ResearchGate

See discussions, stats, and author profiles for this publication at: https://www.researchgate.net/publication/286473433

Effect of some essential oils and plant extracts on microbial contamination of date palm Phoenix dactylifera L. Propagated by tissue culture

Article · January 2012

CITATIONS
0

READS
65

3 authors:

Mohammed H Abass
University of Basrah
57 PUBLICATIONS **281** CITATIONS
SEE PROFILE

Ahmed Al-najm
The University of Sydney
5 PUBLICATIONS **23** CITATIONS
SEE PROFILE

A.A. Suhaim Alkhalifa
University of Basrah
3 PUBLICATIONS **0** CITATIONS
SEE PROFILE

Some of the authors of this publication are also working on these related projects:

effect of combination abiotic stress on date palm View project

The effect of Heavy Metals on Date Palm genome stability. View project

All content following this page was uploaded by Mohammed H Abass on 20 May 2016.

The user has requested enhancement of the downloaded file.

تأثير بعض الزيوت العطرية ومستخلصات بعض النباتات في التلوث الميكروبي ونمو وتطور نخيل التمر (*Phoenix dactylifera* L.) المكثر بزراعة الأنسجة

محمد حمزة عباس و أحمد رشيد عبد الصمد النجم و عقيل عبود سهيم الخليفة

مركز أبحاث النخيل، جامعة البصرة، البصرة، جمهورية العراق

الملخص:

أجريت هذه الدراسة في مختبرات مركز أبحاث النخيل- جامعة البصرة لدراسة تأثير تركيزات مختلفة من الزيوت العطرية والمستخلصات النباتية لنبات الحبة السوداء والقرنفل والريحان على بعض الملوثات الممرضة للأجزاء النباتية لصنفي نخيل التمر الأشقر والنيرسي المكثر نسيجيا وقد بينت الدراسة وجود ثلاثة أنواع فطرية مرافقة بشكل واسع للأجزاء النباتية وهي *Alternaria alternata* و *Aspergillus niger* و*Penicillium sp.* ونوعين من البكتريا هي *Staphylococcus aureus* و*Bacillus subtilis*، كما اتضحت الكفاءة التثبيطية العالية للزيوت العطرية (لزيت القرنفل وزيت الريحان) عند التركيز 20% وتأثير المستخلصات عند التركيز 200 جزء بالمليون في تثبيط النمو الشعاعي للملوثات الممرضة المدروسة على الأوساط الغذائية الصلبة PDA و CA. أدى استخدام الزيوت العطرية والمستخلصات مع الأوساط الغذائية المستخدمة للإكثار النسيجي إلى خفض النسبة المئوية للتلوث واسوداد الأجزاء النباتية إلى أدنى مستوى لها بالمقارنة مع معاملة الشاهد (الكونترول) وأن التركيز 20% من الزيوت العطرية و200 جزء بالمليون للمستخلصات أعطت أقل نسب للتلوث والاسوداد.

كما ظهر أن استخدام مستخلص الحبة السوداء بتركيز 300 جزء بالمليون ضمن مكونات الوسط الغذائي المستخدم للإكثار النسيجي أدى إلى تقليل الفترة الزمنية اللازمة لتكوين الأجنة الخضرية، وأعطت أعلى نسبة إنبات للأجنة بالمقارنة مع النوعين الآخرين من المستخلصات ومعاملة الشاهد (الكونترول).

الكلمات المفتاحية: الإكثار النسيجي، التلوث الميكروبي، الزيوت العطرية، المستخلصات النباتية، نخيل التمر.

المقدمة:

تحتل نخلة التمر Phoenix *dactylifera* L مكانة خاصة من الناحية الاقتصادية ولا سيما في القطاع الزراعي، وتكمن أهميتها في قيمة ثمارها الغذائية التي تحتوي على كميات مرتفعة من فيتامينات مجموعة (ب) وخاصة الثيامين B1 والرايبوفلافين B2 والنياسين B7، ويعتبر البلح من الثمار الغنية بفيتامين (أ) كما أنها تعتبر مصدرًا جيداً لحامض الفوليك ولهذه الفيتامينات أهمية في تقوية العضلات والنمو السليم (البكر، 1972).

تعرضت أشجار النخيل في العراق إلى نقص حاد في أعدادها وتدنٍ كبير في مستويات إنتاجها، ولقلة الفسائل التي تنتجها النخلة الواحدة (Abass, 2013a) 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 Microorganism contamination، إذ تسبب تعفن الأجزاء النباتية واسمرار وتحطم الأنسجة، الأمر الذي يؤدي إلى موت النسيج الحي تحت تأثير إفراز المواد السامة والمثبطة للنمو والإنزيمات المحللة من قبل الأحياء الملوثة، وتعد الفطريات Fungi والبكتريا من المجاميع الرئيسية التي تسبب التلوث في مزارع أنسجة نخيل التمر وبنسب عالية جدا، ما يعني حدوث خسائر كبيرة في أعداد الزروعات النباتية (الكعبي، 2005، الموسوي، 2010). وبينت العديد من الدراسات المحلية مدى خطورة التلوث الميكروبي بشقيه الفطري والبكتيري في مزارع أنسجة نخيل التمر (ماضي، 2002، الكعبي، 2005، عباس وآخرون، 2007، الموسوي، 2010، الدوسري وآخرون، 2011، و Abass , 2013b). أشار عباس وآخرون (2007) إلى سيادة بعض الأنواع الفطرية في مزارع الأنسجة الملوثة ومن أهمها الأجناس التالية: *Aspergillus* و *Alternaria* و *Penicillium*، كما بينوا أن هذه الفطريات تميت بفعاليتها الإنزيمية التحليلية العالية ولا سيما أنزيمات السليليز واللاييبز والبروتيز، مما يؤشر إلى مدى خطورة هذه الملوثات على مزارع الأنسجة.

أما ما يتعلق بمشكلة التلوث البكتيري Bacterial contamination فتعد من المشاكل المهمة والمستعصية أحياناً (ماضي، 2002، الموسوي، 2010)، والتي تشكل بحد ذاتها تحديًا خطيرًا يواجه زراعة الأنسجة لعديد من النباتات الاقتصادية عمومًا والنخيل بوجه خاص (الدوسري وآخرون، 2011). وتتأتى هذه الخطورة من كون التلوث البكتيري يسبب تلفا للجزء النباتي المصاب (Al-Hadethy *et al*., 2007; Odutayo *et al*., 2007). وبينت بعض الدراسات أن نسبة التلوث البكتيري في مزارع الأنسجة قد تصل أحيانًا إلى نسبة 20- 50% (Leary *et al*., 1986، ماضي، 2002، الموسوي، 2010، الدوسري وآخرون، 2011)، ولا سيما خلال الأشهر الأولى من برنامج الزراعة النسيجية. كما تم عزل العديد من الأجناس البكتيرية الملوثة في مراحل متقدمة من زراعة الأنسجة (Veramendi and Navarro, 1997). عزلت العديد من الأجناس البكتيرية من مزارع أنسجة نخيل التمر ومن بينها جنس المكورات العنقودية *Staphylococcus* وجنس العصويات *Bacillus* وجنس *Seratia* وجنس *Proteus* (الموسوي، 2010، الدوسري وآخرون، 2011).

