*تاثير المستخلصات القلويديه لثمار و بذور الحنظل *Citrullus colocynthus* واوراق الكاربس *Conocarpus erectus* في النمو الشعاعي لبعض الفطريات المعزوله من بذور وجذور نبات الباقلاء

تاريخ الاستلام 2014/12/14 تاريخ القبول 2015/2/8

عبد الامير سمير سعدون[1] **دعاء عبد العباس[2]**

كلية العلوم \ جامعة القادسية **كلية العلوم \ جامعة القادسية.**

Zaida788@gmail.com

الخلاصة

شملت هذه الدراسه اختبار تاثير القلويد المستخلص من ثمار وبذور نبات الحنظل *Citrullus colocynthis* والقلويد المستخلص من اوراق نبات الكاربس *Conocarpus erectus* وسماد اليوريا على النمو الشعاعي للفطرين *Aspergillus ochraceus* و *Atlernaria alternata*المعزولين من جذور وبذور نبات الباقلاء بالمقارنه مع مبيد التوبسين, وكذلك اختبار تاثير القلويدات وسماد اليورياعلى انبات بذور الباقلاء في التربه المعقمه وغير المعقمه ، وتشخيص الفطريات جزئيا بتقنية تفاعل السلسله المتبلمر PCR. واظهرت النتائج ان القلويدات النباتيه كان لها تاثير مثبط معنوي لنمو الفطريات المختبره على الوسط الغذائي الصلب .P.D.A بالقياس مع معاملة المقارنه والمبيد الفطري عند مستوى احتمال 5% . وكذلك له تاثير واضح في رفع نسبة انبات بذور الباقلاء في التربه المعقمه وغير المعقمه . وكان التركيز 15ملغم/مل الاكثر مقارنه مع التراكيز الاخرى ومع فعل المبيد المستخدمه .واوضح اختبار قياس طيف الاشعه تحت الحمراء Infra Red Spectrum العديد من الحزم المميزه التي تعود للمركبات القلويديه .

الكلمات المفتاحية \ الحنظل, الكاربس, الباقلاء, مستخلص نباتي

Botany Classification QK 710-899

<u>*البحث مستل من رسالة ماجستير للباحث الثاني.</u>

1-المقدمه

تعد الباقلاء غذاء مهم من الناحيه الاقتصاديه والاجتماعيه وتعد من اقدم الاغذيه البقوليه الناميه في العالم, حيث تحتل الباقلاء المركز السادس من ضمن الاغذيه البقوليه الناميه في العالم (11). تعود الباقلاء *Vicia fabae* الى العائله البقوليه Leguminacae وتعتبر من المحاصيل الشتويه وتحتل المرتبة الثانية بعد العائلة النجيلية وتتميز باحتوائها على نسبه عاليه من البروتينات (9) . بين (2) ان خطورة الفطريات الممرضه تزداد عند زراعة الترب بمحاصيل حساسه للفطريات الممرضه وبذلك تؤدي الى زيادة الكثافه العدديه للمسببات المرضيه وهذا يزيد من اصابة النبات في مختلف مراحل نموه وذلك يؤثر سلبا في نوعية وكمية المحصول .

واستخدمت العديد من الوسائل لغرض حماية الإنسان و الحيوان من الأضرار الناتجة عن هذه الفطريات و كانت المبيدات الكيميائية الوسيلة الاولى لمكافحتها بسبب سهولة التنفيذ و الحصول على نتائج سريعة (1) .

ان مبيد التوبسين المستخدم في هذا البحث و الذي يعود لمجموعه بنزيميدوزول وثايوفانيت يستعمل لمكافحة جرب التفاحيات وصدأ الثوم ومرض خياس طلع النخيل وامراض البياض الدقيقي واللفحه المبكره على الطماطا ومرض الذبول الذي يسببه الفطر *R. solani* , كما يمكن استعماله لمكافحة مرض التفحم المغطى على القمح والشعير(10).

ان استخدام المبيدات الكيميائية له أضرار متعددة أهمها التأثير على أعداء الآفة الحيويه فضلاً عن المشاكل المتعددة الناتجة من سميتها للإنسان و الحيوان في حالة تسربها في البيئة فضلاً عن التكاليف الباهظة لاستخدامها و احتمالات ظهور صفة المقاومة في بعض الآفات ضد فعل المبيدات و تأثيرها الكبير في التلوث البيئي (23) .

ونظرا لاهمية المواد الفعاله في النباتات الطبيه اتجه الباحثين نحو التعرف على هذه المواد الغير معروفه , حيث ازداد استعمال النباتات الطبيه في الفتره الاخيره وفي مجالات مختلفه وذلك لما تحويه من مواد فعاله مهمه ذات خصائص مضاده للفطريات من جهه(17) ومشجعه لانبات البذور ومختزله للامراض الفطريه من جهه اخرى (26) .ومن النباتات الطبيه المهمه نبات الحنظل *Citrullus colocynthis* والذي يعود للعائله القرعية Curcurbitaceae (16) ونبات الكاربس *Conocarpus erectus* الذي يعتبر من النباتات ذات الاهمية من الناحية العلاجية الذي يعود للعائله العسفيه Comberataceae (25) .يمتلك نبات الحنظل فعاليه تثبيطيه للفطريات الممرضه لاحتوائه العديد من المواد الفعاله(11).اما نبات الكاربس فيحتوي على مجموعه من المواد الفعاله التي تمثل احد الوسائل الدفاعيه للنبات كما ان له خصائص تحد من نموالعديد من الاصابات الفطريه والبكتيريه(30) لذلك هدفت هذه الدراسه الى تقييم كفاءة المستخلصات القلويديه للحنظل والكاربسوالسماد مقارنة بالمبيد توبسين ودراسة سبل اعتماده كبدائل عن المبيدات الكيميائيه في السيطره على الامراض الفطريه وشملت محاور البحث مايلي

1-عزل وتشخيص الفطريات المرافقه لبذور وجذور الباقلاء

2-تقييم كفاءة القلويدات في انبات بذورالباقلاء في التربه ,وفي النمو الشعاعي للفطريات المرافقه لبذور وجذور الباقلاء.

