التركيب الكيميائي للزيت الطيار لنبات القطيفة (*Tagetes patula* L.) وفاعليته على حشرات المخازن، وفاعلية المستخلص الميثانولي على بعض الفطريات.

زكريا الناصر* **عبد النبي بشير****

الملخص

تمت هذه الدراسة لتعريف التركيب الكيميائي للزيت الطيار للأجزاء الهوائية لنبات القطيفة (*Tagetes patula* L.). جُمعت الأجزاء الهوائية لنبات القطيفة من حدائق دمشق خلال الشهر 9 لعام 2017. تم الحصول على الزيت باستعمال جهاز التقطير، وحُلل من خلال جهاز الكروماتوغرافي الغازي الملحق بمطياف الكتلة (GC/MS). تم تعريف 16 مركب في الزيت الطيار للأجزاء الهوائية لنبات القطيفة. وكانت أهم المركبات: Limonene (7.52%) و α-Terpinolene (9.23%) و trans-caryophyllene (11.89%) و Caryophyllene oxide(8.87%) و Neophytadiene (9.65%) و Palmatic acid(4.33%) و Phytol (6.23%).

كما تم دراسة التأثير السمي لبخار الزيت الطيار ضد خنفساء اللوبياء (*Callosobruchus maculates*: Coleoptera) وفراشة الطحين المتوسطية (*Ephestia kuehniella* Zeller : Lepidoptera). استخدم الزيت الطيار للقطيفة بالتبخير عند التراكيز 5 و10و 15 و20

* أستاذ في قسم وقاية النبات – كلية الزراعة –جامعة دمشق.سورية.
zakaria.alnasser@damascusuniversity.edu.com
** أستاذ دكتور ورئيس مركز المكافحة الحيوية، كلية الزراعة –جامعة دمشق.سورية
abdulnabi.basheer@damascusuniversity.edu.com

و25 و30 و35 و40 و45 و50 ميكروليتر/ ليتر هواء. أظهرت النتائج أن الأثر السمي لبخار الزيت الطيار زاد معنوياً بزيادة التركيز. وأظهر الزيت الطيار سمية أعلى لفراشة الطحين المتوسطية مقارنة بالخنافس ويظهر ذلك بقيم LC_{50}، حيث كانت 15.06 و 20.92 ميكروليتر/ ليتر هواء عند 48 ساعة من التبخير على الترتيب.

أيضاً، اختبرت فاعلية التضاد الفطري للمستخلص الميثانولي للقطيفة ضد 4 أنواع فطرية: *Aspergillus flavus* و*Botrytis cinerea* و*Fusarium oxysporum* و *Pencillum digitatum* . وذلك باستخدام تقانة تسميم الوسط المغذي عند التراكيز 50 و100 و150 و200 و250 و500 و1000 ميكروليتر/100 مل وسط مغذي. بينت النتائج أنّ المستخلص الميثانولي للقطيفة كانت له أعلى فاعلية كتضاد فطري معنوياً لـ*P. digitatum* و*B. cinerea* ، حيث كانت قيم ED_{50} 126.48 و195.24 ميكروليتر/ 100مل وسط مغذي على الترتيب. في حين كان أقل فاعلية معنوياً على فطر *F. oxysporum*.

وعليه يمكن توصية استخدام الزيت الطيار والمستخلص الميثانولي للقطيفة كمبيد حيوي لمكافحة الحشرات والفطريات.

الكلمات المفتاحية : *Tagetes patula* ، الزيت الطيار، التبخير، حشرات، فطريات، **GC**

Chemical Composition of Essential Oil of Marigold (*Tagetes patula* L.) and its Activity Against Stored Insect and Effect of Methanol Extract against some fungi

Abstract

The present study was carried out to determine the chemical composition of essential oil of aerial part of Marigold (*Tagetes patula* L.) The aerial parts were collected, during 2017, and the essential oil process was conducted with Clevenger's apparatus. and analyzed using Gas Chromatography- Mass Spectrometry (GC/MS). In total, 16 compounds were identified in the essential oil the of Marigold. The major components were, Limonene (7.52%), α-Terpinolene (9.23%), trans-caryophyllene (11.89%), Caryophyllene oxide (8.87%), Neophytadiene(9.65), Palmatic acid(4.33%) and Phytol (6.23%).

The toxicity of evaporate from essential oil of Marigold against adult of cowpea weevil (*Callosobruchus maculates* (Coleoptera) and adult of Mediterranean flour moth (*Ephestia kuehniella* Zeller :Lepidoptera) was studied. The essential oil from Marigold was used as fumigant at doses of concentration 5,1015,20,25,30,35,40,45,50µl/L air. The result obtained showed that the fumigant toxicity of the essential oil increased significantly with the increase in the concentration.The efficacy of the oil was higher on the flour moth than the weevil, as reflected by its LC_{50} of 15.06 and 20.92 µl/L air at 48 incubation periodd, respectively.

Also, The antifungal activity of the methanol extract of Marigold was tested against fungi species (*Aspergillus flavus*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium oxysporum* and *Pencillum digitatum*.) at concentrations of 50, 100, 150, 200, 250, 500and 1000µl/100ml by using poison food technique.

The results indicated that Methanol extract of Marigold was significantly superior antifungal activity to *P. digitatum* and *B. cinerea*, where, the ED_{50} were, 126.48 and 195.24 µl/100ml respectively. and lowest effect was on

the *F. oxysporum* fungus. Therefore it is recommended to use the essential oil and Methanol extract of Marigold as biocide against insects and fungi.
Keywords: *Tagetes patula*, essential oil, Fumigant, insect, Fungi, GC.

المقدمة:

تتبع نباتات الجنس .*Tagetes* L الفصيلة المركبة (Asteraceae) وتسمى شعبياً القطيفة، يوجد منها 30 نوع في جنوب ووسط أمريكا والمكسيك (Wang and Zhao, 2002). تستخدم كنباتات زينة في أغلب المناطق المدارية والدافئة. بعض أنواع الجنس *Tagetes* تستخدم في الطب الشعبي لعلاج أمراض الكبد والقلب وطارد بلغم (Lin, 2009)، كما تستخدم المستخلصات النباتية من هذا الجنس بمكافحة الحشرات والفطريات (Vasudevan وزملاؤه، 1997 و.Wang and Guo,2004). والنوع .*Tagetes patula* L الذي يعرف محلياً باسم الشاشات (القطيفة الفرنسية) هو نبات حولي صيفي قصير إلى متوسط الارتفاع. الموطن الأصلي للقطيفة المكسيك،ينمو النبات قائماً، أوراقه صغيرة خضراء داكنة وأزهاره شعاعية صفراء إلى برتقالية في معظم الأصناف، ينتجها النبات بشكل مستمر طوال فصل الصيف. أظهرت الدراسات الحيوية للعديد من أنواع القطيفة وجود الفلافونيدات Flavonoids و التربينات Terpenes التي تمتلك خواص كمبيدات حشرية ومحسنات زراعية (Perich *et al.*, 1995Tereschuck *et al.*, 1997). وأثبت Hudson وTowers(1991) وجود مركب Thiophenes في كامل نبات القطيفة (*T.patula*) والمعروف بخواصه الحيوية. ذكر Vasudevan وزملاؤه (1997) وجود مركبات Terpenesو(*Z*) mainly و (*E*)-ocimenones وlimonene وpiperitone و caryophyllene و piperitenone في الزيت الأساسي المتحصل عليه من الأوراق والبتلات . أشار Hethelyi وزملاؤه (1986) وجود مركبين linalool وlinalyl acetate في الزيت الأساسي في القطيفة. وذكر العديد من الباحثين وجود المركبات التربينية التالية في نبات القطيفة (*T. patula*) :limonene وcaryophyllene وpiperitone وpiperitenone (Lawrence,1985).

