تأثير المستخلصات النباتية الخام لنباتات القرفة والقرنفل والزعتر على نمو عزلة الفطر *Aspergillus flavus* المنتجة للافلاتوكسين B1.

هادي علوان محمد الساعدي* ياسر موفق الكرطاني نجم عبدا لله الزبيدي*****

*أستاذ مساعد - قسم الثروة الحيوانية- كلية الزراعة- جامعة ديالى . drh_alsaidy@Yahoo.Com
** قسم علوم الحياة- كلية العلوم- جامعة ديالى . yasialqrtani@Yahoo.Com
*** أستاذ مساعد - قسم علوم الحياة- كلية التربية للعلوم الصرفة- جامعة ديالى .najim_alzubaidy@Yahoo.Com

المستخلص

أجريت هذه الدراسة في قسم علوم الحياة/كلية التربية للعلوم الصرفة/جامعة ديالى للفترة من 3/15 /2011 ولغاية 2012/6/20 استخدم فيها مستخلصات نباتات القرفة Cinnamum (*Cinnamum zeylanicum*) والقرنفل Syzygium (*Syzygium aromaticum*)والزعتر Thymus (*Thymus vulgaris*) وبأربعة طرائق استخلاص مختلفة لمعرفة تأثيرها على نمو عزلة لفطر *Aspergillus flavus* المنتجة الافلاتوكسين B1.

أظهرت نتائج الدراسة كفاءة مستخلصات القرفة والقرنفل والزعتر في تثبيط نمو عزلة فطر *A. flavus* المنتجة للافلاتوكسين B1 . حيث أعطت المستخلصات الهكسانية للقرفة والقرنفل والزعتر أعلى نسبة تثبيط لنمو الفطر 100% عند التراكيز110مكغم/مل، 250 مكغم/مل و 250 مكغم/مل على التوالي . تليها المستخلصات الكحولية بنسبة تثبيط 100% بالتركيز220 مكغم/مل ، 500 مكغم/مل و 1000 مكغم/مل على التوالي ، ثم المستخلصات المائية الباردة بالتركيز1250 مكغم/مل 850 مكغم/مل و1250 مكغم/مل على التوالي أعطت أعلى نسبة تثبيط 100%. والمستخلصات المائية الحارة بالتركيز1300 مكغم/مل، 1100 مكغم/مل و 1350 مكغم/مل على التوالي أعطت أعلى نسبة تثبيط 100% ، وكان معدل تركيز المستخلصات الهكسانية القاتلة للفطر *A. flavus* 203 مكغم/مل ، ومعدل تركيز المستخلصات الهكسانية المثبطة لنمو فطر *A. flavus* 166 مكغم/مل وبنسبة تثبيط 57% في حين كانت معدل تركيز المستخلصات الكحولية القاتلة 573 مكغم/مل وبنسبة قتل 100% للفطر *A. flavus* ، يليه معدل تركيز المستخلصات الكحولية المثبطة لنمو الفطر *A. flavus* 360 مكغم/مل وبنسبة تثبيط 47.8%.

أما المستخلصات المائية الباردة فكان معدل تراكيزها القاتلة للفطر 1116.6 مكغم/مل وكان معدل تراكيزالمستخلصات المائية الباردة المثبطة لنمو الفطر *A. flavus* 933 مكغم/مل وبنسبة تثبيط 60% ، يليها معدل تراكيزالمستخلصات المائية الحارة القاتلة للفطر 1250 مكغم/مل ،ومعدل تراكيز المستخلصات المائية الحارة المثبطة للفطر فكانت 1166.6 مكغم/مل وبنسبة تثبيط 52.84% .

وبينت النتائج كذلك تفوق المضاد الفطري Ketacanazol بتركيز 100 مكغم/مل وبنسبة تثبيط 100% للفطر*A.flavus* مقارنة بأعلى نسبة تثبيط للمضاد الفطري Flucanazol والتي كانت 37.8% عند التركيز 100 مكغم/مل .

الكلمات المفتاحية: المستخلصات النباتية، القرفة، القرنفل، الزعتر، ***Aspergillus flavus*** ، الافلاتوكسين B1 .

