الفعالية التثبيطية لمستخلص فصوص الثوم على بعض الانواع التابعة لجنس Fusarium

فوزية الفيتوري التريكي
جامعة مصراتة ، قسم الاحياء
كلية العلوم
Fow_micro@yahoo.com

عادل أحمد معافى
كلية التقنية الطبية، قسم تقنية الادوية، مصراتة

ابراهيم مصطفى التومي
كلية التقنية الطبية، قسم تقنية الادوية، مصراتة

مصعب اسماعيل الجرو
كلية التقنية الطبية، قسم تقنية الادوية، مصراتة

استلمت الورقة بتاريخ 2025/01/28، وقبلت بتاريخ 2025/02/20 ونشرت بتاريخ 2025/02/23

الكلمات المفتاحية:
(المستخلص المائي- Allium sativum - Fusarium equiseta -Fusarium chlamydosporum - (Aflatoxin

الملخص

تعتبر النباتات مصدرًا أساسيًا للعقاقير الطبية والادوية، وكذلك كمواد طبيعية طاردة أو قاتلة للأفات الفطرية والبكتيرية والفيروسية المسببة للامراض ،وذلك لاحتوائها على مواد كيميائية فعالة بيولوجيًا، مما جعلها أساسًا في تحضير العديد من الأدوية والعقاقير الطبية، حيث استهدفت الدراسة إظهار مدى تأثير المستخلص المائي (Allium sativum) علي تثبيط نمو نوعين من الفطريات الممرضة للنبات والانسان وهما Fusarium chlamydosporum , Fusarium equiseta ، وكذلك الكشف عن بعض المواد الفعالة التي قد يعزي إليها التأثير المثبط لنمو الفطريات المذكورة و هذه المواد هي ناتج طبيعي لعمليات الايض الثانوية في النبات Secondary metabolism، حيث أعطى الكشف عنها نتيجة إيجابية لكلا من القلويدات Alkaloids، الفلوفونيدات Flavonoids، الجلايكوسيدات Glycosides، الفلوبتينات Phlobatauins، التانينات Tannius، التربينات Terpenoids، الراتنجات Resins، بالإضافة إلي الكشف عن قدرة الفطريات المختبرة علي إنتاج أنزيمات التحلل المائي،حيث كانت نتائج الكشف إيجابية أيضا تجاه الانزيمات المتمثلة في أنزيم الاميليز Amylase enzyme، أنزيم السليوليز Cellulase enzyme، أنزيم الفينول أوكسيديز enzyme Phenol oxides، أنزيم البروتيز Protease enzyme، أنزيم اليوريز Urease enzyme بالنسبة للفطر F. chlamydosporum، أما فطر F. equiseta فكانت النتائج ايجابية تجاه أنزيمي Amylase، Phenol oxidase، كما تضمنت الدراسة العلمية أيضا الكشف عن مدى قدرة الفطرين على إنتاج السموم الفطرية Aflatoxin فكانت إيجابية بظهور اللون دلالة على وجود هذه السموم، وبهذا فإن نتائج الدراسة تثبت أن للمستخلص المائي لفصوص نبات الثوم قدرة تثبيطية لكلا الفطرين ،حيث بلغت نسبة التثبيط للفطر F. equiset حوالي 81.89% مقارنة بالشاهد ، أما فطر F. chlamydosprum فكانت نسبة التثبيط مقارنة بالشاهد حوالي 71.71%.

المقدمة
Introduction

تعد النباتات مصدرا مهما لصناعة العقاقير الطبية لاحتوائها علي بعض المواد الكيميائيه ذات الفعالية الحياتيه، لذا أعتمدت في تحضير الكثير من الأدوية والعقاقير الطبية بالأضافة إلي أن مستخلصات النبات و المنتجات النباتية معروفة بصفة عامة بأمانها الصحي لذا فإن إدخالها في منتجات الغذاء والدواء للسيطرة علي الكائنات الممرضة قد يكون أحد الحلول لمشاكل التلوث وتعمل كمواد طبيعية طاردة أو قاتلة للأفات الفطرية والبكتيرية والفيروسية المسببة للامراض النباتية [1].

يعتبر جنس Fusarium من الاجناس الفطرية المهمة اقتصاديا ،حيث يضم العديد من الأنواع الممرضه للإنسان والنبات والحيوان ،و يمتلك الفطر قابلية علي انتاج العديد من المركبات الايضية والسموم التي تلعب دورا هاما واساسيا في احداث الامراض، حيث يمتلك هذا الفطر القدرة علي إفراز الانزيمات المحللة لجدران الخلايا، وتلعب هذه الانزيمات دور ثانوي في عملية احداث الإصابة، كذلك يمتاز الفطر بقدرته علي افراز العديد من السموم التي لها القدرة علي أحداث امراض بشرية خطيرة وخصوصا الافراد الذين يعانون من ضعف الجهاز المناعي [2].

لذلك أهتم العلماء بالتقييم المستمر لتلك النباتات وقياس السمية لاسيما الخلوية منها والوراثية (Cytogenotoxicity) وذلك باجراء العديد من التجارب باستعمال الكائنات الحية مثل البكتيريا و الفطريات والحشرات لما تمتاز به من قصر دورة الحياة وقلة عدد الكروموسومات وصغر حجمها.

تعتبر النباتات الطبية النامية طبيعيا مصدر يتم الحصول منها علي الادوية والمواد الفعالة بيولوجيا ومصدر اخر يتمثل في تخليق المواد الكيميائية المصنعة في المعامل وشركات الادوية، ونتيجة الاستعمال المكثف للأدوية الصناعية ظهرت

بعض الامراض الفتاكة التي لم تكن معروفة من قبل مثل ظهور حالات السرطانات الخبيثة التي تهاجم خلايا معظم الأعضاء الداخلية وامراض كثيرة أخرى ناتجة عن التأثيرات السلبية، وعلى الرغم من تمكن علماء الكيمياء العضوية من تصنيف أنواع كثيرة من العقاقير والأدوية في المختبرات من مواد كيميائية بحتة، إلا ان اعتماد الانسان لايزال قائما علي النباتات كمصدر لعدد كبير من الادوية والعقاقير التي لا غنى عنها مثل نبات الكينا لمرض الملاريا،والجليوسيدات (Glycosides)المستخدم في علاج بعض امراض القلب ، والافدرين(Ephedrine) المستخدم في سوائل الرش لعلاج الربو وضيق التنفس، والمورفين (Morphine) المستخدم في التخدير وتسكين الالام الشديدة ،بالإضافة إلي أنواع من المضادات الحيوية التي تستخدم ضد الميكروبات وتنتجها بعض النباتات إلى جانب بعض الفطريات والبكتيريا الشعاعية[3].

تعتبر المحاصيل النباتية المستخدمة كغذاء للأنسان والحيوان من دعائم الاقتصاد للعديد من الدول، لذلك فإن إصابتها بالامراض النباتية خصوصا الفطرية منها قد يؤدي إلي خسائر كبيرة تضر بالأنتاج القومي لهذه الدول [4].

ومن بين الأفات التي تصيب هذه النباتات هي مجموعة فطريات الفيوزاريوم(Fusarium) والتي تحتوي علي 15 مجموعة تقريبا تختلف في صفاتها البيولوجية والمورفولوجية وأماكن التواجد وطرق التكاثر ولعل أهم المحاصيل أو أكثرها عرضة لهذه الأمراض هي القمح و الشعير و الذره و النخيل و الشوفان ، لذلك اقتضت الحاجة لاجراء دراسات عديدة ومتعددة ومستمرة لمحاولة معرفة ألية حدوث العدوى والاصابة بهذه الامراض ومحاولة القضاء عليها أو علي الأقل الحد من إنتشارها سواء كانت عن طريق المكافحة الكيميائية أو البيولوجية [5].

اعتبرت النباتات وفقا للمنظمة العالمية للصحة (W.H.O) افضل المصادر للحصول علي الادوية والعقاقير الطبية لاحتوائها علي العديد من المواد الفعالة

القلويدات Alkaloids

هي مركبات عضوية نيتروجينية قاعدية نادرا ماتوجد في النباتات ذات الفلقة الواحدة مثل الثوم ،تعد سامة للإنسان إذا استعملت بكميات كبيرة ،منها مايسمي بالقلويدات الحقيقية (True Alkaloids) وهي التي تنشأ من الاحماض الامينية ،والتي لاتنشأ من الاحماض الامينية يطلق عليها قلويدات كاذبه (Pseudo Alkaloids)، وتحتوي تقريبا علي 10مجاميع حسب التركيب الكيميائي.

الجلايكوسيدات Glycosides

مركبات عضوية تركيبها الكيميائي (CHO) ونسبة الاكسجين إلي الهيدروجين كما في الماء 2:1 وقد تحتوي علي النيتروجين والكبريت وتأثيرها العلاجي والوظيفي يرجع أساسا إلى الجزء غير السكري (Aglycon) وهي تنتج من اتحاد سكر الجلوكوز غالبا (Glucose) مع احد المركبات العضوية "كحولات- فينولات - كبريت " أحيانا تعمل مثل الهرمونات المنظمة للنمو،وهي تحتوي علي 10مجاميع تقريبا.

