دراسة كفاءة المستخلصات الكحولية للزنجبيل والقرنفل والحرمل في نمو *Penicillium digitatum* المسبب لمرض العفن الأخضر في ثمار البرتقال

د. ناهدة مهدي محمد راشد

جامعة بغداد / كلية الزراعة

الخلاصة

أجريت هذه الدراسة بهدف تقويم كفاءة ثلاثة مستخلصات كحولية من الزنجبيل والقرنفل والحرمل بتراكيز تراوحت بين 500 الى 3000 جزء بالمليون ضد الفطر *Penicillium digitatum* المعزول من ثمار برتقال مصابة . إذ أظهرت تراكيز المستخلصات الكحولية فاعلية ضد الفطر الممرض . وقد اظهر الزنجبيل والقرنفل والحرمل بالتركيز 3000 ppm تثبيطاً للفطر على الوسط الغذائي Potato Dextrose Agar بنسبة 77.55% ، 85.00% ، 95.55% على التوالي .كما أظهرت هذه المستخلصات بنفس التركيز قدرة على تثبيط إنبات الابواغ وخفضت أطوال أنابيب الإنبات .فقد بلغت النسبة المئوية للابواغ النابتة في المستخلصات الكحولية للزنجبيل والقرنفل والحرمل بعد 19 ساعة من التحضين في درجة حرارة 25±2 م 38.00% ، 17.00% ، 9.33% على التوالي كما خفضت هذه المستخلصات أطوال أنابيب الإنبات إلى 5.3 µm، µm22 ، µm27.0 على التوالي . وبذلك نستنتج أمكانية استعمال المستخلصات النباتية في مكافحة مرض العفن الأخضر في العراق .

الكلمات المفتاحية : مرض العفن الأخضر ، المستخلصات النباتية ، الزنجبيل ، القرنفل ، الحرمل

المقدمة

يعد مرض العفن الأخضر المتسبب عن الفطر *penicillium digitatum* من بين أهم الأمراض التي تصيب ثمار الحمضيات بعد الجني وتسبب خسائر كبيرة أثناء عمليات الجني والتعبئة والنقل والخزن (1) . إذ إن الفطر *P.digitatum* مسبب مرضي يخترق من خلال الجروح الدقيقة و يمكن أن يصيب الثمار في البستان وفي بيوت التعبئة

وأثناء التوزيع والتسويق ويتكاثر بسرعة عالية إذ تنتشر سبوراته في كل مكان في الجو وعلى أسطح الثمار وينتشر بسرعة بوساطة الرياح (2) . وله القدرة على إنتاج إنزيمات خارجية متنوعة تعمل على تحطيم السكريات المعقدة إلى سكريات بسيطة وهذه العمليات الايضية تمكنه من النمو والتكاثر ، ومن هذه الإنزيمات إنزيم Pectiase haydrolyzes pectins المسؤول عن تحليل مادة البكتين المكون المهم للطبقة الوسطى وجدار الخلية الأولي للنباتات الراقية (3) ، إذ تم استعمال العديد من طرائق السيطرة ضد الفطر المسبب لمرض العفن الأخضر في ثمار البرتقال ومنها المكافحة الكيميائية في المقام الأول في جميع إنحاء العالم ولسنوات عديدة بوساطة المبيدات الفطرية التقليدية مثل Sodium ortho-phenyl ، Thiabendazole ، Imazalil وفي الآونة الأخيرة ظهرت مركبات فعالة جديدة مثل Fludioxonil، Azoxystrobin ، Pyrimethanil (4) ، وقد شهدت السنوات الأخيرة فكرة الحصول على بدائل للمبيدات الكيميائية تكون صديقة للبيئة وأكثر أمناً لتقليل الخسائر في الثمار المقطوفة(5)، فقد أظهرت المستخلصات النباتية إمكانات كبيرة كبدائل لمبيدات الفطريات الكيميائية(6)، إن استعمال المستخلصات النباتية في مكافحة المسببات المرضية لها فاعلية تثبيطية ضد أمراض ما بعد الجني، إذ أشار (7) إلى إن مستخلص الزنجبيل فعال في تثبيط الفطر *P.digitatum* ، اذ وجد أن معظم المواد الفعالة في الزنجبيل تكون ذات تأثيرات مضادة للالتهابات ومحفزه للجهاز المناعي ، ومواد مثبطة للأورام ، كذلك هي مواد مضادة للفطريات والأحياء المجهرية ومن أهم هذه المواد هي Gingerol و Shogaol و Dehydro – gingerdione و zingiberen و Paradol و Cedrene و acurcumene- وß-bisabolene و Sesqiphellandrene و ßcadineneß- (8 ؛ 9) ، كما ذكر (10) ان مستخلص الزيتي للقرنفل ذو فاعلية تثبيطية للفطر *P.digitatum* . إذ يحتوي نبات القرنفل على عدد من المركبات الفعالة التي تجعله مضاداً للأحياء المجهرية ومن أهم هذه المركبات اليوجينول (Eugenol) إذ يشكل من 72 – 90% من الزيت العطري للقرنفل وهو المسؤول عن رائحة القرنفل ، فضلاً عن مركبات أساسية مهمة مثل Acetyl Eugenol و Beta-caryopyllen و Vanillin و Crategolic و التانينات مثل Bicronin (11 ؛ 12). وكذلك وجد (13) ان مستخلص الحرمل يمتلك مواد فعالة لها القدرة على تثبيط اللفطر *P.digitatum* ، تعزى التأثيرات العلاجية والتثبيطية ضد الأحياء المجهرية إلى عدد من المركبات الفعالة الموجودة

