

Efficacy of Aqueous Extracts of some Libyan Medicinal Plants Against *Sclerotinia sclerotiorum* In Vitro



Nisreen M. Hypa and Zahra I. El-Gali*

Department Plant Protection, Faculty of Agriculture Omer Al-Mukhtar University, Libya.

ARTICLE HISTORY

Received:
09 July 2022

Accepted:
20 October 2022

Keywords:

Medical plants;
Aqueous extracts;
Radial growth;
Sclerotinia sclerotiorum;
Libya.

Abstract: The study was conducted to test the effect of aqueous extracts of the leaves of ten medicinal plants growing naturally in Al-Jabal Al-Akhdar region – northeast Libya, which include: Alhagi (*Alhagi camelrum*), Mugwort (*Artemisia herba-alba*), Everlasting (*Helichrysum stoechas*), Chamomile (*Anthemis noblis*), Stinkweed (*Peganum harmala*), Nettle (*Urtica dioica*), Rosemary (*Rosmarinus officinalis*), Rue (*Ruta graveolens*), Geranium (*Pelargonium graveolens*) and Castor (*Risinus communis*) using poisoned plate method in PSA medium against *Sclerotinia sclerotiorum* caused seeds' rot and seedlings damping-off. The results showed a significant difference in inhibition effectiveness in all extracts against the tested fungus. Among all plants, *H. stoechas* was the most effective (88.4%), followed by *U. dioica* (79.1%), then *P. harmala* (78.3%). Chemical detections showed that the extracts of *H. stoechas*, *P. harmala*, and *U. dioica* contained some antioxidants: phenols, flavonoids, and tannins. Based on these results application of plant extracts can be considered a beneficial strategy for controlling fungal plant diseases.

فعالية المُستخلصات المائية لبعض النباتات الطبية ليبية ضد *Sclerotinia sclerotiorum* في المعمل

الكلمات المفتاحية :

نباتات طبية؛
مُستخلصات مائية؛
النمو القطري؛
Sclerotinia sclerotiorum؛
ليبيا.

المستخلص : استهدفت هذه الدراسة اختبار فعالية 10 أنواع من النباتات الطبية النامية بمنطقة الجبل الأخضر - شمال شرق ليبيا، ممثلة في الشيح، وإكليل الجبل، والحرمل، والقُرص، والعاقول، والعرش ان، وحشيشة الأرنب، والخروع، والبابونج، والسذاب في صورة مُستخلصات مائية خام بطريقة الطبقة المسموم في الوسط الغذائي PSA ضد النمو القطري للفطر *Sclerotinia sclerotiorum* المسبب لعفن البذور وسقوط البادرات. أشارت النتائج إلى تباين معنوي في التأثير التثبيطي للمُستخلصات على نمو الفطر حيث سجل مُستخلص نبات حشيشة الأرنب فعالية أكبر في تثبيط الفطر بنسبة 88.4% متبوعاً بنبات القُرص (79.1%) يليه الحرمل بنسبة 78.4%. بيّن الكشف الكيميائي احتواء مُستخلصات حشيشة الأرنب، والحرمل والقُرص على بعض مُضادات الأكسدة من الفينولات والفلافونيدات والتينينات. استناداً إلى هذه النتائج فإن تطبيق المُستخلصات النباتية يمكن أن يعد استراتيجية مُفيدة للسيطرة على أمراض النبات الفطرية.

من المُمكن أن تسهم في مُكافحة المُسببات المرضية للمحاصيل الزراعية (دراسة وتقدير الغطاء النباتي، 2005).

اتجهت الدراسات إلى استخدام النباتات الطبية والعرطرية لاحتوائها العديد من المُركبات الفعالة في مُكافحة الكائنات المُمرضة، فضلاً عن كونها آمنة وغير مُلوثة للبيئة.

المقدمة

تعد منطقة الجبل الأخضر - شمال شرق ليبيا من المناطق الغنية بالتنوع النباتي؛ إذ يصل عدد الأنواع النباتية بهذه المنطقة إلى 1100 نوع تختلف من برية وطبية وعرطرية أو في شكل أعشاب وأشجار وشجيرات تحت وحي على مُركبات كيميائية كنواتج أيضية ثانوية دفاعية أو مُضادة

*زهرة ابراهيم الجالي Zahra.Ibrahim@omu.edu.ly قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة عمر المختار، البيضاء-ليبيا.

مواد وطرائق البحث

تمت عملية الجمع للنباتات الطبية والعطرية من منطقة الجبل الأخضر في عدة مواقع شملت: البيضاء، وشحات، واسلنطة، وجردس، والوسيط، والحمامة الجنوبية (جدول 1، شكل 1)، حيث جُمع المجموع الخضري والذي شمل الأوراق السليمة الخالية من أعراض نقص العناصر أو أي أعراض أخرى، فضلاً عن جمع الأغصان والأزهار في بعض النباتات لاستخلاص المواد الفعالة، وجمعت النباتات وقت التزهير، وهو الوقت المناسب لجمع العينات، حيث تم جمع العينات من بدء تفتح الأزهار حتى بداية اكتمالها، ففي هذه الفترة توجد المادة الفعالة في أعلى معدل لها من مراحل النمو المختلفة (اليحيى، 2007).

