وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة القادسية
كلية العلوم / قسم علوم الحياة

دراسة التأثير التثبيطي للمستخلص الكحولي لأزهار نبات القرنفل في نمو الفطر *Aspergillus nigar*

بحث مقدم الى كلية العلوم قسم علوم الحياة كجزء من متطلبات
نيل درجة البكالوريوس علوم / علوم الحياة
من قبل الطالبة

سارة علي عبد الجليل

بإشراف

أ.م.د علي عبد الهادي ماهود

1440 هـ 2019 م

بسم الله الرحمن الرحيم

﴿ وَمَا أُوتِيتُمْ مِنَ الْعِلْمِ إِلَّا قَلِيلًا (85) ﴾

صدق الله العلي العظيم

سورة الاسراء الآية 85

الاهـــداء

الى ملاكي في الحياة .... الى معنى الحب والى معنى الحنان والتفاني ... الى بسمة الحياة وسر الوجود

(والدي العزيز)

الى من كان دعائها سر نجاحي وحنانها بلسم جراحي الى اغلى الحبايب

(امي العزيزة)

الى اخي ورفيق دربي بهذه الحياة معك اكون انا وبدونك اكون مثل اي شي الى من ارى التفاؤل بعينه والسعادة في ضحكته .... في نهاية مشواري اريد ان اشكرك على مواقفك النبيلة الى من تطلعت لنجاحي بنظرات الامل

(نبيل علي عبد الجليل)

الى توئم روحي ورفيقة دربي ... الى صاحبة القلب الطيب والنوايا الصادقة الى من رافقتني خطوة بخطوة وما تزال ترافقني حتى الان الى شمعة تنير ضلمة حياتي

(اشراق علي عبد الجليل)

الى اخواتي واسرتي جميعآ اقول لهم ... انتم وهبتموني الحياة والامل ونشأت على شغب الاطلاع والمعرفة

سارة

الشكر والتقديـــر

الحمد لله الذي انار لنا درب العلم والمعرفة وعاننا على هذا الواجب ووفقنا الى انجاز هذا العمل .

نتوجه بجزيل الشكر والامتنان الى كل من ساعدنا من قريب او بعيد على انجاز هذا العمل .

وفي تذليل ما واجهنا من صعوبات ونخص بالذكر الدكتور

(علي عبد الهادي ماهود) الذي لم يبخل علينا في توجيهاته ونصائحه التي عونآ لنا في اتمام هذا البحث .

ولايفوتنا ان نشكر جميع اساتذتنا الافاضل في كلية العلوم / قسم علوم الحياة

ومن الله التوفيق

سارة

الخلاصـــة :

تم دراسة تأثير المستخلص الكحولي لأزهار نبات القرنفل *Dianthus caryophyllus* في النمو الشعاعي والوزن الجاف للفطر *Aspergillus niger* المعزول من البصل .

أظهرت النتائج ان للمستخلص الكحولي تأثيراً مثبطاً لنمو الفطر على الوسط الغذائي الصلب P D A اذ تراوحت معدلات الاقطار المستعمرات ما بين (18.59 – 32.24) ملم للتراكيز المختلفة للمستخلص بالقياس مع معاملة المقارنة والتي بلغ فيها معدل اقطار المستعمرة 90 ملم.

كما بينت النتائج ان المستخلص الكحولي لأزهار نبات القرنفل قد خفض من معدلات الوزن الجاف للفطر *Aspergillus niger* وبشكل معنوي بالقياس مع معاملة المقارنة عند مستوى الاحتمال 5% اذ بلغت معدلات الوزن الجاف للفطر قيد الدراسة ما بين (0.15 – 0.30) غرام للتراكيز المختلفة للمستخلص بالقياس مع معاملة المقارنة والتي بلغ فيها معدل الوزن الجاف للفطر (0.76) غرام.

المقدمــة :

يعتبر البصل من المحاصيل الاقتصادية المهمة وهو غني بالعديد من العناصر المهمة مثل الكالسيوم والحديد والفسفور وكذلك الفيتامينات والكربوهيدرات والبروتينات ويعمل عند تناوله على خفض الكوليسترول والسكر في الدم (***Suresh . & Stinivasan , 1997***) .

