وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة القادسية

كلية العلوم

قسم علوم الحياة

تأثير المستخلص المائي الحار لبذور الحلبة في نمو فطر *Fusarium oxysporum* مختبريا

بحث مقدم إلى كلية العلوم /قسم علوم الحياة

كجزء من متطلبات نيل درجة البكالوريوس علوم /علوم حياة

من قبل الطالبة / زهـــــــــــراء جبـــــار كريم

بإشراف أ.م.د

علـــــــــــي عبـــــــــد الهـــــــــادي

١٤٣٩/١٤٤٠هـ ٢٠١٧/٢٠١٨م

بسم الله الرحمن الرحيم

(أقرأ باسم ربك الذي خلق *خلق
الإنسان من علق *أقرأ وربك الأكرم*
الذي علم بالقلم *علم الإنسان ما لم يعلم)

صدق الله العلي العظيم

{العلق:١-٥}

الإهداء

بـــــــسم الله الرحمن الرحـــــــيم

(قل اعملوا فسيرى الله عملكم ورسوله والمؤمنون)

صدق الله العلي العظيم

إلهي لا يطيب الليل إلا بشكرك ولا يطيب النهار إلا بطاعتك...ولا تطيب اللحظات إلا بذكرك..ولا تطيب الآخرة إلا بعفوك..ولا تطيب الجنة إلا برؤيتك

"الله جـــــل جـــــــلالـــه"

إلى من كلله الله بالهيبة والوقار..إلى من علمني العطاء بدون انتظار ..إلى من أحمل أسمه بكل افتخار..أرجو من الله أن يمد في عمرك لترى ثمارا قد حان قطافها بعد طول انتظار وستبقى كلماتك نجوم اهتدي بها اليوم وفي الغد وإلى الأبد..

والـــــــــــدي العزيـــــــز

إلى ملاكي في الحياة..إلى معنى الحب وإلى معنى الحنان والتفاني ..إلى بسمة الحياة وسر الوجود إلى من كان دعائها سر نجاحي وحنانها بلسم جراحي إلى أغلى الحبايب..

الشكر والتقدير

أتقدم بالشكر الجزيل إلى أ.م.د علي عبد الهادي لأشرافه على البحث كذلك أتقدم بالشكر إلى قسم علوم الحياة وخصوصا رئيس القسم أ.م.د حبيب وسيل كذلك الشكر لأساتذتي الأعزاء في جميع مراحل الدراسة ولكل فرد من أفراد العائلة التدريسية في كلية العلوم وكذلك لزملائي وزميلاتي ولعائلتي وكل الشكر لمن ساندني وساعدني على الوصول إلى هذه المرحلة مع خالص أمنياتي للجميع بالنجاح والتوفيق والازدهار لبلدنا الحبيب....

زهراء

الخلاصة

تضمن البحث دراسة التأثير التثبيطي للمستخلص المائي الحار لبذور نبات الحلبة في النمو ألشعاعي والوزن الجاف للفطر *Fusarium oxysporum* والذي تم عزله من عينات لمرض الذبول الفيوزارمي تم جلبها إلى وحدة أبحاث البيئة والوقاية من التلوث التابعة لكلية العلوم /جامعة القادسية .

بينت النتائج أن للمستخلص المائي الحار لبذور نبات الحلبة تأثيرا مثبطا لنمو الفطر على الوسط الغذائي الصلب PDA.

إذ تراوحت معدلات أقطار المستعمرات مابين (34.42-19.70)ملم للتراكيز المختلفة بالقياس مع معاملة السيطرة والتي بلغ عندها قطر المستعمرة 90 ملم .

كما أوضحت النتائج إن المستخلص المائي الحار لبذور نبات الحلبة قد خفض من الوزن الجاف للفطر قيد الدراسة إذ تراوح مابين (0.31-0.18)غم للتراكيز المختلفة بالقياس مع معاملة السيطرة والتي بلغ عندها الوزن الجاف للفطر 0.87غم.

المقدمة

عرف الإنسان العديد من الأعشاب والنباتات الطبية والتي استفاد منها للغذاء أو للدواء منذ القدم .وقد اهتمت الكثير من الدول بهذه النباتات وطرق استخلاص المواد الفعالة منها كما أزداد جهد الباحثين في تحضير مختلف المستخلصات النباتية وتحديد تأثيراتها والتعرف على التركيب الكيميائي للمواد الفعالة والخصائص الدوائية إذ بينت العديد من الدراسات الحديثة إن للنباتات الطبية القابلية على تثبيط نمو العديد من الأحياء المجهرية مثل البكتريا والفطريات لما تمتلكه من مواد فعالة وتعتبر البذور النباتية مصدرا مهما للعديد من المواد الفعالة وذات تأثير مثبط لنمو الأحياء المجهرية إذأشار *Starler(1970)* إلى التأثير التثبيطي لمستخلصات بذور الفاصوليا ضد الفطر *Fusarium soloni*.

