ISSN: 1991-8941

دراسة الفعالية المضادة لبعض انواع الفطريات الملوثة للمياه بواسطة الزيت الطيار المستخلص من نبات الثوم *Allium sativum* L.

انعام نوري علي حسين علي سبتي خالد فالح حسن غنية عيال حمدان
وزارة العلوم والتكنولوجيا

تاريخ الاستلام: 2012/2/26 تاريخ القبول: 2012/5/22

الخلاصة:

تم في هذه الدراسة استخدام الزيوت الطيارة المستخلصة من نبات يعود للعائلة البصلية (الزنبقية) وهو الثوم *Allium sativum* وبتراكيز 0%و 8%و10%و 15% لمعرفة تأثيرها على نمو الفطريات المرضية والملوثة للمياه ومنها *Aspergillus flavus* و *Rhizopus oligosporium* حيث تم عزلهما من مياه نهر دجلة (2010) وتنقيتهما وتكثيرهما في المختبر لاستخدامهما في الدراسة. اظهرالزيت الطيارلنبات الثوم كفاءة عالية في تثبيط نمو الفطر *Aspergillus flavus* وبنسبة تثبيط 100% عند استخدام 15% من المستخلص وتأخرظهورالنمو الفطري لنفس النوع الى اليوم الرابع من المعاملة، كذلك حصل هبوط في نموالنوع*Rhizopus oligosporium* عند استخدام التراكيز الثلاث من الزيت الطيار. توافق هذه النتائج نتائج الكتلة الحيوية الجافة للفطرين اذ سجلت كذلك انخفاضا في الكتلة الحيوية مع زيادة تراكيز الزيت الطيار المستخدم وبفروق معنوية. اختبرتأثيرتراكيزهذا الزيت على نمو الأنواع الفطرية قيد الدراسة بطريقة قراءة الكثافة الضوئية فقد بينت ان جميع التراكيز المستخدمة كانت ذات فروق معنوية ($P<0.05$) للفطرين المذكورين مقارنة مع مجموعة السيطرة. قراءة الكثافة الضوئية يعتمد على تركيز السبورات في الوسط الزرعي السائل اذ سببت التراكيز 10 و15% من المستخلص فروقا عالية المعنوية ($P<0.001$) في تركيز السبورات عند مقارنتها مع السيطرة .اشارت النتائج الى ان الزيت الطيارلنبات الثوم سبب تثبيط كامل للنموالفطري في عينة مياه الصرف الصحي الملقحة بتراكيز مختلفة من هذا الزيت مقارنة مع السيطرة(2.08 ± 57.33) مستعمرة/مل.

كلمات مفتاحية: الفطريات السامة، زيت الثوم، النموالفطري، العكورة، الكتل الحيوية الفطرية

المقدمة:

ان التوجه العالمي في الوقت الحاضر في التركيز على استعمال الاعشاب والنباتات الطبية كعلاج لعديد من الامراض وذلك لخلو مكوناتها من الاثار الجانبية التي تصاحب العقاقير المصنعة كيميائياً [1] . تدخل الاحياء المجهرية في انظمة توزيع مياه الشرب خلال المعالجة غير الكافية للماء الخام وعدم اكتمال او وجود تخسفات في شبكة خط انابيب توزيع المياه وعن طريق خزانات المياه، وجدت كونيديات لفطريات *Aspergillus* و *Fusarium* و *Candida* في انابيب توزيع مياه الشرب في عدد من المستشفيات المناطق الاوربية اذ تعتبر من الفطريات الغازية لمياه الشرب وتسبب اصابات شديدة [2]. وتم عزل الانواع قيد الدراسة من المياه العراقية ومن مياه خزانات مناطق مختلفة من بغداد لذلك لابد من طريقة معالجة لازالتها او تخفيضها اذ تعد الفطريات من الاحياء المرضية بسبب انتاجها للسموم ومن امثلة هذه السموم هي الافلاتوكسينات التي تمثل ايضات ثانوية للفطر *Aspergillus flavus* و *Aspergillus parasiticus* والتي لقيت اهتماما كبيراً في انحاء مختلفة من العالم منذ اكتشافها في بداية الستينات من القرن الماضي ولغاية الوقت الحاضر بسبب تأثيراتها السامة والمسرطنة للانسان والحيوان [3]. لذلك كان لابد من حماية الانسان والحيوان من الاضرار الناتجة عن هذه السموم وتأتي هذه الحماية بعدة وسائل منها منع نمو الفطريات الملوثة او منع تكوين السموم باستخدام بعض المواد الكيمياوية وبالنظر لان الغالبية العظمى من هذه المواد الكيمياوية لها العديد من التأثيرات الجانبية لذلك اصبح من الضروري ايجاد بدائل لهذه المواد الكيمياوية ومنها المستخلصات النباتية والتي تكون بديلا عن المواد الكيميائية المصنعة [4]. اختبار تأثير وقابلية الزيت الطيارالمستخلص من نبات الثوم *Allium sativum* (Garlic bubl) L. على تثبيط نمو العزلات الفطرية *Aspergillus flavus* و *Rhizopus oligosporium* والملوثان للمياه العراقية باستخدام عدة طرق للكشف.

