تقييم اداء بعض المستخلصات النباتية وراشح الفطر Fusariumoxysporum في السيطرة على اناث ويافعات الطور الثاني لنيماتود تعقد الجذور meloidogynejavanica المعزولة من جذور نبات الماش Vignaradiata

أ.م.د. عبد الحميد محمد حمودي

م.م. جوان نايف عبود

جامعة سامراء -كلية التربية – قسم علوم الحياة

drhameed57@gmail.com
bnt_samara@yahoo.com

الخلاصة

اجريت دراسة لتقيم اداء تاثير ٥ تراكيز مختلفة من كل من المستخلص المائي لنباتي النعناع *Menthapiperita* والزنجبيل *Zingiberofficinale* وراشح الفطر *Fusariumoxysporum* على اناث ويافعات الطور الثاني للنيماتود المعزولة من نبات الماش والممسببة لتعقد الجذور وبينت النتائج ان تاثير كل من المستخلص النباتي وراشح الفطر يختلف باختلاف نوع المستخلص والتركيز والمدة المستخدمة في الحضن كما كان لمعاملة خلط المستخلصات مع الراشح تاثيرا ملحوظا على نسبة القتل اذ لوحظ زيادة طردية في معدل الاناث واليافعات المقتولة بزيادة التركيز وفترة التعرض للمستخلص وان اعلى معدل للقتل تم

الحصول عليه وباقل فترة زمنية كان عند استخدام التركيز ٢٥٪ يليه في الكفاءة التركيز ٢٠٪، ١٥٪ ، ١٠٪ ، ٥٪ على التوالي والذي اعطى اقل معدل ولجميع المعاملات كما كان لفترة الحضن تاثيرا على نسبة القتل حيث لوحظ ان استمرار فترة الحضن لمدة ١٢٠ ساعة اعطى اعلى اعلى نسبة قتل وبفارق معنوي عن بقية الأوقات يليه التوقيت ٩٦ ساعة ثم ٧٢ ثم ٤٨ ساعة ثم ثم ٢٤ ساعة وهي الأقل بين الأوقات المستخدمة ، كما وجد من خلال الدراسة ان خلط مستخلص نباتي النعناع والزنجبيل معا قد اعطى معدل قتل ١٠٠٪ لليافعات والاناث في التراكيز الاوطا من التركيز ٢٥٪ وفي مدة حضن اقل من ١٢٠ ساعة كما وجد ان إضافة راشح الفطر الى الى الخليط المذكور يزيد من كفاءة في مكافحة الاناث واليافعات ويقلل من الزمن اللازم للتعرض.

الكلمات المفتاحية: نيماتود تعقد الجذور ، مستخلص النعناع، مستخلص الزنجبيل ، راشح الفطر *Fusariumoxysporum*

Evaluate the effectiveness of some plant extracts andand fungal filtrates of *Fusariumoxysporum*, on a female and the second stage juvenilesto the root knot nematode *Meloidogynejavanica* isolated from the roots of the *Vignaradiate*

Abstract:

A study was conducted to evaluate the effectiveness of the influence of five different concentrations of each of the aqueous extract of*Menthapiperita* and *Zingiberofficinale* and fungal filtrates of *Fusariumoxysporum* on females and the second stage juvenilesof the nematode isolated from the root of *Vigna radiate* whish causing knot on the roots.

The results showed that the effect of the plant extract and fungal filtrates varies depending on the type of extract and it concentration and the period of incubation as it was for the treatment of mixing extracts with the filtrate noticeable impact on the murder rate as observed proportional increase in female and juveniles murdered rate when increasing the concentration and duration of exposure to the extract and the highest rate of murder has been obtained and the less time was when used a concentration of 25%, followed by concentration 20%.15% 10%5% respectively which gave the lowest rate for all transactions, as it was for a period of incubation impact on the rate of murdered where it was noted that the continuation of the period of incubation for 120 hours gave the highest ratio of killed and margin significantly for the other times, followed by time 96 hours and then 72 and then 48 hours, then 24 hours which is the lowest among the times are used, as found by the study, the mixing of extract of*Menthapiperita* and *Zingiberofficinale*had given the rate of killing 100% of females and juveniles in concentrations lower than on 25% in the duration of incubation less than 120 hours also found that in addition fungal filtrates to mixture increases the efficiency in the murdered rate of female and juvenilesand reduces the time required for exposure

Kewords:*Mentha*, *Zingiberofficinale*, of *FusariumoxysporumMeloidogynejavanica,*

المقدمة

تعد النيماتود المتطفلة على النبات اكثر الافات انتشارا وتاثيرا في المنتوج الاقتصادي العالمي للأغذية اذ تصيب اعداد كبيرة من الخضراوات والفواكه بشتى أنواعها ، وبالرغم من التنوع الذي تظهره هذه المتطفلات مثل النيماتود المتكيسة Cyst nematode ، ,والنيماتود المختبئة The burrowing nematode ، ونيماتود ذبول الصنوبر The Pine wilt nematode وغيرها الا ان الأكثر شيوعا هي نيماتود تعقد الجذور Root knot nematode والمتمثلة بالجنس *Meloidogynespp* والتي تعد من اخطر الافات وأكثرها انتشارا وبالرغم من بساطة دورة حياتها التي تبدا ب بيضة ثم يافعة ثم بالغة الا ان اليافعات منها قادرة على اختراق قلنسوة الجذر والتوغل الى الداخل محدثة اضرار جسيمة (١٤) .

انالتاثير السلبي الذي تسببه المبيدات الكيميائية على البيئة وصحة الفرد دفع العديد من الباحثين الى محاولة إيجاد وسائل مكافحة ذات منشا طبيعي من جهة ومتوفرة ورخيصة الثمن من جهة أخرى منها الاعتماد على السيطرة البايولوجية أي مكافحة هذه الافات باستخدام احياء معادية لها مثل البكتريا او الفطريات فيما لجا اخرون الى استخدام المستخلصات النباتية باعتبارها منتجات طبيعية وغير مضرة (١٢).

