تأثير المستخلصات العضوية لبعض نباتات الفصيلة الشفوية في تثبيط نمو الفطر *Fusarium oxyporium* في المخبر

Effect of organic extracts of some lamiaceae plants in inhibiting growth of *Fusarium oxyporium* fungi *in Vitro*

لافا هسام [1] د. زكريا الناصر[2] د.سهيل نادر [3]

Lava, Hassam[1] Z.Al-naser[2] S. Nader[3]

(1) طالبة دكتوراه، قسم علم الحياة النباتية، كلية العلوم جامعة دمشق، سورية.

(1) PhD student, Botany, Faculty of Science, Damascus University, Syria.

(2) قسم وقاية النبات، كلية الزراعة – جامعة دمشق، سورية.

(2) Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Damascus University, Syria.

(3) قسم علم الحياة النباتية، كلية العلوم جامعة دمشق، سورية.

(3) Botany, Faculty of Science, Damascus University, Syria.

الملخص

أُجريَّ هذا البحث في عام 2017- 2018 في قسم وقاية النبات بجامعة دمشق كلية الزراعة. لدراسة تأثير المستخلصات الإيثانولية وبتروليوم ايثر والهكسان للمردكوش *Origanum vulgare* L. والخزامى *Lavandula angustifolia* Mill. واكليل الجبل *Rosmarinus officinalis* L. والزعتر السوري *Thymus syriacus* من الفصيلة الشفوية (Lamiaceae) في تثبيط نمو الفطر *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* المسبب لمرض الذبول الفيوزاريومي مخبرياً باستخدام الوسط المغذي PDA. أظهرت النتائج أن المستخلصات الإيثانولية والبتروليوم والهكسان للأنواع النباتية المدروسة أدت إلى تثبيط لنمو الفطر المختبر وبفروق معنوية مقارنة مع الشاهد، وأعطى المستخلص الإيثانولي للمردقوش أعلى نسبة تثبيط للفطر وصلت إلى 100% عند التركيز 17.5 ميكروليتر/مل. تلاه في ذلك مستخلص الإيثانولي للخزامى حيث أعطى نسب تثبيط 100% للفطر عند التركيز 20 ميكروليتر/ مل. في حين أعطى المستخلص الإيثانولي لإكليل الجبل والزعتر السوري أدنى تثبيط لنمو الفطر المدروس. من جهة أخرى أعطت مستخلصات بتروليوم ايثر تثبيط متوسط للفطر المختبر في الوسط المغذي حيث كانت قيم التركيز النصفي الفعال 12.4 و14.6 و16.5 و17.9 ميكروليتر/مل لكل من المردقوش والخزامى وإكليل الجبل والزعتر السوري على الترتيب.

بالمقابل أعطت مستخلصات الهكسان للنباتات المدروسة فاعلية منخفضة .حيث لم تعطي مستخلصات الهكسان المدروسة نسبة التثبيط 100% للفطر المختبر عند أعلى تركيز مستخدم 30ميكروليتر/مل. وكانت قيم (EC_{50}) لمستخلص الإيثانولي للمردكوش والخزامى المثبطة لنمو الفطر أقل القيم حيث بلغت 10.2 و11.4 ميكروليتر/مل على الترتيب. وعليه فإن المستخلصات الإيثانولية وبتروليوم ايثر لكل من المردقوش والخزامى وإكليل الجبل والزعتر السوري يمكن أنّ تستخدم في مكافحة الفطور.

الكلمات المفتاحية: مستخلصات نباتية، *Fusarium oxysporum*، بندورة.

©2023 The Arab Center for the Studies of Arid Zones and Dry Lands, All rights reserved. **ISSN: 2305-5243; AIF-023 (p: 191 - 205)**

Abstract

These investigations carried out in 2017-2018, at Department of Plant Protection-Damascus University, to determine the antifungal activity of Ethanol, Petroleum ether and Hexane extracts of oregano O*riganum vulgare* L., lavender *Lavandula angustifolia* Mill, Rosemary *Rosmarinus officinalis* L. and Thymus *Thymus syriacus* (Lamiaceae), in inhibiting mycelium growth of fungi: *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* on PDA in laboratory. The results showed that Ethanol, Petroleum ether and Hexane extracts of studied species gave significant inhibition to growth fungus compared with the control. Ethanol extract of oregano gave the superior inhibition effect to the tested fungus where gave 100% inhibition at the 17.5µl/ml. Followed by the ethanol extract of lavender which gave 100% inhibition to fungus at the concentration 20 µl/ml. However, that ethanol extracts of studied Rosemary and Thymus gave the lower effect. In the other hand, Petroleum ether extracts gave midtrial inhibition to the tested fungus, where, the median effective dose (EC_{50}) values for inhibition of mycelial growth of fungus, were 12.4, 14.6, 16.5and 17.9 µl/ml for oregano, lavender, rosemary and thymus, respectively. In contrast, the Hexane extracts of the tested plant gave the lowest effect. Where didn't reached 100 % inhibition to fungus at maximum concentration (30 µl/ml). The median effective dose (EC_{50}) values for inhibition of mycelial growth of fungus were 10.2 and 11.4 µl/ml of the ethanol extract of oregano and lavender, respectively. However, the ethanol and Petroleum ether extracts of oregano, lavender, rosemary and thymus could be used to control the fungi.

Key words: Plant extracts, *Fusarium oxysporum*، Tomato.

المقدمة

تستخدم مبيدات الآفات الكيميائية في مكافحة الآفات الزراعية بشكل واسع لزيادة الإنتاج الزراعي كماً ونوعاً وقد بدأ استخدامها فعلياً منذ أربعينيات القرن الماضي عند تصنيع المركبات الكلورية (Organochlorine) والفوسفورية العضوية (Organophosphorus) واكتشاف خواصها الإبادية للآفات الزراعية، وقد ازداد إنتاج المبيدات الزراعية مع الوقت حتى وقتنا الحاضر، كما تمتاز بأن نتائجها سريعة في مكافحة الآفات مقارنة بطرائق المكافحة الأخرى. إلا أن الاستخدام المفرط والمكثف والعشوائي لها على المدى الطويل أدى إلى ظهور سلبيات عديدة منها ظهور صفة المقاومة عند الآفات تجاه المبيدات المستخدمة، السمية للإنسان والحيوانات نتيجة التسمم مباشرة عند التعامل مع المبيدات أو نتيجة تلوث الغذاء بكميات كبيرة من متبقيات المبيدات (هندي، 2011). في بداية السبعينات من القرن الماضي بدأت تظهر الآثار السلبية للاستخدام العشوائي والمكثف لاستخدام المبيدات الزراعية. لذلك بدأ عدد من الباحثين باستخدام المستخلصات النباتية والزيوت العطرية كبدائل آمنة بيئياً لتدخل في برامج مكافحة الآفات الزراعية ومن ضمنها مسببات الأمراض الفطرية. حيث أنّ استخدام المستخلصات النباتية في مكافحة الآفات الزراعية ليس حديثاً فقد استخدمت مستخلصات أوراق التبغ (*Nicotiana tabacum*) ونبات الغريب (*Chrysanthemum* sp.) والروتينون Rotenone كمبيد حشري (*Derris elliptica*)، وغيرها في مكافحة الآفات قبل عام1800 م وأعطت مكافحة فعالة في مكافحة الأفات الزراعية (Rechcigl و Rechcigl، 2000). من أهم ايجابيات استخدام هذه المستخلصات في مكافحة الآفات أنها قليلة السمية للإنسان والثدييات والأعداء الحيوية. كما تتحلل حيوياً بشكل سريع في البيئة وتترك متبقيات أقل خطورة على المنتجات الغذائية. كما أن استخدام هذه المستخلصات كإستراتيجية في مكافحة الآفات ينتج عنها انخفاضاً في كمية المبيدات الصناعية المستخدمة في مكافحة الآفات وظهور تأثيرات ايجابية في البيئة (Ke-Qiangand and Bruggen, 2001). تعد الأنواع النباتية من الفصيلة الشفوية من أكثر الأنواع المستخدمة في المواد الصيدلانية ومواد التجميل وفي المواد الغذائية وزيوتها الطيارة مرخصة من قبل المنظمات الصحة العالمية. لذلك استخدامها في مجال مكافحة الآفات الزراعية قد يكون أكثر أمنا من النباتات الأخرى (Ayala-Zavala وزملاؤه، 2009). والفصيلة الشفوية Labiatae (Lamiaceae) من أكبر العوائل النباتية وتنتشر في جميع أنحاء العالم وينتمي لها 200 جنس، و2000 إلى 5000 نوع (Walker وزملاؤه، 2004). ومن أهمها نبات إكليل الجبل