المواد وطرائق العمل:

-عزل وتشخيص الفطريات: تم عزل وتشخيص الفطريات الملوثة للمياه من مياه نهر دجلة ومياه الخزانات المنزلية وتم استزراعها وتكثيرها على الأوساط الزرعية المناسبة لها وهي وسط Potato dextrose agar , sabauroud dextrose agar واستخدمت طريقة الصب المباشر لعزل الفطريات. تم عزل عدد من الاجناس الفطرية النامية على

الاطباق وشخصت بواسطة الاستخدام المباشر للمجهر الضوئي وعلى شرائح زجاجية وبالاستعانة بالمفاتيح التصنيفية [5 و6]. نميت المزارع المعزولة والتي اعتقد بأنها تعود للفطر *A. flavus* على الوسط الانتقائي Aspergillus Differential Medium) يتكون من Trypton 15غم , Yeast extract 1غم، Ferric citrate 0.5غم، Agar 1.5غم، ماء مقطر 1000 مللتر) وعد اللون الاصفراوالبرتقالي البراق للسطح السفلي للمستعمرات المتكونة كفحص موجب لوجود هذا الفطر [7]. تم تأكيد التشخيص بأستخدام المفاتيح التصنيفية اعلاه وبعد تنميته على وسط Czapeks Dox agar وظهور مستعمرات مسحوقية القوام خضراء مصفرة، بينما نمي الفطر *R. oligosporium* على الوسط sabauroud dextrose agar فظهرت مستعمرات بيضاء اللون ومنفوشة فضلا عن الفحص المجهري ومشاهدة شكل الحافظة السبورية وشكل السبورات ولونها وطبيعة جدارها وحجمها.

-جمع النباتات: جمع نبات الثوم الطري المحلي وهو من النوع الخزفي (ophios) Porcelain garlics من السوق المحلية ونظف من الشوائب وطحنت وفرمت فصوص الثوم بمطحنة كهربائية ووضعت في حافظة زجاجية محكمة الغلق.

-تحضير الزيت الطيار: اتبعت طريقة [8] لاستخلاص الزيت الطيار من فصوص نبات الثوم الطري اذ استخلص الزيت الطياربواسطة جهاز الاستخلاص Steam distillator. وزن 100 غم من فصوص الثوم المفرومة ووضعت في دوارق زجاجية خاصة بجهاز الاستخلاص واضيف اليها الماء المقطر بنسبة (1:1) وزن: حجم، تم الاستخلاص والتسخين وبدرجة حرارة (100) مْ وخلال 3 ساعات وبعدها جمع الزيت الطياروالماء المكثف في دورق زجاجي ليتم فصلهما باستخدام قمع الفصل separation funnel، ثم حفظ الزيت الناتج في قناني زجاجية نظيفة محكمة الغلق في الثلاجة لحين الاستخدام.

-التراكيز المستخدمة في التجربة:تم تحضير عدد من التراكيز الحجمية (1%و5%و 10%) حجم:حجم زيت طيارللثوم من التركيز الاساس وذلك بمزج حجم معين من محلول الخزين مع الوسط الزرعي الصلب المذاب للحصول على التراكيز المطلوبة وحسب قانون $C_1V_1=C_2V_2$، أضيفت الى هذه التراكيزالمحضرة مادة 80 tween بتركيز (0.05)% ليسهل عمل مستحلب للزيت قابل للذوبان في الوسط الزرعي. عملت ثلاث مكررات لكل تركيز فضلا عن السيطرة.

اختبارالفعالية التضادية للمستخلصات النباتية الخام

– طريقة قياس قطر المستعمرة في الوسط الزرعي الصلب:

استخدمت لهذا الغرض طريقة الصب في الاطباق Pour Plate Method اذ اضيفت تراكيز مختلفة من الزيت الطيار للثوم (1% و5% و10%) الى حجوم معلومة من الوسط الزرعي PDA المعقم والمبرد الى درجة حرارة (45 – 50)ْ م ثم صبت في اطباق زجاجية معقمة قطر 9 سم وبواقع 20 مل لكل طبق وعملت ثلاث مكررات لكل نوع /تركيز وتركت الاطباق لتتصلب في درجة حرارة الغرفة. لقحت الاطباق بعد ذلك بقرص قطره 6 ملم من حافة مستعمرة العزلات الفطرية *A. flavus* و *R. oligosporium* ووضع في وسط الاطباق المحتوية على المستخلص ومجموعة السيطرة، حضنت الأطباق في الحاضنة بدرجة 25 مْ وبعد مرور 24 ساعة تم قياس قطر المستعمرة بوساطة المسطرة واستمر القياس لحين وصول النمو إلى حافة الطبق.

