

دراسة القدرة التثبيطية لفطر *Calvatia craniformis* ضد عدد من الفطريات الممرضة. *Aspergillus sp.*، *Candida sp.*، *Trichophyton sp.*

ديار صكبان علوان *

DiyaralMahdawy@yahoo.com

*قسم علوم الحياة - كلية التربية المقداد - جامعة ديالى .

الخلاصة

نفذت هذه التجربة لدراسة امكانية تأثير تراكيز مختلفة محضرة من مسحوق الفطر (*Calvatia craniformis*) الجاف (0.25%، 0.5%، 1.5%، 2%) في تثبيط نمو الفطريات الممرضة *Candida* ، *Trichophyton sp.* ، *Aspergillus sp.* ، *sp.* وقد اثبتت نتائج الدراسة امكانية تثبيط الفطر *Calvatia craniformis* لنمو الفطريات الممرضة المذكورة انفاً، اذ انخفض معدل النمو القشري للفطريات الممرضة عن معاملة المقارنة وقد اعطى التركيز 1.5 % المحضر من مسحوق الفطر الجاف *Calvatia craniformis* افضل نتيجة في مقاومة الفطريات الممرضة، اذ بلغ معدل النمو القشري للفطريات الممرضة *Candida sp.*، *Trichophyton sp.* و *Aspergillus sp.* المنماة على الوسط الزراعي الحاوي على التركيز 1.5 % (1 ، 0.8 ، 0.3) سم ونسبة تثبيط (84 % ، 84 % ، 54 %) على التعاقب قياساً بالمقارنة التي بلغ معدل النمو القشري للفطريات الممرضة فيها (5.7، 5، 6.3) سم ونسبة تثبيط (0 %) على التعاقب .

الكلمات المفتاحية : الفطر *Calvatia craniformis* ، *Aspergillus sp.* ، *Candida sp.* ، *Trichophyton sp.*

المقدمة

اكتشف العلماء في القرنين السابع عشر والثامن عشر العديد من الامراض النباتية والحيوانية والبشرية متسببة عن الفطريات (شريف، 2012) ، وفي الوقت الحاضر ذكر سرحان (2012) ان هناك حوالي 80-100 نوعا من الاعفان والفطريات الخيطية والخمائر التي لها القدرة على ان تسبب امراضا مختلفة للانسان مثل الاصابات الجلدية الفطرية cutaneous mycoses المتسبب عن الفطريات الجلدية الخيطية Dermatophytes مثل فطر *Trichophyton* والاصابات الفطرية الجهازية Systemic mycoses المتسببة عن الفطريات الانتهازية Opportunistic fungi مثل *Aspergillus* المسبب لداء الرشاشيات الفطري Aspergilliosis وداء المبيضات Candidiasis المتسبب عن فطر *Candida* ، كما ذكر ان تطور حالات الاصابة يكون متعلقا بعوامل عديدة منها الحالة المناعية للمضيف ، العوامل البيئية المحيطة بالمضيف ، نوع الفطر المسبب للاصابة فضلا عن الاستخدام الواسع وغير الدقيق للمضادات الحيوية البكتيرية واسعة الطيف مما يؤدي الى قتل البكتريا غير الممرضة التي تكون منافسة للفطريات الممرضة ، وكذلك استخدام العقاقير الكابحة لجهاز المناعة (شريف ، 2012) .

نتيجة لزيادة اعداد الاشخاص المعالجين بادوية مخفضة للمناعة او المصابين بامراض نقص المناعة المكتسبة مثل الايدز (AIDS) ، السكري (Diabetes Mellitus) والتدرن الرئوي (Tuberculosis) (Kavanagh، 2007 ; Granger، 1992). اصبح من الضروري البحث في تكرار حدوث الاصابات الفطرية ولاسيما ان هذه الاصابات على الرغم من ندرتها الا انها في الغالب تكون مزمنة وتختلف في خطورتها بين المزعجة الى تلك المسببة للوفاة (Baker، 1971). وقد يكون السبب هو التماثل في التركيب الخلوي لخلايا الانسان والفطر ومن ثم فان العقار الطبي لايميز بين خلايا الفطر والانسان مما يؤدي لقتل الاثنتين معا (الخرجي، 2012).