جرى تنظيف المجموع الخضري (الأوراق، الأغصان الصغيرة والأزهار) بغسله تحت تيار خفيف من الماء وتعقيمه سطحياً في محلول كلوركس تجاري مخفف 10% وغسله بالماء المعقم مرة أخرى لإزالة آثار التعقيم. جُففت العينات في الظل بعيداً عن أشعة الشمس، ثم سُحقت في الخلاط حتى أصبحت ناعمة ووضعت في زجاجيات مغلقة بعيداً عن الرطوبة.

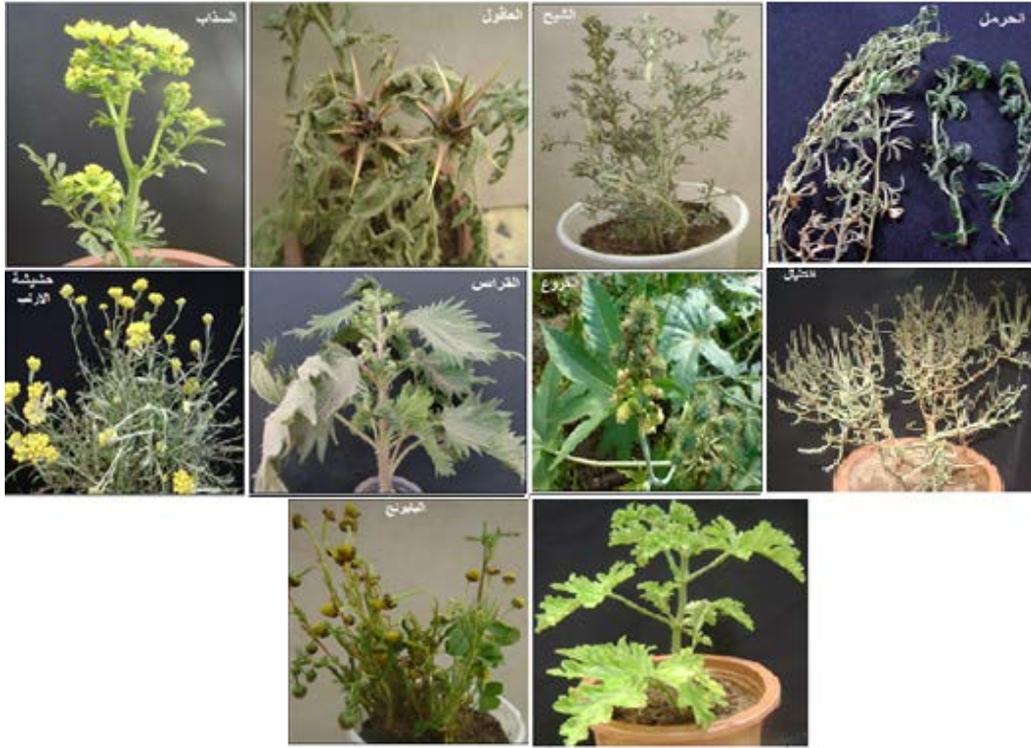
(Schwan-Estrada & Stangarlin, 2005)، حيث اختبر (منصور وأخرون، 2012) التأثير التثبيطي للخلاصات المائية لنباتات الريحان، الثوم، الكافور، والدفلة ضد بعض الفطريات المُمرضة للنبات، وسجلت النتائج اختلافات معنوية في النمو الفطري للنبات.

في دراسة أخرى تمكن (لاريد، 2013) من خفض النمو الفطري ومكافحة العفن الرمادي على الأبصال المُتسبب عن الفطر *Botrytis cinerea* بعد المعاملة بالمستخلصات المائية لنباتات الشيح، والنعناع والبردقوش، في حين لوحظ أن معظم المستخلصات المائية أعطت نتائج مُثبطة في تثبيط الفطر *S. sclerotiorum* بترتيب النيم، الثوم، القرنبيط، النعناع، والبصل، حيث تفوقت مُعاملة مُستخلص النيم بنسبة تثبيط بلغت 84.4% (زوين وداوود، 2015).

ونظراً إلى تنوع الفلورا النباتية في ليبيا ما أجريت هذه الدراسة لتقييم فعالية الخلاصات المائية لبعض النباتات النامية طبيعياً في منطقة الجبل الأخضر - شمال شرق ليبيا ضد النمو الفطري للفطر *S. sclerotiorum* فضلاً عن الكشف اللوني عن مُضادات الأكسدة في الخلاصات الفعالة والتي من الممكن أن تكون مُفيدة في إدارة أمراض النباتات.

