المسح التمهيدي لتقييم فاعلية بعض المستخلصات النباتية الخام تجاه بعض الفطريات المسببة لداء الفطار السطحي

عبدالله حمود السعدون ، عبد الرضا أكبر علوان المياح ونجوى محمد جميل ابو مجداد
قسم علوم الحياة – كلية العلوم- جامعة البصرة

الخلاصة

درس تاثير المستخلصات النباتية الباردة المائية و الكحولية من اربعة اجزاء نباتية مختلفة هي : ازهار نبات الأقحوان وجذور نبات الختمة واوراق نبات الريحان وبذور نبات الكرفس وبتركيز 500 ملغم/مل تجاه 10 عزلات فطرية تعود الى 10 أنواع عزلت من مرضى يعانون من أعراض سريرية للإصابة بأمراض الفطار السطحي يراجعون مستشفى الزبير العام وبعض المختبرات للتحليلات المرضية في قضاء الزبير- البصرة , للفترة من 1 – 6 - 2003 الى 28 –11 - 2004 . اظهرت النتائج ان اعلى قيمة لمعدل معدلات اقطار التثبيط كانت 11.2 ملم للمستخلص الكحولي البارد لبذور نبات الكرفس، في حين كانت ادنى قيمة لمعدل معدلات اقطار التثبيط 0.1 ملم للمستخلص المائي البارد لاوراق نبات الريحان تجاه العشر عزلات المنتخبة. كذلك تم تحضير أربعة انواع من ألمستخلصات الباردة والحارة لنباتي الأقحوان والكرفس بإستخدام أربعة مذيبات مختلفة القطبية ؛ هي الماء , الكحول الأثيلي 95 % , الأسيتون والهكسان ودراسة فاعليتها الحيوية وبتركيز 500ملغم/مل تجاه 4 عزلات فطرية. وبينت النتائج ان الفطر *Aspergillus flavus* اقل تاثر بهذه المستخلصات اذ كان معدل معدلات اقطار التثبيط لهذا الفطر 1.79 ملم في حين كانت خميرة الـ *Candida albicans* اكثر تاثر بهذه المستخلصات اذ بلغ معدل معدلات اقطار التثبيط 13.5ملم .كذلك كانت المستخلصات المائية والكحولية الحارة لنباتي الأقحوان والكرفس اكثر تاثيراً على العزلات الأربع مقارنة مع بقية المستخلصات ، لذا تم اختبار فاعلية المستخلصات المائية والكحولية الحارة لنباتي ا لأقحوان والكرفس وبتركيز 500ملغم/مل تجاه 14 عزلة فطرية اخرى،وتم اجراء 22 كشف نوعي لهذه المستخلصات وتبين انها تحوي على جميع المكونات الفعالة التي تم الكشف عنها، واجريت تقنية كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة لجميع مستخلصات المذيبات العضوية و المستخلصات المائية لنباتي الاقحوان والكرفس.

Preliminary Screening For Evaluation Activity Of Some Crude Plant Extracts Against Some Fungi Causes Superficial Mycoses

A.H. Al-Saadoon , A.R.A.A. Al-Meyah & N.M.J. Abu- Mejdad.
Biology Department-Collage of Science – University of Basrah .

Summary

The effect of cold aqueous and alcoholic exatracts of *Caledula officinalis* flowers , *Alcea kurdica* roots ,*Ocimum basilicam* leaves and *Apium graveolens* seeds on ten fungal isolates belinging to ten species isolated from patients with clinical symptoms of superficial mycoses studied .

The results showed that the highest value of average rates of inhibitors diameters was 11.2 mm for the alcoholic extracts of *Apium graveolens* , while the lowest value was 0.1 mm for aqueous extracts of *Ocimum basilicum* leaves .Four types of cold &hot extracts using different solvents (namely water , 95% ethanol , acetone and hexane) for *calendula officinalis* and Apiam graveolens were prepared .The bioactivity of 500mg/ml concentration of each exctracts on four fungal isolates were tested .The result of these bioactivities showed that the fungus *Aspergillus flavus* has been less affected by these extracts where the average inhibition diameters was 1.79 mm , while the yeast *candida albicans* has been more affected where the average inhibition diameters was 13.5 mm.in addition ,the effect of the hot aqueous and alcoholic extracts of *Calendula officinalis* and *Apium graveolens* in the four isolates were highly significant , therefore the bioactivities of these extracts (with 500 mg/ml concentration) against 14 fungal isolates were examined . Twenty two specific test with thin layer chromatography for all exctracts were done .

المقدمة

يُعد داء الفطار السطحي (Superficial mycosis) من أكثر الأصابات الفطرية حدوثاً في الأنسان , وهو أحد أكثر الإصابات الجلدية أنتشاراً مقارنة مع الإصابات الجلديـة الأخـرى (Midgley وجماعته، 1997) . والفطار السطحي عالمي الأنتشار ويسبب تشـوهات جلديـة

وتأثيرات نفسية على المريض فضلاً عن خسارة في الأموال نظراً لصعوبة علاجه مما أدى الى زيادة الإهتمام بدراسته من الناحيـة الطبيـة (Hossain و Ghannoum ، 2001) .و أزداد الإهتمام بالإصابات الفطرية في السنوات الأخيرة نتيجة للإسـتخدام الواسـع للمضـادات الحياتية وعقاقير الستيرويدات القشرية والعلاج الأشـعاعي الكيميـ ـاوي والإصـ ـابة بـبعض الأمراض الخبيثة ومرض الأيدز فضلاً عن الأصابة بداء السكري وعمليات نقل وزرع الأعضاء (Slage ، 1997). ولقد أعطي إهتماماً كبيراً للإستخدام العلاجي لأدوية معزولة من الأعشاب الطبية وذلك لعدة عوامل منها ان بعض المركبات الطبيعية لم يتمكن العلم الحديث من تركيـب مشابه لها معملياً على الرغم من أهميتها مثل الهيوسيامين من نبـات السـكران *Hyocyamus muticus* ،والهيوسين من نبات الداتورا *Datura stramonium* والخلين مـن نبـات الخلـة *Ammi majus* وكذلك الفاعلية والأمان والجدوى الأقتصادية (حسـين،1979 ؛ Glombitza وجماعته، 1994) ، وكذلك تنامي الحاجة الماسة للبحث عن بدائل علاجية للمضادات الفطريـة المستخدمة بسبب ظهور العديد من العزلات الفطرية المقاومة لها لذا توجهت الأنظار نحو أكثـر هذه البدائل أهمية وهي مستخلصات النباتات الطبية التي تكون ذات فاعلية في أيقـاف أو قتـل الفطريات (WHO، 1996)، وتعود فاعلية هذه المستخلصات الى أحتوائها على مركـب فعـال واحد أو أكثر أو قد يعطى خليط لمجموعة من المستخلصات النباتية الطبية فاعلية جيـدة لعـلاج الفطريات (المياح , 2001) . .ونظراً.لتوجه أغلب الدراسات التي تبحث في علاج داء الفطار السطحي على العقاقير المصنعة كيميائياً في حين لم تأخذ عقاقير المواد الطبيعية القدر ذاته فـي البحث والإهتمام . ولقلة الدراسات المتخصصة في العراق حول تأثير المستخلصات النباتية على الفطريات الجلدية والأنتهازية لذلك اجريت هذه الدراسة التي تهدف الى اجـراء دراسـة أوليـة لإختبار تأثير المستخلصات الخام لأزهار الأقحوان وجذور الختمـة وأوراق الريحـان وبـذور الكرفس التي ذكرتها المصادر بوصفها مواداً مضادة للفطريات وأختبارها خارج الجسم الحي .

