

تأثير المستخلص المائي لأوراق نبات اليوكالبتوس *Eucalyptus sp.* في نمو الفطر *Coccidioides immitis* المسبب لالتهابات رئوية

نيران عبيد جاسم

قسم علوم الحياة / كلية العلوم / جامعة القادسية

الخلاصة :

تمت دراسة تأثير المستخلص المائي لأوراق نبات اليوكالبتوس على حيوية ونشاط الفطر *Coccidioides immitis* على الوسط الغذائي الصلب SDA والوسط الغذائي السائل SDB كما تمت دراسة تأثير المستخلص على تحول السبورات المفصليّة للفطر إلى الطور الطفيلي spherule للفطر وأظهرت نتائج الدراسة بان المستخلص المائي لأوراق نبات اليوكالبتوس ثبت نمو الشعاعي للفطر بصورة معنوية عند إضافته إلى الوسط الغذائي الصلب وكذلك اثر معنويا في معدل الوزن الجاف للغزل الفطري في الوسط السائل وخصوصا عند التركيز 20%. وعند دراسة تأثير المستخلص المائي لأوراق اليوكالبتوس على تحول السبورات المفصليّة للفطر إلى الطور الطفيلي وجد ان المستخلص قد خفض معنويا عدد السبورات التي تحولت إلى الطور الطفيلي spherules ولجميع التراكيز وخصوصا التركيز 20%.

المقدمة:
الفطريات كائنات حية خالية من الكلوروفيل حقيقية النواة تتواجد في كل مكان وتبقى حية من خلال الترمم على المواد العضوية المتحللة والقليل منها فقط يمتلك أهمية للإنسان من الناحية الطبية وتشمل الأنواع التي تنتج المضادات الحيوية مثل *Penicillium* والأنواع الممرضة للإنسان مثل مجموعة الأجناس الانتهازية مثل *Candida*, *Aspergillus*, *Coccidioides*, *Histoplasma*, *Paracoccidioides*, *Blastomyces* بالإضافة إلى الفطريات (Panda,2004). وتعرف الإصابات الجهازية على أنها الاخماج التي تصيب الأجزاء العميقة من الجسم وتحدث الإصابة عادة بواسطة الفطريات التي تكون التربة دائما المصدر الرئيسي لها (Tortora,et.al,2000). والأمراض الفطرية من الأمراض التي يصعب السيطرة عليها لأنها تحتاج إلى علاج خاص Johnson & Wright.(1993). كما ان العلاج المستخدم غالبا ما يكون غير نافع بسبب كون الفطريات كائنات حقيقية النواة وبالتالي فهي تشابه مضيفها الإنسان من هذه الناحية لذا تكون هذه المضادات سامة للإنسان كسُميتها للفطر المسبب Mondello.et.al.(2003). بالإضافة إلى زيادة المقاومة للمضادات الفطرية فقد اتجه العديد من الباحثين إلى البحث عن سبل أخرى في علاج الأمراض الفطرية خصوصا الجهازية فقد أشارت العديد من البحوث إلى ان هناك نباتات طبية تمتلك فعالية عالية ضد الفطريات المرضية. إذ تمتلك العديد من النباتات الطبية فعالية عالية ضد المسببات المرضية الفطرية وفي العراق تتوافر وتنمو مثل هذه النباتات مثل اليوكالبتوس والأس والحرمل والثوم (Johnson et.al.(2004) ومعظم البحوث التي أجريت كانت تتضمن الفطريات الرئوية الانتهازية لذا جاءت هذه الدراسة لتسلط الضوء على إمكانية استخدام احد النباتات الطبية الموجودة في العراق وهو نبات اليوكالبتوس ضد الفطر *Coccidioides immitis* المعزول من المرضى الذين يراجعون مراكز الصدر والأمراض الصدرية في مدن الحلة والديوانية .

المواد وطرائق العمل:

الأوساط الزرععية : استخدم في البحث الوسط الزرععي (SDA) Sabouraud's Dextrose Agar والوسط السائل Sabouraud's Dextrose Broth(SDB) في تنمية الفطر وإجراء الاختبارات المختلفة .

