani* أكثرها تثبيطاً.

تعد منطقة الشرق الأوسط وسورية غنية بالنباتات الطبية والعطرية التي يمكن استخدامها كمبيدات حيوية آمنة على البيئة والانسان والحياة البرية [45].

أهمية البحث وأهدافه:

نظراً لتوفر النباتات الطبية والعطرية في البيئة السورية، والتوجه الحديث لايجاد بدائل للمبيدات الكيميائية، جاءت هذه الدراسة لاختبار فاعلية بعض المستخلصات النباتية في مكافحة الأمراض النباتية وإمكانية استخدامها بدلاً عن المبيدات الفطرية الكيميائية، والمساهمة في تقليل التلوث البيئي.

الهدف من البحث:

يهدف هذا البحث إلى دراسة تأثير المستخلصات المائية والإيثانولية لفصوص الثوم وأوراق الطيون والزعتر والأزدرخت في تثبيط النمو الفطري للفطرين *Fusarium oxysporum* و*Altrnaria alternata* على المستنبت المغذي بالمخبر ومقارنة فاعليتها بالمبيدين الفطريين Chlorothalonill و Carbendazim ، وكذلك رسم خطوط السمية، ووضع قيم (ED_{50}) التركيز النصفي الفعّال.

طرائق البحث ومواده:

تمت التجربة في عام 2012-2013 في قسم وقاية النبات في كلية الزراعة – جامعة دمشق لتقييم فاعلية المستخلصات الكحولية والمائية لأوراق الأزدرخت وأوراق الطيون وأوراق الزعتر وفصوص الثوم في تثبيط النمو الفطري للفطرين *Fusarium oxysporum* و*Altrnaria alternata* على المستنبت بالمخبر ومقارنة فاعليتها بالمبيدين الفطريين Chlorothalonill و Carbendazim.

-جمع النباتات وتحضير المستخلصات النباتية:

جمعت العينات النباتية المدروسة (جدول1) من محافظة ريف دمشق، بوزن 1 كغ، تم غسلها بالماء الجاري للتخلص من الأتربة. وتم تجفيفها هوائياً لمدة 10 أيام على درجة حرارة المخبر في الظل. تم طحن العينات النباتية باستخدام مطحنة كهربائية مخبرية للحصول على بودرة جافة. وتم الحصول على رؤوس الثوم الجافة من السوق. تم سحق فصوص الثوم باستخدام هاون خزفي مخبري ثم أُخذ 100 غرام من المسحوق.

جدول (1): النباتات المدروسة والجزء المستخدم للإستخلاص

الاسم المحلي	الاسم الانكليزي	الاسم العلمي	الفصيلة	الجزء المستخدم
الثوم	Garlic	*Allium sativum* L.	Alliaceae	فصوص الثوم
الطيون	Inula	*Inula viscos* L.	Asteraceae	الأوراق
الزعتر	Thyme	*Thymus vulgaris* L.	Labiatae	الأوراق
الأزدرخت	Chinaberry	*Melia azedarach* L.	Meliaceae	الأوراق

-تحضير المستخلص الكحولي:

يوزن 100 غرام من العينة النباتية المطحونة وتوضع في زجاجات بنية سعة 2 ليتر يضاف لها 1000 مل من المُحل الكحولي تركيزه 95 % توضع العينة في جهاز الرج المغناطيسي لمدة ساعة ، تترك العينة 24 ساعة على جهاز رج 300 دورة على الدقيقة (لزيادة دخول المُحِل في الأنسجة النباتية) ، ترشح العينة في قمع بوخنر ويستخدم كبريتات الصوديوم اللامائية للتخلص من الماء في العينة يؤخذ الراشح ويوضع في زجاجة بنية، يعاد غسل البقايا النباتية بـ 100 مل كحول الايثانولي 95% وترج جيداً باستخدام الرجاج المغنطيسي لمدة 15 دقيقة ثم ترشح بواسطة

قمع بوخنر والراشح الناتج يضاف للراشح السابق. تنقل كامل الرُشاحة إلى حوجلة المبخر الدوراني لتبخير الكحول منه على درجة حرارة (50– 60 م°) حتى الوصول إلى تركيز 10 مل تنقل إلى زجاجات بنية سعة 25 مل وتغلق الزجاجات بشكل جيد وتخزن على درجة حرارة 4 مئوية حتى الاستخدام. عند الاستخدام تجفف العينات بشكل كامل باستخدام النتروجين (N2– Radivapour)، (لتقليل ما أمكن من تفكك المركبات المستخلصة). أُخذا 1 غ من كل نوع وأذيب في 5 مل من المحل الإيثانولي تركيزه 95 % للحصول على تركيز 200 مغ / مل كمحلول قياسي [18] مع التعديل.

–تحضير المستخلص المائي:

تم وزن 100 غ من مسحوق النباتات المختبرة كل على انفراد ووضعت في زجاجات بنية معقمة سعة 2000 مل وتم اضافة 1000 مل من الماء المقطر المعقم 100:10 (وزن : حجم). تم وضع الزجاجات على جهاز رج (300 دورة / ساعة) لمدة 24 ساعة في الظلام . ثم رشح بعد ذلك خلال عدة طبقات من الشاش ورشح ثانية بواسطة قمع بخنر باستخدام ورق ترشيح ثم وضع في جهاز المثفلة بسرعة 6000 د/ دقيقة لمدة ربع ساعة تنقل كامل الرُشاحة إلى حوجلة المبخر الدوراني لتبخير الماء منه على درجة حرارة (50– 60 م°) مع التفريغ، حتى الجفاف وتشكيل فيلم رقيق على الحوجلة يضاف للحوجلة 5 مل ايثانول 95% للسماح للبقايا بالانحلال الكامل تنقل إلى زجاجات بنية سعة 25 مل ، تكرر هذه الخطوة بإضافة 5 مل ايثانول 95% إلى الحوجلة للتأكد من نقل كامل البقايا بشكلٍ كاملٍ تضاف إلى الكمية السابقة بالزجاجات، تغلق الزجاجات بشكل جيد وتخزن على درجة حرارة 4 مئوية حتى الاستخدام. عند الاستخدام تجفف العينات بشكل كامل باستخدام النتروجين. يؤخذ1 غ من كل نوع وأذيب في 5 مل من الماء وكحول 95% (4 ماء: 1 ايثانول 95%) المقطر المعقم للحصول على تركيز 200 مغ/ مل كمحلول قياسي وعقم باستخدام المرشح الدقيق (Millipore filter) [39].