المواد وطرائق العمل

انتخبت في هذه الدراسة عزلات فطرية تعود الى أنواع عزلت من مرضى يعانون من أعراض سريرية للإصابة بأمراض الفطار السطحي يراجعون مستشفى الزبير العام وبعض المختبرات للتحليلات المرضية في قضاء الزبير , شخصت الأنواع في دراسة (أبو مجداد , 2005) .

1-جمع عينات نباتات الدراسة

تم جمع الأجزاء الزهرية لنبات الأقحوان *Calendula officinalis* ، جذور نبات الختمة *Alcea kurdica* وأوراق نبات الريحان *Ocimum basilicum* من حديقة كلية العلوم وبعض الحدائق المنزلية في بداية شهر آذار من عام 2003 اما بذور نبات الكرفس *Apium graveolens* فتم الحصول عليها من الأسواق المحلية في قضاء الزبير . نقلت الأجزاء االنباتية

الى المختبر وغسلت بالماء المقطر المعقم ثم وضعت على اوراق ترشيح Whatman No-15(England) ،وعرضت لتيار هوائي مناسب بدرجة حرارة الغرفة 25 م˚ حتى جفت ،وكانت تقلب بصورة مستمرة لمنع تعفنها.ثم عمل عينات معشبية للأنواع المدروسة وذلك بكبس عينات منها وتجفيفها وترقيمها وحفظها في معشب جامعة البصرة BSRA للمراجعة عند الحاجة .

2- تهيئة النباتات للدراسة

طحنت الأجزاء النباتية للأقحوان ، الختمة ،الريحان والكرفس كلاً على حده بمطحنة كهربائية Electric mill (Moulinex) وحفظت في أوعية زجاجية محكمة الغلاق معتمة في درجة حرارة 4 م˚ لحين الإستعمال

3-تحضير المستخلصات الباردة (Ahmed وجماعته ،1998)

حضرت المستخلصات المائية بمزج 20 غم من مسحوق الأجزاء الزهرية لنبات الأقحوان، جذور الختمة، أوراق الريحان و بذور الكرفس كلاً على حده مع 400 مل ماء مقطر وترك العالق مع التحريك المستمر على جهاز المحرك المغناطيسي Magnatic stirrer (IKA-combimag) لمدة 24 ساعة بدرجة حرارة الغرفة ، بعدها رشحت المستخلصات بأستخدام اوراق ترشيح من نوع Whatman-No-1-(England) ثم وضع الراشح في طبق بتري وترك ليجف عند درجة حرارة المختبر. وكررت العملية عدة

مرات للحصول على كمية كافية من الخلاصة النباتية ثم جمعت وحفظت في الثلاجة بدرجة حرارة 4 م˚لحين الإستعمال وحضرت مستخلصات الكحول الاثيلي 95% للنباتات الاربعه والمستخلصات الاسيتونيه والهكسانيه لنباتي الاقحوان والكرفس وفق الطريقة المذكورة انفا باستثناء استبدال المذيب في كل مرة.

4- تحضير المستخلصات الحارة لنباتي الأقحوان والكرفس

حضرت المستخلصات باتباع طريقة Souri وجماعته(2004) وتتلخص بوضع 20 غم من الجزء النباتي المطحون في أوعية ورقية Thumbles ثم وضعت في جهاز الإستخلاص Soxhelet extractor بإستخدام 400 مل من الماء المقطر ولمدة 24 ساعة . بعدها رشح المستخلص بإستخدام اوراق ترشيح Whatman-No-1-(England) وترك ليجف في طبق بتري بدرجة حرارة الغرفة وكررت العملية عدة مرات للحصول على كمية كافية من الخلاصة النباتية ثم جمعت وحفظت في الثلاجة بدرجة حرارة 4 م˚لحين الإستعمال .كذلك عومل1 غم من خلاصة كلا النباتين بحامض الخليك وتم الحصول على راسب وراشح ، فصل الراسب وحفظ في أوعية زجاجية معتمة وتم تجفيف الراشح وحفظه أُجريت عملية الأستخلص بالأيثانول 95% و الاسيتون وفق الطريقة الموضحة بالفقرة اعلاه باستثناء استبدال المذيب في كل مرة و استخدام جهاز المبخر الدوار Rotary evaporator (Rotavapor-RE,Buchi) لتركيز العينة بعد ترشيحها الى 10 مل ثم وضعت في طبق بتري لتجف .

اما مستخلص الهكسان فحضر بنفس الطريقة فضلاً عن تحضير المستخلص بوزن 40 غم من الجزء النباتي الجاف بدلاً من 20 غم في الفقرة أعلاه . وكذلك تم معاملة 1مل من الزيت المستخلص لكلا النباتين بالبنزين إذ تم الحصول على جزئين في حالة الأجزاء الزهرية جزء ذائب في البنزين تم تجفيفه وحفظه في اوعية وجزء غير ذائب تم تذويبه بحامض الخليك ثم جفف وحفظ في أوعية زجاجية معتمة أما مستخلص الهكسان للبذور المعامل بالبنزين فقد ذاب بشكل تام ولم يترسب أي جزء منه.

5 -المسح التمهيدي للمستخلصات النباتية

لأجل التقييم الأولي لفاعلية المستخلصات النباتية تجاه بعض الفطريات المعزولة خلال الدراسة أستخدمت طريقة الأنتشار في الأگار بوساطة الحفر وأستخدم التركيز 500 ملغم/ مل وتتلخص الطريقة كما يأتي :-

1- حضر وسط أگارالسابرود (40 غم دكستروز ، 20 غم أگار , 10 غم ببتون , 1000مل ماء مقطر , 250 ملغم كلورامفينيكول) ووسط أگار البطاطا والدكستروز (200 غم بطاطا ، 20 غم أگار , 20 غم دكستروز , 1000مل ماء مقطر , 250 ملغم كلورامفينيكول) ونشطت العزلات الفطرية المستخدمة على هذين الوسطين في درجة حرارة 27 م˚ ولمدة7-10أيام للفطريات الخيطية وثلاثة ايام للخمائر .