يعد النعناع من النباتات التي أجريت عليها بحوث عديدة لمعرفة فاعليته في مكافحة العديد من الافات الزراعية وهو من النباتات واسعة الانتشار في العالم يعود الىالعائلة الشفوية Labiataee وهو من النباتات العطريةالمعمرة يحتوي على طيف واسع من المواد الفعالة مثل الزيوت الطيارة الكارفون والفلافونيدات مثل الثايمونين كما يحتوي على مشتقات حامض الكافئك وحامض التانك والتربينات الأحادية (٤) ،اما الزنجبيل فهو من النباتات الطبية يعود الى العائلة الزنجبارية Zingeberaceae (٢) صف نباتات ذوات الفلقةالواحدة يضم مايقارب ٤٠ نوعا ،ذا لون اصفر باهت وفضلا عن استخدامه كتوابل فانه يستخدم وبشكل واسع كمضاد للبكتريا والفطريات

ومضادات الاكسدة (٣)بالنظر لاحتواءه على العديد من المركبات الفعالة منها Curcumine ومركبات فينولية مثل Shogaolse و Gingerols المسؤولة عن الطعم اللاذع فضلا عن مادة Paradol و Gingerdion(٢٣).

يعود الفطر F.oxyosporium الى شعبة الفطريات الكيسية Ascomycetes وهو من الفطريات واسعة الانتشار في الطبيعة لقدرته العالية على التكيف ويعيش بشكل رمي او متطفل على أنواع عديدة من النباتات مسبب مرض يدعى الذبول الفيوزارمي وبالرغم من كونه من المسببات المرضية الا ان بعض الدراسات اشارت الى قدرة بعض العزلات من الفطر F.oxyosporium على خفض تعداد نيماتود تعقد الجذور في التربة وذلك لقدرتها على انتاج بعض أنواع السموم مثل zearalenone و fumonisin و trichothecenes و vomitoxin (١٦) وكذلك قدرته على التطفل على بيوضها وكما اشارت بعض الدراسات الى قدرة راشح هذا الفطر على التثبيط التام لفقس البيوض مختبريا منها دراسة (١٣) و(٢٢) وبالنظر لدور المبيدات الزراعية ذات المنشا الطبيعي في المحافظة على البيئة وصحة الانسان فقد هدفت هذه الدراسة الى اختبار كفاءة المستخلص المائي لنباتي النعناع والزنجبيل وراشح الفطر *Fusariumoxysporum* في السيطرة على نيماتود تعقد الجذور.

المواد وطرائق العمل

١- تحضير المستخلصات النباتية

تم الحصول على النعناع الطازج من الأسواق المحلية ثم تم تجفيفه وطحنه ، اما مسحوق نبات الزنجبيل فقد تم الحصول عليه من الأسواق المحلية وحضرت المستخلصات المائية لنباتي النعناع والزنجبيل وفق ماذكره (٥) وذلك باخذ ٥٠٠ غرام من المسحوق النباتي لكل نبات نبات على حدة ووضع في دورق حاوي على ٥٠٠ مل من الماء المقطر ثم خلطت المكونات بالخلاط لمدة ١٥ دقيقة ترك المحلول لمدة ٢٤ ساعة وبدرجة حرارة المختبر ثم رشح المحلول بواسطة قماش الململ ثم نقل الراشح الى جهاز الطرد المركزي بسرعة ٣٠٠٠ دورة في الدقيقة

لمدة ١٠ دقائق للحصول على محلول رائق والتخلص من بقايا الأجزاء النباتية ثم عقم الراشح بتمريرة عبرمرشحات ورقية ذات مسامات بقطر ٠،٤٥ مايكرومتر . حضرت منه التراكيز اللازمة وحفظ في الثلاجة لحين الاستخدام.

٢- تحضير راشح الفطر ***Fusariumoxysporum***

حضر راشح الفطر وفق ماذكره (٨) وذلك بتنمية الفطر على الوسط الغذائي السائل PDA وذلك باخذ ٢٠٠ غم من البطاطا ،بعد غسلها وتقطيعها الى قطع صغيرة وضعت في قنينة حجمية سعة ١٠٠٠ مللتر، مللتر، ثم اضيف لها ٥٠٠ مل من الماء المقطر على مصباح بنزن مع التحريك المستمر وبعد ان هرست البطاطا جيدا رشحت بقطعة شاش ثم اضيف للراشح ٢٠ ٢٠ غم من سكر الدكستروز واكمل الحجم الى لتر ماء مقطر ثم وزع في قناني حجمية سعة ٢٥٠ مللتر وتم تعقيم الوسط في جهاز المؤصدة الكهربائية بدرجة حرارة ١٢١ م وضغط ١ جو وبعد تعقيم الوسط وتبريده اضيف له المضاد الحيوي الكرومفنيكول بتركيز ٢٥٠ملغم/لتر لمنع النمو البكتيري لقح بعد ذلك كل دورق بقرص قطره ٤ملم من الفطر اذ تم اخذه من من حافة مزرعة بعمر ٧ أيام منماة على وسط PDA ثم حضنت الدوراق عند درجة ٢٥ م لمدة ٢٨ يوم مع رج الدوارق كل ثلاثة أيام ثم رشح باستعمال ورق ترشيح من نوع Watman رقم ١، ثم اعيد الترشيح باستعمال الاغشية الميكروبية Milipore نوع Nylon بقطر ٠،٢٢ وحفظ الراشح لحين الاستخدام.

٣- تحضير عالق النيماتود

١- الاناث:

تم الحصول على مصدر إصابة بنيماتود تعقد الجذور من البيت الزجاجي التابع لكلية التربية جامعة سامراء اذ قلعت جذور الماش المصابة بعناية ثم غسلت بالماء الجاري للتخلص من كتل الاتربة وقطعت الى قطع صغيرة بطول ٢- ٣ سم ووضعت داخل المنخل فوق قطعة من الورق الصحي ثم اضيف الماء باحتراس في الفراغ الموجود بين المنخل وصحن الجمع الى ان لامس الماء سطح قطع الجذور المصابة ثم وضعت في الحاضنة عند درجة حرارة ٢٥م لمدة ٢٤ ساعة وفق ماذكره (٧)