(*Rosmarinus officinalis* L.) الاسم الشائع: Rosemary والإسم روزماري اشتق من الاسم اللاتيني (*Rosmarinus*) يعني ندى البحر"Dew of the sea". وهي جُنيبة دائمة الخضرة موطنها الأصلي مضيق مؤتييه والجبال الكلسية على طول البحر الأبيض المتوسط، يمكن أن يصل ارتفاعها حتى 1.8 م. يستخلص الزيت العطري من القمم الزهرية والساق والأوراق باستخدام التقطير بالبخار أو المذيبات العضوية (الحكيم، 1992). يستخدم إكليل الجبل كمضاد التهابات، علاج الأعصاب، منشط لدورة الدموية، مضاد للفطريات والبكتريا في الأمعاء، منشط للهضم والكبد والأمعاء والمرارة، ولعلاج التهاب اللثة والحنجرة وغيرها. وضد الإلتهابات الجلدية وكمراهم منشطة ومساعدة في إنتاج الكولاجين (Dias., 2000). كما أنّ نباتات إكليل الجبل تستخدم في علاج فقدان الذاكرة فهو ينشط الدماغ ويعالج الصداع النصفي، ويعمل على علاج القولون واليرقان. وكما أنه يستخدم في الحقل وطرد الحشرات (Inatani *et al*., 1983). والخزامى (*Lavandula angustifolia* Mill.). الموطن الأصلي له في حوض البحر الأبيض المتوسط في المناطق الصخرية وشمال إفريقيا، الشرق الأوسط، وأوروبة وغرب الهند، زُرع الخزامى في بلاد الإغريق (اليونان) والرومان، وانكلترا لفوائده الطبية المكتشفة منذ ذلك العصر. وتسود زراعته في كثير من بلدان البحر الأبيض المتوسط (Jo Ann Gardner, 1997. أُعطى الاسم lavender من الفعل lavare والذي يعني باليونانية الإستحمام. جنبة معمرة خضراء تنمو بارتفاع من (0.3-1.2 م). وشُجيرة الخزامى تنمو بشكل دائري ومضغوط. الأوراق: طولها 5 سم خضراء دائمة (Jo Ann Gardner, 1997). تعود استخدامات نباتات الخزامى إلى عصر الرومان والإغريق (اليونان). وهو معروف كمضاد ميكروبي منذ زمن قديم (Chu and Kemper, 2002). يستخدم زيت الخزامى صناعياً في صناعة المنظفات، وفي صناعة الكريمات، الكولاجين، الشموع، ومستحضرات التجميل. يستخدم في طرد الحشرات، الفئران كمبيد طبيعي بنسبة 2% في المنازل. ويستخدم في الصناعة الغذائية و كمنكّه للشاي، وحديثاً يستخدم زيت الخزامى وزيت إكليل الجبل كمبيدات حشرية ذات مصدر طبيعي (Hori, 1998). ومن نباتات الفصيلة الشفوية المهمة أيضا المردكوش (*Origanum vulgare* L.) التي موطنها الأصلي جنوب أوربة وحوض البحر الأبيض المتوسط، يستخدم في الطبخ (Nybe وزملاؤه،2009). ويستخدم المردكوش في الطب الشعبي للعديد من الأمراض التي تصيب الصدر أو الدورة الدموية وغيرها (Sagdiç وزملاؤه، 2002). وأخيراً الجنس *Thymus* يتضمن أكثر من 300 نوع نباتي موطنه الأصلي جنوب أوربة وأسيا وهو نوع معروف في سورية بالاسم الشائع الزعتر Zattar (Figueiredo وزملاؤه، 2010) والنوع الأكثر تواجدا في سورية بالحالة البرية *Thymus syriacus* Boiss يستخدم بالطب الشعبي لمعالجة التهابات الصدر وأمراض الجهاز التنفسي وتستخدم أوراقه بالغذاء ويستخدم بالمستحضرات الصيدلانية (Horváth وزملاؤه، 2002).

التحليل الكيميائي للزيوت الطيارة للنباتات الشفوية نجد أنها تحتوي أهم المركبات limonene و1,8-cineole وlinalool وغيرها. أشار Rozmana وزملاؤه (2007) أن المركبات الكيميائية المهة في زيت النباتات العطرية: الخزامى (*Lavandula angustifolia*) وإكليل الجبل (*Rosmarinus officinalis*) والزعتر (*Thymus vulgaris*) هي 1,8-cineole وcamphor و eugenol وlinalool وcarvacrol وthymol وborneol وbornyl acetate وlinalyl acetate . وجد Kocić-Tanackov وزملاؤه (2012) أن أهم المركبات في مستخلص نبات المردكوش (*Origanum vulgare*) هي carvacrol وcarvone و-*p* cimene وthymol ووجد Vazirian وزملاؤه (2015) أنّ أهم المركبات في الزيت الطيار للمردكوش المزروع هي: thymol و gama-terpinene و carvacrol و(6.80%) *cis*-alpha-bisabolene و eucalyptol . وذكر Al-Marir وزملاؤه (2013) أنّ أهم مكونات الزيت الطيار لنبات الزعتر السوري (*Thymus syriacus*)هي carvacrol وγ-terpinene و–ß caryophyllene وهو مضاد للبكتريا الموجبة غرام في المواد الغذائية. درس Askun وزملاؤه (2008) فاعلية المستخلص الميتانولي لبعض نباتات الفصيلة الشفوية (*Thymbra spicata* و *Satureja hortensis* و*Origanum onites* و *O. vulgare*subsp *vulgare*و*vulgare* subsp. *hirtum* و *O. minutiflorum* و *Sideritis vuralii*) في تثبيط نمو الفطور من جنس *Aspergillus* والفطر *Fusarium proliferatum* إذ وجد أن المستخلصات الميتانولية لكل من *O. vulgare* و *O. minutiflorum* و *T. spicata* لها تأثير مثبط لنمو الفطور المختبرة عند التركيز 1.6 مع / مل. ووجد Ibrahim وEbady (2014) أنّ فاعلية الزيت الطيار لنبات المردكوش في تثبيط نمو الفطور يختلف وفقاً لجنس الفطر المختبر فقد بلغت قيم أقل تركيز مثبط لمشيجة الفطر *Fausarium* sp (0.8 مغ/مل) ولفطر*A.niger* (1 مغ/ مل) في حين كان الفطر *Penicillium* sp أقلها حساسية تجاه الزيت المردقوش حيث بلغت قيم أقل تركيز مثبط 4.5 مغ/ مل.

تعد نباتات البندورة: (*Lycopersicon esculentum* Mill.) من الفصيلة الباذنجانية *Solanaceae* من الخضار المستهلكة المهمة في العالم بعد البطاطا وأكثرها شعبية وتزرع في كل بلدان العالم (Hadian وزملاؤه، 2011)، كمحصول استراتيجي وعلى مساحة تقدر بحوالي 8 مليون هكتار عالمياً تعطي مايقارب 217 مليون طن من الثمار بمعدل 27 طن / هكتار. توصف الخضروات، التي تشمل البندورة محاصيل عالية القيمة الغذائية. وذلك لغناها بالفيتامينات والمعادن والألياف، تستخدم ثمار البندورة طازجة أو مطبوخة

أو يصنع منها العديد من المنتجات الصناعية. تعد سورية من أهم الدول المنتجة للبندورة في الشرق الأوسط وتشكل زراعتها دخلاً مهماً للمزارعين والبلد تزرع البندورة في سورية في الحقول المكشوفة والبيوت المحمية. وقد بلغت المساحة المزروعة نحو 12697 هكتار في عام 2011 أنتجت 622263 طن أي بمردود 49078 كغ/هكتار (إحصائيات الزراعية 2014). يصاب محصول البندورة بأمراض فطرية وبكتيرية مثل أمراض الذبول واللفحة المبكرة وتبقع الأوراق والثمار وغيرها من الأمراض الشائعة التي تصيب الفصيلة الباذنجانية بشكل عام. فطر الفوزاريوم *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* المسبب لمرض الذبول الفيوزاريومي الوعائي وهو من أهم الأمراض المسؤولة عن تخفيض إنتاجية محصول البندورة (Agrios, 2005)، يعدُ فطر *F. oxysporum*.f.sp *lycopersici* من أهم الفطور المتواجدة في التربة وفي محيط جذور النباتات (منطقة الريزوسفير). يسبب هذا الفطر مرض الذبول الوعائي لكثير من النباتات ومن فصائل نباتية مختلفة (Armstrongو Armstrong، 1981). يكافح هذا المرض بشكل رئيسي باستخدام المبيدات الفطرية الجهازية من مجموعة بنزاميدازول وأهمها مبيد الكربندازيم (Maan, 2004).

