مكافحة العفن الأخضر (*Penicillium digitatum*)على ثمار البرتقال باستخدام زيت القرنفل (*Syzygium aromatic*)

أروى محمد بيانكو و زهرة ابراهيم الجالي
قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة عمر المختار

المستخلص

يمثل البرتقال أحد الحمضيات المنتشرة على نحو واسع في أرجاء العالم، وتتأثر ثماره بعدد من أمراض ما بعد الحصاد التي تؤدي لانخفاض فترة حيوية الثمار التجارية. لوحظت أعراض مرض العفن الأخضر على الثمار المعروضة للبيع في السوق المحلية الأمر الذي يؤدي إلى استبعادها. حيث تناول هذا البحث في البداية عزل وتعريف الفطر الممرض بهدف استخدام زيت القرنفل لمكافحته كبديل للمبيدات الكيميائية. نتائج تطبيق الزيت التجاري والزيت الخام بطريقة الحقن على الثمار لمكافحة الإصابة بالمرض أثبتت أن الزيت الخام كان أكثر فعالية في تقليل العفن على الثمار من الزيت التجاري (64.1% و 100%) على التوالي، وأن تعفن الثمار قل بارتفاع التركيز. طرق تطبيق الزيت الخام بأساليب مختلفة على الثمار المخزونة شملت الملامسة المباشرة بين الفطر الممرض والزيت، التبخير، الغمر، بينت أن معاملة الثمار بالغمر كانت أفضل المعاملات في تقليل المرض قبل أو بعد العدوى بالفطر؛ حيث خفضت مساحة العفن (22.6% و 19.6%) وشدة المرض (64% و 52%) مقارنةً بالشاهد (61.3% و 88%) على التوالي.

الكلمات الدالة: مكافحة، العفن الأخضر، *Penicillium digitatum*، زيت القرنفل، البرتقال.

المقدمة

ثمار الخضروات والفاكهة غنية بالفيتامينات الضرورية، المعادن، الألياف والمركبات المعززة للصحة. أثناء السنوات الأخيرة ركز المستهلكون على المنتج الجيد الآمن للاستهلاك والغني بالقيمة المغذية (Sivakumar and Bautista-Baños, 2014). خلال العقدين الأخيرين جرت عدة محاولات لتخفيض استخدام مبيدات الآفات عن طريق إدخال المنتجات النباتية الطبيعية كمركبات تجارية أكثر أمانا للبشر والبيئة وعلى الأطعمة المستهلكة؛ حيث تمتلك بعض الزيوت خاصية المبيدات ضد بعض مسببات الأمراض وخاصة بعد الحصاد في ثمار الفاكهة والخضروات (Arshad *et al.*, 2014).

برهنت دراسات عديدة على الدور الذي تلعبه الزيوت النباتية كمبيدات مستخدمة ضد عديد من الكائنات الممرضة المسببة لأعفان ما بعد الحصاد؛ حيث تمكن Ismail *et al.* (2010) من خفض تعفن ثمار الجوافة بعد الحصاد وأثناء التخزين بمعاملتها بزيت الليمون *Citrus limon* 6% كمادة متبخرة في صناديق التخزين ضد الفطر *Rhizopus stolonifer*، وبرهن Fatemi *et al.* (2011) أنه عند رش ثمار البرتقال صنف فالنسيا بمعلق أبواغ الفطر *Penicillim digitatum* وتركها لمدة 12 ساعة حتى تتمكن الأبواغ من اختراق طبقات القشرة والأغلفة الثمرية ثم رشها ثانية بزيت الزعتر *Thymus vulgaris* وزيت النعناع

للاتصال: زهرة ابراهيم الجالي قسم وقاية النبات - كلية الزراعة - جامعة عمر المختار- البيضاء- ليبيا.
هاتف: ..... البريد الالكتروني Zahra.ibrahim@omu.edu.ly
استلمت بتاريخ: 2018/12/19 أجيزت بتاريخ: 2019/4/21

Mentha spicata في ظروف السيطرة تحت رطوبة 90%، استطاع خليط الزيت حماية الثمار وتقليل الإصابة بنسبة 27% مقارنة بالشاهد 100%.

ناقش Anjum and Akhtar (2012) تأثير الاستخلاص المائي لزيت القرنفل *S. aromaticum*، زيت الكمون *Cuminum cyminum* وزيت القرفة *Cinnamomum verum* في مكافحة مرض العفن الأزرق على ثمار البرتقال المتسبب عن الفطر *P. italicum*. أثبتت نتائج التجربة قدرة زيت القرنفل *S. aromaticum* والكمون *C. cyminum* عند التركيزين 48µl/ml و 24µl/ml على الترتيب في منع نمو ميسليوم الفطر بالكامل على الثمار، في حين لم يستطع زيت القرفة *C. verum* منع العدوى حتى عند التركيزات العالية، كما أثبت Tabti *et al.* (2014) أنه عند رش زيت الزعتر *T. vulgaris* ثم معلق أبواغ الفطريات *Aspergillus niger*، *A. oryza*، *Fusarium solani* و *P. italicum* كلاً على حدة على ثمار البرتقال المجروحة في صناديق بلاستيك (رطوبة نسبية 7% و 25م°) لمدة 15 يوم أعطى الزيت حماية للثمار ضد التدهور بنسبة 100%.