يعد استخدام الزيوت العطرية والمستخلصات النباتية أحد الاتجاهات الحديثة في الوقاية والتي ظهرت لغرض حماية المحصول من الممرضات (Wungsintaweekul *et al*.,2010; Karsha and Lakshmi, 2010; Boligon *et al*., 2013; Rozarina, 2013)، تعتبر الزيوت العطرية Essential Oils مركبات توجد كمواد أيضية في النبات(Doman and Deans, 2000; Victor and Grace, 2013)، كما أنها تتميز بأنها تتبخر أو تتطاير دون تحللها عند تعرضها للحرارة (Li *et al*., 2012). وتكون عديمة اللون أو ذات لون أصفر محمر قليلاً (حسين، 1981). وتتواجد الزيوت الأساسية إما في جميع أجزاء النبات كما في نبات النعناع أو في الثمار كما في نبات الكرادية أو في قشور الثمار أو في الأزهار أو في الأوراق مثل اليوكالبتوز أو في الجذور (Deans *et al*., 1992) ، وتتواجد الزيوت الأساسية بنسب قليلة أو ضئيلة في النباتات ولكنها تمتلك فعالية مضادة قوية للميكروبات (Shahid *et al*., 2013). وتعد المستخلصات

النباتية مركبات طبيعية مشتقة من أصول نباتية. كما أن استخدام المستخلصات النباتية الطبيعية ظهر واستقر كوسيلة أولية وأساسية لحماية الإنتاج الزراعي والبيئة من التلوث بالمبيدات (Souza *et al.*, 2005) وهذه مشكلة عالمية. ولقد تم الاتفاق على أن المستخلصات النباتية ذات ميزات عديدة أكثر من الكيميائيات المصنعة ومن هذه الميزات:

1. المستخلصات النباتية بوجه عام ذات سمية منخفضة على الثدييات (Hammer *et al.*, 1999)
2. لا تحدث أضراراً معاكسة على نمو النباتات (Doman and Deans, 1999).
3. المركبات النباتية أقل كلفة ويسهل الحصول عليها بسبب التواجد الطبيعي لها (عباس وآخرون، 2007، الدوسري وآخرون، 2011).
4. سريعة التحطم ولا تترك متبقيات في البيئة (الجبوري، 1993).

لقد حاول العديد من الباحثين إثبات الفعالية المضادة للميكروبات لمستخلصات العديد من النباتات، فقد أشار عباس وآخرون (2007) إلى كفاءة مستخلص نبات الحناء في تثبيط الفطريات الملوثة لمزارع أنسجة خمس أصناف من نخيل التمر مقارنة بالمبيد الفطري Benlate. كما بين الدوسري وآخرون (2011) الفعالية التثبيطية العالية لعدد من المستخلصات النباتية ضد الأجناس البكتيرية الشائعة كملوثات في مزارع أنسجة نخيل التمر، حيث تفوقت معاملة مستخلص نباتي السماق والعلك المر في تثبيط البكتريا الملوثة.

تهدف هذه الدراسة إلى البحث عن مصادر طبيعية آمنة تتمثل في العثور على نباتات تمتلك عصارتها وزيوتها فعالية تثبيطية عالية ضد الفطريات والبكتريا الملوثة للزراعة النسيجية، وتمثلت أهداف الدراسة بما يلي:

1. دراسة تأثير الزيوت العطرية والمستخلصات النباتية على عدد من الملوثات الشائعة للأجزاء النباتية في الزراعة النسيجية.

2. دراسة تأثير إضافة الزيوت العطرية والمستخلصات النباتية ضمن مكونات الوسط الغذائي في نمو وتطور الأجزاء النباتية وتكوين النموات الخضرية لنخيل التمر المكثر بزراعة الأنسجة النباتية.

المواد وطرق العمل

1. استئصال الأجزاء النباتية:

استخدمت في هذه الدراسة فسائل نخيل التمر صنفي الأشقر والنيرسي حيث تم قلع عدد من الفسائل Offshoots بعمر أربع سنوات من بساتين منطقة أبي الخصيب في محافظة البصرة، شرحت الفسائل بواسطة سكين وأزيلت أوراقها وألیافها تصاعدياً، استأصل البرعم القمي Shoot Tip (الجمارة) والذي يبدو بهيئة جسم هرمي بارتفاع 10 ملم وقطر قاعدة 10 ملم مع طبقة لحمية 1 ملم تقريباً تساعد على تماسك الأوراق كما تم استئصال البراعم الإبطية. وبعد استئصال الأجزاء النباتية تم وضعها في محلول مضاد للأكسدة Antioxidant Solution والذي يتكون من 100 ملغم/لتر من حامض الأسكوربيك Ascorbic Acid و 150 ملغم/لتر من حامض ألستريك Citric Acid . حفظت الأجزاء النباتية في الثلاجة على درجة 5 م^{o} لمدة 24 ساعة لحين إجراء عملية التعقيم السطحي (Tisserat, 1988).

2. التعقيم السطحي للأجزاء النباتية Surface Sterilization:

أجريت عملية التعقيم السطحي للأجزاء النباتية بعد إخراجها من المحلول المضاد للأكسدة وقسمت البراعم القمية إلى أربعة أجزاء متساوية قدر الإمكان بواسطة مشارط وملاقط معقمة ووضعت الأجزاء النباتية في وعاء زجاجي يحتوي على القاصر التجاري الكلوركس 20% حجم/حجم يحتوي على هيبوكلورايت الصوديوم Sodium Hypochlorite مضافاً إليه قطرة واحدة من المادة الناشرة Tween 20 لكل 100 سم^{3} من المحلول مع الرج والتحريك بين الحين والآخر ولمدة 15 دقيقة. وكذلك استخدمت معاملات مختلفة من الزيوت العطرية كانت كالآتي 0 و 10 و 20 و 30 % والمستخلصات 0 و 100 و 200 و 300 جزء بالمليون لغرض التعقيم وبعدها استخرجت

الأجزاء النباتية من محلول التعقيم وغسلت بالماء المقطر المعقم. تمت هذه العملية على منضدة انسياب الهواء الطبقي Laminar air flow cabinet المعقمة مسبقاً بالإيثانول 70% (Tisserat, 1988).

3. تحضير الوسط الغذائي Preparation of nutrient medium:

تكون الوسط الغذائي من مجموعة الأملاح اللاعضوية لوسط MS وتحضر هذه الأملاح بالمختبر على شكل محلول أساس Stock solution يتكون من خمس مجموعات (Murashige and skooge,1962). زرعت الأجزاء النباتية على أوساط غذائية حاوية على التراكيز 0 و 100 و 200 و 300 جزء بالمليون من المستخلصات النباتية. فضلا عن إضافة تراكيز مختلفة من الزيوت العطرية إلى الوسط الغذائي بعد عملية التعقيم لتقدير النسبة المئوية للتلوث والاسوداد للأجزاء النباتية. ولقد احتوى الوسط الغذائي على المكونات الآتية: السكروز Sucrose (30 غم/لتر)، أورثو فوسفات الصوديوم الحامضية Sodium hydrogen ortho phosphates(0.170 غم/لتر)، ميزو إينو سيتول Meso inositol (0.100 غم/لتر)، كبريتات الأدنين Adenine sulphates (0.040 غم/لتر)، ثيامين- Thiamine-HCL HCL (0.0005 غم/لتر)، بايوتين Biotin (0.001 غم/لتر)، نيكوتين آمايد Nicotine amide (0.001 غم/لتر)، اوكسين NAA (0.001 غم/لتر)، سايتوكاينين 2iP (0.001 غم/لتر)، فحم منشط Activated charcoal (1 غم/لتر) وألاجار Agar (7 غم/لتر).

4. تحضير الزيوت العطرية والمستخلصات النباتية:

أ- جمع العينات:

جمعت عينات نباتات الحبة السوداء *Nigella sativa* والقرنفل *Syzygium aromaticum* وبذور الريحان *Ocimum basilicum* من السوق المحلية في محافظة البصرة وطحنت للحصول على مسحوق متجانس حفظ في الثلاجة على درجة حرارة 4 م° لحين الاستعمال.

ب- عزل الزيوت العطرية:

عزلت الزيوت العطرية Essential oils من العينات حسب طريقة Farag *et al.* (1989)، وذلك بمزج 70 غم من العينة النباتية مع 750 مل من الماء المقطر في دورق سعته 2 لتر، وتم تحضير الزيوت بطريقة التقطير البخاري، جمع بعدها الزيت وفصل عن الماء باستخدام قمع فصل بواسطة المذيب *n*- hexane، وبخر بعدها المذيب باستخدام المبخر الدّوارRotary Evaporator بدرجة حرارة 40م°.

