

دراسة تأثير مستخلص نبات النعناع على نمو فطر الميوكر

Study Effect of the *Mentha piperital* extract on the Growth of *Mucor* spp.

1. عادل عمر عاشور *

قسم الاحياء-شعبة الاحياء الدقيقة- كلية العلوم - جامعة مصراتة
Email:a.ashour@sci.misuratau.edu.ly

2. نوري محمد التاجوري **

قسم الاحياء-شعبة النبات- كلية العلوم - جامعة مصراتة
Email:n.eltajouri@misuratau.edu.ly

Electronic publishing data:28/2/2024

الملخص: اجريت هذه الدراسة في معمل الاحياء الدقيقة بكلية العلوم، جامعة مصراتة، لمعرفة مدى تأثير مستخلص اوراق نبات النعناع (*Mentha piperital*) على نمو الفطر *Mucor* spp. المرافق لحبوب الشعير في مدينة مصراتة، وتبيننا لنا من هذه الدراسة ان جميع معاملات المستخلص النباتي للنعناع وبالتركيز المختلفة (10%، 20%، 30%) استطاعت ان تخفض معنوياً مقارنة مع الشاهد من النمو القطري الشعاعي للفطر الممرض *Mucor* spp. على الوسط الغذائي PDA، اذ تراوحت النسبة المئوية للتثبيط عموماً ما بين 52.55% الى 70.11%، واحتل التركيز 30% المرتبة الاولى في عملية الخفض حيث كانت النسبة المئوية للتثبيط 70.11%، يليه التركيزين 10% و 20% بنسب متقاربة، حيث كانت نسبة التثبيط 55.0% اثناء استخدام التركيز 10%، في حين احتل التركيز 20% المرتبة الاخيرة وبنسبة تثبيط 52.55%، اما بالنسبة للنمو القطري الشعاعي للفطر فكان 2.69 سم عند استخدام التركيز 30%، 4.05 سم عند التركيز 10% و 4.27 سم عند التركيز 20% مقارنة مع معاملة الشاهد التي وصل النمو القطري فيها الى 9.0 سم في اليوم الثالث من التحضين، اما بالنسبة لتأثير الرواشح النباتية للنعناع على الوزن الجاف للفطر المدروس *Mucor* spp. فقد استطاعت ايضاً ان تخفضها معنوياً ودرجات متفاوتة مقارنة مع الشاهد، حيث احتل التركيز 30% المرتبة الاولى في عملية الخفض وكان الوزن الجاف للفطر اثناء المعاملة به 0.63 جم، يليه التركيز 20% حيث كان الوزن الجاف للفطر 0.72 جم، وجاء التركيز 10% في المرتبة الاخيرة حيث كان الوزن الجاف للفطر 0.90 جم اثناء المعاملة به، ويتضح من هنا بأن تأثيرات المستخلص النباتي المثبطة لنمو الفطر والمخفضة للوزن الجاف له تصاعدت مع زيادة التركيز 30%، 20%، 10% على التوالي.

الكلمات المفتاحية: النعناع *Mentha piperital*، الوسط الغذائي PDA، فطر *Mucor* spp.، النمو القطري الشعاعي، نسبة التثبيط.

المقدمة:

للعمليات المرضية للنباتات [5]، اشتملت هذه البدائل على التعقيم الشمسي للتربة باستخدام الطاقة الشمسية [6]، واستخدام الاحياء المضادة أو العوامل الحيوية في مجال المقاومة وكذلك استخدام العديد من المستخلصات النباتية في هذا المجال [7].
يمكن أن يعرف النبات الطبي على أنه النبات الذي يحتوي على عضو أو أكثر من أعضائه النباتية أو تحوراتها على زيوتاً عطرية طيارة سواء كانت في صورتها الحرة أو في صورة أخرى تتحول أو تتحلل مائياً، إذ لا توجد هناك حدود فاصلة يمكن استخدامها كأساس للتفرقة بين كل من النباتات الطبية والعطرية حيث أن بعض الزيوت العطرية يكون لها تأثيرات فسيولوجية واستعمالات طبية مثل الزيوت المستخلصة من نبات الزعتر والإكليل [8] التداوي بالأعشاب والنباتات الطبية مهنة لها أصولها وقواعدها فلا بد أولاً من معرفة وتحديد المرض على وجه الدقة حيث أن نجاح العلاج يعتمد على العلاقة بين مقادير الأعشاب المستخدمة وكيفية استخدامها وبين قوة المرض والحالة الصحية للمريض. هناك قواعد أيضاً بالنسبة لعمليات تجفيف وجمع وتخزين الأعشاب لتكون صالحة للاستعمال في التداوي، حيث أن اجزاء النبات المختلفة كالأزهار أو الأوراق أو الجذور أو البذور أو الثمار تستعمل للتداوي [8].
النباتات والأعشاب الطبية التي تثبتت فاعليتها في مجال التداوي تقدر بعدة آلاف، وفي الوقت الحالي قام العلماء بتقسيم النباتات والأعشاب الطبيعية إلى عدة تقسيمات مختلفة نذكر منها على سبيل المثال تقسيم تلك النباتات طبياً لفوائدها الطبية كما أوضحها [9] كالآتي: نباتات مسكنة للألم مثل الشيح، مخفضة لضغط الدم كالكردي، مفيدة لعلاج حصي المرارة كالفرولة والكتان والنعناع، مفيدة لمرض البول السكري كالحلبة والقرع والكرنب، مخفضة للحرارة كالرمان والحنظل والشيح، مطهرة ومضادة للميكروبات كالحلف والعفص، لها تأثير قابض كالرمان والشاي، ملينة كالتمر الهندي والسناميكي وزيت الخروع والترمس، النباتات المستعملة في

إن النباتات في بيئتها الطبيعية محاطة بأعداد كبيرة من الكائنات الدقيقة الممرضة كالبيكتيريا، الفطريات، الفيروسات، النيماوتدا، بالإضافة للحشرات، بالتالي تتخذ النباتات وسائل طبيعية لحماية نفسها تتمثل في إفرازها مواد كيميائية كنواتج ثانوية قد تكون قاتلة أو مثبطة للميكروبات الممرضة، كذلك تغطي الأجزاء النباتية المعرضة للهواء الجوي بطبقات دهنية وشمعية تعمل كمادة عازلة تمنع دخول البيكتيريا والفطريات الممرضة، ومن هذه المواد الكيتين والشموع ونواتج عمليات الأيض الأولية كالأحماض الأمينية والسكريات [1].

