مجلة جامعة مصراتة للعلوم الزراعية
Journal of Misurata University for Agricultural Sciences
المجلد الرابع العدد الثاني ديسمبر 2023م
عدد خاص بالمؤتمر العلمي الثالث للعلوم الزراعية
ISSN 2708-8588

تأثير المستخلصات الكحولية للزعتر والحرمل والزنجبيل علي نمو الفطر Asprgillus niger

أمال علي حنيش، إبراهيم محمد دغمان ، عادل عمر عاشور
قسم الأحياء. كلية العلوم. جامعة مصراتة. مصراتة. ليبيا
amal.henaish@gmail.com

استلم البحث بتاريخ 2023/08/01م اجيز بتاريخ 2023/11/11 نشر بتاريخ 2023/12/31

الملخص

تضمنت الدراسة اختبار الفعالية التثبيطيه لمستخلصات كحولية لثلاثة أنواع من النباتات الطبية (الزعتر، الحرمل والزنجبيل) وبتركيزات مختلفة (25، 50، 75 و100 ملجم/مل) على نمو فطر *Asprgillus niger* قورنت النتائج مع المضاد الفطري Ketoconazole أظهرت النتائج أن المستخلص الكحولي لعينات الزعتر ثبطت الفطر *A. niger* تثبيطاً كاملاً حيث بلغت نسبة التثبيط (100%) للمستخلص عند التركيز100 ملجم/مل، بينما بلغت نسبة تثبيط المضاد ketoconazole (80%).

الكلمات المفتاحية: مستخلص كحولي، نبات الزعتر– نبات الحرمل – نبات الزنجبيل– *Aspergillus niger* -- Ketoconazole

1. المقدمة

تنتشر الفطريات بصورة واسعة في الهواء والتربة وتكون بذلك مصدراً للتلوث والإصابة للإنسان والحيوان والنبات، حيث تم وصف حوالي 70 نوعا منها من قبل Roper and Fennel, (1977) وهناك 19 نوعاً سجّلت على أنّها تحدث إصابة في الانسان (Koneman *et al.*, 1979). من أهم الأجناس المرضة للإنسان جنس *Aspergillus* اذ تُعتبر بعض الأنواع التابعة لجنس *Aspergillus* ممرضة انتهازية (Opportunistic pathogenic) وتعد الإصابة بالأنواع المختلفة أهمها *niger*، *flavus* و *fumigatus* من أكثر الإصابات الفطرية انتشاراً، اذ تحدُث الإصابة بها نتيجةً لاستنشاق الأبواغ التي تنتشر بكثرة في الهواء والتربة وبالتالي تتمكن من الوصول الي الجهاز التنفسي نتيجة لصغر حجمها مسببة داء الرشاشيات الرئوي (PulmonaryAspergillosis) (إسماعيل والكفري، 2008). أدى اكتشاف المضادات الحيوية إلي تراجع معدل الإصابة بالأمراض بشكل كبير جداً، حيث ساعدت الأدوية المضادة للأحياء المجهرية في معالجة الكثير من المشاكل الصحية التي تسببها الأحياء المجهرية، ولكن بسبب سوء استخدام المضادات الحيوية أو الإفراط في استخدامها من قبل الإنسان أدى ذلك إلى ظهور سلالات من البكتيريا والفطريات المقاومة التي قد تنتج مواد تعطّل فعل المضادات الحيوية المصنعة كيميائياً وتغيّر من قدرتها لاختراق هذه الميكروبات (Ali *et al.*, 1995). مع زيادة ظهور هذه السلالات المقاومة للمضادات الحيوية لجأ الأنسان إلي إيجاد حلول بديلة لهذه المركبات ومناسبة للاستخدام لذلك استخدمت مضادات نباتية الأصل التي تعتبر أقل ضررا من المضادات الكيميائية وتكون لها فعالية مضادة لهذه الميكروبات (Babu and

