فعالية زيت القرنفل في مكافحة الفطر *Pythium aphanidermatum* المسبب لمرض سقوط البادرات على الخيار

طارق عبد السادة كريم أياد عبد الواحد الهيتي حميد حسين الكربولي
جامعة ديالى/كلية الزراعة جامعة بغداد / كلية الزراعة// قسم وقاية النبات

الخلاصة

هدفت هذة الدراسة الى اختبار فعالية زيت القرنفل ضد نمو الفطر *Pythium aphanidermatum* المسبب لمرض سقوط البادرات ، وتحديد التركيز الفاعل وطريقة المعاملة ضد المرض في الحقل وتشخيص المادة او المواد الفعالة لزيت القرنفل المؤثرة ضد الفطر .

واظهر زيت القرنفل المستخلص بالتقطير البخاري فعالية جيدة في تثبيط نمو الفطر *P.aphanidermatum* عند التراكيز 250 ، 500 ، 1000 جزء في المليون ، حيث بلغت نسبة التثبيط للفطر (33.3% ، 100 % و 100 %) على التوالي . ولقد تم تشخيص مركب اليوجينول Eugenol من زيت القرنفل كمادة فعالة في تثبيط الفطر الممرض على الصفائح الكروموتوغرافية الرقيقة .

واظهرت نتائج الاختبارات داخل البيت البلاستيكي تفوق زيت القرنفل بتركيز 2000 جزء في المليون في حماية بذور وبادرات الخيار من الاصابة بالفطر *P.aphanidermatum* .

المقدمة

يعد الفطر *P.aphanidermatum* من فطريات التربة واسعة الانتشار وينمو بمدى حراري واسع ، ويصيب عددا كبير من العوائل النباتية (80 نوعا نباتيا) (Middleton، 1943 : Waterhous ، 1976) . تسبب الاصابة بهذا الفطر امراضا خطرة ، فهو يصيب البذور بعد زراعتها ويؤدي الى تلفها ويصيب البادرات ويتسبب في قتلها ، كما يصيب ثمار العائلة القرعية وخصوصا الخيار في الحقل او في المخزن وخلال النقل . كذلك يصيب ثمار الطماطة ، اذ تؤدي الاصابة الى تحول انسجة الثمار الى كتلة متعفنة مائية (حسن ،1979 : Tombe وآخرون ، 1993 : Banihashemi ، 1970 : Rice ، 1984 : Tarabeih ،وآخرون ، 1980: Walker ، 1969 : Bilgrami و Dube ،1967) وقد حضى البحث عن مستخلصات نباتية فعالة ضد الفطريات الممرضة جانبا كبيرا من الاهتمام ، فقد وجد ان الزيوت الطيارة لنبات البزرنكوش *Origanum syriacum* ذات تأثير تثبيطي ضد نمو الفطريات *Fusarium oxysporum* و *Aspergillus niger* و *Penicillium sp* وكان اقل تركيز مثبط هو 1 مايكروغرام / مل ، وتم تشخيص المركبات الاساسية في الزيت الطيار وكانت الثيمول Thymol والـ Carvacrol (Daouk واخرون ، 1995). وفي اختبار تاثير الزيوت العطرية لستة انواع من التوابل وبضمنها القرنفل ضد ثلاثة انواع من البكتريا السالبة لصبغة كرام واربعة انواع موجبة لصبغة كرام واحد الخمائر ، وجد انها فعالة بمنع نمو الاحياء المختبرة بالتراكيز (12 – 0.25 ملغم / مل) (Farag وآخرون ، 1989) . وفي دراسة اخرى وجد ان زيت القرنفل والدارسين منع نمو الفطر *Aspergillus flavus* وتكوين الافلاتوكسين في الوسط الغذائي السائل (Sonoda ، 1973) .

ووجد Tombe وآخرون، (1993) باختبار مركب اليوجينول Eugenol وهو احد مكونات الزيت العطري للقرنفل ضد نمو الفطر *Fusarium oxysporum f.sp vanilla* المسبب لمرض تعفن ساق اشجار الفانيلا ، ووجدوا ان اقل تركيز مثبط للفطر هو 300 مايكروغرام / مل . اما عند اختبار فعالية مركب اليوجنيول Eugenol والـ Isoeugenol ضد ثمانية انواع

من الجنس و *Aspergillus sp.* و *Penicillium sp.* المنتجة وغير المنتجة للسموم الفطرية ، وجد ان تركيز 300 جزء في المليون في الوسط الغذائي من المركب سبب تثبيطا كاملا لنمو الفطريات المختبرة ، وعند اختبار المركبين بتركيز 100 جزء في المليون في الاوساط السائلة الملقحة بالفطر *Aspergillus parasiticus* ادت الى خفض الافلاتوكسين B1 بنسبة 58% ، 57% على التوالي (Mansour ، 1996) .

المواد وطرائق العمل

عزل الفطر واختبار قدرته الامراضية

عزل الفطر المستخدم في البحث من بادرات خيار مصابة ومن التربة عن طريق طمر ثمار خيار مجروحة في التربة وتركها لمدة ثلاثة ايام مع الترطيب . اخذت العينات المصابة وتم غسلها وتقطيعها وتعقيمها سطحياً بمحلول هايبوكلورات الصوديوم (10% المستحضر التجاري فاست) لمدة ثلاث دقائق ثم غسلت بماء مقطر معقم ونشفت على ورق ترشيح . زرعت على وسط الـ PDA (Potato Dextrose Agar) وحفظت على درجة حرارة 25 ± 1 م . تم تنقية الفطريات وتصنيفها باعتماد المفتاح التصنيفي الخاص اعتماداً على الصفات التي ذكرها Waterhouse، (1967) بالنسبة للفطر *Pythium aphanidermatum* . وتم اكثار ثلاثة عزلات من الفطر *Pythium spp.* على الوسط الغذائي الـ PDA واختبرت قدرتها الامراضية على بذور الخيار والرشاد ، اذ عقمت البذور سطحياً ونشفت ثم زرعت في اصص صغيرة حاوية على تربة مزيجية معقمة بالموصدة. لوثت الاصص بعزلات الفطرين النامية على وسط الـ PDA بمزجها بالتربة بشكل جيد ثم رطبت وتركت يوماً قبل الزراعة ، وبعد زراعة البذور المعقمة رويت الاصص بالماء وغطيت برقائق البولي اثلين للمحافظة على الرطوبة . تم تشخيص المسبب المرضي على البادرات التي تظهر عليها اعراض الاصابة بطريقة المزارع المائية بعدها تم اكثار واستعمال اقوى العزلات امراضية .