العزلة الفطرية : تم الحصول على الفطر *Coccidioides immitis* Rixford & Gilchrist من احد المرضى المصابين بالتهابات رئوية والمراجعين لمركز الصدر والأمراض الصدرية في الديوانية وتم تشخيص الفطر حسب الصفات الزرععية والمجهريّة التي أوردتها كل من (Larone(1995) , De-Hoog et.al(2000) .

جمع العينات للنبات المستخدم : تم جمع عينة كافية من أوراق نبات اليوكالبتوس *Eucalyptus sp.* من مشتل الغابات التابع لمديرية زراعة القادسية ، غسلت العينات جيدا ونظفت وبعد تجفيفها بصورة جيدة ثم طحنت وحولت إلى مسحوق وحفظت لحين الاستعمال .

تحضير المستخلص النباتي : تم تحضير المستخلص حسب الطريقة التي أوردتها (Hernandez et.al(1994) بأخذ 1000 غم من مسحوق النبات المحضر في الفقرة أعلاه ووضع في دورق يحتوي على 1000 مل من الماء المقطر المعقم وتم الخلط باستعمال الخلاط الكهربائي وترك المحلول لمدة 24 ساعة بدرجة حرارة الغرفة ثم رشح الخليط باستعمال شاش طبي معقم وفي المرحلة الأخيرة تم نبذ المحلول اعلاه باستعمال جهاز الطرد

المركزي وبسرعة 3000 دورة / دقيقة لمدة 10 دقائق وحفظ المحلول الرائق الذي كان تركيزه 100% كمحلول أساسي تحضر منه بقية التراكيز وهي: 10% ، 15% ، 20% .

اختبار تأثير المستخلص على نمو الفطر في الوسط الصلب :

لغرض تحديد فاعلية المستخلص على النمو الشعاعي للفطر *Coccidioides immitis* تم استخدام تقنية الغذاء المسموم (poisoned food technique) وحسب ما جاء بطريقة (Misra&Dixit(1976 حيث تم اختبار أربعة تراكيز هي (0.0,10,15,20)% وقد أضيفت تراكيز المستخلص إلى الوسط الغذائي SDA وبعد تصلبه نقل قرص قطره 5ملم من مزرعة الفطر الممرض وبعمر سبعة أيام باستخدام ثاقب فليني معقم حيث وضع القرص في منتصف الطبق وواقع ثلاث مكررات لكل تركيز وحضنت الأطباق بدرجة 25م وتم قياس معدل نمو الفطر للتراكيز المختلفة بعد وصول النمو إلى حافة الطبق في معاملة المقارنة (أي بعد سبعة أيام).

اختبار تأثير المستخلص على نمو الفطر في الوسط السائل :

لاختبار تأثير المستخلص على الوزن الجاف للغزل الفطري في الوسط السائل استخدمت دوارق مخروطية سعة 250 ملم وضع فيها 50 مل من الوسط السائل وأضيفت إليها التراكيز المختلفة من المستخلص وحسب ما ورد في الفقرة السابقة ثم لقت الدوارق بقرص قطره 5 ملم من مزرعة الفطر المستخدم في البحث وبعمر سبعة أيام وتم حساب الوزن الجاف للغزل الفطري للفطر وللتركيز المختلفة وذلك بعد سبعة أيام من الحضانة تحت درجة حرارة 25 م بعد ترشيع النمو الفطري للفطر على ورق ترشيع معقم وتجفيفه في فرن درجة حرارته 60 م ولمدة 24 ساعة وواقع ثلاث مكررات لكل تركيز .

اختبار تأثير المستخلص على تكوين السفيرويل Spherule خارج الجسم:

استخدم في هذا الاختبار شرائح زجاجية حسب ما أورده (Beneke&Roqers(1980) وضع فيها قطرة من المستخلص ولكل التراكيز مزجت مع قطرة من عالق الالبواغ للفطر الممرض ثم وضع غطاء الشريحة على الشرائح المستخدمة وتم إحكامه باستخدام (petrolatum) وتركت الشرائح لمدة ثمانية ساعات بعدها تم تسجيل عدد السبورات المفصلية التي تحولت إلى التركيب الكروي spherules الذي يعتبر الطور الطفيلي للفطر، أما معاملة المقارنة فقد تم مزج قطرة من الماء المقطر المعقم مع قطرة من عالق الالبواغ.