سُجلت كفاءة مجموعة من الزيوت المستخلصة مائياً شملت زيت الريحان (الحبق) *Ocimum americanum*، زيت حشيشة الليمون *Cybopogon citratus*، *C. flexuosus*، *Pycathus angonensis* و *Xylopia aethiopical* في حماية ثمار البرتقال ضد الإصابة بالعفن الأخضر المتسبب عن الفطر *P. digitatum* ، وأن أكثرها كفاءةً في وقاية الثمار كان زيت *C. flexuosus* بعد 21 يوم بعد الإصابة الصناعية (Ojo, 2014). في دراسة أخرى تمكن Jhalegar *et al.* (2015) من خفض تعفن ثمار المندرين (اليوسفي) *Citrus reticulate* الملقحة صناعياً بالفطرين *P. digitatum* و*P. Italicum* والمخزونة في ظروف باردة بعد معاملتها بمجموعة من الزيوت شملت: زيت الليمون *C. limon*، والكافور *Eucalyptus globulus*، والقرنفل *S. aromaticum* والنيم *Azadirachta indica*. وأثبت Wang *et al.* (2017) فعالية زيت القرنفل S. *aromaticum* بالتبخير أكثر من الملامسة في خفض العفن على ثمار برتقال أبو صرة Navel 141 المصابة بالفطر *P. digitatum* والمخزونة لمدة 5 أيام في درجة حرارة 25م°.

وفي دراسة أخرى اختبر Vieira *et al.* (2018) مجموعة من الزيوت شملت زيت القرفة *C. zeylacium*، الاكليل *Rosmarinus officinalis*، القرنفل *S. aromaticum* وزيت حشيشة الليمون *C. winterianus* في حماية ثمار التفاح المخزونة من الإصابة بالفطر *P. expansum* ودراسة التغيرات التي قد تطرأ على القشرة ومكونات الثمرة بعد معاملتها بالزيت؛ حيث أوضحت نتائج التجربة أنه بالإمكان حماية الثمار من الإصابة لمدة 30 يوماً من التخزين في جو بارد كما أنه لم يسجل أي تغيرات على الثمرة أو بداخلها لمدة 5 أشهر من التخزين. وبرهن Zahani and Khaledi (2018) أن زيت القرنفل *S. aromaticum* كان فعالاً في تقليل تعفن ثمار البرتقال بالفطرين *P. digitatum* و *P. Italicum* وإطالة فترة تخزينها عند درجة حرارة 4م°. نظراً لتكرار ظهور مرض العفن الأخضر على ثمار البرتقال في السوق المحلي، استهدفت هذه الدراسة مكافحة المرض بتطبيق زيت القرنفل بطرق مختلفة.

المواد وطرائق البحث

مصدر الفطر الممرض:

تم الحصول على عزلة الفطر الممرض من ثمار برتقال مصابة بالعفن الأخضر (شكل 1)؛ حيث جرى عزلها وتعريفها وفقاً للمراجع المعتمدة (Hunter and Barnett, 1998). جُهز لقاح الفطر من مزرعة نامية بعمر 5- 7 أيام باستخدام .Hemocytometer للحصول على التركيز 1 × 10^6 بوغ/مل.

مصدر الزيت:

تم الحصول على الزيت التجاري من محلات بيع الزيوت الطبية، أما الزيت الخام تم استخلاصه معملياً من فصوص البراعم الزهرية المجففة للقرنفل. استخدم جهاز الاستخلاص Clevenger apparatus المبين في الشكل (2) للحصول على الزيت الخام وذلك بطحن كمية من القرنفل

المجففة، وأخذ 100 جم ووضعت في دورق كروي، أُضيف إليها 150 مل ماء واستمرت عملية الغليان والاستخلاص لمدة 3 ساعات. جمعت المادة المتطايرة المخلوطة ببخار الماء بالتكثيف في دورق الاستقبال بعد مرورها على المكثف الموصول بماء الصنوبر البارد طيلة فترة الاستخلاص. فُصل الزيت المخلوط بالماء بواسطة قمع فصل، وجُفف باستخدام كمية قليلة من كبريتات الصوديوم اللا مائية Sodium Sulphate anhydroses (Na_2SO_4) للتخلص من الماء، وُوضع في قارورة محكمة الغلق وخُزن في الثلاجة عند 4م° لحين الاستخدام (Hamini-Kadar *et al.*, 2014).

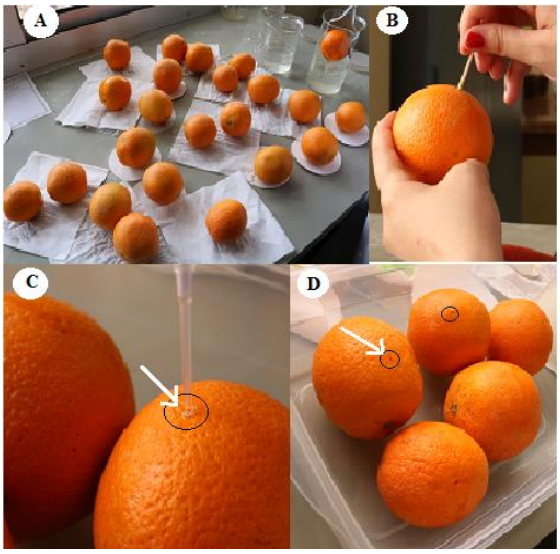
شكل (1): a: أعراض العفن على الثمار (عند السهم)، B: التراكيب المورفولوجية للفطر *P. digitatum*

شكل (2): التقطير المائي التقليدي للزيت بواسطة جهاز Clevenger

تأثير الزيت التجاري والزيت الخام على درجة تعفن الثمار:

حقن الزيت وعدوى الثمار:

جُلب من السوق عدد 60 ثمرة سليمة متجانسة الحجم واللون عُقمت سطحياً بمحلول الكلوراكس 10%، غُسلت بعدها بالماء المعقم وتُركت تجف في درجة حرارة المعمل (شكل 3- A). تم باستخدام عيدان الأسنان وخز الثمار (شكل 3- B) لإحداث جروح بقطر2مم وبعمق 3مم تقريباً. جرى حقن الثمار بـ50 ميكروليتر من الزيت الخام على حده وحقنها كذلك بكل تركيز (1.0 ، 0.5 ، 0.1%) وتُركت لمدة نصف ساعة (شكل 3- C)، ثم تم تلقيحها بـ20 ميكروليتر من لقاح الفطر (1×10^6). حُقنت ثمار الشاهد بالماء المعقم و20 Tween فقط وحُقنت بعدها بمعلق أبواغ الفطر، وبلغ عدد مكررات التجربة خمسة، واستخدمت ثمرة واحدة في مكرر المعاملة الواحدة. وُضعت الثمار المعاملة وثمار الشاهد في صناديق بلاستيك (شكل 3- D) لمدة 10 أيام وخُزنت في درجة حرارة المعمل 23±2م° لمتابعة ظهور الأعراض وتطور المرض. فُحصت ثمار البرتقال يومياً وقِيست أقطار الأعفان الناتجة عن الإصابة بعد تحضينها (Ojo، 2014).