توافرت في الوقت الحاضر العديد من المستحضرات العلاجية المستعملة لعلاج امراض الفطريات ، الا ان اغلب المواد الفعالة الداخلة في هذه المستحضرات تكون سامة عند استعمالها بتركيز عالية ، لذا اقتصر استعمالها على شكل مراهم جلدية سطحية (Kwon-chung و Bennett، 1992) . ولكونها تمتلك اعراض سمية عالية للكبد والبنكرياس ،اصبحت هناك حاجة ماسة لاستخدام مضادات ذات مصادر طبيعية (Maza وآخرون، 2002؛ Devkatt وآخرون، 2005) ، مثل التوجه نحو النباتات الطبية لاستغلال المركبات الفعالة فيها لمقاومة انواع الفطريات الممرضة او التوجه لاستخدام فطريات اخرى تعد مصادر مقاومة حيوية ضد الفطريات الممرضة ،اذ ذكر احمد (2001) ان استخدام مخلوط من مسحوق ثمار فطريات الكرات النافثة العملاقة Gaint puff balls مع الثوم استعمل كعلاج شعبي فعال لوقف النزيف الدموي ،ومنع تلوث الجروح بجراثيم التقيح .وكذلك استعمال ابواغ هذا الفطر لنفس الغرض في اوربا خلال القرن الثاني الميلادي ،وفي الوقت الحاضر أثبت فرحان واخرون (2012) قدرة مسحوق فطر *Calvatia craniformis* على تثبيط نمو بكتريا *Staphylococcus auerus* و *Escherichia coli* ، كما ذكر الخرجي (2012) ان العقار الطبي Calvacin المستحصل عليه من الفطر *Calvatia* له فعالية ضد السرطان Cancer . لذا هدفت هذه الدراسة الى :

- دراسة امكانية تاثير تراكيز مختلفة من الفطر *Calvatia craniformis* في تثبيط نمو الفطريات ممرضة *Candida sp.* ، *Trichophyton sp.* ، *Aspergillus sp.*

المواد وطرائق البحث

مصادر العزلات الفطرية المستخدمة في البحث

تم الحصول على عزلة الفطر *Calvatia craniformis* من مختبر الحيوان /قسم علوم الحياة /كلية التربية للعلوم الصرفة/جامعة ديالى، مشخصا وفقا لتشخيص الاستاذ الدكتور كامل سلمان جبر في مختبر ابحاث الفطريات وامراض النبات /كلية الزراعة /جامعة بغداد ،اعتمادا على الصفات المظهرية والتشريحية حسب المفاتيح التصنيفية المعتمدة (Christensen، 1959؛ Ellis و Ellis، 1990؛ Alexopoulos و آخرون، 1996) .

اما عزلات الفطريات الممرضة *Trichophyton sp.* ، *Candida sp.* ، *Aspergillus sp.* فقد تم الحصول عليها جاهزة ومشخصة من مختبر الفطريات /قسم علوم الحياة /كلية التربية للعلوم الصرفة .

تحضير مستخلص الفطر *Calvatia craniformis*

سحق الجسم الثمري (Fruit body) للفطر بعد تجفيفه بواسطة ماكينة كهربائية ، ثم وزن 100 غم من مسحوق الفطر واضيف الى 100 مل من الكحول الايثيلي (95%) وترك في حاضنة هزازة لمدة 48 ساعة ، رشح المستخلص بواسطة ورق ترشيح (0.5 w.man) وترك في اطباق بتري نظيفة ومعقمة الى ان جف وبذلك تم الحصول على المسحوق الجاف للمستخلص لغرض استعماله في البحث .

تحضير تراكيز مختلفة من مسحوق الفطر *Calvatia craniformis*

تم تحضير تراكيز مختلفة متدرجة من (0 ، 0.25 ، 0.5 ، 1 ، 1.5 ، 2 %) من مسحوق الفطر *Calvatia craniformis* وذلك بوزن (0.25 ، 0.5 ، 1 ، 1.5 ، 2) غم من المسحوق الجاف للفطر واضافتها الى 100 مل من الوسط الزرعي (PDA) Potato dextrose agar ثم صبت في اطباق بتري معقمة قطر (9) سم وتركنت تجف .