التحليل الإحصائي :

تم حساب الفروقات المعنوية بين معدلات المعادلات باستخدام اختبار دنكن وعلى مستوى 0.05 وفق ما ورده داود وزكي (1990) .

النتائج والمناقشة :

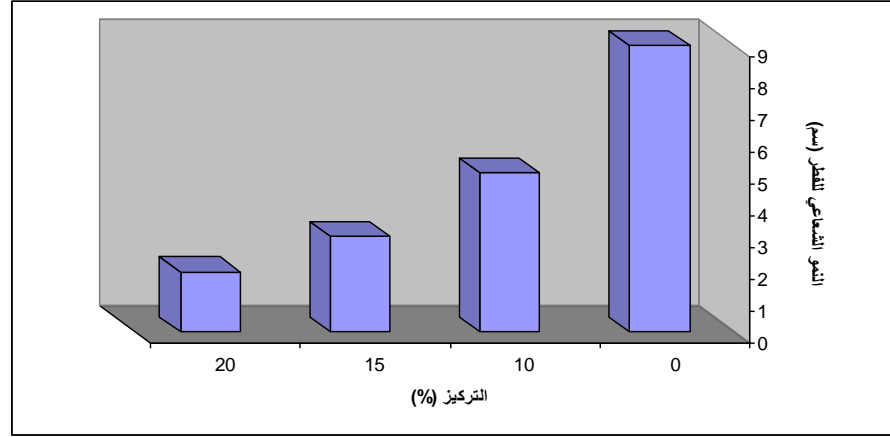
أظهرت النتائج قدرة المستخلص المائي لأوراق نبات اليوكالبتوس المضاف الى الوسط الغذائي الصلب SDA كفاءة جيدة في تثبيط النمو الشعاعي للفطر *C.immitis* ولجميع التراكيز المختبرة وكان أعلى تثبيط عند التركيز 20% إذ بلغ معدل قطر مستعمرة الفطر (2.1)سم في حين بلغ قطر المستعمرة (3.3 و 5.1) سم عند التركيزين 15 % و 10% على التوالي مقارنة بمعاملة المقارنة وبالغلة 9سم شكل (1) وهذه النتائج مماثلة لما وجدته الكنانى(2001) من قدرة بعض المستخلصات النباتية الخام في تثبيط نمو الفطريات الرئوية الانتهازية . كما ذكر (Taylor et.al.2000) من ان بعض النباتات الطبية ومنها اليوكالبتوس تحتوي على زيوت تنتج بشكل ايضات ثانوية من قبل النبات يطلق عليها بالزيوت الطيارة وتمتاز هذه بفعاليتها ضد الفطريات المرضية والبكتريا والفيروسات

كذلك اثرت التراكيز المختلفة من المستخلص على الوزن الجاف للغزل الفطري ولجميع التراكيز إذ بلغ معدل الوزن الجاف (0.08 و 0.1) غم عند التركيزين 20% و 10% على التوالي في الوقت الذي بلغ في معاملة المقارنة 0.2غم شكل(2) وهذه النتيجة تتفق مع ما وجدته Feisst et.al.(2005) في ان زيت الأوس وزيت اليوكالبتوس تمتلك فعالية مضادة للالتهابات Anti-inflammatory والحساسية allergy ،كما تتفق مع توصل إليه حبيب واخرون (2008) في ان للمستخلصات أوراق اليوكالبتوس والزعر تأثير تثبيطي على نمو البكتريا *Staphylococcus aureus* المسببة لالتهاب ذات الرئة pneumonia .