تسبب الآفات فقد في المحاصيل يصل إلى 35% من الإنتاج سنوياً (Larrañaga وزملاؤه، 2012، FAO, 2012). وفي الولايات المتحدة فقط تسبب الحشرات والأمراض والأعشاب 37% من الإنتاج الكلي ، والفقد العائد للحشرات 13% وممرضات النبات 12% والأعشاب 12% (Pimentel، 1997). تعد الحشرات من أكثر الأنواع وأقدمها تواجداً على الأرض وتوجد متطفلة على جميع العوائل الحية وغير الحية والنبات. ويعد أقل من 5% من الأنواع الحشرية المعروفة أفات مهمة اقتصادياً. والحشرات قد تكون ضارة للإنسان والحيوان والنبات(ICIPE, 1997; Imms, 1964). وتعد أخطر الآفات الحشرية الاقتصادية هي الحشرات آكلات النبات التي تدمر خُمس الإنتاج الزراعي عالميا كل سنة. خاصة في المناطق المدارية وتحت المدارية والدافئة حيث تساعد الظروف البيئية وتوفر الغذاء على تكاثر وانتشار الحشرات.وتسبب بعض الآفات الحشرية أضراراً للمواد المخزونة والبذور المعدة للزراعة حيث تتغذى على الاندوسبيرم البذور كما تتغذى على البذور وتسبب خفض في نوعيتها وكميتها. وبالتالي تخفض من قيمتها التسويقية أو قابليتها للزراعة. (Malek & Parveen, 1989; Santos, *et al*, 2016.

ومن أهم حشرات المواد المخزونة فراشة الطحين المتوسطية (*Ephestia kuehniella* Zeller) من حشرات حرشفية الأجنحة (Lepidoptera) من آفات المخازن المهمة في العالم وأوروبا وتصيب الطحين. وأضرارها كبيرة إضافةً للتغذية، حيث تترك مخلفاتها وجلود الانسلاخ في الطحين مما يخفض من نوعيته كما أنها تفرز خيوط حريرية والتي تؤدي إلى تجمع جزيئات الطحين ونمو الأعفان السوداء(Falp وزملاؤه (1995)). وكذلك خنفساء اللوبياء الجنوبية .*Callosobruchus maculates* F تعد خنفساء اللوبياء الجنوبية (Coleoptera)) من الآفات الرئيسة والمهمة على البقوليات وتصيب العديد من المحاصيل البقولية في الحقل والمستودع، وقد ذكر Mahfuz و Khalequzzama (2007) أنها تصيب بذور اللوبياء والحمص والعدس وفول الصويا والفاصولياء. تضع أنثى الحشرة البيض على

البذور على شكل كتلة تلتصق على البذور لتعطي يرقات تصنع أنفاق داخل البذور ويزداد ضررها كلما تقدمت بالعمر. وتتغذى على أغلب محتوياتها وتؤثر على قيمتها الغذائية ونسبة الإنبات وقد تصل الخسارة في بذور البقوليات المخزونة إلى 60% (Sharma, 1984 و Epidi *et al.*, 2008). يستخدم عدد محدود من المبيدات في وقاية المواد المخزونة وأهمها المبيدات التي تتبع مجموعة المركبات الفوسفورية العضوية مثل: المالاثيون (malathion) وكلوربيرفوس(chlorpyrifos) والمبيدات البيرثروئيدية مثل دلتا مثرين (deltamethrin) وسايبرمثرين (cypermethrin) (Stathers وزملاؤه (2002) و Athanassiou وزملاؤه (2004)). أيضاً، من أهم العوامل الحيوية الفطريات المسببة لأمراض النبات والبكتريا والفيروسات وهي تسبب خسائر اقتصادية للنباتات وتدمر ملايين الأطنان من الإنتاج الزراعي قبل وبعد الجني سنوياً (Oerke،2006). وتعد أهم الكائنات الحية الدقيقة ضرراً الفطريات التي تسبب ضرراً بالغا للنباتات (Von Broembsen،1989 و Fletcher وزملاؤه،2010). وتسبب خسائر في فقد المحصول من 40– 60% مما تسببه الكائنات الحية الدقيقة، وتتضمن هذه الخسائر الفقد في الإنتاج قبل وبعد الجني (Bau وزملاؤه، 2003). من بين 1.5 مليون نوع فطر يتواجد على سطح الأرض 15000 نوع فطري فقط ممرض للنبات. وتتبع الفطريات الأسكية والبازيدية والناقصة (Aiyere،2004). وتوجد العديد من الطرق في مكافحة الفطريات الممرضة للنبات فيزيائية وكيميائية وحيوية (Patel وزملاؤه، 2014). ومن الطرائق الهامة استخدام المبيدات الفطرية الصنعية (Larrañaga وزملاؤه،2012). واستخدام المبيدات الفطرية يخفض ضرر الآفات الزراعية ويزيد إنتاجية المحاصيل الحقلية كماً ونوعيً عالمياً، إلا أنّ استخدام المبيدات الكيميائية له أضرر على البيئة وسمية للإنسان والكائنات الحية غير المستهدفة وظهور المقاومة للآفات وقد يسبب سمية نباتية لبعض النباتات المعاملة ((Horrigan وزملاؤه، 2002 و Al-Samarrai وزملاؤه، 2012). لذلك بدأ الكثير من الباحثين استخدام الزيوت الطيارة والمستخلصات

النباتية الناتجة عن النباتات العطرية في مكافحة آفات المخازن (Huang *et al*., 2000؛ Khalequzzaman و Mahfuz، 2007؛ Haghtalab *et al*., 2009).

واعتبرت منظمة سلامة الدواء والغذاء الأمريكية (FDA) الزيوت الطيارة بدائل آمنة كمبيدات حيوية في مكافحة الآفات مقارنةً بالمبيدات الكيميائية التي تسبب أضرار لطبقة الأوزون والسمية للمستهلكين والعاملين بالقطاع الزراعي والسمية للكائنات غير المستهدفة (Regnault-Roger, 2012). وتعد الزيوت الطيارة النباتية والمستخلصات التي تحتوي مركبات فعالة ناتجة عن التمثيل الغذائي للنباتات (Prabuseenivasan وزملاؤه، 2006). ويمكن أن تؤخذ من أي أجزاء للنبات مثل الأوراق (الريحان والأزدرخت) والثمار (الحمضيات) والجذور (الزنجبيل) والبذور (الكراوية) والخشب (زيت السيدر) ((Burt، 2004 و Hussain وزملاؤه، 2008 و Chi ، 2013). والزيوت الطيارة تحتوي خليط من المركبات مثل التربينات الأحادية والثنائية والكحولات والفينولات. ومن بين أهم تلك المركبات التربينات التي لها فاعلية تضادية للفطريات والبكتريا والحشرات والنيماتودا ((Centeno وزملاؤه، 2010 و Silva وزملاؤه، 2012 و Pooja وزملاؤه ، 2013 والناصر والبشير، 2018 الناصر وعزالدين، 2017 وحسن وزملاؤه،، 2016)

هدفت الدراسة:

التحليل الكيميائي للزيت الطيار للقطيفة (*T. patula*)،دراسة الآثر البخاري للزيت الطيار على خنفساء اللوبياء الجنوبية وفراشة الطحين المتوسطية.

وتقيم كفاءة المستخلص الميثانولي في تثبيط نمو بعض الفطريات الممرضة للنباتات في الوسط المغذي.

مواد البحث وطرائقه:

تمت الدراسة في مخابر قسم وقاية النبات – ومركز المكافحة الحيوية، كلية الزراعة في جامعة دمشق للعام 2017– 2018.

جمع النباتات

تم جمع الأجزاء الهوائية (أوراق و أزهار والساق) لنباتات القطيفة من حدائق دمشق في شهر 9 لعام 2017، ونقلت إلى مخبر أبحاث المبيدات في كلية الزراعة جامعة دمشق، سورية.

الحصول على الزيت الطيار:

استخدمت طريقة الجرف بالبخار (Clevenger،1928) باستخدام جهاز التقطير Clevenger,s apparatus. قطعت الأجزاء النباتية إلى قطع صغيرة وتم تجفيفها بالظل لمدة 10 أيام تم وزن 100 غ ووضعت في حوجلة 1 ليتر لجهاز التقطير وتمت عملية التقطير لمدة 4 ساعات. تم سحب الزيت كمياً باستخدام سيرنج دقيق وتم التخلص من الماء باستخدام كبريتات الصوديوم اللامائية (Na2SO4). وزن الزيت لمعرفة الناتج وخزن في أنبوبة زجاجية بنية على درجة –20 لحين الاستخدام.

