Effect of aqueous and alcoholic extracts of rosemary and thyme on the growth of *Aspergillus flavus in vitro*

Nirouz Ibrahim*
Dr. Ali Ali**
Dr. Yaser Hammad***

(Received 27 / 4 / 2026. Accepted 22 / 6 /2026)

□ ABSTRACT □

The fungus *Aspergillus flavus* is considered one of the most dangerous fungi affecting agriculture crops, as it produces carcinogenic aflatoxins that affect approximately twenty–five precent of global agriculture production annually. this study aimed to evaluate the effectiveness of natural plant extracts as safe alternatives to conventional antifungal agents. The study was conducted in the Seed Health Labaratory of the Plant Quarantine Department, at the Directorate of Agriculture in Latakia.to investigate the effect of four different concentrations (5, 10, 15, 20) mg/ml of both aqueous and alcoholic extracts from rosmary and shirazi thyme plants on the growth of *A flavus* fungi on PDA medium. The plates were incubated at 27 C for 7 days.

The alcoholic extracts showed a significant superiority in inhibiting the growth of the fungus *A. flavus* compared to the aqueous extracts. The thyme alcoholic extract was the most effective in inhibtion, as the growth of *A flavus* was completely absent at the concentration (15,20) mg/ml. This was followed by the inhibitory ability of the rosemary alcoholic extract, as no fungal growth was observed at a concentration of 20 mg/ml, While the uptake rate at a concentration of 15 mg/ml was 85.06%, there was a direct correlation between increasing concentration and uptake rate. These results suggest that alcoholic extracts of thyme and rosemary are effective against the fungus *A. flavus*.

Keywords: *Aspergilus. flavus*, *Origanum syriacum* L, *Rosmarinus officinalis*, Aqueous extracts, Alcoholic extracts.

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

* **PhD student , Faculty of Agricultural Engineering, Latakia University(formerly Tishreen), Latakia, Syria.**
** **Associate Professor, Faculty of Agricultural Engineering, Latakia University(formerly Tishreen), Latakia, Syria.**
*** **Professor, Faculty of Agricultural Engineering ,Latakia University(formerly Tishreen), Latakia, Syria. yaser.hammad@tishreen.edu.sy**

تأثير المستخلصات المائية والكحولية لنباتي إكليل الجبل والزعتر الخليلي في نمو الفطر *Aspergillus flavus* مخبرياً

نيروز إبراهيم [*]
د. علي علي [**]
د. ياسر حماد [***]

(تاريخ الإيداع 27 / 4 / 2026. قبل للنشر في 22 / 6 / 2026)

ملخّص

يعد الفطر *Aspergillus flavus* من أخطر الفطريات التي تصيب المحاصيل الزراعية، إذ ينتج سموم الأفلاتوكسين المسرطنة التي تؤثر في حوالي 25% من الإنتاج الزراعي العالمي سنوياً. هدفت هذه الدراسة إلى تقييم فعالية المستخلصات النباتية الطبيعية كبدائل آمنة للمضادات الفطريات التقليدية. أجري البحث في مخبر صحة البذور، الحجر الصحي النباتي، مديرية زراعة اللاذقية لمعرفة تأثير أربعة تراكيز مختلفة (5، 10، 15، 20) مغ/مل من المستخلصات المائية والكحولية لنباتي إكليل الجبل (*Rosmarinus officinalis*) والزعتر الخليلي (*Origanum syriacum L*) في نمو الفطر *A. flavus* على وسط PDA وحضنت الأطباق على حرارة 27 سْ لمدة 7 أيام.

