ROYAUME DU MAROC

OFFICE MAROCAIN DE LA PROPRIETE INDUSTRIELLE ET COMMERCIALE
---

(19)

المملكة المغربية

المكتب المغربي للملكية الصناعية و التجارية
---

(12) FASCICULE DE BREVET

(11) N° de publication :
MA 35012 B1

(43) Date de publication :
03.04.2014

(51) Cl. internationale :
A01N 65/00; A01N 65/22; A01N 65/24; A01N 65/26; A01N 65/28; A01N 59/00; A01N 59/20; A01P 3/00

(21) N° Dépôt :
36285

(22) Date de Dépôt :
02.10.2013

(30) Données de Priorité :
18.03.2011 ES P201130390

(86) Données relatives à l'entrée en phase nationale selon le PCT :
PCT/ES2012/070005 05.01.2012

(71) Demandeur(s) :
BIOFUNGITEK, SOCIEDAD LIMITADA, Parque Tecnologico de Bizkaia, Edificio 800, 2ª Planta E-48170 Zamudio (Bizkaia) (ES)

(72) Inventeur(s) :
UGALDE MARTINEZ, Unai Ona ; RODRIGUEZ URRA, Ana Belen ; UBEGUN LIZASO, Ainara

(74) Mandataire :
ABU-GHAZALEH INTELLECTUAL PROPERTY (TMP AGENTS)

(54) Titre : **COMPOSITION PHYTOSANITAIRE COMPRENANT DES HUILES ESSENTIELLES RENFORÇANT L'ACTIVITÉ ANTI-FONGIQUE**

(57) Abrégé : La présente invention concerne des compositions phytosanitaires ayant des propriétés fongiques comprenant un mélange d'huiles essentielles obtenues à partir de plantes et agents ayant des propriétés fongiques connues, tels que les bicarbonates de métaux alcalins ou d'ammonium, des composés à base de cuivre ou leurs sels, lesquelles compositions sont utilisées principalement pour la protection contre les infections fongiques dans des plantes cultivées et pour la post-récolte, ainsi que dans d'autres applications antifongiques. Dans les compositions de l'invention, l'effet des agents ayant des propriétés fongiques connues est renforcé par synergie grâce aux huiles essentielles. La présente invention concerne également l'utilisation de ces huiles essentielles en tant que renforçateur des agents ayant des propriétés fongiques connues.

(تركيبة لصحة النبات تحتوي على زيوت عطرية لتقوية النشاط المضاد للفطريات)

الملخص

يتعلق الاختراع الحالي بتركيبات لصحة النبات تتميز بخصائص مبيدة للفطريات وتشتمل على خليط من الزيوت العطرية المتحصل عليها من النباتات، مع عوامل معروفة بخصائصها المبيدة للفطريات مثل الفلزات المعدنية أو بيكربونات الأمونيوم، ومركبات أساسها النحاس أو أملاحه، وذلك للاستخدام بشكل أساسي في الحماية التلامسية ضد حالات العدوى الفطرية في النباتات المنزرعة وفيما بعد الحصاد، وأيضاً في تطبيقات أخرى تتعلق بمقاومة الفطريات. وفي التركيبات المذكورة يتم بشكل تآزري تقوية تأثير العوامل المعروفة بخصائص إبادة الفطريات، وذلك عن طريق الزيوت العطرية المذكورة سابقاً. ويتعلق الاختراع الحالي أيضاً باستخدام الزيوت العطرية المذكورة كمواد لتقوية العوامل ذات الخصائص المعروفة في مجال إبادة الفطريات.

(تركيبة لصحة النبات تحتوي على زيوت عطرية لتقوية النشاط المضاد للفطريات)

01 AVR 2014

الوصف الكامل

مجال الاختراع:

يتعلق الاختراع الحالي بتركيبات لصحة النبات تتميز بخصائص مبيدة للفطريات وتشتمل على خليط من الزيوت العطرية المتحصل عليها من النباتات، مع عوامل معروفة بخصائصها المبيدة للفطريات مثل الفلزات المعدنية أو بيكربونات الأمونيوم، ومركبات أساسها النحاس أو أملاحه، وذلك للاستخدام بشكل أساسي في الحماية التلامسية ضد حالات العدوى الفطرية في النباتات المنزرعة وفيما بعد الحصاد، وأيضاً في تطبيقات أخرى تتعلق بمقاومة الفطريات. وفي التركيبات المذكورة يتم بشكل تآزري تقوية تأثير العوامل المعروفة بخصائص إبادة الفطريات، وذلك عن طريق الزيوت العطرية المذكورة سابقاً. ويتعلق الاختراع الحالي أيضاً باستخدام الزيوت العطرية المذكورة كمواد لتقوية العوامل ذات الخصائص المعروفة في مجال إبادة الفطريات.