2-المواد وطرائق العمل

2-1جمع العينات

تم جمع بذور نبات الباقلاء المستخدمة في هذا البحث من السوق المحلية في مدينة الديوانية بوصفها نباتات عائلة لعدد من الفطريات . وهذه البذور المنقاة من الأتربة والشوائب بشكل جيد تستخدم لأغراض الزراعة, وتم جمع ثلاث عينات عشوائية . اما عينات الجذور فقد تم جمعها بصورة عشوائية من الحقول المزروعة في مدينة الديوانية ايضا. وتم الحصول على ثمار نبات الحنظل من العطارين في اسواق مدينة الديوانية , أما نبات الكاربس فقد جمعت أوراقه من الحدائق العامة التي ينتشر فيها هذا النبات . ثم غسلت الثمار والأوراق بالماء العادي ثم بالماء المقطر , ثم تركت لتجف في درجة حرارة الغرفة . بعدها طحنت بمطحنة كهربائية وحفظ المسحوق بعبوات جافة لحين الأستعمال(20) وتم الحصول على المبيد توبسين وهو مبيد فطري جهازي واسع الطيف وذو فعاليه طويلة الامد يمكن اضافته عن طريق التربه بفضل فعاليته الجهازيه التي تمكنه من الدخول الى النبات والنفاذ الى جميع الاجزاء والحمايه من الامراض الفطريه وهو ليس له اثر سام على جميع انواع المحاصيل (19) الاضافه الى استخدام سماد يوريا وذلك من السوق المحليه في مدينة الديوانيه أيضا.

2-2 استخلاص القلويدات

اتبعت طريقه(15) لفصل القلويدات النباتيه ,اذتم وزن 100غم من كل من المسحوق الجاف لثمار نبات الحنظل واوراق نبات الكاربس ,وجرى استخلاصها بجهاز الاستخلاص المستمر السكسوليت Soxholet extractor بمزجه مع 400مل من الايثانول واستمر الاستخلاص لمدة 24ساعه بدرجة حراره 45م .تم نقل المستخلص في وعاء خزفي مع 50 غم من اوكسيد المغنسيوم و300مل من الماء المقطر ووضع الخليط بعدها في حمام مائي مع التحريك المستمر الى ان يجف المستخلص .ثم غلي ماتبقى من المستخلص الجاف مع 500مل من الماء المقطر واعيدت الخطوه الاخيره مرتين مع اضافة 250مل من الماء المقطر .بعدها رشح الخليط وهو ساخن بواسطة قمع الترشيح واضيف للراشح 50 مل من حامض الكبريتيك 10%ثم الى ثلث الحجم الاصلي باستخدام التقطير تحت ضغط متخلخل بعدها رشح المزيج وهو ساخن لازالة المزيج وهو ساخن لازالة الرواسب العالقه المتكونه في اثناء التبخير .تم الاستخلاص بقمع الفصل باضافة(5*30)مل كلوروفورم واضيفت بضعة ملليلترات من محلول هيدروكسيد الصوديوم 1%ثم الحجم نفسه من الماء المقطر للتخلص من اللون الاصفر بعده تم تبخير المستخلص للتخلص من الكلوروفورم واعيدت بلورة النوذج باضافة كميه قليله جدا من الماء الساخن.

3-2 اختبار طيف الاشعه تحت الحمراء Infra Red Spectrum

تم دراسة طيف الاشعه تحت الحمراء IR للقلويدات المستخلصه من ثمار نباتي الحنظل والكاربس باستخدام الاقراص KBr Transforms Infra Red FTIR Fourierواجري هذا القياس في مختبرات قسم الكيمياء /كلية العلوم/جامعة القادسيه وذلك باخذ كميه قليله من القلويد النباتي الجاف لكل نبات ,ووضعت في جهاز قياس طيف الاشعه تحت الحمراء المربوط الى الحاسوب وعند تشغيل الجهاز يبدء بقياس حزم كل قلويد على حده (28).

4-2 عزل الفطريات المختبره

عزلت الفطريات المرافقه لبذور وجذور الباقلاء المستخدمه في هذا البحث كالاتي قسمت البذور والجذور بعد تنظيفها بالماء جيدا وتقطيعها لعدة قطع الى مجموعتين ,الاولى عقمت سطحيا باستخدام محلول هايبوكلورات الصوديوم بتركيز 1%لمدة ثلاث دقائق ثم غسلت بالماء المقطر ثلاث مرات , اما المجموعه الثانية غسلت بالماء المقطر المعقم فقط ,ثم زرعت البذور والجذور في اطباق بتري حاويه على الوسط الغذائي PDA(Potatos Dextros Agar) وبواقع خمس بذور او قطع جذور في كل طبق وبثلاثة مكررات لكل مجموعه وتركت الاطباق في الحاضنه بدرجة حراره 25م وبعد مرور اربعة ايام على عملية الحضن تم متابعة نمو الفطريات , اذ فحصت الاطباق لمعرفة الفطريات الناميه وتم تنقية عزلات الفطريات على الوسط الغذائي PDA وتم حفظ العزلات النقيه بزراعتها على الوسط الغذائي نفسه بصوره مائله في انابيب اختبار حجم 20مل وحضنها لمدة اسبوع بدرجة 25مل بعدها حفظت في الثلاجه بدرجة حراره 4م لحين الاستعمال(3).

5-2 تشخيص الفطريات

1-5-2 التشخيص بالاعتماد على المفاتيح التصنيفيه

وذلك بالاعتماد على شكل واللون وقطر المستعمره وارتفاعها وايظا بالاعتماد على الصفات المجهريه Microscopic Features وحجم ولون وتركيب الحوامل والابواغ والتراكيب الاخرى وفق الاسس التصنيفيه المعتمده بالمفاتيح التصنيفيه الوارده في المصادر(25, 18,5).

2-5-2 التشخيص التاكيدي باستخدام تقنية تفاعل السلسله المتبلمر PCR

1-استخلاص الحامض النووي DNA Extraction

استخلص الحامض النووي DNA للفطريات المختبره باستعمال عدة خاصه لهذا الغرض هي عدة البايونير (Bioneer Kit) وحسب تعليمات الشركه المصنعه.