تم حساب أوزان الزيوت المعزولة وحساب النسب المئوية للزيوت في كل عينة حسب المعادلة التالية:

$$\text{النسبة المئوية للزيت} = \frac{\text{وزن الزيت}}{\text{وزن العينة}} \times 100$$

حضرت التراكيز 0 ، 10 ، 20 ، 30 % الزيوت العطرية لبذور القرنقل والريحان لغرض دراسة فعاليتها التثبيطية.

5. تحضير المستخلصات:

أ- عملية الاستخلاص:

تم وزن 100 غم من مسحوق النباتات ونقع في 500 مل من الكحول المثيلي إذ مزج بواسطة مازج مغناطيسي Magnatic Stirrer لمدة ساعة واحدة، ثم تركت الخلائط لمدة يوم واحد بدرجة حرارة الغرفة، تلتها عملية الترشيح باستعمال ورق ترشيح نوع Whatman No.1.

جرت عملية إزالة المذيب باستعمال جهاز المبخر الدوار Rotary Evaporator تحت الضغط المخلخل وعلى درجة حرارة 37 م°، وحفظ الناتج في الثلاجة لحين الاستعمال (العبادي، 2003).

حضر محلول قياسي Stock solution من المستخلص بالإذابة بماء مقطر معقم للحصول على التركيزات المراد دراستها 0 و 100 و 200 و 300 جزء بالمليون.

6. عزل وتشخيص بعض الملوثات لمزارع أنسجة نخيل التمر وحساب النسبة المئوية لظهورها:

أ- عزل وتشخيص الفطريات الملوثة:

بدأت عملية عزل الأنابيب الملوثة التي تمثل الأجزاء النباتية من نخيل التمر النسيجي، وذلك بالعزل على الوسط الغذائي PDA المضاف له المضاد الحيوي Chloramphenicol بتركيز 150 ملغم/لتر. حضنت الأطباق في الحاضنة على درجة حرارة 30±1 م° ، بعد ظهور النموات نقلت إلى أطباق حاوية على الوسط الغذائي نفسه.

شخصت الفطريات المعزولة اعتمادا على المفتاح التصنيفي Ellis (1971). وحسبت النسبة المئوية لظهور النوع كالآتي:

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

نقيت الأنواع عن طريق زراعة بوغ مفرد Single Spore على وسط غذائي PDA في أنابيب مائلة.

ب- عزل وتشخيص البكتريا الملوثة:

جمعت العينات النباتية الملوثة بالبكتريا والتي ظهرت على شكل حلقة بيضاء اللون إلى حليبية تحيط بالجزء النباتي الملوث على سطح الأجار، وتم العزل على الوسط الزرعي Complete Agar (CA). حضنت الأطباق المعزولة على درجة حرارة 25 م° لمدة 24-48 ساعة. وأجريت بعد ذلك العديد من الاختبارات التشخيصية للبكتريا لغرض تحديد نوع الملوث البكتيري، وكانت الاختبارات كالآتي:

صبغة جرام، إنتاج الاندول، كبريتيد الهيدروجين، الكاتاليز، اختبار الأكسدة/التخمر، اختبار فوكس بروس كاور، استهلاك السترات وإنتاج انزيم اليوريز. تم اعتماد الطرق الموصوفة في Collee *et al* (1996) لغرض إجراء الاختبارات سالفة الذكر، حيث تم حساب النسبة المئوية في العينات الملوثة كما في المعادلة أعلاه.

7. تأثير الزيوت العطرية والمستخلصات في الفعالية التثبيطية ضد الميكروبات الملوثة:

أ- النسبة المئوية لتثبيط النمو الشعاعي للفطريات الملوثة:

حضر الوسط الغذائي الصلب PDA وعقم في جهاز التعقيم البخاري، ترك ليبرد بعد التعقيم ليضاف له تركيز مستخلص النباتات 1 و2.5 و5 % للمذيب الاثيلي، رج المخلوط جيدًا وصب في أطباق بتري معقمة قطر 9 سم، بعد تصلب الوسط لقح بأقراص قطرها 0.5 سم من حافة مستعمرة كل فطر ملوث، مع تنفيذ معاملتي مقارنة (الشاهد) لكل نوع مذيب (كحول) وأخرى بدون أي إضافة، كررت كل معاملة خمس مرات حضنت الأطباق في الحاضنة على درجة حرارة 30±1م° وتم حساب معدل النمو الشعاعي لحين وصول النمو إلى حافة الطبق. (Iqbal *et al.*, 2004) حسبت النسبة المئوية للتثبيط النمو الشعاعي.

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

ب- النسبة المئوية لتثبيط نمو البكتريا الملوثة:

اعتمدت الطريقة الموصوفة في Perez *et al.* (1990) في تحديد الأثر التثبيطي للمستخلصات النباتية والزيوت العطرية بعد تحضيرها. حضر الوسط الغذائي Muller Hinto Agar (MHA) وحسب بمعدل 20 مل لكل طبق، ترك ليتصلب ومن ثم أضيف العالق الجرثومي بمعدل 0.1 مل وبكثافة ضوئية 0.1 على طول موجي 540 نانوميتر. تركت الأطباق بعدها لمدة نصف ساعة لتعمل ثقوب بمعدل ست ثقوب بقطر 8 ملم لكل طبق. أضيف 100 مايكروليتر من المستخلص النباتي والزيت العطري المراد دراسة تأثيره، ثم حضنت الأطباق على درجة حرارة 25 م° لمدة 24 ساعة، ليقاس بعد ذلك قطر التثبيط لكل معاملة.

8. تأثير المستخلصات النباتية في التلوث والاسوداد ونمو وتطور الأجزاء النباتية لنخيل التمر:

اعتمدت الطريقة السابقة ذاتها في إعداد الوسط الغذائي وزراعة الأجزاء النباتية لصنفي نخيل التمر الأشقر والنيرسي، مع إضافة تركيزات الزيوت العطرية 10 و 20 و 30% والمستخلصات 100 و 200 و 300 جزء بالمليون بعد تعقيم الوسط الغذائي وانخفاض درجة الحرارة إلى أقل من 40م°، استعملت أنابيب اختبار بحجم 2.5×18سم احتوت على 20سم3 من الوسط الغذائي. وتم ضبط الرقم الهيدروجيني على pH 5.7 وتضمنت التجربة زراعة الأجزاء النباتية بواقع خمسة مكررات لكل معاملة. حضنت الزروعات بدرجة حرارة 27±1م° في الظلام لمدة أربعة أشهر ثم نقلت تحت شدة إضاءة 1000 لوكس لمدة 16 ساعة يومياً. وأجريت عملية إعادة الزراعة كل أربعة أسابيع.

وأخذت المؤشرات الآتية:

1. النسبة المئوية للتلوث (تلوث الأجزاء النباتية) = $\frac{\text{عدد الأجزاء النباتية الملوثة}}{\text{عدد الأجزاء النباتية الكلي}} \times 100$

2. النسبة المئوية للاسوداد (موت الأجزاء النباتية) = $\frac{\text{عدد الأجزاء النباتية الميتة}}{\text{عدد الأجزاء النباتية الكلي}} \times 100$

3. الفترة الزمنية لإنبات الأجنة الخضرية ونسبة الإنبات (لعشرة أجنة مزروعة)

9. التحليل الإحصائي:

تم إجراء جميع تجارب هذه الدراسة حسب التصميم تام العشوائية CRD بالتجارب العاملية. تمت مقارنة المتوسطات حسب طريقة أقل فرق معنوي المعدل Revised Least Significant Difference (R.L.S.D) تحت مستوى احتمالية 1%. (الراوي وخلف الله، 1980).