أظهرت المستخلصات الكحولية تفوقاً معنوياً في تثبيط نمو الفطر *A. flavus* مقارنة مع المستخلصات المائية. كان مستخلص الزعتر الخليلي الكحولي الأعلى فعالية في التثبيط، حيث انعدم نمو الفطر *A. flavus* كلياً عند التركيزين (15، 20) مغ/مل. تلاه في القدرة التثبيطية مستخلص إكليل الجبل الكحولي إذ انعدم نمو الفطر عند التركيز 20ملغ/مل بينما كانت نسبة التثبيط عند التركيز 15ملغ/مل (85.06%)، كما لوحظ علاقة طردية بين زيادة التركيز وزيادة نسبة التثبيط. تشير النتائج إلى امكانية استخدام المستخلصات الكحولية لنباتي الزعتر الخليلي وإكليل الجبل كمضادات طبيعية فعالة ضد الفطر *A. flavus*.

الكلمات المفتاحية: *A. flavus*، *Origanum syriacum L*، *Rosmarinus officinalis*، مستخلصات مائية، مستخلصات كحولية.

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

[*] **طالبة دكتوراه ، كلية الهندسة الزراعية، جامعة اللاذقية(تشرين سابقاً) ، اللاذقية ، سوريا.**
nirouzibrahim3@gmail.com
[**] **أستاذ مساعد ، كلية الهندسة الزراعية، جامعة اللاذقية(تشرين سابقاً) ، اللاذقية ، سوريا.**
ali.ali@lataki-univ.edu.sy
[***] **أستاذ ، كلية الهندسة الزراعية، جامعة اللاذقية(تشرين سابقاً) ، اللاذقية، سوريا.**
yaser.hammad@lataki-univ.edu.sy

مقدمة:

تنتشر الفطريات بصورة واسعة في الهواء والتربة والماء وتعتبر مصدراً للتلوث والإصابة للإنسان والنبات والحيوان [1]. يمتاز جنس *Aspergillus* بأنه واسع الانتشار في الطبيعة وتعزى سرعة انتشاره إلى قدرته العالية على إنتاج كميات كبيرة من الأبواغ التي تمتاز بأنها خفيفة الوزن وصغيرة الحجم يسهل انتشارها بوساطة الرياح وتتحمل الظروف القاسية من حرارة ورطوبة [2]. يعد الفطر *Aspergillus flavus* أحد مسببات الأمراض الفطرية الأكثر أهمية، ذو تأثير اقتصادي واسع النطاق، يسبب تلف العديد من المحاصيل الغذائية الاستراتيجية كالحبوب والبقوليات والمكسرات أثناء التخزين [3]. يعتبر منتج رئيسي للسموم الفطرية (الأفلاتوكسينات)، وهي أكثر المركبات الطبيعية سمية وقدرة على التسبب بسرطان الكبد التي تمثل تهديداً عالمياً للأمن الغذائي وصحة الإنسان والماشية [4].

أدى اكتشاف المضادات الحيوية إلى تراجع معدل الإصابة بالأمراض بشكل كبير جداً ولكن سوء استخدامها من قبل الإنسان أدى إلى ظهور سلالات من الفطريات والبكتريا المقاومة، فلجأ الإنسان إلى حلول نباتية بديلة للمضادات الحيوية، أقل ضرراً، ولها فعالية مضادة لهذه المكروبات [5]. يتجه البحث العلمي نحو المستخلصات النباتية كبدائل طبيعية صديقة للبيئة حيث تعتبر مصدراً غنياً للمركبات المضادة للفطريات، وتعمل بآليات متعددة، مما يصعب على الفطر تطوير المقاومة ضدها [6]. تعود فعالية المستخلصات النباتية للنباتات الطبية لاحتوائها على مركبات تؤثر على نمو الميكروبات المسببة للأمراض، وهذه المركبات الفعالة ناتجة عن عملية التمثيل الضوئي ومنها التانينات والجلايكوسيدات والتربينات وغيرها من المواد الفعالة [7]. تختلف الفعالية الحيوية للمستخلصات النباتية حسب نوع المذيب المستخدم، وقدرته على استخلاص مجموعات كيميائية متنوعة (المركبات الفينولية والفلافونويدات) التي تعكس مدى القدرة المضادة للأكسدة والمقاومة للأمراض لهذه النباتات الطبية [8].