- طريقة قياس الكتلة الحية في الوسط الزرعي السائل:

تم عمل تخافيف حجمية للزيت وذلك بوضع 25 مل من تركيز كل زيت في قناني حجمية حجم 100مل، زرع في كل قنينة قرص فطري بقطر 6 ملم وبعمر 5 ايام من مستعمرة للفطريات *A. flavus* و *R. oligosporium* واضيف اليها واحد مل من المضاد الحيوي الكلورمفينكول اما مجموعة السيطرة فتحتوي على الوسط الزرعي السائل الملقح بالفطريات المذكورة وبدون الزيت. بعد الزرع تم حضن القناني بدرجة حرارة 25 مْ ولمدة48 ساعة، بعد الحضن تم الترشيح للعينة بورق ترشيح 0.45 وبمساعدة جهاز الـvaccum وأخذت المستعمرة الفطرية النامية وعمل لها تجفيف بالفرن الكهربائي ولمدة 24 ساعة بدرجة 80 مْ وقياس وزن الورقة قبل وبعد ترشيح العينة واستخرجت الكتلة الحية للفطريات ولجميع التراكيز من خلال حساب الفرق بين الوزنين بالملغم واعتبرت هذه الطريقة كدليل للنمو [9].

– قياس تركيز السبورات باستخدام الكثافة الضوئية:

بعد الترشيح للعينة الفطرية والمحضرة في الفقرة اعلاه تم اخذ الراشح وقياس العكورة والتي تمثل النمو الفطري وتكوين السبورات، قيست العكورة وذلك بقراءة الكثافة الضوئية بجهاز المطياف الضوئي عند طول موجي 420nm [10]، تم عمل ثلاث مكررات لكل تركيز.

معدل الكثافة الضوئية للسيطرة – معدل الكثافة الضوئية للمعاملات / معدل الكثافة الضوئية للسيطرة = النمو الفطري. في حالة النمو اقل من واحد هذا يعني نسبة التثبيط عالية inhibition .

– قياس عدد السبورات باستخدام شريحة عد كريات الدم heamocytometer: تم أيضا حساب عدد السبورات للراشح بواسطة شريحة عد كريات الدم heamocytometer [11] وحسب المعادلة:

عدد السبورات/ مل= عدد السبورات في 5 مربعات × 5 × 10^6 ، تم عمل ثلاث مكررات لكل تركيز.

– التحليل الاحصائي :حللت النتائج احصائيا باستخدام تحليل التباين ANOVA وعند مستوى الاحتمالين 0.001، 0.05 باستخدام نظام SPSS لغرض المقارنة بين نتائج المعاملات مع معاملة السيطرة ومع بعضها من حيث كونها فروقات معنوية (بتأثير المادة) اوغير معنوية (غير مؤثرة).

النتائج والمناقشة:

يوضح الجدول (1) تأثيرتراكيز مختلفة من الزيت الطيارللثوم على نمو الفطر*A. flavus* و *R. oligosporium* حيث تشير النتائج أن جميع تراكيززيت الثوم 1% و5% و10% لها تأثير مثبط على نمو الفطرين حيث انخفض نموالفطر *A. flavus* من 68.68 ملم في مجموعة السيطرة الى6.0 ملم و4.6 ملم و0 ملم بينما انخفض نموالفطر *R. oligosporuium* من 59.30 ملم في السيطرة الى 29.68,

35.13, 39.88 في اليوم الخامس من النموعلى التوالي. يبين التحليل الاحصائي وباستخدام اختبار المقارنات المتعددة بان جميع التراكيز المستخدمة للزيت كانت مؤثرة وسببت فروق عالية المعنوية ($P<0.01$) للفطر *A. flavus* عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة وان التأثير التثبيطي الاعلى كان عند استخدام 15% من الزيت وبنسبة تثبيط 100%، كذلك سببت تراكيز الزيت الثلاث فروقا معنوية في معدل قطرالمستعمرة للفطر *R. oligosporium* عند مقارنتها مع السيطرة وبنسب تثبيط 75% ,32. 40.76%, 49.95% على التوالي. يرجع التاثير التثبيطي لزيت الثوم الى احتواءه على مواد مضادة لنمو الاحياء المجهرية الضارة ومن هذه المواد الاليسين allistationII, diallylsulphid allistationI, (الشكل 1)[12] والتي تعمل كمضادات حياتية ضد انواع عديدة من الاحياء المجهرية الضارة سواء كانت بكتريا أو فطريات [13]. اشارالباحث [14] الى ان استخدام الاليسين المستخلص كحوليا اومائيا من الثوم وبنسبة 2-5% يمنع حدوث الامراض الفطرية mycosis والقضاء على فطر *Aspergillus fumigates*. بين[15] أن المستخلص الإيثيلي والميثيلي والعصيرالخام وزيت الثوم أعطى أقطاراً تثبيطية عالية ضد عزلات *E.coli* بلغت 41 مم، 42 مم، 24 مم،21 مم على الترتيب مقارنةً بالمستخلص المائي للثوم وكذلك فعالية تثبيطية عالية ضد العزلات التي لها مقاومة متعددة للمضادات الحيوية مما لمستخلصات حبة البركة.