2-مضاعفة الحامض النووي المستخلص Amplification DNA

تم تحضير (AccuPowder r TLAPCR Pre Mix tube) الخاص بتفاعل الPCR باضافة 5مل من الحامض النووي المستخلص و(2ml forward and 2ml reverse) و4ml من البوادئ التي صممت في هذا البحث الجدول2 حسب برنامج التصميم (Primer3 plus) وتم اكمال الحجم الى 20mlباضافة الماء المقطر ثم مزجت المكونات جيدا باستعمال المازج Vortex

ثم وضعت هذه الانابيب في جهاز الconvential pcrتحت الظروف المبيه بالجدول

جدول(1) الظروف المستخدمة في جهاز الدورات الحرارية لمضاعفة الحامض النووي DNA للبوادئ المصممة المستخدمة.

PCR Step	Repeat cycle	Temperature	Time
Initial denaturation	1	95C	5min
Denaturation	30	95C	5sec.
Annealing		58C	30sec
Extension		72C	45sec
Final extension	1	72C	7min
Hold	-	4C	Forever

جدول(2) تسلسل القواعد النتروجينيه للبوادئ المصممه والمستخدمه في تشخيص الفطرين المختبرين *Asp.ochraceus*و*Alt.alternata*

E- البادئات المستخدمة				
اسم البادئ	تسلسل القواعد النتروجينية ('3-'5)		العدد	حجم (BP) الناتج	المصدر
ITS-1	TCCCACCCGTGTATACCGTA	F	20	423bp	صمم في هذه الدراسة/بنك الجينات
	CCTACAAGAGCGGGTGACAA	R	20		
ITS-1	CGGATCTCTTGGTTCTGGCA	F	20	270bp	صمم في هذه الدراسة/بنك الجينات
	TGCTGATAGAGAGTGCGACT	R	20		

F- البادئ الأمامي , R- البادئ العكسي .

3- الترحيل الكهربائي Gel Electrotrophoresis

اتبعت طريقه (27) لتحضير جل الاكاروز(Agaros Gel) وذلك باذابة 1 gm من مسحوق الاكاروز في90ml من الماء المقطر و10ml من(10x TBE buffer) وسخن المزيج حتى الغليان باستعمال المسخن الحراري ,بعدها تم تبريد المزيج الى 65 م واضافة 5ml من الايثيديوم بروماید(Ethidium bromide) , ومزج الخليط بالرج الخفيف وصب في المكان المخصص له في جهاز الترحيل الكهربائي وتم وضع مشط معقم بالاشعه فوق البنفسجيه في الخليط لكي يتم عمل حفر في الجل وترك لمدة 30-45دقيقه بدرجة حرارة الغرفه حتى يتصلب . ثم بعدها ازيل المشط ,واضيف 5ml من ladder الى الحفره الاولى (حاوي على قطع من DNA القياسي), واضيفت الكميه نفسها من الحامض النووي المستخلص الى بقية الحفر . ومن ثم تمت تغطية الجهاز بالغطاء الخاص به وتم الترحيل عند 70فولت لمدة ساعه كامله.

6-2 تاثير القلويدات النباتيه وسماد اليوريا في النمو الشعاعي للفطريات المختبرة

لتحديد فاعلية القلويدات النباتية وسماد اليوريا في النمو الشعاعي للفطريات اتبعت طريقة(14) وهي تقنية الغذاء المسموم (Poisoned Food Technique) إذ تم تحضير ثلاثة تراكيز للقلويدات المختبرة وهي 5 و 10 و15 ملغم/ مل من الوسط الغذائي المعقم PDA , اما معاملة السمادوالمبيد فقد حضرت بالتراكيز(5,10,15) ملغم/ 10مل من الوسط الغذائي المعقم PDA ثم صبت في الاطباق , اما معاملة المقارنه فقد تضمنت اطباق بتري حاويه على الوسط الغذائي المعقم PDA من غير اية اضافه , وبعد ان تصلبت الاوساط في الاطباق , تم نقل قطعه قطرها 5ملم من مزارع نقيه للفطريات بعمر ثمانية ايام باستخدام ثاقب فليني ووضعت في منتصف الطبق وحضنت الاطباق بدرجة حراره 25 م وبثلاثة مكررات لكل معامله ومن ثم تم قياس معدل نمو الفطريات في المعاملات المختلفه باستعمال المسطره (معدل ثلاثة اقطار متعامده) بعد وصول الغزل الفطري في معاملة المقارنه الى حافة الطبق , وتم حساب النسب المئوية للتثبيط باستخدام المعادلة الآتية:

$$\textbf{النسبة المئوية للتثبيط} = \frac{\text{معدل قطر الفطر في اطباق المقارنة} - \text{معدل قطر الفطر في اطباق المعاملة}}{\text{معدل قطر الفطر في اطباق المقارنة}} \times 100.$$

7-2 تأثير القلويدات وسماد اليوريا في إنبات بذور الباقلاء في التربة مختبريا

لمعرفة فيما إذا كان هنالك تأثير للقلويدات النباتية وسماد اليوريا المختبرة في إنبات بذور الباقلاء لأغراض الزراعة في التربة , تم تحضير محاليل بثلاثة تراكيز وهي 5 و 10 و 15 ملغم\مل من القلويدات وثلاثة تراكيز وهي 5 و 10 و 15 ملغم\10مل من السماد والمبيد الفطري بالتخفيف بالماء المقطر المعقم , بعدها تمت معاملة البذور بالمحاليل المختلفة للقلويدات والسماد والمبيد وذلك بتغطيسها لمدة ثلاث دقائق , أما معاملة المقارنة , فقد تضمنت بذور غير معاملة بأية مادة إضافية , وقد تم تحضير التربة وذلك بجلبها من إحدى الحقول في مدينة الديوانية , وبعد ذلك تم تقسيمها على مجموعتين الأولى تركت من غير تعقيم , والثانية عقمت بآستخدام المؤصدة (Autoclave) بدرجة حرارة 121 °م و بضغط 15 باوند\أنج^2 لمدة ساعتين (3) , ملأت بعدها أصص قطرها 15 سم و ارتفاعها 15 سم بالتربة وبكميات متساوية , بعدها زرعت البذور المعاملة وبواقع عشر بذور في كل أصيص وبثلاثة مكررات لكل من معاملة الترب المعقمة وغير المعقمة وتم توفير ظروف مشابهة قدر الإمكان لظروف زراعة البذور في الحقل , من درجة الحرارة والضوء والماء اللازم لإنبات البذور (6) . وعند بزوغ البادرات تم حساب النسبة المئوية للإنبات في المعاملات المختلفة.حسب المعادلة الأتيه :

$$\textbf{النسبة المئوية للانبات} = \frac{\text{عدد البذور النابتة}}{\text{عدد البذور الكلية}} \times 100.$$