– المبيدان الفطريان :

– كلورتوسيب DF .(Chlorothalonill % 75)، مبيد فطري تلامسي.

– إلسا WP (Carbendazim 50%)، مبيد فطري جهازي، [27].

–تحضير أوساط زراعة الفطريات:

تم تحضير مستنبت البطاطا دكستروز الأجار (PDA) كمستنبت للفطور في المخبر وأُضيف إليها مضادات حيوية Ampicillin (100 جزء بالمليون) و Streptomycin (100 جزء بالمليون) لمنع نمو البكتريا [12].

–تحضير المزارع الفطرية:

تم الحصول على مزارع نقية ومُعرّفة للفطرين *Alternaria alternata* و*Fusarium oxysporum* بعمر 7 أيام من مخابر أمراض النبات في كلية الزراعة – جامعة دمشق. حيث تم إكثارها بطريقة النقل المتكرر بأخذ أقراص بقطر 5 مم من أطراف المزرعة ووضعها في مركز أطباق بتري تحتوي على مستنبت بطاطا دكستروز أجار (PDA) وتم تحضينها عند درجة حرارة 24 ± 2 درجة مئوية لمدة 10 أيام [38].

–تقييم تأثير المستخلصات النباتية والمبيدين الفطرين في نمو الفطرين المدروسين:

تم اختبار فاعلية المبيدات الفطرية المدروسة والمستخلصات النباتية في تثبيط نمو المشيجة لكل من الفطرين بطريقة المستنبت المغذي المسمم (The Poison Food Technique) [13]. حيث تم استخدام التراكيز التالية: (5 ، 10، 20، 40، 80، 100، 120، 150، 200 مغ مادة فعالة لكل ليتر من المستنبت). والتراكيز من

المستخلصات المائية والكحولية (50 ، 100، 200 ، 300، 400، 600 ، 800، 1000 مغ لكل ليتر من المستنبت) إضافة إلى الشاهد (لم يضاف للمستنبت مبيدات أو مستخلصات نباتية). وقد أضيف للمستنبت مادة Tween 20 بنسبة (0.04 %) للمساعدة على الاستحلاب بالمستنبت المغذي بشكل جيد. تم تحضير المعلق المائي من المبيدات الفطرية المختبرة بإذابة كمية مناسبة من المستحضر التجاري في الماء المعقم لتشكيل محلول أم بتركيز 1000 مغ / ليتر ماء. وضع 100 مل PDA في دوارق سعة 150 مل، ثم عقمت في الأوتوكلاف لمدة 30 دقيقة. تركت الدوارق تبرد حتى درجة 50 م° تقريباً، ثم أضيفت كمية مناسبة من معلق المبيد أو المستخلص النباتي (الأساسي) للحصول على التركيز المناسب تم رج المستنبت المغذي جيداً. صب المستنبت المغذي في أطباق بتري. وبعد ذلك تم تلقيح الأطباق بالفطرين المدروسين، وذلك بوضع قرص 5 مم في وسط كل طبق بتري، وبمعدل ثلاثة مكررات لكل تركيز، ثم حضنت الأطباق عند درجة حرارة 24 ± 2 درجة مئوية لمدة 7 أيام (تم التأكد من عدم تأثر نمو الفطور المدروسة بالكمية العظمى من المحل (ايثانول 95%) المضاف للمستنبت المغذي بتجربة تمهيدية سابقة). أخذت النتائج بحساب متوسط قطرين متعامدين كما تم حساب النسبة المئوية لتثبيط النمو الفطري وفقاً لمعادلة Vincent(1947) :

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

– تم حساب قيمة تركيز المبيد الفطري المسبب لتثبيط 50 % من نمو الميسليوم لكل فطر (ED_{50}) عن طريق رسم خطوط السمية التي تربط العلاقة بين التركيز ونسبة التثبيط [5] .

التحليل الاحصائي:

تم تحليل النتائج وفق برنامج التحليل الإحصائي SPSS. 20، حيث استخدم التصميم العشوائي الكامل بمستوى معنوية 0.05.

النتائج والمناقشة:

أعطت المستخلصات الكحولية للنباتات المختبره تثبيط قوي لنمو الفطرين *Fusarium oxysporum* و*Alternaria alternata* في المستنبت المغذي، نجد من البيانات في الجدول (2) أن المستخلص الكحولي للثوم أعطى أعلى تثبيط للفطرين وبفروق معنوية مع المعاملات الأخرى، حيث كانت نسبة تثبيط نمو الفطر *F. oxysporum* 51.29% والفطر *A. alternata* 54.22% عند التراكيز 100 و200 مغ مستخلص/ ليتر مستنبت على الترتيب. وقد ازداد تثبيط نمو الفطرين بشكل حاد مع زيادة التركيز حيث أعطى المستخلص الكحولي للثوم تثبيط تام (100%) عند التراكيز 600 و800 مغ مستخلص/ ليتر مستنبت للفطر *F. oxysporum* و *A. alternata* على التوالي. يعود تأثير مستخلص الثوم على الفطور لوجود عدة مركبات لها فاعلية في تثبيط الفطور، مثل: Ajoene و Allicin و Thiosulphonate وغيرها من المركبات التي تؤثر على الجدر الفطرية، حيث وجد الباحث Bianchi *et al.,* (1997) أن مسحوق الثوم المحضر على شكل ميكروني ثبط بقوة نمو وتطور هيفات العديد من الفطور في المخبر عن طريق التأثير على الجدار الخلوي والغشاء السيتوبلاسمي والسيتوبلاسما (الهيولى). وقد أثبت Tariq & Magee (1990) أن المركبات الطيارة الموجودة في المستخلصات المائية للثوم تثبط إنبات

