تأثير المستخلصات المائية لبعض التوابل على نمو الفطر *Aspergillus niger* المسبب لمرض العفن الأسود على البصل

[1] منى مختار مليطان [2] سارة لاغا [3] رانيا محمد اعبيد [4]فاطمة مصطفى شكشاكة [5]هبه كمال زوكة

(1)، (2)، (3)، (4)، (5) قسم النبات، كلية العلوم، جامعة مصراته، مصراته، ليبيا
1*E-mail: muna.mlitan.6882@gmail.com
[2]* E-mail:Saallagha83 @gmail.com

تاريخ الاستلام: 25- 06- 2021 تاريخ القبول: 12- 07-2021 تاريخ النشر: 01- 10- 2021

الملخص:.
أجريت الدراسة الحالية لمعرفة تأثير أربعة مستخلصات نباتية و هي القرنفل، الكركم، الزنجبيل، الفلفل الأسود بثلاثة تراكيز و هي 10%، 20%، 30% في إنبات بذور البصل، و كذلك تأثير هذه المستخلصات بتراكيز 10%، 15%، 20%، 25%، 30% على نمو الفطر المسبب لمرض العفن الأسود ***Aspergillus niger*** أظهرت النتائج أن التركيز 20% لمستخلص القرنفل و الكركم و الزنجبيل أعطى أعلى نسبة للإنبات مقارنة بالشاهد، بينما سجل أعلى نسبة للإنبات عند التركيز 30% لمستخلص الفلفل الأسود. كما نلاحظ في جميع المستخلصات كلما زاد تركيز المستخلص قل قطر المستعمرة الفطرية حيث تم ملاحظة تفوق مستخلص القرنفل على بقية المستخلصات في تثبيط النمو الفطري فقد بلغت النسبة المئوية للتثبيط 100% عند التراكيز 20%، 25%، 30%، يليه مستخلص الكركم عند تركيز 30%، أظهرت نتائج استخدام مستخلص الزنجبيل أن التركيز 20% أعطى أعلى نسبة للإنبات، بينما سجلت أعلى نسبة للإنبات 60% عند استخدام التراكيز 30% لمستخلص الفلفل الأسود، في حين كان تأثير التراكيز العالية من مستخلص الزنجبيل والفلفل الأسود ضعيفاً على النمو الشعاعي للفطر مقارنة بمستخلص القرنفل والكركم.

الكلمات المفتاحية: المستخلصات المائية، بذور البصل، العفن الأسود ، *Aspergillus niger*

المقدمة Introduction

يعتبر البصل من المحاصيل الهامة في الوطن العربي والعالم ويستهلك الفرد كميات كبيرة من البصل نظراً لقيمته الغذائية وفوائده الطبية وأهميته الاقتصادية [1]. ويزرع بشكل واسع حول العالم خصوصا في قارة أسيا وأوروبا، وزاد الإنتاج العالمي للبصل على الأقل بنسبة 20% في السنوات الأخيرة من الإنتاج التجاري [2] وأن الموطن الأصلي للبصل هو شمال إيران أو المنطقة الممتدة من فلسطين حتى الهند من قارة آسيا [3]، لذلك تعد الصين أكبر منتج للبصل في العالم تليها الهند [4].

تتعرض بذور البصل لإصابات فطرية مختلفة وتسبب هذه الفطريات خسائر اقتصادية كبيرة لتأثيرها على حيوية البذور وتقليل نسبة انباتها [5، 6، 7] مما يؤدي إلى تقليل الإنتاج الزراعي عند استخدام مثل هذه البذور في الزراعة وكذلك قدرة بعض الأنواع التابعة للفطريات على إنتاج السموم الفطرية. ومن أبرز هذه السموم وأكثرها خطورة هي سموم الأفلاتوكسينات والتي تعد من أخطر الملوثات الغذائية في الوقت الحاضر لما لها من تأثيرات مرضية مسرطنة للإنسان والحيوان [8، 9، 10، 11 ،12،13،14].

يتعرض محصول البصل سواء في الحقل أو في مرحلة التخزين والتسويق وأيضا عند إنتاج الحبة السوداء (بذرة البصل) إلى العديد من الأمراض التي تؤثر عليه تأثيرات سلبية من حيث الإنتاج والجودة كما تؤثر على تسويقه محلياً وعلى تصديره دولياً سواء أكان بصلاً أخضراً أو جافا [15،16] ، وأن أكثر الأمراض تدميراً للبصل في الحقل والمخزن هو مرض العفن الأسود [17] الذي يصيب أكثر من 80% من الأبصال المخزونة وبدرجات متفاوتة [18، 19] ويكون العامل المحدد في إنتاج البصل في جميع أنحاء العالم [20]، والمسبب المرضي هو *Aspergillus niger* وهو النوع الأكثر شيوعا في جنس *Aspergillus* إذ يسبب مرض العفن الأسود في الفواكه والخضروات مثل العنب والفول السوداني والبصل وغيرها من المواد الغذائية [12، 21، 22]. ومن المصادر الرئيسية للعفن الأسود اللقاح المنقول عن طريق البذور و المحمول من التربة والهواء والذي يغزو بشدة أنسجة البصل الميتة ويزداد تحت ظروف التخزين الغير ملائمة [23، 24، 25] وينتقل الفطر من التربة والبذور الملوثة طبيعياً إلى شتلات البصل وأخيراً إلى الأبصال [20، 23].

يعد استخدام المبيدات الكيميائية الفطرية ممارسة شائعة في جميع أنحاء العالم ومع ذلك فإن سميتها وطبيعتها الغير قابلة للتحلل تحد من استخدامها [26]، ولغرض تجنب المخاطر التي تسببها المبيدات الكيميائية ومنها مشكلة المقاومة التي تظهرها المسببات المرضية المستخدمة ضد فعل هذه المسببات [27]إضافة إلى تأثيرها الضار على البيئة من خلال تلويثها لها وكذلك فهي سامة ومسرطنة للإنسان والحيوان [28، 29، 30] في حالة استخدام البذور مصدرا غذائياً [31]. وتمتاز هذه المواد بخاصية التراكم في جزيئات التربة وهو ما يؤدي إلى موت وانقراض عدد كبير من الأحياء في التربة وكذلك تسربها إلى مصادر المياه وتأثيرها الضار في الأحياء المائية وانتقالها عبر السلسلة الغذائية للكائنات الحية الأخرى [32] . لذا أصبح من الضروري السعي لإيجاد بدائل لهذه المبيدات الكيميائية ولذلك اتجهت الدراسات في العديد من دول العالم إلى استخدام المستخلصات النباتية بدلا عن المبيدات الكيميائية لغرض مكافحة الآفات الزراعية والمسببات المرضية [33، 34، 35، 36] ومنها الفطريات المرافقة للبذور التي تنتقل مع البذور إلى الحقل ثم تصيب النباتات عند إنبات البذور أو في مرحلة البادرات وتؤدي إلى تقليل الإنتاج النباتي بصورة كبيرة [33] .