المبيدات الكيميائية عبارة عن مادة منفردة أو مخلوطة مع مواد أخرى بغرض إبادة أو منع أو طرد أو تقليل ضرر الآفة المستهدفة مكافحتها. احتلت المبيدات الكيميائية ومنها مبيدات الفطريات دوراً هاماً في مكافحة الآفات الزراعية لسرعة نتائجها في خفض الضرر الناجم عنها وزيادة الإنتاج [2]، إلا أن زيادة تكاليف هذه المواد من جهة والآثار الجانبية الضارة لها من جهة أخرى، بالإضافة إلى ظهور حالات من التسمم والتلوث واختلال التوازن البيئي نتيجة الاستخدام المفرط والعشوائي لهذه المبيدات كأحد عناصر مكافحة المتكاملة ضد الآفات الزراعية [3]، ونظراً لما تحتويه البيئة من تنوع حيوي كبير من الفلورا الطبيعية، فإن الاعتماد على المصادر الطبيعية كالنباتات الطبية ومركباتها في مجال مكافحة مسببات المرضية للنباتات كان وما زال مصدر اهتمام العديد من العلماء في البحوث العلمية المعاصرة [4].

لقد أصبح واضحاً لجميع المختصين مخاطر الاعتماد على المبيدات الكيميائية فقط في مكافحة مسببات المرضية للنباتات، لذا تم العمل على إيجاد بدائل لها ووضع استراتيجية فعالة للمكافحة المتكاملة

على فعالية هذه النباتات وغيرها في مجال مقاومة أمراض النبات الفطرية فإن هذا البحث يهدف للاتي:

الهدف من الدراسة Aim of the study :

- تحضير المستخلص النباتي للنعناع بواسطة الكحول الإيثيلي ذو تركيز 98%.
- اختبار فعالية هذه المستخلص النباتي ضد الفطر *Mucor spp*. المرافق لحبوب الشعير من خلال تأثيرها على النمو الفطري (الشعاعي) والوزن الجاف لهذا الفطر.

الدراسات السابقة Literature Reviews:

لقد استخدمت العديد من النباتات منذ زمن بعيد في الطب الشعبي للتخفيف من حدة الالتهابات ومضاعفاتها الناتجة عن الإصابة بأجناس مختلفة من البكتيريا أو الفطريات الممرضة وذلك من خلال فعلها المثبط لنمو مثل هذه الكائنات، وقد تبث حديثاً من التجارب العديدة أن المواد الكيميائية الدوائية الصناعية دائماً ما تكون ذات تأثيرات جانبية عديدة بجانب آثارها الضارة بعد فترة استخدام الدواء في العلاج، لذلك كان من الأنسب صحياً استخلاص المادة الكيميائية وفصلها من مصادرها الطبيعية وتنقيتها واستخدامها في صناعة أنواع مختلفة من الأدوية والمستحضرات الطبية، كذلك يمكن إضافتها للأطعمة كمواد حافظة وذلك لأنها مواد سليمة وذات فعالية مثبتة لبعض أنواع الكائنات الميكروبية للحفاظ على تلك الأغذية من الفساد، ففي دراسة قام بها [11] أن الزيت الطيار المستخلص من نبات الزعتر أعطى تثبيطاً فعالاً على نمو *Escherichia coli* مقارنة ببقية الزيوت المختبرة الأخرى في دراسته، وفي دراسة أخرى اجراها [12] على بعض نباتات العائلة الشفوية في البرازيل أن تأثير الزيوت الطيارة

لنبات النعناع *Mantha piperita*، ونبات الحبق *Ocimum gratissimum* كانت ذات فعالية تثبيطية عالية وذلك عند استخدامها

كمضادات ميكروبية لبكتيريا *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*. درس [13] أيضاً تأثير المستخلصين المائي والكحولي للزعتر والزنجبيل وإكليل الجبل (الروزماري) على نمو الفطرين *A. Asperigillus flavus*, *parasiticus* حيث بينت نتائج الدراسة فاعلية عالية لكلاً من الزعتر والزنجبيل في تثبيط نمو الفطرين المدروسين مقارنة مع إكليل الجبل الذي أعطى أقل تأثير. أوضحت نتائج الدراسة التي قام بها [14] المتعلقة بالفعالية التثبيطية لعدة مستخلصات نباتية طبيعية من ضمنها مستخلصي الزعتر والنعناع وذلك باستخدام عدة تراكيز مختلفة منها ضد الفطر الممرض *Candida albicans* بأن المستخلصات الكحولية لنباتي الزعتر والنعناع كانت أفضل فعالية من بقية المستخلصات المدروسة حيث وصلت أعلى نسبة تثبيط إلى 100% عند تركيز 100 ملغم/مل للمستخلص الكحولي لنبات الزعتر وأقل نسبة تثبيط وصلت إلى 66.66% عند تركيز 20 ملغم/مل للمستخلص المائي البارد لنبات النعناع، أما التراكيز 80، 100 ملغم/مل للمستخلص الكحولي لنبات الزعتر و التركيز 100 ملغم/مل للمستخلص الكحولي لنبات النعناع فقد أظهرت فعالية مساوية للمضاد الفطري Nystatin المستخدم بتركيز 2 ملغم/مل. في دراسة حديثة مماثلة أجرتها [15] حول فعالية بعض المستخلصات المائية والكحولية للثوم والبصل والزنجبيل ضد النمو الخضري الفطرين *C. albicans* و *Trichophyton sp*. في مدينة مصراته باستخدام عدة التراكيز 20، 30، و 40 ملغم/مل، حيث أظهرت النتائج أن المستخلص الكحولي لجميع العينات المستخدمة كان أكثر فعالية في تثبيط نمو الفطرين مقارنة بالمستخلص المائي. وأشارت النتائج أيضاً إلى وجود علاقة عكسية بين التركيز المستخدم من المستخلصات الكحولية للزعتر ونسبة تثبيط الفطر *C. albicans*، بذلك فقد سجلت أعلى نسبة للتثبيط عند التركيز 20

علاج النمش والكلف كالبقدونس والنعناع وجوز الطيب والبصل، طاردة للديدان مثل قشر الرمان وثمار الحنظل والشيح والترمس، قادرة على خفض نسبة السكر بالدم مثل ورق التوت وورق الصفصاف والكرنب والبصل وخميرة البيرة والبقول الأخضر.

