Study of the Inhibitory Activity of Basil Oil Against Aspergillus niger and Identification of Some of Its Active Compounds

Batoul ibrahim*
Dr. Goorge Deeb**
Dr. Balsam jrekous***

(Received 4 / 6 / 2025. Accepted 20 / 8 /2025)

□ ABSTRACT □

Study of the The effect of various concentrations of basil *Ocimum* sp. oil on the growth of *Aspergillus niger* was investigated. All tested concentrations demonstrated a noticeable inhibitory effect against this fungus. The inhibitory activity varied with concentration, and concentrations of (2, 6, 8, 10, 20, 30, 40, 60) µL/mL exhibited 100% inhibition of Aspergillus niger. An inhibition rate of 64.28% was recorded at a concentration of 1 µL/mL, while the inhibition dropped to 2.38% at 0.2 µL/mL when the colony diameter reached 8.2 cm on the seventh day of incubation.

Chemical analyses performed using Gas Chromatography–Mass Spectrometry (GC-MS) revealed the presence of 30 distinct compounds in basil oil. The most abundant constituents were: α-Bergamotene, β-Elemene, Caryophyllene, β-Linalool, α-Bulnesene, γ-Cadinene, Germacrene D, Cubenol, and γ-Eudesmol.

Keywords: Basil oil, inhibitory activity, Fungi *Aspergillus niger*.

Copyright :Latakia University journal(formerly Tishreen) -Syria, The authors retain the copyright under a CC BY-NC-SA 04

* **Master Student - - Faculty of Science - Lattakia University(formerly Tishreen) – Lattakia- Syria.** batoulibrahim016@gmail.com
** **Professor Faculty of Science, Lattakia University(formerly Tishreen) - Lattakia -Syria.** deebgeoog@gmail.com
*** **Associate Professor- Faculty of Science - Lattakia University(formerly Tishreen)- Lattakia - Syria.** balsamjrekoos.@gmail.com

دراسة الفعالية التثبيطية لزيت الحبق ضد فطر *Aspergillus niger* وتحديد بعض مركباته الفعالة .

بتول ابراهيم*

د. جورج ديب**

د.بلسم جريكوس ***

(تاريخ الإيداع 4 / 6 / 2025. قبل للنشر في 20 / 8 / 2025)

□ ملخّص □

دُرس تأثير تراكيز مختلفة من زيت الحبق *Ocimum* sp.، في نمو فطر *Aspergillus niger* وقد أظهرت جميع التراكيز المدروسة تأثيراً تثبيطياً واضحاً ضد هذا الفطر. اختلفت الفعالية التثبيطية باختلاف التراكيز، وقد أظهرت التراكيز (2,6,8,10,20,30,40,60) ميكروليتر / مل تثبيطاً بنسبة 100% ضد فطر *Aspergillus niger* ، وبلغت نسبة التثبيط 64.28 % عند التركيز 1 ميكروليتر/ مل ، وبلغت نسبة التثبيط عند التركيز 0.2 ميكروليتر/مل 2.38 %عند قطر مستعمرة 8.2 سم وذلك في اليوم السابع من الحضن. كشفت التحاليل الكيميائية على جهاز الكروماتوغرافيا GC-MS وجود 30 مركباً مختلفاً من زيت الحبق، وكانت المركبات التالية : α-Bergamotene \ β-Elemene \ β-Linalol \ Caryophyllene\ α-Bulnesene\ γ-Cadinene \ Germacrene D\Cubenol \ γ-Eudesmol هي الأكثر تركيزاً .

الكلمات المفتاحية: زيت الحبق ، فعالية تثبيطية ، *Aspergillus niger* .

حقوق النشر : مجلة جامعة اللاذقية(تشرين سابقاً)- سورية، يحتفظ المؤلفون بحقوق النشر بموجب الترخيص CC BY-NC-SA 04

* **طالبة ماجستير- كلية العلوم – جامعة اللاذقية(تشرين سابقاً) – اللاذقية -سوريا.** batoulibrahim016@gmail.com

** **أستاذ- كلية العلوم – جامعة اللاذقية(تشرين سابقاً) – اللاذقية- سوريا.** deebgeoog@gmail.com

*** **أستاذ مساعد- كلية العلوم – جامعة اللاذقية(تشرين سابقاً)- اللاذقية – سوريا** balsamjrekoos.@gmail.com.

مقدمة:

يعد *Aspergillus niger* فطرًا خيطيًا ينمو هوائيًا على المواد العضوية في الطبيعة، يوجد في التربة، والفضلات النباتية، والسماد العضوي، وعلى المواد النباتية المتحللة. وهو واحدًا من أكثر أنواع جنس *Aspergillus* انتشارًا عالميًا، حيث يتميز بنموه السريع كفطر زقي خيطي ،[17،18]. يتواجد كفطر رمي في الحبوب المخزنة والبذور، كما أنه قد يتسبب في إصابة بعض الفواكه والخضروات بالأمراض، ويُصنف ضمن الفطريات المنتجة للسموم الغذائية. يُعرف أيضًا باسم العفن الأسود ، ويرتبط بتلف ما بعد الحصاد في العديد من المواد العضوية، مما يجعله عاملًا رئيسيًا في تدهور جودة المنتجات الزراعية المخزنة، [19]. كما يُسبب *A. niger* مشكلات خطيرة في الجهاز التنفسي لدى البشر، مثل داء الرشاشيات، ومرتبط بالعديد من أمراض النباتات التي تؤدي إلى خسائر اقتصادية كبيرة. إضافةً إلى تأثيره المرضي على الحيوانات والنباتات، تم الإبلاغ عن قدرته على إنتاج سموم فطرية خطيرة، مثل الأوكراتوكسين A، الفومونيزين B2 ، والأفلاتوكسينات، والتي تتراكم في المحاصيل المخزنة، مما يجعله عاملًا رئيسيًا لا يمكن تجاهله في سلامة الأغذية، [1،4] . يسبب تعفن الفواكه والخضراوات، متسببًا في خسائر كبيرة على مستوى الاقتصاد والمنتجات الزراعية، [15]. كما يعيق عملية إنبات البذور، ويحدّ من نمو الشتلات واستطالة الجذور والبراعم، مما قد يؤدي إلى موت النبات، [9] ، يعد الاستخدام طويل الأمد للمبيدات الكيميائية والحشرية أحد العوامل المؤثرة سلبًا على البيئة، حيث إنها غير قابلة للتحلل، مما يؤدي إلى تراكمها وانتقالها عبر السلسلة الغذائية . وقد ثبت أن العديد من هذه المبيدات تحتوي على مواد مسرطنة، مما يجعلها أحد الأسباب الرئيسية لتلوث البيئة. بالإضافة إلى ذلك، فإن تأثيرها السلبي على التجمعات الميكروبية في التربة يؤدي إلى انخفاض خصوبتها، مما يؤثر على جودة الإنتاج الزراعي، [8] ، وهذا يدعو المهتمين بسلامة البيئة الى إيجاد وتطوير وسائل بديلة غير مكلفة تكون فعالة في تأثيرها القاتل للمرضات دون أن تترك تأثيرا ضار على البيئة والصحة ، ومن هذه البدائل استخدام النباتات أو مستخلصاتها كمبيدات من أصل طبيعي ، [11،28] ، أظهرت العديد من الدراسات أن المركبات الطيّارة في زيت الحبق لها نشاط مضاد للفطريات الممرضة، للنباتات عند اختبارها مخبرياً، [22]. كما أفاد العديد من الباحثين بإمكانية استخدام بعض هذه الزيوت في مكافحة الفطريات المسببة للأمراض النباتية الخطيرة، ومن بينها *Aspergillus* ، [20] ، من بين هذه الزيوت يُعد زيت النعناع فعالًا ضد العديد من الفطريات، يمكن أن يثبط نمو فطريات Aspergillus flavus و Penicillium chrysogenum ، [7]، ويُعرف زيت الحبق بخصائصه المبيدة للفطريات، مما يظهر فعالية في الحد من الإصابة الفطرية عند النباتات مثل عفن التاج في الفول السوداني. فإن استخدام الزيوت العطرية كمضادات للفطريات يمثل بديلاً محتملاً للمبيدات الكيميائية التقليدية، التي غالبًا ما تكون مرتبطة بمخاطر صحية وبيئية. إذ يُعتبر استخدام الزيوت الطبيعية حلاً أكثر أمانًا وفعالية لمكافحة البكتريا و الفطريات ، مما يعزز من أهمية البحث في هذا المجال ، [21] . من هنا سنتطرق في دراستنا إلى تقييم فعالية زيت الحبق التثبيطية ضد فطر A. niger ، بالإضافة إلى تحديد بعض المركبات الفعالة المسؤولة عن هذه التأثيرات إن فهم الآليات التي تؤثر بها مركبات زيت الحبق على A. niger قد يوفر رؤى جديدة حول استخدام الزيوت الأساسية في التطبيقات الطبية والزراعية ، مما يعزز من أهمية البحث في هذا المجال.

أهمية البحث وأهدافه :

تكمن أهمية البحث في استخدام زيت الحبق كمادة طبيعية مضادة للفطريات ويساهم في تعزيز سلامة الأغذية مما يقلل من الاعتماد على المواد الكيميائية، ويحافظ على جودة المنتجات الغذائية، كما يمكن أن يكون صديق للبيئة وبديل عن المبيدات الكيميائية في مكافحة الفطريات التي تؤثر في المحاصيل الزراعية، ومن هنا هدف هذا البحث إلى:

1.استخلاص المواد الفعالة من نبات الحبق باستخدام طريقة التقطير بالتبخير

2. تحليل التركيب الكيميائي لزيت الحبق والكشف عن مركباته الفعالة

3.دراسة تأثير تراكيز مختلفة من زيت الحبق على نمو فطر *A.niger*

4.تحديد الحد الأدنى للتراكيز المثبطة تجاه فطر *A.niger* .

طرائق البحث ومواده :

1-موقع جمع العينات :

تم جمع العينات بمعدل جولتين كل شهر ابتداءً من الشهر السادس وحتى الشهر الحادي عشر من عام 2024 ، من مشتل في منطقة رويسة الحجل بريف جبلة، التي تبعد 60 كم شمال غرب مدينة اللاذقية. تتمتع هذه المنطقة بمناخ متوسطي معتدل.

ل .

2-الحصول على الزيت النباتي لنبات الحبق :

1.بعد جمع العينات الطازجة كما في الشكل (2) تم تنظيفها بشكل جيد بالماء الجاري في مخبر البحث العملي لقسم علم الحياة النباتية في كلية العلوم لعدة مرات تم قطف وتقطيع الازهار والأوراق من نبات الحبق إلى قطع صغيرة ، واستخلاص الزيت النباتي بواسطة جهاز كلافنجر ، [12].

