

التأثير التثبيطي للعكبر والشمع على بعض الفطريات المرضة

نهاد محمود مصطفى قمقمجي

جامعة الملك عبدالعزيز، فرع كلية التربية للأقسام العلمية بجدة
ص.ب: ٢٢٤٨ الرمز البريدي: ٢١٤٥١ - المملكة العربية السعودية

المستخلص. تم في هذا البحث دراسة تأثير المستخلص الإيثانولي لكل من العكبر، والشمع، والعكبر والشمع معاً، كمثبطات حيوية طبيعية للفطريات، حيث أضيف المستخلص الإيثانولي للعكبر على حدة، والشمع على حدة بالتركيزات ١، ٢، ٣، ٤، و ٥٪ إلى منبت سابورود دكستروز آجار. وقد وجد أن جميع التركيزات المستخدمة للمستخلصات أظهرت نقصاً واضحاً في النمو القطري أثناء تكوين الأغزال الفطرية بزيادة تركيز المستخلصات. أوضحت النتائج أن القدرة التثبيطية لمستخلص العكبر على حدة تفوق القدرة التثبيطية للشمع على حدة على الفطريات (*C. albicans*, *F. solani*, *R. solani*) حيث بلغت النسبة المئوية للتثبيط (٥٦,٦٣٪، و ٥٥,٨٨٪، و ٥٠,٨٨٪، و ٤٤,٣٧٪) على التوالي. وقد وجد زيادة في القدرة التثبيطية على فطر *R. solani* باستخدام مستخلص العكبر وانخفاضها عند استخدام مستخلص الشمع، وكانت التأثيرات عكس ذلك مع *A. terreus*. كما أظهرت

النتائج زيادة القدرة التثبيطية عند التركيز ٥٪ لكل من مستخلص العكبر والشمع على حدة، ولوحظت زيادة نسبة التثبيط إلى ١٠٠٪ عند استخدام المستخلصين معاً بتركيز ٥٪ في الفطرين *R. solani*، و *C. albicans*، ووجد أن استخدام مستخلصي العكبر والشمع معاً أكثر فاعلية من استخدام المضادات الحيوية.

المقدمة

العكبر (البروبوليس) هو صمغ يجمعه النحل من أنواع من النباتات وخاصة من البراعم، التي تمتلك نوعاً من الصمغ أو المادة اللزجة (Ghisalberli, 1979). ويستخدم النحل العكبر ضد أي انحلال في الخلية من جهة، ولإزالة أي تلوث محتمل من البكتيريا أو الفطريات للخلية من جهة أخرى (Popova et al., 2005). عرفت الخصائص الدوائية للعكبر واستخدامه في العلاج منذ القدم، حيث كان يستخدم كعلاج شعبي (Castoldo & Capasso, 2002; Cardile et al., 2003; and Gonsales et al., 2006). حيث عرف إنه مضاد للبكتيريا، والفطريات، والفيروسات، والبروتوزوا (Kujumgiev et al., 1993; Guler et al., 2003; and Kartal et al., 2003; and Muli et al., 2008). كذلك أشارت الدراسات أن العكبر مضاد للأكسدة، ولحدوث الأورام والالتهابات، وله تأثير مناعي، بالإضافة للعديد من الاستخدامات الطبية الأخرى الهامة (Bankova et al., 2002; Akao et al., 2003; Kumazawa et al., 2004; and Wang et al., 2004). ويحوي العكبر أكثر من ١٥٠ مركباً كيميائياً منها عديد الفينولات، والأدهيد الفينول، والكينونات، والكيومارين، والأحماض الأمينية، والستريودات، وبعض المركبات الغير عضوية (Marcucci, 1995). هذا ويوجد العديد من العوامل المختلفة، والتي تؤثر على الخصائص الكيميائية والبيولوجية للعكبر مثل: اختلاف المناطق الجغرافية التي جمع منها، ووقت جمع العكبر، ومصدره

النباتي (Sforcin *et al.*, 2000; Bankova *et al.*, 2002; and Andreas *et al.*, 2007). ومن ناحية أخرى، فإن شمع النحل عبارة عن إفراز غدي من الغدد الشمعية الموجودة بالحلقات البطنية للشغالة. ويفرز النحل الشمع لبناء الأقراص الشمعية لتغطية العيون السداسية بعد ملئها بالعسل. ويدخل شمع النحل في كثير من الصناعات مثل: دهان الأخشاب، ومواد التجميل، وصناعة أدوات الزينة، والورق، والأدوات الطبية لطب الأسنان، وتغليف المأكولات، وكمادة حافظة للحلوى والشيكولاتة. وبالرغم من احتواء الشمع والعكبر على العديد من المواد الكيميائية الفعالة، وعلى الرغم من التحقق من قدرتهما كمثبطات للعديد من الكائنات الحية الدقيقة، إلا أن الدراسات على الشمع والعكبر كمثبطين لنمو الميكروبات في المملكة العربية السعودية ما زالت محدودة (الغصن، ٢٠٠٤م).

ويهدف هذا البحث إلى دراسة تأثير المستخلص الإيثانولي لكل من العكبر، والشمع، والعكبر والشمع معاً، كمثبطات طبيعية لنمو بعض الفطريات الممرضة للنبات والإنسان، مع مقارنة ذلك التأثير بتأثير بعض المضادات الحيوية على فطر *Candida albicans*.

مواد وطرق العمل

عينات العكبر (البروبوليس) والشمع

جمعت عينات العكبر (البروبوليس) من محلات العطارة بمدينة جدة بالمملكة العربية السعودية، ومصدره مدينة شنغهاي بالصين. بعد سحب عينات العكبر، حفظت في أكياس بلاستيكية معقمة جافة ومحكمة الغلق، وحفظت في الظلام عند درجة حرارة ٤°م لحين إجراء التحليلات الكيميائية والفيزيائية (Haggag *et al.*, 2006). وجمعت عينات الشمع، وهي عبارة عن أقراص شمعية

مصدرها مدينة الطائف بالمملكة العربية السعودية، وحفظت في علب معدنية محكمة الغلق في مكان جاف بدرجة حرارة الغرفة لحين استخدامها.

الاستخلاص وإعداد العينات

تم طحن عينات العكبر والشمع، وتم استخلاصها بواسطة كحول الإيثانول بتركيز ٨٠٪ [(١٠:١) وزن/ حجم] ووضعت على جهاز shaker, 300 rpm عند درجة حرارة الغرفة لمدة ٤٨ ساعة. ثم رشح المستخلص الإيثانولي بواسطة ورق ترشيح من النوع واتمن رقم "١" (Whatman. No.1)، وأضيف للراشح المتبقي من عملية الترشيح كحول إيثانول بتركيز ٨٠٪ للحصول على التركيزات المختلفة المستخدمة في الدراسة الحالية طبقاً لطريقة ياجوبي وآخرون (Yaghaubi *et al.*, 2006).

التحليل الكيميائي لعينات العكبر (البروبيولس)

تم إعداد المستخلص الإيثانولي للعكبر بعد طحن العينات، ثم تم الاستخلاص بإضافة ١٠ جرام من العكبر إلى ١٠٠ مل من المذيب (إيثانول ٨٠٪ وزن/ حجم)، والنقع في درجة حرارة الغرفة مع التحريك. ثم جمع المستخلص بعد ٧ أيام، ورشح المستخلص الإيثانولي الناتج، وحفظ في درجة حرارة الغرفة حتى يتبخر الإيثانول. والجزء المتبقي من عملية التبخير يكون له تركيب لزج وبذا نكون حصلنا على المستخلص الإيثانولي للعكبر جاهزاً لتحليل HPLC (Iidenize, *et al.*, 2004).