آثار استخدام المستخلصات النباتية بوصفها أحد العوامل البديلة للمكافحة الكيميائية اهتمام كثير من الباحثين لإيجابيات لها التي تميزت بها عن بقية طرق المكافحة الأخرى فضلاً عن كون هذه المبيدات الحيوية ذات الأصل النباتي غير سامة للنباتات وجهازية وسريعة التحلل [37]. كما أن هذه المستخلصات النباتية لا تسبب ضرر للبيئة وتكون آمنة للإنسان والحيوان [38] أشارت العديد من الدراسات إلى فاعلية هذه المنتجات الطبيعية النباتية وسميتها للعديد من المسببات المرضية [39].وقد أجريت العديد من الدراسات لاختبار فاعلية أنواع مختلفة من النباتات الطبية في تثبيط نمو هذه الفطريات [40،41]. ففي دراسة استخدم العصير الطازج للزنجبيل

في تثبيط نمو الفطر *A.niger* [42]. وفى دراسة أخرى تم اختبار تأثير 4 تراكيز من المستخلصات المائية والكحولية لريزومات نبات الكركم وجذور نبات الباذنجان في نمو بعض فطريات الخزن لحبوب الحنطة ووجد أن جميع المستخلصات كان لها تأثير معنوي مثبط لنمو الفطريات وهي *Aspergillus niger, Alternaria alternata, Fusarium oxysporum* [43]. أجريت دراسة [44] لمعرفة تأثير المستخلصات المائية والكحولية لقشور الرمان وثمار البلوط العفصي بتراكيز0%، 5%،10%،15%20% في مكافحة فطري *A.niger, Penicillium* sp دلت النتائج على أن التراكيز المختلفة كانت مؤثرة في نمو الفطرين وكان تأثير المستخلصات الكحولية أكثر من المستخلصات المائية في التأثير على نمو الميسليوم لكلا الفطرين. كما بينت نتائج دراسة استخدام مستخلصات بذور الجزر والقرع والباذنجان ثم الكوسة وبتركيز 10% تثبيطاً معنوياً لنمو جميع الفطريات المرافقة لبذور الشعير ومن بين هذه الفطريات فطر *A.niger* [45]. كذلك استخدم في دراسة أخرى المستخلص المائي الحار للفلفل الأسود والقرنفل والكركم في تثبيط نمو فطريات التربة الممرضة [46]. وفي دراسة [47] استخدمت المستخلصات المائية لأربعة نباتات (القرنفل، العصرة، المحلب، الجنسينغ) كعوامل مكافحة حيوية ضد الفطر*A.niger* وعلى تطور مرض العفن الأسود على أبصال البصل وأوضحت نتائج هذه الدراسة بأنه يمكن استخدام هذه المستخلصات كمضادات طبيعية لإختزال تلوث البذور وقابلية الخزن للأبصال. كما بينت نتائج الدراسة التي استخدم فيها المستخلص المائي الحار لدرنات الزنجبيل لمدة 5 دقائق إلى تقليل إصابة أبصال البصل بمرض العفن الأسود [48]. وفي هذه الدراسة تم انتخاب أربعة نباتات من أجناس وعوائل نباتية شائعة وهي (القرنفل، الفلفل الأسود، الزنجبيل، الكركم) لمعرفة مدى تأثير المستخلصات المائية لهذه النباتات في نمو الفطر *A.niger* والمسبب لمرض العفن الأسود.

أهداف البحث:. يهدف البحث إلى :

1- عزل الفطر *Aspergillus niger* من بذور البصل المستخدمة في الدراسة

2.تحضير المستخلصات المائية من النباتات المذكورة.

3.دراسة تأثير المستخلصات المائية في إنبات بذور نبات البصل على ورقة الترشيح.

4.دراسة تأثير المستخلصات المائية على نمو فطر *Aspergillus niger* المعزول من بذور البصل على الوسط الغذائي PDA (وسط البطاطس والدكستروز).

الجزء العملي Eexperimental Part

المواد طرق البحث Materials and Methods :

1- جمع بذور البصل:

جمعت بذور البصل *Allium cepa* L. المستخدمة في هذه الدراسة من السوق المحلية في مدينة مصراته حيث تم استخدام بذور نبات البصل نوع إيطالي صنف M 164.

2- جمع وتحضير النباتات المضادة:

تم جمع النباتات من الأسوق المحلية في مدينة مصراته وهي (الكركم، القرنفل، الفلفل الأسود، الزنجبيل) غسلت الأجزاء النباتية باستثناء مسحوق الفلفل الأسود والزنجبيل وتركت لتجف ثم سحقت الأجزاء النباتية بواسطة مطحنة كهربائية للحصول على مسحوق ناعم، ثم وضعت في أكياس نايلون وحفظت لحين استخلاصها [49]. ويوضح الجدول (1) الاسم العلمي والجزء المستخدم للنباتات المدروسة [50، 51، 52، 53 ، 54]

3- تحضير المستخلصات المائية النباتية:

حضرت المستخلصات المائية للنباتات المدروسة بإضافة 200 مل من الماء المقطر المعقم إلى 20 جم من المسحوق النباتي المجفف الموضوع في الدوارق الزجاجية (حجم 500 مل)، رج الدورق جيدا ثم وضع في حمام مائي Water bathعلى درجة حرارة 75 م° لمدة 30 دقيقة بعدها رشح الخليط باستخدام طبقتين من الشاش للتخلص من العوالق الكبيرة ثم فصل الراشح باستخدام ورق الترشيح نوع Whatman No 4 للحصول على راشح رائق من المحلول الأصلي Stock solution لكل عينة نباتية، حفظت المستخلصات النباتية في قناني معتمة محكمة الغلق في الثلاجة إلى حين الاستعمال [55].

4- عزل الفطريات المرافقة لبذور البصل:

تم عزل الفطريات المرافقة لبذور البصل حيث عقمت سطحيا باستخدام محلول هيبوكلوريت الصوديوم بتركيز 1% لمدة خمس دقائق، ثم غسلت بالماء المقطر المعقم ثلاث مرات بطريقة الرج بعدها زرعت على أطباق بتري حاوية على الوسط الغذائي (PDA) Potato Dextrose Agar المضاف إليه المضاد الحيوي (Amoxicillin) 500 جم/لتر، بواقع 20 بذرة في كل طبق وبخمس مكررات، حيث كان عدد الاطباق خمس اطباق وعدد البذور 100 بذرة وتركت الأطباق في الحاضنة عند درجة 25-28 م° وبعد حوالي أسبوع فحصت الأطباق لمعرفة الفطريات النامية [56، 57، 58، 59]. وفي هذه الدراسة تم التسليط الضوء على الفطر ***Aspergillus niger*** المسبب للعفن الأسود على نبات البصل، حيث تم عزله بصورة نقية الى الوسط الغذائي الجديد وتم حفظه في أنابيب عند درجة حرارة 4 م°.

5- تشخيص الفطر المسبب لمرض العفن الأسود:

تم تشخيص الفطر اعتماداً على شكل المستعمرة الفطرية، شكل وتركيب ولون الحوامل والجراثيم وفق الأسس التصنيفية المعتمدة وباستخدام المراجع [60، 61].