2.تم إضافة الماء المقطر في وعاء التقطير (دورق زجاجي) وضعت العينات على شبكة داخل الوعاء ثم تم تسخين الماء حتى يغلى ويتولد البخار .

3. ارتفع البخار عبر العينات حاملاً معه جزيئات الزيت ، مر البخار الحامل للزيت عبر أنابيب مكثفة.

4.ترك البخار حتى يبرد ويتحول الى سائل وترك الخليط حتى الترسيب حيث الزيت كان يطفو على سطح الماء استخدم فاصل الزيت وتم فصل الزيت العطري عن باقي المكونات، ثم خزن الزيت في عبوة داكنة وبعيدة عن الضوء للحفاظ على خصائصه .

الشكل(2) عينات نبات الحبق

3- **عزل الفطر:**

تم الحصول على عينة من الفطر المدروس *A. niger* من عينة تربة، خلطت 10 غرام من التربة في 90 مل من ماء معقم خض الخليط جيداً لمدة 10 – 15 دقيقة للحصول على معلق ميكروبي متجانس ، تم تخفيف تدريجي من المعلق الأصلي لتقليل عدد الفطريات وتمكين نمو مستعمرات مفردة، ثم زرع 0.1 مل من كل تخفيف على وسط Potato Dextrose Agar (PDA) وحضنت الأطباق بالدرجة 25 ْم لمدة سبعة أيام، ومن ثم تم عزل وتنقية الأنواع الفطرية النامية ، وحددت تبعاً لعدد من المعايير المورفولوجية والمجهرية المستخدمة في ، [23] .

حفظت عزلة الفطر المدروس على وسط P.D.A ضمن أنابيب اختبار زجاجية بدرجة حرارة الثلاجة، وتجدد قبل التجربة بأسبوع من أجل الحصول على مستعمرات نشطة.

4-اختبار الفعالية المضادة للفطريات :

تم الاختبار بطريقة أطباق بتري، وذلك وفقاً ل Suarez- Jimenez (2007) ، [26] ، مع بعض التعديلات المناسبة للبحث حيث أخذت مقادير محددة من الزيت وأضيفت إلى وسط (P.D.A) الموزع ضمن حوجلات زجاجية بسعة 250 مل و بكميات مختلفة وذلك للحصول على التراكيز التالية من الزيت ضمن الوسط (0.2,1,2,6,8,10,20,30,40,60) ميكروليتر / مل بعدها تم صب الوسط ضمن أطباق بتري 9 سم وترك ليجمد،

و تم أخذ مكعب بمقدار 5 مم من أطراف مستعمرة الفطريات المدروسة بعمر سبعة أيام في الظلام ، وضع في منتصف كل طبق بتري، وحضنت الأطباق بالدرجة 25° لمدة سبعة أيام في الظلام ، أما أطباق الشاهد سيتم استنبات الفطر على وسط (P.D.A) الخالي من الزيت . سيتم إجراء ثلاثة مكررات لكل خلاصة ولكل تركيز على حدا و للشاهد، بعدها حساب متوسط أقطار نمو المستعمرات ومن ثم النسبة المئوية للتثبيط وفق التالي:

$$\text{النسبة المئوية للتثبيط} = \frac{\text{متوسط قطر المستعمرة الشاهد} - \text{متوسط قطر المستعمرة المعاملة}}{\text{متوسط قطر المستعمرة الشاهد}} * 100$$

5-تحديد التراكيز المثبطة الدنيا (MIC):

تم تحديد قيم التراكيز المثبطة الدنيا عن طريق تحضير سلسلة من التراكيز المختلفة لخلاصة زيت الحبق في الوسط الزرعي وحساب نسبة التثبيط في كل منها ، إن أقل تركيز من خلاصة زيت الحبق يثبط نمو الفطر بشكل كامل يكون التركيز المثبط الأدنى .

6-الدراسة الكيميائية للزيت العطري :

تم تحليل الزيت العطري لنبات الحبق في الهيئة العامة للتقانة الحيوية في دمشق، وذلك من أجل تحديد هوية المركبات الكيميائية ونسبتها فيه تم ذلك باستخدام جهاز التحليل الكروماتوغرافيا الغازية (مطيافية الكتلة) نوع (GC system GC Agilent technologies 7890A) ضمن الشروط التحليلة التالية :

1. الطور الساكن (5% فينيل و 95% ميتيل السيلكون)
2. معدل التدفق 1-2 مل / دقيقة داخل العمود
3. برنامج العمود (درجة حرارة العمود): (70-250 C) بمعدل (5) درجات في الدقيقة
4. الغاز الحامل للطور : الهيليوم
5. درجة حرارة الحاقن : 250 درجة سيليسوس
6. حجم العينة المحقونة 1 ميكروليتر
7. نوع الكاشف GCMS –QP 2010
8. طاقة التأين 70الكترون فولت.

