effect some of plant extracts of growth the fungus *Aspergillus flavus and* *Aspergillus parasiticus* and production aflatoxin B_1

تأثير بعض المستخلصات النباتية في نمو الفطرين *Aspergillus flavus* و*Aspergillus parasiticus* وانتاج سم الافلا B_1

بان طه محمد انتظار جبار محمد
جامعة كربلاء - كلية التربية للعلوم الصرفة - قسم علوم الحياة

*البحث مستل

المستخلص

اجريت تجارب مختبرية في مختبرات الدراسات العليا بقسم علوم الحياة / كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة كربلاء للمدة من 2012/10/11 لغاية 2013/9/27. لدراسة تأثير بعض المستخلصات النباتية الكحولية والمائية المجففة لكل من نباتات الكجرات واليوكالبتوس والنعناع في تثبيط نمو الفطرين*Aspergillus flavus* و*Aspergillus parasiticus* فضلا عن تقييم قدرتها على تحطيم سم الافلاB_1 .

اظهرت النتائج ان المستخلصات النباتية للكجرات واليوكالبتوس والنعناع وبنوعيها الكحولي والمائي وبالتراكيز 20,10 و30ملغم/مل فعالية تثبيطيه ضد نمو الفطرين *A.flavus* و*A.parasiticus* ، فوجد ان المستخلص الكحولي للكجرات واليوكالبتوس ثبط نمو الفطرين بنسبة 100% عند التركيز30 ملغم/مل حيث ظهرت المستعمرة بشكل عزلة صغيرة بيضاء، كما اظهر المستخلص الكحولي للنباتات تفوقا" على المستخلص المائي في تثبيط نمو الفطرين المذكورين . وبينت النتائج ان معاملة الفطرين بتركيز 20 و30% من مستخلص الكجرات الكحولي، الكجرات المائي ، اليوكالبتوس المائي والنعناع المائي لم يظهر

سم الافلاB_1، وكذلك معاملة الفطرين بتركيز 10% من مستخلص اليوكالبتوس المائي لم يظهر سم الافلاB_1.

Abstract

Laboratory experiments were carried out in the postgraduate laboratories, Biology Department – College of Education for pure Sciences / Kerbala University . The Study aimed to investigate of the effect some of each alcoholic and water extracts of *Hibiscus sabdariffa* , *Eucalyptus Camaldulensis* and *Mentha spicata* on the fungus *A. flavus* and *A.parasiticus* and production aflatoxin B_1.

Results showed that, the extracts of *Hibiscus sabdariffa*, *Eucalyptus Camaldulensis* and *Mentha spicata* plants each alcoholic and water at 10, 20 and 30 mg /ml inhibited the growth of those two fungi extracts of Roselle and Eucalyptus plants inhibited the growth by 100% at 30mg/ml, the colony appeared while white small isolate. the alcoholic extract was superior as compared with the water extract.

Results also revealed that , the treatment of those fungi with 20 and 30 mg/ml of alcoholic extract of Roselle plant , water extract of Roselle , Eucalypts and Mint plants as well as the treatment of fungi with 10% of water extract of Eucalyptus plant no aflatoxin B_1 was detected .

المقدمة Introduction

تعمل بعض الفطريات التي تنمو بصوره رمية Saprophyttic على بعض المواد الاولية لأطعمة الانسان على افراز نواتج ايضية عليها والتي تعرف بالسموم الفطرية Mycotoxin (1) ، ومن اهم هذه السموم الفطرية فعالية واكثرها انتشارا" هي سموم الافلا التي تمثل أيضيات ثانوية مسرطنة وسامة تنتجها مجموعة من الفطريات أهمها *A. flavus* والذي ينتج كل من الافلا B_1 , B_2والفطر *A. parasiticus* الذي ينتج اربعة من سموم الافلا والمتمثلة B_1،B_2،G_1وG_2 (2) ، وعند تناول الاطعمة الملوثة بالسموم الفطرية من قبل الا نسان والحيوان فانة يؤدي الى حدوث سلسلة من المشاكل الصحية متمثلة بالتسمم الكبدي والتسمم

الكلوي والتسمم المناعي والتشوه الجنيني مؤدية" بذلك الى تأثيرات حادة ومزمنة للإنسان والحيوان تمتد الى اضرار في الجهاز العصبي المركزي والاوعية الدموية والجهاز التنفسي والقناة الهضمية وقد يؤدي الى الموت (3) .