تعتبر الامراض التي تصيب نبات البصل من المحددات الرئيسية لإنتاجه وكذلك تخزينه وتصديره سواء للأسواق الخارجية او الأسواق المحلية ومن اهم هذه الامراض هو المرض العفن الاسود والذي يسببه الفطر ***Aspergillus niger*** من خلال الخدوش او الجروح على سطحه وقد تحدث اصابة في الحقل او المخزن اثناء عملية التخزين نتيجة الرطوبة العالية والمخازن القليلة التهوية (***Maude et.al ., 1984***)

ينتج الفطر بالإضافة الى التلف الذي يحدث للمحصول بعض الحوامض مثل حامض الاوكزاليك وكذلك مادة الميثفورميت التي في حالة تراكمات تؤدي الى تكوين حصى الكلى.

(***Kinetal . 1993***)

كذلك وجدت ان الانواع التابعة ***Aspergillus sp*** ومنها الفطر ***A. niger*** لها القدرة على انتاج بعض السموم الفطرية ومنها الافلاتوكسينات والتي تسبب انواع مختلفة من السرطانات للكبد والكلية من خلال تفسير نظام الخلية الأيضي المؤكسد الى مخمر.

(***Diener etal . 1987***)

ولتقليل من اصابة البصل بالفطريات وتلوث بسمومها استعملت طرق عديدة لخزن البصل ومنع حدوث مثل هذه الاصابات داخل المخزن مثل استعمال المبيدات والمواد الكيميائية المختلفة.

(***Abd .Alla et .al .,2006***)

بالنظر لبعض الصعوبات في توفير مخازن ووسائل نقل مبردة هدفت هذه الدراسة لأيجاد بدائل لحفظ البصل باستخدام المستخلص الكحولي لأزهار نبات القرنفل والذي يعود الى عائلة القرنفليات اذ تحوي البراعم الزهرية على زيت طيار يدعى ***Eugenol*** بالاضافة الى مواد كيتونية وفينولية لذا جاءت هذه الدراسة لمعرفة تأثير المستخلص الكحولي لنبات الازهار القرنفل في نمو الفطر ***A.niger*** المعزول من البصل .

وقد تضمنت خطة البحث مايلي :

1. جمع الازهار نبات القرنفل وتحضير مستخلص الكحول
2. اختبار تأثير المستخلص الكحولي لأزهار نبات القرنفل ومحضر بتراكيز مختلفة في نمو الفطر ***A.niger*** على وسط الغذائي **P.D.A** والسائل **P.D.B**

المواد وطرائق العمل

جمع الأجزاء النباتية :

تم جمع الازهار نبات القرنفل من احد الأسواق المحلية من مدينة النجف الأشرف ، تم غسلها باستخدام الماء العادي ثم باستخدام الماء المقطر ثم جففت بدرجة حرارة الغرفة وطحنت باستخدام مطحنه كهربائية وخفضت بعبوات جافة لحين استعمالها

تحضير المستخلص الكحولي :

تم تحضير المستخلص الكحولي لازهار نبات القرنفل بأعتماد على ما ورد في(***Harborue.1984***) وكالاتي :

تم اخذ **10g (غرام)** من المسحوق الجاف لأجزاء النباتي في الدراسة واضيف اليه **200ml** من كحول أيثانول في دورق زجاجي سعة **500ml** ومن ثم سخن الدورق بدرجة حرارة **40 درجة مئوية** ثم تركه لمدة **24 ساعة** ورشح بأستخدام اوراق الترشح بعد ذلك مرر المحلول خلال المرشح البكتري **(Millipore)** بقطر **0.22m** لتكون جاهزة للأستخدام.

العزلات :

تم الحصول على عزلة الفطر ***Aspergillus niger*** وبصورة نقية من دراسة سابقة عن البصل في مختبر الفطريات في قسم علوم الحياة / كلية العلوم جامعة القادسية .

