Journal homepage
www.ajas.uoanbar.edu.iq
Anbar Journal of Agricultural Sciences
(University of Anbar – College of Agriculture)

تأثير بعض المستخلصات النباتية على نمو الفطر Aspergillus flavus والحد من انتاجه للافلاتوكسين B1 في الذرة الصفراء المخزونة

سارة ذاكر عجيل الفهداوي سالم حسن صالح الورشان*

كلية الزراعة – جامعة الانبار

***المراسلة الى:** سالم حسن صالح الورشان، قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة الانبار، الرمادي، العراق.

البريد الالكتروني: ag.salim-warshan@uoanbar.edu.iq

Article info

Received: 2024-02-04
Accepted: 2024-03-08
Published: 2024-06-30

DOI-Crossref:
10.32649/ajas.2024.183833

Cite as:
Al-Fahdawi, S. T. A., and AL-Warshan, S. H. S. (2024). Effective of some plant extracts on the growth of fungus aspergillus flavus and reduce the production of aflatoxin b1 on stored corn. Anbar Journal of Agricultural Sciences, 22(1): 735-749.

©Authors, 2024, College of Agriculture, University of Anbar. This is an open-access article under the CC BY 4.0 license (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

الخلاصة

اجريت الدراسة في مختبر الامراض النباتية/ كلية الزراعة/ جامعة الانبار لدراسة واختبار فعالية المستخلصات النباتية (الكركم، قشور الرمان، قشور الموز) في تثبيط نمو الفطر *Aspergillus flavus* واختبار قابليتها على اختزال سم الافلاتوكسين B1 من الاوساط السائلة. استعملت المواد النباتية (مساحيق ومستخلصات) بثلاث تراكيز (10، 15، 20) ملغم مل$^{-1}$. اظهرت النتائج ان جميع المواد النباتية كانت فعالة معنويا في تثبيط نمو الفطر *A.flavus* وقابليتها على اختزال سم الافلاتوكسين B1 من الاوساط السائلة. اظهر مسحوق الكركم تفوقه في تأثيره التثبيطي في نمو الفطر على الوسط الزرعي PDA اذ حقق اعلى نسبة تثبيط عند التركيز 20 ملغم مل$^{-1}$ بلغت 87.41%، في حين اعطى مسحوق الموز اقل نسبة تثبيط عند التركيز 10 ملغم مل$^{-1}$ بلغت 64.07%. حقق المستخلص المائي للكركم تثبيطا في نمو الفطر عند التركيز 20 ملغم مل$^{-1}$ بنسبة 87.41% متفوقا على المستخلص المائي للرمان والموز اذ بلغت نسب التثبيط 86.66% و82.96% على التوالي عند نفس التركيز . اضافة لذلك اظهر المستخلص الكحولي للكركم نسبة تثبيط في نمو الفطر هي الاعلى عند التركيز 20 ملغم مل$^{-1}$ بلغت 94.07% يليه المستخلص الكحولي للموز والرمان بنسبة 93.3% و88.14% على التوالي عند التركيز نفسه.

كلمات مفتاحية: مستخلصات نباتية، افلاتوكسين، قشور رمان، قشور موز، كركم.

EFFECTIVE OF SOME PLANT EXTRACTS ON THE GROWTH OF FUNGUS ASPERGILLUS FLAVUS AND REDUCE THE PRODUCTION OF AFLATOXIN B1 ON STORED CORN

S. T. A. Al-Fahdawi **S. H. S. AL-Warshan***
College of Agriculture - University of Anbar

***Correspondence to:** S. H. S. AL-Warshan, Department of Plant protection, College of Agriculture, University of Anbar, Ramadi, Iraq.
Email: ag.salim-warshan@uoanbar.edu.iq

Abstract

This study was conducted in the Plant Pathology Laboratory/ College of Agriculture/ University of Anbar to study and test the effectiveness of plant extracts (turmeric, pomegranate peel, banana peel) in inhibiting the growth of the fungus *Aspergillus flavus* and test its ability to reduce aflatoxin B1 from liquid media. The plant materials (powders and extracts) were used in three concentrations (10, 15, 20) mg ml^{-1}. The results showed that all plant materials were significantly effective in inhibiting the growth of *A. flavus* and their ability to reduce aflatoxin B1 from liquid media. Turmeric powder showed its superiority in its inhibitory effect on the growth of fungi on PDA culture medium, as it achieved the highest percentage of inhibition at a concentration of 20 mg ml^{-1}, which amounted to 87.41%. Whereas, banana peel powder gave the lowest inhibition rate at 10mg ml^{-1} concentration (64.07%) . While the aqueous extract of turmeric achieved inhibition in the growth of the fungus at a concentration of 20 mg ml^{-1} by 87.41%, outperformed the aqueous extract of pomegranate and banana, where the rates of inhibition reached 86.66% and 82.96%, respectively at the same concentration. In addition, the alcoholic extract of turmeric showed the highest rate of inhibition of fungi growth at a concentration of 20 mg ml^{-1}, which amounted to 94.07%, followed by the alcoholic extract of banana and pomegranate with a percentage of 93.3% and 88.14%, respectively, at the same concentration.

Keywords: Plant Extracts, Aflatoxin, Pomegranate peels, Banana peels, Turmeric.

المقدمة

الذرة الصفراء (*Zea mays* L) هي نبات موسمي طويل يعود الى العائلة النجيلية (poaceae) ومحصول عام ويعتقد ان موطنها الاصلي هو امريكا الوسطى (8). ان الاهمية الاقتصادية لمحصول الذرة الصفراء تكمن في احتواء حبوبها على نسبة عالية من الكربوهيدرات 81% والبروتين 10.6% والزيت 6.4% والرماد 2% فضلا عن احتواء حبوبها على فيتامين B1 وB2 وE وامكانية استعمال العديد من منتجاتها في الصناعات الغذائية المختلفة وتعد الذرة من النباتات النموذجية لدراسة الانواع الاخرى منها في العائلة وهذا يفسر العدد الكبير من الدراسات التي اجريت وتجري عليها (19). تصاب الذرة الصفراء سواء في الحقل او اثناء الحصاد وفي المخازن بالعديد من الآفات الخطرة، من اكثر الآفات نسبة وشدة خطورة هي الفطريات الممرضة للنبات ومسببة الكثير من