النبات المستخدم في البحث

استخدم ت البراعم الزهرية للقرنفل التي تم الحصول عليها خلال عام 1999 من السوق المحلية (جدول 1). وسحقت العينة النباتية في المجرشة Wiley mill standard , Model No. 3-Arthar Thomas co. ثم غربلت بشكل ناعم ووضعت في اكياس بولي اثلين معلمة بورقة تشير الى اسم العينة ووقت جمعها والجزء النباتي المجفف، وحفظت في المجمدة لحين الاستعمال.

جدول1. النباتات المستعملة في الدراسة.

الاسم العربي	الجزء المستعمل	اسم العائلة	الاسم الانكليزي	الاسم العلمي
القرنفل	براعم زهرية	Myrtaceae	Clove tree	*Eugenia caryophylata* Thunb.

استخلاص زيت القرنفل بالتقطير البخاري Steam-distillation

استخلص زيت القرنفل حسب الطريقة الموصوفة من قبل Meloan و Pomeranz ،(1980) . اخذت كمية 80 غم من البراعم الزهرية للقرنفل بعد تكسيرها ، وضعت في الدورق المدور للجهاز واضيف اليها 25 مل ماء مقطر بعدها تم غلق فوهة الدورق بسداد حاوي على فتحتين تربط احداهما بدورق توليد البخار الذي يوضع على مصدر حراري ويحوي على ماء مقطر بقدر نصف حجمه . ومن الجهة الاخرى تم ربطه الى مكثف ربط نهايته بدورق موضوع في حوض يحوي على ماء مثلج. وبعد التبخير مرر البخار الى

الدورق الحاوي على العينة فيذيب الزيوت الموجودة في البراعم الزهرية المكسرة وينتقل الى المكثف المبرد وتم الحصول على مستحلب ، نقل المستحلب الى قمع فصل واضيف له كمية كافية من الايثر Ether وترك لينفصل . اخذت طبقة الايثر وبخرت بجهاز المبخر الدوار وحرارة 40 مْ وبعد التخلص من الايثر تم الحصول على زيت اصفر باهت وضع في قنينة زجاجية معقمة محكمة الغلق وحفظت في المجمدة لحين الاستعمال .

اختبار فعالية زيت القرنفل المستخلص بالتقطير البخاري ضد نمو الفطر *Pythium aphanidermatum*

اختبرت فعالية المستخلصات النباتية المختلفة على النمو الشعاعي للفطر بطريقة التسمم الغذائي (Poisoned food technique)، (1976) . اذ حضرت التراكيز 250 ، 500 ، 1000 جزء في المليون من زيت القرنفل المستخلص بالتقطير البخاري ، بتحضير محلول اساس بتركيز 20000 جزء في المليون باذابة واحد غم من زيت القرنفل في 50 مل ماء مقطر ، واخذ 1.25 ، 2.5 ، 5 مل من المحلول الاساس واضيف الى 98.75 ، 97.5 ، 95 مل من الوسط الغذائي PDA المعقم والمبرد الى 40-45 مْ على التوالي . في حين ترك وسط غذائي بدون اضافة الزيت كمقارنة وصبت الاوساط في اطباق معقمة قطرها 9 سم . وبعد تصلبها لقح كل طبق بقطعة من مستعمرة الفطر بقطر 0.5 سم في وسط الطبق من مزرعة فطرية بعمر خمسة ايام. وحضنت الاطباق على درجة حرارة 25 ± 1 مْ . وبعد وصول قطر المزرعة الفطرية لمعاملة المقارنة (بدون زيت) الى حافة الطبق تم قياس اقطار النمو للمستعمرات وحسبت لها نسبة التثبيط كما في المعادلة:

$$\text{النسبة المئوية للتثبيط} = \frac{\text{معدل نمو الفطر في المقارنة - معدل نمو الفطر في المعاملة}}{\text{معدل نمو الفطر في المقارنة}} \times 100$$

استخلاص زيت القرنفل بواسطة الهكسان Hexane

اخذ 100 غم مسحوق البراعم الزهرية للقرنفل ووضع في دورق زجاجي سعة 500 مل ثم اضيف اليها 200 مل هكسان ، اغلقت فوهة الدورق بسداد ورج لمدة 24 ساعة على رجاج كهربائي بسرعة متوسطة ، رشح المستخلص خلال ورق ترشيح Whitman No1 في قمع بخنر مع التفريغ. اعيد استخلاص العينة نفسها مرة ثانية بالهكسان ثم جمع الراشح النهائي وركز بواسطة جهاز المبخر الدوار(Rotary Vacuum Evaporator) عند درجة حرارة 40 مْ للتخلص من المذيب وتم الحصول على زيت ذو لون اصفر باهت وضع في قنينة زجاجية معتمة محكمة الغلق حفظت في المجمدة لحين الاستعمال.(Harborne ، 1973).

اختبار فعالية زيت القرنفل المستخلص بالهكسان ومسحوق القرنفل المتبقي بعد الاستخلاص ضد نمو الفطر *P. aphanidermatum*

اختبر كل من الزيت ومسحوق القرنفل المتبقي بعد استخلاص الزيت منه بتركيز 1000 جزء في المليون في الوسط الغذائي الـ PDA ضد نمو الفطر *Pythium aphanidermatum* وحسبت نسبة التثبيط كما في الفقرة اعلاه .

تحديد التركيز المثبط من زيت القرنفل المستخلص بالهكسان لنمو الفطر *P. aphanidermatum*

حضر محلول اساس من الزيت بتركيز 10000 جزء في المليون بأخذ 0.5 غم من الزيت واذابته في كمية قليلة من الماء المقطر بعدها اكمل الحجم الى 50 مل . اخذ من المحلول الاساس المعد 0.05 ، 0.25 ، 0.5 ، 1 ، 1.5 ، 2 ، 2.5 ، 5 ، 10 ، 20 مل ، اضيف الى 99.95 ، 99.75 ، 99.5 ، 99 ، 98.5 ، 98 ، 97.5 ، 95 ، 90 ، 80 مل

وسط غذائي PDA معقم ومبرد الى درجة 45مْ وعلى التوالي ، لتصبح التراكيز النهائية للزيت في الوسط الغذائي 5 ، 25 ، 50 ، 100 ، 150 ، 200 ، 250 ، 500 ، 1000 ، 2000 جزء في المليون ، ثم صبت في اطباق قطر 9 سم بواقع ثلاثة مكررات لكل تركيز . اما في معاملة المقارنة فقد اضيف الماء المقطر فقط ، وبعد تصلب الوسط لقح كل طبق بقطعة من مزرعة للفطر *P. aphanidermatum* قطرها 0.5 سم . وبعد اكتمال النمو في معاملة المقارنة تم اخذ قياسات النمو وحساب نسبة التثبيط كما في الفقرة اعلاه .