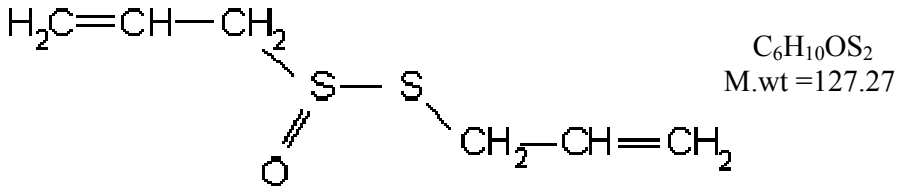
الجدول(1) تأثير الزيت الطيارلمستخلص الثوم في معدل النمو للفطرين *A. flavus* و *R. oligosporium* ونسبة تثبيطهما.

التركيز	*R. oligosporium*		*A. flavus*	
	معدل قطر المستعمرة (ملم)	نسبة تثبيط النمو(%)	معدل قطر المستعمرة (ملم)	نسبة تثبيط النمو (%)
السيطرة	59.30±12.98	0.00	68.68± 9.07	0.00
%1	39.88± 9.89*	32.75	6.0 ± 3.67**	91.26
%5	35.13± 9.24*	40.76	4.6 ± 2.82**	93.30
%10	29.68 ± 7.55*	49.95	0.00**	100.00

القيم تمثل المعدل ± الخطأ القياسي

* فروق معنوية ($P<0.05$) عند المقارنة مع مجموعة السيطرة.

** فروق عالية المعنوية ($P<0.01$) عند المقارنة مع مجموعة السيطرة.



الشكل(1) الصيغة التركيبية لمركب الاليسين Allicin

يوضح الجدول(2) تأثير الزيت الطيار للثوم على الكتلة الحية الجافة للفطرين *A. flavus* و *R. oligosporium* في الوسط الزرعي السائل PD broth فضلا عن معاملة السيطرة ولمدة يومين من المعاملة وحدوث تثبيط تدريجي بالنمو يزداد مع ازدياد تراكيز الزيت المذكور وكانت جميع التراكيز مؤثرة وخافضة عالية المعنوية لوزن الكتلة الحيوية الجافة مقارنة مع السيطرة وسجل تركيز 1% فروقات عالية المعنوية عند مقارنتها مع التركيزين الاخرين لوزن الكتلة الجافة للفطر *R. oligosporium*. يعود التأثير المضاد لنبات الثوم ضد المايكروبات antimicrobial الى التداخل اوالتفاعل مابين مركبات الكبريت مثل الاليسين مع مجاميع الكبريت مثل الثايول (-SH) للانزيمات المايكروبية مثل trypsin و protease مؤدية الى تثبيط النمو المايكروبي [16]. ان فعالية الثوم المضادة لاكثر من ثلاث وعشرين نوعاً نوع من الفطريات يرجع الى احتواء الثوم على مركب الاليسين والتي تعدّ المادة الفعالة والمثبطة لنموالفطريات، وآلية عمل الاليسين في تاثيرها في بعض أنواع الفطريات تكون من خلال المنع المباشر والكلي للـ RNA في تصنيع البروتين وبالتالي منع نمو الفطريات وانتاجها للسموم وتاثيراتها على الصحة العامة عند تواجدها في المياه [17].

الجدول(2) تأثير الزيت الطيار لمستخلص الثوم في الوزن الجاف (ملغم /25 مل) للفطر *A. flavus* و *R. oligosporium* على وسط PD broth

التركيز	الوزن الجاف (ملغم/ 25 مل)	
	R. oligosporium	*A. flavus*
السيطرة	71.33 ± 10.79	116 ± 39.34
%1	57.33 ± 4.73**	26.67 ± 7.02*
%5	27.33 ± 10.02*	16.67 ± 2.08*
%10	12.33 ± 1.53*	14.0 ± 3.61*

القيم تمثل المعدل ± الانحراف المعياري

* فروق عالية المعنوية ($P<0.001$) عند المقارنة مع مجموعة السيطرة.

