

اختبار فاعلية مستخلصات أزهار نبات الوزال على أنواع من البكتيريا

والفطور الممرضة للنبات

زينب حسن سليمان⁽¹⁾ ونورة علي محمد⁽²⁾* وخالد المبروك المير⁽¹⁾

(1) قسم البستنة، كلية الزراعة، جامعة عمر المختار، البيضاء، ليبيا

(2) قسم الوقاية، كلية الزراعة، جامعة عمر المختار، البيضاء، ليبيا

(*المراسلة الباحثة: نورة علي محمد، البريد الإلكتروني nwara.mohamed@omu.edu.ly)

تاريخ القبول: 2021/12/22

تاريخ لإستلام: 2020/11/23

الملخص

استهدفت هذه الدراسة تقييم مستخلصات أزهار الوزال *Spartium junceum* L على نمو الكائنات الممرضة للنبات شملت بكتريا *Agrobacterium tumefaciens* و *Erwinia cartovora* و *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* ، أما الفطور المختبرة تمثلت في كل من الفطر *Fusarium* ، *Botrytis fabae* ، *oxysporum* و *Pencillium digitatum*. جمعت هذه الأزهار من منطقة رأس الهلال بالشمال الشرقي من ليبيا، وجففت وطحنت وتم استخلاصها بالماء والكحول والهكسان، وسمم الوسط الغذائي بطاطس دكستروز اجار بتركيز 5% من كل مستخلص على حدة مع وجود أطباق الشاهد، زرعت البكتيريا على أطباق بترى تحوي الإجار المغذى ثم وزعت عليها أقراص منقوعة بهذه المستخلصات كل على حدة، مع وجود المضاد الحيوي للمقارنة. أشارت النتائج إلى انخفاض معنوي في نمو الكائنات المختبرة تحت ظروف المختبر من خلال قياس النمو الطولي للفطريات ومنطقة التثبيط للبكتيريا على الإجار المغذي ثم سجلت النتائج فروق معنوية بين المذيبات المستخدمة في الإستخلاص وأعطى المستخلص الميثانولي تأثير عالي على فطريات الثلاثة *Botrytis fabae* ، *Fusarium oxysporum* و *Pencillium digitatum* مقارنة بالمستخلصات المائية والهكسانية بنسب (82.5% ، 63.2 و 81.2%) على التالي بعد 5 أيام تحضين، كذلك على بكتيريا *Erwinia cartovora* ، أما المستخلص أزهار الوزال المائي له تأثير على فطر *Botrytis fabae* وعلى كل من *Agrobacterium tumefaciens* و *Erwinia cartovora*، بينما كان مستخلصها الهكساني أعلى تأثير على الفطر *Pencillium digitatum*، نستنتج من هذه الدراسة أنه يمكن الحصول على مواد من أزهار الوزال تثبط نمو الكائنات الممرضة للنبات.

الكلمات المفتاحية: أزهار الوزال، مستخلصات نباتية، فطريات ممرضة للنبات، بكتيريا ممرضة للنبات.

المقدمة:

نبات الوزال *Spartium junceum* L ويُسمى كذلك بالرتم الأصفر، شجيرة تتبع العائلة البقولية *Fabaceae* وتحت العائلة *Papilionaceae* (Katović & Antonović, 2011)، كما تُسمى كذلك بالمقشة الإسبانية *Spanish broom*، ويُعتبر الموطن الأصلي لنبات الوزال منطقة حوض البحر الأبيض المتوسط وجُزر الكناري، جنوب أوروبا (Sanhueza & Zalba, 2012؛ Tabur, Cesur, & Özkul, 2009) الوزال متعدد النشاط في مجال العلاجات النباتية وتتطلب المزيد من الدراسة لأنه منتج قوي (Zengin et al., 2019). العديد من المستخلصات النباتية تستخدم ضد أمراض الإنسان والأمراض النباتية لإحتوائها على مواد كيميائية فعالة مثل الفينولات والقلويدات والتربينات التي يصنعها النبات كوسيلة دفاعية ضد الممرضات النباتية، لذا تعد هذه المستخلصات ذات تأثير بيولوجي كبير لإحتوائها على الجلايكوسيدات (Glycosides) ومنها سكوبارين (Scoparin) بأزهار نبات الوزال بواسطة (Wagner, 1988)، وعلى الفلافونويدات والصابونين (Flamini, Morelli, & Marsili, 1993) تلعب المواد الفينولية الموجودة في المستخلصات النباتية دوراً كبيراً كمضاد للأكسدة ونشاطها المضاد للميكروبات حيث يتم استخلاصها من الأزهار المجففة كحلياً ويتم تقدير قدرتها ضد الكائنات الممرضة من خلال تسميم أوساطها الغذائية (Proestos, Boziaris, Nychas, & Komaitis, 2006) يهدف هذا البحث إلى تقييم فاعلية مستخلص أزهار الوزال ضد عدد من الممرضات النباتية.