الخسائر المباشرة في نقص الحاصل او غير مباشرة بسبب تردي نوعية المحصول المصاب. تصاب الذرة الصفراء بالفطريات اما في الحقل كما هو الحال مع الجنس *Fusarium spp* وتتطور الاصابة في المخزن او اثناء الحصاد والتداول قبل الخزن كما هو حاصل مع الجنس *Aspergillus spp* والجنس *Penicillium spp*. تزداد خطورة الاصابة بتلك الفطريات خلال فترة الخزن لما تمثله اجواء المخزن من ظروف مثالية لتطور ونمو هذه الفطريات وافرازها للسموم الفطرية، والتي هي مركبات ايضية ثانوية ذات اوزان جزيئية واطئة ولها نشاط احيائي خطر في فسلجة وانسجة الكائن الحي. تمثل سموم الافلاتوكسين اكثر السموم الفطرية تأثيرا وانتشارا على الحبوب، ويعد الافلاتوكسين B1 من اكثر انواع سموم الافلاتوكسين خطورة لتأثيره الحيوي في الكائن الحي بتراكيز واطئة جدا وتلويثه للعديد من السلع الزراعية المختلفة وفي مديات جغرافية وحرارية واسعة (1). أصبح منع او تقليل التلوث بهذه المركبات الشغل الشاغل للكثيرين من حكومات الدول والمنتجين والمنظمات الدولية كمنظمة الزراعة والغذاء الدولية منظمة الصحة العالمية، واتبعت الكثير من البرامج والطرق لمنع تلوث المحاصيل او السلع الزراعية بالسموم الفطرية، تنوعت بين الطرق الاحيائية باستعمال انواع من البكتيريا المفيدة والخمائر في خفض التلوث بالسموم في الاغذية وعلائق الحيوانات، او الكيميائية باستعمال مختلف الحوامض والقواعد والمركبات الاخرى كالامونيا والفيزيائية التي اخذت الجزء الاكبر من الاهتمام والتطبيق. وانصب البحث في العقدين الماضيين على استعمال المستخلصات المائية والكحولية لبعض النباتات كطريقة امينة على صحة الانسان وحيواناته وفاعلة ضد الكثير من الفطريات الممرضة وخاصة السامة منها وغير مؤثرة في المحيط البيئي اضافة الى رخصها وتوفرها في خفض التلوث بالسموم في الاغذية المختلفة. هدف البحث الى اختبار ثلاث مستخلصات نباتية (مساحيق ومستخلصات مائية وكحولية) هي رايزومات نبات الكركم وقشور ثمار الرمان وقشور ثمار الموز في مكافحة نمو الفطر *Aspergillus flavus* وخفض قابليته على انتاج السم الفطري Aflatoxin B1 في الذرة الصفراء.

المواد وطرائق العمل

وسط الخميرة والسكروز (Yeast Extract and Sucrose) (YES): حضر هذا الوسط بإذابة 20 غرام من مستخلص الخميرة و200 غرام من السكر في 1000 مل ماء مقطر (13). استعمل هذا الوسط لتنمية عزلة الفطر *A. flavus* المنتجة للافلاتوكسين B1 (AF18) تم الحصول عليها من مختبر السموم الفطرية– قسم وقاية النبات– كلية الزراعة– جامعة الانبار . استعمل هذا الوسط ايضا لدراسة قابلية المواد النباتية (مساحيق ومستخلصات كحولية ومائية) على اختزال سم AFB1 من الاوساط السائلة الملوثة بالسم.

التقدير النوعي والكمي للافلاتوكسين B1 المنتج من عزلة الفطر A.flavus (AF18) في وسط الخميرة والسكروز السائل: تم الكشف النوعي للافلاتوكسين B1 المنتج من العزلة الفطرية AF18 في وسط الخميرة السائل والسكروز (YES) بمرافقة المادة القياسية للسم ومطابقة مسافة الترحيل وتألق اللون تحت الاشعة فوق البنفسجية (6). استعملت تقنية الواح الرقيقة اللونية (Thin Layer Chromatography (TLC المطلية بالسليكا جيل بسمك 0.20 ملم وبأبعاد 20 × 20 سم. تم تقدير سم الافلاتوكسين B1 في وسط الخميرة السائل والسكروز (YES)

وفق الطريقة المعتمدة من قبل رابط الكيميائيين التحليلين الرسمية Association of Official Analytical Chemists (AOAC) (4).

$$P = \frac{P_s \, v_s \, v_1}{V_2 \, v_3}$$

حيث P = تركيز الافلاتوكسين.

p_s = التركيز الكلي للمحلول القياسي المستعمل.

Vs = حجم المحلول القياسي الذي اعطى كثافة تألق مساوية لكثافة تألق مستخلص العينة.

V1 = حجم محلول التخفيف النهائي للعينة.

V2 = حجم محلول العينة الذي اعطى كثافة تألق مساوية لكثافة تألق التنقيط في Vs للمحلول القياسي.

V3 = حجم راشح العينة المستعمل في الاستخلاص.

جمع العينات النباتية وتحضيرها: جمعت العينات المستعملة في هذه الدراسة (الكركم وقشور الرمان وقشور الموز) من الاسواق المحلية والحقول (جدول 1). لغرض اختبار كفاءتها كمساحيق و مستخلصاتها الكحولية ضد نمو الفطر A. flavus وانتاجه لسم الافلاتوكسين B1. جلبت العينات الى مختبر السموم الفطرية في قسم وقاية النبات/ كلية الزراعة/ جامعة الانبار، غسلت من الاتربة بالماء الجاري وقطعت الى شرائح وقطع صغيرة جففت في الفرن الكهربائي على درجة 45 مئوية. طحنت النماذج بواسطة مطحنة كهربائية الى مسحوق ناعم بحيث يمر خلال غربال بحجم 100 ملم، ثم وضعت في حاويات زجاجية جافة ونظيفة لحين الاستعمال.

جدول 1: الانواع النباتية واجزائها المستعملة في الدراسة.

ت	الاسم العربي	الاسم العلمي	العائلة	الجزء المستعمل
1	الموز	*Musa sp*	Musaceae الموزية	القشور
2	الرمان	*Punica granatum*	Punicaceaea الرمانية	القشور
3	الكركم	*Curcuma longa*	Zingiberaceae الزنجبيلية	الجذور

تحضير المستخلصات النباتية: حضرت المستخلصات المائية والكحولية وفق الطريقة التي اتبعها (11)، اذ اخذ 80 غرام من مسحوق النباتات الجافة كل على حدى في دورق زجاجي نظيف حجم 1000 مل واضيف له 800 مل من الماء المقطر المعقم للحصول على المستخلص المائي و800 مل من الكحول المثيلي للحصول على المستخلص الكحولي. سدت فوهات الدوارق الزجاجي وتركت لمدة 48 ساعة في جو المختبر مع التحريك والخلط بين فترة واخرى. رشح الخليط بعد ذلك من خلال عدة طبقات من الموسيلين كمرحلة أولى، ثم وضع الراشح الناتج في جهاز الطرد المركزي على سرعة 3500 دورة/ دقيقة وبشكل دفعات للحصول على مستخلص رائق. وضعت المستخلصات المائية والكحولية في فرن كهربائي على درجة حرارة 40 مئوية لحين الجفاف، قشطت المستخلصات الجافة ووضعت في علب معقمة جافة ونظيفة من البولي اثلين وحفظت في درجة حرارة 4 مئوية لحين الاستعمال.

