(٢٠) تأثير المستخلص المائي لأوراق نبات اليوكالبتوس *Eucalyptus sp.* في نمو الفطر *Coccidioides immitis* المسبب لالتهابات رئوية

نيران عبيد جاسم
قسم علوم الحياة / كلية العلوم/ جامعة القادسية

الخلاصة :

تمت دراسة تأثير المستخلص المائي لأوراق نبات اليوكالبتوس على حيوية ونشاط الفطر *Coccidioides immitis* على الوسط الغذائي الصلب SDA والوسط الغذائي السائل SDB كما تمت دراسة تأثير المستخلص على تحول السبورات المفصلية للفطر إلى الطور الطفيلي spherule للفطر
وأظهرت نتائج الدراسة بان المستخلص المائي لأوراق نبات اليوكالبتوس ثبط النمو الشعاعي للفطر بصورة معنوية عند إضافته إلى الوسط الغذائي الصلب وكذلك اثر معنويا في معدل الوزن الجاف للغزل الفطري في الوسط السائل وخصوصا عند التركيز ٢٠% .وعند دراسة تأثير المستخلص المائي لأوراق اليوكالبتوس على تحول السبورات المفصلية للفطر إلى الطور الطفيلي وجد ان المستخلص قد خفض معنويا عدد السبورات التي تحولت إلى الطور الطفيلي spherules ولجميع التراكيز وخصوصا التركيز ٢٠%.

المقدمـــــــــة:

الفطريات كائنات حية خالية من الكلوروفيل حقيقية النواة تتواجد في كل مكان وتبقى حية من خلال الترمم على المواد العضوية المتحللة والقليل منها فقط يمتلك أهمية للإنسان من الناحية الطبية وتشمل الأنواع التي تنتج المضادات الحيوية مثل *Penicillium* والأنواع الممرضة للإنسان مثل مجموعة الأجناس *Histoplasma*، *Coccidioides*، *Paracoccidioides* ، *Blastomyces* بالإضافة إلى الفطريات الانتهازية مثل *Aspergillus*، *Candida* وتمثل الرئتان الطريق الأول لإحداث الإصابة الفطرية الجهازية (Panda,2004) . وتعرف الإصابات الجهازية على أنها الاخماج التي تصيب الأجزاء العميقة من الجسم وتحدث الإصابة عادة بواسطة الفطريات التي تكون التربة دائما المصدر الرئيسي لها (Tortora,*et.al*,2000). والأمراض الفطرية من الأمراض التي يصعب السيطرة عليها لأنها تحتاج إلى علاج خاص Johnson &Wright.(1993). كما ان العلاج المستخدم غالبا ما يكون غير نافع بسبب كون الفطريات كائنات حقيقية النواة وبالتالي فهي تشابه مضيفها الإنسان من هذه الناحية لذا تكون هذه المضادات سامة للإنسان كسميتها للفطر المسبب (Mondello.*et.al.(2003*. بالإضافة إلى زيادة المقاومة للمضادات الفطرية فقد اتجه العديد من الباحثين إلى البحث عن سبل أخرى في علاج الأمراض الفطرية خصوصا الجهازية فقد أشارت العديد من البحوث إلى ان هناك نباتات طبية تمتلك فعالية عالية ضد الفطريات المرضية .إذ تمتلك العديد من النباتات الطبية فغالية عالية ضد المسببات المرضية الفطرية وفي العراق تتوافر وتنمو مثل هذه النباتات مثل اليوكالبتوس والأس والحرمل والثوم (Johnson*et.al.(2004* ومعظم البحوث التي أجريت كانت تتضمن الفطريات الرئوية الانتهازية لذا جاءت هذه الدراسة لتسلط الضوء على إمكانية استخدام احد النباتات الطبية الموجودة في العراق وهو نبات اليوكالبتوس ضد الفطر *Coccidioides immitis* المعزول من المرضى الذين يراجعون مراكز التدرن والأمراض الصدرية في مدن الحلة والديوانية .

المواد وطرائق العمل:

الأوساط الزرعية : استخدم في البحث الوسط الزرعي Sabouraud's Dextrose Agar (SDA) والوسط السائل Sabouraud's Dextrose Broth(SDB) في تنمية الفطر وإجراء الاختبارات المختلفة .

