تأثير الزيت الطيار لقشور ثمار نبات النارنج الصفر *Citrus aurantium* L. في نمو بعض الفطريات

ثامر عبد الشهيد محسن

قسم علوم الحياة، كلية التربية- ابن الهيثم، جامعة بغداد

استلم البحث في 19،كانون الاول ،2010
قبل البحث في 8،شباط، 2011

الخلاصة

أجريت دراسة مختبرية لمعرفة تأثير الزيت الطيار لقشور ثمار نبات النارنج الصفر *C. aurantium* تجاه النمو السطحي للفطريات *Penicillium expansum* ، *Aspergillus flavus* و *Fusarium oxysporum* ، أظهرت نتائج الفعالية التثبيطية للزيت الطيار تأثيراً معنويا متفاوتاً في الفطريات المشمولة بالدراسة، إذ كان الزيت الطيار أكثر تأثيراً في الفطر *P. expansum* تلاه الفطر *A. flavus* ،في حين كان الفطر *F. oxysporum* أقل حساسية تجاه الزيت الطيار. بصورة عامة اظهر الزيت الطيار تأثيرا تثبيطيا طرديا بزيادة التراكيز وصولا الى التركيز 5% (حجم/حجم) الذي اظهر تثبيطا تاما للنمو لجميع الفطريات المدروسة.

الكلمات المفتاحية: *Citrus aurantium*، الزيت الطيار،الفعالية المضادة للفطريات.

المقدمة

يعود الفطر *P. expansum* ، والفطر *A. flavus* إلى عائلة Eurotiaceae ، ورتبة Eurotiales , وشعبة الفطريات الكيسية Ascomycota [1] . ويسبب الفطر *A. flavus* سمية الحبوب والأعلاف أذ ينتج سموم الأفلاتوكسين(Aflatoxins)، أما الفطر *P. expansum* فيسبب مرض العفن البني في التفاح [2]، إما الفطر *F. oxysporum*فيعود الى عائلة Tuberculriceae ، ورتبة Moniliales الذي يسبب مرض الذبول في بعض النباتات الاقتصادية مثل الطماطا والقطن وغيرها وهو متخصص بالنسبة الى نبات العائل [1] .