2- أُخذ 0.2 مل من العالق البوغي ذو التركيز 3 او 6 ×10^6وحدة تكاثرية / مل المقارن بأنبوبتي مكفرلاند رقم 1 ، 2 على التوالي بوساطة ماصة حجمية معقمة وصب على الوسط الزرعي ثم نشر العالق بوساطة الناشر الزجاجي Spreader المعقم بالكحول واللهب ثم تركت الأطباق لمدة ساعة واحدة ليجف العالق .والمحضرة كالآتي * تحضير مقياس مكفرلاند القياسي Standard McFarland جدول (1)

يتكون من مزج حجوم مختلفة من:

حامض الكبريتيك	%1
كلوريد الباريوم	%1

جدول (1) الحجوم المختلفة لكل من كلوريد الباريوم و حامض الكبريتيك

رقم الأنبوب	كلوريدالباريوم $BaCl_2$(مل)	حامض الكبريتيك H_2SO_4 مل	تركيزالخلايا ×10^6/مل
1	0.1	9.9	3
2	0.2	9.8	6

3- تم عمل5 حفر بقطر 6 ملم لكل حفرة وذلك لكل طبق وبإستخدام ثاقب فليني معدني معقم (Cork borer).

4- تم اضافة 100 مايكرو لتر من المستخلص النباتي لكل حفرة وبإستخدام ماصة دقيقة ذات أغطية معقمة وبحذر شديد لتلافي تناثر المستخلصات فوق سطح الوسط الزرعي .

5- حضنت الأطباق بدرجة 27 م° لمدة7-10 أيام للفطريات الخيطية و2-5أيام للخمائر وذلك لملاحظة تكون الهالة الشفافة حول الحفرة والتي تمثل قطر منطقة تثبيط النمو مقاسة بالملم . (Collee وجماعته،1996؛Hammer وجماعته ،2002) .

6- الكشوفات النوعية للمستخلصين المائي والكحولي لأزهار الأقحوان وبذور الكرفس

أجريت عدة كشوفات نوعية للتعرف على المكونات الكيميائية الأساس في المستخلص المائي والكحولي الحار لأزهار الأقحوان وبذور الكرفس وشملت الكشف عن القلويدات , الكلايكوسيدات, الصابونينات, الكاربوهيدرات, الفلافونيدات , التانينات, الراتنجات, الفينولات, الفيوكيومارينات, الكومارين, الترايتيربينويد, التربينات الثلاثية والستيرولات, الفانيلين الستيرويدات, والتربينات الثلاثية, محلول الرودامين -ب الأيثانولي, اليود ,الاشعة فوق البنفسجية u.v (366 nm) الكشوفات عن عدم التشبع الكشف عن الأوكسجين الصهر مع الصوديوم(Trease و Evans ، 1973; Saadalla ;1980 Meyer1984,Harborn ; و Walther ،1988; Ahmed وجماعته ،1989; Al-Khazragi ; 1991 Criddle و Ellis ،1994, Richard ;1998; Adedayo وجماعته ،2001) .

7- تقنية كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة

أُجريت تقنية كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة للمستخلصات الحارة والباردة للأجزاء الزهرية لنبات الأقحوان وبذور نبات الكرفس والجزئين الذائب وغير الذائب في حامض الخليك من المستخلص المائي الحار للأجزاء الزهرية والبذور والجزئين الذائب وغير الذائب في البنزين من المستخلص الهكساني الحار للأجزاء الزهرية .وكذلك للجزء المترسب من مستخلص الهكسان الحار لكلا النباتين بأستخدام صفائح رقيقة مغطاة بهلام السيلكا جل Silica gel وبأبعاد20×20 سم وسمك 2 ملم المجهزة من شركة (Merck) وبأستخدام

طور متحرك هو مزيج من البيوتانول (B) Butanol وحامض الخليك (A) Acetic acid والماء (W) Water (BAW) وبنسبة 4:1:7 بأستثناء المستخلص الكحولي الحار والبارد للأجزاء الزهرية أستخدمت نسبة أخرى هي7.5:2.5:1.5 وكان الزمن المستغرق لصعود المزيج (Eleuent) يتراوح بين 40-60 دقيقة وحسب درجة الحرارة المقاسة وظُهرت الصفائح بتعريضها لبخار اليود وبعد تحديد موقع البقع بدقة حسبت قيم معاملات انسيابها النسبية Relative flow coefficients (Rf) من العلاقة الآتية :-

المسافة التي قطعتها البقعة

Rf = ــــــــــــــــــــــــــــــ

المسافة التي قطعها المزيح

(1984،Harborn)

8-التحليل الأحصائي Statistical Analysis

أجري التحليل الأحصائي للنتائج بأستخدام اختبار التباين Analysis of Variance (ANOVA test) وأستخدم أقل فرق معنوي معدل (Revised Least Significant Difference) .R.L.S.D لمقارنة المتوسطات (الراوي وخلف الله ،2000).

9-النتائج والمناقشة Results & Discussion

أظهرت نتائج الدراسة الحالية جدول (2) أن نسبة الخلاصة المائية كانت 4 %,5%,5.5%,5%, والكحولية 7.8%، 2.5%، 3.5%، 8.5% للأجزاء الزهرية للأقحوان وجذور الختمة وأوراق الريحان وبذور الكرفس على التوالي. وتبين من الجدول أن النسبة المئوية للخلاصة الكحولية لأزهار الأقحوان وبذور الكرفس كانت أعلى من الخلاصة المائية، وبما أن ظروف وطريقة الاستخلاص هي موحدة في كل الأنواع النباتية المستخدمة فأن هذا الاختلاف قد يعزى الى اختلاف في قطبية المذيبين والتي تعود الى اختلاف ثابت العزل الكهربائي لكلا المذيبين، إذ يبلغ ثابت العزل الكهربائي للماء78.54 في حين للكحول الاثيلي 24.55 (ساجدي و علي، 1987).

جدول (2) النسب المئوية للمستخلصات المائية والكحولية 95% الباردة لأزهار الأقحوان جذور الختمة وأوراق الريحان وبذورالكرفس

المادة النباتية	النسبة المئوية للخلاصة(غم)	
	المستخلص الكحولي	المستخلص المائي
أزهار الأقحوان	7.8	4
جذور الختمة	2.5	5
أوراق الريحان	3.5	5.5
بذور الكرفس	8.5	5