النتائج والمناقشة:

أظهرت نتائج عزل الملوثات الموضحة في الجدول (1) من مزارع الأنسجة لنخيل التمر سيادة ثلاثة أنواع من الفطريات وهي *Alternaria alternata* و *Aspergillus niger* و *Penicillium sp.* وتتفق هذه النتائج مع ما وجده عباس وآخرون (2007) ومحسن (2010) والمياحي وآخرون (2010) من سيادة هذه الأنواع كملوثات مهمة وخطيرة في مزارع أنسجة نخيل التمر. كما تم عزل نوعين من البكتريا الملوثة وهي *Staphylococcus aureus* و*Bacillus subtilis* وهذا يتفق مع ما وجده ماضي (2002) والدوسري وآخرون (2011) إذ عزلوا هذه الأنواع من البكتريا من مزارع نخيل التمر المكثرة بتقنية زراعة الأنسجة، وبينوا السيادة العالية لهذه البكتريا في مراحل مختلفة من إكثار نخيل التمر نسيجيًا.

جدول (1)

النسب المئوية لظهور الفطريات والبكتريا المعزولة من مزارع أنسجة نخيل التمر

الفطريات	النسبة المئوية للظهور
Alternaria alternata	28.5
Aspergillus niger	26.0
Penicillium sp1.	20.5
Staphylococcus aureus	10.0
Bacillus subtilis	15.0

أظهرت نتائج التحليل الإحصائي في الجدول (2) وجود تأثيرات معنوية لتركيزات الزيوت العطرية في النسبة المئوية لتثبيط النمو الشعاعي لبعض الملوثات المعزولة من مزارع أنسجة نخيل التمر وبغض النظر عن نوع الزيت العطري، إذ لوحظ أن استخدام التركيز 20% سجل أعلى نسبة تثبيط لأغلب الملوثات المعزولة وبفارق معنوي عن التركيزات الأخرى ومعاملة الشاهد إذ بلغت النسبة 87,17%، كما لوحظ أن الزيوت

العطرية أدت إلى تثبيط النمو الشعاعي لجميع الملوثات الفطرية. أما بالنسبة لتأثير التركيز مع نوع الملوث فلوحظ أن التركيز 20% أدى إلى رفع النسبة المئوية للتثبيط مع الفطر *A. alternata* إذ بلغت النسبة 91.6% وبفارق معنوي عن الفطريات الملوثة الأخرى. وأشارت نتائج الجدول نفسه إلى كفاءة التركيز 20% في تسجيل أعلى تثبيط يذكر للبكتريا الملوثة إذ بلغ 9 ملم، واختلف بشكل عال المعنوية عن باقي التركيزات، ولم تختلف حساسية الملوثين البكتيريين معنويًا فيما بينهما تجاه الفعل التثبيطي للزيوت العطرية.

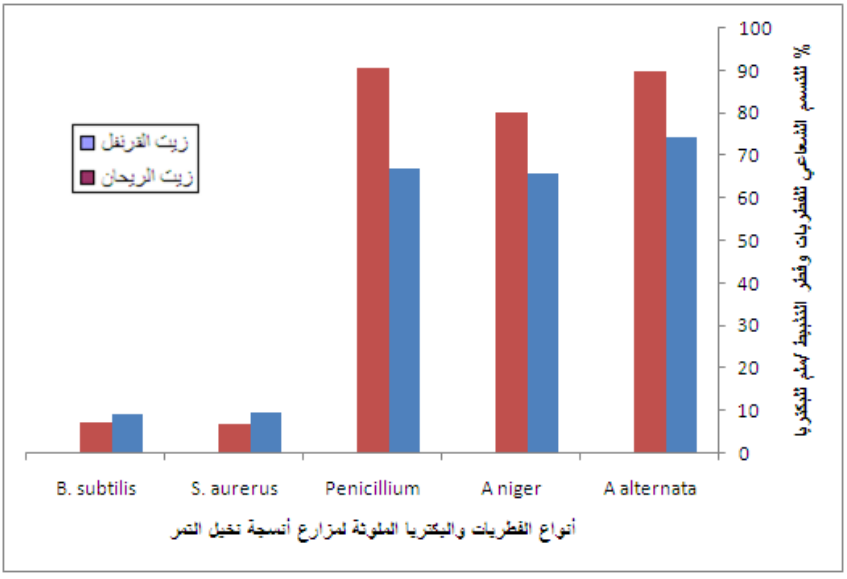
جدول (2)

تأثير تركيزات الزيوت العطرية على النسبة المئوية لتثبيط النمو الشعاعي لبعض الملوثات المعزولة لأنسجة نخيل التمر

الفطريات	تركيز الزيوت العطرية (%)				متوسط الملوث	(0.01) R.L.S.D
	0	10	20	30		
A. alternate	0.0	60.0	91.6	73.3	56.22	لمتوسط الملوث = 2.44
A. niger	0.0	53.3	83.3	71.6	52.05	لمتوسط التركيز = 2.08
Penicillium sp.	0.0	56.6	86.6	58.3	50.37	للتداخل =1.82
متوسط التركيز	0.0	56.62	87.17	67.73		
البكتريا	تركيز الزيوت العطرية (%)				متوسط الملوث	
	القطر التثبيطي للبكتريا (ملم)					
	0	10	20	30		
S. aureus	0.0	5.6	9.0	7.1	5.4	
B. subtilis	0.0	6.1	9.0	6.3	5.3	
متوسط التركيز	0.0	5.85	9.0	6.7		

كما توضح نتائج الشكل (1) تأثير نوع الزيت العطري على النسبة المئوية لتثبيط النمو الشعاعي للملوثات المعزولة وبغض النظر عن التركيز، إذ لوحظ أن كلا النوعين من الزيت العطري لنباتي القرنفل والريحان كانا ذا كفاءة عالية في تثبيط النمو

لأغلب الملوثات المعزولة إذ تبين أن زيت القرنفل أدى إلى نسب تثبيط عالية مع الفطريات سجلت أعلاها مع الفطر *Penicillium* إذ بلغت نسبة التثبيط 90.5 % ولم تختلف معنويا عن الفطر *A. alternata* والتي بلغت 89.9 %. في حين لوحظ أن زيت الريحان سجل نسبة تثبيط عالية مع البكتريا المعزولة بلغ أعلى المعدلات في معاملة البكتريا *S. aureus* وكان 9.3 ملم. ولم يسجل أي تأثير يذكر لزيت الحبة السوداء في نمو الفطريات والبكتريا المعزولة لذا تم استبعاده.



شكل (1): تأثير الزيوت العطرية على نمو الفطريات والبكتريا الملوثة لمزارع أنسجة نخيل التمر

R.L.S.D لنوع الزيت = 2.88 R.L.S.D لنوع الملوث = 3.04

أشارت النتائج السابقة إلى تباين فعالية الزيوت العطرية في فعاليتها (الضد ميكروبية)، إذ أعطى الزيت العطري المعزول من نبات القرنفل وبذور الريحان أعلى فعالية مضادة لنمو الميكروبات الملوثة لمزارع أنسجة نخيل التمر. وأن الفعالية (الضد ميكروبية) لهذه الزيوت يمكن أن تعود إلى ما يحتويه هذا الزيت من المركبات الفينولية المعروفة بفعاليتها التضادية العالية، إذ أشار Nzeak and AL-Lawati (2008)

إلى أن الزيت العطري المعزول من نبات القرنفل غني بمركب Eugenol الفينولي الذي يمتلك فعالية مضادة للفطريات، أما زيت الريحان فيحتوي على حامض الروزمارنيك Rosmarinic acid والذى يعد من أقوى مضادات الأكسدة المعروفة بجانب العديد من المركبات مثل Methylcinnamate, Oleonolic acid, Eugenol, Ursolic acid, Thymol, Estragole, Myrcene, Limonene, Cineole . بينت النتائج أن الزيت العطري المعزول من نبات القرنفل له فعالية تثبيطية عالية لأنواع كثيرة من الملوثات، كذلك تناولت العديد من الدراسات استعمال زيت القرنفل في تسجيل فعالية تثبيطية عالية ضد أنواع فطرية عديدة (Souza *et al*., 2005).