6- - تأثير المستخلصات المائية في إنبات بذور البصل:

لمعرفة فما إذا كان هناك أي تأثير للمستخلصات المائية في إنبات بذور البصل اتبعت الطريقة المذكورة في المراجع [43، 45]،فقد تم تحضير 3 تراكيز من المستخلصات المائية وهي 10%، 20%، 30% على أساس حجم المستخلص إلى حجم الماء المقطر المعقم، أما في معاملة الشاهد فقد استخدم الماء المقطر المعقم، وبعد معاملة بذور البصل بالتراكيز المختلفة من المستخلصات تم زرعها بواقع 100 بذرة في كل طبق بتري معقم قطره 9سم يحتوي على ورق ترشيح معقم مبلل بماء مقطر معقم وحضنت الأطباق عند درجة 25-28° م لمدة 15 يوم وتم حساب نسبة إنبات البذور في كل معاملة من خلال المعادلة الآتية :-

$$\text{النسبة المئوية للإنبات} = \frac{\text{عدد البذور النابتة}}{\text{عدد البذور الكلى}} \times 100$$

7 -تأثير المستخلصات المائية في النمو الشعاعي للفطر الممرض:

لتحديد فاعلية المستخلصات في النمو الشعاعي لفطر الدراسة اتبعت طريقة [62] وهي تقنية الغذاء المسموم (Poisoned Food Technique) حيث حضر الوسط الغذائي PDA وزرع في دوارق زجاجية وعقم في جهاز التعقيم Autoclave على درجة حرارة 121°م لمدة 15-20 دقيقة، وبعد انخفاض درجة حرارة الوسط وقبل التصلب أضيفت كميات معلومة من كل مستخلص نباتي إلى هذه الدوارق الحاوية على الوسط الزراعي للحصول على التراكيز 10، 15، 20، 25، 30% لكل مستخلص، رجت الأوساط الغذائية بصورة جيدة لضمان تجانس المستخلصات مع الوسط الزراعي، صبت الأوساط الغذائية في اطباق بتري قطرها 9 سم وبواقع ثلاث مكررات لكل تركيز، معاملة المقارنة استخدم فيها وسط غذائي غير معامل. بعد أن تصلبت الأوساط في الأطباق لقحت بأقراص قطر 6 ملم من مزارع الفطر بعمر 6 أيام باستخدام ثاقب الفلين ووضعت في منتصف الطبق وحفظت الاطباق عند درجة 25-28 مْ وبثلاث مكررات لكل معاملة، بعد وصول النمو في معاملة المقارنة إلى حافة الطبق استخرجت الأطباق وتم قياس معدل النمو لقطرين متعامدين لنمو المستعمرة يمران بمركز الطبق ثم قيست النسبة المئوية للتثبيط حسب المعادلة [63] الواردة في المرجع [64].

$$\text{النسبة المئوية للتثبيط} = \frac{\text{معدل أقطار المستعمرة الفطر في أطباق الشاهد} - \text{معدل أقطار المستعمرة الفطر في المعاملة}}{\text{معدل أقطار مستعمرة الفطر في أطباق الشاهد}} \times 100$$

4-التحليل الإحصائي :

تم تحليل النتائج إحصائيا باستخدام تحليل التباين في اتجاه واحد (One Way Anova) لاختبار الفروق المعنوية واختبار أقل فرق معنوي List Significant Difference (LSD) عند مستوى معنوية 0.05.

م.ر	الاسم العربي	الجزء المستخدم	العائلة	الاسم العلمي	الاسم النجليزي (التجاري)	المادة الفعالة
1	القرنفل	البراعم الزهرية buds Flower	Mytraceae	*Syzygium aromaticum* L.	Cloves	زيت طيار، يوجينول، Eugenol, Acetoeugenol
2	الكركم	الريزومات Rhizomes	Zingiberaceae	*Curcuma longa*	Turmeric	زيت الكركومين الطيار Curcumin
3	الزنجبيل	الريزومات Rhizomes	Zingiberaceae	*Zingiber officinale*	Ginger	زيوت طيارة مثل (Campnene, Cineol zingiberene)
						مواد فينولية ، مواد راتنجية، راتنج زيتي gingeroie
4	الفلفل الأسود	ثمار Fruits	Piperaceae	*Piper nigrum*	Black peppe	زيت طيار و راتنجات

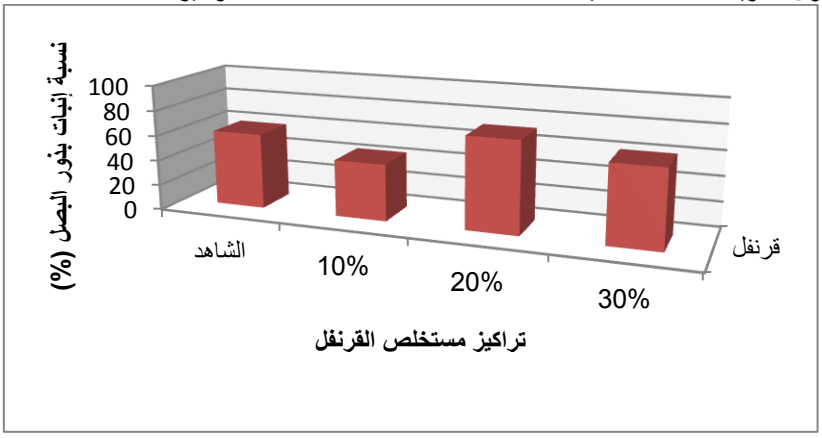
الجدول (1) الاسم العلمي والجزء المستخدم للنباتات المدروسة :

النتائج والمناقشةResults snd discussion

أ. تأثير المستخلصات المائية في إنبات بذور البصل :

1- تأثير التراكيز المختلفة من مستخلص القرنفل في إنبات بذور البصل :

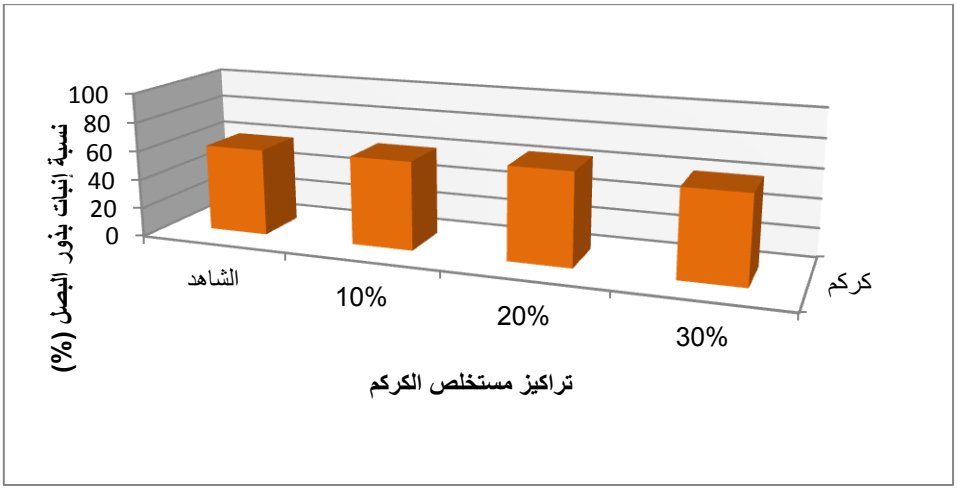
يتضح من خلال الشكل (1) أن التركيز 10% لم يشجع من زيادة نسبة الإنبات حيث سجل نسبة إنبات 45% مقارنة لمعاملة الشاهد و التي وصلت فيه نسبة الإنبات 60%، كما سجل نقص على المعنوية مقارنة بالشاهد، و بزيادة تركيز المستخلص لوحظ زيادة نسبة الإنبات حيث سجل التركيز 20% أعلى نسبة إنبات و التي وصلت إلى 73% كما لوحظ وجود فروق معنوية عالية بين التركيز 20% و الشاهد، بينما لم يلاحظ وجود فروق معنوية بين التركيز 30% و الشاهد حيث كانت نسبة الإنبات 62%. أما تحليل التباين L.S.D عند مستوى معنوية 0.05 فسجلت قيمة P =0.001 ، 0.001 ، 0.056 عند التراكيز 10 ، 20 ، 30 % على التوالي .