تحديد طبيعة تأثير زيت القرنفل المستخلص بالهكسان على نمو الفطر *P. aphanidermatum*

حضر الزيت بالتراكيز 0.0 ، 1000 ، 2000 جزء في المليون في اطباق بتري معقمة ، غمرت فيها قطع من المزارع الفطرية للفطر *Pythium aphanidermatum* بقطر 0.5 سم ، وحضنت الاطباق على درجة حرارة 25 ± 1 مْ لمدة 24 ساعة ، اخرجت القطع وغسلت بماء مقطر معقم وجففت على ورق ترشيح معقم ثم نقلت الى اطباق حاوية على الوسط الغذائي PDA محضرة مسبقاً ، جففت الاطباق بعد عملية التلقيح على درجة حرارة 25 ± 1 مْ . تم اخذ القراءات بعد اكتمال النمو في اطباق المقارنة وحسبت نسبة التثبيط لها كما في الفقرة اعلاه .

تحديد مكونات زيت القرنفل على صفائح الكروموتوغرافية الرقيقة :

فصلت مكونات زيت القرنفل على صفائح الكروموتوغرافية الرقيقة اذ استعملت صفائح سليكاجيل نوع GF 254 بسمك طلاء 0.25 ملم . نشطت الصفائح قبل الاستعمال في فرن حراري على درجة 110 م لمدة 30 دقيقة . نشر مستخلص الزيت المذاب في التلوين Toluene بنسبة (1 : 1) على شكل خط (Bolliger واخرون ، 1965) .

بعد ذلك وضعت الصفيحة في حوض فصل حاوي على نظام الفصل تلوين - خلات الاثيل Ethylacetate - Toluene (93 : 7) وعند وصول مستوى الترحيل الى 18 سم تم اخراج الصفيحة وتركت لتجف . ثم رشت الصفيحة بالكاشف VS (Vanillin - Sulpharic acid) برشاش دقيق (يتكون الكاشف من محلولين االاول 5% Ethanolic sulphuric acid والثاني 1% Ethanolic vanillin . رشت الصفائح بـ 10 مل من المحلول الاولي بعدها رشت بـ 5-10 مل من المحلول الثاني) . ووضعت الصفيحة بعد الرش في فرن حراري على درجة 110 مْ لمدة 5-10 دقيقة (Wahab وSharma ، 1976)

وبعد تحديد معامل الترحيل (rf) لكل حزمة ولونها تم تحضير عدة صفائح من السليكا جيل بسمك (0.7) ملم نشر عليها زيت القرنفل بشكل خط وبنفس الظروف السابقة وبعد انتهاء عملية الترحيل تم اخراج الصفائح وتركها لتجف ثم قشطت حزم المواد المفصولة من زيت القرنفل مع مادة السليكا جيل على ضوء معامل الترحيل لكل حزمة واذيبت بالهكسان ورشحت خلال ورق ترشيح Whatman No. 1 . جففت الحزم المفصولة بالهواء لحين التخلص من الهكسان ، ثم وزنت كل منها وحفظت في قناني زجاجية محكمة في المجمدة لحين الاستعمال .

اختبار تأثير المواد المفصولة لزيت القرنفل على الصفائح الكروموتوغرافية في نمو الفطر *P. aphanidermatum*

حضر تركيز 500 جزء في المليون من كل مادة من المواد المفصولة من زيت القرنفل ، بأخذ 50 ملغم من كل مفصول واضيف الى 100 مل وسط غذائي PDA معقم ومبرد . اختبر كل مفصول ضد نمو الفطر *P. aphanidermatum* بواقع ثلاثة مكررات للمفصول الواحد . وبعد اكتمال النمو في معاملة المقارنة تم اخذ قياسات النمو وحساب نسبة التثبيط كما في الفقرة اعلاه .

تشخيص المواد الفعالة في زيت القرنفل

تم تشخيص المواد الفعالة في زيت القرنفل على صفائح الكروموتوغرافية الرقيقة برفقة المواد القياسية الـ Furfural والـ Tannic acid والـ Eugenol (الذي حصل عليه هدية من كلية طب الاسنان - جامعة بغداد) . اذيبت المواد القياسية في االتلوين Toluene بنسبة (1:1) . وضع 10 ميكروليتر من زيت القرنفل والمواد القياسية على الصفيحة بشكل بقع المسافة بينها 2 سم ، ثم وضعت الصفيحة في الحوض الحاوي على محلول الفصل Toluene - Ethylacetate (7:93) وعند وصول مستوى الترحيل الى مسافة 18 سم تم اخراج الصفيحة وتركت لتجف ثم رشت بالكاشف VS ووضعت مباشرة في فرن حراري على درجة حرارة 110 مْ لمـــدة 5-10 دقيقة ، ثم تم مطابقة معامل الترحيل (rf) واللون مع المواد القياسية لتعريف نوع المادة الفعالة في زيت القرنفل .

استخلاص اليوجينول Eugenol من زيت القرنفل

حضر اليوجينول من زيت القرنفل بمزج كمية من الزيت مع 10% هيدروكسيد الصوديوم لتكوين يوجينولات الصوديوم Sodium eugenolate في قمع فصل ، غسل المزيج بالايثر Ether لفصل مكونات الزيت الاخرى ، حللت يوجينولات الصوديوم في الطبقة المائية بأضافة حامض الكبريتيك Sulfuric acid ثم فصل اليوجينول بالتقطير البخاري (Claus وTyler ، 1965 : الشماع ، 1989) .

وبعد فصل اليوجينول من زيت القرنفل تم مقارنته مع المادة القياسية على صفائح الكروموتوغرافية الرقيقة كما في الفقرة اعلاه .

الاختبار الحقلي

تم تقويم فعالية زيت القرنفل المستخلص بالهكسان بالتراكيز 1000 و 2000 جزء في المليون ، و مبيد الريدوميل المحبب Ridomil 5G

[N-(2,6 dimethylphenyl) N-(methoxy acetyl) - abmine methyl ester]

من انتاج شركة سينجنتا السويسرية بتركيز 0.1 ملغم / غم تربة للمقارنة (محمود، 1985) . ضد الاصابة بالفطر الممرض *Pythium aphanidermatum* على بادرات الخيار في البيت البلاستيكي . صممت التجربة وفق التصميم تام التعشية CRD وبثلاثة مكررات لكل معاملة وحللت النتائج وقورنت احصائياً (الراوي وعبد العزيز ،1980) . وعدلت نسبة الانبات في المعاملات على ضوء نسبة الانبات في معاملة المقارنة غير الملوثة بالفطر.