الخلفية التقنية:

تعرف الزيوت العطرية بأنها خلائط معقدة من جزيئات طبيعية يتم الحصول عليها بشكل أساسي من النباتات. وتتمثل تلك الزيوت في نواتج أيضية ثانوية يمكن الحصول عليها بشكل مضاد عن طريق الاستخلاص بمذيبات عضوية مع التركيز فيما بعد، أو عن طريق المعالجات الفيزيائية بواسطة البخار ثم فصل الماء عن الطور غير القابل للذوبان. وبصفة عامة، تكون تلك الزيوت عبارة عن سوائل متطايرة قابلة للإذابة في المذيبات العضوية ولها كثافة تقل عن كثافة الماء.

وفي الطبيعة، يمكن أن يتم تخليق تلك الزيوت في أعضاء نباتية مختلفة مثل البذور والأوراق

والزهور وخلايا البشرة والفاكهة، وذلك من بين أعضاء نباتية أخرى، وهي تلعب دوراً هاماً في حماية النباتات ضد العدوى البكتيرية أو الفيروسية أو الفطرية.

وقد عرف تأثير الكثير من الزيوت العطرية النباتية في مجال إبادة الفطريات والبكتيريا، ووصلت في بعض الحالات إلى مستوى التسويق التجاري. ومن بين تلك الزيوت العطرية نذكر هنا زيت الجوجوبا (*Simmondsia californica*)، وزيت ألكيل الجبل (*Rosemarinus officianalis*)، وزيت الزعتر (*T. vulgaris*)، والمستخلص غير الأليف للماء من زيت النيم (*A. indica*)، وزيت بذرة القطن (*Gossypium hirsutum*)، مع مستخلص الثوم (Dayan, F.E. et al. "Natural products in crop protection". Bioorg. and Med. Chem. 17 (2009), 4022-4034).

ويختلف التركيب الكيميائي في الزيوت العطرية ليس فقط من حيث الكمية ولكن أيضاً من حيث النوعية والنمط الكيميائي التجاسمي لجزيئات المادة المستخلصة. وقد يتفاوت منتج عملية الاستخلاص تبعاً للمناخ وتركيب التربة والعضو النباتي المستخدم في عملية الاستخلاص، وعمر النبات ومرحلة نموه، كما يعتمد ذلك أيضاً على عملية الاستخلاص المستخدمة.

وفضلاً عن ذلك، فقد عرف من خلال وثائق الفن السابق استخدام الأملاح غير العضوية مثل بيكربونات الفلزات القلوية، وتحديداً الليثيوم أو الصوديوم أو البوتاسيوم، وبيكربونات الأمونيوم كعوامل مبيدة للفطريات (براءة الاختراع الأمريكية رقم US5346704) وقد وجد أن استخدام تلك الأملاح غير العضوية، وتحديداً تلك التي تحتوي على أنيون البيكربونات، لا يسبب أية مخاطر تتعلق بصحة الإنسان أو البيئة.

وقد عرفت أيضاً طبيعة إبادة الفطريات التي تتميز بها المنتجات المكونة أساساً من النحاس أو أملاحه، هذه تم استخدامها على نطاق اسع في مجال الزراعة. وفي عام 1761 تم اكتشاف أن تلك المحاليل تعمل على تثبيط نمو الفطريات على البذور. ومنذ ذلك الحين تم استخدام مبيدات

الفطريات المكونة أساساً من النحاس في صيغ معروفة جيداً مثل خلائط Bordeaux (Copper as a Biocidal Tool. Gadi Borkow and Jeffrey Gavia. Current Medicinal Chemistry, volume 12: 2163-2175).

ونظراً لكون الزيوت العطرية النباتية ذات منشأ طبيعي، فهي تعد جذابة جداً من حيث الاستخدام في مجال الزراعة للحصول على منتجات صحية وغير ضارة، وهو الطلب الذي بات ملحاً من جانب كل من المستهلكين والهيئات التشريعية.

لذلك، فهناك حاجة إلى إيجاد تركيبات جديدة لصحة النبات تتميز بخصائص مضادة للفطريات، وذلك من أجل حماية المحاصيل، بما في ذلك المحاصيل في مرحلة ما بعد الحصاد، وهي المرحلة التي يقل فيها التأثير الثانوي السام وغير الضار للإنسان والبيئة.