العزلة الفطرية : تم الحصول على الفطر *Coccidioides immitis* Rixford & Gilchrist من احد المرضى المصابين بالتهابات رئوية والمراجعين لمركز التدرن والأمراض الصدرية في الديوانية وتم تشخيص الفطر حسب الصفات الزرعية والمجهرية التي أوردها كل من (1995)Larone , (2000) De-Hoog *et.al*

جمع العينات للنبات المستخدم: تم جمع عينة كافية من أوراق نبات اليوكالتوس *Eucalyptus sp.* من مشتل الغابات التابع لمديرية زراعة القادسية ، غسلت العينات جيدا ونظفت وبعد تجفيفها بصورة جيدة ثم طحنت وحولت إلى مسحوق وحفظت لحين الاستعمال .
تحضير المستخلص النباتي: تم تحضير المستخلص حسب الطريقة التي أوردها Hernandz *et.al(1994*) بأخذ ١٠٠٠ غم من مسحوق النبات المحضر في الفقرة أعلاه ووضع في دورق يحتوي على ١٠٠٠ مل من الماء المقطر المعقم وتم الخلط باستعمال الخلاط الكهربائي وترك المحلول لمدة ٢٤ ساعة بدرجة حرارة الغرفة ثم رشح الخليط باستعمال شاش طبي معقم وفي المرحلة الأخيرة تم نبذ المحلول اعلاه باستعمال جهاز الطرد

المركزي وبسرعة ٣٠٠٠ دورة / دقيقة لمدة ١٠ دقائق وحفظ المحلول الرائق الذي كان تركيزه ١٠٠% كمحلول أساسي تحضر منه بقية التراكيز وهي :١٠% ، ١٥% ، ٢٠% .

اختبار تأثير المستخلص على نمو الفطر في الوسط الصلب :

لغرض تحديد فاعلية المستخلص على النمو الشعاعي للفطر *Coccidioides immitis* تم استخدام تقنية الغذاء المسموم (poisoned food technique) وحسب ما جاء بطريقة Misra&Dixit(1976) حيث تم اختبار أربعة تراكيز هي (0.0,10,15,20)% وقد أضيفت تراكيز المستخلص إلى الوسط الغذائي SDA وبعد تصلبه نقل قرص قطره ٥ملم من مزرعة الفطر الممرض وبعمر سبعة أيام باستخدام ثاقب فليني معقم حيث وضع القرص في منتصف الطبق وبواقع ثلاث مكررات لكل تركيز وحضنت الأطباق بدرجة ٢٥م وتم قياس معدل نمو الفطر للتراكيز المختلفة بعد وصول النمو إلى حافة الطبق في معاملة المقارنة (أي بعد سبعة ايام).

اختبار تأثير المستخلص على نمو الفطر في الوسط السائل :

لاختبار تأثير المستخلص على الوزن الجاف للغزل الفطري في الوسط السائل استخدمت دوارق مخروطية سعة ٢٥٠ ملم وضع فيها ٥٠ مل من الوسط السائل وأضيفت إليها التراكيز المختلفة من المستخلص وحسب ما ورد في الفقرة السابقة ثم لقحت الدوارق بقرص قطره ٥ ملم من مزرعة الفطر المستخدم في البحث وبعمر سبعة أيام وتم حساب الوزن الجاف للغزل الفطري للفطر وللتراكيز المختلفة وذلك بعد سبعة أيام من الحضن تحت درجة حرارة ٢٥ م بعد ترشيح النمو الفطري للفطر على ورق ترشيح معقم وتجفيفه في فرن درجة حرارته ٦٠ م ولمدة ٢٤ ساعة وبواقع ثلاث مكررات لكل تركيز .

اختبار تأثير المستخلص على تكوين السفريول Spherule خارج الجسم:

استخدم في هذا الاختبار شرائح زجاجية حسب ما أورده (Beneke&Roqers(1980 وضع فيها قطرة من المستخلص ولكل التراكيز مزجت مع قطرة من عالق الابواغ للفطر الممرض ثم وضع غطاء الشريحة على الشرائح المستخدمة وتم إحكامه باستخدام (petrolatum) وتركت الشرائح لمدة ثمانية ساعات بعدها تم تسجيل عدد السبورات المفصلية التي تحولت إلى التركيب الكروي spherules الذي يعتبر الطور الطفيلي للفطر، أما معاملة المقارنة فقد تم مزج قطرة من الماء المقطر المعقم مع قطرة من عالق الابواغ.