يعتبر نبات الحلبة *Trigonella foenumgracellm* والذي يعود للعائلة البقولية *Leguminosae* من النباتات المستخدمة كمواد مشهية ومخفضة لمستوى السكر والكولسترول في الدم ومعالجة لحالات التهاب الصدر والربو والقصبات الهوائية والتهاب الأصابع والخراجات لما تحتويه من مواد فعالة مثل احتوائها على 6%_2زيوت(حسين،1979)

ولهذا فقد تم اختيار نبات الحلبة لمعرفة تأثير المستخلص المائي الحار لبذوره في نمو الفطر *Fusarium oxysporum* مختبريا والذي يسبب مرض الذبول الدائم *Wilt disease* لنباتات عديدة مثل القطن،الطماطم،الرقي،الكتان،الخيار،البطيخ وغيرها (ديوان ويحيى،1984)وقد شملت خطة البحث مايلي:

جمع بذور نبات الحلبة وتحضير المستخلص المائي الحار.

دراسة تأثير المستخلص المائي الحار لبذور نبات الحلبة والمحضر بتراكيز قليلة في نمو الفطر *F.oxysporum* على الوسط الغذائي الصلب *PDA* والسائل *PDB*.

المواد وطرائق العمل

جمع الأجزاء النباتية

تم الحصول على بذور نبات الحلبة من إحدى الأسواق المحلية في مدينة الديوانية إذ تم غسلها باستخدام الماء المقطر وجففت بدرجة حرارة الغرفة ثم طبخت باستخدام مطحنة كهربائية ثم وضع المسحوق بعبوات جافة لحين استعمالها.

تحضير المستخلص المائي الحار:

حضر المستخلص المائي الحار وذلك بأخذ 10غم من المسحوق الجاف لبذور نبات الحلبة وأضيف إليه 200 مل من الماء المقطر المعقم في دورق زجاجي سعة 500 مل بعدها وضع الدورق على مسخن حراري بدرجة حرارة 40 م° وترك الخليط لمدة 24 ساعة مع التحريك المستمر ، بعدها رشح المحلول بواسطة أوراق ترشيح *(Whattma No.1)* للحصول على محلول رائق ثم رشحت باستخدام مرشح بكتيري (*Milipore*) بقطر 0.22 مايكرون لتكون معقمة وجاهزة للاستخدام.(Harbone,1984).

العزلات:

تم عزل الفطر*Fusarium oxysporum* والحصول عليه بصورة نقية من وحدة أبحاث البيئة والوقاية من التلوث التابعة لكلية العلوم |جامعة القادسية من خلال مجموعة من العينات لمرض الذبول الفيوزارمي جلبت إلى الوحدة المذكورة وتم تشخيص الفطر اعتمادا على المظهر الخارجي للمستعمرة مثل (الشكل،اللون،القطر)وأيضا اعتمادا على الصفات المجهرية مثل (الشكل،الحجم،تركيب الحوامل والأبواغ والتراكيب الأخرى وفق الأسس التصنيفية باستخدام المفاتيح التصنيفية (Barnett, H.L & Hunter,1972;Domsch etal.,1980)

تأثير مستخلص بذور نبات الحلبة في النمو ألشعاعي للفطر Fusarium oxysporum

تم دراسة تأثير المستخلص المائي الحار لبذور نبات الحلبة في النمو ألشعاعي للفطر قيد الدراسة بحسب الطريقة الواردة في Dixit etal.,(1976) تم تحضير ثلاث تراكيز للمستخلص المائي الحار وهي (15,10,5)%.

أما بالنسبة لمعاملة السيطرة فقد تضمنت أطباق بتري تحتوي على الوسط ألزرعي بعد تعقيمه PDA من دون أي إضافة.بعدها أضيف إلى الأطباق المضاد الحياتي *chloramphenicol* بتركيز25ملغم \التر لمنع نمو البكتريا الموجبة والسالبة لصبغة كرام ثم تركت الأطباق إلى أن تصلبت الأوساط ومن ثم نقلت قطعة من الفطر المعزول (مزرعة نقية) ذات قطر7.5ملم باستخدام الثاقب الفليني وتم وضعها في منتصف الطبق بعدها تم حضن الأطباق بالحاضنة بدرجة حرارة 25م° وثلاث مكررات لكل معاملة وتم قياس نمو كل فطر باستعمال المسطرة الاعتيادية (معدل ثلاث أقطار متعامدة) بعد وصول النمو الفطري في معاملة السيطرة إلى حافة الطبق.

تأثير مستخلص بذور نبات الحلبة في الوزن الجاف للفطر *Fusarium oxysporum*

تم دراسة تأثير المستخلص المائي الحار لبذور نبات الحلبة في الوزن الجاف للفطر قيد الدراسة وذلك باستخدام دوارق زجاجية سعة 250 مل وضع فيه 50 مل من الوسط الغذائي السائل *PDB(potato dextrose broth)* بعد تحضيره مختبريا إذ تم تحضير ثلاث تراكيز مختلفة للمستخلص وهي (15,10,5)%.أما بالنسبة لمعاملة السيطرة فتمثلت بالوسط الغذائي السائل من دون أي إضافة بعدها لقحت الدوارق الزجاجية بقطعة من الفطر المدروس ذات قطر 7.5 ملم بثلاث مكررات لكل تركيز بعدها حضنت الدوارق بدرجة حرارة 25 م° لمدة سبعة أيام ومن ثم تم ترشيح الغزل الفطري باستخدام ورق ترشيح معقم في الفرن بدرجة حرارة 60 م° لمدة 24ساعة ومن ثم تم قياس الوزن الجاف لكل دورق (محمود،1985).