الأبواغ الميكروكونيدية (Microconidi) ونمو واستطالة الهيفات للفطر *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Sacc.) W.C. Snyder & H.N. Hans في المستنبت المغذي. وهذا يتوافق مع El-Shami *et al.*, (1985) عند دراسة تأثير مستخلص الثوم على الفطر المسبب لذبول البطيخ. وذكر Ramsey *et al.*, (2007) أن مستخلص الثوم بتركيز 10% ثبط نمو الفطر *F. oxysporum* على المستنبت المغذي، حيث لم يزيد نمو مستعمرة الفطر أكثر من 2 مم. تلاه في التأثيرالمستخلص الكحولي لأوراق الطيون حيث أعطى نسبة تثبيط أعلى من 50% لنمو الفطرين *F. oxysporum* و*A. alternata* عند التركيز 200 مغ مستخلص/ ليتر مستنبت.

وأعطى تثبيط تام عند التركيز 800 مغ مستخلص/ ليتر مستنبت لنمو كلا الفطرين. توجد العديد من المركبات والحموض في أوراق الطيون التي أثبت الباحثون قدرتها على قتل أو إعاقة نمو الآفات الحشرية والنيماتودية والتي لها فعل تثبيطي على نمو الفطور. فقد أكد Oka *et al.*, (2001) أن المستخلصات الكحولية لأوراق وسوق نباتات الطيون (*Inula viscose* L., *Cupularia viscose* L., *Dittrichia viscose* L.) تحتوي على مركبات كيميائية أهمها أحماض Sesquiterpenic acids الذي يتكون من (costic acid & isocostic acid) لها فاعلية في مكافحة الآفات. وتتوافق النتائج التي حصلنا عليها مع Cohen *et al.*, (2002) و Cohen *et al.*, (2006). في حين أعطى كلاً من المستخلص الكحولي لأوراق الزعتر والأزدرخت تثبيطاً منخفضاً لنمو الفطرين في المستنبت المغذي حتى 300 مغ مستخلص/ ليتر مستنبت. كانت نسبة التثبيط أعلى من 50% لنمو كلا الفطرين عند التركيز 400 مغ مستخلص/ ليتر مستنبت لكلا المستخلصين. وقد ازداد التأثير التثبيطي مع زيادة التركيز إلا أن المستخلص الكحولي لأوراق الأزدرخت لم يعطي تأثيراً مثبطاً تاماً لنمو كلا الفطرين عند التركيز الأعظمي المستخدم (1000 مغ مستخلص/ ليتر مستنبت). بينما أعطى المستخلص الإيثانولي لأوراق الزعتر تثبيط 100% لنمو كلا الفطرين عند التركيز الأعظمي. وقد ازداد تأثير المستخلصات الكحولية للنباتات المدروسة بزيادة تركيز المستخلص النباتي في المستنبت المغذي والعكس بالعكس. وكان تأثير المستخلصات الإيثانولية أعلى في نمو الفطر *F. oxysporum* منه على الفطر *A. alternata*. لقد أثبت العديد من الباحثين فاعلية مستخلصات نباتات الزعتر والأزدرخت في تثبيط نمو الفطور. فقد بين Duke (1985) أن نبات الزعتر يحتوي على caffeic acid الذي له تأثير مثبط على الفطور. قد يكون انخفاض تأثير مستخلص أوراق الزعتر على الفطور المدروسة في التراكيز المنخفضة إلى انخفاض نسبة المواد الفعالة في المستخلص الكحولي، حيث وجد العديد من الباحثين Pina –Vas *et al.*, (2004) و Sacchetti *et al.*, (2005) أن المواد الفعالة في زيت نباتات الزعتر (*Thymus vulgaris* و *T. zygis* و *Majorana syriaca*) هي carvacrol و thymol و g-terpinene و pcymene التي لها فاعلية في تثبط نمو الفطور والبكتريا في المخبر. وقد ازداد تأثير مستخلص الزعتر مع زيادة التركيز وهذا يتوافق مع Marandi *et al.*, (2001). كما أثبت العديد من الباحثين,Mondali *et al.*, (2009) و Moslem & El-Kholie (2009) فاعلية المستخلصات الكحولية للأزدرخت على الفطور. بشكل عام كان هناك فروق معنوية بين المستخلصات الكحولية للنباتات المختبرة في تأثيرها في نمو الفطر *F. oxysporum* أو الفطر *A. alternata*. كما وجد فروق معنوية في تأثير المستخلصات الإيثانولية بين الفطرين عند مستوى معنوية 5%. وكان تأثير المستخلصات الكحولية للنباتات المختبرة أعلى في تثبيط نمو الفطر *F. oxysporum* منه على تثبيط نمو الفطر *A. alternata*.

جدول (2): تأثير المستخلصات الكحولية للنباتات المختبرة في نمو الفطرين *F. oxysporum* و*A. alternata*

التركيز مغ/ ليتر	النسبة المئوية للتثبيط							
	F. oxysporum				*A . alternata*			
	ثوم	طيون	زعتر	أورق أزدرخت	ثوم	طيون	زعتر	أورق أزدرخت
50	32.12	25.41	7.29	17.53	26.11	18.67	9.78	6.11
100	51.29	39.64	29.76	28.47	45.89	31.44	31.89	12.44
200	63.29	57.78	37.41	42.09	54.22	52.22	39.44	29.33
300	82.59	67.29	49.94	47.22	63.89	61.89	41.67	41.67
400	98.71	74.47	65.35	54.71	85.11	70.33	56.22	50.44
600	100	93.29	81.65	76.24	91.22	85.22	77.56	58.22
800	100	100	94.59	82.22	100	100	88.22	67.89
1000	100	100	100	97.77	100	100	100	86.33

الأرقام في الجدول متوسط ثلاثة مكررات ، قيمة L.S.D (5%) بين المعاملات 3.14.