تمت دراسة كروماتوغرام العينات المحقونة وحددت هوية ونسبة اغلب المركبات الكيميائية الموجودة بمقارنتها مع البيانات الطيفية وأسماء المركبات الموجودة في المكتبات الالكترونية المرافقة للجهاز وهي:

(..... NISTO 2.1, Wiley 275.L, PMA Tox2.1L)

النتائج والمناقشة:

أظهرت النتائج أن زيت الحبق يتمتع بفعالية عالية في مقاومة فطر *A. niger* ، حيث تفاوتت شدة الفعالية وفقًا لاختلاف التراكيز المستخدمة. يوضح الجدول رقم (1) في الطبق الشاهد سجل أعلى معدل نمو لفطر A.niger يوميًا، وبلغ قطر المستعمرة في اليوم السابع 8.4 سم ، وعند التركيز 0.2 ميكروليتر/ مل، استمر الفطر بالنمو لكن بنسبة أقل حيث بلغ القطر 8.2 سم. وعند التركيز 1 ميكروليتر / مل أظهر بداية واضحة لتأثير التثبيط، حيث تناقص قطر القطر إلى 6.6 سم في اليوم السابع. ولاحظنا من التركيز 2 ميكروليتر/ مل فما فوق، أقطار مستعمرات فطر A.nigr كلها صفر منذ اليوم الأول وحتى نهاية فترة الحضن ، أي أن قطر المستعمرة لم يتجاوز قطر الشاهد ،

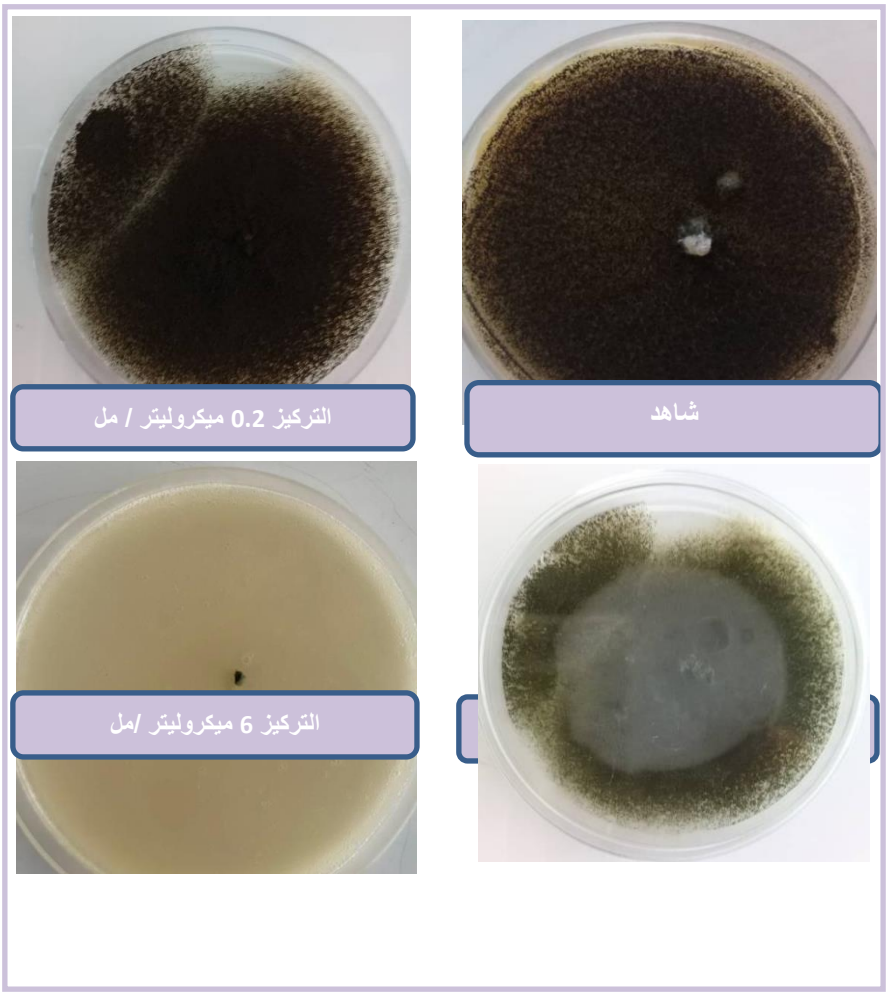
واقتربت هذه النتائج مع دراسة [14] حيث أظهرت نتائج هذه الدراسة عند التركيز 6.67 ميكرولتر/ مل من زيت *Ocimum kilimandscharicum*، تم تثبيط النمو الفطري بالكامل، حيث لم يتجاوز قطر المستعمرة قطر الشاهد ، مما يدل على فعالية عالية للزيت في تثبيط نمو فطر *Aspergillus flavus* . يوضح الجدول (2) ، حيث بلغت نسبة التثبيط 100% عند التراكيز(60-40-30-20-10-8-6-2) ميكروليتر / مل ، وهذا يبرز إن التراكيز الأعلى جميعها مثبطة . نلاحظ ان الحد الأدنى للتركيز المثبط (MIC) لزيت الحبق ضد فطر A. niger هو 2 ميكروليتر/مل وهو أقل تركيز يمنع نمو الفطر هذا التركيز أظهر تثبيطًا كاملاً (100%) لنمو الفطر في اليوم الأول، واستمر في الحفاظ على مستوى عالٍ من التثبيط على مدار فترة الحضانة . أثبتت هذه التراكيز قدرتها على تثبيط نمو الفطر بشكل كبير، مما يظهر إمكانيته كمادة طبيعية فعالة ، اقتربت هذه النتائج مع دراسة ،[5] ،حيث أظهرت الزيوت المستخلصة من النباتات العطرية فعالية واضحة ضد فطر *A. niger*، حيث حققت نسب التثبيط وصلت إلى 100% عند تراكيز منخفضة ، مما يدل على قدرتها العالية كمضادات فطرية طبيعية . وانخفضت نسبة التثبيط الى 21.42 % عند التركيز 1 ميكروليتر /مل عند قطر مستعمرة 6.6 سم ، وانخفضت الى 2.38 % عند التركيز 0.2 ميكروليتر /مل عند قطر مستعمرة 8.2 سم وذلك في اليوم السابع من الحضن ، شكل رقم (3). يمكن أن تعود هذه الفعالية التثبيطية العالية لزيت الحبق إلى وجود مركبات فعالة تؤثر في نمو هذا الفطر ، وقد بينت بعض الأبحاث أن المركبات الفينولية والزيوت العطرية هي المسؤولة بشكل كبير عن الفعالية المضادة للفطريات وغيرها من الأحياء الدقيقة ، [6] ، لوحظ تناقص الفعالية التثبيطية بزيادة عدد أيام الحضن فقد انخفضت من 100% في اليوم الأول من الحضن الى 21.42 % في اليوم السابع من الحضن عند التركيز1 ميكروليتر/ مل وانخفضت عند التركيز 0.2 ميكروليتر/ مل من 7.14% في اليوم الثاني من الحضن الى 2.38 % في اليوم السابع من الحضن ، ويمكن أن يكون السبب تطاير نسبة عالية من الزيوت العطرية الطيارة بحيث تنخفض الكمية بشكل واضح في الوسط بازدياد أيام التجربة وتطابقت هذه النتائج مع دراسة ، [13] ، حيث دُرست تأثير تراكيز مختلفة من زيت اللافندر، في نمو فطر A.niger ، وقد أبدت جميع التراكيز المدروسة تثبيطياً واضحاً ضد هذه الفطريات. واقتربت هذه النتائج مع دراسة ، [27] ، حيث أظهرت نتائج هذه الدراسة من بين 31 زيتًا عطريًا تم اختبارها، تمكنت 9 أنواع من من هذه الزيوت من تثبيط نمو A. niger تمامًا، حيث حافظت مستعمرات الفطر على نفس قطر الشاهد . وعند التركيز 500 ميكروليتر/لتر، استمرت الفعالية مع زيت الأوريغانو وزيت الحبق فقط.