وكذلك أظهرت الدراسة الحالية فاعلية المستخلصات النباتية الأربعة بتركيز 500 ملغم / مل تجاه 10 أنواع من الفطريات المعزولة خلال الدراسة وكما يوضحها الجدول (3) اذ تباينت حسب نوع المستخلص النباتي والعزلة الفطرية وبصورة عامة كان تأثير المستخلصات الكحولية الباردة اعلى مقارنةً بالمستخلصات المائية الباردة على جميع العزلات المختبرة وهذا واضح من خلال معدلات أقطار التثبيط التي يوضحها الجدول وكذلك كانت أعلى قيمة لمعدل معدلات أقطار التثبيط11.2 ملم تجاه العشر عزلات المختبرة للمستخلص الكحولي البارد لبذور نبات الكرفس في حين كانت أدنى قيمة لمعدل معدلات أقطار التثبيط 0.1 ملم تجاه العشر عزلات المختبرة للمستخلص المائي البارد لأوراق الريحان , ومن نتائج التحليل الاحصائي وأختبار أقل فرق معنوي معدل بين المتوسطات ظهر وجود فروق معنوية في تأثير المستخلصات النباتية للنباتات الأربعة تجاه الـ 10 أنواع المختبرة وبفارق عالٍ في المعنوية $p<0.05$ و بما أن العزلات الفطرية المختبرة نفسها في المستخلصات المائية والكحولية الباردة. و التركيز ثابت 500 ملغم/مل ، فإن السبب في اختلاف الفاعلية يعزى الى اختلاف قطبية المذيبين وهو لنفس السبب المذكور آنفاً. وذكرت(الحريشاوي، 2004) أن اغلب المركبات النباتية الفعالة هي مركبات قطبية اروماتية إذ قامت بتحضير مستخلصات مائية وكحولية و كان الكحول أفضل في استخلاص المكونات الفعالة من نباتات الدراسة المتمثلة بالحناء والعفص مقارنة بالماء بالرغم من أن المذيبين قطبيان. و لوحظ أيضاً أن فاعلية المستخلص المائي والكحولي لأزهار الأقحوان وبذور الكرفس أعلى من فاعلية المستخلصات المائية والكحولية لجذور الختمة وأوراق الريحان جدول(3) وذكر(Handa وSingh ،2003) من خلال الدراسة الكيميائية التي قاما بها أحتواء المستخلصات الكحولية الخام الباردة لنباتي الأقحوان والكرفس على المركبات الفينولية التي تمتاز بفاعليتها تجاه الفطريات وأشار (Tylor وجماعته، 1996؛ Cowan، 1999) الى أن المستخلصات الحاوية على المركبات الفينولية التي تمتاز بوجود مجموعة الـ OH تكون قاتلة أو موقفه للفطريات بسبب قدرتها على الأتحاد مع بروتين الخلية وترسيبه فتغير من طبيعته وتعمل بوصفها مذيباً جيداً للمواد الدهنية، أي أنه يحلل أغشية الخلايا الحية وبالنتيجة تخرج المكونات الداخل خلوية الى الخارج فتموت الخلية الفطرية. أما قلة الفاعلية الحيوية للمستخلصات المائية والكحولية الباردة الخام قد يعود الى قلة كمية المواد الفعالة في المستخلصات أو الى ضعف فاعليتها(مجيد وجماعته ، 1998). أو ربما يعزى السبب الى ضرورة فصل المكونات الفعالة من نباتي الختمة والريحان إذ أشار (Al-Rawi ، 1988) إنه أحياناً يؤدي وجود المكونات الفعالة مع بعضها في المستخلصات الخام الى تأثير سلبي . وذكر (Ahmed وجماعته , 1998) عدم وجود أي فاعلية للمستخلصات المائية والكحولية والهكسانية الباردة الخام لنباتي الختمة والريحان تجاه بعض الأحياء المجهرية المختبرة . في حين ذكر (Rai وجماعته , 1999) إن للزيوت الطيارة المستخلصة والمعزولة من نبات الريحان وهي Linalool , Methyl cinnamats , Methyl cavical , Terpinene , Ocimene فاعلية عالية تجاه خمس أنواع تعود لجنس

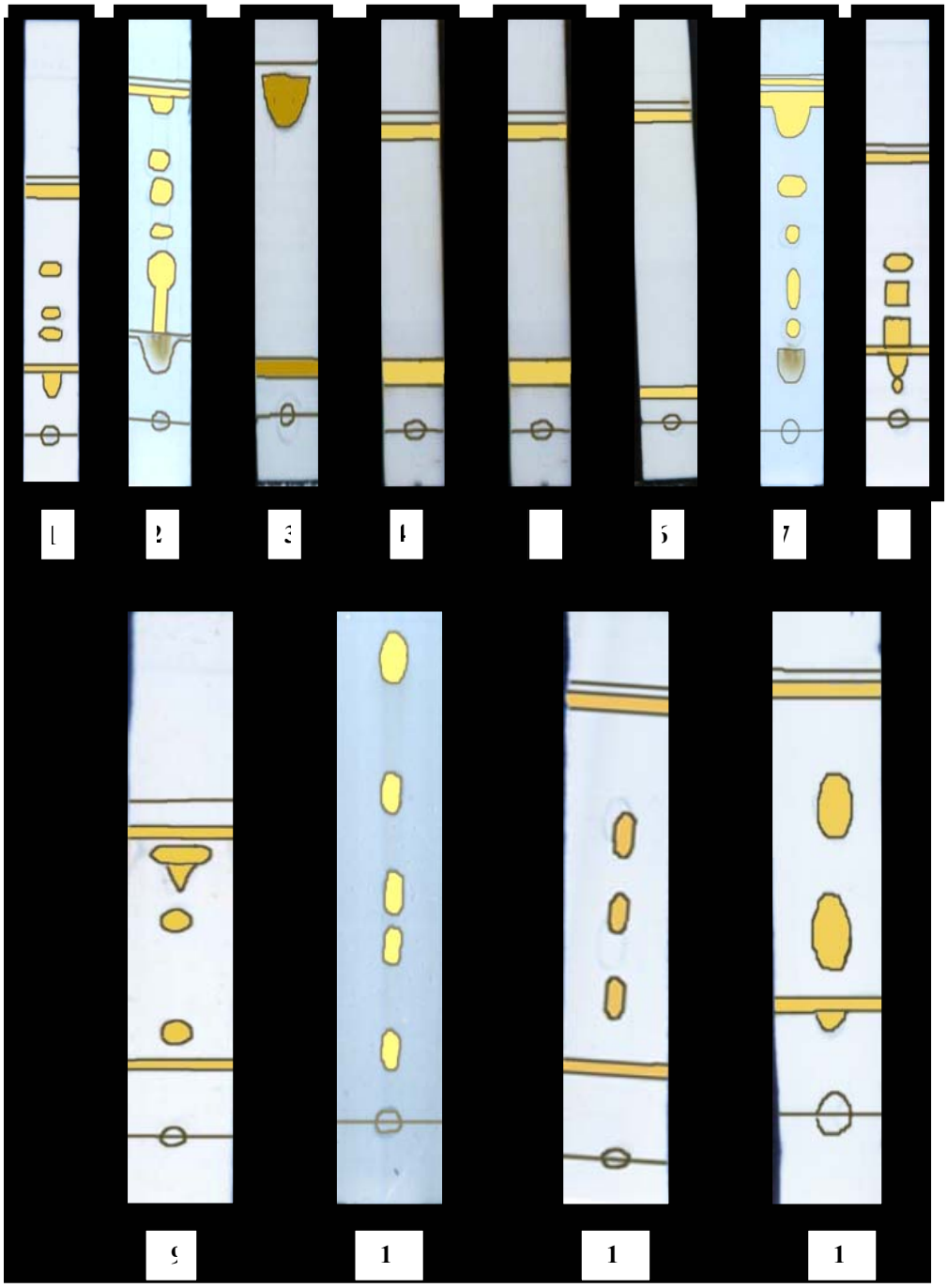
الـ*Fusarium* . وكذلك ذكر (سعد وجماعته , 1988)إن فاعلية جذور نبات الختمة يعزى الى أحتوائها على مركبات فينولية . لكن قد يعود السبب في عدم فاعلية المستخلص المائي والكحولي البارد للختمة هنا هو الحاجة الى أستخدام الحرارة أي تحضير مستخلص مائي وكحولي حار إذ أحياناً يكون للحرارة دور أكفأ في أستخلاص المكونات الفعالة (Al-Harbi , 2003) . ولوحظ أيضاً إن المستخلصات المائية والكحولية للنباتات ألأربعة كان تأثيرها أعلى على الخمائر ثم الفطريات الجلدية وبعدها الفطريات الخيطية المحبة للكيراتين غير الجلدية، و قد يعزى السبب الى كون الخمائر سريعة النمو وصغيرة الحجم لذا يكون تأثرها أكثر وهذا يتطابق مع ما ذكره (الكناني، 2001). وكذلك توضح لوحة (2,1) المكونات المفصولة من جميع المستخلصات النباتية باستخدام تقنية الـ T.L.C اذ ظهر اختلاف في المكونات باختلاف المذيب المستخدم وظهر للحرارة دور في استخلاص بعض المكونات .ويوضح جدول (6) التقارب في الصفات الكيميائية بين النباتين اذ اعطى كلا النباتيين تشابة في النتائج من حيث احتوائهما على نفس المكونات الفعالة وهذا يوضح التقارب الكيميائي بينهما با لرغم من اختلافهما وراثيا و تصنيفيا و بيئيا.

