تأثير المستخلص الكحولي لبذور الرشاد Lipidium sativum وراشح المقاوم الحيوي البكتيري Bacillus cereus على نمو الفطريات المسببة لتعفن جذور السمسم

نديم احمد رمضان نجوى بشير اللشي هبة عصام داود

قسم علوم الحياة / كلية العلوم

جامعة الموصل

الاستلام القبول

٢٠٠٨ / ٠٦ / ٢٥ ٢٠٠٩ / ٠١ / ١٩

Abstract

The effect of the concentrations 0,1, 2, 3 and 4 mg/ml of alcoholic extracts of cress seeds (*Lipidium sativum*) on the growth and dry weight of root–rot fungi of sesame plants, *Pythium aphanidermatum, Fusarium solani* and *Macrophomina phaseolina* indicated high significant inhibitory affect as compared to the control. *M.phaseolina* was mostly inhibited than other fungi when 4mg/ml w, 86.66 and 78.26% respectively. Antagonistic test of the bacterial biocontrol agent *Bacillus cereus* showed high inhibiting effect on all tested pathogens with the maximum inhibition 80.8% on *M. phaseolina*. Culture filterate of *B. cereus* also showed a highly inhibiting efficiency to the growth and dry wieght of the biomass of all pathogenic fungi with the increase of concentrations 10%, 20%, 30% and 40% (v l v), With the 40% was mostly effective on *M. phaseolina* by the ratio of 72.22% and 83.90% respectively.

The best inhibition was achieved with the use of combination of 4 mg/ml of alcoholic extract of Cress seeds and 40% of culture filterate of *Bacillus cereus*. It showed synergistic inhibitory effect on all pathogenic fungi used, that exceeded the effect of each of the plant extract or culture filterate of the bacteria separtely.

Key words: Plant extract, *Lipidium Sativum, Bacillus cereus,* Root rot, *Sesame,*

الخلاصة

أوضحت دراسة تأثير لتراكيز (0, 1, 2, 3, 4) ملغم/ مل من ا لمستخلص الكحولي لبذور الرشاد (*Lipidium sativui*) على أقطار مستعمرات وعلى الوزن الجاف للكتل الحيوية للفطريات الممرضة المسببة لتعفن جذور السمسم *Pythium aphanidermatum*، *Fusarium solani*، *Macrophomina phaseolina* تأثيراً تثبيطياً معنوياً نسبة للمقارنة، وكان الفطر *M.Phaseolina* اكثرهم تثبيطاً عند التركيز (4 ملغم/مل) إذ بلغت نسبة التثبيط (86.66 % و 78.26 %) على التوالي، واعطى راشح المقاوم الحيوي البكتيري *Bacillus cereus* كفاءة عالية أيضاً في تثبيط نمو المستعمرات الفطرية وكذلك الاوزان الجافة للكتل الحيوية في جميع التراكيز المستخدمة 10% ، 20% ، 30% و40%(ح/ح) وكان التركيز 40% أكثرها تأثيراً على الفطر *M.phaseolina* في كلتا الحالتين اذ بلغت نسب التثبيط 72.22% , 83.90% على التوالي ، وكان التداخل بين المستخلص الكحولي عند التركيز 4 ملغم/مل وراشح المقاوم الحيوي البكتيري عند التركيز 40 % اكثر فاعلية فقد اعطى تأثيرا بارزا يفوق كل من تأثير المستخلص الكحولي وراشح المقاوم الحيوي كلا على حدى.

المقدمة

لوحظ في العقود الاخيرة زيادة عال مية في حدوث الاصابات الفطرية فضلا عن زيادة مقاومة بعض انواع الفطريات للمبيدات الفطرية مما ادى الى زيادة الحاجة لايجاد بدائل طبيعية امينة لها ، وتركز الاهتمام على النباتات الواطئة والفطريات وال بكتريا كما توجهت دراسات اقل تركزت على النباتات الراقية . وتم استخدام نواتج الايض الثانوي من النباتات الراقية كعوامل دفاعية ضد الكائنات الدقيقة الغازية وقد اعطى البعض منها نتائج واعدة وبعضها تطور ليعطي مركبات فعالة مضادة للميكروبات مثل Polyodial، Anethole، Cryptolepine و Safrol methyleugenol(١ ،٢ ،٣ ،٤). تعد النباتات خزين ا لنواتج مختلفة من الايض الثانوي مما يوفر مصدراً غير محدود لمركبات كيميائية ذات خصائص بيولوجية متنوعة وتمتلك العديد من النباتات سمية ملفتة للنظ ر مضادة للفطريات الممرضة للنبات الخارجية (٥). ومن هذه النباتات الرشاد (*Lipidium sativum* L.) Cress الذي يعود الى العائلة الصليبية Cruciferae. وفي دراسة قام بها (٦) لتقدير المواد الفينولية وال ليبيدية ومحتوى الاحماض الدهنية لبعض مساحيق بذور العائلة الصليبية، أشار إلى ان مسحوق بذور الرشاد يحتوي على مواد فعالة مختلفة تضمنت الفينولات الذائبة والليبيدات الكليةوالاحماض الدهنية الكليةالمشبعة وغير المشبعة وبين ان تأثير المستخلص المثبط لنمو الفطر *Rhizoctonia solani* المسبب لموت بادرات القطن يعتمد على تركيز المستخلص النباتي ونوع المادة الفعالة فيه.