استخدمت تربة مزيجية مغسولة بالماء ، عقمت بالموصدة على درجة حرارة 121 مْ وضغط 15 بار لمدة ساعتين في اليوم الاول ثم اعيد التعقيم تحت نفس الظروف في اليوم التالي . وتم تلويث التربة بالفطريات المنماة على وسط الـ PDA لمدة خمسة ايام بواقع طبق بتري قطر 9 سم لكل كيلوغرام تربة (طه ، 1982) في اصص بلاستيكية (قطرها 14 سم وارتفاعها 12 سم) ، مزج اللقاح الفطري لكل فطر على حدة بشكل جيد مع التربة في الاصص البلاستيكية ورطبت التربة وغطيت برقائق البولي اثلين وتركت لمدة يومين قبل المعاملة .

تأثير معاملة التربة بزيت القرنفل المستخلص بالهكسان على الاصابة بالمرض

أضيف إلى تربة الأصص الملوثة بالفطر قبل يومين زيت القرنفل المستخلص بالهكسان بالتراكيز 1000 و 2000 جزء في المليون وبواقع 100 مل لكل كيلوغرام تربة ، كذلك تم استخدام المبيد بالتراكيز المشار اليها بالفقرة اعلا ه . وللمقارنة اضيف الماء الى تربة معقمة وملوثة والى اخرى معقمة وغير ملوثة . تركت الاصص مدة يومين ثم زرعت عشرة بذرات خيار صنف بيتا - الفا في كل اصيص بعد تعقيمها سطحياً بهايبوكلورات الصوديوم (10% المستحضر التجاري فاست) لمدة ثلاثة دقائق وغسلها بالماء المعقم ونقعها لمدة 24 ساعة في الماء. رويت الاصص بعد عملية الزراعة وغطيت برقائق من البولي اثلين المثقب لحين البزوغ . وبعد 30 يوماً من البزوغ في معاملة المقارنة غير الملوثة بالفطريات تم حساب نسبة الانبات ومعدل نمو النبات من خلال قياس معدل الطول والوزن الطري والجاف لكل نبات في المعاملات المختلفة وقورنت المعدلات احصائياً .

تأثير معاملة بذور الخيار بزيت القرنفل المستخلص بالهكسان على الإصابة بالمرض

عقمت بذور الخيار صنف بيتا - الفا سطحياً وغسلت بالماء المقطر المعقم عدة مرات وتم تنشيفها على ورق ترشيح ، ثم اخذ 30 بذرة ووضعت في دوارق تحوي زيت القرنفل المستخلص بالهكسان بالتراكيز 1000 و 2000 جزء في المليون. وللمقارنة وضعت البذور في دورق يحوي الماء المقطر ، وتركت الدوارق في المختبر لمدة 24 ساعة حتى تم زراعتها في اصص حاوية على تربة ملوثة كما في الفقرة اعلا ه ، وبعد يومين من اضافة المبيد بنفس التركيز السابق ثم زرعت 10 بذورخيار لكل اصيص . واكملت خطوات العمل كما في الفقرة اعلاه .

النتائج والمناقشة

تأثير زيت القرنفل المستخلص بالتقطير البخاري في نمو الفطر *P. aphanidermatum* على الوسط الزرعي

أشارت النتائج إن مستخلص زيت القرنفل المستخلص بالتقطير البخاري ذو فعالية تثبيطية قوية عند التراكيز 250 ، 500 ، 1000 جزء في المليون ضد نمو الفطر (جدول 2) . اذ بلغت النسبة المئوية للتثبيط له 33.3% ، 100% ، 100% على التوالي ضد نمو الفطر *P. aphanidermatum* . ونستنتج من هذه النتيجة بأن المادة أو المواد المؤثرة في تثبيط نمو الفطر تكون من مكونات زيت القرنفل والذي وجد انه يشكل 14-20% من مكونات البراعم الزهرية للقرنفل (Wahab و Sharma ، 1976) . وهذه النتيجة تتفق مع ما وجده Farag وآخرون، (1989) و Aureli وآخرون، (1992) و Sinha وآخرون، (1973) و Calderone وآخرون، (1994) من كون زيت القرنفل ذو تأثير فعال في تثبيط نمو عدد من الفطريات والبكتريا .

جدول2 .تأثير زيت القرنفل المستخلص بالتقطير البخاري في نمو الفطر *P. aphanidermatum* على الوسط الزرعي PDA.

* التراكيز (جزء في المليون)	*Pythium aphanidermatum*	
	معدل نمو الفطر ** (سم)	% للتثبيط
0.00	9 أ	-
250	6 ب	33.3
500	0.0 ج	100
1000	0.0 ج	100

* كل رقم في الجدول يمثل معدل ثلاثة مكررات .

** معدلات النمو الفطري المشتركة بحروف متشابهة في كل عمود لا تختلف معنوياً حسب اختبار Duncan على مستوى معنوية 0.05 .

تأثير زيت القرنفل المستخلص بالهكسان في نمو الفطر *P. aphanidermatum* على الوسط الزرعي PDA

اظهر زيت القرنفل المستخلص بالهكسان فعالية متميزة في تثبيط نمو الفطر *P. aphanidermatum* عند التركيز 1000 جزء في المليون حيث بلغت نسبة التثبيط 100% (جدول 3) . بينما لم يظهر مسحوق القرنفل المتبقي بعد عملية الاستخلاص تأثيراً في نمو الفطرعند اضافته مباشرة الى الوسط الغذائي الـ PDA ، حيث لم يختلف معنوياً عن معاملة المقارنة والمعاملة بتركيز 1000 جزء في المليون .

وهذا يتفق مع ما وجده الباحث ون Farag وآخرون، (1989) و Aureli وآخرون، (1992)و Bahuguna و Kushwaha ،(1993) و Wilson وآخرون، (1969) بفاعلية زيت القرنفل ضد نمو عدد من الاحياء المجهرية.

جدول3. تأثير زيت القرنفل المستخلص بالهكسان في نمو الفطر *P. aphanidermatum* على الوسط الزرعي PDA .

المعاملة (1000 جزء في المليون) *	*Pythium aphanidermatum*	
	معدل نمو الفطر ** (سم)	% للتثبيط
الزيـــــت	0.0 ب	100
المسحوق المتبقي من عملية الاستخلاص	9 أ	0.0
المقارنـــــة	9 أ	-

* كل رقم في الجدول يمثل معدل ثلاثة مكررات .

