التأثير المثبط لمستخلص قشور الرمان *Punica granatunm .L* تجاه بعض الاعفان

امنة محمد علي
شهباء حميد مجيد
الجامعة المستنصرية / كلية التربية الاساسية
قسم العلوم

الخلاصة

هدف البحث الى دراسة فعالية المستخلص المائي لقشور الرمان *Punica granatum .L*في تثبيط نمو الاعفان المسببه لتلف وفساد الاغذيه في الوسط الغذائي،وبينت نتائج الاختبارات الكيميائيه للمواد الفعاله في المستخلص المائي لقشور الرمان عن وجود عدد من المركبات الفعاله مثل التانينات،الكلايكوسيدات،الفلافونات والفينولات، واوضحت هذه الاختبارات ايضا وجود مواد اخرى مثل صابونيات ،القلويدات والراتنجات ، وكان الاس الهيدروجيني4.3، وعند دراسه الفعاليه التبيطيه للمستخلص المائي لقشور الرمان ضد كل من العفن و*Aspergillus Flavus* و *Aspergillus Ochraecus* والعفن *Fusarium graminearum* لوحظ ان تاثير المستخلص كان اكثر فعاليه بتركيز 10 مل اذ كانت نسبه التثبيط 58.5 % و 54.4% و 51.5% للفطريات *Aspergillus flavus* و *Aspergillus Ochraecus* و *Fusarium graminearum* على التوالي.

المقدمة :

الرمان Pomegranate اسمه العلمي *Punica granatuml.* ينتمي الى العائلة الرمانية Punicaceae التي تحتوي على جنس واحد ونوعين الاول *P.proto – punica Balf* وهو قليل الانتشار تتميز به جزيرة سوقطرة في الجمهورية اليمنية أما النوع الثاني فهو Punica *granatum* .وجدت هذه الشجرة في الشرق الاوسط منذ عام 5000 ويعتقد ان شمال العراق وايران هما الموطنان الاصليان للرمان (١و٢) ونظرا لوجود خزين وطني من هذه الشجيرة في العراق (٣) ولأمكانية تحضير مستخلصاتها بتقانات سهلة وكلفة ارخص لذا تضمنت هذه الدراسة استخدام المستخلصات المائية لقشور ثمار الرمان في مقاومة بعض الفطريات الممرضة والتي تميزت عزلاتها بانتاجها للسموم الفطرية Mycotoxin وهي منتجات ايض ثانوي تتعرض لها

المنتجات الزراعية قبل الحصاد وما بعد الجني واثناء الخزن (٤) اذ يتميز الفطر *Aspergillus flavns* بمقدرته العالية على انتاج اكثر السموم الفطرية خطورة و وجود على سطح الكره الارضية ويعتبر الافلاتوكسين B_1 من اهم المركبات التي لها دور كبير في احداث الامراض السرطانية لمعظم الكائنات الحية التي تتعرض الى مواد حاملة لهذه المركبات (٥، ٧،٦) . اما الفطر *A.ochraceus* يعتبر من اهم الفطريات القادرة على انتاج سم ال OchratoxinA على معظم المواد والاوساط الغذائية مسببا" حالات مرضية خطيرة على الكائنات الحية فهو بالدرجة الاولى سم كلوي Nephrotoxic ويؤثر على الكبد Heptatoxic ويشابه في تأثيره الافلاتوكسين B_1 ويسبب كذلك تشوه الاجنة Teratogenic وهو عامل مسرطن Carcinogenic ويقوم بتثبيط جهاز المناعة Immunosupressive (١٠،٩،٨) .

في حين ينتج الفطر *Fusarium graminearum* السم زير الينون Zearalenon (Zer) الذي يسبب اضرار واسعة في صحة الانسان والحيوان وتقليل منتجات حيوانات الحقل من المواشي والدواجن (١٢،١١) ولخطورة الفطريات اعلاه لابد من التفكير بأيجاد افضل المواد المثبطة او المقاومة للفطريات المنتجة للسموم ، لذا هدفت الدراسة الى الحصول على افضل التراكيز من مسحوق قشور الرمان القادرة على تثبيط الفطريات قيد الدراسة .

المواد وطرائق العمل

جمع العينات النباتية وتحضيرها :-

جمعت عينات من ثمار الرمان من الاسواق المحلية ، وغسلت من الاتربة بالماء ، بعدها فصلت القشور عن باقي اجزاء الثمرة، ووضعت القشور على اوراق ترشيح كبيرة في درجة حرارة الغرفة وبعد جفاف القشور طحنت في طاحونة كهربائية صغيرة ، وبعد الحصول على المسحوق الجاف لقشور الرمان وضع في علب زجاجية محكمة الغلق الى حين استعمالها .