قيمة L.S.D (5%) بين الفطور 4.16.

تظهر النتائج في الجدول 3 أن المستخلصات المائية للنباتات المختبرة أعطت نسب تثبيط متباينة لنمو الفطرين *F. oxysporum* و*A. alternata* في المستنبت المغذي. وتوجد فروق معنوية بين تأثير المستخلصات المائية للنباتات المختبرة في تثبيط نمو الفطر *F. oxysporum* أو الفطر *A. alternata*. كما وجد فروق معنوية في تأثير المستخلصات المائية بين الفطرين عند مستوى معنوية 5%. أعطى المستخلص المائي للثوم أعلى نسبة تثبيط لنمو كلا الفطرين بالمقارنة مع تأثير المستخلصات المائية لباقي النباتات وبفروق معنوية مع المعاملات الأخرى، حيث كانت نسب التثبيط (97.23% و100%) للفطر *F. oxysporum* و(78.67% و91.34%) للفطر *A. alternata* عند التركيزين 800 و1000 مغ مستخلص/ ليتر مستنبت على التوالي. وهذا يتوافق مع El-Shami *et al.*, (1985). وقد تلاه في ذلك المستخلص المائي لأوراق الطيون حيث كانت نسب التثبيط (91.29% و100%) للفطر *F. oxysporum* و(66.33% و88.87%) للفطر *A. alternata* عند التراكيز ذاتها على الترتيب. وهذا يتوافق مع ما وجده Maoz & Neeman (1998) فقد أثبت فاعلية المستخلصات المائية للطيون *I. viscose* في تثبيط نمو الفطور في المخبر. في حين أعطت المستخلصات المائية لأوراق الزعتر والأزدرخت نسب تثبيط منخفضة لنمو الفطرين في المستنبت المغذي حيث لم يعطي التركيز الأعظمي المختبر (1000 مغ مستخلص/ ليتر مستنبت) تثبيطاً تاماً لكلا الفطرين. إلا أن المستخلص المائي لأوراق الزعتر أعطى تثبيط أعلى من المستخلص المائي لأوراق الأزدرخت لنمو كلا الفطرين، حيث كانت نسب التثبيط 97.33% لفطر*F. oxysporum* و76.33% للفطر *A. alternata* عند التركيز 1000 مغ مستخلص/ ليتر مستنبت.

وجد Mondali *et al.*, (2009) أن المستخلصات المائية والكحولية لأوراق النيم لها فاعلية عالية في تثبيط نمو الفطور *Aspergillus* sp. و*Rhizopus* sp. على المستنبتات المغذية، على الرغم من أن المستخلصات

الكحولية كانت أكثر فاعلية من المستخلصات المائية. وقد ازداد تأثير المستخلصات المائية للنباتات المدروسة بزيادة تركيز المستخلص في المستنبت المغذي والعكس بالعكس. وكان تأثير المستخلصات أعلى في تثبيط نمو الفطر *F. oxysporum* منه على الفطر *A. alternata*. وقد وجد أن المستخلصات المائية للنباتات المختبرة أدت إلى تثبيط نمو كلا الفطرين بنسب أقل من التثبيط الناتج عن استخدام المستخلصات الكحولية للنباتات المختبرة. يفسر ذلك كون المستخلصات المائية أقل قدرة على انحلالية أغلب المواد الفعالة (الفينولية والتربينات والفلافونيدات وغيرها) التي لها تأثير مثبط في نمو الآفات، في حين تعد المُحلات العضوية (المحل الإيثانولي) لها قدرة كبيرة على إذابة كثير من المواد الفعالة الموجودة في النباتات. وهذا يتوافق مع Mondali *et al.*, (2009) و Moslem & El-Kholie (2009).

جدول (3): تأثير المستخلصات المائية للنباتات المختبرة في نمو الفطريات*F. oxysporum* و*A . alternata*

التركيز مغ/ ليتر	النسبة المئوية للتثبيط							
	F. oxysporum				*A . alternata*			
	ثوم	طيون	زعتر	أورق أزدرخت	ثوم	طيون	زعتر	أورق أزدرخت
50	16.82	11.29	4.59	4.47	9.22	7.22	2.44	0
100	39.76	21.53	16.24	8.47	21.89	15.89	9.67	7.33
200	41.29	36.82	24.12	19.06	29.44	25.44	18.44	10.67
300	61.65	40.71	33.29	24.12	44.11	35.33	29.56	18. 33
400	76.24	64.94	54.24	31.29	65.32	53.89	37.89	32.11
600	82.12	77.76	74.82	46.35	71.22	58.44	44.33	39.33
800	97.23	91.29	85.76	60.94	78.67	66.33	56.67	44.56
1000	100	100	97.33	74.82	91.34	88.87	76.33	62.33

الأرقام في الجدول متوسط ثلاثة مكررات ، قيمة (5%) L.S.D بين المعاملات 2.89 .

قيمة (5%) L.S.D بين الفطور 5.21.

تظهر النتائج في الجدول (4) أن المبيد الفطري كربندازيم أعطى تثبيطاً قوياً لنمو فطر*F. oxysporum* في المستنبت المغذي مقارنةً مع المبيد الفطري كلورثالونيل، وبفروق معنوية، حيث أعطى مبيد الكربندازيم نسبة تثبيط لنمو الفطر *F. oxysporum* 54.24 % عند التركيز 20 مغ/ ليتر مستنبت وتثبيط تام عند التركيز 120 مغ/ ليتر مستنبت. يعود ذلك بكون المركبات التابعة لمجموعة البنزاميدازول ومنها الكربندازيم متخصصة في مكافحة الفطور التابعة للجنس*F. oxysporum* ، وهذا يتوافق مع lyr (1987) و Mann (2004). بينما أعطى المبيد كلورثالونيل نسبة تثبيط للفطر *F. oxysporum* 84.12% عند التركيز الأعظمي المستخدم (200 مغ / ليتر) . في حين أعطى مبيد الكلورثالونيل تثبيطاً أعلى للفطر *A. alternata* مقارنة مع المبيد كربندازيم ، وبفروق معنوية ، حيث أعطى نسبة تثبيط 63.22% عند التركيز 40 مغ / ليتر، وتثبيط تام عند تركيز150 مغ/ليتر. بينما لم يعطي مبيد الكربندازيم نسبة تثبيط أعلى من 50% إلا عند التركيز 120 مغ/ ليتر، ولم يثبط نمو فطر *A. alternata* كلياً حتى عند