يعود نبات *C. aurantium* إلى عائلة الحمضيات Rutaceae ، و رتبة Geraniales التابعة لصف ذوات الفلقتين Dicotyledons [3]، يوصف هذا النبات بأنه شجرة دائمية الخضرة ،أوراقها مركبة تحوي على تخصر واضح بين النصل وعنق الورقة ،والأزهار ثنائية الجنس ،والثمرة برتقالية اللون وقشورها تحوي على كمية كبيرة من الزيوت الطيارة والثابتة [4]. تسمى الزيوت الطيارة (Volatile oils) بالزيوت الإيثرية أو الزيوت الأساسية (Essential oils) وتعود التسمية لكون الزيوت الطيارة تمثل العطور(Essences) أو المواد العطرية (Odoriferous) الموجودة في النبات، تتوافر الزيوت الطيارة في أجزاء متعددة من النبات مثل الاوراق،و الأزهار، والقلف والثمار ومعظمها غير قابلة للأمتزاج مع الماء وهي عديمة اللون عندما تكون طازجة وبمرور الوقت تتحول إلى لون قاتم بسبب الأكسدة وترسب مواد راتنجية منها لذلك وجب حفظها في الظلام والبرودة وبما إن لها خواصاً معقمة لذا فإنها تستعمل ضدالبكتيريا والفطريات [5،6]. تمثل الزيوت الطيارة نواتجاً أيضية ثانوية تحتوي على وحدات من Isoprene التي تتكون من خمس ذرات كاربون ،وثمان ذرات من الهيدروجين C5H8،واذا تحتوي على وحدتين منIsoprene تسمى التربينات الأولية Monoterpenes واذا تحتوي على ثلاث وحدات من Isoprene فتسمى بالتربينات المسلسلة Sesquiterpenes [7]، تحوي الزيوت الطيارة المستخلصة من قشور ثمار نبات *C. aurantium* بإستخدام جهاز التقطير بالبخار steam distillation على المركب الفعال d- limonene بنسبة 90% وهو يشبه زيت البرتقال إلا أن رائحته أفضل وطعمه مر ويحتوي على مركبات عديدة أخرى طعمها مر[6،8]، تشير دراسة [9] إلى تأثير الزيوت الطيارة لمجموعة من الحمضيات من ضمنها نبات *C. aurantium* في فطر *Penicillium digitatum* وفطر *Penicillium italicum* اذ أدى إلى تثبيط عالٍ تجاه نمو الفطرين الممرضين للنبات ،اذا يعزى سبب التثبيط إلى وجود علاقة بين التربينات الأحادية مثل Limonene ، والتربينات المسلسلة وبين الفطريات المذكورة عند إصابتها للنبات، اذا إن لهذه التربينات قدرة عالية على تثبيط الفطريات. أظهر الزيت الطيار لقشور ثمار نبات *C. aurantium* الخضراء فعالية تثبيطية تجاه بعض أنواع البكتيريا والفطريات ومنها فطر *A. flavus* حيث خفض الزيت الطيار نمو الفطر *A. flavus* تدريجياً بزيادة تركيز الزيت الطيار [10]. كما درس [11] تأثير التربينات الأحادية الصناعية على نمو الفطر *A. flavus* فلاحظ إن لها تأثير تثبيطي عال في الفطر.أشارت دراسة قاما بها [12] إلى تأثير الزيوت الطيارة لمجموعة من النباتات بينها نبات *C. aurantium* في الفطرين *F. oxysporum* و *Alternaria porri* حيث لاحظا تأثيراً تثبيطياً على نمو الفطرين موضوع البحث. وفي دراسة [13] أوضح فيها إن للزيت الطيار تأثيراً على مجموعة من الفطريات وبضمنها فطر *F. oxysporum* اذا أزداد تأثير تثبيط نمو

الفطر بزيادة تركيز الزيت الطيار، وفي دراسة موسعة شملت تأثير الزيت الطيار تجاه مجموعة من الفطريات منها *P. expansum*، *A. flavus* و *F. oxysporum* كان للزيت الطيار لنبات النارنج تأثير تثبيطي لهذه الفطريات [14].

المواد وطرائق العمل

- جمع العينات النباتية

جمعت ثمار نبات *C. aurantium* الصفر من السوق المحلية في بغداد في شهر آذار ونظفت الثمار ،اخذت القشور وقطعت واستعملت مباشرةً من دون تجفيفها [15].

-العزلات الفطرية

تم الحصول على فطر *Aspergillus flavus* و *Fusarium oxysporum* من قسم علوم الحياة في كلية العلوم/ جامعة بغداد، أما الفطر *Penicillium expansum* فقد تم الحصول عليه من مختبر الفطريات للدراسات العليا في قسم علوم الحياة/ كلية التربية- إبن الهيثم/ جامعة بغداد.

- تحضير الزيت الطيار

إتبعت طريقة [8]، لإستخلاص الزيت الطيار من قشور ثمار نبات *C. aurantium* الصفر اذ تم وزن (100) غرام من القشور وأضيف إليها لتر واحد من الماء المقطر ووضعت في جهاز التقطير بالبخار بدرجة حرارة (60) ْم مدة (2.5-3) ساعة. جمع الزيت المستخلص ووضع في قناني معتمة وحفظ في الثلاجة لحين استعماله خلال ايام.