الزيوت الطيارة volatile oils هي عبارة عن مواد لها روائح مميزة وهي تتطاير في درجات الحرارة العادية لذا لها أسماء مختلفة مثل: زيوت عطرية (Aromatic oils) لها رائحة مميزة، زيوت إيثيرية (Ethereal oils) لأنها تذوب في الأثير، زيوت أساسية (Essential oils) لأنها تمثل أساس (essences) الجزء والرائحة الموجودة في النبات [10]. هذه الزيوت تعتبر إحدى منتجات الأيض العضوي الغذائي وهي من أهم المنتجات الثانوية بسبب الإفرازات الأولية التي تفرزها أو تنتجها طبيعياً بعض النباتات الخاصة والمعروفة باسم النباتات العطرية (Aromatic plants) والتابعة لأهم العائلات والفصائل النباتية مثل العائلة المركبة (Astraceae) والشفوية (Lamiaceae or Labiateceae) واللوارسية (Lauraceae) والميرتاسية (Myrtaceae) والصنوبرية والوردية (Pinaceae & Posaceae) والخيمية (Umbelliferaceae)، وهذه الزيوت تكون بالحالة السائلة عند درجة الحرارة العادية ولها روائح مميزة على الأجزاء النباتية المحتوية عليها، فالزيوت العطرية تختلف عن الزيوت المعدنية Mineral oils والزيوت الثابتة Fixed oil فالزيوت المعدنية ثلاثية الجلسريدات Try glyceride oils أما الزيوت العطرية فهي خليط معقد لعدد من المركبات وتتكون من قسمين أساسيين هما الألدريد كربون الذي يكون الجزء الأساسي من الزيت العطري ومعه مركبات أكسجينية في صورة أمضاض أو كحولات أو أسترات أو دهيدات أو كيتونات وقد يحتوي الزيت العطري على قليل من المركبات الكبريتية أو النيتروجينية التي تؤثر في رائحة الزيوت إلى حد كبير [10].

للزيوت الطيارة عدة خواص من أهمها عديمة اللون، لها رائحة عطرية مميزة، سائلة في درجات الحرارة العادية أو العالية وبعضها صلب مثل الكافور، تتسرب بالتبريد مثل زيت النعناع والزعتر، أخف من الماء ماعدا زيت القرفة والقرنفل فهي أثقل من الماء، لها معامل انكسار ولها خاصية الدوران الضوئي، لا تذوب في الماء وإنما تذوب في المذيبات العضوية مثل الكلوروفورم والإيثر والكحول والأسيتون. ولهذه الزيوت أيضاً أهمية كبيرة من بينها طاردة لبعض الحشرات وبالتالي تمنع خراب الأزهار والأوراق، جاذبة لحشرات أخرى مساعدة في عملية تلقيح الأزهار، مزيلة لنواتج العمليات الحيوية في النبات وطردها خارج أنسجة النبات، المساعدة على التئام الجروح في النبات، تستعمل كتوابل وبهارات للأطعمة مثل جوز الطيب وحب هان والقرنفل والكمون، تكسب بعض الأدوية طعماً مقبولاً ورائحة مقبولة مثل زيت النعناع وزيت الياسمين، طاردة للغازات مثل زيت التمر، تستعمل كمواد مطهرة (Antiseptic) للميكروبات، مخدرة للألام الأسنان واللثة مثل زيت القرنفل، تدخل في صناعة المواد الصيدلانية كالمعاجين والصابون ومواد التجميل والعمور وكذلك في صناعة الحلويات مثل زيت الورد والياسمين [10].

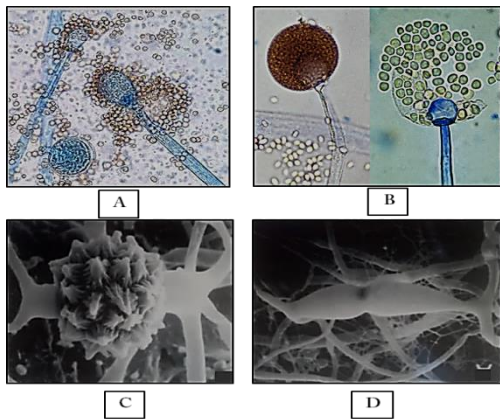
في ليبيا توجد العديد من النباتات الطبية والعطرية والتي من بينها نبات النعناع *Mentha piperita*، الزعتر البري *Thymas vulgaris*، والإكليل الجبلي *Rosmarinus officinalis* وغيرها من النباتات الطبية الأخرى، ولكن نظراً لقلة الدراسات

Mucor ramanmanus في تحضير المضاد الحيوي الفوسادين Fucidin [18].