اختبار قدرة الفطر *Calvatia craniformis* في تثبيط نمو الفطريات الممرضة *Trichophyton sp.* ، *Candida sp.* و *Aspergillus sp.*

لقت خمسة اطباق من كل تركيز بقرص قطره (1) سم من مستعمرة الفطر الممرض (*Trichophyton sp.* ، *Candida sp.* ، *Aspergillus sp.*) وحضنت الاطباق (30 طبق) بدرجة حرارة (30) م° لمدة اسبوع ، تم خلالها قياس معدل النمو القطري للمستعمرة ودونت النتائج (سرحان ، 2012) .

التحليل الاحصائي

حللت النتائج احصائيا وفق نظام تحليل التباين باستخدام اقل فرق معنوي L.S.D عند مستوى احتمال (0.05) وبتجربة عاملية 5*3*6 (الراوي ، 1984) .

النتائج والمناقشة

يتضح من النتائج المشار لها في الجدولان (1) و (2) ان الفطر *Calvatia craniformis* تثبط نمو الفطريات الممرضة *Trichophyton sp.* ، *Candida sp.* ، *Aspergillus sp.* على التعاقب، اذ انخفض معدل النمو القطري للفطريات الممرضة المذكورة انفا لجميع التراكيز معنويا عن معاملة المقارنة (معاملة الفطريات الممرضة بدون اضافة الفطر *Calvatia craniformis*) ، اذ انخفض معدل النمو القطري للفطريات الممرضة وزادت النسبة المئوية للتثبيط بزيادة تراكيز الفطر *C.craniformis* ، وأعطى التركيز 2% أقل معدل للنمو القطري للفطريات الممرضة *Trichophyton sp.* ، *Candida sp.* ، *Aspergillus sp.* اذ بلغ (0.7 ، 0.5 ، 0.3) سم واعلى نسبة تثبيط (88% ، 90% ، 54%) على التعاقب ، وهذا لا يختلف معنويا عن التركيز 1.5% الذي سجل معدل

نمو بلغ (1، 0.8، 0.3) سم ونسبة تثبيط (84%، 84%، 54%) سم على التعاقب . وقد يكون السبب في ذلك الأهمية البايولوجية لهذا الفطر والذي يعزى إلى تركيبه الكيميائي ، إذ ثبت من خلال التحليل الكيميائي لهذا الفطر أنه يتكون من ثلاث مركبات هي حامض الكلفاتك (Hydroxy) Craniformin ، Calvatic acid (phenlazoformamide) ومركبات ستيرويدية Steroids . فضلا عن العديد من الحوامض الأمينية الأساسية وفيتامينات مثل A ، D ، K ، C ومجموعة B المركبة وحمض دهنية حرة وكوليسترول (Ghosh ، 2004) .

ذكر Okudo وFujiwara (1982) أن حامض Clvatic acide أظهر مقاومة قوية للأحياء المجهرية على الرغم من أنه ذكر أن مقاومة الحامض للبكتريا السالبة لصبغة كرام والفطريات كانت أضعف من مقاومته للبكتريا الموجبة لصبغة كرام . فضلا عن تأثير مركب Craniformin المتكون من الفينولات والأزولات التي تعمل على كبح بناء Ergosterol الناتج من تحول Lanosterol ، ويعد مركب Ergosterol الجزء الأساس في بناء الغشاء الخلوي ، مما يسبب ضعف في بناء الغشاء وهذا يسبب ارتشاح المواد خارج الخلايا ومن ثم إيقاف تكاثر الفطر من خلال إعاقة عمل إنزيم 14-alpha-demethylase المزيل لمجموعة المثل من Lanosterol وتحويله إلى Ergosterol (Odds، 1993؛ Lewis ، 2006) .

هذه النتيجة تتفق مع ما ذكره Takaishi وآخرون (1997) الذين أشاروا إلى وجود مركب Craniformin (Hydroxy phenlazoformamide) وبينوا أن لهذا المركب نشاط قوي ضد بعض أنواع البكتريا والفطريات ، كما أكد Fugmann وآخرون (2001) وBouaziz وآخرون (2008) أن مركب Craniformin يعمل كمضاد بكتيري وفطري لبعض الفطريات مثل *Candida albicans* و *Aspergillus niger* بسبب احتواء المركب على الفينولات والأزولات ، وقد يعود سبب تثبيط الفطر *Calvatia craniformis* للفطريات الممرضة احتوائه العديد من المركبات الكيميائية فضلا عن مركب Craniformin ، إذ أثبت فرحان وآخرون (2012) من خلال التحليل الكيميائي لمكونات الرأس الثمري للفطر وجود بعض المركبات الكيميائية مثل Statin ، Ergothioneine ، B-glucan ، Lectin ، Chitin ، Gallic acid ، ولبعض هذه المركبات أهمية فسلجية وتنظيمية ومناعية ، إذ ذكر Nuansri وGeremy (2007) أن حامض الكاليك Gallic acid الذي يعد أحد أنواع الفينولات والتانينات يمتلك خواص ضد الفطريات والفايروسات وهذا يتفق مع Chung وآخرون (1998) اللذين ذكروا القدرة التثبيطية للمواد التانينية المثبطة لنمو الأحياء المجهرية .

