الجمهورية العربية السورية

جامعة حماة

كلية الطب البيطري

قسم الصحة العامة والطب الوقائي

تأثير المستخلص المائي والكحولي لقشر الرمان وإكليل الجبل في نمو فطر الرشاشيات المعزول عن الأعلاف

أطروحة اعدت لنيل درجة الماجستير في العلوم الطبية البيطرية

اختصاص صحة الحيوان

إعداد طالب الدراسات العليا

عبدالعزيز احمد الحاج نعسان

المشرف المشارك

أ.م.د. عبدالكريم حلاق

أستاذ مساعد في قسم الصحة العامة

كلية الطب البيطري

المشرف العلمي

د.سنا علون

مدرس علم الأحياء الدقيقة

كلية الطب البشري

التسلسل	العنوان	الصفحة
الفهرس		
	فهرس المحتويات	I
	قائمة الجداول	IV
	قائمة المخططات	V
	قائمة الأشكال	V
	قائمة الصور	VI
	قائمة المختصرات	VII
الملخص		
	الملخص باللغة العربية	VIII
	الملخص باللغة الأنكليزية	X
الفصل الأول:		
١-١	المقدمة	١
١-٢	أهداف الدراسة	٤
الفصل الثاني: الدراسة المرجعية		
٢-١	تلوث الأعلاف والمحاصيل الزراعية بالفطور وسمومها	٥
٢-٢	فطور الرشاشيات	٧
٢-٢-١	فطر الرشاشية الصفراء	٩
٢-٢-١-١	التشخيص المظهري والمجهري لفطر الرشاشية الصفراء	١١
٢-٢-٢	فطر الرشاشية السوداء	١٢
٢-٢-٢-١	التشخيص المظهري والمجهري لفطر الرشاشية السوداء	١٣
٢-٢-٣	فطر الرشاشية الدخناء	١٤
٢-٢-٣-١	التشخيص المظهري والمجهري لفطر الرشاشية الدخناء	١٥
٢-٣	داء الرشاشيات (Aspergillosis)	١٦
٢-٤	السموم الفطرية وتأثيراتها الصحية على الإنسان والحيوان	18
٢-٥	النباتات الطبية	٢٢

٢-٥-١	نبات الرمان	٢٤
٢-٥-٢	نبات إكليل الجبل	٢٦
٢-٦	الدراسات المرجعية	٢٨
الفصل الثالث: المواد وطرائق العمل		
٣-١	مواد البحث	٣٤
٣-١-١	الأجهزة المستخدمة	٣٤
٣-١-٢	المواد والمحاليل الكيميائية المستخدمة	٣٥
٣-٢	طرائق العمل	٣٥
٣-٢-١	التعقيم Sterilization	٣٥
٣-٢-٢	جمع العينات	٣٦
٣-٢-٣	عزل فطريات الرشاشيات الأعلاف و الذرة	٣٦
٣-٢-٤	تنقية العزولات الفطرية	٣٧
٣-٢-٥	تشخيص العزولات الفطرية	٣٧
٣-٢-٦	حفظ العزولات الفطرية النقية	٣٨
٣-٢-٧	تحضير المستخلصات النباتية	٣٨
٣-٢-٨	تأثير التراكيز المختلفة للمستخلصات النباتية في نمو الفطريات المختبرة	٣٩
٣-٢-٩	اختبار حساسية الفطريات للنستاتين	٤٠
٣-٢-١٠	التحليل الإحصائي	٤٠
الفصل الرابع: النتائج		
٤-١	العزل والتصنيف	٤١
٤-٢	نسبة عزل أنواع فطور الرشاشيات	٤٣
٤-٣	تأثير المستخلصات النباتية على فطور الرشاشيات	٤٦
٤-٣-١	تأثير مستخلصات إكليل الجبل على فطور الرشاشيات	٤٦
٤-٣-٢	تأثير مستخلصات قشور الرمان على فطور الرشاشيات	٤٧
٤-٤	تأثير النستاتين على فطور الرشاشيات	٤٨
4-5	مقارنة بين التأثير التثبيطي للمستخلصات النباتية والنستاتين	٤٩
الفصل الخامس: المناقشة		

٥-١	عزل وانتشار فطور الرشاشيات	٥١
٥-١-١	انتشار فطور الرشاشية الصفراء في الأعلاف والذرة	٥١
٥-١-٢	انتشار فطور الرشاشية السوداء في الأعلاف والذرة	٥١
٥-١-٣	انتشار فطور الرشاشية الدخناء في الأعلاف والذرة	٥٢
٥-٢	تأثير المستخلص النباتية على نمو فطور الرشاشيات	٥٣
٥-٢-١	تأثير مستخلصات إكليل الجبل على نمو فطر الرشاشية الصفراء	٥٣
٥-٢-٢	تأثير مستخلصات إكليل الجبل على نمو فطر الرشاشية السوداء	٥٤
٥-٢-٣	تأثير مستخلصات إكليل الجبل على نمو فطر الرشاشية الدخناء	٥٤
٥-٢-٤	تأثير مستخلصات قشور الرمان على نمو فطر الرشاشية الصفراء	٥٥
٥-٢-٥	تأثير مستخلصات قشور الرمان على نمو فطر الرشاشية السوداء	٥٦
٥-٢-٦	تأثير مستخلصات قشور الرمان على نمو فطر الرشاشية الدخناء	٥٧
٥-٣	تأثير النستاتين على فطور الرشاشيات	٥٨
الفصل السادس: الإستنتاجات والتوصيات		
٦-١	الإستنتاجات	٦٠
٦-٢	التوصيات	٦١
الفصل السابع: المصادر		
٧-١	المصادر العربية	٦٢
٧-٢	المصادر الأجنبية	٦٥

قائمة الجداول

التسلسل	العنوان	الصفحة
١	أبرز السموم التي يفرزها فطر *الرشاشية الصفراء*	١٠
٢	الخواص الفيزيوكيميائية للأفلاتوكسينات	٢١
٣	الاجهزة المستخدمة لإجراء الاختبارات	٣٤

٤	المواد الكيميائية المستخدمة في الاختبارات	٣٥
٥	نوع العينات المختبرة وعدد العينات	٣٦
٦	النسبة المئوية لوجود فطور الرشاشيات في أعلاف الدواجن والمجترات	٤٣
٧	النسبة المئوية لوجود فطور الرشاشيات في الذرة الصفراء	٤٥
٨	الفعالية التثبيطية لمستخلصات إكليل الجبل على فطور الرشاشيات	٤٦
٩	الفعالية التثبيطية لمستخلصات قشور الرمان على فطور الرشاشيات	٤٧
١٠	الفعالية التثبيطية للنستاتين على فطور الرشاشيات	٤٨
١١	مقارنة أعلى وأقل تركيز مستخدم للمستخلصات النباتية والنستاتين	٥٠

قائمة الاشكال

التسلسل	العنوان	الصفحة
١	الحامل البوغي والخيط الفطري لجنس الرشاشيات	٩
٢	التراكيب الكيميائية لبعض أنواع الأفلاتوكسينات	٢٠

قائمة المخططات

التسلسل	العنوان	الصفحة
١	النسبة المئوية لوجود فطور الرشاشيات في أعلاف الدواجن	٤٤
٢	النسبة المئوية لوجود فطور الرشاشيات في أعلاف المجترات	٤٤
٣	النسبة المئوية لوجود فطور الرشاشيات في الذرة الصفراء المحلية	٤٥
٤	النسبة المئوية لوجود فطور الرشاشيات في الذرة الصفراء المستوردة	٤٥

قائمة الصور

التسلسل	العنوان	الصفحة
١	فطر الرشاشية الصفراء على الطبق وتحت المجهر	١٢
٢	فطر الرشاشية السوداء على الطبق وتحت المجهر	١٤
٣	فطر الرشاشية الدخناء على الطبق وتحت المجهر	١٦
٤	درنات فطرية على الأكياس الهوائية	١٧
٥	درنات فطرية على الرئتين	١٧
٦	ثمرة وقشور نبات الرمان	٢٤

٧	نبات إكليل الجبل	٢٦
٨	الصفات المظهرية والمجهرية لفطر الرشاشية الصفراء	٤١
٩	الصفات المظهرية والمجهرية لفطر الرشاشية السوداء	٤٢
١٠	الصفات المظهرية والمجهرية لفطر الرشاشية الدخناء	٤٣

قائمة المختصرات

المختصر	الاسم الكامل
SDA	Sabouraud Dextrose Agar
PDA	Potato Dextrose Agar
IARC	International Agency for Research on Cancer
HCC	Hepatocellular Carcinoma
AF	Aflatoxin
DON	Deoxynivalenol
FB	Fumonisin
OTA	Ochratoxin
PAT	Patulin

ZEN	Zearalenone
T-2	Trichothecenes
TLC	Thin layer chromatography
FDA	Food and Drug Administration
FAO	Food and Agriculture Organization

ملخص البحث

ABSTRACT

الملخص

هدفت هذه الدراسة إلى تقييم مدى انتشار تلوث أعلاف الدواجن والمجترات والذرة الصفراء العلفية المستوردة والمحلية بفطر الرشاشيات وإلى تقييم الفعالية التثبيطية لمستخلص إكليل الجبل وقشر الرمان المائي (الحار والبارد) والكحولي على فطر الرشاشيات المعزولة من الأعلاف والذرة الصفراء ومقارنتها بالفعالية التثبيطية للصاد الفطري النستاتين.

حيث تم عزل فطور الرشاشيات على وسط البطاطا والدكستروز آغار و وسط سابوردكستروز آغار ، ثم شخصت عزولات فطور الرشاشيات حسب الصفات المظهرية على الأوساط الزرعية والصفات المجهرية باستخدام المفاتيح التصنيفية المخصصة.

وحضرت المستخلصات النباتية (المائية والكحولية) وتم حساب الفعالية التثبيطية للمستخلصات وذلك بإضافة تراكيز مختلفة من المستخلصات الى الوسط الغذائي وزراعة العزولة الفطرية في وسط الطبق وحساب معدل النمو الشعاعي للفطر.

أظهرت نتائج هذه الدراسة ارتفاع نسبة تلوث أعلاف الدواجن والمجترات بفطور الرشاشيات حيث كانت أعلى نسبة تلوث في كل من أعلاف الدواجن والمجترات بفطر الرشاشية السوداء إذ بلغت نسبة التلوث٣٢٪ و ٦٨٪ في كل من اعلاف الدواجن والمجترات على التوالي.

في حين كانت أقل نسبة تلوث في كل من اعلاف الدواجن والمجترات بفطر الرشاشية الدخناء إذ بلغت نسبة التلوث ٨٪ و ٢٠٪ في كل من أعلاف الدواجن والمجترات على التوالي. كما أشارت نتائج هذه الدراسة إلى نسبة تلوث الذرة الصفراء العلفية المستوردة والمحلية بفطور الرشاشيات حيث كانت أعلى نسبة تلوث لكلا النوعين من الذرة بفطر الرشاشية السوداء إذ بلغت نسبة الإصابة ٩٢٪ و ٨٠٪ في كل من الذرة الصفراء المحلية والمستوردة على التوالي.

إذ أظهرت النتائج أن الفعالية التثبيطية لمستخلص إكليل الجبل تجاه فطور الرشاشيات اعتمدت على نوع المستخلص كحولي أو مائي وتركيز المستخلص، إذ أظهر المستخلص الكحولي فعالية أكبر في تثبيط نمو الفطور من المستخلص المائي ، كما بينت النتائج أن تركيز المستخلص المائي الحار الذي أعطى نسبة تثبيط ١٠٠٪ هو (١٨، ١٦،٢٠) ملغ/مل على كل من فطر الرشاشية الصفراء و الرشاشية السوداء و الرشاشية الدخناء على التوالي. وفي المستخلص المائي البارد (٢٢، ٢٠،٢٤) ملغ/ مل على كل من فطر الرشاشية الصفراء و الرشاشية السوداء و الرشاشية الدخناء على التوالي أما بالنسبة للمستخلص الكحولي فقد بلغ التركيز الذي

أعطى نسبة تثبيط ١٠٠٪ هو (١٤، ١٤،١٨) ملغ/ مل على كل من فطر الرشاشية الصفراء و الرشاشية السوداء و الرشاشية الدخناء على التوالي.

كما أظهرت النتائج أن الفعالية التثبيطية لمستخلص قشور الرمان تجاه فطور الرشاشيات اعتمدت على نوع المستخلص كحولي أو مائي وتركيز المستخلص، إذ أظهر المستخلص الكحولي فعالية أكبر في تثبيط نمو الفطور من المستخلص المائي ، كما بينت النتائج أن تركيز المستخلص المائي الحار الذي أعطى نسبة تثبيط ١٠٠٪ هو (٢٨، ٢٤،٣٠) ملغ/ مل على كل من فطر الرشاشية الصفراء و الرشاشية السوداء و الرشاشية الدخناء على التوالي. وفي المستخلص المائي البارد (٢٨، ٢٨،٣٠) ملغ/ مل على كل من فطر الرشاشية الصفراء و الرشاشية السوداء و الرشاشية الدخناء على التوالي أما بالنسبة للمستخلص الكحولي فقد بلغ التركيز الذي أعطى نسبة تثبيط ١٠٠٪ هو (٢٤، ٢٤،٢٦) ملغ/ مل على كل من فطر الرشاشية الصفراء و الرشاشية السوداء و الرشاشية الدخناء على التوالي.

نستنتج من هذه الدراسة ارتفاع نسبة تلوث اعلاف المجترات بشكل أكبر من أعلاف الدواجن بفطور الرشاشيات وارتفاع نسبة تلوث الذرة الصفراء المحلية بشكل أكبر من المستوردة. كما وجد أن فطر الرشاشية السوداء كان الأكثر انتشارا في الأعلاف والذرة يليه فطر الرشاشية الصفراء واخيرا الرشاشية الدخناء ونستنتج وجود أثر تثبيطي فعال لمستخلصات نبات إكليل الجبل وقشور الرمان تجاه فطور الرشاشية الملوثة للأعلاف وحبوب الذرة الصفراء مقارنة بالنستاتين.

Abstract

This study aimed to assess the prevalence of contamination in poultry and ruminant feed, as well as in local and imported yellow corn, by Aspergillus fungi. It also aimed to evaluate the inhibitory efficacy of rosemary and pomegranate peel extracts (hot and cold aqueous, and alcoholic) against Aspergillus isolates from feed and corn, and to compare this efficacy with that of the antifungal agent Nystatin.

Aspergillus fungi were isolated on Potato Dextrose Agar (PDA) and Sabouraud Dextrose Agar (SDA) media. The isolates were identified based on morphological characteristics on culture media and microscopic features using standard taxonomic keys.

Plant extracts (aqueous and alcoholic) were prepared, and their antifungal efficacy was determined by adding various concentrations of the extracts to culture media, inoculating fungal isolates, and measuring the radial growth of the fungi.

The results revealed a high prevalence of Aspergillus contamination in poultry and ruminant feed, with the highest contamination rates being attributed to Aspergillus niger, reaching 32% in poultry feed and 68% in ruminant feed. The lowest contamination rates were with Aspergillus fumigatus, at 8% and 20% in poultry and ruminant feed, respectively.

The findings indicated that rosemary extracts (hot and cold aqueous, and alcoholic) demonstrated inhibitory effects against Aspergillus spp., with efficacy depending on the extract type and concentration. The alcoholic extract showed greater antifungal activity than aqueous extracts. The concentrations of hot aqueous extract that achieved 100% inhibition were

respectively. For the cold aqueous extract, the concentrations were 22, 24, and 20 mg/mL, and for the alcoholic extract, 14, 18, and 14 mg/mL for the same fungal species, respectively.

Similarly, pomegranate peel extracts demonstrated concentration- and type-dependent antifungal activity. The hot aqueous extract achieved 100% inhibition at 28, 30, and 24 mg/mL for A. flavus, A. niger, and A. fumigatus, respectively. The cold aqueous extract required 28, 30, and 28 mg/mL, while the alcoholic extract achieved the same effect at 24, 26, and 24 mg/mL, respectively.

The study concludes that ruminant feed is more heavily contaminated with Aspergillus spp. than poultry feed, and that locally produced yellow corn is more contaminated than imported corn. Aspergillus niger was the most prevalent contaminant, followed by A. flavus and A. fumigatus. The plant extracts of rosemary and pomegranate peel demonstrated effective inhibitory effects against Aspergillus species contaminating feed and corn, outperforming Nystatin in some cases.

الفصل الأول

المقدمة والأهداف

Introduction, & Objectives

المقدمة

يعد تلوث البيئة بالفطور أحد أهم مشاكل الصحة العامة فيما يخص تلوث المواد الأولية المستخدمة في غذاء الإنسان أو اعلاف الحيوان، كما يزيد من حدة هذه المشكلة الظروف الملائمة لنمو وتكاثر الفطور من خلال سوء إدارة عملية الإنتاج في الحقل بدءاً من نمو المحصول ونضجه ثم الحصاد والنقل والتخزين وصولاً إلى عمليات التصنيع (Bennett and Klich , 2003).

تنتج الفطور اثناء نموها عدداً من نواتج الاستقلاب الثانوي، والتي منها السموم الفطرية Mycotoxins التي تحدث العديد من المشاكل الصحية عند الإنسان والحيوان، حيث تحدث الإصابة بالسموم الفطرية إما عن طريق تناول الأغذية الملوثة بتلك السموم أو عن طريق استنشاقها، أو قد تنتقل بعضها عن طريق التماس بالجلد (Hedayati *et al.*,2010). ومن أشهر الفطريات المنتجة للسموم هي فطور Aspergillus و Penicillium و Fusarium ومن أكثر السموم خطورة هي الأفلاتوكسينات والأوكراتوكسينات والسترينينات والترايكوثيانات والزيرالينون وقلويدات الأرجوت (Zeilinger *et al.*,2015) .

كما تتعرض المحاصيل في العالم للتلوث بالسموم الفطرية بما يقدر ٢٥ % منها سنويًا, ويعتقد إن سبب إنتاج السم هو استجابة إلى عوامل الإجهاد التي تواجه الفطر, إذ يعد من المواد الكيميائية المستقرة كما إنه عند تعرض الحبوب المصابة بالفطريات السامة إلى الطحن ودرجة حرارة وجفاف عاليين تقتل الفطريات المحملة بالحبوب ولكن دون تحطيم السم (Lawlor and Lynch, 2001).

إن تلوث الحبوب الداخلة في تصنيع أعلاف الدواجن بمختلف الفطور المنتجة للسموم الفطرية يعتمد على عدة عوامل منها الموقع الجغرافي وطبيعة الظروف البيئية السائدة وطرائق جمع وإنتاج وخزن هذه الحبوب ومنتجاتها، إذ إن عدم مراعاة كل هذه الظروف قد يؤدي إلى نمو أبواغ الفطور المختلفة وإفراز البعض منها للسموم الفطرية (Scott *et al.*, 1985).

يؤدي إلى خسائر اقتصادية كبيرة تقدر بملايين الدولارات جراء أتلاف هذه المحاصيل كما إن تلوث المحاصيل بالسموم الفطرية (Harris, 1998,; Fink-Grammels

واجمالاً فقد قدرت الخسارة العالمية للمحاصيل الزراعية بحدود بليون طن متري في السنة الواحدة نتيجة للتلوث بالسموم الفطرية بحسب إحصائية لمنظمة الغذاء والزراعة التابعة للأمم المتحدة FAO (Salay, 2003).

يعد الجنس Aspergillus من الفطريات الناقصة التي يمكن أن تنمو على طيف واسع من المواد الغذائية وتحت ظروف بيئية متنوعة ولهذا فإنّ معظم المواد الغذائية يمكن أن تتعرض للتلف بسبب هذا الجنس وتتميز بعض أنواعه خاصة *الرشاشية الصفراء* و السوداء *و الدخناء* بمقدرتها على إفراز سموم الأفلاتوكسين (Aflatoxins) وهي من أكثر السموم الفطرية أهمية، والتعرض لها يؤدي إلى إحداث حالات من التسمم يدعى بالـ Aflatoxicoses اضافة الى مقدرتها في إحداث بعض الأمراض الخطرة مثل سرطان الكبد وتلف الأنابيب البولية (Nephrones) والتشوه الجنيني Teratogenic والتطفير الجينومي Mutagenic، وقد تؤدي الجرعات المرتفعة منه إلى الوفاة (Makun *et al.*,2010). وتعد سموم الأفلا إحدى الملوثات الغذائية العالية السمية التي تدخل إلى السلسلة الغذائية ابتداءً من الحقل وحتى وصولها إلى المستهلك على نحو مباشر أو غير مباشر (IFST, 2006).

إن أفضل الطرق للحد من تلوث المواد الغذائية والمحاصيل الزراعية والأعلاف بالفطور، يكمن في منع توفير الظروف الملائمة لنموها للسيطرة على إنتاج السموم الفطرية، وبالتالي حماية الإنسان والحيوان من خطر الإصابة بالأمراض المتسببة بالفطور وسمومها، بالإضافة إلى ضرورة فحص كافة المواد الغذائية المعدة للاستهلاك البشري والمستخدمة في صناعة الأعلاف الجاهزة للتأكد من خلوها من الفطور والسموم الفطرية (ابراهيم والجبوري، ١٩٩٨)

تمتلك النباتات الطبية العديد من المركبات الفعالة مثل الفينولات والقلويدات والفلافونيدات والتربينات والتانينات والجلايكوزيدات وغيرها من المواد الفعالة (Powers *et al.*,2019)، إذ تؤثر هذه المركبات الفعالة المستخلصة من النباتات في نمو الفطور والميكروبات الأخرى المسببة للأمراض (Loi *et al.*,2020).

