

كفاءة مستخلص أوراق نبات الحناء وبعض المبيدات الفطرية في تقليل التلوث
الفطري في مزارع أنسجة نخيل النمر *Phoenix dactylifera L.*

أنسام مهدي الكعبي
مركز أبحاث النخيل
جامعة البصرة/العراق

أسامة علي محسن العبادي
قسم علوم الحياة /كلية التربية في
ميسان/جامعة البصرة/ميسان/العراق

محمد حمزة عباس
مركز أبحاث النخيل
جامعة البصرة/العراق

القبول 2006/12/25

الاستلام 2006/2/19

الخلاصة

تضمنت الدراسة تشخيص التلوث الفطري المصاحب للزراعة النسيجية لكالس نخيل النمر *Phoenix dactylifera L.* ومحاولة إيجاد الوسيلة المناسبة لتقليله. أوضحت نتائج عزل وتشخيص الفطريات الملوثة عزل عشرة أجناس فطرية، سجل فيها الفطر *Aspergillus niger* أعلى النسب المئوية للظهور بلغت 16.8%، تلاه الفطر *Penicillium sp.1*، وسجلت النسب المئوية للظهور 10 و 8 و 7% مع الفطريات *Alternaria alternata* و *Epicoccum sp.* و *Trichoderma harzianum* و *Nigrospora sp.* على التوالي. أثبتت النتائج الكفاءة التثبيطية العالية لمستخلص الايثانول لأوراق نبات الحناء *Lawsonia inermis*، إذ سجل نسبة مئوية لتثبيط النمو الشعاعي للفطريات بلغت 85.15% وبفروق عالية المعنوية عن المستخلص الميثانولي (53.16%). وسجل تركيز المستخلص 1% أعلى نسبة تثبيط بلغت 81.10%، كما بينت النتائج فشل الفطرين *Epicoccum sp.* و *Nigrospora sp.* في النمو على الوسط الغذائي السائل PD Broth المعامل بالمستخلص الايثانولي لأوراق الحناء بالتركيزين 0.5% و 1% وسجلت أقل نسبة تثبيط 65.15% للنمو الجاف في معاملة الفطر *T. harzianum* بالتركيز 0.5%. وبينت نتائج غريلة المبيدات الفطرية بنليت وبلتانول كربتانول تفوق المبيد البنليت الذي أدت معاملته إلى تثبيط نمو الفطريات الملوثة بصورة كلية على الأوساط الغذائية الصلبة والسائلة، كما أثبتت النتائج عدم تأثير المبيد الفطري البنليت (1غم/لتر) في مؤشرات النمو المدروسة للكالس الجنيني لصنفي نخيل النمر البرحي والأشقر والتي لم يختلف فيها الوزن الطري والجاف للكالس الجنيني وعدد الأجنة الخضرية بوجود المبيد عن معاملة المقارنة، كما أدت معاملة المبيد البنليت إلى تقليل النسبة المئوية للتلوث الفطري من 100% إلى 16.6% بوجود المبيد، بينما كان لتركيزي المستخلص الإيثانولي لأوراق نبات الحناء تأثيراً سلبياً في المؤشرات المدروسة وبفروق عالية المعنوية عن معاملة المقارنة، فقد قلل التركيزين 0.5% و 1% من معدل الوزن الطري والجاف للكالس الجنيني (البرحي والأشقر) وعدد الأجنة الخضرية الذي كان 4.16 جنين لينخفض إلى 0.66 جنين في التركيزين المختبرين.

**THE EFFECIENCY OF HENNA LEAVES EXTRACTS AND
SOME FUNGICIDE TO REDUCE THE FUNGAL
CONTAMINATION OF DATE PALM (*Phoenix dactylifera* L.)
TISSUE CULTURES**

Mohammed H. Abass
Date Palm Research Center
Basrah University/
Basrah/Iraq

Usama A. M . Al-Abadi
Department of Biology/College
of Education (Mayssan)/Basrah
University/ Mayssan/ Iraq

Ansam M. S. Al-K
Date Palm Research Center
Basrah University/
Basrah/Iraq

Received 19/2/2006

Accepted 25/12/2006

ABSTRACT

This study was included to identify the fungal contamination associated with callus tissue culture of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) and the attempt to find the fittest methods to decrease it. The isolation and identification results of fungi explained the isolation of ten fungal genera. The fungus *Asperillus niger* recorded the highest percentage of frequency which was 16.8%, followed by *Penicillium* sp.1, while the frequency percentages 10,8,7 and 5% were recorded in *Alternaria alternata* ; *Epicoccum* sp.; *Trichoderma harzianum* and *Nigrospora* sp., respectively. The results proved the high antifungal activity of ethanolic Henna (*Lawsonia inermis*) leaves extracts on the radial growth inhibitory percentage which was 85.15%, with significant difference than Methanolic extract (53.16%). The extract concentration 1% recorded the highest percentage of inhibition (81.10%), also the results showed the failure grow of *Epicoccum* sp. and *Nigrospora* sp. on the liquid media (PD Broth) which treated with ethanolic extract concentrations 0.5 and 1%. The lowest inhibition percentage (65.15%) of dry growth was recorded in *T. harzianum* at concentration 0.5%. The results of fungicides (Benlate; Beltanol and Cryptanol) survey elucidated the high inhibitory efficiency of Benlate (1gm/L), which led to inhibit the growth of contaminated fungi on solid and liquid media completely. The results revealed that the fungicides Benlate (1gm/L) had no effect on the studied parameters of embryogenic callus of date palm (Berhi and Ashkar cv.). The results of fresh, dry weight of embryogenic callus and the number of somatic embryos had no significant difference than control. Also the treatment of Benlate led to decrease the percentage of fungal contamination which was 100% and reached 16.6% in Benlate, while the treatment of ethanolic Henna

leaves extract (0.5 and 1%) had a negative effect on the growth of callus (Berhi and Ashkar cv.). The fresh and dry weight of embryogenic callus reduced significantly in the concentrations 0.5 and 1% in contrast with control treatment results. The number of somatic embryos was 4.16 in control, reduced significantly and reached 0.66 embryos in conc. 0.5 and 1% of ethanolic extract.

Key words: Date Palm, Henna, tissue culture, *Phoenix dactylifera* , fungal contamination.

المقدمة

تشغل نخلة التمر *Phoenix dactylifera L.* مكانة متميزة من الناحية الاقتصادية سيما في القطاع الزراعي، وتعد من الأشجار الخالدة في بلاد العرب وتكمن أهميتها في قيمة ثمارها الغذائية التي تحتوي على عناصر غذائية ذات قيمة غذائية عالية مثل المواد السكرية والأملاح المعدنية وبعض الفيتامينات فضلاً عن نسبة من البروتينات، استخدمت كذلك أشجارها في البناء والصناعات الحرفية وكوقود (1).