** معدلات النمو الفطري المشتركة بحروف متشابهة في كل عمود لا تختلف معنوياً حسب اختبار Duncan على مستوى معنوية 0.05 .

تحديد التركيز المثبط من زيت القرنفل لنمو الفطر *P. aphanidermatum* على الوسط الزرعي PDA

بينت النتائج ان نسبة التثبيط في نمو الفطر *P. aphanidermatum* تتناسب طردياً مع تركيز زيت القرنفل (جدول 4) . وان اقل تركيز من زيت القرنفل الذي يختلف معنوياً بتأثيره على نمو الفطر *P. aphanidermatum* عن معاملة المقارنة هو 100 جزء في المليون والذي سبب نسبة تثبيط بلغت 35.6% . اما التركيز الذي سبب تثبيطاً كاملاً لنمو الفطر فكان 200 جزء في المليون والذي لم يختلف معنوياً عن التراكيز الاعلى . وهذا يشير الى تفوق فعالية او تركيز المادة الفعالة في زيت القرنفل . وهذا يتفق مع ما وجده Tombe وآخرون، (1984) و Mansour وآخرون، (1996) و Adams و Weidenborne ،(1996) .

جدول4 .تحديد التركيز المثبط من زيت القرنفل لنمو الفطر *P. aphanidermatum* على الوسط الزرعي PDA.

* التراكيز (جزء في المليون)	*Pythium aphanidermatum*	
	*معدل نمو الفطر (سم)	% للتثبيط
0.0	9 أ	-
5	9 أ	0.0
25	9 أ	0.0
50	9 أ	0.0
100	5.8 ب	35.6
150	5 ج	44.4
200	0.0 د	100
250	0.0 د	100
500	0.0 د	100
1000	0.0 د	100

2000	0.0 د	100

* كل رقم في الجدول يمثل معدل ثلاثة مكررات .
** معدلات النمو الفطري المشتركة بحروف متشابهة في كل عمود لا تختلف معنوياً حسب اختبار Duncan على مستوى معنوية 0.05 .

تحديد طبيعة تأثير زيت القرنفل المستخلص بالهكسان في نمو الفطر *P. aphanidermatum* على الوسط الزرعي PDA

بينت نتيجة هذا الاختبار ان زيت القرنفل بالتراكيز 1000 ، 2000 جزء في المليون قد تسببت في قتل الفطر *P. aphanidermatum* عند تعريضهما لهذه التراكيز من زيت القرنفل حيث لم تنمو قطع المستعمرات الفطرية عند نقلها الى اطباق بتري حاوية على الوسط الغذائي الـ PDA فقط ، حتى مع زيادة فترة الحضن الى سبعة ايام بعد اكتمال نمو قطع المستعمرات الفطرية المعاملة بالماء المقطر والمعقم فقط ولكلا الفطرين (جدول 5) .

وقد يمكن تفسير ذلك بأن مركب اليوجينول الذي يشكل 70-90% من مكونات زيت القرنفل قد اثر بقتل الفطروتأثيره في تحطيم المايتوكوندريا ادى الى منع انتاج الطاقة ، او انه اثر في نفاذية الاغشية الخلوية (العادل مولود ، 1979 : Corbett وآخرون ، 1983 : شعبان ونزار ، 1993) . وهذا يؤيد إن زيت القرنفل بالتراكيز المستعملة ذو تأثير قاتل Fungitoxic effect للفطر *P. aphanidermatum* وليس مانع للنمو Fungistatic effect. وتكون هذه النتيجة مهمة للمركب الكيميائي الذي يسبب قتل المسببات المرضية بدلاً عن إيقاف نموها ، حيث إن التأثير من النوع الثاني يزول بزوال المادة المؤثرة أو انخفاض تركيزها ، مما يسمح للمسببات المرضية من إعادة نشاطها وبالتالي تبقى احتمالات الإصابة بها قائمة . وفي دراسة مشابهة وجد ان مركب الهايبرسين المفصول من نبات الروجة ذو تأثير مماثل بقتل الفطر *P. aphanidermatum* (العثماني ، 1997) .

جدول5. تحديد طبيعة تأثير زيت القرنفل المستخلص بالهكسان في نمو الفطر *P. aphanidermatum* على الوسط الزرعي PDA.

* المعاملة	*Pythium aphanidermatum*	
	**معدل نمو الفطر (سم)	% للتثبيط
المقارنة	9 أ	-
زيت 1000 جزء في المليون	0.0 ب	100
زيت 2000 جزء في المليون	0.0 ب	100

* كل رقم في الجدول يمثل معدل ثلاثة مكررات .
** معدلات النمو الفطري المشتركة بحروف متشابهة في كل عمود لا تختلف معنوياً حسب اختبار Duncan على مستوى معنوية 0.05 .

فصل مكونات زيت القرنفل على صفائح الكروموتوغرافية الرقيقة :

اظهرت نتيجة الاختبار انفصال سبع حزم مكونة لزيت القرنفل بعد ترحيل زيت القرنفل على صفائح الكروموتوغرافية الرقيقة في محلول الفصل تلوين - خلات الاثيل Ethyl acetate - Toluene (93 : 7) (جدول 6). وقد رقمت الحزم من 1 – 7 وتم تحديد معامل

ترحيلها (rf) ولون كل منها باستعمال الكاشف VS وتعريضها لدرجة حرارة 110 مْ لمـــدة 5-10 دقائق .

تأثير مكونات زيت القرنفل المفصولة على الصفائح الكروموتوغرافية الرقيقة على على نمو الفطر*P. aphanidermatum* :

بينت نتيجة اختبار فاعلية المواد المفصولة من زيت القرنفل بتركيز 500 جزء في المليون (جدول 6) الى ان المكونات بالرقم 4 ، 5 ، 6 قد سببت اعلى نسبة تثبيط في نمو الفطر *Pythium aphanidermatum* اذ بلغت 22.2% ، 100% ، 100% على التوالي . بينما المكونات بالارقام 1 ، 2 ، 3 ، 7 لم تظهر تأثيراً في نمو الفطر.

نستنتج من هذا الاختبار ان المادة او المواد الفعالة في زيت القرنفل ضد الفطر الممرض تكون محصورة بين قيمة معامل الترحيل 0.568 - 0.812 .

جدول 6. تأثير مكونات زيت القرنفل المفصولة على صفائح الكروموتوغرافية الرقيقة في نمو الفطرين *P. aphanidermatum* على الوسط الزرعي PDA.