التركيز 200 مغ / ليتر. أيضاً يعد مبيد كلورثانوليل من المبيدات المتخصصة في مكافحة الفطور التابعة للجنس *Alternaria* [25]. وقد ذكر Iyr (1987) أن المبيدات الفطرية من مجموعة البنزاميدازول ليس لها تأثير على الفطور التابعة للجنس *Alternaria* . وقد ازداد تأثير المبيدين الفطرين بزيادة التركيز. ووجد من النتائج وجود فروق معنوية لتأثير المبيدين على الفطرين المختبرين، كما وجد فروق معنوية في تأثير كل مبيد على الفطرين. وقد إزداد تأثير المبيدين كربندازيم وكلورثالونيل في تثبيط نمو الفطرين *F. oxysporum* و*A. alternata* في المستنبت المغذي بزيادة التركيز والعكس بالعكس.

جدول (4): تأثير المبيدات الفطرية المختبرة في نمو الفطرين *F. oxysporum* و*A . alternata*

التركيز مغ / ليتر	النسبة المئوية للتثبيط			
	F. oxysporum		*A . alternata*	
	كلورثالونيل	كربندازيم	كلورثالونيل	كربندازيم
5	3.5**3**	11.0**6**	**1**5.5**6**	1.33
10	5.88	46.35	**2**4.7**8**	6.11
20	10	54.2**4**	**4**5.7**8**	**16.23**
40	18.94	74.2**4**	**63.22**	23.44
80	35.88	**84**.82	**7**3.11	29.5**6**
100	47.6**5**	97.5**3**	**8**6.44	38.22
120	58.1**2**	100	**9**3.8**9**	**58.67**
150	75.1**8**	100	**100**	62.8**9**
200	84.1**2**	100	100	67.8**9**

الأرقام في الجدول متوسط ثلاثة مكررات قيمة L.S.D (5%) بين المعاملات 4.18 .

قيمة L.S.D (5%) بين الفطور 2.11.

جدول (5): قيم ED_{50} للمستخلصات النباتية والمبيدات المختبرة في الفطرين *F. oxysporum* و*A. alternata*

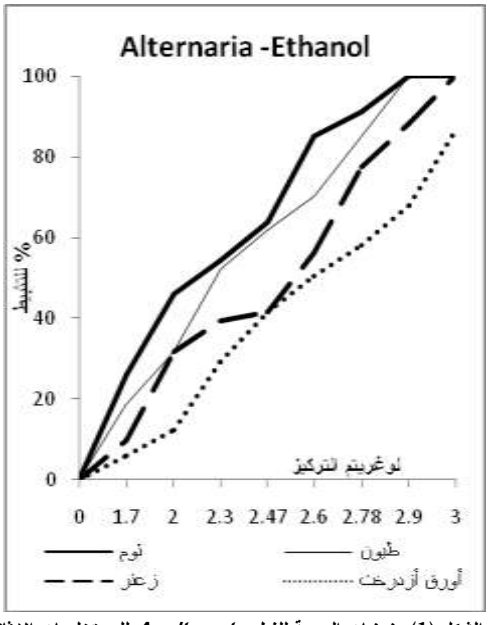
المعاملة	الثوم		الطيون		الزعتر		الأزدرخت		المبيدات الفطرية	
المستخلص	ايثانولي	مائي	ايثانولي	مائي	ايثانولي	مائي	ايثانولي	مائي	كربندازيم	كلوروثالونيل
F. oxysporum	98	248	110	347	303	378	345	625	14	103
A. alternata	150	327	196	388	361	688	398	872	112	24

قيم ED_{50} (مغ/ليتر)

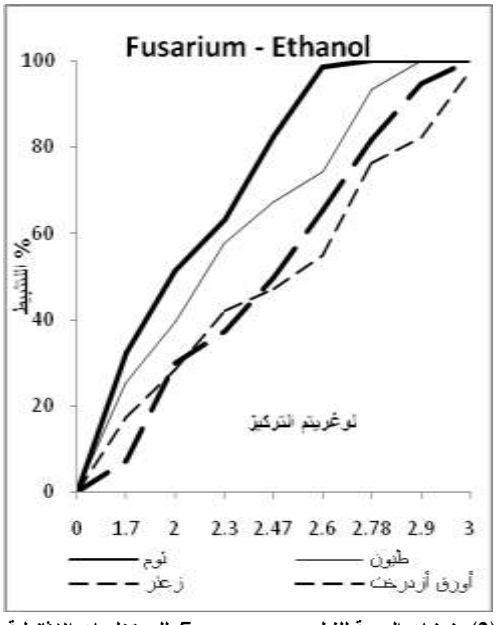
حسبت القيم على أساس تركيز المبيد الفطري على المستنبت المغذي المسبب لتخفيض 50 % لنمو ميسليوم الفطر مقارنة مع نمو الميسليوم على المستنبت المغذي دون إضافة مستخلص نباتي أو مبيد (الشاهد).