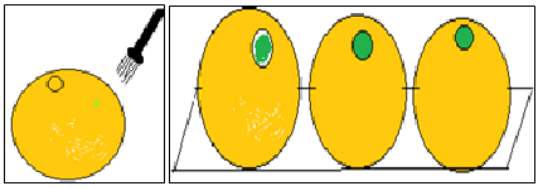


شكل (3): معاملة وعدوى ثمار البرتقال. A: تعقيم الثمار، B: وخز الثمار لإحداث جروح بها، C: حقن كمية الزيت داخل الثمرة (عند السهم) ، D: ثمار محقونة بالزيت ومعلق الفطر وجاهزة للتخزين.

دراسة تأثير طرق مختلفة للمعاملة بالزيت الخام والعدوى بلقاح الفطر على سرعة تطور العفن على الثمار:

المعاملة بالملامسة:

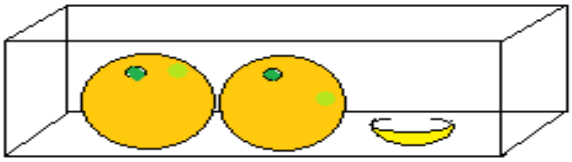
في هذه التجربة تم وخز الثمار لإحداث جروح عليها بقطر2 مم وبعمق 3 مم تقريباً. بواسطة فرشاة ناعمة غُمست في الزيت عُوملت الثمار بدهن منطقة الثقب أو الجرح بالزيت تركيز 1%. تم تلقيح الثمار بوضع قرص بقطر 0.5سم من مزرعة للفطر فوق منطقة الثقب (اليتيم وآخرون، 2003). في معاملة الشاهد لُقحت الثمار بدون زيت وُضعت الثمار الملقحة في صناديق بلاستيك محكمة القفل وخُزنت عند درجة حرارة 4-9م° (شكل 4)، وخضعت للمراقبة حتى بداية ظهور الأعراض.



شكل (4): تطبيق الزيت بالملامسة على الثمار المجروحة قبل العدوى بقرص الفطر .

المعاملة بالتبخير:

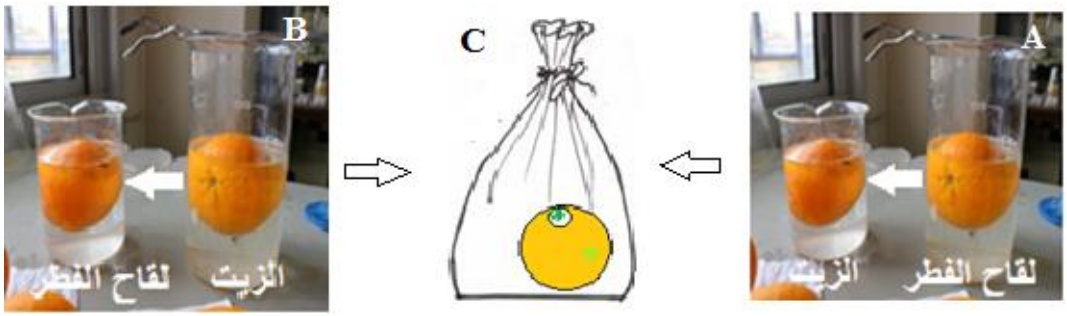
تم جرح الثمار كما سبق، ولُقحت بقرص 0.5 من لقاح الفطر، ورُتبت في صناديق من البلاستيك تحوي زجاجة ساعة مملوءة بالزيت تركيز 1% (Lee *et al.*, 2007). في معاملة الشاهد لُقحت الثمار ووُضعت في صناديق خالية من الزيت. أُقفلت جميع الصناديق (شكل 5)، وخُزنت عند درجة حرارة 4 – 9م° وخضعت للمراقبة حتى بداية ظهور الأعراض.



شكل (5): تطبيق الزيت بالتبخير على الثمار المُعداه بقرص الفطر.

المعاملة بالغمر:

تم جرح الثمار كما سبق وقُسمت إلى ثلاث أقسام: الثمار في القسم الأول تم غمرها في لقاح الفطر تركيز 1×10^6 بوغة/مل، وتُركت لمدة نصف ساعة في درجة حرارة المعمل لتجف وللسماح لأبواغ الفطر بالالتصاق على الثمرة، ثم غُمرت مرة أخرى في الزيت بتركيز 1% (شكل 6 - A) وفقاً للطريقة التي ذكرها Molina *et al.* (2000). الثمار في القسم الثاني غُمرت في الزيت أولاً (شكل 6 – B)، وتُركت لتجف ثم غُمرت في لقاح الفطر 1×10^6 بوغة/مل (الجالي وآخرون، 2015).

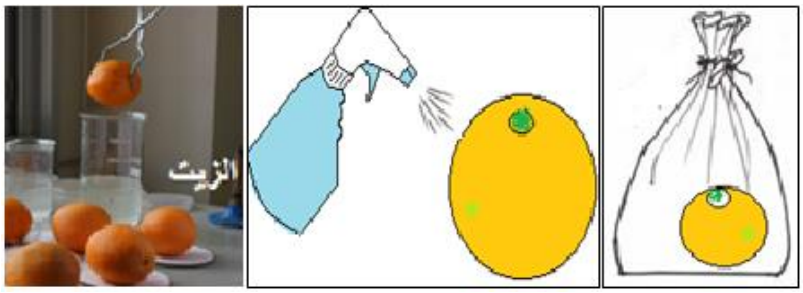


شكل (6): معاملة الثمار المجروحة بالغمر في لقاح الفطر ثم الغمر بالزيت (A) أو العكس(B) ثم التخزين (C).