لقد تعرضت أشجار النخيل في العراق إلى نقص حاد في أعدادها وتدني كبير في مستويات إنتاجها خلال العقدين الماضيين (2) ولقلة الفسائل التي تنتجها النخلة الواحدة توجهت الأنظار إلى زراعة الأنسجة *Tissue Culture* لتعويض النقص الحاصل في أعداد نخيل التمر. وتواجه زراعة الأنسجة تحديات كبيرة من أهمها مشكلة التلوث بالأحياء المجهرية *Microorganisms Contamination*، إذ تسبب تعفن أنسجة الكالس واسمرار الجزء النباتي المزروع وتحطم أنسجته، الأمر الذي يؤدي إلى موت النسيج الحي بسبب تأثير إفراز المواد السامة والمثبطة للنمو والإنزيمات المحللة من قبل الأحياء الملوثة (3,4). وتعد الفطريات *Fungi* من المجاميع الرئيسية التي تسبب التلوث في مزارع أنسجة نخيل التمر وبنسب عالية جداً، مما يعني اتلاف كمية كبيرة من المزارع، ولقد استخدمت بعض المبيدات الفطرية للحد من التلوث الفطري منها المبيدات كاربندازيم و سكور للذان قللا من هذا التلوث (5).

نظراً للفعالية العالية لمستخلصات أوراق نبات الحناء *Lawsonia inermis* في تثبيط نمو العديد من الفطريات مثل *Helminthosporium sp.* و *Drechslera rostrata* و *Curvularia lunata* و *Fusarium sp.* (6,7,8)، فقد هدفت هذه الدراسة عزل وتشخيص الفطريات الملوثة لمزارع أنسجة أصناف مختلفة من نخلة التمر واختبار تأثير مستخلص أوراق الحناء الإيثانولي والميثانولي وبعض المبيدات الفطرية في نمو الفطريات الملوثة ومعرفة تأثيراتها في كالس نخيل التمر.

المواد وطرائق العمل

1- عزل وتشخيص الفطريات الملوثة لمزارع أنسجة أصناف مختلفة من نخيل التمر وحساب النسبة المئوية لظهورها:

نفذت التجربة في مختبر زراعة الأنسجة/ مركز أبحاث النخيل في جامعة البصرة، بدأت عملية عزل الأنابيب الملوثة التي تمثل كالس أصناف مختلفة من نخيل التمر (أم الدهن وأشقر وشريفي وبرحي وسأير وشويثي وحلاوي وبريم ولبوي) بدءاً من تاريخ 2004/10/1 واستمر العزل لغاية 2005/6/1 على الوسط الغذائي PDA المضاف له المضاد الحيوي Chloramphenicol بتركيز 150 ملغم/لتر. وضعت الأطباق في الحاضنة عند درجة حرارة 1 ± 30 م، نقلت بعد ظهور النوات الفطرية إلى أطباق تحتوي على الوسط الغذائي نفسه.

شخصت الفطريات المعزولة اعتماداً على المفتاح التصنيفي (9,10).
حُسبت النسبة المئوية لظهور النوع كالاتي:

$$\% \text{ لظهور النوع} = \frac{\text{عدد العينات التي ظهر فيها النوع}}{\text{عدد العينات الكلي}} \times 100$$

نقيت الأنواع الفطرية عن طريق زراعة بوع مفرد Single Spore على وسط غذائي PDA.

2- تحضير مستخلص أوراق نبات الحناء *Lawsonia inermis* :

جمع العينات:

جمعت أوراق نبات الحناء من بعض الحدائق المنزلية في محافظة البصرة، جففت الأوراق في الظل بجو مفتوح مع التقليب المستمر، طحنت بعدها للحصول على مسحوق متجانس والذي حفظ لحين الاستعمال. عملية الاستخلاص:

تم وزن 100غم من مسحوق أوراق الحناء ونقع في 500 مل من الكحول الميثيلي والايثيلي، إذ مزج بوساطة مازج مغناطيسي Magnatic Stirrer لمدة ساعة واحدة ثم تركت الخلائط لمدة يوم عند درجة حرارة الغرفة، تلتها عملية الترشيح باستعمال ورق ترشيح نوع Whatman No.1. جرت عملية إزالة المذيب باستعمال جهاز المبخر الدوار Rotary Evaporator تحت الضغط المخلل وفي درجة حرارة 37 م وحفظ الناتج في الثلاجة لحين الاستعمال (11).

3- تأثير مستخلص أوراق الحناء في بعض الصفات الفسلجية للفطريات الملوثة لمزارع أنسجة أصناف مختلفة من نخلة التمر:

تأثير المستخلص في % لتثبيط النمو الشعاعي:

حضر الوسط الغذائي الصلب PDA وعقم في جهاز التعقيم البخاري، ترك ليبرد بعد التعقيم ليضاف له تركيزي مستخلص أوراق الحناء 0.5 و 1% للمذيب الميثيلي والايثيلي كلا على انفراد، رج المخلوط جيداً وصب في أطباق بتري معقمة قطر 9 سم، ولقح بعد تصلب الوسط بأقراص قطرها 0.5 سم من حافة مستعمرة كل فطر ملوث، مع تنفيذ معاملي مقارنة لكل نوع مذيب (كحول) وأخرى بدون أي إضافة، كررت كل معاملة ثلاث مرات، حضنت الأطباق في الحاضنة في درجة حرارة 30±1 م (12). تم حساب معدل النمو الشعاعي لحين وصول النمو إلى حافة الطبق إذ حسبت % لتثبيط النمو الشعاعي من المعادله الآتية (13) :

$$\% \text{ لتثبيط النمو الشعاعي} = \frac{\text{معدل النمو الشعاعي في معاملة المقارنة} - \text{معدل النمو الشعاعي في المعاملة}}{\text{معدل النمو الشعاعي في المقارنة}} \times 100$$

تأثير المستخلص الايثانولي لأوراق نبات الحناء في % لتثبيط النمو الجاف:

بناءً على الكفاءة العالية التي أباها المستخلص الإيثانولي تم اختياره لاستكمال تجارب الدراسة. حضر وسط غذائي سائل PD Broth وعقم في جهاز التعقيم البخاري، أضيف بعد التعقيم تركيزي المستخلص 0.5 و 1% ورج بصورة جيدة، تركت بعض الدوايق دون أية إضافة للمقارنة، لقتح الدوايق بأقراص أقطارها 0.5 سم من حافة مستعمرة كل فطر ملوث، كررت كل معاملة ثلاث مرات. حضنت الدوايق الملقحة في الحاضنة في درجة حرارة 30±1 م لمدة عشرة أيام، مع الأخذ بنظر الاعتبار رج الدورق جيداً كل (2-3) يوم، سحب الغزل الفطري بعد نهاية مدة الحضن بوساطة ملقط

وغسل بماء وجفف في الفرن عند درجة حرارة 85° م (14،13). أخذت الأوزان الجافة وحسبت نسبة تثبيط النمو الجاف.