مواد البحث وطرائقه:

اعداد النبات: جمعت أزهار الوزال من منطقة رأس الهلال الساحلية على ارتفاع 39 م فوق مستوى سطح البحر، حيث جففت هوائياً، ثم وضعت في فرن تجفيف تحت تفرغ على درجة حرارة 35 °م وطحننت وحفظت لحين الإستعمال في عبوات محكمة لإغلاق ومعمتة تحت ظروف جافة على درجة حرارة -20 °م لحين الإستخلاص.

الكائنات المختبرة: عُزلت وعُرفت في مختبر أمراض النبات / قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة عمر المختار البيضاء، ليبيا، حيث عزلت البكتريا *Agrobacterium tumefaciens* من شتول الخوخ عليها أعراض تدرن التاجي، أما البكتيريا *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* معزول من نبات الطماطم عليها أعراض تتقع وبينما البكتيريا *Erwinia cartovora* من إلابصال المصابة بالعفن الطري، والفطور *Botrytis fabae* المتحصل عليه من أوراق الفول التي عليها أعراض مرض تتقع أوراق البني، *Fusarium oxysporum* المعزول من نبات الطماطم المصاب بمرض الذبول الفيوزارمي و *Pencillium digitatum* من ثمار الليمون المصابة بالعفن الأخضر.

تحضير المستخلصات النباتية: للحصول على المستخلص المائي البارد وضع وزن 200 جرام من مسحوق أزهار الوزال في وعاء زجاجي وأضيف إليها مقدار 500 مل من الماء المقطر و وضعت في جهاز الرجاج لمدة 6 ساعات بعد الترشيح تم الحصول على المستخلص المائي، وأضيفت على نفس مسحوق الأزهار 500 مل من الميثانول للحصول على المستخلص الكحولي، وأعيدت هذه الخطوة بإضافة 500 مل من الهكسان على نفس المسحوق، بخرت كل المستخلصات باستخدام المبخر الدوار تحت تفرغ Rotary Evaporator للحصول على المستخلصات الجافة التي أعيد حلها في المذيب المستخدم في الإستخلاص، ثم وضعت في زجاجات عاتمة وحفظت على درجة حرارة 4 °م لحين الإستخدام (Amer et al., 2013)

تقييم تأثير المستخلص المضاد للنمو البكتيري: اختبرت الفعالية الحيوية للمستخلصات المائية والإيثانولية والهكسانية لمسحوق أزهار الوزال في المختبر *In vitro* لتقييم تأثيرها على نمو البكتيريا باستخدام مستنبت إلجار المغذي من خلال تطبيق تقنية القرص disk diffusion method، شُرب المستخلص الخام (20µl/ قرص) على أقراص ترشيع منفصلة قطرها (5 مم)، ووزعت على أطباق بتري يحوي الوسط الغذائي منشور عليها البكتيريا في وجود أقراص ترشيع مشرية المضاد الحيوي Ciprofloxacin 0.25 مل/مليجرام/مل للمقارنة، في وجود أطباق الشاهد التي تخلو فيها لإقراص من مادة الإستخلاص، حضنت لإطباق لمدة 24 ساعة عند درجة حرارة 28م°، وأخذت النتائج بحساب مسافة التثبيط (Inhibition zone) حول القرص مقارنة بالمضاد الحيوي وحسب التأثير المضاد الميكروبي بقياس قطر مسافة التثبيط (مم)، كل اختبار تم تكرره مرتين وحللت المتوسطات احصائيا باستخدام برنامج (Chouduri وآخرون، 2014)، وحسب التأثير الميكروبي مقارنة بالتأثير التثبيطي للمضاد الحيوي من المعادلة التالية: Parvin, Abdul Kader, Chouduri, Rafshanjani, (& Haque, 2014).