** فروق عالية المعنوية ($P<0.001$) عند المقارنة مع مجموعة معاملة بتركيز 5 و 10%.

سجلت تراكيز الزيت الطيارلمستخلص الثوم تأثيرات على نمو الأنواع الفطرية قيد الدراسة بطريقة قراءة الكثافة الضوئية (العكورة) بعد تلقيحها بنوعين من الفطريات *A. flavus* و *R. oligosporium* والملاحظ في الجدول (3). بين التحليل الاحصائي للنتائج بان جميع التراكيز المستخدمة للزيت الطيار سببت فروقا معنوية ($P<0.05$) في معدل العكورة للفطرين المذكورين مقارنة مع مجموعة السيطرة وان تركيز 10% من الزيت الطيار سبب فروقا عالية المعنوية ($P<0.001$) عند مقارنته مع تركيزي 1%و5%، ان الانخفاض في معدل العكورة المقاسة بعد يومين من المعاملة يدل على تثبيط نموالفطريات قيد الدراسة وبالنتيجة تاثيرهاعلى انتاج السبورات بواسطة زيت الثوم الطيار المستخدم في المعاملة. بين [18] بان مستخلص الثوم وبتركيز 10غم/مل قد ثبط كليا نموالاجناس الفطرية *A. niger* و *Fusarium culmorum* و *Pencillium sp.* وخفض نموالفطر *Aspergillus candidus* كذلك وجد [19] بان مستخلص الثوم الكحولي يمتلك فعالية تثبيطية لمدى واسع من البكتريا والفطريات المرضية وغيرالمرضية وان اقل تركيز مثبط (MIC) منه ضد هذه الاحياء المجهرية تراوح بين1−10مايكروغرام/مل. اشار[20] في دراسته الى ان مركب ajoene المشتق من الاليسين والمستخلص من الثوم بواسطة الايثانول يعد مؤثر قوي ضد *Aspergillus niger* و *Candida albicans* و *Paracoccidioides brasiliensis* واقوى من الاليسين نفسه اذ يعمل على تحطيم جدارخلية الفطريات وبتراكيزاقل من الاليسين نفسه

الجدول(3) نتائج قياس الكثافة الضوئية (العكورة) للوسط الزرعي السائل الملقح بالفطر *A. flavus* و *R. oligosporium* لمجموعة السيطرة والمعاملات بالزيت الطيارللثوم.

التركيز	معدل الكثافة الضوئية (العكورة)	
	R. oligosporium	*A. flavus*
السيطرة	1.189±0.055	1.254±0.009
%1	0.939±0.023 *	0.985±0.001*
%5	0.879±0.011*♦	0.946±0.012 *♦
%10	0.754±0.003 *□	0.742±0.008 *□

القيم تمثل المعدل ± الانحراف المعياري

* فروق معنوية ($P<0.05$) عند المقارنة مع مجموعة السيطرة.

♦ فروق معنوية ($P<0.05$) عند المقارنة مع مجموعة معاملة بتركيز 1%.

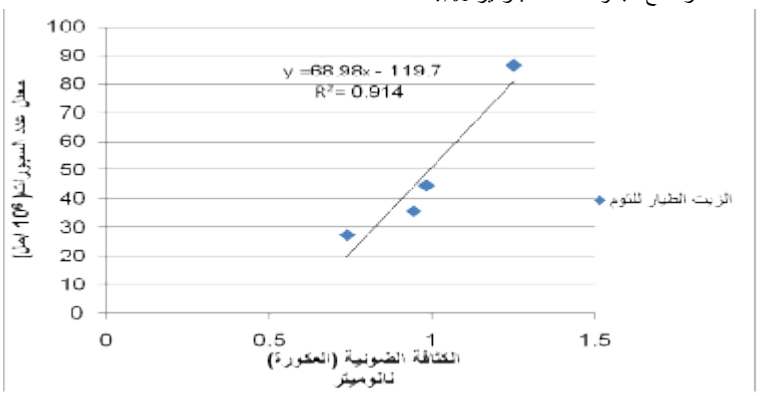
□ فروق عالية المعنوية ($P<0.001$) عند المقارنة مع مجموعة معاملة بالتراكيز 1% و 5%.

تعتمد قراءة الكثافة الضوئية على تركيز السبورات في الوسط الزرعي السائل اذ يشيرالجدول (4) الى انخفاض معدل عدد السبورات (10^6 /ملليتر) للفطرين المذكورين مع ازدياد تراكيز الزيت اذ كانت جميع التراكيز ذات معنوية عالية مقارنة مع مجموعة السيطرة وسجل اقل عدد سبورات للفطر *R. oligosporium* 2.51 ± 17.67 مقارنة بالسيطرة 10.07 ± 89.33 عن استخدام تركيز 15% من الزيت. يوضح الشكل (2) وجود علاقة خطية وطردية بين معدل عدد السبورات للفطر *A. flavus* وقراءة الكثافة الضوئية (العكورة) في الوسط الزرعي السائل المعامل بتراكيز مختلفة من الزيت الطياروذلك من خلال قيمة R^2 اذ سجلت 0.9، كذلك يوضح الشكل(3) الى تواجد علاقة خطية بين معدل عدد السبورات للفطر *R. oligosporium* وقراءة الكثافة الضوئية (العكورة) في الوسط الزرعي السائل المعامل بالزيت الطيارلمستخلص الثوم واقتراب قيمة R^2 من الواحد. وجد [21] ان تركيز 1% من الزيت الطيارالمستخلص من الثوم سبب تأخرفي نموالفطر *Eurotium amslelodami* ليومين مقارنة مع السيطرة بينما سبب تركيز 4% تاخر نمو الفطر *Aspergillus tamari* الى ثلاثة ايام والتراكيز اعلى من 4% سببت تاثيرات تثبيطية قوية في معدل النمو وعلى معدل تكوين السبورات وتاخر وصول النمو الى نهاية الطبق اكثر من 7ايام. اظهر [22] في دراسته حصول نقصان ملحوظ في نمو 18 نوع فطري بسبب مستخلص الثوم الكحولي.