جدول (3) معدلات أقطار تثبيط نمو الفطريـات المختبـرة بإسـتخدام المستخلصـات المائيـة والكحولية 95% ا لباردة لأزهار الأقحوان وجذور الختمة وأوراق الريحـان وبـذور الكرفس مقاسة بالـ (ملم)

ت	الأنواع الفطرية	معدلات أقطار التثبيط مقاسة با لـ (ملم)							
		أزهار الأقحوان		جذور الختمة		أوراق الريحان		بذور الكرفس	
		المستخلص المائي	المستخلص الكحولي	المستخلص المائي	المستخلص الكحولي	مستخلص الكحولي	المستخلص المائي	المستخلص المائي	المستخلص الكحولي
1	Aspergillus flavus	5	3	0	0	0	0	4	3
2	*A. terreus*	1	3	0	0	0	0	2	5
3	*Candida albicans*	15	18	3	2	0	0	10	25
4	*Chrysosporium keratinophilum*	4	6	0	0	0	0	3	8
5	*C. tropicum*	5	10	0	0	0	0	3	9
6	*Geotrichum candidum*	2	10	1	0	0	0	3	15
7	*G. capitatum*	3	12	2	2	0	0	5	13
8	*Microsporum gypseum*	4	6	0	0	0	0	2	8
9	*Rhodotorula rubra*	24	16	5	15	2	1	14	21
10	*Trichophyton rubrum*	2	5	0	0	0	0	3	5
	المعدل	6.5	8.9	1.1	1.9	0.2	0.1	4.9	11.2

❖ القيم هي معدل لثلاثة مكررات R.L.S.D =10.512 P<o.o5

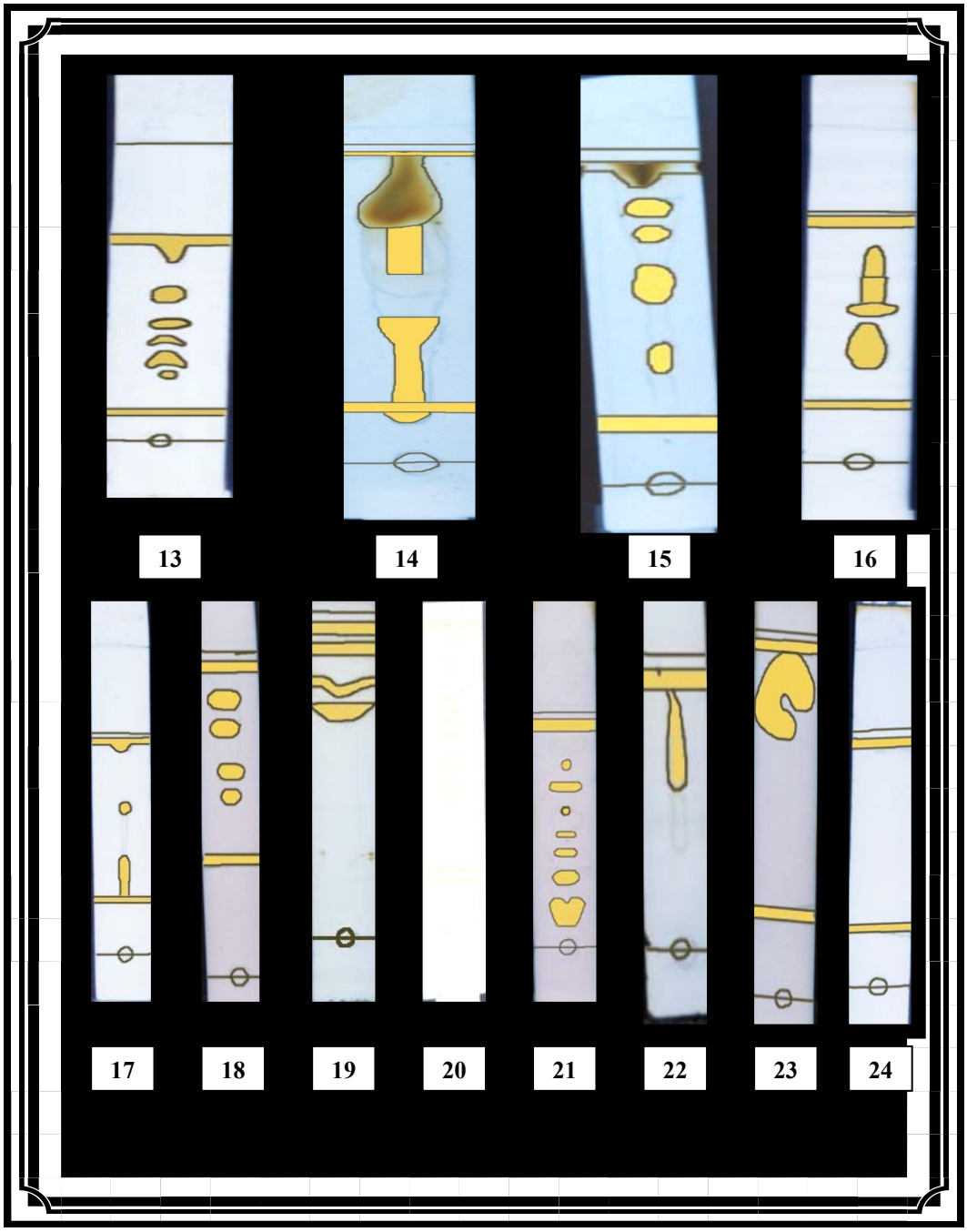
❖



لوحة (1): صفائح كرماتوغرافيا ا لطبقة ا لرقيقة للمستخلصات المائية والكحولية الباردة والحارة لنباتي الأقحوان والكرفس.