غُمرت الثمار في القسم الثالث في الزيت كما سبق ثم لُقحت بالرش (شكل 7) باستخدام مرشة خاصة (بخاخ) لنشر وتوزيع لقاح الفطر (1×10^6 بوغة/مل). في معاملة الشاهد غُمرت الثمار في ماء معقم بدلاً عن الزيت ثم غُمرت في لقاح الفطر أو تم رشها باللقاح. وُضعت جميع الثمار المعاملة في أكياس من البلاستيك كل ثمرة على

المجلة الليبية للعلوم الزراعية، المجلد (24)، العدد (1) 2019: 59-71

حده في كيس منفصل وخُزنت على رفوف عند درجة حرارة 4-9م° وتمت متابعتها لتسجيل ظهور الأعراض.



شكل (7): معاملة الثمار المجروحة بالغمر في الزيت ورش اللقاح والتخزين.

تسجيل النتائج:

تمت متابعة الثمار يومياً وأخذ القراءات بعد مرور 10 أيام من العدوى. تم قياس قطر دائرة العفن في اتجاهين متعامدين وأخذ متوسط القراءة، وحساب مساحة العفن، ولتقدير شدة المرض اتبع المقياس المعدل الذي أقترحه Fallik *et al.* (1993) والذي يشتمل على 6 درجات للإصابة:0= لا يظهر عفن، 1= قطر العفن أقل من 1سم، 2= قطر العفن يتراوح بين 1- 2.5سم، 3= قطر العفن يتراوح بين 2.5- 4سم، 4= قطر العفن يتراوح بين 4-6سم، 5= عفن الثمار بالكامل وتكون مغطاة بنمو ميسليومي كثيف أو قطر العفن أكبر من 6سم، ومن ثم حساب شدة المرض بالمعادلة التي وضعها Horsfall and Haubeger (1942) كالتالي :

$$\text{شدة المرض (\%)} = \frac{\text{مجموع (درجات الإصابة} \times \text{عدد الثمار)}}{\text{عدد درجات المقياس} - 1 \times \text{عدد الثمار الكلي}} \times 100$$

التحليل الإحصائي:

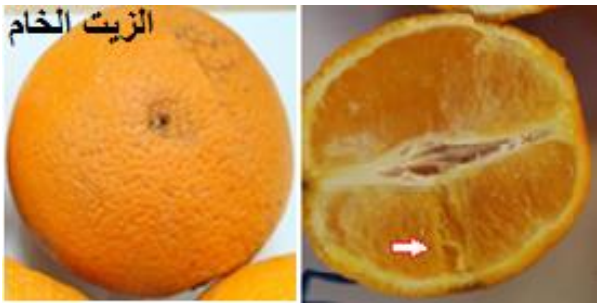
صممت جميع التجارب في التصميم تام العشوائية (RCD). كل البيانات المتحصل عليها في هذه الدراسة جرى تحليلها بواسطة جهاز الحاسوب وباستخدام البرنامج الإحصائي CO Stat. النسب المئوية تم تحويلها إلى القيم الزاوية المقابلة لها من جداول Percentage Angle قبل تحليلها للوصول $= \text{Arcsin}\sqrt{\text{Percentage}}$ إلى جدول تحليل التباين (ANOVA) وحساب أقل فرق معنوي LSD تحت المستوى ($P \leq 0.05$) للمقارنة بين متوسطات المعاملات.

النتائج والمناقشة

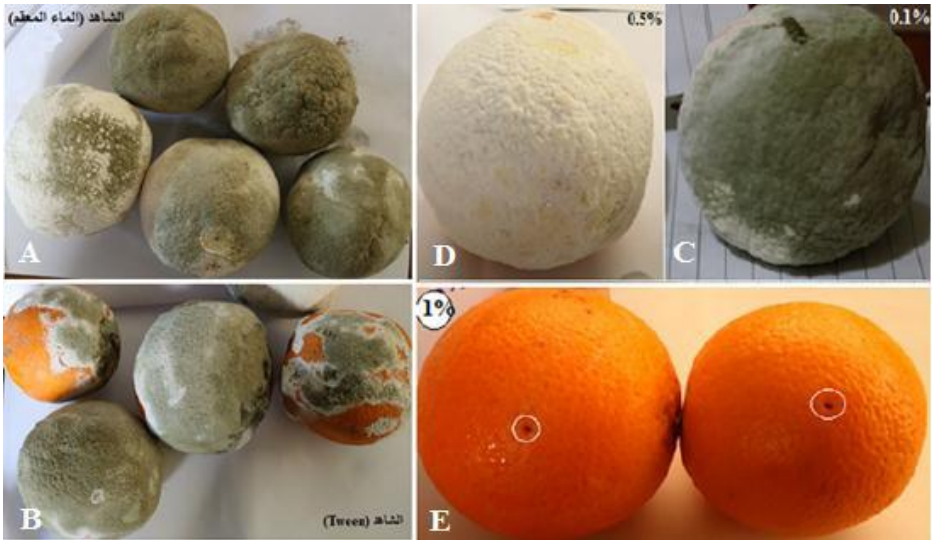
تأثير الزيت التجاري والزيت الخام على تطور المرض:

أُختبر تأثير الزيت الخام المستخلص معملياً بعد حقنه في الثمار التي لُقحت بعدها بلقاح الفطر في نفس الموضع. أشار الشكل (8) إلى حدوث منع لظهور المرض تماماً على الثمار المعاملة.