مكونات الزيت بتركيز 500 جزء في المليون	* قيمة rf واللون بعد الكشف	*Pythium aphanidermatum*	
		** معدل نمو الفطر (سم)	% للتثبيط
المقارنة	-	9.0 أ	-
1	0.22 اصفر	9.0 أ	0.0
2	0.375 ازرق- بنفسجي	9.0 أ	0.0
3	0.468 جوزي فاتح	9.0 أ	0.0
4	0.568 بنفسجي	7.0 ب	22.2
5	0.718 برتقالي	0.0 ج	100
6	0.812 اخضر غامق	0.0 ج	100
7	0.968 بنفسجي-احمر	9.0 أ	0.0

* كل رقم في الجدول يمثل معدل ثلاثة مكررات .

** معدلات النمو الفطري المشتركة بحروف متشابهة في كل عمود لا تختلف معنوياً حسب اختبار Duncan عند مستوى معنوية 0.05 .

تشخيص المادة الفعالة في زيت القرنفل

أظهرت نتائج التحليلات على الصفائح الكروموتوغرافية الرقيقة من احتواء زيت القرنفل على مركب اليوجينول Eugenol وذلك من خلال تطابق معامل الترحيل (rf) مع مركب اليوجينول القياسي (0.718) تحت ظروف الفصل، وتلونه باللون البرتقالي مع الكاشف

VS والحرارة 110 مْ لمدة 5-10 دقائق . ومن هذا نلاحظ تطابق مركب اليوجينول المفصول من زيت القرنفل المستخلص بالهكسان مع المركب القياسي .
كذلك اظهر الكشف وجود مركب اليوجينول في الزيت المستخلص بالتقطير البخاري .
وهذا يفسر فعالية زيت القرنفل على نمو الفطر *Pythium aphanidermatum* .
وهذه النتيجة تتفق مع نتائج دراسات سابقة اشارت الى فعالية اليوجينول ضد الاحياء المجهرية (Mansour واخرون ، 1996 : Adams وWeidenborner ، 1996 : Hao وآخرون ، 1998) .

التجارب الحقلية

اثر معاملة التربة بزيت القرنفل على الاصابـــة بالفطر *P. aphanidermatum*

أظهرت النتائج وجود اختلافات في النسبة المئوية للانبات بين المعاملات المختلفة (جدول 7) . اذ كانت النسبة المئوية للانبات في معاملة زيت القرنفل بتركيز 2000 جزء في المليون 64.53% ، لم تختلف معنوياً عن معاملة المقارنة غير الملوثة بالفطر (83.33%) ومعاملة مبيد الريدوميل 5G (67.2%) (0.1 ملغم / غم تربة) ، والتي اختلفت عن معاملة المقارنة الملوثة بالفطر (11.1%) بفروقات مهمة احصائياً .
اما معاملة زيت القرنفل بتركيز 1000 جزء في المليون ، فلم تؤثر معنوياً في خفض نسبة الاصابة بالفطر *P. aphanidermatum* حيث لم تختلف معنوياً عن معاملة المقارنة الملوثة بالفطر (11.1%) . وقد انعكس تأثير المعاملات المختلفة على نمو النباتات المتمثل بطول النبات والوزن الرطب والجاف ، فوجد اعلى معدل لطول النبات (8.17 سم / نبات) في معاملة المقارنة غير الملوثة بالفطر والذي لم يختلف معنوياً عن معاملة زيت القرنفل بتركيز 2000 جزء في المليون (7.5 سم / نبات) ، في حين اختلف عن بقية المعاملات بفروقات مهمة احصائياً . كذلك وجد ان معدل طول النبات في معاملة زيت القرنفل بتركيز 1000 جزء في المليون (5 سم / نبات) ، لم تختلف معنوياً عن معاملة المبيد (6.17 سم / نبات) . أما معدل طول النبات في معاملة المقارنة الملوثة بالفطر (6.5 سم/ نبات) لم تختلف معنوياً عن معاملة زيت القرنفل بتركيز 2000 جزء في المليون (7.5 سم / نبات) ، وقد يرجع السبب في ذلك إلى نمو البادرات الناجية من الإصابة بالفطر بشكل جيد بدون تأثر
ومن جهة أخرى تفوقت نباتات معاملة المقارنة الملوثة بالفطر من حيث معدل الوزن الرطب للنبات الواحد إذ بلغ 2.17 غم/ نبات ثم تلتها معاملة زيت القرنفل بتركيز 2000 جزء في المليون (1.72 غم/ نبات) ومعاملة المقارنة غير الملوثة (1.7 غم/ نبات) والتي اختلفت معنوياً عن معاملة مبيد الريدوميل 5G (1.54 غم/ نبات) . في حين لم توجد فروقات مهمة إحصائيا بين بقية المعاملات ومعاملة مبيد الريدوميل 5 G . أما بالنسبة لمعدل الوزن الجاف فوجد عدم وجود اختلافات معنوية بين المعاملات المختلفة .
واستناداً إلى النتائج أعلاه وجد إن استعمال زيت القرنفل بتركيز 2000 جزء في المليون كان أكثر المعاملات كفاءة في حماية بذور و بادرات الخيار من الإصابة بالفطر *P. aphanidermatum* دون التأثير السلبي على نمو النباتات .

جدول7. اثر معاملة التربة بزيت القرنفل على الاصابة بالفطر*P.aphanidermatum* وبعض معايير النمو.

* المعاملة	% للانبات **	معدل طول النبات (سم/ نبات)	معدل الوزن الرطب (غم/ نبات)	معدل الوزن الجاف (غم/نبات)
المقارنة (+)	83.33 أ	8.17 أ	1.7 أب	0.153 أ
مبيد Ridomil	67.20 أب	6.17 ج د	1.54 ب ج	0.150 أ
زيت1000 جزء في	33.83 ج د	5 د	1.09 ج	0.373 أ

المليون				
زيت 2000 جزء في المليون	64.53 أ ب	7.5 أ ب	1.72 أ ب	0.150 أ
المقارنة (-)	11.10 د	6.5 ب ج	2.17 أ	0.213 أ

المقارنة (+) : معاملة المقارنة غير الملوثة بالفطر .
المقارنة (-) : معاملة المقارنة الملوثة بالفطر .
* كل رقم في الجدول يمثل معدل ثلاثة مكررات .
** المعدلات التي تشترك بحروف متشابهة في كل عمود لا تختلف معنوياً حسب اختبار Duncan على مستوى معنوية 0.05 .