في جذور وبذور نبات الحرمل ومن اهم هذه المواد القلويدات ß-carbolin alkaloids مثل Harmen وHarmaline و Harmol و Harman و Peganine و Isopeganine وDipeganine و Deoxypeganine و مشتقات الـ Quinzolin مثل Vasicine وVasicinone و Deoxyvasicinone (14 ؛ 15) . ان الهدف من هذا البحث هو دراسة كفاءة المستخلص الكحولي للزنجبيل والقرنفل والحرمل في مكافحة الفطر *P.digitatum* المسبب لمرض العفن الأخضر على ثمار البرتقال .

المواد وطرائق العمل

تحضير المستخلص الكحولي

جمعت النباتات قيد الدراسة من الأسواق المحلية ونظفت مما يعلق بها من أتربة بعدها تم تجفيف العينات النباتية في الظل وذلك بفرشها على شكل طبقات رقيقة فوق سطوح من الكرتون في غرفة جيدة التهوية مع التقليب المستمر للعينات لمنعها من التعفن والإسراع في التجفيف ، طحنت العينات النباتية باستعمال مطحنة كهربائية ، حضر المستخلص الكحولي بحسب ما ذكره (16) وذلك بمزج 150غم من مسحوق نبات الزنجبيل والقرنفل والحرمل لكل عينة نباتية كلٍ على حده مع 500 مللتر من الكحول الاثيلي 95% في دورق حجمي سعة 1000 مللتر ثم ترك المزيج لمدة 72 ساعة مع التحريك المستمر ثم رشح المزيج باستعمال عدة طبقات من الشاش الطبي ثم عقم بإمراره خلال مرشح Milipore filterبقطر 0.22 مايكرون ثم ركزت المستخلصات باستعمال جهاز المبخر الدوار Rotary Evaporationبدرجة حرارة تراوحت بين 40 الى 50 م أخذت النماذج الجافة بعد التخلص من الكحول وحفظت في الثلاجة لحين الاستعمال .

اختبار تأثير المستخلصات الكحولية الزنجبيل والقرنفل والحرمل في نمو الفطر الممرض *Penicillium digitatum* باستعمال طريقة الخلط مع الوسط الغذائي

اختبرت فعالية المستخلصات الكحولية المختلفة على النمو ألشعاعي للفطر بطريقة التسمم الغذائي poisoned food technique (17) .

إذ حضرت التراكيز 500 ، 1000 ، 2000 ، 3000 جزء بالمليون من مستخلصات النباتات المعدة للاختبار بتحضير محلول أساس من مستخلص كل نبات بتركيز 20000 جزء بالمليون بإذابة واحد غرام من كل مستخلص في 50 مللترمن الماء المقطر واخذ2.5 و 5 و10 و15 مللتر من محلول الأساس وعقم بإمراره خلال مرشح

غشائي Millipore فتحات قطرها 0.45 مايكرون وأضيف إلى 97.5 و 95 و 90 و 85 مللتر من الوسط الغذائي PDA المعقم والمبرد إلى 40-45 مْ على التوالي . ورجت الدوارق وصب الوسط الغذائي في أطباق بتري معقمة قطرها 9 سم في حين ترك وسط غذائي بدون إضافة مستخلص كمقارنة . وبعد تصلبها لقحت الأطباق في مراكزها باستعمال الماصة Micropipette بإضافة 10 مايكرون من عالق ابواغ الفطر *P.digitatum* بتركيز 1×10^4 بوغ / مللتر . حضر عالق ابواغ الفطر *P.digitatum* بغمر مزرعة الفطر النامية على الوسط الزرعي PDA بعمر أسبوع بمحلول مائي يحتوي على قطرة من مادة Tween 80 وبعدها حرك بقضيب زجاجي معقم وسحب بوساطة ماصة معقمة وحسب تركيز الابواغ في العالق باستعمال شريحة العد Haemocytometer . وحضنت الأطباق في درجة حرارة 25±2 م . أجريت التجربة باربعة مكررات لكل تركيز وعلى وفق التصميم تام التعشية (CRD) ، تم قياس أقطار المستعمرات النامية وحسبت النسبة المئوية للتثبيط كما في المعادلة :

$$\text{النسبة المئوية للتثبيط} = \frac{\text{معدل التوسع القطري للفطر في المقارنة} - \text{معدل التوسع القطري للفطر في المعاملة}}{\text{معدل التوسع القطري للفطر في المقارنة}} \times 100$$

اختبار تأثير المستخلصات الكحولية الزنجبيل والقرنفل والحرمل في إنبات ابواغ وأطوال أنابيب الفطر *Penicillium digitatum* :

حضرت تراكيز مختلفة من المستخلصات النباتية (500 , 1000 , 2000 , 3000 ppm) ونقل 5 مللتر من كل منها إلى أنابيب اختبار معقمة حجم 10 مللتر ثلاثة أنابيب لكل اختبار وأضيف 0.5 مللتر من عالق ابواغ الفطر *P.digitatum* بتركيز 1×10^6 بوغ/مللتر . حضنت الأنابيب في درجة حرارة 25±2 لمدة 19 ساعة . حسبت النسبة المئوية للابواغ النابتة (100 بوغ/ مكرر) . وتم قياس أطوال أنابيب الإنبات بوساطة Ocular micrometer وحللت النتائج إحصائياً .

