تقييم فعالية زيت الكافور العريض (*Eucalyptus globulus*) على نمو الفطر *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* المسبّب لمرض البيّوض مختبرياً

أسماء نويشي[1،4*]، صليح شيباني[1]، عمار عثماني[2]، مريم بوكعباش[1]، وداد عبد العزيز[3] وريمة مونى[5]

(1) مختبر الكيمياء الحيوية التطبيقية، كلية علوم الطبيعة والحياة، جامعة منتوري قسنطينة 1، الجزائر؛ (2) مختبر الكيمياء الحيوية التطبيقية، كلية علوم الطبيعة والحياة، جامعة بجاية، 06000 بجاية، الجزائر؛ (3) مختبر الأحياء الدقيقة، كلية علوم الطبيعة والحياة، جامعة منتوري قسنطينة 1، الجزائر؛ (4) مختبر تطوير وتثمين الموارد الوراثية النباتية، كلية علوم الطبيعة والحياة، جامعة منتوري قسنطينة 1 الجزائر؛ (5) مختبر المواد العلاجية (LOST)، كلية الطبيعة وعلوم الحياة، جامعة منتوري قسنطينة 1، الجزائر. *البريد الإلكتروني للباحث المراسل: as.soma@hotmail.fr

الملخص

نويشي، أسماء، صليح شيباني، عمار عثماني، مريم بوكعباش، وداد عبد العزيز وريما مونى. 2023. تقييم فعالية زيت الكافور العريض (*Eucalyptus globulus*) على نمو الفطر *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* المسبب لمرض البيّوض مختبرياً. مجلة وقاية النبات العربية، 41(3): 281–284. https://doi.org/10.22268/AJPP-41.3.281284

يشكّل مرض الذبول الفيوزاريومي للنخيل، الشائع بإسم مرض البيّوض، الذي يُحدثه الفطر *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*، تهديداً واضحاً لزراعة النخيل في دول المغرب العربي وشمال إفريقيا، وحتى البلدان المنتجة للتمور التي لا تزال خالية من المرض، ليست في منأى عنه. تمّ تقييم الفعالية التثبيطية لزيت الكافور العريض (*Eucalyptus globulus*) على نمو هذا الفطر في مختبر بيولوجيا النبات بجامعة قسنطينة 1، الجزائر. تراوحت قيم معدل تثبيط النمو الفطري ما بين 17%، عند استخدام 5 ميكروليتر من زيت الكافور في وسط الطبق، وحتى 60% عند استخدام 15 ميكروليتر في وسط الطبق مقارنةً مع الشاهد. إنّ النتائج المتحصل عليها تفسح المجال للقيام بتجارب استخدام الزيوت الأساسية كبديل آمن لمكافحة هذا المرض الفطري في الحقل.

كلمات مفتاحية: نخيل التمر، *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*، زيت اساسي، *Eucalyptus globulus*.

المقدمة

يُزرع نخيل التمر (*Phoenix dactylifera* L.) في المناطق الحارّة الجافة وشبه الجافة في آسيا وأفريقيا وبعض الدول المطلة على البحر المتوسط، فضلاً عن استراليا، وبعض البلدان الأمريكية حيث تمّ إدخاله في القرن الثامن عشر، تتكيف أشجار النخيل بشكل جيد مع المناطق الحارة القاحلة وشبه القاحلة ذات الحرارة التي تفوق 30°س وتمتاز بإضاءة قوية، كما تتحمل فترات الجفاف الطويلة مع التنويه لوجود متطلبات مائية لإنتاج التمور.

لأكثر من 100 عام، تعاني بساتين النخيل الجزائرية من مرض بيّوض نخيل التمر "الذبول الوعائي" الذي يسببه الفطر *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*، ويعدّ أكثر أنواع العدوى الفطرية تدميراً، إذ يسبب الموت السريع لنخيل التمر. يؤثر مرض البيّوض بشكل خاص على الأصناف ذات القيمة العالية (الفجوس، الحميرة، الشركة، فجيج والتناصر)، لكن تأثيره يتجاوز الجانب الاقتصادي المرتبط بفقدان إنتاج التمور، فالنخيل يحتل مكانة رئيسةً في النظام البيئي للواحات وفي التنظيم الاجتماعي لشعوب المناطق الصحراوية (Bougueddoura *et al.*, 2015).