وتم تشخيص الفطر النقي بأعتماد على الأسس التصنيفية بأعتماد المصادر :

(Barnett & hunter , 1972 ; Domseh etal .,1980).

تأثير المستخلص الكحولي لأزهار القرنفل في النمو الشعاعي للفطر ***Aspergillus niger*** :

لتحديد التأثير التثبيطي للمستخلص الكحولي لأزهار نبات القرنفل في النمو الشعاعي للفطر المدروس اتبعت تقنية الغذاء المسموم وذلك بتحضير ثلاث تراكيز **(20,15,10)%** كذلك معاملة المقارنة والتي تضمنت أطباق بتري حاوية على وسط **PDA** من اي اضافة بعد ان تصلبت الاوساط في الأطباق نقلت قطعة قطرها **7.5** من مزرعة نقية للفطر المدروس بواسطة الثاقب الفليني ومن ثم حضنت الأطباق بدرجة **25 م** ° وبثلاث مكررات لكل معاملة وبعدها ثم قياس النمو باستخدام المسطرة الاعتيادية بواقع معدل ثلاث أقطار متعامدة بعد وصول النمو الفطري في معاملة المقارنة الى حافة الطبق .(***Dixit et.al ., 1976***)

تأثير المستخلص الكحولي لأزهار نبات القرنفل في الوزن الجاف للفطر ***Aspergillus niger*** :

تم دراسة المستخلص الكحولي لأزهار نبات القرنفل في الوزن الجاف للفطر المدروس وكذلك بأستخدام دوارق مخروطية سعة **250 مل** وضع فيها **50 مل** من الوسط الغذائي السائل **PDB** حضرة بعدها ثلاث تراكيز **(10 , 15 , 20) %** اما معاملة المقارنة فتضمنت الوسط الغذائي من غير اي اضافة بعدها لقحت الدوارق بقطعة من الفطر **7.5 مل** وبثلاث مكررات وحضنت الدوارق بدرجة حرارة **25 م** ° لمدة **7 أيام** ومن ثم تم ترشيح النمو الفطري بأستخدام ورق ترشيح ومن ثم جففت الأوراق في الفرن بدرجة حرارة **60 م**° ولمدة **24** ساعة وبعد ذلك تم قياس الوزن الجاف لكل فطر **(محمود , 1985)** .

التحليل الأحصائي :

تم تحليل النتائج احصائياً لتحديد الفروق المعنوية بمستوى أحتمال **5%** واختبار الفروق المعنوية باستخدام اختبار دنكن متعدد الحدود .

النتائج والمناقشة

تأثير المستخلص الكحولي لأزهار نبات القرنفل على نمو الشعاعي للفطر ***Aspergillus niger*** :

بينت النتائج الجدول **(1)** ان التراكيز المختلفة للمستخلص الكحولي لأزهار نبات ***A.niger*** تأثيراً مثبطاً لنمو الفطر المدروس على الوسط الغذائي الصلب **PDA** بالقياس مع معاملة المقارنة عند مستوى احتمال **5%** وانه بزيادة التركيز يزداد تأثير المواد الفعالة والمضادة لنمو للفطر المدروس ويقل قطر المستعمرة وتحتوي ازهار نبات القرنفل على عدد من المواد الفينولية الزيوت الطيارة التربينات ومن اهمها الزيت الطيار ***Eugenol*** والتي تتراوح نسبة **(45-84) %** .

(حسين , 1979)

الجدول (1) تأثير المستخلص الكحولي لأزهار نبات القرنفل في النمو الشعاعي للفطر ***A.niger***

التركيز %	**معدل النمو شعاعي للفطر (ملم)**
10	**32.24 b**
15	**28.22 b**
20	**18.59 c**
Control	**90 a**

- تمثل النتائج معدل ثلاث مكررات
- المعدلات التي تحمل نفس الأحرف لا تختلف معنوياً حسب اختبار دنكن عند مستوى احتمال **5%**

تأثير المستخلص الكحولي لأزهار نبات القرنفل في الوزن الجاف للفطر *Aspergillus niger* :

