مجلة القادسية للعلوم الصرفة المجلد 15 العدد 4 سنة 2010
(بحوث الندوة البيئية الخامسة للبيئة والتلوث والمنعقدة بتاريخ 13-14 ايار 2009)

دراسة تأثير مستخلص الكمون والحبة السوداء على الفطريات المسببة لألتهابات الأذن الوسطى

سولاف حامد تيموز
جامعة القادسية / كلية العلوم
وحدة أبحاث البيئة

لجين إبراهيم حسين
جامعة القادسية / كلية العلوم
وحدة أبحاث البيئة

الخلاصة :

استهدفت البحث دراسة تأثير نوعين من مستخلصات النباتات الطبية على الفطريات الأنتهازية المصاحبة لألتهابات الأذن الوسطى والتي كان لها تأثير كبير في التهاب منطقة الأذن ،اذ نفذت هذه الدراسة لعزل تلك الفطريات المرضية من المرضى الذين يرتادون عيادات الأذن والأنف والحنجرة اذ كانت نتائج جمع العينات من 50 مصابا ولمدة شهرين الحصول على عدد من الفطريات المرضية والتي تكررت في العديد من الحالات *Aspergillus flavus , Fusarium solani , Rhizopus stolanifer , Penicillium parasiticus Aspergillus niger* إذ أظهرت النتائج سيادة جنس *Aspergillus niger* ، *Aspergillus flavus* بعد عزلها وتشخيصها في جميع العينات على الفطريات الأخرى ومن خلال ملاحظة تأثير مستخلص الكمون والحبة السوداء فقد لوحظ ان هنالك اختلافاً في الالية التثبيطية لمستخلصات نبات الكمون والحبة السوداء على الفطريات المختلفة والمختبرة في الدراسة وعلى الرغم من انهما اعطيا نتائج جيدة في تثبيط نمو مستعمرات تلك الفطريات بالمقارنة مع المضادين الحيويين Dermatin وCandistan المستخدمين في علاج فطريات الأذن ، كذلك أظهرت نتائج الاختبار لتلك الفطريات مقاومة فطر *Fusarium solani* وفطر *Rhizopus stolanifer* لبعض التراكيز(12.5 ،6.25، 20) مايكروليتر المستخدمة في البحث ونفس تراكيز المضادات المستخدمة .

المقدمة:

تحتل النباتات الطبية Medicinal plants في الوقت الحاضر مكانه كبيرة في الانتاج الزراعي والصناعي ، وهي المصدر الرئيسي للعقاقير الطبية النباتية او مصدر للمواد الفعالة التي تدخل في تحضير الدواء .

ويعتبر الكمون Cumin (*Cminum cyminum*) وهو من العائلة الخيمية (Umbelliferae) من النباتات القديمة جداً اذ ان الجزء المستخدم هو الثمرة وهو نبات عشبي من المحاصيل الشتوية اذ ان هناك الكثير من المواد الفعالة ذات الفائدة الكبيرة والتي منها الزيوت العطرية ومكوناته (الديهايد الكيومين والانيثول والبينين والميرسين والسيا- مين والليمونين) كذلك الفلافونويدات . كذلك تعتبر الحبة السوداء (حبة البركة) Black Cumin ،واسمه العلمي *Nigilla sativa* وهي نبتة عشبية تنتمي للنباتات الحولية اذ ان الجزء المستخدم هو البذور ذات اللون الأسود وهي جزء من النبات الذي يستخرج منه الزيت الذي يستخدم طبياً .

اذ ان المواد الفعالة في حبة البركة متمثلة بالثيموكينون والدايثيموكينون والثيموهيدروكينون والثيمول بالإضافة الى بعض المواد مثل الصابونيات والقلويدات.

اذ ان كلا النباتين لهما فائدة طبية سواء كان الزيت او المواد الفعالة الموجودة فيها ، حيث انها استخدمت في علاج الكثير من الأمراض ومن ضمنها الإصابات الفطرية (كفطريات الاذن او الاصابات الجلدية).

فقد أثبتت بعض الدراسات كفاءة بعض المستخلصات النباتية كعوامل مثبطة ومنها ما يكون قاتلاً لبعض الفطريات التي تصيب الاذن وبعض الاصابات الفطرية الجلدية اذ ان الفطريات التي تصيب الاذن تتمثل بـ :-

Aspergillus flavus , A. fumigatus , Penicillium spp. , candida albicans , Fusarium pedrosii Alternaria spp. , Rhizopus sp.

وأثارت مؤخراً المستخلصات النباتية اهتماماً باعتبارها مصدراً للمنتجات الطبيعية بالمقارنة مع المضادات الحياتية فهي تمتلك مواصفات وقاية وحماية عند استخدامها كبدائل علاجية في الكثير من العلاجات وللعديد من المسببات المرضية .لذلك ارتأت هذه الدراسة الى :-

1- التوصل الى أحسن تركيبة من مستخلصات نبات الكمون والحبة السوداء يمكن ان تستخدم لتثبيط الفطريات المصيبة للأذن.
2- إدخال النباتات الطبية كبدائل محلية عن المضادات الفطرية الكيمياوية المستوردة اذ ان هذه النباتات الطبية متوفرة في البيئة العراقية ورخيصة الثمن و مألوفة الاستعمال وعديمة الأضرار الجانبية
3- مقارنة المضادات الحياتية مع تراكيز المستخلصات نبات الكمون والحبة السوداء
4- ملاحظة التركيز الفعال لكلا المستخلصين و تأثيره على فطريات الاذن .