4- تأثير بعض المبيدات الفطرية في الصفات الفسلجية للفطريات الملوثة لمزارع أنسجة أصناف مختلفة من نخيل التمر:
المبيدات الفطرية:

أختيرت المبيدات بنليت وبلتانول وكربتانول لدراسة تأثيراتها التثبيطية وأُعيد التركيز الموصى به (1مل أو غم/لتر)، والمبيدة مواصفاتها كالآتي:

المبيد	الاسم الشائع	% للمادة الفعالة	المجموعة الكيميائية	التركيز (مل أو غم/لتر)	الشركة المنتجة
بنليت Benlate	Benomyl	50	Benzimidazole	1	Du Pont
بلتانول Beltanol	Chinosal	50	Quinoline	1	Probelte
كربتانول Cryptanol	Pottasium Hydroxyl Quinoline	50	Carbamat	1	Bayer

تأثير تراكيز المبيدات الفطرية في % لتثبيط النمو الشعاعي والنمو الجاف للفطريات الملوثة:

حضر الوسط الغذائي الصلب PDA والسائل PD Broth ووزع في دوارق زجاجية بحجم 150 مل لكل دورق، عقت الدوارق في جهاز التعقيم البخاري، أضيفت بعد التعقيم التراكيز الموصى بها لكل مبيد، صبت الدوارق للوسط الصلب PDA في أطباق بتري معقمة قطر 9 سم، لقت بعد تصلبها بأقراص قطرها 0.5 سم من حافة مستعمرة كل فطر ملوث. أما الدوارق للوسط السائل PD Broth فقد لقت بأقراص بالقطر نفسه من حافة مستعمرة كل فطر ملوث وتركت بعض الدوارق لكلا نوعي الوسط بدون إضافة للمقارنة (15). حضنت الدوارق والأطباق الملقحة في درجة حرارة 30±1 م وحسبت % لتثبيط النمو الشعاعي والجاف كما ورد في الفقرة رقم (3).

5- تأثير المبيد الفطري بنليت في نمو وتطور الكالس الجنيني لنخيل التمر صنف البرحي والأشقر والنسبة المئوية للتلوث بالفطريات:

أستخدم الوسط الغذائي المكون من الأملاح العضوية MS بمقدار 10 مل لكل 700 مل من الماء المقطر المعقم حسب Murashig & Skoog (16)، وتمت إضافة الأملاح اللاعضوية حسب (17) Tisserat، أضيفت بعدها منظمات النمو بتركيز 30 ملغم/لتر من NAA و3 ملغم/لتر من 2ip لغرض إكثار الكالس الجنيني، وقد أذيبت الأوكسينات (NAA) في 5 مل من NaOH (0.1 عياري)، والساييتوكانينات 2ip في 5 مل من HCl (0.1 عياري).

عدلت حموضة الوسط إلى 5.7 باستعمال هيدروكسيد الصوديوم وحامض الهيدروكلوريك (0.1 عياري) باستخدام جهاز قياس الحموضة pH-Meter نوع J-7740 إنتاج ألماني، وأضيف الأكار بمعدل

8غم/لتر. وضع الوسط الغذائي على مصدر حراري مزود بخلاط مغناطيسي لحين وصول درجة الحرارة إلى 90°م لغرض إذابة الأكار، وزع الوسط الغذائي في أنابيب زجاجية أبعادها (20×2.7 سم) بمعدل 25 مل، غلفت الأنابيب بسدادات من القطن وبعد ذلك بورق الألمنيوم، عقت بعدها في جهاز التعقيم البخاري Autoclave بدرجة حرارة 121°م وضغط 15 بار/انج² لمدة 10 دقائق، بردت بعد ذلك وعولت الأنابيب كما يأتي:

- أ- معاملة المبيد بنليت 1غم/لتر لزراعة كالس البرحي.
- ب- معاملة بدون إضافة المبيد لزراعة كالس البرحي.
- ج- معاملة المبيد بنليت 1غم/لتر لزراعة كالس الأشقر.
- د- معاملة بدون إضافة المبيد لزراعة كالس الأشقر.

استخدم الكالس الجنيني المحضر مسبقاً عن طريق زراعة نسيج القمة النامية لنخلة التمر صنف البرحي والأشقر المنمى 12 شهراً في درجة حرارة 27°م (18). تمت إضافة تركيز المبيد الى الوسط الغذائي بعد انخفاض درجة الحرارة الى أقل من 40°م لتلافي احتمالية تلف المبيد بفعل الحرارة العالية. جرت الإضافة على منضدة الانسياب الهوائي Laminour Air Flow المعقمة بالكحول الأيثيلي بتركز 70% (19). استمرت مدة الحضنة 45 يوماً في غرفة الحضانة عند درجة حرارة 27°م ومدة إضاءة 16 ساعة ضوء و 8 ساعات ظلام وعند شدة إضاءة 1000 لوكس، بعد نهاية مدة الحضنة درس تأثير المبيد الفطري في المؤشرات الآتية:

الوزن الطري للكالس الجنيني

الوزن الجاف للكالس الجنيني

عدد الأجنة الخضرية

% للتلوث الفطري اعتماداً على المعادلة الآتية (4)

$$\% \text{ للتلوث الفطري} = \frac{\text{عدد الأتاييب الملوثة}}{\text{عدد الأتاييب الكلي}} \times 100$$

وذلك بأخذ الكالس الملوث بالفطريات بعد أن أجري له تعقيم سطحي باستخدام الكلور (20%) مع قطرتين من مادة التوين 20، ثم زرعت أنابيب تحوي على الوسط الغذائي والمبيد بنليت (1غم/لتر)، وأخرى خالية من أية إضافة كمقارنة وأعيد حضنها.

6- تأثير المستخلص الإيثانولي لأوراق نبات الحناء في نمو وتطور الكالس الجنيني لنخيل التمر صنف البرحي والأشقر والتلون البني.

اعتمدت الطريقة السابقة ذاتها في إعداد الوسط الغذائي وزراعة الكالس الجنيني لصنفي نخيل التمر البرحي والأشقر، مع إضافة تراكيز المستخلص (صفر و 0.5 و 1%) بعد تعقيم الوسط الغذائي وانخفاض درجة الحرارة الى أقل من 40°م، استمرت الحضنة مدة 45 يوماً، بعد انتهاءها أخذت المؤشرات الآتية:

الوزن الطري لكالس الجنيني.

الوزن الجاف لكالس الجنيني.

عدد الأجنة الخضرية.

التلون البني.