وبشكل غير متوقع، وجد المخترعون أن بعض الزيوت العطرية المتحصل عليها من النباتات تعمل – عند خلطها مع منتجات أخرى ذات خصائص معروفة في مجال إبادة الفطريات – على تقوية الخصائص المضادة للفطريات لدى تلك المركبات. مثل الأملاح غير العضوية، ومنها على سبيل المثال الفلزات القلوية وبيكربونات الأمونيوم، والمنتجات المضادة للفطريات والتي تتكون أساساً من النحاس أو أملاحه.

الكشف عن الاختراع:

بناء على ما تقدم، يهدف الاختراع الحالي إلى توفير تركيبة لصحة النبات تتميز بخصائص مضادة للفطريات وتشتمل على:

(1) واحد أو أكثر من الزيوت العطرية المتحصل عليها من النباتات؛

(2) واحد و أكثر من العوامل ذات الخصائص المعروفة في مجال إبادة الفطريات. وتعمل

تلك التركيبة بشكل تآزري على تحسين خصائص مقاومة الفطريات للعوامل ذات الخصائص المعروفة في مجال مقاومة الفطريات، كما أنها تتميز بحد أدنى من التأثيرات الثانوية السامة، وتكون غير ضارة بصحة الإنسان أو البيئة.

وقد تستخدم تركيبة هذا الاختراع في مجال الزراعة لحماية المحاصيل بدءاً من مرحلة الإنبات إلى مرحلة الحصاد، وأثناء تخزين ونقل تلك المحاصيل أو البذور أو الزهور أو الحبوب. وبالمثل، فهناك استخدام آخر ممكن لتلك التركيبة وذلك في مجال التخلص من الفطريات التي تصيب الأسطح المطلية، وأيضاً في مجال حماية السجاد والأقمشة في المنازل، وأي استخدام آخر ضد الإصابة الفطرية التي تحدث بالتلامس.

ومن بين الزيوت العطرية التي يمكن استخدامها في تركيبة ضمن النبات وفق هذا الاختراع نذكر هنا زيت الزعتر (*Thymus vulgaris*)، أو زيت الأوريجانو (*Origanum vulgaris*)، أو زيت كبش القرنفل (*Syzygium aromaticum*)، أو زيت جوزة الطيب (*Myristica fragrans*)، أو زيت القرفة (*Cinnamomum zeylanicum*)، أو زيت نبات الغاز (*Laurus nobilis*)، أو زيت البرتقال (*Citrus x sinensis*)، أو زيت النعناع (*Mentha x piperita*)، أو زيت الناردين (*Valeriana officinalis*)، أو زيت الأترجية (*Cymbopogon nardos*)، أو زيت اللافندر (*Lavanda angustifolia*)، أو زيت الجوجوبا (*Simmondsia californica*)، أو زيت إلكيل الجبل (*Rosemarinus officianalis*)، أو زيت النيم (*Azadirachta indica*)، أو زيت بذرة القطن (*Gossypium hirsutum*)، أو خليط من ذلك.

وبدون التقيد بنظرية معينة، فإنه من الممكن أن تكون خاصية الزيوت العطرية المتحصل عليها من النباتات والتي تتمثل في تقوية النشاط المضاد للفطريات ناتجة عن بعض المركبات الموجودة في تلك الزيوت والمعروفة بنشاطها المضاد للفطريات. وفي أحد تجسيدات هذا الاختراع، قد

تشتمل تركيبة صحة النبات على خليط من المركبات الفعالة المعزولة من الزيوت العطرية وفق هذا الاختراع مثل مركبات المونو تيربينويد الفينولية مثل مركب الكارفاكرول ومركب الثيمول، ومركبات الأليل بنزين مثل الإيجينول، والفينولات أحادية الاستبدال مثل ترانس – سينامالدهيد، ومركبات المونو تربين الحلقية مثل الليمونين، ومركبات المونو تربين ثنائية الحلقات مثل مركب الكامفين، ومركبات التربين الخطية مثل النيرول، وأي من مجموعات وخلائط تلك المركبات والعوامل ذات الخصائص المعروفة في مجال مقاومة الفطريات. وتعتبر آلية تأثير الزيوت العطرية من الآليات المتعددة، نظراً لكونها خليط معقد يحتوي على مكونات فعالة مختلفة. ومع ذلك، فقد تم وصف طبيعة تأثير المكونات الأساسية في بعض تلك الزيوت، مثل الكارفاكرول، على نمو خلايا البكتيريا والخمائر (The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. A. Ultee et al., Applied and Environmental Microbiology, April 2002, 1561-1568). ووفقاً لهذه الدراسات، يستطيع مكون الكارفاكرول أن يعبر خلال غشاء الخلية عندما تتم معالجته بالبروتون في وسط حمضي، وعند وصوله إلى السيتوبلازم فإنه يحرر البروتون ويؤدي بذلك إلى تحميض الخلية. ومثل آلية التأثير هذه لا تنفي وجود آليات أخرى ممكنة مثل زيادة درجة نفاذية الغشاء أو التأثير النوعي المثبط على العمليات الحفزية.