ونتيجة الحاجة الماسة للبحث عن بدائل علاجية للمضادات الفطرية المستخدمة في مكافحة الفطور ولسنوات عديدة وبشكل متكرر الذي سبب ظهور العديد من السلالات الفطرية المقاومة لها وظهور العديد من المشاكل كالتلوث البيئي توجهت أنظار بعض الباحثين نحو مستخلصات النباتات الطبية التي تعمل على ايقاف أو قتل الفطر إذ انها تمتاز بفعالية عالية وسهولة الحصول عليها وغير مكلفة وغير ملوثة للبيئة (Iram *et al.*,2016,; Prakash, 2020,; Matrose *et al.*,2021)، إذ أثبتت مستخلصات النباتات الطبية والعطرية فاعليتها في التأثير على نمو الكائنات الحية الدقيقة المسببة للأمراض كالبكتريا والفطريات (EL-Kamali and EL-Amir, 2010). ونتيجة قلة البحوث التي تناولت نبات إكليل الجبل وقشر الرمان ودراسة تأثيرهما التثبيطي لفطر الـ Aspergillus spp المعزولة من الأعلاف والذرة الصفراء فقد جاءت هذه الدراسة لتبين التأثير لهذين النباتين على نمو وتكاثر فطر الرشاشيات.

أهداف الدراسة

تتلخص أهداف هذه الدراسة بما يلي:

١- عزل أنواع فطر الرشاشيات من أعلاف الدواجن والمجترات.

٢- معرفة نسبة انتشار أنواع فطر الرشاشيات في أعلاف الدواجن والمجترات.

٣- تأثير المستخلص المائي والكحولي لكل من (قشر الرمان، إكليل الجبل) على أنواع فطر الرشاشيات.

٤- مقارنة حساسية أنواع فطر الرشاشيات *تجاه* بعض الصادات الفطرية مع المستخلصات النباتية .

الفصل الثاني

الدراسة المرجعية

LITERATURE REVIEW

الفصل الثالث

المواد والطرائق

MATERIAL & METHODS

مواد وطرائق البحث

٣-١.مواد البحث:

٣-١-١.الأجهزة المستخدمة:

استخدمت في هذه الدراسة الأجهزة الموضحة في الجدول (٣):

الجدول رقم (٣): الاجهزة المستخدمة لإجراء الاختبارات

ت	اسم الجهاز	الشركة المصنعة
١.	حمام مائي	Yamato (Japan)
٢.	مجهر ضوئي	Nikon (Japan)
٣.	فرن حراري كهربائي	Memmert (Germany)
٤.	ميزان حساس	Sartorius
٥.	المبخر الدوار	BUCHI
٦.	كبينة الزرع الجرثومي	Sanyo
٧.	ماصات دقيقة	Benchmate
٨.	جهاز تقطير	Exelo (England)
٩.	مؤصدة	Yamato (Japan)
١٠	حاضنة	Yamato (Japan)
١١	مرشحه غشائية	Gelman
١٢	ثاقب فليني بقطر ٥ مم	Janetzki

٣-١-٢.المواد والمحاليل الكيميائية المستخدمة:

استخدمت مجموعة من المحاليل والمواد الكيميائية في هذه الدراسة وهي مبينة في الجدول (٤).

الجدول رقم (٤): المواد الكيميائية المستخدمة في الاختبارات

ت	اسم الوسط أو المادة	الاستخدام	الشركة المصنعة
1	اغار البطاطا والدكستروز	العزل الفطري	HiMedia (India)
2	اغار سابورود ديكستروز	تنقية العزولات واجراء اختبار الحساسية	HiMedia (India)
3	كحول إيثيلي	تحضير المستخلص	England BHD
4	هيبوكلوريدات الصوديوم	لتعقيم سطح الذرة	England BHD
5	ماءات البوتاسيوم	تحضير اللطاخة الفطرية	HiMedia (India)

٣-٢.طرائق العمل:

أجريت هذه الدراسة في مخبر الكيمياء الحديثة ومخبر الدراسات العليا و البحث العلمي في كلية الطب البيطري في جامعة حماة في الفترة الواقعة ما بين ٢٠٢٣/٥/١٦ و ٢٠٢٣/٨/٢٠ حيث تم إجراء الدراسة كما يلي:

٣-٢-١.التعقيم Sterilization:

تم تعقيم الأوساط الزرعية بالصاد الموصدة Autoclave بحرارة ١٢١م وضغط ١٥ جو لمدة ١٥ دقيقة وعقمت المستخلصات النباتية بالترشيح باستخدام المرشحات البكتيرية الغشائية ذات ثقوب بقطر ٠.٤٥ ميكرون ؛ وعقمت الأدوات الزجاجية بواسطة الفرن الكهربائي (فرن باستور) بحرارة ١٨٠ مْ لمدة ٩٠ دقيقة (Bhttacharyya, 1993).

٣-٢-٢.جمع العينات:

تم جمع عينات الأعلاف والذرة الصفراء العلفية لإجراء الدراسة من مناطق مختلفة في محافظة حماة، بواقع ١٠٠ عينة كما هي موضحة في الجدول (٥) وبوزن ٥٠٠غرام كعينة أبتدائية أخذت بواسطة مسبر من عدة أكياس داخل المخزن ومن ثلاثة أماكن مختلفة وحفظت في أكياس نايلون عقيمة ونقلت الى المخبر لإجراء الدراسة عليها.

جدول رقم (٥): نوع العينات المختبرة وعدد العينات

نوع العينة	عدد العينات
أعلاف دواجن	٢٥
أعلاف مجترات	٢٥
ذرة صفراء مستوردة	٢٥
ذرة صفراء محلية	٢٥

٣-٢-٣.عزل فطريات الرشاشيات من الأعلاف و الذرة:

تم زرع الفطور من الأعلاف بنثر ٠.٥ غ من الأعلاف على سطح الوسط الزرعي الPDA (Amadi *et al.*,2009). وعزل الفطريات الداخلية للذرة لكل عينة بتعقيم ١٠ غ من الذرة سطحياً وذلك بغمرها بمحلول هيبوكلوريدات الصوديوم ٣٪ لمدة دقيقتين، ثم غسلها بالماء المقطر المعقم ثلاث مرات ، وبعدها تجفف وتوضع على الوسط PDA بمعدل ٥ حبات ذرة في كل طبق ثم تحضن الأطباق في درجة حرارة 25 مْ لمدة سبعة أيام وبعد انتهاء مدة الحضن نقيت عزلة الفطر بالزرع المتكرر باستعمال وسط أل PDA .

كما إنه تم عزل الفطريات الخارجية بإضافة ١٥ غ الى ١٥٠ مل من الماء المقطر، ثم ترج الحوجلة وتجرى تخافيف بطريقة النشر وطريقة صب الأطباق وكمايتم الزرععلى وسطاPDAبطريقة النشروطريقة صب الأطباق

حضنت الأطباق بدرجة حرارة ٢٥ مْ لمدة ٥ أيام حتى تظهر النموات ليتم بعدها انتخاب وتنقية الفطريات المشكوك بها (Amadi *et al.*,2009; Freire *et al.*,2000).

٣-٢-٤.تنقية العزولات الفطرية:

تمت عملية التنقية للفطريات وذلك من خلال نقل بعض أجزاء المستعمرات النامية بواسطة لوب معقم إلى أطباق تحتوي على الوسط الغذائي سابورد ديكستروز معقم، وبعدها حضنت الأطباق بدرجة حرارة ٣٠ مْ لمدة ٧ أيام مع تكرار عملية التنقية عدة مرات حتى الحصول على عزولات نقية وحفظها (Kwon-Chung and Bennett, 1992).

٣-٢-٥.تشخيص العزولات الفطرية:

لقد تم فحص المستعمرات الفطرية بالاعتماد على الصفات المظهرية من حيث شكلها، ولونها ، وحجمها ، والصبغات وقطر المستعمرة بالإضافة إلى الصفات المجهرية إذ تم أخذ جزء من المستعمرات النامية ووضعها على شريحة زجاجية نظيفة وتمزج مع قطرة من الكحول وقبل جفاف الكحول توضع قطرة من ماءات البوتاسيوم ٢٠٪ وتغطى بساترة زجاجية ويتم تمريرها على اللهب عدة مرات ثم تترك لمدة نصف ساعة ثم تفحص تحت المجهر لملاحظة شكل الخيط الفطري، وحجمه، ولونه، والكوانيدات، والتراكيب التكاثرية التي ينتجها الفطر وشخصت بالاعتماد على المفاتيح التصنيفية حسب المصادر التالية (De Hooge *et al.*,2000 ;Midgley *et al.*,1997; Ellis,1994,).

٣-٢-٦.حفظ العزولات الفطرية النقية:

تم حفظ عزولات فطور الـــرشاشيات في عبوات زجاجية تحتوي على ٢٠ مل من وسط سابورود ديكستروز بشكل مائل، وحفظت بدرجة حرارة ٤مْ إلى حين إجراء الاختبارات عليها مع مراعاة التنشيط وتكرار الزرع كل شـهرين (Collee *et al.*,1996).

٣-٢-٧.تحضير المستخلصات النباتية:

تم تحضير المستخلصات النباتية المائية الحارة والباردة والكحولية لكل من نبات إكليل الجبل وقشور الرمان كالآتي:

٣-٢-٧-١. المستخلص المائي الحار:

اتبعت الطريقة (El-fallal and El-kattan,1997) وذلك بوزن (١٠) غ من المسحوق النباتي ووضعها في بيشر زجاجي نظيف ثم أضيف له (١٠٠) مل ماء مقطر مغلي، ثم وضعت في الحضانة لمدة (٣٠) دقيقة على درجة حرارة (٢٨م)، وبعدها تم ترشيح المزيج بواسطة قطعة شاش في أنابيب زجاجية، ثم تم تثفيل الانابيب في المثفلة بسرعة ٣٠٠٠/دورة بالدقيقة /لمدة (١٠) دقائق ثم جمع الجزء الطافي ووضعه في أطباق ذات مساحة سطحية كبيرة بعد ذلك تم تجفيف الماء في الفرن على درجة حرارة (٧٠م) إلى أن تبخر الماء كلياً ، وبذلك تم الحصول على الخلاصة الجافة للمستخلص والذي وضع في المجمدة لحين الاستخدام وكررت العملية حتى الحصول على الكمية المناسبة.

٣-٢-٧-٢.المستخلص المائي البارد:

) وذلك بوزن (١٥) غ من المسحوق النباتي (Parekh& Chanada,2007تم اتباع الطريقة المستخدمة من قبل ووضعها في بيشر زجاجي نظيف ثم أضيف له (١٠٠) مل ماء مقطر، ثم تم وضعها في الحضانة لمدة (٢٤) ساعة على درجة حرارة (٣٧م)، ثم تم ترشيح المزيج بواسطة قطعة شاش في أنابيب زجاجية، ثم تم تثفيل الانابيب في المثفلة بسرعة ٥٠٠٠/دورة بالدقيقة /لمدة (١٠) دقائق ثم تم ترشيح الجزء الطافي بواسطة أوراق الترشيح، بعدها تم التبخير في الفرن بدرجة حرارة (٤٠م) إلى أن

يتبخر الماء كلياً ، وكررت العملية حتى الحصول على الكمية المناسبة، بعد ذلك تم حفظ الخلاصة الجافة في المجمدة لحين الاستخدام.

٣-٢-٧-٣.المستخلص الكحولي:

أتبعت طريقة (Shtayeh and Abu-Ghdeib, 1999) لتحضير المستخلص الكحولي، إذ أخذ 20 غ من كل عينة جافة للأجزاء النباتية المختلفة ووضعت في دورق مخروطي حجم 500 مل وأضيف إليها الكحول الإيثيلي ٩٥٪ وأكمل الحجم إلى 200 مل، ووضعت بجهاز الهزاز الأفقي (Horizontal Shaker) لمدة نصف ساعة وعلى سرعة متوسطة. ثم رشحت بثلاث طبقات من قماش الشاش لفصل الأجزاء الصلبة ثم أجري الترسيب باستعمال جهاز الطرد المركزي وبسرعة 3000 دورة بالدقيقة لمدة 15 دقيقة لفصل الشوائب الصغيرة عن الجزء الطافي، ركز الجزء الطافي بالمبخر الدوار وجفف بالفرن عند درجة حرارة 45مْ. وكررت العملية حتى الحصول على الكمية المناسبة. واستعملت الخلاصة الجافة في تحضير التراكيز المختلفة للمستخلصات.

٣-٢-٨.تأثير التراكيز المختلفة للمستخلصات النباتية في نمو الفطريات المختبرة:

) حيث تم اختبار التراكيز المحضرة بإضافتها الى Hmawndi , 2006تم اتباع طريقة الغذاء المسموم الموصوفة لدى (وأضيف المضاد الحيوي البنسلين والستربتومايسين بعد أن يبرد قبل صبه ، حيث تم تحضير ٩٠ SDAالوسط الزرعي وأضيف لها ١٠ مل من الماء المقطر المحلول فيه الخلاصة النباتية بعد تعقيمها بفلتر ٠.٢٢ ميكرون SDAمل من حيث تم إضافة الخلاصة حسب التركيز المراد تحضيره (٠.٢غ، ٠.٤غ، ٠.٦غ ، C1V1=C2V2وذلك حسب القانون ٠.٨غ، ١غ .....)، مع بقاء وسط دون إضافة مستخلص كشاهد للمقارنة وبعد أن صب وبرد ،لقحت الأطباق لكل معاملة بأقراص كل منها بقطر ٥مل مأخوذة من حافة مستعمرة فطرية نقية بعمر اسبوع بواسطة ثاقب فليني بحيث وضعت في منتصف الطبق المعامل، وحضنت الأطباق بدرجة حرارة ٢٨ م وبعد وصول نمو المستعمرات في معاملة الشاهد الى حافة الطبق تم حساب مقدار التثبيط للنمو الشعاعي Radial Growth (PIRG) Percent

بأخذ معدل قطرين متعامدين للمستعمرات النامية وفق المعادلة الموصوفة في (Jinantana and Sariah , 1997):

$$PIRG = \frac{R1-R2}{R1} * 100$$

R1: أقصى نمو شعاعي لمستعمرة الفطر في معاملة الشاهد

R2: اقصى نمو شعاعي لمستعمرة الفطر في الأطباق الحاوية على المستخلص.

٣-٢-٩.اختبار القدرة التثبيطية للنستاتين على الفطريات :

تم تحضير وسط سابورو ديكستروز في ٩٠ مل من الماء المقطر وتعقيمها في الصاد الموصد وإضيف المضاد الحيوي البنسلين والستربتومايسين بعد أن يبرد قبل صبه، وإضافة ١٠ مل ماء مقطر تم تعليق فيها التركيز المراد اختباره من النستاتين وذلك من أجل دراسة التركيز المثبط الأدنى وبعد المزج الجيد صب في الأطباق، وبعد عملية التبريد مع بقاء وسط دون إضافة النستاتين كشاهد للمقارنة وبعد أن صب وبرد ،لقحت الأطباق لكل معاملة بأقراص كل منها بقطر ٥مل مأخوذة من حافة مستعمرة فطرية نقية بعمر اسبوع بواسطة ثاقب فليني بحيث وضعت في منتصف الطبق المعامل، وحضنت الأطباق بدرجة حرارة ٢٨ م وبعد وصول نمو المستعمرات في معاملة الشاهد الى حافة الطبق تم حساب مقدار التثبيط للنمو الشعاعي(Percent Inhibition of Radial Growth (PIRG (Nene and Thapliyal, 1973)

٣-٢-١٠.التحليل الإحصائي:

تم استخدام برنامج Microsoft Excel, 2010 وذلك لحساب النسب المئوية والمتوسطات الحسابية.

مواد وطرائق البحث

٣-١.مواد البحث:

٣-١-١.الأجهزة المستخدمة:

استخدمت في هذه الدراسة الأجهزة الموضحة في الجدول (٣):

الجدول رقم (٣): الاجهزة المستخدمة لإجراء الاختبارات

ت	اسم الجهاز	الشركة المصنعة
1	حمام مائي	Yamato (Japan)
2	مجهر ضوئي	Nikon (Japan)
3	فرن حراري كهربائي	Memmert (Germany)
4	ميزان حساس	Sartorius
5	المبخر الدوار	BUCHI
6	كبينة الزرع الجرثومي	Sanyo
7	ماصات دقيقة	Benchmate
8	جهاز تقطير	Exelo (England)
9	مؤصدة	Yamato (Japan)
10	حاضنة	Yamato (Japan)
11	مرشحه غشائية	Gelman
12	ثاقب فليني بقطر ٥ مم	Janetzki

٣-١-٢.المواد والمحاليل الكيميائية المستخدمة:

استخدمت مجموعة من المحاليل والمواد الكيميائية في هذه الدراسة وهي مبينة في الجدول (٤).

الجدول رقم (٤): المواد الكيميائية المستخدمة في الاختبارات

ت	اسم الوسط أو المادة	الاستخدام
1	اغار البطاطا والدكستروز	العزل الفطري
2	اغار سابورود ديكستروز	تنقية العزولات واجراء اختبار الحساسية
3	كحول إيثيلي	تحضير المستخلص
4	هيبوكلوريدات الصوديوم	لتعقيم سطح الذرة
5	ماءات البوتاسيوم	تحضير اللطاخة الفطرية

٣-٢.طرائق العمل:

أجريت هذه الدراسة في مخبر الكيمياء الحديثة ومخبر الدراسات العليا و البحث العلمي في كلية الطب البيطري في جامعة حماة في الفترة الواقعة ما بين ٢٠٢٣/٥/١٦ و ٢٠٢٣/٨/٢٠ حيث تم إجراء الدراسة كما يلي:

٣-٢-١.التعقيم Sterilization:

تم تعقيم الأوساط الزرعية بالصاد الموصدة Autoclave بحرارة ١٢١م وضغط ١٥ جو لمدة ١٥ دقيقة وعقمت المستخلصات النباتية بالترشيح باستخدام المرشحات البكتيرية الغشائية ذات ثقوب بقطر ٠.٤٥ ميكرون ؛ وعقمت الأدوات الزجاجية بواسطة الفرن الكهربائي (فرن باستور) بحرارة ١٨٠ مْ لمدة ٩٠ دقيقة (Bhttacharyya, 1993).

٣-٢-٢.جمع العينات:

تم جمع عينات الأعلاف والذرة الصفراء العلفية لإجراء الدراسة من مناطق مختلفة في محافظة حماة، بواقع ١٠٠ عينة كما هي موضـــحة في الجدول (٥) وبوزن ٥٠٠غرام كعينة أبتدائية أخذت بواســطة مســبر من عدة أكياس داخل المخزن ومن ثلاثة أماكن مختلفة وحفظت في أكياس نايلون عقيمة ونقلت الى المخبر لإجراء الدراسة عليها.

جدول رقم (٥): نوع العينات المختبرة وعدد العينات

نوع العينة	عدد العينات
أعلاف دواجن	٢٥
أعلاف مجترات	٢٥
ذرة صفراء مستوردة	٢٥
ذرة صفراء محلية	٢٥

٣-٢-٣.عزل فطريات الرشاشيات من الأعلاف و الذرة:

تم زرع الفطور من الأعلاف بنثر ٠.٥ غ من الأعلاف على سطح الوسط الزرعي الPDA (Amadi *et al.*,2009). وعزل الفطريات الداخلية للذرة لكل عينة بتعقيم ١٠ غ من الذرة سطحياً وذلك بغمرها بمحلول هيبوكلوريدات الصوديوم ٣٪ لمدة دقيقتين، ثم غسلها بالماء المقطر المعقم ثلاث مرات ، وبعدها تجفف وتوضع على الوسط PDA بمعدل ٥ حبات ذرة في كل طبق ثم تحضن الأطباق في درجة حرارة 25 مْ لمدة سبعة أيام وبعد انتهاء مدة الحضن نقيت عزلة الفطر بالزرع المتكرر باستعمال وسط أل PDA .

كما إنه تم عزل الفطريات الخارجية بإضافة ١٥ غ الى ١٥٠ مل من الماء المقطر، ثم ترج الحوجلة وتجرى تخافيف عشرية ويتم الزرع على وسط الـ

حضنت الأطباق بدرجة حرارة ٢٥ مْ لمدة ٥ أيام حتى تظهر النموات ليتم بعدها انتخاب وتنقية الفطريات المشكوك بها (Amadi *et al.*,2009; Freire *et al.*,2000).

٣-٢-٤.تنقية العزولات الفطرية:

تمت عملية التنقية للفطريات وذلك من خلال نقل بعض أجزاء المستعمرات النامية بواسطة لوب معقم إلى أطباق تحتوي على الوسط الغذائي سابورد ديكستروز معقم، وبعدها حضنت الأطباق بدرجة حرارة ٣٠ مْ لمدة ٧ أيام مع تكرار عملية التنقية عدة مرات حتى الحصول على عزولات نقية وحفظها (Kwon-Chung and Bennett, 1992).

٣-٢-٥.تشخيص العزولات الفطرية:

لقد تم فحص المستعمرات الفطرية بالاعتماد على الصفات المظهرية من حيث شكلها، ولونها ، وحجمها ، والصبغات وقطر المستعمرة بالإضافة إلى الصفات المجهرية إذ تم أخذ جزء من المستعمرات النامية ووضعها على شريحة زجاجية نظيفة وتمزج مع قطرة من الكحول وقبل جفاف الكحول توضع قطرة من ماءات البوتاسيوم ٢٠٪ وتغطى بساترة زجاجية ويتم تمريرها على اللهب عدة مرات ثم تترك لمدة نصف ساعة ثم تفحص تحت المجهر لملاحظة شكل الخيط الفطري، وحجمه، ولونه، والكوانيدات، والتراكيب التكاثرية التي ينتجها الفطر وشخصت بالاعتماد على المفاتيح التصنيفية حسب المصادر التالية (De Hooge *et al.*,2000 ;Midgley *et al.*,1997; Ellis,1994,).

٣-٢-٦.حفظ العزولات الفطرية النقية:

تم حفظ عزولات فطور الـــرشاشيات في عبوات زجاجية تحتوي على ٢٠ مل من وسط سابورود ديكستروز بشكل مائل، وحفظت بدرجة حرارة ٤مْ إلى حين إجراء الاختبارات عليها مع مراعاة التنشيط وتكرار الزرع كل شـهرين (Collee *et al.*,1996).