اثـــر معاملـــة البـــذور بزيت القرنفل على الاصابة بالفطـــر *P. aphanidermatum*

أظهرت النتائج وجود فروق معنوية في التأثير على معدل نسبة انبات بذور الخيار (جدول 8) حيث تفوقت معاملة زيت القرنفل بتركيز 1000 جزء في المليون (65.6%) وبتركيز 2000 جزء في المليون (76.73%) على معاملة المقارنة الملوثة بالفطر *P. aphanidermatum* (11.1%) ، واللتان لم تختلفا معنوياً عن معاملة مبيد الريدوميل 5 G (67.2%) ومعاملة المقارنة غير الملوثة بالفطر (83.33%)

وقد انعكس تأثير المعاملات المختلفة على نمو النبات اذ اظهرت النتائج وجود تأثير معنوي لمستخلصات القرنفل على صفات نمو النبات ، اذ اثرت معاملة بذور الخيار بزيت القرنفل بتركيز 1000 و 2000 جزء في المليون على معدل طول النبات الذي بلغ عندها 4.5 ، 4.83 سم / نبات على التوالي والذي اختلف معنوياً عن معاملة المقارنة الملوثة بالفطر (6.5 سم / نبات) وغير الملوثة بالفطر (8.17 سم / نبات) . وكذلك اختلفت معنوياً عن معاملة مبيد الريدوميل 5G (6.17 سم / نبات) . أما بالنسبة للتأثير على معدل الوزن الرطب فقد اختلفت أيضا معاملة زيت القرنفل وبالتركيزين المختبرين (0.79 ، 0.93 غم/ نبات) على التوالي معنوياً عن معاملة المقارنة الملوثة بالفطر (2.17 غم/ نبات) وغير الملوثة بالفطر (1.7 غم/ نبات) وعن معاملة مبيد الريدوميل 5G (1.54 غم/ نبات) بينما كانت الفروقات غير مهمة في الوزن الجاف للمعاملات المختلفة .

ومن النتائج السابقة يمكن ان نستنتج ان معاملة زيت القرنفل بالتركيزين المستخدمين في الاختبار بالرغم من توفيرها افضل حماية لبذور وبادرات الخيار من الاصابة بالفطر *P. aphanidermatum* مقارنة مع باقي المعاملات والتي لم تختلف معنوياً عن معاملة المقارنة غير الملوثة بالفطر ومعاملة مبيد الريدوميل 5G الا انها اثرت على ارتفاع النباتات ووزنها الرطب . وقد يعزى مثل هذا التأثير الى وجود بعض المركبات المؤثرة على مواصفات النمو وقد لا يكون لمثل هذا التأثير اهمية عند تقدم النبات بالعمر او على كمية الحاصل الا ان مثل هذا الامر يحتاج الى دراسة اعمق وصولاً لاستنتاج ادق وقد سبق الاشارة الى وجود مثل هذه التأثيرات (Sinha واخرون ، 1993 : كاردنير وآخرون ،1990) .

نستنتج إن المادة أو المواد المثبطة لنمو الفطر *P. aphanidermatum* في البراعم الزهرية للقرنفل ذات طبيعة زيتية يمكن فصلها بالاستخلاص بالهكسان أو التقطير البخاري ، وان اليوجينول Eugenol هو المركب السام لنمو الفطرين . وان معاملة التربة الملوثة بالفطر *P. aphanidermatum* الممرض بالمستخلص الزيتي للقرنفل (2000 جزء في المليون) قبل الزراعة اظهر حماية معنوية لبذور وبادرات الخيار من الإصابة بالفطر.

جدول8. اثر معاملة بذور الخيار بزيت القرنفل على الاصابة بالفطـــر *P. aphanidermatum* وبعض معايير النمو.

* المعاملة	** % للانبات	معدل طول النبات (سم/ نبات)	معدل الوزن الرطب (غم/ نبات)	معدل الوزن الجاف (غم/نبات)
المقارنة (+)	83.33 أ	8.17 أ	1.7 ب	0.153 أ
مبيد Ridomil	67.20 أب	6.17 ب ج	1.54 ب	0.150 أ
زيت 1000 جزء في المليون	65.6 أب	4.5 د	0.79 د	0.066 أ
زيت 2000 جزء في المليون	76.73 أب	4.83 د	1.03 ج	0.083 أ
المقارنة (-)	11.10 د	6.5 ب	2.17 أ	0.213 أ

المقارنة (+) : معاملة المقارنة غير الملوثة بالفطر .
المقارنة (-) : معاملة المقارنة الملوثة بالفطر .
* كل رقم في الجدول يمثل معدل ثلاثة مكررات .
** المعدلات التي تشترك بحروف متشابهة في كل عمود لا تختلف معنوياً حسب اختبار Duncan على مستوى معنوية 0.05 .

المصادر

الراوي ، خاشع محمود وعبدالعزيز محمد خلف الله. 1980. تصميم وتحليل التجارب الحقلية. دار الكتب للطباعة والنشر - جامعة الموصل . 488 صفحة.

الشماع ، علي عبدالحسين . 1989. العقاقير وكيمياء النباتات الطبية . بيت الحكمة – جامعة بغداد .

العادل ، خالد محمد ومولود كامل عبد . 1979 . المبيدات الكيمياوية في وقاية النبات . دار الكتب للطباعة والنشر - جامعة الموصل . 397 صفحة .

العثماني ، فراس غسان مطلك. 1997. عزل واختبار المادة الفعالة في مستخلص نبات *Hypericum triqutrifolium* Iurra ضد فطرين ممرضين للنبات . رسالة ماجستير . كلية الزراعة - جامعة بغداد

حسن ، هزاع محسن. 1979. دراسات تشخيصية وبايولوجية للامراض التي تسببها الفطريات البيضية من عائلة Pythiaceae على القرعيات. رسالة ماجستير. كلية الزراعة - جامعة بغداد .

شعبان ، عواد ونزار مصطفى الملاح. 1993 . المبيدات . دار الكتب للطباعة والنشر

- جامعة الموصل . 520 صفحة.
طه ، خالد حسن. 1982. موت البادرات وعفن جذور التبغ في العراق. رسالة ماجستير. كلية الزراعة - جامعة الموصل .
كاردنير ، فرنكلين ب واربرينت بيرس وروجر ال ميشيل. 1990. فسيولوجيا نباتات المحاصيل . ترجمة طالب احمد عيسى. جامعة بغداد. 480 صفحة.

Adams , S. and M. Weidenborner . 1996. Mycelia deformations of *Cladosporium herbarum* due to the application of eugenol or Carvacrol. *J. Essential oil Res*. 8 (5) : 535-540 .

Aureli , P. ; A. Costantini and S. Zolea. 1992. Antimicrobial activity o some plant essential oils against *Listeria monocytogenes. J.Food Protec*.55(5):344-348 .

Bahuguna , S., and S. K. R. Kushwaha . 1993 . Influence of different oils on penetration of human hair by fungi Inter. *J. Cosmetic. Sci*. 15 (1) : 1-5 (Abstr.).