أكدت العديد من الدراسات ان تعرض الانسان وحيواناته لسموم الافلا يؤدي الى أحداث امراض خطيرة منها تورمات في الاجهزة التناسلية والإجهاض والنزف الدموي والضعف العام مع تشوهات في الهيكل العظمي فضلاً عن تأثيراتها السامة على الحيوانات مثل انخفاض الإنتاجية وزيادة الاصابة بالأمراض الفايروسية والبكتيرية نتيجة لا ضعاف او تحطم جهاز المناعة (4) ، وعلى سبيل المثال في غرب الهند عام 1974 تسبب سم الافلا بموت 100 شخص هندي والذي عزى الى تسمم الكبد Hepatotoxin الناتج من تناول حوالي 2-6 ملغم من السم المتواجد في الذرة الصفراء يوميا" (1)، اما في الآونة الاخيرة فقد تم تسجيل وفاة 125 شخصا"كيني عام 2004 بسبب تناولهم الذرة الملوثة بسموم الافلا (5) ، وتشير التقديرات إلى أن ما يقرب من 4.5 مليار شخص يعيشون في البلدان النامية يتعرضون الى الاصابة إلى حد كبير من الأفلاتوكسين الناتج من سوء في الحصانة والتغذية (6).

لذلك كان لابد من حماية الانسان والحيوان من الاضرار الناتجة عن هذه السموم وتأتي هذه الحماية بعدة طرق ،منها استخدام بعض المواد الكيمياوية كالمعاملة بالأمونيا وبيروكسيد الهيدروجين والكبريتات وغيرها .وبالنظر لان الغالبية العظمى من هذه المواد الكيمياوية لها تأثيرات جانبية فقد تكون من المواد المسرطنة او السامة لذلك اصبح من الضروري ايجاد بدائل لهذه المواد الكيمياوية لذلك اتجهت الدراسات منذ زمن بعيد في العديد من دول العالم للكشف عن منتجات او مستخلصات نباتية تكون بديلا عن المواد الكيميائية المصنعة (7).

لذلك هدفت الدراسة الحالية الى تأثير بعض المستخلصات النباتية ضد نمو الفطرين *A.flavus* و*A.parasiticus* وهما من الفطريات الشائعة المسببة لتلف المواد الغذائية والمحاصيل اثناء الخزن. تضمنت الدراسة ما يأتي:-

1- عزل الفطريات الملوثة لبعض المواد الغذائية المخزونة .

2- الكشف عن قابلية الفطرين*A.flavus A.parasiticus* لانتاج سم الافلا

3- اختبار قابلية عزلات الفطرين *A.flavus* و*A.parasiticus* على إنتاج الافلاتوكسين B1 باستخدام تقنية صفائح الكروماتوغرافيا الرقيقة (T.L.C.) .

4- اختبار تأثير المستخلصات المائية و الكحولية المجففة لكل من نبات الكجرات واليوكالبتوس والنعناع في تثبيط نمو الفطرين *A.flavus* و*A.parasiticus* .

5- تقييم كفاءة المستخلصات المائية و الكحولية المجففة لكل من نبات الكجرات واليوكالبتوس والنعناع في تحطيم سم الافلاB1

المواد وطرائق العمل Materials and Methods

1-مصدر العزلات

تم الحصول على عزلتي الفطرين *A.flavus A.parasiticus* من مختبرات الدراسات العليا بقسم علوم الحياة / كلية التربية للعلوم الصرفة /جامعة كربلاء نتيجة لتجارب سابقة لنفس الباحثين

2-الكشف عن قابلية الفطرين*A.flavus A.parasiticus* لانتاج سم الافلا

تم الكشف والتمييز بين العزلات التي تنتج السموم والعزلات غير المنتجة للسموم للفطرين *A.flavus A.parasiticus* ، وذلك وفقاً للطريقة التي ذكرها **(8)** باستخدام وسط أجار مستخلص جوز الهند Coconut Extract Agar ، ثم صب الوسط في اطباق بتري وزرعت اقراص من عزلات الفطرين*A.flavus A.parasiticus* .وبقطر5 ملم وبمعدل ثلاثة اطباق لكل عزلة ثم حضنت الاطباق بالحاضنة بدرجة 25 ±2 مْ ولمدة اسبوع ، وبعدها جرى الكشف عن قدرة العزلات النامية من الفطرين *A.flavus* و*A. Parasiticus* على إنتاج سموم الافلا من خلال استخدام محلول الامونيا وبتركيز 10 % إذ وضعت اوراق ترشيح مبللة بقطيرات من الأمونيا في غطاء الطبق الحاوي على الفطر النامي على وسط أجار مستخلص جوز الهند (CEA) ثم حضنت الاطباق بصورة مقلوبة ولمدة 4 يوم وبدرجة حرارة 25 ± 2 مْ ، بعدها أخرجت الأطباق ولوحظت ألوان قواعد مستعمرات كل فطر، فحدوث تغيير في لون قواعد المستعمرة من اللون الشفاف الى اللون الأحمر او اللون البرتقالي يدل على ان العزلة النامية قادرة على إنتاج سموم الافلا وان درجة اللون الأحمر تدل على كفاءة العزلة بإنتاج هذه السموم .