جدول (1). أسماء النباتات المُستخدمة والجزء المُستعمل ومكان الجمع

الاسم العربي	الاسم الشعبي	الاسم العلمي	العائلة	الجزء المُستعمل	مكان الجمع
الشيح الأبيض	الشيح	<i>Artimesia herba-alba</i>	المركبة	الأوراق والأغصان	جردس
إكليل الجبل	الإكليل	<i>Rosmarinus officinalis</i>	الشفوية	الأوراق	شحات
الحرمل	الحرمل	<i>Peganum harmala</i>	الغردقية	الأوراق والأغصان	الحمامة الجنوبية
القراص	الحريق	<i>Urtica dioica</i>	القراسية	الأوراق	شحات
العاقول	شوك الجمل	<i>Alhagi camelrum</i>	البقولية	الأوراق	الوسيط
العطرشان	العطرشان	<i>Pelargonium graveolens</i>	الغرنوقية	الأوراق	شحات
حشيشة الأرنب	عشبة الأرنب	<i>Helichrysum stoechas</i>	المركبة	الأوراق والأزهار	الوسيط
الخروع	الخروع	<i>Risinus communis</i>	السوسنية	الأوراق	شحات
البابونج	القمية	<i>Anthemis noblis</i>	النجمية	الأوراق والأزهار	اسلنطة
السذاب	الفيجل	<i>Ruta graveolens</i>	السذابية	الأوراق والأزهار	البيضاء



شكل (1). الشكل العام للنباتات تحت الدراسة

أمراض النبات - قسم وقاية النبات - كلية الزراعة -
جامعة عمر المختار.

طريقة الطبق المسموم Poisoned Plate Method:

أُتبع في هذه التجربة الطريقة التي وصفها Dixit وآخرون (1974) حيث قامت الباحثة بتحضير الوسط الغذائي خلاصة آجار البطاطس والسكروز Potato Sucrose Agar (PSA) وقُسمت في دوارق مخروطية زجاجية بمعدل 45مل/دورق، ثم عُقمت، وعندما أصبحت درجة حرارتها بحدود 45°م وقبل أن تتصلب أُضيف لها 5مليتر من خلاصة النباتات، ورُجت قليلاً ووُزعت كل مُعاملة في 3 أطباق. في مُعاملة الشاهد استبدلت خلاصة النبات بالماء المُقطر المُعقم. وبواسطة ثاقب فلين مُعقم لُقحت جميع الأطباق بأقراص مُتساوية قُطرها 5م من حواف مزرعة الفطر *S. sclerotiorum* بعد 7 أيام ووضعت بشكل مقلوب على سطح الوسط في مُنتصف الطبق، وحُضنت الأطباق في درجة حرارة 25°م. أُخذت النتائج بعد أن غطى الفطر المُمرض كامل مساحة الطبق في مُعاملة المُقارنة، إذ سُجل قطر النمو للفطر من خلال

تجهيز المُستخلصات: خُبط 50 جم من بودرة كل نبات مع 50 مل ماء مُقطر مُعقم بواسطة خلاط لمدة 5 دقائق، وتُرك المُعلق الناتج لمدة 24 ساعة (Overnight) في مكان مُظلم وفي درجة حرارة المعدل (20-23°م). رُشحت الخلاصة باستخدام عدة طبقات من الشاش للتخلص من البقايا النباتية والألياف غير المسحوقة، ثم رُشحت مرة أخرى بواسطة ورق ترشيح نوع No Whatman2 باستخدام قمع Bukhner للتخلص من جميع الشوائب، وأخذ الراشح ومُرر من خلال غشاء بكتيري 0.22 µm بواسطة مُرشح Zites وجهاز التقريد الكهربي (Pump)، واستُقبل المُستخلص في زجاجات مُعقمة بُنية اللون مُحكمة الغلق، ووضعت في الثلاجة ليكون الراشح معقماً وجاهزاً للإضافة إلى الوسط الغذائي (Amadi et al., 2010).

مصدر الفطر المُمرض: تم الحصول على عزلة الفطر المُمرض *Sclerotinia sclerotiorum* من بذور فاصوليا مُصابة والتي جرى عزلها وتعريفها بمعامل

10%. ظهور لون وردي مُشع دليل على وجود الـ Anthraquinones.

الكشف عن الفلوفونيدات (Flavonoids): في أنبوبة اختبار أُضيف محلول الأمونيا إلى خلاصة النبات بنسبة 1:5 متبوعاً بإضافة 1 مل من حمض الكبريتيك المركز (H_2SO_4). ظهور لون أصفر واختفاؤه إشارة على وجود الـ Flavonoids.

الكشف عن الجليكوسيدات (Glycosides): أُضيف 5 مل من خلاصة النبات إلى 2 مل من حمض الخليك الثلجي متبوعاً بإضافة نقطة واحدة من محلول كلوريد الحديد ($FeCl_3$) و 1 مل من حمض الكبريتيك المركز. تكوّن حلقة ذات لون بني على الوجه الداخلي دلالة على وجود الـ Glycosides.

