

دراسة القدرة التثبيطية لفطر *Calvatia craniformis* ضد عدد من الفطريات
الممرضة: *Aspergillus sp.*, *Candida sp.*, *Trichophyton sp.*
ديار صكبان علوان

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

ديار صكبان علوان *

*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 *Trichophyton sp.*, *Candida sp.*, *Aspergillus sp.* وقد اثبتت نتائج الدراسة امكانية تثبيط الفطر *Calvatia craniformis* لنمو الفطريات الممرضة المذكورة انفاً، اذ انخفض معدل النمو القطري 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 القطري للفطريات الممرضة *Trichophyton sp.*, *Candida 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 القطري للفطريات الممرضة فيها (6.3 ، 5 ، 5.7) سم ونسبة تثبيط (0 %) على التعاقب .

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

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

Diyar Sqban Alwan *

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

Received 20 January 2013 ; Accepted 17 March 2013

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 pathogenesis 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.*

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

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 البكتيريا 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 لا يميز بين خلايا الفطر والانسان مما يؤدي لقتل الاثنين 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 وآخرون (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 تأثير تراكيز مختلفة من الفطر *Calvatia craniformis* في تثبيط نمو الفطريات الممرضة *Aspergillus sp.*، *Trichophyton sp.*، *Candida 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 وآخرون، 1996).

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

اما عزلات الفطريات الممرضة *Aspergillus sp.*، *Candida sp.*، *Trichophyton 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 و اضيف الى 100 مل من الكحول الايثيلي (95%) و ترك في حاضنة هزازة لمدة 48 ساعة ، رشح المستخلص بواسطة ورق ترشيح (0.5 w.man) و ترك 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 و اضافتها الى 100 مل من الوسط الزرعي (Potato dextrose agar (PDA) ثم صببت في اطباق بتري معقمة قطر (9) سم و تركت تجف .

اختبار قدرة الفطر *Calvatia craniformis* في تثبيط نمو الفطريات الممرضة *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) و بتجربة عاملية 5*3*6 (الراوي ، 1984) .

النتائج والمناقشة

يتضح من النتائج المشار لها في الجدولان (1) و (2) ان الفطر *Calvatia craniformis* ثبط نمو الفطريات الممرضة *Aspergillus sp.*، *Candida sp.*، *Trichophyton sp.* على التعاقب، اذ انخفض معدل النمو القطري للفطريات الممرضة المذكورة انفا لجميع التراكيز معنوياً 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 *Aspergillus sp.*، *Candida sp.*، *Trichophyton sp.* اذ بلغ (0.7 ، 0.5 ، 0.3) سم و اعلى نسبة تثبيط (88% ، 90% ، 54%) على التعاقب ، وهذا لا يختلف معنوياً 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 الاهمية البايولوجية لهذا الفطر والذي يعزى الى تركيبه الكيميائي ، اذ ثبت من خلال التحليل الكيميائي لهذا الفطر انه يتكون من ثلاث مركبات هي حامض الكلفاتيك *Calvatic acid* ، *Craniformin* (Hydroxy phenlazoformamide) ومركبات ستيرويدية *Steroids* . فضلا عن العديد من الحوامض الامينية الاساسية وفيتامينات مثل A ، D ، K ، C ومجموعة B المركبة و احماض دهنية حرة وكوليسترول (Ghosh ، 2004) .

ذكر Okudo و Fujiwara (1982) ان حامض *Clvatic acid* اظهر مقاومة قوية للحياة المجهرية على الرغم من انه ذكر ان مقاومة الحامض للبكتريا السالبة لصبغة كرام والفطريات كانت اضعف من مقاومته للبكتريا الموجبة لصبغة كرام . فضلا عن تأثير مركب *Craniformin* المتكون من الفينولات والازولات التي تعمل على كبح بناء *Ergosterol* الناتج من تحول *Lanosterol* ، ويعد مركب *Ergosterol* الجزء الاساس في بناء الغشاء الخلوي ، مما يسبب ضعف في بناء الغشاء وهذا يسبب ارتشاح المواد خارج الخلايا ومن ثم ايقاف تكاثر الفطر من خلال اعاقه عمل

دراسة القدرة التثبيطية لفطر *Calvatia craniformis* ضد عدد من الفطريات
الممرضة: *Aspergillus sp.*, *Candida sp.*, *Trichophyton sp.*
ديار صكبان علوان

انزيم 14-alpha-demethylase المزيل لمجموعة المثيل من Lanosterol وتحويله الى Ergosterol (Odds, 1993 ; Lewis, 2006) .