-تحضير محلول أبواغ الفطريات

إتبعت طريقة [16]، اذا زرعت فطريات *A. flavus* ، *F. oxysporum* و *P. expansum* على وسط P.D.A. وبعد (5-6) أيام أضيف 5 مل من الماء المقطر المعقم إلى الطبق وتم فصل الأبواغ عن الهايفات بواسطة ناقل، سحب محلول الأبواغ بواساطة ماصة ووضع إلى قنينة معقمة وحسب عدد الابواغ باستعمال شريحة العد Haemocytometer واستعمل التخفيف (10^3) بوغ/مل.

-اختبار تأثير الزيت الطيار لقشور ثمار نبات *C. aurantium* الصفر في معدل نمو الفطريات

بعد إستخلاص الزيت الطيار وحسب طريقة [16]، حضرت سلسلة من التراكيز وكمياتي (0.6،1.25،2.5، 5) %(v/v) وبثلاثة مكررات و أضيفت مادة Tween 80 بنسبة (0.05%) لعمل مستحلب يمكن إذابته في الوسط ، و مزج عالق الأبواغ بتخفيف (10^3) بوغ/ مل مع كل تركيز من الزيت الطيار المذكورة في أعلاه و معامل السيطرة ،ثم حضنت بدرجة حرارة (28) ْ م مدة (24) ساعة، أخذ (0.5) مل من عالق الأبواغ المعامل بالزيت الطيار ومعاملة السيطرة بوساطة ماصة معقمة ووضعت في مركز الطبق الحاوي على وسط P.D.A. ،حضنت الأطباق بدرجة حرارة (28) ْ م، حسب قطر المستعمرة كل يومين بعد (3) أيام من الحضانة ولمدة (9) أيام وحسبت نسبة التثبيط كما في المعادلة الاتية:

$$\% \text{ التثبيط} = \frac{\text{معدل القطر في عينة المقارنة} - \text{معدل القطر في عينة المعاملة}}{\text{معدل القطر في عينة المقارنة}} \times 100$$

- التحليل الإحصائي

استعملت طريقة [17] ANOVA للتحليل الإحصائي وعند مستويات إحتمالية (0.05،0.01،0.001) وذلك لغرض تقويم الأختلافات في نتائج المعاملات من حيث كونها معنوية أوغير معنوية لغرض المقارنة بين تأثير الزيت الطيار في أجناس مختلفة من الفطريات.

النتائج والمناقشة

يلاحظ في الجدول (1) المتضمن تأثير تراكيز مختلفة من الزيت الطيار لقشور ثمار نبات *C. aurantium* في النمو السطحي للفطر *P. expansum* وجود تبايناً بين التركيز والنمو الفطري، إذ أدت الزيادة في التركيز إلى إنخفاض وبثلاثة مكررات في أقطار المستعمرات وطوال مدة الحضانة عندالتراكيز (0.6، 1.25، 2.5)%(v/v)، أما التركيز الأعلى (5)%(v/v) فقد أظهر فعالية تثبيطية بلغت 100% جدول (1) وشكل (1) اذا لم يحصل أي نمو طوال مدة الحضانة وهذه النتيجة تتوافق مع ماذكره [9،14] اذايعزى سبب التثبيط إلى وجود التربينات الأحادية مثل Limonene اذ إن لهذه التربينات قدرة عالية على تثبيط نمو الفطر،وتتباين درجة تاثير هذه التربينات الاحادية بأختلاف انواع جنس *Penicillium* sp. [9]، أما في جدول (2) الخاص بدراسة تأثير التراكيز المختلفة من الزيت الطيار في النمو السطحي للفطر *A. flavus* فقد أظهر تركيز(5)%(v/v) فعالية تثبيطية كاملة وكما موضح في الشكل (2) ، أما التراكيز الأدنى من ذلك (0.6، 1.25، 2.5)%(v/v) فقد أظهرت إنخفاضاً ملحوظاً في أقطار المستعمرات وبزيادة التركيز وهذا يتوافق ما أشار إليه [10،11] إن التربينات الأحادية كان لها تأثير تثبيطي عال في نمو الفطر *A. flavus* .