فصل وتعريف المركبات الفينولية للمستخلص الإيثانولي للعكبر بواسطة طريقة HPLC

تم ذلك بنقع ١ جم من العكبر في ٢٠ مل الإيثانول بتركيز (٨٠٪)، ثم الترشيح باستخدام ورق ترشيح (٠,٤٥ ميكرومتر)، وبذا يصبح المستخلص جاهزاً لتحليل HPLC بواسطة جهاز (HPLC, JASCO, JAPAN) متصل

بمضخة (PU - 980) وكاشف UV (UV-970). تم الفصل بواسطة (hypersil BDSC 18 Thermo Hypersil-Keystoneg, Germany) باستخدام عامود فصل (RP-18, 250× 46 mm) ذو جزيئات بحجم (٥ ميكرومتر). وكان معدل التدفق ٧ مل/دقيقة، وتم استخدام مذيبين: الأول حمض الأستيك ٥٪ مذاب في ماء مقطر بدرجة حموضة (pH) تساوي ٢,٦٥، والثاني حمض الأستيك ٥٪ مذاب في ٩٩,٥٪ من حمض أسيتونيتريك. تم ذلك باستخدام طول موجه ٢٥٤ نانومتر (Ildenize et al., 2004).

عزل وتعريف الفطريات المستخدمة في الدراسة

تم عزل الفطريات المستخدمة في الدراسة الحالية من بعض الخضروات والفواكه بمدينة جدة بالمملكة العربية السعودية على منبت جلوكوز تشابكس دوكس (Glucose - Czapek's - Dox) المعدل، والمضاف إليه الروز بنجال بنسبة ١/١٥٠٠٠ لكل لتر (Naguib, 1968). وتم تحضين الأطباق عند (٢٧ ± ٢ م°) لمدة ٧ أيام، واختيرت الفطريات الآتية للدراسة (*Fusarium solani*, *Fusarium oxysporium*, *Aspergillus terrus*, *Rhizoctonia solani*) إذ أنها الأكثر انتشاراً كملوثات للخضراوات والفواكه المختبرة. وتم تعريفها بناءً على الشكل الظاهري، والفحص الميكروسكوبي، واللون (Raper and Thom, 1949; Gilman, 1957; Raper & Fennel, 1965; Ellis, 1971 & 1976; and Sutton et al., 1998).

واستخدمت في الدراسة عزلة فطر *Candida albicans* والتي تم الحصول عليها من مختبر (مستشفى العزيزية للولادة والأطفال)، وهي عزلة نقية ومعروفة، تم عزلها من المرضى في المختبر، ثم تم تنمية العزلات وحضنها عند درجة حرارة (٢٧ ± ٢ م°) لحين استخدامها.

تأثير المستخلص الإيثانولي للعكبر والمستخلص الإيثانولي للشمع على الفطريات

أضيف المستخلص الإيثانولي للعكبر بتركيزات (١، ٢، ٣، ٤، و٥٪) إلى بيئة سابورود دكستروز آجار الموزعة في دوارق مخروطية سعة ٢٥٠ مل، بمقدار ٥٠ مل لكل دورق، بعد تعقيمها في جهاز التعقيم (أوتوكلاف)، وتم التحريك الدائري لتجانس الانتشار، ثم صببت في أطباق بتري، وتركت للتصلب. تم التلقيح ب ١ سم^٣ بواسطة ثاقب فليني معقم بأقراص النوات الطرفية للمزارع الفطرية (عمرها ٧ أيام) للفطريات محل الدراسة. وكرر ما سبق مع المستخلص الإيثانولي للشمع بنفس التركيزات المستخدمة في العكبر، مع وجود عينة ضابطة خالية من المستخلص. وقد تم استخدام (٣ مكررات) لكل تركيز، ثم حضنت الأطباق عند (٢٧±٢م°) لمدة ٧ أيام (Bollen, 1972). تم قياس مساحة النمو القطري للفطريات محل الدراسة بشكل يومي لمدة أسبوع طبقاً لطريقة يامادا وزوما (Yamada & Zuma, 1977).

تأثير المستخلص الإيثانولي للعكبر و للشمع معاً على الفطريات

تم استخدام أفضل تركيز للمستخلص الإيثانولي للعكبر والشمع، معاً وهو التركيز ٥٪، وأضيف إلى بيئة سابورود دكستروز آجار بعد تعقيمها والتبريد لحوالي ٤٥م°، والتحريك الدائري لتجانس الانتشار، ثم صببت في الأطباق ولقحت بواسطة ثاقب فليني معقم، وتركت عينة ضابطة خالية من المستخلص لكل فطر، وقد تم استخدام (٣ مكررات) لكل فطر، وحضنت الأطباق عند (٢٧ ± ٢م°)، تم قياس مساحة النمو القطري بشكل يومي لمدة أسبوع (Yamada & Zuma, 1977).

اختبار حساسية فطر *C. albicans* للمضادات الحيوية

تم استخدام أقراص المضادات الحيوية التالية (Chloramphenicol 25µg, Erythromycin 5µg, Fusidic Acid 10µg, Novabiocin 5µg, Methicillin 10µg, Streptomycin 10µg, Penicillin G1 1unit, Tetracycline 25µg)، من النوع (MAST DIAGNOSTICS, Mast group UK).

التحليل الإحصائي

أجريت التحاليل الإحصائية للنتائج من خلال تحليل تصميم التجارب العاملية Factorial Experiments لدراسة تأثير ثلاثة عوامل وهي: المعاملات، والتركيزات، والأيام، وكذلك التفاعلات بينهما على النمو القطري للفطريات تحت الدراسة. وتم استخدام اختبار أقل فرق معنوي LSD لمقارنة متوسطات المعاملات والتفاعلات طبقاً للنخلاوي (٢٠٠٨).

النتائج والمناقشة

أولاً: الخصائص الفيزيائية والكيميائية للعكبر

بإجراء التحليلات الفيزيائية لعينات العكبر المستخدمة في هذه الدراسة، تبين أنه مادة صمغية لونها بني محمر قاتم، رائحته عطرية، شديد اللعان، ذائب جزئياً بالكحول (الإيثانول) وقليلاً بالتربين، ولا يذوب في الماء، ولكنه يذوب تماماً بالإثير والكلورفورم. تم حفظه في الظلام وعند درجة حرارة الغرفة لحين إجراء التحليلات الكيميائية له. وبإجراء التحليلات الكيميائية لعينات العكبر تم التعرف على المركبات الفينولية للمستخلص الإيثانولي للعكبر. إن إجراء التحاليل الكيميائية للعكبر قياس هام للتعرف على مكونات العكبر، وللربط بين

نشاطه كمضاد للفطريات وتركيبه الكيميائي. لذلك تم استخلاص المركبات الفينولية الموجودة بعينات العكبر، وتعيين وزنها كما يتضح من جدول (١). وقد أبرزت نتائج التحليل الكيميائي للعكبر وجود مركبات فينولية هامة في عينة العكبر التي تم تحليلها، وهي: (Resorcinol، و Gallic acid، و Vanillin، و p -trans-Coumaric acid anhydride، و 3,5-Dimethoxybenzyl alcohol، و Cinnamic acid، و Luteolin، و Chrysin، و Galangin، و Dihydroxyisoflavone، و Pinostrobin، و Daidzin، و Genistein، و Acacetin، و Daidzein، و Myricetine، و Rutin، و Eugenol، و Genistin، و Ferulic acid، و Quercetin)، وتراوح وزنها الجزئي بين ٠,٠١٣٧ و ٢,٠٥٨٥ جرام/١٠٠ جرام من الوزن الرطب. وكان أكثرها وزنا Resorcinol، وأقلها Luteolin. ويتوافق ذلك مع دراسة بانكوبا وآخرون (Bankova *et al.*, 2002)، حيث تم إجراء تحليل كيميائي لعشرة عينات من العكبر البلغاري، والإيطالي والسويسري، ووجد إنه يحوي بعض المركبات الكيميائية الهامة مثل: Chrysin، و Pinobanksim، و Pinocembrin، و Galangin، و Prenylesters of caffic acid، و Ferrulic acid. ويمكن تفسير التأثير البيولوجي المضاد للميكروبات في العكبر إلى وجود المركبات والفلافونية في العكبر (Kujumgiev *et al.*, 1993; Marcucci *et al.*, 2001; and Kartal *et al.*, 2003)، ولكن لا يمكن إرجاع التأثير المضاد للميكروبات إلى هذه المركبات فقط، وذلك لأن التركيب الكيميائي للعكبر معقد، وقد يرجع تأثير ذلك إلى نوع وكمية المواد التي يتألف منها العكبر (Hikmet & Nazime, 2006; and Andreas *et al.*, 2007).