تظهر النتائج في الجدول (5) قيم التركيز النصفي الفعال (ED_{50}) للمستخلصات النباتية المائية والكحولية والمبيدات الفطرية المختبرة، نجد أن قيم (ED_{50}) للمستخلصات الكحولية منخفضة مقارنة مع المستخلصات المائية للنباتات المختبرة. أعطى المستخلص الكحولي لفصوص الثوم أقل قيمة لـ (ED_{50}) للفطر *F. oxysporum* والفطر

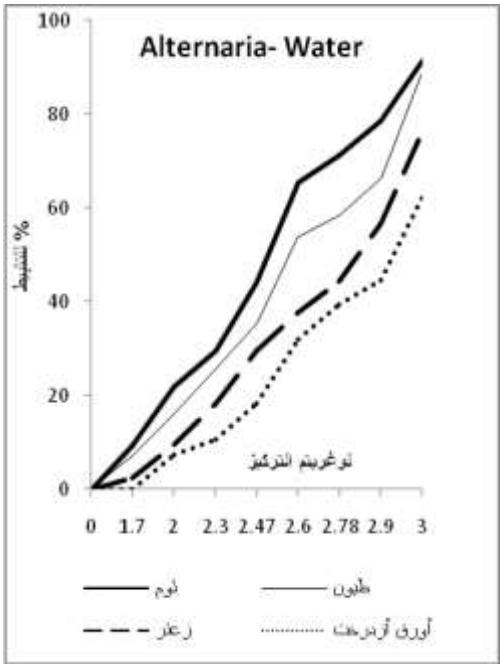
A. alternata حيث كانت 98 مغ/ ليتر و150 مغ/ ليتر على الترتيب. وقد تفوق المستخلص المائي لفصوص الثوم على المستخلص الكحولي للأوراق الزعتر والأزدرخت حيث كانت قيم (ED_{50}) 248 مغ/ليتر و327 مغ/ ليتر للفطرين على التوالي [17 و37]. تلاه بالتأثير المستخلص الكحولي والمائي لأوراق الطيون حيث أعطى أعلى تأثير على الفطر *F. oxysporum* والفطر *A. alternata* حيث كانت قيم (ED_{50}) (110 و 196 مغ/ليتر) للمستخلص الإيثانولي و(347 و 388 مغ/ليتر) للمستخلص المائي للفطرين على التوالي. بمقارنة قيم (ED_{50}) للمستخلصات النباتية مع قيم (ED_{50}) للمبيدات الفطرية الكيميائية وجد أن المبيدات المختبرة أعطت أعلى تأثير على الفطرين من المستخلصات المائية والكحولية للنباتات المختبرة على حدٍ سواء. وقد أعطى مبيد الكربندازيم قيم (ED_{50}) (14 و 112 مغ/ليتر) للفطرين *F. oxysporum* و*A. alternata* والمبيد كلوروثالونيل أعطى قيم (ED_{50}) (103 و24 مغ/ليتر) للفطرين على التوالي. يعود ذلك بكون المبيدات الفطرية هي مركبات صنعية متخصصة التأثير فالمبيد الفطري كربندازيم له كفاءة عالية على الفطريات التابع للجنس *Fusarium* والمبيد الفطري كلوروثالونيل له فاعلية عالية على الفطور التابعة للجنس *Alternaria* [3 و25 و26 و27] . في حين تحتوي المستخلصات النباتية الخام المدروسة على المركبات الفعالة على الآفات بتراكيز منخفضة، حيث ازداد مفعول المستخلصات الكحولية على المستخلصات المائية في المعاملات لكون المُحلات العضوية القطبية لها قدرة أعلى من الماء في حلّ المواد الفعالة من الأنسجة النباتية كما أن المواد التي لها قدرة على الانحلال في الماء سوف تضاف مع المواد القابلة للانحلال في المذيبات العضوية القطبية حيث يعد الكحول محل عضوي قطبي عالٍ [9 و10 و17 و31]. وفي النتيجة نجد أن المستخلصات الكحولية للفصوص الثوم وأوراق الطيون لها كفاءة في تثبيط نمو كلا الفطرين المدروسين على المستنبت في المخبر. حيث كانت قيم (ED_{50}) تجاه الفطرين أقل مقارنة مع قيم (ED_{50}) للمستخلصات النباتية الأخرى. وبذلك يمكن التأكيد على فاعلية هذه المستخلصات تحت ظروف الحقل في مكافحة الممرضات النباتية باعتبارها بدائل آمنه للمبيدات.



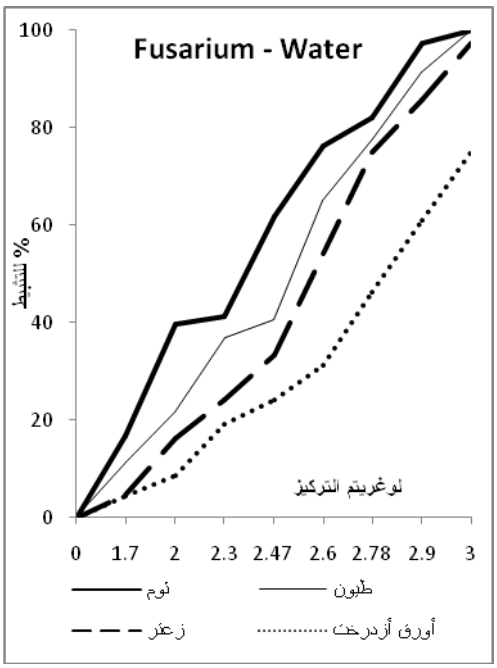
الشكل (1) منحنيات السمية للفطر *A. alternata* للمستخلصات الإيثانولية



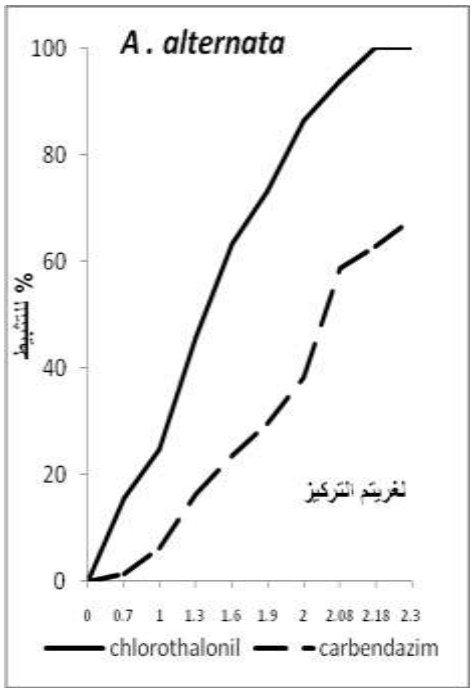
الشكل (2) منحنيات السمية للفطر *F. oxysporum* للمستخلصات الإيثانولية