يهدف البحث الحالي الى دراسة تأثير المستخلص الكحولي لبذور الرشاد و مقارنة ذلك براشح المقاوم الحيوي البكتيري *Bacillus cereus* وملاحظة تاثيرهما المشترك في نمو الفطريات المسببة لتعفن جذور السمسم وهي *Pythium aphanidermatum* ، *Fusarium solani* و *Macrophomina phaseolina* .

مواد وطرائق العمل

تحضير المستخلص الكحولي لبذور الرشاد

تم غسل وتنظيف بذور الرشاد من الاتربة العالقة بها ثم جففت في الظل وبعد ذلك طحنت بوساطة مطحنة كهربائية للحصول على مسحوق البذور وتم الاستخلاص الكحولي بنقع مسحوق البذور في كحول الايثانول بتركيز 97 % في وعاء محكم الغلق . ترك المزيج في الثلاجة بدرجة ٤ °م لمدة 24 ساعة. رشح بعدها خلال عدة طبقات من الشاش و اكمل الترشيح بوساطة قمع بخنر باستخدام ورق ترشيح Whattman No2 تحت التفريغ ثم جفف المستخلص بجهاز المبخر الدوار Rotary Vacuum Evaporator وبدرجة ٤٠ م° ثم وزن المستخلص الناتج وأُذيب بمقدار معلوم من المذيب Diethyl ether (DEE) وبذلك تمت معرفة تركيز المستخلص الكحولي وعقم المستخلص بالبسترة عند درجة حرارة ٦٤م° ولمدة ١٥ دقيقة (٧).

١) تأثير تراكيز مختلفة من المستخلص الكحولي في نمو الفطريات الممرضة

اجري اختبار الفعالية التثبيطية للمستخلص الكحولي لبذور الرشاد على نمو الفطريات الممرضة *P. aphanidermatum* و *F. solani* و *M. phaseolina* والمسببة لتعفن جذور السمسم والتي تم الحصول عليها من جذور السمسم المصابة (٨) بإضافة احجام معينة من التركيز القياسي للمستخلص المعقم الى احجام محددة من الوسط الغذائي Potato Sucrose Agar (PSA) المعقم قبل تصلبه وبعد مزجها جيدا تم الحصول على التراكيز (1، 2، 3، 4) ملغم/مل ثم صبت في اطباق زجاجية معقمة قطر 9 سم وبواقع ٣ مكررات /فطر/تركيز اما معاملة المقارنة فقد تضمنت الوسط الغذائي لوحده دون اضافة المستخلص الكحولي وبعد تصلب الوسط اخذ قرص من النموات الفطرية بعمر اسبوع وبقطر 0.5 سم ووضع في مركز الطبق بصورة مقلوبة . حضنت الاطباق عند درجة 27°م لمدة أسبوع حسب نمو الفطريات الممرضة واخذت النتائج بحساب متوسط قياس قطرين متعامدين لكل مستعمرة فطرية . ومنها تم حساب نسب تثبيط نمو الفطريات الممرضة حسب المعادلة التالية:

$$\% \text{ للتثبيط} = \frac{\text{متوسط قطر مستعمرة المقارنة} - \text{متوسط قطر مستعمرة المعاملة}}{\text{متوسط قطر مستعمرة المقارنة}} \times ١٠٠$$