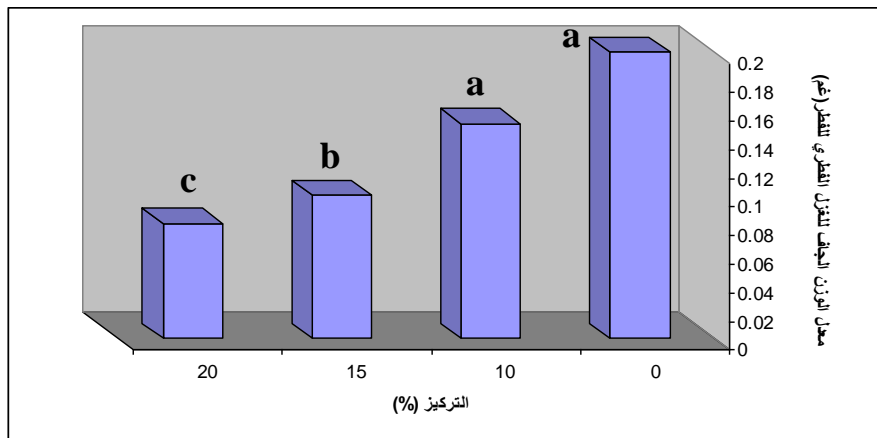
اضافة الى ذلك فان التراكيز المختلفة من المستخلص قد اثرت تأثيرا معنويا في عملية تحول السبورات المفصلية للفطر إلى التراكيب الكروية spherules والتي تعتبر الطور الطفيلي للفطر الذي يكون داخل جسم العائل ،حيث يلاحظ من الشكل(3) ان عدد السبورات التي تحولت إلى الطور الطفيلي للتراكيز المختلفة قد انخفض معنويا بزيادة تركيز المستخلص وبالقياس مع معاملة المقارنة وعند مستوى معني (0.05) حيث بلغت النسبة المئوية للسبورات المتحولة (20% و 33%) عند التركيزين 20% و 10% على التوالي في حين كانت نسبة التحول بمعاملة المقارنة 60% وهذا يتفق مع ما توصل إليه عبد (2008) في ان المستخلص المائي

لأوراق نبات اليوكالبتوس ذو تأثير معنوي في منع فقس البيض النيماتودا كما انه ذو تأثير معنوي في قتل اليرقات خصوصا عند التركيز 20%.

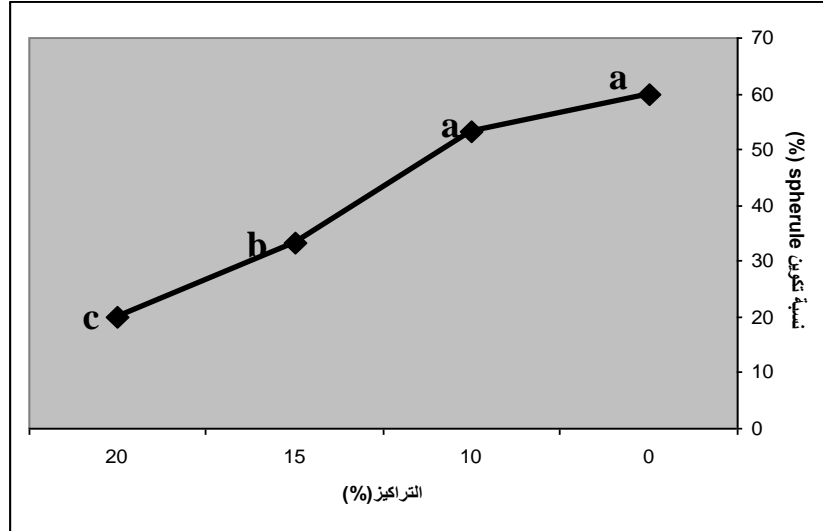
من كل ما تقدم يتضح ان للمستخلص المائي لأوراق نبات اليوكالبتوس تأثير تثبيطي واضح لنمو الفطر *C. immitis* على الأوساط الصلبة والسائلة وهذا يجب ان يدعم بتجارب على الحيوانات المختبرية لدراسة هذا التأثير داخل جسم الكائن الحي وكذلك إجراء عمليات عزل وتنقية المواد الفعالة طبيا الموجودة في النبات واستخدامها كبديل عن العلاج الكيماوي



شكل (1) تأثير التراكيز المختلفة من المستخلص على النمو الشعاعي للفطر *Coccidioides immitis*.