٣-٢-٧.تحضير المستخلصات النباتية:

تم تحضير المستخلصات النباتية المائية الحارة والباردة والكحولية لكل من نبات إكليل الجبل وقشور الرمان كالآتي:

٣-٢-٧-١. المستخلص المائي الحار:

اتبعت الطريقة (El-fallal and El-kattan,1997) وذلك بوزن (١٠) غ من المسحوق النباتي ووضعها في بيشر زجاجي نظيف ثم أضيف له (١٠٠) مل ماء مقطر مغلي، ثم وضعت في الحضانة لمدة (٣٠) دقيقة على درجة حرارة (٢٨م)، وبعدها تم ترشيح المزيج بواسطة قطعة شاش في أنابيب زجاجية، ثم تم تثفيل الانابيب في المثفلة بسرعة ٣٠٠٠/دورة بالدقيقة /لمدة (١٠) دقائق ثم جمع الجزء الطافي ووضعه في أطباق ذات مساحة سطحية كبيرة بعد ذلك تم تجفيف الماء في الفرن على درجة حرارة (٧٠م) إلى أن تبخر الماء كلياً ، وبذلك تم الحصول على الخلاصة الجافة للمستخلص والذي وضع في المجمدة لحين الاستخدام وكررت العملية حتى الحصول على الكمية المناسبة.

٣-٢-٧-٢.المستخلص المائي البارد:

) وذلك بوزن (١٥) غ من المسحوق النباتي (Parekh& Chanada,2007تم اتباع الطريقة المستخدمة من قبل ووضعها في بيشر زجاجي نظيف ثم أضيف له (١٠٠) مل ماء مقطر، ثم تم وضعها في الحضانة لمدة (٢٤) ساعة على درجة حرارة (٣٧م)، ثم تم ترشيح المزيج بواسطة قطعة شاش في أنابيب زجاجية، ثم تم تثفيل الانابيب في المثفلة بسرعة ٥٠٠٠/دورة بالدقيقة /لمدة (١٠) دقائق ثم تم ترشيح الجزء الطافي بواسطة أوراق الترشيح، بعدها تم التبخير في الفرن بدرجة حرارة (٤٠م) إلى أن ا

يتبخر الماء كلياً ، وكررت العملية حتى الحصول على الكمية المناسبة، بعد ذلك تم حفظ الخلاصة الجافة في المجمدة لحين الاستخدام.

٣-٢-٧-٣.المستخلص الكحولي:

أتبعت طريقة (Shtayeh and Abu-Ghdeib, 1999) لتحضير المستخلص الكحولي، إذ أخذ 20 غ من كل عينة جافة للأجزاء النباتية المختلفة ووضعت في دورق مخروطي حجم 500 مل وأضيف إليها الكحول الإيثيلي ٩٥٪ وأكمل الحجم إلى 200 مل، ووضعت بجهاز الهزاز الأفقي (Horizontal Shaker) لمدة نصف ساعة وعلى سرعة متوسطة. ثم رشحت بثلاث طبقات من قماش الشاش لفصل الأجزاء الصلبة ثم أجري الترسيب باستعمال جهاز الطرد المركزي وبسرعة 3000 دورة بالدقيقة لمدة 15 دقيقة لفصل الشوائب الصغيرة عن الجزء الطافي، ركز الجزء الطافي بالمبخر الدوار وجفف بالفرن عند درجة حرارة 45مْ. وكررت العملية حتى الحصول على الكمية المناسبة. واستعملت الخلاصة الجافة في تحضير التراكيز المختلفة للمستخلصات.

٣-٢-٨.تأثير التراكيز المختلفة للمستخلصات النباتية في نمو الفطريات المختبرة:

) حيث تم اختبار التراكيز المحضرة بإضافتها الى Hmawndi , 2006تم اتباع طريقة الغذاء المسموم الموصوفة لدى (وأضيف المضاد الحيوي البنسلين والستربتومايسين بعد أن يبرد قبل صبه ، حيث تم تحضير ٩٠ SDAالوسط الزرعي وأضيف لها ١٠ مل من الماء المقطر المحلول فيه الخلاصة النباتية بعد تعقيمها بفلتر ٠.٢٢ ميكرون SDAمل من حيث تم إضافة الخلاصة حسب التركيز المراد تحضيره (٠.٢غ، ٠.٤غ، ٠.٦غ ، C1V1=C2V2وذلك حسب القانون ٠.٨غ، ١غ .....)، مع بقاء وسط دون إضافة مستخلص كشاهد للمقارنة وبعد أن صب وبرد ،لقحت الأطباق لكل معاملة بأقراص كل منها بقطر ٥مل مأخوذة من حافة مستعمرة فطرية نقية بعمر اسبوع بواسطة ثاقب فليني بحيث وضعت في منتصف الطبق المعامل، وحضنت الأطباق بدرجة حرارة ٢٨ م وبعد وصول نمو المستعمرات في معاملة الشاهد الى حافة الطبق تم حساب مقدار التثبيط للنمو الشعاعي

بأخذ معدل قطرين متعامدين للمستعمرات النامية وفق المعادلة الموصوفة في (Jinantana and Sariah , 1997) Inhibition of:

$$PIRG = \frac{R1-R2}{R1} * 100$$

R1: أقصى نمو شعاعي لمستعمرة الفطر في معاملة الشاهد

R2: اقصى نمو شعاعي لمستعمرة الفطر في الأطباق الحاوية على المستخلص.

٣-٢-٩.اختبار القدرة التثبيطية للنستاتين على الفطريات :

تم تحضير وسط سابورو ديكستروز في ٩٠ مل من الماء المقطر وتعقيمها في الصاد الموصد وإضيف المضاد الحيوي البنسلين والستربتومايسين بعد أن يبرد قبل صبه، وإضافة ١٠ مل ماء مقطر تم تعليق فيها التركيز المراد اختباره من النستاتين وذلك من أجل دراسة التركيز المثبط الأدنى وبعد المزج الجيد صب في الأطباق، وبعد عملية التبريد مع بقاء وسط دون إضافة النستاتين كشاهد للمقارنة وبعد أن صب وبرد ،لقحت الأطباق لكل معاملة بأقراص كل منها بقطر ٥مل مأخوذة من حافة مستعمرة فطرية نقية بعمر اسبوع بواسطة ثاقب فليني بحيث وضعت في منتصف الطبق المعامل، وحضنت الأطباق بدرجة حرارة ٢٨ م وبعد وصول نمو المستعمرات في معاملة الشاهد الى حافة الطبق تم حساب مقدار التثبيط للنمو الشعاعي(PIRG) Percent Inhibition of Radial Growth (Nene and Thapliyal, 1973)

٣-٢-١٠.التحليل الإحصائي:

تم استخدام برنامج Microsoft Excel, 2010 وذلك لحساب النسب المئوية والمتوسطات الحسابية.

الفصل الرابع

النتائج

RESULTS

النتائج

٤ – ١ .العزل والتصنيف:

تم عزل وتصنيف ثلاث أنواع من فطور الرشاشيات من كل من عينات أعلاف الدواجن والمجترات والذرة الصفراء العلفية المحلية والمستوردة وهي :

٤ – ١ – ١ .الرشاشية الصفراء Aspergillus flavus :

شخصت عزلة فطر الرشاشية الصفراء حسب الصفات المظهرية النامية على الوسط الزرعي PDA إذ أعطت العزلة على الوسط لوناً أبيض في المراحل الأولى ثم تحولت إلى اللون الأخضر الفاتح ذو حواف صفراء أو بيضاء، أما السطح السفلي فظهر باللون الذهبي الى البني المحمر، ونسيج المستعمرات مترابط غير مفكك وذو طبيعة مخملية. أما الصفات المجهرية فإنه يمتلك حامل كونيدي ذو جدار ثخين عديم اللون وتتسع النهاية لتشكل الحويصلة التي تمتلك شكل متطاولاً في المراحل الأولى من النمو وفيما بعد يصبح كروياً أما الفاليدات فهي أحادية التفرع وتحمل كونيدات كروية أو شبه كروية وهذا يتوافق مع الصفات المظهرية والمجهرية لهذا النوع.(صورة رقم (٨)).

الصفات المظهرية لفطر الرشاشية الصفراء	الصفات المجهرية

الصورة رقم ٨: الصفات المظهرية والمجهرية لفطر الرشاشية الصفراء

٤ – ١ – ٢ .الرشاشية السوداء Aspergillus niger :

شخصت عزلة فطر الرشاشية السوداء حسب الصفات المظهرية النامية على الوسط الزرعي PDA إذ ظهرت المستعمرات في بداية النمو بلون أبيض وسرعان ما تحولت الى اللون الأسود، وتظهر

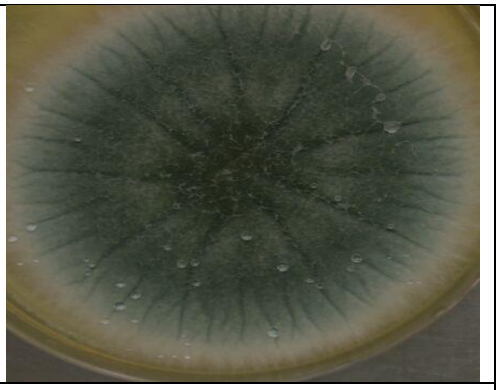
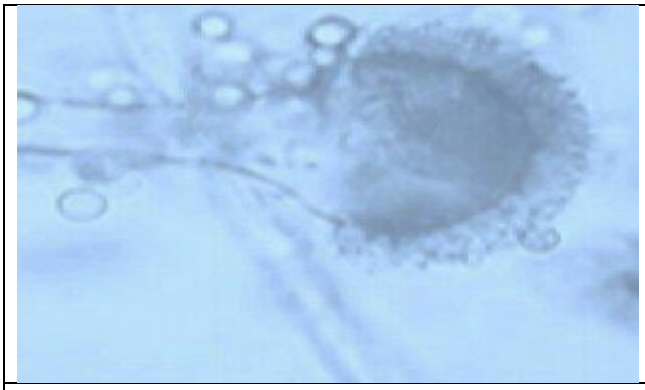
الجهة السفلية للطبق بلون أصفر مخضر، وبالصفة المجهرية تظهر الخيوط الفطرية تحت المجهر متشابكة ومقسمة، وينتهي حامل الأبواغ بتركيب حويصلي منتفخ وذو لون أسود وتخرج منه الأبواغ ،وهذا يتوافق مع الصفات المظهرية والمجهرية لهذا النوع.(صورة رقم (٩)).

الصفات المظهرية لفطر الرشاشية السوداء	الصفات المجهرية

الصورة رقم ٩: الصفات المظهرية والمجهرية لفطر الرشاشية السوداء

٤-١-٣.الرشاشية الدخناء Aspergillus fumigatus :

شخصت عزلة فطر الرشاشية الدخناء حسب الصفات المظهرية النامية على الوسط الزرعي PDA إذ ظهرت المستعمرات في بداية النمو بلون أبيض وسرعان ما تحولت الى اللون الأخضر المزرق ثم تتحول الى اللون الرمادي في المستعمرات الناضجة، وبالصفة المجهرية يظهر حامل الكوانيدات ذو خلايا قدمية عند قاعدته، أما الحويصلة فتكون مقببة والنصف العلوي منها أو الثلثين يحمل الفاليدات التي تشكل سلسلة من الكوانيدات خضراء اللون، وهذا يتوافق مع الصفات المظهرية والمجهرية لهذا النوع.(صورة رقم (١٠)).

	
الصفات المظهرية لفطر الرشاشية الدخناء	الصفات المجهرية

الصورة رقم ١٠: الصفات المظهرية والمجهرية لفطر الرشاشية الدخناء

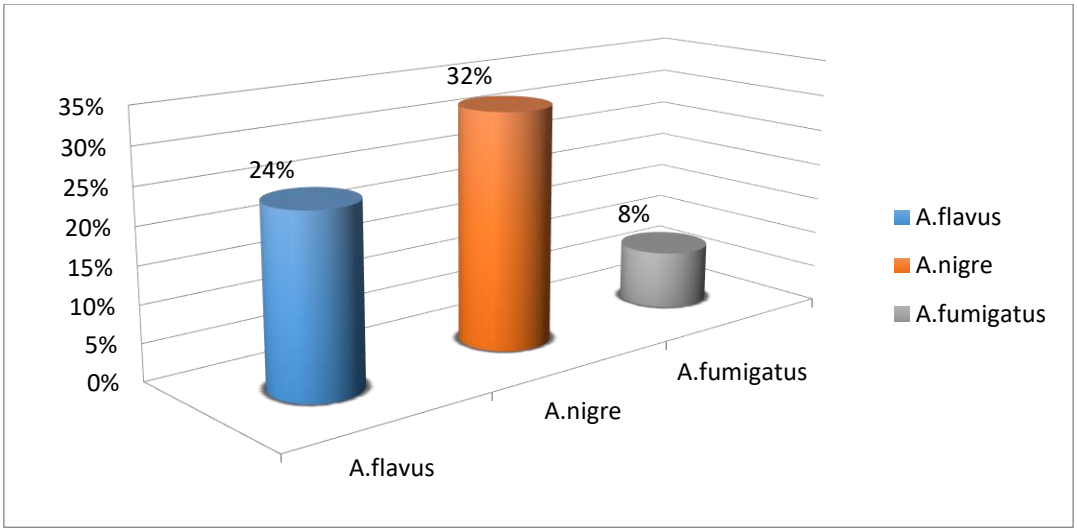
٤-٢.نسبة عزل أنواع فطور الرشاشيات :

جدول رقم (٦): النسبة المئوية لتواجد فطور الرشاشيات في أعلاف الدواجن والمجترات

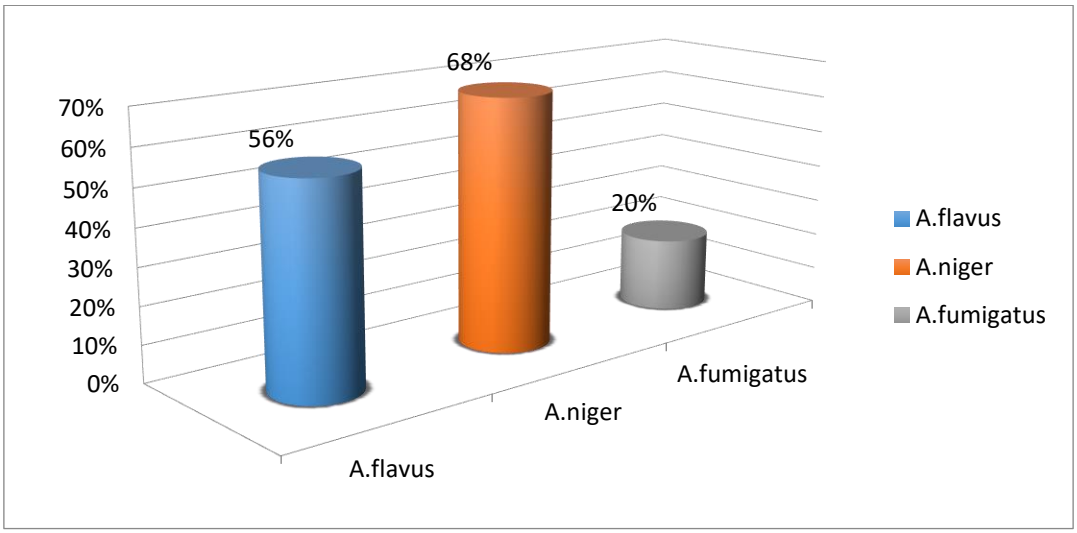
	الرشاشية الصفراء	الرشاشية السوداء	الرشاشية الدخناء
علف دواجن	24%	32%	8%
علف مجترات	56%	68%	20%

أظهرت نتائج هذه الدراسة ارتفاع نسبة تلوث أعلاف الدواجن والمجترات بفطور الرشاشيات حيث كانت أعلى نسبة تلوث في كل من أعلاف الدواجن والمجترات بفطر الرشاشية السوداء إذ بلغت نسبة التلوث ٣٢٪ و ٦٨٪ في كل من أعلاف الدواجن والمجترات على التوالي.

في حين كانت أقل نسبة تلوث في كل من أعلاف الدواجن والمجترات بفطر الرشاشية الدخناء إذ بلغت نسبة التلوث ٨٪ و ٢٠٪ في كل من أعلاف الدواجن والمجترات على التوالي (جدول رقم (٦)، مخطط رقم (١) ، مخطط رقم (٢)).



مخطط رقم (١): النسبة المئوية لوجود فطور الرشاشيات في أعلاف الدواجن



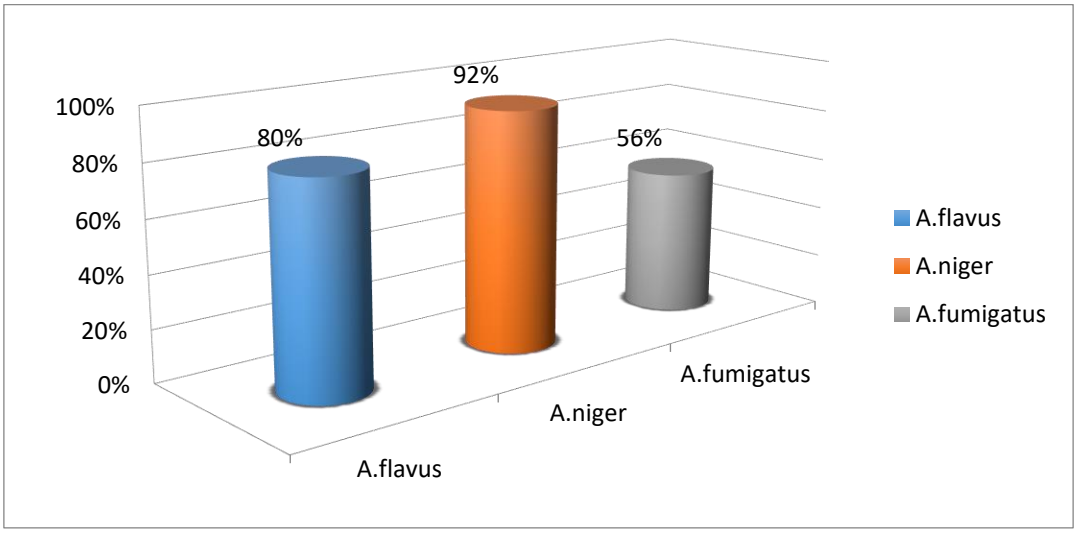
مخطط رقم (٢): النسبة المئوية لوجود فطور الرشاشيات في أعلاف المجترات

كما أشارت نتائج هذه الدراسة إلى نسبة تلوث الذرة الصفراء العلفية المستوردة والمحلية بفطور الرشاشيات حيث كانت أعلى نسبة تلوث لكلا النوعين من الذرة بفطر الرشاشية السوداء إذ بلغت نسبة التلوث ٩٢٪ و ٨٠٪ في كل من الذرة الصفراء المحلية والمستوردة على التوالي.

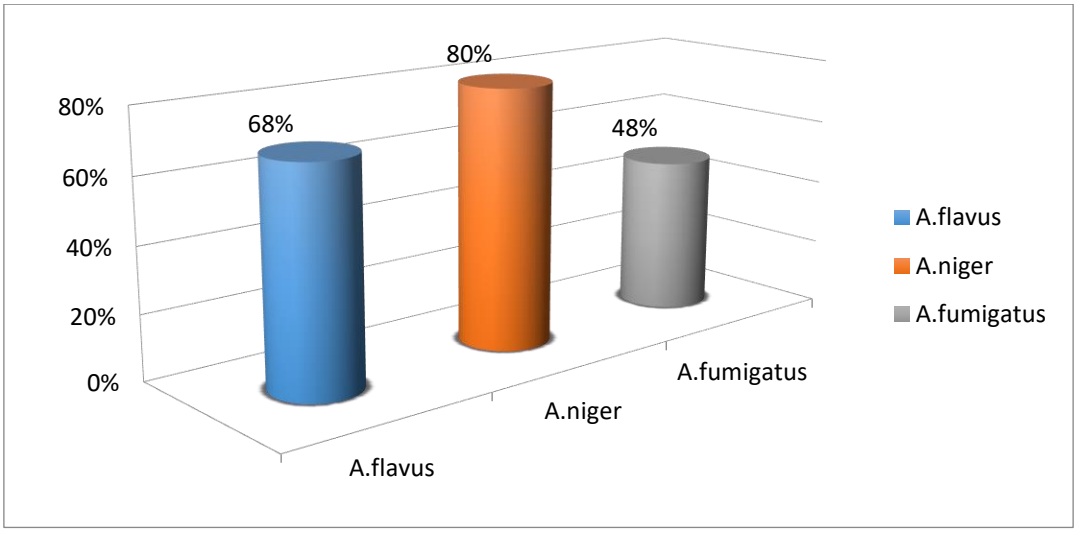
في حين كانت أقل نسبة تلوث في كلا النوعين من الذرة بفطر الرشاشيبة الدخناء إذ بلغت نسبة التلوث ٥٦٪ و ٤٨٪ في كل من الذرة الصفراء المحلية والمستوردة على التوالي (جدول رقم (٧)، مخطط رقم (٣) ، مخطط رقم (٤)).