اختبار المواد النباتية (مساحيق، مستخلصات كحولية) في النمو الشعاعي لعزلة الفطر A.flavus (AF18) على وسط الـ PDA: استعملت تقنية التسميم الغذائي لاختبار تأثير المواد النباتية في نمو الشعاعي للعزلة الفطرية A. flavus (AF18) على الوسط الغذائي PDA (20). جهز الوسط الغذائي البطاطا دكستروز اكر وفقا لتعليمات الشركة المجهزة HIMEDIA، بإذابة 39 غرام من مسحوق الوسط مع 1000 مل ماء مقطر، وزع الخليط على دوارق زجاجية حجم 250 مل (100 مل/ دورق). عقم الوسط في المؤصدة على درجة حرارة 121 مئوية وضغط 1.5 كغم/ سم^3 لمدة 20 دقيقة. ترك الوسط ليبرد حتى درجة حرارة 40 مئوية وقبل التصلب اضيف له المضاد الحيوي Tetracycline (200 ملغم/ لتر) واضيفت المواد النباتية المعقمة بتراكيز (10 و15 و20 ملغرام مل$^{-1}$) من كل نوع نباتي وبثلاث مكررات لكل تركيز. حركت الدوارق بلطف لضمان مجانسة المواد المضافة في الوسط الغذائي، ثم صب الوسط في اطباق بتري قطر 9 سم وتركت حتى التصلب، وتركت ثلاث اطباق بدون اي اضافة في الوسط الغذائي كمعاملة مقارنة. لقحت جميع الاطباق في الوسط بقرص من حافة مستعمرة الفطر A. flavus (AF18) بعمر سبع ايام بواسطة ثاقب فليني معقم بقطر 5 ملم. وضعت الاطباق في الحاضنة على درجة حرارة 25± 2 مئوية. بعد اكتمال نمو الفطر في اطباق المقارنة، حسبت اقطار نمو الفطر في بقية المعاملات بأخذ قطرين متعامدين كمعدل لنمو الفطر وحسبت النسبة المئوية للتثبيط من المعادلة ادناه.

$$\text{\% للتثبيط} = \frac{\text{معدل قطر المستعمرة في معاملة المقارنة} - \text{معدل قطر المستعمرة في المعاملة}}{\text{معدل قطر المستعمرة في معاملة المقارنة}} \times 100$$

اختبار قابلية المواد النباتية (مستخلص مائي، مستخلص كحولي) في اختزال سم AFB1 المنتج من قبل الفطر *A.flavus* في وسط الخميرة السائل (YES): حضر وسط الخميرة السائل (YES) في دورق زجاجي حجم 1 لتر، بعد التعقيم في الموصدة على حرارة 121م وضغط 1.5 كغم/ سم^2 برد الوسط الى 40 م، نميت فيه عزلة الفطر *A. flavus* (AF18) (بإضافة قرص بحجم 5 ملم من حافة المزرعة الفطرية بعمر 7 ايام) ووضع الوسط في حاضنة على حرارة 27 ± 2 م. بعد مرور 21 يوم رشح الوسط الزرعي وتم قياس تركيز الافلاتوكسين B1 بواسطة الواح الطبقة الرقيقة وبمرافقة المادة القياسية وفق المعادلة المذكورة سابقا (7)، وزع الراشح على قناني مزودة بغطاء معدني لولبي حجم 25 مل بواقع 10 مل من المستخلص لكل قنينة، أضيفت المواد النباتية (مستخلص مائي، مستخلص كحولي) المعقمة الى الوسط بثلاث تراكيز (10، 15 و20 ملغم مل$^{-1}$) على التوالي بمعدل ثلاثة مكررات لكل تركيز مع ترك ثلاث مكررات بدون اضافة لمعاملة السيطرة، وضعت القناني في درجة حرارة الغرفة لمدة 24 ساعة مع الرج اللطيف بين فترة واخرى. تم استخلاص الافلاتوكسين B1 من العينات بإضافة المستخلص (10 مل) الى قمع فصل واضيف اليه 25 مل كلوروفورم بدفعتين ورج قمع الفصل بهدوء عدة مرات، وفتح القمع للتخلص من الغازات المتكونة اثناء الرج (4)، بعد انتهاء فترة الرج تم تثبيت قمع الفصل على حامل لحين انفصال طبقتي الوسط في اعلى القمع والكلوروفورم في الأسفل، جمعت طبقة الكلوروفورم في انابيب زجاجية مزودة بغطاء سعة 25 مل، ووضعت في الفرن الكهربائي على درجة حرارة 40 م^o للتجفيف، تم

حفظها في المجمدة لحين اجراء عملية الترحيل على الواح الطبقة الرقيقة وقياس تركيز الافلاتوكسن B1 المدمص على المواد النباتية المختبرة.

اختبار كفاءة المساحيق النباتية والمستخلصات الكحولية في تثبيط نمو الفطر *A.flavus* وانتاج سم الافلاتوكسين B1 في الذرة الصفراء المخزونة: حضرت علب بوليمر بحجم 250 مل معقمة، وضع فيها 100 غرام حبوب ذرة صفراء معقمة ثم اضيف لها المسحوق الجاف (باودر) للنباتات المختبرة وبثلاث تراكيز (1، 2، 3 غرام 100 غرام علبة$^{-1}$) بثلاث مكررات لكل تركيز. رجت العلب جيدا لضمان تجانس مسحوق النباتات بين البذور، ثم اضيف لكل علبة 1 مل من عالق سبورات العزلة الفطرية بتركيز 1×10^{6} سبور مل$^{-1}$ ورجت العلب مرة ثانية لتوزيع سبورات الفطر في العلبة بشكل متجانس ايضا. تركت ثلاث علب بدون اضافة اي نوع من المساحيق النباتية كمعاملة مقارنة، بعدها خزنت العلب بدرجة حرارة المختبر للفترة من 2022/2/10 لغاية 2022/5/10، ثم تم قياس تركيز AFB1 فيها.

التحليل الاحصائي: اعتمد التحليل الاحصائي باستعمال البرنامج SAS 2021 باستعمال التصميم العشوائي الكامل Complete Randomized Design (CRD) وقورنت الفروق المعنوية بين المتوسطات باستعمال اقل فرق معنوي تحت مستوى احتمالية 0.05.