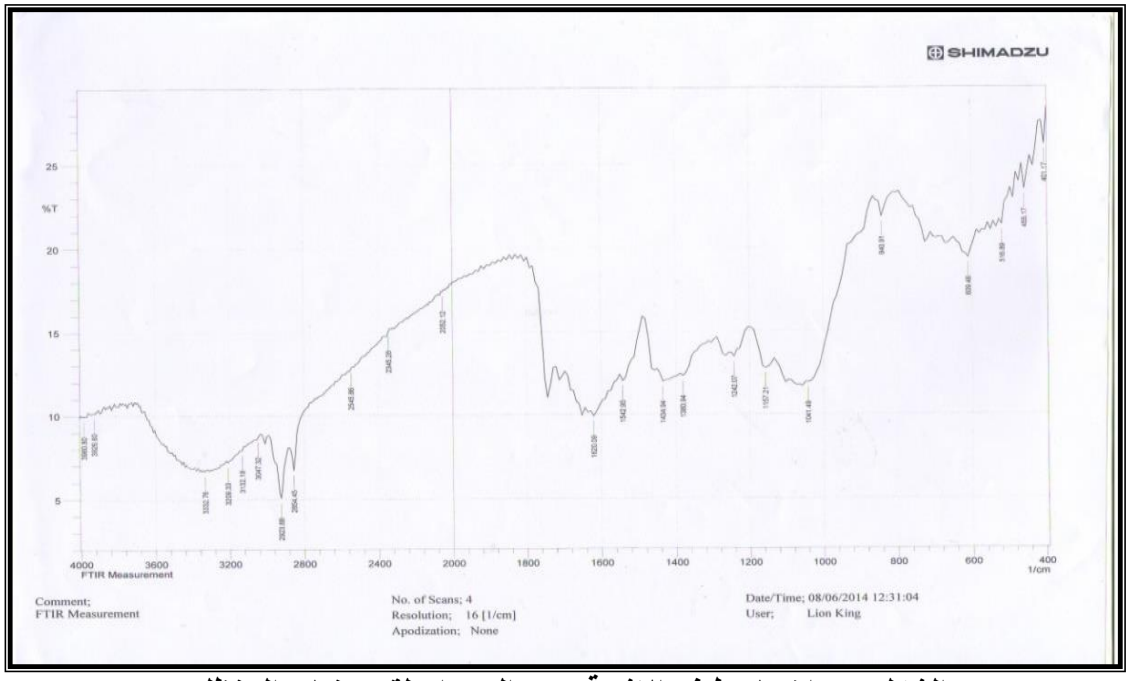
8-2 التحليل الاحصائي

أخضعت النتائج للتحليل الإحصائي لتحديد الفروق المعنوية عند مستوى احتمال 5 % ،إذ شمل التحليل الإحصائي تحليل التباين الثنائي ANOVA (Tow Way Analysis of Variance) , وتم اختبار الفروق المعنوية بين المتوسطات بوساطة أختبار أقل فرق معنوي L.S.D (4) . تم تحليل النتائج إحصائيا بواسطة برنامج spss في الكومبيوتر .