المواد وطرق العمل:-

- الاوساط الزرعية المستخدمة في البحث :-

ت	اسم الوسط
1	Sabouraud Dextrose Agar
2	Potato Dextrose Agar
3	Agar
4	Peptone

3- العقارات المضادة للفطريات المستخدمة في البحث :

ت	اسم العقار
1	Candistan
2	Dermatin

جمع العينات : Collection of specimens

تم الحصول على عدد من العينات الخاصة بألتهابات الاذن والتي شخصت سريرياً من قبل اختصاصي امراض الاذن والانف والحنجرة. ان العينات المأخوذة كانت راجعة لمرضى بأعمار مختلفة . اذ جمعت العينات من عيادة د. عباس كلف الياسري في محافظة القادسية للفترة من كانون الثاني 2008 – اذار 2008 حيث اخذت المسحات من المرضى المصابين بأستخدام مسحة إذن معقمة sterile ear swab وبواقع ثلاث مكررات لكل عينة . ثم نقلت العينات الى المختبر لأجراء الفحوصات اللازمة عليها .

صبت الاوساط في اطباق وحضرت لغرض الزراعة وتجديد العينات .

- زراعة العزلات الفطرية :- زرعت المسحات الفطرية على وسط SDA الخاص بالفطريات المرضية وبواقع ثلاث مكررات لكل مسحة ثم حضنت بدرجة حرارة (37) م° ولمدة (3-7) ايام وكانت الفطريات الظاهرة في الاطباق هي:-

1- *Penicillium parasiticus*
2- *Aspergillus niger*
3- *Rhizopus stolanfer*
4- *Fusarium solani*
5- *Aspergillus flavus*

وتم تشخيصها من خلال الصفات المظهرية والصفات المجهرية .

- **جمع العينات النباتية**

جلبت العينات النباتية (الكمون والحبة السوداء) من الاسواق المحلية لمدينة الديوانية ونقلت الى المختبر وتم تنظيفها من الشوائب ووضعها في اكياس لحين الاستخدام .(5 ،4)

- تحضير المستخلص المائي :-

بعد تنقية النباتين من الشوائب وزن (50) غم من كل منهما وتم سحقها بالخلاط الكهربائي . ثم وضعت في دوارق وأضيف كل دورق (500) مل ماء مقطر بدرجة الغليان ثم وضع الخليط في جهاز Rotary Evaporator لغرض استخلاصه وبدرجة حرارة (50) م^{o} لحين الحصول على سائل كثيف .(3)

الكشف الكيميائي عن المركبات الفعالة لنباتي الكمون والحبة السوداء

1- الكشف عن الدباغيات:

تم ذلك بمزج (10) غم من المسحوق النباتي مع (50) مل من الماء المقطر وسخن الى درجة الغليان ثم رشح المحلول وترك الراشح ليبرد بعدها قسم على قسمين اضيف الى القسم الاول (1%) من خلات الرصاص يستدل عن وجود الدباغيات بظهور راسب هلامي القوام اما القسم الثاني فأضيف اليه (1%) كلوريد الحديديك ليستدل عن وجود الدباغيات بظهور اللون الاخضر المزرق (6) .

2- الكشف عن القلويدات :

اعتمدت الطريقة الواردة في (7) للكشف عن القلويدات والتي نصت على : غلي (10)غم من مسحوق النبات مع (50) مل من ماء مقطر محمض بواسطة (4%) من حامض الهيدروكلوريك . رشح المحلول بعد تبريده واختبر (0.5) مل من الراشح في زجاجة ساعة watch glass مع كل من الكواشف التالية :

كاشف دراجندروف ونتيجته ظهور راسب (برتقالي)

كاشف ماير ونتيجته ظهور راسب ابيض

3- الكشف عن الكلايكوسيدات:

اتبعت طريقة (8) وكانت كما يلي :

وضع (1) مل من مستخلص النبات في انبوبة اختبار واضيف له (2) مل من كاشف بندكت Bendects Reagent المحضر سابقاً ثم نقلت المحاليل الى حمام مائي بدرجة الغليان وترك لمدة (5) دقائق واستدل على ايجابية الفحص (أي وجود الكلايكوسيدات) من خلال ظهور اللون الاحمر ولتأكيد النتيجة مزج مقداران متساويان من كاشف فهلنك مع المستخلص المائي لمسحوق النبات وترك في حمام مائي فعلي لمدة (10) دقائق وكان ظهور راسب احمر دليل على ايجابية الفحص .