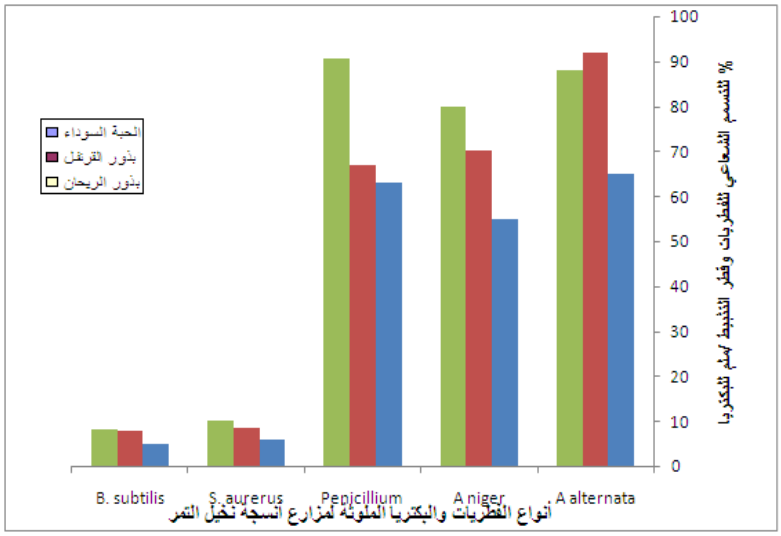
أوضحت نتائج الجدول (3) وجود تأثير معنوي لتركيز المستخلصات المستخدمة في النسبة المئوية لتثبيط النمو الشعاعي وبغض النظر عن نوع المستخلص، إذ لوحظ أن استخدام التركيز 200 جزء بالمليون سجل أعلى نسبة تثبيط لأغلب الملوثات المعزولة وبفارق معنوي عن التركيزات الأخرى ومعاملة المقارنة (الشاهد) إذ بلغت النسبة 74.60%، كما لوحظ أن المستخلصات أدت إلى تثبيط النمو الشعاعي للفطر *A. alternata* إذ بلغت النسبة 54.75% وبفارق معنوي عن باقي الملوثات. أما بالنسبة لتأثير التداخل فلوحظ أن التركيز 300 جزء بالمليون أدى إلى تسجيل أعلى نسبة تثبيط ضد الفطر *A. alternata* إذ بلغت 86,8% وبفارق معنوي عن التداخلات الأخرى ومعاملة المقارنة (الشاهد). أما عن البكتريا فبينت نتائج الجدول نفسه أن التركيز 200 جزء بالمليون كأن الافضل في تثبيط نمو البكتريا وبمعدل بلغ 9.75 ملم. كذلك سجل أعلى معدل تثبيط مع البكتريا *S. aureus* في التركيز 200 جزء بالمليون إذ بلغ معدل التثبيط 10 ملم.

جدول (3)

تأثير تركيزات المستخلصات النباتية في النسبة المئوية لتثبيط النمو الشعاعي لبعض الملوثات المعزولة لأنسجة نخيل التمر

الملوثات	تركيز المستخلصات النباتية (جزء بالمليون)				متوسط الملوث	(0.01)R. L.S.D
	0.0	100	200	300		
A. alternata	0.0	52.2	80.0	86.8	54.75	لمتوسط الملوث = 2.02
A. niger	0.0	40.0	70.0	66.6	44.15	لمتوسط التركيز = 2.88
Penicillium sp1	0.0	38.0	74.0	57.7	42.42	للتداخل =1.62
متوسط التركيز	0.0	43.40	74.60	70.36		
البكتريا	تركيز المستخلصات النباتية (جزء بالمليون) القطر التثبيطي للبكتريا (ملم)				متوسط الملوث	
	0.0	100	200	300		
S. aureus	0.0	4.6	10.0	8.7	5.8	
B. subtilis	0.0	6.1	9.5	9.6	6.3	
متوسط التركيز	0.0	5.35	9.75	9.15		

أما الشكل (2) فيبين تأثير نوع المستخلص بغض النظر عن التركيز على النسبة المئوية لتثبيط النمو الشعاعي للملوثات المعزولة من مزارع أنسجة نخيل التمر، إذ تبين وجود فروق معنوية بين المستخلصات في تثبيط الملوثات، حيث سجل تفوق مستخلص القرنفل في الحد من النمو الشعاعي لأغلب الملوثات المعزولة وبفارق معنوي عن المستخلصات الأخرى عدا تفوق مستخلص بذور الريحان في نسبة تثبيط الفطر *A. alternate* والتي بلغت نسبة التثبيط فيها 92%، في حين لم يختلف التأثير التثبيطي لمستخلص القرنفل وبذور الريحان في نسبة تثبيط كلا نوعي البكتريا المعزولة والذي اختلف معنويا عن مستخلص الحبة السوداء.



شكل (2): تأثير المستخلصات النباتية على النسبة المئوية لتثبيط النمو الشعاعي لبعض الملوثات لأنسجة نخيل التمر

R.L.S.D لنوع المستخلص = 3.62 R.L.S.D لنوع الملوث = 2.84

إن الكفاءة الجيدة للمستخلصات النباتية التي بينتها الدراسة الحالية قد تعزى إلى المحتوى الكيميائي لتلك المركبات النباتية المهمة ولا سيما المركبات التانينية والفينولية والتي لها فعالية عالية في الحد من نمو الفطريات والبكتريا الملوثة لمزارع الأنسجة

(Ghalem and Mohamed, 2008, Adwan *et al.*, 2006). أما التثبيط العالي لنمو الفطريات الذي أشارت إليه تجارب الدراسة الحالية فقد تدرج من تحديد لنمو الفطريات الملوثة Fungistatic effect ووصل في بعض الحالات إلى تثبيط كلي لنمو الفطريات Fungicide effect. وأشار بعض الباحثين إلى وجود تخصص في فاعلية كل مستخلص معزول من نبات معين قد يؤثر على الجدار الخلوي أو البروتينات لزيادة القدرة التثبيطية على الفطريات (حتيت، 2009). وقد تعزى هذه السمية القاتلة للأحياء المجهرية إلى كون هذه المركبات قادرة على تغيير طبيعة البروتينات والإضرار بالأغشية الخلوية (Cowan, 1999) كما أكد كل من Taniguch *et al.* (1988) أن فعالية

المستخلصات النباتية تتركز في تحطيم تراكيب الأغشية الخلوية للخلايا الميكروبية، كما وجد أن هذه المستخلصات تؤثر في عملية الانقسام في الخلايا الميكروبية. واتفقت نتائج الدراسة الحالية مع دراسات سابقة أثبتت فعالية مستخلصات القرنفل والحبة السوداء في تثبيط نمو الفطريات (عباس، 2010، Agarwa *et al.*, 1979). كما أوضحت العساف وآخرون (2011) الدور التثبيطي لمستخلص الحبة السوداء ضد بعض الفطريات ولا سيما المستخلصات الكحولية للحبة السوداء ضد الفطر *A. niger* . كما اتفقت مع دراسة المياح وآخرين (2010) الذين بينوا دور مستخلص الريحان والحبة السوداء في تثبيط العديد من الجراثيم (الملوثات البكتيرية) إذ سجلت فعالية تثبيطية عالية.