النتائج والمناقشة

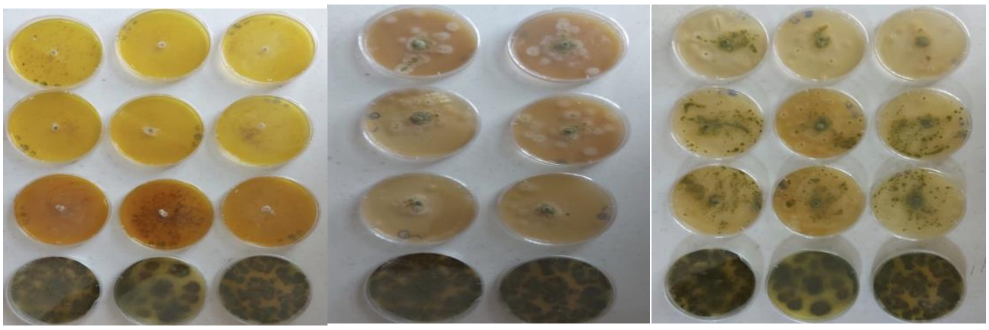
تأثير المساحيق النباتية على معدل النمو الشعاعي للفطر *Aspergillus flavus* في وسط PDA: اظهرت النتائج في الجدول 2 وجود فروق معنوية عالية بين النوع النباتي المستعمل والتركيز في التأثير على النمو الشعاعي للفطر *A.flavus* (AF18) مقارنة بمعاملة السيطرة على وسط PDA وبينت النتائج ان هناك علاقة طردية بين التركيز المستعمل للمسحوق النباتي ونسبة التثبيط (شكل 1). حيث تفوق استعمال مسحوق الكركم في تأثيره التثبيطي على النمو الشعاعي للفطر على بقية المساحيق النباتية الاخرى للنباتات المختبرة، اذ بلغ النمو الشعاعي للفطر بتركيز 10 ملغم مل$^{-1}$ معدل 1.5 سم بنسبة تثبيط 82.18%. واعلى نسبة 87.41% عند التركيز 20 ملغم مل$^{-1}$. في حين اعطى مسحوق قشور الرمان اعلى معدل لنمو الفطر بتركيز 10 ملغم مل$^{-1}$ بلغ 3 سم بنسبة تثبيط بلغت 66.66% واقل معدل لنمو الفطر 1.3 سم عند التركيز 20 ملغم مل$^{-1}$ بنسبة تثبيط بلغت 85.18%. في حين حل تأثير مسحوق قشور الموز بالمرتبة الثالثة حيث كان معدل النمو الشعاعي للفطر عند التركيز 10 ملغم مل$^{-1}$ هو 3.2 سم بنسبة تثبيط 64.07%، في حين كان اقل معدل للنمو الشعاعي 1.4 سم عند التركيز 20 ملغم مل$^{-1}$ بنسبة تثبيط 83.7%.

جدول 2: تأثير تراكيز مختلفة من المساحيق النباتية على معدل نمو الفطر Aspergillus flavus (AF18) في وسط PDA.

ت	المعاملة	التركيز ملغرام مل-1	معدل قطر المستعمرة سم *	نسبة التثبيط %
1	جذور الكركم + *A. flavus*	10	1.533	82.18
		15	1.333	85.96
		20	1.133	87.41
2	قشور الرمان + *A. flavus*	10	3.000	66.66
		15	2.500	72.22
		20	1.333	85.18
3	قشور الموز + *A. flavus*	10	3.233	64.07
		15	2.067	77.03
		20	1.467	83.7
4	Control	0	9.000	0
	$LSD_{0.05}$		0.6471	

* القيم في العمود تمثل معدل ثلاث مكررات.

Effect of different concentrations of plant powders on the growth rate of the fungus *Aspergillus flavus* (AF18) in PDA medium, the use of turmeric powder was superior in its inhibitory effect on the radial growth of the fungus to the other of tested plant powders.



تأثير مسحوق الموز تأثير مسحوق الرمان تأثير مسحوق الكركم

شكل 1: تأثير تراكيز مختلفة من المساحيق النباتية في تثبيط الفطر A.flavus (AF18) على وسط PDA.

The effect of different concentrations of plant powders on inhibiting the radial growth of fungus A.flavus (AF18) on PDA media.

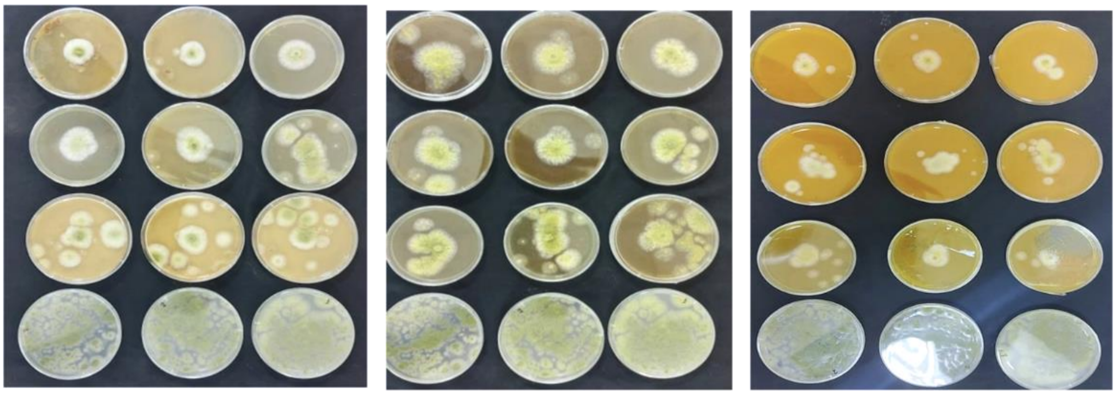
تأثير المستخلصات المائية على معدل النمو الشعاعي للفطر Aspergillus flavus (AF18) في وسط PDA: لم تختلف نتائج تأثير استعمال المستخلصات المائية للنباتات المختبرة على معدل نمو الفطر A. flavus ونسب التثبيط عنه عند استعمال المساحيق للنباتات نفسها (جدول 3)، حيث اظهرت النتائج استعمال تراكيز مختلفة من المستخلص المائي للنباتات المستعملة وجود فروق معنوية عالية في معدل نمو الفطر الشعاعي والتأثير في نسب التثبيط مقارنة بمعاملة السيطرة على وسط PDA (شكل 2). اظهر المستخلص المائي للكركم كفاءة عالية في تأثيره على معدل نمو الفطر عند التركيز 20 ملغم مل$^{-1}$ حيث بلغ 1.1 سم ونسبة تثبيط بلغت 87.41% عن معاملة المقارنة متفوقا على المستخلص المائي لقشور الرمان عند التركيز نفسه بمعدل نمو 1.2 سم ونسبة تثبيط 86.66% في حين كان معدل نمو الفطر 1.5 سم ونسبة تثبيط 82.96% بالنسبة لتأثير المستخلص المائي لقشور الموز عند نفس التركيز.