التحليل الإحصائي :

تم إجراء التحليل الإحصائي للنتائج لتحديد الفروق المعنوية عند مستوى احتمال 5%وتم اختبار الفروق المعنوية بين المتوسطات باستخدام اختبار دنكن متعدد الحدود.

النتائج والمناقشة:

تأثير المستخلص المائي الحار لبذور نبات الحلبة في النمو ألشعاعي للفطر *Fusarium oxysporum*.

بينت النتائج الموضحة في الجدول (1) إن للتراكيز المختلفة للمستخلص المائي لبذور نبات الحلبة تثبيطا واضحا لنمو الفطر قيد الدراسة على الوسط الغذائي PDA بالقياس مع معاملة السيطرة عند مستوى احتمال 5% إذ وجد انه بزيادة التركيز يزداد التأثير التثبيطي للمستخلص إذ يزداد تأثير المواد الفعالة المضادة لنمو الفطر وبالتالي يقل قطر المستعمرة للفطر وأشارت الدراسات إلى أن بذور نبات الحلبة تحتوي على مركبات قلويدية مهمة مثل *Nicotinic acid* *Trigonelin* ومركبات *Coumarine* المضادة لنمو الفطريات وتوجد هذه المواد في زيت الحلبة والذي هو العنصر الأساسي الذي يعزى إليه الاستخدام الطبي لبذور الحلبة كذلك تحتوي بذور الحلبة على مواد صابونية (حسين،1979).

الجدول(1)تأثير المستخلص المائي الحار لبذور نبات الحلبة في النمو ألشعاعي لفطر *Fusarium oxysporum* .

التركيز%	معدل النمو الشعاعي للفطر(ملم)
5	34.42 b
10	27.26 c
15	19.70 d
Control	90.00 a

*تمثل النتائج الموضحة في الجدول معدل ثلاث مكررات .

*المعدلات التي تحمل نفس الأحرف لا تختلف معنويا فيما بينها حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال 5%

تأثير المستخلص المائي الحار لبذور الحلبة في الوزن الجاف للفطر *Fusarium oxysporum*.

أعطت التراكيز المختلفة للمستخلص المائي لبذور نبات الحلبة تثبيطا واضحا لنمو الفطر *F.oxysporum* على الوسط الغذائي السائل PDB بالقياس مع معاملة السيطرة عند مستوى احتمال 5 %إذ وجد إنه بزيادة التراكيز يقل الوزن الجاف للفطر قيد الدراسة إذ أعطى التركيز15%أقل وزن جاف والذي بلغ 0.18 غم بالقياس مع معاملة السيطرة والتي بلغ الوزن الجاف للفطر عندها 0.87غم .

وهذه النتائج تؤكد النتائج السابقة الخاصة بالنمو ألشعاعي للفطر .

(الجدول 2)تأثير المستخلص المائي الحار لبذور الحلبة في الوزن الجاف للفطر *F.oxysporum*.

التركيز%	معدل الوزن الجاف للفطر(غم)
5	0.31 b
10	0.28 c
15	0.18 d
Control	0.87 a

*تمثل النتائج الموضحة في الجدول معدل ثلاث مكررات.

*المعدلات التي تحمل نفس الأحرف لا تختلف معنويا فيما بينها حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال 5%.

المصادر

١-حسين ،فوزي طه قطب.(1979).النباتات الطبية وزراعتها ومكوناتها .الدار العربية للكتاب تونس.

٢-ديوان،مجيد متعب ويحيى ،عبد الرحمن حسن.(1984)أمراض النبات العملي.

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي.هيئة المعاهد الفنية .العراق.

٣-محمود،انتصار عبد الحميد(1985).تأثير المستخلصات النباتات على بعض الفطريات المسببة للأمراض النباتية .رسالة ماجستير كلية الزراعة _جامعة بغداد.

4-Barnett, H.L & Hunter , B.B (1972) . lllustrated genera of imperfect fungi. Burgess publ .co., minnesota .3rd ed.

5-Dixit, SN.; Tripathi, S.C.& Upadhyey ,R.R.(1976) The antifungal substance of rose flower (Rosa indica) Economic Botany .,30;371-373.

6-Domsh ,K.H .;Gams ,W.& Anderson ,T.H.(1980).

Compendium of soil fungi. Academic prees.,london ,New York ,Toronto ,syseny ,san Francisco,vol.1.

7-Harborne , J.B.(1984) .phytochemical methods . A duide to modren techniques of plant analyisi 2nd ed. London New York .Chapman &Hall.

8-Startler , G.D.(1970) Resistance of been plants to *Fusariu*m *soloni.F.ohaseoli* .plant Dis peper .54:689-699.