ومن بين العوامل المعروفة بخصائصها المبيدة للفطريات والتي يمكن استخدامها في تركيبة الاختراع نذكر هنا كربونات أو بيكربونات الفلزات القلوية، ويفضل الليثيوم أو الصوديوم أو البوتاسيوم، وكربونات أو بيكربونات الأمونيوم، والعوامل المبيدة للفطريات والتي تتكون من النحاس أو أملاحه، وخلائط من ذلك. ويفضل أكثر أن يكون العامل ذو الخصائص المعروفة في مجال إبادة الفطريات هو بيكربونات البوتاسيوم.

وتتراوح كمية الزيوت العطرية الموجودة في تركيبة هذا الاختراع من 0.01% الى 99.99%

على أساس مجموع وزن التركيبة. كذلك، فإن كمية العامل ذو الخصائص المعروفة في مجال إبادة الفطريات والموجود في تركيبة هذا الاختراع تتراوح من 99.99% إلى 0.01% على أساس مجموع وزن التركيبة.

ويمكن تحضير التركيبة وفق هذا الاختراع عن طريق زيت أساس أو زيوت عطرية مع عامل ذو خصائص معروفة في مجال إبادة الفطريات، وذلك وفق طرق الخلط المعروفة في هذا المجال. وبصفة عامة، تكون الزيوت العطرية في حالة سائلة تحت درجة حرارة الجو المحيطة، ونتيجة لذلك تكون التركيبة عامةً في حالة سائلة. ومع ذلك، فقد تكون التركيبة أيضاً في حالة سائلة أو صلبة أي في شكل معلق أو مشتت أو مستحلب أو مادة للرش أو كبسولات دقيقة أو أي خليط آخر يبقى ثابتاً مع مرور الوقت، أو قد تدمج مع بوليمرات أو شموع أو مواد داعمة أخرى مماثلة.

وفضلاً عن ذلك، فإن تركيبة صحة النبات وفق هذا الاختراع قد تستخدم بذاتها أو لصياغة منتج لصحة النبات بالترافق مع إضافات مختلفة تستخدم في هذا المجال لتوفير خصائص مختلفة، مثل المواد الخافضة للتوتر السطحي، والبوليمرات، والعوامل المكبسة للقلوية، وعوامل التحكم في الرقم الهيدروجيني (pH)، وذلك من بين إضافات أخرى تستخدم في صياغة المنتجات المستعملة في مجال الزراعة.

وتندرج تركيبة صحة النبات وفق هذا الاختراع ضمن مجموعة العوامل التلامسية الخاصة بصحة النبات والتي تستخدم للوقاية ضد الأمراض الفطرية من خلال التلامس، وتبقى أيضاً على سطح الأجزاء المختلفة من النبات لحمايتها خارجياً ضد الإصابات الفطرية الخارجية.

ونظراً لكونها في صورة سائلة أو في شكل مسحوق أو كبسولات دقيقة، فإن التركيبة الخاصة بصحة النبات وفق هذا الاختراع يمكن أن تستخدم بأي من الطرق المعروفة في هذا المجال مثل

طريقة الرش.

وقد تشتمل التركيبة الخاصة بصحة النبات وفق هذا الاختراع أيضاً على سماد يختار من مجموعة تشتمل على المركبات المحتوية على النيتروجين و/أو الفوسفور مثل اليوريا، والميلامين، والهكسامين، والداي سيانو داي أمين، والأميلين، وحامض السيانوريك، ونترات الميلامين، والتراي إيثيل فوسفيت، وما شابه، أو خلائط من تلك الأنواع.

وقد تشتمل تركيبة الاختراع أيضاً على أي مركب أو منتج ذو نشاط كيميائي و/أو حيوي ويستخدم في الزراعة مثل مبيدات الأعشاب، ومبيدات الحشرات، ومنظمات نمو النبات، وما شابه، أو خلائط من تلك المواد.

وسوف يتم وصف هذا الاختراع فيما يلي بتفصيل أكثر رجوعاً إلى أمثلة مختلفة، وهي أمثلة لا يقصد بها حصر أو تقييد المجال التقني للاختراع.