جدول 3: تأثير تراكيز مختلفة من المستخلصات المائية على معدل نمو الفطر Aspergillus flavus (AF18) في وسط PDA.

ت	المعاملات	التركيز ملغرام مل$^{-1}$	معدل قطر المستعمرة سم *	نسبة التثبيط %
1	جذور الكركم + *A.flavus*	10	2.300	74.44
		15	1.567	82.58
		20	1.133	87.41
2	قشور الرمان + *A. flavus*	10	2.467	72.58
		15	1.367	84.81
		20	1.200	86.66
3	قشور الموز + *A. flavus*	10	2.533	71.85
		15	2.300	74.41
		20	1.533	82.96
4	Control	0	9.000	0
	$LSD_{0.05}$		0.6897	

* القيم في العمود تمثل معدل ثلاث مكررات.

Effect of different concentrations of aqueous extracts on the growth rate of Aspergillus flavus (AF18) in PDA medium. Plant extracts showed the highest rate of inhibition of fungal growth at a concentration of 2 mg. ml^{-1}, and turmeric achieved the highest rate of inhibition (87.44%), followed by pomegranate peel extract and banana peels at 86.66% and 82.96%, respectively.



تأثير المستخلص المائي للكركم تأثير المستخلص المائي للموز تأثير المستخلص المائي للرمان

شكل 2: تأثير تراكيز مختلفة من المستخلصات المائية في تثبيط الفطر A.flavus على وسط PDA.

Effect of different concentrations of aqueous extracts on inhibiting the fungus A.flavus on PDA medium. The photo to the left shows the effect of turmeric in the middle shows the effect of banana peels, and to the right shows the effect of pomegranate peels.

تأثير المستخلص الكحولي على معدل النمو الشعاعي للفطر Aspergillus flavus (AF18) في وسط PDA: بينت نتائج تأثير المستخلصات الكحولية على النمو الشعاعي لعزلة الفطر A.flavus (AF18) على وسط PDA فروق معنوية عالية بين معدلات النمو للفطر ونسب التثبيط سواء بالنسبة لنوع المستخلص الكحولي للنبات او نسبة التركيز مقارنة بمعاملة السيطرة (جدول 4). اظهر المستخلص الكحولي للكركم نسبة تثبيط في معدل نمو الفطر هي الاعلى عند التركيز 20 ملغم مل$^{-1}$ بلغت 94.07% يليه المستخلص الكحولي لقشور الموز والرمان بنسبة تثبيط 93.33% و88.14% على التوالي عند التركيز نفسه (20 ملغم مل$^{-1}$) (شكل 3). وتشير نتائج الجدول الى كفاءة المستخلصات الكحولية للنباتات المختبرة على تثبيط معدلات النمو للفطر حتى

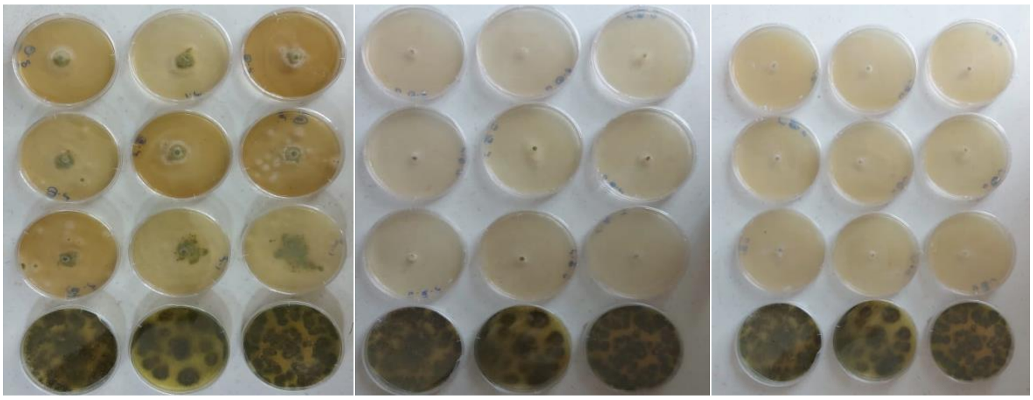
في التراكيز الواطئة اذ بلغت اعلى نسبة تثبيط للمستخلص الكحولي للكركم 91.85% عند التركيز 10 ملغم مل$^{-1}$ يليه المستخلص الكحولي لقشور الموز والرمان بنسبة تثبيط 90% و84.81% على التوالي وعند التركيز نفسه.

جدول 4: تأثير تراكيز مختلفة من المستخلصات الكحولية على معدل نمو الفطر Aspergillus flavus في وسط PDA.

ت	المعاملات	التركيز ملغرام مل$^{-1}$	معدل قطر المستعمرة سم *	نسبة التثبيط %
1	جذور الكركم + *A.flavus*	10	0.733	91.85
		15	0.600	93.33
		20	0.533	94.07
2	قشور الرمان + *A. flavus*	10	1.367	84.81
		15	1.167	87.03
		20	1.067	88.14
3	قشور الموز + *A. flavus*	10	0.900	90
		15	0.667	92.58
		20	0.600	93.33
4	Control	0	9.000	0
	$LSD_{0.05}$		0.2583	

* القيم في العمود تمثل معدل ثلاث مكررات.

Effect of different concentrations of alcoholic extracts on the growth rate of the fungus Aspergillus flavus in PDA medium. The inhibition rate of turmeric curcumin extract is the highest (94.07%) at a concentration of 2 mg ml-1, followed by banana peel extract and pomegranate (93.33%) (88.14%), respectively.



تاثير المستخلص الكحولي للكركم تاثير المستخلص الكحولي للرمان تاثير المستخلص الكحولي للموز

شكل 3: تأثير تراكيز مختلفة من المستخلصات الكحولية في تثبيط الفطر A.flavus على وسط PDA.

Effect of different concentrations of alcoholic extracts on inhibiting the fungus A.flavus on PDA medium.