3-الكشف عن سم الافلا B_1 للفطرين *A. flavus* و*A.parasiticus* باستعمال طريقة صفائح الكروماتوغرافيا الرقيقة (TLC)

تم تنمية عزلات الفطرين *A. flavus* و *A.parasiticus* على وسط (PDA) وذلك بوضع أقراص من الفطريات قطرها 5 ملم وبعمر اسبوع في مركز كل طبق وبثلاث مكررات لكل عزلة ، حضنت عند درجة حرارة 25م ° ± 2 م ° لمدة أسبوع بعدها تم تقطيع الوسط الزرعي النامي عليه الفطر بواسطة سكين معقمة على شكل قطع صغيرة ، وضعت في الخلاط الكهربائي مع كمية 50 مل من ماء مقطر لمدة 3 دقائق بعدها تم ترشيح المزيج بواسطة ورق الترشيح من نوع Whatman No-1 ثم اخذ الراشح ووضع في قمع الفصل واضيف له مقدار حجمه كلوروفورم مع الرج لطرد الغازات الناتجة وترك المزيج لمدة 15 دقيقة لإتمام

عملية فصل الطبقتين ثم وضع الراشح في دورق نظيف ومعقم ووضع في فرن كهربائي بدرجة حرارة 40 م° الى ان جفت العينة وهكذا كررت العملية مع عزلات الفطر المدروسة جميعها .

تم الكشف عن وجود سم الافلا B_1 باستخدام تقنية صفائح الكروماتوغرافي الرقيقة TLC ذات ابعاد 20×20 سم اذ نشطت الصفائح في الفرن الكهربائي بدرجة 120 م° لمدة ساعة قبل الاستعمال. واستخدم نظام الفصل كلوروفورم : ميثانول (98 : 2) .

تم عمل خط مستقيم على صفيحة TLC يبعد بمسافة 1.5 سم من قاعدة الصفيحة ، ووضعت بقعة من سم افلا B_1 القياسي حيث تم الحصول عليه بشكل متبلور في عبوة زجاجية من د. سامي عبد الرضا الجميلي بوزن (1) ملغم واذيب فى (5) مل من محلول الكلوروفورم ليصبح التركيز (200) مايكروغرام /مليلتر على الخط بمسافة 2 سم من الحافة اليسرى للصفيحة ، كما تم وضع نفس الكميات من كل عينة من عينات الفطريات المختبرة وعلى نفس المسافة المذكورة أعلاه أي 2 سم، بعدها تركت البقع لتجف ثم وضعت في حوض الفصل الحاوي على الطور المتحرك وتمت مراقبتها لحين وصول المحلول الى مسافة تقارب 2 سم من النهاية العليا للصفيحة ، أخرجت الصفائح وجففت ثم فحصت تحت الأشعة فوق البنفسجية وبطول الموجي 360 نانوميتر وتم الكشف عن وجود سم الافلا B_1 بمطابقة معامل الترحيل Rat of flow ولون التألق لمحتوى المستخلصات من سموم الافلا مع المادة القياسية للسم الافلاB_1 (9) .

4-تحضير المستخلصات النباتية

اتبعت الطريقة (10) في عملية الاستخلاص، إذ طحنت الأجزاء النباتية الجافة باستخدام طاحونة للحصول على مسحوق ، نقع اما في الماء المقطر للحصول على المستخلص المائي أو في الايثانول70 % للحصول على المستخلص الكحولي ، اذ أستعمل 20 غم من المسحوق النباتي الجاف مع 100 مل من سائل الاستخلاص أي بنسبة 1 غم من المسحوق لكل 5 مل من السائل ،