جدول ١ . التحليل الكيميائي للعكبر بواسطة طريقة HPLC.

العكبر الصيني جرام/١٠٠ جرام	المركبات الفينولية	العكبر الصيني جرام/١٠٠ جرام	المركبات الفينولية
٠,٠٠٠٠	Pyrogallic acid	٠,٠٠٠٠	Phenol
٠,٠٠٠٠	Salicylic acid	٢,٠٥٨٥	Resorcinol
٠,٠٠٠٠	Protocatechuic acid	٠,٠٠٠٠	Para hydroxy benzoic acid
٠,٠٠٦٤	Vanillin	٠,٠١٢٥	Gallic acid
٠,٠٠٠٠	Coumarine	٠,٠٥٨٨	<i>p</i> --Coumaric acid anhydride
٠,٢٦٠٤	3,5-Dimethoxybenzyl alcohol	٠,٠٠٠٠	Caffeic Acid
١,٤٦٢٣	Eugenol	٠,٠١٩٣	trans-Cinnamic acid
٠,٠٧٩٦	Quercetin	٠,٠٢٧٢	Ferulic acid
٠,٦٠٦٤	Chrysin	٠,٠٠٠٠	Pinocembrin
٠,١٩٠٨	Pinostrobin	٠,٠٦٧٥	Galangin
٠,٠٨١٠	Daidzin	٠,٠١٥٥	3.5 Dihydroxy isoflavone
٠,٠٠٠٠	Catechines	٠,٠٤٣٦	Genistein
٠,٠٠٠٠	Phenolphthalein	٠,٠٦٦٧	Acacetin
٠,٠٢١٩	Genistin	٠,٠٢٥٥	Daidzein
٠,٥٧٤٢	Myricetine	٠,٠٠٠٠	Kaempferol
٠,٤٢٤٦	Rutin	٠,٠٠٠٠	Chlorogenic
		٠,٠١٣٧	Luteolin
٦٩٩٨٣٨٨٨		Total Peak Area	

ثانياً: تأثير المستخلص الإيثانولي للعكبر والشمع كل على حدة على الفطريات

توضح بيانات تحليل التباين المعروضة في جدول (٢)، أن هناك فروقا معنوية بين المعاملات، وكذلك التركيزات، والأيام على الفطريات التي تمت دراستها عند مستوى معنوية $p < 0.01$ بالنسبة لجميع الفطريات التي درست. كما

تظهر نتائج التحليل أن هناك تأثيراً معنوياً للتفاعلات بين المعاملات، والتركيزات، والأيام، سواء التفاعلات الثنائية، أو التفاعل الثلاثي بين العوامل الثلاث عند مستوى $p < 0.01$ ، وذلك لكل الفطريات المختبرة محل الدراسة.

جدول ٢. متوسط مجموع مربع الانحرافات لتأثير كل من المعاملات، والتركيزات للمستخلص الإيثانولي للعكبر، والشمع، والأيام، والتفاعلات الثنائية، والتفاعل الثلاثي بينهما على النمو القطري لفطريات *Aspergillus terrus*، و *Candida albicans*، و *Fusarium oxysporium*، وفطر *Fusarium solani*، وفطر *Rhizoctoni solani*.

مصدر الاختلاف	درجات الحرية	<i>Aspergillus terrus</i>	<i>Candida albicans</i>	<i>Fusarium oxysporium</i>	<i>Fusarium solani</i>	<i>Rhizoctoni solani</i>
المعاملات	١	** ٦٧,٨٩١	** ١,٩٥٦	** ٥٥,١٦٠	** ٨٥,٨٦٧	** ٧,٨٢٣
التركيزات	٥	** ٥٧,٨٨٦	** ٥,٥٧٦	** ٣٥,٩١١	** ٤٣,٧٧٢	** ١٣١,٤٩١
الأيام	٦	** ١٥٦,٧٠٢	** ٧,٢٠٨	** ١١٦,٤١٩	** ١٣٧,٢٢٧	** ١٤٩,٥٣٠
المعاملات* التركيزات	٥	** ٣,٠١٢	** ٠,٢٢٣	** ٢,٣٧٣	** ٤,٣٣٢	** ٣,٠٩٤
المعاملات* الأيام	٦	** ٣,٩٨١	** ٠,١١١	** ١,٢٦٧	** ٤,٤٨٥	** ٠,٤٣٨
التركيزات* الأيام	٣٠	** ١,٣٧٤	** ٠,٢٢١	** ٠,٤٦٩	** ٠,٩٣٩	** ٣,٨٥٥
المعاملات* التركيزات* الأيام	٣٠	** ٠,٤٨٠	** ٠,٠٦٨	** ٠,١٤٤	** ٠,٣٣٧	** ٠,٦٢٩
الخطأ التجريبي	١٦٨	٠,٠٢١	٠,٠٠٤	٠,٠٤٠	٠,٠٣١	٠,٠٣١

** تأثير معنوي عند مستوى معنوية ٠,٠١

تأثير المستخلص الإيثانولي للعكبر والشمع كل على حدة على الفطريات الملوثة والمرضة للنبات

توضح بيانات جدول (٣) تأثير التفاعل بين كل من المستخلص الإيثانولي للعكبر والشمع كل على حدة على النمو القطري لفطر *F. oxysporium* بعد ٧ أيام من النمو، والذي تم من خلال مقارنة متوسطات هذا التفاعل بقيمة أقل فرق معنوي LSD بين أعلى متوسط (٨) الناتج من معاملات الضابطة في اليوم

السابع، يليه المتوسط (٧,٥) الناتج من معاملة الشمع عند التركيز ١٪ في اليوم السابع، إلى أقل متوسط (صفر) والذي نتج عن المعاملة بالعكبر بتركيزان (٤، ٥) في اليوم الأول للتركيز (٤)، واليوم الأول والثاني عند التركيز (٥)، والمعاملة بالشمع عند نفس التركيز (٥) في اليوم الأول فقط. وبمقارنة المتوسطات إحصائياً باستعمال أقل فرق معنوي (LSD)، يتضح أن أعلى المعاملات تأثيراً هي تركيز (٥) في كل من العكبر والشمع في اليوم الأول والثاني للمعاملة بالعكبر، واليوم الأول عند المعاملة بالشمع، حيث كان النمو للفطر (صفر). ويلى ذلك في التأثير المعنوي على النمو عند استخدام مستخلص العكبر بتركيز (٣) في اليوم الأول، ثم تركيز (٢) في اليوم الأول، ثم تركيز (٤) في اليوم الثاني، مع عدم وجود فروق معنوية بين تلك المعاملات كما توضح النتائج بجدول (٢). وبمقارنة تأثير المعاملة الضابطة مع بقية معاملات التفاعل يلاحظ من بيانات جدول (٣) أن المعاملة الضابطة تتساوى معنوياً في تأثيرها على النمو مع معاملات الشمع فقط بتركيزات (١، ٢) ابتداءً من اليوم الأول وحتى اليوم الرابع. توضح بيانات جدول (٤) تأثير التفاعل بين كل من المستخلص الإيثانولي للعكبر والشمع على النمو القطري لفطر *Fusarium solani* بعد ٧ أيام من النمو، والذي تم من خلال مقارنة متوسطات التفاعل بقيمة أقل فرق معنوي LSD، يلاحظ أن مدى النمو تراوح بين أعلى متوسط (٨) الناتج من المعاملة الضابطة ابتداءً من اليوم السادس وحتى اليوم السابع، كذلك تركيزات الشمع (١، ٢) في اليوم السابع، إلى أقل متوسط (صفر) والذي نتج من تأثير كل من العكبر والشمع بتركيز (٥) في اليوم الأول. وبمقارنة المتوسطات إحصائياً باستعمال أقل فرق معنوي LSD، يتضح أن أعلى المعاملات تأثيراً من تركيز (٥) في كل من العكبر والشمع في اليوم الأول، حيث كان النمو للفطر يساوي (صفر)، ويلى ذلك في التأثير المعنوي على النمو

العكبر بتركيز (٤) في اليوم الأول، ثم تركيز (٣)، يليه التركيز (٢) في اليوم الأول، ثم تركيز (٥) في اليوم الثاني، مع عدم وجود فروق معنوية بين تلك المعاملات، كما يتضح نتائج جدول (٤). وبمقارنة تأثير المعاملة الضابطة مع بقية معاملات التفاعل يلاحظ من بيانات الجدول (٣) أن المعاملة الضابطة تتساوى معنويًا في تأثيرها على النمو مع معاملات الشمع فقط بتركيزات (١)، (٢) ابتداءً من اليوم الثالث وحتى اليوم السابع.