الفينولات Phynolis

هي مركبات عضوية تتألف"تنشأ" من إرتباط مجموعة هيدروكسيل مع مجموعة هيدروكربون توجد بصورة طبيعية في النبات كناتج طبيعي من عملية التخليق الحيوي عبر مسارات التخليق لحامض (shikimic acid) أو مسار (Acetyl malonate).

التربينات Terpens

مركبات هيدروجينية وحداتها الأساسية هي الايزوبرين (Isopren) وهو مركب غير حلقي صيغته C_5H_8 يخلق من (Acetyle- coA) وهي الوحدات الأساسية في بناء الزيوت الطيارة.

الراتنجاتResins

هي مركبات كيميائية معقدة غنية بالكربون تحتوي علي القليل من الاكسجين ولا تحتوي علي النيتروجين،وهي عبارة عن إفرازات هشة إما أن تكون طبيعية أو نتيجة لظروف رطبة منها ماهو جامد أو زيتي أو حمضي .

التانينات Tannins

تسمي أيضا بالمواد القابضة وهي مركبات عديدة الفينولات خالية من النيتروجين تمتص الاكسجين من الجو وتتحول إلى اللون الأسود ويوجد منها تانينات غير حقيقية "كاذبة" وهي التانينات ذات الوزن الجزيئي المنخفض.

تسبب انواع الفطر Fusarium طيفا واسعا من العدوى في البشر ، بما في ذلك التهابات القرنية والالتهابات الفطرية للاظافر ، بالاضافة الى ان العدوى تحدث بشكل متكرر بين المرضى الذين يعانون من نقص المناعة الشديد[6].

نخص في هذا البحث نوعين من هذا الجنس وهما :

الفطر F. equiseta

Division: Eumycota
Sub division: Deuteromycotina
Form class: Hyphomycetes

Family: Tuberculariaceae

فطر شائع له اهمية اقتصادية وبيئية ينتمي الى جنس Fusarium ، له هيفات بيضاء اللون في البداية ثم تتحول الى الاصفر او البرتقالي ، ينتج جراثيم هلالية الشكل وابواغ كونيدية على اسطح العزل ، بعض سلالات F. equiseta قادرة على إنتاج سموم مثل زيرالينون (zeralenone) و فيومونيسين(fumonisin)، والتي يمكن أن تكون سامة للإنسان، تم العثور على هذه السموم في بعض المحاصيل الزراعية الملوثة بهذا الفطر.

هذه الدراسة بحثت في قدرةF. equiseta على إنتاج الأفلاتوكسينات، وهي سموم فطرية معروفة بأنها مسرطنة، حيث وجدت الكثير من الدراسات أن بعض سلالات هذا الفطر يمكن أن تنتج كميات ضئيلة من الأفلاتوكسينات تحت ظروف معينة، و بالرغم أن المستويات المنخفضة قد لا تشكل خطرًا كبيرًا، إلا أن الدراسة دعت إلى مراقبة هذا الفطر بشكل أوثق.

حذرت منظمة الصحة العالمية (W.H.O) (2023) من أن التلوث بفطر F. equiseta في بعض المحاصيل الغذائية قد يشكل خطرًا صحيًا محتملاً، حيث أوصت بإجراء مزيد من البحوث لتقييم المخاطر الدقيقة وتطوير طرق للكشف والحد من تلوث الأغذية بهذا الفطر [7].

الفطر F. chlamydosporum

Division: Eumycota
Sub division: Deuteromycotina
Form class: Coelomycetes
Form family: Tuberculariaceae

هو نوع من الفطريات التي تنتمي إلى جنسFusarium ،هو فطر آفة نباتية يسبب أمراض في العديد من المحاصيل الزراعي، و ينتج هذا الفطر أنواعًا مختلفة من الأبواغ مثل الكونيديا والأبواغ الكلاميدوسبورية والأبواغ الجنسية.

يُعتبر F. chlamydosporum من الفطريات الممرضة للنبات والتي قد تسبب أمراضًا مثل العفن الوردي والذبول والتعفن في الجذور والسيقان، حيث ينتشر هذا الفطر عبر البذور والتربة والأدوات الزراعية وقد يُنقل عن طريق الرياح والماء، حيث وجد انه من الصعب السيطرة على هذا الفطر والوقاية منه تتطلب إتباع تدابير زراعية متكاملة.

يُعتبر هذا الفطر من الفطريات الممرضة للنبات والتي لا تصيب الإنسان بشكل مباشر، ففي الحالات النادرة، قد يسبب هذا الفطر بعض الإصابات الجلدية للأشخاص الذين يتعاملون مع النباتات المصابة ، حيث قد تنتج سموم فطرية تؤثر على صحة الإنسان عند استهلاك المحاصيل الملوثة بها، أحد هذه السموم هو الفيومونيسينphymoniacin الذي قد يسبب مشاكل صحية مثل السرطان والتشوهات الخلقية، ومع ذلك لا توجد أدلة قوية على إنتاجF. chlamydosporum لتلك السموم بكمياتكبيرة.

بشكل عام F. chlamydosporum لا يُعتبر من الفطريات الخطرة على صحة الإنسان مقارنةً بأنواع أخرى من Fusariumولكن لا بد من التعامل معه بحذر وتطبيق الممارسات المناسبة للوقاية [8].

تتوجه الابحاث الحالية نحو امكانية استخدام المستخلصات النباتية التي تعد امنة للإنسان والبيئة في مكافحة او الحد من انتشار الممرضات وذلك كمحاولة من التقليل من استخدام المواد الكيميائية [9]، عليه قام الباحثون بانتخاب عدد كبير من النباتات الطبية التي تتميز بفاعليتها المثبطة وكذلك الوقاية والتقليل من فرص الاصابة بالأمراض الفطرية [10]، ونخص في هذه الدراسة نبات الثوم.

الثوم Allium sativum

الثوم له فوائد علاجية كبيرة بسبب مكوناته الغنية بالمواد الفعالة مثل الأليسين، وهو المركب المسؤول عن العديد من الخصائص العلاجية. فيما يلي بعض من أهم الفوائد العلاجية للثوم:

تحسين صحة القلب: الثوم يمكن أن يساعد في خفض ضغط الدم ومستويات الكوليسترول الضار(LDL) ، مما يقلل من خطر الإصابة بأمراض القلب والأوعية الدموية.

تعزيز المناعة: يحتوي الثوم على خصائص مضادة للبكتيريا والفيروسات، مما يساعد في تعزيز جهاز المناعة ومقاومة الالتهابات.

خصائص مضادة للأكسدة: الثوم يحتوي على مضادات أكسدة تحمي الخلايا من التلف الناتج عن الجذور الحرة، مما يقلل من مخاطر الأمراض المزمنة مثل السرطان.

تنظيم مستويات السكر في الدم: تناول الثوم يمكن أن يساعد في تحسين حساسية الأنسولين وخفض مستويات السكر في الدم، مما يجعله مفيدًا للأشخاص المصابين بمرض السكري.

خصائص مضادة للالتهاب: يمكن أن يساعد الثوم في تقليل الالتهابات المزمنة التي ترتبط بالعديد من الأمراض مثل التهاب المفاصل.

تحسين صحة الجهاز الهضمي: يساعد الثوم في تعزيز الهضم الجيد وقتل البكتيريا الضارة في الأمعاء، مما يساعد في الوقاية من مشاكل الجهاز الهضمي.

مكافحة العدوى: يُستخدم الثوم كمضاد طبيعي للجراثيم والفطريات، حيث يساعد في علاج العدوى مثل التهاب الحلق والالتهابات الجلدية.
تحسين صحة البشرة والشعر: بسبب خصائصه المضادة للبكتيريا والالتهابات، يمكن أن يساعد الثوم في تحسين صحة الجلد والشعر، ويستخدم في علاج مشاكل مثل حب الشباب [11] [12].

نوع نبات عشبي ثنائي الحول من جنس الثوم من الفصيلة الثومية ،وتنتشر زراعته في جميع انحاء العالم ، ويتميز بوجود بصلة تحت أرضية تتكون من عدة فصوص ،أوراقه شريطية غليظة لها رائحة مميزه نفاذة ، من النادر ان يزهر الثوم في الحقول ،لذلك فان زراعته تعتمد على التكاثر الخضري ، موطنه الأصلي بلاد البحر الأبيض المتوسط ويحتوي على66.61%ماء، و(3.1-5.4%) بروتين، و (30-23%) نشويات،3.6% الياف [13].