تحضير المستخلص الميثانولي:

وُزن 50 غرام من العينة النباتية المطحونة ووضعت في زجاجة جهاز السوكسوليت (Soxhlet extractor) وأُضيف لها 250 مل من الميثانول عالي النقاوة. شُغل السخان على درجة حرارة 30–35 درجة مئوية. وتُركت العينة 3 ساعات. نُقل ناتج الاستخلاص كمياً إلى حوجلة المبخر الدوراني لتبخير المذيب العضوي منه على درجة حرارة (45– 50 م°) حتى الوصول إلى محلول مركز (10 مل) ونُقلَ إلى زجاجة بنية اللون حافظة، وحُفظ في البراد لحين استخدامه على درجة 4^oC.

الفطريات المختبرة :

تم الحصول على عزلات نقية من فطريات *Fusarium oxysporum* و *Aspergillus flavus* و *Pencillum digitatum* و *Botrytis cinerea* من مخابر قسم وقاية النبات كلية الزراعة. تم تأكيد تعريفها من الصفات المرفولوجية واستخدام مفتاح التصنيف (Leslie و Summerell، 2006 و Klich، 2002و Pitt وزملاؤه1997 و Barnett and Hunter،1987)

- **تحليل الزيت الطيار باستخدام جهاز الكروماتوغرافي الغازي الملحق بوحدة الكتلة (GC-MS):**

تم تحليل الزيت الطيار للقطيفة بواسطة جهاز الكروماتوغرافي الغازي ملحق بوحدة مطياف الكتلة ((GC-agilent 7986, indictor: inert-MS)) في هيئة الطاقة الذرية بدمشق – سورية. الجهاز مزود بعامود شعري (5SM) طول 30 متر وقطر 0.25 مم وسماكة الطور السائل 0.25 ميكروميتر. درجات الحرارة للحاقن والكاشف 250س^{o}. درجة حرارة الفرن تدرجت من 60 حتى 250 س^{o} بمعدل ارتفاع 2.5 درجة / الدقيقة. تم تعريف المركبات بالاعتماد على وقت الانحباس ومقارنتها بالبيانات المرجعية والمكتبة الملحقة بالجهاز.

- **اختبار الآثر البخاري للزيت الطيار للقطيفة في الفراشات حديثة الانبثاق لفراشة الطحين المتوسطية (E. kuehniella):**

- **تحضير الحشرات:**

تم الحصول على فراشات حديثة الانبثاق (0–24 ساعة) (لها نفس الحجم والحيوية دون تحديد الجنس) لحشرة فراشة الطحين من مركز المكافحة الحيوية في جامعة دمشق. وضعت في صناديق تربية بلاستيكية خاصة وتم تغذيت الفراشات على محلول سكري. لتقويم فاعلية الزيت الطيار كمدخن على الفراشات حديثة الانبثاق (0–1يوم). حُضرت مرطبانات بحجم 1لتر مزودة بأغطية محكمة الإغلاق. وضع قليل من السميد بداخلها لتغذية اليرقات. وضع

بكل مرطبان عشرة فراشات حديثة الانبثاق (دون تحديد الجنس). جهزت أوراق ترشيح مربعة (2.5 سم ×2.5 سم) وتم لصقها بأسفل غطاء المرطبان. وضع على أوراق الترشيح الزيوت المختبرة باستخدام ميكروبيبيت دقيق بحيث نحصل على التراكيز التالية: 5 و10 و15 و20 و25 و30 و35 و40 و45 و50 ميكرو ليتر/ ليتر هواء. واستخدم الماء كشاهد. بمعدل ثلاثة (مرطبانات) مكررات. أُغلقت المرطبانات بإحكام ووضعت في ظروف المخبر. وتم عدد الفراشات الحية والميتة بعد12 و24 و48 ساعة من التعرض لبخار الزيت (اعتبرت الفراشات ميتة عند عدم وجود أي حركة للأرجل أو قرون الاستشعار).

- **خنفساء اللوبياء .C. maculatus Fab:**

تهيئة وتجهيز المستعمرة الحشرية مخبرياً:

تمَّ إحضار عينات بذور حمص مصابة بحشرة خنفساء اللوبياء .*C. maculatus* Fab من مخازن مصابة بهذه الآفة وتم تصنيفها في مركز المكافحة الحيوية بكلية الزراعة بجامعة دمشق، اعتماداً على الشكل الظاهري للحشرة المتميز باللون البني المحمر إلى البني الفاتح مع وجود أربع بقع غامقة سوداء على الصدر الأمامي والظهر ويغطي الجسم زغب لونه أصفر وأبيض، وتتميز قرون الاستشعار بشكلها المنشاري (Utida, 1953). جرى تربية الحشرات تحت ظروف المخبر على بذور حُمص في أوعية بلاستيكية سعة 1 ليتر معقمة بالإيثانول 70% أُعِّدتْ مسبقا لهذا الغرض. حيث وضعت عينات من بذور الحمص المصابة مع أخرى سليمة (عُقمت على درجة حرارة 50 س^{o} لمدة ساعتين لتأكد من خلوها من الإصابة) في الأوعية البلاستيكية وتم تغطيتها بشاش الموسلين وربط برباط مطاطي. حُضنت في حاضنة عند درجة حرارة 27 ± 2^{o}س ورطوبة نسبية 65%. جمعت الخنافس الخارجة حديثاً ووضعت في أوعية زجاجية جديدة بداخلها بذور حمص سليمة من أجل توسيع التربية لحشرة خنفساء اللوبياء.

-اختبار الأثر البخاري للزيت الطيار المختبر في بالغات خنفساء اللوبياء (*C. maculates*):

تمت التجربة في أوعية بلاستيكية سعة ليتر وضع فيها 25 غرام من بذور الحمص الخالية من الإصابة (عوملت بدرجة حرارة 50 ^{o}C لمدة ساعتين لتأكد من خلوها من الإصابة). ووضع فيها أيضا 10 حشرة من بالغات خنفساء اللوبياء (3-2 يوم).

جهزت أوراق ترشيح مربعة (2.5 سم ×2.5 سم) وثبت في غطاء الأوعية البلاستيكية .وضع على أوراق الترشيح الزيوت المختبرة باستخدام ميكروبيبيت دقيق بحيث نحصل على التراكيز السابقة. نُفذت كل المعاملات بثلاثة (مرطبانات) مكررات. إضافة لوجود ثلاثة أوعية تمثل الشاهد لم تعامل بالزيوت الطيارة أو المبيد أُغلقت المرطبانات بإحكام ووضعت في ظروف المخبر. أخذت القراءات بعد 12 و24 و48 ساعة من التعرض لبخار الزيت الطيار. حيث تم عد الحشرات الميتة والحشرات الحية في المعاملات والشاهد. وتعد الحشرة ميتة عند عدم تحريكها الأرجل أو قرون الاستشعار.

تم حساب الفاعلية باستخدام معادلة آبوت المصححة (1925). تم رسم خطوط السمية وحساب التركيز النصفي القاتل (LC_{50}) باعتماد رسوم خطوط السمية : وحسبت النسبة المئوية للموت وصُححت نسبة الموت مقارنة بالشاهد، وفقاً لمعادلة Abbot 1925 المصححة.

$$\text{النسبة المئوية للموت المصححة} = \frac{\text{\% لموت الخنافس (الفراشات) في المعاملة} - \text{\% لموت الخنافس (الفراشات) في الشاهد}}{100 - \text{\% لموت الخنافس (الفراشات) في الشاهد}} \times 100$$

اختبار سمية المستخلص الميثانولي على الفطريات المختبرة:

تم اختبار تأثير المستخلص الميثانولي للقطيفة في تثبيط نمو الميسيليوم لكل من الفطريات المختبرة بطريقة تسميم البيئة The Poison Food Technique [Dhingra and Sinclair, 1995] بالتراكيز التالية بعد إجراء تجارب أولية تمهيدية لتحديد مجال الفاعلية: 0 (شاهد)، 50، 100، 150، 200 ،250 ، 500 ، 750، 1000 ميكروليتر/100 مل وسط مغذي. تم تحضير دوارق سعة 200 مل ووضع فيها 100 مل بيئة بطاطا دكستروز أجار وتم تعقيمها في الاوتوكلاف. تم إضافة الكمية المناسبة من المستخلص إلى بيئة PDA عند درجة حرارة 50 س^{o} بعد عملية التعقيم لإعطاء التركيز المناسب وتم إضافة 0.04% توين 20 للمساعدة على الاستحلاب عند الاستخدام. صبت البيئة المعاملة في أطباق بتري معقمة وتركت حتى تتصلب. وبعد ذلك تم عدوى الأطباق بالفطر المدروس وذلك بوضع قرص 5 ملم من ميسليوم، وبمعدل ثلاثة أطباق لكل تركيز (مكررات)، وحضنت الأطباق على درجة حرارة 24 ± 2 س^{o} لمدة 7 أيام. تم قياس المستعمرات وذلك بقياس قطرين للمستعمرة متعامدين وأُخذ المتوسط. استخرجت نسبة تثبيط نمو الميسليوم وفقاً للمعادلة التالية:

$$\%\ \text{لتثبيط نمو الميسليوم} = \frac{\text{قطر المستعمرة في الشاهد} - \text{قطر المستعمرة في المعاملة}}{\text{قطر المستعمرة في الشاهد}} \times 100$$

تم حساب قيمة تركيز المبيد الفطري المسبب لتثبيط 50% من نمو الميسليوم لكل فطر (ED_{50})عن طريق رسم خطوط السمية التي تربط العلاقة بين التركيز ونسبة التثبيط وفقاً لطريقة رسم منحنى السمية.

التحليل الإحصائي:

تم استخدام التصميم العشوائي الكامل، وتم تحليل البيانات باستخدام برنامج SPSS. 20 حيث تم حساب قيم أقل فرق معنوي عند مستوى 1% ($L.S.D_{0.01}$).

النتائج والمناقشة:

-تحليل الزيت الطيار لنبات القطيفة (*T. patula*):

تظهر نتائج التقطير (الجدول1) أنّ نسبة الزيت الطيار المتحصل عليها من الأجزاء الهوائية لنباتات القطيفة في مرحلة الإزهار 0.45 % (وزن /حجم) وكثافته 0.893. وتتوافق هذه النتائج مع ذكر Saha وزملاؤه (2012) بأن نسبة الزيت 0.3 -0.4 % و0.2 -0.3% من الأوراق والأزهار لنبات*Tagetes minuta* على الترتيب. في حين ذكر Kafaltiya1 وزملاءه (2019) أنّ نسبة الزيت من نباتات القطيفة (*T. patula*) قبل الإزهار وعند قمة الإزهار ومرحلة تشكل البذور كانت 0.06 و0.06 و0.08%(وزن /حجم) على الترتيب. تم تحديد وتعريف 16 مركباً عند التحليل باستخدام جهاز GC-MS وتمثل نسبة 86.29% من المكونات الكلية للزيت الطيار. وأهم المركبات الموجودة كانت هي limonene (7.52%) و(Z)-(3-ocimene (5.25%) وterpinolene (9.23%) وp-cymen-8-ol (3.56%) وpiperitone (13.82%) وpiperitenone (13.82%) وβ-caryophyllene (11.89%) وCaryophyllene oxide (8.87%) و Palmatic acid (4.33%) و Phytol (6.23%) وNeophytadienen(9.65%) وتتوافق هذه النتائج مع Vidya وزملاؤه (2005) بأنّ أهم مركبات القطيفة الفرنسية من أوراق النبات في الهند هي Limonene و (Z)-β-Piperitone وTerpinolene وp-Cymen-8-ol . وبين Ibrahim وزملاؤه (2006) أنّ أهم المركبات في الزيت الطيار لأزهار وأوراق القطيفة (*T. patula*) هي:ocimene (10.7%)

linalyl acetate (17.4%) وlimonene (22.9%) وLinalool (26.8%). وذكر Rondón وزملاؤه (2006) وجود المركبات التالية في الزيت الطيار لنبات القطيفة (*T. patula*) وهي Limonene (7.78%) وCis-β-Ocymene(14.83%) وLinalool (0.73%) وPiperitone (33.77%) وβ−Caryophyllene (9.56%). وذكر Prakash وزملاؤه (2012) وجود مركبات هامة في الزيت الأساسي لنبات القطيفة (*T. patula*) وهي: α− -terpinene وLimonene و1,8-Cineole وLinalool وP-Cymen-8-ol وPiperitone. وذكر العديد من الباحثين المركب 5-(4-acetoxy-l-butynyl)-2,2′-bithiophene في نباتات *T. patula* (Menelaou وزملاؤه، 1991 وBano وزملاؤه، 2002). كما ذكرت الحسن (2016) بأنّ أهم المركبات المعرفة في مستخلص نبات القطيفة الجافة الكحولي هي: limonene وlinalool وP-Cyamen-8-ol وpiperitone. ذكر Kumar وزملاؤه (2000) وجود مركب pentadecanal في مستخلص نبات القطيفة (*T. minuta*) . وذكر Christine وزملاؤه (2015) وجود مركب Neophytadiene في مستخلصات نبات القطيفة (*Tagetes minuta*). ذكر Rezaei وزملاؤه (2018) وجود مركبات Neophytadiene 2.94 % والحموض الدهنية حمض النخيل 30.74% وحمض الأوليك0.01% واللينوليك 5.75% في زيت الطيار للنبات القطيفة (*T. minuta*). وذكر Kafaltiya وزملاءه (2019) أنّ أهم المركبات في الزيت الطيار للقطيفة هي Z-(β)-ocimene وα-Terpinolene وpiperitenone وp-Cymene وLimonene وCaryophyllene oxide.و Phytol .

أخيراً، يمكن تفسير الفروق بين ما توصلنا إليه من نتائج عن نسبة الزيت ونسبة المكونات الرئيسية في الزيوت الطيارة لنبات القطيفة وما أشارة إليه نتائج الدراسات الأخرى إلى اختلاف الطراز النباتي، والجزء النباتي المستخلص منه، والفصل من السنة عند أخذ العينات (درجات الحرارة، الفترة الضوئية، ونسبة الأمطار والارتفاع عن مستوى سطح البحر، وموعد

وطرق الحصاد، والمنطقة الجغرافية وطريقة استخلاص الزيت من الأنسجة النباتية وطبيعة العينة جافة أم طازجة. لذلك تظهر تغيرات في التركيب الكيميائي للزيت الطيار من نفس النوع النباتي. وهذه المكونات بشكل عام تحدد النشاط الحيوي للزيت الطيار (Huiوزملاؤه، 2010، Stanojević وزملاؤه، 2011).

الجدول (1):التركيب الكيميائي للزيت الطيار للأجزاء الهوائية لنبات القطيفة (*T. patula*) باستخدام جهاز GC-MS

التسلسل	زمن الاحتباس/د	المركب	النسبة المئوية%
1	5.32	α -Pinene	0.41
2	7.4	Limonene	7.52
3	10.35	p-Cymene	0.31
4	12.35	(Z)- β -Ocimen	5.25
5	15.23	α-Terpinolene	9.23
6	22.36	Terpinen-4-ol	0.89
7	25.89	p-Cymen-8-ol	3.56
8	26.53	Linalool	1.23
9	28.35	Thymol	0.4
10	31.56	(Z)- β -Piperitone	13.87
11	34.56	trans-Caryophyllene	11.89
12	44.23	Caryophyllene oxide	8.87
13	52.32	Neophytadiene	9.65
14	55.23	Pentadecanal	2.65
15	57.26	Plamatic acid	4.33
16	63.15	Phytol	6.23
المجموع			86.29

- فاعلية الأثر البخاري للزيوت العطرية المدروسة على بالغات حشرات خنفســـاء اللوبياء والحشرات الكاملة لفراشة الطحين المتوسطية:

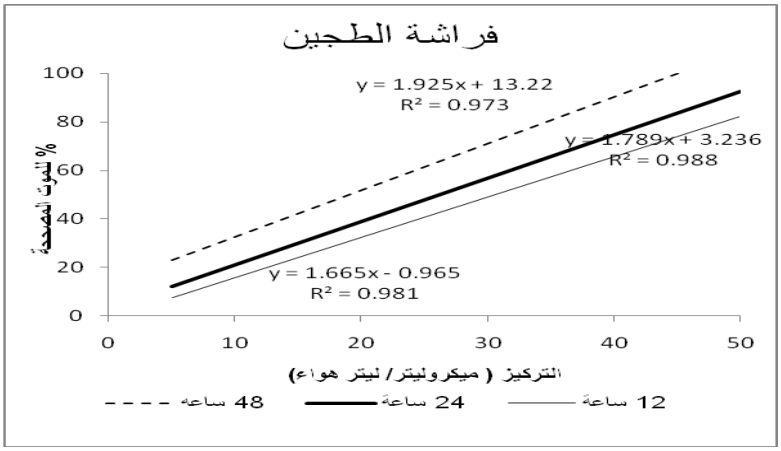
تظهر النتائج بالجدول 2 والشكلين 1 و2أن التبخير بالزيت الطيار لنبات القطيفة له فاعلية في قتل الحشرات البالغة لخنفساء اللوبياء الجنوبية وفراشة الطحين المتوسطية في الأوعية المحكمة الإغلاق، وهذه الفاعلية تزداد معنوياً بزيادة التركيز المستخدم وزمن التعرض. حيث بلغت نسبة الموت المصححة 12.45 و15.23 و22.31% (فراشة الطحين المتوسطية) و1.33 و3.26 و8.96% (خنفساء اللوبياء) عند أقل تركيز (5 ميكروليتر/ ليتر هواء) عند زمن تعرض 12 و24 و 48 ساعة على الترتيب. بالمقابل كانت نسبة الموت المصححة عند التركيز الأعظمي (50 ميكروليتر/ ليتر هواء)86.23 و96.25 و100% (لفراشة الطحين المتوسطية) و71.65 و82.79 و 100% (لخنفساء اللوبياء) عند زمن تعرض 12 و24 و 48 ساعة على الترتيب. من جهة أخرى أعطى الزيت الطيار لنبات القطيفة أثر بخاري قوي في قتل الحشرات الكاملة لفراشة الطحين المتوسطية وبفروق معنوية مقارنة مع بالغات خنفساء اللوبياء وذلك عند كل فترات التعرض. حيث بلغت قيم LC_{50} (27.37 و36.99 ميكروليتر/ ليتر هواء) عند 12 ساعة و(23.08 و30.10 ميكروليتر/ ليتر هواء) عند 24 ساعة و(15.06 و20.92 ميكروليتر/ ليتر هواء) عند 48 ساعة من التعرض، لكل من فراشة الطحين وخنفساء اللوبياء على الترتيب. تعود فاعلية زيت القطيفة لاحتوائه على نسب عالية من مركبات التربينات الأحادية (Limonene وp-Cymen-8-ol و-β-(Z)-Piperitone وtrans-Caryophyllene وCaryophyllene oxide وPhytol، جدول1). فقد أثبت Lee وزملاؤه (1999) فعالية عدد من المركبات التربينية الأحادية (monoterpenoids) في مكافحة الديدان ثاقبة الذرة الأوروبي (*Ostrinia nubilalis*). ووجد أن طريقة التأثير لزيوت النباتية الطيارة في هذه الحشرات يكون بالتأثير على مواقع عصبية، إذ وجد أن بعض التربينات الأحادية (إحدى أهم مكونات الزيوت النباتية الطيارة)

لها تأثير مثبط لعمل أنزيم كولين أستيراز في المخبر (Grundy and Still, 1985). ذكر Isman وزملاؤه (2011) أن بعض الزيوت النباتية الطيارة لها تأثير على الجهاز العصبي في الحشرات فهي تؤدي إلى اضطرابات في حركة الحشرة والرجفان والإرتخاء وضعف الحركة وبالتالي الخمود والموت. وتتوافق النتائج مع العديد من الباحثين فاعلية الزيوت الطيارة والمستخلصات القطيفة في مكافحة الحشرات Vasudevan وزملاؤه، 1997 و.Wang and Guo, 2004). وتتفق النتائج مع Ogungbite (2015) أن فاعلية تدخين حشرات خنفساء اللوبياء الجنوبية بمستخلصات نبات *Newbouldia laevis* كانت منخفضة. ووجد Pandey وزملاؤه (2014) أن الزيت الطيار للقطيفة (*Tagetes erecta*) له فاعلية في طرد حشرات خنفساء اللوبياء الجنوبية. وذكر Abdurrahman وزملاؤه (2010) أنّ الحشرات الناضجة لخنفساء الفول أكثر تحملاً للزيوت النباتية الطيارة لنبات المردقوش (*Origanum majorana*) والآس (*Myrtus communis*). وأعطت الزيوت النباتية الطيارة من المردقوش والزعتر أعلى فاعلية في مكافحة الحشرات الناضجة لكل من فراشة الطحين الهندية والمتوسطية وأعطت نسبة موت 100% بعد 24 ساعة من التعرض للتراكيز (9 و25 ميكروليتر/ ليتر هواء) على الترتيب. كما أشارا Abbasipour وزملاؤه (2011) إلى أن الزيت الطيار لنبات الهيل كان ساماً لحشرات خنفساء اللوبياء وفراشة الطحين المتوسطية. وكانت الحشرات الناضجة لفراشة الطحين أكثر حساسية من الخنافس التابعة لرتبة غمدية الأجنحة . وقد ازدادت نسب الموت بزيادة تركيز الزيت الطيار. وذكرت السيدة والناصر (2018) أنّ الزيت الطيار ومستخلص الكحولي لأوراق المردقوش له أثر بخاري على بالغات خنفساء اللوبياء الجنوبية.

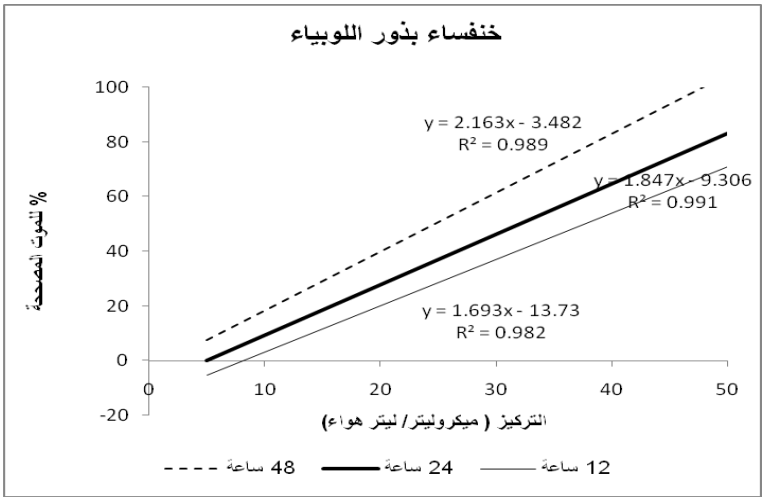
الجدول (2): فاعلية الأثر البخاري للزيت الطيار للقطيفة (*T. patula*) على بالغات حشرات خنفساء بذور اللوبياء والحشرات الكاملة لفراشة الطحين المتوسطية حديثة الإنبثاق:

التركيز	فراشة الطحين المتوسطية			خنفساء بذور اللوبياء		
ميكروليتر/ ليتر هواء	زمن التعرض بالساعات					
	12	24	48	12	24	48
	نسبة الموت المصححة %					
5	12.45	15.23	22.31	1.33	3.26	8.96
10	17.23	24.18	29.56	3.26	8.26	14.56
15	24.32	28.42	38.45	8.56	17.89	25.33
20	29.56	37.89	49.56	15.98	26.58	39.87
25	35.23	43.87	66.21	26.33	37.69	52.31
30	44.65	52.36	75.33	36.98	41.59	65.87
35	56.23	66.56	86.87	41.98	52.89	74.25
40	67.25	77.14	93.45	57.45	67.89	87.56
45	75.23	82.65	100	64.89	76.23	91.33
50	86.23	96.25	100	71.65	82.79	100
LC_{50}	27.37	23.08	15.06	36.99	30.10	20.92

