The Effect of *Trigonella foemun-gracum* Extract on the Fungi that Isolated from the Libraries Door

Duaa Hassan Hadi

Technical Institute, Babylon

duaah150@gamil.com

Submission date:- 2/2/2019 Acceptance date:- 24/3/2019 Publication date:- 20/5/2019

Keywords: *Libraries of the door , Trigonella foemun-gracum, oppertunstic fungi*

Abstract

The study included the isolation and diagnosis of the fungi from the door of the laboratories (microbology ,technical biology)in the technical institute of Babylon from the medical department. The study appeared many of the different kinds of fungi*: Absidia sp,Candidia sp, Aspergillus sp,Penicillum sp.*

The rate of appearance of the type of the fungi in microbology laboratory is the higher than the technical biology laboratory other.The rate of appearance of the fungi *Aspergillus niger* was 36.8% and *Absidia ,Penicililum* was 21.05% , *Candida sp* was 15.7 % , *Aspergillus flavus* 5.2% while in the technical biology the fungi *Aspergillus terrus* was 15.7% and the fungi *Penicililum sp,Candida albcans, Apergillus niger* was 20% , *Absidia* sp ,*Alternaria* sp was 10%.The study showed the influence of the heating water extract hot watering extract the race track in the concentration which is used(10,20,30, 40) mg /ml on some of fungi. The rate of reduction is appeared 100% of the fungi *Candida albicans* in the concentration (30,40) mg/ml and the range of the diameter colony of the yeast *Candida albicans i*n the concentration 30 mg/ml the (1)sanatamtar. While the fungi *Aspergillus niger* in the concentration (10,20)mg/ml is not given any resistance toward the extract.

تأثير مستخلص نبات الحلبة في الفطريات المعزولة من ابواب المختبرات

دعاء حسن هادي

المعهد التقني/بابل

duaah150@gamil.com

الخلاصة

تضمنت الدراسة عزل وتشخيص الفطريات من ابواب المختبرات (الاحياء المجهرية،التقنية الاحيائية) في المعهد التقني –بابل للأقسام الطبية.اذ اظهرت الدراسة عددا من الانواع الفطرية : (*Absidia* sp,*Penicillium* spp,*Candida* sp,*Aspergillus*). وكانت نسبة ظهور الانواع الفطرية في ابواب مختبرات الاحياء المجهرية اعلى من ابواب المختبرات التقنية الاحيائية ، اذ سجل الفطر *Aspergillus niger* نسبة ٣٦,٨% و *Absidia* ، *Penicillium* نسبة ٢١,٠٥% و *Candida* sp نسبة ١٥,٧% و *Aspergillus flavus* نسبة ٥,٢% في حين ابواب المختبرات التقنية الاحيائية سجل الفطر *Aspergillus terrus* نسبة١٥,٧ و*Aspergillus niger* ، *Candida albicans*, *Penicillium* نسبة ٢٠% و *Alternaria, Absidia* نسبة ١٠%. وقد اظهرت دراسة التاثير المثبط للمستخلص المائي الحار لنبات الحلبة وبالتراكيز المستعملة (١٠،٢٠،٣٠،٤٠) ملغم /مل على بعض الفطريات المعزولة . نسبة تثبيط ١٠٠% بالنسبة للفطر *Candida albicans* في التراكيز (٣٠،٤٠) ملغم /مل ومعدل قطر المستعمرة الخميرة بتركيز ٣٠% ملغم /مل كان (١) سم اما الفطر *Aspergillus niger* في التراكيز (١٠،٢٠) ملغم /مل لم يعط اي مقاومة تجاه المستخلص.

الكلمات الدالة:الفطريات الانتهازية، ابواب المختبرات، الحلبة.

Journal of University of Babylon for Pure and Applied Sciences (JUBAS) by University of Babylon is licened under a Creative Commons Attribution 4.0 International License. 2018.