التحليل الإحصائي :

تم حساب الفروقات المعنوية بين معدلات المعادلات باستخدام اختبار دنكن وعلى مستوى 0.05 وفق ما ورده داود وزكي (١٩٩٠) .

النتائج والمناقشة :

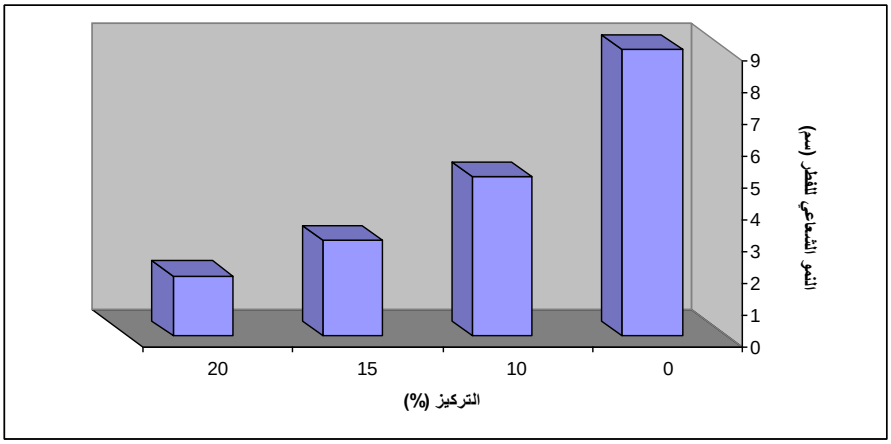
اظهرت النتائج قدرة المستخلص المائي لاوراق نبات اليوكالبتوس المضاف الى الوسط الغذائي الصلب SDA كفاءة جيدة في تثبيط النمو الشعاعي للفطر C.immitis ولجميع التراكيز المختبرة وكان اعلى تثبيط عند التركيز ٢٠% اذ بلغ معدل قطر مستعمرة الفطر (2.1)سم في حين بلغ قطر المستعمرة (3.3 و 5.1)سم عند التركيزين ١٥ % و١٠% على التوالي مقارنة بمعاملة المقارنة والبالغة ٩سم شكل (١) وهذه النتائج مماثلة لما وجده الكناني(٢٠٠١) من قدرة بعض المستخلصات النباتية الخام في تثبيط نمو الفطريات الرئوية الانتهازية . كما ذكر (Taylor et.al.2000) من ان بعض النباتات الطبية ومنها اليوكالبتوس تحتوي على زيوت تنتج بشكل ايضات ثانوية من قبل النبات يطلق عليها بالزيوت الطيارة وتمتاز هذه بفعاليتها ضد الفطريات المرضية والبكتريا والفيروسات

كذلك اثرت التراكيز المختلفة من المستخلص على الوزن الجاف للغزل الفطري ولجميع التراكيز اذ بلغ معدل الوزن الجاف (0.08 و0.1) غم عند التركيزين ٢٠% و١٠% على التوالي في الوقت الذي بلغ في معاملة المقارنة 0.2غم شكل(٢) وهذه النتيجة تتفق مع ما وجده Feisst *et.al.*(2005) في ان زيت الأس وزيت اليوكالبتوس تمتلك فعالية مضادة للالتهابات Anti-inflammatory والحساسية allergy ،كما تتفق مع توصل إليه حبيب واخرون (٢٠٠٨) في ان للمستخلصات أوراق اليوكالبتوس والزعتر تأثير تثبيطي على نمو البكتريا *Staphylococcus aureus* المسببة لالتهاب ذات الرئة pneumonia .