الشكل(1): تأثير التراكيز المختلفة من مستخلص القرنفل في إنبات بذور البصل

2- تأثير التراكيز المختلفة من المستخلص الكركم في إنبات بذور البصل :

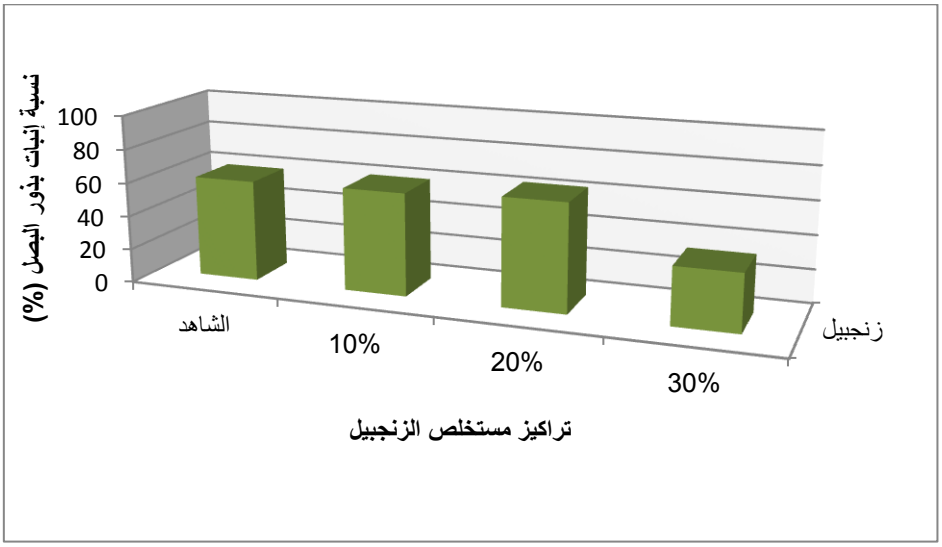
كما يلاحظ من خلال الشكل(2) أن جميع تراكيز مستخلص الكركم المستخدمة وهي 10%، 20%، 30% شجعت من زيادة نسبية الإنبات و التي وصلت إلى 61%، 63%، 61% على التوالي، و تفوق التركيز 20% على باقي التراكيز حيث لوحظ وجود فرق معنوية عالية جداً مقارنة بالشاهد، بينما لا توجد فروق معنوية بين التراكيز 10% و 30% و الشاهد. وسجلت قيم P عند مستوى معنوى 0.05 = 0.256 ، 0.001 ، 1.000 عند التراكيز 10 ، 20، 30 % .



الشكل(2): تأثير التراكيز المختلفة من مستخلص الكركم في إنبات بذور البصل

3- تأثير التراكيز المختلفة من مستخلص الزنجبيل في إنبات بذور البصل :

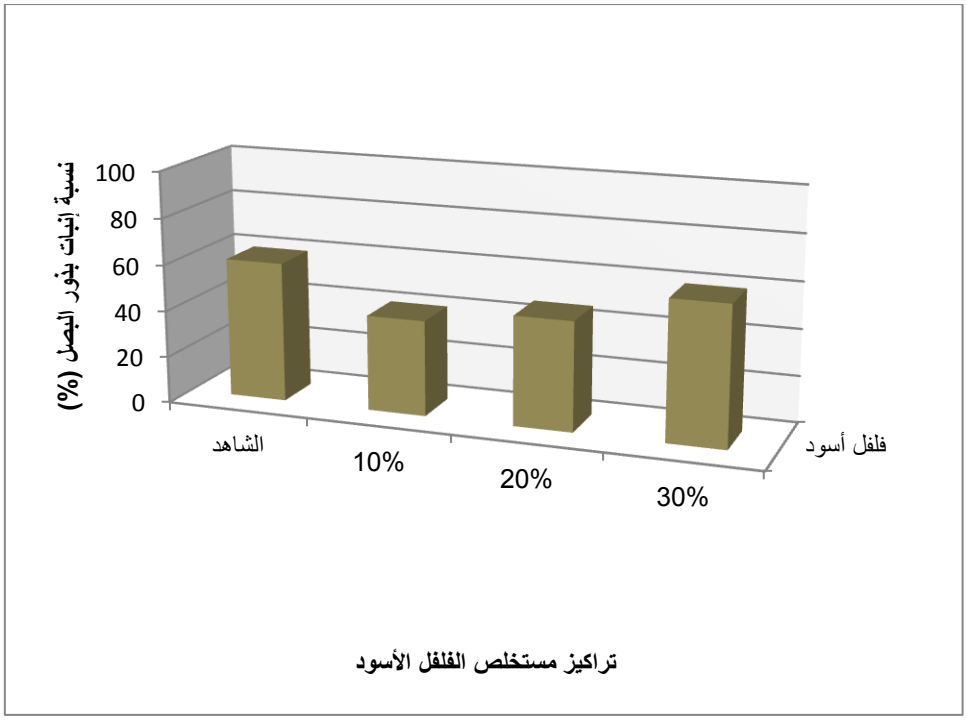
توضح النتائج المبينة في الشكل(3) أعلى نسبة للإنبات 64% سجلت عند التركيز 20%، كما لوحظ وجود فروق معنوية عالية جداً مقارنة بالشاهد، أيضاً شجع التركيز 10% من زيادة نسبة الإنبات و التي وصلت إلى 61% حيث لا توجد فروق معنوية بين هذا التركيز و الشاهد، بينما نلاحظ انخفاض في نسبة الإنبات إلى 43% عند التركيز 30% وجود نقص عالي المعنوية مقارنة بالشاهد. وسجلت قيم P عند مستوى معنوى 0.05 = 0.256 ، 0.001 ، 0.001 عند التراكيز 10 ، 20، 30 % .