ينتمي إكليل الجبل *(Rosmarinus officinalis)* والزعتر الخليلي *(Origanum syriacum L)* إلى الفصيلة الشفوية (*Lamiaceae*)، كونها عائلة نباتية تشكل مصدراً غنياً للمركبات النشطة بيولوجياً، والتي تمتلك خصائص مضادة للأكسدة والمكروبات [9]. يعتبر نبات إكليل الجبل نبات شجيري معمر ودائم الخضرة [10]. يتميز بغناه بمجموعة متنوعة من المركبات النشطة بيولوجياً والتي تشمل المركبات الفينولية ثنائية التربيين (مثل حمض الكارنوسيك والكارنوسل) وحمض الروزمارينيك والفلافونوئيدات [11]. يعد الزعتر الخليلي نبات عشبي معمر، يتميز بأوراق بيضوية خضراء رمادية عطرية جدا، وأزهار بيضاء صغيرة تتجمع في سنابل من منتصف إلى أواخر الصيفً [12]. تحتوي الأجزاء الهوائية على زوائد غدية تفرز الزيوت العطرية المسؤولة عن الرائحة والطعم اللادع [13]. تعود الفعالية الأساسية للزعتر الخليلي إلى محتواه العالي من المركبات الفينولية (الثيمول والكارفاكرول)، مما يمنحه خصائص مضادة للمكروبات والأكسدة [14].

أشارت العديد من الدراسات إلى فعالية هذه المستخلصات النباتية وتثبيطها للعديد من المسببات المرضية [15]. اتضح أن للزعتر الخليلي (*Origanum syriacum L*) خصائص مضادة للفطريات وتأثير مثبط لإنتاج السموم الفطرية، وأنه بسبب محتواه العالي من الثيمول قادر على تثبيط نمو سلالات الفطر *Aspergillus* وإنتاجها للأفلاتوكسين [16]. أشارت نتائج الدراسة [17] أن لمستخلصات إكليل الجبل (المائية والميتانولية) تأثيراً مثبطاً على نمو الفطر *A. flavus*، ويعزى السبب لوجود المركبات الفعالة وأهمها (حمض الروزمارينيك وحمض الغاليك). أظهرت نتائج دراسة تأثير مستخلصات نباتات طبية (تضمنت إكليل الجبل والزعتر البري) في نمو الفطر، أن التثبيط لا يقتصر على منع نمو الفطر فحسب، بل يشمل تعطيل العمليات الحيوية للخلية الفطرية مثل إنتاج السموم الفطرية وتغيرات مظهرية، تتجلى بتشوه الهيفات وتثبيط التبوغ [18]. درست فعالية المستخلصات المائية والكحولية لبعض النباتات كإكليل الجبل والزعتر الجزائري (*Thymus algeriensis*) والزعتر البري (*Thymus capitatus*) في

تثبيط نمو الفطر *A. flavus*، كانت المستخلصات المائية أقل فعالية من المستخلصات الكحولية، وحقق مستخلص إكليل الجبل فعالية أعلى في تثبيط نمو الفطر *A. flavus* مقارنة بالزعتر الجزائري والزعتر البري [19]. بينما أظهرت المستخلصات المائية لنبات (lime) فعالية أعلى في نمو الفطرين *A. flavus, A. niger* مقارنة مع المستخلصات الإيتانولية [20].

أهمية البحث وأهدافه:

تكمن أهمية البحث في إيجاد بدائل طبيعية آمنة لتثبيط نمو الفطر *A. flavus* المنتج لسموم الأفلاتوكسين وهي من أقوى السموم المسرطنة طبيعياً والمخاطر الصحية الجسيمة المرتبطة بالتعرض لهذه السموم، من خلال تقييم ومقارنة فعالية المستخلصات المائية والكحولية لنباتي إكليل الجبل والزعتر الخليلي الغنيين بالمركبات الفعالة، تمهيداً لاستخدامهما في مجالات حفظ الأغذية والوقاية الصحية.