كما يتضح من الجدولان (1) و (2) أن التركيز % 1.5 لا يختلف معنويا عن التركيز 2 % وبذلك يكون قد حقق أفضل نتيجة في مقاومة الفطريات الممرضة ، إذ بلغ معدل النمو الفطري للفطريات الممرضة *Trichophyton sp.* ، *Candida sp.* ، *Aspergillus sp.* المنماة على الوسط الحاوي على تركيز 1.5 % من الفطر *Calvatia craniformis* (1، 0.8، 0.3) سم وبنسبة تثبيط (84%، 84%، 54%) على التعاقب قياسا بالمقارنة التي بلغ معدل النمو الفطري للفطريات الممرضة فيها (6.3، 5، 5.7) سم ونسبة تثبيط 0% على التعاقب .

الجدول (1) معدل النمو الفطري للفطريات الممرضة

Diameter Colony (cm)			Concentration%
<i>Aspergillus</i>	<i>Candida</i>	<i>Trichophyton</i>	
0.3	0.5	0.7	2
0.3	0.8	1	1.5
0.7	1.5	1.5	1
1.3	2	2.3	0.5
2.1	2.5	2.7	0.25
5.7	5	6.3	0
0.4	0.4	0.5	LSD> 0.05

الجدول (2) النسبة المئوية للتثبيط

% Inhibition			Concentration %
<i>Aspergillus</i>	<i>Candida</i>	<i>Trichophyton</i>	
54	90	88	2
54	84	84	1.5
50	70	76	1
44	60	63	0.5
36	50	57	0.25
0	0	0	0

الاستنتاجات

1. تثبيط مسحوق الفطر (*C.craniformis*) الجاف عدد من الفطريات الممرضة *Trichophyton sp.* ، *Candida sp.* و *Aspergillus sp.* .
2. حقق التركيز 2% افضل نتيجة في مقاومة الفطريات الممرضة .

المصادر

- احمد، علي محمد، 2001، قاموس المصطلحات الفطرية، الطبعة الأولى- المكتبة الاكاديمية- القاهرة.
- الخرجي، طالب عويد. 2012. الفطريات. المطبعة المركزية- جامعة ديالى. العراق.
- الراوي ، خاشع ساطع . 1984. الاحصاء الحياتي . جامعة الموصل . مطبعة وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
- سرحان ، عبد الرضا طه . 2012. علم الفطريات العملي . الطبعة الاولى - كلية مدينة العلم الجامعة. بغداد.
- شريف ، فياض محمد . 2012 . الفطريات الطبية . مكتبة الذاكرة للنشر والتوزيع . الطبعة.

• فرحان، عباس عبود ; غسان حمدان جميل وفاق رشيد سلمان . 2012 .مقارنة تأثير مستخلص الفطر *Calvatia craniformis* مع بعض المضادات الحياتية شائعة الاستعمال في علاج البكتريا المسببة لالتهاب بطانة الرحم في نساء مدينة بعقوبة وضواحيها .مجلة ديالى للعلوم الزراعية . 4 (2) .