بالتالي اوجبت ضرورة إجراء الأبحاث والدراسات لتوضيح ودراسة تاثيرها الطبي والعلاجي ومدى خطورتها من عدمها ،وكل الدراسات حول العالم الان تولي اهتماما كبيرا نحو النباتات كمصدر لتوفير المضادات الحيوية والتي تكسب نشاطات مضادة للنمو الميكروبي والمركبات المضادة للاكسدة بحيث تكون اكثر امنا من تلك المخلقة صناعيا، وفي ليبيا تحديدا تتواجد العديد من النباتات الطبية والعطرية ومن بينها نبات الثوم الذي قد يحتوي علي مواد طبيعية في مستخلصاته المائية أو الكحولية لها تأثير مانع أو مثبط لنمو الفطريات الممرضه واستكمالا للدراسات السابقة في هذا المجال فإن هذا البحث هدف إلي دراسة إحدا النباتات الطبية.
ثبت من الدراسات السابقة ان العديد من المستخلصات من المواد النباتية والتي من ضمنها نبات الثوم ذات فاعلية في تثبيط نمو الاحياء المجهرية ، وان العديد من هذه المستخلصات المضافة الى المزارع الفطرية الممرضة والمنتجة للسموم تثبط من نمو هذه الفطريات وتجرثمها [14].
في دراسة حول تأثير فاعلية مجموعة من النباتات من المستخلصات النباتية من ضمنها الثوم ، قد اظهرت النتائج ان للمستخلصات تأثير مثبط للنمو والتجرثم في فطر F. solani على الوسط PDA وPDB [15].
ايضا في دراسة اخرى لأختبار النشاط المضاد للفطر F. oxysporium لاثنى عشر نباتا مختلفا من ضمنها الثوم في المختبر، حيث أظهرت النتائج انخفاضا ملحوظا في نمو الفطر وتكوين الأبواغ بتركيز 10% [16].
وكذلك في دراسة لمقارنة فاعلية المستخلص الميثيلي لكل من الثوم وبعض النباتات الاخرى على تثبيط نمو الفطريات A. fumigatus، A. oryzae قد اظهرت النتائج تثبيط للفطرين [17].
أظهرت دراسة حول المستخلصات الايثانولية والمائية لنبات الثوم كان لها تاثير قوي على فطريات الرايزوبس والفيوزاريوم حيث تبين أن فطر الرايزوبس حساس للمستخلص المائي للثوم أكثر من المستخلص الايثانولي ،بينما أظهر فطر الفيوزاريوم حساسية أكثر تجاه المستخلص الايثانولي من المستخلص المائي حيث كانت حساسة للمستخلص المائي[18].
أوضحت دراسة قام بها زكريا و عزالدين تاثير المستخلصات المائية لفصوص الثوم في تثبيط نمو فطر الفيوزاريوم ومقارنته بتاثير المبيد الفطر (Carbendazim) ،حيث تثبت النتائج ان هذه المستخلصات أعطت نسبة تثبيط قد تصل 100% عند تركيز 60 ملجم/لتر، حيث كان تثبيط المبيد المذكور بنسبة 100% عند تركيز 120 ملجم/لتر [19].
في دراسة قام بها عبد العزيز واخرون أظهرت ان المستخلص الايثانولي لفصوص الثوم ليس له أي تأثير على الفطريات عند تركيز 1.5 ملجم/مل ، بينما عند 2.5 ملجم/مل ، 5 ملجم/مل، 10 ملجم/مل كان له تأثير مضاد للفطريات كما يلي على التوالي : 4 ملم ، 4.1 ملم ، 10.1 ملم.
بينما المستخلص المائي لفصوص نبات الثوم ليس له تأثير مضاد عند تركيز 1.5 ملجم/مل ، 2.5 ملجم/مل، ابتدأ من تركيز 5 ملجم/مل ، 10 ملجم/مل ، 20 ملجم/مل، كانت مساحة منع النمو على النحو التالي 2.4 ملم ، 4.2 ملم ، 9.5 ملم [20].

أهداف البحث

1- تحضير المستخلص المائي لمنقوع فصوص نبات الثوم (Allium sativum) المجففة طبيعيا.
2- الكشف عن المشتقات القلويدية والجلايكوسيدية، الثانينات ،الراتنجات ، التربينات .
3- الكشف عن مجموعة من أنزيمات التحلل مثل اليوريز و الاميلز.
4- اختبار مدي فعالية المستخلص النباتي المذكور علي تثبيط نمو نوعين من فطر الفيوزاريوم.

- Fusarium equiseta
- Fusarium chlamydosporum

أهمية البحث

نظرا لتوفر النباتات الطبية والعطرية في البيئة الليبية ،والتوجه الحديث لايجاد بدائل للمبيدات الكيميائية ، جاءت هذه الدراسة لاختبار فاعلية بعض المستخلصات في مكافحة المسببات الامراضية الفطرية ،وإمكانية استخدامها بدلا عن الكيميائيات الفطرية ، والمساهمة في تقليل التلوث البيئي.

مواد وطرائق البحث

Materials and Methods

اختبار قدرة الفطريات F. equiset وF. chlamydosporum على انتاج الانزيمات

أنزيم الاميليز Amylase enzyme(تحلل النشأ)

يتم تحضير وسط الأملاح المعدنية الصلب Mineral Salt Agar مضافًا إليه نشأ قابل للذوبان Soluble Starch وتعديل قيمة pH فيه إلى 6.0 وذلك بإضافة هيدروكسيد الصوديوم (NaOH). يتم تعقيم الوسط ويوزع في أطباق بتري ذات قطر 9.0 سنتيمتر بمعدل 15.0 مليلتر لكل طبق، وبعد تصلب الوسط تحقن الأطباق في المنتصف بالفطريات المختبرة على هيئة أقراص ذات أقطار 8.0 مليمتر قطعت بواسطة القاطع الفليني من مزارع حديثة النمو تتراوح أعمارها بين 3-4 أيام، يتم بعد ذلك تحضين الأطباق عند درجة 25±2 م° ، و بعد فترة التحضين تغمر الأطباق بمقدار 5.0 مليلتر من محلول اليود للكشف عن تحلل النشا[21].

أنزيم السليوليز Cellulase enzyme (تحلل السليلوز)

يتم دراسة قدرة الفطريات على تحليل السليولوز بتحضر وسط الأملاح المعدنية الصلب مضافاً إليه مسحوق السليولوز، ويعدل pH الوسط إلى 5.4 ، ويعقم ويوزع في أطباق بتري ذات قطر 9.0 سنتيمتر بمعدل 15.0 مليلتر لكل طبق، وبعد تصلب الوسط في الأطباق تحقن بالفطريات المختبرة بوضع قرص قطره 8.0 مليمتر في منتصف كل طبق، يقطع بواسطة القاطع الفليني من مزارع فطرية حديثة النمو تتراوح أعمارها بين 3-4 أيام، وتحضن جميع الأطباق عند درجة حرارة 25±2 م° ، ثم تغمر الأطباق جميعها بمقدار 5.0 مليلتر من محلول كلورويوديد الزنك للكشف على تحلل السليلوز[22].

انزيم الفينول اوكسيديز Phenol – Oxidase enzyme

يوجد في البلاستيدات الخضراء و الثايلاكويدات والميتوكوندريا حيث يرتبط هذا الانزيم باغشية الخلية ويؤثر علي الأجزاء القابلة للذوبان. يتم اختبار هذا الانزيم باستخدام الوسط الصلب الذي احتوى علي حمض التنيك(Tannic acid)، حيث تم تحضير الوسط ويعدل الـpH إلى 5.4 ، ثم عقم ووزع على أطباق بتري و تترك حتى تتصلب، و تحقن الأطباق بأقراص الفطريات المختبرة حسب الطريقة المتبعة سابقاً، و تحضن الأطباق عند درجة حرارة 25 ±2 م° وتفحص يوميًا لتحري تغير اللون والذي كان تغيره للون الأزرق الغامق إلى البني الغامق دليلا على إفراز أنزيم الفينول أوكسيديز[23].

أنزيم البروتيز Protease enzyme

يعمل علي تحلل جزيئات البروتين الكبيرة إلي وحدات أصغر منها، حيث تم تحضير الوسط وتوزيعه في أطباق بتري قطرها 9.0 سنتيمتر بمعدل 15.0 مليلتر لكل طبق، وبعد تصلب الوسـط تحقن الأطباق بأقراص الفطريات المختبرة بنفس الطريقة السابقة، و تحضن عند درجة حرارة 25±2 م° ،وللكشف عن تكون الانزيم تغمر الأطباق بمقدار 5.0 مليلتر من كلوريد الزئبقيك (Mercuric Chloride) ،حيث تظهر منطقة شفافة حول المستعمرة الفطرية حال افرازه ،ويدل عدم ظهور تلك المنطقة الشفافة على عدم تكونه [24].

أنزيم اليوريز Urease enzyme

يحفز التحلل المائي لليوريا ويعمل علي تكوين الامونيا وCO_2

يختبر تكون أنزيم اليوريز على وسط(Christensens urea agar) ، وذلك بتحضير الوسط وتعديل pH الوسط إلى 6.8 بإضافة محلول هيدروكسيد الصوديوم (NaOH) ، ويضاف محلول يوريا بتركيز20% معقم بواسطة الترشيح إلى الوسط الذي يتم تعقيمه وتبريده، ثم وزع الوسط في صورته النهائية على أنابيب اختبار بمعدل 15 مليلتر في كل أنبوبة أو في أطباق بتري وتحقن بالفطريات المختبرة وتترك أنابيب الشاهد التي تحتوي على الوسط فقط بدون إضافة اليوريا وحضنت جميعها عند درجة حرارة 25±2 م° ، ثم تفحص الأنابيب يوميًا لتحري تغير لون الوسط من الأصفر إلى الأحمر دلالة على تحلل اليوريا وتحول الوسط إلى القاعدي نتيجة لانطلاق غاز الامونيا [25].