الهدف من البحث: هدف البحث إلى دراسة تأثير المستخلصات النباتية بـ (الإيثانول والهكسان وبترواليوم ايثر) للمرداكوش والخزامى وأكليل الجبل والزعتر السوري الفصيلة الشفوية في تثبيط نمو مشيجة الفطر *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* في المخبر. ورسم خطوط السمية، ووضع قيم (EC_{50}) التركيز النصفي الفعّال.

المواد وطرائق البحث

مكان تنفيذ البحث:

أجرى هذا البحث في عام 2017 -2018 في مخابر قسم وقاية النبات في كلية الزراعة جامعة دمشق.

جمع وتحضير المستخلصات النباتية:

تم جمع الأجزاء الهوائية للعينات النباتية لكل من الخزامى وإكليل الجبل (أوراق وأزهار) والأوراق لكل من المردقوش والزعتر السوري من محافظة دمشق وريفها بوزن 1 كغ، وغسلها بالماء الجاري للتخلص من الأتربة. وتم تجفيفها هوائياً لمدة 10 أيام على درجة حرارة المخبر في الظل. ثم طُحنت العينات باستخدام مطحنة كهربائية مخبرية للحصول على بودرة.

تحضير المستخلصات العضوية:

تم الحصول على المستخلصات من العينات النباتية باستخدام جهاز السوكسليت: وُزن 30 غرام من العينة النباتية المطحونة ووضعت في زجاجة جهاز السوكسوليت (Soxhlet extractor) وأُضيف لها 300 مل من المُحلات العضوية (ايثانول 99.5% وهكسان 98.5% وبيترواليوم ايثر 99.5%) كلٍ على حده. شُغل السخان على درجة حرارة 35-40 درجة مئوية. وتُركت العينة 3 ساعات. نُقل ناتج الاستخلاص كمياً إلى حوجلة المبخر الدوراني لتبخير المذيب العضوي منه على درجة حرارة (35-40 س°) حتى الوصول إلى طبقة ميكروفيلم (Dagostin وزملاؤه، 2010). تم تجفيف المستخلص بوضع الدورق الزجاجي الحاوي على المستخلص في مجففة (Dessiccateur) مدة 24 ساعة (وُزن الدورق قبل وبعد تجفيف المستخلص)، من فرق وزن الدورق يتم معرفة وزن المستخلص النباتي، أُخذ 1 غ من المادة المستخلصة لكل عينة من النباتات المدروسة بعد ذلك تم حل المستخلص الجاف في 20 مل من الإيثانول أو الهكسان أو بترواليوم ايثر، ونُقلَ إلى زجاجة بنية اللون حافظة، وحُفظ في البراد لحين استخدامه على درجة 4 س°.

عزل فطر *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* :

جُمعت نباتات بندورة تظهر أعراض الإصابة بالذبول الوعائي من حقول مزروعة بالبندورة في مزارع محيطة بكلية الزراعة بابي جرش. وُضعت نباتات البندورة بالكامل في أكياس ورق معقمة. ونُقلت النباتات إلى المخبر ووضعت في البراد حتى القيام بعملية العزل. فُصل المجموع الخضري عن المجموع الجذري حيث تظهر الجذور أعراض الذبول (تلون بني داخل الأوعية الخشبية) غُسلت الجذور بماء الصنبور بحذر للتخلص من التراب الملتصق بالجذور. قُطعت الجذور المصابة إلى قطع صغيرة بواسطة مشرط معقم وعُقمت سطحياً بهيبوكلوريت الصوديوم 3% لمدة 3 دقائق. ثم وضعت في ماء مقطر معقم للتخلص من بقايا المادة المعقمة. ثم نقلت إلى أوراق ترشيح معقمة للتخلص من الماء الزائد، ثم تم نقل الأجزاء النباتية إلى أطباق بتري تحوي مستنبت غذائي بطاطا دكستروز آجار PDA، والمضاف إليها المضادات الحيوية Ampicillin (100 جزء بالمليون) و Streptomycin (100 جزء بالمليون) بعد تعقيمها في جهاز التعقيم الرطب/ الاوتوكلاف/ عند 121 س° وضغط 1.5 بار لمدة 15 دقيقة. بمعدل ثلاث قطع لكل طبق وبمعدل عشرة أطباق لكل عينة. حُضّنت الأطباق عند درجة حرارة 25 ± 2س° لمدة 7 أيام، وبعد إجراء عملية التنقية للمزارع الفطرية

بواسطة النقل المتكرر إلى أطباق بتري تحوي PDA، تم تعريف عزلة الفطر فيوزاريوم *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* وفقاً لصفاتها المورفولوجية وصفات الأبواغ وشكل ولون المستعمرة ووفقاً Dimond (1952) و Booth (1971) وbooth(1984) و Hunter و Barnett(1987) .

تقييم فاعلية المستخلصات النباتية المتحصل عليها بالمذيبات العضوية المدروسة في تثبيط نمو الفطر في المستنبت المغذي:

تم اختبار فاعلية **المستخلصات النباتية** في تثبيط نمو الفطر المختبر في المستنبت المغذي بطريقة تسميم البيئة The Poison Food Technique الموصوفة من قبل Falck (1907) بالتراكيز الآتية:2.5 و 5 و 7.5 و 10 و12.5 و 15 و17.5 و 20 و25 و30 ميكروليتر مستخلص/ مل مستنبت مغذي. (تم التأكد بتجارب أولية عدم تأثير المذيبات المستخدمة في نمو الفطور المدروسة عند استخدام المحلات العضوية بالكمية العظمى).

تم تحضير دوارق سعة 250 مل ووضع فيها 100 مل مستنبت غذائي بطاطا دكستروز أجار وتم تعقيمها في جهاز التعقيم الرطب/ الاوتوكلاف/. أُضيفت المستخلصات النباتية وفق التراكيز المدروسة الى المستنبت المستنبت المغذي عند درجة حرارة 50 درجة مئوية بعد عملية التعقيم لإعطاء التركيز المناسب وقد أضيف للوسط مادة Tween 20 بنسبة (0.1%) للمساعدة على الاستحلاب بشكل جيد. صُب الوسط المغذي المعامل في أطباق بتري قطر 90 مم معقمة وتركت حتى تتصلب. وبعد ذلك تم عدوى الأطباق بالفطر المدروس وذلك بوضع قرص 5 مم من ميسليوم الفطر، وبمعدل ثلاثة أطباق لكل تركيز (مكررات)، وحضنت الأطباق على درجة حرارة 23± 2 درجة مئوية لمدة 7 أيام. تم قياس المستعمرات وذلك بقياس قطرين متعامدين للمستعمرة وأُخذ المتوسط. وحسبت نسبة التثبيط وفقاً لمعادلة Vincent (1947):

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

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

تم حساب قيمة تركيز المبيد الفطري المسبب لتثبيط 50 % من نمو الميسليوم للفطر (EC_{50})عن طريق رسم خطوط السمية التي تربط العلاقة بين التركيز ونسبة التثبيط وفقاً لطريقة رسم منحنى السمية (Finney, 1978.).

التحليل الإحصائي:

تم تحليل النتائج وفق برنامج التحليل الإحصائي SPSS. 20، حيث استخدم التصميم العشوائي الكامل Completely Randomized Design كما تم تحليل التباين بمستوى معنوية 0.01

النتائج والمناقشة

1- تأثير مستخلصات بعض نباتات الفصيلة الشفوية في تثبيط نمو الفطر (*F. oxysporum lycoperesici*) مخبرياً باستخدام الوسط المغذي PDA.