- Alexopoulos, C.J ; Mim,C.W; Blackwell,M.1996.Introductory Mycology (4th ed.) . New York : John Willey and Sons.
- Baker , R.D.1971.fungal , actinomycetic and algal infections .In Pathology , vol. I , 6 ed. Ed. Anderson , W. A. D., The C.V. Mosby Company.
- Bouaziz , M.; Lassoued , S.; Bouallaug i, Z.; Smaoui, S.; Gargoubi, A.; Dhouib, A. and Sayadi, S. 2008 . Synthesis recovery of high bioactive phenolics From table – olive brine process wastewater. Bioorg.Med. chem.; 1, (20) :9238-46.
- Christensen , C.M. 1959. Common Fleshy Fungi , Second Printing. U.S.A .
- Chung, K.T.; Wong, T.Y. and Huang, Y.W. 1998. Tannins and Human health. Crit.Rev. Food. Sci. Nut. 38(6) : 421-464.
- Devkatte, N.; Zore, G.B.; Karuppaul, S.M.2005. potential of plant oil inhibition of *Candida albicans* growth, FEMS.
- Ellis, M.B. and J.P. Ellis. 1990. Fungi without Gills (hymenomycetes and Gasteromycetes) Chapman and Hall , London.
- Fugmann, B.;Arnold, S.;steglich, W.; fleischhauer, G.; Repges, C.; koslowski, A. & Raabe, G.2001. Pigments Form the Puffball *Calvatia rubro-flava*-Isolation, structural Lllucidation asynthesis Euro. J. of organc chemistru. Vol. 2001, issue 16, P:3097-3104.
- Geremy, D.K. and Nuansri, R.2007. Antimicrobial Gallic acid from caesalpinia mimosoides lamk. Food chemistry. Vol. 100, issue 3, pp: 1044-1048.
- Ghosh, D.2004.Algae and fungi as Food. Resonanse, Vol. 9, No. 4.
- Granger, S. E. 1992. The aetiology and Pathology of Vaginal candidosis. British. J. Clin. Practicle, 46 (4).
- Kavanagh , K. ed. 2007 Medical mycology. Cellular and molecular techniques. John Wiley & Sons , LTD . England.
- Kwon-chung, K. J and J. E. Bennett. 1992. Medical Mucology. Lea & febiger, bhiladelphia, London.
- Lewis, R.E.2006. Medical Mucolohy. Managing drug interactions in the patient with Aspergillois. Vul.4, no. 1; pp: 349-356.
- Maza, J. L; Elguezabal, N.; Prado, c.; Ellacuria, J.; soler, I.; ponton, J. 2002. *Candida albicanc* adherence to resin-composite restorative dental material : Influence of whole humansaleva. Oral sing oral Med oral Pathol Lycuperdeceae 2. Distribution among the Gactromycetes. Trans. Mycol . Oral Radiol Endod: 589-92
- Odds, F. C.1993. Resistanse to azol derivatv antifungal. J. Antimicrob. chemother .31:463-471.(Abstract).
- Okuda,T.and fujiwara ,A.1982.Calvatic acid and product by the Lycoperdeceae 2 .Distribution among the Gasteromycetes .Trans .mycol.soc.Jpn-23.235-239.
- Takaishi, Y.; Murakami, Y.; Uda, M.; Ohashi, T.; Hamamura, N.; Kidota, M. and Kadota, S. 1997. Hydroxyphenylazoformamide derivatives from *Calvatia craniformis*. Phytochemistry Vol. 45 : 997-1001.

STUDY THE DIMINISH ABILITY OF THE *Calvatia craniformis* FUNGUS AGAINST CERTAIN KINDS OF PATHOGENIC FUNGI *Candida sp.*, *Trichophyton sp.* & *Aspergillus sp.* .

Diyar Sqban Alwan *

Diyaralmahdawy@yahoo.com

*Dept.Of Biology –College Of Al-Muqdad Education –Diyala University .

ABSTRACT

This experiment has carried out to study the possibility of influence of different concentrations prepared from dry fungus powder of *Calvatia craniformis* to reduce the growth of some pathogenicis fungi *Candida sp.*, *Trichophyton sp.* & *Aspergillus sp.* As the growth rate of pathogenic fungi decreased for treatment comparison .The concentration of 1.5% prepared from dry fungus powder *Calvatia cranifurmis* has gave the best result in resistance to pathogenic fungi. The diameter growth rate on pathogenic fungi *Candida sp.*, *Trichophyton sp.* & *Aspergillus sp.*growing on the media center containing the 1.5% rate was(1, 0.8 ,0.3) cm with reduce ration (84% , 84% , 54%) respectively compared to that of the diameter growth rate of pathogenic fungus (5 , 6.3 , 5.7)cm with reduce ration |(0%) respectively .

Key word : Fungus *Calvatia craniformis* , *Aspergillus sp.* , *Candida sp.* , *Trichophyton sp.*