نسبة الموت بالشاهد أقل من 5%..**L.S.D 0.01** بين التراكيز =5.87 و**L.S.D 0.01** بين الزمن =6.33



الشكل (1) : خطوط السمية للآثر البخاري لزيت الطيار القطيفة على فراشة الطحين المتوسطية



الشكل (2): خطوط السمية للآثر البخاري لزيت الطيار القطيفة على خنفساء اللوبياء الجنوبية

- تأثير المستخلص الميثانولي في تثبيط نمو الفطريات المختبرة في الوسط المغذي:

تظهر النتائج في الجدول 3 والشكل 3 أنّ المستخلص الميثانولي لنبات القطيفة أعطى فاعلية متباينة في تثبيط نمو الفطريات المختبرة، بحسب النوع الفطري وتركيز المستخلص. فقد زاد تأثير المستخلص الميتانولي بزيادة التركيز وبفروق معنوية بين التراكيز. حيث كانت نسب التثبيط عند التركيز 50 ميكروليتر/ 100 مل في الوسط المغذي كالتالي: 22.87 و34.95 و5.23 و43.21% لكل من الفطريات *A. flavos* و*B. cinerea* و*F. oxysporum* و*P. digitatum* على الترتيب. في حين بلغت نسبة التثبيط عند التركيز 1000 ميكروليتر/ 100 مل: 93.54 و100 و57.56 و100 للفطريات المختبرة على الترتيب. من جهة أخرى أعطى المستخلص الميتانولي للقطيفة فروق معنوية بين الفطريات. حيث أعطى أعلى فاعلية على الفطر *P. digitatum* تلاه في ذلك الفطر *B. cinerea* . ويمكن ترتيب تأثير المستخلص الميثانولي على الفطريات المختبرة وفقاً لقيم ED_{50} كالتالي : *F. oxysporum* < *A. flavos* < *B. cinerea* < *P. digitatum*. حيث كانت قيم ED_{50} =126.48 و 195.24 و 285.65 و925.38 ميكروليتر/ 100 مل على الترتيب. تعود فاعلية المستخلصات الميثانولية للقطيفة إلى غناها بالمركبات التربينية التي لها فاعلية في تخريب الجدر الخلوية للفطريات وتثبيط البروتوبلاسم(Cowan,1999). وتتوافق نتائجنا مع Saha وزملاؤه (2012) أن التركيز النصفي الفعال لزيت الطيار لأوراق القطيفة كان 110 و6975 و 3716 و 175 و165ميكروغرام / مل لكل من الفطريات *Sclerotium rolfsii* و*Fusarium oxysporum lentis* و*Fusarium oxysporum pisi* و *Sclerotinia sclerotiorum* و*Rhizoctonia solani* على الترتيب. وكان أكثر فاعلية على فطر *Sclerotium rolfsii* و أقل فاعلية على الفطر *Fusarium oxysporum lentis*. وجد Raman وزملاؤه (2012) أنّ مركب Neophytadiene مضاد أكسدة وبكتيري . وذكر

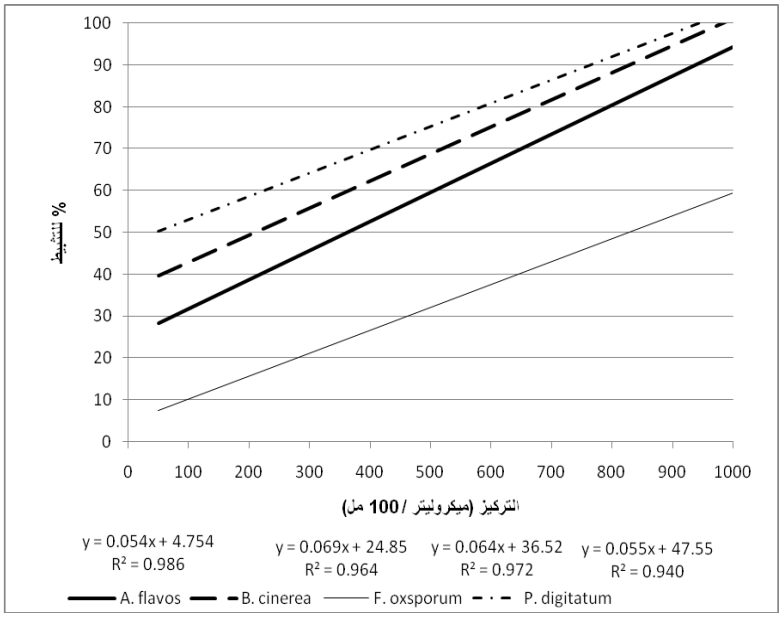
Gakuubi, وزملاؤه (2016) أن الزيت الطيار للقطيفة (*T. minuta*)أعطى فاعلية في تثبيط الفطريات *A. flavus* و*F. oxysporum* .

الجدول (3): النسبة المئوية لتثبيط نمو الفطريات المختبرة بتراكيز مختلفة من المستخلص الميثانولي للقطيفة (*T. patula*).

التركيز (ميكروليتر/ 100مل)	الفطريات المختبرة			
	A. flavos	*B. cinerea*	*F. oxysporum*	*P. digitatum*
	% للتثبيط نمو الميسليوم			
50	22.87	34.95	5.23	43.21
100	27.33	38.56	7.98	48.12
150	35.64	47.54	11.78	57.45
200	43.12	52.65	17.65	63.12
250	47.21	58.79	21.87	67.58
500	65.22	70.13	33.98	79.23
750	72.35	83.21	45.98	88.23
1000	93.54	100	57.56	100
ED_{50}	285.65	195.24	925.38	126.48

النسبة المئوية لتثبيط النمو بالشاهد 0%.

L.S.D (0.01) بين الفطريات = 6.65 و **L.S.D (0.01)** بين التراكيز = 4.87



الشكل (3): خطوط السمية للمستخلص الميثانولي للقطيفة (*T. patula*) على الفطريات المختبرة

الاستنتاجات:

- وجد أن الزيت الطيار للأجزاء الهوائية لنبات القطيفة غني بالمركبات التربينية.
- أعطى الزيت الطيار آثر بخاري وفاعلية عالية على الحشرات الكاملة لخنفساء اللوبياء الجنوبية وفراشة الطحين المتوسطية، وكان أكثر فاعلية على فراشة الطحين المتوسطية.
- وجد أنّ المستخلص الميثانولي للأجزاء الهوائية القطيفة له فاعلية في تثبيط نمو الفطريات الممرضة للنبات وكان أكثر فاعلية على كل من الفطرين *B. cinerea* و *P. digitatum*.

التوصيات:

- دراسة فاعلية الزيت الطيار والمستخلص الميثانولي للقطيفة على آفات المخازن (الحشرية والفطرية) بالمخزن.
- إمكانية الحصول على المركبات التربينية وتشكيل مستحضرات تجارية منها.

المراجع References:

1. حسن ، أسماء. 2016. مقارنة تأثير التركيب الكيميائي للمواد الفعالة لبعض المستخلصات النباتية مع مبيدات الآفات في إدارة نيماتودا السوق والأبصال على الثوم . رسالة دكتوراه جامعة دمشق، سورية.
2. السيدة، هيفاء وزكريا الناصر. 2018. تأثير بعض الزيوت الطيارة والمستخلصات النباتية في بالغات خنفساء اللوبياء (*Callosobruchus maculates* Fab.) على الحمص في المخبر. مقبول للنشر في مجلة العلوم الزراعية في جامعة دمشق.
3. الناصر ،زكريا وعبد النبي بشير.2018 التركيب الكيميائي والتضاد الفطري للمستخلص الميثانولي لأوراق نبات اللانتانا (*Lantana camera* L.) تجاه بعض الفطريات. مقبول للنشر في مجلة العلوم الزراعية في جامعة دمشق.
4. الناصر، زكريا ودعاس عز الدين . 2016. تأثير الزيوت الطيار لبعض نباتات الفصيلة الشفوية كمانعات تغذية و موت يرقات العمر الثالث لفراشة أبو دقيق الملفوف في المخبر. المجلة العربية للبيئات الجافة (أكساد).
5. Abbasipour, H., Mahmoudvand, M., Rastegar, F., Hosseinpour, M.H. 2011. Fumigant toxicity and oviposition deterrency of the essential oil from cardamom, Elettaria cardamomum, against three stored–product insects. Journal of Insect Science. 11:165. available online: insectscience.org.
6. Abbott, W.S.A.,1925 A method of computing the effectiveness of an insecticide. Journal of Economic Entomology, 18: 265–267.
7. Abdurrahman, A, Sagdic,O., Karaborklu,S. and Ozturk, I. 2010. Insecticidal activity of the essential oils from different plants against three stored-product insects. Journal of Insect Science, Vol. 10, P. 1-13.