(٧) ثم وزع العالق على انابيب اختبار معقمة تركت لمدة ربع ساعة لكي تستقر الديدان في قعر الانابيب سحب الجزء العلوي من الماء الموجود في الانابيب بواسطة ماصة ثم عقم العالق بمحلول بواسطة المضاد الحيوي Streptomycin Sulphate وبتركيز ٠،١ اذ ملئت الانابيب بمحلول المضاد الحيوي ورجت بلطف لمدة ثلاث دقائق ثم تركت لكي تستقر النيماتود في القعر سحب الجزء العلوي منها بواسطة ماصة معقمة ثم غسلت بالماء المقطر المعقم ثلاث مرات جمع العالق الناتج وتم حساب حجمه الكلي ثم سحب ٠،١ مل من العالق ووضع في شريحة العد ثم اضيف قطرة من مركب اللاكتوفينول مضاف له صبغة الفوكسين الحامضي وذلك لعدم إمكانية السيطرة على تعداد الاناث بلا تصبيغ لكونها سريعة الحركة وكررت هذه العملية ثلاث مرات واستخرج المعدل ثم ضرب في الحجم الكلي للمحلول وذلك لحساب عدد الاناث(١١). اضيف ١٠٠ انثى الى اطباق بتري وبواقع ثلاثة مكررات لكل معاملة

٢- اليافعات

تم الحصول على يافعات الطور الثاني وفق ماذكره (٩) اذ غسلت جذور الماش المصابة بالماء الجاري ثم التقطت كتل البيوض بواسطة ملقط دقيق ثم عقمت سطحيا بمحلول ٠،٥ ٪هايبوكلورات الصوديوم لمدة دقيقتين ثم غسلت بالماء المقطر المعقم ثلاث مرات ثم حضنت في انابيب اختبار حاوية على ماء مقطر تم معاملته ب ١مل/لتر من محلول حاوي على المضادات الحيوية penicillin و streptomycin و tetracycline في درجة حرارة ٢٥م لمدة خمسة أيام .جمعت اليافعات في وعاء واحد وللتخلص من البيوض غير الفاقسة صبت محتويات كل انبوبة اختبار في قمع بيرمان مغطى بطبقة من الورق الصحي وبعد مرور ٢٤ ساعة جمعت اليافعات وتم حساب حجم المحلول ثم تم سحب ٠،١ من المحلول ووضع على شريحة العد وتم تعريضة الى مصدر لهب خفيف لثبات حركة الديدان وتم حساب العدد ثم ضربح بحجم المحلول الكلي. اضيف ١٠٠ يافعة الى اطباق بتري وبواقع ثلاثة مكررات لكل

معاملة ثم حضرت التراكيز من كل مستخلص واضيفت الى العالق وتم مقارنتها مع السيطرة control وهي عبارة عن الماء المقطر.

تحضير التراكيز:

١- تراكيز المستخلصات النبايتة وراشح الفطر:

تم تحضير التراكيز المستعملة في التجربة من المستخلص الخام باعتباره محلول خزين stock solution بتركيز ١٠٠٪ وحضرت التراكيز ٥٪و ١٠٪و ١٥٪ و٢٠٪و ٢٥٪ من كل المستخلص والراشح الفطري وذلك بالاعتماد على قانون التخفيف :

$$N1 \times V1 = N2 \times V2$$

N1 = تركيز المستخلص قبل التخفيف

V1= حجم المستخلص قبل التخفيف

N2 = تركيز المستخلص بعد التخفيف

V2= حجم المستخلص بعد التخفيف

٢- تركيز المضاد الحيوي

تم تحضير تركيز ٠،١ غم من المضاد الحيوي Streptomycin Sulphateوذلك بوزن ٠،١ غم من المادة واذابتها في ١٠٠ مل من الماء المقطر.

٤-التحليل الاحصائي :

تم تحليل النتائج احصائيا بتطبيق اختبار تحليل التباين (T.test) وباستخدام البرنامج الاحصائي Minitab وقورنت المتوسطات الحسابية للمعاملات المختلفة باختبار دنكن متعدد الحدود بمستوى احتمالية $P\leq0.05$ (١).

النتائج والمناقشة:

أظهرت نتائج التحليل الاحصائي ان كفاءة كل من مستخلص نبات النعناع والزنجبيل وراشح الفطر تزداد بازدياد التركيز ومدة الحضن. ففي وجدول ١ وجد ان التركيز ٢٥ كان الأفضل وبفارق معنوي عن بقية التراكيز اذ وجد ان معدل القتل باستخدامه كان ١٠٠٪ بعد مرور ٢٤ ساعة فقط يليه التركيز ٢٠٪ والذي حقق اعلى معدلا ١٠٠٪ بعد مرور ٩٦ ساعة اما اقل معدل لهذا التركيز فكان ٥٦،٣٪ اما التركيز ١٥٪ ١٥٪ فانه استغرق ١٢٠ ساعة للحصول على على نسبة قتل ١٠٠٪ وان اقل معدل له كان كان ٤٣٪ يليه التركيز ١٠ ٪ والذي وجد ان

ان اعلى معدل له كان ٩٥٪ واستغرق مدة ١٢٠ ساعة اما اقل معدل لهذا التركيز فهو ٢٩،٧ اما التركيز ٥٪ فان اعلى معدل للقتل للقتل كان ٨٩ بعد مرور ١٢٠ ساعة واقل واقل معدل للقتل كان ٢٥،٧ بعد مرور ٢٤ ٢٤ ساعة .

جدول١ معدل النسبة المئوية اليافعات المقتولة باستخدام مستخلص نبات النعناع

التركيز	٢٤ساعة	٤٨ساعة	٧٢ساعة	٩٦ساعة	١٢٠ساعه	متوسط التركـ
control 0	0	0	0	0	0	0.0
٥	25.7 De	40.7 Dd	62.7 Cc	80.3 Cb	89.0 Ca	59.7 E
١٠	29.7 De	43.7 Dd	64.0 Cc	81.0 Cb	95.0 Ba	62.3 D
١٥	43.0 Ce	62.7 Cd	79.0 Bc	92.7 Bb	100. Aa	75.5 C
٢٠	56.3 Bc	75.7 Bb	96.7 Aa	100.0 Aa	١٠٠Aa	80.3 B
٢٥	100.0 Aa	100.0 Aa	100.0 Aa	100.0 Aa	100.0 Aa	100 A
متوسط الوقت	42,4 e	53.8 d	66.9 c	75.6 b	80.6 a	

×الأرقام التي امامها الحروف المتشابهة الصغيرة في الصف الواحد او الحروف المتشابهة الكبيرة في العمود الواحد لاتوجد بينها فروق معنوية حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمالية ٥٪ .