متوسط قطر مستعمرة المقارنة

٢) تأثير المستخلص الكحولي لبذور الرشاد على الوزن الجاف للفطريات الممرضة

حضر مستخلص البطاطا والسكروز Sucrose Potato (PS) ووزع في دوارق زجاجية حجم 250 مل ووضع في كل دورق ١٠٠ مل من راشح البطاطا والسكروز، عقمت بجهاز المعقام وبعد تبريدهااضيفت التراكيز التي تم تحضيرها سابقا (1،2،3،4 ملغم/مل) من المستخلص الكحولي كما اضيف المضاد الح يوي كلورامفنيكول بمعدل 10ملغم /لتر كمضاد بكتري . اخذ قرص قطره 0.5 سم من النموات الفطرية للفطريات الممرضة *P. aphanidermatum* و *F. solani* و *M. phaseolina* والمنماة مسبقا على وسط PSA وبعمر اسبوع ثم وضع داخل الدوارق الحاوية على راشح البطاطا والسكروز والمستخلص الكحو لي لبذور الرشاد وبمعدل ٣ دوارق/فطر/تركيز اما معاملة المقارنة فقد تضمنت الوسط الغذائي فقط. حضنت الدوران في الحاضنة عند الدرجة الحرارية 27°م ولمدة سبعة ايام وبعد انتهاء فترة التحضين سحبت الدوراق من الحاضنة وجرى ترشيح الكتل الحيوية للفطريات باستخدام ورق ترشيح نوع Whattman No2 وبعد الانتهاء من الترشيح وضعت في فرن درجة حرارته 70°م ولمدة 48 ساعة. سجلت اوزان الكتل الحيوية للفطريات بميزان حساس وحسب الوزن الجاف للكتل الحيوية للفطريات وثم استخراج نسبة التثبيط حسب المعادلة المذكورة سابقاً.

المقاوم الحيوي البكتيري *Bacillus cereus*

تم اختبار القدرة التضادية للمقاوم الحيوي البكتيري والذي تم الحصول عليه من كلية التربية/قسم علوم الحياة وذلك بوساطة تلقيح دورق حاوي على المرق المغذي Nutrient Broth بجزء من النمو البكتيريمأخوذة بواسطة حلقة الزرع (Loopfull) وتحضينه عند الدرجة الحرارية ٣٧ °م لمدة ٢٤ ساعة. حضرت اطباق بتري معقمة قطر ٩ سم حاوية على الوسط الغذائي PSA وتم اخذ ١ مل من النمو البكتيري وفرش على الوسط الغذائي بوساطة Cotton swaps (٨) ولقحت الأطباق بمركزها بقرص قطره ٠.٥ سم من النمو الفطري للفطريات الممرضة *P. aphanidermatum* و *F. solani* و *M. phaseolina* المنماة مسبقا وبعمر اسبوع وبو اقع ٣ اطباق لكل فطر، اما معاملة المقارنة فقد تضمنت الوسط الغذائي PSA لوحده مع النمو الفطري للفطريات الممرضة. حضنت الأطباق في درجة ٢٧°م ولمدة أسبوع حسب نمو الفطريات الممرضة واخذت النتائج بحساب متوسط قطرين متعامدين لكل مستعمرة فطرية.

تحضير راشح المقاوم الحيوي البكتيري *B.cereus*

حضر الراشح حسب طريقة (9) بتنمية البكتريا على المرق المغذي لمدة ٤٨ ساعة وعلى درجة ٣٧م° ، رشح بعدها بوساطة ورق ترشيح نوع WhattmanNo2 مرتين ثم اجري

له طرد مركزي على سرعة 8000 دورة/دقيقة لمدة ٢٠ دقيقة عند درجة حرارة ٤°م لتسهيل انسياب الراشح البكتيري خلال المرشح البكتيري Millipore وباستخدام اوراق ترشيح بقطر ٠.٤٥ ميكرومتر لتعقيمه واستخدم الراشح المعقم للاختبارات التالية:

١) تأثير تراكيز مختلفة من راشح المقاوم الحيوي البكتيري على أقطار مستعمرات الفطريات الممرضة

اجري اختبار تأثير راشح المقاوم الحيوي البكتيري *B.cereus* على نمو الفطريات *P. aphanidermatum* و *F. solani* و *M. phaseolina* بإضافة أحجام معينة من الراشح البكتيري المعقم الى احجام محددة من الوسط الغذائي المعقم .PSA قبل تصلبه وبعد مزجهاجيدا تم الحصول على التراكيز 10، 20، 30، 40 % ثم صبت في اطباق زجاجية معقمة قطر ٩ سم وبواقع ٣ مكررات/ فطر /تركيز . اما معاملة المقارنة فقد تضمنت الوسط الغذائي P.S.Aلوحده دون اضافة وبعد تصلب الوسط الغذائي اخذ قرص من النموات الفطرية بقطر ٠.٥ سم وبعمر اسبوع ووضع في مركز الطبق وبصورة مقلوبة . حضنت الاطباق في الحاضنة ع ند درجة٢٧ °م ولمدة اسبوع حسب نمو الفطريات الممرضة واخذت النتائج بحساب متوسط فطرين متعامدين/مستعمرة فطرية ومنها تم حساب النسبة المئوية للتثبيط كما ذكر سابقاً.