7- التحليل الإحصائي:

نفذت جميع تجارب هذه الدراسة حسب التصميم تام العشوائية CRD بالتجارب وحيدة العامل، عدا التجريبتين 3 (فقرة 2) و 4 كانتا ثنائية العامل، والتجربة 3 (فقرة 1) كانت ثلاثية العامل، حللت النسب المئوية للبيانات بعد تحويلها زاوياً Arcsine transformation وتمت مقارنة المتوسطات حسب طريقة أقل فرق معنوي المعدل (R.L.S.D) Revised Least Significant Difference عند مستوى احتمالية 1% (20).

النتائج والمناقشة

1 - الفطريات الملوثة لمزارع أنسجة أصناف مختلفة من نخيل التمر:

عزلت عشرة أجناس فطرية مختلفة مثلت وبنسب متباينة المجتمع الفطري الملوث لمزارع أنسجة أصناف نخلة التمر أم الدهن والأشقر وشريفي وبرحي وسائر وشويثي وحلاوي وبريم وليلوي، وكان العدد الكلي للعينات 500 عينة التي تم العزل منها. سجل الفطر *Aspergillus niger* أعلى نسبة مئوية للظهور بلغت 16.8 وبعده مرات ظهور 84 مرة، تلاه الفطر *Penicillium sp.1* مسجلاً ظهور 15% و 75 مرة ظهور، في حين سجلت نسب الظهور 10% و 8% و 8% و 5% في الفطريات *A. alternata* و *Epicoccum sp.* و *T. hrzianum* و *Nigrospora sp.* على التوالي، (جدول 1).
وبناءً على % للظهور تم اختيار الفطريات *Aspergillus niger* و *A. alternata* و *Penicillium sp.1,2* و *Nigrospora sp.* و *Epicoccum sp.* و *T. hrzianum* والتي شكلت 69.8% من النسبة الكلية للتلوث لاستكمال الدراسة الحالية.

جدول (1): عدد مرات الظهور للفطريات المعزولة من مزارع أنسجة أصناف مختلفة من نخيل التمر ونسبها المئوية

الفطريات	عدد مرات الظهور	النسبة المئوية للظهور
<i>Alternaria alternata</i>	50	10
<i>A. citri</i>	15	3
<i>Aspe gillus clavatus</i>	10	2
<i>A. flavus</i>	20	4
<i>A. fumigatus</i>	25	5
<i>A. niger</i>	84	16.8
<i>A. terreus</i>	10	2
<i>Cladosporium sp.</i>	10	2
<i>Epicoccum sp.</i>	40	8
<i>Exserohilum sp.</i>	20	4
<i>Nigrospora sp.</i>	25	5
<i>Penicillium sp.1</i>	75	15
<i>Penicillium sp.2</i>	35	7
<i>Penicillium sp.3</i>	10	2
<i>Rhizopus sp.</i>	15	3
<i>Trichoderma hamatum</i>	15	3
<i>T. harzianum</i>	40	8
White sterile mycelia	1	0.2

2 - تأثير المستخلص المثيلي والاثيلي لأوراق الحناء في % لتثبيط النمو الشعاعي للفطريات الملوثة لمزارع أنسجة أصناف مختلفة من نخيل التمر:

بينت النتائج الموضحة في الجدول (2) تفوق نوع المذيب الايثانولي في تثبيط نمو الفطريات المدروسة إذ سجل % تثبيط بلغت 85.15% متفوقاً بصورة عالية المعنوية على المستخلص الميثانولي الذي سجل 53.16%، وكان أكثر الفطريات الملوثة حساسية هو الفطر *Epicoccum* sp. بنسبة تثبيط بلغت 100% ومن ثم الفطر *Nigrospora* sp. بنسبة تثبيط بلغت 90% تلاه الفطر *A.niger* بنسبة تثبيط 73.9% والتي لم تختلف (67.82%) معنوياً عن *A. alternata* في حين كانت أقل نسب تثبيط مسجلة هي 41.59% و 55.25% و 55.58% في الفطريات *T. harzianum* و *Penicillium* sp.1,2 على التوالي.

سجل التركيز 1% من المستخلص أعلى نسبة تثبيط بلغت 81.1% متفوقاً بصورة عالية المعنوية (57.24%) على التركيز 0.5. كما بينت النتائج فشل الفطر *Epicoccum* sp. في النمو على الوسط الصلب PDA الحاوي على تركيزي المستخلص 0.5% و 1% لنوعي المذيب الميثانولي والإيثانولي بصورة كلية، في حين تمكن الفطر *T. harzianum* من النمو في جميع المعاملات المدروسة. وبشكل عام كانت جميع التداخلات للمستخلص الإيثانولي وبكلا تركيزيه (0.5 و 1%) أكفاً في تثبيط النمو الشعاعي للفطريات الملوثة مقارنةً بالمستخلص الميثانولي.

أن التأثير التثبيطي لنمو الفطريات Antifungal activity لمستخلصات أوراق الحناء قد تعود الى تأثير المركبات الفعالة الموجودة في المستخلصات مثل الراتنجيات والفلافونات والتانينات والكلايكوسيدات والكومارينات والستيرويدات ومركب اللوسون الفعال Lawsone وهي المادة الملوثة الفعالة لنبات الحناء والمشخصة 2-hydroxy 1, 4- naphthoquinone (11).

وجاءت نتائج تثبيط مستخلص أوراق الحناء متوافقة مع العديد من الدراسات التي أثبتت فعاليته في تثبيط النمو الشعاعي لفطريات أخرى مثل *Colletotrichum* sp. و *Fusarium* sp. و *Pythium* sp. (8). أن تفوق المستخلص الايثانولي على الميثانولي قد يعزى الى نوع المذيب المستعمل في عملية الاستخلاص، إذ أن للمذيب الإيثانولي المقدرة على استخلاص الزانثونات والكومارينات والفلافونات والكلايكوسيدات والمركبات الفينولية (21,22,23).