1- الكشف عن الفينولات :

اتبعت طريقة (7) وذلك بأضافة (3) مل من مستخلص النبات الى (2) مل من محلول (1%) كلوريد الحديديك ان ظهور اللون الاخضر المزرق يدل على وجود الفينولات .

2- الكشف عن الفلافونات:

اعتمدت طريقة (9) والتي نصت على ما يلي :-

حضر محلول (أ) بإذابة (10) غم من مسحوق النبات او المستخلص في (5) مل من الكحول الاثيلي بتركيز (95%) ثم رشح المحلول و حضر المحلول (ب) وذلك بإضافة (10) ملغرام من الكحول الاثيلي بتركيز (50%) الى (10) مل من هيدروكسيد البوتاسيوم بتركيز (50%) وعند مزج كميات متساوية من كلا المحلولين فأن ظهور اللون الأصفر دليل على وجود الفلافونات .

3- الكشف عن الراتنجات :-

اتبعت طريقة (6) اذ اضيف (50) مل من الكحول الاثيلي بتركيز (95%) الى (5) غم من مسحوق النباتات او المستخلص النباتي وبعد تركه في حمام مائي ليغلي لمدة دقيقتين ، رشح المحلول ثم اضيف للراشح (100) مل من ماء مقطر محمض بحامض الهيدركلوريك المركز استدل على وجود المواد الراتنجية بظهور عكارة .

7- الكشف عن الصابونيات :

توجد طريقتان للكشف عن الصابونيات تبعاً لما ورد في (6) وهي :

1- رج المحلول المائي لمسحوق العينة النباتية بشدة في انبوبة اختبار ظهور الرغوة الكثيفة وبقائها لعدة دقائق دليل على وجود الصابونيات .
2- اضافة (5) مل من كلوريد الزئبقيك الى (1.5) مل من المستخلص المائي للنبات ظهور راسب ابيض دلالة على ايجابية الكشف.

التحليل الاحصائي :- تم تحليل النتائج بأستخدام تحليل (CRD)

النتائج و المناقشة:-

تم خلال الدراسة عزل وتشخيص (5) انواع من الفطريات والتي كانت شائعه وفيما يلي وصف مبسط لكل نوع منها :

جدول (1)دراسة بعض الصفات المزرعية والمجهرية للفطريات المرضية

نوع الفطر	صفات المستعمرة على وسط PDA	صفات المستعمرة على وسط SDA	الصفات المجهريه
Penicllium parasiticus	تكون بلون اخضر مشع وبقطر (7 - 8).	يتراوح قطر المستعمره (2 – 6)سم وتكون بلون اخضر مزرق بعمر 5-7 ايام	خيوط الغزل القطري شفافه ومقسمه والحاملات الكونيديه بشكل فرشاة والكونيدات كرويه او بيضوية الشكل.
Aspergillus flavus	يكون لونها اصفر وواضحه جدا وذات مظهر ناعم.	قطر المستعمره يتراوح من (5 – 7)سم تنتج تراكيب او سبورات كونيديه وتكون المستعمره بلون زيتوني غامق.	الرؤوس الكونيديه كبيرة الحجم يقطر تكون كروية الشكل ارضيه كروية مشوكه.
Aspergillus niger	قطر المستعمره (9)سم وواضحه جدا وذات لون اسود تكون قاعدة المستعمرات صفراء اللون والمستعمرات سوداء .	قطر المستعمره (7 – 9)سم وذات لون اسود وتكون قاعدة المستعمرات صفراء اللون بينما المستعمرات سوداء .	الكونيدات تكون كبيرة الحجم وذات شكل صولجاني محموله على حوامل وتكون الكونيدات بيضوية الشكل ومشوكه.
Fusarium solani	يصل قطر المستعمره من (3 – 5)سم خلال 5 ايام وتكون المستعمرات بيضاء وذات شكل قطني وتكون قاعدة المستعمرات صفراء اللون.	يصل قطر المستعمره الى (3)سم خلال (5) ايام ويكون لون المستعمره وردي باهت وسطح المستعمره قطني.	تكون الكونيدات صغيره بيضويه ومتطاوله اما الكونيدات الكبيره فتكون محموله على حاملات قصيره ومتفرعه وتكون منحنيه في احدى نهاياتها اما نهاياتها الاخرى تكون بشكل قمه بيضويه ويظهر الكلاميدوسبور بشكل مفرد او زوجي.
Rhizopus stolanifer	يصل قطر المستعمره الى (9)سم وتأخذ لون رمادي الى اسود وبشكل(صوفي) تظهر الحوامل بشكل واضح وهي تحمل الحوافظ السبوريه.	يصل قطر المستعمره الى (6)سم خلال (4)ايام وتأخذ اللون البني الغامق وتنشأ الحوامل من الغزل الفطري مباشرة.	تظهر السبورانجيا بشكل واضح وذات جدار سميك وتكون بشكل كروي ويظهر الكلاميدوسبور بشكل كروي او بيضوي وذو جدار املس.