٢) تأثير تراكيز راشح المقاوم الحيوي البك تيري *B.cereus* على الوزن الجاف للفطريات الممرضة *P. aphanidermatum* و *F. solani* و *M. phaseolina*

حضر راشح البطاطا والسكروز (.PS) ووزع في دوارق زجاجيةحجم ٢٥٠ مل ووضع في كل دورق احجام معينة من راشح البطاطا والسكروز . عقمت بجهاز ا لمعقام عند درجة حرارة ١٢١ م°وضغط ١٥ باوند/نج مربع وبعد تبريدها اضيفت لها احجام معينة من الراشح البكتيري المعقم وبعد مزجها جيدا تم الحصول على التركيز 10، 20، 30، 40% وبمعدل ٣مكررات/فطر /تركيز . اما معاملة المقارنة فقد تضمنت راشح البطاطا والسكروز فقط، أضيف إلى جميع المعاملات قرص من النمو الفطري للفطريات المذكورة سابقاً بعمر أسبوع وبقطر ٠.٥سم وضع في داخل الدوارق، وضعت جميع الدوارق في الحاضنة على درجة ٢٧°م ولمدة ٧ ايام وبعد انتهاء فترة التحضين سحبت الدوارق من الحاضنة واجري ترشيح للكتل الحيوية للفطريات باستخدام ورق ترشيح نوع WhattmanNo2 ثم وضعت الكتل الحيوية للفطريات في فرن عند درجة حرارة٧٠ °م ولمدة ٤٨ ساعة. سجلت أوزان الكتل الحيوية للفطريات وتم استخراج نسب التثبيط.

دراسة تأثير التداخل بين المستخلص الكحولي وراشح المقاوم الحيوي البكتيري على نمو الفطريات الممرضة

اتبعت طريقة (١٠) حيث استخدمت التراكيز ا لاكثر تثبيطا والتي تم اختيارها اعتماداً على النتائج المتحصل عليها فكان التركيز ٤ ملغم/مل بالنسبة للمستخلص الكحولي لبذور الرشاد و ٤٠%بالنسبة لراشح المقاوم الحيوي البكتيري اذ تم اضافتها الى وسط .PSA قبل تصلبه ثم وزع في اطباق يتري معقمة قطر ٩سم اضيف لها جزء م ن النمو الفطري للفطريات الممرضة بقطر ٠.٥سم والتي سبق تنميتها بعمر اسبوع وبمعدل ٣ اطبلق/فطر حضنت الاطباق على درجة ٢٧ ْم ولمدة اسبوع حسب نمو الفطريات الممرضةوتم قياس اقطار المستعمرات ونسب التثبيط.

كما درس تاثير التداخل بين المستخلص الكحولي لبذور الرشاد وراشح المقاوم الحيوي البكتيري *B.cereus* على الوزن الجاف باتباع نفس طريقة الخطوات السابقة ذكرها في قياس الوزن الجاف للكتل الحيوية.

التحليل الاحصائي:

استخدم التصميم العشوائي الكامل (CRD) واختبرت النتائج بطريقة دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال١%(١١).

النتائج والمناقشة

تأثير المستخلص الكحولي لبذور الرشاد على الفطريات الممرضة المسببة لتعفن جذور السمسم

تشير النتائج الواردة في جدول (١) ان جميع التراكيز المختلفة من المستخلص الكحولي أدت إلى تثبيط نمو الفطريات الممرضة وازداد التثبيط بزيادة تركيز المستخلص الكحولي الى ٤ ملغم/ مل اذ بلغ اعلى تثبيط في الفطر *M. phaseolina* ٨٦.٦٦% يليه الفطر *F. solani* ثم *P.aphanidermatum* اذ بلغت نسبة التثبيط ٨٣.٤٥ و ٧٨.٨٨% على التوالي. اما اقل تثبيط كان عند التركيز ١ملغم/مل وكان في الفطر *P. aphanidermatum* اكثرهم تثبيطاً اذ بلغت نسبة التثبيط فيه ١٧.٧٧% ولم يختلف الامر معنويا عمافي الفطر *F. solani*. ومن نتائج التحليل الاحصائي للمتوسطات واقطار المستعمرات يتضح ان ا كثر المستعمرات الفطرية تثبيطاً هي للفطر *M. phaseolina* .