مجلة جامعة مصراتة للعلوم الزراعية
Journal of Misurata University for Agricultural Sciences
المجلد الرابع العدد الثاني ديسمبر 2023م
عدد خاص بالمؤتمر العلمي الثالث للعلوم الزراعية
ISSN 2708-8588

(Subhasree, 2009 هناك العديد من النباتات الطبية المهمة التي تمت دراستها كنباتات أثبتت أن لها فعالية دوائية وذلك لاحتوائها على مركبات كيميائية فعّالة ضد البكتيريا والفطريات الممرضة ونظراً لأهمية المواد الفعالة للنباتات الطبية وغيرها فقد استخدمت كبدائل طبيعية للمضادات الحيوية في مقاومة الأمراض البكتيرية والفطرية وغيرها من قبل العديد من الباحثين وبذلك فقد أجرى الخزرجي واخرون (2015) حول اختبار فعالية المستخلص الكحولي لبذور الحرمل اتجاه ثلاثة عزلات فطرية *Aspergillus niger*، *Aspergillus flavus* و *Penicillium* sp. باستخدام عدة تراكيز مختلفة تراوحت من 0.012 الي 300 ملجم/ مل. أظهرت نتائج الدراسة أن هناك فعالية تثبيطية متباينة اتجاه الفطريات المدروسة حيث تزداد الفعالية التثبيطية للمستخلص الكحولي مع زيادة التركيز اذ بلغ قطر المستعمرات الفطرية عند التركيز 0.012 ملجم/مل (27،26 و9 ملم) للفطريات الثلاثة المختبرة على التوالي بينما انخفض قطر المستعمرات الفطرية النامية عند التركيز 0.05 ملجم/مل الى (25، 21 و7 ملم) على التوالي، وأظهرت النتائج تثبيط نمو جميع الفطريات المختبرة كلياً عند التركيز 0.25 ملجم/مل فصاعداً. كما استخدم محمد (2012) مستخلصات نبات الزنجبيل (*Zingiber officinale*) المائية والكحولية والعصير الطازج ومحلول الباودر على عدد من العزلات الفطرية شملت *Aspergillus niger* , *Aspergillus flavus* , *Pencillium notatum* ووجد أن جميع المستخلصات لها تاثير تثبيطي واضح ضد معظم العزلات عند التركيز 400 ملجم/مل وقد سجل العصير الطازج أعلى تثبيط من بين المستخلصات المستخدمة حيث بلغ قطر منطقة التثبيط 42 ملم ضد عزلات *A. flavus* في حين كانت أعلى قيمة لقطر منطقة التثبيط للمستخلص الكحولي 30 ملم ضد عزلات *A. niger* .

ومما تقدم لأهمية النباتات الطبية ودورها الفعّال المثبط لنمو العزلات الفطرية فقد هدفت هذه الرسالة إلى:

1. 1 اختبار الفعالية التضادية لبعض النباتات الطبية المتمثلة في نبات كل من ريزومات الزنجبيل وأوراق الزعتر وبذور الحرمل ضد فطر *Aspergillus niger*.

2. 1 مقارنة تأثير الفعالية التضادية لكل من هذه المستخلصات النباتية مع المضاد الفطري Ketoconazole على الفطريات قيد الدراسة.

2. المواد وطرق البحث

1.2 العينات الفطرية المستخدمة في الدراسة:

مجلة جامعة مصراتة للعلوم الزراعية
Journal of Misurata University for Agricultural Sciences
المجلد الرابع العدد الثاني ديسمبر 2023م
عدد خاص بالمؤتمر العلمي الثالث للعلوم الزراعية
ISSN 2708-8588

استخدمت في الدراسة عينات فطرية تضمنت الفطر *Aspergillus niger* تم الحصول عليها من مركز البحوث والاستشارات الحيوية بكلية العلوم – جامعة مصراته – ليبيا.