المقدمة

ابواب المختبرات:هي عبارة عن ابواب مصنوعة من خشب او حديد توضع في المختبرات لعزلها عن بقية المختبرات.وقد تعد ابواب المختبرات هي بؤرة الجراثيم من (بكتريا،فطريات،فايروسات).لذلك يجب التخلص من هذه الجراثيم من خلال التنظيف بمساحيق التنظيف من (كحول،ديتول وغيرها) او استخدام نباتات طبية ومنها نبات الحلبة.وان لنبات الحلبة *Trigonella foemum-gracum*:لها اهمية طبية واقتصادية لدخول مستخلصاتة ضمن مكونات ابواب المختبرات .وان بذور الحلبة تحتوي على الكثير من المواد الفعالة المهمة طبيا وقد قسمت المواد بشكل رئيسي الى ثلاث مجاميع وهي (sterodial sapogenis, Galactomannans, Isoleucin) وقد تعمل بصورة تأزرية لتحقيق الفوائد الغذائية والصحية لنبات الحلبة[1].

وهذا جعل الحلبة تستخدم على نطاق واسع في العديد من مناطق العالم نظرا لما تمتلكة من صفات علاجية وطبية اذ لها تاثير خافض لمستويات السكر والكلسترول والدهون في الدم ،لذا تعتمد كعلاج لامراض السكر والقلب وكمضاد فعال ضد الاحياء المجهرية (الجراثيم،الفطريات) والديدان الطفيلية ،وتستعمل ضد التقرحات المعوية والالتهابات المختلفة،وضد الزيادة المفرطة لنشاط الغدة الدرقية والاعضاء التناسلية ،وكعامل مضاد للتاكسد ولحالات التسمم الناتجة عن الايثانول ،كما تساعد على التئام الجروح.[3] [2] [1]

وقد اكد [2] ان بذور الحلبة تحتوي على مركبين (Galactomannan polysaccharides,Saponin) ،اذ تستخدم هذه المواد كمركبات مضادة للجراثيم.

وان هدف الدراسة هو تحضير المستخلص النباتي لبذور الحلبة بطريقة الاستخلاص المائي الحار فضلا عن كشف المركبات الكيميائية الاساسية.

المواد وطرائق العمل Materials and Methods:

-عزل الفطريات:

عزلت الاجناس الفطرية من نوعين من ابواب المختبرات (ابواب المختبرات الاحياء المجهرية، ابواب المختبرات التقنية الاحيائية) في المعهد التقني بابل المصنعه من شيركات ماليزية. وذلك بأخذ مسحة من ابواب المختبرات

وزرعه على وسط السابروويد الصلب وحضنت الاطباق بدرجة حراره ٢٥-٣٠ مْ وشخصت الاجناس الفطرية اعتمادا على الصفات المظهرية والمجهرية للفطريات المعزولة[4]، كذلك تم اختبار المادة المصنع منها الأبواب واخذ مسحة منها ومزجها مع كحول الايثانول بتركيز ٩٥% ولم يظهر اي نمو فطري [5].

- تنقية الانواع الفطرية:

تحت تنقية الانواع الفطرية وذلك بنقل اجزاء من المستعمرات النامية المعزولة بشكل اولي بوساطة الناقل الجرثومي المعقم (sterial loop) في اطباق حاوية على وسط Sabourad Dextrose Agar (SDA) نظيفة ومعقمة وتم حضنها في درجة حرارة 28-25م لمدة 14- 7 يوم لغرض الحصول على مستعمرات نقية وبعد ظهور النمو تم حفظها في درجة 4 م وتم تشخيص الانواع الفطرية بين الحين والاخر[4]

- تشخيص العزلات الفطرية:

يلاحظ مظهريا معدل نمو مستعمره الفطر في (7-5) ايام عند 30-25 مْ على الوسط الزرعي المعقم وتكوين الهايفات الفطرية اما الصفات المجهرية فنلاحظ ظهور الغزل الفطري وتكوين الحوامل الكونيدية وتركيب الكونيدية للفطريات المعزولة . اما تشخيص الخميرة يعتمد على الصفات المظهرية للمستعمرة وكذلك على الصفات المجهرية.[6]