الاستخلاص:-

اعتمدت الطريقة الموصوفة من قبل (١٣) إذ اذيب ١٠٠ غم من مسحوق قشور الرمان في ٥٠٠ مللتر من الماء ، وقد تم خلطه جيدا بوساطة خلاط كهربائي ،وبعد ذلك وضع في حاضنة هزازة (Shaker incubator) في درجة حرارة ٢٤ مْ لمدة (٢٤) ساعة لزيادة نسبة الاستخلاص ، ثم رشح المزيج تحت التفريغ وباستخدام ورق ترشيح (Whattman No.1) وجرى جمع الراشح وركز بالجهاز المبخر الدوار (Rotary vacuum evaporator)بدرجة حرارة ٤٠ مْ ، ثم وضع المستخلص المركز في اطباق ذات مساحة سطحية كبيرة وتم تجفيف الماء المتبقي في

فرن كهربائي بدرجة حرارة ٤٠مْ حتى تبخر الماء بشكل تام والحصول على مسحوق جاف ، وتم وضع المسحوق في اوعية محكمة الغلق ، وبعد تعليمها خزنت في المجمدة في حرارة – ١٨ مْ لحين الاستعمال ، هذا بالنسبة للاختبارات الكيميائية اما بالنسبة للاختبارات الميكروبية فقد تم تحضير التركيز (١٠٠) ملغم /مل وعقم عبر اوراق ترشيح خاصة تستخدم للتعقيم ذات ثقوب بقطر 0,22 مايكرون .

الكشف الكيميائي لبعض المكونات الفعالة في المستخلص المائي لقشور الرمان :-

تم التعرف على قيمة الآس الهيدروجيني للمستخلص المائي لقشور الرمان *punica granatum L.* وذلك بخلط ٥ غم من المسحوق الجاف مع ٢٥ مللتر من الماء المقطر ،ثم رشح المحلول وتم قياس درجة الحموضة بوساطة جهاز قياس الآس الهيدروجيني PH-meter ، بعدها اجريت بعض الكشوف الكيميائية النوعية لتحديد بعض المجاميع والمكونات الفعالة في المستخلص المائي لقشور الرمان ، وكما ياتي :-

اجري الكشف عن الكلايكوسيدات Glycosides باستخدام كاشف فهلنك (Fehling reagent) كما تم الكشف عن الفينولات phenols باستخدام محلول كلوريد الحديديك (Ferric chloride) واجري الكشف عن القلويدات Alkaloids ايضا" باتباع الطريقة المذكورة من قبل (١٤) وللكشف عن التربينات Terpenes استخدمت الطريقة الموصوفة من قبل (١٥) وللكشف عن الراتنجات Resins والصابونينيات Saponins تم استخدام الطريقة المذكورة من قبل (١٦) ، وللكشف عن التانينات Tannins اتبعت الطريقة الموصوفة من قبل (١٧) ، وفي الكشف عن الكومارينات Coumarins استخدمت الطريقة الموصوفة من قبل (١٨) ، اما الكشف عن الفلافونويدات Flavonoids فقد اجري باتباع الطريقة الموصوفة من قبل (١٩) .

عزلات العفن المستخدمة في الدراسة :-

تم دراسة تاثير المستخلص المائي لقشور الرمان في العفن *Aspergillus flavus* والعفن *A.Ochracus* والعفن *Fusarium moniliforme* والذين وجدوا في الاغذية والاعلاف والاماكن الرطبة والتي تسبب روائح كريهة نتيجة الفساد الحاصل من تحليلها للاغذية فضلا" عن السموم التي تنتجها ،وقد تم الحصول عليها من قبل د. حليمة زغير – قسم الوقاية /كلية الزراعة . علما" بانها عزلات تتميز بمقدرتها العالية على انتاج السموم الفطرية .