2.2 تجهيز العينات النباتية للاستخلاص:

استخدمت في هذه الدراسة ثلاثة أنواع من النباتات الطبية (ريزومات الزنجبيل، أوراق الزعتر وبذور الحرمل) تم الحصول عليها من الأسواق الشعبية المحلية بمدينة مصراته–ليبيا، تم جلب العينات من الأسواق المحلية إلى المختبر وغسلت بالماء المقطر ثم جففت على أوراق ترشيح وتركت عند درجة حرارة المختبر (2 ± 28مْ)، بعد التجفيف تم طحنها وسحقها بواسطة المطحنة الكهربائية، وتم وضع المسحوق في قنينة زجاجية وحفظت في الثلاجة عند درجة حرارة (4مْ) لحين الاستخلاص.

3.2 تحضير المستخلص الكحولي للعينات النباتية المختبرة:

تم تحضير المستخلص الكحولي وفقا لما ذكره Edeogo *et al* (2006) وذلك بمزج 20 جم من المسحوق النباتي مع 100 مل من الكحول الإيثيلي 75%، ترك المزيج مع التحريك المستمر بواسطة جهاز الرج (Shaker) لمدة 24 ساعة في درجة حرارة المختبر ثم رُشح المحلول من خلال عدة طبقات من الشاش المعقم وكذلك أوراق الترشيح Whatman No.1 المعقمة ثم ركز المذيب باستخدام جهاز المبخر الدوار Rotary Vacuum Evaporator عند درجة حرارة لا تتجاوز 45ْ م إلى أن تم الحصول على مستخلص مركز كثيف القوام الذي تم حفظه في الثلاجة عند درجة حرارة 4ْ م لحين الاستخدام.

4.2 تحضير التراكيز القياسية للمستخلصات الكحولية وتعقيمها:

تمت اذابته 2 جم من كل من المستخلص المركز الكحولي فقد في 10 مل من مادة DiMethyl Sulfoxide (DMSO) وبذلك تم الحصول على 200ملجم/مل كتركيز قياسي، عقّم المستخلص باستخدام مرشحات بكتيرية Wattman Membrane Filterبمقياس 0.45 مايكروميتر. يعتبر التركيز القياسي المحضر هو الأساس في تحضير التركيزات المستخدمة التالية (25، 50، 75، 100 ملجم/مل) التي استخدمت بالدارسة.

5.2 اختبار تأثير المستخلصات الكحولية للنباتات المختبرة والمضاد الحيوي اتجاه الفطر *A. niger*:

مجلة جامعة مصراتة للعلوم الزراعية
Journal of Misurata University for Agricultural Sciences
المجلد الرابع العدد الثاني ديسمبر 2023م
عدد خاص بالمؤتمر العلمي الثالث للعلوم الزراعية
ISSN 2708-8588

تم اختبار فعالية تأثير المستخلصات النباتية ضد الفطر المختبر باستخدام طريقة تخفيف الاجار وذلك تبعاً لما وصفه El-kady and Al-Maraghy (1993) حيث تم مزج 1مل من كل تركيز من المستخلصات النباتية المحضرة الي 20 مل من الوسط الغذائي (SDA) المبرد الي درجة 50ْ م بمعدل 3 مكررات لكل تركيز، وبعد التصلب تم وضع قرص بقطر 7ملم من مزرعة فطرية نامية بعمر 7 أيام في مركز الطبق، بالنسبة للأطباق الشاهدة فتمت باستعمال مجموعتين الأولى باستنبات الفطر على وسط (SDA) الخالي من المستخلص، والثانية باستنبات الفطر على الوسط المضاف إليه المضاد الفطريKetoconazole ، حضنت الاطباق عند درجة حرارة 28ْ م لمدة 4 أيام، وسجلت النتائج بحساب متوسط قياس قطرين متعامدين للمستعمرة النامية وحسبت نسبة التثبيط باستخدام المعادلة التالية:

$$\text{نسبة التثبيط} = \frac{\text{معدل قطر الفطر في أطباق المقارنة} - \text{معدل قطر الفطر في أطباق المعاملة}}{\text{معدل قطر الفطر في أطباق المقارنة}} * 100$$

6.2 التحليل الإحصائي

تم استخدام التحليل الإحصائي (SPSS و One – way ANOVA) لتحليل النتائج المتحصل عليها في البحث وتحديد ما إذا كانت هناك فروق معنوية عند مستوى الثقة 0.05 تبعاً لما اتبعه (Barnard *et al* ., 2007).