أظهر الجدول (3) وجود علاقة عكسية بين أقطار المستعمرات للفطر *F. oxysporum* وتراكيز الزيت الطيار، اذا كلما ازداد تركيز الزيت الطيار قلت اقطار المستعمرات وصولا الى التركيز (5)% (v/v) شكل (3) اذ انعدم فيها نمو المستعمرات وهذه النتيجة تتفق مع [12،13].

وخلاصة لنتائج البحث ظهر ان جميع الفطريات قد تأثرت بالزيت الطيار وهذا يتفق مع [14]، والسبب في ذلك يعود إلى أن التربينات تعرقل تكوين الغشاء الخلوي للخلية الفطرية لانها محبة للدهون وتذوب في الأغشية الخلوية (7)، أو أن التربينات تغير من نفاذية الغشاء البلازمي للخلية الفطرية وذلك باختزال محتوى الأركسترول (Ergostrol) الموجود في الغشاء[18] ، وقد تبين من التحليل الإحصائي وجود فروق معنوية عالية وتحت مستوى إحتمالية (0.05،0.01،0.001) وعند جميع التراكيز ولجميع الفطريات المدروسة.

المصادر

1- علي، بتول زينل وحبيب، خالد عبد الرزاق ومحسن، توفيق محمد(2006). علم الفطريات. مطبعة جامعة بغداد، بغداد:323.

2-ألشكري، مهدي مجيد(1991). أساسيات الفطريات وأمراضها النباتية. مطبعة دار الحكمة للطباعة والنشر، جامعة بغداد:431 .

3-Bhattacharyya, B. and Johri, B.M. (1998). Flowering plant taxonomy and phylogeny. Navosa publishing house, New Delhi: 753

http://liberherbarum.com4-Gotfredsen, E.(2003). *Citrus aurantium*

5-Tyler, V.E.; Brady, L. B. and Robberes, J. E.(1988). Pharmacognosy, 9th.Lea & Febiger, Philadelphia: 519

6-الشماع، علي عبد الحسين (1989). العقاقير وكيمياء النباتات الطبية. مطبعة دار الكتب للطباعة ،الموصل:400

7-Cowan, M. M. (1999). Plant product as antimicrobial agent. Clin. Microbial. Rev., 12 (4): 564-582.

8-Carvalho-Freitas,M.I.R. and Costa,M. (2002). Anxiolytic and sedative effects of extracts and essential oil from *Citrus aurantium* L. Biol. Pharm Bull., 25(12): 1629-1633

9-Caccioni, D.R.L.; Guizzardi, M.; Biondi, D.M.; Renda, A. and Ruberto, G. (1998). Relationship between volatile components of citrus fruit essential oils and antimicrobial action on *Penicillium digitatum* and *Penicillium italicum*. Int. J. Food Microbial., 43(1-2): 73-79.

10- القيسي، إستبرق عز الدين محمود(2004). تأثير مستخلصات نبات خناق الدجاج *Zygophylum fabago* L.والزيت الطيار لقشور ثمار نبات النارنج *Citrus aurantium* L. الخضراء في نمو وفعالية بعض الأحياء المجهرية. رسالة ماجستير، كلية التربية/ إبن الهيثم،جامعة بغداد: 97

11-Lopez, M.A.; AL-Zamora, S.M. and Palou, E.(2002). *Aspergillus flavus* dose-response curves to selected natural and synthetic antimicrobial Int.J.Food Microbial.,73(2-3): 213-218.

12-Pawar, V.C. and Thaker, V.C.(2007).Evolution of the anti-*Fusarium oxysporum* f.sp cicer and anti-*Alternaria porri* effects of some essential oils. World J. Microbiol Biotechnol, 23:1099-1106.