المقدمة

ينتج فطر *A. flavus* الافلاتوكسينات وهي اخطر أنواع السموم الفطرية فهي أما قاتلة أو مسرطنة للكبد ، سجل التاريخ العديد من الحوادث سببها الافلاتوكسينات والتي ذهب ضحيتها الآلاف من البشر في مختلف الأزمان ومختلف البلدان (السعيدي ،2002) ، يظهر الفطر*A. flavus* بألوانه الأخضر والأزرق والأبيض وغيرها ، انه ذلك العفن الذي نشاهده على الخبز والعنب والبرتقال والكرز والشعير والذرة، وقد

تاريخ استلام البحث 22 / 10 / 2012 .
تاريخ قبول النشر 31 / 12 / 2012 .
البحث جزء من رسالة ماجستير للباحث الثاني

ينمو على الملابس وغيرها من الأجسام الرطبة والتي لا تتعرض للشمس (الجنابي ،1988 ؛ Golan–Barkia و Paster ،2008) ، لقد قدم الباحثون العديد من الدراسات عن طبيعة الفطر والظروف المساعدة على نموه وإنتاجه للافلاتوكسين .

لقد كان لاستخدام المبيدات الفطرية دورا كبيرا في مكافحة الفطريات ولسنوات عديدة الا انه ظهرت العديد من المشاكل في استخدامها كالتلوث البيئي وظهور سلالات مقاومة وغيرها لذا اتجهت الدراسات الحديثة نحو إنتاج واستخدام المستخلصات النباتية في المكافحة إذ امتازت بفعاليتها وسهولة الحصول عليها إضافة إلى كونها غير مكلفة وغير ملوثة للبيئة(Khalil وآخرون،2005) .

ومما تقدم تهدف هذه الدراسة إلى تحديد كفاءة مستخلصات القرفة والقرنفل والزعتر بتراكيز مختلفة وطرائق استخلاص مختلفة على نمو الفطر *A. flavus* المنتج للافلاتوكسين B1 .

المواد وطرائق البحث

المستخلصات النباتية:

تم الحصول على أربعة أنواع من المستخلصات النباتية لنباتات القرفة Cinnamum (*Cinnamu zeylanicicum*) والقرنفل Syzygium (*Syzygium aromaticum*) والزعترThymus (*Thymus vulgaris*) وهي المستخلص المائي الحار والبارد والمستخلص الكحولي والمستخلص الهكساني وكانت طرائق الاستخلاص المتبعة كما يلي:

المستخلص المائي البارد:

اتبعت طريقة Parekh و Chanda (2007) وذلك بأخذ 20غم من المسحوق النباتي في دورق زجاجي 500مل أضيف له 200مل من الماء المقطر، وضع في حاضنة هزازة لمدة 24 ساعة وبدرجة 37 مْ ، ورشح المزيج بواسطة شاش طبي في أنابيب زجاجية نبذت الأنابيب في جهاز النبذ المركزي بسرعة 5000 دورة /الدقيقة لمدة 10 دقائق ثم رشح الرائق بأوراق ترشيح ذات ثقوب 0.22 مايكروميتر. بعدها تم تبخير الراشح باستخدام الفرن (oven) بدرجة حرارة لا تزيد عن 40 مْ للحصول على مستخلص جاف بشكل مسحوق ،وضع المسحوق في أنبوبة محكمة الغلق ومعتمة ، وحفظ في المجمدة بدرجة حرارة 18 مْ لحين استعماله، كررت العملية عدة مرات للحصول على كمية كافية من المستخلص .

المستخلص المائي الحار:

اتبعت طريقة El- Fallal و El-Kattan (1997) وكما يلي:

حضر وزن 20 غم من المسحوق النباتي في بيكر زجاجي 500مل وأضيف له 200 مل من الماء المقطر المغلي ، ثم وضع في الحاضنة الهزازة بدرجة حرارة 28 مْ لمدة 30 دقيقة ، رشح المزيج باستعمال الشاش الطبي، وزع الراشح في أنابيب النبذ المركزي ونبذت مركزيا بسرعة 3000 دورة بالدقيقة ولمدة 10 دقائق جمع الراشح ووضع في أطباق زجاجية وجفف الماء في الفرن (oven) تحت درجة حرارة 40 مْ إلى أن تبخر الماء كليا. وضع مسحوق المستخلص المائي الحار في أنابيب معتمة ومحكمة الغلق ، وحفظت في المجمدة بدرجة حرارة – 18 مْ لحين استعمالها.