في جدول (٢) وباستخدام نبات الزنجبيل فقد بينت النتائج ان التركيز ٢٥٪ كان الاكفا بين التراكيز المستخدمة الا ان كفاءة هذا المستخلص اقل من كفاءة مستخلص نبات النعناع عند استخدام نفس التركيز فقد حقق نسبة قتل ١٠٠ بعد مرور ٩٦ ساعة ساعة اما اقل معدل فكان ٥٧،٧ بعد مرور ٢٤ ساعة يليه التركيز ٢٠ ٪ الذي كان معدل اليافعات المقتوله باستخدامه ١٠٠٪ بعد مرور ٩٦ ساعة واقل معدل كان ٥٥،٧ ٥٥،٧ بعد مرور ٢٤ ساعة ، ثم التركيز ١٥٪ ١٥٪ الذي كان معدل القتل باستخدامه ٩١،٧٪ بعد مرور ١٢٠ ساعة واقل معدل كان ٤١ ٪ بعد مرور ٢٤ ساعة ثم التركيز ١٠٪ الذي كان معدل القتل باستخدامه ٦٥٪ واقل معدل ٢٤،٣٪ بعد مرور ٢٤ ساعة ساعة ، يليه التركيز ٥٪ الذي اعطى اعلى معدل للقتل ٤٠٪ بعد مرور ١٢٠ ساعة واقل

واقل معدل أعطاه هو ٩،٣ بعد مرور ٢٤ ساعة.

جدول ٢ معدل النسبة المئوية اليافعات المقتولة باستخدام مستخلص نبات الزنجبيل

التركيز	٢٤ساعة	٤٨ساعة	٧٢ساعة	٩٦ساعة	١٢٠ساعه	متوسط التركي
control 0	0	0	0	0	0	0.0
٥	9.3 De	15.3 Ed	21.3 Ec	28.0 Db	40.0 Da	22.8 E
١٠	24.3 Ce	34.0 Dd	41.3 Dc	51.0 Cb	65.0 Ca	43.1 D
١٥	41.0 Be	56.3 Cd	71.0 Cc	83.7 Bb	91.7 Ba	68.7 C
٢٠	55.7 Ae	68.7 Bd	80.7 Bc	87.7 Bb	100.0 Aa	78.6 B
٢٥	57.7 Ad	75.3 Ac	92.7 Ab	100.0 Aa	100.0 Aa	85.1 A
متوسط الوقت	31.3d	41.6 c	42.6 c	58.4 b	66.1a	

×الأرقام التي امامها الحروف المتشابهة الصغيرة في الصف الواحد او الحروف المتشابهة الكبيرة في العمود الواحد لاتوجد بينها فروق معنوية حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمالية ٥٪ .

يوضح جدول (٣) نتائج خلط المستخلصين المستخلصين معا بنسب متساوية وبنفس التراكيز السابقة فبينت النتائج ان هذا الخليط هو افضل كفاءة في القضاء اليافعات من استخدام النباتات منفصلة اذ ان التركيز ١٠٪ اعطى نسبة قتل ١٠٠٪ بعد بعد مرور ١٢٠ ساعة بينما في نتائج الجدولين السابقين فان التركيز ١٠٪ لم يصل الى معدل قتل ١٠٠٪ اما التركيز ١٥ ٪ ١٥ ٪ فقد اعطى نفس النسبة بعد مرور ٧٢ ساعة فقط وأعطى التوقيت ٢٤ ساعة نسبة قتل ٦٠،٣٪ اما التركيز ٢٠ فقد اعطى اعطى اعلى معدل للقتل وهو ١٠٠٪ بعد مرور ٤٨ ساعة فقط واقل معدل كان ٩٣٪ ٩٣٪ بعد مرور ٢٤ ساعة فقط اما التركيز ٢٥ ٪ فهو الأعلى معدل قتل وهو ١٠٠٪ بعد بعد مرور ٢٤ ساعة واقل التراكيز تاثيرا هو ٥٪ اذ اعطى معدل قتل ٨٥،٣ بعد مرور ١٢٠ ساعة فقط و٢٣ ٪ بعد مرور ٢٤ ساعة فقط .

جدول ٣ معدل النسبة المئوية اليافعات المقتولة باستخدام خليط من مستخلص نباتي النعناع والزنجبيل

التركيز	٢٤ساعة	٤٨ساعة	٧٢ساعة	٩٦ساعة	١٢٠ساعه	متوسط التركـ
control 0	0	0	0	0	0	0.0 J
٥	23.0 Ee	40.0 Dd	56.0Cc	70.0 Cb	85.3 Ba	54.9
١٠	48.3 De	58.0 Cd	73.7 Cb	87.7 Bb	100.0 Aa	73.5 C
١٥	60.3 Cc	84.7 Bb	100.0 Aa	100.0 Aa	100.0 Aa	89 B
٢٠	93.0 Bb	100.0 Aa	100.0 Aa	100.0 Aa	100.0 Aa	98.6A
٢٥	100.0 Aa	100.0 Aa	100.0 Aa	100.0 Aa	100.0 Aa	100A
متوسط الوقت	54.1d	63.7c	71.6 b	76.2b	80.8 a	

×الأرقام التي امامها الحروف المتشابهة الصغيرة في الصف الواحد او الحروف المتشابهة الكبيرة في العمود الواحد لاتوجد بينها فروق معنوية حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمالية ٥٪ .

عند مقارنة راشح الفطر *F.oxosporium* مع المستخلصات النباتية جدول(٤) وجد ان التركيز ١٠٪ ممكن ان يعطي معدل قتل ١٠٠٪ بعد مرور مرور ١٢٠ ساعة وهو بذلك يماثل في تاثيرة تاثير التركيز ١٠ ٪ في جدول ٣ وان وان اقل معدل قتل أعطاه التركيز المذكور كانت ٤١ ٪ اما التركيز ١٥٪ فقد وجد انه يقضي على كل اليافعات بعد مرور ٩٦ ساعة واقل معدل أعطاه كان ٦٢،٣ ٪ وذلك وذلك بعد مرور ٢٤ ساعة اما التركيز ٢٠٪ ٢٠٪ فقد احتاج الى مدة ٧٢ ساعة للقضاء للقضاء على جميع اليافعات واقل معدل للقتل أعطاه كان ٧٠،٣٪ اما التركيز ٢٥٪ فقد استغرق اقل وقت لتحقيق معدل قتل ١٠٠٪ وهو ٢٤ ساعة وان اقل التراكيز كفاءة كان ٥٪ ذا اعطى اعلى معدل قتل ٧٣،٣ بعد مرور ١٢٠ ساعة واقل معدل ٢٧،٣ بعد مرور ٢٤ ساعة.