13-Chutia, M.; Deka Bhuyan, P.; Pathak, M.G.; Sarma, T.C. and Boruah, P. (2009).Antifungal activity and chemical composition of *Citrus reticulate* Blanco essential oil against phytopathogens from North East India.LWT-Food Science and Technology, 42: 777-780.

14-Zabka, M. and Pavela, R.(2009). Antifungal effect of *Pimenta dioica* essential oil Against dangerous pathogenic and toxinogenic fungi. Industr. Crops And products,30(2):250-253.

15-Vekiari, S.A.; Protopapadakis,E.E.; Papadopoulou, P.; Papanicolaou, D.; Panon, C. and Vamovakias, M. (2002). Composition and Seasonal Variation of the essential oil from leaves and peel of acertain lemon Variety. J.Agaric. Food Cham., 50(1):147-153.

16-Chao, S. C.; Young, D.G. and Oberg, C.J. (2000). Screening for inhibitory activity of essential oils on selected bacteria, fungi and viruses. J. Essent. Oil Res., 12: 639-649.

17-ZAR, J. H. (1999). Biostatistical 4th . Prentice hall upper saddle river, analysis. New jersey: 663.

18-Reichling,J.; Schnitzler,P.; Suschke,U.and Saller, R. (2009). Essential Oils of Aromatic plants with Antibacterial, Antifungal, Antiviral, and Cytotoxic Properties-an Overview. Forsch Komplementmed, 16: 79-90.

جدول (1) نسبة التثبيط % لتراكيز مختلفة من الزيت الطيار لقشور ثمار نبات النارنج الصفر *C. aurantium* في النمو السطحي للفطر *P. expansum* .

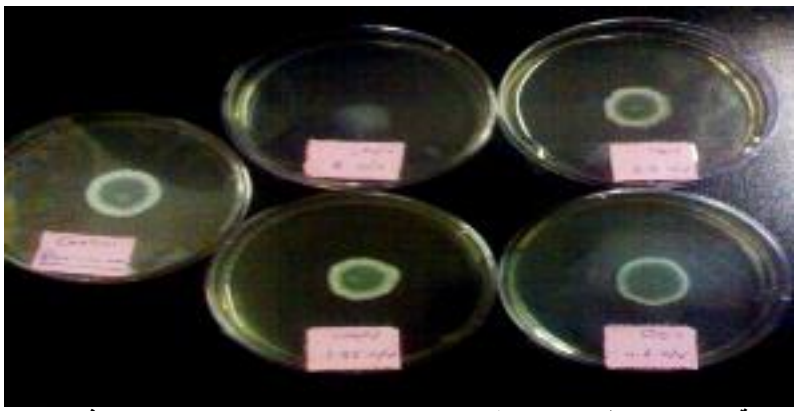
عدد الايام / التركيز %(v/v)	3	5	7	9
0.6	9.09	10.9	17.07	18
1.25	12.22	19.35	24.39	30
2.5	31.81	35.48	39.02	46
5	100	100	100	100

جدول (2) نسبة التثبيط % لتراكيز مختلفة من الزيت الطيار لقشور ثمار نبات النارنج الصفر *C. aurantium* في النمو السطحي للفطر *A. flavus* .

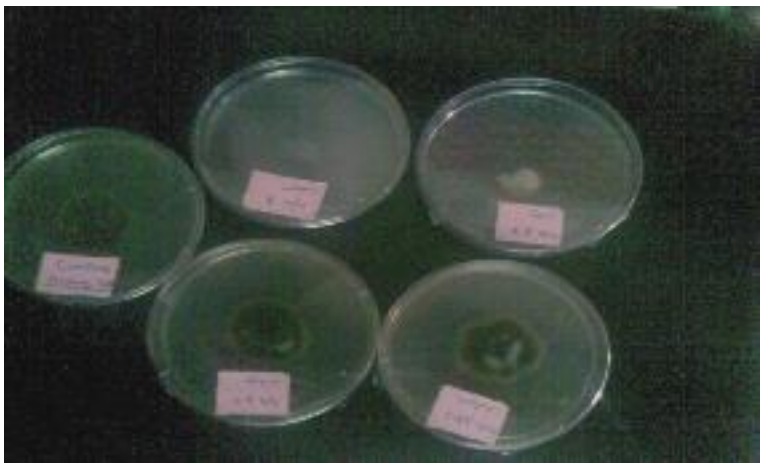
عدد الايام / التركيز %(v/v)	3	5	7	9
0.6	12.5	12.38	14.58	19.56
1.25	20	23.07	25	27.27
2.5	33.33	33.35	35.41	36.36
5	100	100	100	100