تضم الفصيلة حوالي 20 جنساً، حيث يعتبر جنس *Mucor* من أهمها، وهو واسع الانتشار في الطبيعة ويحتوي على حوالي 60 نوعاً معظمها تعيش معيشة رمية على الخبز وأنواع المربيات والأجبان والمخللات القديمة، وكذلك ينمو على المواد الغذائية وعلى الجلود والورق المخزنة في الظروف البيئية الرطبة، ويوجد كذلك بصورة واسعة في التربة الغنية بالبدال ويتكون الجسم الخضري للفطر من خيوط فطرية (هيفات Hyphae) طويلة أسطوانية الشكل ومتفرعة تفرعاً كثيراً، ينمو الغزل الفطري أفقياً في كل الاتجاهات وزاحفاً فوق المادة العضوية التي يعيش عليها وينشأ من بعض المناطق أفرع تنمو إلى الأسفل مختزقة الوسط الغذائي ويتكون هذا النوع من هيفات قصيرة كثيرة التفرع رقيقة الجدران وذات أطوار دقيقة يطلق عليها اسم هيفات الامتصاص، ويعتبر هذا النوع من الفطريات متباينة الثالوس (Heterothallic) فلا يحدث التزاوج الجنسي إلا بين خيطين كل منهما مستمد من غزل فطري مميز. [19]

التركيب الجسدي للفطر:

نو غزل فطري غير مقسم (coenocytic mycelium) ولا يحمل أشباه جذور (rhizoids)، الحوامل الجرثومية (sporangiohores) تكون متفرعة أو غير متفرعة تنتهي بعويم (columella) يحاط به الحواظ الجرثومية (sporangia) توجد بداخلها الجراثيم الحافظة (sporangiospores)، يتكاثر الفطر لاجنسياً بواسطة هذه الجراثيم اللاجنسية بينما يتكاثر جنسياً بانتاج الجراثيم الزيجية أو الزيجوت (Zygosporos) (شكل 2) [20-21].



شكل (2). فطر الميوكر (A+B) التكاثر اللاجنسي (حوامل الجراثيم الحافظة، الحواظ الجرثومية، الجراثيم الحافظة) (C+D) التكاثر الجنسي (الخلايا المعلقة suspensor cell واللاقحة. [21] zygote)

الجزء العملي: Experimental work:

عزل الفطر المدروس (الميوكر):

تم عزل الفطر المدروس المرافق لحبوب الشعير باستخدام طريقة أطباق الأجار (Agar Plate Method) على وسط البيطاس دكتسروز أجار (Agar Potato Dextrose Agar) (PDA)، حيث تم تقسيم الحبوب المعدة لتجربة العزل إلى مجموعتين بواقع 200 حبة لكل مجموعة، المجموعة الأولى تم تعقيمها سطحياً وذلك بغمرها لمدة ثلاثة دقائق بمحلول هيبوكلوريت الصوديوم بتركيز 1%، بعدها غسلت الحبوب بالماء المقطر المعقم ثلاث مرات وجففت على ورقة ترشيع معقمة، أما المجموعة الثانية فقد تم غمرها بالماء المقطر المعقم فقط لمدة ثلاثة دقائق ثم تجفيفها بواسطة

ملغم/مل بنسبة 93% بدون فرق معنوي مع المضاد Nystatin. بينما أظهرت المستخلصات المائية للزنجبيل نسبة تثبيط لنمو الفطر *C. albicans* عند التراكيز المستخدمة بلغت 30%، 66%، 51% على التوالي ويفرق معنوي عال جداً مع المضاد Nystatin.

المواد وطرق البحث :Materials and Methods:

أجريت هذه الدراسة المختبرية في معمل الفطريات التابع لقسم الأحياء الدقيقة - كلية العلوم جامعة مصراتة. النبات المدروس:

استخدمت في هذه الدراسة أوراق نبات النعناع (*Mantha piperita*)، حيث تم الحصول عليها من الأسواق التجارية بمدينة مصراتة- ليبيا، ومن تم تصنيفها بالاعتماد على الصفات المورفولوجية للنبات (أوراق، سيقان، أزهار) وباستخدام كتاب الفلورا الليبية [16]

النعناع : *Mantha piperita*

نبات عشبي أخضر معمر وقصير، غزير التفرع وموطنه الأصلي أوروبا وأوراقه بسيطة وذات أعناق قصيرة جداً (شكل 1)، الأزهار بيضاء مصفرة في عناقيد طرفية ومنتظمة في شكل نورات وسبقاته مضلعة، ويصل ارتفاعه إلى حوالي 30 سنتيمتر أو أكثر ويمكن أن تبقى في الأرض إلى ثلاث سنوات ونموه يكون زاحف أو قائم، وحافة أوراقه مسننة لونها أخضر غامق أو فاتح مشوب باللون الأحمر البنفسجي، أزهاره صغيرة الحجم محمولة على حامل طويل ومتفرع، الثمار صغيرة تحتوي على أربع بذور لونها بني مسود كروية الشكل نوعاً ما، والأنواع المختلفة وأصنافها العديدة قد تختلف اختلافاً متبايناً في التركيب والمظهر الخارجي نباتياً والمحتوى الداخلي كيميائياً [10]. يستخدم النعناع كمقوي للقلب، مضاد للروماتيزم، مضاد للإغماء ومضاد لالام الأعصاب وضعف القلب [17]، وكمعطر في الاستعمالات الصيدلانية، ويستعمل في أمراض الحساسية كالحكة ومظهر داخلياً للميكروبات، وله العديد من الاستخدامات الأخرى. [10]



شكل (1). أوراق نبات النعناع. [10] *Mantha piperita*

فطر الميوكر : *Mucor spp.*

الاهمية الاقتصادية للميوكر : *Mucor spp.*

يعتبر فطر *Mucor* من الفطريات التي تنمو مترمة على بقايا النباتات وخاصة الغنية بالنشويات، بعض أنواعه تسبب الفساد وخاصة المنتجات الزراعية من فواكه وخضروات، والبعض الآخر يتطفل على الإنسان والحيوان مسبباً مرض الرئة الذي يعرف بمucoormycosis وعلى الصعيد الإيجابي فإن بعض الفطريات تستعمل في كثير من المجالات الصناعية الطبية مثلاً يستخدم فطر

Mucor spp بعمر 3-4 أيام بواسطة ثاقب فليبي معقم، ووضع بشكل مقلوب على سطح المستنبت في منتصف طبق وحضنت الأطباق عند درجة حرارة 25 ± 2 م°، تم سجل معدل النمو القطري (الشعاعي) للفطر بعد 3 أيام من التحضين من خلال قياس قطر متعامد لمستعمرة نمو الفطر باستخدام المسطرة.