اختبار قدرة الفطريات F. equiset و F. chlamydosporum على افراز الافلاتوكسينات

تمت بزراعة طبق بتري واحد يحوي على الوسط الغذائي PDA، واخر يحوي على مبشور جوز الهند المحضر مسبقا لكل نوع من انواع الفطر Fusarium المعزولة ، وبعد ان اصبحت المستعمرات الفطرية بعمر 7-14 يوم ، يتم قلب الاطباق ، ويتم وضع 2.0 مل من محلول الامونيا بتركيز 25 % بواسطة محقنة طبية على غطاء الطبق بعد فتحه بهدوء وعناية من خلال استعمال اوراق ترشيح، وتترك الاطباق مقلوبة وتوضع في الحاضنة لمدة 7 ايام في درجة حرارة 25±2 م° ، وبعد ذلك يتم مراقبة الاطباق من اليوم الثاني الى اليوم السابع من الحضن لملاحظة ما اذا كان هناك تغيير في لون قواعد المستعمرات الى اللون الاحمر او الاصفر البرتقالي ، ذلك التغيير يدل على افرازها للافلاتوكسينات[26].

الكشف عن المواد الفعالة في ابصال الثوم

التحليل الاولي للكيميائيات النباتية استخدمت عينات من الخلاصات الخام للكشف عن بعض المكونات الكيميائية النباتية الاساسية أو الاولية التي يحتمل وجودها في النبات قيد الدراسة وأعتمدت وسائل الكشف اللونية وفقا للطريقة التي ذكرها [27].

الكشف عن القلويدات Alkaloids (كاشف ماير) (mayre reagent)

تمت إضافة نقاط قليلة من حمض البكريك $C_6H_3N_3O_7$ تركيز 0.1% إلى 5مل من خلاصة النبات في أنبوبة اختبار ، فتكون لون أصفر إشارة إلى وجود الـ Alkaloids.

الكشف عن الانثراكوينات Anthraquinones

أضيف 2مل من الكلوروفورم $CHCl_3$ إلى 1مل من خلاصة النبات في أنبوبة اختبار مع الرج باستخدام Voryex mixer متبوعا بالترشيح، رج الراشح مرة أخرى في وجود كمية مساوية له من محلول الامونيا 10%، فظهر لون وردي مشع دليلا على وجود الـ Anthraquinones.

الكشف عن الفلوفونيدات Flavonoids

في أنبوبة اختبار أُضيف محلول الامونيا إلى خلاصة النبات بنسبة 1:5 متبوعا باضافة 1مل من حمض الكبريتيك المركز H_2SO_4 فظهر لون أصفر ثم اختفى إشارة إلى وجود الـ Flavonoids.

الكشف عن الجليكوسيدات Glycosides (كاشف فلهنج)

تمت إضافة 5مل من خلاصة النبات إلى 2مل من حمض الخليك الثلجي متبوعا باضافة نقطة واحدة من محلول كلوريد الحديديك $FeCl_3$ و1مل من حمض الكبريتيك المركز، فتكونت حلقة ذات لون بني على الوجه الداخلي دلالة على وجود الـ Glycosides.

الكشف عن الفينولات Phenols (كاشف كلوريد الحديدك)

تم وضع 0.5 مل من خلاصة النبات في أنبوبة اختبار أُضيف إليها نقاط قليلة من محلول كلوريد الحديديك $FeCl_3$ تركيز 0.5% فتكون لون أخضر داكن إشارة إلى وجود المركبات الفينولية.

الكشف عن الفلوبتينات Phlobatanins

أضيف 1مل من حمض الهيدروكلوريك HCL تركيز 1% إلى 5مل من خلاصة النبات، و تم غلي المخلوط في حمام مائي حتى ظهور راسب أحمر دليلا على وجود الـ Phlobatanins .

الكشف عن السابونينات Saponins

رج 5 مل من المستخلص المائي لمدة دقيقة في أنبوبة اختبار حتى ظهور رغوة كثيفة دامت لمدة 15 دقيقة دليلا على وجود الـSaponins [28].

الكشف عن الستيرويدات Steroids

أضيف 2مل من الخلات اللامائية إلى 0.5مل من خلاصة النبات، ثم أُضيف 2مل من حمض الكبريتيك H_2SO_4 ، فتغير اللون من البنفسجي إلى الازرق أو الاخضر إشارة إلى وجود الـSteroids.

الكشف عن التنينات Tannins

تم إضافة 5مل من الماء المقطر إلى 1مل من خلاصة النبات ونقلت إلى حمام مائي مع الغليان، ثم برد الخليط حتى ظهور لون بني مخضر أو أسود مزرق مع إضافة قطرات قليلة من محلول كبريتات الحديديك تركيز 0.1% تدريجيا كمؤشر على وجود الـ Tannins.

الكشف عن التربينات Terpenoids

تم وضع 5مل من خلاصة النبات و 2مل من الكلوروفورم في أنبوبة اختبار ، اضيف لها تدريجيا 3 مل من حمض الكبريتيك المركز حتى تكونت طبقة بنية محمرة كإشارة إلى وجود الـ Terpenoids.

الكشف عن الراتنج Resins

أضيف 5 مل من الهكسان C_5H_{10} إلى 0.1 جم من بودرة النبات متبوعا بإضافة الكمية نفسها من محلول اسيتات النحاس مع الرج جيدا، ثم ترك المخلوط حتى تنفصل الطبقات، فيظهر لون أخضر دليلا على وجود مواد راتنجية Resins[29].

مكافحة الفطريات F. equiset و F. chlamydosporum حيويا بمستخلصات الثوم

تأثير المستخلصات النباتية على نمو الفطريات F. equiset وF. chlamydosporum

جمع النباتات وتحضير المستخلصات النباتية

تم تجميع العينات النباتية المدروسة من الاسواق المحلية لمدينة مصراتة ، ثم تم غسلها بالماء الجاري للتخلص من جميع العوالق والشوائب، وتم تجفيفها هوائياً لمدة 10 أيام على درجة حرارة المختبر في الظل، ثم تم طحن العينات النباتية باستخدام مطحنة كهربائية مخبرية للحصول على مسحوق جاف او باستخدام هاون خزفي مخبري.

ثم بعد ذلك اخذ 10 جرام من المسحوق واضيف اليه 100 مل من المذيب، ثم وضعت العينة في جهاز الهزاز لمدة ساعة ، تترك العينة 24 ساعة على جهاز الرج (لزيادة دخول المذيب في الانسجة النباتية)، ثم ترشح العينة باستخدام ورق الترشيح ، وبعدها يؤخذ الراشح ويتم تركيزه باستخدام جهاز الاستخلاص وتعقيمه ، ثم بعد ذلك يتم اضافة هذه المستخلصات بمقدار 2 مل بعد تعقيمها الى الوسط الغذائي ، وذلك قبل تصلب الوسط الغذائي ، ثم تصب في الاطباق ، وبعد تصلب الوسط يؤخذ قرص من حافة مستعمرة فطرية حديثة النمو للفطريات المختبرة بعمر 3-4 ايام بواسطة قاطع فليني بقطر 9 ملم ، ويوضع القرص في مركز الطبق ، وتحضن بعد ذلك الاطباق تحت درجة حرارة 25±2 م° ، وبعد اسبوع من فترة التحضين يتم قياس كل قطرين متعامدين لكل مستعمرة فطرية، وكانت كل معاملة بواقع ثلاث مكررات ، وقدرت نسبة التثبيط حسب المعادلة التالية.

$$\text{نسبة التثبيط \%} = \frac{\text{متوسط قطر المقارنة} - \text{متوسط قطر المعاملة}}{\text{متوسط قطر المقارنة}} \times 100$$

التحليل الاحصائي

تم إجراء التحليل الإحصائي باستخدام الإصدار 5.01 من Graph Pad Prism (برنامج Graph Pad، الولايات المتحدة الأمريكية). عند مستوى معنوية 5% .

النتائج و المناقشة
Results and Discussion

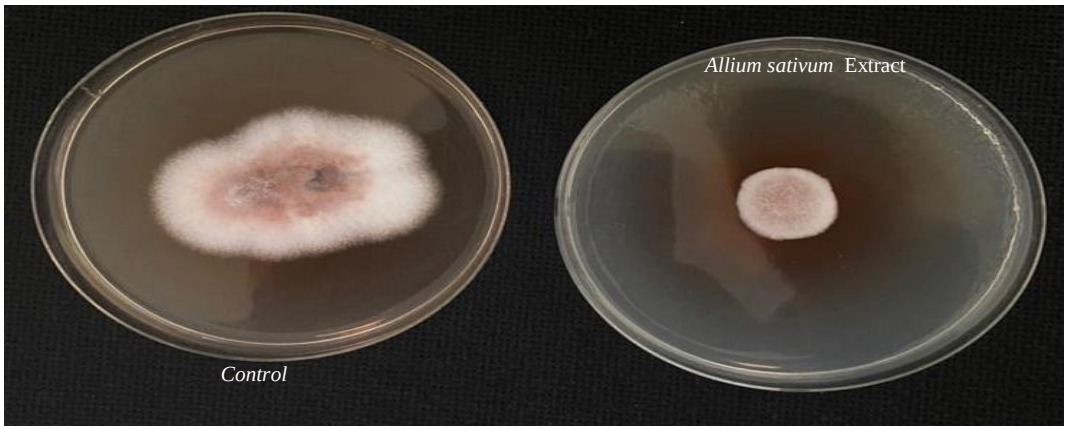
مكافحة الفطريات F. equiset وF. chlamydosporum حيويا باستخدام مستخلص الثوم

تأثير مستخلص الثوم على الفطريات F. equiset وF. chlamydosporum

من خلال النتائج **كما هو موضح في الجداول (1) (2) والأشكال (1)(2)** تأثير المستخلص المائي لفصوص نبات الثوم على النمو الشعاعي للفطريات F. equiset وF. chlamydosporum المعزولة من التربة ، حيث يلاحظ ان المستخلص المائي لفصوص الثوم ثبط بصورة معنوية نمو الفطريات المختبرة، بحيث كان أعلي تثبيط معنوي للمستخلص المائي لنمو الفطريات F. equiset وF. chlamydosporm على المستنبت الغذائي، حيث اعطى المستخلص اعلى تثبيط للفطر F. equiset بمعدل نمو قطر مستعمرة 1.26 سم ونسبة تثبيط 81.89% مقارنة بالشاهد والتي بلغ معدل النمو فيها 6.96 سم ، تلاه الفطر F. chlamydosporum بمعدل نمو قطر المستعمرة 1.4 سم ونسبة تثبيط 71.71 % بالمقارنة مع معاملة الشاهد والتي بلغ معدل النمو فيها 4.95 سم.