الأمثلة

مثال (1) (مقارن): تثبيط نمو فطر *Botrytis cinerea* بواسطة $KHCO_3$ بمفردها:

تم استنبات فطر *Botrytis cinerea* في وسط محضّر من رغوة الدكستروز الناتجة عن محصول البطاطا (PDB) مع تركيزات مختلفة من $KHCO_3$، وتم تحديد النسبة المئوية للتثبيط والتي تمثل الحد الذي يُمنع فيه نمو الفطر بالمقارنة مع مجموعة المقارنة الخالية من مركب الاختبار وهو $KHCO_3$. وقد تم هنا حساب النسبة المئوية للتثبيط كالآتي % للتثبيط = [(OD مقارنة – OD /ODx مقارنة] × 100 حيث "OD مقارنة" عبارة عن الكثافة الضوئية لوسط الإنبات في مجموعة المقارنة (بدون مركب الاختبار)، وODx عبارة عن الكثافة الضوئية لوسط الإنبات مع مادة الاختبار. وقد تم قياس الكثافة الضوئية لوسط الإنبات السائل بعد 24 ساعة من بدء

عملية الاستنبات، وتم الحصول على النتائج الآتية (جدول -I):

جدول I: تثبيط نمو *B.cinerea* بواسطة $KHCO_3$

تركيز $KHCO_3$ (مل مولار)	صفر	10	15	20	25	30
النسبة المئوية للتثبيط ± الانحراف القياسي	صفر	34.2 ± 6.7	37.0 ± 11.3	38.8 ± 6.8	39.7 ± 0.7	46.9 ± 2.7

وكما يتضح من الجدول أعلاه، فإنه عند تركيز من $KHCO_3$ يتراوح من 10 إلى 25 مل مولار، تم الحصول على نتائج مماثلة فيما يتعلق بتثبيط *B.cinerea*، ولكن زادت درجة التثبيط هنا عند تركيز قدره 30 مل مولار.

مثال (2) (مقارن): تثبيط نمو فطر *B.cinerea* بواسطة الكازفاكرول بمفرده:

تم استنبات فطر *B.cinerea* بنفس الطريقة المتبعة في مثال (1) مع اختلاف واحد وهو استخدام تركيزات مختلفة من الكارفاكرول (مركب معزول من الزيت الأساسي في نبات الأوريجانو) في وسط الإنبات. وبعد 24 ساعة، تم قياس الكثافة الضوئية لوسط الإنبات، وتم الحصول على النتائج الآتية (جدول -II):

جدول II: تثبيط نمو *B.cinerea* بواسطة الكافاكرول:

تركيز الكارفاكرول (جزء بالمليون)	0.1	0.31	1	3.1	10	31	100
النسبة المئوية للتثبيط ± الانحراف القياسي	صفر	10.5 ± 7.7	13.7 ± 4.1	22.4 ± 3.4	21.3 ± 5.0	51.4 ± 5.5	74.4 ± 1.1

مثال (3): تثبيط نمو فطر *B.cinerea* بواسطة تركيبة الاختراع (كارفاكرول + $KHCO_3$):

تم استنبات فطر *B.cinerea* بنفس الطريقة المتبعة في مثال (1)، مع اختلاف واحد وهو استخدام تركيزات مختلفة من الكافاكرول في وسط الإنبات، واستخدام تركيز ثابت قدره 30 مل مولار من $KHCO_3$ في جميع أوساط الإنبات. وقد تم قياس الكثافة الضوئية لوسط الإنبات بعد 24 ساعة، وتظهر النتائج في جدول III:

جدول III: تثبيط نمو *B.cinerea* بواسطة تركيبة الاختراع:

تركيز $KHCO_3$ (مل مولار)	30	30	30	30	30	30	30
تركيز الكارفاكرول (جزء بالمليون)	0.1	0.31	1	3.1	10	31	100
النسبة المئوية للتثبيط ± الانحراف القياسي	86.1 ± 2.2	84.2 ± 3.6	48.9 ± 3.0	52.7 ± 2.6	82.5 ± 3.7	86.5 ± 1.3	91.1 ± 1.1

وكما يظهر في النتائج، فإن تركيز منخفض من الكارفاكرول (0.1 جزء بالمليون) وهو المركب الذي يصل تأثيره المثبط إلى مستوى الصفر عند استخدامه بمفرده (راجع مثال 2) قد أدى هنا إلى مضاعفة سعة التثبيط لـ $KHCO_3$ بشكل فعال وحقق مستويات من التثبيط لم يُحصل عليها باستخدام تركيزات من $KHCO_3$ سامة للنباتات.