الجدول رقم (1) متوسط أقطار مستعمرات فطر *Aspergillus niger* مقدرة ب سم بوجود تراكيز مختلفة من زيت الحبق في اليوم السابع من التحضين.

الجدول رقم (2) النسب المئوية لتثبيط مستعمرات الفطر *Aspergillus niger* بوجود تراكيز مختلفة من زيت الحبق في اليوم السابع من التحضين.

تراكيز زيت الحبق مقدرة ب (ميكرو ليتر/مل)											
60	40	30	20	10	8	6	2	1	0.2	شاهد	اليوم
100	100	100	100	100	100	100	100	100	0	0	1
100	100	100	100	100	100	100	100	64.28	7.14	0	2
100	100	100	100	100	100	100	100	55.88	5.88	0	3
100	100	100	100	100	100	100	100	35.71	2.38	0	4
100	100	100	100	100	100	100	100	48.38	9.67	0	5
100	100	100	100	100	100	100	100	45.23	13.09	0	6
100	100	100	100	100	100	100	100	21.42	2.38	0	7

الشكل رقم (3) التأثير المثبط لخلاصة زيت الحبق على فطر *Aspergillus niger* في اليوم السابع من التحضين.



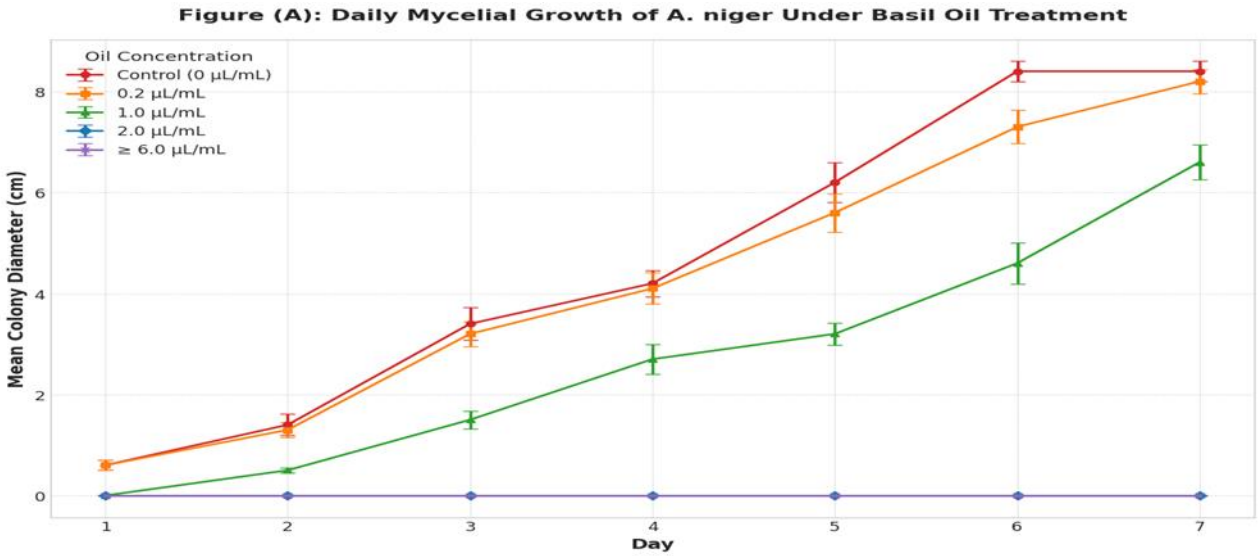
التركيب الكيمائي لزيت الحبق:

بينت التحاليل الكيمائية لزيت الحبق على جهاز GC–MS الكشف عن 30 مركباً مختلفاً وتحديد نسبها في هذا الزيت اختلفت المركبات التي تم الكشف عنها لاحظنا ان – α–Bergamotene هو المركب الرئيسي الداخل في تركيب هذا الزيت بلغت نسبته 22.3% من اجمالي كمية الزيت تلاه المركبات : γ–Cadinene بنسبة 13.13 % تلاه

مركب β–Linalol بنسبة 12.67 % ثم مركب β–Elemene بنسبة 6.06% وانخفضت النسبة المئوية لباقي المركبات الداخلة في تركيب زيت الحبق الى اقل من 1% . كانت المكونات المهمة الأخرى التي تم تحديدها في الزيت مع وجود دليل على الأنشطة البيولوجية مضاد للميكروبات أو الفطريات هي لينالول بنسبة 12.67% ويوجينول بنسبة 0.28 % . يُعزى النشاط المضاد للميكروبات والفطريات للزيت العطري بشكل رئيسي إلى مركباته الرئيسية ، ومع ذلك، يجب مراعاة التأثير التآزري أو المضاد لمركب واحد بنسبة ضئيلة في خلاصة زيت الحبق ، [2] . أظهرت دراسة [16] أن مركب اللينالول يمتلك نشاطاً مضاداً للفطريات يؤدي إلى اضطراب في تركيب الجدار الخلوي للفطر، وهذا الخلل يساهم في تفكك محتوى الخلية الفطرية وتثبيط نمو الفطر مما يظهر الدور الفعال للينالول كمادة طبيعية فعالة في مكافحة الفطريات . توافقت هذه النتائج مع دراسة ، [25] ، كانت المكونات الأساسية المستخلصة من الأجزاء الهوائية لنبات الحبق β–Linalol بنسبة 31.6% وβ–Elemene بنسبة 6.9% وα–Bulnesene بنسبة 4.5 % ، واختلفت نتائج هذا الزيت مع دراسة ، [10] ، كان المركب الرئيس (41.40%) Estragole وتلاه مركب (29.49%) 1,6–Octadien–3–ol, 3,7–dimethyl ومن ثم مركب (5.32%) Bergamottin ثم مركب (3.51%) Eucalyptol بالمقارنة مع النتائج المتعلقة بالتركيب الكيميائي لزيت الحبق نلاحظ تشابه واختلاف في التركيب الكيميائي حيث تختلف المركبات الكيميائية للزيت العطري لنفس النبات من حيث الكمية، وذلك اعتمادًا على: الصفات الوراثية ومرحلة النمو ، والظروف المناخية، وظروف التجفيف والتخزين، وخصائص التربة ، [3،24].

جدول رقم (3) يبين المركبات الكيميائية الداخلة في تركيب زيت الحبق والنسب المئوية لها

	المركب	النسبة المئوية		المركب	النسبة المئوية
1	α–Bergamotene	22.3 %	16	Calamenene	0.68%
2	β–Elemene	6.06%	17	4 –Trans–Nerolidol	0.25%
3	β–Linalol	12.67%	18	Isoledene	0.26%
4	Caryophyllene	1.87%	19	Cubenol	1.91%
5	β–Farnesene	0.36%	20	γ–Eudesmol	1.06%
6	Bornyl acetate	0.83%	21	Alloaromadendrene oxid–(1)	0.23%
7	α–Bulnesene	8.20%	22	2– Pentadecanone 6,9,14 trimethyl	0.21%
8	Terpinene–4–ol	0.49%	23	Tau–Cadinol	0.25%
9	α–Caryophyllene	2.52%	24	α–Cadinol	0.46%
10	α–Selinene	0.29%	25	Phenol–2–methoxy–3–(2–propenyl)	0.28%
11	γ–Cadinene	13.13%	26	β–Guaiene	0.22%
12	Germacrene D	6.0%	27	Ledene oxide–(II)	1.04%
13	α–Muurolene	0.33%	28	Lanceol–cis	0.20%
14	β–Sesquiphellandrene	1.26%	29	Longipinocarreol–trans	0.33%
15	γ–Elemene	0.80%	30	3,7,11,15–tetramethyl–2–hexadecen–1–ol	0.34%



الشكل (4): المنحنى الزمني لتطور نمو مستعمرات فطر A. niger تحت تأثير تراكيز مختلفة من زيت الحبق