نسبة التأثير التثبيطي للمستخلص (%) = [متوسط قطر منطقة التثبيط لمضاد الحيوي - متوسط قطر منطقة التثبيط للمستخلص] / متوسط قطر منطقة التثبيط للمستخلص * 100

تقييم التأثير المضاد للنمو الفطري: قيمت المستخلصات النباتية المعقمة تحت ظروف مخبرية باستخدام مرشح زيتس كل على حدة، باستخدام تقنية لإطباق المسمومة poisoned food technique وذلك بخلط 5 مل من التركيز الخام مع 45 مل من المستنبت Potato Dextrose Agar medium (PDA) ثم وزعت في 3 أطباق في وجود أطباق الشاهد غير المسمومة والخالية من المستخلصات. وضع قرص من الفطر بمركز الطبق، تم قياس النمو الطولي بعد 7 أيام من التحضين عند 25م° وتم حساب نسبة التثبيط بتطبيق المعادلة التالية [نمو الطولي في أطباق الشاهد - النمو الطولي في أطباق المعاملة] / النمو الطولي في أطباق الشاهد × 100 (Fatehpuria وآخرون، 2017).

صممت تجارب الدراسة بالتصميم كامل العشوائية Completely Randomized Design (CRD)، وحللت البيانات احصائيا باستخدام برنامج (Minitab 13) لتحليل تباين ANOVA، أجريت المقارنة بين المتوسطات عند أقل فرق معنوي (LSD 0.05).

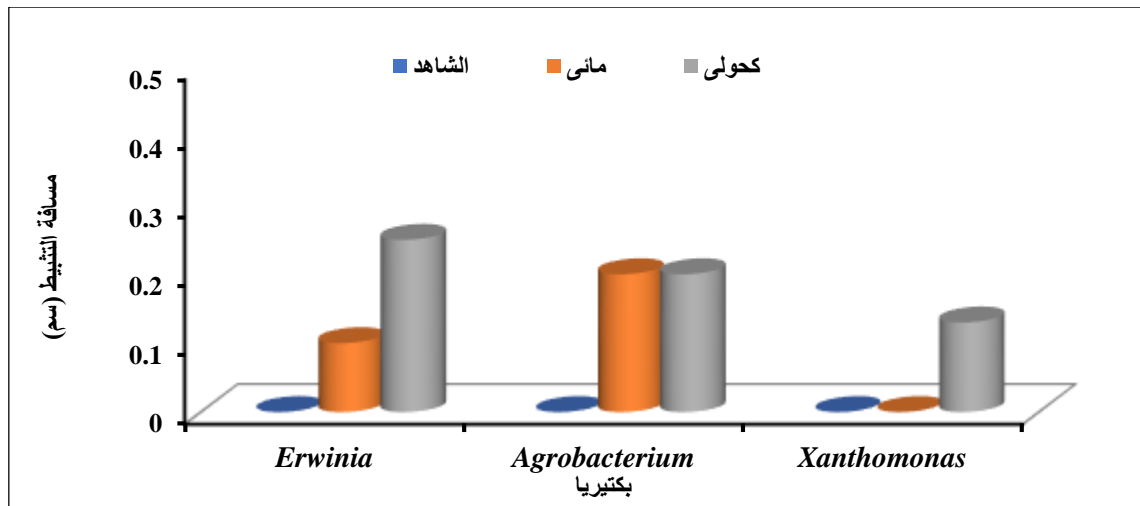
النتائج و المناقشة:

الهدف الرئيسي من هذه الدراسة هو إثبات قدرة مستخلصات أزهار الوزال على تثبيط نمو الكائنات الممرضة للنبات وبينت النتائج انخفاض معنوي في نمو هذه الكائنات تحت ظروف المعملية ويعزى ذلك إلى سمية هذه المستخلصات للفطريات والبكتيريا في المختبر. وتم الإعتماد على تقدير التأثير الميكروبي من خلال قياس النمو الطولي للفطريات ومنطقة التثبيط للبكتيريا على الأوساط. إن مستخلصات الوزال عالية التأثير على الفطور الممرضة للنبات المختبرة، توجد فروق معنوية بين المذيبات المستخدمة في الإستخلاص وأعطى المستخلص الميثانولي تأثير عالٍ على فطر *Botrytis fabae* و *Pencillium digitatum* تجاوزت تأثير المعاملة عليهما أكثر من 80%، المستخلص المائي أعطى تأثير يصل الى 60 على فطر *Botrytis fabae*، ولم يظهر تأثير للمستخلص الهكساني إلا على الفطر *Pencillium digitatum* في حين كان منخفض التأثير (جدول 1). توجد فروق معنوية بين البكتيريا المختبرة كانت بكتيريا *Erwinia cartovora* و