التحليل الإحصائي

استعمل البرنامج الإحصائي SAS-Statistical Analysis (2012) systemفي تحليل البيانات لدراسة تأثير المعاملات المختلفة في الصفات المدروسة وفق التصميم العشوائي كامل (CRD) ، وقورنت الفروق المعنوية بين المتوسطات عند المستوى 0.05 باختبار اقل فرق معنوي (L.S.D) .

النتائج والمناقشة

اختبار تأثير المستخلصات الكحولية الزنجبيل والقرنفل والحرمل في نمو الفطر الممرض *Penicillium digitatum* باستعمال طريقة الخلط مع الوسط الغذائي :

أظهرت المستخلصات الكحولية قيد الدراسة فاعلية تثبيطية ضد الفطر *Penicillium digitatum* على الوسط الزرعي PDA (جدول 1) للزنجبيل والقرنفل والحرمل بالتراكيز 500 ، 1000 ، 2000 ، 3000 جزء بالمليون فعالية تثبيطية ضد الفطر الممرض *P.digitatum* قياساً بمعاملة المقارنة بدون مستخلص (الشكل 1) . وكان مستخلص الحرمل متفوقاً بكل التراكيز المستعملة في الاختبار على معاملة المقارنة وباقي المعاملات ، واظهر التركيز 3000 جزء بالمليون تفوقاً معنوياً على باقي التراكيز إذ بلغت نسبة تثبيطه للفطر *P.digitatum* 95.55 % . وكانت اقل نسبة تثبيط للفطر *P.digitatum* عند استعمال الزنجبيل بتركيز 500 جزء بالمليون إذ بلغت النسبة 31.11% .

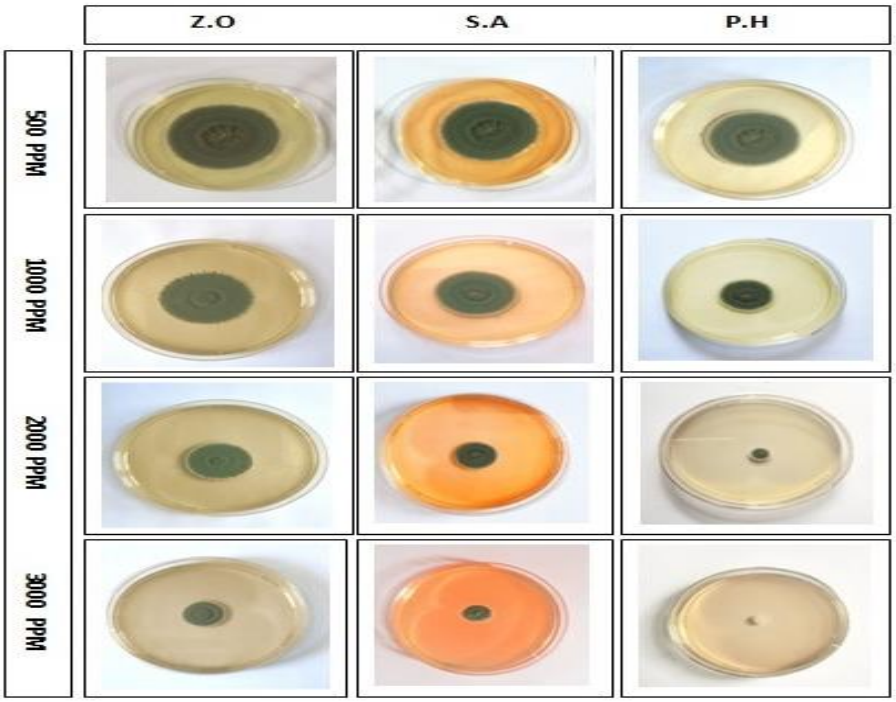
الجدول (1) : تأثير المستخلصات النباتية في معدل قطر المستعمرة و النسبة المئوية لتثبيط للفطر *penicillium digitatum*

المعاملات	التركيز جزء بالمليون	معدل قطر المستعمرة (سم)	النسبة المئوية للتثبيط
Z.O + P.d	500	6.20	31.11
Z.O + P.d	1000	4.60	48.88
Z.O + P.d	2000	3.05	66.11
Z.O + P.d	3000	2.02	77.55
S.A + P.d	500	4.40	51.11
S.A + P.d	1000	3.70	58.88
S.A + P.d	2000	2.35	73.88
S.A + P.d	3000	1.35	85.00
P.H + P.d	500	4.07	54.77
P.H + P.d	1000	2.77	69.22
P.H + P.d	2000	1.35	85.00
P.H + P.d	3000	0.40	95.55
P.d + (Control)	-	9.00	0.00
L.S.D * (P<0.05).	-	* **2.073**	* **8.294**