شكل (2) تأثير التراكيز المختلفة من المستخلص على الوزن الجاف للفطر *Coccidioides immitis*.



شكل (3) تأثير التراكيز المختلفة من المستخلص على نسبة تكوين spherule للفطر خارج الجسم الحي. * الاحرف المتشابهة لا تختلف معنويًا فيما بينها
المصادر:

الكناني، فاضل جبار فرحان. (2001) حساسية الفطريات الجلدية والانتهازية لبعض المستخلصات النباتية الخام رسالة ماجستير-كلية التربية-جامعة البصرة.

حبيب، سهير عبد الكريم، مرزوقة، ثامر حضير والصراف، عباس جواد (2008) دراسة الفعالية التضادية لمستخلص الماء البارد والمغلي لأوراق نباتي اليوكالبتوس والزعتر في جرثومة *Staphylococcus aureus* خارج الجسم الحي. مجلة القادسية للعلوم الصرفة. 13(2) 74-80.
داود، خالد محمد وزكي، عبد اليباس (1990) الطرق الاحصائية للتجارب الزراعية. جامعة الموصل. العراق . الطبعة الاولى .

عبد، احمد فاضل (2008) تأثير المستخلص المائي لأوراق، ثمار، قلف نبات اليوكالبتوس *Eucalyptus sp.* لمقاومة نيماتودا تعقد الجذور *Meloidogyne javanica* في الطماطة

Beneke, D.S. & Rogers, A.L. (1980) Medical Mycology Manual with Human Mycoses Monograph. 4th ed. Burges Pub. Comp

De-Hoog, G.S.; Guarro, J. & Figueras, M. 2000. Atlas of clinical fungi, 2nd ed. Vol.1. Centraalbureau voor Schimmelcultuur, Utrecht, The Netherlands

Feisst, C.; Franke, L. & Werz, O. (2005) Identification of molecular targets of the oligomeric nonprenylated acylphloroglucinols from *Myrtus communis* & implication as anti-inflammatory compound. J. Pharmacol. Exp. Ther. 315(1): 389-96.

Johnson, M.; MacDougall, C. & Ostrosky-Zeichner, L. (2004) Combination antifungal therapy. Antimicrobial Agent & chemotherapy, 48:693-715.

Johnson, M. & Wright, D. (1993). Introduction to Microbiology for the health science. 3rd ed. Prentice hall, Engle Wood cliffs, Nj. 7632

Hernandez, M.; Lopez, R. & Arias, A. (1994) Antimicrobial activity of visnea mocanera leaf extracts. J. Ethnopharmacology, 41:115-119

Larone,D.H.(1995) Medically Important Fungi-Aguide to Identification.3thed.
ASM Press,Washington,D.C.

Misra,S.B.&Dixit,S.N.(1976)Fungicidal spetrum of the leaf extract of *Allium sativum* .India Phytopathology,29:448-449.

Mondello,F.;DeBerandis,F.&Girolamo,A.(2003).Invitro and Invivo activity of tea tree oil against azole-susceptible-resistant human pathogenic yeasts. Antimicrobial agent & chemotherapy. 51:1223-9.

Panda,B.N.(2004).Fungal infection of lung :The emerging scenario.India J.Tuberc.51:63-69.

Tortora,G.;Funke,B.&Case,C. (2000).Microbiology an Introduction .
7thed.,Benjamin Cumming,Sanfrancisco Boston Newyork.

**Effect of leaves Eucalyptus Aqueous extract on growth of
Coccidioides immitis Rixford & Gilchrist that causing pulmonary
infections**

Neeran O.J.Al-ameeri

Biology Dep .-college of Science - Al-Qadisiyia University

Abstract

This research was conducted to study the effect of water extract of leaves Eucalyptus on growth of *Coccidioides immitis* that causing of pulmonary infections. Results showed that water extract of leaves had an inhibitory effect on the radial growth and rate of dry weight of mycelium of the fungus ,and this extract reduced the rate of converted arthrospores to spherule