نشأ المرض في وادي درعة بالمغرب، حيث لوحظ لأول مرة حوالي عام 1870، ليتنشر بعدها إلى باقي المناطق الصحراوية المجاورة وصولاً إلى الجنوب الغربي للجزائر سنة 1898 (Fernandez *et al.*, 1995). يضرب البيوض بساتين النخيل وتظهر عليها الأعراض الخارجية، إنّ موتها أمر لا مفر منه ولكن ضمن أطرٍ زمنية متغيرة تتراوح من عدة أسابيع إلى عدة أشهر. ولتجنب هذه الخسائر، اعتمد الفلاح على منهجية صارمة في اختيار أشجار النخيل المنتجة ذات النوعية الجيدة والمقاومة للبيّوض، إلّا أنّ هذه المنهجية تستغرق وقتاً طويلاً بالإضافة لكون هذه الاصناف المقاومة ذات صفات غذائية متوسطة (Djerbi, 2003؛ Sedra, 2005). إنّ المعطيات الوبائية تدعم الانتشار التدريجي لهذا المرض في ظل عجز أي إجراء وقائي مقترح للسيطرة الكيميائية (Benzohra *et al.*, 2017).

https://doi.org/10.22268/AJPP-41.3.281284
© 2023 الجمعية العربية لوقاية النبات Arab Society for Plant Protection

هدف هذا البحث إلى تقييم فعالية زيت الكافور في تثبيط الفطر المسبب لمرض البيّوض وإمكانية استخدامه في مكافحة هذا المرض.

مواد البحث وطرائقه

المادة النباتية

اختبر مستوى الفاعلية التثبيطية للزيت الأساسي للكافور العريض (*Eucalyptus globulus*)، الذي ينتمي الى العائلة الآسية (*Myrtacées*)، والذي جمع خلال شهر آذار/مارس عام 2021 من منطقة تسالة في ولاية ميلة، الجزائر.

الفطر الممرض *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*

تمّ تعريف الفطر من قبل الدكتور سباو نصر الدين، في مختبر بيولوجيا النظم الميكروبية (LBSM)، المدرسة العليا للأساتذة، القبة، الجزائر. تمّ عزل الفطر من عينة مأخوذة من شجرة نخيل مصابة وتمّ ترميزه بـ Foa. عند الإصابة بهذا الفطر تظهر الأعراض الخارجية الأولى على ورقةٍ واحدة أو أكثر من التاج الأوسط، فيتغير لونها الى اللون الرصاصي أو الرمادي وتذبل بطريقة مميزة لينتشر الذبول من القاعدة إلى القمة. في حال قطع سعف النخيل تظهر عليها أعراض خارجية واضحة (تلون الحزم الوعائية بلون بني محمر).

استخلاص الزيت الاساسي

تمّ استخراج الزيت العطري بطريقة التقطير المائي، باستخدام جهاز تقطير من نوع Dean Starck. تمّت معالجة 150 غ من المادة النباتية في دورق مقاوم للصدأ ذي سعة 500 مل، وتمّ استخلاص الزيت ثلاث مرات. حُفظت العينات الزيتية المستخلصة في أنابيب زجاجية عند 4°س بعيداً عن الضوء.

تحليل الزيت الاساسي

أُجري التحليل في معمل الكيمياء بمختبر المنصات التقنية في التحليل الفيزيائي والكيميائي لمركب CRAPC ورقلة، باستخدام كروماتوجرافيا من النوع GCMS-TQ8040 NX مزود بكاشف تأيّن اللهب (FID)، وعمود قطبي RXi-5MSK (قطره 30 مم × 0.25 مم بالداخل؛ سماكة الفيلم 0.25 ميكرومتر) وعمود قطبي Supelcowax 10 له الخصائص السابقة ذاتها.

تأثير الزيت على نمو الفطر

في أطباق بتري قطرها 8 سم، تمّ صبّ آغار دكستروز البطاطا (PDA)؛ وبعد تصلب الآغار، أضيفت كمية من الزيت العطري النقي (5، 10 و15 ميكروليتر) مع تحريكه في جميع الاتجاهات لتغطية كامل سطح طبق الآغار وضمان تجانسه، مع وجود معاملة الشاهد. أخذ من منطقة النمو النشط لمزرعة الفطر قرص قطره 5 مم ووضع في وسط طبق بتري. تمّت حضانة الأطباق في الظلام لمدة 7 أيام عند 30°س (Maina *et al.*, 2009). كرّرت كلّ معاملة ثلاث مرات وكذلك معاملة الشاهد. ولحساب النمو الفطري (مم) تم تطبيق المعادلة التالية:

النمو الفطري (مم) =ق1+ق2

حيث ق1: طول القطر طولياً، ق2: طول القطر عرضياً.