تشير النتائج الموضحة في الجدول (4) إلى وجود تأثير معنوي للزيت العطري في النسبة المئوية لتلوث الأجزاء النباتية ولصنفي النخيل، إذ تبين أن زيت القرنفل في معاملة صنف الأشقر أعطى أعلى كفاءة في تخفيض نسبة التلوث إلى أدنى مستوى لها وبلغت 34.4% وبفارق معنوي عن زيت الريحان الذي بلغت كفاءته 38.8%، في حين لوحظ أن لتركيز الزيت الأثر الأكبر في تخفيض نسبة التلوث؛ إذ سجل أن استخدام التركيز 20% أدى إلى تقليل نسبة التلوث إلى أدنى مستوى لها حيث بلغت 13.3% وبفارق معنوي عن التركيز 30% ومعاملة المقارنة (الشاهد). أما بالنسبة لتأثير التداخل بين نوع الزيت والتركيز فيلاحظ أن التركيز 20% لزيت القرنفل أعطى أعلى كفاءة لتقليل نسبة التلوث بلغت 6.6%. أما بالنسبة لتأثير نوع وتركيز الزيت العطري في النسبة المئوية لاسوداد الأجزاء النباتية فلوحظ أن زيت الريحان أدى إلى خفض نسبة الاسوداد للأجزاء النباتية وبفارق معنوي عن زيت القرنفل بلغ 37.7 %، في حين أن التركيز 20% أدى إلى تقليل نسبة الاسوداد إلى أدنى مستوى لها بلغ 21.6% وبفارق معنوي عن باقي التركيزات.

جدول (4)

تأثير نوع وتركيز الزيوت العطرية على النسبة المئوية لتلوث واسوداد الأجزاء النباتية لصنفي نخيل التمر المكثر خارج الجسم الحي

نوع الزيت		صنف الأشقر* تركيز الزيت العطري (%) 0	20	30	معدل الزيت	صنف النيرسي تركيز الزيت العطري (%) 0	20	30	معدل الزيت
زيت القرنفل	% للتلوث	76.6	6.6	20.0	34.4a	80.0	6.6	16.6	34.4b
	% للاسوداد	56.6	23.3	43.3	41.06b	56.6	20.0	36.6	37.7a
زيت بذور الريحان	% للتلوث	70.0	20.0	26.6	38.8b	73.3	6.6	16.6	32.1a
	% للاسوداد	60.0	20.0	33.3	37.7a	53.3	23.3	43.3	39.9b
معدل التركيز للتلوث		73.3c	13.3a	23.3b		76.6c	6.6a	16.6b	
معدل التركيز للاسوداد		58.3c	21.6a	38.3b		54.9c	21.6a	39.9b	

* تقارن نتائج كل صنف على حدة

R.L.S.D صنف الأشقر للتداخل (للتلوث) = 2.12

R.L.S.D صنف النيرسي للتداخل (للتلوث) = 2.32

* تقارن نتائج كل صفة على حدة

R.L.S.D للتداخل (للاسوداد) = 2.02

R.L.S.D للتداخل (للاسوداد) = 2.72

أما بالنسبة لتأثير التداخل فيلاحظ أن التركيز 20% لزيت الريحان أعطى أقل نسبة اسوداد بلغ 20%. أما بالنسبة لصنف النيرسي فأشارت النتائج إلى أن زيت الريحان أعطى أعلى كفاءة في تقليل نسبة التلوث والاسوداد إلى أقل نسب حيث بلغت 32.1% و39.9% على التوالي، وبفارق معنوي عن زيت القرنفل في حين أن التركيز 20% أعطى أقل نسبة للتلوث والاسوداد كما في صنف الأشقر. أما بالنسبة لتأثير التداخل فلم يلاحظ وجود فرق معنوي بين زيت القرنفل والريحان في نسبة التلوث عند التركيز 20%. أما بالنسبة لتأثير التداخل في نسبة الاسوداد فيلاحظ أن زيت القرنفل أعطى أقل نسبة اسوداد عند التركيز 20% بالمقارنة مع زيت القرنفل والتداخلات الأخرى.

أشارت نتائج الجدول (5) إلى كفاءة المستخلصات النباتية في خفض النسبة المئوية لتلوث واسوداد الأجزاء النباتية للصنفين المدروسين.

جدول (5)

تأثير نوع وتركيز المستخلصات في النسبة المئوية لتلوث واسوداد الأجزاء النباتية لصنفي نخيل التمر المكثر خارج الجسم الحي

نوع المستخلص		صنف الأشقر* تركيز المستخلص (جزء بالمليون)			معدل المستخلص	صنف النيرسي تركيز المستخلص (جزء بالمليون)			معدل المستخلص
		0.0	200	300		0.0	200	300	
الحبة السوداء	% للتلوث	*66.6	26.6	45.6	46.26c	66.6	13.3	33.3	37.73b
	% للاسوداد	80.0	60.0	43.3	61.10c	76.6	23.3	30.0	43.30c
مستخلص القرنفل	% للتلوث	66.6	23.6	36.6	42.26b	73.3	6.6	26.6	35.50a
	% للاسوداد	76.6	3.3	13.3	31.06a	76.6	3.3	23.3	34.40a
بذور الريحان	% للتلوث	73.3	10.0	36.6	39.96a	70.0	13.3	36.6	39.96c
	% للاسوداد	80.0	16.6	26.6	41.06b	80.0	20.0	23.3	41.10b
معدل التركيز للتلوث		68.83c	20.06a	39.60b		69.96c	11.06a	32.16b	
معدل التركيز للاسوداد		78.86b	26.63a	27.73a		77.73c	15.53a	25.53b	

*تقارن نتائج كل صنف على حدة

R.L.S.D صنف الأشقر للتداخل (للتلوث) = 3.46

R.L.S.Dصنف النيرسي للتداخل (للتلوث) = 3.18

* تقارن نتائج كل صفة على حدة

R.L.S.D للتداخل (للاسوداد) = 3.08

R.L.S.D للتداخل (للاسوداد) = 3.26

إذ أعطى مستخلص بذور الريحان عند صنف الأشقر أقل نسبة لتلوث الأجزاء النباتية بالمقارنة مع النوعين الآخرين وبلغت 39.96% في حين أعطى مستخلص القرنفل أقل نسبة اسوداد بلغت 31.06%. أما بالنسبة لتأثير التركيز فيلاحظ أن التركيز 200 جزء بالمليون أدى إلى أقل نسبة للتلوث والاسوداد. أما بالنسبة لتأثير التداخل فتبين نتائج الجدول نفسه أن مستخلص بذور الريحان عند التركيز 200 جزء بالمليون أعطى أقل نسبة مئوية للتلوث بلغت 10%، في حين أعطى مستخلص القرنفل عند التركيز ذاته

أقل نسبة مئوية للاسوداد بلغت 3.3% بالمقارنة مع التداخلات الأخرى ومعاملة المقارنة (الشاهد). وكما هو الحال مع الصنف النيرسي. لوحظ في الجدول ذاته أن مستخلص القرنفل أعطى أعلى كفاءة للحد من التلوث والاسوداد للأجزاء النباتية بالمقارنة مع النوعين الآخرين، في حين أعطى التركيز 200 جزء بالمليون أقل نسبة مئوية للتلوث والاسوداد.

أشارت نتائج التحليل الإحصائي المبينة في الجدول (6) إلى تأثير المستخلصات النباتية في المدة الزمنية والنسبة المئوية لإنبات الأجنة إذ يلاحظ في صنف الأشقر أن استخدام مستخلص الحبة السوداء أعطى أقل مدة زمنية لإنبات الأجنة بلغت 80.6 يوماً وأعلى نسبة إنبات بلغت 66.6% وبفارق معنوي عن النوعين الآخرين من المستخلصات، في حين يلاحظ أن التركيز 300 جزء بالمليون أعطى أقل مدة زمنية لتكوين الأجنة وأعلى نسبة إنبات وبفارق معنوي عن التركيز الآخر ومعاملة المقارنة (الشاهد) إذ بلغت 78.0 يوم و 80.0% على التوالي. أما بالنسبة لتأثير التداخل فيلاحظ أن التركيز 300 جزء بالمليون لمستخلص الحبة السوداء أعطى أقل مدة زمنية لتكون الأجنة الخضرية وبلغت 64 يومًا وبفارق معنوي عن التداخلات الأخرى في حين أعطى التركيز 300 و200 جزء بالمليون لمستخلص الحبة السوداء أعلى نسبة إنبات وبفارق غير معنوي عن نفس التركيز للمستخلصين الآخرين وبفارق معنوي عن التداخلات الأخرى.