يعرض هذا الشكل البياني بوضوح العلاقة الديناميكية بين الزمن وتركيز زيت الحبق وتأثيرها على نمو الفطر A. niger على مدار سبعة أيام. يمثل المنحنى الخاص بعينة الشاهد (Control) النمو الطبيعي غير المثبط للفطر، حيث يظهر نمواً قوياً وثابتاً يصل إلى قطره الأقصى البالغ 8.4 سم في اليوم السادس ويستقر عنده. عند استخدام أقل تركيز من الزيت (0.2 µL/mL)، كان التأثير التثبيطي شبه معدوم، حيث سار منحنى النمو بشكل موازٍ تقريباً لمنحنى الشاهد، وانتهى بقطر نهائي قدره 8.2 سم، مما يشير إلى فعالية ضعيفة جداً عند هذا التركيز. يُظهر المنحنى الخاص بتركيز 1 µL/mL بداية تأثير واضح للزيت، إذ تأخر نمو الفطر بشكل ملحوظ مقارنة بالشاهد، حيث بدأ النمو ببطء شديد بعد اليوم الثاني ووصل إلى قطر نهائي قدره 6.6 سم فقط في اليوم السابع، مما يثبت وجود تأثير تثبيطي معتدل لكنه غير كامل. أما النتيجة الحاسمة فتتجلى في المنحنيات الخاصة بالتراكيز 2 µL/mL وما فوقها، حيث يظهر كلا المنحنيين منطبقين تماماً على محور الزمن عند قيمة صفر. هذا يعني أن هذه التراكيز أدت إلى تثبيط كامل وتام (100%) للنمو الفطري منذ اليوم الأول وطوال فترة الحضانة. إن وجود أشرطة الخطأ الرأسية على كل نقطة بيانات، والتي تمثل قيمة الانحراف المعياري، يؤكد على الدقة الإحصائية العالية وتجانس النتائج ضمن المكررات.

الاستنتاجات والتوصيات:

الاستنتاجات:

1. أثبت زيت الحبق قدرة تثبيطية عالية ضد A. niger، إذ وصلت نسبة التثبيط إلى 100% في عدة تراكيز بدءًا من 2 ميكروليتر/مل، ما يجعله مرشحًا قويًا كمبيد طبيعي للفطريات.
2. تم تحديد الحد الأدنى للتركيز المثبط (MIC) بـ 2 ميكروليتر/مل، مما يدل على فعاليته المبكرة في وقف نمو الفطر واستمرار تأثيره طوال فترة الحضن.
3. التحليل بجهاز GC–MS كشف عن 30 مركبًا مختلفًا في زيت الحبق، أبرزها a–Bergamotene بنسبة 22.3% و ß–Linalool بنسبة 12.67% و y–Cadinene بنسبة 13.13%، وهي مركبات معروفة بخصائصها المضادة للميكروبات والفطريات.

4. يُمثل زيت الحبق خيارًا بيئيًا آمنًا مقارنة بالمبيدات الكيميائية التقليدية التي تؤثر سلباً على المحاصيل الزراعية.
5. لوحظ أن الفعالية التثبيطية تقل مع مرور أيام الحضن، خاصة في التراكيز الأدنى، ويمكن أن يكون السبب تطاير نسبة عالية من الزيوت العطرية الطيارة بحيث تنخفض الكمية بشكل واضح في الوسط بازدياد أيام التجربة.

التوصيات:

1. دراسة تأثير زيت الحبق على نمو الفطريات في الظروف الحقلية.
2. تقييم فعالية زيت الحبق في الحد من نمو الفطريات المسببة للأمراض في النباتات والإنسان.
3. استخلاص المركبات النشطة من زيت الحبق، وتنقيتها، وتحليل دورها في تثبيط الفطريات الممرضة .

References:

[1]- M.L. Abarca, F. Accensi, J. Cano, and F.J. Cabanes, "Taxonomy and significance of black aspergilli," Antonie Van Leeuwenhoek, vol. 86, pp. 33–49, 2004.
[2]- N.H. Abou El-Soud, M. Deabes, L. Abou El-Kassem, and M. Khalil, "Chemical composition and antifungal activity of (Ocimum basilicum L). essential oil," Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences, vol. 3, no. 3, pp. 374–379, 2015.
[3]- A.F. Ahmed, F.A.K. Attia, Z. Liu, C. Li, J. Wei, and W. Kang, "Antioxidant activity and total phenolic content of essential oils and extracts of sweet basil (Ocimum basilicum L.) plants," Food Science and Human Wellness, vol. 8, pp. 299–305, 2019.
[4]- A.H.A. Al-Abdalall, "Production of aflatoxins by Aspergillus flavus and Aspergillus niger strains isolated from seeds of pulses," Journal of Food, Agriculture & Environment, vol. 7, pp. 33–39, 2009.
[5]- A.W. Al-Shahwany, A. Nijam, and R.M. Shoker, "Antifungal activity of oils extracted from certain medicinal plants against selected fungi," Plant Cell Biotechnology and Molecular Biology, vol. 22, no. 37–38, pp. 229–241, 2021 .
[6]- F. Anwar, K.M. Alkharfy, T. Mehmood, and M.A. Bakht, "Variation in chemical composition and effective antibacterial potential of (Ocimum basilicum L). essential oil harvested from different regions of Saudi Arabia," Pharmaceutical Chemistry Journal, vol. 54, no. 10, pp. 873–880, 2021.
[7]- P.D. Almeida, N. Blanco-Pascual, D. Rosolen, J. Cisilotto, T. Creczynski-Pasa, and J. Laurindo, "Antioxidant and antifungal properties of essential oils of oregano (Origanum vulgare) and mint (Mentha arvensis) against Aspergillus flavus and Penicillium commune for use in food preservation," Food Science and Technology, vol. 42, e64921, 2022 .
[8]-A. De Cal, A. Sztejnberg, P. Sabuquillo, and P. Melgarejo, "Management of Fusarium wilt on melon and watermelon by Penicillium oxalicum," Biological Control, vol. 51, pp. 480–486, 2009.
[9]- S.A.F. El-Nagerabi, A.H.M. Ahmed, and A.E. Elshafie, "In vitro evaluation of selected plant extracts as biocontrol agents against black mold (Aspergillus niger Van Tieghem) of onion bulbs (Allium cepa L.)," International Journal of Scientific and Technology Research, vol. 5, pp. 147–152, 2016.
[10]- A.B. Falowo, F.E. Mukumbo, E.M. Idamokoro, A.J. Afolayan, and V. Muchenje, "Phytochemical constituents and antioxidant activity of sweet basil (Ocimum basilicum L.) essential oil on ground beef from Boran and Nguni cattle," International Journal of Food Science, vol. 2019, pp. 1–8, 2019.