سجل طول القطرين المتعامدين للنمو الميسيليومي بواسطة مسطرة بدءاً من اليوم الأول حتى اليوم الأخير. وأوقفت التجربة عندما غطى الفطر سطح الآجار في معاملة الشاهد (يحتسب متوسط القراءات).

حسبت نسبة تثبيط المشيجة وفقاً للمعادلة التالية (Kordali *et al.*, 2003):

$$\text{نسبة التثبيط في المشيجة (\%)} = \frac{\text{قطر المشيجة في المزرعة الشاهد} - \text{قطر المشيجة في المزرعة المعاملة}}{\text{قطر المشيجة في المزرعة الشاهد}} \times 100$$

تمّ حساب سرعة نمو الفطر (VC) لكل معاملة وفي معاملة الشاهد بالاعتماد على نمو قطر كل مزرعة فطرية المسجل يومياً خلال فترة الحضانة (Cahagnier *et al.*, 1998) حسب المعادلة التالية:

$$\text{سرعة نمو الفطر (VC)} = (ق_1/ز_1)+(ق_2/ز_2)+(ق_3/ز_3)+...+(ق_ن/ز_ن)$$

حيث ق= طول القطر المقاس يومياً، ز= زمن القراءة.

الدراسة الاحصائية

نفذّت جميع التجارب بثلاثة مكررات. حُلّلت البيانات باستخدام البرنامج GraphPad PRISM (الإصدار 8.0.2)، وأُستخدم ANOVA ثنائي الاتجاه مع مقارنات Bonferroni اللاحقة. تمّ تحديد الفروق ذات الدلالة المعنوية عند مسوى احتمال 5%.

النتائج والمناقشة

الزيت المستخلص

تمّ الحصول على زيت نقي من نبات الكافور ذي لون أصفر باهت وله رائحة منعشة، وبلغ مردود الزيت العطري من أوراق شجرة الكافور العريض الجافة ما نسبته 0.093%، وهو مردود أقلّ بقليل مما أشير إليه في دراسة سابقة (1.4%) (Hmiri, 2011). وعند القيام بالتحليل الكروماتوغرافي للزيت الأساسي لنبات الكافور العريض بواسطة جهاز GC/MS تبين أنه يحتوي على 22 مركباً تشكّل 94.01% من إجمالي جوهره، وهذه المركبات هي: viridiflorine، epiglobulol، spathlenol، globulol، neoalloocimene، aromadendrène،

cis-p-mentha-1(7),8- ،p-cumic aldehyde ،α.-terpinyl acetate ،(1S)-1,3,3-trimethylnorbornan-2-ol ،dien-2-ol trans-1- ،naphthalene, 2,3,4,4a,5,8,8a-octahydro-4a-methyl- ،Pinocarvone ،Terpinen-4-ol ،ethenyl-1-cyclohex-2-enol ،o-Cymene ،cinéole ،Ɣ.-Terpinène ،Pinocarveol .α-Thujone ،α-Pinene ،β-pinene ،β- myrcene

تأثير الزيت على نمو الفطر

أظهرت النتائج (جدول 1) معدّل نمو الفطر وسرعة نمو المشيجة ونسبة تثبيط العينة الزيتية الأساسية المختبرة *Eucalyptus globulus* خلال فترة التحضين (7 أيام).

احتوت عينة زيت الكافور على ثلاثة مركبات بنسب عالية، وهي: 1-8 cinéole (59.13%)، α-Pinene (12.87%) و O-cymene (6.73%)، وهي متقاربة مع نتائج دراسات سابقة (Djenane, 2011؛ Ghalem & Mohamed, 2008). كما ذكر في دراسة سابقة قدرة الزيوت الأساسية المستخرجة من *Eucalyptus camaldulensis* على مكافحة الفطور المسؤولة عن تدهور التفاح أثناء الحفظ (Hmiri, 2011)، وأنّ المكون الغالب لزيت الكافور العريض هو 1-8 cinéole (42.3%)، 2-Pinene (28.3%)، β-cymene (6.5%).