تمت دراسة فاعلية المستخلصات العضوية (الايتانول والبترول ايثر والهكسان) لكل من المردقوش (*O. vulgare*) والخزامى (*L. angustifolia*) والزعتر السوري (*T. syriacus*) وأكليل الجبل (*R. officinalis*) في تثبيط النمو الميسليومي للفطر *F. oxysporum lycoperesici* المسبب لمرض الذبول الفيوزاريومي للبندورة في المستنبت الغذائي الصناعي في المخبر. وجد من النتائج تباين التأثير المثبط لهذه المستخلصات النباتية في نمو الميسليوم الفطري وفقاً لنوع المستخلص ودرجة قطبيته والتركيز المستخدم. دُرست تأثير المستخلصات النباتية كلٍ على حدة في تثبيط نمو الفطر وذلك لسهولة الدراسة.

2- تأثير مستخلص الايتانول لنباتات الفصيلة الشفوية المدروسة في نمو الفطر*F. oxysporumlycopersici* على الوسط المغذيPDA مخبرياً.

تظهر النتائج في الجدول 1 والأشكال (1-4) زيادة التأثير المثبط للمستخلصات الايتانولية لكل من النباتات المدروسة في نمو ميسليوم الفطر *F. oxysporum lycopersici* وبفروق معنوية مع زيادة التركيز. فقد أعطى التركيز المنخفض (2.5 ميكروليتر/ مل) نسب تثبيط للفطر المدروس 15.5% و11.5% و7.8% و4.7% لكل من مستخلص المردقوش والخزامى وإكليل الجبل والزعتر السوري على الترتيب. وأدى استخدام أعلى تركيز مستخدم (30 ميكروليتر/مل) إلى تثبيط تام لنمو الفطر (100%) لجميع المستخلصات النباتية (الايتانولية) المدروسة.

من جهة أخرى، وجد أنّ مستخلص الايثانول للبردقوش تفوق في تثبيط نمو الفطر المختبر وبفروق معنوية مقارنة بباقي المعاملات عند التراكيز من 2.5 حتى 17.5 ميكروليتر/ مل. وقد ازداد التأثير المثبط لنمو الفطر بزيادة التركيز بشكل طردي (شكل1). إذ وصلت نسبة التثبيط لنمو الفطر أعلى من 50% عند التركيز 12.5 ميكروليتر/ مل. وأدى تثبيط تام لنمو الفطر (100%) في الوسط المغذي عند التركيز 17.5 ميكروليتر/ مل. تعود فاعلية مستخلصات المردكوش إلى المركبات التربينية الأساسية الموجدة في النبات مثل Thymol وcarvacrol والتي تثبط الأنزيمات في الخلية الفطرية بتفاعلها مع مجموعة السلفوهيدريل أو تداخلها في اصطناع البروتينات في الخلية الفطرية (Cowan، 1999 وLambert وزملاؤه، 2001) فقد وجد Camele وزملاؤه (2012) أن المركبين carvacrol و Thymolثبطا نمو مشيجة فطر *B. cinerea* بشكل تام عند التركيز 250 ppm. فقد وجد Kocić-Tanackov وزملاؤه (2012) أن أهم المركبات في نبات المردقوش (*Origanum vulgare*) هي carvacrol وcarvone و*p*-cimene وthymol. وأثبت أنّ مستخلص المردكوش له فاعلية في تثبيط نمو بعض الفطور المعزولة من المواد الغذائية منها الجنسين *Penicillium* و*Fusarium* . وازداد التأثير المثبط بزيادة تركيز المستخلص بالمستنبت غذائي. تلاها في التأثير مستخلص الايثانول للخزامى، إذ أعطى نسب تثبيط لنمو الفطر عالية وبفروق معنوية مقارنة مع مستخلصي إكليل الجبل والزعتر السوري. حيث وصلت نسب تثبيط نمو الفطر 52.4% و100%عند التركيزين 12.5 و20 ميكروليتر/ مل على الترتيب.

من جهة أخرى أعطى مستخلص الايثانول لإكليل الجبل تخفيضاً متدرجاً لتثبيط نمو الفطر المختبر عند التراكيز المنخفضة، وأعطى تثبيط 53.2% عند التركيز 15 ميكروليتر/ مل. بالمقابل أعطى تثبيط تام للفطر ابتداءً من التركيز 25 ميكروليتر/ مل. وهذا يتوافق مع Survilienė` وزملاؤه (2009) حيث ذكر أن الزيت الأساسي لنبات *Rosmarinus officinalis* له فاعلية كمبيدات ومثبطات فطرية قوية. فقد ثبط بفاعلية كبيرة النمو الميسليومي للفطريات *Mortierella hyalina* var. *hyalinea* و *Penicillium roquefortii* و*Phoma exiqua* المعزولة من التفاح. في حين أعطى مستخلص الايثانول للزعتر السوري أقل تأثير مثبط لنمو الفطر المختبر وبفروق معنوية عن باقي المستخلصات. حيث كانت نسب التثبيط 4.7 % و53.9 % عند التركيزين 2.5 و17.5 ميكروليتر/ مل وقد ازداد التأثير المثبط بزيادة التركيز. مهما يكن أعطى نسبة تثبيط 100% لنمو الفطر المختبر في الوسط المغذي عند التركيز 25 ميكروليتر/ مل. قد يعود انخفاض تأثير مستخلص أوراق الزعتر في الفطر المدروس في التراكيز المنخفضة إلى انخفاض نسبة المواد الفعالة في المستخلص الكحولي. فقد وجد العديد من الباحثين Vas– Pina وزملاؤه (2004) و Sacchetti وزملاؤه (2005) أن المواد الفعالة في زيت نباتات الزعتر (*Thymus vulgaris* و *T. zygis* و *Majorana syriaca*) هي carvacrol وthymol و g-terpinene وpcymene والمركبات الفينولية التي لها فاعلية في تثبط نمو الفطور والبكتريا في المخبر.

وتتوافق النتائج مع Chebli وزملاؤه (2003) أنّ المركبات التربينية thymol وcarvacro هي المكونات الرئيسية في كل من الزعتر (*T. glandulosus*) والمردقوش (*Origanum compactum*) ولها فاعلية قوية في تثبيط الفطور. تتوافق النتائج مع Christian (2007) أن الزيت الطيار للمردكوش كان متفوقاً بفروق معنوية على الزيت الطيار للنباتات الزعتر في تثبيط نمو الفطر *Fusarium* المسبب لأعفان بذور الذرة في الوسط المغذي وبفروق معنوية عند التراكيز المنخفضة، وزاد التأثير المثبط بزيادة التركيز. حيث أعطى كلا النباتين تخفيض تام لنمو الفطر عند التركيز 800ميكروليتر / ليتر.

جدول 1: تأثير تراكيز مختلفة لمستخلص الايتانول لنباتات الفصيلة الشفوية في نمو الفطر *F. oxysporum lycopersici* على المستنبت PDA بعد 7 أيام من التحضين مخبرياً على درجة حرارة 23±2 مº.

التركيز (ميكروليتر/ مل مستنبت)	المردكوش O.*vulgare*	الخزامى L. *angustifolia*	إكليل الجبل *R. officinalis*	الزعتر السوري *T. syriacus*
	% النسبة المئوية للتثبيط			
2.5	15.5	11.6	7.8	4.7
5	24.6	20.2	11.2	8.4
7.5	33.4	28.4	17.4	12.3
10	46.2	41.9	38.2	23.5
12.5	57.9	52.4	45.6	31.5
15	78.4	71.89	53.2	45.6
17.5	100	82.1	68.25	53.9
20	100	100	83.56	72.8
25	100	100	100	100
30	100	100	100	100

لا يوجد أي تثبيط في الشاهد (وسط مغذي لم يضاف له مستخلص).
قيم L.S.D. 0.01 بين المستخلصات=4.87 وبين التراكيز =7.23

3- تأثير مستخلص بتروليوم ايثر لبعض نباتات الفصيلة الشفوية المدروسة في نمو الفطر *F. oxysporum lycopersici* على الوسط المغذي PDA .