مثال (4): التأثير المثبط لأوكسي كلوريد النحاس بمفرده على فطر *Alternaria alternate*

تم استنبات فطر *Alternaria alternate* بنفس الطريقة المتبعة في مثال (1)، مع اختلاف واحد وهو استخدام تركيزات مختلفة من أوكسي كلوريد النحاس (مبيد فطري يتكون أساساً من النحاس ويستخدم على نطاق واسع في الزراعة) في وسط الإنبات. وقد تم قياس الكثافة الضوئية لوسط الإنبات، وتظهر نتائج ذلك في جدول IV:

جدول IV: تثبيط *A.alternata* بواسطة أوكسي كلوريد النحاس:

تركيز أوكسي كلوريد النحاس (جزء بالمليون)	0.1	0.5	1	5	10	15	20
النسبة المئوية للتثبيط ± الانحراف القياسي	3.1 ± 6.4	0.0 ± 6.7	9.9 ± 0.9	10.0 ± 8.4	23.1 ± 4.7	37.4 ± 3.6	61.3 ± 6.7

مثال (5): تثبيط فطر *Aternaria alternate* بواسطة الكارفاكرول بمفرده:

تم استنبات فطر *Aternaria alternate* بنفس الطريقة المتبعة في مثال (2)، وتم قياس الكثافة الضوئية بعد 24 ساعة، وتظهر نتائج ذلك في جدول V:

جدول V: تثبيط *A.alternata* بواسطة الكارفاكرول:

تركيز الكارفاكرول (جزء بالمليون)	10	31	100	310	1000
النسبة المئوية للتثبيط ± الانحراف القياسي	17. ± 7 11	27. ± 2 14	74. ± 6 8	97. ± 2 7	± 93.0 6.0

مثال (6): تثبيط فطر *Aternaria alternate* بواسطة تركيبة الاختراع (كارفاكرول + أوكسي كلوريد النحاس):

تم استنبات فطر *Aternaria alternate* بنفس الطريقة المتبعة في مثال (4) مع اختلاف واحد وهو استخدام تركيز مختلف من الكارفاكرول في وسط الإنبات وثبات تركيز أوكسي كلوريد النحاس في الوسط (5 جزء بالمليون). وبعد 24 ساعة تم قياس الكثافة الضوئية في وسط الإنبات وتظهر نتائج ذلك في جدول VI:

جدول VI: تثبيط *A.alternata* بواسطة تركيبة الاختراع (كارفاكرول + أوكسي كلوريد

تركيز أوكسي كلوريد النحاس (جزء بالمليون)	5	5	5	5	5
تركيز الكارفاكرول (جزء بالمليون)	1	3.1	10	31	100
النسبة المئوية للتثبيط ± الانحراف القياسي	± 1.4 13	26.0 ± 12	34.7 ± 14	53.2 ± 12	85.7 ± 3.6

وكما يظهر من النتائج فإن تركيز من الكارفاكرول قدره 35 جزء بالمليون مع تركيز من أوكسي كلوريد النحاس قدره 5 جزء بالمليون يؤدي إلى تثبيط نمو فطر *A.alternata* بنسبة تزيد عن 50%، بينما عند استخدام الكارفاكرول بمفرده فهذا التركيز تكون نسبة التثبيط هنا 27%، وتصل إلى 10% في حالة أوكسي كلوريد النحاس.

مثال (7): تثبيط فطر *Penicillium digitatum* بواسطة $KHCO_3$ بمفرده

تم استنبات فطر *Penicillium digitatum* بنفس الطريقة المتبعة في مثال (1). وقد تم قياس الكثافة الضوئية بعد 24 ساعة، وتظهر نتائج ذلك في جدول VII:

جدول VII: تثبيط *P.digitatum* بواسطة $KHCO_3$:

تركيز $KHCO_3$ (مل مولار)	10	20	30	40	50
النسبة المئوية للتثبيط ± الانحراف القياسي	19. ± 4 2.9	19. ± 1 10	19. ± 6 8.9	19. ± 8 2.2	21. ± 9 6.6

وكما يتضح من النتائج، تم الحصول على نفس درجة التثبيط مع تركيز مختلفة من $KHCO_3$.