أشارت نتائج دراسة تأثير تركيزات من الزيت التجاري والزيت الخام على تعفن الثمار المعداة صناعياً، إلى تعفنها بالكامل في معاملة الشاهد الأول- الماء المعقم- (شكل 9 – A) وفي معاملة الشاهد الثاني - Tween - (شكل 9 – B)، كما لوحظ تعفن الثمار بالكامل عند التركيز 0.1% (9 - C)، وتوقف التبوغ على الثمار تحت تأثير تركيز الزيت 0.5% (شكل 9 - D)، في حين لم يسجل عفن على الثمار المعاملة بالزيت تركيز 1% (شكل 9 - E) في كلا نوعي الزيت. نتائج مماثلة سجلها Anjum and Akhtar (2012) والتي أثبتا فيها تمكن زيت القرنفل من منع نمو ميسليوم الفطر *P. italicum* على ثمار البرتقال.



شكل (8): وقاية الثمار بالكامل تحت المعاملة بالزيت الخام. خلو منطقة الثقب من العفن (يسار)، خلو منطقة الجرح (عند السهم) داخل الثمار من ظهور العفن (يمين).



شكل (9): اختلاف درجة تعفن الثمار تحت تأثير تركيزات من الزيت التجاري والزيت الخام. A: تعفن الثمار بالكامل في معاملة الشاهد الأول (الماء)، B: الشاهد الثاني (Tween)، C: تعفن الثمار وتبوغ غزير للفطر على الثمار المعاملة بتركيز 0.1%، D: نمو كثيف للميسليوم بدون تبوغ على الثمار المعاملة بتركيز 0.5%، E: ثمار سليمة وخالية من التعفن عند منطقة الجرح بعد المعاملة بالزيت تركيز 1%.

تأثير المعاملة بتركيزات من الزيت التجاري والزيت الخام على مساحة العفن وشدة المرض على الثمار مدونة في الجدول (1)؛ حيث أشارت إلى منع ظهور العفن عند المعاملة بالتركيز 1% لكلا الزيتين، وأن الزيت الخام أكثر فعالية في تقليل المرض عند خفض التركيز؛ حيث سجل مساحة عفن بنسبة 57.3% مصحوبة بشدة مرضية بنسبة 8% في الثمار المعاملة بـ0.5% في حين كانت مساحة العفن 100%، وشدة بلغت 10% عند المعاملة بالزيت التجاري تحت نفس التركيز. أشارت نتائج التحليل الإحصائي إلى وجود فروقات معنوية بين التركيزات وبين كلا نوعي الزيت بالإضافة إلى التداخل بين الزيت والتركيز. تطابقت هذه النتيجة مع نتائج مماثلة أثبتت أنه بزيادة

التركيز تزداد فعالية الزيت ضد الممرضات (Anjum and Akhtar, 2012 ; Zahani and Khaledi 2018). ربما تعود فعالية الزيت الخام إلى أنه زيت خام مستخلص مباشرة من النبات، بينما الزيت التجاري ربما قد تعرض للتغير في بعض مكوناته التي قد تخفض من فعاليته. إن فعالية الزيت تعتمد على بعض القياسات مثل رقم التصبن، رقم الحموضة، قيمة الاسترات، رقم البيروكسيد، والمحتوى من الفينولات (Singh and Tripathi, 2015)، والتي تتأثر بطول فترة التخزين؛ حيث وجد Nyam *et al.* (2013) أنه مع ازدياد فترة التخزين يحدث انخفاض في رقم الحموضة، التصبن ورقم اليود والبروكسيد في الزيت التجاري والتي كانت مرتفعة في الزيت جديد التقطير مما يشجع على نمو الفطريات أو قد يعزى الاختلاف بين نوعي الزيت إلى التركيب الكيميائي، ظروف الحصاد والتداول بالإضافة إلى طريقة التقطير والتي قد تعمل على فقدان بعض المواد أو تكسرها (Panizzi *et al.*, 1993 ؛ فاتح، 2012).

جدول 1: تأثير تركيزات من الزيت التجاري والزيت الخام على تطور العفن على الثمار

التركيز (%)	الزيت التجاري		الزيت الخام	
	مساحة العفن (%)	شدة المرض (%)	مساحة العفن (%)	شدة المرض (%)
%1.0	0.0 (00.0)	0.0 (00.0)	0.0 (0.0)	0.0 (0.0)
%0.5	100 (90.0)	10.0 (18.4)	57.3 (49.20)	08.0 (16.43)
%0.1	100 (90.0)	10.0 (18.4)	64.1 (53.13)	08.0 (16.43)
%0 (Tween)	100 (90.0)	10.0 (18.4)	100 (90.0)	10.0 (18.4)
%0 (الماء)	100 (90.0)	10.0 (18.4)	100 (90.0)	10.0 (18.4)
LSD 5%				
التركيز	***8.77			
الزيت	***5.54			
التركيز × الزيت	***11.40			

الأرقام داخل الجدول متوسط خمس مكررات

الأرقام بين القوسين تعني التحويل الزاوي للنسبة المئوية

***: فروقات معنوية مرتفعة عند $P \leq 0.05$

أشارت دراسات عديدة إلى أن النباتات العطرية تنتج زيوت على شكل أيض ثانوي استعملت كمواد حافظة للحبوب والخضر والفاكهة ضد التحلل الميكروبي نظراً لاحتوائها على مواد ذات نشاط تضادي مثل الالدهيدات، التربينونينات، التربينات، الكيومارينات والكاروتينات (Anthony *et al.*, 2003; Sivakumar and Bautista-Baños, 2014; Pandey *et al.*, 2017).