نجد من البيانات بالجدول 2 تفوق مستخلص البتروليوم ايثر للبردقوش معنوياً على مستخلص البتروليوم ايثر لباقي النباتات عند التراكيز المستخدمة جميعها. باستثناء مستخلصي الخزامى واكليل الجبل عند أعلى تركيز مختبر، حيث أعطت المستخلصات الثلاثة نسبة تثبيط 100% عند أعلى تركيز مختبر (30 ميكروليتر/ مل). تلاه في قوة التأثير مستخلص الخزامى. حيث أعطى تثبيط 77.9 و92.8 % عند التركيزين 20 و25 ميكروليتر/ مل على الترتيب. إذ أعطى تثبيط 48.3% عند التركيز الوسطي 15 ميكروليتر/ مل.

من جهة أخرى أعطى مستخلص البتروليوم ايثر لإكليل الجبل تثبيطا متدرجاً وبطيء لنمو الفطر في الوسط المغذي (الشكل 3). حيث كانت نسبة التثبيط 2.3% عند أدنى تركيز مختبر 2.5 ميكروليتر/ مل. وكانت نسبة التثبيط 43.5% عند التركيز 15 ميكروليتر/ مل. مهما يكن أعطى التركيز 17.5 ميكروليتر/ مل تثبيطاً أعلى من 50%. إلا أنّه زادت قدرت المستخلص في تثبيط نمو الفطر بشكل مضطرد بزيادة التركيز حتى أدى لوقف تام لنمو الفطر عند أعلى تركيز مستخدم.

بالمقابل نجد أن مستخلص بتروليوم ايثر للزعتر السوري أعطى تثبيط منخفض لنمو الفطر في الوسط المغذي عند التراكيز الأقل من 20 ميكروليتر/ مل، حيث أعطى نسبة تثبيط لنمو الفطر 58.9%. وقد أدى زيادة التركيز إلى زيادة التثبيط حيث كانت نسب التثبيط 76.6 و93.2% عند التراكيز 25 و30 ميكروليتر/ مل على الترتيب.

ويمكن تفسير الفاعلية المتوسطة لمستخلص بتروليوم ايثر للنباتات المدروسة إلى أنّ المحل العضوي بتروليوم ايثر مذيب غير قطبي وبالتالي أهم المواد التي تستخلص به هي الأحماض الدهنية التي فاعليتها متوسطة في تثبيط الميكروبات والفطور (Bowers و Locke، 2000). يعد حمض linolenic acid الحمض الدهني الأساسي في الأنسجة النباتية، (Gunstone وزملاؤه، 1994). وجد Walters وزملاؤه (2004) أن الحموض الدهنية linolenic acid و linoleic acid ثبطت نمو الفطور *R. solani* و *Pythium ultimum* عند التراكيز المرتفعة (1000 ميكرومولر). في حين لم يؤثر حمض oleic acid في نمو كلا الفطرين: *R. solani* و *Penicillium* sp. عند التراكيز المدروسة جميعها.

جدول 2: تأثير تراكيز مختلفة لمستخلص البتروليوم ايثر لنباتات الفصيلة الشفوية على الفطر*F. oxysporum lycopersici* بعد 7 أيام من التحضين على درجة حرارة 23±2 مº.

التركيز (ميكروليتر/ مل مستنبت)	المردكوش **O.*vulgare***	الخزامى ***L. angustifolia***	إكليل الجبل **R. *officinalis***	الزعتر السوري ***T. syriacus***
	% النسبة المئوية للتثبيط			
2.5	11.3	4.6	2.3	1.5
5	18.7	13.8	7.6	3.7
7.5	25.6	19.4	14.9	8.1
10	37.1	28.3	23.7	19.2
12.5	46.5	36.5	30.9	27.6
15	63.2	48.3	43.5	35.7
17.5	78.5	67.8	52.3	43.5
20	85.6	77.9	69.4	58.9
25	100	92.8	83.7	76.6
30	100	100	100	93.2

لا يوجد أي تثبيط في الشاهد (وسط مغذي لم يضاف له مستخلص).
قيم L.S.D. 0.01 بين المستخلصات=6.38 وبين التراكيز =8.67

4- تأثير مستخلص الهكسان لنباتات الفصيلة الشفوية المدروسة في الفطر*F. oxysporum lycopersici* على الوسط المغذي PDA.

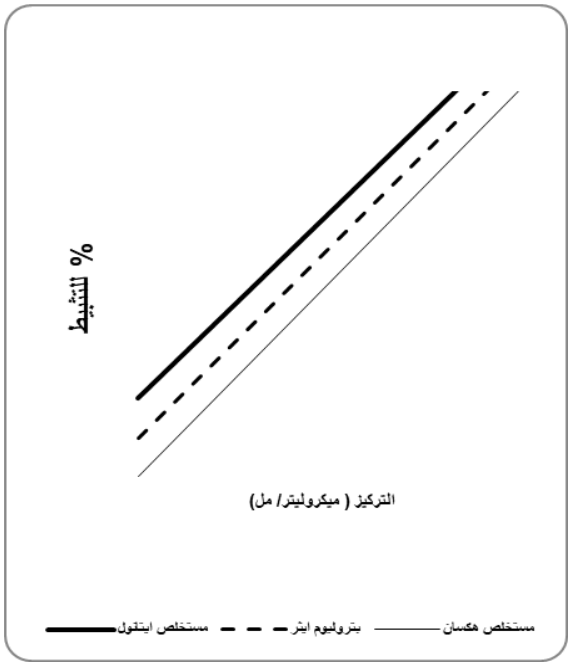
تظهر النتائج بالجدول 3 أن مستخلصات الهكسان للنباتات المدروسة أعطت تثبيطاً متوسطاً إلى منخفض لنمو فطر الفيوزاريوم في الوسط المغذي. وقد ازداد التأثير المثبط للمستخلصات النباتية في نمو الفطر ببطء بزيادة التركيز (الأشكال 1 و2 و3 و4). مهما يكن، أعطي مستخلص المردقوش نسبة تثبيط لنمو 98.3% الفطر عند أعلى تركيز مختبر (30 ميكروليتر/ مل) مستخدم. تلاه مستخلص الخزامى حيث أعطى نسبة تثبيط 93.2% عند التركيز 30 ميكروليتر/ مل. أيضاً نجد تفوق معنوي لمستخلص الهكسان للبردقوش مع باقي المستخلصات في تثبيط نمو الفطر وعند كل التراكيز. حيث أعطى نسبة تثبيط 7.2% عند أدنى تركيز 2.5 ميكروليتر/ مل، بينما لم يظهر أي تثبيط لنمو الفطر عند استخدام مستخلص الهكسان لباقي النباتات عند أدنى تركيز. أيضاً نجد أنّ مستخلص الخزمى كان متوسط التأثير على تثبيط نمو الفطر، حيث أعطى نسب تثبيط لنمو الفطر 56.1% و69.4 %و80.5 % عند التراكيز 17.5 و20 و25 ميكروليتر/ مل على الترتيب. بالمقابل نجد أنّ مستخلصي إكليل الجبل والزعتر السوي لم تعطي تثبيط لنمو الفطر عند التركيزين 2.5 و5 ميكروليتر/ مل. وقد أدى المستخلصان إلى أقل تثبيط لنمو الفطر المختبر حتى عند التراكيز المرتفعة دون وجود فروق معنوية بينهما. حيث كانت نسب التثبيط (71.9 و80.4 %) لمستخلص أكليل الجبل و(68.9 و77.5%) لمستخلص الزعتر السوري عند التركيزين 25 و30 ميكروليتر/ مل. قد تعود فاعلية المستخلصات الهكسان المنخفضة لزيادة نسبة وجود الزيوت العضوية مقارنة بالمستخلصات الايتانولية التي تتواجد فيها نسبة عالية من المركبات التربينية والفينولية (Cowan,1999)، إذ تستخلص الزيوت الأحماض الدهنية بالمحلات العضوية غير القطبية مثل البتروبولوم ايثر والهكسان. فقد ذكر العديد من الباحثين فاعلية الحموض العضوية مثل Linoleic acid وLinolenic acid و Oleic acid في المستخلصات النباتية في تثبيط نمو العديد من الفطور (Walters وزملاؤه (2004) والناصر وزملاؤه، 2013 وسكيك وزملاؤه 2015). أشار Govindachari وزملاءه (1999) أن مستخلص الهكسان لأوراق النيم وباقي أجزائه له خاصية مكافحة االفطران (*F. oxysporum* و *Colletotrichum lindemuthianum*) ويزداد التثبيط بزيادة التركيز المستخلص . أيضاً وجد Carpinella وزملاؤه (2003) أنّ مستخلص الهكسان للأوراق والمستخلص الكحولي لبذور الأزدرخت أعطت أعلى نسبة تثبيط في نمو الفطور *Fusarium oxysporum* و *Fusarium verticillioides* و *Aspergillus flavus*. وأعطى المستخلص الكحولي للبذور أعلى تثبيط لنمو الميسليومي للفطريات المختبرة مقارنة بالمستخلص الهكسان. وأثبت الناصر وابراهيم (2011) فاعلية مستخلص الايثانول/سيكلوهكسان لأوراق والزعتر *Thymus* sp. في تثبيط النمو الفطري للفطرين *Botrytis cinerea* و*Fusarium oxysporum* في المستنبت المغذي. وأدى زيادة التأثير السلبي للمستخلصات النباتية في النمو الفطري للفطرين بزيادة التركيز.