جدول ٣. تأثير المستخلص الإيثانولي للعكبر والشمع على النمو القطري لفطر

Fusarium oxysporium

الأيام							التركيزات	المعاملة
السابع	السادس	الخامس	الرابع	الثالث	الثاني	الأول		
٨,٠٠	٧,٢٠	٦,٢٣	٥,٦٧	٣,٩٧	٣,٥٣	١,٦٧	٠	عكبر
٥,٩٠	٥,٠٣	٤,٤٠	٣,٤٣	٢,٧٣	١,٧٧	١,٣٣	١	
٥,٦٣	٤,٧٠	٣,٨٧	٣,٢٧	٢,٦٣	١,٦٧	١,١٣	٢	
٥,٠٧	٤,٣٣	٣,٣٧	٣,٠٠	٢,٥٠	١,٣٧	١,٠٧	٣	
٤,٥٣	٣,٧٧	٣,٢٠	٢,٧٣	٢,٠٣	١,٢٠	٠,٠٠	٤	
٣,٩٣	٣,٠٠	٢,٧٠	١,٨٣	١,٣٧	٠,٠٠	٠,٠٠	٥	
٧,٥٠	٦,٥٠	٥,٩٣	٤,٦٣	٣,٦٠	٣,٢٠	١,٥٠	١	الشمع
٦,٨٣	٦,١٠	٥,٢٣	٤,٥٣	٢,٩٣	٢,٦٠	١,٤٠	٢	
٦,٣٠	٥,٨٣	٥,٠٠	٤,٠٠	٢,٨٧	٢,٤٣	١,٣٠	٣	
٥,٦٣	٥,٣٠	٤,٦٠	٣,٦٧	٢,٦٧	٢,٤٠	١,٣٠	٤	
٥,٢٣	٤,٨٠	٤,٦٠	٣,٣٧	٢,٢٧	١,٧٣	٠,٠٠	٥	

LSD(0.05) = 0.465

جدول ٤. تأثير المستخلص الإيثانولي للعكبر والشمع على النمو القطري لفطر *Fusarium*

.solani

الأيام							التركيزات	المعاملة
السابع	السادس	الخامس	الرابع	الثالث	الثاني	الأول		
٨,٠٠	٨,٠٠	٧,٠٧	٥,٦٠	٤,٥٣	٣,٢٣	١,٦٧	٠	عكبر
٦,٥٣	٥,٤٧	٤,٦٣	٣,٧٣	٢,٨٧	١,٧٠	١,٢٣	١	
٥,٦٣	٤,٥٧	٤,٢٧	٣,٤٧	٢,٦٠	١,٧٠	١,١٣	٢	
٤,٤٧	٤,٠٣	٣,٤٧	٢,٦٧	٢,٣٠	١,٣٧	١,١٠	٣	
٤,٢٠	٣,٧٧	٣,٣٣	٢,٥٣	٢,٢٠	١,٢٧	١,٠٣	٤	
٣,٥٣	٣,٠٧	٢,٦٣	١,٨٧	١,٧٠	١,١٧	٠,٠٠	٥	شمع
٨,٠٠	٧,٧٣	٧,٠٣	٤,٨٣	٤,٢٣	٢,٨٠	١,٤٣	١	
٨,٠٠	٧,٠٧	٦,٥٧	٥,١٠	٣,٤٧	٢,٦٧	١,٣٠	٢	
٧,٦٠	٧,٠٠	٦,٤٠	٤,٢٣	٣,٢٧	٢,٥٧	١,٢٧	٣	
٦,٦٧	٥,٧٣	٤,٧٣	٤,٠٠	٢,٤٣	٢,١٧	١,١٠	٤	
٥,٧٣	٤,٨٠	٣,٧٧	٢,٨٣	٢,٢٣	١,٥٠	٠,٠٠	٥	

LSD (0.05) = 0.41

توضح بيانات جدول (٥) تأثير التفاعل بين كل من المستخلص الإيثانولي للعكبر والشمع على النمو لفطر *Rhizoctini solani* بعد ٧ أيام من النمو، ومن خلال مقارنة متوسطات هذا التفاعل بقيمة أقل فرق معنوي (LSD)، يلاحظ أن مدى النمو تراوح بين أعلى متوسط (٨) الناتج من معاملات الضابطة ابتداءً من اليوم الثالث وحتى اليوم السابع، وكذلك تركيزات العكبر والشمع (١، ٢، و٣) ابتداءً من اليوم السادس، إلى أقل متوسط (صفر) والذي نتج من تأثير كل من العكبر والشمع بتركيز (٥) في كل من اليومين الأول والثاني. وبمقارنة المتوسطات إحصائيًا يتضح أن أعلى المعاملات تأثيرًا هي عند تركيز (٥) في كل من العكبر والشمع في اليوم الأول والثاني، حيث كان النمو للفطر (صفر). ويلي ذلك في التأثير المعنوي على النمو العكبر بتركيز (٥) في اليوم

الثالث، وتركيز (٤) في اليوم الأول، وتركيز (٣) في اليوم الأول، وكذلك تأثير الشمع بتركيز (٤) في اليوم الأول، وتركيز (٥) في اليوم الثالث، مع عدم وجود فروق معنوية بين تلك المعاملات كما توضح ذلك بيانات جدول (٥). وبمقارنة تأثير المعاملة الضابطة مع بقية معاملات التفاعل يلاحظ من بيانات الجدول (٤) أن المعاملة الضابطة تتساوى معنويًا في تأثيرها على النمو مع معاملات العكبر بتركيزي (١، ٢) ابتداءً من اليوم الثالث، وكذلك مع الشمع بتركيز (١، ٢) ابتداءً من اليوم الثالث أيضًا. ويمكن تفسير نتائج الجدول (٣)، و(٤)، و(٥) بأن القدرة التثبيطية للعكبر تفوق قدرة مستخلص الشمع، حيث إنه ما يتميز به الشمع من خصائص مضادة للفطريات يعود إلى العكبر الذي يحتويه، ولكن بكميات قليلة غالبًا، إلى الدرجة التي تجعل العكبر يفوق استخدام الشمع. ونادرًا ما يكون الشمع نقيًا، فهو يحوي قرابة ٥٪ من حبوب اللقاح والعكبر.

جدول ٥. تأثير المستخلص الإيثانولي للعكبر والشمع على النمو الفطري لـ *Rhizoctoni*

.solani

المعاملة	التركيزات	الأيام						
		الأول	الثاني	الثالث	الرابع	الخامس	السادس	السابع
عكبر	٠	٣,٧٧	٥,٧٧	٨,٠٠	٨,٠٠	٨,٠٠	٨,٠٠	٨,٠٠
	١	٢,٣٣	٥,٦٣	٧,٥٠	٧,٦٧	٧,٨٣	٨,٠٠	٨,٠٠
	٢	٢,٣٠	٥,٥٠	٧,٤٧	٧,٥٠	٧,٥٠	٨,٠٠	٨,٠٠
	٣	١,٦٧	٣,٠٣	٤,٣٠	٧,٣٣	٧,٤٠	٨,٠٠	٨,٠٠
	٤	١,٥٣	١,٨٧	٢,٦٧	٤,٢٧	٦,٥٧	٦,٩٠	٦,٩٠
شمع	٥	٠,٠٠	٠,٠٠	١,٤٠	١,٧٧	٢,٧٣	٣,٠٧	٣,٤٧
	١	٢,٥٧	٦,٥٠	٧,٧٠	٧,٩٣	٧,٩٧	٨,٠٠	٨,٠٠
	٢	٢,١٧	٤,١٧	٦,٧٠	٧,٩٠	٧,٩٠	٨,٠٠	٨,٠٠
	٣	٢,٠٠	٤,٠٠	٥,٧٧	٧,٦٠	٧,٥٣	٨,٠٠	٨,٠٠
	٤	١,٦٠	١,٩٠	٢,٧٠	٤,٨٧	٦,٦٠	٧,٧٠	٧,٢٠
٥	٠,٠٠	٠,٠٠	١,٧٣	٣,٦٣	٤,٦٠	٥,٨٣	٦,١٣	