جدول (2): تأثير تراكيز نوعي مستخلص أوراق نبات الحناء الميثانولي والإيثانولي في % لتثبيط النمو الشعاعي لبعض الفطريات الملوثة لمزارع أنسجة نخيل التمر =R.L.S.D. أقل فرق معنوي المعدل

(0.01)R.L.S.D	متوسط الفطر	متوسط التداخل بين الفطر ونوع المستخلص	التركيز %		نوع المستخلص	الفطريات
			1	0.5		
للفطريات 4.1	67.82	54.82	68.32	41.32	الميثانولي	<i>Alternaria alternata</i>
		80.83	100.00	61.67	الأيثانولي	
				84.16	51.49	
للفطريات والمستخلص 2.5	73.90	62.32	80.00	44.67	الميثانولي	<i>Aspergillus niger</i>
		85.50	100.00	71.00	الأيثانولي	
				90.00	57.82	
للفطريات والتكرير 2.5	100.00	100.00	100.00	100.00	الميثانولي	<i>Epicoccum sp.</i>
		100.00	100.00	100.00	الأيثانولي	
				100.00	100.00	
للمستخلص والتكرير 3.2	90.00	80.00	100.00	60.00	الميثانولي	<i>Nigrospora sp.</i>
		100.00	100.00	100.00	الأيثانولي	
				100.00	80.00	
التداخل الثلاثي 2.5	55.25	30.50	40.00	21.00	الميثانولي	<i>Penicillium sp.1</i>
		80.00	100.00	60.00	الأيثانولي	
				70.00	40.50	
	55.58	23.66	32.32	15.00	الميثانولي	<i>Penicillium sp.2</i>
		87.50	100.00	75.00	الأيثانولي	
				66.16	45.00	
	41.59	20.84	30.00	11.67	الميثانولي	<i>Trichoderma harzianum</i>
		62.34	84.67	40.00	الأيثانولي	
				57.34	25.84	
			81.10	57.24		متوسط التركيز المستخلص
متوسط نوع المستخلص		53.16	64.38	41.95	الميثانولي	متوسط التداخل
		85.15	97.81	72.50	الأيثانولي	بين نوع المستخلص والتركيز

3- تأثير مستخلص أوراق الحناء الإيثانولي في % لتثبيط النمو الجاف للفطريات الملوثة:

أشارت النتائج الموضحة في الجدول (3) الى فشل الفطريات *Nigrospora* و *Epicoccum sp.* من النمو بصورة كلية على الأوساط السائلة PD Broth التي تحتوي على مستخلص أوراق الحناء الإيثانولي بتركيز 0.5% كما فشلت جميع الفطريات المدروسة من النمو على الأوساط التي تحتوي على تركيز 1% من المستخلص الإيثانولي لأوراق الحناء، وتفوق التركيز 1% بصورة عالية المعنوية على

التركيز 0.5% والذي سجل % تثبيط للنمو الجاف بلغت 82.88% كما سجلت أقل نسبة مئوية للتثبيط لمعاملة التداخل للفطر *T. harzianum* والتركيز 0.5% إذ بلغت 65.15%.
 أن التأثير التثبيطي العالي لمستخلص أوراق نبات الحناء تمت الإشارة إليه في مصادر عديدة أثبتت التثبيط الكلي (100%) لنمو الفطريات الممرضة للنبات والمدى الواسع لهذا التأثير مع عدم سمية المستخلص للنباتات (24). كما أشار Stefen & Peschel (25) الى تأثير مستخلص الحناء ضد أربعة عشر نوعاً مختلفاً من الفطريات الممرضة للنبات والتي ثبت العديد منها بصورة كلية (100%).
 أن الآلية التي تؤثر فيها المركبات الفعالة في مستخلص الحناء ومنها الكوينونات واللاوسون ضد الأحياء المجهرية تتم من خلال تثبيط فعالية الانزيمات المرتبطة بالغشاء الخلوي Membrane-bound enzyme (26), ومن آليات التثبيط الأخرى لمكونات مستخلص الحناء ومنها اللاوسون هي تثبيط الانزيم 4-methylsterol demethylase (ERG11) - المسؤول عن تحويل سلائع الستيرول Sterol precursors الى ايركوسيترون Ergosterol الذي يعمل كمنظم لانسيابية السوائل من خلال الغشاء الخلوي ويحافظ على التنظيم غير المتناظر له ومن ثم تكامل الأغشية في الخلايا الفطرية (27) وبعدها يتناقص الايركوسترول ويتكون غشاء بلازمي بتركيب وفعالية مختلفة، كما أن تأثير اللاوسون يمتد إلى تثبيط فعالية الانزيم المسؤول عن التخليق الحيوي للدهون الموجودة في الغشاء البلازمي للخلايا الفطرية (28).

جدول (3): تأثير تركيز المستخلص الأيثانولي لأوراق نبات الحناء في % لتثبيط النمو الجاف لبعض الفطريات الملوثة في المزارع أنسجة أصناف مختلفة من نخيل التمر.
 R.L.S.D = أقل فرق معنوي المعدل

متوسط الفطر	التركيز (%)		الفطريات
	1	0.5	
87.50	100.00	75.00	<i>Alternaria alternata</i>
90.00	100.00	80.00	<i>A. niger</i>
100.00	100.00	100.00	<i>Epicoccum sp.</i>
100.00	100.00	100.00	<i>Nigrospora sp.</i>
87.50	100.00	75.00	<i>Penicillium sp.1</i>
92.50	100.00	85.00	<i>Penicillium sp.2</i>
82.5	100.00	65.15	<i>Trichoderma hamatum</i>
	100.00	82.88	متوسط التركيز
	2.5 للتداخل	4.1 للفطريات	(0.01)R.L.S.D

4- تأثير المبيدات الفطرية في النسبة المئوية لتثبيط النمو الشعاعي والجاف للفطريات الملوثة لمزارع أنسجة أصناف مختلفة من نخلة التمر:
 بينت النتائج الموضحة في الجدولين (4 و 5) تفوق المبيد الفطري بنليت في تثبيط النمو الشعاعي والجاف للفطريات الملوثة بصورة كلية (100%)، تلاه المبيد كربناتول و بلتانول إذ سجلا 84.85% و

79.76% كنسبة مئوية لتثبيط النمو الشعاعي و 93.70% و 85.80% كنسبة مئوية لتثبيط النمو الجاف على التوالي وكانت أكثر الفطريات حساسية للمبيدات المدروسة هي *A. niger* و *Epicoccum sp.* بدلالة النمو الشعاعي و *A. niger* و *Epicoccum sp.* و *A. Alternata* و *Penicillium sp.2* بدلالة النمو الجاف، وسجلت أقل نسبة مئوية لتثبيط النمو الشعاعي والجاف في معاملة الفطر *Penicillium sp.1* وكانت 75.89% و 81.76% على التوالي.

أن قدرة المبيدات الفطرية على تثبيط نمو الفطريات قد يعزى إلى تأثيرها في عمل الانزيمات الضرورية للتنفس مما ينعكس سلباً في عملية إنتاج الطاقة فضلاً عن تداخل المبيدات الفطرية مع بعض الأحماض الأمينية مما يؤثر في الصناعة الحيوية للبروتين، كذلك إلى تأثيرها في عملية الانقسام الخلوي (29). أما عن تأثير مبيد بنليت فقد يعزى إلى ناتجه التحللي (MBC) Methyl Bnzimidazole Carbamate الذي يؤثر في الأنواع الفطرية والعمل على انتفاخها وإحداث تشوه في أنبوبة الإنبات مما يعرقل عملية النمو (30). أن الكفاءة التثبيطية العالية للمبيد بنليت اتفقت مع العديد من الدراسات التي أثبتت فعاليته ضد فطريات ممرضة للنبات مثل الفطر المسبب لخياش

طلع النخيل *Mauginilla scaettae* وتدهور نخيل السايكس *Fusarium solani* (15,31).