جدول (1) : التأثير المثبط للمستخلص المائي لفصوص نبات الثوم على معدل النمو للفطر F. chlamydosporum عند درجة حرارة 25م° لمدة 7 أيام

المستخلص النباتي (الثوم)	معدل النمو قطر المستعمرة (سم)	النسبة المئوية للتثبيط %
F. chlamydosporum	1.4	71.71
الشاهد	4.95	-

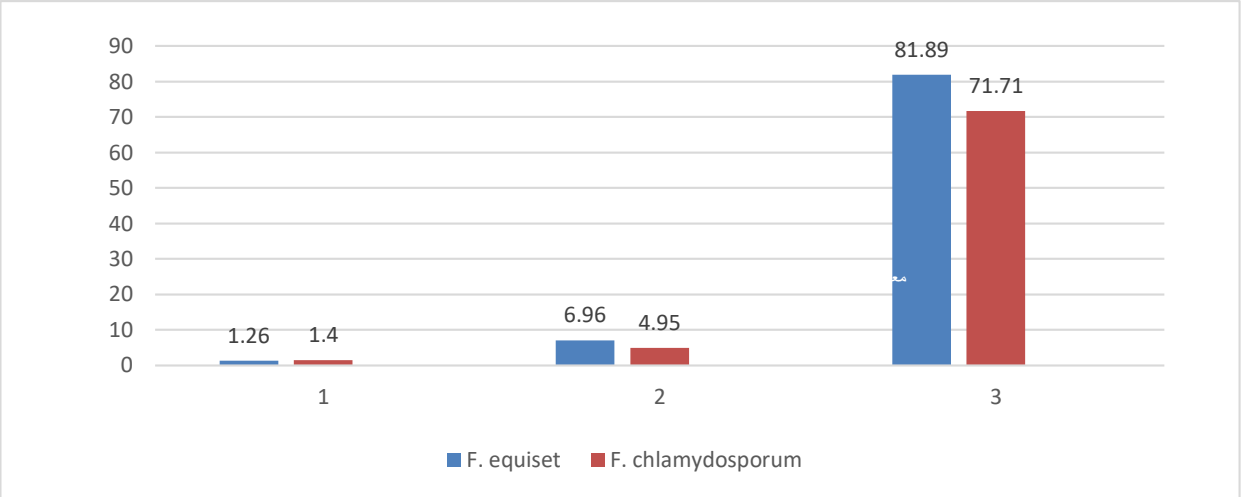


شكل (1) التأثير المثبط للمستخلص المائي لفصوص نبات الثوم على معدل النمو للفطر F. chlamydosporum عند درجة حرارة 25م◦ لمدة 7 أيام على الوسط الغذائي PDA.

جدول (2) التأثير المثبط للمستخلص المائي للفصوص نبات الثوم على معدل النمو للفطر F. equiset عند درجة حرارة 25م◦ لمدة 7 أيام على الوسط الغذائي PDA.

المستخلص النباتي (الثوم)	معدل النمو قطر المستعمرة (سم)	النسبة المئوية للتثبيط %
Fusarium equiseta	1.26	81.89
الشاهد	6.96	-

شكل (2) التأثير المثبط للمستخلص المائي للثوم على معدل النمو للفطر F. equiset عند درجة حرارة 25م◦ لمدة 7 أيام على الوسط الغذائي PDA.



شكل (3) التأثير المثبط للمستخلص المائي للثوم على معدل النمو للفطريات F. equiset وF. chlamydosporum عند درجة حرارة 25م° لمدة 7 أيام على الوسط الغذائي PDA

من خلال ماتبين من النتائج للكشف عن المواد الفعالة في أبصال الثوم والتي تعتبر ناتج طبيعي لعملية التخليق الحيوي (biosyntisis) وتحديدا نواتج الايض الثانوية Secondary metabolites، فقد يرجع تأثير المستخلص المائي للثوم على الفطرين F. equiset وF. chlamydosporum لوجود عدة مركبات لها فاعلية في تثبيط نمو الفطريات مثل Thiosulphonate, Allicin, Ajoene وغيرها من المركبات التي تؤثر على الجدر الخلوية الفطرية ، حيث وجد الباحث ان مستخلص الثوم ثبط بقوة نمو وتطور هيفات العديد من الفطور في المختبر عن طريق التأثير على الجدار الخلوي والغشاء السيتوبلازمى [30]. قد اثبت ان المركبات الطيارة الموجودة في المستخلصات المائية للثوم تثبط انبات الابواغ الميكروكونيدية ونمو واستطالة الهيفات للفطر Fusarium oxysporium [31]. مستخلص الثوم بتركيز 10 % ثبط نمو الفطر F. oxysporium أيضا ، حيث لم يزيد نمو مستعمرة الفطر اكثر من 2 مم كما ذكره [32].

يعزى ايضا التأثير المثبط لنبات الثوم الى مادة Allin الموجودة في الثوم والمسؤولة عن تحرير المواد الفعالة للنبات ، وبحسب دراسة سابقة أوضحت ان تأثير الثوم المضاد للفطريات يرجع لمركب الاليسين Allicin الذي يمتلك نشاط قوي مضاد للميكروبات والفطريات بشكل خاص ، وقد اوضح ان عملية تثبيط النمو والتجرثم للفطريات الذي لوحظ في الدراسة كان مرتبطا بمركبين Allicin وAjoene والتي تعمل على الحد من اداء بعض الانزيمات المهمة للفطريات كما اظهرت النتائج ان جميع تراكيز الثوم كان لها تأثير مثبط على الفطريات ، وان هذا التأثير المضاد للفطريات يزداد بزيادة التركيز أيضا[33].

بالنظر الى التركيب الكيميائي لنبات الثوم نجد انه يحتوي على مجموعة متنوعة من المركبات الحيوية النشطة التي تلعب دور مهم في معالجة الامراض الفطرية والبكتيرية ، حيث انها تحتوي على مركبات الكبريت مثل Allymethyltrisulfide وAllicin وغيرها التي تمتلك العديد من الخصائص الحيوية حيث تعمل كمضادات للميكروبات والسرطانات ، كما ان نسبة التثبيط تزداد مع زيادة تركيز مستخلص الثوم ، حيث ممكن ان يشكل التركيز 100% اكبر منطقة تثبيط للميكروب المحارب[34].

وهذه النتائج تؤكد نتائج التأثير المثبط للمستخلص المائي للثوم على معدل النمو الخضري للفطريات F. equiset و F. chlamydosporum على الوسط الصلب PDA .

نستطيع أن نجزم بالقول أن عملية التخليق الحيوي،هي عملية معقدة تنتج بها الكائنات الحية جزيئات معقدة من جزيئات أبسط منها حيث تبدأ في النبات بعملية التمثيل الضوئي Photosynthesis لتغذية النبات وأيضا توفير المواد الخام لمسارات بناء ثانوية مثل تحلل السكر Glycolysis حيث تلعب الانزيمات دورا محوريا في المسارات الايضية من حيث التنظيم والتعديل والتنشيط أحيانا ، كما أن للهرمونات دور في تنسيق الاستجابات الأيضية عبر الانسجة بحيث يجب أن يتم ماذكر سلفا بالتنسيق الخلوي مع التعابير الجينية أو مايعرف باسم المخططات الجينية لدور كلا من DNAوRNA ،لذلك يمكن أن نستنتج أن التخليق الحيوي في النباتات والكائنات الدقيقة هو تفاعل مترابط بين المعلومات الوراثية والانزيمات

والتنظيم الخلوي،الدي يعطي في النهاية مواد فعالة لها فوائد عديدة للإنسان والحيوان والنبات ممثلة في المواد الفعالة طبيا أو دوائيا أو سميا....إلخ.
كما ننوه أنه يمكن هندسة الكائنات الحية الدقيقة لانتاج الوقود الحيوي مثل الايثانول و البيوتانول من خلال مسارات الايض،أيضا يمكن إنتاج بعض الانزيمات المستخدمة في مختلف الصناعات لحزمة البشرية.