الكشف عن الفينولات (Phenols): وُضع 0.5 مل من خلاصة النبات في أنبوبة اختبار، أُضيف إليها نقاط قليلة من محلول كلوريد الحديد ($FeCl_3$) تركيز 0.5%. تكوّن لون أخضر داكن إشارة على وجود المركبات الفينولية.

الكشف عن الفلوبتينات (Phlobatanins): أُضيف 1 مل من حمض الهيدروكلوريك (HCL) تركيز 1% إلى 5 مل من خلاصة النبات. غلي المخلوط في حمام مائي حتى ظهور راسب أحمر دليل وجود الـ Phlobatanins.

الكشف عن الستيرويدات (Steroids): أُضيف 2 مل من الخلاصة اللامائية إلى 0.5 مل من خلاصة النبات، ثم أُضيف 2 مل من حمض الكبريتيك (H_2SO_4). تغيّر اللون من البنفسجي إلى الأزرق أو الأخضر إشارة على وجود الـ Steroids.

الكشف عن التينينات (Tannins): خلط 5 مل من الماء المقطر مع 1 مل من خلاصة النبات ونُقلت إلى حمام مائي حتى الغليان، ثم بُرد الخليط، وأضيفت إليه قطرات قليلة من محلول كبريتات الحديد تركيز 0.1% تدريجياً حتى

قياس قطر مُتعادم لمُستعمرة نمو الفطر، وأخذ ذمعة دل القراءتين في كل طبق (Tao et al., 2011)، ومُقارنتها بمُعاملة الشاهد وحساب نسبة التثبيط وفقاً لمُعادلة (Datta et al., 2004):

نسبة التثبيط (%) = قطر النمو في طبق الشاهد - قطر النمو في طبق المُعاملة $\times 100$ / قطر النمو في طبق الشاهد

ثانياً: الكشف الكيميائي: اختبرت 3 نباتات فقط أعطت أعلى فعالية في تثبيط الفطر وهي الحرمل والقراص وحشيشة الأرنب. استخدمت عينات من الخلاصات الخام (شكل 2) للكشف عن بعض المكونات الكيميائية النباتية الأساسية أو الأولية التي يُحتمل وجودها في النباتات تحت الدراسة. أُعتمدت وسائل الكشف اللونية وفقاً للطريقة التي ذكرها (Apsara, 2012).

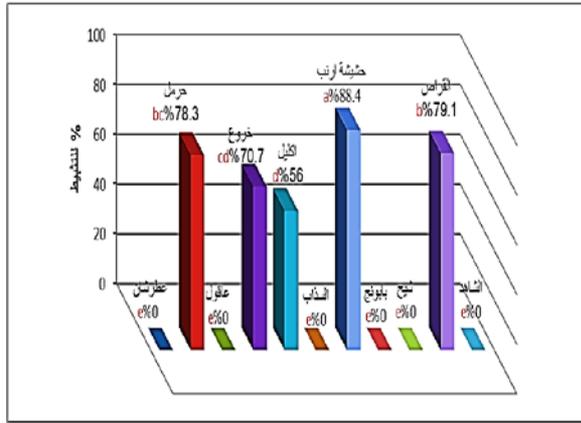


شكل (2). المُستخلصات المائية الخام للنباتات المختبرة

الكشف عن القلويدات (Alkaloids): أُضيفت نقاط قليلة من حمض البكريك ($C_6H_3N_3O_7$) تركيز 0.1% إلى 5 مل من خلاصة النبات في أنبوبة اختبار، تكوّن اللون الأصفر إشارة على وجود الـ Alkaloids.

الكشف عن الأنتراكوينونات (Anthraquinones): أُضيف 2 مل من الكلوروفورم ($CHCl_3$) إلى 1 مل من خلاصة النبات في أنبوبة اختبار مع الرجّ باستخدام Vortex mixer متبوعاً بالترشيح. رجّ الراشح مرة أخرى في وجود كمية مُساوية له من محلول الأمونيا

الخروج، إكليل الجبل، حشيشة الأرنب وأخيرًا القراص تثبيطاً بدرجات مختلفة، في حين تسببت مستخلصات العطرشان، العاقول، السذاب، البابونج، الشيح في عدم نشاطها ضد الفطر ومطابقتها للشاهد. أعطت نتيجة المعاملة بمستخلص حشيشة الأرنب أعلى نسبة تثبيط 88.4%، يليها 79.1% و 78.3% ناتجة عن المعاملة بخلاصة القراص والحرمل على التوالي، ومتبوعة بمستخلصي الخروج والإكليل اللذين سجلا نسبة تثبيط في نمو الفطر بلغت 70.7% و 56.0% على الترتيب، فيما كانت باقي المستخلصات غير فعالة ضد الفطر. نتائج التحليل الإحصائي بينت وجود فروق معنوية بين المستخلصات في تأثيرها على النمو الفطري للفطر.