أوضحت النتائج زيادة تثبيط زيت الكافور للفطر المسبب لمرض البيوض مع زيادة كمية الزيت المضافة للطبق الواحد من 5 إلى 15 ميكروليتر، وهذا يتوافق مع دراسات سابقة أشارت للقدرة التثبيطية لزيت الكافور وغيرها من الزيوت العطرية النباتية في تثبيط الفطر *Fusarium oxysporum* وغيره من الفطور الممرضة للنباتات (Siramon *et* Mehani *et al.*, 2014؛ Cherkupally *et al.*, 2017؛ *al.*, 2013).

جدول 1. أثير فاعلية الزيوت النباتية على نمو الفطر *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* في وسط آغار ديكستروز البطاطا/البطاطس.

Table 1. Effect of Eucalyptus plant oil on the growth of *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* in the PDA plate.

متوسط التثبيط (%) Mean inhibition (%)	سرعة نمو الفطر(VC) Fungal growth rate (VC)	معدل نمو الفطر(سم) Mean fungal growth (cm)	الكمية المضافة (ميكروليتر) Amount added (µl)	المعاملة Treatment
0.0 d	0.0 a	4.84 a	0	الشاهد Control
17.92±1.30 a	3.08±0.01 a	2.39±0.10 b	5	زيت الكافور العريض *E. globulus* oil
32.08±2.05 b	2.23±0.02 c	1.85±0.19 c	10	
60.00±1.88 c	1.48±0.00 d	1.17±0.13 d	15	

a: $p < 0.05$, b: $p < 0.005$, c: $p < 0.001$, d: $p < 0.0001$

سمح التحليل الكيميائي لزيت الكافور العريض بتحديد أكثر من 70 مركباً هيدروكربونياً بنسب مختلفة. وعلى الرغم من أن الزيت الأساسي لشجرة الكافور العريض قد أعطى فعالية تثبيطية جيدة (بلغت 60%) تجاه نمو عزلة الفطر *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*، إلّا أننّا ننصح بتكرار المعاملة بالزيت لمدّة 4 أيام على الأقل لضمان فعالية أكبر ولمدة أطول. لابد من الإشارة أيضاً بأن هذه الدراسة ركزت على تأثير زيت الكافور على الفطر المسبب لمرض البيّوض في المختبر، إلا أنّ التحدي الأهم هو تقييم قدرة زيت الكافور على تثبيط المرض في الحقل، وبخاصةٍ أن الفطر الممرض هو من ساكنات التربة وينتشر داخل النبات بشكل جهازي، مما يصعب مكافحته. كما ينصح بتقييم كفاءة زيت الكافور في تثبيط فطور أخرى تسبب أمراضاً للمحاصيل الزراعية داخل البيوت البلاستيكية.

Abstract

Noueichi, A., S. Chibani, A. Othmani, M. Boukbach, W. Abdelaziz and R. Mouna. 2023. Effect of *Eucalyptus globulus* Oil on Growth of The Fungal Pathogen *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*, The Causal Agent of Date Palm Bayoud Disease in the Laboratory. Arab Journal of Plant Protection, 41(3): 281-284. https://doi.org/10.22268/AJPP-41.3.281284

Fusarium disease of date palm caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*, commonly known as Bayoud disease, is a serious threat to date palm cultivation in North African countries including Algeria. The inhibitory activity of eucalyptus oil (*Eucalyptus globulus*) was evaluated in the Plant Biology Laboratory at the University of Constantine, Algeria. The results obtained showed significant inhibition of fungal growth which varied between 17 and 60% based on the concentration used. The pathogen inhibitory effect was mainly due to the presence of monoterpene compounds which have a strong inhibiting property against fungi. The results obtained suggest that Eucalyptus essential oil is potentially a safe and effective alternative to chemical fungicides, but field evaluation for its ability to control date palm Bayoud disease is essential before recommending its use in farmers' fields.

Keywords: Date palm, *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*, essential oil, *Eucalyptus globulus*.