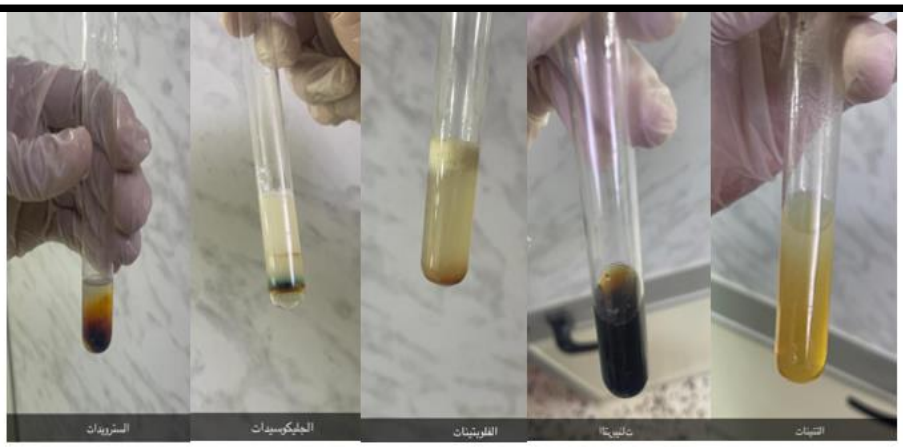
الكشف عن المواد الفعالة في ابصال الثوم Detection of active substances in garlic bulbs

في ضـــوء نتائج الدراســـة الحالية عن الفعالية التثبيطية لمســـتخلص الثوم المائي فقد جرى التحري عن محتواها من المركبات الفعالة باسـتعمال بعض الكواشـف الكيميائية المختلفة ، اذا اظهرت الكواشـف الكيميائية ان المسـتخلص النباتي المدروس يحتوي عددا من المكونات الفعالة كما هو موضح في الجدول (3) والشكل (4)، اذ احتوى مستخلص الثوم على العديد من المكونات الفعالة ، فقد احتوى على القلويدات والفلافونيدات والجلايكوســـيدات والفينولات والصـــابونيات والستيرويدات والتنينات والراتنجات ولم يحتوي الانتراكوينات.

جدول (3) الكشف الكيميائي لبعض المكونات الفعالة في نبات الثوم

المكونات الكيميائية الفعالة	الكاشف المستخدم	نتيجة الكشف	الكشوفات النوعية
القلويدات	حمض البكريك $C_6H_3N_3O_7$	+	اللون الأصفر
الانتراكوينات	الكلوروفورم $CHCl_3$+محلول الامونيا	-	لم يظهر اللون الوردي
الفلافونيدات	حمض الكبريتيك المركز H_2SO_4	+	ظهور اللون الاصفر واختفاؤه
الجليكوسيدات	كلوريد الحديديك $FeCl_3$	+	تكون حلقة ذات لون بني
الفينولات	كلوريد الحديديك	+	ظهور لون اخضر داكن
الصابونيات	رج المستخلص المائي	+	رغوة خفيفة لمدة 15 دقيقة
الستيرويدات	حمض الكبريتيك H_2SO_4	+	ظهور لون ازرق مخضر
التنينات	كلوريد الحديديك(1%)	+	ظهور لون بني مخضر
التربينات	كبريتات الحديديك	+	طبقة بنية محمرة
الراتنجات	اسيتات النحاس	+	انفصال الطبقات وظهور لون اخضر

وجود المادة الفعالة (+)، عدم وجود المادة الفعالة (-)



شكل (4) الكشف الكيميائي لبعض المكونات الفعالة في نبات الثوم

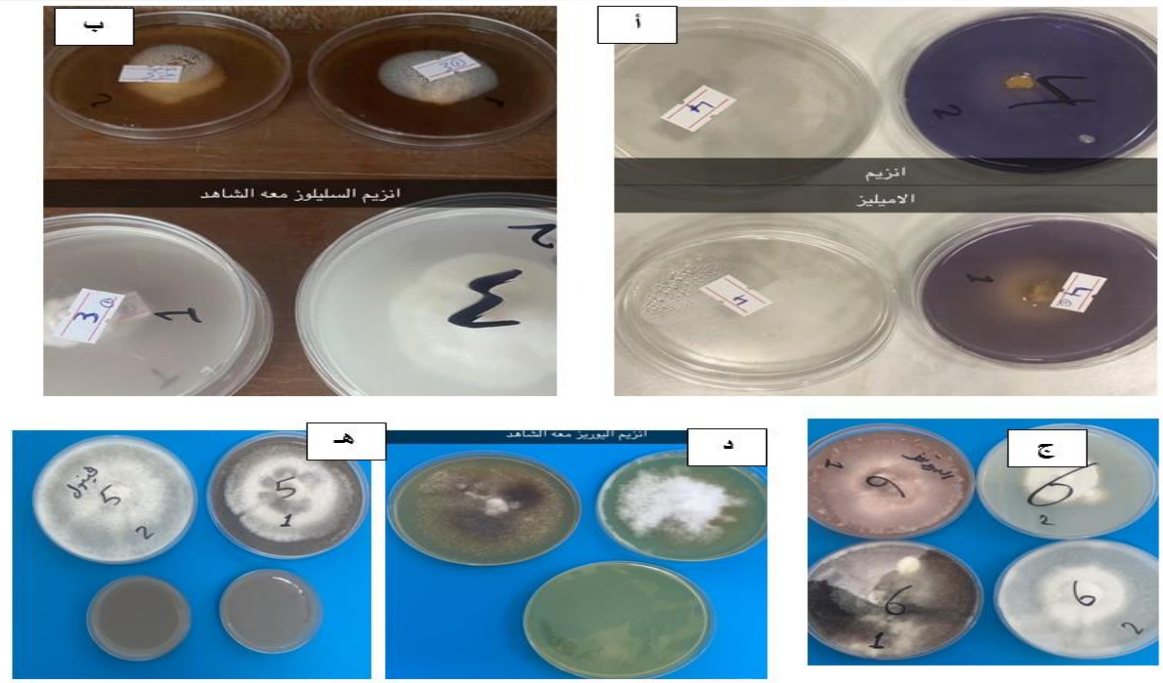
اختبار قدرة الفطريات F. equiseta و F. chlamydosporum على انتاج الانزيمات
النشاط الأنزيمي للفطريات المختبرة Enzymatic activity of fungi

لقد اتضح من تجربة اختبار النشاط الانزيمي للفطريات المختبرة أنَّ الفطر F. chlamydosporum أكثر الفطريات المختبرة قدرة على إفراز الأنزيمات المحللة التي تم اختبارها، حيث كان ايجابياً لإفراز أنزيم الاميليز والسليوليز والفينول اوكسيديز وإنزيم اليوريز وكذلك إفراز أنزيم البروتيز، بينما اظهر الفطر F. equiseta نشاطا انزيميا محدودا، وذلك بافراز أنزيم الفينول اوكسيديز وأنزيم الاميليز فقط وفشل في إفراز الإنزيمات الأخرى جدول(4) والشكل (5).

جدول (4) الانزيمات المفرزة من الفطريات المختبرة F. equiseta وF. chlamydosporum عند درجة حرارة 25م° لمدة 10 ايام.

الانزيم المفرز	Fusarium chlamydosporum	Fusarium equiseta
السليوليز	+	-
الاميليز	++	+++
الفينول اوكسيديز	++	+
البروتيز	+	-
اليوريز	++	-

(+ الفطر يفرز الإنزيم ، – الفطر لايفرز الإنزيم)



شكل (5) الانزيمات المفرزة من الفطريات المختبرة F. equiseta وF. chlamydosporum مقارنة بالشاهد عند درجة حرارة 25م° لمدة 10 أيام

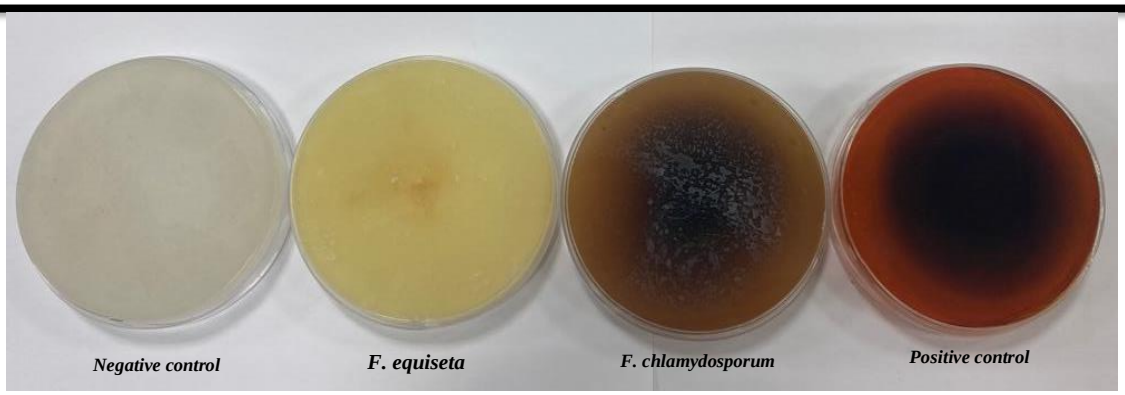
أ. قياس قدرة الفطريات المختبرة على إفراز أنزيـــــم الإميليز
ب. قياس قدرة الفطريات المختبرة على إفراز أنزيم السليلوز
ت. قياس قدرة الفطريات المختبرة على إفراز أنزيـــــم بروتيز
ث. قياس قدرة الفطريات المختبرة على إفراز أنزيـــــم اليوريز
ج. قياس قدرة الفطريات المختبرة على إفراز أنزيـــــم فينول

الكشف عن قدرة الفطريات F. equiset و F. chlamydosporum لافراز السموم الفطرية (الافلاتوكسينات) باستخدام محلول الامونيا The Detection by Ammonia gas

بينت نتائج الكشف الكيميائي باستخدام وسط جوز الهند والأمونيا ان عزلة الفطريات F. equisetaو F. chlamydosporum كانت منتجة للافلاتوكسين من خلال تغير في لون قواعد المستعمرات ويعود هذا التدرج في اللون الى الكميات المنتجة من الافلاتوكسين ،فالعزلات ذات اللون الأحمر الغامق تدل على قدرتها لإنتاج الافلاتوكسين اكثر من العزلات ذات اللون الوردي او الوردي الفاتح كما هو موضح في الشكل (6).