نلاحظ من الجداول (2، 3، 4) وجود فروقات واضحة بين المساحيق النباتية و المستخلصات المائية والكحولية في تأثيراتها على معدل النمو للعزلة الفطرية A.flavus (AF18) فرغم وجود نسب تثبيط عالية ومعنوية على نمو العزلة الفطرية باستعمال المساحيق النباتية لكن النتائج اظهرت نسبة تأثير اقل مما هو علية الحال عند استعمال المستخلصات المائية والكحولية وهذا يعود ربما الى ان المواد الفعالة في مسحوق النباتات المختبرة لم تتحلل مائيا لتصلب الوسط الزرعي وعدم انتشار المواد الفعالة التي تحتويها المساحيق النباتية بشكل كامل واقتصر التثبيط على اماكن التلامس بين جدار الهايفة للفطر وبين جزيئات المادة النباتية في الوسط الصلب (PDA). ان

المستخلصات الكحولية قد اظهرت فاعلية تثبيطية أعلى من المستخلصات المائية في كل من نباتات الكركم والرمان والموز، وذلك بسبب ان قسم من المواد الفعالة التي تحتويها النباتات لا تذوب في الماء بينما تذوب في المذيبات العضوية مثل الكحول كذلك سبب الاختلاف بين النباتات في تأثيرها على نمو الفطر A. flavus إلى ما تحتويه هذه النباتات من مركبات كيميائية أساسية وثانوية بالإضافة الى نوعية مركباتها الفعالة التي يرجع اليها التأثير التثبيطي، أي يحتوي النبات الواحد على أكثر من مادة فعالة واحدة (1).

تأثير اضافة المستخلصات المائية للنباتات المختبرة على اختزال الافلاتوكسين B1 في المحاليل المائية: تبين القيم في جدول 5 نتائج استعمال المستخلصات المائية للنباتات المختبرة في قابليتها على اختزال الافتوكسين B1 من الاوساط المائية. بينت النتائج نسب اختزال مختلفة وعالية لسم الافلاتوكسين B1 في الاوساط المائية بين المعاملات وبين معاملة السيطرة. اظهر الاختبار تميز المستخلص المائي للكركم والرمان بكفاءة عالية في اختزال سم الافلا، اذ كان اعلى تركيز للسم 20 جزء بالبليون عند اضافة 10 ملغم مل$^{-1}$ من المستخلص بنسبة اختزال بلغت 87.99%. تساوت نسبة الاختزال للكركم والرمان عند اضافة 20 ملغم مل$^{-1}$ بنسبة اختزال 93.99% متفوقة على المستخلص المائي للموز عند التركيز نفسه، اذ بلغ تركيز السم 25 جزء بالبليون وبنسبة اختزال 84.99%.

جدول 5: تأثير اضافة المستخلصات النباتية المائية على اختزال سم الافلاتوكسين في المحاليل المائية.

ت	المعاملات	التركيز ملغرام مل$^{-1}$	تركيز السم ppb *	نسبة الاختزال%
1	جذور الكركم + *A. flavus*	10	20	87.99
		15	20	87.99
		20	10	93.99
2	قشور الرمان + *A. flavus*	10	20	87.99
		15	20	87.99
		20	10	93.99
3	قشور الموز + *A.flavus*	10	30	81.99
		15	25	84.99
		20	25	84.99
4	Control	0	166.6	0
	$LSD_{0.05}$	0	8.079	0

* القيم في العمود تمثل معدل ثلاث مكررات.

The effect of adding aqueous plant extracts on the reduction of aflatoxin in aqueous solutions. The aflatoxinB1 reduction percentage was 93.33% for the aqueous extract of turmeric and pomegranate peels and 84.99% for the aqueous extract of banana peels at a concentration of 2 mg ml-1.

تأثير اضافة المستخلصات الكحولية للنباتات المختبرة في اختزال سم الافلاتوكسين B1 في المحاليل المائية:

اظهر اختبار كفاءة المستخلصات النباتية الكحولية للنباتات تحت الدراسة على اختزال سم الافلا في المحاليل المائية نتائج مشابهة عن تلك المحصل عليها من استعمال المستخلصات المائية (جدول 6). رغم ان نسبة الاختزال للسم كانت عالية نسبة الى معاملة السيطرة غير انها مقاربة للنتائج التي حققتها المستخلصات المائية. اظهر استعمال المستخلص الكحولي لقشور الرمان اعلى تأثير في تركيز سم الافلا اذ بلغ 10 جزء بالبليون عند التركيز 15 و20 ملغم مل$^{-1}$ وبنسبة اختزال 93.99% مقارنة بمعاملة السيطرة، وهي النتيجة نفسها التي حققها استعمال

المستخلص الكحولي للكركم بتركيز 20 ملغم مل$^{-1}$. بينت النتائج ايضا ان اقل تركيز لسم الافلا في الوسط المائي في معاملة المستخلص الكحولي لقشور الرمان عند استعماله بتركيز 10 ملغم مل$^{-1}$، اذ بلغ 20 جزء بالمليون وبنسبة اختزال 87.99% شاركه في النتيجة هذه استعمال المستخلص الكحولي للكركم بالتركيزين 10 و15 ملغم مل$^{-1}$. في حين اظهر استعمال المستخلص الكحولي لقشور الموز اقل نسبة اختزال من بين الانواع النباتية الاخرى، حيث كان تركيز سم الافلا 25 جزء بالبليون وبنسبة اختزال 84.99% عند التركيز 10 ملغم مل$^{-1}$ ولم تختلف هذه النسب عند اضافة التراكيز الاعلى (15 و20 ملغم مل$^{-1}$).

جدول 6: تأثير اضافة المستخلصات النباتية الكحولية على اختزال الافلاتوكسين B1 في المحاليل المائية.

ت	المعاملات	التركيز ملغرام مل$^{-1}$	تركيز السم ppb *	نسبة الاختزال %
1	جذور الكركم + *A. flavus*	10	20	87.99
		15	20	87.99
		20	10	93.99
2	قشور الرمان + *A. flavus*	10	20	87.99
		15	10	93.99
		20	10	93.99
3	قشور الموز + *A. flavus*	10	25	84.99
		15	25	84.99
		20	25	84.99
4	Control	0	166.6	0
	$LSD_{0.05}$	0	8.079	0

The effect of adding alcoholic plant extracts on the reduction of aflatoxin B1 in aqueous solutions. The aflatoxinB1 reduction values when using alcoholic plant extracts did not differ from their values when using aqueous extracts at the same concentrations.