تأثير تراكيز المستخلص الكحولي لبذور الرشادعلى الوزن الجاف للفطريات الممرضة

توضح نتائج جدول (٢) الى انخفاض الوزن الجاف تدريجيا مع زيادة تركيز المستخلص الكحولي اذ يلاحظ ان اعلى نسبة للتثبيط كان عند التركيز ٤ ملغم/مل للفطرين *F. solani* و *M. phaseolina* واللذين لم يختلفا عن بعضهما معنويا اذ بلغت ٧٨.٦٢ و٧٨.٢٦% على التوالي يليهما الفطر *P.aphanidermatum* (٧٥.٦١%) أما اقل نسبة تثبيط كانت في الفطر *F. solani* عند التركيز ١ملغم/مل اذ بلغت ١٤.٢٨%. ومن هذا يتضح ان المستخلص الكحولي لبذور الرشاد اثر تأثيراً معنوياً في نمو المستعمرات الفطرية وبالتالي على نسب التثبيط وازداد التأثير بزيادة تأثير المستخلص الكحولي ويعزز نتائج هذا البحث دراسة قام بها (٦) لتقدير المواد الفينولية والليبدية ومحتوى الاحماض الدهنية لبعض مساحيق النباتات الصلبة ومنها بذور الرشاد حيث خضعت المستخلصات الكحولية والمائية للتحليل الكيميائي واشارت النتائج الى ان مسحوق بذور الرشاد يحتوي على الفينولات الذائبة بنسبة ٨.٢٩ ملغم/غم وعلى الليبدات الكلية بنسبة ٦.٤٠ ملغم/غم أما الأحماض الدهنية الكلية المشبعة فكانت نسبتها ٦٧.٢٢ ملغم/غم والاحماض الدهنية غير المشبعة بنسبة ٣٦.٧٨ ملغم /غم وكذلك وجود الكربوهيدرات والكلايكوسيدات و التانينات و الفلافينويدات Flavinoids وقد لوحظ أيضاً وجود القلويدات Alkaloids وقد يعزى التأثير التثبيطي الى الفعل المشترك لمجموع هذه المواد الفعالة والتي تتداخل مع العديد من العمليات الفسيولوجية (١٢) وربما تعمل الكربوهيدرات والمركبات الفينولية على وجه الخصوص على تقليل تراكيز المواد المغذية وتغيير نفاذية الغشاء الخلوي وتثبيط عملية تخليق البروتينات وكذلك تثبيط الانقسام الخلوي (13) وتعد الفلافينويدات مسؤولة عن معظم الفعل المثبط لهذه المواد تجاه الفطريات وان التأثير التثبيطي للبيدات والاحماض الدهنية ربما يعزى الى وجود الاحماض الدهنية ذات السلاسل الطويلة (14).

دراسة تأثير التضاد بين المقاوم الحيوي البكتيري *B.cereus* والفطريات الممرضة

يتضح من النتائج الواردة في جدول (٣) ان المقاوم الحيوي البكتيري كان له تأثير معنوي عالي على تثبيط نمو جميع المستعمرات الفطرية نسبة للمقارنة إذ كان أعلى تثبيط في الفطر *M. phaseolina* وبلغ ٨٠.٨% يليه الفطر *F. solani* ثم الفطر *P.aphanidermatum* (٧٤.١١ و٧١.٣٣%) على التوالي.

جدول (١): تأثير تراكيز المستخلص الكحولي لبذور الرشاد وعلى أقطار نمو المستعمرات الفطرية الممرضة

الفطريات	التراكيز (ملغم/مل)					%التثبيط				
	0.0	1	2	3	4	0	1	2	3	4
* *P.aphanidermatum*	9.00 A	7.4 C	4.3 E	2.5 H	1.9 I	0 K	17.77 I	52.22 G	72.22 H	78.88 C
F.solani	9.00 A	7.5 C	3.9 F	2.8 G	1.5 J	0 K	17.27 I	56.98 F	69.11 E	83.45 B
M.phaseolina	9.00 A	7.9 B	4.5 D	2.7 G	1.2 K	0 K	12.22 J	50.00 H	70.00 E	86.66 A
متوسات اقطار المستعمرات	9.00 A	7.6 B	4.23 C	2.66 D	1.53 E	0 E	15.75 D	53.06 C	70.44 B	83.00 A

* الحروف المختلفة بين المعاملات تدل على وجود فروق معنوية عند مستوى احتمال ٥% حسب اختبار دنكن متعدد الحدود.