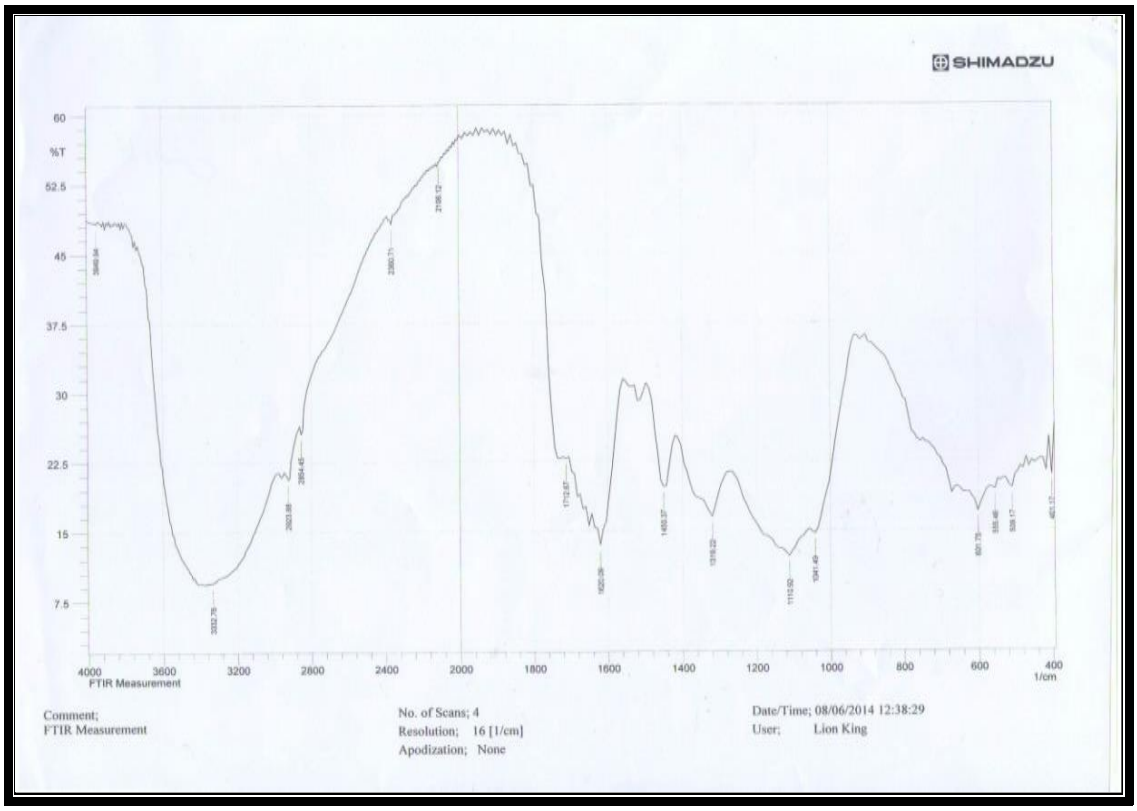
3-النتائج والمناقشه

3-1اختبار طيف الاشعه تحت الحمراء Infra red spectrum

فسر طيف الاشعه تحت الحمراء (FTIR) للقلويدات النباتيه وحددت مواقع الحزم بالاعتماد على ماذكره(28) في الشكل (1) و (2) اتسم هذا النوع من الاطياف للمستخلصات القلويديه بتعقيده بسبب التداخلات الحاصله بين الحزم العائده الى جزيئة القلويدمن جهه والمجاميع المرتبطه بها من جهه اخرى . وقد تبين عند دراسة الاشعه تحت الحمراء FTIR لقلويدي نباتي الحنظل والكاربس ظهور حزم مميزه تعود للمجاميع الفعاله حيث احتوى على مجاميع (O-H) و (N-H) و(C-H)و(C=O) ذات القابلية العالية على الارتباط بغشاء الخلية الحية لكلا القلويدين.



الشكل (1) اختبار طيف الاشعة تحت الحمراء لقويد نبات الحنظل

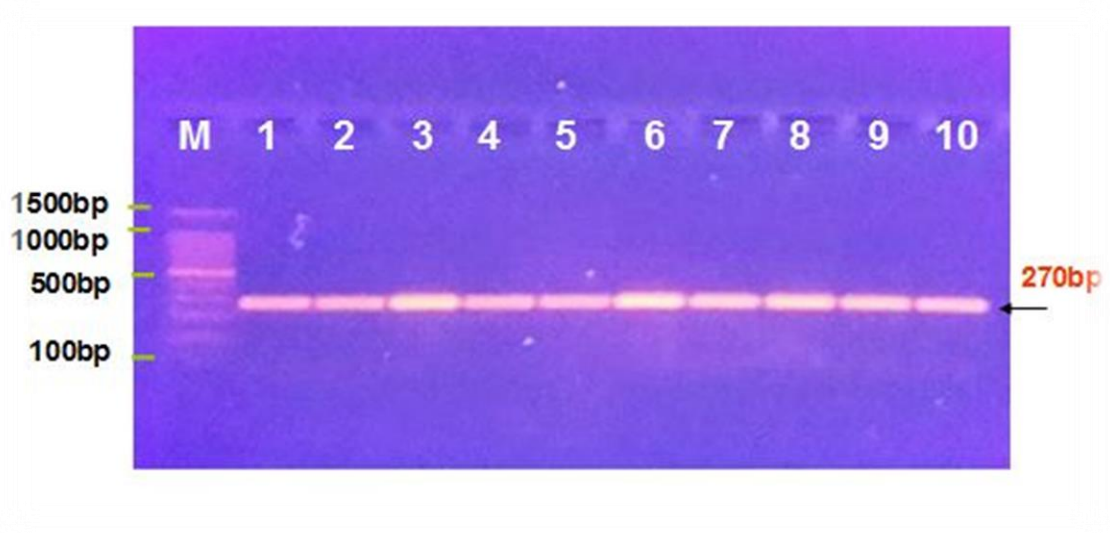


الشكل (2) اختبار طيف الاشعه تحت الحمراء لقلويد نبات الكاربس

2-3عزل وتشخيص الفطريات

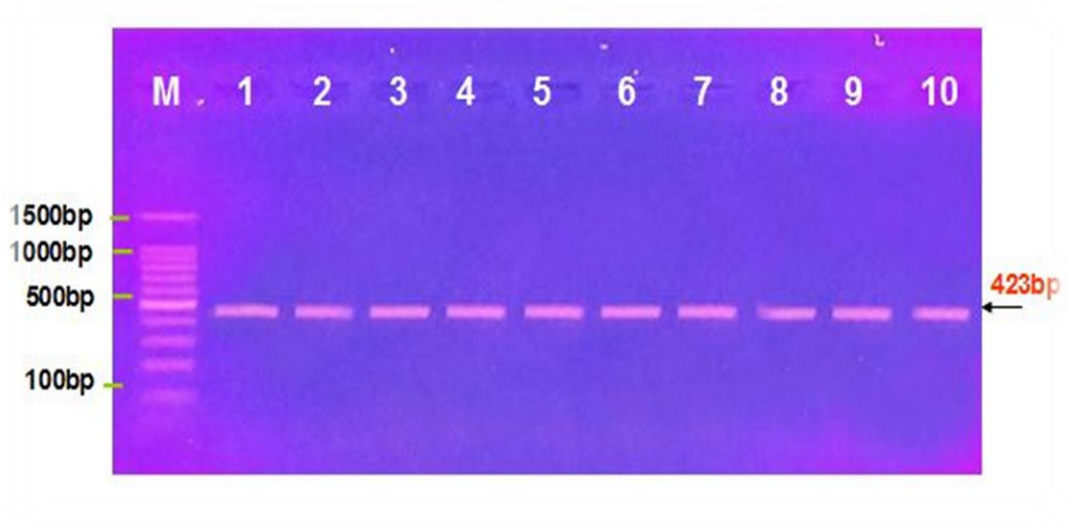
تم تشخيص الفطريات بالاعتماد على الطرق الروتينيه بحسب المفاتيح التصنيفيه ,بالاعتماد على المظهر الخارجي للمستعمره (Morphplogical features) وبالاعتماد على الصفات المجهريه (Microscopic features). (5, 24).