[11]- S. Hadian, "Antifungal activity of some plant extracts against some plant pathogenic fungi in Iran," Asian Journal of Experimental Biological Sciences, vol. 3, no. 4, pp. 714–718, 2012.
[12]- N.A. Hasan and A.C. Al-Fahad, "The improvement basil volatile oil properties by nano-licorice spray and geometrical dimension of basil plant (Ocimum basilicum L.)," in IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, vol. 1449, no. 1, p. 012141, Feb. 2025.
[13]-B. Jrikos, "Evaluation of the efficacy of lavender oil against Aspergillus niger and identification of some of its active components," Latakia University Journal for Research and Global Studies, Biological Sciences Series, vol. 45, no. 1, 2023. (in arabic)
[14]- S.M. Kaguchia, J.K. Birgen, C. Lang'at-Thoruwa, and T.E. Akwa, "Antifungal effects of Ocimum kilimandscharicum oil on Aspergillus flavus infecting maize after harvest," *Studies in Fungi*, vol. 6, no. 1, pp. 288–298, 2021.
[15]-K. Carović-Stanko, S. Orlić, O. Politeo, F. Strikić, I. Kolak, M. Milos, et al., "Composition and antibacterial activities of essential oils of seven Ocimum taxa," Food Chemistry, vol. 119, pp. 196–201, 2010.
[16]-X. Li, Q. Wang, H. Li, X. Wang, R. Zhang, X. Yang, et al., "Revealing the mechanisms for linalool antifungal activity against Fusarium oxysporum and its efficient control of fusarium wilt in tomato plants," International Journal of Molecular Sciences, vol. 24, no. 1, p. 458, 2022.
[17]- J.R. Perfect, G.M. Cox, J.Y. Lee, S.W. Chapman, C.A. Kauffman, et al., "The impact of culture isolation of Aspergillus species: A hospital-based survey of aspergillosis," Clinical Infectious Diseases, vol. 33, pp. 1824–1833, 2009..
[18]- G. Perrone, A. Susca, G. Cozzi, K. Ehrlich, J. Vargas, et al., "Biodiversity of Aspergillus species in some important agricultural products," Studies in Mycology, vol. 59, pp. 53–66, 2007..
[19]- J.I. Pitt and A.D. Hocking, *Fungi and Food Spoilage*, 2nd ed., New York: Springer, pp. 593, 1997.
[20]- M.U. Rahman and S. Gul, "Mycotoxic effects of Thymus serpyllum oil on the asexual reproduction of Aspergillus species," Journal of Essential Oil Research, vol. 15, no. 3, pp. 168–171, 2003.
[21]- R. Raveau, J. Fontaine, and A. Lounès-Hadj Sahraoui, "Essential oils as potential alternative biocontrol products against plant pathogens and weeds: A review," Foods, vol. 9, no. 3, p. 365, 2020 .
[22]- R. Reuveni, A. Fleischer, and E. Putievsky, "Fungistatic activity of essential oils from Ocimum basilicum chemotypes," Phytopathologische Zeitschrift, vol. 110, pp. 20–22, 1984.
[23]- C.L. Salazar and A.L. Rua, "Características morfológicas microscópicas de especies de Aspergillus asociadas a infecciones en humanos," vol. 3, no. 2, pp. 93–96, 2012.
[24]- W.P. Silvestre, N.F. Livinalli, C. Baldasso, and I.C. Tessaro, "Pervaporation in the separation of essential oil components: A review," Trends in Food Science & Technology, vol. 93, pp. 42–52, 2019.
[25]- L.P. Stanojevic, J.S. Stanojevic, V.L. Savic, D.J. Cvetkovic, A. Kolarevic, Z. Marjanovic-Balaban, and L.B. Nikolic, "Peppermint and basil essential oils: Chemical composition, in vitro antioxidant activity and in vivo estimation of skin irritation," Journal of Essential Oil Bearing Plants, pp. 1–15, 2019.
[26]- G.M. Suárez-Jiménez, M.O. Cortez-Rocha, E.C. Rosas-Burgos, A. Burgos-Hernández, M. Plascencia-Jatomea, and F.J. Cinco-Moroyoqui, "Antifungal activity of

plant methanolic extracts against Fusarium verticillioides (Sacc.) Nirenb. and fumonisin B1 production," Revista Mexicana de Fitopatología, vol. 25, no. 2, pp. 134–142, 2007.
[27]- Y. Xie, J. Zhu, H. Liu, H. Lian, and J. Liu, "Inhibitory effect of different essential oils on Aspergillus niger of postharvest grape," in Proc. 4th Int. Conf. Biotechnol. Biomed, pp. 31–34, 2022.
[28]- S. Yadav, K. Tomar, N. Yadav, and S. Yadav, "Screening of antifungal proteins from plants of Cucurbitaceae family against Fusarium oxysporum: potential as biofungicides," Int. Res. J. Environ. Sci., vol. 2, no. 6, pp. 91–96, 2013.