8. Aiyere, T. 2004. Molecular characterization of isolates of *Colletotrichum gloeosporioides* from tropical crops and virulence factors of the fungus. MSc. Thesis, London University, United Kingdom.
9. Al-Samarrai, G, Singh H, Syarhabil M. 2012. Evaluating ecofriendly botanicals (natural plant extracts) as alternatives to synthetic fungicides. Annals of Agricultural and Environmental Medicine. 19(4):673-676.
10. Athanassiou, C. G, A. S. Papagregorioub, C. Buchelos. 2004. Insecticidal and residual effect of three pyrethroids against *Sitophilus oryzae* (L.) (*Coleoptera:Curculionidae*) on stored wheat. J Stored Prod Res. 40: 289-297.
11. Bano, H, Ahmed SW, Azhar I, Ali MS, Alam N, 2002. Chemical constituents of Tagetes patula L. Pak J Pharm Sci 15(2): 1-12.
12. Barnett, H. L. and B. Hunter. 1987. Illustrated Genera of Imperfect Fungi. Fourth Edition. New York.
13. Bau, H. J, Cheng Y, Yu TA, Yang, J.S, S.D. Yeh. 2003. Broadspectrum resistance to different geographic strains of Papaya ringspot virus in coat protein gene transgenic papaya. Phytopathology. 93(1):112-120.
14. Burt S. 2004. Essential oils: their antimicrobial properties and potential application in foods: a review. International Journal of Food Microbiology; 94(3): 223-253.
15. Centeno, S, Calvo, M. A, C. Adelantado. S. Figueroa. 2010. Antifungal activity of *Rosmarinus officinalis* and *Thymus vulgaris* against *Aspergillus flavus* and *A. ochraceus*. Pakistan Journal of Biological Sciences.13(9):452-455.
16. Chi, PT. 2013. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of essential oils extracted from citrus varieties in Vietnam. M.Sc Thesis, Vietnam National University, Vietnam.
17. Christine,K. Isaiah Ndiege Omolo1, John David Kabasa2, Christine Betty Nagawa3, John Wasswa4 and Cliff Richard Kikawa. 2015. Evaluation of anti-oxidant properties in essential oil

and solvent extracts from *Tagetes minuta*. African Journal of Pure and Applied Chemistry . Vol. 9(5), pp. 98-104,

18. Clevenger, J. F.1928. Apparatus for the determination of volatile oil. Journal of the American Pharmaceutical Association. 17(4):345-349.
19. Cowan, M.M., 1999. Plant products as antimicrobial agents. Clin. Microbiol. Rev. 12(4), 564-582.
20. Dhingra, O. D and J. B. Sinclair, 1995. Soil Microorganisms: In Basic Plant Pathology Methods, Chapter 6. Second Edition. Boca Raton, Florida, 217-266.
21. Epidi, T.T., C.D. Nwani, and S. Udoh. 2008. Efficacy of some plant species for the control of cowpea weevil (*Callosobruchus maculatus*) and maize weevil (*Sitophilus zeamais*). International Journal of Agricultural Biology 10:588-590.
22. Falp,L. V. Vieira and J. Tavares, 1995. Some reproduction aspects of *Ephestia kuehniella*Zeller (Lepidoptera, Pyralidae) under mass rearing conditions, Avances En Entomología Ibérica, P. 367-374.
23. FAO, 2012. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Prevention of food losses: fruit, vegetable and root crops: A training manual. Rome: FAO.
24. Farshid, R., R. Jamei and R. Heidari. 2018. Evaluation of Volatile Profile, Fatty Acids Composition and in vitro Bioactivity of *Tagetes minuta* Growing Wild in Northern Iran. Adv Pharm Bull, , 8(1), 115-121
25. Fletcher, J, Luster. D, Bostock R, Burans J, Caldwell K, Gottwald T, McDaniel L, Royer M, Smith K. Emerging Infectious Plant Diseases, In: Scheld WM (Ed.), Emerging Infections 9. ASM Press, Washington DC. 2010, 338-340.
26. Gakuubi, M.M., J. M Wagacha, Saifuddin F Dossaji and Wycliffe Wanzala. 2016. Chemical composition and antifungal activity of essential oils of *Tagetes minuta* (Asteraceae) against selected phytopathogenic fungi. American Journal of Essential Oils and Natural Products 2016; 4(3): 16-26.

27. Grundy, D.L., Still, C.C., 1985. Inhibition of acetylcholinesterases by pulegone-1,2-epoxide. Pestic. Biochem. Physiol., Vol. 23, 383-388.
28. Haghtalab, N, N. Shayesteh, and S. Aramideh . 2009. Insecticidal efficacy of castor and hazelnut oils in stored cowpea against *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae). Journal of Biological Sciences, 9(2):175-179
29. Hethelyi, E. B. Danos, P. Tetenyi and I. Koczka .1986. GC-MS analysis of the essential oils of four *Tagetes* species and the anti-microbial activity of *Tagetes* minuta. Flavour Frag J. 1:p.169–173.
30. Horrigan, L, Lawrence RS, Walker P. 2002. How sustainable agriculture can address the environmental and human health harms of industrial agriculture. Environmental Health Perspectives; 110(5):445-456.
31. Huang , Y.; S . L. Lam and S . H . Ho. 2000. Bio-activities of essential oil from *Elletaria cardamomum* (L.) Maton. to *Sitophilus zeamais* Motschulsky and *Tribolium castaneum (*Herbst). J. stored Prod. Res.36 (2): 107-117.
32. Hudson, J.B. and G. H. N. Towers. 1991. Therapeutic potential of plant photosensitizers. Pharmacol Ther 49: p.181–222.
33. Hui, L., He, L.,Huan, L., XiaoLan, L. and Z. AiGuo. 2010. Chemical composition of lavender essential oil and its antioxidant activity and inhibition against rhinitisrelated bacteria. African Journal of Microbiology Research. Vol. 4, 309-313.
34. Hussain, AI, Anwar F, Sherazi ST, and R. Przybylski. 2008. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depends on seasonal variations. Food Chemistry; 108(3):986-995.
35. Ibrahim, S. K., A. F. Traboulsi and S. El-Haj. 2006. Effect of essential oils and plant extracts on hatching, migration and mortality of *Meloidogyne incogn*. Faculty of Agricultural Sciences, Lebanese University, Beirut, Lebanon. Phytopathol. Mediterr. 45,p. 238–246

36. ICIPE, (International Centre of Insect Physiology and Ecology) (1997). *Vision and strategic framework towards 2020*. Nairobi: ICIPE Science Press.
37. Imms, A. D. (1964). *Outlines of entomology* (5th ed., p. 224). London: Methuen.
38. Isman, M.B, Miresmailli, S. and Machial, C., 2011. Commercial opportunities for pesticides based on plant essential oils in agriculture, industry and consumer products. Phytochem. Rev., Vol. 10, P. 197-204.
39. Kafaltiya, M. , H. Lohani, S. Z. Haider, N. K. Chauhan, N. Joshi. 2019. Chemical composition of the essential oils of *Tagetes patula* L. during different phenological stages. Journal of Chemical and Pharmaceutical Sciences. Volume 12 Issue 4. 117-122.
40. Klich, M. 2002. Identification of common Aspergillus species. ASM Press, Washington, DC,, 116.
41. Kumar, A., V. Florence. J. Matthew. I. Broughton, and S. Sriharan.2000. Effect of root extracts of mexican Marigold, *Tagetes minuta* (Asterales: Asteraceae), on Six Nontarget Aquatic Macroinvertebrates. Environ. Entomol. 29(2): 140-149 .
42. Larrañaga, P, Díaz-Dellavalle P, Cabrera A, Alem D, Leoni C, Souza. 2012. Activity of naturally derived antimicrobial peptides against filamentous fungi relevant for agriculture. Sustainable Agriculture Research. 2012;
43. Lawrence, B .M. 1985. Essential oils of the *Tagetes* genus, Perf. and Flav. 10: p. 73-82 .
44. Lee, S., Tsao, R., Coats, J.R., 1999. Infuence of dietary applied monoterpenes and derivatives on survival and growth of the *European corn borer* (Lepidoptera: Pyralidae). J. Econ. Entomol., Vol. 92, P. 56-67.
45. Leslie, J.F and B.A. Summerell. 2006. The *Fusarium* laboratory manual. Blackwell Publishing Ltd, Ames, Iowa. 274.
46. Lin, L, 2009. Studies on the effective component for antitussive from *Tagetes erecta* L. Heilongjiang University of Chinese Medicine: Harbin.