- جمع العينة النباتية:

تم الحصول على العينة النباتية من نبات الحلبة لغرض اختبار فاعلية مستخلصها المائية ضد الفطريات المعزولة ,وذلك بشرائها من الأسواق المحلية في محافظة بابل. ثم طـــُحنت بذور حبوب الحلبة بمطحنة كهربائية وتحُفظ في أوعية بلاستيكية محكمة الغلق بدرجة حرارة ٤ مْ ولحين الاستعمال.

- تحضير المستخلص المائي الحار:

تم وزن ١٠ غم من المسحوق النباتي واضيف اليه ٢٠٠ مل من الماء المقطر بدرجة الغليان وترك ليبرد مع التحريك المستمر ، ثم رشح المحلول عبر طبقات من الشاش ،ومن ثم بورق الترشيح Whatmann No. 2، واخذ الراشح وتم تجفيفه بوساطة الفرن الكهربائي oven بدرجة حرارة (٥٠-٤٥) م لحين الحصول على المسحوق المجفف، وكررت هذه العملية لحين الحصول على كمية كافية من المستخلص ، جمع المسحوق وحفظ في الثلاجة في قنينة زجاجية نظيفة بدرجة ٤ م لحين استعمالها.[7].

- اختبار الفعالية التضادية للمستخلص النباتي والمضادات الفطرية في نمو الفطريات قيد الدراسة :

أتبعت طريقة [8]، إذ تم مزج المستخلصات النباتية المجففة مع الوسط الزرعي اكار سابرويد – دكستروز SDA الذائب والمبرد إلى درجة 50 مْ بتركيز (40,30,20,10) ملغم / مل وبمعدل 3 مكررات لكل تركيز، وبعد تصلب الوسط الزرعي تم وضع قرص بقطر 5 ملم من المستعمرة الفطرية للفطريات المدروسة *Penicillium sp* و *C.albicans* و *A . terrs*, و *A.niger* النامية على وسط SDA أو بطاطا دكستروز أكَار PDA لمدة 7 – 14 أيام اذ وضع القرص الفطري في مركز الطبق . [9] حُضّنت الأطباق بدرجة حرارة 28 – 25 مْ ولمدة 1 – 2 أسابيع ، تم قياس قطر المستعمرة النامية (معدل قطرين متعامدين) وسُجّلت النتائج.

- الكشف عن المركبات الفعالة في المستخلص المائي الحار:

اتبعت طريقة [10] للكشف كيمائيا عن المركبات الفعالة للمستخلص المائي الحار الحلبة كما في الجدول رقم (1)

جدول (1) الكشف عن المركبات الفعالة الموجودة في نبات الحلبة

المركب الكيميائي	اسم الكاشف
Cuomarin	**استعمال محلول هيدروكسيد الصوديوم لورقه ترشيح مشبعه بلمستخلص لتعطي لون اصفر مخضر**
Saponin	**وجود رغوه كثيفه عند رج المستخلص**
Alkaloid	**قطرات من kadde بنفسجي**
Glycosid	**كاشف دراجندروف يعطي لون برتقالي**
Tannin	**خلات الرصاص مع ظهور راسب هلامي**
Volatile oil	**ورقه ترشيح مشبعه بلمستخلص وتعرضه لاشعه فوق البنفسجيه مع ظهور لون رمادي**

التحليل الاحصائي

حللت نتائج التجارب بحسب التصميم العشوائي الكامل Completely Randomized Design (C.R. D) ثلاثية العامل وتمت مقارنة المتوسطات بحساب اقل فرق معنوي (L.S.D)لبيان معنوية النتائج عند مستوى احتمالية ($P\leq0.05$) .[11]