LSD (0.05) = 0.41

كذلك بينت النتائج إن قدرة العكبر كمضاد فطري يختلف باختلاف الفطريات، حيث كان تأثير العكبر أعلى ما يمكن على فطر *Rhizoctonia solani*، يليه *Fusarium solani*، ثم *Fusarium oxysporium*. وتؤكد هذه النتيجة دراسة تأثير المستخلص الإيثانولي للعكبر على بعض الفطريات من بينها أنواع لجنس *Fusarium*، و *Alternaria*، و *Rhizopus* كفطريات ممرضة للنبات، وتبين اختلاف العكبر كمضاد باختلاف نوع الفطريات المستخدمة في الدراسة وهذا يتفق مع ما قرره حجازي وفطين (Hegazi & Fateen, 2000).

تأثير المستخلص الإيثانولي للعكبر والشمع كل على حدة على الفطريات الممرضة للإنسان

توضح بيانات جدول (٦) تأثير التفاعل بين كل من المستخلص الإيثانولي للعكبر والشمع على نمو فطر *Aspergillus terreus* بعد ٧ أيام من النمو. ومن خلال مقارنة متوسطات هذا التفاعل مع قيمة أقل فرق معنوي (LSD) يلاحظ أن مدى النمو تراوح بين أعلى متوسط (٨) الناتج من المعاملة الضابطة ابتداء من اليوم الخامس وحتى اليوم السابع، وكذلك تركيزات العكبر عند التركيز (١) ابتداء من اليوم السادس، إلى أقل متوسط (صفر) والذي نتج عن تركيز العكبر (٣)، و٤، و٥) في اليوم الأول، وكذلك تركيز الشمع ابتداء من تركيز (٢) وحتى التركيز (٥) في اليوم الأول أيضاً.

وبمقارنة المتوسطات إحصائياً باستعمال أقل فرق معنوي (LSD) يتضح أن أعلى المعاملات تأثيراً كانت عند التركيز (٥) في كل من العكبر والشمع، يليه التركيز (٤)، ثم (٣) في حالتي العكبر والشمع في اليوم الأول، حيث كان النمو القطري للفطر يساوي (صفر)، يلي ذلك التركيز (١) للشمع، ثم التركيزين (١)،

و (٢) في حالة استخدام العكبر في اليوم الأول، مع عدم وجود فروق معنوية بين تلك المعاملات.

جدول ٦. تأثير المستخلص الإيثانولي للعكبر والشمع على النمو الفطري لـ *Aspergillus terrus* بعد ٧ أيام من النمو.

الأيام							التركيزات	المعاملة
السابع	السادس	الخامس	الرابع	الثالث	الثاني	الأول		
٨,٠٠	٨,٠٠	٨,٠٠	٦,٦٧	٥,٠٠	٣,٠٣	١,٧٠	٠	عكبر
٨,٠٠	٨,٠٠	٧,٢٣	٥,٨٧	٤,٢٣	٢,٥٣	١,٢٠	١	
٧,٥٣	٧,٢٧	٦,٣٠	٤,٧٣	٣,٥٧	٢,٢٠	١,٢٠	٢	
٦,٩٣	٥,٩٠	٥,٥٧	٤,١٠	٣,١٣	١,٨٣	٠,٠٠	٣	
٦,٥٠	٥,٤٣	٤,٦٣	٣,٦٣	٢,٩٠	١,٥٧	٠,٠٠	٤	
٥,٥٣	٥,١٠	٤,١٧	٢,٩٣	٢,٥٣	١,٤٧	٠,٠٠	٥	شمع
٧,١٧	٥,٣٠	٤,٦٠	٣,٣٧	٢,٨٣	٢,٠٧	١,١٠	١	
٦,٧٠	٥,٠٠	٤,٤٧	٣,١٠	٢,٥٧	٢,٠٠	٠,٠٠	٢	
٤,٣٠	٣,٩٧	٣,٥٠	٢,٦٣	٢,٢٧	١,٨٠	٠,٠٠	٣	
٤,٠٠	٣,٧٠	٣,٠٧	٢,٣٣	٢,٠٠	١,٨٠	٠,٠٠	٤	
٣,٦٠	٣,٣٧	٢,٥٣	١,٩٧	١,٧٣	١,٣٠	٠,٠٠	٥	

LSD (0.05) = 0.337

وبمقارنة تأثير المعاملة الضابطة مع بقية معاملات التفاعل، يلاحظ من بيانات جدول (٦) أن المعاملة الضابطة تتساوى معنوياً في تأثيرها على النمو مع معاملات العكبر فقط، ابتداءً من اليوم الأول وحتى اليوم السابع. ويمكن تفسير تلك النتائج بعدم قدرة فطر *Aspergillus terrus* على مقاومة التأثير التثبيطي للشمع، فلم يظهر أي نمو فطري على الإطلاق في اليوم الأول من النمو عند التركيزات (٢-٥)، وبدأ النمو من اليوم الثاني وبمعدل زيادة يومية منخفضة. وتتفق هذه النتائج مع نتائج حجازي وفطين (Hegazi & Faten, 2000)

حول تأثير العكبر المنتج في جمهورية مصر العربية كمضاد لنمو الفطريات. وقد أكدت النتائج قدرة العكبر كمضاد فطري طبيعي لتسعة أجناس من الفطريات وهي: *Cladosporium*، و *Rhizopus*، و *Penicillium*، و *Scopulariopsis*، و *Mucor*، و *Rhodotyrla*، و *Alternaria*، و *Aspergillus*، و *Fusarium*. وقد اختلف تأثير العكبر باختلاف نوع الفطريات، وتراوح أقل تأثير مثبت (١، ٢٠) - (٣، ٦٠) ملجرام/مل، وبذا فقد كان أقل تركيز مثبت (١، ٢٠ ملجرام/مل) في حالة فطر *Aspergillus penicillium*.

توضح نتائج تحليل التباين بجدول (٧) تأثير التفاعل بين كل من المستخلص الإيثانولي للعكبر والشمع على النمو لفطر *Candida albicans* بعد ٧ أيام من النمو، وذلك من خلال مقارنة متوسطات هذا التفاعل بقيمة أقل فرق معنوي (LSD). وتبين أن مدى النمو تراوح بين أعلى متوسط (٢، ٩٣) الناتج من المعاملة الضابطة في اليوم السابع، يلي ذلك تركيز (١) لكل من الشمع والعكبر كل على حدة في اليوم السابع. وبمقارنة المتوسطات إحصائياً باستعمال أقل فرق معنوي LSD، يتضح أن أعلى المعاملات تأثيراً عند تركيز (٢، ٣، و٤، و٥) في العكبر في اليوم الأول، وتركيز (٤، ٥) في حالة استخدام الشمع في اليوم الأول، حيث كان النمو (صفر) مع عدم وجود فروق معنوية بين تلك المعاملات. وبمقارنة تأثير المعاملة الضابطة مع بقية معاملات التفاعل، تبين أن المعاملة الضابطة تتساوى معنوياً في تأثيرها على النمو مع معاملات العكبر والشمع بتركيز (١) ابتداء من اليوم الأول وحتى اليوم السابع. ويعزى التأثير التثبيطي للمستخلص الإيثانولي للعكبر على نمو فطر *Candida albicans* إلى تأثير العكبر على الجدار الخلوي، وتكوين أنابيب الإنبات في الفطر. ويؤكد ذلك التفسير، دراسة باستخدام المجهر الإلكتروني النافذ (TEM) تبين من خلالها إن