47. Mahfuz, I . and M . Khalequzzaman. 2007. Contact and fumigant toxicity of essential oils against *Callosobruchus maculatus*. Univ. j. zool. Rajshahi Univ. (26):63-66.
48. Malek, M. and B. Parveen. 1989. Effect of insects infestation on the weight loss and viability of stored BE paddy. Bangladesh Journal of Zoology, 17(1), 83–85.
49. Menelaou, M.A, F. R. Fronczek, M. A. Hjortso, A. F. Morrison, M. Foroozesh,T. M. Thibodeaux, H. E. Flores,N. H. Fischer. 1991. NMR spectral data of benzofurans and bithiophenes from hairy root cultures of *Tagetes patula* and the molecular-structure of isoeuparin. Spectrosc Lett 24(10): 1405-1413.
50. Oerke, EC. 2006. Crop losses to pests. Journal of Agricultural Science. 144(1):31-43.
51. Ogungbite, O. C. 2015. Entomopoison Efficacy of Fume of Different Parts of *Newbouldia Laevis* against *Callosobruchus Maculatus* in Storage. International Journal of Research Studies in Microbiology and Biotechnology (IJRSMB) Vo. 1, (1) 6-14.
52. Pandey A.K., Uma T. Palni and N. N. Tripathi. 2014. Repellent activity of some essential oils against two stored product beetles *Callosobruchus chinensis* L. and *C. maculates* F. (Coleoptera: Bruchidae) with reference to *Chenopodium ambrosioides* L. oil for the safety of pigeon pea seeds. J Food Sci Technol (December 2014) 51(12):4066–4071.
53. Patel, N, Desai P, Patel N, Jha A, Gautam HK. Agronanotechnology for plant fungal disease management: A review. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences. 2014; 3(10):71-84.
54. Perich, M., Wells, C. Bertsch, W. and Tredway, K. 1995. Isolation of the insecticidal components of *Tagetes minuta* (Compositae) against mosquito larvae and adults. Journal of American Mosquito Control Associate. 11: p.307-310.
55. Pimentel, D. Pest management in agriculture. In D. Pimentel (ed.), Techniques for reducing pesticide use: environmental and economic benefits. John Wiley & Sons, Chichester, 1997, 1-11.

56. Pitt, J.I and A. D. Hocking. 1997. Fungi and Food Spoilage. Blackie Academic & Professional, London., 19-143.
57. Pooja, G., and S. Kumari, S. N. Dikshit.2012. Response of African marigold (*Tagetes erecta* L.) to integrated nutrient management. Annals of Biology, 28(1): 66-67.
58. Prabuseenivasan, S, M. Jayakumar and S. Ignacimuthu.2006. *In vitro* antibacterial activity of some plant essential oils. BMC Complementary and Alternative Medicine.; 6:39.
59. Prakash, O., Rout, P.K., Chanotiya, C.S., Misra, L.N., 2012. Composition of essential oil, concrete, absolute and SPME analysis of *Tagetes patula capitula*. Ind. Crops Prod. 37, p.195-199.
60. Raman B. V., La S., M. P. Saradhi, B. N. Rao, A. Khrisna, M. Sudhakar, T. Radhakrishnan. 2012. Antibacterial, Antioixidant activity and GC-MS analysis of Eupatorium odoratum. Asian J. Pharm. Clin. Res., 5 (2), 99-106.
61. Regnault-Roger, C., C. Vincent and J. T. Arnason. 2012. Essential oils in insect control: Low-risk products in a high-stakes world. Annual Review of Entomology, 57, 405–424.
62. Rezaei, F., R. Jamei, R. Heidari. 2018. Evaluation of Volatile Profile, Fatty Acids Composition and in vitro Bioactivity of *Tagetes minuta* Growing Wild in Northern Iran. Adv Pharm Bull. 8(1), 115-121
63. Rondón, M., J. Velasco, J. Hernández, M. Pecheneda, J. Rojas, A. Morales, J. Carmona, T. Díaz. 2006. Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil of *Tagetes Patula* L. (Asteraceae) collected from the venezuela andes . Rev. Latinoamer. Quím. 34/1-3 .
64. Saha S., S. Walia, A. Kundu, B. Kumar, D. Joshi. 2012. Antifungal acetylinic thiophenes from tagetes minuta: potential biopesticide. J. Appl. Bot. Food Qual. 85 207–211.
65. Santos, P. C., V. H. M. Santos, A. R. Andrade, P. A. Fegueiredo,V. M. O. Moraes, and R. M. G. Silva. 2016. Insecticidal activity of *Tagetes* sp. on *Sitophilus zeamais* Mots. International Journal of Environmental and Agriculture Research, 2(4), 31–38.

66. Sharma, S.S. 1984. Review of literature of the losses caused by *Callosobruchus species* (Bruchidae: Coleoptera) during storage of pulses. Bull. Grain Tech. 22(1): 62-68.
67. Silva, FC, C. M. Chalfoun, V. M. Siqueira, D.M. Botelho, N. Lima and L. R. 2012. Batista LR. Evaluation of antifungal activity of essential oils against potentially mycotoxigenic *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus*. Brazilian Journal of Pharmacognosy. 22(5):1002-1010.
68. Stanojević, L., M. Stanković, M. Cakić, V. Nikolić, L. Nikolić, D. Ilić and N. Radulović, 2011. The effect of hydrodistillation techniques on yield, kinetics, composition and antimicrobial activity of essential oils from flowers of *Lavandula officinalis*L. *Hem. Ind.*, 65: 455–463
69. Stathers, T. E, J. Chigariror, M. Mudiwa, B. M. Mvumi and P. Golob. 2002. Small-scale farmer perceptions of diatomaceous earth products as potential stored grain protectants in Zimbabwe. Crop Protection. 21(10): 1049-1060.
70. Tereschuck, M., M. Riera, G. Castro. and L. Abdala.1997. Antimicrobial activity of flavonoids from leaves of *Tagetes minuta*. J. Ethnopharmacol. 56:p. 227-232.
71. Utida, S. 1953. 'Phase' dimorphism observed in the laboratory population of the cowpea weevil, Callosobruchus maculatus. Japanese Journal of Applied Zoology, 18:161-168.
72. Vasudevan, P, S. Kashyap and S. Sharma. 1997. *Tagetes*: A multipurpose plant. Bioresour Technol, 62(1/2): 29-35.
73. Vidya, S.D., S. N. Naik, P. K. Rout, Y. R. Rao. 2005. Composition of essential oils of *Tagetes patula* L. growing in Northern India. Journal of Essential Oil Research. 17: 446-448.
74. Von Broembsen, SL. 1989. Invasion of natural ecosystems by plant pathogens. In H.S. Mooney and J.A. Drake (Eds.), Biological invasion: a global perspective. John Wiley & Sons, Chichester, 77-80.

75. Wang, WB and C. R. Guo. 2004. Action of the different extracts of *Tagetes patula* on *Fusarium oxysporum* Schl. f. sp *vasinfectum* (Atk.) Snyd. & Hans. *J Shanxi Agric Univ* 24(4): 407-411.
76. Wang, XG, H. H. Xu, S. H. Zhao. 2002. Progress in insecticidal plant Marigold. J. Xi'an United Univ 5(2): 5-10.