شكل (3). تباين فعالية المستخلصات النباتية في تثبيط نمو الفطر و *Sclerotium* بطريقة الطبق المسموم الأعمدة المتبوعة بالحرف نفسه تشير إلى عدم وجود فروق معنوية عند فصل المتوسطات تحت مستوى المعنوية ($P \geq 0.05$).

الكشف الكيميائي: أعطت المركبات الكيميائية في الخلاصة المائية للنباتات استجابات مختلفة أثناء الكشوفات الأولية تمثلت في ظهور ألوان مختلفة كالأخضر للدلالة على المواد الراتنجية، الأخضر الداكن إشارة إلى الفينولات، اللون البني المخضر إشارة إلى وجود التينينات، ودرجة الصابون دليل وجود السابونينات (شكل 4). بينت الاختبارات اللونية للكشف عن المركبات الكيميائية في مستخلصات النباتات المختبرة الموضحة في الجدول (2) وجودها بشكل متفاوت باختلاف أنواع النباتات، حيث

ظهر لون بني مخضر أو أسود مزررق وهو مؤشر على وجود الـ Tannins.

الكشف عن التربينات (Terpenoids): وُضع 5 مل من خلاصة النبات و 2 مل من الكلوروفورم في أنبوبة اختبار أُضيف لها تدريجياً 3 مل من حمض الكبريتيك المركز حتى تكون طبقة بنية مُمرة إشارة على وجود الـ Terpenoids.

الكشف عن السابونينات (Saponins): رُج 5 مليلتر من المستخلص المائي لمدة دقيقة في أنبوبة اختبار حتى ظهور رغوة كثيفة دامت لمدة 15 دقيقة دليل على وجود الـ Saponins (Edeoga et al., 2005).

الكشف عن الـ راتنج (Resins): أُضيف 5 مل من الهكسان (C_5H_{10}) إلى 0.1 جم من بودرة النبات متبوعاً بإضافة الكمية نفسها من محلول أسيتات النحاس مع الرج جيداً، ثم ترك المخلوطة حتى تتفصل الطبقات. ظهور لون أخضر دليل على وجود مواد راتنجية Resins (Ewansiha et al., 2016).

التحليل الإحصائي: نُفذت التجربة باستخدام التصميم العشوائي التام في تحليل أحادي الجهة. النسب المئوية حوّلت زواياً باستخدام $\text{Percentage Angle} = \text{Arcsin} \sqrt{\text{Percentage}}$ قبل تحليلها إحصائياً باستخدام برنامج Co Stat واختبار LSD تحت مستوى المعنوية ($P \geq 0.05$) للمقارنة بين متوسطات المعاملات.

النتائج

استهدفت التجربة اختبار تأثير المستخلصات المائية للنباتات تحت الدراسة بطريقة الطبق المسموم ضد نمو الفطر لميسليوم الفطر *Sclerotium* في الوسط الغذائي PSA. أشارت النتائج إلى وجود اختلاف في فعالية المستخلصات النباتية وتثبيطها لنمو الفطر (شكل 3) مقارنة بالشاهد، حيث أظهرت مستخلصات الحرمل،

المناقشة

استخدمت الدراسة 10 نباتات تتم ومحلّيًا تمثلت في الخروع، والسذاب، والحرمل، والبابونج، والإكليل، والقراص، والعاقول، وحشيشة الأرنب، والعطرشان، والشيح والتي جُفّت وجرى استخلاصها مائيًا، واختبارها بطريقة الطبق المسموم ضد الفطر *S. sclerotiorum* في الوسط الغذائي PSA، وأوضحت النتائج ظهور اختلافات معنوية في تثبيط الفطر ب درجات مختلفة، وكانت مُستخلصات حشيشة الأرنب، والحرمل والقراص أكثرها فعالية، يليها الخروع والإكليل، فيما كانت مُستخلصات العطرشان، والعاقول، والسذاب، والبابونج والشيح غير فعالة. تطابقت نتائج هذه الدراسة مع نتائج دراسات عديدة أشارت إلى اختلاف درجة تثبيط الفطر باختلاف المُستخلص المُستخدم (Dellavalle et al., 2011; Farooq et al., 2010; Masih et al., 2014; زوين وداود، 2015)، ويعود ذلك -ربما- إلى اختلاف كمية المواد الفعالة في مُستخلص كل نبات عن الآخر، كما أن اختلاف مناطق التثبيط بين المُستخلصات ربما يعود إلى سُمك الخيط الفطري الذي يؤدي دورًا واضحًا في التأثير بالمواد الفعالة، علاوة على أن ازدياد المساحة السطحية للخيوط الفطرية قد يؤدي إلى تأثرها أثناء امتصاص المواد المُتنبطة في المُستخلص، لذا فإنها تثبط نموها (Moss، 1986)، أو قد يعود التأثير إلى انتشار بعض المواد السامة والمُتنبطة للفطر في الوسط الغذائي لمنع النمو، وبناءً عليه إنتاج الأجسام الحجرية، كما ثبت تأثير المُستخلصات على البروتين، الكربوهيدرات، والدهون في الغشاء البلازمي لخلية الفطر ونفاذيته، وأيضًا تؤثر على مستقبلات الإنزيمات النووية (Rani et al., 2006).