اشارت نتائج هذ الدراسة الى قابلية المواد النباتية سواء ان كانت مستخلصات مائية او كحولية في اختزال سم الافلاتوكسين B1 من الاوساط المائية، وهي نتائج متوافقة مع نتائج سابقة اشارت الى فعالية المواد النباتية لأنواع نباتية اخرى او لنفس الانواع المستعملة في الدراسة في اختزال السموم الفطرية، وقد يعزى هذا الامر الى الارتباط الوثيق الذي تعمله المركبات الفعالة مع جزيئة سم الافلاتوكسين B1 مما يغير في الصفات الفيزيائية للسم او ربما حتى في الصفات الكيميائية مما يبطل التأثير الاحيائي السلبي له، او عدم امكانية الكشف عنه. أو ربما تعمل المواد الفعالة في المستخلصات تكون مركب Acetate من الايض الأولي الذي يعتبر اللبنة الأساسية في تكوين سم الافلاتوكسين B1، كما وتتوافق نتائج الدراسة مع دراسات اخرى اشارت الى استعمال النباتات الطبية في اختزال الافلاتوكسين اذ وجد (16) أن معاملة الفطر A.flavus بالتراكيز (5، 10، 15 ملغم مل$^{-1}$) من مستخلص الكركم الكحولي والزعتر المائي يؤدي الى عدم ظهور سم الافلاتوكسين B1 وB2. اما عند معاملة الفطر بتركيز 5 ملغم مل$^{-1}$ ادى الى ظهور سم الافلاتوكسين B1 لكلا المستخلصين، أشار (3) ان اضافة مسحوق Ganoderma lucidum بتركيز 5 ملغم مل$^{-1}$ الى وسط YES الذي يحتوي على الافلاتوكسين B1 يؤدي الى اختزال في السم بنسبة 27.63%. اشار (2) أن اضافة مسحوق الديباج وورد لسان الثور الى العليقة الملوثة بسم Ochratoxin بتركيز 2 PPb وسم DON بتركيز 5 ppb اثرت على نسبتهما في العليقة اذ حقق مسحوق

الديباج أعلى اختزال كان بنسبة 67.79% وحقق ورد لسان الثور أعلى نسبة اختزال بلغت 63.8% عند تركيز 5% من وزن العليقة.

تأثير اضافة المساحيق النباتية على نمو الفطر A. flavus في الذرة الصفراء المخزونة واختزالها للافلاتوكسين B1: تم الكشف عن سم الافلاتوكسين B1 في الذرة الصفراء المخزونة والمعاملة بالمساحيق النباتية قيد الدراسة بطريقة الفحص المناعي بالأنزيم المرتبط ((Enzyme – linked Immunosorbent Assay (ELISA). بينت النتائج عن وجود فروق معنوية عالية في تراكيز سم الافلاتوكسين B1 في التجربة الخزنية لحبوب الذرة باختلاف المساحيق النباتية المستعملة وباختلاف التراكيز من جهة وبين معاملة المقارنة من جهة اخرى (جدول 7)، اذ اظهرت النتائج كفاءة عالية للمساحيق النباتية الثلاث على تثبيط نمو عزلة الفطر A. flavus (AF18) على بذور الذرة الصفراء المعاملة وبالتالي تأثيرها في انتاج السم. اظهر مسحوق نبات الرمان اعلى نسبة تثبط للنمو الفطري محققا اعلى نسبة اختزال في تركيز السم بلغ 89.10% عند التركيز 20 ملغم مل$^{-1}$، اذ بلغ تركيز السم 14.16 جزء بالبليون مقارنة بمعاملة السيطرة التي بلغ فيها تركيز السم 129.96 جزء بالبليون. يليه بالتأثير استعمال مسحوق قشور الموز حيث بلغ تركيز السم 24.12 جزء بالبليون وبنسبة اختزال بلغت 81.44% عند نفس التركيز (20 ملغم مل$^{-1}$) وحل ثالثا استعمال مسحوق الكركم اذ بلغ تركيز السم 29.95 جزء بالبليون بنسبة اختزال 76.95%. ويظهر من النتائج ان المركبات الفعالة الموجودة في مسحوق الرمان كان لها دور كبير في تثبيط نمو الفطر واختزال السم بنسبة عالية وهذه النتائج تتفق مع العديد من الدراسات التي بينت الاثر الفعال لمسحوق قشور الرمان على مقاومة الفطريات الممرضة وخاصة الفطر A.flavus (12 و14). اما فاعلية مسحوق الكركم فقد اكدت النتائج كفاءته العالية ايضا في اختزال مستويات سم الافلا من خلال تثبيط نمو الفطر الملوث للذرة وهذه النتائج تتوافق مع ما توصل اليه (5 و17) في استعمال مسحوق الكركم ضد العديد من الفطريات المهمة منها Aspergillus sp و Fusarium sp.

كذلك استعمل (9) مسحوق الكركم لسحب سم الافلاتوكسين M1 من حليب الابقار وبنسب عالية، واعتبرت مواد مثبطة وفعالة ضد الفطريات، في حين ذكر (21) الى ان استخدام مستخلص قشور الموز على الذرة المعاملة بالافلاتوكسين والمخزونة لمدة شهر اعطى نتائج ايجابية فيما يتعلق بتقليل نمو الفطريات وبالتالي مستويات الافلاتوكسين وهذا ما يعطي نتيجة وقائية محتملة لتخزين الحبوب كذلك ذكر (16) فعالية مسحوق قشور الموز ضد نمو الفطريات Aspergillus falvus و A. parasiticus المنتجة لسم الافلاتوكسين B1.

جدول 7: تأثير اضافة تراكيز مختلفة من المساحيق النباتية على نمو الفطر A. flavus وتركيز سم الافلاتوكسين B1 على الذرة الصفراء المخزونة.

ت	المعاملات	التركيز ملغرام مل-1	تركيز السم ppb*	نسبة الاختزال%
1	جذور الكركم + *A. flavus*	10	98.57	24.15
		15	51.38	60.46
		20	29.95	76.95
2	قشور الرمان + *A. flavus*	10	91.33	29.72
		15	51.7	60.21
		20	14.16	89.10
3	قشور الموز + *A. flavus*	10	94.01	27.66
		15	63.03	51.50
		20	24.12	81.44
4	Control	0	129.96	0
	L.S.D $_{0.05}$	0	2.075	0

* القيم في العمود تمثل معدل ثلاث مكررات.

The effect of adding different concentrations of plant powders on the growth of the fungus A. flavus and the concentration of aflatoxin B1 on stored yellow corn.

الاستنتاجات

اظهرت المستخلصات النباتية المختبرة المائية والكحولية قدرات عالية ومختلفة في نفس الوقت على تثبيط النمو الشعاعي للفطر *A. flavus* على وسط ال PDA. كذلك تباينت نسب التأثير للمستخلصات الكحولية عن المائية للنوع النباتي الواحد. اظهرت قيم التأثير بحسب التراكيز المستعملة وجود علاقة طردية بين التركيز المستعمل ونسبة التأثير على النمو القطري للفطر. وتشير نتائج اختزال الافلاتوكسين في المحاليل المائية الى امكانية استعمال هذه المستخلصات او المساحيق النباتية في الاغذية او العلائق لتقليل الاثار الضارة للافلاتوكسين الملوث للمنتجات الزراعية او الاغذية. وان الكركم كان الافضل من بين الانواع النباتية المستعملة.