وللتاكد من صحة تشخيص الفطريات تم تشخيص الفطريات جزئيا بواسطة تقنية الPCR, وباستخدام البادئات ITS1, ITS1 (Internal Transcription Spacer) للفطر , *Alternaria alternata* (*Aspergillus ochraceus*) على التوالي المصممه في هذا البحث بواسطة برنامج التصميم(primer 3 plus) , حيث بلغت مسافة الترحيل الكهربائي للحامض النووي *Alt.alternata* مع البادئ ITS1(270 bb), وبلغت مسافة الترحيل الكهربائي للحامض النووي المضاعف للفطر *Asp. ochraceaus*مع البادئ ITS1 423bb الشكل(3و4).ويمكن استخدام التشخيص الجزيئي بواسطة تقنية الPCR لدعم التشخيص المعتمد على الصفات المظهريه ,وذلك لانها من طرق التشخيص المعتمده على الحامض النووي DNA(12).



الشكل(3):نواتج الترحيل الكهربائي على هلام الاكاروز(1%) وفولتية(70) فولت ولمدة ساعة للحامض النووي المضاعف للفطر *Alt. alternata* مع البادئ ITS-1 باستعمال تقنية PCR حيث ان:

1-10: *Alt. alternata* **M:Ladder**



الشكل(4):نواتج الترحيل الكهربائي على هلام الاكاروز(1%) وفولتية(70) فولت ولمدة ساعة للحامض النووي المضاعف للفطر *Asp. ochraceus* مع البادئ ITS-1 باستعمال تقنية PCR حيث ان:

1-10:*Asp. Ochraceus* **M:Ladder**

3-3 تاثير القلويدات النباتيه وسماد اليوريا في النمو الشعاعي للفطريات

بينت نتائج تاثير القلويدات النباتيه لثمار وبذور نباتي الحنظل واوراق نبات الكاربس وسماد اليوريا على الفطريات المعزوله من بذور وجذور الباقلاء . ان هذه القلويدات النباتيه المستخلصه من نبات الحنظل والكاربس اثرت تاثيرا مثبطا معنويا في نمو الفطريات المختبره عند مستوى احتمال 5%وبالقياس مع المقارنه وخاصة عند التركيز 15%. الجدول(4,3). وكانت معدلات اقطار المستعمرات تتناسب عكسيا مع تركيز القلويد ,اذ تقل اقطار نمو الفطريات بزيادة التركيز المستخدم ,اما النسب المؤيه فقد كانت تزداد مع زيادة تركيز القلويد. كما اظهرت النتائج تفوق قلويد الحنظل على قلويد الكاربس وسماد اليوريا في تثبيط النمو الشعاعي للفطرين المختبرين , حيث بلغت معدلات اقطار المستعمرات الفطريه عند التركيز 15ملغم/ مل 8.34, 9.18 ملم وبنسب تثبيط 89.98 و90.73% للفطرين *Asp. ochraceus* , *Alt. alternata* على التوالي في معاملة قلويد الحنظل . في حين بلغت اقطار المستعمرات الفطريه 10.56و13.86ملم وبنسب تثبيط 88.26 و 84.46% للفطرين *Alt. alternata* و *Asp.ochraceus* على التوالي في معاملة قلويد الكاربس اما بالنسبه لمعاملات سماد اليوريا فقد ثبطت نمو الفطريات المختبره وخصوصا عند التركيز 15ملغم / مل حيث بلغت اقطار المستعمرات 30.84و27.19 ملم وبنسب تثبيط 66.17 و69.73% بالنسبه للفطر *Alt. alternata* و*Asp. ochraceus* بالمقارنه مع معاملة المبيد الفطري توبسين حيث بلغت اقطار المستعمرات الفطريه 10.92 و15.32ملم وبنسب تثبيط بلغت 88.42و82.97% للفطرين على التوالي ,وبالمقارنه مع معاملة السيطره التي بلغت اقطار المستعمرات الفطريه فيها90ملم. تتفق هذه النتائج مع (8) والتي اكدت ان القلويد المعزول من بذور نبات الحلبه قد خفض من معدلات النمو الشعاعي للفطريات المختبره .يكمن الاثر السمي للمواد الفعاله النباتيه من خلال عدة ميكانيكيات تؤثر بها على الخليه الفطريه ,فهي قد تعمل على التداخل مع الاغشيه الخلويه وتغير نفاذيتها ,اوتتداخل مع العمليات الايضيه مثل سلسلة نقل الالكترونيات وامتصاص المغذيات وغيرها ,او تعمل على تثبيط ومسخ الانزيمات والبروتينات الخلويه(22). مسببه ضررا شديدا في الجدار الخلوي والغشاء الخلوي والاحماض النوويه وتشكيل القنوات الايونيه في الاغشيه الخلويه (13) . حيث تعمل القلويدات على الارتباط مع الحامض النووي DNA للفطريات مؤديه الى منع نمو خلاياها (21).

جدول(3):تاثير القلويدات النباتية وسماد اليوريا على النمو الشعاعي للفطر *Asp. ochraceus*

التركيز ملغم/ مل للقلويد و ملغم/10 مل للمبيدو السماد	قلويد الحنظل		قلويد الكاربس		سماد اليوريا		مبيد التوبسين	
	القطر (ملم)	التثبيط (%)	القطر (ملم)	التثبيط (%)	القطر (ملم)	التثبيط (%)	القطر (ملم)	التثبيط (%)
5	21.89	75.67	26.16	70.93	65.85	26.83	20.66	77.04
10	11.67	87.05	20.76	76.93	43.54	51.62	16.48	81.86
15	8.34	90.73	13.86	84.46	30.84	66.17	15.32	82.97
Control	-	90.00	-	90.00	-	90.00	-	90.00

قيمة LSD بين المعاملات 0.20/ قيمة LSD بين التراكيز0.22

جدول(4):تاثير القلويدات النباتية وسماد اليوريا على النمو الشعاعي للفطر *Alt. alternata*