المستخلص الكحولي:

اتبعت طريقة Shtayeh وAbu ghadeib (1999) حيث وزن 20 غم من المسحوق النباتي في بيكر زجاجي500مل وأضيف إليه 200مل من الكحول الاثيلي بتركيز 70%، ووضع بعدها المزيج في الحاضنة الهزازة لمدة 24 ساعة في درجة حرارة 35 مْ بعدها رشح المزيج باستعمال الشاش الطبي ، وزع الراشح في أنابيب النبذ المركزي ونبذ مركزيا بسرعة 3000 دورة بالدقيقة ولمدة 10 دقائق جمع الراشح ووضع في أطباق زجاجية قطر20 سم وجفف الكحول في الفرن (oven) تحت درجة حرارة 40 مْ إلى أن تُبخر الكحول كليا . وضع مسحوق المستخلص الكحول في أنابيب معتمة ومحكمة الغلق، وحفظت في المجمدة بدرجة حرارة – 18 مْ لحين الاستعمال .

المستخلص الهكساني:

اتبعت الطريقة أعلاه في تحضير المستخلص الهكساني باستخدام الهكسان بتركيز 96% بدلا من الكحول ، وتم الحصول على زيت سائل للمستخلص النباتي بعد تبخير الهكسان منه كليا في درجة حرارة الغرفة 25 مْ ، وضع المستخلص في أنابيب زجاجية معتمة ومحكمة الغلق وحفظت في المجمدة بدرجة –18 مْ لحين الاستعمال .

تحضير تراكيزالمستخلصات النباتية :

حضرت التراكيز اللازمة للاختبارات الماكروبية وذلك بإذابة 10 غم من مسحوق المستخلص النباتي المائي في 30 مل من الماء المقطر. وأذيب مسحوق المستخلص الكحولي للنبات في محلول دارئ الفوسفات الملحي Phosphate Buffer Saline (PBS) بدلا من الماء المقطر وبنفس الكمية وباستخدام قانون التخفيف العام C1V1=C2V2 حضرت التراكيز 50 ،60 ،70 ،80 ،90 و100ملغم/مل من المستخلصات النباتية وعقمت باستخدام المرشحات الدقيقة (Millipore filter) ذات ثقوب 0.22 مايكروميتر وباستخدام جهاز Vacuum pressure (ألماني الصنع) للإسراع بعملية الترشيح.

تحضير عزلة الفطر *Aspergillus flavus* :

تم الحصول على عزلة من فطر *A. flavus* مشخصة من مختبر الدراسات العليا في كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة ديالى منماة على وسط مستخلص البطاطا والسكروز والاكار والمختبرة في قابليتها على إنتاج الافلاتوكسين B1 في أطباق بتري بقطر 9 سم. وتم التأكد من تشخيصها باعتماد المفاتيح التصنيفية المتخصصة (Raper و Fennel ، 1966 ؛ Barnett وHunter، 1972) وحضنت الأطباق في درجة حرارة 25 ±2 مْ لمدة سبعة أيام .

اختبار قابلية عزلة *Aspergillus flavus* على إنتاج الافلاتوكسينB1 في عينات الرز :

اعتمدت الطريقة الموصوفة من قبل الورشان (1999) في استعمال الرز وسطا لإنتاج الافلاتوكسين B1 حيث قدرت الرطوبة النسبية في الرز، ثم أخذت ثلاثة أطباق زجاجية معقمة (قطر 18 سم) ووضع في كل طبق 200 غم رز مع 100مل ماء مقطر، وعقمت الأطباق في المؤصدة بدرجة حرارة 121مْ وضغط 1 بار/انج ولمدة 20 دقيقة ولمرتين في يومين متتاليين لضمان التعقيم.لقحت الأطباق بعزلة الفطر *A. flavus* المنتجة الافلاتوكسين B1 ، رجت الأطباق عدة مرات لضمان التوزيع المتجانس للقاح الفطر، حضنت لمدة14 يوم على درجة 2±25 مْ ، مع رج الأطباق يدويا لمدة أربعة أيام بعد التلقيح لضمان تجانس اللقاح .بعد ذلك جففت محتويات الأطباق على درجة حرارة 50 مْ ، ثم طحنت وحفظت في المجمدة لحين تقدير الافلاتوكسين فيها واستخدامه في الدراسة .

التقدير الكمي للافلاتوكسين B1 في عينات الرز:

بعد حضن الأطباق لمدة 14 يوم من تلقيحها بعزلة الفطر*A. flavus* جففت العينات باستخدام جهاز Electrical drying ألماني الصنع تحت درجة حرارة 60ْم لمدة ثلاثة أيام ، بعدها وزن 10 غم من كل عينة وطحنت بالمطحنة الكهربائية لغرض التقدير الكمي للافلاتوكسين B1 باستخدام جهاز (HPLC) High-Performance Liquid Chromatography (أمريكي الصنع).