- P.d = الفطر الممرض (*Penicillium digitatum*)
- Z.O = مستخلص الزنجبيل *Zingiber officinate*
- S.A = مستخلص القرنفل *Syzygium aromaticum*
- P.H = مستخلص الحرمل *Peganum harmala L.*

نلاحظ من خلال النتائج أن فاعلية المستخلصات الكحولية تزداد طردياً بزيادة التركيز وهذا يتفق مع ما وجده (18) في إن كفاءة المستخلصات النباتية الكحولية المستعملة ضد الفطريات الممرضة تزداد بزيادة التركيز. وتعزى الكفاءة التثبيطية العالية لمستخلص الحرمل ضد الفطر *P.digitatum* لاحتوائه على مركبات فعالة معظمها يعود للقلويدات هي harmalol و harmaline و 2-aldehydro-tetrahydro harmine و syringin و harmine N-oxide و 2-carboxyl-3,4-dihydroquinazoline و 1-O-ß-D-xylopyranose sinapyl alchole و acetylnorharmine و harmic acid و methy ester و vasicine و deoxyvasicine و 3-hydroxylated harmine و 1-

hydroxy-7-methoxy-ß-carboline (15 ؛ 20) . أظهرت دراسات سابقة نتائج مماثلة فقد اظهر مستخلص الحرمل فاعلية في تثبيط نمو الفطر *Penicillium spp.* و *Aspergillus flavus* و *Aspergillus niger* بنسبة 100% عند التركيز 0.25 ملغم/مللتر (21) . كما وجد (22) ان المستخلص الكحولي للحرمل ثبط ضد الفطر *Penicillium italicum* و *A.niger* . واتفقت النتائج مع الدراسات السابقة في تقييم الفاعلية التثبيطية لمستخلص القرنفل ، إذ أكد (23) إن لمستخلص القرنفل فاعلية تثبيطية ضد الفطر *Penicillium citrinum* اذ ثبط الفطر بنسبة 81% عند التركيز 1.6 ملغم/مللتر . إن زيت القرنفل اظهر فاعلية تثبيطية ضد الفطر *P.digitatum* وان اقل تركيز مثبط كان بين 0.25 – 0.50 ملي مايكرون/مل (10) . وتعزى الكفاءة التثبيطية لمستخلص القرنفل إلى وجود مركبات فعالة مثل الفينولات وأهمها مركب Eugenol وفلافونات والتربينات (12 ؛ 24 ؛25) . كذلك اتفقت النتائج مع ما ذكره (26) في دراسة لمعرفة الفاعلية التثبيطية لمستخلص الزنجبيل ضد الفطر *Penicillium notatum* و *A.niger* و *A.flavus* إذ أظهرت النتائج إن مستخلص الزنجبيل ثبط جميع هذه الفطريات عند التركيز 400 ملغم/مللتر وان اقل تركيز مثبط تراوح بين 150-300 ملغم/مللتر . وأشار (7) إلى فاعلية مستخلص الزنجبيل في تثبيط نمو الفطر *P.digitatum* واظهر التركيز 3000 جزء بالمليون تثبيطاً بنسبة 81.5% . كما بين (27) إن لمستخلص الزنجبيل فاعلية تثبيطية ضد الفطر *Fusarium sp* إذ أعطى التركيز 2500 جزء بالمليون تثبيطاً بنسبة 100% وان اقل تركيز مثبط كان 1000 جزء بالمليون . ويعود السبب في فاعلية مستخلص الزنجبيل في تثبيط نمو الفطريات الممرضة إلى احتوائه مركبات فينولية فعالة مثل ß-glaucuronidase و 6-gingerol و 6-shagol و 6-paradol (19 ، 28) .