بكتيريا *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* أكثر تأثيراً بالمستخلصات النباتية مقارنة ببكتيريا *Agrobacterium tumefaciens* التي لم يتجاوز مسافة التثبيط 0.042 سم، وأعطى المستخلص الميثانولي تأثير أقوى من المائي وكلاهما أثر على البكتيريا الثلاثة معنوياً، حيث أعطى المستخلص الميثانولي أقوى تأثير على *Erwinia cartovora* وصلت إلى 0.25 سم، في حين أثر المستخلص المائي على *Agrobacterium tumefaciens* و *Erwinia cartovora* بمسافة تثبيط (0.2 و 0.1 سم) على التوالي، في حين لم يكن له أي تأثير على *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*، يمكن أن يعزى ذلك إلى أن المستخلصات الكحولية ساهمت في استخلاص تراكيز عالية من المركبات الكيميائية والمركبات الفعالة حيوياً من أزهار الوزال تتفق هذه النتائج مع (Sofiane and Wafa, 2019) إضافة إلى أن أن المستخلص الكحولي لأزهار نبات الوزال له تأثير على الأغشية اللبوسومية في الخلية البكتيرية وعلى نشاط أنزيماتها حيث ذكر (Habibatni et al., 2016) أن أزهار الوزال لها تأثير ميكروبي. وقد قام Proestos et al., (2006) بالإستخلاص الكحولي للمركبات الفينولية من أزهار الوزال المجففة وتم تقدير كفاءتها ضد الكائنات الممرضة من خلال تسميم أوساط غذائية مناسبة. يتميز نبات الوزال باحتوائه على مركبات كيميائية فعالة ضد الممرضات النباتية، والتي لها دورا هاما في دفاع النبات (Proestos et al., 2006) منها : المركبات الفينولية (Habibatni et al., 2016) (Balasundram, et al., 2006) القلويدات مثل سايتيزين (Cytisine) وسبارتين (Sparteine) مع جينيستين (Genistein) وإيزوسبارتين (ISO Sparteine)، وتعتبر مادة السبرتين شديدة السمية وتُستعمل كمضاد لسموم بعض الأفاعي والحشرات. ومادة الجينيستين مُضادة للفطريات كذلك أكثر من 4000 مركب فلافونويدي (Males, Plazibat, Vundac, and Zuntar, 2006)، وأظهرت النتائج الدراسة أن الإستخلاص بالكحول أعلى تأثير من المائي ويرجع هذا إلى الفلافونويدات أعلى مستوى عند الإستخلاص الكحولي. أما أزهاره غنية بالجلايكوسيدات منها مادة سكوبارين (Scoparin (Wagner, 1988)، الفلافونويدات (Nanni, Canuti, 2019). (Sofiane & Wafa, 2019) Gismondi, & Canini, 2018 والصابونين (Bilia et al., 1993). ومادة Spartitrioxide من أزهار نبات الوزال (Yeşilada & Takaishi, 1999) نستنتج من الدراسة أن لأزهار الوزال تأثير لنمو الممرضات النباتية الفطرية والبكتيرية، مما يشير إلى امكانية استخدامها كمبيد من أصل نباتي.