مثال (8): تثبيط فطر *Penicillum digitatum* بواسطة الثيمول بمفرده:

تم استنبات فطر P.digitatum بنفس الطريقة المتبعة في مثال (1) مع اختلاف واحد وهو

استخدام تركيزات مختلفة من الثيمول (مركب معزول من زيت الزعتر) في وسط الإنبات. وقد تم قياس الكثافة الضوئية بعد 24 ساعة، وتظهر نتائج ذلك في جدول VIII:

جدول VIII: تثبيط *P.digitatum* بواسطة الثيمول بمفرده

تركيز الثيمول (جزء بالمليون)	0.31	1	3.1	10	31	100	310
النسبة المئوية للتثبيط ± الانحراف القياسي	28.2 ± 3.9	24.2 ± 6.0	36.3 ± 2.3	36.2 ± 2.0	50.7 ± 2.0	78.3 ± 2.2	95.6 ± 0.5

مثال (9): تثبيط فطر *Penicillum digitatum* بواسطة تركيبة الاختراع ($KHCO_3$ + ثيمول):

تم استنبات فطر *P.digitatum* بنفس الطريقة المتبعة في مثال (7) مع اختلاف واحد وهو استخدام تركيزات مختلفة من الثيمول في وسط الإنبات وثبات تركيز $KHCO_3$ (30 مل مولار). وقد تم قياس الكثافة الضوئية بعد 24 ساعة، وتظهر نتائج ذلك في جدول IX:

جدول IX: تثبيط P.digitatum بواسطة تركيبة الاختراع ($KHCO_3$ + ثيمول):

تركيز $KHCO_3$ (مل مولار)	30	30	30	30	30	30
تركيز الثيمول (جزء بالمليون)	0.31	1	3.1	10	31	100
النسبة المئوية للتثبيط ± الانحراف القياسي	58.0 ± 2.1	62.9 ± 8.4	47.1 ± 3.7	56.4 ± 3.7	75.5 ± 1.9	92.6 ± 1.6

ويتضح أن هناك تحسّن في النتائج عند إضافة الثيمول إلى $KHCO_3$، في حين أنه عند استخدام 31 جزء بالمليون من الثيمول فقط كانت نسبة التثبيط 50% فقط، وعند استخدام 30 مل مولار من $KHCO_3$ كانت نسبة التثبيط 20% فقط. وعند دمج المركبين معاً زادت نسبة تثبيط

نمو قطر *P.digitatum* إلى 75%.

عناصر الحماية

1- تركيبة لصحة النبات ذات نشاط مضاد للفطريات، وتشتمل على:

(i) واحد أو أكثر من الزيوت العطرية المتحصل عليها من النباتات؛

(ii) واحد أو أكثر من العوامل ذات النشاط المبيد للفطريات والتي تختار من كربونات أو بيكربونات الفلزات القلوية، ويفضل الليثيوم أو الصوديوم أو البوتاسيوم، أو كربونات أو بيكربونات الأمونيوم، أو خليط من ذلك.

2- تركيبة لصحة النبات وفق عنصر الحماية (1)، حيث يختار الزيت الأساسي من مجموعة تتكون من: زيت الزعتر (*Thymus vulgaris*)، أو زيت الأوريجانو (*Origanum vulgaris*)، أو زيت كبش القرنفل (*Syzygium aromaticum*)، أو زيت جوزة الطيب (*Myristica fragrans*)، أو زيت القرفة (*Cinnamomum zeylanicum*)، أو زيت نبات الغاز (*Laurus nobilis*)، أو زيت البرتقال (*Citrus x sinensis*)، أو زيت النعناع (*Mentha x piperita*)، أو زيت الناردين (*Valeriana officinalis*)، أو زيت الأترجية (*Cymbopogon nardos*)، أو زيت اللافندر (*Lavanda angustifolia*)، أو زيت الجوجوبا (*Simmondsia californica*)، أو زيت إلكيل الجبل (*Rosemarinus officianalis*)، أو زيت النيم (*Azadirachta indica*)، أو زيت بذرة القطن (*Gossypium hirsutum*)، أو خليط من ذلك.

3- تركيبة لصحة النبات وفق أي من عنصرّي الحماية (1) أو (2)، وفيها يكون الزيت الأساسي عبارة عن مركب فعال يتم عزله من زيت أساسي نباتي مثل

مركبات المونو تربينويد الفينولية، ومنها على سبيل المثال الكارفاكرول والثيمول، ومركبات الأليل بنزين مثل الإيجينول، والفينولات أحادية الاستبدال مثل ترانس – سينامالدهيد، ومركبات المونوتربين الحلقية مثل الليمونين، مركبات المونوترين ثنائية الحلقة مثل الكامفين، ومركبات التربين الخطية مثل النيرول، وأي من مجموعات وخلائط تلك المركبات.

4- تركيبة لصحة النبات وفق أي من عناصر الحماية السابقة، وفيها يكون العامل ذو الخصائص المبيدة للفطريات عبارة عن مبيد فطري بالتلامس.