النتائج والمناقشة

تبين في الجدول (3،4) ان هناك فطريات ظهرت في النوعين كليهما من ابواب المختبرات(ابواب المختبرات الاحياء المجهرية ،ابواب المختبرات التقانة الاحيائية) والفطريات هي (*Absidia* sp , *Pencillium* sp , *Candida* spp, *Aspergillus niger*)

جدول رقم (2) الاجناس الفطرية التي ظهرت في ابواب المختبرات الاحياء المجهرية

نوع الفطر	عدد المستعمرات	النسب المئوية
Aspergillus niger	7	**36.8**
Absidia sp	4	**21.05**
Candida sp	3	**15.7**
Penicillium sp	4	**21.05**
Aspergillus flavus:	1	**5.2**

جدول رقم (3) الاجناس الفطرية التي ظهرت في ابواب المختبرات التقنية الاحيائية

نوع الفطر	عدد المستعمرات	النسب المئوية
Aspergillus terrus	3	**15.7**
Aspergillius niger	2	**20**
Absidia sp	1	**10**
Penicillium sp	2	**20**
Alternaria sp	1	**10**
Candida albicans	2	**20**

المركبات الفعالة الموجودة في نبات الحلبة:

بينت نتائج الكشف عن المركبات الفعالة في المستخلص النباتي الحار وجود بعض المركبات في نبات الحلبة كما موضح في الجدول رقم (٤)

جدول (4) الكشف عن المركبات الكيميائيه في المستخلص المائي الخام لنبات الحلبة

المركب الكيميائي	النتيجه الفحص
Cuomarin	-
Tannin	+
Saponin	+
Alkaloid	+
Glycosid	+
Volatile oil	+
PH	**5**

اختبار تأثير مستخلص الحلبة المائي على بعض الفطريات المعزولة:

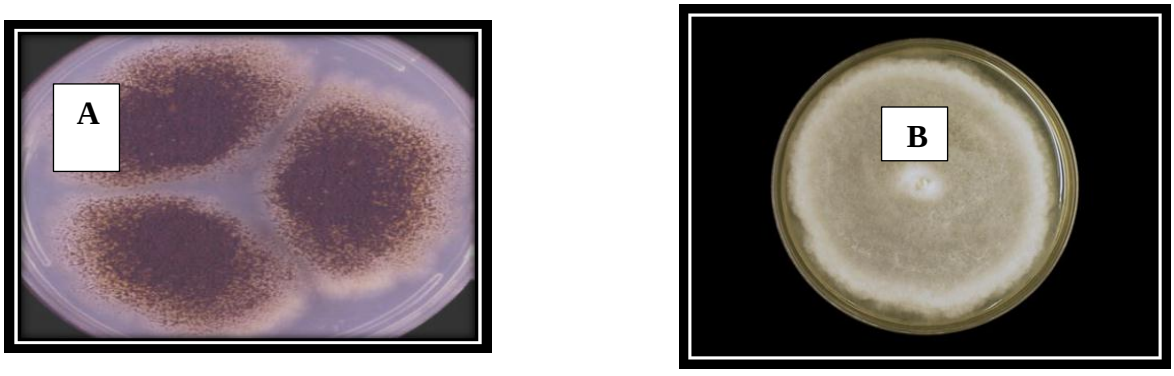
اظهر مستخلص الحلبة المائي تأثيرا واضحا في نمو وحيوية الفطريات والخمائر قيد الدراسة، اذ تبين التاثير اعتمد على نوع العزلة الفطرية المختبره وعلى تركيز المستخلص ،فقد اظهر مستخلص الحلبة قطر منطقة التثبيط (0) ملم وبتركيز 40 ملغم /مل للفطريات *Absidia* sp و *Penicillium* sp في التركيز الاول اما الانواع الفطرية الاخرى اذ كان قطر منطقة التثبيط مختلف بحسب نوع الفطر حيث كان قطر منطقة التثبيط في التراكيز نفسها للفطر *Asp.niger* هي (1.2) ملم و *Candida albicans* (1.3) ملم كما مبين في الجدول الاتي:

جدول رقم (5) بين تاثير مستخلص نبات الحلبة المائي على بعض الفطريات المعزولة

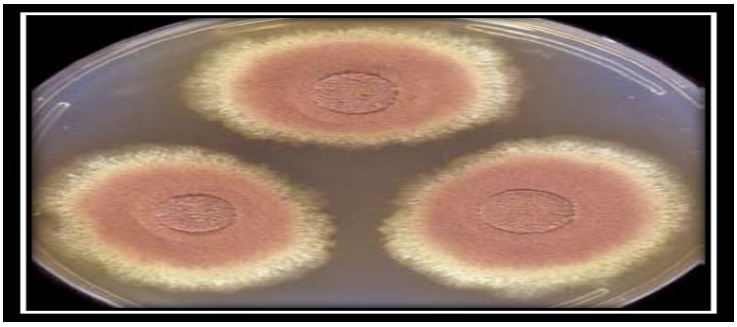
اسم الفطر / التراكيز	قطر منطقة التثبيط بالملم			
	40	30	20	10
Asp.niger	1.2	1.2	2	2.5
Penicillium spp	0	1	1.9	1.9
Absidia sp	0	0	1.3	2.2
Candida albicans	1.3	1.5	1.3	2

LSD= 0.45

وان الفطريات قيد الدراسة كما موضح في شكل رقم (١) :



A -Aspergillus niger *B-Absidia sp*



C-Aspergillus terrus

شكل (1) الشكل للفطريات المعزولة على وسط السابروبد

نظرا لكثرة استعمال النباتات الطبية في الطب الشعبي في العراق فضلا عن ذلك استعمالاتها الغذائية لهذا تم استعمالها كمضادات حياتية للأحياء المجهرية ومنها الفطريات.

خلال ماتقدم تبين وجود عوامل عده تؤثر على النتيجة ومنها العوامل البيئية التي نما فيها الفطر ونوع المستخلص والطريقة المثالية للاستخلاص وطريقة الاختبار المستعملة لتقيم المستخلص اكثر[12]، وان سبب اختيار نبات الحلبة في هذه الدراسة وذلك لوجود بعض المعلومات حول استعمالها في تعقيم ابواب المختبرات. [13] وفي دراستنا هذه عزلت الفطريات (*Penicillium* ,*Asp.niger*,*Asper terrus* ,*Abisidia*, *Candida sp*).

اذ كان ظهور الفطر *A*spergillius niger وهو الاكثر تكرارا في ابواب المختبرات الاحياء المجهرية والاقل تكرارا هو الفطر *Asp.flavus* اما في ابواب المختبرات التقنية الاحيائية كان الفطر الاكثر تكرارا هو *Asp.terrus*والاقل هو الفطر *Candida albicans* وهذا لايتفق مع دراسة شفاء واخرين اذ كانت *Candida* spp اكثر تكرارا ويعود السبب ذلك في ان سمك الخيط الفطري يؤدي دورا واضحا في تاثير المواد الفعالة كما ان زيادة المساحة السطحية للخيوط الفطرية قد تؤدي الى تاثيرها في اثناء امتصاص المواد المثبطة في المستخلص لذا فانها تثبط نموها .[14]

الاستنتاجات:

١- يكون المستخلص المائي الحار لبذور الحلبة ذا تأثير عال في تثبيط نمو الفطريات وبالتراكيز العالية.

٢- ان نسبة تلوث الفطر *Aspergillius nig*er كانت اعلى من الفطر *Asp.flavus* التي عزلت من ابواب المختبرات الاحياء المجهرية ،وان نسبة تلوث الفطر *Asp.niger* كانت اعلى من الفطرsp *Candida* و *Alterneria alternaria*التي عزلت من ابواب المختبرات التقنية الاحيائية .

٣-كانت نسبة تثبيط الفطر *Candida albicans* اعلى من نسبة تثبيط الفطر sp *Absidia* وبنسبة 30%,40%على التوالي.