تحديد تراكيز المستخلصات المؤثرة على نمو الفطر:

استخدمت طريقة Khalil وآخرون(2005) لتحضير 15 تركيز من مستخلصات القرفة، القرنفل والزعتر وللحصول على تراكيز قاتلة أو مثبطة لنمو الفطر *A.flavus* وذلك بمزج المستخلص النباتي المذاب مع الوسط Sabouraud Sucrose Agar (SSA) قبل ان يتصلب لتحضير التراكيز 100،110،180،200، 220، 250، 400، 500، 750، 850، 1000، 1200، 1250، 1300و1350 مكغم/مل وأضيف مباشرة إلى أطباق معقمة (9سم) . أجريت هذه الطريقة بأربعة مكررات لكل تركيز. لقحت الأطباق بلقاح الفطر*A.flavus* (6 ملم) وقدرت نسبة التثبيط وفقا للمعادلة الآتية:

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

تحديد التركيز المثبط الأدنى (MIC)والتركيز القاتل الأدنى (MFC) لمضادي Flucoconazol وKetoconozol للفطر *A.flavus*:

اتبعت الطريقة أعلاه في تحديد التركيز المثبط الأدنى Minimal Inhibitory Concentration (MIC) والتركيز القاتل الأدنى Minimal Fungicidal Concentration (MFC) للمضادات الفطرية Ketocanazol (200 ملغم/دسل) و Flucanazol (150ملغم/دسل) ضد الفطر *A. flavus*, أذيب 0.001 غم من المضادين الفطريين Ketocanazol أوFlucocanazol في 100مل وسط Sabouraud Sucrose Agar (SSA) المعقم والمبرد إلى درجة 40 مْ للحصول على تركيز 100 مكغم/مل ثم جرى تخفيف هذا التركيز نصفيا للحصول على التركيزين 50 و25 مكغم/مل باستخدام قانون التخفيف العام C1V1=C2V2 وبأربعة مكررات لكل تركيز.

التحليل الإحصائي :

تم تحليل نتائج التجربة وفق البرنامج الإحصائي الجاهز SPSS الإصدار الثالث عشر (V. 13) وفق التصميم العشوائي الكامل CRD بتجربة عاملية 3×2×5 واختبار الفروقات بين المتوسطات باختبار اقل فرق معنوي L.S.D عند مستوى معنوية (الراوي ، 1995).

النتائج والمناقشة

أنتجت عزلة الفطر *Aspergillus flavus* الافلاتوكسين B1 بمقدار0.7 مكغم/غم وتم اختبار تأثير المستخلصات النباتية الهكسانية والكحولية والمائية الباردة والحارة لنباتات القرفة (*Cinnamum zeylanicum*) والزعتر (*Thymus vulgaris*) والقرنفل (*Syzygium aromaticum*) على نمو الفطر *A. flavus* . بينت نتائج المستخلصات النباتية للقرفة(الجدول 1) ومنها المستخلص الهكساني للقرفة بتركيز110 مكغم/مل إذ أعطى أعلى نسبة تثبيط 100% يليه التركيز 100 مكغم/مل لنفس المستخلص 50% مقارنة بمعاملة السيطرة (0.0) ، ثم المستخلص الكحولي للقرفة عند التركيز 220 مكغم/مل والذي أعطى تثبيطا 100% ويليه التركيز 180 مكغم/مل 44%، أما المستخلص المائي البارد للقرفة فقد أعطى التركيز1250 مكغم/مل نسبة تثبيط 100 % يليه التركيز 1200 مكغم/مل 45% ،وأعطى المستخلص المائي الحار للقرفة أعلى نسبة تثبيط 100%عند التركيز 1300 مكغم/مل يليه التركيز 1250 مكغم/مل حيث أعطى تثبيطا للفطر بنسبة 60% مقارنة بمعاملة السيطرة (0.0).

أظهرت المستخلصات النباتية للقرنفل (الجدول 2) ومنها المستخلص الهكساني الذي أعطى أعلى نسبة تثبيط100% عند التركيز 250 مكغم/مل يليه التركيز 200 مكغم/مل 69% مقارنة بمعاملة السيطرة (0.0).

أما المستخلصات الكحولية للقرنفل فقد اظهر التركيز 500 مكغم/مل أعلى نسبة تثبيط 100% يليه التركيز 400 مكغم/مل 51 % . وأعطى المستخلص المائي البارد للقرنفل بتركيز 850 مكغم/مل أعلى نسبة تثبيط 100% يليه التركيز 750 مكغم/مل 71% لنفس المستخلص ، وأعلى نسبة التثبيط للمستخلص المائي الحار للقرنفل 100% عند التركيز1100 مكغم/مل ، يليه التركيز 1000 مكغم/مل 52%.