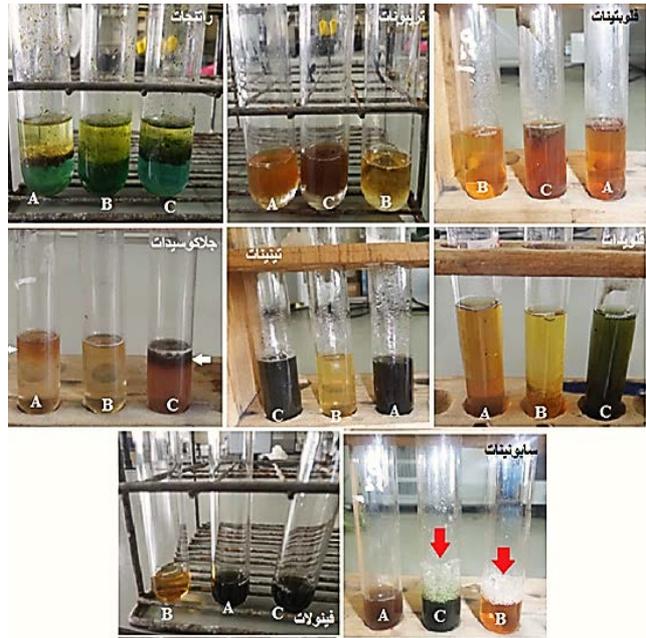
أكدت النتائج المُتحصّل عليها في هذه الدراسة فعالية نبات حشيشة الأرنب يليه نبات القراص، وهذا ربما يعود إلى احتوائها على مركبات كيميائية تطورت كمضادات فطرية. هذه النباتات قد تكون تكيفت بيئيًا لمقاومة العدوى الفطرية، وبمعنى آخر لديها آليات دفاعية وانوية والمعروف

سُجّلت القلويدات (Alkaloids) في نبات الحرمل فقط، واحتوى القراص وحشيشة الأرنب على الجلايكوسيدات (Glycosides)، الفينولات (Phenols)، التربينات (Terpenoids)، وثبت وجود الراتنجات (Resins) في جميع المُستخلصات، في حين ظهرت السابونينات (Saponins) في الحرمل والقراص فقط (شكل 4- سهم أحمر).

جدول (2). الكيمياء النباتية في الخُلاصات المائية الخام

المركبات الكيميائية	الحرمل	القراص	حشيشة الأرنب
قلويدات	+	-	-
أنثرونيات	-	-	-
فلافونويدات	-	-	+
جلايكوسيدات	-	+	+
فينولات	-	+	+
فلوتبينات	-	-	-
سابونينات	+	+	-
تينينات	-	+	+
تربينات	-	+	+
راتنجات	-	+	+

+ دليل وجود المركب الكيميائي
- دليل عدم وجود المركب الكيميائي



شكل (4). اختلاف الألوان ودرجاته باختلاف المركب الكيميائي في المُستخلص النباتي.

A: حشيشة الأرنب، B: الحرمل و C: القراص. (لاحظ رغوة السابونينات عند السهم)

تحت المجهر. تتضمن التغيرات العينية تغييراً في لون المستعمرة وشكلها، وتغيرات في عدد الخلايا، وحجم الخلية، وشكل الخلية، وعدد التراكيب المنتجة. فيما يتعلق بتأثير المستخلصات خلويًا ظهرت التغيرات في صورة خلايا فارغة من المحتويات، تثبيط تخليق DNA و RNA، البروتين والجدار الخلوي، فضلاً عن أن المركبات الفينولية تتداخل مع تخليق الجدار الخلوي والغشاء الخلوي وتؤدي إلى تحطمه وقتل الفطر.

استنتاج

سجّلت الدراسة تبايناً في فعالية المستخلصات المائية للنباتات المستخدمة ضد الفطر الممرض، وكانت خلاصات الحرمل، والفُراس وحشيشة الأرنب أكثرها كفاءة في تثبيط الفطر، وهذا يعود إلى اختلاف محتواها من المركبات الكيميائية المعروفة بنشاطها المضاد للميكروبات الدقيقة، وأن إدخال نبات تقليدي واسع الانتشار كمبيد طبيعي قد يساهم في تقليل تكاليف استعمال المبيدات في برامج مكافحة أمراض النبات.

الأخلاقيات البحثية

البحث جزء من رسالة ماجستير للباحث الأول تحت إشراف الباحث الثاني، كما أن جميع البيانات والصور أصيلة وليست مُقتبسة.

ازدواجية الاهتمام: يعلن المؤلفون أن المخطوطة جزء من رسالة ماجستير.

مساهمات المؤلف: البحث مستل من رسالة ماجستير والمؤلف الثاني هو المسؤول عن النسخة النهائية لهذه المخطوطة.