جدول (3) نسبة التثبيط % لتراكيز مختلفة من الزيت الطيار لقشور ثمار نبات النارنج الصفر *C. aurantium* في النمو السطحي للفطر *F. oxysporum*

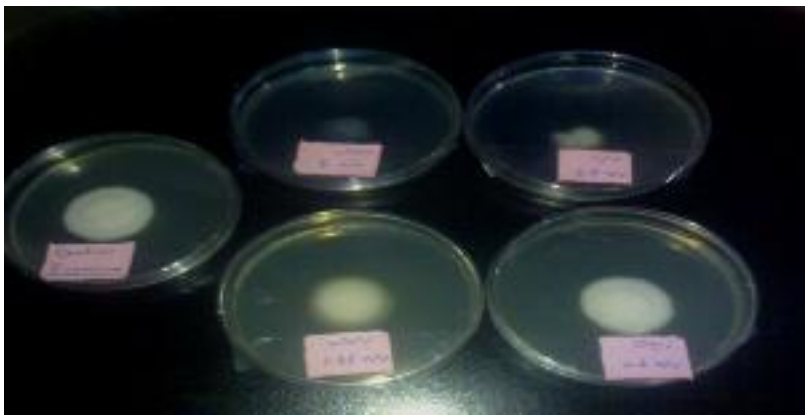
عدد الايام / التركيز %(v/v)	3	5	7	9
0.6	12	13.1	19.23	23.35
1.25	24	24.39	26.92	30.86
2.5	30	31.71	39.53	46.33
5	100	100	100	100



شكل(1) تأثير التراكيز مختلفة من الزيت الطيار لقشور ثمار نبات النارنج الصفر *C. aurantium* في النمو السطحي للفطر *P. expansum* مقارنة بمعاملة السيطرة (بعد خمسة ايام حضانة).



شكل (2) تأثير التراكيز مختلفة من الزيت الطيار لقشور ثمار نبات النارنج الصفر *C. aurantium* في النمو السطحي لفطر *A. flavus* مقارنة بمعاملة السيطرة (بعد مرور خمسة ايام).



شكل (3) تاثير التراكيز مختلفة من الزيت الطيار لقشور ثمار نبات النارنج الصفر *C. aurantium* في النمو السطحي للفطر *F. oxysporum* مقارنة بمعاملة السيطرة (بعد خمسة ايام حضانة).

The Effect of essential oil extracted from yellow peel of *Citrus aurantium* L. on growth of some fungi

Th. A. Muhsen
Department of Biology, College of Education-Ibn Al-Haitham, University of Baghdad

Received in ,19,December,2011
Accepted in , 8, Feb ,2011

Abstract

The study was conducted to evaluate the effect of essential oil extracted from yellow peels of *Citrus aurantium* on the radial growth of all fungi. *Penicillium expansum, Aspergilus flavus and Fusarium oxysporum*.

The results showed significant gradual reduction of the surface growth of fungi, *P. expansum* and *A. flavus* was more affected by the essential oil, while *F. oxysporum* showed less sensitivity towards the essential oil. The reaction of growth was inconcommitant with increasing concentrationsof oil, reaching concentration of (5)% which showed complete inhibition.

Key word : *Citrus aurantium*, Essential oils, Antifungal,