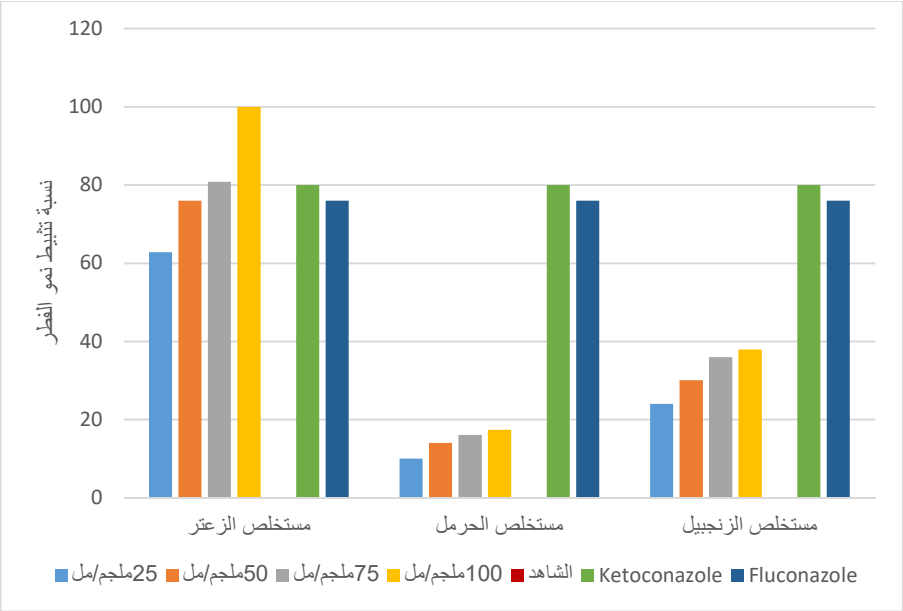
3. النتائج والمناقشة

1.3 تأثير المستخلصات الكحولية للعينات المختبرة على تثبيط فطر *A. niger*:

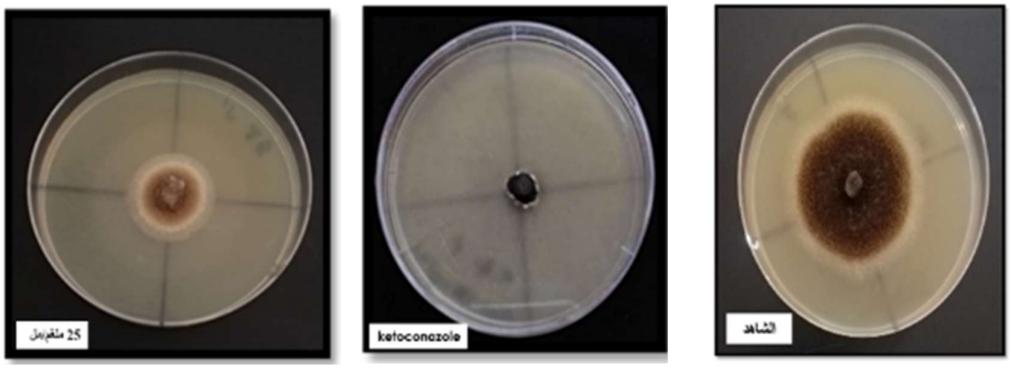
أوضحت النتائج من خلال الشكل (1) أن هناك تأثير تثبيطي واضح لمعدل نمو الفطر *A. niger* مقارنة بالشاهد والمضاد الفطري عند استخدام المستخلص الكحولي لعينات الزعتر حيث بلغت نسبة تثبيط نمو (62.8%، 76%، 80.8%، 100%) على التوالي للتركيزات المستخدمة صورة(1)، يليه المستخلص الكحولي لعينات الزنجبيل اذ بلغت نسبة تثبيط نمو الفطر (24%، 30%، 36%، 38%) على التوالي للتركيزات المستخدمة، أما المستخلص الكحولي لعينات الحرمل فقد بلغت نسبة تثبيط نمو الفطر (10%، 14%، 16%، 17.4%) على التوالي للتركيزات المستخدمة، وكما أظهرت النتائج أن المضاد Ketoconazole له فعالية عالية في تثبيط نمو الفطر حيث بلغت نسبة تثبيط (80%).