دراسة تأثير مستخلص نبات النعناع على الوزن الجاف لفطر *Mucor spp.:*

تم تحضير وسط البطاطس السائل (PDB Potato Dextrose Broth) ووضع في دورق مخروطي سعة 1000 مل وتم تعقيمه بجهاز التعقيم الأوتوكلاف (Autoclave) عند درجة 121 م° وضغط جوي 1.5 بار ولمدة 15 دقيقة، بعدها وزعت الكميات التالية من التركيز الاساس لمستخلص النعناع 0، 10، 20، 30 مل انفرادياً في دوارق زجاجية مخروطية سعة 250 مل، تم اضيف لها 100، 90، 80، 70 مل من مستنبت البطاطس السائل (PDB) المعقم والمبرد عند درجة حرارة 45 م° تم مزجت جيداً للحصول على بيئات غذائية تحتوي على النسب المئوية التالية 0%، 10%، 20%، 30% من المستخلص على التوالي، لحتت جميع الدوارق بأقراص قطرها 8 مم من مزرعة الفطر *Mucor spp* بعمر 3-4 ايام بواسطة ثاقب فليبي معقم وبواقع ثلاثة مكررات لكل تركيز، ثم وضعت الدوارق الملقحة في حاضنة عند درجة حرارة 25 ± 2 م° لمدة ثلاثة ايام (شكل 3)، وبعد انتهاء فترة التحضين تم حساب الوزن الجاف للفطر المدروس بعد امرار المزرعة السائلة خلال قمع بخنر معقم وحاوي على ورقة ترشيح (Filter paper, 125mm-Italy) معقمة ومعروفة الوزن (شكل 4)، وبعدها نقلت ورقة الترشيح مع الغزل الفطري الى فرن كهربائي بدرجة حرارة 45 م° لمدة 24 ساعة وبعدها تم حساب الوزن الجاف للفطر باستخدام الميزان الحساس.



شكل (3). دوارق زجاجية مخروطية 250 مل تحتوي على وسط PDB معاملة بالمستخلصات النباتية للنعناع نامي بها الغزل الفطري لفطر *Mucor spp* عند درجة حرارة 25 ± 2 م° لمدة 3 ايام.



شكل (4). جهاز تفريغ الضغط مربوط بقمع بخنر به ورقة ترشيح معقمة معلومة الوزن.

ورق ترشيح معقم، ثم نقلت الحبوب المعقمة وغير المعقمة باستخدام ملقط معقم إلى أطباق بتري بقطر 9.0 سم تحتوي على وسط PDA وبواقع خمسة حبوب لكل طبق وبمسافات متساوية بعضها عن بعض وحضنت تحت درجة حرارة 25 ± 2 م° ولمدة 3-4 أيام، بعدها فحصت المستعمرات النامية باستخدام المجهر الضوئي المركب وتم تشخيص الفطر المعزول وهو فطر *Mucor spp* من خلال الصفات المورفولوجية للمستعمرات النامية من حيث الشكل واللون والصفات المجهرية والمزرعية للفطر على الشرائح الزجاجية وبالاستعانة بالمراجع العلمية المتخصصة التي أوردها كل من [18]، [22].

حفظ وإدامة عزلات الفطر المدروس:

تم تحضير وسط البطاطس الصلب المائل (PDA Slant) المعقم في أنابيب سعة 15 مل مزودة بسدادة قطنية محكمة الإغلاق وتم تلقيح ثلاثة أنابيب بالفطر المدروس وتم حفظ المزارع في درجة حرارة 4 م° وتم إدامة المزارع بإعادة زراعتها (sub-culture) على نفس الوسط عند الحاجة.

الاستخلاص الكحولي لأوراق نبات النعناع:-

غسلت أوراق النباتات ثم جففت في الظل في البداية ووضعت في الفرن الكهربائي عند درجة حرارة 45 م° لمدة 24 ساعة، وباستخدام هاون خزفي سحقت الأوراق على هيئة مسحوق ناعم (Powder) ووضع المسحوق النباتي في كأس زجاجي نظيف ومعقم سعة 250 مل وأضيف له الكحول الأيثلي ذو التركيز 98% وتم تعظية الكأس بإحكام وترك لمدة 7 أيام مع التقليب المستمر من وقت لآخر، وبعدها تم التقطير باستخدام جهاز التقطير العادي للحصول على مستخلص نقي بعدها وضع في أطباق بتري معقمة وتركت لمدة 3 أيام لكي يتم التخلص من الكحول الزائد، ووزن 10 جرام من المسحوق المتبقي من النعناع ووضع في دوارق زجاجية معقمة تحتوي على 1000 مل ماء معقم (كمحلول مائي يحتوي على 10000 جزء بالمليون من مستخلص أوراق النعناع والذي استخدم كتركيز أساس في تحضير التراكيز المطلوبة من المستخلص) بعدها وضع المنقوع على مصدر حراري عند درجة حرارة 40-45 م° لمدة ساعة واحدة، بعد ذلك ترك لمدة 24 ساعة ورشح السائل الناتج من خلال ورق ترشيح (2. Whattman No) باستخدام قمع بخنر وجهاز التفريغ، ثم أخذ المستخلص ومرر من خلال مرشح بكتيري (Millipore 0.4m) ليكون المستخلص معقماً وجاهزاً للإضافة إلى المستنبتات الغذائية.

دراسة تأثير مستخلص نبات النعناع على النمو القطري لفطر

Mucor spp.:

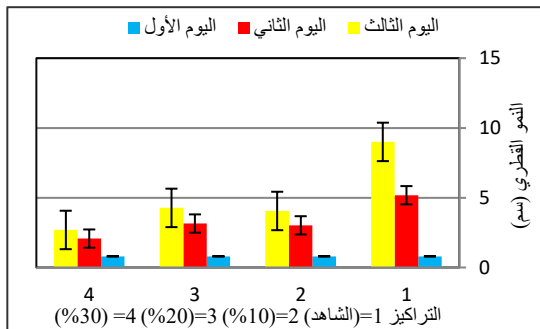
تم تحضير مستنبت آجار البطاطس (PDA) ووضع في دورق مخروطي سعة 1000 مل وتم تعقيمه بجهاز التعقيم الأوتوكلاف (Autoclave) عند درجة 121 م° وضغط جوي 1.5 بار ولمدة 15 دقيقة، بعدها وزعت الكميات التالية من التركيز الاساس لمستخلص النعناع 0، 10، 20، 30 مل انفرادياً في دوارق زجاجية مخروطية سعة 250 مل، ثم أضيف لها 100، 90، 80، 70 مل من مستنبت آجار البطاطس (PDA) المعقم والمبرد عند درجة حرارة 45 م° وقيل تصليه بقليل مزجت جيداً للحصول على بيئات غذائية تحتوي على النسب المئوية 0%، 10%، 20%، 30% من المستخلص على التوالي، بعدها صببت المستنبتات في أطباق بتري معقمة قطر 9.0 سم وبواقع ثلاثة مكررات لكل تركيز، وبعد تصلب المستنبت تم نقل قرص قطره 8 مم من مزرعة الفطر