جدول(٢): تأثير تراكيز المستخلص الكحولي لبذور الرشاد على الوزن الجاف للفطريات الممرضة

الفطريات	الوزن الجاف(غم)					%التثبيط				
	0.0	1	2	3	4	0	1	2	3	4
* *P.aphanidermatum*	1.63 A	1.27 C	0.92 F	0.57 I	0.40 L	0 K	23.16 H	43.70 E	65.24 C	75.61 B
F.solani	1.31 B	١.١٢ E	0.89 G	0.49 J	0.28 M	0 K	14.28 J	31.88 G	62.50 D	78.62 A
M.phaseolina	1.15 D	0.91 F	0.75 H	0.44 K	0.25 N	0 K	20.86 I	34.78 G	61.74 D	78.26 A
المتوسطات	1.37 A	1.1 B	0.85 C	0.50 D	0.31 E	0 E	19.43 D	36.79 C	63.16 B	77.48 A

* الحروف المختلفة بين المعاملات تدل على وجود فروق معنوية عند مستوى احتمال ٥% حسب اختبار دنكن متعدد الحدود.

جدول (٣): التضاد بين المقاوم الحيوي البكتيري *Bacillus cereus* والفطريات الممرضة

الفطريات	أقطار المستعمرات (سم)	% للتثبيط
* *P.aphanidermatum*	2.5 A	71.33 C
F.solani	2.3 B	74.11 B
M.phaseolina	1.7 C	80.8 A

- **الحروف المختلفة في العمود الواحد تدل على وجود فروق معنوية بين المعاملات عند مستوى احتمال ٥% حسب اختبار دنكن متعدد الحدود.**

تأثير راشح المقاوم الحيوي البكتيري *B.cereus* على نمو الفطريات الممرضة

تشير نتائج جدول (٤) الى ان تراكيز راشح المقاوم الحيوي البكتيري تثبط نمو المستعمرات الفطرية بزيادة تركيزه نسبة للمقارنة ورافق ذلك زيادة في نسبة التثبيط بزيادة التركيزمن ١٠% إلى ٤٠% إذ كان الفطر *M. phaseolina* أكثرهم تثبيطا و بلغ ٧٢.٢٢% عند التركيز ٤٠% يليه الفطر *F. solani* ثم الفطر *P.aphanidermatum* إذ بلغت نسبة التثبيط ٥٩.٨٤ و٥٧.٧٧% على التوالي ، في حين كان الفطر *P.aphanidermatum* اقلهم تثبيطاً عند التركيز ١٠% (١١.١١%).

تأثير تراكيز من راشح المقاوم الحيوي البكتيري على الوزن الجاف للفطريات الممرضة

تشير نتائج التحليل الاحصائي للجدول (٥) الى ان الاوزان الجافة للفطريات سجلت هبوطاملحوظا مع زيادة تركيز راشح المقاوم الحيوي البكتيري إلى ٤٠% في كلك ازدادت نسبة التثبيط زيادة ملحوظة بهذا الاتجاه من ١٠% إلى ٤٠% وتحقق اقل وزن جاف للفطر *M. phaseolina* عند التركيز ٤٠% إذ بلغ ٠.١٩ غم ورافق ذلك أعلى نسبة تثبيط بلغت ٨٣.٩٠ % يليه كل من الفطرين *P.aphanidermatum* و *F. solani* واللذين لم يختلفا عن بعضهما معنوياً في نسب التثبيط (٨١.٥٩ و ٨٠٧١%) على التوالي وتعرف العديد من سلالات الكائنات المستخدمة في المقاومة الحيوية بانتاجها مضادات حيوية متنوعة لها القدرة على تثبيط نمو واحد او أكثر من المسببات المرضية حيث ان بكتريا *Bacillus cereus strain*UWB5 تعرف بقدرتها على انتاج عوامل مضادة للفطريات الممرضة Zwittermycin (١٥) والمضاد الحيوي Kanosarmine (١٦) وان قدرتها على انتاج انواع مختلفة من المضادات الحيوية ربما يساعد على ايقاف نشاط بعض الاحياء المجهرية المتنوعة ويساعد ذلك في تعزيز المقاومة الحيوية للمسببات الممرضة للنبات (١٧و١٨) وكذلك تنتج سلالات *acillus cereus* العديد من المضادات الحياتية الخاصة بالفطريات مثل Mycocerein و.Tunicamycin (١٩ و ٢٠ و٢١).