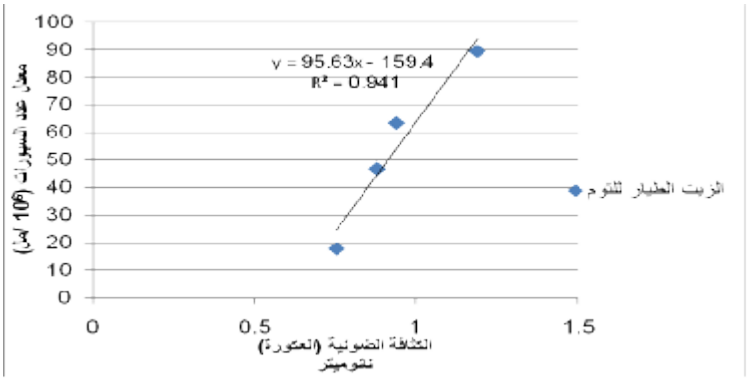
الجدول(4) تأثير الزيت الطيار لمستخلص الثوم في معدل عدد السبورات للفطريات *A. flavus* و *R. oligosporium* على وسط PD broth .

التركيز	معدل عدد السبورات (10^6 /مل)	
	R. oligosporium	*A. flavus*
السيطرة	89.33 ± 10.07	86.67 ± 11.14
%1	63.33 ± 5.03*	44.67 ± 3.06*
%5	46.67 ± 6.11*□	35.67 ± 4.04*
%10	17.67 ± 2.51*●	27.33 ± 3.06 *♦

القيم تمثل المعدل ± الانحراف المعياري
* فروق عالية المعنوية (P<0.001) عند المقارنة مع مجموعة السيطرة.
♦ فروق معنوية (P<0.05) عند المقارنة مع مجموعة معاملة بتركيز 1%.
● فروق عالية المعنوية (P<0.001) عند المقارنة مع مجموعة معاملة بتركيز 5% و 10%.
□ فروق معنوية (P<0.05) عند المقارنة مع مجموعة معاملة بتركيز 1%.



الشكل(2) العلاقة بين معدل عدد السبورات للفطر *A. flavus* وقراءة الكثافة الضوئية (العكورة) في الوسط الزرعي السائل المعامل بالزيت الطيار للثوم.



الشكل(3) العلاقة بين معدل عدد السبورات للفطر *R. oligosporium* وقراءة الكثافة الضوئية (العكورة) في الوسط الزرعي السائل المعامل بزيت الثوم.

يوضح الجدول (5) مقارنة تأثير الزيت الطيارلنبات لثوم والبصل على نمو الفطريات في مياه الصرف الصحي (حوض التصريف النهائي) وفيها تم قياس عدد المستعمرات الفطرية قبل وبعد المعاملة بتراكيز مختلفة من الزيوت الطيارة لنباتي الثوم والبصل وبجهاز عد المستعمرات Colony counting حيث انخفض معدل عدد المستعمرات بعد يومين من المعاملة بالزيوت الطيارة اذ كانت جميع التراكيز ذات فروق عالية المعنوية عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة وبتثبيط كامل للنمو مقارنة مع السيطرة ويعود هذا الى تاثير زيت نبات الثوم على الفعاليات الايضية للفطريات حيث يزداد التأثير مع زيادة التركيز للزيت الطيار [23]ويوضح الشكل (4) التثبيط الكامل للنمو الفطري في عينة مياه الصرف الصحي بعد معاملتها بتراكيز مختلفة من الزيت الطيار لنبات الثوم ومنها تاثيره على انتاج السموم المفرزة من الفطريات وماتسببه هذه السموم من تاثيرات مرضية وسرطانية. اشار [24] في دراستهم الى فعالية الزيوت المستخلصة من التوابل ومنها البصل والثوم والكراث ضد بعض الانواع الفطرية *P. griseofulvum* و *P. Corylophilum* و *Aspergillus ochraceus* و *Eurotium*