جدول (4): تأثير المبيدات الفطرية في % لتثبيط النمو الشعاعي للفطريات الملوثة لمزارع أنسجة نخلة التمر. R.L.S.D = أقل فرق معنوي المعدل

متوسط الفطر	المبيدات			الفطريات
	كريتانول	بليتاتول	بنليت	
83.89	81.76	70.00	100.00	<i>Alternaria alternata</i>
100.00	100.00	100.00	100.00	<i>A. niger</i>
95.00	100.00	85.00	100.00	<i>Epicoccum sp.</i>
86.32	74.00	85.00	100.00	<i>Nigrospora sp.</i>
75.89	66.67	61.67	100.00	<i>Penicillium sp.1</i>
85.55	80.00	76.67	100.00	<i>Penicillium sp.2</i>
90.55	91.67	80.00	100.00	<i>T. harzianum</i>
-	84.85	79.76	100.00	متوسط المبيدات
-	للتداخل	للمبيدات	للفطريات	R.L.S.D(0.01)
	3.1	3.1	5.2	

جدول (5): تأثير المبيدات الفطرية في % لتنشيط النمو الجاف لبعض الفطريات الملوثة لمزارع أنسجة نخلة التمر.
R.L.S.D = أقل فرق معنوي المعدل

متوسط الفطر	المبيدات			الفطريات
	كربتاتول	بليتاتول	بنليت	
94.10	100.00	82.32	100.00	<i>Alternaria alternata</i>
100.00	100.00	100.00	100.00	<i>A. niger</i>
100.00	100.00	100.00	100.00	<i>Epicoccum sp.</i>
91.32	80.67	93.32	100.00	<i>Nigrospora sp.</i>
81.76	75.32	70.00	100.00	<i>Penicillium sp.1</i>
93.89	100.00	81.67	100.00	<i>Penicillium sp.2</i>
91.10	100.00	73.32	100.00	<i>T. harzianum</i>
	93.70	85.0	100.00	متوسط المبيدات
	للتداخل غ.م	للمبيدات 4.5	للفطريات 5.2	R.L.S.D(0.01)

5- تأثير المبيد الفطري بنليت في نمو وتطور الكالس الجنيني لنخيل التمر صنف البرحي والأشقر والنسبة المئوية للتوت بالفطريات.

أشارت النتائج المبينة في الجدول (6) الى عدم وجود أي تأثير سلبي للمبيد بنليت في الوزن الطري للكالس الجنيني، إذ لم تختلف معنوياً نتيجة الوزن الطري لصنف البرحي في معاملة المقارنة (434 ملغم) عنه في معاملة المبيد بنليت (410 ملغم) وكذلك مع صنف الأشقر والذي سجل معدل الوزن الطري 493 ملغم و 484 ملغم في المقارنة والبنليت على التوالي. جاءت كذلك النتائج متوافقة مع مؤشري الوزن الجاف للكالس الجنيني وعدد الأجنة الخضرية، إذ لم تختلف معنوياً نتيجة المؤشرين في معاملة المقارنة 10 ملغم و 3.4 جنين، على التوالي لصنف البرحي و 9 ملغم و 3 جنين على التوالي لصنف الأشقر عن معاملة المبيد بنليت للصنفين البرحي والأشقر (الجدولين 7 و 8).

جدول (6): تأثير مبيد البنليت في الوزن الطري لكالس نخيل التمر صنفين الأشقر والبرحي.
R.L.S.D = أقل فرق معنوي المعدل

المعاملات	الوزن الطري (ملغم) للكالس	
	صنف البرحي	صنف الأشقر
البنليت	410	484
المقارنة	434	493
متوسط الصنف	422	488
R.L.S.D (0.01)	غ.م	غ.م

جدول (7): تأثير مبيد البنليت في الوزن الجاف لكالس نخيل التمر صنفين الأشقر والبرحي.
R.L.S.D = أقل فرق معنوي المعدل

المعاملات	الوزن الجاف (ملغم) لكالس	
	صنف البرحي	صنف الأشقر
البنليت	23.0	26.0
المقارنة	10.0	9.0
متوسط الصنف	16.5	17.5
R.L.S.D (0.01)	غ.م	غ.م

جدول (8): تأثير مبيد البنليت في عدد الأجنة الخضرية لنخيل التمر صنفين الأشقر والبرحي.
R.L.S.D = أقل فرق معنوي المعدل

المعاملات	عدد الأجنة الخضرية لكالس	
	صنف البرحي	صنف الأشقر
البنليت	2.8	3.2
المقارنة	3.4	3.0
متوسط الصنف	3.1	3.1
R.L.S.D (0.01)	غ.م	غ.م

يتضح من النتائج السابقة عدم وجود أي تأثير تثبيطي يذكر لتركيز المبيد بنليت (1غم/لتر) في مؤشرات النمو المدروسة، وقد اختلفت هذه النتيجة مع ما أوضحه الكعبي (5)، وقد يعزى هذا الاختلاف إلى التركيز المستخدم من المبيدات الفطرية والذي تحسس له الكالس الجنيني لنخيل التمر صنف الأشقر.

أما عن كفاءة المبيد الفطري بنليت فقد أوضحت التجربة أنه أدى إلى تقليل النسبة المئوية للتلوث بالفطريات من 100% (عند إعادة عزل الكالس الملوث على الوسط الغذائي الخالي من المبيد) الى 16.6% بوجود المبيد بنليت (1غم/لتر)، وقد اتفقت هذه النتيجة مع نتائج تأثير المبيد بنليت في الصفات الفسلجية للفطريات الملوثة لمزارع كالس نخيل التمر والتي فشلت كلياً في النمو بوجوده (الفقرة 3-4)، وبهذا ومع انعدام التأثير السلبي للمبيد بنليت في نمو وتطور الكالس يمكن استخدام هذا المبيد وبكفاءة كعامل مهم وحيوي للسيطرة على مشكلة التلوث بالفطريات في مزارع أنسجة نخيل التمر.