طرائق البحث ومواده:

سلالة الفطر *Aspergillus.flavus*:

استخدمت سلالة فطر *A.flavus* منتجة للأفلاتوكسين موصفة ومحفوظة في مخبر أبحاث علوم التربة والمياه في كلية الهندسة الزراعية–جامعة اللاذقية [21].

جمع العينات النباتية:

جمعت العينات النباتية من مزارع محلية للزعتر الخليلي وإكليل الجبل في بلدة بيت ياشوط وفق الجدول (1). غسلت الأجزاء النباتية من الغبار وجففت في الظل بدرجة حرارة الغرفة لمدة أسبوع مع التقليب المستمر ثم سحقت بواسطة مطحنة كهربائية للحصول على مسحوق ناعم. وضعت في علب بلاستيكية معقمة وجافة محكمة الغلق. سجل على كل عبوة الاسم العلمي للنبات وتاريخ الجمع وموقعه. حفظت في الثلاجة عند 4 سْ لحين الاستخدام [23,22].

جدول(1): الاسم العلمي والجزء المستخدم للنبات والوقت الذي تم فيه الحصول على الأجزاء النباتية من هذه النباتات .

النوع النباتي	إكليل الجبل	الزعتر الخليلي
الاسم العلمي	***Rosmarinus officinalis***	*Origanum syriacum L*
الأجزاء المستخدمة	الأوراق	الأجزاء الهوائية
المرحلة النباتية المثلى والوقت الأمثل الذي تم فيه الحصول على الأجزاء النباتية	في ذروة تركيز حمض الروزمارينيك (مرحلة عقد الثمار) (نهاية شهر أيار)	في ذروة إنتاج الثيمول (طور التفتح الكامل) (فترة منتصف إلى أواخر الصيف)

تحضير المستخلصات النباتية:

أخذ 10غ من المسحوق الجاف لكل نبات على حدا، وأضيف إليه 200 مل من الماء المقطر في دورق زجاجي سعة 500 مل. وضع الدورق في حمام مائي هزاز على درجة حرارة 40سْ لمدة 24 ساعة. رشح المحلول بوساطة أوراق ترشيح Whattman N0.1، ثم وضع الراشح في عبوات وثفلت بجهاز الطرد المركزي (بسرعة 3000 دورة/دقيقة لمدة 10 دقائق) لترسيب الأجزاء النباتية العالقة والحصول على محلول رائق. استخدم جهاز المبخر الدوار (Rotary vacuum evaporator) عند حرارة 40 سْ للحصول على سائل لزج كثيف. أخذت في طبق بتري زجاجي وجففت في فرن التجفيف عند درجة حرارة 40 سْ لمدة 24 ساعة، وزنت الخلاصة المركزة

الناتجة، وحفظت في البراد عند درجة حرارة 5 سْ لحين الاستعمال [24].اتبعت خطوات تحضير المستخلص المائي نفسها لتحضير المستخلص الكحولي باستعمال الكحول الاثيلي بتركيز 70% بدلاً من الماء المقطر [25].

النسب المئوية للمستخلصات النباتية:

حسبت النسبة المئوية للاستخلاص بتطبيق المعادلة التالية [26].:

$$\text{النسبة المئوية للاستخلاص (المردود)} = \frac{\text{الوزن الصافي للمستخلص}}{\text{الوزن الأصلي لمسحوق النبات الجاف}} \times 100$$

تأثير المستخلصات المائية والكحولية في نمو الفطر *A. flavus*.