جدول ٤ معدل النسبة المئوية اليافعات المقتولة باستخدام راشح الفطر ***F.oxosporium***

التركيز	٢٤ساعة	٤٨ساعة	٧٢ساعة	٩٦ساعة	١٢٠ساعه	متوسط التركـ

control 0	0	0	0	0	0	0
٥	27.3 Ee	37.7 Ed	49.7 Dc	64.7 Cb	73.3 Ba	50.5E
١٠	41.0 De	56.3 Dd	79.3 Cc	86.7 Bb	100.0 Aa	72.7D
١٥	62.3 Cd	77.7 Cc	93.7 Bb	100.0 Aa	100.0 Aa	86.7C
٢٠	70.3Bc	93.7 Bb	100.0 Aa	100.0 Aa	100.0 Aa	92.8 B
٢٥	100.0 Aa	100.0 Aa	100.0 Aa	100.0 Aa	100.0 Aa	100 A
متوسط الوقت	50.2 d	60.9 c	70.5 b	75.2 a	78.8 a	

×الأرقام التي امامها الحروف المتشابهة الصغيرة في الصف الواحد او الحروف المتشابهة الكبيرة في العمود الواحد لاتوجد بينها فروق معنوية حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمالية ٥٪ .

عند استخدام خليط من مستخلص نباتي النعناع والزنجبيل وراشح الفطر *F. oxosporium* وبنسب متساوية كما في جدول (٥) فان التركيز ١٠٪ و ١٥٪ قضى على جميع اليافعات بعد مرور ٩٦ ساعة فقط اذ لوحظ عدم وجود فروقات معنوية بين التركيزين المذكورين عن استخدام مدة حضن من ٤٨-١٢٠ ساعة وكذلك عدم وجود فروقات معنوية بين التركيزين ٢٠ و٢٥٪ اذ اعطى كل منها معدل القتل ١٠٠٪ بعد مرور ٢٤ ساعة اما اما التركيز ٥٪ فانه الأقل كفاءة في خفض عدد اليافعات اذ اعطى اعلى معدل للقتل وهو ٨٩،٧ ٪ بعد مرور ١٢٠ ساعة واقل معدل أعطاه كان ٣٤،٧ ٪ بعد مرور ٢٤ ساعة .

جدول ٥ معدل النسبة المئوية اليافعات المقتولة باستخدام خليط من مستخلص نباتي النعناع والزنجبيل و راشح الفطر ***F.oxosporium***

التركيز	٢٤ساعة	٤٨ساعة	٧٢ساعة	٩٦ساعة	١٢٠ساعه	متوسط التركيز
control 0	0	0	0	0	0	0
٥	34.7 De	45.3 Dd	61.3 Cc	73.3 Bb	89.7 Ba	60.9 C
١٠	62.3 Cd	81.3 Cc	91.7 Bb	100.0 Aa	100.0 Aa	87.1 B
١٥	71.7 Bd	84.3 Bc	92.0 Bb	100.0 Aa	100.0 Aa	89.6 B
٢٠	100.0 Aa	100.0 Aa	100.0 Aa	100.0 Aa	100.0 Aa	100.0 Aa
٢٥	100.0 Aa	100.0 Aa	100.0 Aa	100.0 Aa	100.0 Aa	100.0 Aa

متوسط الوقت	61.3 d	68.5 c	74.2 b	78.9 b	81.6 a	

×الأرقام التي امامها الحروف المتشابهة الصغيرة في الصف الواحد او الحروف المتشابهة الكبيرة في العمود الواحد لاتوجد بينها فروق معنوية حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمالية ٥٪ .

في دراسة تاثير تراكيز مختلفة من بنات النعناع على الاناث جدول (٦) وجد ان التركيز ٢٥٪ هو الوحيد القادر على القضاء على جميع الاناث بعد مرور ١٢٠ ساعة فقط وان اقل معدل للقتل كان ٤٤،٧ بعد مرور ٢٤ ساعة فقط وبفارق معنوي عن بقية التراكيز يليه التركيز ٢٠٪ والذي وجد ان معدل القتل فيه ٨٦،٧ ٪ بعد مرور ١٢٠ ساعة فقط واقل معدل كان ٤٠،٧ ٪ ٪ بعد مرور ٢٤ ساعة ثم التركيز ١٥٪ والذي اعطى اعلى معدل للقتل ٧٢،٣٪ بعد بعد مرور ١٢٠ ساعة واقل معدل هو ٣٠،٣ ٣٠،٣ بعد مرور ٢٤ ساعة ثم التركيز ١٠ ٪ ٪ والذي اعطى نسبة قتل ٦٣،٣ ٪ بعد مرور مرور ١٢٠ واقل معدل قتل ٢٦،٣٪ بعد مرور ٢٤ ساعة اما التركيز ٥٪ فان اعلى معدل قتل حققه ٤٥،٧ بعد مرور ١٢٠ ساعة ساعة واقل معدل ١٦،٣ بعد مرور ٢٤ ساعة ساعة .

جدول **(6)** معدل النسبة المئوية للإناث المقتولة باستخدام مستخلص نبات النعناع

التركيز	٢٤ساعة	٤٨ساعة	٧٢ساعة	٩٦ساعة	١٢٠ساعه	متوسط التركيز
control 0	0	0	0	0	0	0.0J
٥	16.3 Dd	24.7 Dc	35.7 Db	41.0 Aa	45.7 Ea	32.6 E
١٠	26.3 Cd	30.7 Cc	42.7 Cb	58.0 Ca	63.3 Da	44.2 D
١٥	30.3 Bd	40.7 Bc	54.7 Bb	66.0 Ba	72.3 Ca	52.8 C
٢٠	40.7Ad	56.3 Ac	75.0 Ab	82.0 Aa	86.7 Ba	68.1 B
٢٥	44.7Ae	57.3 Ad	77.7 Ad	83.0 Ab	100.0 Aa	72 .5 A
متوسط الوقت	21.2e	34.9 d	47.6 c	55 b	61.3 a	

×الأرقام التي امامها الحروف المتشابهة الصغيرة في الصف الواحد او الحروف المتشابهة الكبيرة في العمود الواحد لاتوجد بينها فروق معنوية حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمالية ٥٪ .