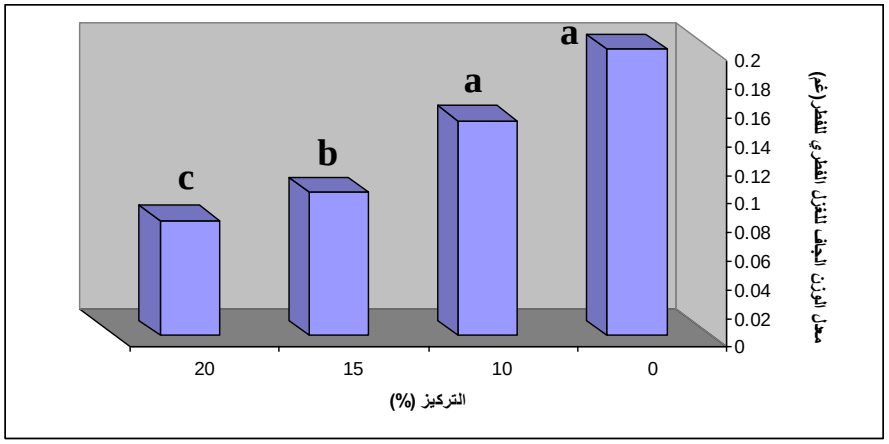
اضافة الى ذلك فان التراكيز المختلفة من المستخلص قد اثرت تاثيرا معنويا في عملية تحول السبورات المفصلية للفطر إلى التراكيب الكروية spherules والتي تعتبر الطور الطفيلي للفطر الذي يكون داخل جسم العائل ،حيث يلاحظ من الشكل(٣) ان عدد السبورات التي تحولت إلى الطور الطفيلي للتراكيز المختلفة قد انخفض معنويا بزيادة تركيز المستخلص وبالقياس مع معاملة المقارنة وعند مستوى معني (0.05) حيث بلغت النسبة المئوية للسبورات المتحولة (٢٠% و٣٣%) عند التركيزين ٢٠% و١٠% على التوالي في حين كانت نسبة التحول بمعاملة المقارنة ٦٠% وهذا يتفق مع ما توصل إليه عبد (٢٠٠٨) في ان المستخلص المائي

لأوراق نبات اليوكالبتوس ذو تأثير معنوي في منع فقس بيض النيماتودا كما انه ذو تأثير معنوي في قتل اليرقات خصوصا عند التركيز ٢٠%.

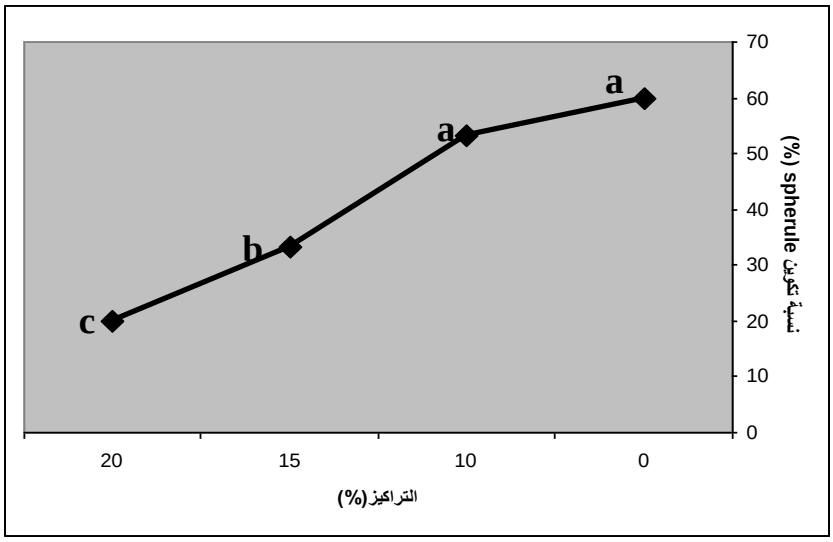
من كل ما تقدم يتضح ان للمستخلص المائي لأوراق نبات اليوكالبتوس تأثير تثبيطي واضح لنمو الفطر *C.immitis* على الأوساط الصلبة والسائلة وهذا يجب ان يدعم بتجارب على الحيوانات المختبرية لدراسة هذا التأثير داخل جسم الكائن الحي وكذلك إجراء عمليات عزل وتنقية المواد الفعالة طبيا الموجودة في النبات واستخدامها كبديل عن العلاج الكيماوي



شكل (١) تأثير التراكيز المختلفة من المستخلص على النمو الشعاعي للفطر *Coccidioides immitis*.