تم تقييم تأثير المستخلصات المائية والكحولية لكل من الزعتر الخليلي وإكليل الجبل في نمو سلالة الفطر *A.flavus* المنتجة للسموم على وسط PDA (Potato Dextrose Agar) المعقم. تم تحضير محلول أم (Stock solution) بتركيز 100ملغ/مل من كل خلاصة نباتية بإذابة 1غ في 10 مل ماء مقطر معقم (أو كحول إتيلي 70% معقم حسب طبيعة المستخلص) [27]. تم تعقيم المحلول الأم بالترشيح باستخدام فلتر بمسام 0.22 ميكرون (Milipore filter) [28]. تم استخدام معادلة التخفيف القياسية V1×C1=V2×C2 للحصول على 100 مل من وسط PDA بتركيز نهائي C2(5،10،15،20) ملغ/ مل [29] إضافة إلى الشاهد (التركيز 0.0 ملغ/ل) استخدم فيه نفس الحجم من الماء أو الكحول. تم حساب حجم المحلول الأم اللازم (V_1) لكل تركيز نهائي (C_2) باستخدام المعادلة السابقة. أضيفت التراكيز إلى بيئة PDA المعقمة والمبردة إلى حرارة حوالي (40–50) سْ، تم الخلط برفق لضمان التجانس، ثم صب المزيج في أطباق بتري معقمة وتركها لتتجمد. تم تحضير الشاهد بإضافة 5 مل من المذيب المعقم فقط إلى 95 مل من وسط PDA. لقحت الأطباق بأقراص 6 ملم من عزلة الفطر *A. flavus* منتجة للسموم تبعد عن مركز الطبق 3سم، وحضنت عند درجة حرارة 25±2 سْ لمدة سبعة أيام [30]. تم قياس قطر المستعمرة النامية (معدل قطرين متعامدين) وحسبت نسب التثبيط باستخدام المعادلة الآتية [31]:

$$\text{نسبة التثبيط} = \frac{\text{قطر مستعمرة الفطر الشاهد} - \text{قطر مستعمرة الفطر المعامل}}{\text{قطر الفطر في أطباق الشاهد}} \times 100$$

النتائج والمناقشة:

مردود الاستخلاص المائي والكحولي لنباتي إكليل الجبل والزعتر الخليلي:

تبين من الجدول (2) أن النسب المئوية للمستخلصات المائية والكحولية لإكليل الجبل والزعتر الخليلي كانت متباينة. وحققت المستخلصات الكحولية لكلا النباتين مردود أعلى مقارنة بالمستخلصات المائية. إذ سجل المستخلص الكحولي لإكليل الجبل أعلى نسبة مئوية للاستخلاص 28.4% بينما كانت النسبة المئوية للمستخلص المائي للزعتر الخليلي هي الأقل بنسبة (15.2%).

يمكن تفسير هذا التفوق وفقاً للدراسة [32] التي أظهرت أن حركية استخلاص المركبات من إكليل الجبل كانت أسرع مقارنة بنباتات أخرى من الفصيلة نفسها (المريمية والزعتر). كما تتفق هذه النتائج مع نتائج الدراسة [33] التي قدمت مقارنة مباشرة بين مردود المستخلصات المائية والكحولية لنباتي إكليل الجبل (*Rosmarinus officinalis*) والزعتر (*Thymus vulgaris*)، وكان مردود الاستخلاص من إكليل الجبل أعلى من الزعتر في معظم الظروف المختبرة.

جدول (2): النسب المئوية للمستخلصات المائية والكحولية للنباتات قيد الدراسة.

نوع النبات	نوع المستخلص	الوزن الصافي للمستخلص (غ)	النسبة المئوية للمستخلص %
الزعتر الخليلي	مائي	1.52	15.2
	كحولي	2.23	22.3
إكليل الجبل	مائي	1.75	17.5
	كحولي	2.84	28.4

علماً أن وزن المسحوق النباتي الجاف المستعمل في عملية الاستخلاص هو 10 غ .