العكبر يغير في الجدار الخلوي لفطر *C. albicans* مما يؤدي إلى زيادة حجمها، وتمزق الجدار الخلوي لها (Mello *et al.*, 2006). وأيدت هذه النتائج ما أظهرته دراسة مشابهة قام بها ياجوبي وآخرون (Yaghaubi *et al.*, 2006) في إيران، حول استخدام المستخلص الإيثانولي للعكبر الإيراني كمنشط لنمو بعض أنواع من البكتريا الموجبة الجرام، وفطر *C. albicans*، وبين أن التأثير المضاد للميكروبات للمستخلص الإيثانولي للعكبر يرجع إلى احتواء العكبر على تركيزات مرتفعة من المركبات الفينولية والفلافونيدية، أكدتها دراسة باستخدام طرق الفصل الكروماتوجرافي والاسبكترومترية. كما أيدت دراسة مشابهة قام بها كافرشنا وآخرون (Cafarchina *et al.*, 1999) تلك النتائج، والتي أكدت تأثير المستخلص الإيثانولي للعكبر على بعض أنواع فطر الكانديدا والمسببة للأمراض الجلدية، وعلل ذلك إلى احتواء العكبر على مركبات كيميائية هامة مضادة للفطريات، وهي مركبات Flavonoids، وCinnamic. وهناك أيضا دراسة ماجيني وآخرون (Majiene *et al.*, 2007) والتي تم فيها استخدام ١٠ عينات من العكبر، جمعت من مناطق مختلفة، حيث ثبت أن هناك تأثيرات للمستخلص الإيثانولي للعكبر كمضاد حيوي قوي لفطر *C. albicans*، والبكتيريا الموجبة الجرام. وقد عزا ذلك التأثير إلى احتواء العكبر على مركبات Terpenoids، وPhenolic، وAliphatic and aromatic acids، وكلها مركبات هامة ومضادة لنمو الفطريات. وأكدت هذه النتائج دراسة مولي وآخرون (Muli *et al.*, 2008) في كينيا حول كفاءة العكبر كمضاد لفطر *C. albicans*، والبكتريا الموجبة الجرام. وتتفق هذه النتيجة مع دراسة أوتا وآخرون (Ota *et al.*, 2001)، والتي ضمت تأثير المستخلص الإيثانولي للعكبر على ٨٠ سلالة لفطر *Candida* منها ٢٠ سلالة من *C. albicans*، و ٢٠ سلالة من *C. tropicalis*، و ٢٠ سلالة من *C. Krusei*، و ٢٠ سلالة من *C. guilliermondii*، وكلها سلالات ممرضة. وقد

اختلفت حساسية السلالات للمستخلص الإيثانولي للعكبر، فكان أكثرها حساسية *C. albicans*، يليها *C. tropicalis*، يليها *C. krusei*، وأخيراً *C. guilliermondii*.

جدول ٧. تأثير المستخلص الإيثانولي للعكبر والشمع على النمو الفطري لـ *Candida albicans*.

الأيام							التركيزات	المعاملة
السابع	السادس	الخامس	الرابع	الثالث	الثاني	الأول		
٢,٩٣	٢,٦٣	٢,٣٣	٢,٠٢٠	٢,٠٠	١,٧٠	١,٦٧	٠	عكبر
١,٩٠	١,٩٠	١,٨٧	١,٨٣	١,٥٠	١,٤٧	١,٤٠	١	
١,٧٧	١,٦٧	١,٦٣	١,٦٣	١,٤٣	١,٤٠	٠,٠٠	٢	
١,٦٧	١,٦٣	١,٦٠	١,٥٣	١,٣٣	١,٣٠	٠,٠٠	٣	
١,٦٧	١,٦٣	١,٦٠	١,٤٣	١,٢٧	١,٢٠	٠,٠٠	٤	
١,٦٣	١,٥٠	١,٤٣	١,٤٠	١,٢٠	١,١٧	٠,٠٠	٥	شمع
٢,٤٣	٢,٣٠	٢,٠٠	١,٨٧	١,٨٣	١,٤٧	١,٤٣	١	
٢,١٧	١,٩٣	١,٨٠	١,٨٠	١,٨٠	١,٤٣	١,١٣	٢	
١,٩٠	١,٨٠	١,٧٧	١,٧٠	١,٦٧	١,٤٠	١,٠٧	٣	
١,٨٠	١,٧٠	١,٦٧	١,٦٣	١,٥٠	١,٣٠	٠,٠٠	٤	
١,٧٠	١,٦٠	١,٥٠	١,٤٠	١,٣٠	١,٢٠	٠,٠٠	٥	

LS D (0.05) = 0.47

تأثير المستخلص الإيثانولي للعكبر والشمع سوياً على الفطريات

توضح بيانات جدول (٨) تأثير التفاعل بين كل من المستخلص الإيثانولي للعكبر والشمع معاً على النمو الفطري لجميع الفطريات المستخدمة في هذه الدراسة. وقد اختير التركيز (٥) كأفضل تركيز مؤثر على النمو ومقارنته بالعينة الضابطة، وتم مقارنة متوسطات التفاعل بقيمة أقل فرق معنوي (LSD).

وتبين من النتائج أن مدى النمو تراوح بين (٨) الناتج من المعاملة الضابطة لفطر *Aspergillus terreus* في اليوم السابع، وفطر *Rhizoctonia solani* من اليوم الثالث وحتى اليوم السابع، يليه فطر *Fusarium oxysporium*، ثم فطر *Fusarium solani* في اليوم السابع. وبمقارنة المتوسطات إحصائياً، يتضح أن أعلى المعاملات تأثيراً عند التركيز (٥) هو فطر *Rhizoctonia solani* في اليوم السابع، حيث كان النمو (صفرًا)، يلي ذلك في التأثير المعنوي على النمو *Fusarium oxysporium*، ثم *Fusarium solani*، وأخيراً فطر *Aspergillus terreus* عند التركيز (٥) في اليوم السابع. وبحساب أقل فرق معنوي، وجد فرق معنوي بين كل زوج من أنواع الفطريات عند مستوى معنوية $P < 0.01$ ، فيما عدا فطر *Aspergillus terreus*، وفطر *Fusarium solani*.

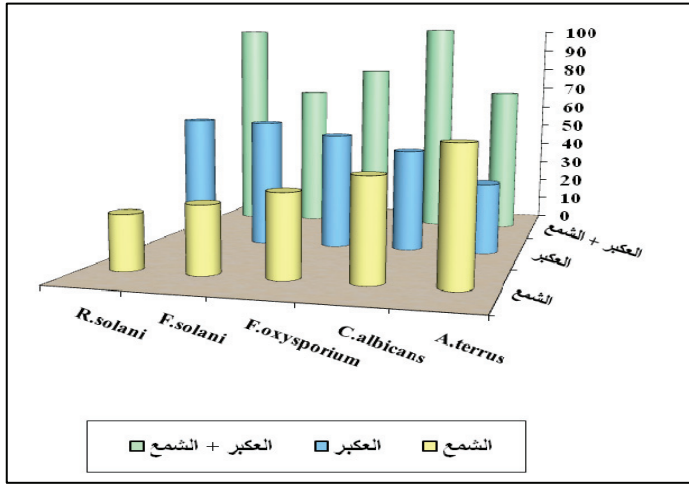
وقد وجد كذلك فرق معنوي بين التركيزين المستخدمين في كل الفطريات المختبرة في هذه الدراسة، وبين الأيام عند مستوى معنوية $P < 0.01$. كما أظهرت نتائج التحليل أن هناك تأثيراً معنوياً للتفاعلات بين المعاملات، والتركيزات، والأيام، سواء التفاعلات الثنائية، أو التفاعل الثلاثي بين العوامل الثلاث عند مستوى $p < 0.01$ وذلك لكل الفطريات التي تمت دراستها، كما توضح بيانات جدول (٨). ويمكن تفسير ذلك إلى اختلاف حساسية الفطريات للمستخلص الإيثانولي لخليط العكبر والشمع. وتتفق هذه النتيجة مع دراسة أوليفيرا وآخرون (Oliveira et al., 2006)، والتي أشارت إلى اختلاف في حساسية ٦٧ عزلة لفطر *C. albicans* للمركبات الفلافونيدية في العكبر. ويوضح شكل (١) النسبة المئوية للثبيط على نمو الفطريات باستخدام مستخلص العكبر بمفرده، ومستخلص الشمع بمفرده، وخليط من مستخلص العكبر والشمع معاً. وكان أعلى تأثير كمضاد فطري لخليط العكبر والشمع على جميع الفطريات المختبرة، يليه مستخلص