مجلة جامعة مصراتة للعلوم الزراعية
Journal of Misurata University for Agricultural Sciences
المجلد الرابع العدد الثاني ديسمبر 2023م
عدد خاص بالمؤتمر العلمي الثالث للعلوم الزراعية
ISSN 2708-8588

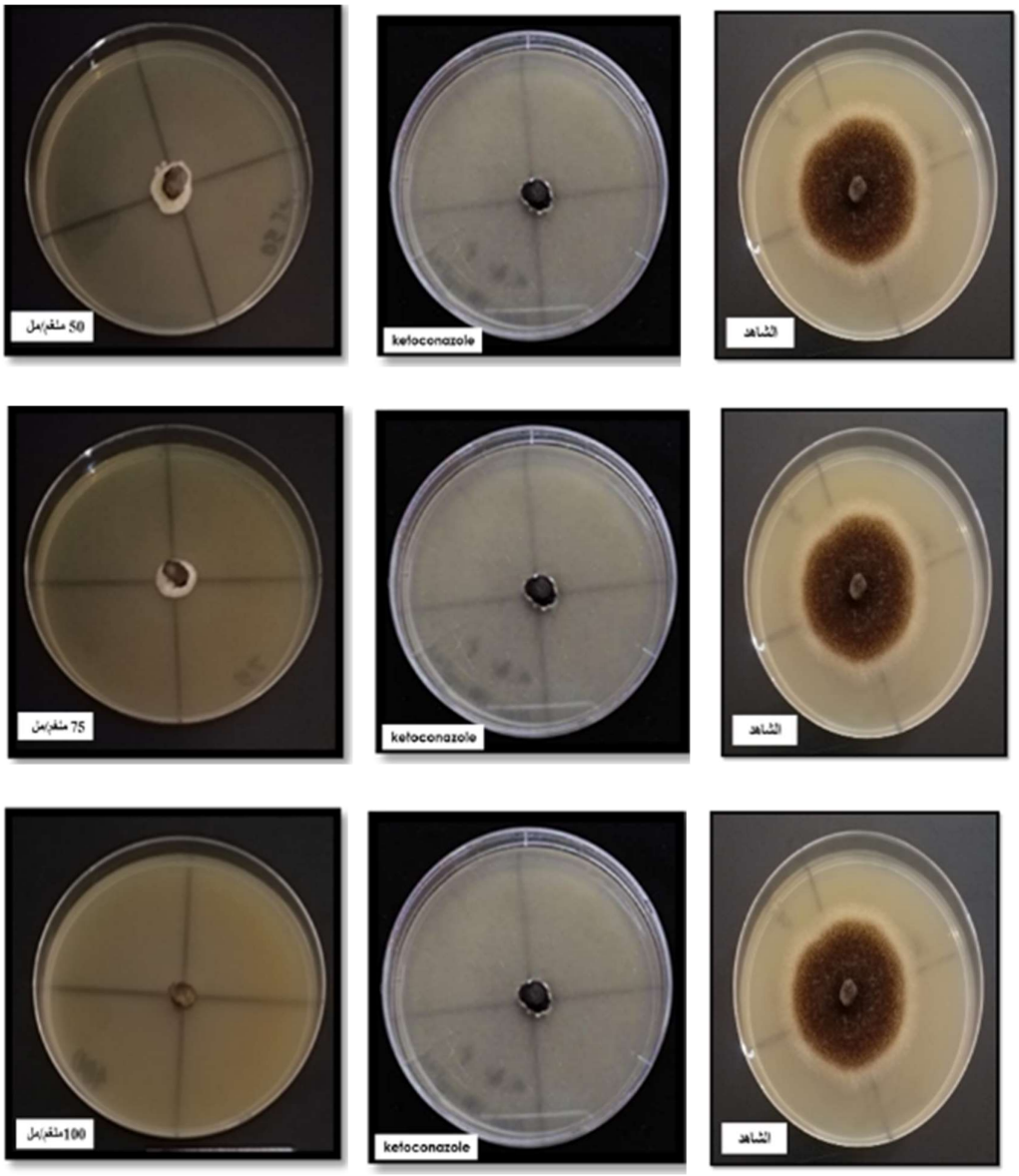
وأشارت النتائج عند استخدام المستخلصات الكحولية للعينات المختبرة في تثبيط نمو فطر *A. niger* أن هناك فروق معنوية عالية بين كل تركيز من التركيزات للمستخلصات والمضادات الحيوية عند مستوى احتمالية $P<0.05$ ماعدا التركيزين (50، 75 ملجم/مل) من المستخلص الكحولي للزعتر والمضاد الفطري Ketoconazole اذ أظهرت نتائج استخدامهما أنه لا توجد فروق معنوية بينهما.