جدول 1. تأثير مستخلصات القرفة *Cinnamum zeylanicum* على نمو الفطر *A. flavus* .

النبات	المستخلص	التركيز مكغم/مل	متوسط التثبيط (ملم)	% للتثبيط
القرفة	الهكساني	110.0	17.38	100.00
	الهكساني	100.0	0.00	50.00
	السيطرة	0.0	35.00	0.00
	الكحولي	220.0	0.00	100.00
	الكحولي	180.0	21.75	44.00
	السيطرة	0.0	37.00	0.00
	المائي البارد	1250.0	0.00	100
	المائي البارد	1200.0	20.13	45.00
	السيطرة	0.0	36.00	0.00
	المائي الحار	1300.0	0.00	100.00
	المائي الحار	1250.0	15.25	60.00
	السيطرة	00.0	38.00	0.00
	التركيز القاتل الأدنى	720.0	0.00	100.00
	التركيز المثبط الأدنى	682.5	18.63	48.95
	معدل قطر السيطرة	0.0	36.50	0
			15.4	LSD 0.05

*توجد فروقات معنوية بين تراكيز مستخلصات القرفة عند مستوى معنوي 0.05 .

جدول 2. تأثير مستخلصات القرنفل *Syzygium aromaticum* على نمو فطر *A. flavus* .

النبات	المستخلص	التركيز مكغم/مل	متوسط التثبيط(ملم)	% للتثبيط
القرنفل	هكساني	250.00	0.00	100.00
	هكساني	200.00	11.00	69.00
	السيطرة	0.00	36.00	0.00
	الكحولي	500.00	0.00	100.00
	الكحولي	400.00	20.00	71.00
	السيطرة	0.00	38.00	0.00
	المائي البارد	850.00	0.00	100.00
	المائي البارد	750.00	11.25	51.00
	السيطرة	0.00	39.00	0.00
	المائي الحار	1100.00	0.00	100.00
	المائي الحار	1000.00	18.25	52.00
	السيطرة	0.00	38.50	0.00
	التركيز القاتل الأدنى	675.00	0.00	100.00
	التركيز المثبط الأدنى	587.50	15.13	60.40
	معدل قطر السيطرة	0.00	37.88	0.00
			17.5	LSD 0.05

*توجد فروقات معنوية بين تراكيز مستخلصات القرنفل عند مستوى معنوي 0.05 .

وأظهرت المستخلصات النباتية للزعتر (الجدول 3) ومنها المستخلص الهكساني للزعتر والذي أعطى أعلى نسب التثبيط 100% عند التركيز 250 مكغم/مل، يليه التركيز 200 مكغم/مل 45 % وأعطى المستخلص الكحولي للزعتر بتركيز 1000 مكغم/مل أعلى نسب للتثبيط 100% يليه التركيز 500 مكغم/مل 54% وأعطى المستخلص المائي البارد للزعتر بتركيز 1250 مكغم/مل أعلى نسبة تثبيط 100% ، يليه التركيز850 مكغم/مل 54% ضد الفطر عند مقارنته بمعاملة السيطرة (0.0)

أما المستخلص المائي الحار للزعتر فقد أعطى أعلى نسب للتثبيط 100% عند التركيز 1350 مكغم/مل، يليه التركيز1250 مكغم/مل بنسبة تثبيط 46% مقارنة بمعاملة السيطرة (0.0).

جدول 3. تأثير مستخلصات الزعتر *Thymus vulgaris* على نمو الفطر *A. flavus* .

النبات	المستخلص	التركيز مكغم/مل	متوسط التثبيط (ملم)	% للتثبيط
الزعتر	الهكساني	250.00	0.00	100.00
	الهكساني	200.00	19.75	45.00
	السيطرة	0.00	36.00	0.00
	الكحولي	1000.00	0.00	100.00
	الكحولي	500.00	17.75	54.00
	السيطرة	0.00	39.00	0.00
	المائي البارد	1250.0	0.00	100.00
	المائي البارد	850.00	17.75	54.00
	السيطرة	0.00	38.50	0.00
	المائي الحار	1350.0	0.00	100.00
	المائي الحار	1250.0	20.50	46.00
	السيطرة	0.00	38.00	0.00
	التركيز القاتل الأدنى	962.50	0.00	100.00
	التركيز المثبط الأدنى	700.00	18.94	50.00
	معدل قطر السيطرة	0.00	37.88	0.00
LSD 0.05		15.3		

*توجد فروقات معنوية بين تراكيز مستخلصات الزعتر عند مستوى معنوي0.05 .