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

كما يتضح من الجدولان (1) و (2) ان التركيز % 1.5 لا يختلف معنوياً عن التركيز 2 % وبذلك يكون قد حقق افضل نتيجة في مقاومة الفطريات الممرضة ، اذ بلغ معدل النمو القطري للفطريات الممرضة *Trichophyton sp.* ، *Candida sp.* ، *Aspergillus sp.* النمطة على الوسط الحاوي على تركيز 1.5 % من الفطر *Calvatia craniformis* (1، 0.8، 0.3) سم ونسبة تثبيط (84% ، 84 % ، 54 %) على التعاقب قياساً بالمقارنة التي بلغ معدل النمو القطري للفطريات الممرضة فيها (6.3 ، 5 ، 5.7) سم ونسبة تثبيط 0 % على التعاقب .

الجدول (1) معدل النمو القطري 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

دراسة القدرة التثبيطية لفطر *Calvatia craniformis* ضد عدد من الفطريات
الممرضة *Aspergillus sp.*, *Candida sp.*, *Trichophyton sp.*
ديار صكبان علوان

الاستنتاجات

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

المصادر

١. احمد، علي محمد . 2001 . قاموس المصطلحات الفطرية . الطبعة الأولى- المكتبة الاكاديمية- القاهرة .
٢. الخزرجي، طالب عويد . 2012 . الفطريات . المطبعة المركزية- جامعة ديالى . العراق .
٣. الراوي ، خاشع ساطع . 1984 . الاحصاء الحياتي . جامعة الموصل . مطبعة وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
٤. سرحان ، عيد الرضا طه . 2012 . علم الفطريات العملي . الطبعة الاولى – كلية مدينة العلم الجامعة . بغداد .
٥. شريف ، فياض محمد . 2012 . الفطريات الطبية . مكتبة الذاكرة للنشر والتوزيع . الطبعة .
٦. فرحان، عباس عبود ; غسان حمدان جميل وافاق رشيد سلمان . 2012 . مقارنة تأثير مستخلص الفطر *Calvatia craniformis* مع بعض المضادات الحيوية شائعة الاستعمال في علاج البكتريا المسببة لالتهاب بطانة الرحم في نساء مدينة بعقوبة وضواحيها . مجلة ديالى للعلوم الزراعية . 4 (2) .
1. Alexopoulos, C.J ; Mim, C.W; Blackwell, M. 1996. Introductory Mycology (4th ed.) . New York : John Willey and Sons.
2. 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.
3. 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.
4. Christensen , C.M. 1959. Common Fleshy Fungi , Second Printing. U.S.A .
5. Chung, K.T.; Wong, T.Y. and Huang, Y.W. 1998. Tannins and Human health. Crit. Rev. Food. Sci. Nut. 38(6) : 421-464.
6. Devkate, N.; Zore, G.B.; Karuppaul, S.M. 2005. potential of plant oil inhibition of *Candida albicans* growth, FEMS.
7. Ellis, M.B. and J.P. Ellis. 1990. Fungi without Gills (hymenomycetes and Gasteromycetes) Chapman and Hall , London.
8. Fugmann, B.; Arnold, S.; steglich, W.; fleischhauer, G.; Repges, C.; koslowski, A. & Raabe, G. 2001. Pigments Form the Puffball *Calvatia rubro-flava*-Isolation, structural Lluclidation asunthesis Euro. J. of organc chemistru. Vol. 2001, issue 16, P:3097-3104.
9. Geremy, D.K. and Nuansri, R. 2007. Antimicrobial Gallic acid from *caesalpinia mimosoides lamk.* Food chemistry. Vol. 100, issue 3, pp: 1044-1048.
10. Ghosh, D. 2004. Algae and fungi as Food. Resonanse, Vol. 9, No. 4.

دراسة القدرة التثبيطية لفطر *Calvatia craniformis* ضد عدد من الفطريات
الممرضة. *Aspergillus sp.*, *Candida sp.*, *Trichophyton sp.*
ديار صكبان علوان

11. Granger, S. E. 1992. The aetiology and Pathology of Vaginal candidosis. British. J. Clin. Practicle, 46 (4).
12. Kavanagh , K. ed. 2007 Medical mycology. Cellular and molecular techniques. John Wiley & Sons , LTD . England.
13. Kwon-chung, K. J and J. E. Bennett. 1992. Medical Mucology. Lea & febiger, bhladelphia, London.
14. Lewis, R.E.2006. Medical Mucolohy. Managing drug interactions in the patient with Aspergillosis. Vul.4, no. 1; pp: 349-356.
15. Maza, J. L; Elguezabal, N.; Prado, c.; Ellacuria, J.; soler, I.; ponton, J. 2002. *Candida albicans* 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
16. Odds, F. C.1993. Resistanse to azol derivatv antifungal. J. Antimicrob. chemother .31:463-471.(Abstract).
17. 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.
18. Takaishi, Y.; Murakami, Y.; Uda, M.; Ohashi, T.; Hamamura, N.; Kidota, M. and Kadota, S. 1997. Hydroxyphenylazoforamide derivatives from *Calvatia craniformis*. Phytochemistry Vol. 45 : 997-1001.