العكبر بمفرده والذي فاق تأثيره كمضاد حيوي تأثير الشمع في جميع الفطريات المختبرة عدا فطر *A. terrus*. ويمكن تفسير ذلك بأن العكبر النقي له قدرة عالية كمضاد للفطريات لاحتوائه على مركبات كيميائية هامة مثل: Cinnamic، Flavonoids، Chrysin، و Flavonones والتي تم تحديدها بواسطة في دراسة حكمت وناظم (Hikmet and Nazim, 2006)، وهذه مركبات مضادة لنمو الفطريات، وإن استخدام الشمع أيضاً له خصائص مضادة لاحتوائه على نسبة ٥٪ من العكبر، أما عند استخدام خليط العكبر والشمع كان تأثير التثبيط للعكبر مضافاً له تأثير التثبيط الحيوي للشمع لاحتوائه على نسبة قليلة من العكبر، وهذا يعلل أن تأثير خليط العكبر والشمع يفوق تأثير العكبر بمفرده أو الشمع بمفرده.

جدول ٨. تأثير المستخلص الإيثانولي للعكبر والشمع سوياً على النمو الفطري للفطريات محل الدراسة.

المعاملة	الفطر	التركيزات	الأيام						
			الأول	الثاني	الثالث	الرابع	الخامس	السادس	السابع
عكبر + شمع (تركيز ٥٪)	<i>Aspergillus terrus</i>	٠	١,٦٠	٢,٠٧	٣,٢٧	٤,٨٠	٥,٧٣	٧,١٣	٨,٠٠
		٥	٠,٠٠	٠,٠٠	٠,٠٠	١,٣٣	١,٥٧	٢,٠٠	٢,٥٧
	<i>Candida albicans</i>	٠	١,٢٣	١,٤٣	١,٦٣	١,٨٧	٢,١٧	٢,٤٠	٢,٧٣
		٥	٠,٠٠	٠,٠٠	٠,٠٠	٠,٠٠	٠,٠٠	٠,٠٠	٠,٠٠
	<i>Fusarium oxysporium</i>	٠	١,٥٣	١,٨٧	٢,٧٠	٣,٨٣	٤,٦٧	٥,٦٣	٧,٦٧
		٥	٠,٠٠	٠,٠٠	٠,٠٠	٠,٠٠	٠,٠٠	١,٥٠	١,٦٠
	<i>Fusarium solani</i>	٠	١,٥٠	٢,٠٧	٣,٢٠	٤,٤٧	٥,٢٠	٦,٢٧	٧,٦٣
		٥	٠,٠٠	٠,٠٠	١,٤٠	١,٥٣	١,٧٧	٢,٠٣	٢,٤٧
	<i>Rhizoctonia solani</i>	٠	٣,٥٧	٥,٥٧	٨,٠٠	٨,٠٠	٨,٠٠	٨,٠٠	٨,٠٠
		٥	٠,٠٠	٠,٠٠	٠,٠٠	٠,٠٠	٠,٠٠	٠,٠٠	٠,٠٠

LSD=0.26



شكل ١. تأثير المستخلص الإيثانولي للعكبر والشمع سويًا على النسبة المئوية للتثبيط عند التركيز ٥٪.

حساسية فطر *C. albicans* لمستخلص العكبر والشمع معًا مع حساسية للمضادات الحيوية

يوضح جدول (٩) حساسية فطر *C. albicans* للمضادات الحيوية. وقد أظهر عزلة فطر *C. albicans* حساسية عالية تجاه المضادات الحيوية Methicillin، و Novobiocin، و PenicillinG، وحساسية متوسطة تجاه Fusidic Acid، ومقاومة عالية للمضادات Erythromycin، و Tetracycline، و Streptomycin، و chloramphenicol، في حين أبدت حساسية عالية بحيث توقف النمو بنسبة ١٠٠٪ عند استخدام خليط العكبر والشمع بتركيز ٥٪. ويعضد هذه النتائج دراسة مشابهة لحساسية فطر *C. albicans* تجاه بعض المضادات الحيوية ومستخلص العكبر في دراسة حكمت ونظيم (٢٠٠٦) على العكبر الذي تم جمعه من تركيا (Hikmet & Nazime, 2006). وتؤكد هذه النتائج دراسة مقارنة تأثير المستخلص الإيثانولي للعكبر مع المضادات الحيوية

Fluconazole، Econazole، و Clotrimazole، و Nystatin على ١٢ سلالة من فطر *C. albicans*، ووجد أن المستخلص الإيثانولي للعكبر قد تثبط كل سلالات *Candida* المختبرة، في حين اختلفت حساسية السلالات المختبرة مع المضادات الحيوية السابقة، ولهذا يقترح استخدام العكبر كبديل للمضادات الحيوية في حالة تقرحات الفم الناتجة عن هذا الفطر (Martins et al., 2002). أيد ذلك دراسة أوليفيرا وآخرون (Oliveira et al., 2006)، وأكد أنه يمكن استخدام العكبر كمضاد حيوي طبيعي بديل لأنه مركب طبيعي، وتكلفته قليلة، وغير سام، بالإضافة لتأثيره الفعال كمضاد للبكتريا، والفطريات، والفيروسات.

جدول ٩. حساسية فطر *C.albicans* للمضادات الحيوية.

حساسية للمضادات الحيوية	مضادات الحيوية	الفطر
-	Chloramphenicol	<i>C. albicans</i>
+++	Methicillin	
+++	Novobiocin	
++	Fusidic Acid	
-	Erythromycin	
+++	Penicillin G I	
-	Streptomycin	
-	Tetracycline	

+++ حساسية عالية ++حساسية متوسطة - مقاومة

المراجع

أولاً: المراجع العربية

العصن، ناصر (٢٠٠٤م) النحل ونباتات العسل في المملكة العربية السعودية، مكتبة الملك فهد الوطنية، الطبعة الثانية.

النخلاوي، فتحي سعد (٢٠٠٨م) مبادئ الإحصاء وتصميم وتحليل التجارب البيولوجية، مركز النشر العلمي، جامعة الملك عبدالعزيز، المملكة العربية السعودية.