وايدت الدراسة الحالية العديد من الدراسات السابقة التي بينت ان عزلات A. flavus التي تصيب الذرة الصفراء كانت منتجة للافلاتوكسينات [36].

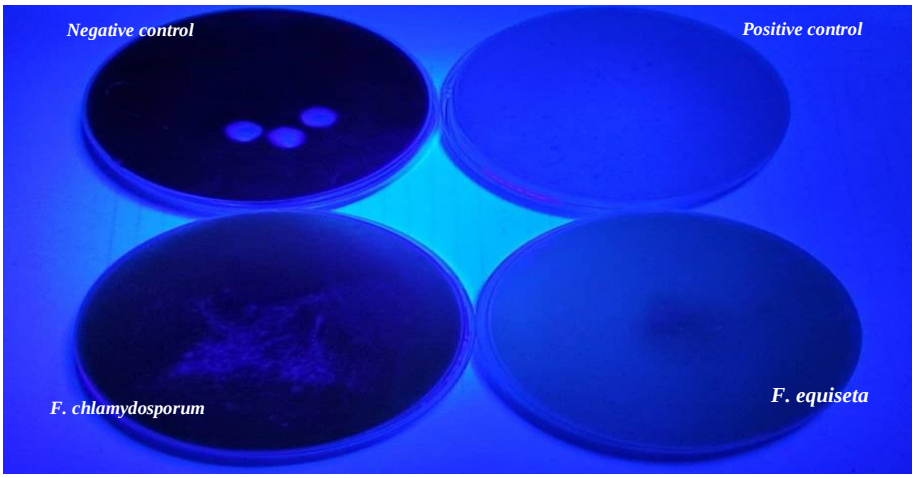
في دراسة اجراها عبدالرحيم ان عزلات A. flavus المعزولة من بعض المكسرات منتجة لسموم الافلاتوكسين ، وبينت الدراسة الحالية ان عزلات الفطريات F. equiset و F. chlamydosporum كانت منتجة لسموم الافلاتوكسين لكن بكمية تتفاوت عن بعضها البعض[37]، وهذا يتوافق مع الدراسة التي أوضحت ان جميع عزلات A. niger تتفاوت ايضا في درجة انتاجها للسموم ، فمنها غيرالمنتجة للافلاتوكسين او منتجة بشكل قليل ،ان انتاج الافلاتوكسين كنواتج ايض ثانوية للجنس Fusarium لا تتكون في جميع حالات نمو هذه الأنواع ، وعزل هذه الفطريات لا يعني وجود السموم فيها ولايتم انتاج هذه السموم من قبل هذه الفطريات الا ضمن ظروف بيئية معينة من درجات حرارة معينة وظروف رطوبة عالية [35].



شكل (6) قدرة افراز الفطريات F. equiset و F. chlamydosporum للسموم الفطرية (الافلاتوكسينات) باستخدام محلول الامونيا مقارنة بالشاهد عند درجة حرارة 25م◦ لمدة 14 يوم.

باستخدام الاشعة الفوق بنفسجية The detection by Ultraviolet (UV).

من خلال الشكل (7) اظهرت نتائج قابلية عزلات الفطريات F. equiset وF. chlamydosporum على انتاج الافلاتوكسين من خلال الفحص تحت الاشعة فوق البنفسجية بطول موجي 365 نانومتر بعد تنميتها على وسط جوز الهند الصلب ، حيث ابدت كل الفطريات F. equiset وF. chlamydosporum تألقا ازرق اللون في كل العزلات ، حيث تمتاز الافلاتوكسينات بقابليتها على امتصاص الاشعة الفوق بنفسجية (28) ، هذا ما أكده [38] عند استعمال اوساط مزرعية مختلفة من ضمنها وسط جوز الهند الصلب للكشف عن سم الافلاتوكسين باستخدام الاشعة الفوق بنفسجية ،وهذا يتفق مع ماوجده [39].



شكل (7) قدرة افراز الفطريات F. equiset و F. chlamydosporum للسموم الفطرية (الافلاتوكسينات) باستخدام الاشعة الفوق بنفسجية مقارنة بالشاهد عند درجة حرارة 25م◦ لمدة 14 يوم.

من خلال النتائج يتضح ان كل العزلات كانت سمية مقارنة بالشواهد بصفة عامة ، وكان هذا واضح عند تعرض العزلات للاشعة الفوق بنفسجية بالطول الموجي 365 نانوميتر بعد تنميتها لمدة 14 يوم على الوسط الغذائي جوز الهند ، وكان هذا واضح بظهور اللون الازرق المتألق ، ويختلف هذا التألق الازرق باختلاف شدة سمية الفطر، ونسبة وكمية السموم المفرزة كما هو واضح في الاشكال السابقة، ربما يرجع ذلك لظروف البيئة التي اعطت الفطريات عوامل ملائمة لانتاج السموم بكميات كبيرة، وقد يرجع السبب ايضا الى اختلاف القابلية الوراثية للعزلات الفطرية على انتاج الافلاتوكسين، ايضا قد يعزى الاختلاف الى عوامل وراثية اخرى ،اذ وجد امتلاك العزلات المنتجة للسم لاربع جينات مسؤولة عن مسار التخليق الحيوي للافلاتوكسين ، كما ان هناك جين اخر مسؤول عن تنظيم فعالية هذه الجينات يدعى Structural gene ، وهذه النتائج تتفق مع ماوجده [28]، حيث كانت نتائجهم قدرة الفطريات المختبرة على انتاج الافلاتوكسين والكشف عنها بواسطة الاشعة الفوق بنفسجية بطول موجي 365 نانوميتر وطريقة بخار الامونيا وذلك بظهور التوهج الازرق ، والعزلات التي لم يظهر فيها التألق الواضح ربما يرجع الى ان العزلات لم تنتج كمية كافية لعدم توفر الظروف الملائمة لها [40].

الخلاصة Conclusion

1. إمتلاك المستخلص المائي لفصوص نبات الثوم قدرة ثبيط معنوية لنمو الفطريات .
2. قوة التثبيط مقارنة بالشاهد بلغت حوالي 87.6%.
3. مقدرة الفطريات علي إنتاج أنزيمات التحلل المائي.
4. احتواء فصوص الثوم علي معظم مركبات الايض الثانوية .
5. قد يعزي التأثير المضاد للفطريات للمركبات الموجودة في نبات الثوم خصوصا المركبات التي تحتوي علي أحماض معدنية من الفلوبيولينات و التربينات .
6. فطريات الفيوزاريوم لها القدرة علي إفراز سموم الافلاتوكسين بكميات متفاوته حسب توفر الظروف الملائمة.

المراجع References

المراجع العربية:

1. الشحات، أبوزيد نصر (2000) النباتات الطبية واستخداماتها، جامعة القاهرة ،كلية الزراعة.
2. زهري ،شرين (2018) الفاعلية الثبيطية للمستخلصات ثلاته نباتات طبية ومساحيقها من فطر Sclerotinia sclerotiorum قسم وقاية النبات، كلية الزراعة ، جامعة بنغازي عمر المختار.
3. عمر، سلوم محمد (2021) تأثير المستخلصات المائية لخمسة أنواع نباتية في مكافحة مرض التبقع الالترناري على نبات الفول مخبريا،سم وقاية البيئة _كلية الهندسة الزراعية ، جامعة أدلب.

18.عبد العزيز، محمد،علي (2018) تأثير وعد الزراعة الكثافة النباتية في نمو التبكير في النضج ، جامعة تشرين.

19.الناصر، زكريا، دعاس عزالدين(2014) فعالية بعض المستخلصات النباتية ضد الفطريات ومقارنتها بالمبيدات الفطرية،جامعة تشرين.

20.عبد العزيز، بشير(2018) تأثير وعد الزراعة والكثافة النباتية في نمو وتبكير بالنضج،جامعة تشرين

35. العبودي ، محمد رضا (2015) كفائة القلويدات في السيطرة علي الفطريات ، جامعة القادسية، العراق.

36.الجنابي، بيداء عبود حسن ، الجميلي ، سامي عبد الرضا (2009) دراسة التأثيرات السمية للفطر والكيموحيوية لدى أناث الجرد الأبيض وإمكانية السيطرة الحيوية علي الاضرار الناجمة عنها ، رسالة الماجستير ، كلية العلوم،جامعة الكوفة.