التمويل: يُقر المؤلف بعدم تلقي أي تمويل لدعم العمل.

المراجع

اليحيى، سامي بن عبدالعزيز. (2007). دور المستخلصات

بالبافيتواكسينات المضاد والمقاوم لهجوم الفطريات بسبب تعرضها الثابت للفطريات المتعايشة مع النبات المحصولي (Eloff et al., 2007)، وأشارت دراسات عديدة إلى أن النباتات التابعة للجنس *Helichrysum* تنتج مواد أيضية ثانوية وزيوت تعمل كمضادات فيروسية، مضادات فطرية، مضادات ميكروبية (Bigović et al., 2017; Sobhy & El-Feky, 2007; Tomás-Barberán et al., 1990).

أثبت الكشف الكيميائي اللوني على المواد الفعالة في مستخلص حشيشة الأرنب احتواءها مركبات الفينولات، الفلافونيدات، الجلايكوسيدات، التينينات، التريونوات وهي مركبات لها قدرة عالية على الذوبان في الماء (Akrou et al., 2012)، حيث تعمل حشيشة الأرنب مضاداً قوياً للفطر والتي ربما ترتبط بوجد مركبات الفلافونيدات المعروفة بتضادها القوي للفطريات والبكتيريا (Cushnie & Lamb, 2005; Saravanakumar et al., 2009).

دراسات التركيب الجزيئي لزيت نبات حشيشة الأرنب وأصناف أخرى تابعة للجنس نفسه سجّلت احتواء الزيت على مجموعة من المركبات كمان من أهمها: β - α -pinene، α -humulene، caryophyllene و limonene (Roussis et al., 2002; Sobhy & El-Feky, 2007)، ويعود فعل الفلافونيدات إلى قدرتها على التداخل مع البروتينات الخلوية وتكوين مُعقد بروتيني قابل للذوبان في الماء خارج الخلية مكون من جدار الخلية والأغشية البلازمية للميكروب بعد تمزيقها (Batchelder, 1996; Tsuchiya et al., 2004)، كما سجلت الدراسة أيضاً احتواءها على الفلافونيدات، التينينات والفينولات، وهذا يعود إلى وجود مجموعة الهيدروكسيل المرتبطة بمجموعة الفينول ذات العلاقة بسُميّة الميكروبات المجهريّة عن طريق الإنزيمات المؤكسدة للفينولات والتداخل مع مجموعات Sulfhydryl خلال مراحل تخليق البروتين (Arif et al., 2009)، وتعود الفعالية الحيوية للمواد الأيضية الثانوية إلى حدوث تغيرات مورفولوجية وخلوية في الكائنات الدقيقة. هذه التغيرات يُمكن أن تُدرس عينياً أو

- L.). *Agriculture and Biology Journal of North America*, 1(2), 163-166 .
- Apsara, S. G., Dhananjaya, V.K., Mallesha, H. and Ravikumar, K.R. (2012). Biological control of postharvest fungal pathogens of sweet oranges by *Plumeria latex*. *Asian J. Plant Sci. and Res*, 2(5), 613-619 .
- Arif, T., Bhosale, J., Kumar, N., Mandal, T., Bendre, R., Lavekar, G., & Dabur, R. (2009). Natural products-antifungal agents derived from plants. *Journal of Asian natural products research*, 11(7), 621-638 .
- Batchelder, T. (2004). The chemical anthropology of antimicrobial plants. *Townsend Letter for Doctors and Patients*(252), 130-134 .
- Bigović, D. J., Stević, T. R., Janković, T. R., Noveski, N. B., Radanović, D. S., Pljevljakušić, D. S., & Djurić, Z. R. (2017). Antimicrobial activity of *Helichrysum plicatum* DC. *Hemijaska industrija*, 71(4), 337-342 .
- Cushnie, T. T & Lamb, A. J. (2005). Antimicrobial activity of flavonoids. *International journal of antimicrobial agents*, 26(5), 343-356 .
- Datta, B., Das, A., & Ghosh, S. (2004). Fungal antagonists of some plant pathogens. *Mycopathology*, 1, 15-17 .
- Dellavalle, P. D ,Cabrera, A., Alem, D., Larrañaga, P., Ferreira, F., & Dalla Rizza, M. (2011). Antifungal activity of medicinal plant extracts against phytopathogenic fungus *Alternaria* spp. *Chilean journal of agricultural research*, 71(2), 231-239
- Dixit, S.N., Tripathy, S.C. & Upadhyey, R.R. (1974). The antifungal substances of rose flower (*Rose indica*). *Econ. Bot.*, 30: 371-374.
- النباتية الطبيعية في مقاومة الفطريات المسببة للأمراض النباتية. رسالة ماجستير. جامعة الملك سعود. السعودية. 154 صفحة.
- دراسة وتقييم الغطاء النباتي الطبيعي بمنطقة الجبل الأخضر - التقرير النهائي. (2005). جامعة عمر المختار. 946 صفحة.
- زوين، قيس كاظم وداود، حارث سمير. (2015). تأثير بعض المستخلصات النباتية وعامل المقاومة الأحيائية *Trichoderma harzianum* في التعفن الأبيض على الباذنجان المتسبب عن الفطر *Sclerotinia sclerotiorum*. مجلة جامعة تكريت للعلوم الزراعية، 15(1): 138 - 153.
- لاريد، أمينة امبارك (2013). بدائل آمنة لوقاية البصل (*Allium cepa*) المخزون من الإصابة بالفطر *Botrytis cinerea*. رسالة ماجستير - كلية الزراعة - جامعة عمر المختار - 110 صفحة.
- منصور، منصور سالم؛ سعيد، محمد علي؛ محمد، نورا علي، وادراهيم، نجوى عبدالستار. (2012). استخدام بعض المستخلصات النباتية في مكافحة بعض فطريات أعفان جذور الحمص. المجلة الليبية لوقاية النبات، 2(1): 77-93.
- Akrout, A., Mighri, H., Krid, M., Thabet, F., Turki, H., El-Jani, H., & Neffati, M. (2012). Chemical composition and antioxidant activity of aqueous extracts of some wild medicinal plants in southern Tunisia. *International Journal of Life Science and Medical Science*, 2(1), 1-4 .
- Amadi, J., Salami, S., & Eze, C. (2010). Antifungal properties and phytochemical screening of extracts of African basil (*Ocimum gratissimum*