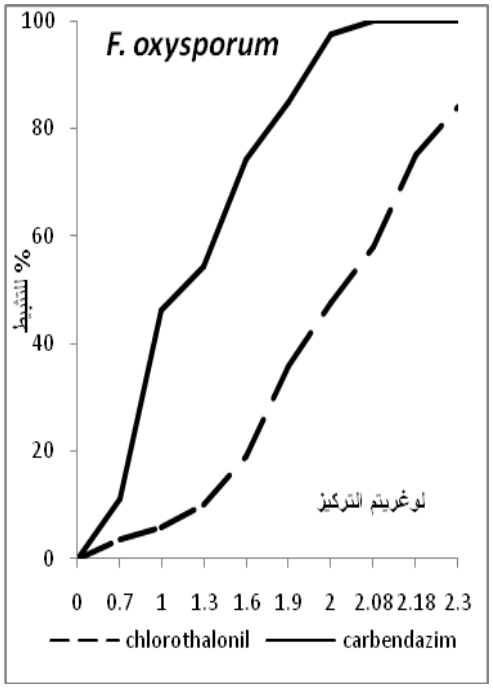
الشكل (3) منحنيات السمية للفطر *A. alternata* للمستخلصات المائية



الشكل (4) منحنيات السمية للفطر *F. oxysporum* للمستخلصات المائية



الشكل (5) منحنيات السمية للفطر *A. alternata* للمبيدات الفطرية



الشكل (6) منحنيات السمية *F. oxysporum* للفطر للمبيدات الفطرية

الاستنتاجات والتوصيات:

الاستنتاجات:

-تعد المستخلصات الكحولية للثوم والطيون والزعتر والأزدرخت أكثر فاعلية من المستخلصات المائية في تثبيط نمو الفطرين *F. oxysporum* و*A . alternata* على المستنبت المغذي.

-أعطت المستخلصات الكحولية والمائية للثوم والطيون أعلى فاعلية في تثبيط نمو الفطور المختبرة.

التوصيات:

-نوصي باستخدام المستخلصات الكحولية للثوم والطيون المتوفرة في البيئة المحلية في برامج المكافحة المتكاملة لمكافحة الفطرين المدروسين لانخفاض تكاليف تحضيرها، ولتقليل تلوث البيئة نتيجة استخدام المبيدات الكيميائية.

-نوصي باختبارات السمية لهذه المستخلصات على الانسان للتأكد من سلامتها.

المراجع:

1-منيعم ،أمل حامد أحمد 2010. دراسة فاعلية بعض الطرق الآمنه بيئياً في مكافحة مرض الذبول الفيوزارمي على بادرات الطمماطم الذي يسببه الفطر *Fusarium oxysporum* f.sp.*lycopersici* . رسالة ماجستير كلية الزراعة جامعة عدن، 165.

2- Abd-Alla MS, K. M. Atalia and M.A.M. El-Sawi , 2001- Effect of some plant waste extracts on growth and aflatoxin production by *Aspergillus flavus*. Annals Agrie. Sci., 46, 579-592.

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

4- Anonymous .1993. luttre contre les maladies .les matieres actives ble. ITCF.chopsirses treatements 7 octobre 1993 .Paris , France , 127.

5- Beck, B. D., E. J. Calabrese and P. D .1989. The use of toxicology in the regulatory process, in *Principles and Method-s of Toxicology*, Hayes, A. W., Ed., Raven Press, New York, . Cahp.1., 249.

6- Bianchi, A., A. Zambonelli, A.Z. D'Aulerio, and F. Bellesia. 1997. Ultrastructural studies of the effects of *Allium sativum* on phytopatho-genic fungi in vitro. Plant Disease, 81,1241–1246.

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

8- Chit wood, D.J. 2002. Phytochemical Based Strategies for Nematode Control. Annual Review of Phytopathology, 40, 221-249.

9- Cohen, Y., Baider, A., Ben-Daniel, B. H., and Ben-Daniel, Y. 2002. Fungicidal preparations from *Inula viscosa*. *Plant Prot. Sci*., 38, 629-630.

10- Cohen, Y., W. Q. Wang, B.-H. Ben-Daniel, and Y Ben-Daniel. 2006. Extracts of *Inula viscosa* control Downy mildew of Grapes caused by *Plasmopara viticola*. *Phytopathology*, 96, 417-424.

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

12- Dehne, H.-W., Adam, G., Diekmann, M., Frahm, J., Mauler-Machnik, A., van Halteren, P. (Eds.). 1997. Diagnosis and Identification of Plant Pathogens. Kluwer Academic Publishers, 556.

13- Dhingra, O. D and J. B. Sinclair. 1995. Soil Microorganisms: In Basic Plant Pathology Methods, Chapter 6. Second Edition. Boca Raton, Florida, 217-266.

14- Doughari, J. H., El-mahmood, A. M. and Tyoyina, S. P. 2008. Antimicrobial activity of leaf extracts of *Senna obtusifolia* (L). *Afric. J. Pharmacy* and *Pharmacology*, 2, 1, 7-13.