❖ **P.H= Peganum harmala , S.A= Syzygium aromaticum , Z.O= Zingiber officinate**

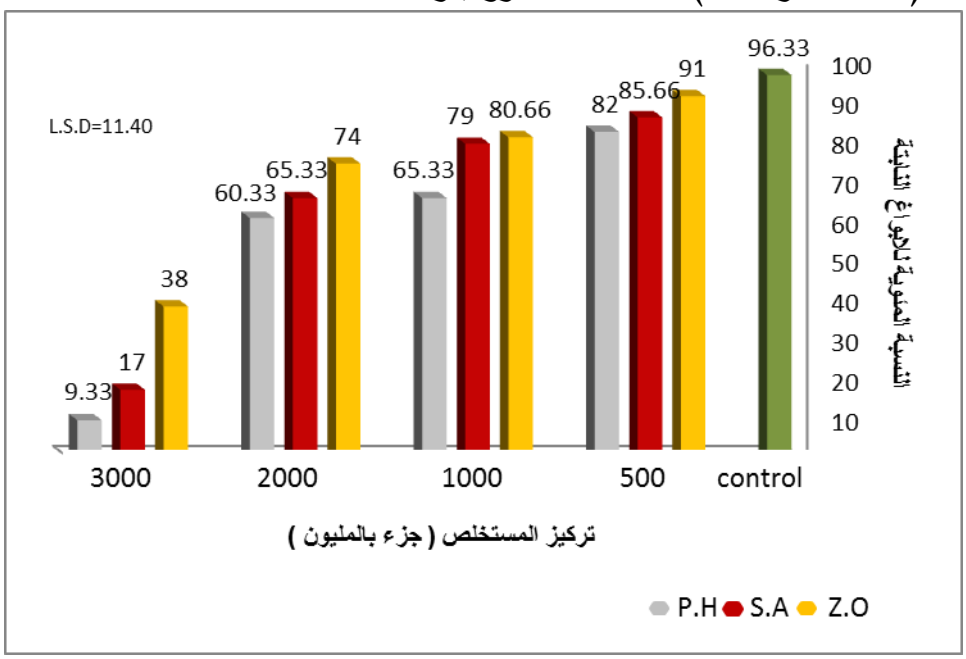
❖ **ppm = جزء بالمليون**

شكل (1) : تأثير مستخلص الزنجبيل والقرنفل والحرمل في نمو الفطر الممرض *Penicillium digitatum* باستعمال طريقة الخلط مع الوسط الغذائي PDA

اختبار تأثير المستخلصات الكحولية للزنجبيل والقرنفل والحرمل في إنبات الابواغ وأطوال أنابيب إلانبات للفطر *Penicillium digitatum*

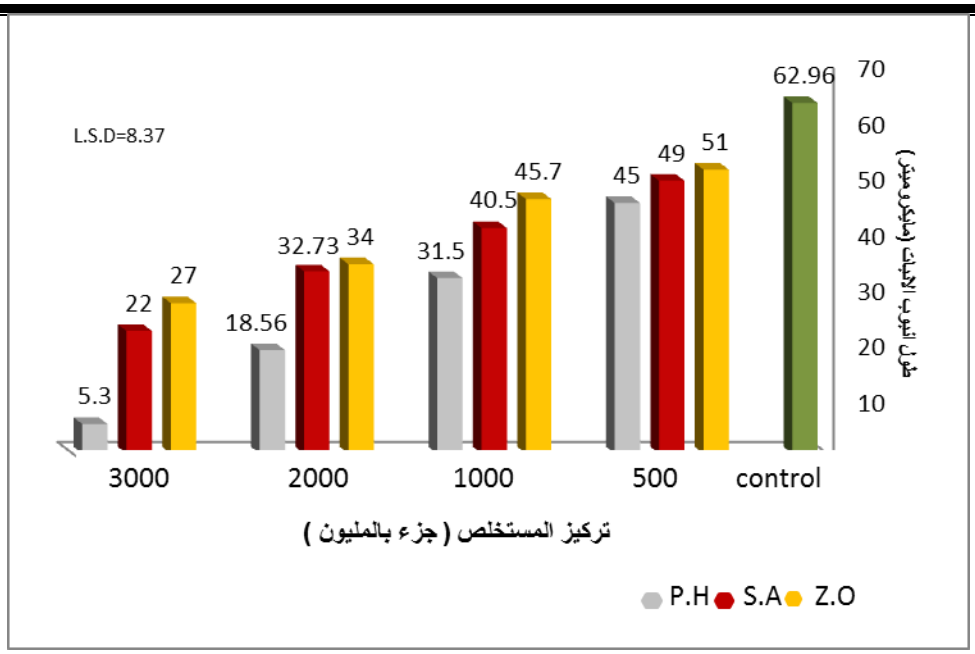
أشارت نتائج اختبار تأثير المستخلصات الكحولية للزنجبيل والقرنفل والحرمل في إنبات ابواغ الفطر *Penicillium digitatum* (الشكل 2) إلى إن المستخلصات الكحولية الداخلة في الدراسة خفضت معنوياً النسبة المئوية لإنبات ابواغ الفطر *P.digitatum* إذ بلغت النسبة المئوية لإنبات الابواغ في مستخلص الزنجبيل و بالتراكيز 500 ، 1000 ، 2000 ، 3000 جزء بالمليون بلغت 91.00 ، 80.66 ، 74.00 ، 38.00% على التوالي ، وبلغت النسبة المئوية للابواغ النابتة في مستخلص القرنفل وبنفس التراكيز 85.66 ، 79.00 ، 60.33 ، 17.00 % على التوالي ، في حين بلغت نسبة إنبات الابواغ في مستخلص الحرمل وبنفس التراكيز 82.00 ، 65.66 ، 30.00 ، 9.33 % على التوالي .