جدول رقم (٧): النسبة المئوية لوجود فطور الرشاشيات في الذرة الصفراء

	الرشاشية الصفراء		الرشاشية السوداء		الرشاشية الدخناء	
	خارجية	داخلية	خارجية	داخلية	خارجية	داخلية
ذرة محلية	80%	36%	92%	40%	56%	24%
ذرة مستوردة	68%	32%	80%	32%	48%	24%



مخطط رقم (٣): النسبة المئوية لوجود فطور الرشاشيات في الذرة الصفراء المحلية



مخطط رقم (٤): النسبة المئوية لوجود فطور الرشاشيات في الذرة الصفراء المستوردة

٤-٣.تأثير المستخلصات النباتية على فطور الرشاشيات :

٤-٣-١.تأثير مستخلصات إكليل الجبل على فطور الرشاشيات:

أشارت نتائج هذه الدراسة إلى قدرة مستخلصات إكليل الجبل المائية الباردة والحارة والكحولية تجاه فطور الرشاشيات ، إذ أظهرت النتائج الموضحة في (الجدول رقم ٨) أن الفعالية التثبيطية لمستخلص إكليل الجبل تجاه فطور الرشاشيات اعتمدت على نوع المستخلص كحولي أو مائي وتركيز المستخلص، إذ أظهر المستخلص الكحولي فعالية أكبر في تثبيط نمو الفطور من المستخلص المائي ، كما بينت النتائج أن تركيز المستخلص المائي الحار الذي أعطى نسبة تثبيط ١٠٠٪ هو (١٨، ٢٠،١٦) ملغ/ مل على كل من فطر الرشاشية الصفراء و الرشاشية السوداء الرشاشية الدخناء على التوالي. وفي المستخلص المائي البارد (٢٢، ٢٤،٢٠) ملغ/ مل على كل من فطر الرشاشية الصفراء و الرشاشية السوداء و الرشاشية الدخناء على التوالي أما بالنسبة للمستخلص الكحولي فقد بلغ التركيز الذي أعطى نسبة تثبيط ١٠٠٪ هو (١٤، ١٨،١٤) ملغ/ مل على كل من فطر الرشاشية الصفراء و الرشاشية السوداء الرشاشية الدخناء على التوالي.

جدول رقم (٨): الفعالية التثبيطية لمستخلصات إكليل الجبل على فطور الرشاشيات

المتوسط الحسابي ± الأنحراف المعياري								
نسبة التثبيط / التركيز ملغ/مل	المستخلص المائي الحار %			المستخلص المائي البارد%			المستخلص الكحولي %		
	الرشاشية الصفراء	الرشاشية السوداء	الرشاشية الدخناء	الرشاشية الصفراء	الرشاشية السوداء	الرشاشية الدخناء	الرشاشية الصفراء	الرشاشية السوداء	الرشاشية الدخناء
طبق شاهد	٠	٠	٠	٠	٠	٠	٠	٠	٠
٢	١٧.٦±0.33	13.7±2.32	14.8±3.26	0	0	5.4±0.3	٣٩.٨±4.15	33.7±3.5	40.4±5.19
٤	٢٩.٤±4.16	25.1±4.25	26.3±4.18	13.4±0.31	10.6±5.22	15.6±4.16	51.5±3.31	49.3±0.27	55.7±5.24
٦	٤٥.١±3.27	39.7±6.18	44.2±2.16	20.2±3.23	18.3±4.31	24.7±5.33	٦٠.٢±0.44	57.6±2.19	63.8±2.5
٨	٦٥.٢±2.32	59.4±2.41	70.8±0.37	29.4±4.15	25.1±0.32	32.4±4.25	٧٠.٦±4.25	68.8±4.25	76.2±0.31
١٠	٧٠.٤±0.22	62.6±7.34	81.4±0.47	43.9±3.32	40.2±4.16	50.7±1.19	٧٥.٢±5.16	75.1±4.15	84.1±5.23

١٢	٨٠.٦±5.21	73.8±7.16	88.7±3.35	59.1±2.16	58.4±3.4	70.3±0.41	٨٨±4.32	80.6±3.29	91.5±3.27
١٤	٨٥.١±8.25	83.5±3.26	94.6±4.31	74.8±0.5	70.4±2.12	82.4±5.23	١٠٠	87.3±2.24	١٠٠
١٦	٩٠.٤±3.34	89.1±5.28	100	80.3±2.14	78.6±0.32	89.9±7.17		95.1±6.31	
١٨	١٠٠	93.7±2.46		89.5±4.11	85.2±4.29	94.6±5.42		100	
٢٠		100		95.4±0.32	90.7±5.16	100			
٢٢				100	94.5±2.26				
٢٤					100				

***هذه الأرقام تشير الى المتوسط الحسابي لثلاث مكررات**

٤-٣-٢.تأثير مستخلصات قشور الرمان على فطورالرشاشيات :

أشارت نتائج هذه الدراسة كما هو موضح في (الجدول رقم ٩) أن الفعالية التثبيطية لمستخلص قشور الرمان تجاه فطور الرشاشيات اختلفت حسب نوع المستخلص وتركيزه، إذ بينت النتائج أن التأثير التثبيطي للمستخلص الكحولي أكبر من الفعالية التثبيطية للمستخلص المائي في تثبيط نمو فطور الرشاشيات ، كما بينت النتائج أن التركيز المثبط الأدنى للمستخلص المائي الحار و أعطى نسبة تثبيط ١٠٠٪ للفطور المدروسة هو (٢٨، ٣٠،٢٤) ملغ/ مل على كل من فطر الرشاشية الصفراء و الرشاشية السوداء الرشاشية الدخناء على التوالي. أما التركيز المثبط الأدنى للمستخلص المائي البارد فقد بلغ (٢٨، ٣٠،٢٨) ملغ/ مل على كل من فطر الرشاشية الصفراء و الرشاشية السوداء الرشاشية الدخناء على التوالي أما بالنسبة للمستخلص الكحولي فقد بلغ التركيز المثبط الأدنى (٢٤، ٢٦،٢٤) ملغ/ مل على كل من فطر الرشاشية الصفراء و الرشاشية السوداء الرشاشية الدخناء على التوالي.

جدول رقم (٩): الفعالية التثبيطية لمستخلصات قشور الرمان على فطور الرشاشيات

المتوسط الحسابي ± الأنحراف المعياري								
المستخلص الكحولي %			المستخلص المائي البارد%			المستخلص المائي الحار %			نسبة التثبيط التركيز ملغ/مل
الرشاشية الدخناء	الرشاشية السوداء	الرشاشية الصفراء	الرشاشية الدخناء	الرشاشية السوداء	الرشاشية الصفراء	الرشاشية الدخناء	الرشاشية السوداء	الرشاشية الصفراء	

نسبة التثبيط / التركيز ملغ/مل	المستخلص المائي الحار %			المستخلص المائي البارد%			المستخلص الكحولي %		
	الرشاشية الصفراء	الرشاشية السوداء	الرشاشية الدخناء	الرشاشية الصفراء	الرشاشية السوداء	الرشاشية الدخناء	الرشاشية الصفراء	الرشاشية السوداء	الرشاشية الدخناء
طبق شاهد	٠	0	٠	٠	٠	٠	٠	0	٠
٢	٠	0	٠	٠	0	٠	6.3±0.42	4.3±0.25	٨.٢±3.21
٤	٨.٢±1.25	5.7±3.32	10.4±0.25	4.3±0.41	0	٨.٥±0.24	١٢.٤±0.25	8.8±0.36	14.6±0.24
٦	١٥.٣±2.17	11.4±2.17	18.7±0.16	8.7±0.42	6.4±2.18	١٤.٧±0.25	19.7±0.34	16.7±0.33	20.8±0.25
٨	٢٠.٤±0.35	16.8±3.36	25.4±0.26	16.6±3.16	14.7±0.32	٢٠.٤±3.15	27.3±2.17	٢٤.3±3.17	29.7±2.33
١٠	٣٣.٧±3.16	25.5±5.38	38.5±0.4	25.4±3.31	22.4±3.17	٣١.٨±0.32	35.8±0.34	٣٥.4±0.32	37.1±2.16
١٢	٤٠.٣±2.13	31.3±0.27	44.2±0.24	32.1±0.28	29.6±0.25	٤٠.٦±0.25	46.5±3.16	4٥.9±0.38	46.8±0.25
١٤	٤٤.٥±0.26	37.6±2.16	51.9±0.35	39.2±5.27	32.5±0.22	٤٧.٣±0.27	55.2±0.26	53.8±4.18	56.5±0.43
١٦	٥٠.٢±0.4	43±0.4	58.3±0.26	47.6±4.37	40.7±0.31	٥٤.٧±0.33	65.7±3.26	62.8±0.32	66.2±2.17
١٨	٦٦.٨±2.17	50.4±4.31	69.3±0.38	56.3±2.25	48.5±0.34	٦٠.٣±0.31	74.3±0.35	73.5±4.22	76.2±0.34
٢٠	٧٦.١±2.53	62.3±0.32	82.1±0.35	68.6±2.19	57.5±0.33	٦٩.٩±0.38	81.4±0.27	80.7±0.28	83.6±0.26
٢٢	٨٣.٧±5.17	71.7±2.4	91.5±0.31	79.8±3.32	67.2±0.26	٧٧.٢±0.35	90.1±4.27	88.8±0.26	91.7±2.14
٢٤	٨٧.٢±0.4	81.3±3.15	100	85.3±5.34	72.8±4.17	٨٤.١±0.37	100	94.3±0.33	100
٢٦	٩٤.٣±0.33	88.4±0.54		93.4±2.32	79.4±0.32	٩١.٢±0.35		١٠٠	
٢٨	١٠٠	93.9±0.31		100	85.1±0.21	١٠٠			
٣٠		100			٩٢.٢±2.17				
٣٢					١٠٠				

***هذه الأرقام تشير الى المتوسط الحسابي لثلاث مكررات**

٤-٤.تأثير النستاتين على فطور الرشاشيات :

أظهرت النتائج الموضحة في الجدول رقم (١٠) قدرة المضاد الفطري النستاتين في تثبيط نمو فطور الرشاشيات إذ بلغ التركيز الذي أعطى نسبة تثبيط ١٠٠٪ (٠.٠٠٥، ٠.٠٠٥٢، ٠.٠٠٥) ملغ / مل على كل من فطر الرشاشية الصفراء و الرشاشية السوداء الرشاشية الدخناء على التوالي.

جدول رقم (١٠): الفعالية التثبيطية للنستاتين على فطور الرشاشيات

المتوسط الحسابي ± الأنحراف المعياري	
نسبة	النستاتين

التثبيط / التركيز ملغ/مل	الرشاشية الصفراء	الرشاشية السوداء	الرشاشية الدخناء

طبق شاهد	٠	٠	٠
0.002	0	0	0
0.005	9.4±2.12	6.4±2.34	١٠.٢±4.26
0.01	14.2±1.43	10.3±1.32	15.7±2.43
0.015	17.5±0.15	15.6±3.32	19.4±3.13
0.02	25.4±5.25	23.2±0.43	27.1±0.75
0.025	33.6±3.13	30.7±0.45	33.8±1.76
0.03	40.7±4.16	38.5±2.43	41.6±3.87
0.035	48.2±2.17	44.6±3.54	50.2±2.98
0.04	55.1±3.24	52.4±2.56	60.8±0.76
0.042	66.4±0.87	61.9±2.32	68.7±0.43
0.044	75.2±0.32	73.2±1.43	77.2±2.45
0.046	83.8±2.54	81.5±0.75	85.7±0.65
0.048	93.4±3.4	89.3±4.8	95.6±6.87
0.05	100	95.2±3.65	100
0.052		100	

***هذه الأرقام تشير الى المتوسط الحسابي لثلاث مكررات**

٥-٤. مقارنة بين التأثير التثبيطي للمستخلصات النباتية والنستاتين:

بينت نتائج هذه الدراسة اختلاف في التراكيز الفعالة التي كان لها أثر تثبيطي لنمو فطور الرشاشيات وبالمقارنة بين فعالية المستخلصات النباتية والمضاد الحيوي النستاتين تبين أن تأثير النستاتين كان أقوى في جرعات منخفضة مقارنة بالمستخلصات النباتية المائية والكحولية لكل من نبات أكليل الجبل وقشر الرمان كما هو موضح في الجدول رقم (١١) ، حيث يظهر الجدول أقل التراكيز ذات الأثر التثبيطي

المستخدمة في هذه الدراسة ونسبة التثبيط في كل نوع ، بالإضافة إلى التركيز المثبط الأدنى الذي بلغت نسبة الثبيط فيه ١٠٠٪.

الجدول رقم (١١):مقارنة أعلى وأقل تركيز مستخدم للمستخلصات النباتية والنستاتين

ملغ / مل

	المستخلص المائي الحار لنبات إكليل الجبل			المستخلص المائي البارد لنبات إكليل الجبل			المستخلص الكحولي لنبات إكليل الجبل			النستاتين		
	الرشاشية الصفراء	الرشاشية السوداء	الرشاشية الدخناء	الرشاشية الصفراء	الرشاشية السوداء	الرشاشية الدخناء	الرشاشية الصفراء	الرشاشية السوداء	الرشاشية الدخناء	الرشاشية الصفراء	الرشاشية السوداء	الرشاشية الدخناء
أقل تركيز	2	2	2	4	4	2	2	2	2	0.005	0.005	0.005
نسبة التثبيط	١٧.٦	13.7	14.8	13.4	10.6	5.4	١٧.٦	13.7	14.8	9.4	6.4	١٠.٢
أعلى تركيز	18	20	16	22	24	20	14	18	14	0.05	0.052	0.05
نسبة التثبيط	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
MIC	المستخلص المائي الحار لقشر الرمان			المستخلص المائي البارد لقشر الرمان			المستخلص الكحولي لقشر الرمان					

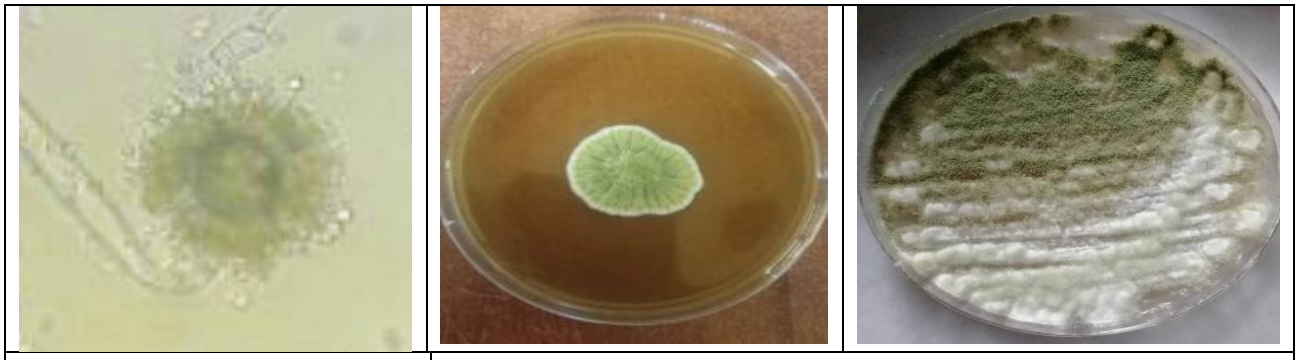
النتائج

٤-١.العزل والتصنيف:

تم عزل وتصنيف ثلاث أنواع من فطور الرشاشيات من كل من عينات أعلاف الدواجن والمجترات والذرة الصفراء العلفية المحلية والمستوردة وهي :

٤-١-١.الرشاشية الصفراء Aspergillus flavus :

شخصت عزلة فطر الرشاشية الصفراء حسب الصفات المظهرية النامية على الوسط الزرعي PDA إذ أعطت العزلة على الوسط لوناً أبيض في المراحل الأولى ثم تحولت إلى اللون الأخضر الفاتح ذو حواف صفراء أو بيضاء، أما السطح السفلي فظهر باللون الذهبي الى البني المحمر، ونسيج المستعمرات مترابط غير مفكك وذو طبيعة مخملية. أما الصفات المجهرية فإنه يمتلك حامل كونيدي ذو جدار ثخين عديم اللون وتتسع النهاية لتشكل الحويصلة التي تمتلك شكل متطاولاً في المراحل الأولى من النمو وفيما بعد يصبح كروياً أما الفاليدات فهي أحادية التفرع وتحمل كونيدات كروية أو شبه كروية وهذا يتوافق مع الصفات المظهرية والمجهرية لهذا النوع.(صورة رقم (٨)).



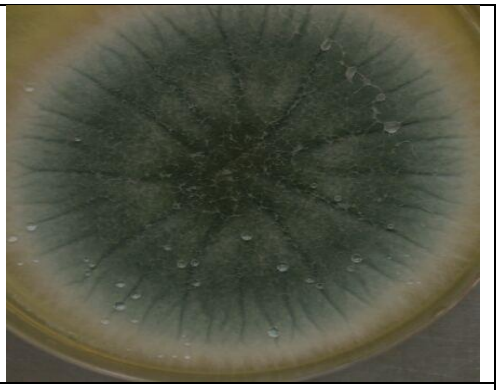
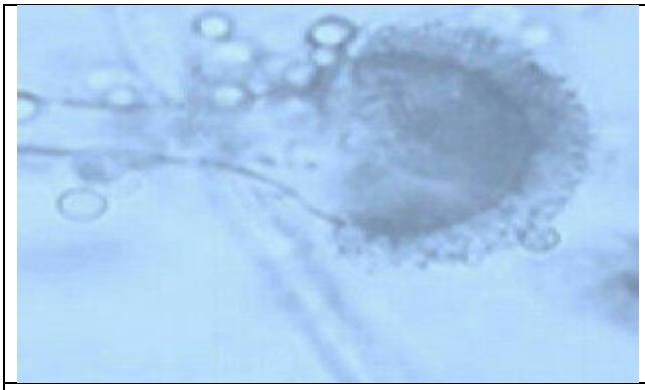
الصفات المظهرية لفطر الرشاشية الصفراء	الصفات المجهرية

الصورة رقم ٨: الصفات المظهرية والمجهرية لفطر الرشاشية الصفراء

٤-١-٢.الرشاشية السوداء Aspergillus niger :

شخصت عزلة فطر الرشاشية السوداء حسب الصفات المظهرية النامية على الوسط الزرعي PDA إذ ظهرت المستعمرات في بداية النمو بلون أبيض وسرعان ما تحولت الى اللون الأسود، وتظهر

الجهة السفلية للطبق بلون أصفر مخضر، وبالصفة المجهرية تظهر الخيوط الفطرية تحت المجهر متشابكة ومقسمة، وينتهي حامل الأبواغ بتركيب حويصلي منتفخ وذو لون أسود وتخرج منه الأبواغ ،وهذا يتوافق مع الصفات المظهرية والمجهرية لهذا النوع.(صورة رقم (٩)).

	
الصفات المظهرية لفطر الرشاشية الدخناء	الصفات المجهرية

الصورة رقم ١٠: الصفات المظهرية والمجهرية لفطر الرشاشية الدخناء

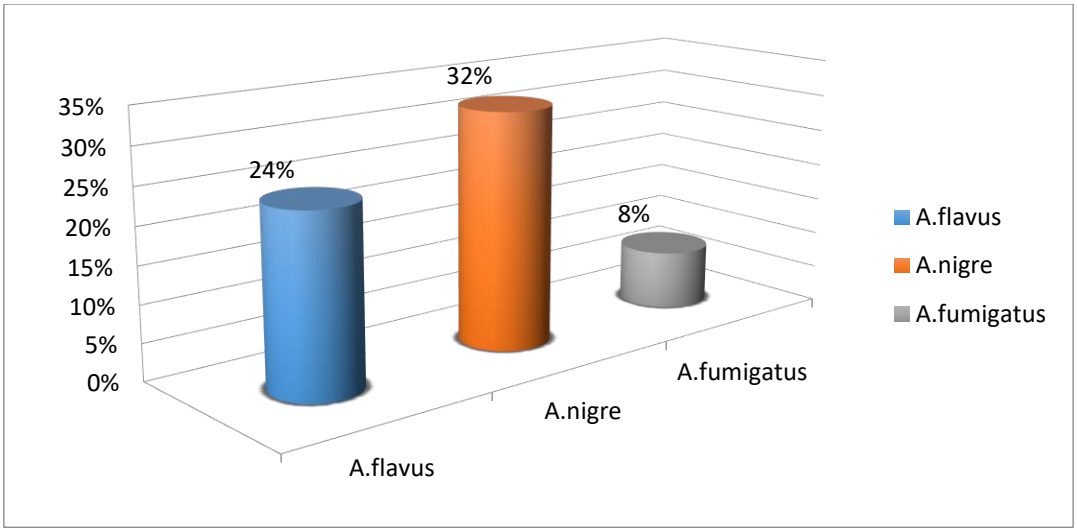
٤-٢.نسبة عزل أنواع فطور الرشاشيات :

جدول رقم (٦): النسبة المئوية لتواجد فطور الرشاشيات في أعلاف الدواجن والمجترات

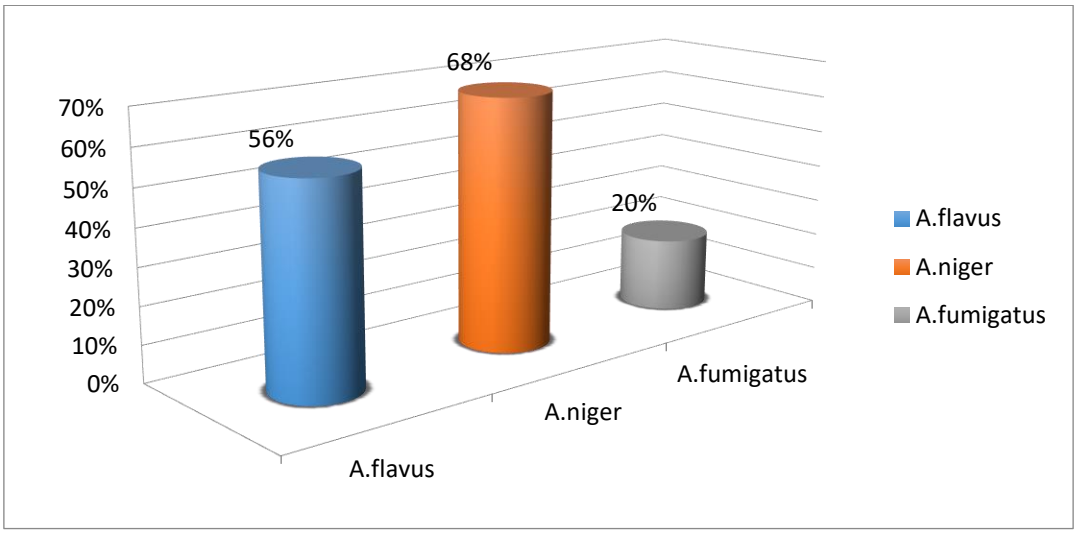
	الرشاشية الصفراء	الرشاشية السوداء	الرشاشية الدخناء
علف دواجن	24%	32%	8%
علف مجترات	56%	68%	20%

أظهرت نتائج هذه الدراسة ارتفاع نسبة تلوث أعلاف الدواجن والمجترات بفطور الرشاشيات حيث كانت أعلى نسبة تلوث في كل من أعلاف الدواجن والمجترات بفطر الرشاشية السوداء إذ بلغت نسبة التلوث ٣٢٪ و ٦٨٪ في كل من أعلاف الدواجن والمجترات على التوالي.