3-2- الكشف عن المواد الفعاله في نباتي (الحبه السوداء والكمون)

جدول (2) يبين المواد الفعاله في مستخلص نبات الحبه السوداء والكمون

المواد الفعاله	مستخلص نبات الحبة السوداء	مستخلص نبات الكمون
الصابونيات	+	+
القلويدات	+	+
الكلايكوسيدات	+	+

الفينولات	+	+
التاتينات	+	+
الراتنجات	+	+
الفلافونات	—	+

من الجدول اعلاه يتبين ان هناك عدد من المواد الفعاله توالتي تم الكشف عنها في مستخلصات نباتي الحبة السوداء و الكمون . ان تواجد هذه المواد ضمن تركيب النبات يعطيه اهميه كبيره من ناحية تأثير احد هذه المواد او اكثر من ماده على بعض مكونات الاحياء المجهريه بصوره عامه والمسببه لبعض الاصابات المرضية بصوره خاصه.

اذ ان تواجد هذه المواد في المستخلصات يشكل مضادا لبعض الاحياء المجهرية كالفطريات اذ تثبط فعاليتها الحيويه وهذا ينطبق مع ما جاء به (10)

– دراسة المستخلص المائي لنباتي (الكمون والحبة السوداء) على بعض الفطريات المصيبة للأذن:

جدول (3) تأثير المستخلصات المائية على الفطر *A. niger*

نوع المستخلص	التركيز	معدل أقطار المستعمرات	LSD
الحبة السوداء	6.25	5.3	2.1
	12.5	1.2 *	
	20	0 *	
الكمون	6.25	4.2	4.5
	12.5	6.3	
	20	3.1	
الحبة السوداء + الكمون	6.25	1.2	0.4
	12.5	0	
	20	0	
عقار (1) Dermatin	6.25	2.5	1.5
	12.5	2.1	
	20	0 *	
عقار (2) Candistan	6.25	3.4 *	1.1
	12.5	0 *	
	20	0 *	
Con.	-	9	9
	-	9	
	-	9	

* معدل أقطار المستعمرات ناتجة عن معدل ثلاث مكررات

من خلال النتائج التي تم الحصول عليها نلاحظ سيادة جنس *Aspergillus* SP. والتي تمثلت بالنوعين *A.niger* و *A.flavus* إذ أظهرت النتائج في جدول (3) إن الفطر المرضي *A.niger* قد تأثر في بعض التراكيز للمستخلصات التي استخدمت في البحث إذ أن التركيز (12.5، 20) لمستخلص الحبة السوداء قد أثر على أقطار المستعمرات لذلك الفطر والتي كانت (1.2 ، 0) سم ، أما استخدام مستخلص الكمون بجميع تراكيز لم يشكل أي فروقات معنوية بين معدلات أقطار المستعمرات ولو أن هناك تثبيطاً واضحاً في الأطباق .وهذا يتفق مع (11).

أما عند خلط مستخلص الحبة السوداء والكمون مع استخدام نفس التراكيز نلاحظ أن هناك تثبيط واضح في أقطار المستعمرات (1.2 ، 0 ، 0) سم وتفسر تلك النتائج إلى أن مستخلص الحبة السوداء ذات تأثير مثبط للعديد من الفطريات المرضية كالفطريات الجلدية والفطريات المسببة لالتهابات الاذن كالـــ *Aspergillus* SP. و *Penicillium* (12).

ولغرض المقارنة اختير عقارين حديثي التصنيع لإثبات كفاءة المستخلصات المنتجة في التجربة والتي كانت لها تأثيراً تثبيطاً ملحوظاً على أقطار المستعمرات والتي كانت (2.5 ، 2.1 ، 0) والأخير قد شكل فرقاً معنوياً عالياً مع المعاملات الاخرى التي استخدمت فيها التراكيز (6.25 ، 12.5) اذ ان عقار Dermatin كان له تأثير على مستعمرات الفطر *A.niger* اذ لوحظ بالإضافة الى تثبيط نمو المستعمرات قد اثر على الغزل الفطري فعند الفحص المجهري لوحظ ان الهايفات قد تأثرت بالعقار .

اما عقار *Candistan* فقد كانت أقطار المستعمرات (3.4 ، 0 ، 0) والتي كانت فيها التثبيط واضحاً اذ ان التراكيز جميعها (6.25 ، 12.5 ، 20) قد شكلت فروقاً معنوية في التثبيط لنمو المستعمرات . وهذا يتفق مع (13) الذي اثبت ان العقاقير الفطرية تؤثر على النمو الفطري نتيجة لاحتوائها على مجاميع كيمياوية تؤثر على نمو الهايفات وتمنع نموها .

وفي كلتا الحالتين قورنت مع معاملات السيطرة التي لم يستخدم فيها أي تركيز والتي كانت معدلات اقطارها (9) سم .