6- تأثير المستخلص الإيثانولي لأوراق نبات الحناء في نمو وتطور الكالس الجنيني لنخيل التمر صنف البرحي والأشقر والتلون البني:

بينت نتائج الجدولين (9 و 10) التأثير السلبي لتركيزي المستخلص في الوزن الطري والجاف للكالس الجنيني لصنف نخيل التمر الأشقر والبرحي، إذ قللا من معدلاته، فقد كان معدل الوزن الطري والجاف في معاملة المقارنة (صفر) 742 و 87.3 ملغم لصنف البرحي على التوالي، و 1062 و 112 ملغم لصنف الأشقر على التوالي، لتتخفف هذه المعدلات مع زيادة تركيز المستخلص ليصل الانخفاض أقصاه في معاملة التركيز 1%، إذ بلغ معدل الوزن الطري والجاف للكالس الجنيني 410 و 40 ملغم، لصنف البرحي على التوالي، و 487 و 45.3 ملغم لصنف الأشقر على التوالي. أشارت كذلك نتائج التحليل الإحصائي الى معنوية تأثير تركيز المستخلص الإيثانولي، فقد بلغ معدل الوزن الطري للكالس الجنيني 902 ملغم في معاملة المقارنة. لينخفض بشكل عالي المعنوية ويصل الى 523.5 و 448.5 ملغم في معاملة التركيزين 0.5 و 1% من المستخلص على التوالي، وجاء تأثير التركيزين مشابهاً مع مؤشر الوزن الجاف للكالس الجنيني (الجدول 10).

جدول (9): تأثير المستخلص الإيثانولي (%) لأوراق نبات الحناء في الوزن الطري (ملغم) للكالس الجنيني لصنف نخيل التمر الأشقر والبرحي.

R.L.S.D (1 0.0): للأصناف = غ.م، للتركيز = 436، للتداخل = غ.م

متوسط الصنف	التركيز المستخدم (%)			الأصناف
	1	0.5	صفر	
680.66	487	493	1062	الأشقر
568.66	410	554	742	البرحي
	448.5	523.5	902	متوسط التركيز

جدول (10): تأثير المستخلص الإيثانولي (%) لأوراق نبات الحناء في الوزن الجاف (ملغم) للكالس الجنيني لصنفي نخيل التمر الأشقر والبرحي.
R.L.S.D (0.01): للأصناف = غ.م، للتركيز = 40، للتداخل = غ.م.

متوسط الصنف	التركيز المستخدم (%)			الأصناف
	1	0.5	صفر	
67.6	45.3	45.6	112	الأشقر
61.3	40.0	56.6	87.3	البرحي
	42.6	51.1	99.65	متوسط التركيز

وأوضحت النتائج المبينة في الجدول (11) أن عدد الأجنة الخضرية قد انخفض وبشكل عالي المعنوية بعد أن سجل 4.16 جنين في معاملة المقارنة ليصل إلى 0.66 جنين في معاملة تركيزي المستخلص 0.5 و 1%، ومن الجدير بالذكر أن درجة حساسية صنف نخيل التمر البرحي والأشقر لم تختلف تجاه مستخلص أوراق نبات الحناء فقد أشارت نتائج التحليل الإحصائي عدم معنوية تلك الفروق، وسجل الصنفين البرحي والأشقر 568.66 و 680.66 ملغم وزناً طرياً للكالس الجنيني على التوالي و 61.3 و 67.6 ملغم وزناً جافاً على التوالي و 1.77 و 1.88 جنين، كعدد الأجنة الخضرية للصنفين على التوالي.

جدول (11): تأثير المستخلص الإيثانولي (%) لأوراق نبات الحناء في عدد الأجنة الخضرية للكالس الجنيني لصنفي نخيل التمر الأشقر والبرحي.
R.L.S.D (0.01): للأصناف = غ.م، للتركيز = 1.69، للتداخل = غ.م.

متوسط الصنف	التركيز المستخدم (%)			الأصناف
	1	0.5	صفر	
1.88	0.33	0.33	5.00	الأشقر
1.77	1.00	1.00	3.33	البرحي
	0.66	0.66	4.16	متوسط التركيز

يتضح من خلال ما تقدم من نتائج التأثير السلبي لمستخلص أوراق نبات الحناء الإيثانولي في مؤشرات النمو المدروسة والذي قد يعزى إلى دور المركبات الفعالة العديدة في المستخلص مثل الكلايكوسيدات والتانينات والراتنجات والكومارينات ومركب اللاوسون الفعال (11) والتي قد يكون لها أثراً سميّاً في الكالس الجنيني المعروف بدرجة حساسيته العالية للمركبات الكيميائية (32)، أو لتداخل هذه المركبات الفعالة مع عمل الانزيمات الضرورية للنمو (26).

أما عن تأثير المعاملة بالمستخلص الإيثانولي لأوراق نبات الحناء في التلون البني فقد بينت النتائج الموضحة في الجدول (12) وجود تلون بني شديد حسب مقياس العطبي (33) في معاملة التركيزين 0.5 و 1% ولكلا الصنفين المدروسين مع مؤشر ضعيف للنمو عند المقارنة مع معاملة السيطرة التي لم يسجل فيها أي ظهور للون البني وكان نمو الكالس الجنيني فيها جيداً، وقد يعود سبب التلون البني الشديد الى احتواء مستخلص أوراق نبات الحناء على كميات مرتفعة من المركبات البوليفينولية مما أدى إلى تضرر جزء من نسيج الكالس وظهور التلون البني (11).

جدول (12): تأثير المستخلص الإيثانولي (%) لأوراق نبات الحناء في التلون البني وطبيعة النمو لكالس نخيل التمر صنفَي الأشقر والبرحي.

الأصناف	التركيز (%)	التلون البني	طبيعة النمو
الأشقر	صفر	—*	جيد
	0.5	+++	ضعيف
	1	+++	ضعيف
البرحي	صفر	—	جيد
	0.5	+++	ضعيف
	1	+++	ضعيف

يستنتج من هذه الدراسة عدم تأثير الكالس الجنيني لنخيل التمر صنفَي البرحي والأشقر بالمبيد الفطري بنليت وكفاءته العالية في الحد من التلوث الفطري في مزارع أنسجة نخيل التمر، لذا ينصح بالإفادة من المبيد بتركيز 1ملغم/لتر للحد من ظاهرة التلوث الفطري، ومحاولة تقليل التركيز المستخدم من المستخلص الإيثانولي لأوراق نبات الحناء ودراسة تأثيره في أصناف أخرى من نخيل التمر لكفاءته العالية في تثبيط نمو الفطريات.