15- Dubey, S. C. and B. Patel. 2000. Mode of perpetuation and spread of alternaria blight of broad bean, Indian *Phytopathology*, 53, 2, 175-177.
16- Duke, J. A. 1985. Handbook of medicinal herbs. CRC Press, Inc., Boca Raton, Fla., 704.
17- El Shami, M., A. Fadl and A. Tawfick. 1985. Antifungal property of Garlic olve Juice compared with funicidal Treatment against *Fusarium* sp. With watermelon .*Egypt. J. phytopathoal*, 17 , 1, 55-62.
18- EL-Gengaihi, Souad, O. A. Hamida, M. M. A. Youssef and S. M. Mohamed. 2001. Efficacy of *Tagetes* species extracts on the mortality of the reniform nematode, *Rotylenchulus reniformis*. Bull. NR. C., Egypt, 26, 441-450.
19- Harris J. C., S. L. Cottrell, S. Plummer and D. Lloyd . 2001. Antimicrobial properties of *Allium sativum.* J. Appl. Microbiol. Biotechnol, 57, 282- 286.
20- 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.
21- Irkin R and M. Korukluoglu. 2007. Control of *Aspergillius niger* with garlic, onion and leek extracts. Afr. J. Biotechnol., 6, 384-387.
22- Khalil A. R. M. 2001. Phytofungitoxin properties in the aqueous extracts of some plants. Pak. J. Biol. Sci., 4, 392-394.
23- Kraus, H., H. Schmutterer and Ascher, K.R.S. (1987). In: Natural Pesticides from the Neem Tree and other Tropical Plants Proc. 3rd Int. Neem Conf. (Nairobi, Kenya, 1986), 111- 125.
24- Legard DE, Xiao CL, Merteley JC, Chandler CK. 2000. Effects of plant spacing and cultivar on the incidence of *Botrytis* fruit rot in annual strawberry. Plant Disease, 84:531–538
25- Lyr, H. 1987. Modern Selective Fungicides, ed. H. Lyr. Longmans, Harlow John Wiley, New York, 383.
26- Maloy, O. 1993. Plant disease control, principles and practice, fungicide characteristics. John Wiley, New York, 346.
27- Mann.P.J . 2004. The e-Pesticide Manual on CD-Rom, Version 3.1 Database Right © 2004 BCPC (British Crop Protection Council).
28- Maoz, M., and I. Neeman. 1998. Antimicrobial effects of aqueous plant extracts on the fungi *Microsporum canis* and *Trichophyton rubrum* and on three bacterial species. *Lett. Appl. Microbiol,* 26, 61-63.
29- Marandi ,R. J., A. Hassani, Y.Ghosta, A. Abdollahi, A. Pirzad and F. Sefidkon. 2010. Control of *Penicillium expansum* and *Botrytis cinerea* on pear with *Thymus kotschyanus, Ocimum basilicum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils . Journal of Medicinal Plants Research, 5, 4, 626-634.
30- Mondali, N. K., Mojumdar, A., Chatterje, S. K., Banerjee, A., Datta, J. K. and Gupta, S. 2009. Antifungal activities and chemical characterization of Neem leaf extracts on the growthof some selected fungal species *in vitro* culture medium. J. Appl. Sci. Environ. Manage., 13, 1, 49 – 53
31- Moslem, M.A. and E.M. El-Kholie. 2009. Effect of neem (*Azardirachta indica* A. Juss) seeds and leaves extract on some plant pathogenic fungi. Pak. J. Biol. Sci., 12, 1045-1048.
32- Oka, Y., B. Ben-Daniel. and Y. Cohen. 2001. Nematicidal activity of powder and extracts of *Innula viscosa*. *Nematology,* 3, 735-742.

33- Okoko, F.J., O.E. Nwafor and B.O. Ejechi. 1999. Growth inhibition of tomato-rot fungi by phenolic acids and essential oil extracts of pepperfruit (*Dennetia tripelata*). *Food Research International*, 32, 395-399.
34- Pina-Vaz, C., A. G. Rodrigues , E. Pinto, S. Costa-de-Oliveira, C. Tavares, L. R. Salgueiro, C. Cavaleiro, M. J. Gonc¸ alves and J. Martinez-de-Oliveira. 2004. Antifungal activity of *Thymus* oils and their major compounds. *J. Eur. Acad. Dermatol* 18, 73–78.
35- Pryor, B.M. and T.J. Michailides, 2002-Morphological, pathogenic and molecular characterization of *Alternaria* isolates associated with *Alternaria* late blight of Pistachio. Phytopathology, 92, 406-416.
36- Pundir, R. K. and J. Pranay . 2010. Antifungal activity of twenty two ethanolic plant extracts against food-associated fungi. Journal of Pharmacy Research, 3, 1,506-510.
37- Ramsey, S., R. E. Michael, and C. Rothrock. 2007. The Effect of a Garlic Extract and Root Substrate on Soilborne Fungal Pathogens .Hortechnology., 17, 2, 173.
38- Riker, A.J. and R. S. Riker. 1936. Introduction to Research on Plant Diseases. J.S. Swift Co., Inc.St. Louis,Chicago.,117.
39- Rios, J.L.; Recio, M.C. and Villar, A. 1987. Antimicrobial activity of selected plants employed in the spanish mediterranean area. Journal Ethopharmacology, 21, 139-152.
40- Sacchetti, G., S. Maietti, M. Muzzoli, M. Scaglianti, S. Manfredini, and M. 2005. Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antibacterials and antimicrobials in foods. *Food Chemistry*, 91, 621–632.
41- 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.
42- Stahl-Biskup, E. and F. Sa´ ez. 2002. Thyme – the Genus *Thymus.* London: Taylor and Francis, 331.
43- Tariq, V.N. and A.C. Magee. 1990. Effect of volatiles from garlic bulb extract on *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*. Mycol. Res., 94, 617–620.
44- Thomma, Bart P. H. J., 2003. *Alternaria* spp. from general saprophyte to specific parasitie. Molecular Plant Pathology, 4, 225-236.
45- Verma, J. and Dubey, N.K. 1999. Prospecdtives of botanical and microbial products as pesticides of tomorrow. Current Science, 76, 172-179.
46- Vincent J. M. 1974. Distortions of fungal hyphae in the presence of certain inhibitors Nature, 6, 159-850.
47- Yashida , S. S., S. Kasuga, N. Hayashi, T. Ushiroguchi, H. Matsuura and S. Nakagawaa. 1987. Antifungal activity of ajoene derived from garlic. App. Environ. Microbiol., 66, 615-617.
48- Yasmin, M., K.S. Hossaini and M.A. Bashar. 2008. Effects of some Angiosperm plant extracts on *in vitro* vegetative growth of *Fusarium moniliforme* .Bangladesh J. Bot., 37,1, 85-88.