دراسة تأثير المستخلصات النباتية على الاعفان الاختبارية وتحديد اقل تركيز مثبط وقاتل للعفن:

تم اختبار فعالية المستخلصات النباتية على النمو الشعاعي للفطريات بطريقة التسمم الغذائي (Poisoned food technique) اذ حضرت تراكيز من مستخلص قشور الرمان المعد للاختباروضمت (10,5,1,0.5,0.1,0.05,0.01) ميكروليتر /مل حيث تم اخذ (1,0.5,0.1,0.05,0.01,0.005,0.001)مل من المستخلص المائي لقشور الرمان وبوساطة

ماصة حجمية ودقيقة (Micropipette) واضافتها الى وسط PDA المعد مسبقا" والمعقم والمبرد الى ٤٥مْ وفي ظروفة معقمة وبالحجوم التالية :

(0,99.90,99.95,99.99,99.995,99.999) مل من PDA وبعد مزجه ورجه جيدا" وبشكل متكامل صب في اطباق بتري معقمة ذات قطر ٩ سم ، وبعد تصلب الوسط الحاوي على الزيت العطري لقح كل طبق بقطعة من مستعمرة الفطر بقطر 0.5 سم من مزرعة الفطر بعمر 7 ايام لكل من الفطريات وبعد 5-7 ايام حضن في درجة حرارة ٢٥مْ وعند وصول قطر معاملة المقارنة (وسط مغذي خالي من المستخلص) الى اكبر حد باتجاه الطبق تم قياس اقطار النمو الفطري وحسبت نسبة التثبيط كما في المعادلة الاتية :-

النسبة المئوية للتثبيط=معدل نمو الفطر في العينة الضابطة – معدل نمو الفطر في المعاملة ×١٠٠
معدل نمو الفطر في العينة الضابطة

النتائج والمناقشة :-

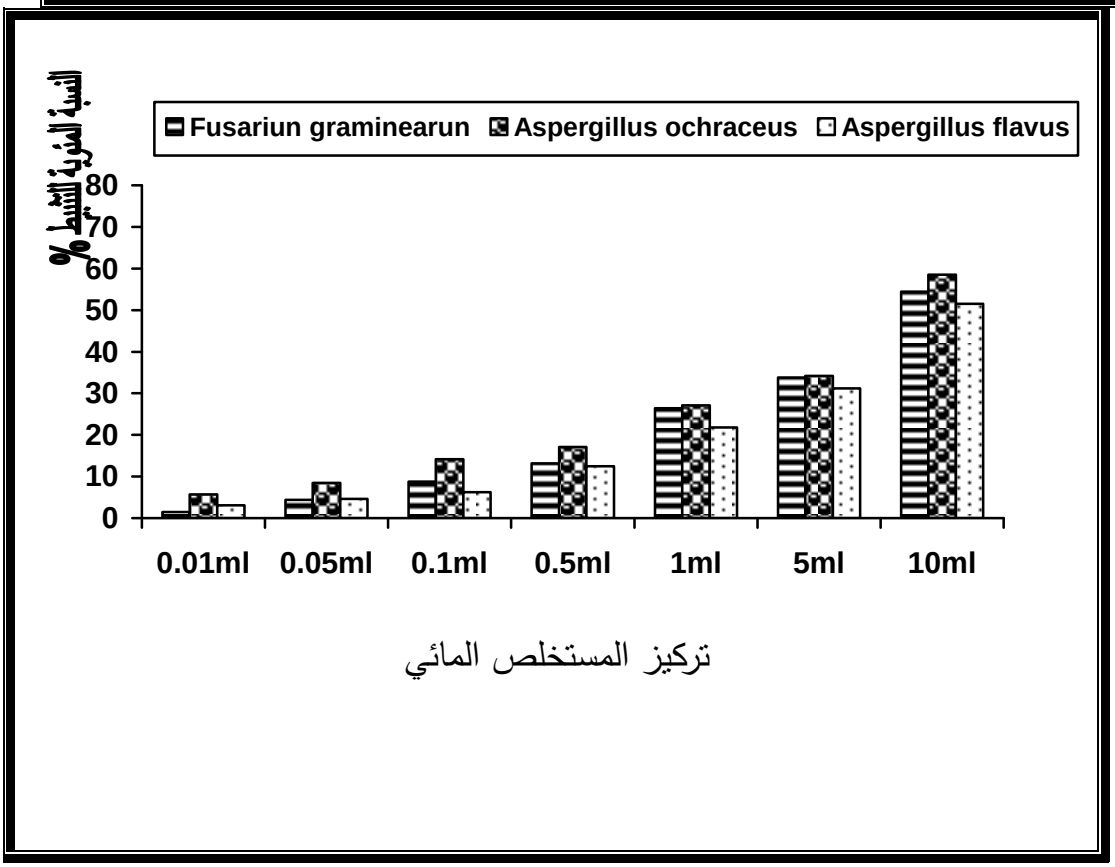
اشارت نتائج التحليل الاحصائي المبينة في جدول (١) وشكل (١) الى ان اعلى نسبة مئوية لتثبيط النمو الشعاعي للفطريات سجلت بتركيز 10 مل اذ بلغت 58.5% و 54.4% و 51.5% للفطريات *A.Ochraceus* و *F. graminearum* و *A. flavus* على التوالي في حين بلغت اقل نسبة مئوية للتثبيط بتركيز 0.001 مل اذ بلغت 1.47% و 3.1% و5.7% للفطريات *F. graminearum* و *A. Ochraceus* و *A. flavus* على التوالي وتتفق هذه النتائج مع ما اشار اليه (20) الى الكفاءة العالية لعصير الرمان في الحد من البكتريا المسببة لالتهابات الجروح ومع ما بينه (21) من التاثير المثبط لبعض المستخلصات النباتية الطبية ضد عدد من الانواع البكتيرية الممرضة . كما تتفق نتائج البحث مع (22) الذي اشار الى الكفاءة العالية لمسحوق نبات الدارسين في تثبيط النمو الاشعاعي للفطريات *A. flavs* والفطر *A. Ochraceus* ومع ما اشارت اليه (23) في الفعالية العالية لمسحوق نبات الدارسين في تثبيط النمو الشعاعي للفطر *F. graminearum*