30% من هذا المستخلص النباتي ان تخفض من معدل الوزن الجاف للفطر مقارنة مع الشاهد، حيث احتل التركيز 30% ايضاً المرتبة الاولى في عملية الخفض وكان الوزن الجاف للفطر اثناء المعاملة به 0.63 جم، يليه التركيز 20% حيث كان الوزن الجاف للفطر 0.72 جم، في حين جاء التركيز 10% في المرتبة الاخيرة لعملية الخفض فأعطى الوزن الجاف للفطر 0.90 جم، ومن هنا يتضح بأن تأثيرات المستخلص النباتي المثبطة لنمو الفطر والمخفضة للوزن الجاف له تصاعدت مع زيادة التركيز 30%، 20%، 10% على التوالي، وهذا يتفق مع نتائج سرحان، (2006) التي وجد فيها ان التركيزين 30%، 20% أعطيا أفضل تأثيرات مضادة تجاه الفطريات التي قام بدرستها والمذكورة سابقاً [24]، [26].

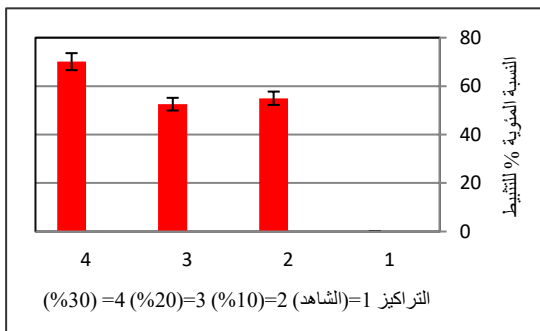
جدول (1). تأثير مستخلص نبات النعناع على النمو القطري لفطر *Mucor spp.*

النسبة المئوية للتثبيط	النمو القطري لفطر <i>Mucor spp.</i> بالسنتيمتر (سم)			التركيز
	اليوم الثالث	اليوم الثاني	اليوم الأول	
0.00	9.00 ^{aa}	5.18 ^{aa}	0.80	الشاهد
55.00	4.05 ^{aa}	3.02 ^{aa}	0.80	10%
52.55	4.27 ^{ab}	3.15 ^{aa}	0.80	20%
70.11	2.69 ^{ad}	2.07 ^{aa}	0.80	30%

كل رقم في الجدول يمثل ثلاث مكررات. المتوسطات العمودية التي تحمل نفس الأحرف الأبجدية لا تختلف معنوياً فيما بينها، عند مستوى معنوية 5%.



شكل (5). تأثير مستخلص نبات النعناع على النمو القطري لفطر *Mucor spp.*



شكل (6). تأثير مستخلص نبات النعناع على النسبة المئوية (%) لتثبيط الفطر *Mucor spp.*

التحليل الاحصائي Statistical Analysis:

استخدم التحليل الإحصائي (SPSS-version 15) لتحليل النتائج المتحصل عليها. تم حساب أقل فرق معنوي (Least Significant Difference) عند مستوى معنوية 5%. تم استخراج النسبة المئوية لتثبيط النمو الشعاعي (القطري) للفطر *Mucor spp.* ((PIRG عند المعاملة بالمستخلصات النباتية حسب طريقة [23] وكما يلي:

$$PIRG = \frac{C - T}{C} \times 100$$

C = Control (الشاهد)

T = Treatment (المعاملة)

النتائج والمناقشة Results and Discussion:

تأثير مستخلص نبات النعناع على النمو القطري لفطر *Mucor spp.*

يتضح من الجدول (1) والشكل (5) بأن هناك تأثيرات مثبطة لروائح نبات النعناع على النمو القطري لفطر *Mucor spp.* على وسط PDA وفي جميع التركيزات (10%، 20%، 30%) مقارنة مع الشاهد، حيث أدت جميع تراكيز المستخلص النباتي إلى خفض معنوي في معدل النمو القطري للفطر إذ تراوحت النسبة المئوية عموماً ما بين 52.55% إلى 70.11%، واحتل التركيز 30% المرتبة الأولى في عملية الخفض حيث كانت النسبة المئوية للتثبيط 70.11%، يليه التركيز 10% بنسبة تثبيط 55.00%، في حين كان التركيز 20% في المرتبة الأخيرة وبنسبة تثبيط 52.55% (الجدول 1 والشكل 6)، أما بالنسبة للنمو القطري للفطر فكان 2.69 سم عند استخدام التركيز 30%، و 4.05 سم عند التركيز 10% و 4.27 سم عند التركيز 20% (الجدول 1 والشكل 5)، وهذا يتفق مع ما أوضحه [24] وكذلك مع [25] من أن أوراق نبات النعناع تحتوي على مركبات مضادة لنمو الفطريات منها بعض الجليكوسيدات (Glycosides) والزيت الطيار Pal Yellow Oil والمانيثول والتربينات والمشتقات التربينية أهمها (الليمونين والبيبينين) التي استطاعت أن تثبط بعض الأنواع الفطرية التي درسها وهي *Fusarium solani*, *Dreschlera specifera*, *Curvularia lunata*, *Alternaria alternate*, *Ascochyta fabae*, *Ascochyta fabae*. كما تتفق أيضاً مع دراسة أخرى اجراها [26] لمعرفة مدى تأثير تداخل مستخلص أوراق النعناع مع ثلاثة من الفطريات المضادة هي *Mentha longifolia*, *Penicillium pinophilum*, *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma pseudokoningii* ضد ستة أنواع فطرية ممرضة مرافقة لبذور الشعير وهي *Fusarium solani*, *Dreschlera specifera*, *Curvularia lunata*, *Alternaria alternate*, *Ascochyta fabae*, *Ascochyta fabae* حيث اظهرت الدراسة نتائج ايجابية لمستخلص نبات النعناع في تثبيط جميع الفطريات المدروسة وبدرجات متفاوتة.