وقد أظهرت النتائج (الجدول 4) تفوق المستخلصات الهكسانية لنباتات القرفة والقرنفل والزعتر على المستخلصات الكحولية والمائية الباردة والحارة ضد فطر *A. flavus* مقارنة بمعاملة السيطرة وكان معدل تراكيزالمستخلصات الهكسانية القاتلة للفطر203 مكغم/مل وبنسبة قتل 100% يليه معدل تراكيزالمستخلصات الهكسانية المثبطة لنمو فطر *A. flavus* 166 مكغم/مل وبنسبة تثبيط 57%، ومعدل تراكيز المستخلصات الكحولية القاتلة للفطر573 مكغم/مل وبنسبة قتل 100%، يليه معدل التركيز المستخلصات الكحولية المثبطة لنمو الفطر 360 مكغم/مل بنسبة تثبيط 47.8 %، يليها معدل تراكيز المستخلصات المائية الباردة القاتلة للفطر 1116.6 مكغم/مل وبنسبة قتل 100%، يليه معدل تراكيز المستخلصات المائية الباردة المثبطة لنمو الفطر 933 مكغم/مل وبنسبة تثبيط 60%، وكان معدل تراكيز المستخلصات المائية الحارة القاتلة لفطر 1250 مكغم/مل وبنسبة قتل 100% ، يليه معدل التراكيز المثبطة للنمو 1166.6 مكغم/مل بنسبة تثبيط 52.84% .

وأظهرت النتائج (الجدول 5) بان تراكيز المضاد الفطري Ketocanazol 100، 50 و 25 مكغم/مل قد أعطت أفضل نسب التثبيط 100% و61% و50% على التوالي، تليه تراكيز المضاد

الفطريFlucanazol 100،50 و25 مكغم/مل وبنسب التثبيط 37.8% و21.5% و19% على التوالي مقارنة بمعاملة السيطرة (0.0).

جدول 4. معدل تراكيز المستخلصات القاتلة و المثبطة لنمو الفطر*A.flavus* .

المستخلصات	التركيز مكغم/مل	التثبيط ملم	%للتثبيط
الهكساني	203.00	0.00	100.00
الهكساني	166.00	16.40	57.00
السيطرة	0.00	35.67	0.00
الكحولي	573.00	0.00	100.00
الكحولي	360.00	19.83	47.80
السيطرة	0.00	38.00	0.00
المائي البارد	1116.60	0.00	100.00
المائي البارد	933.00	16.38	60.00
السيطرة	0.00	37.17	0.00
المائي الحار	1250.00	0.00	100.00
المائي الحار	1166.60	18.00	52.84
السيطرة	0.00	38.17	0.00

جدول 5. تحديد االتركيز القاتل الأدنى(MFC) والتركيز المثبط الأدنى(MIC) للمضادات الفطرية ضد الفطر *A.flavus* .

المضاد الفطري	التركيز مكغم/مل	متوسط التثبيط (ملم)
Flucanazol 150ml.gm\dc.l	25.00	29.13
	50.00	28.25
	100.00	22.38
Ketocanazol 200ml.gm\dc.l	25.00	13.75
	50.00	18.75
.	100.00	0.00
Control	0.00	36.00

لقد أظهرت نتائج الدراسة تفوقا ملحوضا لنبات القرفة Cinnamum (*Cinnamum zeylanicum*) في كفاءته بتثبيط نمو الفطر *A . flavus* يليه نبات القرنفل Syzygium (*Syzygium aromaticum*) ثم الزعتر Thymus (*Thymus vulgaris*)، ويعزى ذلك إلى المركبات الفعالة الموجودة في زيت القرفة ضد الفطريات ومنها فطر *Aspergillus flavus* خاصة ومن أكثر هذه المركبات فاعلية المركب Cinnamaldehyde حيث تتراوح نسبته مابين 52% – 75% حسب مصدر القرفة فضلا عن المركبات الأخرى كمركبات Benzaldehyde وBenzyl alchohol و Benzoic acid(الحاج واليازجي، 2010) وتشترك القرفة مع القرنفل في احتواءهما على مركب Eugenol والذي يمتاز بكفاءة تثبيطية عالية ضد معظم الفطريات حيث تراوحت نسبته في القرنفل بين 70– 90% من تركيب زيت القرنفل (Souza وآخرون ، 2005 ؛ Hoque وآخرون ، 2008) ، وتعزى كفاءة الزعتر ضد الفطر *A. flavus* إلى احتواءه على مركب Thymol وهو الاسم الشائع حاليا ، وأشارت الدراسات الحديثة بان