شكل (1) تأثير تراكيز مختلفة من المستخلصات الكحولية على تثبيط نمو فطر *A. niger*



مجلة جامعة مصراتة للعلوم الزراعية
Journal of Misurata University for Agricultural Sciences
المجلد الرابع العدد الثاني ديسمبر 2023م
عدد خاص بالمؤتمر العلمي الثالث للعلوم الزراعية
ISSN 2708-8588



صورة (1) تأثير التراكيز المختلفة للمستخلص الكحولي لعينات الزعتر على نمو فطر *A. niger*

وأظهرت نتائج المعاملة بالتراكيز المختلفة للمستخلص الكحولي للزعتر فعالية تثبيطيه عالية للفطر المختبر وكذلك ازدياد الفعالية التثبيطيه لهذا المستخلص مع زيادة التركيز، حيث أظهرت النتائج أن التركيز الأعلى للمستخلص قد ثبط فطر *A. niger* تثبيطا كاملا بنسبة تثبيط 100% ويعود السبب في هذه الفعالية إلى الزيوت الأساسية والمركبات الفعالة التي يحتويها

المستخلص الكحولي لنبات الزعتر. بذلك تفوق المستخلص الكحولي للزعتر بتركيز 100 ملجم/مل بشكل واضح على التأثير التثبيطي للمضاد بفروق معنوية وعند مستوى احتمالية $P<0.05$، وتأتي هذه النتائج غير متفقة مع الدراسة التي أجراها العبادي و آخرون (2011) التي أوضحت أن المستخلص الكحولي له تأثير أقل من المستخلص المائي عند التركيز 100%.

بالنسبة للمستخلص الكحولي لعينات الحرمل والزنجبيل فقد أظهرت النتائج فعالية تثبيطيه منخفضة جدا للفطر *A. niger* و أوضحت النتائج تفوق المضاد Ketoconazole في تثبيط الفطر بشكل معنوي على التأثير التثبيطي لهذه المستخلصات ، وتأتي هذه النتائج غير متفقة مع الدراسة التي اجراها الخزرجي وأخرون (2015) التي أظهرت تثبيطا كاملا للفطر المختبر عند أغلب التراكيز المستخدمة من المستخلص الكحولي لنبات الحرمل، وكذلك دراسة محمد (2012) التي أوضحت نتائجها فعالية المستخلص الكحولي للزنجبيل اتجاه العزلات الفطرية المدروسة.