جدول (4) تأثير المستخلصات المائية على الفطر *A.flavus*

نوع المستخلص	التركيز	معدل أقطار المستعمرات	LSD
الحبة السوداء	6.25	5.5	3.7
	12.5	4.3	
	20	1.4 *	
الكمون	6.25	7.1	4.1
	12.5	3.2	
	20	2.2*	
الحبة السوداء + الكمون	6.25	5.2	2.7
	12.5	3.1	
	20	0*	

عقار (1) Dermatin	6.25	2.3	1.2
	12.5	1.5	
	20	0*	
عقار (2) Candistan	6.25	2.2	0.7
	12.5	0 *	
	20	0 *	
Con.	-	9	9
	-	9	
	-	9	

* معدل أقطار المستعمرات ناتجة عن معدل ثلاث مكررات

اظهرت نتائج جدول (4) ان هناك فروقاً معنوية لاستخدام التركيز المثبط (20) من مستخلص الحبة السوداء مع التراكيز الاخرى إذ إن اقطار المستعمرات كانت (5.5 ، 4.3 ، 1.4) على التوالي . اما فيما يخص مستخلص الكمون فأن التركيز (20) قد أثر وبشكل معنوي على اقطار المستعمرات إذ إن اقطار المستعمرات كانت (7.1 ، 3.2 ، 2.2) على التوالي . كذلك عند خلط مستخلص الحبة السوداء والكمون وتحت نفس التراكيز نلاحظ ان التركيز (20) قد ثبط وبشكل كبير نمو المستعمرات للفطر *A.flavus* اذ كانت اقطار المستعمرات (5.2 ، 3.1 ، 0) على التوالي ، اما في حالة استخدام العقار Dermatin فقد شكل نتيجة التركيز (20) فروقاً معنوية مع التراكيز (6.25 ، 20) والتي كانت أقطار المستعمرات فيها (2.3 ، 1.5 ، 0) على التوالي .
اما في حالة استخدام عقار *Candistan* فقد شكل التركيزين (12.5 ، 20) فروقاً معنوية عالية مع التركيز (6.25) والتي كانت أقطار المستعمرات فيها (2.2 ، 0 ، 0) على التوالي .

ونتيجة لهذه الحقائق العلمية والتي تتفق مع ما ذكره (14) في كون المضادات الفطرية لها القابلية على تحطيم الفطريات الممرضة للأنسان من خلال تثبيطها للفعاليات الحيوية التي تقوم بها .
اما فيما يخص تأثير المستخلصات المائية للنباتات فمن المعروف ان للحبة السوداء تأثير واسع على بعض الكائنات المجهرية ومن ضمنها الفطريات المرضية نتيجة لتواجد المركب (Nigellone) والجلوتاثيون وحامض الارجنين (15).
وتفسر نتائج تثبيط المستخلص المائي للكمون لفطر *A.flavus* على ان نبات الكمون يحتوي ضمن تركيبه على مركب (الانيثول) الذي يؤثر بشك كبير علي تركيبة الاحياء المجهرية وبالتالي تخريبها ومنع تكون الغزول الفطرية بالنسبة للفطريات وهذا يتفق مع ما توصل اليه (16) .

جدول (5) تأثير المستخلصات المائية على الفطر *Penicillium parasiticus*

نوع المستخلص	التركيز	معدل أقطار المستعمرات	LSD
الحبة السوداء *Nigalle sativa*	6.25	6	2
	12.5	0 *	
	20	0 *	
الكمون *Cuminum cyminum*	6.25	5.2	2.1
	12.5	1.3*	
	20	0 *	
الحبة السوداء + الكمون	6.25	0 *	0
	12.5	0 *	
	20	0 *	
عقار (1) Dermatin	6.25	2.3	0.7
	12.5	0 *	
	20	0 *	

عقار (2) Candistan	6.25	0 *	0
	12.5	0 *	
	20	0 *	
Con. بدون تركيز	-	9	9
	-	9	
	-	9	

* معدل أقطار المستعمرات ناتجة عن معدل ثلاث مكررات

اظهرت نتائج تحليل الجدول (5) ان لمستخلص الحبة السوداء بجميع تراكيزها قد اظهرت فروقاً معنوية عالية بالمقارنة مع معاملة السيطرة اذ كانت معدل اقطار المستعمرات (6 ،0 ، 0) على التوالي على فطر *P. parasitica* اما معاملة مستخلص الكمون شكل فروقاً معنوية عالية مع معاملة السيطرة من حيث تثبيطه للفطر والتي كانت معدل اقطار المستعمرات (5.2 ، 1.3 ، 0) على التوالي .

اما في حالة استخدام النسب نفسها (التراكيز) عند خلط مستخلص الحبة السوداء والكمون فقد اعطت نتائج جيدة من حيث تثبيطها لمستعمرات الفطر بنسبة (100%) والتي كانت معدل اقطار المستعمرات (0 ، 0 ، 0) على التوالي .

وتفسر هذه النتائج كون الفطر *P. parasitica* قد تأثر وبشكل كبير بالمستخلص النباتي للكمون والحبة السوداء سواء كانا متفردين او عند خلطهما اذ ان ذلك الفطر على الرغم من وجود الية المقاومة لديه والمتمثلة بالانزيمات لم يكن قادراً على مقاومة مثل هكذا مواد وتحويلها لصالحه وهذا يتفق مع ما وجده (16) .