الشكل(3): تأثير التراكيز المختلفة من مستخلص الزنجبيل في إنبات بذور البصل

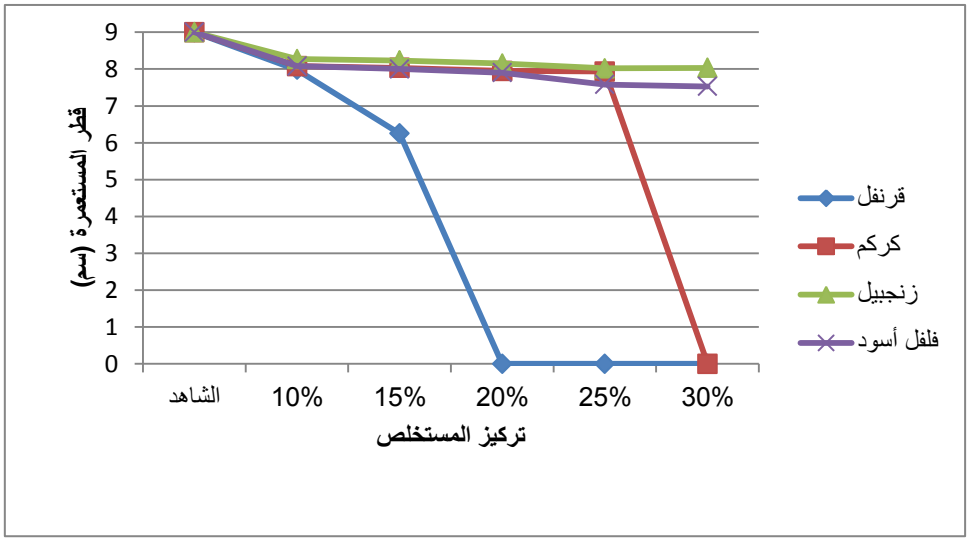
4- تأثير التراكيز المختلفة من مستخلص الفلفل الأسود في إنبات بذور البصل :

تبين النتائج في الشكل(4) بأن التراكيز المنخفضة 10%، 20% لم يشجع من زيادة نسبة الإنبات حيث انخفضت إلى 41% و 47% على التوالي، فقد سجل نقص عالي المعنوية، بينما ارتفعت نسبة الإنبات إلى 60% عند التركيز 30% حيث لم يظهر فروق معنوية مقارنة بالشاهد. و يلاحظ من خلال النتائج السابقة أن زيادة نسبة الإنبات تزداد بزيادة التراكيز و قد يرجع ذلك إلى تأثير المواد الفعالة في المستخلصات و المضادة لنمو الفطريات المرافقة و بالتالي إنبات أكبر عدد ممكن من البذور [45، 65]. وسجلت قيم P عند مستوى معنوى 0.05 = 0.001، 0.001 ، 1.000 عند التراكيز 10 ، 20، 30 % .



الشكل(4): تأثير التراكيز المختلفة من مستخلص الفلفل الأسود في إنبات بذور البصل

ب- تأثير المستخلصات المائية في النمو الشعاعي للفطر *A.niger* :



الشكل(5): تأثير التراكيز المختلفة للمستخلصات المائية على النمو الشعاعي للفطر *A.niger*

أظهرت النتائج في الشكل(5) و الجدول(2) تأثير معنوي واضح المستخلص المائي للقرنفل في تثبيط النمو الفطري، فقد سجلت أقطار المستعمرات 7.98، 6.25، 0، 0، 0 سم للأطباق المعاملة بالتراكيز 10%، 15%، 20%، 25%، 30% على التوالي مقارنة بأطباق المعاملة و التي كانت 9 سم، و قد سجلت التراكيز 20%، 25%، 30% أعلى نسبة تثبيط 100%، و قد يعود السبب في ذلك لوجود القلويدات و التانينات ذات الخاصية المظهرة في المستخلص المائي الحار للقرنفل مثل البينين فانيلين و الأوجينول [46] وهذا ما أكدته العديد من الدارسات [66-69] أن الزيت الأساسي للقرنفل أظهر تأثير مثبطا للعديد من الفطريات الممرضة، كما تتشابه نتيجة هذه الدراسة مع ما توصل إليه [47] بتفوق القرنفل على بقية المستخلصات في تثبيط نمو الفطر *A.niger* حيث وصلت نسبة التثبيط إلى 84%.

الجدول (2) النسبة المئوية للتثبيط و تحليل التباين (L.S.D) لمتوسط أقطار مستعمرات النمو الفطري المعاملة بمستخلص القرنفل عند مستوى معنوية 0.05

التراكيز	النسبة المئوية للتثبيط	قيمة P
%10	11.33	0.002
%15	30.55	0.000
%20	100	0.000
%25	100	0.000
%30	100	0.000

1- تأثير التراكيز المختلفة لمستخلص الكركم على النمو الشعاعي للفطر *A.niger* :

يلاحظ من خلال النتائج الموضحة في الشكل(5) و الجدول(3) أن جميع تراكيز المستخلص المائي لمسحوق الكركم لها تأثير معنوي في تثبيط نمو الفطر و يتفوق التراكيز 30% على بقية التراكيز المستخدمة في التثبيط الكلي لنمو لفطر حيث كانت نسبة التثبيط 100% و قد يعود السبب إلى احتوائه على المركب Curcumin و هو المسؤول عن الفعالية البايلوجية للكركم [70] و كذلك يحتوي نبات الكركم على العديد من المواد الفعالة ضد نمو الفطريات مثل الفلافونات و الصابونيات [71] و على العديد من الزيوت الطيارة ذات التأثير المضاد في نمو الفطريات و من أهمها Zingiberen, Cineol, Sesquiterpines [72].إذ أن وجودها يعمل على عرقلة عمل غشاء الخلية الفطرية من خلال احتوائها على المركبات المحبة لدهون [31]. وتتشابه نتيجة هذه الدراسة مع ما وجده [73] عند دراسته لتأثير 8 توابل مطحونة في نمو الفطريات من بينها الفطر *A.niger* و وجد أن لنبات الكركم فعالية تثبيطيه تجاه هذه الفطريات كما تتشابه مع ما وجده [74] الذي أكد على فعالية التثبيط العالية لمستخلص الكركم تجاه الفطر *A.niger* .

الجدول(3) النسبة المئوية للتثبيط و تحليل التباين (L.S.D) لمتوسط أقطار مستعمرات النمو الفطري المعاملة بمستخلص الكركم عند مستوى معنوية 0.05

التراكيز	النسبة المئوية للتثبيط	قيمة P
%10	11.11	0.004
%15	11.11	0.003
%20	11.66	0.002
%25	11.88	0.002
%30	100	0.001

2- تأثير التراكيز المختلفة لمستخلص الزنجبيل على النمو الشعاعي للفطر *A.niger* :

أظهرت النتائج المبينة في الشكل(5) و الجدول(4) أن جميع التراكيز لها تأثير مثبط في نمو الفطر حيث سجل نقص عالي المعنوية مقارنة بالشاهد حيث قل نمو الفطر و لكن لم يؤثر على التثبيط كلياً.