جدول (4): تأثير تراكيز من راشح المقاوم الحيوي *Bacillus cereus* على أقطار المستعمرات(سم)

الفطريات	التراكيز					%التثبيط				
	0.0	% 10	% 20	% 30	%40	0.0	% 10	% 20	% 30	%40
* *P.aphanidermatum*	9.00 A	8.00 B	6.1 E	3.9 H	3.8 H	0 J	11.11 I	32.22 F	56.66 C	57.77 C
F.solani	9.00 A	7.5 C	5.9 F	3.8 H	3.6 I	0 J	16.35 H	34.19 E	57.61 C	59.84 B
M.phaseolina	9.00 A	7.2 D	4.9 G	2.6 J	2.5 J	0 J	20.00 G	45.55 D	71.11 A	72.22 A
المتوسطات	9.00 A	7.57 B	5.63 C	3.43 D	3.30 E	0 E	15.82 D	37.32 C	61.79 B	63.28 A

* الحروف المختلفة بين المعاملات تدل على وجود فروق معنوية عند مستوى احتمال ٥% حسب اختبار دنكن متعدد الحدود

جدول (٥): تأثير تراكيز من راشح المقاوم الحيوي *Bacillus cereus* على الوزن الجاف للمستعمرات

الفطريات	التراكيز					%التثبيط				
	0.0	% 10	% 20	% 30	%40	0.0	% 10	% 20	% 30	%40
* *P.aphanidermatum*	1.61 A	1.35 C	0.90 G	0.39 I	0.30 J	0 L	17.17 I	44.78 F	76.7 E	81.59 B
F.solani	1.40 B	1.21 D	1.03 F	0.31 J	0.27 K	0 L	13.56 J	26.42 H	77.85 D	80.71 B
M.phaseolina	1.18 E	1.04 F	0.82 H	0.24 L	0.19 M	0 L	11.86 K	30.49 G	79.66 C	83.90 A
المتوسطات	1.40 A	1.20 B	0.92 C	0.31 D	0.25 E	0 E	14.20 D	33.89 C	77.86 B	82.07 A

* الحروف المختلفة بين المعاملات تدل على وجود فروق معنوية عند مستوى احتمال ٥% حسب اختبار دنكن متعدد الحدود.

تأثير التداخل بين المستخلص الكحولي لبذور الرشاد وراشح المقاوم الحيوي البكتيري *B.cereus* على نمو الفطريات الممرضة

من النتائج الواردة في جدول (٦) يلاحظ ان استخدام خليط المستخلص الكحولي (٤ملغم/مل) و(٤٠%) من راشح المقاوم الحيوي البكتيري كان لها تأثيراً متأزراً في خفض نمو المستعمرات الفطرية اذ ازداد تثبيط الفطريات بشكل ملحوظ مقارنة مع اضافة كل منهما لوحده. ولوحظ ان اقل نمو للفطر واعلى نسبة تثبيط كان الفطر *M. phaseolina* اذ بلغت ٠.٥ سم و٩٣.٤٤% على التوالي يليه الفطر *F. Solan* ثم الفطر *p. aphanidermatum*.

جدول (٦): تأثير التداخل بين المستخلص الكحولي(٤ ملغم/مل) وراشح المقاوم البكتيري (٤٠ %) على اقطار المستعمرات للفطريات الممرضة (سم).

الفطريات	مقارنة	معاملة	% للتثبيط
P.aphanidermatum	9.00* A	1.2 B	86.66 C
F.solani	9.00 A	1.1 B	87.66 B
M.phaseolina	9.00 A	0.5 C	93.44 A

* الحروف المختلفة في العمود الواحد تدل على وجود فروق معنوية بين المعاملات عند مستوى احتمال٥% حسب اختبار دنكن متعدد الحدود.

تأثير التداخل بين بين المستخلص الكحولي لبذور الرشاد وراشح المق اوم الحيوي البكتيري *B.cereus* على الوزن الجاف للفطريات الممرضة

أظهرت نتائج جدول (٧) ان أعلى تثبيط للوزن الجاف للكتلة الحيوية للفطريات كانت للفطر *M. phaseolina* اذ بلغت نسبة التثبيط ٩٤.٨٢% يليه *F.solani* ثم الفطر *P.aphanidermatum* اذ بلغت نسب التثبيط ٩٢.٤٢ و٨٩.٩٣% على التوالي.