وترك الخليط في حمام مائي هزاز (Shaker Water bath) و بدرجة37 °م و لمدة 24 ساعة ، بعدها تم ترشيح النقيع باستعمال عدة طبقات من الشاش الطبي ثم باستعمال ورق ترشيح من نوع Whatman No.1، و عرض الراشح الى الانتباذ بقوة 2500 دورة /دقيقة و لمدة 10دقائق بجهاز الطرد المركزي ، بعدها وضع الراشح في أطباق بتري زجاجية نظيفة و معقمة و وضعت في الحاضنة بدرجة 40°م و لمدة 2-3 أيام حتى جفاف المستخلص ، ثم كشط المستخلص الجاف بوساطة سكينة نظيفة و معقمة و حفظ المسحوق الجاف بعد وزنه في أوعية بلاستيكية نظيفة و محكمة لحين الاستعمال و أطلق على هذا المحضر المستخلص المائي الجاف أو المستخلص الكحولي الجاف.

5-تأثير المستخلصات في نمو الفطرين *A.flavus* و*A.parasiticus* وانتاج سم الافلا B_1

اتبعت طريقة (11) ، اذ تم مزج المستخلصات المائية و الكحولية المجففة لكل من نبات الكجرات واليوكالبتوس والنعناع مع الوسط الزرعي دكستروز البطاطا الصلب Potato Dextrose Agar (PDA) المعقم والمضاف له المضاد الحيوي كلورامفينكول Chloramphenicol بمعدل 250 ملغم/لتر قبل التصلب، و بثلاثة تراكيز 10 ،20 و30 ملغم/مل، و بمعدل ثلاثة مكررات لكل تركيز، و بعد تصلب الوسط ، تم نقل قرص بقطر5 ملم بوساطة ثاقب الفلين Cork borer من مزرعة الفطرين *A.flavus* و*A.parasiticus* الى وسط الطبق وبعمر 7ايام. و تم استعمال نوعين من المقارنة ، (مقارنة1) إذ لم تضاف أية مادة للوسط الزرعي ، و(مقارنة2) فيها تمت إضافة المضاد الفطري Clotrimazole بتركيز 2 ملغم/مل الى الوسط الزرعي. حضنت الأطباق جميعها بدرجة حرارة 27± 2°م و لمدة اسبوع، و تم قياس قطر المستعمرة النامية (معدل قطرين متعامدين)،و سجلت النتائج و حسبت نسبة التثبيط باستعمال المعادلة الآتية :

$$\text{نسبة التثبيط} = \frac{\text{معدل قطر الفطر في أطباق المقارنة 1} - \text{معدل قطر الفطر في أطباق المعاملة}}{\text{معدل قطر الفطر في أطباق المقارنة 1}} \times 100$$

ومن ثم تم الكشف عن سم الافلا B_1.

التحليل الإحصائي

تم تصميم التجربة للمستخلصات النباتية بوصفها تجربة عامليه (5x2x3) للنوع النباتي و نوع المستخلص و التركيز على التوالي ، وباستعمال التصميم العشوائي التام Completely Randomized Design (CRD) و بثلاث مكررات ، و قورنت المتوسطات باستعمال أقل فرق معنوي LSD و على مستوى احتمالية 0.05 وشمل هذا التحليل تجربة تأثير النوع النباتي و نوع المستخلص وتركيزه والتداخل بينها في معدل قطر المستعمرة سم (12).

النتائج والمناقشة Results and Discussion

تأثير المستخلصات النباتية في نمو الفطرين *A.flavus* و*A.parasiticus*

أظهرت النتائج في الجدولين (1و2) أن هنالك فروقات معنوية بين الانواع النباتية ، حيث أظهر نبات اليوكالبتوس تفوقا على بقية النباتات في تأثيره التثبيطي في نمو الفطر*A. flavus* ، إذ أعطى أقل معدل نمو 3.08 سم وبفروقات معنوية عن نبات النعناع، أما فيما يخص الفطر *A.parasiticus* فقد اظهر نبات الكجرات تفوقا على بقية النباتات في تأثيره التثبيطي في نمو الفطر ، إذ أعطى أقل معدل نمو 3.08 سم ، واختلفت معنوياً" عن نبات النعناع. و هذا قد يعود الى اختلاف في طبيعة ونوعية المركبات التي يحتويها كل نبات ، فبعضها مثبط و بعضها مشجع و بعضها الآخر من دون تأثير (13) .