كما اشارت نتائج الكشف الكيميائي عن المركبات الفعالة في المستخلص المائي لقشور الرمان جدول (٢) احتواء المستخلص التانينات والقلويدات والفلافونات والفينولات والراتنجات والصابونيات كما اتفقت هذه النتائج مع (24) الذي اشار الى الكفاءة العالية لمستخلص اوراق نبات الحناء في تثبيط الفطريات

F.oxysporum , Rhizoctonia solani , Thielaviopsis paradoxa Mauginiella scaettae

جدول (١) : النسبة المئوية لتثبيط نمو الفطريات باستخدام تراكيز مختلفة من المستخلص المائي لقشور ثمار الرمان

تركيز المستخلص المائي	النسبة المئوية للتثبيط %		
	Fusarium graminearum	Aspergillus ochraceus	Aspergillus flavus
0.01ml	% ١,٤٧	% ٥,٧	% ٣,١
0.05ml	% ٤,٤	% ٨,٥	% ٤,٦
0.1ml	% ٨,٨	% ١٤,٢	% ٦,٢
0.5ml	% ١٣,٢	% ١٧,١	%١٢,٥
1ml	% ٢٦,٤	% ٢٧,١	%٢١,٨
5ml	% ٣٣,٨	% ٣٤,٢	% ٣١,٢
10ml	% ٥٤,٤	% ٥٨,٥	% ٥١,٥



شكل (١): تاثير المستخلص المائي لقشور ثمار الرمان على الفطريات

جدول (٢) الكشف الكيميائي عن المركبات والمجاميع الفعالة في المستخلص المائي لقشور الرمان

المركب الفعال	نتيجة الكشف
التانينات	+
الكلايكوسيدات	+
الصابونيات	+
الفلافونويدات	+
الراتنجات	+
القلويدات	+
الفينولات	+
الاس الهيدروجيني	٤,٣

المصادر

١-كرومي ، مشتاق فرج (2001) تاثير بعض منظمات النمو في النسبه الجنسيه وصفات الحاصل لصنفي الرمان سليمي و راوه عديم البذور . رسالة ماجستير – كلية الزراعه – جامغة بغداد .

٢-هاهش ، عبد الله حسين (2004) تاثير بعض المعاملات في القابليه الخزنيه لثمار الرمان صنف سليمي حامض . رسالة ماجستير – كلية الزراعه – جامعه بغداد .

٣-نزار ، علي (2008) كفاءة المستخلص النباتي المائي لقشور ثمار الرمان في معالجة الاسماك الذهبيه *Carassius auratus* . مجلة كلية التربيه الاساسيه ، العدد 55 – ISSN7467 – 1815

٤-الهيتي ، اياد عبد الواحد (1977)الفطريات التي تهاجم حاصل الذرة الصفراءفي المخازن تشخيصها ، تأثيراتها ، مقاومتها ، رسالة ماجستير –كلية الزراعة –جامعة بغداد

٥-حسين ، حليمة زغير ، (2000) استعمال اليوريافي مقاومة فطريات ما بعد الجني وسمومها على الذرة الصفراء المخزونه ، رسالة دكتوراه –كلية الزراعة – جامعة بغداد

٦-كزار، كامل سعيد (1979)دراسة تواجد المادة السامة Zearalenone في العلائق الحيوانية ومكوناتها . رسالة ماجستير . كلية العلوم _ جامعة بغداد.