تأثير مستخلص نبات النعناع على الوزن الجاف لفطر *Mucor spp.*

يبين الجدول (2) والشكل (7) بأن هناك تأثيرات مثبطة للتركيز المختلفة لنبات النعناع على الوزن الجاف لفطر *Mucor spp.* وبدرجات متفاوتة، حيث استطاعت جميع التركيزات 10%، 20%

المتوفر في السوق المحلية لمدينة مصراته -ليبيا في تثبيط نمو الفطر المرضي *Mucor spp.* حيث يتضح من النتائج المتحصل عليها من هذه الدراسة ان الرواشح النباتية لنبات النعناع وبتراكيزها المختلفة السالفة الذكر استطاعت أن تخفض معنوياً من النمو الفطري (الشعاعي) للفطر *Mucor spp.* مقارنة مع الشاهد على الوسط الغذائي الصلب PDA ، وينسب مئوية مختلفة للتثبيط تراوحت من (70.11%، 52.55%، 55.00%) على التوالي مع كل تركيز، ايضاً اظهرت النتائج المتحصل عليها ان رواشح نبات النعناع وبتراكيزاتها المختلفة استطاعت ان تخفض من معدل الوزن الجاف للفطر المدروس مقارنة مع الشاهد وبدرجات متفاوتة وان عملية الخفض تصاعدت مع زيادة التركيز. وقد يعزى التأثير الفعال لرواشح نبات النعناع المدروس عن طريق إنتاجها لمواد مثبطة لنمو هذا الفطر المرضي، ومن هذه المواد الفعالة: الزيوت العطرية الطيارة التي تحتوي على مواد فعالة مثل الجلايكوسيدات (Glycosides)، والمانيثول والتربينات غيرها.

التوصيات: Recommendations:

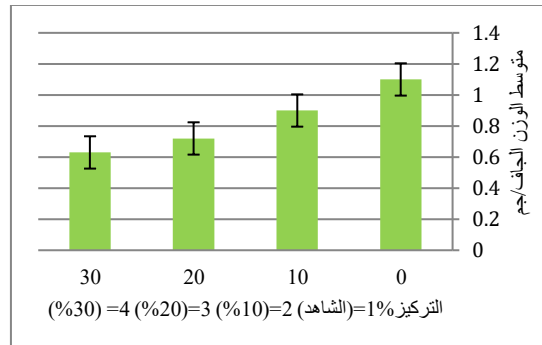
من خلال النتائج المتحصل عليها من الدراسة الحالية فانه يوصى بالآتي:

- إجراء المزيد من الدراسات على نبات النعناع للتعرف على مدى قدرته في علاج العديد من الأمراض الناجمة عن الاحياء الدقيقة الفطرية والبكتيرية المختلفة.
- إجراء دراسات أخرى مماثلة على نباتات طبية وعطرية أخرى.
- إضافة الزيوت النباتية للنعناع وما تحتويه من مواد فعالة الى المستحضرات الدوائية للتقليل من استخدام المضادات الحيوية ذات التأثير الخطير على الصحة العامة.
- فحص وتحليل الرواشح النباتية للنعناع كيميائياً لمعرفة مكوناتها بالتحديد.

متوسط الوزن الجاف للفطر/جم	% التركيز
1.10aa	(0% الشاهد)
0.90aa	10 %
0.72ab	20 %
0.63ad	30 %

جدول (2). تأثير الرواشح النباتية للنعناع على الوزن الجاف للفطر . *Mucor spp.*

كل رقم في الجدول يمثل ثلاث مكررات. المتوسطات العمودية التي تحمل نفس الأحرف الأبجدية لا تختلف معنوياً فيما بينها، عند مستوى معنوية 5%.



شكل (7). تأثير مستخلص نبات النعناع على الوزن الجاف للفطر *Mucor spp.*

الخلاصة: Summary:

هدفت الدراسة الحالية لاختبار الفعالية التضادية لثلاثة تراكيز مختلفة (10%، 20%، 30%) من مستخلص نبات النعناع الطبي

المراجع

6. حسن، محمد صادق، (1989). استخدام الطاقة الشمسية في بستر التربة الزراعية بالعراق، مجلة وقاية النبات العربية، 7(2): 122 – 127.
7. سرحان، عبدالرضا طه وعبد الأمير سمير سعدون، (2003). مكافحة الحويبة للفطور الممرضة المرافقة لحبوب الرز، مجلة وقاية النبات العربية، 21(2): 102 – 108.
8. Beuchat, L. (1976). Sensitivity of *Vibrio parahaemolyticus* to spices and organic acids. 41: 899.
9. أبو الحجاج، يوسف (2005). وصفات شيخ العشابين، دار اللطائف للنشر. سرحان، عبدالرضا طه وعبد الأمير سمير سعدون، 2000، دراسة تأثير بعض المستخلصات النباتية في الفطريات المرافقة لبذور الشعير المخزونة، المجلة العراقية للعلوم، 41(2): 122-139.
10. عميرة، إسراء (2005). علم العقاقير الطبية النظرية والعملية دار البداية للطبعة الأولى، الأردن .
11. Hammer, K. A., Carson, C.F., and Riley, T.V. (1999). Antimicrobial activity of essential oils and other plants extracts Journal of Applied Microbiology, 86 : 985 – 990.
12. Carvalho, J.C. T.; Vignoli, V. V.; Ujkkawa, K. and Neto, J.J. (2002). Antimicrobial activity of essential oils from plants used in brazilian popular medicine. Phytomedicine. 22(5): 125 – 129.
13. صلاح، عمر احمد (2011). تأثير المستخلص المائي والكحولي لبعض التوابل في نمو الفطرين *Aspergillus*
1. Tiaz, L. and Zeiger, E. (1991). Plant Physiology, I .ed. The Benjamin/ cummings publishing company, Inc.UK.
2. الشعبي صلاح ، جروج ملوحي ولينا مطرود، (2001). تقدير فاعلية المبيدين الفطريين بينسيكورون وتولكلوفس - ميثيل في مكافحة الفطر *Rhizoctonia solani* على البطاطا/البطاطس. مجلة وقاية النبات العربية، 19(2): 101 – 106.
3. عبدالمنعم، عبدالله محمود ومحمد رفعت رسمي، (2000). الفطور والبكتيريا المصاحبة لبذور المانجروف (*Avicennia sp.*) وبعض أساليب مكافحتها، مجلة وقاية النبات العربية، - 28 (1): 18 34.
4. Srivastava, S.I. and U.I. Kediya. (1984). Effect of fern extracts on conidial germination and germ tube growth of tow pathogenic fungi. Indian phytopathology, 137: 561 – 563 .
5. Sarhan, A. R.T. and F.M. Sharif. (1986). Integrated control of Fusarium wilt of pepper. Acta Phytopathtopathologica Academicae Scientiarum Hungarica, 21(1-2): 123 – 126.