اما بالنسبة لنوع المستخلص فقد أظهر المستخلص الكحولي تفوقا على المستخلص المائي في تأثيره التثبيطي في نمو الفطرين *A. flavus* و*A.parasiticus* وبفروقات معنوية وعند مستوى احتمالية 0.05 ، إذ بلغ معدل النمو للفطرين *A. flavus* و*A.parasiticus* بالمستخلص الكحولي 2.85 و3.11 سم على التوالي في حين كان المستخلص المائي 3.62 و3.61سم على التوالي، و قد يعود هذا التباين الى اختلاف القطبية فيما يخص المذيب المستعمل إذ تعود الى اختلاف ثابت العزل الكهربائي لهذه المذيبات، اذ يبلغ ثابت العزل الكهربائي للماء 78.4 في حين يبلغ 24.5 للكحول الأثيلي ومن ثم ستختلف المركبات الذائبة في الماء أو الكحول (14).

اظهرت نتائج المستخلص الكحولي للكجرات كفاءة عالية في تثبيط الفطر*A. flavus* وبالتركيز 30ملغم/مل ، فقد كان قطر المستعمرة 0 سم ، في حين التركيزين 10 و 20 ملغم/مل بلغ نمو المستعمرة 2.53 و1.57 سم على التوالي ، وتوجد فروقات معنوية بينه وبين المستخلص المائي للكجرات فقد كان معدل نمو الفطر 2.00سم عند التركيز 30ملغم/مل و2.83سم عند التركيز 20 ملغم/مل و4.67 سم عند التركيز 10 ملغم/مل الجدول (1).

اما فيما يخص الفطر*A.parasiticus* فقد اظهر المستخلص الكحولي للكجرات كفاءة عالية في تثبيطه وبالتركيز 30ملغم/مل ،فقد كان قطر المستعمرة 0 سم اذ منع تكون السبورات، في حين بلغ نمو المستعمرة للتركيزين 10 و20 ملغم/مل 3.08 و1.58 سم على التوالي ، توجد فروقات معنوية بينه وبين المستخلص المائي للكجرات اذ كان معدل نمو الفطر 1.50سم عند التركيز 30ملغم/مل و2.33 سم عند التركيز 20 ملغم/مل و3.58 سم عند التركيز 10 ملغم/مل، وقد يعزى السبب إلى وجود التانينات في المستخلص الكحولي وغيابه في المستخلص المائي الجدول (2) .

هذه النتائج توافقت وما توصل اليه العديد من الباحثين فقد اكد (15) الى ان المستخلص المائي لنبات الكجرات يمتلك فعالية تثبيطية تجاه الفطر *C. albicans* حيث بلغت منطقة التثبيط 21 ملم .

كذلك اظهرت نتائج المستخلص الكحولي لليوكالبتوس كفاءة عالية في تثبيط الفطر*A. flavus* وبالتركيز 30ملغم/مل ، فقد كان قطر المستعمرة 0 سم، في حين بلغ نمو المستعمرة عند التركيزين 10 و 20 ملغم/مل 3.04و 1.50سم على التوالي، وتوجد فروقات معنوية بينه وبين المستخلص المائي لليوكالبتوس فقد كان معدل نمو الفطر 1.50سم عند التركيز 30ملغم/مل و3.04 سم عند التركيز 20 ملغم/مل و3.67عند التركيز 10 ملغم/مل الجدول (1). اما فيما يخص الفطر *A.parasiticus* فقد اظهر المستخلص الكحولي لليوكالبتوس كفاءة عالية في تثبيط الفطر وبالتركيز 30ملغم/مل، فقد كان قطر المستعمرة 0 سم ، في حين بلغ نمو المستعمرة عند التركيزين 10 و 20 ملغم/مل 3.09 و 2.25سم على التوالي ، وتوجد فروقات معنوية بينه وبين المستخلص المائي لليوكالبتوس فقد كان معدل نمو الفطر 2.25سم عند التركيز 30ملغم/مل و3.09سم عند التركيز 20 ملغم/مل و3.04 سم عند التركيز10 ملغم/مل، لربما يعزى ذلك إلى وجود القلويدات ، الصابونينات ، الراتنجات والفلافونيدات في المستخلص الكحولي وعدم وجودها في المستخلص المائي الجدول (2).

تتفق هذه النتائج مع ما توصل اليه (16) اذ وجدوا ان المستخلص الميثانولي لثلاثة انواع عائدة لنبات اليوكالبتوس لها فعالية تثبيطية تجاه 22 نوع من الفطريات .