جدول (٧): تأثير التداخل بين المستخلص الكحولي ٤ ملغم/مل وراشح المقاوم البكتيري ٤٠% على الوزن الجاف (غم)

الفطريات	مقارنة	معاملة	% للتثبيط
P.aphanidermatum	1.59 *	0.16	89.93 C
F.solani	1.32	0.10	92.42 B
M.phaseolina	1.16	0.06	94.82 A
المتوسطات	1.35	0.10	92.56

* الحروف المختلفة في العمود الواحد تدل على وجود فروق معنوية بين المعاملات عند مستوى احتمال٥% حسب اختبار دنكن متعدد الحدود.

وكانت نتائج هذه الدراسة مؤكدة لما توصل اليه (١٠) اذ بين ان تعاضد مستخلص اوراق نبات النعناع مع راشح المقاوم الحيوي الفطري *Tichderma.harzianum* كان له دور هام في تثبيط الفطريات الممرضة المرافقة لبذور البقوليات ولذلك فان مكافحتها يمكن ان تتحقق بشكل افضل عند استخدام تعاضد العاملين معاًعما لو استخدم أي من العاملين بشكل منفرد.

المصادر:

1) Baker, K. F. (1987)., Annv. Rev. Phytopathol., 25:67-85.

2) Taniguchi, M., and Kubo, I. (1993). Journal of Natural Products 65: 1539-1546 .

3) Wilson, C. L.; Solar, J. M., El. Ghaouth, A., and Wisniewsli, M. E. (1997). Plant Disease 81:204-210.

4) Mohamed, El. Sh. (2001). Feasibility of using some plant extracts for Biological Control of some plant pathogenic fungi in egypt M. Sc., Thesis, Fac. Agric. Mansoura. Univ. PP.120.

5) Pandey, V. N., and Dubey, N. K. (1994). Soil Biol. Biochem., 26: 1417-1421.

6) El-Refai, I. M. and S. M. I. Mustafa, (2004). Pak. J. Biol. SciK 7: 550-558.

٧) النعمان، أديبة يونس شريف حمو . (1998). التأثير الجزيئي لبعض المستخلصات النباتية على نمو وايض عدد من الجراثيم الموجبة والسالبة لصبغة كرام . أطروحة دكتوراه، كلية العلوم. جامعة الموصل، العراق.

٨) اللشي، نجوى بشير .(2003). المقاومة المتكاملة لبعض امراض جذور السمسم الفطرية في محافظة نينوى. أطروحة دكتوراه، كلية الزراعة والغابات.جامعة الموصل، العراق.

9) Handelsman, J.; S. Raffel; E. H. Master; L. Wunderlich and C. R. Grau. (1990). Appl. Environm. Microbiol., 56: 731-718 .

١٠) سرحان، عبد الرضا طه . (2006). مجلة وقاية النبات العربية الجزء 24:118-124ص).

١١) الروي، خاشع محمود وعبد العزيز محمد خلف الله (١٩٨٠). تصميم وتحليل الجارب لزراعية . مؤسسة دار الكتب للطباعة والنشر، جامعة الموصل (٨٨) صفحة، الموصل–العراق.

12) Einhellig, F. A. (1995). Mechanism of Action of Allelochemicals in Allelopathy 96-116 In: Inderjitedal.(Ed) .Allelopathy: Organisms, Processes and Applications. ACS symp.ser.582.Am.Chem. Soc., Washington, Dc.USA

13) Picman, A. K.; E. F. Schneider and J. Picman, (1995). Biochem. Syst. Ecol., 23:7-8.

14) Gallardo, M. T. G. L. Geiger, J. A. Pidala and D:LF Martin, (2002). Phytochem., 59: 305-308 .

15) Smith, K. P., Havey, M. J., and Handelsman, J. (1993). 77: 139 -142.

16) Raaijmakers, J. M, Vlami, M., and Desouza, J. T. (2002). Antibiotic production by bacterial biocontrol agents. Anton. Van leeuw. 81:537-547.

17) Jacobsen, B. J.; Zidack, N. K.; and Tarson, B. J. (2004). Phytopathology. 99: 1272-1275.

18) Pal, K. K. and Qardener, B. M. (2007). Biological Control of Plant Pathogens. Department of Plant Pathology, Ohio State University, O A R D C, Wooster, OH USA.

19) Katz, E., and A. L. Demain (1977). Bacteriol. Rev., 41:449-474.

20) Wakayama, S., F. Ishikawa and K. Oishi (1984) Antimicrob. Agents Chemistry, 26: 939-940 .

21) Kamogashira, T., S. Takegata. and K. Sugiura. (1988). Agric. Biol. Chem. 52 : 859 – 861 .