وذكرت بعض الدراسات إلى أن فعالية زيت القرنفل تعود إلى احتواءه على مواد هامة مثل Eugenol ، Acetyl eugenol ، Alpha-terpineol ، Iso-eugenol ، β-caryophyllene و β-terpinene (Silva and

Fernandes, 2010 ; Rahimi *et al.*, 2012; Zahani and Khaledi, 2018). هذه المركبات الفينولية ثبتت فعاليتها كمضادات ميكروبية ومضادات فطرية (Ayoola *et al.*, 2008). كما ثبت أن الEugenol يمنع نشاط الإنزيمات التالية: ATPase، histidine، decarboxylase، amylase وprotease. تثبيط إنزيم ATPase ربما يكون هام لقتل الخلية عند التركيزات العالية (Hyldgaard *et al.*, 2012). وأورد Fung *et al.* (1977) أن مركب Eugenol يحوي فينولات تتفاعل مع بروتين الغشاء الخلوي وتؤدي إلى تشوهات في تركيبه ووظائفه، كما أن لمحتوى الفينولات دور أساسي في مقاومة النبات ويفعل آلية الدفاع ضد الممرضات (Assis *et al.*, 2001).

المقارنة بين معاملات مختلفة وتأثيرها على تطور المرض:

استهدفت التجربة دراسة تأثير معاملات مختلفة بالزيت كوقاية للثمار وطرق حقن مختلفة بالفطر على تطور مساحة العفن وشدة المرض عليها. لوحظ من النتائج المدونة في الجدول (2) انخفاض مساحة وشدة التعفن في جميع الثمار المعاملة مقارنة بالثمار في الشاهد. كانت معاملة غمر الثمار في الزيت أفضل المعاملات في تقليل مساحة العفن وشدة المرض مقارنة بالمعاملة بالملامسة أو التبخير؛ حيث سجلت 19.6% و 52% ، 22.6% و64% ، 37% و76% في معاملات غمر الزيت وغمر اللقاح، غمر

اللقاح وغمر الزيت، وغمر الزيت ورش اللقاح على الترتيب مقارنة مع التعفن في ثمار الشاهد. أشارت نتائج التحليل الإحصائي إلى وجود فروق معنوية بين المعاملات في تأثيرها على مساحة العفن وشدة المرض على الثمار. تطبيق الزيت بطريقة الغمر خفض مساحة العفن وشدة المرض على الثمار أكثر من الطرق الأخرى. نتائج مطابقة ذكرها Soliamani *et al.* (2009) عن استخدام زيت الزعتر في مكافحة العفن الأخضر على البرتقال والتي أشار فيها إلى فعالية الغمر أكثر من الرش في مكافحة المرض.

تعود كفاءة الغمر في مكافحة المرض إلى ارتباط المواد المتطايرة النشطة والمواد الكارهة للماء مع المركبات الخلوية وبالتالي يعمل الزيت على تأخير انتقال الرطوبة، والأكسجين والرائحة للكائن الممرض (Ponce *et al.*, 2008; Avila *et al.*, 2012). كما أورد Sãnchez-Gonzãlez *et al.* (2010) أن طلاء الفاكهة بفيلم رقيق من الزيت يؤخر عملية النضج عن طريق إحداث تغيرات في المحتوى الغازي من O_2 و CO_2، النفاذية، إنتاج الايثلين والتأثير على معدل التنفس.

نتائج مكافحة الفطر على الثمار أشارت إلى عدم فعالية طريقة التبخير، وطريقة الملامسة المباشرة بين الزيت والفطر على سطح الثمرة في تقليل العفن وخفض شدة الإصابة. نتائج مماثلة أوردها Ramezani and Solaimani (2009) عند تطبيق زيت الكافور بطريقتي الغمر والرش ضد الفطر *P. italicum* على البرتقال. هذه النتيجة ربما تعزى إلى سلالة الفطر ودورها في الاستجابة للنشاط المضاد للزيت. تعمل مكونات الزيت على زيادة كفاءة منع التأكسد والنشاط الطارد الذي يعمل على تحسين مقاومة النبات لمسببات الأمراض ويخفض التدهور الفسيولوجي (Sivakumar and Bautista-Baños, 2014)، أيضاً كُشف أن المكونات الفعالة في الزيت مثل Thymol و Eugenol تزيد قدرة مستويات مانعات التأكسد (البولي فينول، الفلافونيدات، الانثوسيانين) وكفاءة امتصاص الأكسجين في الأنسجة النباتية تشمل الأنظمة الإنزيمية والأنظمة غير الإنزيمية والتي تدعم زيادة امتصاص الأكسجين في الأنسجة النباتيةتشمل

جدول 2: تأثير طرق معاملات مختلفة للثمار على درجة تطور العفن على الثمار

المعاملة	مساحة العفن (%)		شدة المرض (%)	
الملامسة + قرص لقاح	62.3ab	(52.12)	80.0b	(63.44)
التبخير+ قرص لقاح	58.2a	(49.72)	76.0b	(60.67)
غمر زيت + غمر لقاح	22.6cd	(28.38)	64.0d	(53.43)
غمر لقاح + غمر زيت	19.6d	(26.28)	52.0e	(46.15)
غمر زيت + رش لقاح	37.0bcd	(37.47)	76.0c	(60.67)
شاهد قرص الفطر	66.1ab	(54.39)	80.0c	(63.44)
شاهد غمر لقاح	61.3ab	(51.53)	88.0a	(69.73)
شاهد رش لقاح	43.2abc	(41.09)	76.0c	(60.67)
LSD 5%	***15.48		***0.36	

الأرقام داخل الجدول متوسط خمس مكررات

الأرقام بين القوسين تعني التحويل الزاوي للنسبة المئوية

المتوسطات المتبوعة بنفس الحرف لا اختلافات معنوية فيما بينها

***: فروقات معنوية مرتفعة عند $P \leq 0.05$

الأنظمة الإنزيمية والأنظمة غير الإنزيمية والتي تدعم زيادة امتصاص الأكسجين الأساسي أو الرئيسي وطرد الهيدروكسيل من أنسجة الثمار (Wang et al., 2008)، كما أن زيت القرنفل يعمل على استحثاث المقاومة في النبات وتقليل شدة ضراوة الفطر الممرض عن طريق التقليل من فعالية الإنزيمات السليلوزية والبكتينية التي يعتمد عليها الفطر في دخول أنسجة النبات (Zahani and Khaledi, 2018).