كما هو الحال لوحظ أن المستخلصات سلكت السلوك نفسه مع الصنف النيرسي بفرق أن الصنف النيرسي أعطى أجنة خضرية بمدة زمنية أقل ونسبة إنبات أعلى.

جدول (6)

تأثير نوع وتركيز المستخلصات على الفترة الزمنية لإنبات الأجنة (يوم) ونسبة الإنبات (%) لصنفي نخيل التمر المكثر خارج الجسم الحي

نوع المستخلص		صنف الأشقر				صنف النيرسي			
		تركيز المستخلص (جزء بالمليون)			معدل المستخلص	تركيز المستخلص (جزء بالمليون)			معدل المستخلص
		0.0	200	300		0.0	200	300	
الحبة السوداء	الفترة الزمنية	92	86	64	80.6a	88	62	60	70.0a
	% لإنبات الأجنة	40	80	80	66.6a	50	90	80	73.3a
القرنفل	الفترة الزمنية	108	94	82	94.6b	96	86	82	88.0b
	% لإنبات الأجنة	30	70	80	60.6b	40	80	80	66.6b
بذور الريحان	الفترة الزمنية	112	98	88	99.3c	108	92	84	94.6c
	% لإنبات الأجنة	30	60	80	56.6c	30	80	80	63.3c
معدل التركيز لنسبة الإنبات		104.0c	92.6b	78.0a		97.3c	80.0b	75.3a	
معدل التركيز لعدد الأجنة		33.3c	70.0b	80.0a		40.0c	83.3b	80.0a	

* تقارن نتائج كل صنف على حدة * تقارن نتائج كل صفة على حدة

صنف الأشقر R.L.S.D للتداخل (للفترة الزمنية) = 2.88 R.L.S.D للتداخل (لنسبة الإنبات) = 3.00

صنف النيرسي R.L.S.D للتداخل (للفترة الزمنية) = 2.38 R.L.S.D للتداخل (لنسبة الإنبات) = 2.96

ومن خلال ما قدمته نتائج الدراسة الحالية من كفاءة الزيوت العطرية والمستخلصات النباتية ولا سيما مع الزيت العطري لنباتي القرنفل والريحان في التركيز 20%، والمستخلص النباتي لنبات القرنفل وبذور الريحان بالتركيز 200 جزء بالمليون في تثبيط نمو الفطريات والبكتريا الملوثة لمزارع أنسجة نخيل التمر، فضلًا عن عدم

سميتهما على أجنة وكالس نخيل التمر بصنفيه الأشقر والنيرسي، يوصي البحث بضرورة الإفادة من هذه المستخلصات والزيوت العطرية في الحد من تلوث مزارع الأنسجة بالفطريات والبكتريا، كما توصي الدراسة بضرورة إجراء بعض التجارب باستخدام الكروموتغرافي الغازي Gas Chromatography أو GC-MS لمعرفة نقاوة الزيوت العطرية وفصل المستخلصات النباتية، مع تجربة كفاءتها التضادية Antimicrobial activity بالمقارنة مع المهلكات الفطرية Fungicides والمضادات الحياتية Antibiotic وصولًا للنتائج المرجوة في مختبرات زراعة الأنسجة لنخيل التمر.

المراجع:

البكر، عبد الجبار. 1972. نخلة التمر ماضيها وحاضرها والجديد في زراعتها وصناعتها وتجارتها. مطبعة العاني- بغداد.

حتيت، رشيد رحيم. 2009. تأثير الزيوت العطرية المستخلصة من بعض النباتات ضد الفطريات المعزولة من حبوب المخازن، رسالة ماجستير، كلية التربية.

حسين، فوزي طه قطب. 1981. النباتات الطبية، زراعتها ومكوناتها، دار المريخ للنشر، الرياض.

الجبوري، محمد عبد الله و الراوي، علي عواد. 1993. علم الادوية الطبيعية ، العراق، بغداد. مطبعة جامعة بغداد.

الدوسري، ناصر حميد والموسوي، منى عبد المطلب والطه، هدى عبد الكريم. 2011. عزل وتشخيص أنواع البكتريا المسببة لتلوث كالس نخيل التمر *Phoenix dactylifera L* ودراسة فعالية التثبيطية لبعض المستخلصات النباتية والمضادات، مجلة البصرة لأبحاث نخلة التمر. 10(1): 68-82.

الراوي، خاشع محمود وخلف الله، محمد عبد العزيز.1980. تصميم وتحليل التجارب الزراعية.وزارة التعليم العالي والبحث العلمي، مؤسسة دار الكتب للطباعة والنشر، جامعة الموصل.

عباس، فارس عباس. 2010. تأثير الزيت العطري لنباتي القرنفل واليوكالبتوز ضد بعض أنواع الفطر المعزولة من جذور نبات اللهانة، مجلة أبحاث البصرة ((العلميات)) 24(1): 76-87.

عباس، محمد حمزة والعبادي، أسامة علي والكعبي، أنسام مهدي. 2007. كفاءة مستخلص أوراق نبات الحناء وبعض المبيدات الفطرية في تقليل التلوث الفطري في مزارع أنسجة نخيل التمر. المجلة العراقية للتقانات الأحيائية المجلد 6(2) ص 21-40.

العبادي، أسامة علي محسن. 2003. دراسة مكونات أوراق نبات الحناء المحلية *Lawsoni inermis* وتأثير مستخلصاتها ومركب اللاوسون المعزول منها على بعض الفطريات الجلدية، رسالة ماجستير، معهد الهندسة الوراثية والتقنية الأحيائية، جامعة بغداد.

العساف، شفاء طيار جعفر والنعيمي، عبد الكريم سليمان حسن ومحمد، صالح عيسى. 2011. التأثير المثبط لمستخلصات بعض النباتات الطبية في الفطر *Aspergillus niger*. مجلة أبحاث كلية التربية الأساسية 10(4): 521-536.

الكعبي، أنسام مهدي صالح.2005. تأثير بعض المضادات الحياتية والمبيدين الفطريين Carbendazim 60% و Score 50% في نمو الكالس الجنيني لنخلة التمر *Phoenix dactylifera* L. مجلة البصرة لأبحاث نخلة التمر. 3(1-2): 97-110.

ماضي، زينب جواد.2002. معالجة التشوب البكتيري في أنسجة نخلة التمر *Phoenix dactylifera* L. المزروعة خارج الجسم الحي باستخدام المضادات الحيوية. رسالة ماجستير، كلية العلوم، جامعة البصرة.

محسن، لونا قحطان.2010. دراسة للتعرف على مصدر التلوث الفطري للأجزاء النباتية لنخيل التمر *Phoenix dactylifera* L. خارج الجسم الحي. مجلة البصرة لأبحاث نخلة التمر 9(1): 75-83.

الموسوي، منى عبد المطلب يحيى.2010. مصدر التلوث البكتيري في أنسجة نخيل التمر *Phoenix dactylifera* L المزروعة خارج الجسم الحي. مجلة البصرة لأبحاث نخلة التمر، 9(2): 132-146.

المياح، عبدالرضا أكبر علوان و العلقي، سناء جميل ثائر و أبو مجداد، نجوى محمد جميل علي. 2010. تأثير مستخلصات بعض النباتات على عدد من الجراثيم الموجبة لملون كرام *Staphylococcus aureus* ، *Streptococcus pyogenes.* ، والسالبة لملون كرام *Escherichia coli* ، *Klebsiella pneumonia* وضد فطرية لـ *Candida albicans*، *Cryptococcus neoformans* ، *Rhodotorula rubra*، *Trichosoporon sp.*. مجلة علوم ذي قار، 3(2): 67-81.

المياحي، أحمد ماضي وحيد و أحمد، علاء ناصر و الخليفة، عقيل عبود سهيم. 2010. عزل وتشخيص الفطريات المصاحبة لزراعة أنسجة خمسة أصناف من نخيل التمر (*Phoenix dactylifera* L.) وتأثير المبيد الفطري البنليت "Benlate" في السيطرة عليها. مجلة البصرة لأبحاث نخلة التمر. 9(2): 79-97.