في حين كانت أقل نسبة تلوث في كل من أعلاف الدواجن والمجترات بفطر الرشاشية الدخناء إذ بلغت نسبة التلوث ٨٪ و ٢٠٪ في كل من أعلاف الدواجن والمجترات على التوالي (جدول رقم (٦)، مخطط رقم (١) ، مخطط رقم (٢)).



مخطط رقم (١): النسبة المئوية لوجود فطور الرشاشيات في أعلاف الدواجن



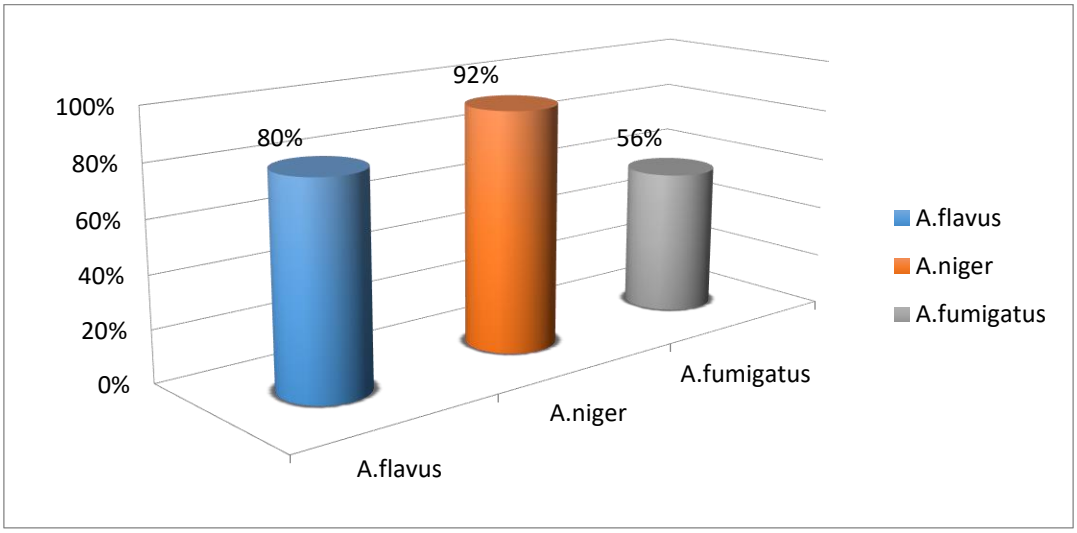
مخطط رقم (٢): النسبة المئوية لوجود فطور الرشاشيات في أعلاف المجترات

كما أشارت نتائج هذه الدراسة إلى نسبة تلوث الذرة الصفراء العلفية المستوردة والمحلية بفطور الرشاشيات حيث كانت أعلى نسبة تلوث لكلا النوعين من الذرة بفطر الرشاشية السوداء إذ بلغت نسبة التلوث ٩٢٪ و ٨٠٪ في كل من الذرة الصفراء المحلية والمستوردة على التوالي.

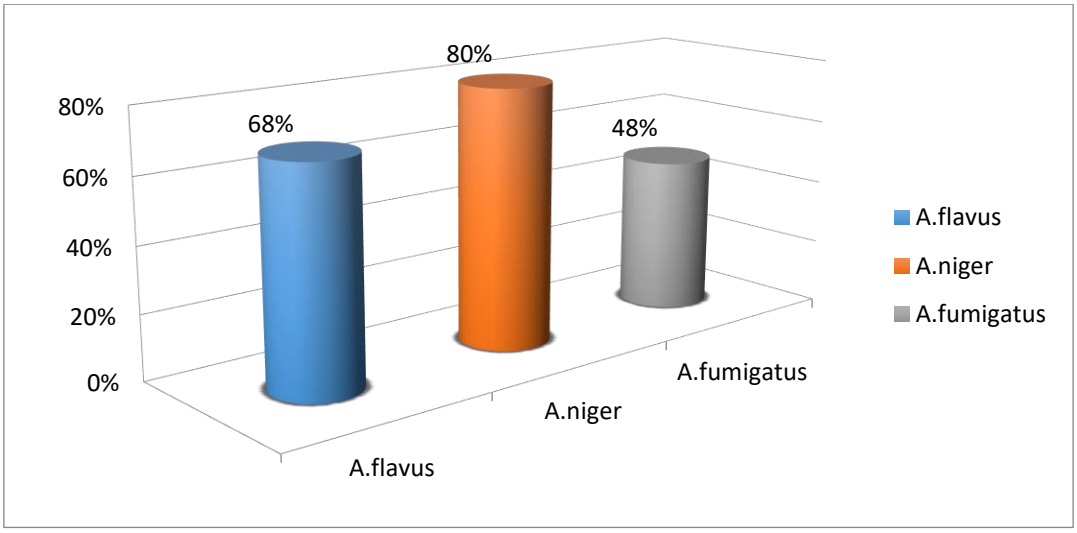
في حين كانت أقل نسبة تلوث في كلا النوعين من الذرة بفطر الرشاشيبة الدخناء إذ بلغت نسبة التلوث ٥٦٪ و ٤٨٪ في كل من الذرة الصفراء المحلية والمستوردة على التوالي (جدول رقم (٧)، مخطط رقم (٣) ، مخطط رقم (٤)).

جدول رقم (٧): النسبة المئوية لوجود فطور الرشاشيات في الذرة الصفراء

	الرشاشية الصفراء		الرشاشية السوداء		الرشاشية الدخناء	
	خارجية	داخلية	خارجية	داخلية	خارجية	داخلية
ذرة محلية	80%	36%	92%	40%	56%	24%
ذرة مستوردة	68%	32%	80%	32%	48%	24%



مخطط رقم (٣): النسبة المئوية لوجود فطور الرشاشيات في الذرة الصفراء المحلية



مخطط رقم (٤): النسبة المئوية لوجود فطور الرشاشيات في الذرة الصفراء المستوردة

٤-٣.تأثير المستخلصات النباتية على فطور الرشاشيات :

٤-٣-١.تأثير مستخلصات إكليل الجبل على فطور الرشاشيات:

أشارت نتائج هذه الدراسة إلى قدرة مستخلصات إكليل الجبل المائية الباردة والحارة والكحولية تجاه فطور الرشاشيات ، إذ أظهرت النتائج الموضحة في (الجدول رقم ٨) أن الفعالية التثبيطية لمستخلص إكليل الجبل تجاه فطور الرشاشيات اعتمدت على نوع المستخلص كحولي أو مائي وتركيز المستخلص، إذ أظهر المستخلص الكحولي فعالية أكبر في تثبيط نمو الفطور من المستخلص المائي ، كما بينت النتائج أن تركيز المستخلص المائي الحار الذي أعطى نسبة تثبيط ١٠٠٪ هو (١٨، ١٦،٢٠) ملغ/ مل على كل من فطر الرشاشية الصفراء و الرشاشية السوداء الرشاشية الدخناء على التوالي. وفي المستخلص المائي البارد (٢٢، ٢٠،٢٤) ملغ/ مل على كل من فطر الرشاشية الصفراء و الرشاشية السوداء و الرشاشية الدخناء على التوالي أما بالنسبة للمستخلص الكحولي فقد بلغ التركيز الذي أعطى نسبة تثبيط ١٠٠٪ هو (١٤، ١٤،١٨) ملغ/ مل على كل من فطر الرشاشية الصفراء و الرشاشية السوداء الرشاشية الدخناء على التوالي.

جدول رقم (٨): الفعالية التثبيطية لمستخلصات إكليل الجبل على فطور الرشاشيات

المتوسط الحسابي ± الأنحراف المعياري								
نسبة التثبيط / التركيز ملغ/مل	المستخلص المائي الحار %			المستخلص المائي البارد%			المستخلص الكحولي %		
	الرشاشية الصفراء	الرشاشية السوداء	الرشاشية الدخناء	الرشاشية الصفراء	الرشاشية السوداء	الرشاشية الدخناء	الرشاشية الصفراء	الرشاشية السوداء	الرشاشية الدخناء
طبق شاهد	٠	٠	٠	٠	٠	٠	٠	٠	٠
٢	١٧.٦±0.33	13.7±2.32	14.8±3.26	0	0	5.4±0.3	٣٩.٨±4.15	33.7±3.5	40.4±5.19
٤	٢٩.٤±4.16	25.1±4.25	26.3±4.18	13.4±0.31	10.6±5.22	15.6±4.16	51.5±3.31	49.3±0.27	55.7±5.24
٦	٤٥.١±3.27	39.7±6.18	44.2±2.16	20.2±3.23	18.3±4.31	24.7±5.33	٦٠.٢±0.44	57.6±2.19	63.8±2.5
٨	٦٥.٢±2.32	59.4±2.41	70.8±0.37	29.4±4.15	25.1±0.32	32.4±4.25	٧٠.٦±4.25	68.8±4.25	76.2±0.31
١٠	٧٠.٤±0.22	62.6±7.34	81.4±0.47	43.9±3.32	40.2±4.16	50.7±1.19	٧٥.٢±5.16	75.1±4.15	84.1±5.23

١٢	٨٠.٦±5.21	73.8±7.16	88.7±3.35	59.1±2.16	58.4±3.4	70.3±0.41	٨٨±4.32	80.6±3.29	91.5±3.27
١٤	٨٥.١±8.25	83.5±3.26	94.6±4.31	74.8±0.5	70.4±2.12	82.4±5.23	١٠٠	87.3±2.24	١٠٠
١٦	٩٠.٤±3.34	89.1±5.28	100	80.3±2.14	78.6±0.32	89.9±7.17		95.1±6.31	
١٨	١٠٠	93.7±2.46		89.5±4.11	85.2±4.29	94.6±5.42		100	
٢٠		100		95.4±0.32	90.7±5.16	100			
٢٢				100	94.5±2.26				
٢٤					100				

***هذه الأرقام تشير الى المتوسط الحسابي لثلاث مكررات**

٤-٣-٢.تأثير مستخلصات قشور الرمان على فطورالرشاشيات :

أشارت نتائج هذه الدراسة كما هو موضح في (الجدول رقم ٩) أن الفعالية التثبيطية لمستخلص قشور الرمان تجاه فطور الرشاشيات اختلفت حسب نوع المستخلص وتركيزه، إذ بينت النتائج أن التأثير التثبيطي للمستخلص الكحولي أكبر من الفعالية التثبيطية للمستخلص المائي في تثبيط نمو فطور الرشاشيات ، كما بينت النتائج أن التركيز المثبط الأدنى للمستخلص المائي الحار و أعطى نسبة تثبيط ١٠٠٪ للفطور المدروسة هو (٢٨، ٣٠،٢٤) ملغ/ مل على كل من فطر الرشاشية الصفراء و الرشاشية السوداء الرشاشية الدخناء على التوالي. أما التركيز المثبط الأدنى للمستخلص المائي البارد فقد بلغ (٢٨، ٣٠،٢٨) ملغ/ مل على كل من فطر الرشاشية الصفراء و الرشاشية السوداء الرشاشية الدخناء على التوالي أما بالنسبة للمستخلص الكحولي فقد بلغ التركيز المثبط الأدنى (٢٤، ٢٦،٢٤) ملغ/ مل على كل من فطر الرشاشية الصفراء و الرشاشية السوداء الرشاشية الدخناء على التوالي.

جدول رقم (٩): الفعالية التثبيطية لمستخلصات قشور الرمان على فطور الرشاشيات

المتوسط الحسابي ± الأنحراف المعياري								
المستخلص الكحولي %			المستخلص المائي البارد%			المستخلص المائي الحار %			نسبة التثبيط التركيز ملغ/مل
الرشاشية الدخناء	الرشاشية السوداء	الرشاشية الصفراء	الرشاشية الدخناء	الرشاشية السوداء	الرشاشية الصفراء	الرشاشية الدخناء	الرشاشية السوداء	الرشاشية الصفراء	

نسبة التثبيط / التركيز ملغ/مل	المستخلص المائي الحار %			المستخلص المائي البارد%			المستخلص الكحولي %		
	الرشاشية الصفراء	الرشاشية السوداء	الرشاشية الدخناء	الرشاشية الصفراء	الرشاشية السوداء	الرشاشية الدخناء	الرشاشية الصفراء	الرشاشية السوداء	الرشاشية الدخناء
طبق شاهد	٠	0	٠	٠	٠	٠	٠	0	٠
٢	٠	0	٠	٠	0	٠	6.3±0.42	4.3±0.25	٨.٢±3.21
٤	٨.٢±1.25	5.7±3.32	10.4±0.25	4.3±0.41	0	٨.٥±0.24	١٢.٤±0.25	8.8±0.36	14.6±0.24
٦	١٥.٣±2.17	11.4±2.17	18.7±0.16	8.7±0.42	6.4±2.18	١٤.٧±0.25	19.7±0.34	16.7±0.33	20.8±0.25
٨	٢٠.٤±0.35	16.8±3.36	25.4±0.26	16.6±3.16	14.7±0.32	٢٠.٤±3.15	27.3±2.17	٢٤.3±3.17	29.7±2.33
١٠	٣٣.٧±3.16	25.5±5.38	38.5±0.4	25.4±3.31	22.4±3.17	٣١.٨±0.32	35.8±0.34	٣٥.4±0.32	37.1±2.16
١٢	٤٠.٣±2.13	31.3±0.27	44.2±0.24	32.1±0.28	29.6±0.25	٤٠.٦±0.25	46.5±3.16	4٥.9±0.38	46.8±0.25
١٤	٤٤.٥±0.26	37.6±2.16	51.9±0.35	39.2±5.27	32.5±0.22	٤٧.٣±0.27	55.2±0.26	53.8±4.18	56.5±0.43
١٦	٥٠.٢±0.4	43±0.4	58.3±0.26	47.6±4.37	40.7±0.31	٥٤.٧±0.33	65.7±3.26	62.8±0.32	66.2±2.17
١٨	٦٦.٨±2.17	50.4±4.31	69.3±0.38	56.3±2.25	48.5±0.34	٦٠.٣±0.31	74.3±0.35	73.5±4.22	76.2±0.34
٢٠	٧٦.١±2.53	62.3±0.32	82.1±0.35	68.6±2.19	57.5±0.33	٦٩.٩±0.38	81.4±0.27	80.7±0.28	83.6±0.26
٢٢	٨٣.٧±5.17	71.7±2.4	91.5±0.31	79.8±3.32	67.2±0.26	٧٧.٢±0.35	90.1±4.27	88.8±0.26	91.7±2.14
٢٤	٨٧.٢±0.4	81.3±3.15	100	85.3±5.34	72.8±4.17	٨٤.١±0.37	100	94.3±0.33	100
٢٦	٩٤.٣±0.33	88.4±0.54		93.4±2.32	79.4±0.32	٩١.٢±0.35		١٠٠	
٢٨	١٠٠	93.9±0.31		100	85.1±0.21	١٠٠			
٣٠		100			٩٢.٢±2.17				
٣٢					١٠٠				

***هذه الأرقام تشير الى المتوسط الحسابي لثلاث مكررات**

٤-٤.تأثير النستاتين على فطور الرشاشيات :

أظهرت النتائج الموضحة في الجدول رقم (١٠) قدرة المضاد الفطري النستاتين في تثبيط نمو فطور الرشاشيات إذ بلغ التركيز الذي أعطى نسبة تثبيط ١٠٠٪ (٠.٠٠٥، ٠.٠٠٥٢، ٠.٠٠٥) ملغ / مل على كل من فطر الرشاشية الصفراء و الرشاشية السوداء الرشاشية الدخناء على التوالي.

جدول رقم (١٠): الفعالية التثبيطية للنستاتين على فطور الرشاشيات

المتوسط الحسابي ± الأنحراف المعياري		
النستاتين		نسبة التثبيط / التركيز ملغ/مل
الرشاشية الصفراء	الرشاشية السوداء	الرشاشية الدخناء

طبق شاهد	٠	٠	٠
0.002	0	0	0
0.005	9.4±2.12	6.4±2.34	١٠.٢±4.26
0.01	14.2±1.43	10.3±1.32	15.7±2.43
0.015	17.5±0.15	15.6±3.32	19.4±3.13
0.02	25.4±5.25	23.2±0.43	27.1±0.75
0.025	33.6±3.13	30.7±0.45	33.8±1.76
0.03	40.7±4.16	38.5±2.43	41.6±3.87
0.035	48.2±2.17	44.6±3.54	50.2±2.98
0.04	55.1±3.24	52.4±2.56	60.8±0.76
0.042	66.4±0.87	61.9±2.32	68.7±0.43
0.044	75.2±0.32	73.2±1.43	77.2±2.45
0.046	83.8±2.54	81.5±0.75	85.7±0.65
0.048	93.4±3.4	89.3±4.8	95.6±6.87
0.05	100	95.2±3.65	100
0.052		100	

***هذه الأرقام تشير الى المتوسط الحسابي لثلاث مكررات**

٥-٤. مقارنة بين التأثير التثبيطي للمستخلصات النباتية والنستاتين:

بينت نتائج هذه الدراسة اختلاف في التراكيز الفعالة التي كان لها أثر تثبيطي لنمو فطور الرشاشيات وبالمقارنة بين فعالية المستخلصات النباتية والمضاد الحيوي النستاتين تبين أن تأثير النستاتين كان أقوى في جرعات منخفضة مقارنة بالمستخلصات النباتية المائية والكحولية لكل من نبات أكليل الجبل وقشر الرمان كما هو موضح في الجدول رقم (١١) ، حيث يظهر الجدول أقل التراكيز ذات الأثر التثبيطي

المستخدمة في هذه الدراسة ونسبة التثبيط في كل نوع ، بالإضافة إلى التركيز المثبط الأدنى الذي بلغت نسبة الثبيط فيه ١٠٠٪.

الجدول رقم (١١):مقارنة أعلى وأقل تركيز مستخدم للمستخلصات النباتية والنستاتين

ملغ / مل										
	المستخلص المائي الحار لنبات إكليل الجبل			المستخلص المائي البارد لنبات إكليل الجبل			المستخلص الكحولي لنبات إكليل الجبل			النستاتين
	الرشاشية الصفراء	الرشاشية السوداء	الرشاشية الدخناء	الرشاشية الصفراء	الرشاشية السوداء	الرشاشية الدخناء	الرشاشية الصفراء	الرشاشية السوداء	الرشاشية الدخناء	الرشاشية الصفراء	الرشاشية السوداء	الرشاشية الدخناء
أقل تركيز	2	2	2	4	4	2	2	2	2	0.005	0.005	0.005
نسبة التثبيط	١٧.٦	13.7	14.8	13.4	10.6	5.4	١٧.٦	13.7	14.8	9.4	6.4	١٠.٢
أعلى تركيز	18	20	16	22	24	20	14	18	14	0.05	0.052	0.05
نسبة التثبيط	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
MIC	المستخلص المائي الحار لقشر الرمان			المستخلص المائي البارد لقشر الرمان			المستخلص الكحولي لقشر الرمان					
أقل تركيز	4	4	4	4	6	4	2	2	2			
نسبة التثبيط	٨.٢	5.7	10.4	4.3	6.4	٨.٥	6.3	4.3	٨.٢			
أعلى تركيز	28	30	24	28	32	28	24	26	24			
نسبة التثبيط	100	100	100	100	100	100	100	100	100			

المناقشة

(٥-١) عزل وانتشار فطور الرشاشيات:

(٥-١-١) انتشار فطور الرشاشية الصفراء في الأعلاف والذرة:

أظهرت النتائج ارتفاع نسبة التلوث بأنواع فطر الرشاشية الصفراء في كل من أعلاف الدواجن والمجترات وفي بذور الذرة الصفراء المستوردة والمحلية، وبمقارنة نتائج هذه الدراسة مع الدراسات الأخرى فقد توافقت نتائج هذه الدراسة مع ما وجده Aliyu وآخرون (2016) في نيجيريا حيث وجد أن نسبة عزل فطر *الرشاشية الصفراء* في أعلاف الدواجن ٢٢٪ ومع ما وجده El-Demerdash وآخرون (2018) في أعلاف المجترات في مصر إذ بلغت نسبة التلوث بفطر *الرشاشية الصفراء* ٦٠٪، بينما كانت نتائج هذه الدراسة منخفضة مقارنة مع ما وجده Fraga وآخرون (2007) في الأرجنتين إذ بلغت نسبة عزل فطر *الرشاشية الصفراء* من أعلاف الدواجن ٤٧٪ ومع ما وجده Tesfaye وآخرون (2024) في أثيوبيا إذ بلغت نسبة عزل فطر *الرشاشية الصفراء* من أعلاف المجترات ٨٢.٨٪، بينما كانت نتائج هذه الدراسة مرتفعة بالمقارنة مع نتائج Belkacem وآخرون (2020) في الجزائر إذ بلغت نسبة عزل فطر *الرشاشية الصفراء* من أعلاف المجترات ٤٥٪. في حين وجد El-Naggar و Abdel-Aziz (2020) في مصر أن نسبة عزل فطر *الرشاشية الصفراء* من الذرة الصفراء ٧٥٪، كما وجد Khalil و Abd El-Aziz (2018) في لبنان أن نسبة عزل فطر *الرشاشية الصفراء* من الذرة الصفراء ٦٠٪، كما وجد الوائلي (٢٠٠٦) في العراق أن نسبة عزل فطر *الرشاشية الصفراء* من الذرة الصفراء والحنطة والشلب ٣٨.٦٣٪.