الاستنتاج

وثقت نتائج هذه الدراسة أن استخلاص زيت القرنفل الخام وتطبيقه على الثمار بالطريقة المناسبة يمكن أن يستخدم في حمايتها من التعفن، وعليه فإن الزيوت الخام المشتقة من النباتات يمكن أن تستخدم كبدائل للمبيدات في مكافحة أمراض ما بعد الحصاد على ثمار البرتقال لمنع إصابتها بالتحلل أو التعفن.

المراجع

الجالي، زهرة إبراهيم، نوارة علي محمد، أمينة أمبارك لاربد. 2015. فعالية بعض المستخلصات النباتية المائية وراشح الفطر الحيوي *Trichoderma viridi* في مكافحة العفن الرمادي على البصل بعد الحصاد. مجلة وقاية النبات العربية، 33(1): 60-65.

اليتيم، صلاح الدين محمود ؛ محمد أبو صاع فنير ؛ عادل محمد يونس ؛ بسام بشير الصغير وأمينة محمد القمودي. 2003. استخدام الزيوت العطرية في مكافحة العفن الأخضر *Penicillium digitatum* على ثمار البرتقال. المؤتمر الوطني الثاني للتقنيات الحيوية. 4-6/اغسطس. بنغازي. ليبيا.

فاتح، زيدي محمد. 2012. المساهمة في الدراسة الفيتوكيميائية لنبات البسباس البري (*Deverra scoparia*) - الزيوت الطيارة والليبيدات. رسالة ماجستير. كلية العلوم والتكنولوجيا. جامعة قاصدي مرباح ورقلة. الجزائر. 72 صفحة.

Anjum, T. and Akhtar, N. 2012. Antifungal activity of essential oils extracted from clove, cumin and cinnamon against blue mold disease on citrus fruit. International Conference on Applied Life Sciences (ICALS) Turkey, September, 10-12, 321-326.

Anthony, S., Abeyvikrama, K. and Wilson, W.S., 2003. The effect of spraying essential oils of *Cymbopogon nardus* , *Cymbopogon flexuosus* and *Ocimum basilicum* on postharvest diseases and storage life of Embul banana. J. Horticul. Sci. Biotech., 78: 780 – 785.

Arshad, Z., Hanif, M.A., Qadri, R.W.A. and Khan, M.M. 2014. Role of Essential Oils in Plant Diseases Protection: A Review. Int. J. of Chem. and Biochem. Sci., 6:11-17

Assis, J.S., Maldonado, R., Munoz, T., Escribano, M.I. and Merodio, C. 2001. Effect of high carbon dioxide concentration on PAL activity and phenolic contents in ripening cherimoya fruit. Postharvest Biol. Tec., 23: 33-39.

Avila, S.R., Palou, E., Jimenez Munguía, M.T., Nevarez-Moorillon, G.V., Navarro Cruz, A.D. and Lopez-Malo, A. 2012. Antifungal activity by vapor contact of essential oils added to amaranth, chitosan, or starch edible films. Int. J. Food Microbiol., 153: 66-72.

Ayoola, G.A., Lawore, F.M., Adelowotan, T., Aibinu, I.E., Adenipekun, E., Coker, H.A.B. and Odugbemi. T.O. 2008. Chemical analysis and antimicrobial activity of the essential oil of *Syzigium aromaticum* (clove). African J. of Microbiol. Res., 2:162-166.

Barnett, H.L. and Hunter, B.B. 1998. Illustrated genera of imperfect fungi. 4th ed. APS press. 218 pp.

Fallik, E., Klein, J., Grinberg, S., Lomaniec, E., Lurie, S., and Lalazar, A. 1993. Effect of postharvest heat treatment of tomatoes on fruit ripening and decay caused by *Botrytis cinerea*. Plant Disease, 77: 985-988.

Fatemi, S., Jafarpour, M., Eghbalsaied, S., Rezapour, A. and Borji, H. 2011. Effect of essential oils of *Thymus vulgaris* and *Mentha piperita* on the control of green mould and postharvest quality of *Citrus Sinensis* cv. Valencia. African J. of Biotech., 10(66): 14932-14936.

Fung, D.Y.C., Taylor, S. and Kahan, J. 1977. Effects of butylated hydroxyanisole (BHA) and butylated hydroxitoluene (BHT) on growth and aflatoxin production of *Aspergillus flavus*. J. Food Saf., 1: 39-51.

Hamini-Kadar, N., Hamdane, F., Boutoutaou, R., Kihal, M. and Henni, J.E. 2014. Antifungal activity of clove (*Syzygium aromaticum* L.) essential oil against phytopathogenic fungi of tomato (*Solanum lycopersicum* L) in Algeria. J. of Exp. Biology and Agric. Sci., 2(5):447-457.

Pandey, A.K., Kumar, P., Singh, P., Tripathi, N.N. and Bajpai, V.K. 2017. Essential Oils: Sources of Antimicrobials and Food Preservatives. Frontiers in Microbiology, 7: 1- 14.

Panizzi, L., Flamini, G., Cioni, P.L. and Morelli, I. 1993. Composition and antimicrobial activity of essential oils of four Mediterranean Lamiaceae. Journal of Ethnopharmacology, 39: 167–170.

Ponce, A.G., Roura, S.I., del Valle, C.E., Moreira, M.R. 2008. Antimicrobial and antioxidant activities of edible coatings enriched with natural plant extracts: in vitro and in vivo studies. Postharvest Biol. Tec., 49:294-300.

Rahimi, A.A., Ashnagar, A. and Nikoei, H. 2012. Isolation and characterization of 4-allyl-2-methoxyphenol (eugenol) from clove buds marketed in Tehran city of Iran. International Journal of Chem. Tech. Research, 4: 105-108

Ramezani, S. and Solaimani, B. 2009. Antifungal activity and chemical composition of eucalypt (*Eucalyptus leucoxylon* L.) essential oil. Journal of Applied Biological Sciences, 4(3): 277- 281.