ولم تختلف معاملة الزنجبيل بتركيز 500 جزء بالمليون معنوياً عن معاملة المقارنة (بدون مستخلص) إذ بلغت نسبة إنبات الابواغ في المقارنة 96.33% . في حين أشارت نتائج تأثير المستخلصات الكحولية الزنجبيل والقرنفل والحرمل في معدل أطوال أنابيب الإنبات للفطر *P.digitatum* (الشكل 3) إلى إن المستخلصات الكحولية المستعملة في الدراسة أثرت معنوياً في معدل أطوال أنابيب إنبات الفطر *P.digitatum* بعد 19 ساعة من التحضين في درجة حرارة 25±2 م ، إذ بلغ معدل أطوال أنابيب الفطر في كل من مستخلص الزنجبيل بالتراكيز 500 ، 1000 ، 2000 ، 3000 جزء بالمليون بلغ 51.0 ، 45.7 ، 34 ، 27 مايكروميتر على التوالي ، وبلغ معدل أطوال أنابيب الفطر في مستخلص القرنفل وبنفس التراكيز 49.0 ، 40.5 ، 32.7 22.0 مايكروميتر على التوالي ، وبلغ معدل أطوال أنابيب الفطر في مستخلص الحرمل وبنفس التراكيز 45.0 ، 31.5 ، 18.5 ، 5.3 مايكروميتر على التوالي . في حين بلغ معدل أطوال أنابيب الفطر في معاملة المقارنة (ماء مقطر فقط) 62.96 مايكروميتر .



شكل (2) : تأثير مستخلص الزنجبيل والقرنفل والحرمل في النسبة المئوية للابواغ النابتة للفطر *Penicillium digitatum*

❖ P.H= Peganum harmala , S.A= Syzygium aromaticum , Z.O= Zingiber officinate



شكل (3) : تاثير مستخلص الزنجبيل والقرنفل والحرمل في معدل أطوال أنابيب الانبات للفطر *Penicillium digitatum*

❖ P.H= Peganum harmala , S.A= Syzygium aromaticum , Z.O= Zingiber officinate

أشارت دراسة سابقة إلى نتائج مماثلة (29) في دراسة لتقويم فعالية خمسة مستخلصات نباتية من بينها مستخلص الحرمل ضد نمو ابواغ مجموعة من الفطريات التي تصيب بذور الطماطا وهي *Alternaria alternata* و *Alternaria solani* و *Fusarium oxysporium f.sp lycopersici* و *Rhizoctonia solani* ، فقد بينت النتائج إن لمستخلص الحرمل قدرة تثبيطية ضد سبورات الفطريات قيد الدراسة وبنسبة %38.5,43.6,42.2,40.4 على التوالي عند التركيز 5% في حين أعطى التركيز 10% تثبيطاً بنسبة %35.4,39.3,37.1,40.7 على التوالي. وأشار (13) في دراسة لمعرفة الفاعلية التثبيطية لبعض المركبات الفعالة المستخرجة من مستخلص الحرمل ضد نمو الابواغ الكونيدية للفطر *P.digitatum* و *Botrytis cinerea* ، إذ استعملت أربعة مركبات فعالة وهي harmine و harmol و norharmane و harmane ، فقد أظهرت جميع المركبات الفعالة تأثيراً مثبطاً لنمو الابواغ الكونيدية للفطرين وان المركب harmol أعطى أعلى فاعلية تثبيطية بنسبة 100% . وذكر (30) إن مستخلص القرنفل ثبط نمو السبورات الكونيدية للفطر *Colletotrichum acutatum* وان اقل تركيز مثبط 76.5

مايكروليتر/ لتر . كذلك بينت دراسة إن لمستخلص القرنفل فاعلية تثبيطية عالية لإنبات ابواغ الفطر *A. flavus* و *Aspergillus parasiticus* إذ اظهر التركيز 0.5 ملغم / لتر تثبيطاً تاماً لأنبات ابواغ الفطرين (31) . وأشار (32) إن مستخلص الزنجبيل ذو فاعلية تثبيطية ضد إنبات ابواغ الفطر *A.flavus* ، فقد أظهرت النتائج إن التركيز 10 ملغم / مللتر قد ثبط نمو الابواغ الكونيدية للفطر وبنسبة 100% . نلاحظ من خلال النتائج المتحصل عليها ونتائج الدراسات السابقة إن المستخلصات النباتية ذات فاعلية عالية في تثبيط نمو الابواغ نتيجة وجود المركبات الفعالة ، تعمل المركبات الفعالة الموجودة في المستخلصات النباتية في تثبيط نمو الابواغ عن طريق عدة اليات ، إذ تعمل المركبات الفعالة المؤكسدة على تثبيط إنزيمات الفطر وتكون بمثابة مصدر للجذور الحرة المستقرة مما يؤدي إلى تعطيل عمل البروتين وفقدان وظيفته ، أو من خلال تكوين معقدات مع السوائل خارج الخلية والبروتينات الذائبة بها وبالتالي تكوين معقدات مع جدار الخلية وبالتالي تعطيل أغشية الفطريات الممرضة ، كذلك بعض المركبات الفعالة لها القابلية على أن تقحم نفسها مع تكوين الحامض النووي DNA وبالتالي تشكل قنوات أيونية في أغشية الفطريات الممرضة ، إذ تعمل على منافسة بروتينات الفطريات في الالتصاق بمستقبلات السكريات المتعددة في المضيف (21 , 33) . وأشار (34) إلى إن فاعلية المستخلصات النباتية يعزى إلى وجود بعض أنواع الفينولات التي تمتلك القدرة على معالجة الأمراض الشائعة على المحاصيل .