Abass, M.H. (2013a). Microbial contaminants of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) in Iraqi tissue culture laboratories. Emirate J. Food and Agric. doi: 10.9755/ejfa.v25i11.15351.

Abass, M.H. (2013b). A PCR ITS-RFLP method for identifying fungal contamination of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) tissue cultures. African J of Biotech. 12(32): 5054-5059.

Adwan G. Abu-Shanab, B. Adwan, K. Abu-Shanab, F. 2006. Antibacterial effects of Nutraceutical plants growing in palestine on Pseudomonas aeruginosa. Turk J Biol.30: 239-242.

Agarwa, R; Khirya, M. D. , and Shrivastava, R. 1979. Antimicrobial and outhelmintic activities of the essential oil of Nigella sativa L. Indian J. Exp. Biol. 17: 1265-1269.

Al-Hadethy, H.T.; Al-Attaby, S.M. and Madhi, Z.J. 2007. Isolated bacteria from contaminated date palm tissue cultures and healthy offshoots. Basra J. Agric. Sci. 3(2): 1-13.

Boligon, A.A.; Feltrin, A.C.; Gindri, A.L. and Athayde, M.L. 2013. Essential oil composition, antioxidant and antimicrobial activities of *Guazuma ulmifolia* from Brazil. Medic. Arom. Plants. 2: 126. doi:10.4172/2167-0412.1000126.

Collee, J.G., Fracer, A.J., Marmion, B.P. and Simon, A. 1996. Makie and McCarteny Practical Medical Microbiology. 14ed, 978; Chyrchill, NewYork.

Cowan, M. M. 1999. Plant products as antimicrobial agents. 12 (4): 564 - 582. Clin. Microbiol. Rev. 12(4)564-582.

Deans, S. G., Svoboda, K. P.; Gandidza, M. and Brechany, E. X. 1992. Essential oil profiles of several temperate and tropical aromatic plants: Their antimicrobial and antioxidant activities. Acta. Hortic. 306: 229 - 232.

Doman, H.J.D. and Deans, S.G. 2000. Antimicrobial agents from plants: Antibacterial activity of plant Essential oils. J. Appl. Microbiol. 88: 308-316.

Ellis, M. B. 1971. *Dematiaceous hyphomycetes*. Common Wealth Mycol. Inst. Kew, Surrey, England. 608 p.

Farag, R. S.; Daw, Z. Y.; Hewedi, F. M. and El-Baroty, G. S. 1989. Antimicrobial activity to some Egyptian species essential oils. J. Food Prot. 52(9): 665 - 669.

Ghalem, B.R. and Mohamed, B. 2008. Antibacterial activity of leaf essential oils of *Eucalyptus globulus* and *Eucalyptus camaldulensis*. African J of Pharmacy and Pharmacol. 2(10): 211-215.

Hammer, K.A.; Crason, C.F. and Riely, T.V. 1999. Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. J. Appl. Microbiol. 86: 985–990.

Iqbal, M.C., Jayasnghe, U.L.B., Herath, H.M.T.B., Wijeseskar, K.B. and Fujimoto. 2004. A fungistsis chromene *Ageratum conyzoides*. Phytoparasitica. 32(2):119-126.

Karsha, P.V., and Lakshmi, O.B. 2010. Antimicrobial activity of black pepper (*Piper nigrum* L.) with special reference to its mode of action on bacteria. Indian J. Nat. Produc.Reso. 1(2): 213-215.

Leary, J.V., Nelson, N., Tisserat, B., and Allingham, E.A. 1986. Isolation of *Bacillus circulans* from callus culture and healthy offshoots of date palm. Appl. Environ Microbiol. 52(5):1173-1176.

Li, M.; Han, G.; Chen, H.; Yu, J. and Zhang, Y. 2012. Chemical compounds and antimicrobial activity of volatile oils from bast and fibers of *Apocynum venetum*. Fibers and Polymers.13(3): 322-328.

Murashige, T. and Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Plant Physiol. 15: 473-497.

Nzeak, B. O., and Al-Lawati, B. 2008. Comparative studies of antimycotic potential of thyme and clove oil extracts with antifungal antibiotics on *Candida albicans*. African J. of Biotechnol., 11: 1612 – 1619.

Odutayo, O.I.; Amusa, N.A.; Okutade, O.O. and Ogunsanwo, Y.R. 2007. Sources of microbial contamination in tissue culture laboratories in southwestern Nigeria. African J. Agric. Res. 2(3): 67-72.

Perez, C., Pauli, M. and Bazergue, P. 1990. An antibiotic assay by the Agar- Wall diffusion method. J. Acta Biol. Medic. Experim. 15:113-115.

Rozarina, J.A., 2013. Antimicrobial potentials of the methanolic extracts of plants. IJSRR. 2(1): 89- 95.

Shahid, W.; Durran, R.; Iram, S.; Durrani, M. and Khan, A. 2013. Antibacterial activity in vitro of medicinal plants. Sky J. Microbiol. Res. 1(2): 5-21.

Souza, E. L.; Lima, E. O. and Freire, R. 2005. Inhibitory action of some essential oils and phytochemicals on the growth of various moulds isolated from foods. Braza. Arch. Boil. Technol. Vol. 48 No. 2.

Taniguchi, M; Yano, Y.; Tada, E.; Ikenishi, K.; Oi, S.; Harayuchi, H.; Hoshimoto, K. and Kubo, I. 1988. Mode of action of polygodial an antifungal sesquiterpen dialdehyde. Agric. Biology Chemistry. 52: 1409 – 1414.

Tisserat, B. 1988. Palm Tissue Culture. ARS-55, USDA, pp:1-60.

Veramendi, J., and Navarro, L. 1997. Influence of explant sources of adult palm *Phoenix dactylifera* L. on embryogenic callus formation. J. Hort. Sci. 72(5):665-671.

Victor, B.Y.A., and Grace, A. 2013. Phytochemical studies, in-vitro antibacterial activities and antioxidant properties of the methanolic and ethyl acetate extracts of the leaves of *Anogeissus leiocarpus*. Intern. J. Biochem. Res. Rev. 3(2): 137-145.

Wungsintaweekul, J.; Sitthithaworn, W.; Putalun, W., Pfeifhoffer, H.W. and Brantner, A. 2010. Antimicrobial, antioxidant activities and chemical composition of selected Thai spices. Songklanakarin J. Sci. Technol. 32(6): 589-598.

Effect of Some Essential Oils And Plant Extracts on Microbial Contamination of Date Palm *Phoenix Dactylifera* L. Propagated by Tissue Culture

Mohammed H Abass, Ahmed R. Al-Najm and Aqil A.Suhaim Al-Kalifa

Date palm Research center, Basra University
Basra, Iraq

Abstract:

Study was conducted at the laboratories of Date Palm Research Centre, Basra University to evaluate the antimicrobial activity of some Essential oils and some plant extracts against the most common contaminant of date palm tissue cultures for Ashkar and Nerssy cvs. The Essential oils and plant extracts were: black seed, carnation and basil. The results revealed that the isolation of different fungal contaminants namely *Alternaria alternata*, *Aspergillus niger* and *Penicillium* sp, along with the bacteria: *Bacillus subtilis* and *Staphylococcus aureus* the most common contaminants associated with date palm tissue cultures. The highest levels of inhibition against the microbes' growth, especially fungal contamination in the solid medium of PDA were observed at both 20% and 200 ppm treatments of Essential oils and plant extracts. These treatments decreased the percent of microbial contamination and the percent of browning tissues lowered than levels compared to the control in both cultivars. The extract of black seed at concentration 300 ppm added to growth medium decreased the total time required for somatic embryogenesis, and increase the percent of embryos germination compared with carnation and basil extracts.

Key Words: Date Palm, Essential Oils, Microbial Contamination, Micropropagation, Plant Extracts.

View publication stats