Affiliation of authors: *Asmaa Noueichi[1,4*], Salih Chibani[1], Amar Othmani[2], Meriem Boukabach[1], Widad Abdelaziz[3] and Ryma Mouna[5]. (1) Laboratoire de Biochimie Appliquée, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Mentouri Constantine 1, Algeria; (2) Laboratoire de Biochimie Appliquée, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Bejaia, 06000 Bejaia, Algeria; (3) Laboratoire de Microbiologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Mentouri Constantine 1, Algeria; (4) Laboratoire de Biotechnologie des Productions Végétales. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Mentouri Constantine 1, Algeria; (5) Laboratoire d'Obtention de Substances Thérapeutiques (LOST), Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Mentouri Constantine 1, Algeria. *Email of corresponding author: as.soma@hotmail.fr*

References

المراجع

Benzohra, I.E., M. Megateli, B.A. Elayachi, M. Zekraoui, K. Djillali, A. Bouafia, S. Benouis, A. Benaziza and A. Rekis. 2017. Integrated management of Bayoud disease on date palm (*Phoenix dactylifera* L.) caused by *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* in Algeria. Journal Algérien des Régions Arides, 14:93–100.

Bougueddoura, N., M. Bennaceur, S. Babahani and S.E. Benziouche. 2015. Situation and perspective of date palm in Algeria. Pages 125-168. In: Date Palm Genetic Resources and Utilization: Volume 1. J.M. Al-Khayri, S.M. Jain and D.V. Johnson (eds.). Springer, Dordrecht. 546 pp. https://doi.org/10.1007/978-94-017-9694-1_4

Cherkupally, R., S.R. Kota, H. Amballa and B.N. Reddy. 2017. In vitro antifungal potential of plant extracts against *Fusarium oxysporum, Rhizoctonia solani* and *Macrophomina phaseolina*. Annals of Plant Sciences, 6(9):1676-1680.

Djenane, D., K. Lefsih, J. Yangüela and P. Roncalé. 2011. Composition chimique et activité anti-*Salmonella enteritidis* CECT 4300 des huiles essentielles d*'Eucalyptus globulus*, de *Lavandula angustifolia* et de *Satureja hortensis*. Tests in vitro et efficacité sur les œufs entiers liquides conservés à 7±1°C. Phytothérapie, 9:343–353. (*In French*). https://doi.org/10.1007/s10298-011-0664-z

Djerbi, M. 2003. *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*. OEPP/EPPO Bulletin, 33:245–247.

Fernández, D., M. Ouinten, A. Tantaoui, J.P. Geiger, M.J. Daboussi and T. Langin. 1998 Fot1 insertions in the *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* genome provide diagnostic PCR targets for detection of the date palm pathogen. Applied and Environmental Microbiology, 64(2):633–636. https://doi.org/10.1128/aem.64.2.633-636.1998

Ghalem, B.R. and B. Mohamed. 2008. Antibacterial activity of leaf essential oils of *Eucalyptus globulus* and *Eucalyptus camaldulensis*. African Journal of Pharmacy and Pharmacology, 2:211-215.

Hmiri, S., M. Rahouti, Z. Habib, B. Satrani, M. Ghanmi and M. El Ajjouri. 2011. Évaluation Du Potentiel Antifongique Des Huiles Essentielles De *Mentha Pulegium* Et D'*eucalyptus Camaldulensis* Dans La Lutte Biologique Contre Les Champignons Responsables De La Détérioration Des Pommes En Conservation. Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège, 80:824–836 (In French).

Maina, P. K., S. Okoth and E.O. Monda. 2009. Impact of land use on distribution and diversity of *Fusarium* species in Taita, Kenya. Tropical and Subtropical Agroecosystems, 11:323–335.

Mehani, M., N. Salhi, T. Valeria and S. Ladjel. 2014. Antifungal effects of essential oil of *Eucalyptus camaldulensis* plant on *Fusarium graminearum* and *Fusarium sporotrichioide*s. International Journal of Current Research, 6(12):10795–10797.

Sedra, My.H. 2005. La maladie du Bayoud du palmier dattier en Afrique du Nord: Diagnostic et caractérisation. Pages 26-34. In*:* Actes du Symposium International sur le Développement Durable des Systèmes Oasiens. INRA, Rabat, Maroc, 652 pp.

Siramon, P., Y. Ohtani and H. Ichiura. 2013. Chemical composition and antifungal property of *Eucalyptus camaldulensis* leaf oils from Thailand. Records of Natural Product, 7(1):49–53.

Received: May 19, 2022; Accepted: December 20, 2022

تاريخ الاستلام: 2022/5/19؛ تاريخ الموافقة على النشر: 2022/12/20