اما نتائج المستخلص الكحولي للنعناع فقد اظهر تأثيرا" تثبيطيا"على نمو الفطر*A. flavus* عند التراكيز 10 و 20و30ملغم/مل حيث بلغ نمو المستعمرة 3.17 و2.42 و1.59 سم على التوالي، وتوجد فروقات معنوية بينه وبين المستخلص المائي للنعناع فقد كان معدل نمو الفطر2.34 سم عند التركيز 30ملغم/مل و3.08سم عند التركيز 20 ملغم/مل و4.17 سم عند التركيز
10 ملغم/مل الجدول (1) .

اما الفطر *A.parasiticus* فقد اظهر المستخلص الكحولي للنعناع كفاءة في تثبيط الفطر وبالتركيز 30ملغم/مل ، فقد كان قطر المستعمرة 2.13سم ، في حين التركيزين 20 و 30 ملغم/مل بلغ نمو المستعمرة 3.04 و 4.42 سم على التوالي ، وتوجد فروقات معنوية بينه وبين المستخلص المائي للنعناع فقد كان معدل نمو الفطر 3.46 سم عند التركيز 30ملغم/مل و3.54 سم عند التركيز 20 ملغم/مل و4.46 سم عند التركيز 10 ملغم/مل ، وقد يعزى السبب إلى وجود الصابونينات والترايتيربينويد في المستخلص الكحولي وغيابه في المستخلص المائي الجدول(2) . وهذه النتيجة تتفق مع ما توصل اليه (17) اذ وجد ان المستخلص الكحولي للنعناع ثبط نمو الفطر *A. flavus* تثبيطا" تاما" عند التركيز 12,5%، اما (18) فقد توصل الى ان المستخلص المائي للنعناع قد ثبط نمو الفطر *Geotrichum candidum* بنسبة 86.2 % عند التركيز 25 ملغم/مل.

الجدول (1) تأثير المستخلصات الكحولية والمائية لبعض النباتات في نمو الفطر *Aspergillus flavus* بعد أسبوع من الحضن بدرجة حرارة 27 ± 2 °م .

النبات	التركيز / نوع المستخلص	مقارنة 1	مقارنة 2 Clotrimazole 2mg/ml	10 mg /ml	20 mg/ml	30 mg/ ml	المعدل للنوع النباتي
كجرات	كحولي	9.00	0.00	2.53	1.57	0.00	3.16
	مائي	9.00	0.00	4.67	2.83	2.00	
يوكالبتوس	كحولي	9.00	0.00	3.04	1.50	0.00	3.08
	مائي	9.00	0.00	3.67	3.04	1.50	
نعناع	كحولي	9.00	0.00	3.17	2.42	1.59	3.47
	مائي	9.00	0.00	4.17	3.08	2.34	
	المعدل للتركيز	9.00	0.00	3.54	2.41	1.24	
المعدل لنوع المستخلص		كحولي		مائي			
		2.85		3.62			

العامل	$LSD_{0.05}$
النوع النباتي	0.10
نوع المستخلص	0.08
التركيز	0.13
تداخل النوع النباتي مع نوع المستخلص مع التركيز	0.33

* التجربة أجريت بثلاث مكررات .

الجدول (2) تأثير المستخلصات الكحولية والمائية لبعض النباتات في نمو الفطر *Aspergillus parasticus* بعد أسبوع من الحضن بدرجة حرارة 27 ± 2 °م.

النبات	التركيز / نوع المستخلص	مقارنة 1	مقارنة 2 Clotrimazole 2mg/ml	10 mg /ml	20 mg/ml	30 mg/ ml	المعدل للنوع النباتي
كجرات	كحولي	9.00	0.00	3.08	1.58	0.00	3.08
	مائي	9.00	0.00	3.58	2.33	1.50	
يوكالبتوس	كحولي	9.00	0.00	3.09	2.25	0.00	3.18
	مائي	9.00	0.00	3.04	3.09	2.25	
نعناع	كحولي	9.00	0.00	4.42	3.04	2.13	3.91
	مائي	9.00	0.00	4.46	3.54	3.46	
	المعدل للتركيز	9.00	0.00	3.61	2.64	1.56	
المعدل لنوع المستخلص		كحولي		مائي			
		3.11		3.62			

العامل	$LSD_{0.05}$
النوع النباتي	0.11
نوع المستخلص	0.09
التركيز	0.15
تداخل النوع النباتي مع نوع المستخلص مع التركيز	0.36

* التجربة أجريت بثلاث مكررات

تأثير المستخلصات النباتية في انتاج سم الافلا B_1 من قبل الفطرين *A. flavus* و *A.parasiticus*