5- تركيبة لصحة النبات وفق أي من عناصر الحماية السابقة، وفيها يكون العامل ذو الخصائص المبيدة للفطريات عبارة عن بيكربونات بوتاسيوم.

6- تركيبة لصحة النبات وفق أي من عناصر الحماية السابقة، وفيها تتراوح كمية الزيت الأساسي من 0.01% إلى 99.99% على أساس مجموع وزن التركيبة.

7- تركيبة لصحة النبات وفق أي من عناصر الحماية السابقة، وفيها تتراوح كمية العامل ذو الخصائص المبيدة للفطريات من 99.99% إلى 0.01% على أساس مجموع وزن التركيبة.

8- تركيبة لصحة النبات وفق أي من عناصر الحماية السابقة، حيث تكون التركيبة في صورة سائلة أو صلبة، أي في صورة معلق أو مشتت أو مستحلب أو مادة للرش أو كبسولة دقيقة أو أي من أنواع الخلائط التي تظل ثابتة مع مرور الوقت، أو تكون التركيبة مندمجة مع بوليمرات أو شموع أو أية مادة حاوية أخرى مماثلة

9- تركيبة لصحة النبات وفق أي من عناصر الحماية السابقة، حيث تتم صياغة التركيبة مع إضافات أخرى مثل المواد الخافضة للتوتر السطحي، والبوليمرات، والعوامل المكسبة للقلوية، وعوامل التحكم في الرقم الهيدروجيني (pH)، وذلك من بين إضافات أخرى.

10- تركيبة لصحة النبات وفق أي من عناصر الحماية السابقة، وتشتمل أيضاً على سماد يختار من مجموعة تتكون من مركبات تحتوي على النيتروجين و/أو الفوسفور مثل اليوريا والميلامين والهكسامين والداي سيانو داي أميد والأميلين وحامض السيانوريك ونترات الميلامين وفوسفات التراي إيثيل وما شابه، أو خليط من ذلك.

11- تركيبة لصحة النبات وفق أي من عناصر الحماية السابقة، وتشتمل أيضاً على مركب أو منتج أو نشاط كيميائي و/أو بيولوجي ويستخدم في الزراعة مثل مبيدات الأعشاب، أو مبيدات الحشرات، أو منظمات نمو النباتات، أو ما شابه، أو خليط من ذلك.

12- استخدام الزيوت العطرية المتحصل عليها من النباتات والمستخدمة في التركيبة الخاصة بصحة النبات وفق أي من عناصر الحماية (1-11)، وذلك كمعززات للنشاط المبيد للفطريات في العوامل المعروفة بخصائصها المبيدة للفطريات.

13- الاستخدام وفق عنصر الحماية (12)، حيث تختار الزيوت العطرية من مجموعة تتكون من: زيت الزعتر (*Thymus vulgaris*)، أو زيت الأوريجانو (*Origanum vulgaris*)، أو زيت كبش القرنفل (*Syzygium aromaticum*)

أو زيت جوزة الطيب (*Myristica fragrans*)، أو زيت القرفة (*Cinnamomum zeylanicum*)، أو زيت نبات الغاز (*Laurus nobilis*)، أو زيت البرتقال (*Citrus x sinensis*)، أو زيت النعناع (*Mentha x piperita*)، أو زيت الناردين (*Valeriana officinalis*)، أو زيت الأترجية (*Cymbopogon nardos*)، أو زيت اللافندر (*Lavanda angustifolia*)، أو زيت الجوجوبا (*Simmondsia californica*)، أو زيت إلكيل الجبل (*Rosemarinus officianalis*)، أو زيت النيم (*Azadirachta indica*)، أو زيت بذرة القطن (*Gossypium hirsutum*)، أو خليط من ذلك.

14- الاستخدام وفق أي من عنصرّي الحماية (12) أو (13)، حيث يختار العامل ذو الخصائص المبيدة للفطريات من مجموعة تتكون من كربونات أو بيكربونات الفلزات القلوية، ويفضل الليثيوم أو الصوديوم أو البوتاسيوم، وكربونات أو بيكربونات الأمونيوم، والعوامل المبيدة للفطريات والتي تتكون بشكل أساسي من النحاس أو أملاحه، أو خليط من ذلك.

15- الاستخدام وفق أي من عناصر الحماية (12-14)، حيث يكون العامل ذو الخصائص المبيدة للفطريات عبارة عن بيكربونات البوتاسيوم.

16- الاستخدام وفق أي من عناصر الحماية (1-11)، لتحضير صيغة لمنتج صحي ذو خصائص مبيدة للفطريات.