21. Chowdhary A, Perfect J, de Hoog GS (2015). Black molds and melanized yeasts pathogenic to humans. Cold Spring Harb Perspect Med.
22. Nelson, P. D. ; Tousson, T. A. and Marasas C. A. (1982). *Fusarium* species. An illustrated manual for identification. The Pennsylvania state Univ Pres.
23. Jinantana, J. and Sariah . M. (1997). Antagonistic effect of Malaysian isolates of *Trichoderma harzianum* and *Gliocladium or Sclerotium rolfsii*. *Pertanika, J. Tropical Agriculture science*. 20 : 38 – 41 .
24. سرحان، عبدالرضا طه وعبد الأمير سمير سعدون، (1999). كفاءة مستخلص أوراق النعناع البري، *Mentha longifolia* (L) في التأثير على نمو الفطر *Fusarium solani*، مجلة القادسية، 20 – 12 : 4(1).
25. سرحان، عبدالرضا طه ومجاد كاظم الشبلي، (2000). مكافحة الأحيائية للفطرين *Fusarium solani* و *Curvularia lunata* المرافقة لبذور الرز، مجلة الزراعة العراقية. 5(6): 30-39
26. سرحان، عبدالرضا طه وعبد الأمير سمير سعدون، (2000). دراسة تأثير بعض المستخلصات النباتية في الفطريات المرافقة لبذور الشعير المخزونة، المجلة العراقية للعلوم، 41(2): 122-139.
14. الساعدي، هادي ونجم عبد الله الزبيدي وابتهاال قاسم دنيوس (2012). الفاعلية التنبيطة للمستخلصات النباتية الخام لنبات الزعتر *vulgaris Thymus* والنعناع *Mentha piperita* ضد *Candida albican*، مجلة ديالي للعلوم الزراعية، 4(1): 128-139.
15. الأحمر، عائشة حسين (2020). دراسة فعالية بعض المستخلصات النباتية ضد الفطرين *C. albicans* و *Trichophyton* sp. في مدينة مصراته. رسالة ماجستير. قسم علوم الحياة شعبه الأحياء الدقيقة. الأكاديمية الليبية - مصراته .
16. Jafri S.M.H and El Gadi, (1985). 20th January, department of Botany. Tripoli.
17. المسعودي، سالم (2005)، النباتات الطبية، الطبعة الأولى، دار الكاف للطباعة، تونس .
18. البوني، عبدالعزيز محمد (1993)، أساسيات الفطريات العملي، الطبعة الأولى، مطبوعات جامعة طرابلس، ليبيا .
19. الرحمة، عبدالله بن ناصر (1993)، أساسيات علم الفطريات الطبعة الثالثة، مطابع جامعة ملك سعود، الرياض. 553 :
20. المرغاي، سعد شحاته محمد (1994). مقدمة في علم الفطريات، منشورات جامعة عمر المختار، البيضاء.

Study Effect of the *Mentha piperital* extract on the Growth of *Mucor* spp.

1. Adel Omar Ashour*

Department of Biology, Microbiology

Faculty of Science, Misurata University

Email:a.ashour@sci.misuratau.edu.ly

2. Nuri Mohammed Eltajouri**

Department of Biology, Botany branch,

Email:n.eltajouri@misuratau.edu.ly

Abstract: This study was carried out in the laboratory of Microbiology at faculty of science, Misurata University to know the effect of *Mentha piperital* extract on the growth of *Mucor* spp. that associated with Barley grains in Misurata city. The study showed that all different concentrations (10%,20%,30%) of *Mentha piperital* extract were significantly able to decrease the radial growth of the pathogenic fungus " *Mucor* spp. " on the PDA comparing with the control and the percentage of inhibition generally was between 52.55% to 70.11 % and the concentration of 30% was first ranked in the decreasing of the growth, and percentage of the inhibition was 70.11 % , followed by both concentrations 10% , 20% which came in the second place with similar percentages of inhibition showing 55.0%, 52.55% when used 10% and 20% respectively. In regard to the radial growth of the fungus, it was 2.69cm, 4.05cm and 4.27cm when the concentrations of 30%, 10% and 20% were respectively used comparing with the control that reached 9.0cm of the radial growth of a tested fungus in the third day of the incubation. With regard to the effect of *Mentha piperital* extracts on the dry weight of *Mucor* spp., the study also exhibited that the dry weight of the fungus was significantly decreased with all used concentrations of the plant extract with different degrees comparing with the control. The concentration of 30% was in the first position giving 0.63g of the dry weight, then 20% with the dry weight of 0.72g, and lastly the 10% was in the final position showing 0.90g of the fungal dry weight, the obtained results clearly showed that the dry weight of the fungus decreased gradually with the increase of the used concentration 30%,20%, 10% respectively.

Keywords: *Mentha piperital*, PDA, *Mucor* spp., Radial growth, inhibition percentage.