اما في حالة استخدام العقار Dermatin فقد كان له تأثير واضح على نفس التراكيز والتي كانت معدل اقطار المستعمرات (2.3، 0 ، 0) على التوالي .

وتفسر النتائج لكلا العقارين ما تحتويه هذه العقارات من مركبات الازول والمتمثلة بـــ (كلوتريمازول Clotrimazole) والتي تؤثر بشكل مباشر على الاصابات الفطرية وخاصة التي يسببها فطر *Aspergillus*و *Penicillium* و *Candida* وهذا يتفق مع ما توصل اليه (17)

جدول (6) تأثير المستخلصات المائية على الفطر *Rhizopus stolanifer*

نوع المستخلص	التركيز	معدل أقطار المستعمرات	LSD
الحبة السوداء	6.25	8	2
	12.5	6.5	
	20	5.1	
الكمون	6.25	9	2.1
	12.5	9	
	20	7.2	
الحبة السوداء + الكمون	6.25	7.3	0
	12.5	5.4	
	20	2.1 *	
عقار (1) Dermatin	6.25	8.2	0.7
	12.5	4.5	
	20	1.5 *	
عقار (2)	6.25	5.6	0

Candistan	12.5	5.2	
	20	3.1	
Con. بدون تركيز	-	9	9
	-	9	
	-	9	

معدل أقطار المستعمرات ناتجة عن معدل ثلاث مكررات

اظهرت نتائج تحليل الجدول (6) ان هناك مقاومة واضحة من قبل *R . stolanifer* عند استخدام المستخلصات النباتية بجميع تراكيزها والتي كانت اقطار المستعمرات عند استخدام مستخلص الحبة السوداء (8 ، 6.5 ، 5.1)سم على التوالي ، اما في حالة استخدام مستخلص الكمون لم يلاحظ أي تثبيط في نمو المستعمرات للفطر اذ كانت معدلات اقطار المستعمرات (9 ، 9 ، 7,2) على التوالي بالمقارنة مع معاملة السيطرة والتي كان فيها معدل اقطار المستعمرات (9)سم .

اما في حالة خلط المستخلصين فقد لوحظ ان هناك تأثيراً واضحاً وقد شكل فرقاً معنوياً عالياً في استخدام التركيز (20) والتي كانت معدل اقطار المستعمرات (2.1) سم بالمقارنة مع معاملة السيطرة. وهذا يتفق مع (18)

اما في حالة استخدام العقار Dermatin فقد قاوم الفطر التراكيز الواطئة من العقار (6.25 ، 12.5) والتي كانت اقطار المستعمرات فيها (8.2 ، 4.5) بالمقارنة مع معاملة السيطرة ، الا انه ظهر تثبيط في التركيز (20) وقد كان قطر المستعمرة (1.5) والذي شكل فرقاً معنوياً عالياً مع معاملة السيطرة والتراكيز المستخدمة والاخرى اما استخدام العقار (Candistan) فلم يلاحظ أي تأثير على اقطار المستعمرات نتيجة لمقاومة ذلك الفطر للعقار .

وتفسر النتائج اعلاه في كون الفطر في كل الحالات عند تعريضه الى ظروف غير ملائمة كدرجة الحرارة او استخدام مواد فعالة او ادوية تكون لديه الية المقاومة بحيث ان الغزل الفطري لا يتأثر بها او ان الفطر يقوم بأفراز انزيمات تساعد على تحليل هذه المواد وتحويلها لصالحه وبالتالي يستمر النمو بمرور الوقت . وهذا ما يتفق مع ما توصل اليه (19).

جدول (7) تأثير المستخلصات المائية على الفطر *Fusarium solani*

نوع المستخلص	التركيز	معدل أقطار المستعمرات	LSD
الحبة السوداء	6.25	7.1	5.2
	12.5	5.5	
	20	3.2	
الكمون	6.25	8	6.5
	12.5	6.4	
	20	5.2	
الحبة السوداء + الكمون	6.25	4.6	4
	12.5	4.1	
	20	3.5	
عقار (1) Dermatin	6.25	1.4	0.4
	12.5	0 *	
	20	0 *	
عقار (2) Candistan	6.25	0 *	0
	12.5	0 *	

	20	0 *	
Con.	-	9	9
	-	9	
	-	9	

*** معدل أقطار المستعمرات ناتجة عن معدل ثلاث مكررات**

اظهرت نتائج تحليل الجدول (7) ان لمستخلص النباتين سواء كان للحبة السوداء او الكمون او كلاهما معاً لم يظهر أي تثبيط من خلال تحليل النتائج ولو ان هناك تثبيط في الاطباق الزرعية عند فحصها الا انها عند التحليل لم يلاحظ أي تأثير لتلك المستخلصات على الفطر *F. solani* بالمقارنةمع معاملة السيطرة والتي كانت معدل اقطار المستعمرات فيها (7.1 ، 5.5 ، 3.2) ، (8 ، 6.4 ، 5.2) ، (4.6 ، 4.1 ، 3.5) على التوالي . وبالتالي فأن فطر *F. solani* لم يتأثر بهذه المستخلصات نتيجة لكون ذلك الفطر يمتلك بعض المواد التي تقيه من المؤثرات التي يمكن ان يتعرض اليها كذلك فأن تركيبة السبورات والغزل الفطري يمكن ان تحميه من التأثيرات التي يتعرض اليها في الوسط . وهذا يتفق مع (20,3) .