التوصيات:

١- تقويم كفاءة تاثير مستخلصات نباتية اخر في تثبيط نمو الفطريات التي تصيب ابواب المختبرات.
٢- اجراء اختبارات اكثر لمعرفة التثبيط للمواد الفعالة للنبات الحلبة.

CONFLICT OF INTERESTS

There are no conflicts of interest.

المصادر

1- Acharya, S.N., J.E., and Thomas, S.K., Basu. Fenugreek, and alternative crop for semiarid regions of North America. *Crop. Sci.Article.* 48(3):841-53. 2007.

2- Chauhan, G., M., Sharma, H., Kharkwal, and A. Varma. Pharmacognostic, preliminary phytochemical studies and anticancerous potential of *Trigonella Foenum-Graecum. Inter. J. Pharm. Sci.* :350-60 .www.pharamasm.com .Online published. 2010.

3- Khan, U.K., F.R., Durrani, A.Sultan, R.U., Khan, and S., Naz. Effect fenugreek of (*Trigonella Foenum-Graecum*) seed extract on visceral organs of broiler chicks . *J. Agricult. Biol .Sci*.;4(1) : 58-60. 2009.

4- Kwon-chung,KJ.and Bennett,J.E. Medical mycology Keratomycosis 3rded,Williams and Williams and Wilkins Company,pp105-161.london. 1992.

5- Hary. A;Walton. R, and Vaishnav .R, Environ health composition of eye cosmetics usein Cairo J. Res.14(1)p83-91 Int. 2004.

6- Peral, G. Carracedo, M.C. Acosta, J. Gallar, J. Pintor. "Increasing levels of diadenosine polyphosphates in dry eye" Invest. Ophthalmol Vis Sci.47 (9):4053. 2006.

٧- عبد الباقي ، انعام عبد المنعم. التأثير التثبيطي لعدد من النباتات الطبيه في بعض الجراثيم المعزوله من الجروح الخمجي، رساله ماجستير ،كليه التربيه ،جامعه الموصل . العراق٢٠٠١..

8- EL-Kady,I.A. ; Mohamed,S.S. & Mostafa,E.M. Antibacterial and antidermatophyte activities of some essential oils from spices. Qatar . Univ. Sci. J. 13 (1) : 63–69. 1993.

٩- الجنابي، علي عبد الحسين صادق. معالجة الأمراض الجلدية المتسببة عن الفطريات الجلدية Dermatophytes بمستحضرات حاوية على بعض مركبات البيورين أطروحة دكتوراه / كلية العلوم – الجامعة المستنصرية . ٢٠٠٤.

١٠- شوكت ،مؤيد صبري وعبد الامة بركة علي وحسين علي فرحان. دراسة تاثير الخلاصات المائية لبعض النباتات في علاج التهاب اللثة الحاد والمزمن .المجلة العراقية للعلوم ،مجلد ٤٩ العدد ١ الصفحة ٦٩-٧٣. ٢٠٠٨

١١- الراوي، خاشع محمود وخلف الله ،عبد العزيز محمد. تصميم وتحليل التجارب الزراعية، دار الكتب للنشر .جامعة البصرة. ٢٠٠٠

١٢- المعيني،صفاء عبد اللطيف و زينب ياسين محمد و هديل حارث خالد. دراسة الفعالية التثبيطية للزيت الطيار ومطحون بذور نبات الحلبة في بعض الأحياء المجهرية المرضيه المجلة العراقية للتقانات الحياتية٨٥-٧٤:(١) . ٢٠٠٨

13 − Aqil F., and I., Ahmad. Board-spectrum antibacterial and antifungal properties of certain traditionally used Indian medicinal plants.*World. J. Microbiol. Biotechnol*. 19:653-7. 2003.

14- Ashoor, A. and Abu-Baleer, Y. Is the classical classification of Aspergillosis paranasal sinuses to non-Invasive and inasive still valid or not? Bahrain Medical Bulletin. 24 : 91-94. 2002.