اظهرت النتائج في الجدول(3) ان معاملة الفطر*A. flavus* بالتراكيز20 و30 ملغم/مل من مستخلص الكجرات الكحولي ،الكجرات المائي ،اليوكالبتوس الكحولي ،اليوكالبتوس المائي ،النعناع الكحولي والنعناع المائي يؤدي الى انعدام ظهور سم الافلا B_1 ، وكذلك ادى التركيز10 ملغم/مل لكل من مستخلصي اليوكالبتوس المائي والنعناع الكحولي الى انعدام سم الافلا B_1 ، في حين التركيز10 ملغم/مل اظهر وجود سم الافلاB_1 لكل من المستخلص الكجرات الكحولي ،الكجرات المائي ، اليوكالبتوس الكحولي والنعناع المائي .

اما الفطر*A.parasiticus* فقد اظهرت النتائج في الجدول(3) ان معاملة الفطر بالتراكيز20 و30 ملغم/مل من مستخلص الكجرات الكحولي ،الكجرات المائي، اليوكالبتوس المائي والنعناع المائي يؤدي الى انعدام ظهور سم الافلا B_1 ، وكذلك ادى التركيز10 ملغم/مل لكل من مستخلص اليوكالبتوس المائي الى انعدام سم الافلا B_1 ، في حين التركيز20ملغم/مل من مستخلص اليوكالبتوس الكحولي والنعناع الكحولي والتركيز10 ملغم/مل لكل من مستخلص الكجرات الكحولي ، الكجرات المائي ،اليوكالبتوس الكحولي ،النعناع الكحولي، والنعناع المائي فقد ادى الى ظهور سم الافلاB_1 .وقد يعود السبب في عدم ظهور سم الافلا B_1 هو ان المستخلصات النباتية تعمل على تغير التركيب الكيميائي للسم او ترتبط بشده معه (19) ، اوربما تمنع المستخلصات تكون مركب Acetate من الايض الاولي الذي يعتبر اللبنة الاساسية في تكوين سم الافلا .ويتفق تأثير المستخلص الكحولي لكل من الكجرات واليوكالبتوس على انتاج سم الافلاB_1 مع ما وجده (20) اذ ان معاملة الفطر *A. flavus* بتراكيز قليلة من الزعتر الكحولي عند التركيز 5 ملغم/مل وسط PDA ادى الى ظهور سم الافلا، لكن زيادة التركيز الى 10 و15ملغم/مل لم يظهر السم ، في حين لا تتفق هذه النتيجة مع ما وجده (21) اذ ان زيادة تركيز القهوة في وسط النخالة الصلبة يؤدي الى ظهور سم الافلا B_1.

جدول (3) تأثير التراكيز المختلفة ملغم/مل من المستخلصات النباتية على انتاج سم الافلا B_1 بفعل الفطرين *A. flavus* و *A.parasiticus* في وسط PDA

النوع النباتي	نوع المستخلص	*A. flavus* B_1			*A.parasiticus* B_1		
		10	20	30	10	20	30
الكجرات	كحولي	+	–	–	+	–	–
	مائي	+	–	–	+	–	–
اليوكالبتوس	كحولي	+	–	–	+	+	–
	مائي	–	–	–	–	–	–
النعناع	كحولي	–	–	–	+	+	–
	مائي	+	–	–	+	–	–

+ : انتاج سم الافلا .

_ : عدم انتاج سم الافلا .

المصادر

1- **Bennett, J. W. and Klich, M. (2003**). Mycotoxins . Clin. Microbiol. Rev.16:497–516.

2- **Shier,W.T.;Lao,Y.;Steele,T.W.J. and Abbas,K.H.(2005).**Yellow pigment used in rapid identification of aflatoxin producing *Aspergillus* strains are anthraquinones associated with the aflatoxin biosynthetic pathway . Bio. che.,33;426-438.

3-. **Makun, H. A. ;Anjorin, S. T. ;Moronfoye, B. ;Adejo, F. O. ;Afolabi, O. A. ;Fagbayibo, G. ;Balogun, B. O. and Surajudeen, A. A.(2010).** Fungal and aflatoxin contamination of some human food commodities in Nigeria. Afr .J. Foo. Scie. , 4(4) :127-135.

4- **Smith, J.E. , Solomans, S. , G.L., Lewis, C.W. and Anderson, J.G. , Ed. (1994).** Mycotoxins in human nutrition and health. Directorate-General XII, science,Research and Development EVR, 16048 EN.