الجدول(4) النسبة المئوية للتثبيط و تحليل التباين (L.S.D) لمتوسط أقطار مستعمرات النمو الفطري المعاملة بمستخلص الزنجبيل عند مستوى معنوية 0.05

التراكيز	النسبة المئوية للتثبيط	قيمة P
%10	8.22	0.002
%15	8.77	0.001
%20	9.44	0.001
%25	9.44	0.000
%30	10.77	0.000

3- تأثير التراكيز المختلفة لمستخلص الفلفل الأسود على النمو الشعاعي للفطر *A.niger* :

أظهرت النتائج في الشكل (5) و الجدول (5) أن التراكيز المستخدمة لمستخلص الفلفل الأسود أدت إلى تقليل نمو الفطر حيث لا يوجد فروق معنوية بين التراكيز 10%، 15% و الشاهد، بينما توجد فروق معنوية فقط بين الشاهد و التراكيز 20%، 25%، 30%. وقد يعود السبب في التثبيط الضعيف لمستخلص الزنجبيل والفلفل الأسود إلى احتمال قدرة الفطر الدفاعية على افراز إنزيمات وسموم فطرية قادرة على تحطيم هذه المركبات أو أن يكون السبب هو كون المواد العضوية الكيماوية المؤثرة بتراكيز قليلة [75]. وتجدر الإشارة هنا إلى أن التفاوت في مدى تأثير الفطريات بالمستخلصات النباتية المستخدمة قد يعود إلى طبيعة الفطر من حيث التركيب وسمك أغشيته الخلوية ومحتواه من الدهون والبروتينات وعلاقة ذلك بألية عمل المركبات الفاعلية لتلك المستخلصات، إذ أن تأثير المستخلصات على الفطريات قد يكون نتيجة لأحداث تشوهات في أغشيتها وتراكيبها الداخلية [43].

الجدول(5) النسبة المئوية للتثبيط و تحليل التباين (L.S.D) لمتوسط أقطار مستعمرات النمو الفطري المعاملة بمستخلص الفلفل الأسود عند مستوى معنوية 0.05

التراكيز	النسبة المئوية للتثبيط	قيمة P
%10	11.11	0.084
%15	11.11	0.062
%20	12.22	0.043
%25	15.77	0.013
%30	16.33	0.011

التوصيات Recommendations .:

1- نوصي باستخدام التراكيز العالية من مستخلص القرنفل والكركم كمواد طبيعية ذات فاعلية تثبيطيه للفطر *A.niger* .
2- مستخلص الفلفل الأسود أعطى أعلى نسبة للإنبات عند التركيز 30%، كما سجل أقل نمو للفطر عند نفس التركيز، فلهذا نوصي بإجراء دراسة أخرى بزيادة التركيز حيث يزداد تركيز المواد الفعالة والمثبطة لنمو الفطري وبالتالي زيادة نسبة الإنبات.
3- في هذه الدراسة تم استخدام المستخلصات المائية في تثبيط النمو الفطري لذا نوصي بإجراء دراسة أخرى على استخدام المستخلصات الكحولية حيث أن المستخلص الكحولي يكون أكثر إذابة للمواد الفعالة وبالتالي أكثر احتواء على المواد الفعالة ومقارنة النتائج في كلا الدراستين.
4- القيام بدراسات كيميائية حياتية تفصيلية لمعرفة تراكيز البروتينات والسكريات الامينية في بذور البصل عند معاملتها بمستخلصات هذه النباتات لمعرفة مدى تأثير هذه المكونات الكيمياوية بالمواد الفعالة لهذه النباتات.

المراجع References:

1. البيبلي، روعة؛ أبوترابي، بسام؛ جبور، موفق؛ مرشد، رمزي (2016)، أثر الرش الورقي ببعض المستخلصات الطبيعية GA_3 في نمو نبات البصل (*Allium cepa* L.) و إنتاجه من البذور، مجلة جامعة دمشق للعلوم الزراعية، 32(1): 185-200.
2. Griffith, G., Truemen, L., Crowther, T., Thomas, B., and Smith, B. (2002). Onion – Aglobal benefit to health . Phytotherapy Researsh , 16 (7): 603-615.
3. Randle, W.M. (1997). Onion flavor chemistry and factors influencing flavor intensity. Amer. Chem. Soc. 5: 42-52.
4. Anonymous. (2013). Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) website.
5. Rathod , L.R., Jadhav, M.D., Mane, S.K., Muley, S.M. and Deshmukh, P.S. (2012). Seed borne mycoflora of legume seeds. Int. J. Adv. Biotechnol. Res., 3(1): 530-532.
6. Saleem, A. and Ebrahim, M.K.H. (2014). Production of amylase by fungi isolated from legume seeds collected in Almadinah Almunawarah, Saudi Arabia. Journal of Taibah University for Science, 8(2): 90-97.
7. Abdulwehab, S.A., El-Nagerabi, S.A.F. and Elshafie, A.E. (2015). Leguminicolous fungi associated with some seeds of Sudanese legumes. Biodiversitas, 16(2): 269-280.
8. Prescott, L.M., Harley, J.A. and Klein, D.A. (1996). Microbiology. WM.C. Brown puplishers USA. 3rd ed.
9. Turcksess, M.W. and Wood, G. E.(1997). Immunochemical methods for Mycotoxins in food. Food test. Anal., 3:24-27.
10. Mabett, T . (2004). Keep feeds free from fungi . In : Africa farming Journal of American Science . pp. 15- 16.
11. Opara, M . N. and Okoli, I. C. (2005). Strategies for reduction of- mycotoxin contaminations in animal productions panacea for the problems in Southeastern Nigeria In : Reducing impact of mycotoxins in tropical . Agriculture with emphasis on health and trade in Africa . Accra.
12. Samson, R.A., Houbraken, J., Summer bell, RC., Flannigan, B., and Miller, J.D. (2001). Common and important species of fungi and actinomycetes in indoor environments. In: Microorganisms' in Home and Indoor Work Environments. New York: Taylor & Francis.USA. pp. 287– 292.
13. Geiser, D. (2009). Sexual structure in *Aspergillus* Morpholog . importance and genomics . Medical Mycology : official paplicate of the international society for human and Animal Mycology 47 suppl , 1: 21-26
14. ميخائيل، سمير(2000). أمراض البذور، الطبعة الثالثة، منشاة المصارف بالإسكندرية. ص: 334.
15. Raju, K. and Naik, M. k. (2007). Survey and assessment for the post harvest diseases of onion in northeastern Karnataka. Karnataka J Agric Sci , 20(1): 164-165
16. علي، أحمد زكي؛ غيث، خالد بحري؛ عطية، محمود محمد (2008). أمراض المحاصيل الحقلية، الجزء الثاني، الطبعة الأولى.
17. Wani, A.H. and Taskeen-Un-Nisa. (2011). Management of black mold rot of onion. Journal of Mycology and Plant Pathology, 9(1): 43-49.
18. Musa, S.K., Habish, H.A., Abdalla, A.A., Addlan, A.B. (1973). Problems of onion storage in the Sudan. Trop. Sci., 5: 319-327.
19. El-Nagerabi, S.A.F. and Ahmed, A.H.M. (2003). Storability of onion bulbs contamination by Aspergillus niger mold. Phytoparasitica, 31(5): 515-523.
20. Gupta, R., Khokhar, M.K., Lal, R. (2012). Management of black mould disease of onion. J. Plant Pathol Microb., 3(5): 133.
21. Maude, R.B., Taylor, J.D., Munasinge, H.L., Bambridge, J.M. and Spencer, A. (1984). Storage rots of onions. National Vegetable Research Station, Annual Report. Wellesbourne, Warwick, pp:64-66.
22. تخيلان، عبد العزيز مجيد (2010). أمراض النبات الفطرية، الطبعة الأولى، دار دجلة، عمان، المملكة الأردنية الهاشمية، ص: 324.
23. Hayden, N.J., Maude, R.B. (1992). The role of seedborne Aspergillus niger in transmission of black mold of onion. Plant Pathol., 41: 573-581.