37. الفتلاوي، إيمان عبد الواحد عبد الرحيم (2014) دراسة جزيئية لبعض الفطريات المنتحة للأفلاتوكسينات المعزولة من بعض أنواع المكسرات،رسالة الماجستير، كلية العلوم النبات –جامعة بابل.

المراجع الأجنبية:

[4] Boughalleb-M'Hamdi, N., Rhouma, A., Salem, I. B., & M'Hamdi, M. (2017). Screening and pathogenicity of soil-borne fungal communities in relationship with organically amended soils cultivated by watermelon in Tunisia. Journal of Phytopathology & Pest Management, 4(1).

[5] Gordon, T. R. (2017). Fusarium oxysporum and the Fusarium wilt syndrome. Annual review of phytopathology, 55(1), 23-39.

[6] World Health Organization. (2007). WHO guidelines for assessing the quality of herbal medicines with reference to contaminants and residues. World Health Organization.

[7] Milošević, D., Ignjatov, M., Nikolić, Z., Tamindžić, G., Miljaković, D., Marinković, J., & Červenski, J. (2023). Molecular Characterization of Fusarium proliferatum and F. equiseti of Pisum sativum Seed. Legume Research, 46(2), 233-237.

[8] Lazarotto, M., Mezzomo, R., Maciel, C. G., Finger, G., & Muniz, M. F. B. (2014). Mycelia growth and sporulation of Fusarium chlamydosporum species complex under different culture conditions.

[9] Yasmin, M., Hossain, K., & Bashar, M. (2008). Effects of some angiospermic plant extracts on in vitro vegetative growth of Fusarium moniliforme. Bangladesh Journal of Botany, 37(1), 85-88 .

[10] Fandohan, P., Gbenou, J. D., Gnonlonfin, B., Hell, K., Marasas, W. F., & Wingfield, M. J. (2004). Effect of essential oils on the growth of Fusarium verticillioides and fumonisin contamination in corn. Journal of agricultural and food chemistry, 52(22), 6824-6829 .

[11] Londhe, V. P., Gavasane, A. T., Nipate, S. S., Bandawane, D. D., & Chaudhari, P. D. (2011). Role of garlic (Allium sativum) in various diseases: An overview. Angiogenesis, 12(13), 129-134.

[12] Capasso, A. (2013). Antioxidant action and therapeutic efficacy of Allium sativum L. Molecules, 18(1), 690-700.

[13] Block, E. (2010). Garlic other alliums. RSC publishing Cambridge .

[14] Hall, D. J., & Fernandez, Y. J. (2004). In vitro evaluation of selected essential oils as fungicides against Penicillium digitatum sacc. Proceedings of the Florida State Horticultural Society ،

[15] Hadi, M., Kashefi, B., Sobhanipur, A., & Rezaarabsorkhi, M .(2013) .Study on effect of some medicinal plant extracts on growth and spore germination of Fusarium oxysporum schlecht. in vitro. American-Eurasian Journal of Agriculture and Environmental Science, 13(4), 581-588 .

[16] Raghavendra, T. (2017). Antifungal activity of Helichrysum buddleioides DC. against seed borne fungi. EC Microbiology, 6, 54-59 .

[17] Ceylan, E., & Fung, D. Y. (2004). Antimicrobial activity of spices 1. Journal of Rapid Methods & Automation in Microbiology, 12(1),55-1.

[21] conn et al (1957) Secretory mechanism of digestive glands ،University of Cambridge.

[22] garrett (1966) ،Dilatation Of blood Vassels in the upper jaw gland، journal Of physiology.

[23] Nicholson, W. L., & Robinson, A. D. (1983). Temperature sensitive mutations affecting extracellular phenoloxidase activity in Panus tigrinus. Mycologia, 75(1), 176-179.

[24] Bezerra, V. H. S., Cardoso, S. L., Fonseca-Bazzo, Y., Silveira, D., Magalhaes, P. O., & Souza, P. M. (2021). Protease produced by endophytic fungi: a systematic review. Molecules, 26(22), 7062.

[25] Shoukry, S. M., El-Hawiet, A., El-Mezayen, N. S., Ghazy, N. M., & Ibrahim, R. S. (2023). Unraveling putative antiulcer phytoconstituents against Helicobacter pylori urease and human H+/K+-ATPase from Jacaranda mimosifolia using UPLC-MS/MS coupled to chemometrics and molecular docking. Microchemical Journal, 189, 108550.

[26] Saito, M., & Machida, S. (1999). A rapid identification method for aflatoxin-producing strains of Aspergillus flavus and A. parasiticus by ammonia vapor. Mycoscience, 40(2), 205-208

[27] Lee, R. J., Workman, A. D., Carey, R. M., Chen, B., Rosen, P. L., Doghramji, L., ... & Cohen, N. A. (2016). Fungal aflatoxins reduce respiratory mucosal ciliary function. Scientific Reports, 6(1), 33221.

[28] Szychowski, K. A., Rybczynska-Tkaczyk, K., Gawel-Beben, K., Swieca, M., Karas, M., Jakuczyk, A., & Gminski, J. (2018). Characterization of active compounds of different garlic (Allium sativum L.) cultivars. Polish Journal of Food and Nutrition Sciences, 68(1).

[29] Ameh, G. I., Eze, S. C., & Omeje, F. U. (2013). Phytochemical screening and antimicrobial studies on the methanolic bulb extract of Allium sativum L. African Journal of Biotechnology, 12(14).

[30] Singh, D. K., & Singh, V. K. (2008). Pharmacological Effects of Allium Sativum L.(Garlic. Annual Review of Biomedical Sciences, 10, 6-26.

[31] Tariq, V.-N., & Magee, A. (1999) Effect of volatiles from garlic bulb extract on Fusarium lycopersici. Mycological Research, 94(5), 617-620.
[32] Sealy, R., Evans, M. R., & Rothrock, C. (2007). The effect of a garlic extract and root substrate on soilborne fungal pathogens. HortTechnology, 17(2), 169-173 .
[33] Kutawa, A. B., Danladi, M. D., & Haruna, A. (2018). Regular article antifungal activity of garlic (Allium sativum) extract on some selected fungi. J. Med. Herbs Ethnomed, 4, 12-1
[34] Ali, A., Ghani, M. I., Haiyan, D., Iqbal, M., Cheng, Z., & Cai, Z. (2020). Garlic substrate induces cucumber growth development and decreases Fusarium wilt through regulation of soil microbial community structure and diversity in replanted disturbed soil .International Journal of Molecular Sciences, 21(17), 6008 .
[38] Azzoune, N., Mokrane, S., Riba, A., Bouras, N., Verheecke, C., Sabaou, N., & Mathieu, F. (2016). Contamination of common spices by aflatoxigenic fungi and aflatoxin B1 in Algeria. Quality Assurance and Safety of Crops & Foods, 8(1), 137-144.
[39] Eltariki, F., Wang, S., & Alhoot, M. (2019). Effect of fungal filtrates on germination of wheat grains and the biological control of these fungi using black pepper extract. Asia-Pacific Journal of Molecular Biology and Biotechnology.
[40] Khalifa, R., Aljarah, N., & Matny, O. (2017). Detection and investigation of Aspergillus niger and ochratoxin a in walnut and peanut. The Iraqi Journal of Agricultural Science, 48(5), 1223-1230.

The inhibitory effectiveness of garlic cloves extract on certain species belonging to the genus Fusarium

Fuzia El-Fituri El-Tariki
Misurata University, Department of Biology, Faculty of Science

Adel Ahmed Ma'afi
Faculty of Medical Technology, Department of Pharmacy, Misurata

Ibrahim Mustafa Al-Tumi
Faculty of Medical Technology, Department of Pharmacy, Misurata

Musab Ismail Al-Jaro
Faculty of Medical Technology, Department of Pharmacy, Misurata

Affiliation

Article information

Key words
(Aqueous extract -Allium sativum - Fusarium equiseta - Fusarium chlamydosporum- Aflatoxin)

Received 28 01 2025, Accepted 20 02 2025, Available online 23 02 2025

Abstract

This study was conducted at the Laboratory of the Faculty of Environment and Natural Resources at Misrata University, in collaboration with the Department of Pharmacy at the Faculty of Medical Technology in Misrata. It aimed to demonstrate the effect of the aqueous extract of garlic (Allium sativum) on inhibiting the growth of two types of pathogenic fungi affecting plants and humans, namely Fusarium equiseta and Fusarium chlamydosporum. The study aimed to identify some active compounds that may be responsible for the inhibitory effect on the growth of the mentioned fungi, which are natural products of secondary metabolism in plants.

The analysis yielded positive results for several compounds, including alkaloids, flavonoids, glycosides, phlobatains, tannins, terpenoids, and resins. Additionally, the study examined the ability of the tested fungi to produce hydrolytic enzymes, with positive results also found for the following enzymes: amylase, cellulase, phenol oxidase, protease, and urease. For the fungus F. chlamydosporum, the results were positive, while for the fungus F. equiseta, positive results were observed for the enzymes amylase and phenol oxidase. The study also included an investigation into the fungi's ability to produce aflatoxins, with positive results indicated by color change, signaling the presence of these toxins.

Thus, the results of the study confirm that the aqueous extract of garlic cloves has an inhibitory effect on both fungi, with a growth inhibition rate of approximately 81.89% for F. equiseta compared to the control, and a growth inhibition rate of about 71.71% for F. chlamydosporum compared to the control.