في جدول (٧) والذي يظهر تاثير نبات الزنجبيل على الاناث وجد ان التركيز ٢٥٪ ٢٥٪ قادر على القضاء على جميع الاناث بعد مرور ٩٦ ساعة اذا اعطى معدل ١٠٠٪ ١٠٠٪ واقل معدل كان ٥٧،٧ بعد مرور ٢٤ ٢٤ ساعة ، اما التركيز ٢٠٪ فان اعلى معدل معدل للقتل كان ٩٢،٣ بعد مرور ١٢٠ ساعة واقل معدل كان ٣٦،٧ بعد مرور ٢٤ ٢٤ ساعة اما التركيز ١٥٪ فقد اعطى معدل معدل ٧٩٪ بعد مرور ١٢٠ ساعة واقل معدل ٣٧،٧ بعد مرور ٢٤ ساعة ، اما التركيز ١٠ ٪ فقد اعطى معدل قتل ٤٩ ٪ بعد مرور ١٢٠ ساعة واقل معدل ١٥،٣ في في مدرة الحضن ٢٤ ساعة ، اما التركيز ٥٥ ٥٥ فانه الأقل تاثيرا فقد اعطى نسبة قتل ٤٣،٣٪ بعد مرور ١٢٠ ساعة واقل معدل كان ٧،٧ بعد مرور ٢٤ ساعة .

جدول **(7)** معدل النسبة المئوية للإناث المقتولة باستخدام مستخلص نبات الزنجبيل

التركيز	٢٤ساعة	٤٨ساعة	٧٢ساعة	٩٦ساعة	١٢٠ساعه	متوسط التركيز
control 0	0	0	0	0	0	0.0J
٥	7.7 De	14.3 Ed	26.7 Ec	33.0 Eb	43.3 Ea	25E
١٠	15.3 Ce	24.0 Dd	30.7 Dc	39.7 Db	49.0 Da	31.7D
١٥	31.7 Be	44.3 Cd	56.0 Cc	70.3 Cb	79.0 Ca	56.3C
٢٠	36.7 Be	52.7 Bd	68.3 Bc	80.7 Bb	92.3 Ba	66.1 B
٢٥	57.7 Ad	82.3 Ac	92.3 Ab	١٠٠Aa	١٠٠Aa	86.5A
متوسط الوقت	24.9Ee	36.2Dd	45.7Cc	53.9Bb	60.6 Aa	

×الأرقام التي امامها الحروف المتشابهة الصغيرة في الصف الواحد او الحروف المتشابهة الكبيرة في العمود الواحد لاتوجد بينها فروق معنوية حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمالية ٥٪ .

عند استخدام خليط من المستخلص المائي لنبات النعناع ونبات الزنجبيل بنسب متساوية جدول (٨) وجد ان افضل تركيز هو ٢٥٪ اذ اعطى نسبة قتل ١٠٠٪ بعد مرور ٢٤ ساعة اما التركيز ٢٠ ٪ فقد خفض عدد الاناث الى ٠ بعد مرور ٩٦ ساعة واقل معدل أعطاه كان ٥٩،٣ بعد مرور ٢٤ ساعة اما التركيز ١٥٪ فقد استغرق ١٢٠ ساعة و ٧،٧ ٥ بعد مرور ٢٤ ساعة.

استغرق ١٢٠ ساعة للوصول لمعدل قتل ١٠٠٪ وان اقل معدل حققه كان ٤٧ ٪ بعد مرور ٢٤ ساعة اما التركيز ١٠٪ فقد اعطى معدل ٧٣،٣٪ بعد مرور ١٢٠ ساعة واقل معدل ٢٤٪ بعد مرور ٢٤ ساعة واقل تركيز ٥٪ اعطى اقل معدل بين التراكيز المستخدمة وكان ٤٣،٣ بعد مرور

جدول **(8)**معدل النسبة المئوية للإناث المقتولة باستخدام خليط من مستخلص نباتي النعناع والزنجبيل

التركيز	٢٤ساعة	٤٨ساعة	٧٢ساعة	٩٦ساعة	١٢٠ساعه	متوسط التركيز
control 0	0	0	0	0	0	0.0J
٥	13.3Ee	21.0 Ed	32.3 Ec	38.3 Db	51.0	31.2 B
١٠	24.0De	36.7 Dd	50.3 Dc	63.0 Cb	75.3	49.9 D
١٥	41.7 Ce	60.3 Cd	83.3 Cc	92.3 Bb	١٠٠	75.5 C
٢٠	59.3 Bd	82.0 Bc	93.0 Bb	100Aa	100Aa	86.9 B

٢٥	100Aa	100Aa	100Aa	100Aa	100Aa	100Aa
متوسط الوقت	39.7 e	50 d	59.8 c	65.6 b	71 .a	

×الأرقام التي امامها الحروف المتشابهة الصغيرة في الصف الواحد او الحروف المتشابهة الكبيرة في العمود الواحد لاتوجد بينها فروق معنوية حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمالية ٥٪ .

عند اختبار تاثير الفطر *F.oxosporium*جدول (٩) وجد اناه اكثر تاثيرا من كل من مستخلص النعناع والزنجبيل اذا اعطى كل من التركيزين ٢٥٪ و ٢٠٪ معدل قتل ١٠٠٪ بعد مرور ٢٤ ساعة اما التركيز ١٥٪ فانه اعطى نفس المعدل السابق بعد مرور ٩٦ ساعة واقل معدل أعطاه كان ٦١٪ بعد مرور ٢٤ ساعة اما التركيز ١٠ ٪ فقد استغرق ١٢٠ ساعة للقضاء على جميع الاناث واقل معدل حققه كان ٤٨،٣ بعد مرور ٢٤ ساعة اما التركيز ٥٪ فان اعلى معدل قتل كان ٦٠٪ بعد مرور ١٢٠ ساعة واقل معدل كان ٢٦،٧ ٢٦،٧ بعد مرور ٢٤ ساعة .

جدول **(9)**معدل النسبة المئوية للإناث المقتولة باستخدام راشح الفطر ***F.oxosporium***.