24. Hayden, N.J., Maude, R.B., EI-Hassan, H.S., AbdelMagid, A.A. (1994). Studies on the biology of black mold (*Aspergillus niger*) on temperate and tropical onions. 2. The effect of treatments on the control of seedborne A. niger. Plant Pathol., 43: 570-578.
25. Koycu, N.D., Ozer, N. (1997). Determination of seedborne fungi in onion and their transmission to onion sets. Phytoparasitica, 25: 25-31.
26. Sibi, G., Wadhavan, R., Singh, S., Dhananjaya, K., Ravikumar, K.R., Mallesha, H. (2013). Biological control of onion black mold by Indian culinary spices under in vitro conditions. Asian J. Pharm. Clinical Res., 6(2): 156-158.
27. Okigbo, R. N. and Ikeding, w.n. (2000). Studies on biological control of post harvest rot of Yams (Dioscrea spp.) with *Trichoderma viride*. J. phytopathology . 148: 351 – 355.
28. Rakistsky, V.N., Kobl Yakov, V.A. and Turusov, V.S. (2000). Nongenotoxic (Epigenotics) caringens : carcinogens) : pesticides as an Example cvit Rev. Tetrat carc. Mut. 20: 229 – 240.
29. Blasco, C., Font, G. and Manes, P. (2005). Screening and evaluation of fruit samples for four pesticide residue , J. AOAC int. 88 : 847 – 853.
30. Jawwich, D. (2006). Etude dela toxicite de pesticides vis – a – vis de deux genere de levures approach cinetiqe et cintiqe these de Doctorat , universite saint Joseph de Beyrouth Eoole doctorate science at ant specciialite chimic P.134 .
31. Cowan, M.M. (1999). Plant products as Antimicrobial Agents. ciln. Microbiol- Rev., 12:564-582.
32. السعدي، حسين علي (2002). علم البيئة والتلوث. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي. كلية التربية للنبات. جامعة بغداد.
33. Al-Rawi, A., Chakravarty, H.L. (1988). Medicinal plants of Iraq. Minst. of Agric. Baghdad., 2nd ed.
34. Naguefack , J., Amvam, Z., Tagne, A. and Nangmo, R.F. (1998). Sensibille du *Fusarium moniliforume* auxhulles essentially cameroon Biosciences Proceedings, 5: 17 – 19.
35. Amadioha, A.C. (1999). control of Anthracnose disease of cowpea by *Cymbopogon citvates* and *Ocimum gratissimum*, Acta phytopatholo. Entomol. Hungerica, 34 (1 – 2) 85 – 89.
36. Dewick, P.M. (2002). Medicinal natural products : A Biosynthetic Approach , second edu. New York : Joh wiley and sons .
37. Qasem, J,R. and Abu-Blan, h.A. (1996). Fungicidal activity of some common weed extracts against different plant pathogecic fungi.Journal of Phytopathology, 144: 157-161.
38. Bowers, J.H. and Locke, J.C. (2004). Effect of formulated plant extract and oil on population density of *Phytophthora nicotinae* in soil and control of phytophthora blight in the green house. Plant Disease,88:11-16.
39. Goussous,S.J.,Abu-El-Samen,F.M.and Tahhan,R.A.(2010). Antifyngul activity of several medicinal plant extract against the early blight pathogen *Alternaria solani* .Archives phyto.and plant prot., 43: 1746-1756.
40. Rowaished, A.K., and Amal, H. (2008). Use of some plant extracts in controlling *Fusarium* wilt of Papaya seedling caused by *Fusarium oxysporum*. Ninth Arab Congress of Plant Protection, 19-23 November, Syria.
41. Hadizadeh, I., Peivastegan, B. and Kolahi, M. (2009). Antifungual activity of Nettle (Urtica dioica L.)Colocynth (Citrullus colocynthis L.Schrad) oleander (Nerium oleander L.)and Konar(Ziziphus spina-christi L.) Extracts of plants pathogenic fungi. Pakistan Journal of Biological Science 12(1): 58-63.
42. Kapoor, A. (1997). Antifungal activities of fresh juice and aqueous extracts of turmeric and ginger (*Zingiber officinale*). J. Phytological Res, 10: 59.
43. سعدون، عبد الأمير سمير؛ ماهود، علي عبد الهادي (2010). تقويم كفاءة بعض المستخلصات النباتية في نمو بعض فطريات الخزن لحبوب الحنطة في مخازن الديوانية، مجلة جامعة الكوفة لعلوم الحياة، 2(2): 16-41.
44. Sarmamy, A.O., Taha, M.I., Ismaeil, A.S. (2011). Antifungal Activity of *Pomegranate* and Oak Galls Extracts Against *Penicillium* spp. and *Aspergillus niger*, Raf. Jou. Sci., 22(2): 1-10.
45. الجوهري، احسان فليح حسن (2012). تأثيرالمستخلصات الاسيتونية لبعض النباتات على الفطريات المرافقة لبذور الشعير في مدينة مصراتة، مجلة جامعة ذي قار للبحوث الزراعية، 1(2): 191-210.
46. محمد، ماهر نعيم؛ علي، زينب عبد الحسن (2015). تقويم فعالية المستخلص المائي الحار لبعض النباتات الطبية في نمو فطريات التربة الممرضة *Fusarium oxysporium* و *Rhizoctonia solani* تحت درجات حرارة مختلفة مختبريا، مجلة بابل العلوم الصرفة و التطبيقية، 63(3): 1251-1261.
47. El-Nagerabi, S.A.f., Ahmed, A.H.M., Elshafie, A.E. (2016). In Vitro Evaluation Of Selected Plant Extracts As Biocontrol Agents Against Black Mold (*Aspergillus niger* Van Tieghem) Of Onion Bulbs (*Allium cepa* L.), International Journal of Scientific & Technology Research, 5(1): 147-152.
48. كماز، بريز أحمد ناصر؛ ديوان، مجيد متعب (2017). تأثير بعض عزلات الفطر *Aspergillus niger* على تعفن أبصال البصل Onion (*Allium cepa* L.) و مقاومتها بالمستخلص المائي الحار للزنجبيل Ginger، مجلة الكوفة للعلوم الزراعية، 9(4): 181-199.