جدول (1) تأثير مستخلصات أزهار الوزال في النمو القطني لبعض الفطور الممرضة للنبات، و % تأثيرها مقارنة مع الشاهد

قطر نمو الميسيليومي وتأثير المعاملة بمستخلصات الوزال على فطريات الممرضة للنبات												
<i>Pencillium digitatum</i>		<i>Fusarium oxysporum</i>				<i>Botrytis fabae</i>				المعاملات		
5 ايام		3 ايام		5 ايام		3 ايام		5 ايام			3 ايام	
تأثير المعاملة %	قطر نمو	تأثير المعاملة %	قطر نمو	تأثير المعاملة %	قطر نمو	تأثير المعاملة %	قطر نمو	تأثير المعاملة %	قطر نمو		تأثير المعاملة %	قطر نمو
	8.5a		8.5a		6.3bc		3.0 efghi		7.7ab		5.1cde	الشاهد
0.0	8.5a	0.0	8.5a	40.0	3.8dfeg	40.3	1.8ghi	66.9	2.6fghi	62.0	2.0ghi	المائي
81.2	1.6ghi	87.1	1.1i	63.2	2.3fghi	46.1	1.6ghi	82.5	1.4hi	80.5	1.0i	الميثانولي
39.4	5.15cde	58.8	3.5defgh	11.2	5.6bcd	11.9	2.6fghi	15.2	6.5abc	14.6	4.4cdef	الهكساني



شكل (1) تأثير المستخلصات الكحولية والمائية لإزهار الوزال على نمو البكتيريا الممرضة للنبات

المراجع:

- محمد، نواره علي، عازة علي عبد العالي وزهرة إبراهيم الجالي (2017) عزل وتعريف فطريات عفن قرون البازلاء (*Pisum sativum* L.)، البيضاء ليبيا. مجلة العلوم الزراعية والبيولوجية. المجلد 3 (2) : 31 - 42.
- محمد ، نواره علي وسميه ارحيمه امراجع (2017) تسجيل مرض العفن الكريمي (Sour rot) على ثمار الطماطم. المجلة الليبية لوقاية النبات. 7 : 28- 39.
- Amer, A., M. A. Zaeid and A. H. Al-Mabrouk (2013). Effects of twenty-eight plant Extracts as insecticides against adults of the sweet potato whitefly *Bemisia tabaci* Gennadius (Homoptera: Aleyrodidae) on tomato plants. International Conference on Applied Life Sciences, UAE. September 15-17,.
- Chouduri, A. U. Rafshanjani, A. S. and Haque, E. 2014. Antibacterial, antifungal and insecticidal activities of the n-hexane and ethyl-acetate fractions of methanolic extract of the leaves of *Calotropis gigantea* Linn Shumaia Parvin, Md. Abdul Kader, Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, 2 (5): 47-51
- Fatehpuria, P. K., Sasode, R. S., Chobe, D. R. and Singh, R. 2017. Standardization of concentration of effective botanicals against *Sclerotinia sclerotiorum*, Int. J. Pure App. Biosci., 5(6): 286-288.
- Bilia, A. R., Flammini, F., Flamini, G., Morelli, I., & Marsili, A. (1993). Flavonoids and a saponin from *Spartium junceum*. *Phytochemistry*, 34(3), 847-852. doi: [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(93\)85371-W](https://doi.org/10.1016/0031-9422(93)85371-W)
- botanical-online, SL. (1999-2020). Spanish broom toxicity (*Spartium junceum*). <https://www.botanical-online.com/en/medicinal-plants/spanish-broom-toxicity>
- Habibatni, Sofiane, Miceli, Natalizia, Ginestra, Giovanna, Maameri, Zineb, Bisignano, Carlo, Cacciola, Francesco, . . . Taviano, Maria Fernanda. (2016). Antioxidant and antibacterial activity of extract and phases from stems of *Spartium junceum* L. growing in Algeria. *International Journal of Phytomedicine*, 8(1), 37-46.
- Katović, D, Katović, A, & Antonović, A. (2011). Extraction Methods of Spanish Broom (*Spartium Junceum* L.). *Drvena industrija*, 62 (4), 255-261.