التركيز ملغم/ مل للقلويد وملغم/10مل للمبيدوالسما د	قلويد الحنظل		قلويد الكاربس		سماد اليوريا		مبيد التوبسين	
	القطر (ملم)	التثبيط (%)	القطر (ملم)	التثبيط (%)	القطر (ملم)	التثبيط (%)	القطر (ملم)	التثبيط (%)
5	17.22	80.86	20.45	77.27	58.56	34.93	23.88	73.46
10	12.13	86.52	15.23	83.07	36.89	59.01	16.09	82.21
15	9.18	89.98	10.56	88.26	27.19	69.73	10.92	88.42
Control	-	90.00	-	90.00	-	90.00	-	90.00

قيمة LSDبين المعاملات 0.20/ قيمةLSD بين التراكيز0.153

4-3 تاثير القلويدات النباتيه وسماد اليوريا في انبات بذور الباقلاء في التربه المعقمه والغير المعقمه.

يتبين من النتائج في الجدول(5) ان القلويدات النباتيه المعزوله قد رفعت من نسب انبات بذور الباقلاء في التربه .حيث تراوحت نسب انبات بذور الباقلاء لمعاملات قلويد الحنظل مابين (96.66-100%) في الترب المعقمه و(90-100%) في الترب الغير معقمه , اما بالنسبه لمعاملة قلويد الكاربس (93-100%) في الترب المعقمه و(83.33-100%) في الترب الغير معقمه بالقياس مع معاملة المقارنه التي تراوحت فيها نسب الانبات مابين (66.60 -70%) في الترب المعقمه والغير معقمه, اما بالنسبه لمعاملات سماد اليوريا فكانت نسب انبات بذور الباقلاء (76.66 -86.66%) في الترب المعقمه و (70.00 – 80.00%) في الترب الغير معقمه . بالمقارنه مع نسب انبات بذور الباقلاء المعامله بمبيد التوبسين التي بلغت (83.33-100%) في التربه المعقمه و (80-96.99%) في الترب الغير معقمه,وبالقياس مع معاملة المقارنه التي تراوحت فيها نسب الانبات مابين (66.60 -70%) في الترب المعقمه والغير معقمه ويلاحظ ان نسب الانبات قد ازدادت مع زيادة التركيز المستخدم وذلك لان زيادة التركيز تؤدي الى زيادة تاثير المواد المضاده للفطريات وبالتالي انبات اكبرعدد ممكن من البذور وكذلك توفير الحمايه الكافيه للبذور من الفطريات المتواجده في التربه غير المعقمه التي قد تهاجم البذور وتؤثر في نسب انباتها بسبب ماتفرزه من مواد محلله للانسجه الداخليه للبذور (7).وتتفق مع ماتوصلت (8) بان القلويد المعزول من نبات الحلبه قد رفع من نسب انبات الباقلاء والسبانغ في التربه المعقمه وغير المعقمه وبجميع التراكيز المدروسه.

جدول(11):تاثير القلويدات النباتية وسماد اليوريا على انبات بذور الباقلاء في التربه.

المعاملات التركيزملغم/مل للقلويد وملغم/10 مل للمبيد والسماد	التربة المعقمة				التربة غير المعقمة			
	قلويد الحنظل	قلويد الكاربس	سماد اليوريا	مبيد التوبسين	قلويد الحنظل	قلويد الكاربس	سماد اليوريا	مبيد التوبسين
5	96.66	93	76.66	83.33	90	83.33	70	80
10	100	100	83.33	90	100	93	73.33	86.66
15	100	100	86.66	100	100	100	80	96.66
Control	70	70	70	70	66.66	66.66	66.66	66.66

قيمة LSDبين الترب 0.605 / قيمةLSDبين المستخلصات 0.95

المصادر:-

1- **أبو بكر , صدر الدين نور الدين .(2003).** الافات و الامراض النباتية , الجزء الاول . منظمة الاغذية والزراعة التابعة للأمم المتحدة . مطبعة الزراعة . أربيل , العراق.

2- **ادم , مجيد حسن. (2000).** المقاومه المتكامله لمرض تعفن البذور في موت الطماطا . اطروحة دكتوراه . كلية الزراعه . جامعة الموصل .

3- **ديوان ,مجيدمتعب ويحي و عبد الرحمن حسن.(1984).** امراض النبات ؟العملي .وزارة التعليم العالي والبحث العلمي .هيئة المعاهد الفنيه .العراق.

4- **الراوي, خاشع محمود وخلف الله ، عبد العزيز محمد. (2000).** تصميم وتحليل التجارب الزراعية ،الطبعة الثانية. دار الكتب للطباعة والنشر. جامعة الموصل.

5- **الرحمه , عبد الله بن ناصر . (2005).** اساسيات علم الفطريات . جامعة الملك عبدالله / السعوديه

6- **سرحان ,عبد الرضا طه, محسن,خلدون ياسر وسعدون,عبد الامير سمير.(2001).**دراسة كفاءة بذور الشعيرفي عدة مناطق في محافظتي القادسيه وواسط .مجلة القادسيه,المجلد(6),العدد(3),ص:-94 83.

7- **سعيد ,كامل كزار .(1986).** دراسة تاثير الفطريات المعزوله من الحنطه وافرازاتها على الانبات .المجله العراقيه للعلوم الزراعيه (زانكو). المجلد(4). العدد(4). :163-171.

8- **السعيدي , ولاء ياس لهمود .(2012).** تقييم كفاءة المستخلصات المائيه والكحوليه لثمار البلوط وبذور الحلبه قياسا ببعض المبيدات الفطريه في السيطره على الفطريات المرافقه لبذور الباقلاء والسبانغ .رسالة ماجستير/كلية العلوم .جامعة القادسيه.

9- **علوان , صباح لطيف وحميد , مهند محمد. (2012).** اختبارتقدير كمية الكاربوهيدرات والبروتينات في بذور الباقلاء المعامله بالمبيد

بلتانول وفطر المقاومه الاحيائيه *T. harzianum* لاصناف الباقلاء الخمسه المزروعه في الحقل . مجلة جامعة الكوفه . المجلد(5), العدد(1), ص: 60-66.