(٥-١-٢) انتشار فطور الرشاشية السوداء في الأعلاف والذرة:

أظهرت النتائج أن نسبة التلوث بأنواع فطر الرشاشية السوداء أعلى من نسبة فطور *الرشاشية الصفراء* في كل من أعلاف الدواجن والمجترات و بذور الذرة الصفراء المستوردة والمحلية، وبمقارنة نتائج هذه الدراسة

مع الدراسات الأخرى فقد تقاربت نتائج هذه الدراسة مع ما وجده Saleemi (2017) في باكستان حيث وجد أن نسبة عزل فطر *الرشاشية السوداء* من أعلاف المجترات ٦٨٪، بينما كانت نتائج هذه الدراسة مرتفعة بالمقارنة مع نتائج عبدالله وصبري (٢٠٢٠) في مصر إذ بلغت نسبة عزل فطر *الرشاشية السوداء* من أعلاف الدواجن ١٨٪ ومرتفعة مقارنة مع ما وجده الكعبي ومحمد (٢٠١٨) في العراق إذ بلغت نسبة عزل فطر *الرشاشية السوداء* من أعلاف الدواجن ٢٢٪. في حين وجد El-Zawawy و El-Shafey (2020) في مصر أن نسبة عزل فطر *الرشاشية السوداء* من الذرة الصفراء ٣٠٪، كما وجد عبد نعمة (٢٠١١) في العراق أن نسبة عزل فطر *الرشاشية السوداء* من الذرة الصفراء ١١.٥٪. كما وجد الوائلي (٢٠٠٦) في العراق أن نسبة عزل فطر *الرشاشية السوداء* من الذرة الصفراء والحنطة والشلب 28.72%

(٥-١-٣) انتشار فطور الرشاشية الدخناء في الأعلاف والذرة:

أظهرت نتائج أن نسبة الإصابة بأنواع فطر الرشاشية الدخناء كانت هي الأخفض ما بين الفطريات المدروسة في كل من أعلاف الدواجن والمجترات و بذور الذرة الصفراء المستوردة والمحلية، وبمقارنة نتائج هذه الدراسة مع الدراسات الأخرى فقد تقاربت نتائج هذه الدراسة مع ما وجده Daveri وآخرون (2015) في شمال شرقي إيران تبين تلوث أعلاف الأبقار بفطور الرشاشية الدخناء بنسبة ٢١٪، في حين كانت نتائج هذه الدراسة منخفضة مقارنة بـــدراسة Aliyu وآخرون (2016) في نيجيريا إذ بلغت نسبة تلوث أعلاف الدواجن بفطر الرشاشية الدخناء ٣١٪، وفي العراق وجد الأسدي (٢٠٠٦) أن بلغت نسبة تلوث أعلاف الدواجن بفطر الرشاشية الدخناء ٦٠٪، كما وجد الراوي وآخرون (٢٠١١) نسبة منخفضة من التلوث في حبوب الذرة إذ بلغت نسبة انتشار الرشاشية الدخناء هي ٣.٣٪ .

وقد يعود سبب تلوث أعلاف الدواجن والمجترات بفطور الرشاشيات بسبب الحمولة الميكروبية العالية للبذور المصنع منها وبخاصة بذور الذرة الصفراء إذ يمكن تلوثها أثناء النمو في الحقل أو في مرحلة

ع الدراسات الأخرى فقد تقاربت نتائج هذه الدراسة مع ما وجده Saleemi (2017) في باكستان حيث وجد أن نسبة عزل فطر *الرشاشية السوداء* من أعلاف المجترات ٦٨٪، بينما كانت نتائج هذه الدراسة مرتفعة بالمقارنة مع نتائج عبدالله وصبري (٢٠٢٠) في مصر إذ بلغت نسبة عزل فطر *الرشاشية السوداء* من أعلاف الدواجن ١٨٪ ومرتفعة مقارنة مع ما وجده الكعبي ومحمد (٢٠١٨) في العراق إذ بلغت نسبة عزل فطر *الرشاشية السوداء* من أعلاف الدواجن ٢٢٪. في حين وجد El-Zawawy و El-Shafey (2020) في مصر أن نسبة عزل فطر *الرشاشية السوداء* من الذرة الصفراء ٣٠٪، كما وجد عبد نعمة (٢٠١١) في العراق أن نسبة عزل فطر *الرشاشية السوداء* من الذرة الصفراء ١١.٥٪. كما وجد الوائلي (٢٠٠٦) في العراق أن نسبة عزل فطر *الرشاشية السوداء* من الذرة الصفراء والحنطة والشلب 28.72%

(٥-١-٣) انتشار فطور الرشاشية الدخناء في الأعلاف والذرة:

أظهرت نتائج أن نسبة الإصابة بأنواع فطر الرشاشية الدخناء كانت هي الأخفض ما بين الفطريات المدروسة في كل من أعلاف الدواجن والمجترات و بذور الذرة الصفراء المستوردة والمحلية، وبمقارنة نتائج هذه الدراسة مع الدراسات الأخرى فقد تقاربت نتائج هذه الدراسة مع ما وجده Daveri وآخرون (2015) في شمال شرقي إيران تبين تلوث أعلاف الأبقار بفطور الرشاشية الدخناء بنسبة ٢١٪، في حين كانت نتائج هذه الدراسة منخفضة مقارنة بـــدراسة Aliyu وآخرون (2016) في نيجيريا إذ بلغت نسبة تلوث أعلاف الدواجن بفطر الرشاشية الدخناء ٣١٪، وفي العراق وجد الأسدي (٢٠٠٦) أن بلغت نسبة تلوث أعلاف الدواجن بفطر الرشاشية الدخناء ٦٠٪، كما وجد الراوي وآخرون (٢٠١١) نسبة منخفضة من التلوث في حبوب الذرة إذ بلغت نسبة انتشار الرشاشية الدخناء هي ٣.٣٪ .

وقد يعود سبب تلوث أعلاف الدواجن والمجترات بفطور الرشاشيات بسبب الحمولة الميكروبية العالية للبذور المصنع منها وبخاصة بذور الذرة الصفراء إذ يمكن تلوثها أثناء النمو في الحقل أو في مرحلة

الحصـــاد أو نتيجة ســوء خزن الحاصــل (Harwig and Munro ,1975) كما إن نســبة الرطوبة المرتفعة في الذرة الصــفراء هي أحد أهم العوامل المؤثرة في تلوثها بالفطريات (Makun *et al., 2010*) وكذلك عملية التلوث نتيجة ســوء معاملة الأعلاف بعد التصــنيع وارتفاع نســبة الرطوبة فيها، حيث أن ارتفاع النشــاط المائي للأعلاف يشــجع على نمو الفطور الملوثة (Aliyu *et al.*,2016)، بالإضــافة إلى قدرة فطور الرشــاشــيات على تحمل الحرارة العالية مما يزيد من فرصة وجودها في الأعلاف (Battilani *et al.*,2003).

ويمكن أن يعزى ســبب اختلاف نســب التلوث في الدراســات الســابقة مقارنة مع دراســتنا بين بلد وآخر ســواءً ارتفاع أو انخفاض نتيجة الاختلافات في الظروف المناخية ومدى التطبيق في الشــروط الصــحية من تخزين ونقل وتصــنيع والاختلافات في طرق مكافحة الحشرات والقوارض حيث أنها تسهم بشكل فعال في تكسير وتآكل الحبوب وبالتالي تصبح أكثر عرضة للتلوث بالفطور.

(٥-٢) تأثير المستخلصات النباتية على نمو فطور الرشاشيات :

(٥-٢-١) تأثير مستخلصات إكليل الجبل على نمو فطر الرشاشية الصفراء :

أشارت نتائج الدراسة الى تأثير المستخلص الكحولي والمائي لنبات إكليل الجبل حيث تبين إنخفاضاً واضحاً في النمو السطحي لفطر الرشاشية الصفراء من خلال تأثيره المثبط وهذا يتفق مع ما وجدته الباحثة عبداللطيف (٢٠٠٩) إذ وجدت أن الخلاصة الكحولية للأوراق الجافة لنبات إكليل الجبل لها القدرة على تثبيط نمو الرشاشية الصفراء وبنسبة تتراوح بين (١١.٧٧ – ٨٣.٥ %) إذ اســتخدمت تراكيز حتى ١٠ ملغ/ مل، في حين وجد Muhsen وآخرون (2012) أن التركيز المثبط الأدنى للمســتخلص الإيتر النفطي لأوراق وســيقان نبات أكليل الجبل هو ٢٥ ملغ/ مل، ووجد كل من Jabbar و Abdullah (2019) أن استخدام المستخلص الكحولي بتركيز ١٠ ملغ/ مل أدى إلى نسبة تثبيط ٦٤٪ أما المستخلص المائي بتركيز ١٠ ملغ/ مل أدى إلى نسبة تثبيط ٤٣٪.

(٥-٢-٢) تأثير مستخلصات إكليل الجبل على نمو فطر الرشاشية السوداء :

أظهرت نتائج هذه الدراسة إلى أن نسبة تثبيط مستخلصات إكيل الجبل الكحولية والمائية على فطر الرشاشية السوداء كانت أخفض مما ثبطته في فطر الرشاشية الصفراء وبمقارنة نتائج هذه الدراسة مع الدراسات السابقة تبين أنها مرتفعة مع ما وجده كل من زعيط وأبو الغيث (٢٠٢١) حيث أظهرت نتائج دراستهم أن نسبة تثبيط الخلاصة المائية الحارة بتركيز ٥٪ بلغت ٣٠٪ و نسبة تثبيط الخلاصة المائية الباردة بتركيز ١٠٪ بلغت ١٧.١٤٪ .وقد كانت نتائج هذه الدراسة أقل بالمقارنة مع دراسة Akinmoladun وآخرون (2014) فقد بلغ التركيز المثبط الأدنى للمستخلص المائي لنبات إكليل الجبل بلغ ٥٠ ملغ/مل حين بلغ التركيز المثبط الادنى للمستخلص الكحولي ٢٥ ملغ/مل. في حين وجد Mohamad وآخرون (2015) أن التركيز المثبط الأدنى للمستخلص المائي البارد لنبات إكليل الجبل ٣٠ ملغ/مل وفي التركيز المثبط الأدنى للمستخلص المائي الحار ٢٠ ملغ/مل.

(٥-٢-٣) تأثير مستخلصات إكليل الجبل على نمو فطر الرشاشية الدخناء :

أشارت نتائج هذه الدراسة أن قدرة مستخلصات إكيل الجبل الكحولية والمائية على تثبيط نمو فطر الرشاشية الدخناء كانت أعلى مما عليه في كل من فطر الرشاشية السوداء و فطر الرشاشية الصفراء وبمقارنة نتائج هذه الدراسة مع الدراسات السابقة تبين ان نتائجنا مقاربة لما وجده كل من (Elshafie وآخرون 2021) حيث أن التركيز المثبط الأدنى للمستخلص المائي الحار بلغ ١٥ ملغ/مل والتركيز المثبط الأدنى للمستخلص الكحولي ١٠ ملغ/مل كما انها مقاربة لما وجده (El-Masry 2020) عند استخدام المستخلص المائي البارد حيث بلغ التركيز المثبط الأدنى للمستخلص المائي البارد لنبات إكليل الجبل ٢٥ ملغ/مل ولكنها اخفض مما وجده في كل من المستخلص المائي إذ بلغ التركيز المثبط الأدنى للمستخلص المائي الحار ٢٠ ملغ/مل في حين أنها كانت أعلى مما وجده في المستخلص الكحولي حيث بلغ التركيز المثبط (Al-qahtani 2019) بلغ التركيز المثبط الادنى للمستخلص الكحولي ٧.٥ ملغ/مل. كما أنه في دراسة الأدنى للمستخلص المائي البارد لنبات إكليل الجبل بلغ ٣٠ ملغ/مل والتركيز المثبط

متقاربة مع ما وجده الجسمي (٢٠٠١) حيث بلغ نسبة تثبيط المستخلص المائي لقشور الرمان ٧٢٪ عند تركيز ٢٠ملغ/مل ونسبة تثبيط المستخلص الكحولي ٧٥٪ عند تركيز ٢٠ملغ/مل. في حين تبين أن قدرة مستخلصات قشور الرمان على تثبيط نمو الرشاشية الصفراء في هذه الدراسة كانت أعلى مما وجده كل من الوردي ويوسف (٢٠٠٩) حيث بلغت نسبة تثبيط المستخلص المائي لقشور الرمان ٣٧٪ عند تركيز ١٥ملغ/مل ونسبة تثبيط المستخلص الكحولي ٥٥٪ عند تركيز ١٧ملغ/مل. في حين أنها اخفض مما وجده كل من علي و مجيد (٢٠١٠) إذ بلغ نسبة تثبيط المستخلص المائي لقشور الرمان ٥١.٥٪ باستخدام تركيز ١٠ملغ/مل . وفي دراسة حسين و عبد (٢٠٢٣) بلغ نسبة تثبيط المستخلص المائي لقشور الرمان ٦٤٪ عند تركيز ١٠٪ ونسبة ٧١٪ عند تركيز ١٥٪

(٥-٢-٥) تأثير مستخلصات قشور الرمان على نمو فطر الرشاشية السوداء :

أظهرت النتائج أن فطور الرشاشية السوداء كانت الأكثر مقاومة للمستخلصات النباتية من بين الفطريات المدروسة وبمقارنة نتائج هذه الدراسة مع الدراسات السابقة نجد أنه في دراسة للباحث Abdul-ghany وآخرون (2011) على مستخلص إيثانولي لقشور الرمان أشار أن نسبة التثبيط للمستخلص الكحولي لقشور الرمان بلغت ٥٤.٤٤ % باستخدام تركيز ٢٠٪ من المستخلص، كما وجد كل من Dahham وآخرون (2010) تأثير تثبيطي لأستخدام مستخلص قشور الرمان بتركيز ١٠٪ إذ بلغ قطر منطقة التثبيط ٢٣مم باستخدام المستخلص الكحولي و٢٢مم باستخدام المستخلص المائي. وفي دراسة Sehari وآخرون (2022) لأستخدام مستخلص قشور الرمان بلغ قطر منطقة التثبيط ٣١مم باستخدام المستخلص الكحولي الميثانولي و٢١مم باستخدام المستخلص الكحولي الإيثانولي و ١٤مم باستخدام المستخلص المائي وذلك بتركيز ٦٠ملغ/مل لكل مستخلص.

(٥-٢-٦) تأثير مستخلصات قشور الرمان على نمو فطر الرشاشية الدخناء :

بينت نتائج هذه الدراسة أن فطور الرشاشية الدخناء كانت الأكثر حساسية تجاه المستخلصات النباتية من بين فطور الرشاشيات المدروسة وبمقارنة نتائج هذه الدراسة مع الدراسات السابقة نجد أنها متقاربة مع ما وجده الوردي ويوسف (٢٠٠٩) في دراسته بالنسبة لتأثير المستخلص المائي حيث بلغ التركيز المثبط الأدنى للمستخلص المائي لقشور الرمان ٢٥ملغ/مل في حين بلغ التركيز المثبط الأدنى للمستخلص الأسيتوني لقشور الرمان في دراسته ١٦ملغ/مل. وفي دراسة Güner و Aşkun (2023) بلغ التركيز المثبط الأدنى للمستخلص المائي لقشور الرمان ٣١ملغ/مل في حين بلغ التركيز المثبط الأدنى للمستخلص الكحولي لقشور الرمان ١٢.٥ملغ/مل، كما أن حساسية فطور الرشاشية الدخناء في هذه الدراسة كانت أقل مما وجده Qari وآخرون (2015) حيث بلغ التركيز المثبط الأدنى للمستخلص المائي لقشور الرمان ١٥ملغ/مل في حين بلغ التركيز المثبط الأدنى للمستخلص الكحولي لقشور الرمان ١٣ملغ/مل.

تحتوي قشور الرمان على نسبة عالية من المركبات الكيميائية الفعالة وتشمل بصورة رئيسية الأحماض الفينولية، الفلافونيدات والتانينات، إذ تعمل على تدمير جدار الخلية الفطرية مما يؤدي إلى تسرب المكونات الداخلية وموت الخلية، كما إن للعفصيات وحمض الإيلاجيك تأثير متداخل مع الأنزيمات الأساسية للفطر مما يعطل عمليات التمثيل الغذائي كما يؤثر على الأنزيمات المشاركة في تخليق الحمض النووي والبروتينات (Singh et al.,2018)، وقد أوضح العديد من الباحثين إلى أن الفعالية العالية المضادة للميكروبات لقشور الرمان تعزى إلى المحتوى الكيميائي من الفلافونيدات والتانينات وخاصة ضد المسببات المرضية الفطرية والجرثومية حيث أن لها تأثير معطل للعمليات الخلوية الأساسية (Ismail et al.,2016). وقد يعود سبب كفاءة المستخلص الكحولي لنبات إكليل الجبل مقارنة بالمستخلص المائي إلى الاختلاف في ذوبانية المواد الفعالة التي قد يحتويها النبات وتذوب في الكحول ولا تذوب في الماء.

أما الاختلافات في مدى تأثير هذه المستخلصات مقارنة مع الدراسات السابقة فيمكن أن يعزى الى اختلاف طرق العمل وطرق الأستخلاص ودرجات الحرارة والظروف المخبرية الأخرى أو نتيجة اختلاف النباتات المستخدمة في الدراسة وظروف نموها ما بين منطقة وأخرى حيث أن تركيز الجواهر الفعالة في نباتي إكليل الجبل وقشر الرمان قد تختلف من منطقة وأخرى أو ما بين نوع وآخر.

(٥-٣) تأثير النستاتين على فطور الرشاشيات :

إن آلية تأثير النيستاتين على فطور الرشاشيات تكون بعدة طرق منها أن النستاتين يعمل على الارتباط بجزيئات الإرغوستيرول (Ergosterol)، وهو الستيرول الرئيسي في الغشاء الخلوي لفطور الرشاشيات حيث يؤدي هذا الارتباط إلى تكوين قنوات أيونية في الغشاء، مما يزيد نفاذيته ويتسبب في تسرب العناصر الخلوية الأساسية مثل البوتاسيوم والمغنيسيوم، مما يؤدي إلى موت الخلية الفطرية ، و بجرعات عالية يُحدث النيستاتين تلفًا غير عكوس فيه في الغشاء الخلوي، مما يجعله مبيدًا للفطريات (Fungicidal) بدلاً من مثبط للنمو (Fungistatic) (Coutinho et al.,2004)، ولكن بالاستخدام المتكرر للنستاتين طورت فطور الرشاشيات آليات للمقاومة ومنها تطوير طفرات في جينات مسار تخليق الإرغوستيرول مثل جين(erg6) ، مما يقلل كميته أو يُغير بنيته، فيضعف ارتباط النيستاتين بالغشاء، كما أن بعض السلالات تغير من مضخات تدفق (Efflux pumps) مثل (Cdr1) ، التي تطرد النيستاتين خارج الخلية قبل أن يُحدث تأثيره (Mitsuyama et al.,2024) . ولذلك قد يعتبر استخدام المستخلصات النباتية احدى الوسائل الهامة في التخلص من مقاومة الفطور للمضادات الفطرية، وقد تبين في هذه الدراسة فعالية متقاربة للمستخلصات المائية والكحولية لنبات إكليل الجبل وقشور الرمان، وبمقارنة نتائج هذه الدراسة في قدرة النستاتين على تثبيط نمو فطور الرشاشات مع نتائج الدراسات السابقة تبين أنها أعلى مما وجده Papp وآخرون (2008) في فعالية النستاتين تجاه فطور الرشاشية الدخناء و الرشاشية الصفراء إذ وجد أن التركيز المثبط الأدنى بلغ ٠.٠٣٤ ملغ /مل كما أنها أعلى مما وجده Nyilasi وآخرون (2005) إذ بلغ التركيز المثبط الأدنى ٠.٠٤٦ ملغ /مل، في حين كانت نتائج هذه الدراسة متقاربة مع ما وجده Nagy (2001) حيث بلغ التركيز المثبط الأدنى للنستاتين تجاه فطور

وآخرون Nyilasiالرشاشية الصفراء إذ وجد أن التركيز المثبط الأدنى بلغ ٠.٠٣٤ ملغ /مل كما أنها أعلى مما وجده (Nagy) إذ بلغ التركيز المثبط الأدنى ٠.٠٤٦ ملغ /مل، في حين كانت نتائج هذه الدراسة متقاربة مع ما وجده 2005(

المناقشة

(٥-١) عزل وانتشار فطور الرشاشيات:

(٥-١-١) انتشار فطور الرشاشية الصفراء في الأعلاف والذرة:

أظهرت النتائج ارتفاع نسبة التلوث بأنواع فطر الرشاشية الصفراء في كل من أعلاف الدواجن والمجترات وفي بذور الذرة الصفراء المستوردة والمحلية، وبمقارنة نتائج هذه الدراسة مع الدراسات الأخرى فقد توافقت نتائج هذه الدراسة مع ما وجده Aliyu وآخرون (2016) في نيجيريا حيث وجد أن نسبة عزل فطر *الرشاشية الصفراء* في أعلاف الدواجن ٢٢٪ ومع ما وجده El-Demerdash وآخرون (2018) في أعلاف المجترات في مصر إذ بلغت نسبة التلوث بفطر *الرشاشية الصفراء* ٦٠٪، بينما كانت نتائج هذه الدراسة منخفضة مقارنة مع ما وجده Fraga وآخرون (2007) في الأرجنتين إذ بلغت نسبة عزل فطر *الرشاشية الصفراء* من أعلاف الدواجن ٤٧٪ ومع ما وجده Tesfaye وآخرون (2024) في أثيوبيا إذ بلغت نسبة عزل فطر *الرشاشية الصفراء* من أعلاف المجترات ٨٢.٨٪، بينما كانت نتائج هذه الدراسة مرتفعة بالمقارنة مع نتائج Belkacem وآخرون (2020) في الجزائر إذ بلغت نسبة عزل فطر *الرشاشية الصفراء* من أعلاف المجترات ٤٥٪. في حين وجد El-Naggar و Abdel-Aziz (2020) في مصر أن نسبة عزل فطر *الرشاشية الصفراء* من الذرة الصفراء ٧٥٪، كما وجد Khalil و Abd El-Aziz (2018) في لبنان أن نسبة عزل فطر *الرشاشية الصفراء* من الذرة الصفراء ٦٠٪، كما وجد الوائلي (٢٠٠٦) في العراق أن نسبة عزل فطر *الرشاشية الصفراء* من الذرة الصفراء والحنطة والشلب ٣٨.٦٣٪.