جدول 3 : تأثير مستخلص الهكسان لنباتات الفصيلة الشفوية في الفطر *F. oxysporum lycopersici* بعد 7 أيام من التحضين على درجة حرارة 23±2 م°.

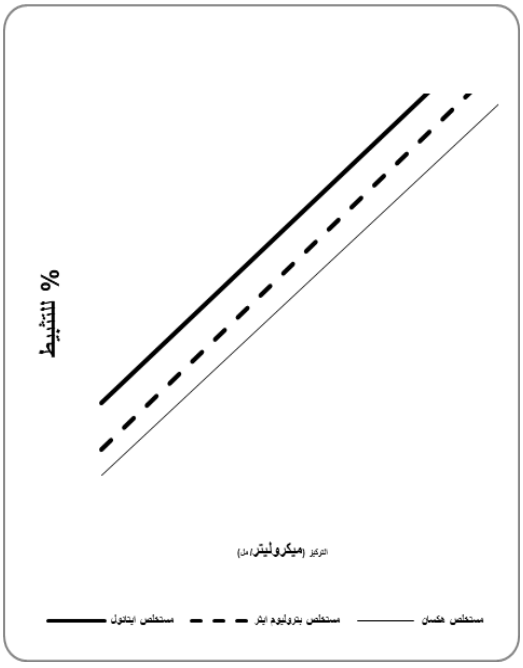
التركيز (ميكروليتر/ مل مستنبت)	المردكوش *O. vulgare*	الخزامى *L. angustifolia*	إكليل الجبل R. *officinalis*	الزعتر السوري *T. syriacus*
	% النسبة المئوية للتثبيط			
2.5	7.2	0	0	0
5	12.3	6.3	0	0
7.5	19.6	13.5	4.2	2.6
10	23.2	17.5	11.9	9.8
12.5	33.8	29.1	19.2	13.9
15	49.6	38.9	22.6	17.3
17.5	62.8	56.1	34.8	31.5
20	77.4	69.4	57.1	53.2
25	91.8	80.5	71.9	68.9
30	98.3	93.2	80.4	77.5

لا يوجد أي تثبيط في الشاهد (وسط مغذي لم يضاف له مستخلص).

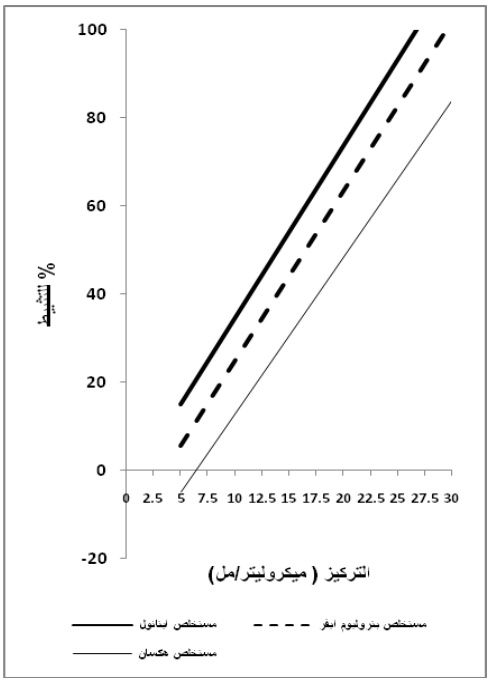
قيم L.S.D. 0.01 بين المستخلصات=4.68 وبين التراكيز =5.47



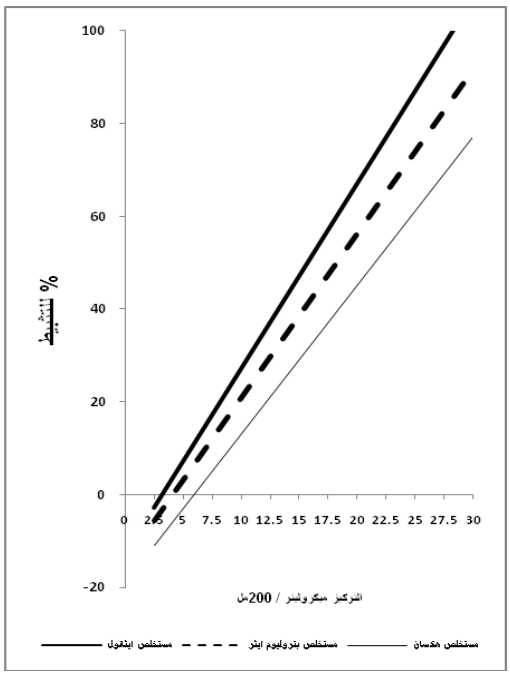
شكل1: خطوط السمية للمستخلصات العضوية للمردقوش



شكل2: خطوط السمية للمستخلصات العضوية للخزامى



شكل 3: خطوط السمية للمستخلصات العضوية لإكليل الجبل



شكل4: خطوط السمية للمستخلصات العضوية للزعتر السوري

5- قيم التركيز النصفي المثبط لنمو الفطر*F. oxysporum lycopersici* (EC_{50}) للمستخلصات العضوية لكل من المردقوش والخزامى وإكليل الجبل والزعتر السوري:

تظهر النتائج في الجدول 4 والأشكال (1 و2 و3 و4) قيم التركيز النصفي المثبط لنمو الفطر (EC_{50}) للمستخلصات العضوية لكل من المردقوش والخزامى وإكليل الجبل والزعتر السوري. أشارت النتائج وفقاً لقيم EC_{50} أن المستخلصات النباتية تباينت في تأثيرها المثبط لنمو الفطر في الوسط المغذي وفقاً للنبات المستخدم ونوع المحل العضوي. فقد أعطى المحل العضوي القطبي ايثانول أعلى تثبيط للفطر المختبر وبالتالي أعطى أقل قيم EC_{50} للنباتات المدروسة. تلاه في ذلك مستخلص بترولیوم ايثر. وجاء أخيرا المحل هكسان. من جهة أخرى نجد أنّ مستخلصات المردقوش أعطت أقل قيم لتركيز النصفي المثبط مقارنة بباقي النباتات حيث كانت قيم EC_{50} كالتالي: 10.2 و12.4 و15.3 ميكروليتر/مل لكل من المحلات العضوية الايثانول والبترولیوم ايثر والهكسان على الترتيب. بالمقابل أعطى مستخلص الزعتر السوري أعلى قيم للتركيز النصفي المثبط مقارنة بباقي النباتات حيث كانت قيم EC_{50} 15.8و17.9 و 21.5 ميكروليتر/ لكل المستخلصات النباتية بالمحلات العضوية الايثانول والبترولیوم ايثر والهكسان على الترتيب. وقد ازداد مفعول المستخلصات الكحولية على المستخلصات غير القطبية في المعاملات لكون المُحلات العضوية القطبية لها قدرة كبيرة في حلّ المواد الفعالة من الأنسجة النباتية (Cowan,1999 وPundir , و.Pranay 2010) . ويمكن ترتيب المستخلصات وفقاً لفاعليتها تنازلياً، ايثانول > المستخلصات بترولیوم ايثر > مستخلصات الهكسان. ويمكن ترتيب النباتات وفقاً لكفاءتها في تثبيط الفطر المختبر وفقاً لقيم EC_{50} كالآتي: المردقوش>الخزامى> إكليل الجبل > الزعتر السوري. وهذه النتائج تتوافق مع الأجرد وزملاؤه (2019) فقد أثبتوا أنّ المستخلص الايثانولي للأجزاء الهوائية للمردقوش والخزامى والمريمية بيناردي لها فاعلية عالية في تثبيط نمو الفطرين *P.digitatum* و*P. italicum* مقارنة بالمستخلصات الهكسان. وتتوافق النتائج مع Survilienė` وزملاؤه (2009) ذكر أن الزيت الأساسي لنبات *Rosmarinus officinalis* له فاعلية كمبيدات ومثبطات فطرية قوية. وأثبت Marandi (2010) أنه كلما زاد تركيز زيت *Thymus kotschyanus* L. في المستنبت المغذي لنمو الفطور زادت نسبة تثبيط النمو. وجد Horita وKodama (1996) أن المستخلصات المائية والزيوت الأساسية الزعتر المزروع (*Thymus vulgaris* L.) أدت إلى خفض معدل إنبات الأبواغ والنمو الشعاعي للفطر *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* المسبب لمرض البيّوض على النخيل (disease Bayoud) وازداد تأثير المستخلصات بزيادة التركيز. كما وجد Nguefack وزملاؤه (2004) أن الزيت العطري *Thymus vulgaris* فعالة في تثبيط نمو الفطر *Fusarium moniliforme*.