49. Supavarn, P.F., Knapp, W. and Sigafus, R. (1974). Biological active plant extracts for control of mosquite larva Mosq. New.Vol. 34 , pp: 398-422.
50. خفاجي، سعد محمد (1970). الموسوعة العربية المصورة للعقاقير والنباتات الطبية والتوابل والعطور في ثراث الطب الشعبي المصري، الجزء الثاني، المعارف.
51. ملص، سحر(1984). علم العقاقير النباتات الطبية، عمان، الطبعة الأولى.
52. أبوزيد، الشحات نصر (2000). النباتات والأعشاب الطبية، الدار العربية للنشر والتوزيع، القاهرة، الطبعة الثانية.
53. عرفة، عرفة أحمد (2004). مورفولوجيا نباتات التوابل. المكتبة العصرية – المنصورة، الطبعة الأولى.
54. عبدالمجيد، سحر سلطان (2007). الأعشاب والتوابل القيمة الغذائية والحماية من الأمراض، مجموعة النيل العربية، الطبعة الأولى.
55. Pattnaik, M.M., Kar, M., and Sahu, R.K. (2012). Bioefficacy of some plant extract on growth parameters and control diseases in Lycoperscicum esculentum . Asian J. of Plant Sci. Research, 2(2): 129-142.
56. ISTA. (1966). International rules for seed testing. Seed Science and Technology 4: 3-49.
57. Neergaard, P. (1973): Seed Pathology. Vol. 1, JohnValley and Sons, NY.
58. مخائيل، سمير ؛ بيدر، تركي. (1982). أمراض البذور، دار الكتب للطباعة و النشر، وزارة التعليم العالي و البحث العلمي. جامعة الموصل.
59. ديوان، مجيد متعب؛ يحيى، عبد الرحمن حسن. (1984). أمراض النبات العملي. وزارة التعليم العالي و البحث العلمي؛ هيئة المعاهد الفنية؛ العراق.
60. Vashishta, B.R., Sinha, A.K (2005): Botany for decoree students part – II fungi. S.Chand and comapay LTD.Ram nagar, New Delhi-110055.
61. Pitt, J.I. and Hocking, A.D. (2009): Fungi and food spoilage. Third Edition. Springer Science and Business Media, London, New York.
62. Dixit, S.N., Tripathi, S.C., Upadhyay, R.R. (1976). The antifungal substances of rose flowers *Rosa indica*. Economic Botany ,30:371-374.
63. Abbott, W.S. (1925). A method of computing the effectiveness of an insecticides. J. EC. Ent; 18: 265-267.
64. شعبان، عواد؛ الملاح، نزار مصطفى (1993). المبيدات. دار الكتب للطباعة و النشر، جامعة الموصل.
65. سعيد، كامل كزار (1986). دراسة تأثير الفطريات المعزولة من الحنطة و افرازاتها على الإنبات. المجلة العراقية للعلوم الزراعية (زانكو)، 4(4): ص 163-171.
66. Ayoola, G.A., Lawore, F.M., Adelowotan, T., Aibinu, I.E., Adenipekun, E., Coker, H.A.B. and Odugbemi, T.O. (2008). Chemical analysis and antimicrobial activity of the essential oil of Syzigium aromaticum (clove). Afr. J. Microbiol. Res., 2: 162-166.
67. Pinto, E. and Vale-Sila, L. (2009). Antifungal activity of clove essential oil from Syzygium aromaticum on Candida, Aspergillus and dermatophyte species. J. Med. Microbiol., 58: 1454-1462
68. Rana, I.S., Rana, A.S. and Rajak, R.C. (2011). Evaluation of antifungal activity in essential oil of Syzygium aromaticum L. by extraction, purification and analysis of its main component eugenol. Braz. J. Microbiol., 42(4): 1269-1277.
69. Hamini-Kadar, N., Hamdane, F., Boutoutaou, R., Kihal M. and Henni, J.E. (2014). Antifungal activity of clove (Syzygium aromaticum L.) essential oil against phytopathogenic fungi of tomato (Solanum lycopersicum L.) in Algeria. J. Exper. Biol. Agric. Sci., 2(5): 447-454.
70. Chattopadhyay, I., Biswas, K., Bandyopadhyay, U. and Banerjee, R.(2004). Turmeric and curcumin: Biological actions and medicinal applications. Current Science., 1:44-53.
71. Srimal, R.C.(1997). Turmeric: A brief review of medicinal properties. Fitoterapia., 68:483-493.
72. Kapoor, L.D. (1990). Handbook of medical plants. Crc press, Bocaraton, Florida., pp:185.
73. عفيفي، صبحي أمين؛ إسماعيل، عدنان علي؛ هوشيار، دانا فائق و محي الادين، محماد عمار (1982). دراسة حساسية بعض الأحياء المجهرية للتوابل. مجلة زانكو، مجلد 8(3): ص 49-69.
74. Perumal, G., Chevula, S., Natarajan, D., Srinivasan, K., Mohanasundari, C. and Prabakar, K.(2004). Antifungal activities of traditional medicinal plant extracts. Journal of phytological Research., 17:81-83.
75. Agrios, G.N. (1978). Plant Pathology . 2nd ed, Academic Press. New York. 703pp. Bowers,J.H. and James,C.L.2000. Effect of botanical extract on the population density of Fusarium oxysporum in soil and control of Fusarium wilt in the green house. Journal of the American oil chemists Society .84(3):300-305.

Effect of water extracts of some spices on the growth of *Aspergillus niger* causing Black Mold disease on Onion

*(1)Muna , M. Mlitan * (2) Sara, A. Agha , (3) Rania Abaid (4), Fatima Shekshaka , (5)Heba Zoka

(1),(2),(3),(4)(5)Faculty of science , plant department , Misurata University – Libya

[1]*E-mail: muna.mlitan.6882@gmail.com
[2]*E-mail: Saallagha83@gmail.com

Abstract

The current study was conducted to investigate the effect of four plant extracts which are Cloves, Turmeric, Ginger and Black pepper at three concentrations of 10%, 20%, 30% on the germination of onion seeds, as well as the effect of these extracts at concentrations of 10%, 15%, 20%, 25%, 30% on the growth of the fungus ***Aspergillus niger*** that causes black mold.

The results showed that the 20% of Cloves, Turmeric and Ginger extracts gave the highest percentage of germination compared to the control, while the highest percentage of germination was recorded at 30% of Black Pepper extract. It has been also noticed that in all extracts, the higher the concentration of the extract, the smaller the diameter of the fungal colony, where noticed the superiority of clove extract over the rest of the extracts in inhibiting fungal growth. The percentage of inhibition reached 100% at the concentrations of 20%, 25%, 30%, followed by turmeric extract at a concentration of 30%.

The results of using ginger extract showed that the concentration of 20% gave the highest percentage of germination, while the highest percentage of germination was recorded at 60% when using concentrations of 30% for black pepper extract, while the effect of high concentrations of ginger and black pepper extract had a weak effect on the radial growth of the fungus compared to clove and turmeric extract.

Key word: Water extracts , Onion seeds, Mold Black , *Aspergillus niger*