1- المستخلص المائي البارد للأزهار 2- المستخلص المائي الحار للأزهار 3- الجزء الذائب في حامض الخليك من المستخلص المائي الحار للأزهار 4- الجزء غير الذائب في حامض الخليك من المستخلص المائي الحار للأزهار 5- الجزء غير الذائب في حامض الخليك من المستخلص المائي الحار للبذور 6- الجزء الذائب في حامض الخليك من المستخلص المائي الحارؤ للبذور 7- المستخلص المائي الحار للبذور 8- المستخلص المائي البارد للبذور 9- المستخلص الكحولي البارد للأزهار 10- المستخلص الكحولي الحار للأزهار 11- المستخلص الكحولي الحار للبذور 12- المستخلص الكحولي البارد للبذور 13- المستخلص الأسيتوني البارد للأزهار 14- المستخلص الأسيتوني الحار للأزهار 15 - المستخلص الأسيتوني الحار للبذور 16- المستخلص الأسيتوني البارد للبذور 17- المستخلص الهكساني البارد للأزهار 18- المستخلص الهكساني الحار للأزهار 19- المادة المترسبة من المستخلص الهكساني الحار للأزهار 20- الجزء الذائب في البنزين من المسنخلص الهكساني الحار للأزهار 21- الجزء الذائب في حامض الخليك من المستخلص الهكساني الحار للأزهار 22- المادة المترسبة من المستخلص الهكساني الحار للبذور 23- المستخلص الهكساني الحار للبذور 24 – المستخلص الهكساني البارد للبذور.

تم أجراء المسح التمهيدي للمستخلصات النباتية جدول (4) لقياس الفاعلية الحيوية لها وبتركيز 500 ملغم / مل وأظهرت نتائج التحليل الأحصائي وأختبار أقل فرق معنوي معدل بين المتوسطات وجود فروق معنوية في تأثير المستخلصات النباتية على العزلات المختبرة وبفارق عالٍ في المعنوية ($P<0.05$) اذ يتبين من الجدول (4) أنه في المستخلصات المائية الحارة تقل الفاعلية كلما قلت قطبية المذيب والعكس في حالة المستخلصات الباردة . وكانت خميرة ال *Candida albicans* و *Geotrichum candidum* اكثر تأثر بشكل عام بالمستخلصات ويتوضح ذلك من خلال معدلات اقطار التثبيط ثم الفطر *Trichophyton rubrum* واخيراً *Aspergillus flavus* لنفس السبب المذكور انفاً.



لوحة (2):صفائح كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة للمستخلصات الأسيتونية والهكسانية الباردة والحارة لنباتي الأقحوان والكرفس .

جدول (4) المسح التمهيدي لمستخلصات المذيبات العضوية والمائية للأجزاء الزهرية لنبات الأقحوان وبذور نبات الكرفس تجاه (4) أنواع من الفطريات المختبرة خلال الدراسة.

ت	نوع المستخلص	معدلات اقطار التثبيط مقاسة بالـ (ملم)			
		Aspergillus flavus	*Candida albicans*	*Geotrichum candidum*	*Trichophyton rubrum*
1	المستخلص المائي البارد للأزهار	2	15	2	2
2	المستخلص المائي الحار للأزهار	2	27	19	10
3	الجزء الذائب في حامض الخليك من المستخلص المائي الحار للأزهار	1	20	2	1
4	الجزء غير الذائب في حامض الخليك من المستخلص المائي الحار للأزهار	1	2	0	0
5	المستخلص المائي البارد للبذور	4	10	3	3
6	المستخلص المائي الحار للبذور	2	22	22	9
7	الجزء الذائب في حامض الخليك من المستخلص المائي الحار للبذور	1	15	4	1
8	الجزء غير الذائب في حامض الخليك من المستخلص المائي الحار للبذور	0	2	0	0
9	المستخلص الكحولي البارد للأزهار	3	18	10	5
10	المستخلص الكحولي الحار للأزهار	1	23	21	10
11	المستخلص الكحولي البارد للبذور	3	25	15	8
12	المستخلص الكحولي الحار للبذور	2	23	21	7
13	المستخلص الأسيتوني البارد للأزهار	2	10	14	2
14	المستخلص الأسيتوني الحار للأزهار	2	12	15	4
15	المستخلص الأسيتوني البارد للبذور	1	10	12	2
16	المستخلص الأسيتوني الحار للبذور	3	4	17	5
17	المستخلص الهكساني البارد للأزهار	2	15	14	10
18	المستخلص الهكساني الحار للأزهار	0	0	2	0
19	المادة المترسبة من المستخلص الهكساني الحار للأزهار	3	11	8	5
20	الجزء الذائب في البنزين من المستخلص الهكساني الحار للأزهار	2	15	12	8
21	الجزء الذائب في حامض الخليك من المستخلص الهكساني الحار للأزهار	0	8	5	3
22	المستخلص الهكساني البارد للبذور	4	30	13	8
23	المستخلص الهكساني الحار للبذور	0	0	0	0
24	المادة المترسبة من المستخلص الهكساني الحار للبذور	2	8	4	3
	المعدل	1.79	13.5	9.79	4.41

القيم هي معدل لثلاث مكررات 46.527 = R.L.S.D $P<0.05$

و تم أختبار تأثير المستخلصات المائية والكحولية الحارة لأزهار الأقحوان وبذور الكرفس بتركيز 500 ملغم/ مل ويتبين من جدول (5) إن أعلى قيمة لمعدل أقطار التثبيط كانت 32 ملم للمستخلص المائي الحار لأزهار الأقحوان تجاه الفطر *Geotrichum capitatum* في حين كانت أدنى قيمة لمعدل أقطار التثبيط1 ملم للمستخلصات المائية والكحولية لأزهار الأقحوان وبذور الكرفس تجاه الفطر *Aspergillus terreus* وأظهرت نتائج التحليل الأحصائي عدم وجود فروق معنوية في فاعلية المستخلصات الأربعة تجاه الأنواع المختبرة وبفارق عالٍ في المعنوية وقد يعود السبب الى احتواء النباتين على نفس المكونات الفعالة جدول(6)وهذا يتفق مع ما اشار اليه(مجيد ومحمود، 1988)

جدول (5) يوضح معدلات أقطار التثبيط للمستخلصات المائية والكحولية لأزهار الأقحوان وبذور الكرفس تجاه 14 نوع من الفطريات المختبرة خلال الدراسة وبتركيز 500 ملغم / مل.