Supplementary Materials:
No Supplementary Materials.

Author Contributions:
Author 1; writing original draft preparation, Author 2; methodology, Lab. Analysis, check all figures, draw figure, read and rewrite some figures then agreed to the published version of the manuscript.

Funding:
This research received no external funding.

Institutional Review Board Statement:
The study was conducted accordance to Central Ethics Committee, University of Anbar.

Informed Consent Statement:
No Informed Consent Statement.

Data Availability Statement:
No Data Availability Statement.

Conflicts of Interest:
The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgments:

The authors are thankful for the help of the Head of Plant protection Dept. The College of Agriculture, University of Anbar, Iraq and field team for supporting helps all time of this study.

Disclaimer/Journal's Note:

The statements, opinions, and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of AJAS and/or the editor(s). AJAS and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions, or products referred to in the content.

المصادر

1- Abdullahi, N., and Dandago, M. A. (2021). Aflatoxins in food grains: Contamination, dangers and control. Fudma journal of sciences, 5(4): 22-29. https://doi.org/10.33003/fjs-2021-0504-776.

2- AL-Baldawi, M. S. (2012). The effectiveness of some medicinal plants and chemical compounds in removing and degrading Okra A and Deoxynivalenol outside the living body and in quail diet, PhD thesis. Agriculture college. Baghdad Univ. 149 p.

3- AL-Tememy, S. N. (2013). The effect of some biological, and nano chemical agents on reducing aflatoxin B1 and protecting yellow corn grains from infection by *Aspergillus flavus*. Master Thesis. College of Education for Pure Sciences- Karbala University.

4- AOAC, Association of Official Analytical Chemists. (2005). Animal feed. Official methods of analysis of Official Analytical Chemists International :52. Asia. Pac. J. Clin. Nutr., 16(1): 95-101.

5- Chen, C., Long, L. I., Zhang, F., Chen, Q., Chen, C., Yu, X., ... and Long, Z. (2018). Antifungal activity, main active components and mechanism of Curcuma longa extract against Fusarium graminearum. PloS one, 13(3): e0194284. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0194284.

6- Cocker, R. D., Jones, B. D., Nagler, M. J., Jnpart, G. A., Wellbridge, A. J., and Panigrahi, S. (1984). Mycotoxin training manual tropical development and research institute overseas development administration. Clerken well Road. London Eeir 5DB: 127.

7- Egan, H., Fishbein, L., O'Neill, I. K., Castegnaro, M., and Bartsch, H. (1981). Environmental carcinogens selected methods of analysis, (No. 40).

8- FAO, Food and Agricuitural Organization of United Nations. (2009). Grasslands pecies profiles: *zea mays* L.

9- Girolami, F., Barbarossa, A., Badino, P., Ghadiri, S., Cavallini, D., Zaghini, A., and Nebbia, C. (2022). Effects of turmeric powder on aflatoxin M1 and aflatoxicol excretion in milk from dairy cows exposed to aflatoxin B1 at the EU maximum tolerable levels. Toxins, 14(7): 430. https://doi.org/10.3390/toxins14070430.

10- Ishfaq, A., Dar, Z. A., Lone, A. A., Ali, G., Gazal, A., Hamid, B., and Mohiddin, F. A. (2014). Disease reaction studies of maize (Zea mays L.) against turcicum leaf blight involving indigenously identified cytosterile source. African Journal of Microbiology Research, 8(27): 2592-2597.

11- Kerem, Z., German-Shashoua, H., and Yarden, O. (2005). Microwave-assisted extraction of bioactive saponins from chickpea (Cicer arietinum L). Journal of the Science of Food and Agriculture, 85(3): 406-412. https://doi.org/10.1002/jsfa.1989.
12- Khan, H., Nabavi, S. M., and Habtemariam, S. (2018). Anti-diabetic potential of peptides: future prospects as therapeutic agents. Life sciences, 193: 153-158. https://doi.org/10.1016/j.lfs.2017.10.025.
13- Koehler, P. E., Hanlin, R. T., and Beraha, L. (1975). Production of aflatoxins B1 and G1 by Aspergillus flavus and Aspergillus parasiticus isolated from market pecans. Applied microbiology, 30(4): 581-583. https://doi.org/10.1128/am.30.4.581-583.1975.
14- Krishnamurthy, Y. L., and Shashikala, J. (2006). Inhibition of aflatoxin B1 production of Aspergillus flavus, isolated from soybean seeds by certain natural plant products. Letters in applied microbiology, 43(5): 469-474. https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2006.02011.x.
15- Mahantesh, M. (2006). Combining ability and heteroises analysis for grain yield Components in single cross hybrids of maize (*Zea may L.*) M. Sc. of agric in genetics and plant breeding. Dhward, India.
16- Nemia, A. A. (2011). Investigating some aflatoxin-producing fungi in some foods and trying to reduce their damage by using some plant extracts and vitamins. Master Thesis, College of Education for Pure Sciences. Karbala University
17- Oza, K., Jain, B. K., and Maitreya, B. (2021). Antifungal activity of turmeric (Curcuma longa) rhizome against different fungi. Journal of Natural Sciences and Mathematics, 11(64): 29014-29017.
18- Sachin, D. N., and Misra, P. (2009). Effect of Azotobacter chroococcum (PGPR) on the growth of bamboo (Bambusa bamboo) and maize (Zea mays) plants. Biofrontiers, 1(1): 24-31.
19- Scott, M. P., and Emery, M. (2016). Maize: overview. Encyclopedia of Food Grains. 2nd edition. Academic Press, Oxford, 99-104. http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-394437-5.00022-X.
20- Sudhakar, P., Latha, P., Sreenivasulu, Y., Reddy, B. V., and Hemalatha, T. M. (2009). Inhibition of Aspergillus flavus colonization and aflatoxin (AfB1) in peanut by methyleugenol. Ind. J. Exp. Biol., 47: 63-67.
21- Youssef, N. H., Qari, S. H., Matar, S., Hamad, N. A., Dessoky, E. S., Elshaer, M. M., ... and Behiry, S. I. (2021). Licorice, doum, and banana peel extracts inhibit Aspergillus flavus growth and suppress metabolic pathway of aflatoxin B1 production. Agronomy, 11(8): 1587. https://doi.org/10.3390/agronomy11081587.