شكل (٢) تأثير التراكيز المختلفة من المستخلص على الوزن الجاف للغزل الفطري للفطر *Coccidioides immitis*.



شكل (٣) تأثير التراكيز المختلفة من المستخلص على نسبة تكوين spherule للفطر خارج الجسم الحي.
* الاحرف المتشابهة لا تختلف معنويا فيما بينها

المصادر:

الكناني،فاضل جبار فرحان.(٢٠٠١) حساسية الفطريات الجلدية والانتهازية لبعض المستخلصات النباتية الخام .رسالة ماجستير-كلية التربية-جامعة البصرة.

حبيب ،سهيرعبد الكريم ،مرزة،ثامر حضير والصراف،عباس جواد (٢٠٠٨) دراسة الفعالية التضادية لمستلخص الماء البارد والمغلي لاوراق نباتي اليوكالبتوس والزعتر في جرثومة *Staphylococcus areus* خارج الجسم الحي .مجلة القادسية للعلوم الصرفة .١٣(٢) ٧٤-٨٠.

داود،خالد محمد وزكي،عبد الياس (١٩٩٠) الطرق الاحصائية للتجارب الزراعية .جامعة الموصل.العراق . الطبعة الاولى .

عبد،احمد فاضل (٢٠٠٨) تاثير المستخلص المائي لاوراق ،ثمار،*قلف نبات اليوكالبتوس Eucalyptus sp. لمقاومة نيماتودا تعقد الجذور Meloidogyne javanica في الطماطة*

Beneke,D.S.&Roqers,A.L.(1980) Medical Mycology Manual with Human Mycoses Monograph.4th ed.Burges Pub.Comp

De-Hoog ,G,S.;Guarro ,J. & Figueras,M. 2000. Atlas of clinical ungi ,2ed.Vol.1. Centera albureau Voors chimmel culture.Utercht, The nether land

Feisst,C.;Franke,L.&Werz,O.(2005) Identification of molecular targets of the oligomeric nonprenylated acylphloroglucinols from *Myrtus communis* & implication as anti-inflammatory compound .J.Pharmacol.Exp.Ther.315(1) :389-96.

Johnson,M.;MacDougall, C.&Ostrosky-Zeichner,L.(2004) Combination antifungal therapy. Antimicrobial Agent & chemotherapy, 48:693-715.

Johnson ,M.&Wright,D.(1993).Introduction to Microbiology for the health science.3rd ed.Prentice hall,Engle Wood cliffs,Nj.7632

Hernandz,M.;Lopez,R.&Arias,A.(1994) Antimicrobial activity of visnea mocanera leaf extracts .J.Ethnopharmacology,41:115-119

Larone,D.H.(1995) Medically Important Fungi-Aguide to Identification.3th ed. ASM Press,Washington,D.C.

Misra,S.B.&Dixit,S.N.(1976)Fungicidal spetrum of the leaf extract of *Allium sativum* .India Phytopathology,29:448-449.

Mondello,F.;DeBerandis,F.&Girolamo,A.(2003).Invitro and Invivo activity of tea tree oil against azole-susceptible-resistant human pathogenic yeasts. Antimicrobial agent & chemotherapy. 51:1223-9.

Panda,B.N.(2004). Fungal infection of lung :The emerging scenario.India J.Tuberc.51:63-69.

Tortora,G.;Funke,B.&Case,C. (2000).Microbiology an Introduction . 7th ed.,Benjamin Cumming,Sanfrancisco Boston Newyork.

Effect of leaves Eucalyptus Aqueous extract on growth of *Coccidioides immitis* Rixford & Gilchrist that causing pulmonary infections

Neeran O.J.Al-ameeri

Biology Dep .-college of Science - Al-Qadisiyia University

Abstract

This research was conducted to study the effect of water extract of leaves Eucalyptus on growth of *Coccidioides immitis* that causing of pulmonary infections. Results showed that water extract of leaves had an inhibitory effect on the radial growth and rate of dry weight of mycelium of the fungus ,and this extract reduced the rate of converted arthrospores to spherule