٧ – البراهيم ، جهان بنت سعود بن راشد (٢٠٠٨) تأثير عصير الرمان ضد البكتيريا المسببة لالتهاب الجروح. Ass.univ.Environ.Res.Vol.11No.2,October2008

٨- عزيز ، رغد اكرم وشهباء حميد وامنة محمد علي (٢٠١٠) التأثير المثبط لبعض المستخلصات النباتية الطبية تجاه بعض العزلات البكتيرية _ مجلة علوم المستنصرية_ مجلد ٢١ العدد ٢

٩- البلداوي ، منير سعيد محسن (٢٠٠٧) التأثير الفردي والمشترك لسمي الاوكرا A والافلا B1 في فروج اللحم وامكانية خفضها باستعمال عوامل نباتية وكيميائية رسالة ماجستير الى كلية الزراعة – جامعة بغداد

١٠- الحميري ، ياسر ناصر حسين (٢٠٠٧) التحري عن وجود السم Deoxyni Valenol (Don) في حبوب الحنطة والذرة الصفراء وامكانية اختزاله رسالة ماجستير – كلية الزراعة – جامعة بغداد

١١- عباس ، محمد حمزه (٢٠٠٧) دراسة الفعاتية التضادية لمستخلص اوراق نبات الحناء *Lawsonia inermis L* ضد بعض الفطور الممرضه للنبات ، مجلة جامعة دمشق للعلوم الزراعية مجلد ٢٣ العدد ١ ص (١١٣ – ١٢٥)

12-Council for Agricultural Science and Technology . 2003, Mycotoxins Risk in plant, Animal, and Human system. Report NO. 139.Council for Agricultural Science and Techology. Ames Iowa, VSA ISBNI- 887388- 220 ,ISSNO194 – 4088.

13-Alexopoulos . C.J.1972.Introductory Mycology . frist wiley Eastern reprint, p.613

14-Smith, J.W.,C.W.,Lewis.,J.G.Anderson.and G.L. Solomous. 1994. Mycotoxin in human nutrition and health , Directorate General XII: Science, Reseearch and Develop memt. EVR 16048 EN . P: 111-117.

15-Moura, M.A.,C.H.Machado.,L.C.Poxfirio and R.B. Freire. 2004, Effect of ochratoxin A on broiler Leukocytes . Bras . cienc. Avic vol.6.NO.3.

16-Mirocha, C.J.,pathre,S.V. and Christensen . C.M. 1977. Zearlenone IN: Mycotoxins in human and animal health .Rodricks,J.V.,Hesseltine C.W.and Meblman , M.A (Eds.,) . pathotox .park forest south .IL

17-Veldmen , A . , G . J . Baggrere , E . J . Mmulders and van de laagmact .1992 .

18-Oecurrence of my cotoyiu Ochratoxin Aizearlenone and Deoxyniva lenol in food components . food additivier and contaminants (UK) . 9.647-6SS .

19-Harborne , J.B. (1992) Introduction to ecological bioch emistry , Acad . press , new york : 210 pp.

20-Harborne, J.B. Phytochemical method. Champman and hall. London , New York (1973)

21-Abu-shanab,B., Adwan, G.; Adwan, K. and Abu-shanab, F. Efficacy of Aqueous and ethanol extracts of palastinian medicinal plants for potential antibacterial activity .J. Islamic . Univer 16(2); 77-86.(2008)

22-Shihata,I.M. A pharmalogical study of Anagllis arvensis. M.D. Vet. Thesis, Cairo University (1951)

23-Harbone, J.B. Phytochemical methods: analysis 2nd ed ., Chapman and Hell, London .P. 288.(1984)

24-Geisman , T . Chemistry of Havonoids . macimillan . Co ., New York , pp.90-101.(1962).

25-Jaffer , H,T,; Mahammad , M. and Al-Nailb,A. Phytochemical and biological screening of some lraqi plant . Fitoterapialix, p.299.(1983)

Inhibition effect of plant extract pomegranate peel *Punica granatum.L* on some mold

A.M.ALI S.H.MAJEED
AL_Mustansiryah University
College of Basic Education
Dept.of Sciences

Abstract

This study was conducted to determine the effect of different concentration (0.01, 0.05,0.1,0.5,1,5,10) Of extract pomegranate peel pathogenic fungi which were *Aspergillus flavus , Aspergillus Ochraecus* and *Fusarium graminearum.*

Result showed the high concentration activity (10 ml) reach percentage was 58.5,54.4 , 51.5%on Aspergillus Flavu ,Aspergillus Ochraecus , Fusarium graminearum respectively . The chemical result were refer to found a number of effective elements in plant extract like Glycosides, flavonoids ,Resins,Alkaloids and phenols elements