- Males, Z., Plazibat, M., Vundac, V. B., & Zuntar, I. (2006). Qualitative and quantitative analysis of flavonoids of the strawberry tree - *Arbutus unedo* L. (Ericaceae). *Acta Pharmaceutica*, 56(2), 250-245 ,
- Nanni, Valentina, Canuti, Lorena, Gismondi, Angelo, & Canini, Antonella. (2018). Hydroalcoholic extract of *Spartium junceum* L. flowers inhibits growth and melanogenesis in B16-F10 cells by inducing senescence. *Phytomedicine*, 46, 1-10. doi: <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2018.06.008>
- Parvin, Shumaia, Abdul Kader, Md. , Chouduri, Aktar Uzzaman, Rafshanjani, Abu Shuaib Md. , & Haque, Md. Ekramul. (2014). Antibacterial, antifungal and insecticidal activities of the n-hexane and ethyl-acetate fractions of methanolic extract of the leaves of *Calotropis gigantea* Linn. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 2(5), 47-51.
- Proestos, C., Boziaris, I. S., Nychas, G. J. E., & Komaitis, M. (2006). Analysis of flavonoids and phenolic acids in Greek aromatic plants: Investigation of their antioxidant capacity and antimicrobial activity. *Food Chemistry*, 95(4), 664-671. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.01.049>
- Sanhueza, Cristina, & Zalba, Sergio M. (2012). Experimental control of Spanish broom (*Spartium junceum*) invading natural grasslands *Management of Biological Invasions* , Issue : , 3(2), 97-104.
- Sofiane, Gaamoune, & Wafa, Nouioua. (2019). Antioxidant and anti-inflammatory activities valorisation of methanol extract of two Fabaceae (*Genesta pseudo-pilosa* and *Spartium junceum* L) growth in East of Algeria. *International Journal of Chemistry and Pharmaceutical Sciences*, 7(3), 60–63.
- Tabur, Selma, Cesur, Aslihan, & Özkul, Hülya. (2009). Karyology of seven Fabaceae Taxa from Turkey *Journal of Applied Biological Sciences*, 3 (1), 49-53.
- Wagner, H. (1988). *Pharmazeutische Biologie*. New York: Gustav Fischer Verlag, Stuttgart.
- Yeşilada, Erdem, & Takaishi, Yoshihisa. (1999). A saponin with anti-ulcerogenic effect from the flowers of *Spartium junceum*. *Phytochemistry*, 51(7), 903-908. doi: [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(99\)00198-3](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(99)00198-3)
- Zengin, G., Mahomoodally, M. F., Picot-Allain, C. M. N., Cakmak, Y. S., Uysal, S., & Aktumsek, A. (2019). In vitro tyrosinase inhibitory and antioxidant potential of *Consolida orientalis*, *Onosma isauricum* and *Spartium junceum* from Turkey. *South African Journal of Botany*, 120, 119-123. doi: <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2018.01.010>

Testing the Efficacy of Wasal Flowers Extracts on Phytopathogenic Bacteria and Fungi

Zenib Suliman ⁽¹⁾, Nwara Mohamed* ⁽²⁾ and Khaled El-Mir ⁽¹⁾

(1) Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Omar Mukhtar University, Al-Bayda, Libya.

(2) Department of plant protection, Faculty of Agriculture, Omar Mukhtar University, Al-Bayda, Libya.

(*Corresponding author: Nwara A. Mohamed, nwara.mohamed@omu.edu.ly).

Received: 23/11/2021

Accepted: 22/12/2021

Abstract

This study aimed to evaluate the effectiveness of extracts of *Spartium junceum* L flowers on the growth of some plant pathogenic organisms, including the Bacteria (*Agrobacterium tumefaciens*, *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* and *Erwinia carotovora* & the Fungi *Botrytis fabae*, *Fusarium oxysporum* and *Penicillium* sp. . The flowers were collected from the area of Ras Al Hilal Green Mountain of Libya and then dried, grinded, and extracted aqueously, alcoholically and with hexane and poisoned the medium PDA with a concentration of 5% of each extract separately in the presence of the control plates, while the bacteria were made by Disk Method with these extracts separately, and distributed on plates cultured with bacteria in the presence of the antibiotic. The results indicated a significant decrease in growth of the tested organisms under laboratory conditions by measuring the radial growth of the fungi colonies (cm) and displaying the inhibition zone for bacteria on the media. The results also recorded significant differences between the solvents used in the extraction. The alcoholic extract had a high effect on the growth of the fungi *Botrytis fabae* and *Penicillium* sp. and the growth of the bacteria *Erwinia carotovora*, while the aqueous extract affected the growth of *Botrytis fabae*, *Agrobacterium* and *Erwinia*, while the hexane extract affected the growth of the fungus *Penicillium* sp., we conclude from this study that it is possible to obtain compounds that inhibit the growth of some plant pathogenic organisms from extracts of *Spartium junceum* L flowers.

Key words: *Spartium junceum* L. flowers, aqueous, methanolic, hexane, extracts phytopathogenic fungi, phytopathogenic bacteria.