تأثير المستخلص النباتي في نمو الفطر *Aspergillus flavus* على بيئة PDA مخبرياً (*in vitro*)

تبين من الجدول (3) وجود فروق معنوية في تأثير مستخلصات نبات الزعتر الخليلي في نمو مستعمرات الفطر *Aspergillus flavus*، حسب نوع المستخلص(مائي وكحولي) حيث بلغ متوسط نسبة التثبيط (37.22، 64.11)% على التوالي، وبالمقارنة بين المتوسطات وجد تفوق المستخلص الكحولي على المائي ولم يظهر في الشاهد (0.0 ملغ/ل). يمكن أن تفسر القدرة العالية للمستخلص الكحولي على تثبيط نمو الفطريات، بأن الكحول كمذيب عضوي، أكثر كفاءة في إذابة واستخلاص المركبات المضادة للفطريات ذات الطبيعة القطبية أو غير القطبية، مثل الثيمول، الكارفاكرول، الفلافونويدات، التربينات، والتانينات مقارنة بالماء، وهذه المركبات معروفة بامتلاكها أعلى نشاط حيوي ضد الفطريات [34].

أما بالنسبة لتأثير تراكيز مستخلص الزعتر الخليلي فقد تفوق التركيزين (15،20) ملغ/مل للمستخلص الكحولي معنوياً على باقي التراكيز، وأعطيا فعالية تثبيط 100%. يفسر فعالية التركيزين بمبدأ التشبع البيولوجي، وعند هذا التركيز تصل كمية المركبات الفعالة في الزعتر الخليلي (الثيمول والكارفاكرول) إلى الحد الذي يشبع به جميع المواقع المستهدفة على الخلايا الفطرية، فزيادة التركيز إلى 20 ملغ/مل لاتضيف تأثيراً جديداً لأن جميع الأهداف مشبعة بالفعل. تتفق هذه النتائج مع الدراسة [35] التي أوضحت أن زيادة التركيز لم تؤد دائماً إلى فعالية أكبر، فقد لوحظ أن التركيزين (3 و8) ملغ/مل من المستخلص الفينولي للبقدونس حقق فعالية تثبيط متساوية عند هذين التركيزين وهذه الظاهرة تعرف "بتأثير الهضبة" أو "التشبع"

جدول (3): النسبة المئوية % لتأثير تراكيز مختلفة من المستخلص المائي والكحولي لنبات الزعتر الخليلي في تثبيط نمو الفطر *Aspergillus flavus* على بيئة PDA مخبرياً (*in vitro*)

نوع المستخلص لنبات الزعتر الخليلي	تراكيز المستخلص (مغ/ل)					متوسط تأثير المستخلص
	0	5	10	15	20	
مستخلص كحولي	0	33.06	87.50	100.00	100.00	64.11[a]
مستخلص مائي	0	11.77	23.00	66.96	84.40	37.22[b]
متوسط تأثير التراكيز	0	22.41[d]	55.25[c]	83.98[b]	92.20[a]	
$LSD_{0.01}$	المستخلص: 1.34 التراكيز: 0.32 التفاعل:2.31					
CV%	0.4					

بين الجدول رقم (4) تباين تأثير مستخلصات نبات إكليل الجبل المائية والكحولية في تثبيط نمو قطر مستعمرات الفطر *A. flavus* وبفروق معنوية، حيث كان متوسط النسبة المئوية لتأثير المستخلصات (29.05، 54.72) على التوالي، مع تفوق المستخلص الكحولي لإكليل الجبل على المستخلص المائي.

كما يلاحظ من الجدول (4) اختلاف النسبة المئوية لتثبيط نمو الفطر *A. flavus* حسب تراكيز المستخلص وازدادت مع ارتفاع التركيز المستخلص،وحقق التركيز 20 ملغ/مل لمستخلص إكليل الجبل الكحولي أعلى نسبة تثبيط (100)% متفوقاً على باقي التراكيز. يمكن تفسير ذلك بأن التركيز الأعلى يعني وجود عدد أكبر من الجزيئات النشطة بيولوجياً