المصادر References :

1- **Ballester, A. R.; Lafuente, M. T. and González-Candelas, L** (2013) Citrus phenylpropanoids and defence against pathogens. Part II: gene expression and metabolite accumulation in the response of fruits to Penicillium digitatum infection. Food chemistry . 136(1) : 285-291.

2- **Kanetis, L.; Förster, H. and Adaskaveg, J. E** (2007) Comparative efficacy of the new postharvest fungicides azoxystrobin, fludioxonil, and pyrimethanil for managing citrus green mold. Plant Disease.91(11) : 1502-1511.

3- **Patil, N. P. and Chaudhari, B. L** (2010) Production and purification of pectinase by soil isolate penicillium sp and search for better agro-residue for ITS SSF. Recent Research in Science and Technology. 2(7) : 36-42.

4- **Schirra, M.; Palma, A.; Barberis, A.; Angioni, A.; Garau, V. L.; Cabras, P. and D'Aquino, S** (2010) Postinfection activity, residue levels, and persistence of azoxystrobin, fludioxonil, and pyrimethanil applied alone or in combination with heat and imazalil for green mold control on inoculated oranges. Journal of agricultural and food chemistry.58(6) : 3661-3666.

5- **Mayachiew, P.; Devahastin, S.; Mackey, B. M. and Niranjan, K** (2010) Effects of drying methods and conditions on antimicrobial activity of edible chitosan films enriched with galangal extract. Food Research International . 43(1) : 125-132.

6- **Obagwu, J. and Korsten**, L (2003) Control of citrus green and blue molds with garlic extracts. European Journal of Plant Pathology. 109(3): 221-225.

7- **Al-Samarrai, G.; Singh, H. and Syarhabil, M** (2012) Evaluating eco-friendly botanicals (natural plant extracts) as alternatives to synthetic fungicides. Ann. Agric. Environ. Med. 19:673–676.

8- **Al-Rahmah, A. N.; Mostafa, A. A.; Abdel-Megeed, A.; Yakout, S. M. and Hussein, S. A** (2013) Fungicidal activities of certain methanolic plant extracts against tomato phytopathogenic fungi. African Journal of Microbiology Research. 7(6):517-524.

9- **Sakulnarmrat, K.; Srzednicki, G. and Konczak, I** (2015) Antioxidant, enzyme inhibitory and antiproliferative activity of polyphenolic rich fraction of commercial dry ginger powder. International Journal of Food Science & Technology. 50(10): 2229-2235.

10- **He, S.; Ren, X.; Lu, Y.; Zhang, Y.; Wang, Y. and Sun, L** (2016) Microemulsification of clove essential oil improves its in vitro and in vivo control of Penicillium digitatum. Food Control. 65: 106-111.

11- **Kamatou, G. P.; Vermaak, I. and Viljoen, A. M** (2012) Eugenol—from the remote Maluku Islands to the international market place: a review of a remarkable and versatile molecule. Molecules. 17(6): 6953-6981.

12- **Bao, L. M. and Nozaki, A** (2012) Hydrolysable tannins isolated from syzygium aromaticum: Structure of a new C-glucosidic ellagitannin and spectral features of tannins with a tergalloyl group. Heterocycles. 85(2): 365-381.

13- **Olmedo, G. M.; Cerioni, L.; González, M. M.; Cabrerizo, F. M.; Rapisarda, V. A. and Volentini, S. I** (2016) Antifungal activity of β-carbolines on Penicillium digitatum and Botrytis cinerea. Food Microbiology. 62:9-14.

14- **Fathiazad, F.; Azarmi, Y. and Khodaie, L** (2006) Pharmacological effects of *Peganum harmala* seeds extract on isolated rat uterus. Iranian Journal of Pharmaceutical Sciences. 2(2) : 81-86.

15- **Mazandarani, M.; Sineh Sepehr, K.; Baradaran, B. and Khuri, V** (2012) Autecology, phytochemical and antioxidant activity of *Peganum harmala* L. seed extract in North of Iran (Tash Mountains). Journal of Medicinal Plants and By-products. 2:151-156 .

16- **Harborne, J. B** (1984) Methods of plant analysis. In Phytochemical methods Springer Netherlands . :1-36.

17- **Dixit, S. N.; Tripathi, S. C. and Upadhyay, R. R** (1976) The antifungal substance of rose flowers (Rosa indica). Economic Botany. 30(4): 371-374.

18- **Baruah, P.; Sharma, R. K.; Singh, R. S. and Ghosh, A. C** (1996) Fungicidal activity of some naturally occurring essential oils against Fusarium moniliforme. Journal of Essential Oil Research. 8(4): 411-412.

19- **Mirzaie, M.; Nosratabadi, S. J.; Derakhshanfar, A. and Sharif, I** (2007) Antileishmanial activity of Peganum harmala extract on the in vitro growth of Leishmania major promastigotes in comparison to a trivalent antimony drug. Veterinarski arhiv. 77(4): 365-375.