وهذا يتوافق مع Vitoratos وزملاؤه (2013) أن الزيت الطيار لأوراق المردكوش ثبط نمو مشيجة الفطر *B. cinerea* بشكل تام عند التركز 0.02 ميكروليتر/ مل وبلغت قيم ED_{50} 0.0075 ميكروليتر/ مل. وتتوافق مع الناصر واليونس (2017) أنّ المستخلصات الإيثانولية لكل من المردكوش والمريمية يمكن أنّ تستخدم في مكافحة الفطور *A. niger* و*P. digitatum* و*Botrytis cinerea*.

جدول 4. يمثل قيم EC_{50} (ميكروليتر/مل مستنبت) للمستخلصات العضوية للنباتات المدروسة على فطر *F. oxysporum lycopersici*.

المستخلص	النباتات المدروسة			
	O. *vulgare*	*L. angustifolia*	*R. officinalis*	*T. syriacus.*
	$^{A}EC_{50}$ (ميكروليتر/مل مستنبت)			
ايثانول	10.2	11.4	13.9	15.8
بيتروليوم ايثر	12.4	14.6	16.5	17.9
هكسان	15.3	16.9	20.3	21.5

A: حسبت القيم على أساس تركيز المستخلص في المستنبت المسبب لتخفيض 50 % لنمو ميسليوم الفطر مقارنة مع نمو الميسليوم على المستنبت دون مستخلص(الشاهد)

الاستنتاجات

1. أظهرت النتائج أن كلاً من المستخلصات الأيتانول للبردكوش والخزامى وإكليل الجبل والزعتر السوري لها فعالية قوية في تثبيط نمو الفطر ***F. oxysporum lycopersici*** مقارنة بمستخلصات بتروليوم ايثر والهكسان للنباتات المدروسة.
2. كانت نسبة تثبيط الفطور المختبرة 100% عند التركيز 30ميكروليتر/ مل.
3. ويمكن ترتيب النباتات وفقاً لفاعليتها في تثبيط الفطر المختبر المردقوش> الخزامى> إكليل الجبل> الزعتر السوري. ويمكن ترتيب المستخلصات العضوية وفقا لفاعليتها في تثبيط الفطر المختبر: ايتانول > بتروليوم ايثر> هكسان.

التوصيات

1. يوصى بإجراء التحليل الكيميائي للمستخلص الكحولي للنباتات المختبرة لمعرفة أهم مكوناتها.
2. تحتاج هذه النتائج إلى المزيد من الدراسات لمعرفة التراكيز المناسبة في التطبيقات العملية.
3. إجراء تجارب حقلية لمعرفة السمية النباتية للمستخلصات العضوية على النباتات.

المراجع

- الأجرد، مصطفى، 2019. فاعلية بعض المستخلصات والزيوت النباتية في إدارة أعفان الحمضيات ومقارنتها بالمبيدات الفطرية. رسالة ماجستير، جامعة دمشق، كلية الزراعة، ص75.
- الحكيم، وسيم. 1992. النباتات الطبية والعطرية، منشورات جامعة دمشق.ص235
- سكيك، هبة،2015. دراسة كيميائية حيوية لمستخلصات ثمار شجرة الأزدرخت *Melia azedarach* L. وتأثيرها الحيوي في بعض الفطريات المسببة لأعفان جذور البندورة ومقارنتها مع المبيدات الفطرية الكيميائية. رسالة ماجستير، جامعة دمشق، كلية الزراعة، ص 93.

- المجموعة الإحصائية الزراعية السنوية، 2012. الجمهورية العربية السورية وزارة الزراعة والإصلاح الزراعي مديرية الإحصاء والتخطيط، قسم الإحصاء. سورية2012.
- الناصر، زكريا وفاديا يونس. 2017. تأثير الزيوت الطيارة والمستخلص الايثانولي للمردكوش (*Origanum vulgare* L.) والمريمية (*Salvia officinalis* L.) في تثبيط نمو بعض الفطور في المخبر. مقبول للنشر، المجلة العربية للبيئات الجافة (أكساد).
- الناصر، زكريا وغسان إبراهيم .2011. دراسة مقارنة بين فاعلية بعض المستخلصات النباتية والمبيدات الفطرية القياسية في تثبيط نمو *Fusarium oxysporum* و*Botrytis cinerea* على البيئة الصناعية. مجلة جامعة الفرات للدراسات والبحوث العلمية. سلسلة العلوم الأساسية. العدد 20. ص112-119.
- الناصر، زكريا وباسل إبراهيم وأحمد فلاح. 2013. تحليل زيت بذور وأزهار الأزدرخت *Melia azedaracht* L. وتقييم كفاءتها في تثبيط نمو الفطريات على الوسط المغذي. مقبول للنشر في مجلة جامعة دمشق للعلوم الزراعية.
- هندي، زيدان عبد الحميد. 2011 . الإدارة المتكاملة لمكافحة الآفات في الزراعة المحمية. دار النشر كانز جروب، القاهرة. 836 صفحة.

- Agrios, G.N. 2005. Plant Pathology.fifth Edition. New York, USA. : 948
- Al-Mariri,A, G. Swied, A. Oda and L. Al Hallab. 2013. Antibacterial Activity of *Thymus Syriacus* Boiss Essential Oil and Its Components against Some Syrian Gram-Negative Bacteria Isolates. Iran J Med Sci Supplement June 2013; Vol 38 No 2.180-185.
- Armstrong, G.M. and Armstrong, J. K. 1981. Formae speciales and races of *Fusarium oxysporum* causing wilt diseases. In: P.E. Nelson, T.A. Toussoun and R.J. Cook, editors. Fusarium: Diseases, biology and taxonomy. University Park, USA: The Pennsylvania State University Press. pp: 392-399.
- Askun, T., G. Tumen, F. Satil and T. Kilic. 2008. Effects of Some Lamiaceae Species Methanol Extracts on Potential Mycotoxin Producer Fungi, Pharmaceutical Biology, 46:10-11: 688-694,
- Ayala-Zavala JF, González-Aguilar GA and del-Toro-Sánchez L. Enhancing safety and aroma appealing of fresh-cut fruits and vegetables using the antimicrobial and aromatic power of essential oils. J Food Sci. 2009;74:R84-91..1750-3841.2009
- Barnett, H. L. and Barry B. Hunter. 1987. Illustrated Genera of Imperfect Fungi. Fourth Edition. New York.
- Booth, C. 1971 . The genus *Fusarium* . Commonwealth Mycological Institute , Kew, Surrey, England 237. pp.
- Booth, C. 1984 . The *Fusarium* problem : Historical , economic , and taxonomic aspects pages 1 – 13 in : The Applied Mycology of *Fusarium*. M.O. Moss and J.E. Smith, eds. Cambridge University Press, Cambridge.
- Bowers, J.H., and Lock, J.C. 2000. Effect of botanical extracts on the population density of *Fusarium oxysporum* in soil and control of *Fusarium* wilt in the greenhouse . Plant Dis. 84: 300 – 305 .
- Camele, I, L. Altieri, L. De Martino, V. De Feo, E. Mancini and G.L. Rana. 2012. In vitro control of post-harvest fruit rot fungi by some plant essential oils components. Int J Mol Sci 13:p.2290-2300.
- Carpinella, M.C., L.M. Giorda and S.M. Palacios. 2003. Antifungal effects of different organicextracts from *Melia azedarach* L., on phytopathogenic fungi and their isolated activeomponents. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 51(9): 2506-2511.