الزعتر يحتوي زيتا طيارا نسبته 1.2 % وتمثل المركبات الفينولية نسبة لا تقل عن 0.5% معبرا عنها بالثايمول Thymol والكارفاكرول Carvacrol (Kandil وآخرون ، 1994) .
بينت النتائج في الجداول (1 ،2 ،3) إن المستخلصات الهكسانية احتلت المرتبة الأولى وبأقل التراكيز تليها المستخلصات الكحولية ومن ثم مستخلصات الماء البارد، ومستخلصات الماء الحار ويعزى هذا التباين في كفاءة المستخلصات إلى اختلاف قطبية المذيبات المستخدمة كالهكسان والكحول الاثيلي والماء المقطر، وهذا يتفق مع ما ذكره Bernard (1997) من أن هذا التباين يعود إلى اختلاف ثابت العزل الكهربائي لهذه المذيبات وان تراكيز المستخلصات تتناسب عكسيا مع معدل أقطار النمو للفطر إذ يقل معدل أقطار النمو مع زيادة تراكيز المستخلصات على العكس من النسبة المئوية للتثبيط تزداد بازدياد تراكيز المستخلص.

المصادر

الجنابي، سندس جميل.1998. تأثير بعض المواد الحافظة للأغذية في نمو الفطر *Aspergillus flavus Link ex Fries* وإنتاجها للافلاتوكسين في الطحين رسالة ماجستير. كلية التربية ابن الهيثم . جامعة بغداد .

الحاج ، أنوار الحاج وصباح اليازجي . 2010. تأثير مكونات زيت القرفة في تثبيط الفطريات المعزولة من جبن القشقوان .مجلة جامعة دمشق للعلوم الزراعية المجلد (26) .العدد 2 :287–300 .

الراوي، خاشع محمود. 1995 .الإحصاء الحياتي. جامعة الموصل . مطبعة وزارة التعليم العالي والبحث العلمي .

السعيدي ، احمد عبدالله حمد الدباش . 2002. التحري عن الفطريات وسموم الافلاتوكسين B1 وM1 في بعض عينات الجبن المنتجة في بغداد . رسالة ماجستير. كلية الزراعة . جامعة بغداد .

الورشان ، سالم حسن صالح . 1999. استعمال بعض الممدصات الكيميائية للحد من تلوث علائق الطيور الداجنة بالافلاتوكسين . رسالة ماجستير. كلية الزراعة . جامعة بغداد.

عباس، فارس عباس.2010. تأثير الزيت الطيار لنباتي القرنفل (*Syzygium aromaticum*) واليوكالبتوس (*Eucalyptus camaldulensis*) ضد بعض أنواع الفطر *Alternaria* المعزولة من جذور نبات اللهانة. مجلة أبحاث البصرة (العلميات) .الجزء(6) العدد (36) : 133 – 142.

Barkia-Golan, R. and N. Paster.2008. Mould fruits and Vegetables as a source Of mycotoxins the Volcanic enter .Agricultural Research Organization. *Bet Dagan* 50250.Israel.

Barnett, H. L. and B.B. Hunter. 1972. Illustrated genera of Imperfect fungi. 3rd *Edition, Burgess Publishing Company, Minneaposis, Minnesota.*

Bernard, T. 1997. "Reaction in Solution" An applied Analytical Approach .*John Wiley and Sons Ltd. England* .554 pp.

El–Fallal, A.A. and M.H.El–Kattan. 1977. Effect of plant Extracts on the Mycelia Growth of some cultivated Mushrooms. *Egypt. J. Microbial* 32(1): 41- 48.

Hoque, M. M., M.L .Bari, V.K. Juneja, and S. Kawamoto. 2008. Antimicrobial activity of clove and Cinnamon extracts Against food borne pathology and spoilage bacteria and Inactivation of Listeria monocytogenes in ground Chicken meat with their essential oils. *Rep. Nat'l. Food Res .Inst*. 72, 9. Cited by F.A. Abbas. 2010.