اما عند استخدام العقار Dermatin فقد تأثر الفطر وبشكل كبير جداً وممكن القول في جميع التراكيز المستخدمة والتي كانت معدل اقطار المستعمرات فيها (1.4 ، 0 ، 0) على التوالي بالمقارنة مع معاملة السيطرة . اما ي حالة استخدام العقار (Candistan) فقد اثر بنسبة (100%) بجميع التراكيز على معدل اقطار المستعمرات(0 ،0 ، 0) و بالمقارنة مع معاملة السيطرة. ويمكن ان تفسر هذه النتائج الى ان كلا العقارين قد اثرا على حيوية الفطر (*F. solani*) بحيث حدا من نمو وبالتالي تحطيم الغزل الفطري في بعض الحالات خاملاً في مقاومته لبعض المواد الكيمياوية .وهذا يتفق مع (21)

الاستنتاجات :-

وجد ان التهابات الإذن بجميع أنواعها تعد من المشاكل الصحية والشائعة التي تصيب أفراد المجتمع نظراً لما تسببه من مضاعفات خطيرة يصعب علاجها .

سيادة جنس (*Aspergillus*) من بين الأجناس المعزولة نتيجة لقدرته وكفاءته العالية على إنتاج الكثير من الإنزيمات والايضات الثانوية وفضلاً عن احتياجاته البسيطة للنمو ولذلك فأنه يعد من أكثر الفطريات انتشاراً وخطورة

1- ظهر ان للعوامل البيئية والموقع الجغرافي تأثيراً في زيادة نسبة الإصابة اذ ان الرطوبة العالية كانت احد العوامل التي زادت من انتشار هكذا فطريات .
2- أعطى المستخلص المائي لنبات الحبة السوداء تأثيراً تثبيطياً متميزاً على الأجناس الفطرية المرضية وقد سجل نسب عالية في التثبيط على بعض الفطريات.
3- أعطى المستخلص المائي لنبات الكمون تأثيراً تثبيطياً ولو انه اقل كفاءة من مستخلص الحبة السوداء إلا انه قد ثبط النمو للفطريات المرضية .
4- اثبت المستخلص المائي (الحبة السوداء + الكمون) كفاءة عالية على تأثيره على بعض الفطريات المرضية بالمقارنة مع استخدام النباتين بشكل منفرد اذ ان عملية الخلط قد زادت من كفاءتهما .
5- البحث عن الأحدث في العقاقير الطبية والتي تعود بالنفع على المصاب وتعطي النتائج بأقل وقت.

التوصيات :

1- إمكانية استخدام مستخلصي نبات الحبة السوداء والكمون للاستفادة منها في دراسات لاحقة بوصفها مواد كيمياوية طبيعية تؤثر على انواع الفطر كجزء من برنامج متكامل للعلاج من الأخذ بنظر الاعتبار طبيعة المواد الفعالة.
2- ضرورة التركيز على فهم طبيعة التفاعل بين الممرض والعائل وهنا (الفطر المرضي والإذن) أي فسلجة حدوث المرض . وبالتالي تحدد الطريقة العلاجية.
3- التأكيد على استخدام طرق التشخيص المختبرية لان ذلك يساعد على تشخيص نوع الإصابة بشكل أكثر دقة.
4- يمكن استخدام التركيز الأكثر فاعلية من هذه المستخلصات والذي كان بين (20) مايكرولتر وعلى شكل قطرات وحسب إرشادات الطبيب.
5- عند التأكد من كفاءة المستخلصين يفترض ان يسجلان في جهاز التقييس والسيطرة النوعية لما لهما من أهمية علاجية بديلة عن المواد الكيمياوية .
6- ينصح بأستخدام الـ (Clotrimazole) والذي يدخل ضمن العقاقير (Candistan, Dermatin) لمعالجة الإصابة في مثل هذا النوع من الفطريات ولكنه يجب الاخذ بنظر الاعتبار التأثيرات السمية للمضادات الفطرية على أنسجة جسم الإنسان .
7- على الرغم من النباتات الطبية أهمية في علاج الأمراض إلا ان لها بعض التأثيرات السلبية فيما لو استخدمت بشكل خاطئ لذلك نوصي بزيادة التوعية الصحية وتكثيف البرامج التثقيفية الصحية عند أفراد المجتمع.