التركيز	٢٤ساعة	٤٨ساعة	٧٢ساعة	٩٦ساعة	١٢٠ساعه	متوسط التركيز
control 0	0	0	0	0	0	0J
٥	26.7 De	37.3 Dd	43.0 Cc	51.3 Cb	60.0	43.7 D
١٠	48.3 Ce	66.3 Cd	82.7 Bc	94.3 Bb	١٠٠	65.2 C
١٥	61.0 Bc	84.0 Bb	96.0 Aa	100Aa	100Aa	88.2 B
٢٠	100Aa	100Aa	100Aa	100Aa	100Aa	100 A
٢٥	100Aa	100Aa	100Aa	100Aa	100Aa	100 A
متوسط الوقت	56c	64.6 b	70.2A	74.2 A	76.7 A	

×الأرقام التي امامها الحروف المتشابهة الصغيرة في الصف الواحد او الحروف المتشابهة الكبيرة في العمود الواحد لاتوجد بينها فروق معنوية حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمالية ٥٪ .

اما خليط كل من مستخلص النعناع والزنجبيل وراشح الفطر *F.oxosporium* جدول (١٠) فقد أعطت جميع التراكيز معدل قتل ١٠٠٪

ولكن بفترات حضن متفاوته اذ اعطى كل من التركيزين ٢٥٪ و٢٠٪ نسبة قتل ١٠٠٪ ١٠٠٪ بعد مرور ٢٤ ساعة وأعطى التركيز التركيز ١٥ ٪ نفس المعدل بعد مرور ٤٨ ساعة واقل معدل حققه التركيز كان ٨٢٪ بعد مرور ٢٤ ساعة وأعطى التركيز ١٠٪ معدل ١٠٠٪ بعد مرور ٧٢ ساعة واقل معدل له كان ٥٨٪ بعد مرور ٢٤ ساعة اما التركيز ٥٪ فقد كان معدل القتل له ١٠٠٪ بعد مرور ١٢٠ ساعة واقل معدل كان ٤٤٪ ٤٤٪ بعد مرور ٢٤ ساعة.

جدول **(10)** معدل النسبة المئوية للإناث المقتولة باستخدام خليط من مستخلص نباتي النعناع والزنجبيل و راشح الفطر ***oxosporiumF.***

التركيز	٢٤ساعة	٤٨ساعة	٧٢ساعة	٩٦ساعة	١٢٠ساعه	متوسط التركيز
control 0	0	0	0	0	0	0J
٥	44.0 De	60.3 Cd	83.7 Bc	92.7 Bb	100Aa	76.1 C
١٠	58.3 Cc	84.3 Bb	100Aa	100Aa	100Aa	88.5 B
١٥	82.0 Bb	100Aa	100Aa	100Aa	100Aa	100Aa
٢٠	100Aa	100Aa	100Aa	100Aa	100Aa	100Aa
٢٥	100Aa	100Aa	100Aa	100Aa	100Aa	100Aa
متوسط الوقت	64 d	74.1 c	80.6 b	82.1 b	100 a	

×الأرقام التي امامها الحروف المتشابهة الصغيرة في الصف الواحد او الحروف المتشابهة الكبيرة في العمود الواحد لاتوجد بينها فروق معنوية حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمالية ٥٪.

ان تاثير مستخلص نبات النعناع قد يعود الى احتواءه مركبات القلوية والفينولات والتانينات المعروفة بسميتها وتاثيرها ليس على النيماتود فقط وانما على العديد من الاحياء المجهرية (٦) كما درس (١٩) تاثير تاثير مستخلص النعناع على نيماتود تعقد الجذور *M. incoginta* اذ حلل المستخلص كيميائيا واختبر تاثير كل مادة على حده فوجد احتواءه على وفرة من التربينات منها المنثون والمنثول والبوليفون والكارفون فضلا عن بعض الحوامض مثل الكلوروجنيك والسلفانولك وروزمارنك

وان اكثر هذه المركبات تاثيرا كان الكارفون والمنثول ، كما اثبتت دراسة (١٧) ان إضافة مستخلص النعناع الى التربة ساهم في تخفيض تكوين العقد على النبات بنسبة ٩٠٪ مقارنة بتربة غير معاملة كما اكدت دراسة (٢١) ان الزيوت الأساسية المستخلصة من نبات النعناع قادره على تثبيط فقس البيوض بنسبة ١٠٠٪ حتى حتى في اوطا التراكيز . اما تاثير نبات الزنجبيل فانه قد يكون بسبب احتواءه على مركبات فعالة ذات تاثير سام مثل Curcumine والمركبات الفينولية فقد اكدت دراسة (١٥) ان للزنجبيل تاثير على ديدان تعقد الجذور *M. incoginta* اذ ان اضافته الى التربة تؤدي الى كبح اختراق الجذور من قبل يافعات الدور الثاني مما يقل من عدد العقد على الجذور وكذلك دراسة (١٨) التي وجد من خلالها قدرة مستخلص نبات الزنجبيل على اختزال عدد العقد المتكونة على جذور الباذنجان في الترب المعاملة بالمستخلص وذكر (٢) ان التراكيز العالية من الزنجبيل قادرة على تثبيط فقس البيوض وموت اليافعات .وان قدرة خليط المستخلصين معا قد تعود الى ان المركبات الفعالة للنباتين تكمل احداها الأخرى بالنظر للتنوع الذي يمتلكه كلا النباتين من حيث نوع المركبات فالتربينات في النعناع والفينولات في الزنجبيل قد تزيد من كفاءة الخليط في مكافحة النيماتود. اما تاثير فطر *F.oxosporium* فانه من الفطريات المعروفة بقدرتها على التطفل على بيوض النيماتود بشكل عام فضلا عن انتاج بعض السموم المثبطة التي تقتل اليافعات والاناث على حد سواء فقد وجد من خلال دراسة قام بها (٢٠) ان عدد العقد التي تكونها *M. hapla* تقل عن وجود عزلات من الفطر *F.oxosporium* في الترب المزروعة فيها النباتات المصابة كما اكدت دراسة (٢٢) ان الراشح الفطري والمعلق المائي للفطر *F.oxosporium* أدى الى تثبيط كامل لفقس بيوض نيماتود تعقد الجذور مقارنة بالمحلول القياسي كما حققت التخافيف المستخدمة في الدراسة نسب متفاوته في التاثير حسب التركيز الذي تم استخدامه .