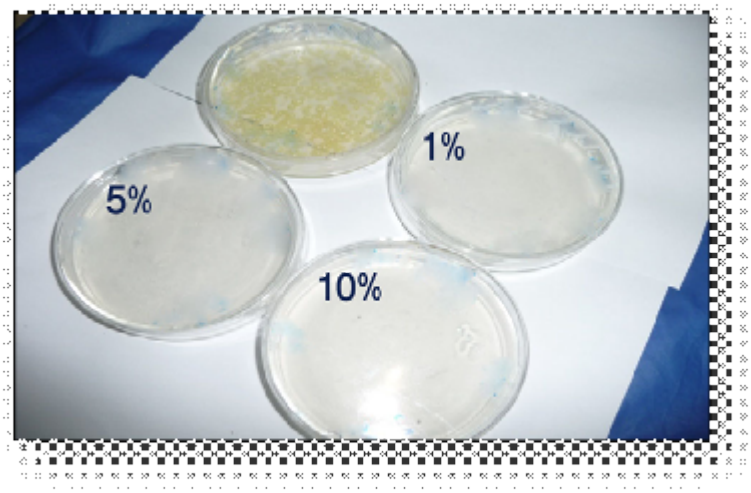
sp. تسبب مستخلصات التوابل المختلفة تغييرات في شكل المستعمرة الفطرية وتحديد نموها وتحطيم الجدران الخلوية وتقليل اخذ الاوكسجين فضلا عن تثبيط تصنيع البروتينات والدهون والاحماض الامينية.[25].

الجدول(5) تأثير المستخلصات النباتية الخام على نموالمستعمرات الفطرية لعينة مياه الصرف الصحي في الرستمية (حوض التصريف النهائي) بعد يومين من المعاملة.

التركيز	معدل عدد المستعمرات (مستعمرة/مل)	
	مستخلص الثوم	مستخلص البصل
السيطرة	57.33 ± 2.08	22.67 ±6.81
1%	0.0 *	11.3 ± 5.51*
5%	0.0 *	10.33 ± 5.03*
10%	0.0 *	6.33 ± 3.06 *

القيم تمثل المعدل ± الانحراف المعياري

***فروق عالية المعنوية (P<0.01) عند المقارنة مع مجموعة السيطرة.**



الشكل(4) التثبيط الكامل للنمو الفطري لعينة مياه الصرف الصحي بعد معاملتها بتراكيز مختلفة (1،5، 10%) من الزيت الطيار لمستخلص الثوم.

المصادر:

1. قطب، فوزي طه. 1981. النباتات الطبية زراعتها ومكوناتها، دار المريخ للنشر، الرياض، السعودية.

2. Hajjeh, R.A. and Warnock, D.W.(2001). Counterpoint: invasive aspergillosis and environment-rethinking our approach to prevention. *lin.Infect.Dis*. 33: 1549-1552.

3. Hedayati, M. T.; Pasqualotto, A. C.; Warn, P.A.;Bowyer, P. and Denning , D.W.(2007). Review Aspergillus flavus: human pathogen, allergen and mycotoxin producer. *Microbiology* .153: 1677–1692.

4. Mostafa, A. A.; Al-Rahmah, A. N. and Abdel-Megeed, A. (2011). Evaluation of some plant extracts for their antifungal and antiaflatoxigenic activities. *Journal of Medicinal Plants Research*. 5(17): 4231-4238.

5. Barnett, H.L. and Hunter, B.B. (1972). Illustrated genera of imperfect fungi. 3 rd Burgess publ. co., Minnesota.

6. Robert, A.S.; Ellen, S.H. and Connie, A.N. (1984). Introduction to food borne – fungi contamination. 2 nd ed Drukkerij. J.Van Gestol & Zn. B.V. Laren N.H: 1-205.

7-Bothast ,R.J.and Fennell,D.I.(1974). A medium for rapid identification and enumeration of *Aspergillus flavus* and related organisms. *Mycologia*. 66:365-368.

8. Kumar , K. S. (2010). Extraction of essential oil using steam distillation. Chemical Engineering thesis ,Rourkela. Orissa.

9. Ghahfarokhi, M. S.; Razafsha, M.; Allameh, A. and Abyaneh, M. R. (2003). Inhibitory Effects of Aqueous Onion and Garlic Extracts on Growth and Keratinase Activity in Trichophyton mentagrophytes. *Iran. Biomed*. J. 7 (3): 113-118.