المصادر

1- الشحات ، نصر ابو زيد (1988) النباتات العطرية ومنتجاتها الزراعية والدوائية / الدار العربية للنشر والتوزيع .
2- الكاتب ، يوسف منصور .(2000) . تصنيف النباتات البذرية . وزارة التعليم العالي والبحث العلمي .
3- محمد ، صالح عيسى ، 1999 ، تأثير بعض المستخلصات النباتية على الفطريات المنتجة لسموم الافلاتوكيسن ، اطروحة دكتوراه ، كلية الزراعة والغابات . جامعة الموصل .
4- قطب ، فوزي طه حسين (1981) النباتات الطبية زراعتها ومكوناتها . دار المريخ للطباعة والنشر ، الرياض .
5- سعد الدين ، شروق محمد كاظم . (1986) الاعشاب الطبية . كتاب مترجم . دار الشؤون الثقافية العامة ، وزارة الثقافة والاعلام ، بغداد .
6- Shihata ,I.M.(1951) .Apharmacological sbudy of Anagallis .Anagaallis arvensis .m.d vet . Theisis cairo university .
7- Harborne , J.B.(1979) Phytochemical methods . Science paper backs , Chapman &Hall .
8- الشيخلي ، محمد عبد الستار ؛ العزاوي ، فريال حسن وفياض حسن (1993) . الكيمياء التحليلية . وزارة التعليم العالي والبحث العلمي . الجامعة المستنصرية .
9- Jaffer ,H.J.Mohamed,.M.I.Juwad ,A;Naji,A. and AL_Naib,A. (1983) . Phytochemical & biological screening of some Iraqi . Fitoterapia , LIX .pp:229
10- القاضي ، احمد وأسامة قنديل ، الحبة السوداء شفاء من كل داء ط2 هيئة الإعجاز العلمي في القران والسنة – رابطة العالم الإسلامي – 2001.
11- مصطفى ، ايمان عبد العزيز – 1995 ، الثوم والنعناع كبدائل مثبطة لفعالية بعض الفطريات الممرضة ، رسالة ماجستير – كلية العلوم – جامعة الكوفة.
12- عبد الحسين ، محمد محسن – 2001 دراسة حول الفطريات الانتهازية المصاحبة لالتهابات الأذن الوسطى في محافظة القادسية ، رسالة ماجستير – كلية التربية – جامعة القادسية
13- Como , J. a , &. Dismukes , W . S (1994) . Oral azole Drugs as systemic antifungal therapy .New England , J. of med

14- Buckly ,H .R. (1989) Identification of yeasts in Evans , E.G.V. & Rich & M.D. Medical Mycology . Practical approach. Press Oxford . PP. : 47-51.

15- ابو الخير ،خالد ، فاتن الزامل ، هاشـــم عروة ، مقالات في جهاز المناعة ، 2004 ، مجلة العلوم التقنية ، العدد (37).

16- الرجبو ، مها أكرم محمد علي ، (2004) دراسـة تأثير نبات الزعتر *Thymus* spp. على بعض الفطريات ، أطروحة دكتوراه ، كلية العلوم / جامعة الموصل / العراق .

17- Al- Duboon , A.H .(1998) . Antifungal susceptibility of Fungi causing Otomycesis in Basrah . Medic .J. of Basr. Univer. 16(1,2):87-98.

18- Pia , S , T. and Platt , M, W . (1995) .Antifungal effect of *Allium sativum* (garlic)extract against the *Aspergillus* sp. Microbiology . 20(1) :14-18.

19- Al-Ani A. J. Nadir , Al-Kazaraji . N. K (1996) . The Antimicrobial activity of Volatile Oil isolated from some Iraq plants . Journal of Al-Anbar university 1 (1) : 82 -86 .

20- Lee , K .J .E .(1999) Pediaric Otolaryngology in essential of Otolaryngology headneek surgery . 7th . edition

21- Bhatnager , D. ; Lillehoj. L . B . & Arar , D.K , (1992) . Hand Book of application mycology . vol . Mycotoxins in Ecological system . March , dekker , Ine . New York PP.213-214.

مجلة القادسية للعلوم الصرفة المجلد 15 العدد 4 سنة 2010
(بحوث الندوة البيئية الخامسة للبيئة والتلوث والمنعقدة بتاريخ 13-14 ايار 2009)

Effect of *Cminum cyminum* and *Nigilla sativa* extract on fungi that cause of Otitis Media

Sulaf H. Tamoze **Lujain I. Hussain**

AL-Qadisiya university – College of science
Unit of Environmental Reseaches & Protection from Pollution

Abstract :-

This study include effect of two types of medical plants extract opportune fungi associated with Otitis Media , this study made to isolate that path fungi from patients who visit ear –nose – larynx clinical , the result of sample collected from 50 patients during two month collect many types of path fungi which replicated in many of causes *Penicillium parasiticus Aspergillus flavus Fusarium solani* , *Rhizopus stolanifer* , *Aspergillus niger* . this study show dominance *Aspergillus niger* and *Aspergillus flavus* after isolat and diagnosis them in all samples and during note from effect of *Cminum cyminum* and *Nigilla sativa* extract it noted there are different inhibition mechanism *Cminum cyminum* and *Nigilla sativa* extract on different fungi and tested in this study although they gave good result in inhibition colony growth for fungi compared with two antibiotics Candistan and Dermatin which use in ear fungi treatment . Also result showed resistant *Fusarium solani* , *Rhizopus stolanifer* for some concentration (12.50 , 6.25 ,20) micro litter which used in search and same antibiotics concentration .