20- **Yang, Y.; Cheng, X.; Liu, W.; Chou, G.; Wang, Z. and Wang, C** (2015) Potent AChE and BChE inhibitors isolated from seeds of Peganum harmala Linn by a bioassay-guided fractionation. Journal of Ethnopharmacol. 168:279–286 .

21 – **الخزرجي ، عبد الجبار عبد الحميد و ايمان عباس خلف وعادل سعدي سلمان وعصام شاكر حمزة و كلبوي عبد المجيد ناصر** (2015) التاثير التثبيطي للمستخلص الكحولي لبذور الحرمل في نمو بعض انواع الفطريات المرضية . مجلة مركز بحوث التقنيات الاحيائية . 9 (1) : 9 - 14.

22- **Sulieman, A. M. E.; Alghamdi, A. A.; Veettil, V. N. and Ibrahim, N. A** (2016) Antimicrobial Activity of Harmal Plant (Peganum harmala L.) Extract, Ha'il Region, Saudi Arabia. Journal of Microbiology Research. 6(2): 40-46.

23- **Aiko, V. and Mehta, A** (2013) Inhibitory effect of clove (Syzygium aromaticum) on the growth of Penicillium citrinum and citrinin production. Journal of Food Safety. 33(4): 440-444.

24- **Bensky,D.; Clavey, S. and Stõger, E** (2004) Chinese Herbal Medicine: Materia Medica, Third Edition . PP 1305 .

25-**Suantawee, T.; Wesarachanon, K.; Anantsuphasak, K.; Daenphetploy, T.; Thien-Ngern, S.; Thilavech, T. and Adisakwattana, S** (2015) Protein glycation inhibitory activity and antioxidant capacity of clove extract. Journal of food science and technology. 52(6) : 3843-3850.

26 – **محمد ، صبرية عبد علي** (2012) الفاعلية التثبيطية لمستخلصات الزنجبيل *Zingiber officinale* Rosc. Ginger تجاه بعض الفطريات .مجلة ابحاث البصرة . 2 (38) : 97 – 108.

27- **Sanit, S** (2016) Antifungal activity of crude extracts of some medicinal plants against Fusarium sp., the pathogen of dirty panicle disease in rice.Journal of Medicinal Plants Research. 10(19):248-255.

28- **Nile, S. H. and Park, S. W** (2015) Chromatographic analysis, antioxidant, anti-inflammatory, and xanthine oxidase inhibitory activities of ginger extracts and its reference compounds. Ind. Crops Prod. 70:238–244.

29- **Baka, Z. A** (2014) Biological control of the predominant seed-borne fungi of tomato by using plant extracts. Journal of Phytopathology and Pest Management. 1(3): 10-22.

30- **Duduk, N.; Markovic, T.; Vasic, M.; Duduk, B.; Vico, I. and Obradovic, A** (2015) Antifungal activity of three essential oils against Colletotrichum acutatum, the causal agent of strawberry anthracnose. Journal of Essential Oil Bearing Plants. 18(3): 529-537.

31- **El-gali, Z. I** (2015) Bioactivity of Eugenia Earyophllata Essential Oil against Aspergillus flavus and Aspergillus parasiticus Bioactivity of Eugenia Earyophllata Essential Oil against Aspergillus flavus and Aspergillus parasiticus. Int. J. Chem. Mater. Environ. Res. 2:0–6.

32- **Nerilo, S. B.; Rocha, G. H. O.; Tomoike, C.; Mossini, S. A.; Grespan, R.; Mikcha, J. M. and Machinski, M** (2016) Antifungal properties and inhibitory effects upon aflatoxin production by Zingiber officinale essential oil in Aspergillus flavus. International Journal of Food Science & Technology. 51(2): 286-292.

33- **Cowan, M. M** (1999) Plant products as antimicrobial agents. Clinical microbiology reviews. 12(4): 564-582.

34- **Winkelhausen, E.; Pospiech, R. and Laufenberg, G** (2005) Antifungal activity of phenolic compounds extracted from dried olive pomace.Bulletin of the Chemists and Technologists of Macedonia. 24(1): 41-46.

Study of the efficiency of alcoholic extracts of ginger , clove and harmala on the growth of *penicillium digitatum* the causal of green mold disease on orange fruit

Abstract

This study has been conducted to evaluate the efficiency of three alcoholic extracts from ginger (*Zingiber officinate*) , clove (*Syzgyium aromaticum*) and harmala (*Peganum harmala*) in concentration between 500 and 3000 ppm were tested for antifungal activity in vitro on *penicillium digitatum* isolated from infected orange fruit . All alcoholic extracts concentrations showing antifungal activity against the test Pathogen . The concentration 3000 ppm of ginger , clove and harmala inhibit growth *P.digitatum* percentage on Potato Dextrose Agar 77.55 % , 85% and 95.55% respectively . Also , the extracts had are make able effect on spore germination and germ tube at the afore mentioned concentration show 38% , 17% and 9.33% inhibition spore germination the fungi respectively and inhibition germ tube show 27µm , 22µm and 5.30 µm respectively . Thus it could be concluded that plant extracts may be use useful to control green mold disease in Iraq .

Keywords : Green mold disease , plant extracts , ginger , clove , harmala