ت	نوع الفطر	معدلات أقطار التثبيط مقاسة بالـ (ملم)			
		المستخلص المائي الحار للأزهار	المستخلص الكحولي الحار للأزهار	المستخلص المائي الحار للبذور	المستخلص الكحولي الحار للبذور
1	*Aspergillus flavus*	2	2	2	2
2	*A. terreus*	1	1	1	1
3	*Candida albicans*	27	23	22	23
4	*C. famata*	26	20	25	18
5	*Chrysosporium keratinophilum*	18	20	14	15
6	*C. tropicum*	20	20	15	15
7	*Cryptococcus neoformans*	24	26	27	21
8	*Geotrichum candidum*	19	21	22	21
9	*G. capitatum*	32	30	14	14
10	*Microsporum gypseum*	8	10	13	11
11	*Malassezia furfur*	21	29	25	23
12	*Rhodotorula rubra*	25	19	20	22
13	*Trichophyton gourvilii*	11	12	9	8
14	*T. rubrum*	10	10	9	7
	المعدل	17.42	17.36	15.57	14.35

تم التعرف على طبيعة المركبات الكيميائية التي يحويها المستخلصين المائي والكحولي لأزهار الأقحوان وبذور الكرفس . فقد أجريت عدة كشوفات لتشخيص عوائل المكونات الأساس لهذه المركبات , أذ لوحظ من الجدول (6) احتوائهما على جميع المركبات الفعالة التي تم الكشف عنها .

جدول (6) الكشوفات النوعية للمستخلصين المائي والكحولي الحار لأزهار الأقحوان وبذور الكرفس .

ت	الكشوفات النوعية	المستخلص المائى الحار للأزهار	المستخلص الكحولى الحار للأزهار	المستخلص المائى الحار للبذور	المستخلص الكحولى الحار للبذور
1	الكشف عن القلويدات				
ا	كاشف دراكندروف	+	+	+	+
ب	كاشف ماير	+	+	+	+
ج	كاشف واكنر	+	+	+	+
د	كاشف ماركس	+	+	+	+
د	كاشف هاكر	+	+	+	+
و	كاشف التنهيدرين	+	+	+	+
2	الكشف عن الكلايكوسيد				
ا	قبل التحلل الكلايكوسيدي	+	+	+	+
ب	بعد التحلل الكلايسوسيدي	+	+	+	+
3	الكشف عن الصابونين				
ا	كاشف كلوريد الزئبقيك 1%	+	+	+	+
ب	ظهور رغود كثيفة	+	+	+	+
4	الكشف عن الكاربوهيدرات				
ا	كشف الفينول مع حامض الكبريتيك المركز	+	+	+	+
ب	كاشف مولبش	+	+	+	+
5	الكشف عن الفلافينويدات				
ا	كشف هيدروكسيد البوتاسيوم الكحولي	+	+	+	+
ب	كشف خراطة المغنيسيوم	+	+	+	+
ج	الكشف عن الفلافونين والفلا فونول	+	+	+	+
6	الكشف عن التانينات				
ا	كشف خلات الرصاص 1%	+	+	+	+
ب	كشف كلوريد الحديديك 1%	+	+	+	+

7	كشف النهيدرين 1%	+	+	+	+
8	الكشف عن الراتنجات	+	+	+	+
9	الكشف عن الفينولات				
ا	كاشف فولن	+	+	+	+
ب	كاشف كلوريد الزئبقيك 1%	+	+	+	+
10	كشف الفيوكيومارينات	+	+	+	+
11	الكشف عن الكيومارين	+	+	+	+
12	الكشف عن الترايتيربينويد	+	+	+	+
13	الكشف عن التربينات الثلاثية والستيرولات	+	+	+	+
14	كشف الفانيلين 4%	+	+	+	+
15	الكشف عن التربينات الثلاثية والستيرويدات	+	+	+	+
16	محلول الرودامين–ب – الأيثانولي 0.5%	+	+	+	+
17	كشف اليود I2	+	+	+	+
18	كشف الأشعة فوق البنفسجية	+	+	+	+
19	كشوفات عدم التشبع				
ا	كشف البروم	+	+	+	+
ب	كشف باير(كشف أيون البرمنكنات)	+	+	+	+
20	الكشف عن الأوكسجين	+	+	+	+
21	الصهر مع الصوديوم				
ا	الكشف عن الكبريت	+	+	+	+
ب	الكشف عن النايتروجين	+	+	+	+
ج	الكشف عن الهالوجينات	+	+	+	+
22	بعض الكشوفات الأولية				
ا	كشف الحرق	يحترق بلهب أزرق مع تولد دخان	يحترق بلهب أزرق مع تولد دخان	يحترق بلهب أزرق مع تولد دخان	يحترق بلهب أزرق مع تولد دخان

		أبيض وتخلف كاربون أسود	أبيض وتخلف كاربون أسود	أبيض وتخلف كاربون أسود	أبيض وتخلف كاربون أسود
ب	الذوبانية	ذائب في الثنائي مثيل سلفوكساييد، الماء ،الميثانول، الأيثانول،البيوتانول البنزين ورباعي كلوريد الكاربون ذائب جزئي في الأسيتون وحامض الخليك والكلوروفورم غير ذائب في الهيكسان الحلقي والأعتيادي	ذائب في الثنائي مثيل سلفوكساييد، الماء ،الميثانول، الأيثانول،البيوتانول البنزين ورباعي كلوريد الكاربون وحامض الخليك ذائب جزئي في الهيكسان الحلقي والأعتيادي	ذائب في الثنائي مثيل سلفوكساييد، الماء ،الميثانول، الأيثانول،البيوتانول البنزين ورباعي كلوريد الكاربون ذائب جزئي في حامض الخليك غير ذائب في الهيكسان الحلقي والأعتيادي	ذائب في الثنائي مثيل سلفوكساييد، الماء ،الميثانول، الأيثانول،البيوتانول البنزين ورباعي كلوريد الكاربون وحامض الخليك ذائب جزئي في الهيكسان الحلقي والأعتيادي

الأستنتاجات

أظهرت المستخلصات المائيه والكحوليه البارده لنبات الأقحوان والختمه والريحان والكرفس فاعليه تثبيطيه تجاه الفطريات المختبره , أذ كانت مستخلصات الأقحوان والكرفس أكثر فاعليه مقارنة بفاعلية مستخلصات الختمه والريحان .كذلك وجد أن مستخلصات المذيبات العضويه القطبيه لنباتي الأقحوان والكرفس ذات فاعليه تثبيطيه أعلى مقارنة بالمذيبات غير القطبيه, فضلا عن أحتواء نباتي الأقحوان و الكرفس على العديد من المركبات الفعاله طبيا والتي لها تأثير تثبيطي أو قاتل تجاه العزلات الفطريه المختبره .