Kandil, O., N.M .Radwan, A.B. Hassan, A.M.M. Amer, H.A. El–Banna and W.M.M.Amer.1994. Extracts and Fraction of *Thymus capitatus* exhibit

Antimicrobial activities. *J.Ethopharmacol,* 44: 19 – 24.
Khalil , B.F. Dabaneh, and G.H. Anfoka.2005. Antifungal activity of Medical Plants. Jordan environmental, plant pathology, 4,130.
Parekh, J. and S. Chanda. 2007. In vitro antimicrobial activity Photochemical Analysis of some India medical plant. *Turk.J. Biol*. 31:53-58.
Raper, K.B. and D.I.Fennel. 1966. The genus *Aspergillus.*The Williams and Wilking Co., Battimore, pp. 686.
Shtayeh , M.S.A. and Abu-Ghdeib , S.I. 1999. Antifungal Activity extract Against dematophytes. *J. Mycoses*., 42:665-672.
Souza, E.L., E. O. Lima, K.R. Freire and C.P.Sousa.2005. Inhibitory action of Some essential oils and photochemical on growth of various mould Isolated from food. *Braz. Arch. Biol. Technol*., 48.Cited by F.A. Abbas .2010.

EFFECT OF CRUED EXTRACTS FOR CINNAMUM (*Cinnamum zeylaicum*), SYZYGIUM (*Syzygium aromaticum*) AND THYMUS (*Thymus vulgaris*) ON GROWTH OF *Aspergillus flavus* WHICH PRODUCE AFLATOXIN B1.

Hadi. A.M. Al-saidy * **Y. M. Al-qrtani**** **N. A. Al-zubadi*****

* Animal Resources Dept.-College of Agric. - Univ. of Diyala. drh_alsaidy@yahoo.com
**Biology Dept. College of Science- Univ. of Diyala . yasiralqrtani@yahoo.com
***Biology Dept. College of Education for Pure Science - Univ. of Diyala. najim_alzubidy2yahoo.com

ABSTRACT

This study was carried at College of Education for Pure Science – Diyala university during 15-3-2011 to 20-6-2012, it had been used plant extracts of Cinnamon (*Cinnamon zylanicum), Syzygium (Syzygium aromaticum)* and Thymus **(***Thymus vulgaris)***.**Four different methods of extraction to test their efficacy to inhibit growth of *Aspergillus flavus* which produces aflatoxin B1, Results of this study showed that the activity of plant extracts
For *Cinnamum, Syzygium* and *Thymus* against *Aspergillus flavus*
Which produced aflatoxin B1, Hexanes extract for *Cinnamum* and *Syzygium* and *Thymus* achieved a higher percentage of inhibition 100% at 110, 250 and 250 µg/ml. Also alcoholic extracts inhibited *A. flavus* at 220 , 500 and1000 µg\ml with 100% inhibition percentage ,Cold water extracts at 1250 , 850 , 1250 µg\ml concentration gave a higher percentage of inhibition 100% , Hot water extracts at 1300 ,1100 and1350 µg\ml concentrations respectively (*Cinnamum , Syzygium , Thymus*) gave percentage of inhibition 100% . Also the results showed that the hexanes extracts for *Cinnamum, Syzygium and Thymus* were the best extracts in inhibition growth of A. *flavus* which produces aflatoxin B1 when they compared with other extracts. The average of inhibition concentrations to *A. flavus* from hexanes extracts was 203 µg\ml , and the average of inhibition

concentrations of growth *A. flavus* from hexanes extracts was 166 µg\ml with inhibiting percentage 57% while the average of inhibition concentrations to *A. flavus* from alcoholics extracts was 573 µg\ml ,So the average of inhibition concentrations of growth *A. flavus* from alcoholics extracts was 360 µg\ml with inhibiting percentage 47.8% , The average of inhibition concentrations to *A. flavus* from cold water extracts was 1116.6 µg\ml ,and the average of inhibition concentrations of growth *A. flavus* from cold water extracts was 933 µg\ml with inhibiting percentage 60% .at last hot water extracts the average of their inhibition concentration to *A. flavus* was 1250 µg\ml and average of inhibition concentrations of growth *A. flavus* was 1166.6 µg\ml with inhibiting percentage 52.84% .So the results showed most active antifungal against *A. flavus* at 100 µg\ml concentration with inhibiting percentage 100% was Ketocanazol when it comparison with a highest inhibiting percentage for antifungal Flucanazol in which was 37.8% against *A. flavus* at 100 µg\ml concentration.

Key Word: Plants Extracts, Cinnamum, Syzygium, Thymus, *Aspergillus flavus,* Aflatoxin B1and Growth Characterization.

* Part of M. Sc. Thesis of Second Author.