Sãnchez-Gonzãles, L., Gonzales-Martínez, C., Chiralt, A. and Chafer, M. 2010. Physical and antimicrobial properties of chitosan-tea tree essential oil composite films. J. Food Eng., 98:443-452.

Silva, N.C.C. and Fernandes, J.A. 2010. Biological properties of medicinal plants: a review of their antimicrobial activity. The Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases 16: 402-413.

Horsfall, J.G. and Heuberger, J.W. 1942. Measuring of defoliation disease of tomatoes. Phytopathology, 32:226-232.

Hyldgaard, M., Mygind, T. and Meyer, R.L 2012. Essential oils in food preservation: mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. Frontiers in Microbiology. 3:12. doi: 10.3389/fmicb.2012.00012.

Ismail, O. M., Abd El-Moniem; E., Abd- Allah, A.S.E. and El-Naggar, M.A.A. 2010. Influence of some post-harvest treatments on guava fruits. Agric. Biol. J. N. Am., 1(6): 1309-1318.

Jhalegar, J., Sharma R.R. and Singh, D. 2015. In vitro and in vivo activity of essential oils against major postharvest pathogens of Kinnow (*Citrus nobilis* × *C. deliciosa*) mandarin MD. J. Food Sci. Technol., 52(4):2229–2237.

Lee, S.O., Choi, G.J., Jang, K.S., Lim, H.K., Cho, K.Y. and Kim, J.C. 2007. Antifungal Activity of Five Plant Essential Oils as Fumigant Against Postharvest and Soil borne Plant Pathogenic Fungi. Plant Pathol. J., 23(2): 97-102.

Nyam, M. A. Wonang, D. L. Ogbonna, C.I.C. Ochekpe, N. and Dapiya, H. S. 2013. Effects of extraction method on the physicochemical and mycological qualities of *canarium schweinfurthii* fruits oil. Bayero J. of Pure and App. Sci., 6(1): 169 – 173

Ojo, O.A. 2014. Antifungal Activity of Essential Oils from some Tropical Plants against *Penicillium digitatum* infected *Citrus sinensis* Fruit during Storage. Intl. J. Agric. Crop Sci., 7(12): 981-987.

Singh, R. and Tripathi, P. 2015. *Cinnamomum zeylanicum* essential oil in the management of Anthracnose of Banana Fruits. J. Inn. in Pharmaceuticals and Bio. Sci., 2(3):290-299.

Sivakumar, D. and Bautista-Baños, S. 2014. A review on the use of essential oils for postharvest decay control and maintenance of fruit quality during storage. Crop Protection 64: 27- 37.

Solaimani, B., Ramezani, S., Rahemi, M. and Saharkhiz, M.J. 2009. Biological control of postharvest disease caused by *Penicillium digitutum* and *P. italicum* on stored citrus fruits by Shiraz Thyme essential oil. Adv. in Envoi. Biology, 3(3): 249-254.

Tabti, L., Dib, M.E., Djabou, N., Benyelles, N.G., Paolini, J., Costa, J. and Muselli, A. 2014. Control of fungal pathogens of *Citrus sinensis* L. by essential oil and hydrosol of *Thymus capitatus* L. J. of App. Botany and Food Quality 87: 279 – 285.

Vieira, A.M.F.D., Steffens, C.A., Argenta, L.C., do Amarante, C.V.T., Oster, A.H., Casa, R.T., Amarante, A.G.M. and Espindola, B.P. 2018. Essential oils for the postharvest control of blue mold and quality of ´Fuji´ apples. Pesq. Agropec. Bras., 53(5): 547-556.

Wang, C.Y., Wang, S.Y. and Chen, C.T. 2008. Increasing antioxidant activity and reducing decay of blueberries by essential oils. J. Agric. Food Chem. 56: 3587-3592.

Wang, Y., Bian, W., Ren, X., Song, X. and He, S. 2017. Microencapsulation of clove essential oil improves its antifungal activity against *Penicillium digitatum in vitro* and green mould on Navel oranges. The J. of Hort. Sci. and Biotech., 1-8 p.

Zahani, F.H. and Khaledi, N. 2018. Biological effects of various essential oils on citrus decay pathogen. Int. J. New Technol. Res., 4(4): 129-139.

THE LIBYAN JOURNAL OF AGRICULTURE
Volume (24), No. (1), 2019 : 59-71

Control of Green mold (*Penicillium digitatum*) on orange fruits using clove oil (*Syzygium aromaticum*)

Arwa Mohammed Bianco and Zahra Ibrahim El-Gali

Dept. Plant Protection, Fac. Agriculture, Omer AlMukhtar University

Abstract:

Orange is one of the citrus that spread out most widely in the world, and their fruits are affected with number of postharvest diseases that lead to decrease in commercial fruits life. Several symptoms were observed on fruits that exposed for sell in local market lead to their removal. This research was proposed to isolate and identify the causal pathogen of fruits rot and use of clove oil as alternative safe measure for fungicides. As for direct facing between commercial and essential oil and fungal inoculum inside the fruits, the results confirmed that surpass the essential oil rather than commercial oil in fruits protection and decreased the infection. The application methods of clove essential oil are important. So, dipping method was significantly better than touching and volatile method on control of green mold. The touching and volatile application at 1% concentration of clove essential oil had no effect on control of green mold.

Keywords: Control, Green mold, *Penicillium digitatum*, Clove oil, Orange.

*** Author correspondence: Zahra Ibrahim El-Gali. Plant Protection Dep., Fac. Agric., Omer AlMukhtar University.**

Phone. +..... e-mail: **Zahra.ibrahim@omu.edu.ly**

Received: 19/12/2018 Accepted: 21/4/2019