اوضحت النتائج المبنية في الجدول (2) بأنه للتراكيز المختلفة للمستخلص الكحولي لأزهار نبات القرنفل تأثير واضحآ في النمو للفطر قيد الدراسة على الوسط الغذائي السائل PDB بالقياس مع معاملة المقارنة عند مستوى احتمال 5% اذ اظهرت النتائج بزيادة تركيز المستخلص الكحولي يزداد تأثير المواد الفعالة المضادة لنمو الفطر وبالتالي يقل الوزن الجاف وهذا يؤكد النتائج السابقة الخاصة بالنمو الشعاعي للفطر ***Aspergillus niger***

الجدول (2) تأثير المستخلص الكحولي لأزهار نبات القرنفل في الوزن الجاف للفطر ***Aspergillus niger***

التركيز %	معدل الوزن الجاف للفطر (غرام)
10	0.30 b
15	0.25 c
20	0.15 d
Control	0.76 a

- تمثل النتائج معدل ثلاث مكررات
- المعدلات التي تحمل نفس الأحرف لاتختلف معنوياً حسب اختبار دنكن عند مستوى احتمال **%5**

المصـــادر والمراجع

اولاً/ المصادر العربية :

1. حسين فوزي طه قطب (1979) النباتات الطبية زراعتها ومكوناتها الدار العربية للكتاب تونس .

ثانياً/ المصادر الاجنبية:

2. Abd-alla, m.a; el-mohamedy, r.s & badeaa, r.l(2006) effect of some volatile compounds on black mould disease on onion bulbs dulbs during storagr. Journal of agriculture and biological sciences; 2(6):384-390.
3. Al-faris,e.a;abdughani,h;mukhdomi,g.h;kamal,a.&al-muhaimeed,h.s(1998). Microbiology and antimicrobials sensitivity of suppurative otitis media .j.saudi.med;4:417-422.
4. Bernstein,j.m.(2000). Waldeyers ring and otitis media: the nasopharyngeal tonsil and otitis media. Int.pediatr.otorrhinolalryngol; 1:127-132.
5. Caruso, D ; visioli, F ; patelli , R; Galli, C; & Galli, G (2001) urinary excretion of olive oil phenols and their metabolites in humans . metabolism, 50: 1426 – 1428
6. Cawan,m.m. (1999). Plant products as antimicrobial agents. Clin. Microbial.rev 12(4):564-582.
7. Diener, u.l ; cole, r.j ; sanders, h.h ; payne , g.a; lee , l.s & klich, m.a(1987). Epidemiology of aflatoxin formation by aspergillus flavus. Annrev. Phytopathology ; 25:249-270
8. Domsch, k.h.; gams, w . & Anderson, t.h.(1980). Compendium of soil fungi . academic prees . London , new York , Toronto, Sydney , san Francisco , vol.1.
9. Ho, T.; vrabec , j.t.;yoo,d.& coker, n.j.(2006) otomycosis: clinical features and treatment implications. Otolaryngol head neck surg nov; 5787-791.

10. Kenna, ma ; bluestone, c.d. & reilly, j.s(1986) medical management of CSOM without cholecteatoma in children. Laryngoscope; 2:146-149.

11. Kikuchi , a.;funakubo , t .& kohsyu, h(1994). A study of fungal infection in otorhinolaryngology . acta . otolaryngol.stockh; 511:224-227.

12. Kim , k ; sugawara, f ; yoshida, s.; murofushi, n. & Curtis, r.w (1993) structure of malformin b a phytotoxic metabolite produced by aspergillus niger . biosci. Biotech. Biochem ; 57:787-791.

13. Maude,rb ; taylor ,j,d; munasinge, h.l; bambridge , j.m & spencer a.(1984) storage rots of onions. National vegetable research station , annual report . wellesbourne, warwick, pp:64-66.

14. Suresh, b.& Srinivasan , k (1997) . influence of dietary capaicin and onion on the metabolic abnormalities associated with streptozotocin induced diabetes mellitus. Molecular and cellular biochemistry; 175:49-57