- antibacterial activity of the essential oils of two *Helichrysum stoechas* varieties growing in the Island of Crete. *Journal of Essential Oil Research*, 14(6), 459-461 .
- Saravanakumar, A., Venkateshwaran, K., Vanitha, J., Ganesh, M., Vasudevan, M., & Sivakumar, T. (2009). Evaluation of antibacterial activity, phenol and flavonoid contents of *Thespesia populnea* flower extracts. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 22, 282- 286
- Schwan-Estrada, K., & Stangarlin, J. (2005). Extracts and essential oils of medicinal plants in the resistance induction against plant pathogens. *Piracicaba: FEALQ*, 125-138 .
- Sobhy, E., & El-Feky, S. (2007). Chemical constituents and antimicrobial activity of *Helichrysum stoechas*. *Asian Journal of plant sciences*, 6(4), 692-695
- Tao, Y., Zeng, F., Ho, H., Wei, J., Wu, Y., Yang, L., & He, Y. (2011). *Pythium vexans* causing stem rot of *Dendrobium* in Yunnan Province, China. *Journal of Phytopathology*, 159(4), 255-259 .
- Tomás-Barberán, F., Iniesta-Sanmartín, E., Tomás-Lorente, F & Rumbero, A. (1990). Antimicrobial phenolic compounds from three Spanish *Helichrysum* species. *Phytochemistry*, 29(4), 1093-1095 .
- Tsuchiya, H., Sato, M., Miyazaki, T., Fujiwara, S., Tanigaki, S., Ohyama, M., Tanaka, T., & Iinuma, M. (1996). Comparative study on the antibacterial activity of phytochemical flavanones against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of Ethnopharmacology*, 50(1), 27-34 .
- Edeoga, H. O., Okwu, D & Mbaebie, B. (2005). Phytochemical constituents of some Nigerian medicinal plants. *African journal of biotechnology*, 4(7), 685-688 .
- Eloff, J., Mdee, L., & Masoko, P. (2007). Invasive and weedy species can be used as a source of antifungal compounds to control plant fungal pathogens. *South African Journal of Botany*, 73(2), 287 .
- Ewansiha, J., Garba, S., Galadima, M., Daniyan, S., & Busari, M. (2016). Therapeutic potency of *Citrus limon* (L) Burm. F.(lemon) peel extract against some disease causing microorganisms. *International Journal of Research Studies in Biosciences*, 4(11), 30-39 .
- Farooq, M. A., Iqbal, U., Iqbal, S. M., Afzal, R., & Rasool, A. (2010). In-vitro evaluation of different plant extracts on mycelial growth of *Sclerotium rolfsii* the cause of root rot of sugar beet. *Mycopath*, 8(2), 81-84 .
- Masih, H., Peter, J., & Tripathi, P. (2014). A comparative evaluation of antifungal activity of medicinal plant extracts and chemical fungicides against four plant pathogens. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 3(5), 97-109 .
- Moss, S. (1986). *The biology of marine fungi*. Cambridge University Press, Cambridge, UK., ISBN: 0-521-30899- 2, pp: 76.
- Rani, P., Sudheer, S., & Devanand, P. (2006). Herbicidal potential of *Breynia retusa* leaf extract on *Calotropis gigantea*, *Parthenium hysterophorus*, *Datura metal* and *Tridax procumbens*. *Allelopathy Journal*, 17(1), 65-79 .
- Roussis, V., Tsoukatou, M., Chinou, I. B., & Harvala, C. (2002). Composition and