(٥-١-٢) انتشار فطور الرشاشية السوداء في الأعلاف والذرة:

أظهرت النتائج أن نسبة التلوث بأنواع فطر الرشاشية السوداء أعلى من نسبة فطور *الرشاشية الصفراء* في كل من أعلاف الدواجن والمجترات و بذور الذرة الصفراء المستوردة والمحلية، وبمقارنة نتائج هذه الدراسة

مع الدراسات الأخرى فقد تقاربت نتائج هذه الدراسة مع ما وجده Saleemi (2017) في باكستان حيث وجد أن نسبة عزل فطر *الرشاشية السوداء* من أعلاف المجترات ٦٨٪، بينما كانت نتائج هذه الدراسة مرتفعة بالمقارنة مع نتائج عبدالله وصبري (٢٠٢٠) في مصر إذ بلغت نسبة عزل فطر *الرشاشية السوداء* من أعلاف الدواجن ١٨٪ ومرتفعة مقارنة مع ما وجده الكعبي ومحمد (٢٠١٨) في العراق إذ بلغت نسبة عزل فطر *الرشاشية السوداء* من أعلاف الدواجن ٢٢٪. في حين وجد El-Zawawy و El-Shafey (2020) في مصر أن نسبة عزل فطر *الرشاشية السوداء* من الذرة الصفراء ٣٠٪، كما وجد عبد نعمة (٢٠١١) في العراق أن نسبة عزل فطر *الرشاشية السوداء* من الذرة الصفراء ١١.٥٪. كما وجد الوائلي (٢٠٠٦) في العراق أن نسبة عزل فطر *الرشاشية السوداء* من الذرة الصفراء والحنطة والشلب 28.72%

(٥-١-٣) انتشار فطور الرشاشية الدخناء في الأعلاف والذرة:

أظهرت نتائج أن نسبة الإصابة بأنواع فطر الرشاشية الدخناء كانت هي الأخفض ما بين الفطريات المدروسة في كل من أعلاف الدواجن والمجترات و بذور الذرة الصفراء المستوردة والمحلية، وبمقارنة نتائج هذه الدراسة مع الدراسات الأخرى فقد تقاربت نتائج هذه الدراسة مع ما وجده Daveri وآخرون (2015) في شمال شرقي إيران تبين تلوث أعلاف الأبقار بفطور الرشاشية الدخناء بنسبة ٢١٪، في حين كانت نتائج هذه الدراسة منخفضة مقارنة بـــدراسة Aliyu وآخرون (2016) في نيجيريا إذ بلغت نسبة تلوث أعلاف الدواجن بفطر الرشاشية الدخناء ٣١٪، وفي العراق وجد الأسدي (٢٠٠٦) أن بلغت نسبة تلوث أعلاف الدواجن بفطر الرشاشية الدخناء ٦٠٪، كما وجد الراوي وآخرون (٢٠١١) نسبة منخفضة من التلوث في حبوب الذرة إذ بلغت نسبة انتشار الرشاشية الدخناء هي ٣.٣٪ .

وقد يعود سبب تلوث أعلاف الدواجن والمجترات بفطور الرشاشيات بسبب الحمولة الميكروبية العالية للبذور المصنع منها وبخاصة بذور الذرة الصفراء إذ يمكن تلوثها أثناء النمو في الحقل أو في مرحلة

الحصـــاد أو نتيجة ســوء خزن الحاصــل (Harwig and Munro ,1975) كما إن نســبة الرطوبة المرتفعة في الذرة الصــفراء هي أحد أهم العوامل المؤثرة في تلوثها بالفطريات (Makun *et al., 2010*) وكذلك عملية التلوث نتيجة ســوء معاملة الأعلاف بعد التصــنيع وارتفاع نســبة الرطوبة فيها، حيث أن ارتفاع النشــاط المائي للأعلاف يشــجع على نمو الفطور الملوثة (Aliyu *et al.*,2016)، بالإضــافة إلى قدرة فطور الرشــاشــيات على تحمل الحرارة العالية مما يزيد من فرصة وجودها في الأعلاف (Battilani *et al.*,2003).

ويمكن أن يعزى ســبب اختلاف نســب التلوث في الدراســات الســابقة مقارنة مع دراســتنا بين بلد وآخر ســواءً ارتفاع أو انخفاض نتيجة الاختلافات في الظروف المناخية ومدى التطبيق في الشــروط الصــحية من تخزين ونقل وتصــنيع والاختلافات في طرق مكافحة الحشرات والقوارض حيث أنها تسهم بشكل فعال في تكسير وتآكل الحبوب وبالتالي تصبح أكثر عرضة للتلوث بالفطور.

(٥-٢) تأثير المستخلصات النباتية على نمو فطور الرشاشيات :

(٥-٢-١) تأثير مستخلصات إكليل الجبل على نمو فطر الرشاشية الصفراء :

أشارت نتائج الدراسة الى تأثير المستخلص الكحولي والمائي لنبات إكليل الجبل حيث تبين إنخفاضاً واضحاً في النمو السطحي لفطر الرشاشية الصفراء من خلال تأثيره المثبط وهذا يتفق مع ما وجدته الباحثة عبداللطيف (٢٠٠٩) إذ وجدت أن الخلاصة الكحولية للأوراق الجافة لنبات إكليل الجبل لها القدرة على تثبيط نمو الرشاشية الصفراء وبنسبة تتراوح بين (١١.٧٧ – ٨٣.٥ %) إذ اســتخدمت تراكيز حتى ١٠ ملغ/ مل، في حين وجد Muhsen وآخرون (2012) أن التركيز المثبط الأدنى للمســتخلص الإيتر النفطي لأوراق وســيقان نبات أكليل الجبل هو ٢٥ ملغ/ مل، ووجد كل من Jabbar و Abdullah (2019) أن استخدام المستخلص الكحولي بتركيز ١٠ ملغ/ مل أدى إلى نسبة تثبيط ٦٤٪ أما المستخلص المائي بتركيز ١٠ ملغ/ مل أدى إلى نسبة تثبيط ٤٣٪.

(٥-٢-٢) تأثير مستخلصات إكليل الجبل على نمو فطر الرشاشية السوداء :

أظهرت نتائج هذه الدراسة إلى أن نسبة تثبيط مستخلصات إكيل الجبل الكحولية والمائية على فطر الرشاشية السوداء كانت أخفض مما ثبطته في فطر الرشاشية الصفراء وبمقارنة نتائج هذه الدراسة مع الدراسات السابقة تبين أنها مرتفعة مع ما وجده كل من زعيط وأبو الغيث (٢٠٢١) حيث أظهرت نتائج دراستهم أن نسبة تثبيط الخلاصة المائية الحارة بتركيز ٥٪ بلغت ٣٠٪ و نسبة تثبيط الخلاصة المائية الباردة بتركيز ١٠٪ بلغت ١٧.١٤٪ .وقد كانت نتائج هذه الدراسة أقل بالمقارنة مع دراسة Akinmoladun وآخرون (2014) فقد بلغ التركيز المثبط الأدنى للمستخلص المائي لنبات إكليل الجبل بلغ ٥٠ ملغ/مل حين بلغ التركيز المثبط الادنى للمستخلص الكحولي ٢٥ ملغ/مل. في حين وجد Mohamad وآخرون (2015) أن التركيز المثبط الأدنى للمستخلص المائي البارد لنبات إكليل الجبل ٣٠ ملغ/مل وفي التركيز المثبط الأدنى للمستخلص المائي الحار ٢٠ ملغ/مل.

(٥-٢-٣) تأثير مستخلصات إكليل الجبل على نمو فطر الرشاشية الدخناء :

أشارت نتائج هذه الدراسة أن قدرة مستخلصات إكيل الجبل الكحولية والمائية على تثبيط نمو فطر الرشاشية الدخناء كانت أعلى مما عليه في كل من فطر الرشاشية السوداء و فطر الرشاشية الصفراء وبمقارنة نتائج هذه الدراسة مع الدراسات السابقة تبين ان نتائجنا مقاربة لما وجده كل من (Elshafie وآخرون 2021) حيث أن التركيز المثبط الأدنى للمستخلص المائي الحار بلغ ١٥ ملغ/مل والتركيز المثبط الأدنى للمستخلص الكحولي ١٠ ملغ/مل كما انها مقاربة لما وجده (El-Masry 2020) عند استخدام المستخلص المائي البارد حيث بلغ التركيز المثبط الأدنى للمستخلص المائي البارد لنبات إكليل الجبل ٢٥ ملغ/مل ولكنها اخفض مما وجده في كل من المستخلص المائي إذ بلغ التركيز المثبط الأدنى للمستخلص المائي الحار ٢٠ ملغ/مل في حين أنها كانت أعلى مما وجده في المستخلص الكحولي حيث بلغ التركيز المثبط الادنى للمستخلص الكحولي ٧.٥ ملغ/مل. كما أنه في دراسة (Al-qahtani 2019) بلغ التركيز المثبط الأدنى للمستخلص المائي البارد لنبات إكليل الجبل بلغ ٣٠ ملغ/مل والتركيز المثبط

الأدنى للمستخلص المائي الحار ١٠ ملغ/مل في حين بلغ التركيز المثبط الادنى للمستخلص الكحولي ٥ملغ/مل.

وإن هذا التأثير لمستخلصات إكليل الجبل المائية والكحولية تجاه فطور الرشاشيات قد يعود لما يحتويه مستخلص إكليل الجبل على مركبات فعالة مثل Phenolic Acids ، Flavonoid ، Carnosol ، Carnosic Acid ، Diterpenoid، إضافة إلى أنواع من الزيوت الطيارة (Singh *et al.*,2010). ، كما إن مستخلصات إكليل الجبل يحتوي على مواد فعالة عديدة منها الفلافونات والتربينات ، حيث تعمل الفلافونات على تثبيط عالي للغزل الفطري وتمنع إنبثاق الفطر وتبقيه في حالة سكون (Delrio *et al.*,2003). أما ميكانيكية عمل التربينات فهي تثبيط بناء Ergosterol المهم في بناء الغشاء البلازمي للخلية الفطرية مما يؤدي إلى إختلال النفاذية في داخل الخلية وخارجها مؤدياً إلى إرتشاح المواد إلى الخارج وبالتالي موت الفطر (Reichling *et al.*,2009). إضافة إلى أن التربينات تكون محبة للدهون وهذه الصفة تجعلها أكثر قابلية للذوبان في الأغشية الخلوية وبالتالي تعرقل تكوين الغشاء وتكون أكثر سمية للفطريات (Cowan,1999). وهذه الأسباب وغيرها كان لها الدور الأساسي في تثبيط وقتل الفطريات المدروسة في بحثنا هذا. وقد يعود سبب كفاءة المستخلص الكحولي لنبات أكليل الجبل مقارنة بالمستخلص المائي إلى الأختلاف في ذوبانية المواد الفعالة التي قد يحتويها النبات وحيث يمكن أن تذوب في الكحول ولا تذوب في الماء.

إن السبب في اختلاف حساسية الفطريات تجاه مستخلص واحد يعود إلى طبيعة الفطر وعلاقة ذلك بطبيعة المركبات الفعالة ونسبتها في هذا المستخلص فضلاً عن ذلك وجود مركبات تؤثر في نمو فطور دون أخرى وتبعاً لوجود المركبات ونسبتها تختلف الفاعلية (جريكوس، ٢٠١٦)

(٥-٢-٤) تأثير مستخلصات قشور الرمان على نمو فطر الرشاشية الصفراء :

أظهرت نتائج الدراسة الحالية الى أن استخدام المستخلصات الكحولية والمائية لقشور الرمان أظهر فعالية واضحة في تثبيط نمو فطور الرشاشيات وبمقارنة نتائج هذه الدراسة مع الدراسات السابقة تبين أنها

متقاربة مع ما وجده الجسمي (٢٠٠١) حيث بلغ نسبة تثبيط المستخلص المائي لقشور الرمان ٧٢٪ عند تركيز ٢٠ملغ/مل ونسبة تثبيط المستخلص الكحولي ٧٥٪ عند تركيز ٢٠ملغ/مل. في حين تبين أن قدرة مستخلصات قشور الرمان على تثبيط نمو الرشاشية الصفراء في هذه الدراسة كانت أعلى مما وجده كل من الوردي ويوسف (٢٠٠٩) حيث بلغت نسبة تثبيط المستخلص المائي لقشور الرمان ٣٧٪ عند تركيز ١٥ملغ/مل ونسبة تثبيط المستخلص الكحولي ٥٥٪ عند تركيز ١٧ملغ/مل. في حين أنها اخفض مما وجده كل من علي و مجيد (٢٠١٠) إذ بلغ نسبة تثبيط المستخلص المائي لقشور الرمان ٥١.٥٪ باستخدام تركيز ١٠ملغ/مل . وفي دراسة حسين و عبد (٢٠٢٣) بلغ نسبة تثبيط المستخلص المائي لقشور الرمان ٦٤٪ عند تركيز ١٠٪ ونسبة ٧١٪ عند تركيز ١٥٪

(٥-٢-٥) تأثير مستخلصات قشور الرمان على نمو فطر الرشاشية السوداء :

أظهرت النتائج أن فطور الرشاشية السوداء كانت الأكثر مقاومة للمستخلصات النباتية من بين الفطريات المدروسة وبمقارنة نتائج هذه الدراسة مع الدراسات السابقة نجد أنه في دراسة للباحث Abdul-ghany وآخرون (2011) على مستخلص إيثانولي لقشور الرمان أشار أن نسبة التثبيط للمستخلص الكحولي لقشور الرمان بلغت ٥٤.٤٤ % باستخدام تركيز ٢٠٪ من المستخلص، كما وجد كل من Dahham وآخرون (2010) تأثير تثبيطي لأستخدام مستخلص قشور الرمان بتركيز ١٠٪ إذ بلغ قطر منطقة التثبيط ٢٣مم باستخدام المستخلص الكحولي و٢٢مم باستخدام المستخلص المائي. وفي دراسة Sehari وآخرون (2022) لأستخدام مستخلص قشور الرمان بلغ قطر منطقة التثبيط ٣١مم باستخدام المستخلص الكحولي الميثانولي و٢١مم باستخدام المستخلص الكحولي الإيثانولي و ١٤مم باستخدام المستخلص المائي وذلك بتركيز ٦٠ملغ/مل لكل مستخلص.

(٥-٢-٦) تأثير مستخلصات قشور الرمان على نمو فطر الرشاشية الدخناء :

بينت نتائج هذه الدراسة أن فطور الرشاشية الدخناء كانت الأكثر حساسية تجاه المستخلصات النباتية من بين فطور الرشاشيات المدروسة وبمقارنة نتائج هذه الدراسة مع الدراسات السابقة نجد أنها متقاربة مع ما وجده الوردي ويوسف (٢٠٠٩) في دراسته بالنسبة لتأثير المستخلص المائي حيث بلغ التركيز المثبط الأدنى للمستخلص المائي لقشور الرمان ٢٥ملغ/مل في حين بلغ التركيز المثبط الأدنى للمستخلص الأسيتوني لقشور الرمان في دراسته ١٦ملغ/مل. وفي دراسة Güner و Aşkun (2023) بلغ التركيز المثبط الأدنى للمستخلص المائي لقشور الرمان ٣١ملغ/مل في حين بلغ التركيز المثبط الأدنى للمستخلص الكحولي لقشور الرمان ١٢.٥ملغ/مل، كما أن حساسية فطور الرشاشية الدخناء في هذه الدراسة كانت أقل مما وجده Qari وآخرون (2015) حيث بلغ التركيز المثبط الأدنى للمستخلص المائي لقشور الرمان ١٥ملغ/مل في حين بلغ التركيز المثبط الأدنى للمستخلص الكحولي لقشور الرمان ١٣ملغ/مل.

تحتوي قشور الرمان على نسبة عالية من المركبات الكيميائية الفعالة وتشمل بصورة رئيسية الأحماض الفينولية، الفلافونيدات والتانينات، إذ تعمل على تدمير جدار الخلية الفطرية مما يؤدي إلى تسرب المكونات الداخلية وموت الخلية، كما إن للعفصيات وحمض الإيلاجيك تأثير متداخل مع الأنزيمات الأساسية للفطر مما يعطل عمليات التمثيل الغذائي كما يؤثر على الأنزيمات المشاركة في تخليق الحمض النووي والبروتينات (Singh et al.,2018)، وقد أوضح العديد من الباحثين إلى أن الفعالية العالية المضادة للميكروبات لقشور الرمان تعزى إلى المحتوى الكيميائي من الفلافونيدات والتانينات وخاصة ضد المسببات المرضية الفطرية والجرثومية حيث أن لها تأثير معطل للعمليات الخلوية الأساسية (Ismail et al.,2016). وقد يعود سبب كفاءة المستخلص الكحولي لنبات إكليل الجبل مقارنة بالمستخلص المائي إلى الاختلاف في ذوبانية المواد الفعالة التي قد يحتويها النبات وتذوب في الكحول ولا تذوب في الماء.

أما الاختلافات في مدى تأثير هذه المستخلصات مقارنة مع الدراسات السابقة فيمكن أن يعزى الى اختلاف طرق العمل وطرق الأستخلاص ودرجات الحرارة والظروف المخبرية الأخرى أو نتيجة اختلاف النباتات المستخدمة في الدراسة وظروف نموها ما بين منطقة وأخرى حيث أن تركيز الجواهر الفعالة في نباتي إكليل الجبل وقشر الرمان قد تختلف من منطقة وأخرى أو ما بين نوع وآخر.

(٥-٣) تأثير النستاتين على فطور الرشاشيات :

تكون بعدة طرق منها أن النستاتين يعمل على الارتباط بجزيئات الإرغوستيرول(Ergosterol) ، وهو الستيرول الرئيسي في الغشاء الخلوي لفطور الرشاشيات حيث يؤدي هذا الارتباط إلى تكوين قنوات أيونية في الغشاء، مما يزيد نفاذيته ويتسبب في تسرب العناصر الخلوية الأساسية مثل البوتاسيوم والمغنيسيوم، مما يؤدي إلى موت الخلية الفطرية ، و بجرعات عالية يُحدث النيستاتين تلفًا غير عكوس فيه في الغشاء الخلوي، مما يجعله مبيدًا للفطريات (Fungicidal) بدلاً من مثبط للنمو (Fungistatic) (Coutinho et al.,2004)، ولكن بالاستخدام المتكرر للنستاتين طورت فطور الرشاشيات آليات للمقاومة ومنها تطوير طفرات في جينات مسار تخليق الإرغوستيرول مثل جين (erg6) ، مما يقلل كميته أو يُغير بنيته، فيضعف ارتباط النيستاتين بالغشاء، كما أن بعض السلالات تغير من مضخات تدفق (Efflux pumps) مثل (Cdr1) ، التي تطرد النيستاتين خارج الخلية قبل أن يُحدث تأثيره (Mitsuyama et al.,2024) . ولذلك قد يعتبر استخدام المستخلصات النباتية احدى الوسائل الهامة في التخلص من مقاومة الفطور للمضادات الفطرية، وقد تبين في هذه الدراسة فعالية متقاربة للمستخلصات المائية والكحولية لنبات إكليل الجبل وقشور الرمان، وبمقارنة نتائج هذه الدراسة في قدرة النستاتين على تثبيط نمو فطور الرشاشات مع نتائج الدراسات السابقة تبين أنها أعلى مما وجده (Papp وآخرون 2008) في فعالية النستاتين تجاه فطور الرشاشية الدخناء و الرشاشية الصفراء إذ وجد أن التركيز المثبط الأدنى بلغ ٠.٠٣٤ ملغ /مل كما (Nyilasi وآخرون 2005) إذ بلغ التركيز المثبط الأدنى ٠.٠٤٦ ملغ /مل، في حين كانت نتائج أنها أعلى مما وجده (Nagy 2001) حيث بلغ التركيز المثبط الأدنى للنستاتين تجاه فطو هذه الدراسة متقاربة مع ما وجده

الرشاشية السوداء ٠.٠٥٥ ملغ /مل، في حين نجد أن حساسية فطور الرشاشيات في هذه الدراسة كانت أقل مما وجده Stanley و Engl (1965) في دراسته حيث وجد أن التركيز المثبط الأدنى للنستاتين تجاه فطور الرشاشية الصفراءو الرشاشية السوداء و الرشاشية الدخناء كانت ٠.٠٧٥ ملغ / مل و 0.0١٥ ملغ / مل و 0.0١٥ ملغ / مل على التوالي، وربما قد يشير هذا الى أن الفطر سابقا كان أكثر حساسية للمضادات الفطرية.

الفصل السادس

الاستنتاجات والتوصيات

CONCLUSIONS and RECOMMENDATIONS

الأستنتاجات

١) ارتفاع نسبة تلوث أعلاف المجترات بشكل أكبر من أعلاف الدواجن بفطور الرشاشيات

٢) ارتفاع نسبة تلوث الذرة الصفراء المحلية بشكل أكبر من المستوردة.

٣) كان مستوى التلوث بفطر الرشاشية السوداء الأكثر انتشاراً في الأعلاف والذرة يليه فطر الرشاشية الصفراء واخيراً الرشاشية الدخناء

٤) وجود أثر تثبيطي فعال لمستخلصات نبات إكليل الجبل وقشور الرمان تجاه فطور الرشاشية الملوثة للأعلاف وحبوب الذرة الصفراء مقارنة بالنستاتين

الأستنتاجات

١) ارتفاع نسبة تلوث أعلاف المجترات بشكل أكبر من أعلاف الدواجن بفطور الرشاشيات

٢) ارتفاع نسبة تلوث الذرة الصفراء المحلية بشكل أكبر من المستوردة.