المصادر العربية

أبو مجداد , نجوى محمد جميل علي . (2005) . تقييم فاعلية بعض المستخلصات النباتية تجاه بعض الفطريات المسببة لداء الفطار السطحي الجلدي . رسالة ماجستير - كلية العلوم – جامعة البصرة . 153 صفحة .

الحريشاوي، رواء محمد عبيد (2004). تأثير مستخلصات نباتي العنص والحناء في نمو بعض الجراثيم المعزولة من جروح بعض العمليات الجراحية. رسالة ماجستير – كلية العلوم – جامعة البصرة. 82 صفحة.

حسين،فوزي طه قطب (1979). النباتات الطبيه، زراعتها ومكوناتها. الدار العربية للكتاب، تونس

الراوي، خاشع محمود و خلف الله، عبد العزيز محمد (2000). تصميم وتحليل التجارب الزراعية، جامعة الموصل، دار الكتب للنشر.

ساجدي، عادل جورج وعلي، علاء يحيى محمد (1987). الميكروبيولوجي الصناعي (اساسيات التخمرات الصناعية). الجزء الأول. مطبعة جامعة البصرة. 552 صفحة.

سعد، شكري أبراهيم ؛ القاضي، عبدالله ؛ صالح، عبدالكريم محمد وخلف الله، عبدالعزيز محمد (1988). النباتات الطبية العطرية والسامة في الوطن العربي. الخرطوم، المنظمة العربية للتنمية الزراعية، السودان. 475 صفحة.

الكناني، فاضل جبار فرحان (2001). حساسية الفطريات الجلدية والأنتهازية تجاه بعض المستخلصات النباتية الخام المحضرة مختبرياً. رسالة ماجستير- كلية التربية- جامعة البصرة. 65 صفحة.

مجيد، قيثار رشيد ؛ الشطي، صباح مالك حبيب وعبد الكريم، علي حسين (1998). المحتوى الكيميائي للزعتر *Thymus vulgaris* L. وتأثير مستخلصه التثبيطي على بعض البكتريا الموجبة والسالبة لصبغة گرام. مجلة البصرة للعلوم الزراعية. العدد(1)، المجلد (11) : 41-50 صفحة

مجيد،سامي هاشم ومحمود،مهند جميل(1988).النباتات و الاعشاب العراقية بين الطب الشعبي و البحث العلمي.الطبعة الاولى ،مطابع دار الثورة،بغداد.

المياح،عبدالرضا أكبر علوان (2001). النباتات الطبية والتداوي بالأعشاب. الطبعة الأولى، مركز عبادي للدراسات والنشر، صنعاء. 291 صفحة.

المصادر الأجنبية

Adedayo , O. ;Anderson , W.A. ; Moo-Young , M. ; Sncickus , V. ; Patil , P.A. & Kolawole , D.O. (2001) . Phytochenistry and anti bacterial activity of *Senna alata* flower.Pharmaceutical Biology . 39 : 1-5 .

Ahmed , I. ; Mehmood,Z . & Mohammad, F.(1998) . Screening of some Indian Medicinal plants for their anti microbial properties. J. Ethnopharmacole.62: 183-193.

Ahmed , M. ;Nazil , S. & Anwar , N.M. (1989) .Studies on tannins from barks of *Pinus roxburghii* . J. Chem. Soc. Paki. 11:213-217 .

Al- Harbi , N. (2003) .Study of the antimicrobial activity of crude plants extracts against some fungi. J. Ethnopharm. 72: 173-179.

Al-Khazraji , S.M. (1991) .Biopharmacological study of *Artemisia herba alba* . M.Sc.thesis. University . Baghdad.

Al-Rawi , A. (1988) . Poisonous plants of Iraq. 3rd ed. Al-Yakada. Baghdad. 138 p.

Collee , J. ;Fraser , A. ; Marmion , B. & Simon , A. (1996) .Makie and McCartney practical medical microbiology . 14th ed. Churchill Liverstone . New York .978p .

Cowan , M. (1999) . Plants products as Anti microbial agents. Clin. Microbiol . Reviews . 12 : 564-582 .

Criddle , W.J. & Ellis , G.P. (1994) .Spectral and chemical characterization of organic compounds : Laboratory Hand book . 3th ed. John Wiley and Sons , Chichester . New York . Brisbane . Toronto. Singapore. Pp 1-62.

Glombitza , K.W. ;Makran , G.H. ; Mirhon , Y.W. ; Michel , K.J. & Motawi,T.K. (1994) . Hypoglycemic and anti hyper glycemic effects of *Zizyphus spinachrist* in rats. Planta Med. 60:244-247 .

Hammer, K.A. ; Carson , C.F. & Riley , T.V. (2002) . In vitro activity of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil) against dermatophytes and other filamentous fungi . J. Of. Anti microbial . Chemotherapy 50 :195-199.

Handa , J. & Singh , M. (2003) . The chemistry study for some medicinal plants . Phytochemistry. 61: 182-185 .

Harborn , J.B. (1984) . Phytochemical methods a guide to modern techniques of plants analysis. 2nd ed. Chapman and Hall , London , New York . 288p.

Hossain , M.A. & Ghannoum , M.A. (2001) . New developments in chemotherapy for non-invasive fungal infections. Drugs. 10 : 1501-1511.

Meyer , E & Walther , A. (1988) . Methods for the estimation of protein lipid , carbohydrate and chitin in fresh water invertebrates . J.Arch. Hydroboil. 13 : 161-177 .

Midgley , G.;Clayton , Y.M. & Hay, R.J.(1997) . Diagnosis in color medical mycology. Mosby- wolfe , an imprint of mosby international , Spain 155 p.

Rai, M.K. ; Qureshi, S. & Pandey , A. K. (1999) . In vitro susceptibility of opportunistic *Fusarium sp.* to essential oils. Mycoses. 42 :97-101.

Richard , J.P.C. (1998) . Natural Products Isolation . Humana press , Totowa , New Jersey . 473p.

Saadalla , R.A. (1980) . Biochemistry practical , manual. Collage of Medicine , Basrah ..

Slage,D.C.(1997).Antifungal Drugs.In:Craig ,C.R. & Stitzel , R.E.Modern (eds.)_ Pharmacology with clinical Applications. 5th ed. Brown and Company (Inc.) , New York and London.pp 623-624.

Souri , E. ;Amin , G. ; Sharifabadi , A.D. ; Nazifi , A. & Firsam , H. (2004) . Antioxidative activity of sixty Plants From Iran , Iranian . J. of pharmaceutical Research. 3: 55-59

Trease , E.J. & Evans , C.W. (1973) . Pharmacognosy . 10th ed. Bailiere tinball , London . 14 : 139-145.

Tylor , R.S. ; Manadhar , N.P. ; Hudson , J. B. & Towers , G.H.N. (1996) . Antimicrobial activity of Nepalese medicinal plants . J.Ethnopharmacol . 52 : 157-163 .

WHO. (1996) . Supplementary guide lines for the manufacture of herbal medicinal product. WHO tech. Rep. Ser. Geneva. Annex. 8 : 109 – 113 .