10- العادل, خالد محمد.(2006). مبيدات الافات . وزارة التعليم العالي والبحث العلمي . كلية الزراعه . جامعة بغداد.

11- Alghasham , AA.(2013). Cucurbitacin –apromising target for cancer therapy . International Journal of health science . 7(1).Pp: 77-89 .

12- Arif , M.; Chawla , S. ; Zaidi , N. W.; Rayar , J. K.; Variar , M. and Singh , U. S.(2012) . Development of specific primers for genus *Fusarium* and *F. solani* using rDNA Sub-unit and transcription elongation factor (TEF-1a) gene. African Journal of Biotechnology . Vol.(11). No.(2) .444-447.

13- B khari , F.M (2009). Antifungul activity of some medicinal plants used in Jeddah , Saudia Arabia . Mycophat. Vol.(7).No.(1).Pp. 51-57.

14- Dixit , S.N.; Tripathy , S.C.and Upadhyey , R. R.(1976). The antifungal Substance of flower (Rose indica) .Economic Botany. 30: 71- 73.

15- Ikan,R.(1969). Natural products alabrotory guide. Academic press London &Newyork.3135.

16- Jeffry,C.(2005). Anew system of cucubitaceae attest classification of cucubitaceae . Bot. Zhum. No90:332-335.

17- Kagale , S.; Marimuthu, T.; Thaynmanavan, B.; NandaKumar , R. and Samiyappan, R.(2004). Antimicrobial activity and induction of systemic resistance in rice by leaf extract of *Datura metal* against *Rhizoctonia solani* and *Xanthomonas oryzae* . Phtsiol.Mol. plant pathol . 65 (2).Pp: 91-100

18- Kwon-chang ,k.J& Bennett ,T.E.(1992).medical mycologylea and bfebiger , philadephia. London p p: 866.

19- Lie , J.; Liu , X.; Ren ,J.; Sheng , F. & H U, Z. (2008). Invitro study on the interaction between thiophanate methyle and human serum albumin .J. of photochemistry and photobiology . V. 94 (3).Pp:158-163

20- Makboul, A.m.&Baky , A.M.(1998). Pharmacogoncy. DarAL-Hamed for Poplisher and distribution . Amman .Jordan. 1st ed.

21- Marr , W.; Tan.; Gordell , G.A. , G.A.and Pezzuo , J.M.(1991). Biological activity of noval microcyclic alkaloid from *albizi amara* detected on the basis of interaction with DNA. J.Nat. Prod., 54:1531-1542.

borne fungal disease of tomato. J. of yeast and fungal Research . Vol.(1). No.(9).Pp: 183-187.

27-Sambrook , J . and Russell, D. W.(2001). Molecular cloning. A laboratory manual .3th ed . cold spring Harbor (NY): cold spring Harbor Laboratory Press , N.Y.

28- Silverstein , R.M.; Bassler ,G.C.& Morrill, T.C.(2008). Spectrometric Identification of organic compounds . Jour. Wiley and sons , Inc.V.S.A., 6th ed .340pp.

29- Shoayeb B.M. , Abdel hameedd , E. and S. Baziad .(2013). Antimicrobial activity of Tannins extrects of different parts of *Conocarpus erectus* L. Vol.(3). Issue (2). 544-553.

30-Taffa, ErmiasT., Gurmessa, Chemedaf and Mariam, Sahile.(2013). In vivo Assay for Antagonistic Potentional of Fungal Isolate against Faba bean *(Botyrtis fabae* sard). Vol.(6).No.(3).Pp:183- 189.

22- Mishra . A.K . and Vinit , K.M .(2012). Field survy for some fungal disease on egg plant . International Multidisciplinary Research Journal . Vol. (2).No. (9) . pp: 23.

23- Mohammd,H,M.(2004). Influnce of *Peganum harmala* extact on the growth of some bacteria and *Fusarium acuminatum* producting T-2 toxin .Al-Qadisia –Journal 12(4): 25-30.

24- Moubasher , A.H. (1993). Soil fungi in Qatar and other Arab contries . published by the center for scientific and Applied Research . university of Qatar , Qatar.

25- Nahla A.A.(2010). A trime thoxyellagic acid glucuronide from *Conocarpus erectus* leave isolation ,characterization and assay of an oxidant capacity . pharm Biol, 48:328-332.

26- Rashid , M . ; Ruhul Amin , A.B.M. and Rahman , F-(2010). Determination of effective dose of agarlic for cotrolling seed

*Effects Alkaliods extrects of *Citrullus colocynthus* fruits and seeds and *Conocarpus erectus* leaves on radial growth of *Vicia faba* seeds and roots compaing fungi

Receved :14/12/2014 **Accepted :8/2/2015**

Abdul ameer S. Saadon(1) **Duaa Abdu Al-abaas(2)**

science college/AL-Qadissiya Univ. **science college / AL-Qadissiya Univ.**

Zaida788@gmail.com

Absract

This study included the efficacy of the alkaloid , which extracted from leaves of *Conocarpus erectus* and fruits , seeds of *Citrullus colocynthis* and urea on the radial growth of *Alternaria alternata* and *Aspergillus ochraceus* isolated from seeds and roots of faba bean compared with fungicide Tapsin, also testing the effect of these treatment in germination of seeds in sterilized and un sterilized soil , and detection of tested fungi by molecular method using polymerase chain reaction(PCR). The results showed that the alkaloids have significant effect on growth of tested fungus on solid culture medium (PDA) , in measuring with controlled treatment and tested fungicide at level of possibility 5%, and also increasing the rate of germination of faba bean seeds in sterilized and un sterilized soil. The concentration 15mg\ml had the greatest action comparing with other alkaloids and urea concentrations and fungicides. The testing of measuring Infra-Red Spectrum (FTIR) showed the presence of many specific band due the extraction alkaloids.

Key word : *Citrullus colocynthis* , *Conocarpus erectus* , *Vicia fabea* , plant extract

Botany Classification QK 710-899

The Research is apart of on MSC thesis in the case of the second Research .