٣) كان مستوى التلوث بفطر الرشاشية السوداء الأكثر انتشاراً في الأعلاف والذرة يليه فطر الرشاشية الصفراء واخيراً الرشاشية الدخناء

٤) وجود أثر تثبيطي فعال لمستخلصات نبات إكليل الجبل وقشور الرمان تجاه فطور الرشاشية الملوثة للأعلاف وحبوب الذرة الصفراء مقارنة بالنستاتين

التوصيات

١) دراسة انتشار انواع أخرى من الفطريات في أعلاف الحيوانات.

٢) إجراء دراسة لإضافة مستخلصات إكليل الجبل وقشور الرمان الى الأعلاف المركبة.

٣) اتباع إجراءات وقائية للحد من تلوث الأعلاف بالفطور.

٤) المراقبة وإجراء الفحوصات الدورية للأعلاف ومستودعات تخزينها.

٥) دراسة عوامل الخطورة المرافقة للتلوث الفطري للأعلاف.

٦) ممكن دراسة تأثير تآزري لمستخلصات إكليل الجبل وقشر الرمان للتخفيف من ظهور مقاومات للأحياء الدقيقة و الفطور.

متابعة دراسة تأثير نباتات أخرى على الفطور والأحياء الدقيقة.

التوصيات

١) دراسة انتشار انواع أخرى من الفطريات في أعلاف الحيوانات.

٢) إجراء دراسة لإضافة مستخلصات إكليل الجبل وقشور الرمان الى الأعلاف المركبة.

٣) اتباع إجراءات وقائية للحد من تلوث الأعلاف بالفطور.

٤) المراقبة وإجراء الفحوصات الدورية للأعلاف ومستودعات تخزينها.

٥) دراسة عوامل الخطورة المرافقة للتلوث الفطري للأعلاف.

٦) ممكن دراسة تأثير تآزري لمستخلصات إكليل الجبل وقشر الرمان للتخفيف من ظهور مقاومات للأحياء الدقيقة و الفطور.

متابعة دراسة تأثير نباتات أخرى على الفطور والأحياء الدقيقة.

الفصل السابع

المصادر

REFERENCES

المراجع العربية

١) ابراهيم، اســـماعيل خليل و الجبوري، كركز محمد ثلج.(١٩٩٨). الســـموم الفطرية آثارها ومخاطرها. مركز اباء للأبحاث الزراعية. الطبعة الأولى. دار الكتب والوثائق- بغداد.

٢) اســماعيل، عدي نجم (٢٠١٤). الســموم الفطرية النظرية والمفهوم العام مطبعة الســيماء. جامعة بغداد. العراق صفحة ٢٨٤.

٣) الأســدي، ســارا حمود عبدالعزيز.(٢٠٠٦). تأثير رواشــح بعض الفطريات المعزولة من أعلاف الدواجن في نمو أفراخ الدجاج لبعض مناطق كربلاء، رسالة ماجستير، كلية التربية، جامعة كربلاء، العراق.

٤) الجسـمي، محمد وائل (٢٠٠١). عزل الفطريات الممرضــة من نبات الحنطة ودراســة تأثير بعض المســتخلصــات النباتية عليها، مجلة علوم الرافدين، ١٤(٢): ٦ -١٦.

٥) الداوود، فؤاد ، مقرش، احمد حمدي، الرفاعي، ابراهيم (٢٠١١). عزل وتصـــنيف فطريات الرشـــاشـــيات عند صيصان دجاج اللحم في سوريا، مجلة جامعة البعث، ٥٧ (١٢٨): ١-١٢.

٦) الدخيل، حسين، العرفي، أيمن، ثلاج ، يارا.(٢٠١٦). الفطريات المرافقة لحبوب الذرة الصفراء المخزونة و تقصي تلوثها بالسموم الفطرية المنتجة من الفطر Fusariumverticillioides ، مجلة جامعة تشرين ، ٣(١١).

٧) الراوي، علي عبد علي، رمضــان، نديم أحمد، رياض، احمد العراقي.(٢٠١١). عزل الفطريات المصــاحبة لحبوب الذرة وتحديد الأنواع المنتجة للأفلاتوكسينات، مجلة علوم الرافدين، ٢٢(١): ١٣- ٢٢.

٨) السـعيدي، أحمد عبدالله الدباش (٢٠٠٢). التحري عن الفطريات و سـموم أفلا B1 و M1 في بعض عينات الجبن المنتجة في بغداد، رسالة ماجستير، جامعة بغداد.

٩) الكعبي، علي.، ومحمد، نادية. (٢٠١٨). الفطريات الشـــائعة في أعلاف الدواجن المجلة العراقية لعلوم الأغذية، ١٢(١)، ٤٥-٥٣.

١٠) الوردي، احمد ، يوسف، مناع (٢٠٠٩). استخدام مستخلصات قشور الرمان والزعتر البري في تثبيط نمو فطور الرشاشيات المعزولة عن الأجبان، مجلة كلية التربية الأساسية، الجامعة المستنصرية. (٦٣):٤٨٩ – ٤٩٧.

١١) جريكوس، بلسم نجدات.(٢٠١٦). دراسة تأثير مستخلصات نباتية مائية في نمو بعض الفطريات والتحديد الكمي لبعض مركباتها الفعالة. أطروحة دكتوراه، كلية العلوم، جامعة تشرين.

١٢) حسين، وسن صالح، عبد، مؤمن علي (٢٠٢٣). دراسة فعالية المستخلص المائي لقشور الرمان Punica L. granatum على الفطريات المعزولة من حبوب العدس والبازلاء، مجلة البيان العلمية المحكمة، العدد ١٦: ٩ – ١٦.

١٣) زعيط، احلام.، و أبوالغيث، سعاد محمد. (٢٠٢٣). الفعالية التضادية لبعض المستخلصات النباتية ضد فطر Aspergillus niger المعزول من نبات البصل. مجلة البيان العلمية(٩)، ٥٣١–٥٤٠.

١٤) ساسي، المهدي احمد ، محمد، ابراهيم غريبي ، الرياني، محمد احمد ، الشريف، محمد حسين ، تارسين، احمد عمران .(٢٠٢٤). الكشف عن الفطريات وتقدير سم الزيرالينون في عينات من علف الدواجن، المجلة الليبية لوقاية النبات ، العدد (١٤) : ١ – ٩.

١٥) صالح، طلال حسين؛ قاسم، علي عبد الواحد وداغر، غسان مهدي (٢٠٠٩). تشخيص أنواع الأسبرجلس في الذرة والرز والحنطة في ميسان واختبار قدرتها على إفراز الأفلاتوكسين على أوساط مختلفة. مجلة ميسان للدراسات الأكاديمية، المجلد (٨) العدد (١٥): ٢٠٠–٢١٠.

١٦) عبد اللطيف، مها .(٢٠٠٩). دراسة تأثير الخلاصة الكحولية لأوراق نبات أكليل الجبل Rosmarinus officinalis في نمو فطر A.flavus وإفرازه للأفلاتوكسين ، مجلة جامعة دمشق للعلوم الزراعية ، مجلد ٢٥، عدد ١ ص: ١٢١ – ١٣٤.

١٧) عبد الله، أحمد.، وصبري، محمود. (٢٠٢٠). انتشار فطر Aspergillus niger في أعلاف الدواجن في مصر. مجلة علوم الدواجن المصرية، ٤٥(٢)، ١١٢–١١٨.

١٨) عبد نعمة، عقيل .(٢٠١١). التحري عن بعض الفطريات المنتجة للأفلاتوكسين في بعض الأغذية ومحاولة تقليل أضرارها باستخدام بعض المستخلصات النباتية والفيتامينات، رسالة ماجستير، كلية التربية للعلوم الصرفة، جامعة كربلاء ، العراق.

١٩)

٢٠) علي، آمنة محمد، مجيد، شـــهباء حميد. (٢٠١٠). التأثير المثبط لمســـتخلص قشـــور الرمان Punica L. granatunm تجاه بعض الأعفان، مجلة كلية التربية الأساسية، الجامعة المستنصرية. (٦٣):٤٨٩ – ٤٩٧.

٢١) قاسم، رضوان علي وأحمد، صلاح عمر (٢٠١٨). التأثير التثبيطي لحامض الخليك في نمو الفطر Aspergillus flavus وإنتاج حامض الكوجك وسـم الأفلا B1 في الذرة المخزنة. مجلة جامعة تكريت للعلوم الزراعية، المجلد (١٨) العدد (٢): ٢٣٣-٢٤٢.

٢٢) كـاظم، رائـد نجيـب .(٢٠١٦). تواجـد الفطريـات في أعلاف الـدواجن والكشـــف الجزيئي لفـاعليتهـا في انتـاج الأفلاتوكسين، رسالة ماجستير، جامعة البصرة، العراق.

٢٣) مجيد، قيثارة رشـيد والشـطي، صـباح مالك حبيب. ٢٠٠٥. تأثير الفعالية التضـادية لبعض المسـتخلصـات المائية على نمو بعض الأحياء المجهرية. مجلة التقني. المجلد (١٨). العدد ٣: ١-

English References

1) **Abdul-ghany**. O.S.; **Musa I. T.; Abdulilah S. I. (2011)**. Antifungal Activity of Pomegranate and Oak Galls Extracts Against Penicillium spp. and Aspergillus niger. Raf. Jou. Sci., Vol. 22, No.2 pp 1- 10.

2) **Abid, M., Yaich, H., Cheikhrouhou, S., Khemakhem, I., Bouaziz, M., Attia, H., and Ayadi, M. A. (2017)**. Antioxidant properties and phenolic profile characterization by LC–MS/MS of selected Tunisian pomegranate peels. Journal of food science and technology, 54(9), 2890-2901.

3) **Abundis-Santamaria, E. (2005)**. Aspergillosis in birds of prey,2003. Available at: http//www.aspergillus.man.ac.uk. Accessed 23 March 2005.

4) **Ahmad.M., and Gholib.B. (2016)**. Important mycotic diseases in animal livestock caused by some agriculture fungi in Indonesia Int. J. Trop. Vet. Biomed. Res., 1 ,pp. 38-44.

5) **Akinmoladun, A. N., Olawale, O. O., & Ogunwande, A. A. (2014)**. Antifungal Activity of Rosemary Extract Against Aspergillus niger. African Journal of Biotechnology, 13(5), 583-588.

6) **Akurua, E. A., Mpenduloa, C. T., Oyeagua, C. E., & Nantapo, C. W. T. (2021)**. Pomegranate (Punica granatum L.) peel powder meal supplementation in broilers: effect on growth performance, digestibility, carcase and organ weights, serum and some meat antioxidant enzyme biomarkers. Italian Journal Of Animal Science, 20 (1), 119–131.

Alabi O.; Anokwuru, C.; Ezekiel, C.; Ajibaye, O.; Nwadike, U

1) aflatoxin induced Genotoxicity in mice. J. Biol. Sci.;11: 307-313.

2) **Alam, E. A. (2019).** Phytochemical Studies on Some Important Egyptian Medicinal Plants. International Journal of Chemical Sciences, 10(2), 24-32.

3) **Alexandre, E. M., Silva, S., Santos, S. A., Silvestre, A. J., Duarte, M. F., Saraiva, J. A., and Pintado, M. (2019).** Antimicrobial activity of pomegranate peel extracts performed by high pressure and enzymatic assisted extraction. Food research international, 115, 167-176.

4) **Alexopoulos, C.J.; Mims, C.W. and Blackwell, M. (1996).** Introductory Mycology John Wiley & Sons. Inc., New York: 868.

5) **Al-Hatmi, A. M., Castro, M. A., De Hoog, G. S., Badali, H., Alvarado, V. F., Verweij, P. E., and Zago, V. V. (2019).** Epidemiology of Aspergillus species causing keratitis in Mexico. Mycoses, 62(2), 144-151.

6) **Ali, E.M.; Alkuwayti, M.A.; Aldayel, M.F. and Abdallah, B.M. (2020).** Coumarin derivative, 5'-hydroxy-auraptene, extracted from Lotus lalambensis, displays antifungal and anti-aflatoxigenic activities against Aspergillus flavus, J.of King Saud University – Sci. 101216.

7) **Aliyu. R.M .; Abubakar. M.B.; Yakubu. Y.; Kasarawa. A.B.; Lawal. N,; Bello. M.B,; Fardami. A.Y .(2016).** Prevalence of potential toxigenic Aspergillus species isolated from poultry feeds in Sokoto metropolis. Sokoto Journal of Veterinary Sciences 14(1): 39-44.

1) **Al-qahtani, A. S. (2019).** Effect of Rosemary (Rosmarinus officinalis L.) Extracts on Aspergillus fumigatus Growth. Asian Journal of Biological Sciences, 12(3), 267-274.

2) **Alves, A. M. D.; Lima, P. H. D.; Da Costa, M. A. S.; Da Silva, C. B.; Sousa, J. D.; Pereira, D. D. T.; Lima, P. R. and De Freitas, J. D. (2018).** Determination of aflatoxin M1 in bovine milk from the Alagoas/Brazil State dairy belt by high performance liquid chromatography (HPLC). African Journal of Microbiology Research, 12 (25): 580-586.

3) **Al-Zoreky, N. S. (2009).** In Vitro Antifungal Activity of Pomegranate Peel Extracts Against Aspergillus flavus. Food Control, 20(8), 733-737.

4) **Amadi,J .E. and Adeniyi . D.O.(2009).** Mycotoxin production by fungi isolated from stored grains. Afr.J. Biotechnol.8;1219-1221.

5) **Amitani , R . ; Taylor , G . ; Elezis , E . N . ; Michell , J . ; Kuze , F . ; Cole , P . J . and Wilson , R . (1995) .** Purification and Characterization of factors produced by Aspergillus fumigatus wich affect human ciliated respiratory epithelium. Infect . Immune .63 : 3266 - 3271 .

6) **Andergg , R . J . ; Biemann , K . ; Buechi , G . and Cushman , M . (1976) .** Malformin C a new metabolite of Aspergillus niger . Amer . Chem . Soc . 98 : 365 - 370 .

Anjorin, T.S.; Salako, E.A.; and Makun, H.A. INTECH (2013). Control of Toxigenic Fungi and Mycotoxins with Phytochemicals:

1) **Azmir, J., Zaidul, I. S. M., Rahman, M. M., Sharif, K. M., Mohamed, A., Sahena, F., and Omar, A. K. M. (2013).** Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. Journal of food engineering, 117(4), 426-436.

2) **Battilani P, Pietri A, Bertuzzi T, Languasco L, Giorni P & Kozakiewicz Z (2003).** Occurrence of ochratoxin A-producing fungi in grapes grown in Italy. Journal of Food Protection, 66(4): 633–636.

3) **Beernaert ,L. A.; Pasmans ,F.; Van Waeyenberghe, L.; Haesebrouck, F. , and Martel, A.(2010).** "Aspergillus infections in birds: a review," Avian Pathology, vol. 39, no. 5, pp. 325–331.

4) **Belkacem, F., Boubekeur, A., & Hamdi, A. (2020).** Fungal contamination and aflatoxin B1 in dairy cattle feed in Algeria. Journal of Food Science and Technology, 57(10), 3730–3736.

5) **Bennett, J. W & Klich, M. (2003).** Mycotoxins. Clin. Microbiol. Rev.,16(3):497-516.

6) **Bennett, J. W.; Machida, M. and Gomi, K. (2010).** An overview of the genus Aspergillus, In Aspergillus. Molecular Biology and Genomics. Caister Academic Press. 1:1- 17.

7) **Bhatnagar, D. ; Yu, J. & Ehrlich, K. C. (2002)** .Toxins of filamentous fungi . Chem. Immunol., 81:167-206.

8) **Bhatnagar, D.; Ehrlich, K.C.; Moore, G.G. and Payne, G.A. (2014).** Aspergillus| Aspergillus flavus. Encycl Food Microbiol, 1:83-91.

Binder, E. M.; Tan, L. M.; Chin, L. J.; Handl, J. and Richard,

1) and feed ingredients. Animal Feed Science and Technology 137: 265-282.

2) **Boix ،Yilan Fung ،Cristiane Pimentel Victório ،Celso Luiz Salgueiro Lage ،and Ricardo Machado Kuster. (2010).** "Volatile Compounds from Rosmarinus Officinalis L. and Baccharis Dracunculifolia DC. Growing in Southeast Coast of Brazil." Química Nova 33(2)255-257.

3) Bowsher, C. ; Ster, M. And Tobin, A. (2008). Plant biochemistry. London: Garland Science, 472 pages.

4) **Bryden, W. L. (2007).** Mycotoxins in the food chain. Human health implications. Asia Pac. J. Clin Nutr. 16 (1): 814-817.

5) **Buttinger, G. ;Oostra, A. & Charoud-Got, J. (2010).** The certification of mass fractions of aflatoxin B1 , B2 ,G1 and G2 in compound feeding stuff (low level). Printed in Belgium, European union .,34pp.

6) **Caceres, I.(2020).** Aflatoxin biosynthesis and genetic regulation: A review. Toxins.;12(3):1-28.

7) **Carmen. V and Sciortino, Jr.(2017).** Atlas of Clinically Important Fungi. Inc., Hoboken, New Jersey ,Published simultaneously in Canada.

8) **Centeno, S.; Calvo,M.A.; Adelantado, C.& Figueroa, S. (2010).** Antifungal Activity of Extracts of Rosmarinus officinalis and Thymus vulgaris against Aspergillus flavus and A. Pakistan J. of Biological Sciences.,13(9):452- 455.

Chaundhary , S . K . ; Sadana , J . R . and Pruthi , A .K .

1) 157 - 166 .

2) **Cheli, F.; A. Campagnoli; L. Pinotti; G. Savoiniand and V. Dellorto (2009).** Electronic nose for determination of aflatoxins in maize. Biotich.Agron.Soc.Environ, 13 (5): 39-43.

3) **Christensen , C . M . (1965)** . Fungi in cereal grains and their products in Food stuffs . Press . Cambridge . Massachusetts.

4) **Ciegler , A . and Vesender , R . F . (1987)** . Microbial food and feed Toxicants : fungal toxins , in the CRC hand book of Microbiology , Volume VIII . CRC Press . Boca Raton . FL .

5) **Collee, J. G.; Fraser, A. G.; Marmion, B. P. and Simmons, A.(1996).** Practical medical microbiology. 14th ed. Churchill living stone. Inc. New York, USA.

6) **Coutinho, A., Silva, L., Fedorov, A., & Prieto, M. (2004).** Cholesterol and ergosterol influence nystatin surface aggregation: relation to pore formation. Biophysical Journal, 87(5), 3264-3276.

7) **Cowan, M. M. (1999)** Plant product as antimicrobial agent. Clin. Microbial. Rev ., 12(4):564-582.

8) **Crozier ،Alan ،Mike N. Clifford ،and Hiroshi Ashihara. (2008).** Plant Secondary Metabolites Occurrence ،Structure and Role in the Human Diet. John Wiley & Sons.383.

9) **Daferera, D.J. Zioqas, B.N. & Polissiou, (2000).** M.G. CG-MS analysis of essential oils from some Greek aromatic plants and their fungitoxicity on Penicillium digitatum. J. Agric. Food Chem.,48(6): 2576-2581.

Dahham.s.s.;, Ali. Naiman, Tabassum .Hajera and Khan. M. (2010). Studies on Antibacterial and Antifungal Activity of

1) Pomegranate (Punica granatum L.). American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci., 9 (3): 273-281.

2) **Das, S.; Chaudhari, A.K.; Deepika, A.S.; Singh, V.K.; Dwivedy, A.K.; and Dubey, N.K. (2020).** Functional and Preservative Properties of Phytochemicals. Academic Press;. 6 - Foodborne microbial toxins and their inhibition by plant-based chemicals; pp. 165–207.

3) **Davari.Elham.Mohsenzadeh.M,Mohammadi.Gh,Rezaeian-Doloei.R. (2015).** Characterization of aflatoxigenic Aspergillus flavus and A. parasiticus strain isolates from animal feedstuffs in northeastern Iran. Iranian Journal of Veterinary Research 16 (2), 150.

4) **De Hoog ,G.S.J.Guarro,j.;Gene,M.J.&Figueras Figueras .(2000).** Atlas of clinical fungi ,2nd.,centraabureeau voor schimmelculturees Utrecht ,the Netherlands. Vol.53-No.1,P: 45-49.

5) **De-Hoog , G.S.; Guarro , J. and Figueras ,M.J.(2000).** Atlas of clinical fungi 2nd ed. Vol. 1. Centraalbureau voor Schimmel cultures . Utrecht. The Netherlands .

6) **Delrio, J.A.,; Baidez, A.G.; Botia, J.M. & Ortuno, J. (2003)** Enhancement of phenolic compounds in olive plants (Olea europaea L.) and their influence on resistance against Phytophthora sp. Food Chemist., 83 :75-78.

Dias, D.A.; Urban, S.; and Roessner, U. (2012) .A historical overview of natural products in drug discovery. Metabolites.;2:303–

Syrian Arab Republic

Hama University

Faculty of Vet. Med

Department of Public Health and Preventive Medicine

Effect of Aqueous and Alcoholic Extracts of Pomegranate Pee l and Rosemary on the Growth of Aspergillus Fungus Isolated From Forage

A Thesis is presented

By

ABDUL AZIZ ALHAG NASAN

For

The Degree of master in Veterinary Medical Science (Hygiene of Animal)

Supervised By

Dr. ABDULKAREM HALAK

Dr. SANA ELWAN

Syrian Arab Republic

Hama University

Faculty of Vet. Med

Department of Public Health and Preventive Medicine

ffect of Aqueous and Alcoholic Extracts of Pomegranate Pee l and Rosemary on the Growth of Aspergillus Fungus Isolated From Forage

A Thesis is presented
By

ABDUL AZIZ ALHAG NASAN

For

The Degree of master in Veterinary Medical Science (Hygiene of Animal)

Supervised By

Dr. ABDULKAREM HALAK

Dr. SANA ELWAN