المصادر العربية :

١-الساهوكي ، مدحت مجيد وكريمةو وهيب . (١٩٩٠) .تطبيقات في تصميم وتحليل التجارب . دار الحكمة للطباعة والنشر . الموصل

٢- الموسوي، هدف هاشم محمد (٢٠١٢). دراسة تاثير المستخلص المائي والكحولي لنبات النعناع ***Spearmint plant***على نمو وتطور الجريبات المبيضية في الفئران البالغة . مجلة كلية التربية للعلوم الصرفة .جامعة ذي قار . ٢ . (٢)

٣- حسن، زينب عبد علي (٢٠١١) . دراسة التاثير التثبيطي لمستخلص نبات الزنجبيل ***Zingiberofficinale*** في بعض الجراثم المرضية ومحتوى اللحم البقري المفروم من الاحياء المجهرية. مجلة جامعة كربلاء .٩. (٤) .

٤-عبد الله، فؤاد احمد(٢٠١٣). تاثير مستخلص الماء المغلي والبارد لنبات السبحبح ***Meliaazedarach L*** ونبات النعناع Menthapiperita في هلاك كاملات خنفساء الحبوب الشعرية(الخابرا) ***Trogodermagranarium***. مجلة جامعة الانبار للعلوم الصرفة. ٧ . (١)

٥- عبد،احمد فاضل ٢٠٠٨ . تاثير المستخلص المائي لاوراق وثمار وقلف اليوكالبتوس لمقاومة نيماتود تعقد. مجلة القادسية للعلوم الصرفة .١٣.(٢) ***Meloidogynejavanica***.

٦- عبيد ، زينة هادي ، محمود ، نور و مزهر ، امير (٢٠١٣). تاثير المستخلص المائي للرمان والنعناع على فعالية ونمو الفطر ***Alternariaalternata*** . مجلة جامعة بابل للعلوم الصرفة .٣. (٢١).

٧- محمد، سعاد يحيى(٢٠٠٧). استخدام أساليب مختلفة في مكافحة مرضي تعفن وتعقد جذور شتلات الزيتون وتاثيرها في نموها. أطروحة دكتوراه. كلية الزراعة والغابات .جامعة الموصل.

٨- مزهر، موسى نعمة (٢٠٠٥) . عزل وتشخيص الفطريات المسببة لمرض تبقع الأوراق البني وإمكانية السيطرة عليه. رسالة ماجستير. كلية العلوم. جامعة الكوفة.

References :

9-Al abed Al kader , M.(2008) . In vitro studies on nematode interactions with their antagonistic fungi in the rhizosphere of various plants Ph.D. Thesis.... Albert-LudwigsUnvi. Germany .Pp.277 .

10-Ameer-Zaren, M.JavedZaki and NazirJaved .2003.Nematicidial activity of Ginger on the effecty of Pasteuriapenetrans for the control of root knot nematodeon tomato. Asian Journal of plant sciences 2(11): 858:560.

11- Barron ,G.L,(1977). The nematode destroingfungi.Candian biological Publication ,Gulph ,Ontario,Canada,Pp:138.

12-Degenkolb, T. and Vilcinskas, A. 2016.Metabolites from nematophagous fungi and nematicidal natural products from fungi as an alternative for biological control. Part I: metabolites from nematophagousascomycetes. Applied Microbiological Biotechnology 100: 3799-3812.

13-Haliman,J and R.A.Sikora.1993. In vivo and invitro control of *Meloidogyne incognita* with culture filtrates from non pathogenic*Fusariumoxysporum* on tomato. APS/Son joint meeting Nov.6-10.Proc of Soc .ofNematologists

14-Jagdale, G. B., NethiSomasekhar, Grewal, P. S. and Klien M. G. 2002. Suppression of plant parasitic nematodes by application of live and dead entomopathogenic nematodes on Boxwood (*Buxus*spp). Biological Control 24: 42-49.

15-Jibia AbdulhadiBawa ;Iliya Mohammed ;, SanusiLiadi(.2014). Nematicidal Effect of some Plants Extracts on Root-Knot Nematodes *Meloidogyne incognita* of Tomato *Lycopersiconesculentum.*World J Life Sci. and Medical Research;3.(3):81

16- JohnWebster and RolandWeber(2007) .Introduction to Fungi . Third Edition.Pp 347.

17- J. T. Walkerand J. B. MELIN .(1996). *Mentha x piperita, Menthaspicata*and effects of their essential Oils on *Meloidogyne*in Soil . Supplement to Journal of Nematology 28(4S):629-635 .

18-M. M. A. Youssef1, Wafaa M. A. El-Nagdi1, Mona G. Dawood.(2015). Population density of root knot

nematode, *Meloidogyne incognita* infecting eggplant as affected by medicinal plant aqueous extracts. Applied Science Reports.PSCI Publications. P-ISSN: 2311-0139.

19-Pierluigi Caboni; Marco Saba; GraziellaTocco; Laura Casu; Antonio Murgia; Andrea Maxia; UraniaMenkissoglu-Spiroudi and NikolettaNtalli. (2013). Nematicidal Activity of Mint Aqueous Extracts against the Root-Knot Nematode *Meloidogyneincognita* .American Chemical Society *.J. Agric. Food Chem.*, *61* (41), pp 9784–9788.

20-Roccuzzo,G;A.Ciancio and R.Bonsignore .1993. Population density and soil antagonstis of *M.hapla* infected kiwi in southern Italy.Fundamental and applied Nematology 16:151:154.

21-SAID K. Ibrahim, Abdalla .H .F. Traaboulsi and Samih El-Haj. (2006). Effect of essential oils and plant extracts on hatching, migration and mortality of Meloidogyne incognita . *Phytopathol.Mediterr.*45, 238–246.

22- Shahda,W.T; O.I.Dawwood and I.K.Ibrahim.(1998). Effect of certain fungi and plant Extract on egg hatching of Meloidogynespp .Alex.J.Agric .res 43:159-166.

23 Wohlmuth , H. ; Leach , D. ; Smith , M. and Myers , S.(2005) Gingerol content of Diploid and tetrapliod clones of Ginger (Zingiber officinal). J. of Agric. Food Chemi.53 : 5772 – 5778 .