المصادر

- 1- البكر، عبد الجبار (1972). نخلة التمر ماضيها وحاضرها الجديد في زراعتها وصناعاتها وتجارتها. مطبعة العاني، بغداد، ص 1085.
- 2- الجهاز المركزي للإحصاء (2000). المجموعة الإحصائية السنوية. هيئة التخطيط، بغداد، جمهورية العراق.
- 3- Leary, J.V.; Nelson, N.; Tisserat, B. and Allingham, E.A. (1986). Isolation of pathogenic *Bacillus circulus* callus culture and healthy offshoots of date palm *Phoenix dactylifera*. Appl. and Env. Microb. 52(5): 1173-1176.
- 4- Leifert, and Waits, W.M. (1992). Bacterial growth in Plant tissue culture media. J. Appl. Bacteriol. 72: 460-466.
- 5- الكعبي، أنسام مهدي صالح (2004). تأثير بعض المضادات الحيوية والمبيدات الفطرية في نمو الكالس الجيني لنخلة التمر *Phoenix dactylifera* L. مجلة البصرة لأبحاث نخلة التمر. مجلد 3، العدد 1-2.
- 6- Hamadi, J.Y. (1978). Pharmacological studies of some Iraqi plants special reference to their antimycotic and antimicrobial activity. M.Sc.Thesis, Faculty of Vet. Medicine. Cairo Univ., Cairo.
- 7- Misra, S.B. and Dixit, S.N. (1979). Antifungal activity of extracts of some higher plants. Acta Botanica Indico. 7(2): 147-150.
- 8- Wangkiat, A. (1995). Antifungal effect of medicinal herb extracts on some plant pathogenic fungi. Bagkok (Thailand) Abst.
- 9- Rifai, M.A. (1969). A revision of the genus *Trichoderma* Common. Mycol. Inst. Press. 116: 1-56.
- 10- Ellis, M.B. (1971). More Dematiaceous hyphomycetes. Commonwealth, Mycological Institute. England 608 pp.
- 11- العبادي، أسامة علي محسن (2003). دراسة مكونات أوراق نبات الحناء المحلية *Lawsonia inermis* L. (Lythraceae) وتأثير مستخلصاتها ومركب اللاوسون المعزول منها على بعض الفطريات الجلدية. رسالة ماجستير معهد الهندسة الوراثية والتقنية الأحيائية/ جامعة بغداد، ص 100.
- 12- Iqbal, M.C.; Jayasnghe, U.L.B.; Herath, H.M.T.B.; Wijesekar, K.B. and Fujimoto, (2004). A fungistasis chromene *Ageratum conyzoides*. Phytoparasitica. 32 (2): 119-126.
- 13- شعبان، عواد و الملاح، نزار مصطفى (1993). المبيدات. دار الكتب للطباعة والنشر. جامعة الموصل. ص 520.
- 14- Suberu, H. (2004). Preliminary studies of inhibitions *Aspergillus flavus* with extracts of two lichens and Bentex-T fungicides. African J. of Biotech. 3(9): 468-472.

- 15- عباس، محمد حمزة (2004). كفاءة بعض المبيدات الفطرية في تثبيط نمو الفطر *Mauginilla scattae* المسبب لمرض خياش طلع النخيل في البصرة. مجلة البصرة للعلوم الزراعية، المجلد 17، العدد (3).
- 16- Murashig, T. and Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture. *Physiol. Plant*, 15: 473-479.
- 17- Tisserat, B. (1991). Clonal propagation of palms plants tissue culture manual, C2:1-14.
- 18- Al-khalyfah, N.S. (2000). *In vitro* culture studies on date palm (*Phoenix dactylifera*) cv. Mosaifah and nabat sultan. *Plant Tissue Culture*. 10(1):1-8.
- 19- Al-Ghamdi, A.S. (1993). Tru-to-type date palm (*Phoenix dactylifera*) procedure through tissue culture technique. *Date Palm KFU, Saudi Arabia*, 1:1-13.
- 20- الراوي، خاشع محمود وخلف الله، محمد عبد العزيز (1980). تصميم وتحليل التجارب الزراعية. مؤسسة دار الكتب للطباعة والنشر، جامعة الموصل، ص 488.
- 21- Bhardwaj, D.K.; Murari, R.; Secchari, T.R. and Singh, R. (1976). Lacoumarine from *Lawsonia inermis*. *Phytochem.* 15:1789.
- 22- Bhardwaj, D.K.; Murari, R.; Secchari, T.R. and Singh, R. (1978). Xanthones from *Lawsonia inermis*. *Phytochem.* 16:1616-1617.
- 23- Takeda, Y. and Fatope, M.O. (1988). New phenolic glucosidase from *Lawsonia inermis*. *J. Natiprod.* 51(4): 725-729.
- 24- Dixit, S.N.; Srivastava, H.S. and Tripathi, R.D. (1978). Lawsone, the antifungal antibiotics from leaves of *Lawsonia inermis* and some aspects of it mode of action. *Indaian J. Phytopathol.* 31: 131.
- 25- Steffen, V.K. and Peschel, H. (1975). Chemical constitution and antifungal activity of 1,4-naphthoquinones, their biosynthesis intermediary products and chemical related compounds. *Plant Medical*, 27: 201-212.
- 26- Cowan, M.M. (1999). Plant product as antimicrobial agents. *Clinical Microb. Rev.* 12(4): 564-582.
- 27- Nozawa, Y. and Morita, T. (1986). Molecular mechanism of antifungal agents associated with membrane ergo sterol. Dysfunction of membrane ergo sterol and inhibition of ergo sterol biosynthesis. In: *Vitro evaluation of antifungal agents*. (eds. by K. Iwata and B.H. Vanden). Elsevier Sciences Publ. Amsterdam, Netherlands.
- 28- Ghannoum, M.A. and Rice, L.B. (1999). Antifungal agents: Mode of action, Mechanisms of resistance and correlation of these mechanisms with bacterial resistancs. *Clinical Microbiol. Rev.* 12(4): 501-517.
- 29- Goettel, M.S. and Jarnoski, S.T. (1997). Safety and registration of microbial agents for control grasshoper and locuts. *Memories of the Entomological Society of Canada.* 171: 83-99.

- 30-** Darvas,J.M. (1977). Control of post harvest diseases on Avocado fruit by fungicides with special emphasis on tecto and benlate .Association Proceeding of Technical Committee.1:11-14.
- 31-** عباس، محمد حمزة، حميد، محمد عبد الرزاق وجاسم، عباس مهدي (2004). أول تسجيل لمرض الذبول الفيوزاري على نخيل السابكس *Cycas revolute* المتسبب عن الفطر *Fusarium solani* في العراق. مجلة البصرة للعلوم الزراعية. المجلد 17، العدد 3.
- 32-** محمد، عبد المطلب سيد، وعمر، مبشر صالح (1990). المفاهيم الرئيسية في زراعة الخلايا والأعضاء النباتية، مؤسسة دار الكتب لطباعة والنشر، جامعة الموصل.
- 33-** العطبي، صبيح داود محمد (1998). دراسة الأكتنار الخضري لنخلة التمر *Phoenix dactylifera* L خارج الجسم الحي وتأثير إضافة أزهارها وبنورها على النمو في المراحل المختلفة وتكوينها الشكلي. أطروحة دكتوراه، كلية العلوم، جامعة البصرة.