ثانياً: المراجع الأجنبية

- Akao, Y., Maruyama, H., Matsumoto, K., Ohguchi, K., Nishizawa, K., Sakamoto, T., Araki, Y., Mishima, S. and Nozawa, Y. (2003) Cell growth inhibitory effect of cinnamic acid derivatives from Propolis on human tumor cell lines, *Biol. Pharmaceut. Bull.*, **26**(7): 1057-1059.
- Andreas, D, Cleber, S., Moraes, P. and Yong, K (2007) Brazilian red Propolis—Chemical composition and botanical origin, *eCAM Advance*, **5**(4): 435-441.
- Bankova, V., Popova, M., Bogdanov, S. and Sabatini, A. (2002) Chemical composition of european Propolis: Expected and unexected results, *Z. Naturforsch.*, **57**: 530-533.
- Bollen, G.L. (1972) A comparison of the *in vitro* and antifungal spectra of thiophanates and benonmy, *Neth. J. Plant Pathol.*, **78**: 5-64.
- Cafarchina, C., De laurentis, N., Millilo, M.A. Losacco, V. and Puccini, V. (1999) Antifungal activity of Apulia region propolis, *Parassitologia*, **1**: 1-8.
- Cardile, V., Panico, A., Gentile, B., Borrelli, F. and Russa, A. (2003) Effect of Propolis on human cartilage and chondrocyts, *Life Sci.*, 1027-1035.
- Castoldo, S. and Capasso, F. (2002) Propolis an old remedy used in modern medicine, *Fitoterapia*, **73** (suppl. 1): 51-56.
- Ellis, M.B. (1971) *Dematiaceous Hyphomycetes*, Common-Wealth Mycology Institute, Kew, Surrey, England.
- Ellis, M.B. (1976) *More Dematiaceous Hyphomycetes*, Common-Wealth Mycology, Institute, Kew, Surrey, England.
- Ghisalbeli, E.L. (1979) Propolis: A review, *Beeworld*, **60**: 59-84.
- Gilman, J.C. (1957) *A Manual of Soil Fungi*, Iowa State Univ. press Ames Iowa, U.S.A.
- Gonsales, G.Z., Orsi, R.O., Fernandes, A., Rodrigues, P. and Funari, S.R.C. (2006) Antibacterial activity of Propolis collected in different regions of Brazil, *J. Venom. Anim.Toxins Incl. Trop. Dis.*, **12**(2): 276-284.
- Guler, P., Sorkun, K. and Salih, B. (2003) Effect of some Turkish Propolis on the product quantity of *Agaricus bisporus* (Lang.), *Syng. Pak. J. Botany*, **35**(3): 439-447.
- Haggag, E.E., Nafea, E. and Wafa, A.Y. (2006) Chemical composition and antibacterial activity of honey bee glue (Propolis) collected from Egypt and Syria, *J. Agric. Sci. Mansoura Univ.*, **31** (9): 6039-6048.
- Hegazi, A.G. and Faten, A.E.H. (2000) Influence of Egyptian Propolis as antifungal agent, In: *International Conference of Propolis.*, Argentina, September 2000, p. 114.
- Hikmet, K. and Nazime, M. (2006) Antimicrobial activity and chemical compositions of Turkish propolis from different regions, *African Journal of Biotechnology*, **5**(11): 1151-1153.
- Ildenize, B. S., Cunha, A., Alexandra, C.H.F., Sawaya, F.M., Caetanob, M. T., Shimizua M.C., Marcucci, C., Flavia, T., Dreza. A., Giovanna, S., Poviaa, P. and Carvalhoa, O. (2004) Factors that influence the yield and composition of Brazilian Propolis extracts, *J. Braz. Chem. Soc.*, **15**(6): 964-970.
- Kartal, M., Yildiz, S., Kaya, S., Kurucu, S. and Tapcu, G. (2003) Antimicrobial activity of Propolis samples from two different regions of Anatolia, *J. Ethnopharmacol.*, **86**: 69-73.
- Kujumgiev, A., Bankova, V., Ignatova, A. and Popov, S. (1993) Antibacterial activity of Propolis, some of its components and their analogs, *Pharmazie*, **48**: 785-786.
- Kujumgiev, A., Tsvetkova, I., Serkedjieva, Y., Bankova, V., Christov, R. and Popov, S. (1999) Antibacterial, antifungal and antiviral activity of Propolis of different geographic origin, *J. Ethnopharmacol.*, **64**: 235-240.

- Kumazawa, S., Hamasaka, T. and Nakayama, T.** (2004) Antioxidant activity of Propolis of various geographic origins, *Food Chem.*, **84**: 329-339.
- Majiene, D., Trumbeckaite, S., Pavilionis, A. Savickas, A. and Martirosyam, D.M.** (2007) Antifungal and antibacterial activity of Propolis, *Current Nutrition & Food Science*, **3**: 304-308.
- Marcucci, M.C.** (1995) Propolis: Chemical composition, biological properties and the therapeutic activity, *Apidologie*, **26**: 83-99.
- Marcucci, M.C., Ferreres, F., Garcia-Viguera, C., Bankova, V.S., De Castro, S.L., Dantas, A.P., Valente, P.H.M. and Paulino, N.** (2001) Phenolic compounds from Brazilian Propolis with pharmacological activities, *J. Ethnopharmacol.*, **74**: 105-112.
- Martins, R.S., Pereira, E.S., Lima, S.M, Senna, M.I., Mesquita, R.A. and Santos, V.R.** (2002) Effect of commercial ethanol Propolis extract on the *in vitro* growth of *Candida albicans* collected from HIV- seropositive and HIV- seronegative Brazilian patients with oral candidiasis, *Journal of Oral Science*, **44**(1): 41-48.
- Mello, M.** (2006) The effect of Brazilian Propolis on the germ tube formation and cell wall of *Candida albicans*, *Pharmacolog Online*, **3**: 352-358.
- Muli, E.M., Maingi, J.M., Macharia, J.** (2008) Antimicrobial properties of Propolis and honey from the Kenyan stingless bee, *Dactylurina schimidi*, *J. Apiacta*, **43**: 49-61.
- Naguib, M. I.** (1968) Effect of various nitrogen sources and /or colchicines on the utilization of L- arabinose by *Cunninghamella elegans*, *Acta Biol. Acad. Sci. Hung.*, **19**: 437-444.
- Oliveira, A.C., Shinobu, C.S., Longhini, R., Franso, S.L. and Svidzinski, T.I.** (2006) Antifungal activity of Propolis extract against yeasts isolated from onychomycosis lesions, *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.*, **101**(5): 493-497.
- Ota, C., Unterkircher, C., Carmelinda, M., Fantinato, V. and Shimizu, M.T.** (2001) Antifungal activity of Propolis on different species of *Candida*, *Mycoses*, **44**: 375-378.
- Popova, M., Silici, S., Kaftanoglu, O. and Bankova, V.** (2005) Antibacterial activity of Turkish Propolis and its qualitative and quantitative chemical composition, *Phytomedicine*, **12**: 221-228.
- Raper, K.B. and Fennel, D.I.** (1965) *The Genus Aspergillus*, Willams & Wolkins, Baltimore, U.S.A.
- Raper, K.B. and Thom, C.** (1949) *A Manual of Penicillium*, Willams & Wolkins, Baltimore, U.S.A.
- Sforcin, J.M., Fernandes, A., Lopes, C.A.M., Bankova, V. and Funari, S.R.C.** (2000) Seasonal effect on Brazil Propolis antibacterial activity, *Journal of Ethnopharmacology*, **73**: 243-249.
- Sutton, D. A., Fothergill, A.W. and Rinaldi, M.G.** (1998) *Guide to Clinically Significant Fungi*, Williams and Wilkins, Baltimore, Maryland, U.S.A. Text copyright © Dorling Kindersley Limited, London, p. 57.
- Wang, B.J., Lien, Y.H. and Yu, Z.R.** (2004) Super critical fluid extractive fractionation of Turkish Propolis, *Z. Natur. Forsch.*, **56C**: 666-668.
- Yaghaubi, S.M.J., Ghorbani, G.R., Soleimani, Z. and Satari, R.** (2006) Antimicrobial activity of Iranian Propolis and its chemical composition, *DARU*, **15**: 45-48.
- Yamada, Y. and Zuma, K.** (1977) Evaluation of the *in vitro* antifungal activity of allicin, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **11**: 743-749.

Inhibitory Effect of Propolis and Wax on Some Pathogenic Fungi

Nihad M. Gum Gum Jee

*Botany Department, Faculty of Education (Girls' College),
P.O.Box 2248 - Jeddah 21451, Saudi Arabia*

Abstract. The ethanolic extracts of propolis, wax and both of them were tested for their Inhibition activity against some pathogenic fungi viz. *Aspergillus terrus*, *Candida albicans*, *Fusarium oxysporium*, *Fusarium solani* and *Rhizoctonia solani*. The obtained results showed that the radial growth of previously mentioned fungi, was decreased by increasing the added extracts concentration from 4 to 5% of propolis and wax. Also propolis extracts had more inhibitory effect than wax. The inhibitory percentages of the tested fungi *C. albicans*, *F. oxysporium*, *F. solani* and *R. solani* were 56.63%, 55.88%, 50.88%, and 44.37% respectively.

The effect trends of propolis and the wax extracts were opposite, when the effect of propolis extraction was high on *R. solani* but low on *A. terrus*. Also, results showed that the extracts of propolis and wax mixture at 5% were more effective than each individually. The highest inhibitory growth ratio 100% of *R. solani* and *C. albicans* was obtained at 5% mixture concentration. The inhibitory effects of propolis and wax mixture on fungi were more effective than that of antibiotics.