لمراجع

أسماعيل، محمد طاهر والكفري، عبير (2008). كتاب الطفيليات والفطور الطبية، منشورات جامعة دمشق–كلية الطب البشري. (458 صفحة).

الخزرجي، عبد الجبار عبد الحميد وخلف، ايمان عباس وسلمان، عادل سعدي وحمزة، عصام شاكر وناصر، كلبوي عبد المجيد (2015). التأثير التثبيطي للمستخلص الكحولي لبذور الحرمل في نمو بعض أنواع الفطريات المرضية. مجلة مركز التقنيات الأحيائية –المجلد التاسع–العدد الأول.

العبادي، إيناس مظفر و موسى، مكارم على وعباس، عقيل جابر (2011). المحتوى الكيميائي لبذور الزعتر *Thymus vulgaris* وفعاليته المضادة للأحياء المجهرية، مجلة الأنبار للعلوم الزراعية، المجلد :9، العدد(2).

محمد، صبرية عبد علي (2012). الفعالية التثبيطية لمستخلصات الزنجبيل Ginger (Zingiber officinale Rosc.) اتجاه بعض الفطريات، مجلة أبحاث البصرة ((العلميات))، العدد 38 الجزء 2 .B.

Ali, B. H., Bashr, A. K. and Tanira, M. O. M. (1995). Anti-inflammatory, antipyretic and analgesic effect of *Lawsonia inermisL.*(henna) in rats. Pharmacol., 51 :356-363.

Babu, D. P. and Subhasree, R.S. (2009). Antimicrobial activities of *Lawsonia inermis* – Areview. Acad.J.Plant Sci. 2(4) :231-232.

مجلة جامعة مصراتة للعلوم الزراعية
Journal of Misurata University for Agricultural Sciences
المجلد الرابع العدد الثاني ديسمبر 2023م
عدد خاص بالمؤتمر العلمي الثالث للعلوم الزراعية
ISSN 2708-8588

Barnard C. J., Gilbent F. S. and Macgreagor, P. k. (2007). Asking questions in biology: a guide to hypothesis testing. Experimental design and presentation in practical work and research projects, Person Edition. .

Edeoga H. O., Omosun, G. and Uche, L. C. (2006). Chemical composition of *Hyptis suaveolens* and *Ocimum gratissimum* hybrids from Nigeria. African Journal of Biotechnology Vol. 5 (10), pp. 892-895.

El Kady, I. A. and El Maraghy, S. S. (1993). Antibacterial and antidermatophyte activities of some essential oils from spices.

Koneman, E. W., Roberts, G. D. and Wright, S. E. (1979). Praticallabrotory Mycology 2nd ed. The Williams and Wilkins, Bultimore, U. S. A, 153. Pp.

Roper, K. B., and Fennell, D. I. (1977).The genus Aspergillus.RobertE.Krieger publishing company. New York .U S A.404 pp.

Effect of Alcohol Extracts of Thyme valgaris, Peganum harmala and Zingiber officinal on the Growth of *Asprgillus niger*

Amal A. Henaish, Ebrahim M. Doghman and Adel O. Ashour
Biology Department, Faculty of Science, Misurata University,
amal.henaish@gmail.com

Received on 01/08/2023. Approved on 11/11/2023. Published on 31/12/2023.

Abstract

The study was couducted to test the inhibitory activity of Alcoholic extracts of three types of medicinal plants (*Thyme vulgaris*, *Peganum harmala* and *Zingiber officinal*) with different concentrations (25, 50, 75 and 100 mg/ml) on growth of *Asprgillus niger* The results were compared fungal antibiotic (Ketoconazole). The Alcoholic extract of *Thyme vulgaris* samples gave complete inhibition (100%) againts *A. niger*, at the concentration of 100 mg/ml, while the inhibition percentage at ketoconazole were (80%).

Keywords: Alcohol Extract, *Thyme vulgaris*, *Peganum harmala*, *Zingiber officinal*, *Aspergillus niger* , Ketoconazole