- Chebli, B. C.H, Achouri, M, Hassani, L.M.I and Hmamouchi, M. 2003. Chemical composition and antifungal activity of essential oils of seven Moroccan Labiatae against *Botrytis cinerea* Pers: Fr. J.
- Christian, E.J. 2007. Plant extracted essential oils as a contact fungicide seed treatment for organic corn. Master Of Science Iowa State University.p 82.
- Chu, C. J. and Kemper, K. J. 2002. "Lavender (*Lavandula* spp.)," http://www. longwoodherbal.org /lavender/lavender.
- Cowan, M.M., 1999. Plant products as antimicrobial agents. Clin. Microbiol. Rev. 12(4), 564-582.
- Dagostin, S, T. Formolo and O. Giovannini. 2010. *Salvia officinalis* extract can protect grapevine against *Plasmopara viticola*. Plant. Dis., V. 95, 5: 575-580.
- Dias, P. C., Foglia, M. A., Possenti, A. and De Carvalho, J. E., 2000. Antiulcerogenic activity of crude hydroalcoholic extracts of *Rosmarinus officinalis* L. Journal of Ethnopharmacology, Vol. 69, P. 57-62.
- Dimond, A.E., Davis, D., Chapman, R.A., and Stoddard, E.M. 1952. Plant chemotherapy as evaluated by the Fusarium wilt assay on tomato. The Connecticul Agric. Exp. St. Bull. 557. 82 pp .
- Falck, R (1907) Walchstumesetze, Wachstumtaktoren und temperature wertter Holzerstercn-den. Mycelien., 1 :153-154.
- Figueiredo AC, Barroso JG, Pedro LG. Volatiles from Thymbra and Thymus species of the western Mediterranean basin, Portugaland Macaronesia. Nat Prod Commun. 2010;5:1465-76. PubMed PMID: 20923010.
- Finney, D.J. 1978. Statistical method in biological assay. 3rd ed. Charles Griffin and Company LTD, London and High Wycombe.
- Gardner, 1997. Living With Herbs, Nimbus Publishing Ltd., Halifax NS., P. 225-227.
- Govindachari, T.R, Sandhya, G. and Ganeshraj, S.B. 1999. Azadirachtins H and I: Two new tetranortriterpenoids from Azadirachta indica. J. Nat. Prod., 55: 596-601.
- Gunstone, F. D., J. L. Harwood and F. B. Padley. 1994. The lipid handbook. Chapman and Hall, London:557 p.
- Hadian, S., Rahnama, K., Jamali, S. and Eskandari, A. 2011. Comparing Neem extract with chemical control on *Fusarium oxysporum* and *Meloidogyne incognita* complex of tomato. Advances in Enviromental Biology 5(8):2052-2057
- Hori M., 1998. Repellency of Rosemary Oil Against *Myzus persicae* in a Laboratory and in a Screenhouse. Journal of Chemical Ecology, Vol. 24, P. 1425 – 1432.
- 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.
- Horváth Gy, Kocsis B, Botz L, Németh J, Szabó LGy. Antibacterial activity of Thymus phenols by direct bioautography. Acta Biologica Szegediensis. 2002;46:145-6.
- Ibrahim, FAA, Ebady, N.A. 2014. Evaluation of Antifungal Activity of Some Plant Extracts and their Applicability in Extending the Shelf Life of Stored Tomato Fruits. J Food Process Technol V. 5: 340.
- Inatani, R., Nakatami, N. and Fuwa, H. 1983. Antioxidant effect of constituents of Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) and their derivatives. Agricaltural Biology and Chemistry, Vol. 47, P. 521-528.

- Ke-Qiang, C. A. O.and Bruggen, A. C. H. 2001. Inhibitory efficacy of several plant extractsand plant products on *Phytophthora infestans.* Journal Agric university of Hebei, Baoding. 71001, China.
- Kocić-Tanackov, S. D., R. Dimić, J. I. Tanackov, D. J. Pejin, L. V. Mojović and J. D. Pejin. 2012. Antifungal activity of Oregano (*Origanum vulgare* L.) extract on the growth of *Fusarium* and *Penicillium* species isolated from food. Hem. Ind. 66 (1): 33–41.
- Lambert, R.J.W., P.N. Skandamis, P.J. Coote and G.J.E. Nychas. 2001. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol, J. Appl. Microbiol. 91,p. 453–462.
- Mann.P.J . 2004. The Pesticide Manual . 3th ed. Database Right © 2004 BCPC (British Crop Protection Council.
- 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.
- Nguefack, J.; V. Letha,P. H. Amvam Zollob and S. B. Mathura. 2004. Evaluation of five essential oils from aromatic plants of Cameroon for controlling food spoilage and mycotoxin producing fungi. International Journal of Food Microbiology. 94: 329-334.
- Nybe, E.V., M. Rajm and K. V.2009. Oregano (O*riganum vulgare* Linn.). Spices. 05: 237.
- 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.
- Pina-Vaz, C.; Rodrigues, A.G.; Pinto, E.; Costa-de-Oliveira, S.; Tavares, C.; Salgueiro, L.; Cavaleiro, C.; Gonçalves, M.J.; Martinez-de-Oliveira, J. Antifungal activity of *Thymus* oils and their major compounds. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol*. 2004, *18*, 73–78.
- 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.
- Rasooli, I.; Owlia, P. Chemoprevention by thyme oils of *Aspergillus parasiticus* growth and aflatoxin production. *J. Am. Mosq. Control. Assoc*. 2005, *21*, 80–83.
- Rechcigl , J. E. and N. A. Rechcigl.2000. Biological and Biotechnological control of insect pests. BooK, CRC. Press LLc. NEW YORK. P. 374.
- Rozmana, V. , Kalinovica, I. and Korunicb, Z. 2007. Toxicity of naturally occurring compounds of Lamiaceae and Lauraceae of three stored-product insects. Journal of Stored Products Research, Vol. 43, P. 349–355.
- 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.
- Sagdiç, O, Kusçu, A, Ozcan, M and S. Ozçelik. 2002. Effects of Turkish spices extracts at various concentrations on the growth of *Escherichia coli* O157:H7. Food Microbiol 19: 473-480.
- Sokeman, A.; Gulluce, M.; Akpulat, H.A.; Daferera, D.; Tepe, B.; Polissiou, M.; Sokmen, M.; Sahin, F. The *in vitro* antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts of endemic *Thymus spathulifolius*. *Food Control* 2004, *15*, 627–634.

- Survilienė, E., Valiuškaitė, A., Snieškienė, V. and Stankevičienė, A. 2009. Effect of essential oils on fungi isolated from apples and vegetables. Scientific works of the lithuanian institute of horticulture and lithuanian university of agriculture. Sodininkystė Ir Daržininkystė. 28(3).
- Vitoratos, A. B. Dimitrios, A. Karkanis and A. and Efthimiadou. 2013. Antifungal Activity of Plant Essential Oils Against *Botrytis cinerea*, *Penicillium italicum* and *Penicillium digitatum*. Not Bot Horti Agrobo, 41(1):86-92.
- Walker, J.B., K. J. Sytsma, J. Treutlein, M. Wink. 2004. *Salvia* (Lamiaceae) is not monophyletic: implications for the systematics, radiation, and ecological specializations of *Salvia* and tribe Mentheae. Am J Bot. 91: 1115–1125.
- Walters, D, L. Raynor , A. Mitchell, R. Walker, K. Walker. 2004. Antifungal activities of four fatty acids against plant pathogenic fungi. Mycopathologia.;157:P. 87-90.

N° Ref: 997