Banihashemi , Z. 1970 . A new technique for isolation of *Phytophthora* and *Pythium* species from soil.Plant \Dis. Rep. 54 : 261-262 .

Bilgrami , K.S. and H.C. Dube . 1976 . *A text book of modern plant pathology* . Vikas publishing house prttd. Delhi . pp. 344 .

Bolliger , H.R. , M. Brenner , H.G. Anshirt , H.K. Mangold , H. Seller , E.Stahl and D. Waldi . 1965 . Thin layer cheomatography (E. Stahl, ed.). Academic press, INC. New York , London . pp. 553 .

Calderone , N. N. , H. Shimanuki and G. Allen - Wardell. 1994. An in vitro evaluation of botanical compounds for the control of the honeybee pathogens *Bacillus larvae* and *Ascosphaera apis* and the secondary inrader *B. alvi. J. Essential oil Res*. 6 (3) : 279-287 .

Claus , E.P. , and V.E. Tyler . 1965 . *Pharmacogenosy* . Henry Kimption . London . p. 215-217 .

Corbett , J.R. , K. Wright and A.C. Baillie . 1983 . *The biochemical mode of action of pesticides* . 2nd ed. Academic press . London . New York .

Daouk , R.K. , S.M. Dagher and E.J. Sattout. 1995 . Antifungal activity of the essential oil of *Origanum syriacum* . *J. Food* . *Protec*. 58 (10) : 1147-1149 .

Dixit , S.N. , S.C. Tripathi and R.R. Upadhyay . 1976 . The antifungal of rose flowers *Rosa indica*. *Economics Botany*. 30: 371-374.

Farag , R.S. , Z. Y. Daw , F.M. Hewed and G.S.A. El-Baroty . 1989 . Antimicrobial activity of some Egyption spice essential oils . *J. Food Protec*. 52 (9) : 665-667 .

Hao , Y. Y. , R.E. Brackett and M. P. Doyle . 1998 . Inhibition of *Listeria monocytogenes* and *Aeromonas hydrophila* by plant extracts in refrigerated cooked beef. *J. Food. Protec*. 61 (3) : 307- 312 .

Harborne , J.B. 1973 . *Photochemical methods* . Champman and Haal., London , New York . pp. 278 .

Mansour , N. , A.E. Yousef and J.G. Kim. 1996 . Inhibition of surface growth of toxigenic and nontoxigenic Aspergillus and Penicillium by eugenol , Isoeugenol and monolaurin. *J. Food Safty* . 16 (3) : 219-229 .

Meloan , C.E. , and Y. Pomeranz . 1980 . *Food analysis laboratory experiments* . AVI publishing company , INC. West Port. P. 131-135 .

Middleton , J.T. 1943 . The taxonomy , host range , and geographic distribution of the genus *Pythium* . Mem. Torrey Botan. Club 20 : 1-171 . Cited from Luna , L.V. , and R.B. Hine . 1964 . Factors influencing saprophytic growth of *Pythium aphani- dermatum* in soil . *Phytopathology* . 54 : 955-959 .

Novaes – ledieu , M. ; A.Jimenez – Martinez and J.R. Villanneva .1967. Chemical composition of hyphal wall of phycomycetes . J. Gen.Microbiol.47:237 – 245.

Pearson , R.C. , and D.H. Hall . 1973 . Ripe fruit rot of Tomato caused by *Pythium ultimum* and *Pythium aphanidermatum*. *Plant Dis. Rep*. 57 : 1066-1069 .

Rice , E.L. 1984 . *Allelopathy* . Academic press , INC. New York , London .

Sinha , K.K. , K.A. Sinha and G. Prasad . 1993. The effect of clove and cinnamon oils on growth of and aflatoxin production by *Aspergillus flavus*. *Letters in App. Micro*. 16 (3) : 114-117 (Abstr.) .

Sonoda , R.M. 1973 . Pythium fort rot of Tomatoes . *Plant Dis. Rep*. 57 : 638-639 .

Tarabeih , R.M. , A.J. Al-Zarary , S.H. Michial and A.L. B. Shawkat . 1980 . Damping - off and fruit rot certain cucurbitaceous plant in Iraq . *Review of plant pathology* . 59 : 3952 (Abstr.).

Tombe , M. , K. Kobayashi , Ma`mun , Triantor , M. Oniki and Matsumuto . 1993. The role of eugenol in suppression of stem rot disease of Vanilla . Indus. *Crops Res. J*. 6 (1) : 12-20 (Abstr.).

Wagner , H. , S. Bladt and E.M. Zgainski . 1984 . Plant drug Analysis , A thin layer chromatography atlas (Translated by Th. A. Scott). Springer verlag . New York . p. 22-28 .

Wahab , S. and B.B. Sharma . 1976 . Evaluation of fungicides against cottony-leak of cucurbit fruit due to *Pythium aphanidermatum* . *Indian Phytopathology* . 29 : 437-439

Walker , J.C. 1969 . *Plant pathology* . McGraw - Hill book company . New York , London , pp. 819 .

Waterhous , G.M. 1967 . Key to Pythium pringsheim. Commonwealth Mycological Institute . England . No. 109 .

Wilson , C.L. , J.M. Solar , A.El-Ghaouth and M.E. Wisniewski . 1997. Rapid evaluation of plant extracts and essential oil for antifungal activity against *Botrytis cinerea* . *Plant Dis*., 81 (2) : 204-210 .

Winstead , N.N. and C.L. McCombs . 1969 . Pectionolytic and cellulolytic enzyme production by *Pythium aphanidermatum*. *Phytopathology* . 51 : 270 - 273 .

Efficiency of Clove oil against casuals of seedling damping – off *Pythium aphanidermatum* (Edson) Fitzpatrick on cucumber

Tariq A.Kareem **Ayad Al-Heeti** **Hameed H.Al-Karboli**
Diyala Uni./C.of Agriculture **Baghdad Uni./ C.of Agriculture**

ABSTRACT

This study was carried out to : (1) evaluate effectively of clove tree oil (*Eugenia caryophylata* Thunb) against the growth of *Pythium aphanidermatum In Vitro* . (2) Determine the effective extract concentration on seedling damping - off caused by pathogen on cucumber *In Vivo* , and (3) Identify the active component (s) of the effective Clove oil.

The results showed that Clove oil extracted by steam distillation at 250 , 500 and 1000 ppm inhibited the growth of *P. aphanidermatum* by 33.3 , 100 and 100%.

Thin layer chromatographic analysis of the clove oil revealed that Eugenol was the active component against the pathogen .

As consequence artificially contaminated soils , drenched with clove oil at 2000 ppm was significantly reduced the damping - off on cucumber by both pathogens .