5- **Lewis, L.; Onsongo, M.; Njapau, H.; Schurz-Rogers, H.; Luber, G.; Kieszak, S.; Nyamongo, J.;Backer, L.; Dahiye, A.M.; Misore, A.; et al. (2005**). Aflatoxin contamination of commercial maize products during an outbreak of acute aflatoxicosis in eastern and central Kenya. Environ. Health Perspect., 113, 1763–1767.

6-**Williams, J.H.; Phillips, T.D.; Jolly, P.E.; Stiles, J.K.; Jolly, C.M.; Aggarwal, D. (2004).** Human aflatoxicosis in developing countries: A review of toxicology, exposure, potential health consequences, and interventions. *Am. J. Clin. Nutr., 80*, 1106–1122.

7- Cowan, M. M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. ciln.Microbiol- Rev.,12(4):564-582.

8- Saito, M. and Machida, S. (1999) . Arapid identification method for aflatoxin producing strains A. flavus and A. parasiticus by ammonia vapor. Mycoscience. 40 : 205 – 208

9- Sobolev V.S. and Dorner J.W.(2002). Cleanup procedure for determination of aflatoxins in major agricultural commodities by liquid chromatography .J.. of Association of Official analytical Chemist s International,85:642-645.

10 -الجنابي، علي عبد الحسين صادق(1996). تأثير بعض المستخلصات النباتية على نمو بعض الفطريات الممرضة لجلد الانسان. رسالة ماجستير/ كلية العلوم- الجامعة المستنصرية.

11-. Sundahakar, p.;Latha, P.Sreenivasulu, Y.; Bhaskar Reddy, B.V.; Hemalatha, T. M.; Balakrishna, M. and Raja Reddy.(2009). Inhibition of *Aspergillus flavus* colonization and aflatoxin (AfB1) in peanut by methleugenol. K. Ind. J. Exp.Biol.,47:63-67.

12- الإمام ، محمد محمد الطاهر (2007) . تصميم وتحليل التجارب . دار المريخ للنشر ، المملكة العربية السعودية ، ط1 : 408 صفحة .

13-Goncalez, E.; Fellcio, J.D.;Pinto, M. M.; Rossi, M. H.; Medina, C.; Fernandes, M. J. B. and Simoni, I.C.(2003). Inhibition of aflatoxin production by *polymnia sonchifolia* and its in vitro cytotoxicity. Arq. Inst. Biol., 70(2):139-143.

14- **Bernard, T.(1997).** "Reactions in Solution". An Applied Analytical Approach. John Wiley and Sons Ltd. England. 554 pp.

15- A. Elmanama, Abdelraouf ; Amany A. Alyazji, Nedaa A. Abu Gheneima (2011) . Antibacterial, Antifungal and *inermis*, *Punica granatum* and *Hibiscus sabdariffa* Synergistic Effect of Lawsonia . Medical Technology Department, Islamic University-Gaza, Palestine . 7:33-41

16- Hur,J. S.Y.Ahn,Y. J. Koh and C. I. Lee, (2000). Antimicrobial properties of cold-tolerant *Eucalyptus* species against phytopathogenic fungi and food-Borne Bacterial pathogens, Plant Pathol.J.,16,286.

17. محمد، صالح عيسى (1999). تأثير بعض المستخلصات النباتية على الفطريات المنتجة لسموم الافلاتوكسين. اطروحة دكتوراه، كلية الزراعة والغابات، جامعة الموصل.

18. العامري ، هديل احمد خلف(2004). عزل وتشخيص الفطر*Geotrichum candidum* ودراسة تأثير بعض مستخلصات النباتات الطبية عليه ، رسالة ماجستير ، كلية العلوم ، جامعة الموصل .

19- Hajare, S. S.; Hajare, S. N. and Sharma, A.(2005). Aflatoxin inactivation using aqueous extract of ajowan (*Trachyspermum ammi*) seeds. J. food Sci. 70(1):29-34.

20- **نعمة، عقيل عبد (2011).** التحري عن بعض الفطريات المنتجة للافلاتوكسين في بعض الاغذية ومحاولة تقليل اضرارها باستخدام بعض المستخلصات النباتية والفيتامينات. رسالة ماجستير، كلية التربية للعلوم الصرفة، جامعة كربلاء.

21- **Maraqa, A. ;AL-sharo'a, N. F. ;Farah, H. ;Elbjeirami, W. M. ; Shakya, A. K. and Sallal, A. J. (2007) .** Effect of Nigella sativa extract and oil on aflatoxin production by *Aspergillus flavus* . Turk . J. Biol., 31: 155-159.