.18. Magro, A.; Carolino, M.; Bastos, M. and Mexia, A. (2006). Efficacy of plant extracts against stored products fungi. *Rev. Iberoam. Micol*. 23: 176-178.
19. Amin, M. and Kapadnis, B.P. (2005). Heat stable antimicrobial principle of *Allium ascalonicum* against bacteria and fungi. *Indian J. Exp. Biol*. 43:751-4.
20. Naganawa, R.; Iwata, N.; Ishikawa, K.; Fukuda, H. Fujino, T.; Suzuki, A.(1996). Inhibition of microbial growth by ajoene, a sulfur containing compound derived from garlic. *Appl. Environ. Microbiol*. 62: 4238-4242.
21. Kocić-Tanackov, S.; Dimić,G.R.; Tepić, A.N. and Vujičić, B.L. (2009). Influence of *Allium ampeloprasum* L. and *Allium cepa* L. essential oils on the growth of some yeasts and moulds. *Matica Srpska Proceedings for Natural Sciences*. 116- 121-130.
22. Muhsin, T.M., Al-Zubaidy, S.R. and Ali, E.T (2001). Effect of garlic bulb extract on the growth and enzymatic activities of rhizosphere and rhizoplane fungi. *Mycopathologia*, 152(3):143-146.
23. Pereira, M.C.; Chalfoun, S.M.; Pimenta, C.J.; Angélico, C.L. and Maciel, W.P. (2006). Spices, fungi mycelial development and ochratoxin A production. *Scientific Research and Essay*.1: 038-042
24. Dimić,G.; Kocić-Tanackov, S. and Karalić, D. (2007). Growth inhibition of some *Eurotium* and *Aspergillus* species using spice extracts. *Matica Srpsks Proceeding for Natural Sciences*. 113: 63-70.
25. Corzo-Martinez, M.; Corzo, N. and Villamiel, M. (2007). Biological properties of onion and garlic. *Trend in Food Science and Technology*. 18: 609-625.
10. Irkin, R. and Korukluoglu, M. (2007). Control of Aspergillus niger with garlic, onion and leek extracts. *African Journal of Biotechnology*. 6 (4): 384-387.
11. Paisley,D.; Robsons, G.D. & Denning, D. W.(2005). Correlation between in vitro growth rate and in vivo virulence in *Aspergillus fumigatus*. Medical Mycology. 43: 397-401.
12. Benkeblia N (2004). Antimicrobial activity of essential oil extracts of various onions (*Allium cepa*) and garlic (*Allium sativum*). *Lebensmittel-Wissenschaftund Technologie*. 37(2): 263-268.
13.Miron, M. ,T. ,A. Rabinkov,D.Mirelman,M.Wilchek and W.Wienerl.(2000) . The mode of action of allicin : its ready permeability through phosphlipid membranes may contribute toits biological activity . Biochim Biophys Acta , jan , 15 ; 1463(1) : 20-30.
14. Fujisawa, H.; Suma, K.; Origuchi, K.; Kumagai, H.; Seki, T. and Ariga, T. (2008). Biological and chemical stability of garlic-derived allicin. *J. Agric. Food Chem.*, 56 (11): pp 4229–4235.
15. ناجي، عبد الرحمن سعيد.(2008). دراسة تاثير المضادات الحيوية البركة والثوم على جرثومة الايشريشيا كولى المعزولة من مرضى التهاب المجاري البولية في مشفي الاطفال الجامعي. اطروحة دكتوراه- جامعة دمشق- سوريا.
16. Harris, J.C.; Cottrell, S.L.; Plummer, S.; Lloyd, D. (2001). Antimicrobial properties of *Allium sativum* (garlic). *Applied Microbiol. Biotechnol*.57: 282-286.
17. Gowda, N. K. S.; Malathi, V. and Suganthi, R. U. (2004). Effect of some chemical and herbal compounds on growth of *Aspergillus parasiticus* and aflatoxin production. *Animal Feed Science and Technology*. 116: 281-291.

Studying the antiactivity for some types of polluted fungi of waters by essential oil extracted from garlic plant *Allium sativum* L.

Inaam, N. Ali Hussein A. Sabtei Khalid, F. Hassan Ganiya, A. Hamdan
E-mail: inaam19742001@yahoo.com

Abstract:

In this study, essential oil of plant *Allium sativum* (garlic) which belongs, to the *Liliaceae* family was used at concentration 0, 1%, 5% and 10% to know their effect on the growth of fungi poisonous and polluted for waters *Aspergillus flavus* and *Rhizopus oligosporium* that isolated from Tigris river 2010. These species were purified and culturing in the laboratory for using in this study. Essential oil of garlic exhibited highly efficiency percent in the inhibition growth of the *A. flavu*s at 100% in the concentration of 10% and growth of the same species at the same concentration was delayed to the fourth day from treatment. However, the growth of *R. oligosporium* was decrease by using these three concentrations of essential oil. These results were agreed with the results dry weight of fungi that measured decreasing in it with the increasing of concentration of oil at significant difference. To test the effect concentrations of oil on the growth of tested fungi by reading of optical density (OD) which showed that all the concentration caused significant difference ($P<0.05$) for two species fungi as compared with the control. Reading of OD was depending on the spores concentration in the broth culture, 5%, 10% of oil concentration were caused highly significant differences in the spores concentration as compared with the control. The results pointed on the complete inhibition of fungal growth by garlic in the sample of wastewater inoculated by tested essential oil as compared with the control group (57.33± 2.08) colony/ml.