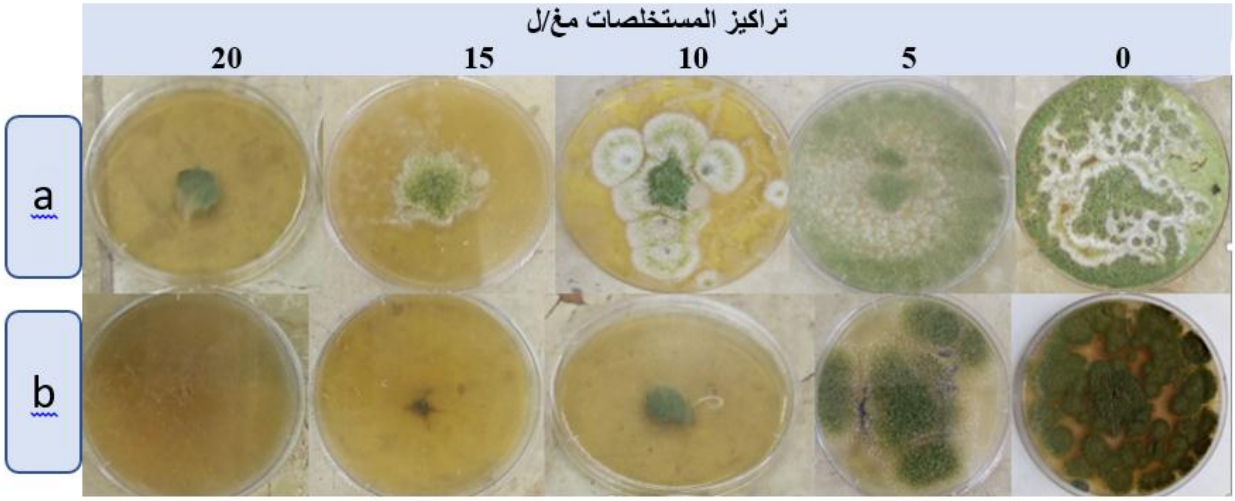
في الوسط المحيط بالفطر وبالتالي تعطيل وظائف حيوية متعددة مثل تخليق البروتين وانقسام الخلايا وإنتاج الطاقة [36]. وهذا ماتؤكده الدراسة [37] والتي أظهرت أن النسبة المئوية لتثبيط نمو الفطر *A. flavus* تزداد بشكل ملحوظ ومطرد مع زيادة التركيز من 100 إلى 300 ملغ/مل.

يتفق تفوق المستخلص الكحولي في دراستنا مع العديد من الأبحاث العلمية، فوفقاً للدراسة [38]، تعمل المركبات الفعالة في المستخلصات الكحولية على زيادة نفاذية الغشاء الخلوي للفطر وتثبيط إنزيم (1,3)-B-D-glucan synthase الحيوي مما يؤدي إلى موت الخلية. كما وثق [39] في دراستهما على الفطر *Aspergillus fumigatus* بأن التأثير المثبط القوي للمستخلص الكحولي قد يعود إلى قدرته على منع إنبات الجراثيم الفطرية. على الرغم من أن العديد من الدراسات تتفق مع نتائجنا وتشير إلى تفوق المستخلصات الكحولية، إلا أن الدراسة [40] على مستخلصات البن أظهرت أن المستخلص المائي الساخن للبن الأخضر أعطى فعالية مقاربة جداً للمستخلص الكحولي، بل وتفوق على المستخلص الكحولي للبن المحمص ، وفسرت النتائج بأن طبيعة المركبات الفعالة وطريقة الاستخلاص (استخدام الحرارة مع الماء) قد تزيد فعالية المستخلصات المائية في بعض الحالات.

جدول (4): النسبة المئوية % لتأثير المستخلص المائي والكحولي لنبات إكليل الجبل في تثبيط نمو الفطر *Aspergillus flavus* على بيئة PDA مخبرياً (*in vitro*)

نوع المستخلص لنبات إكليل الجبل	تراكيز المستخلص (مغ/ل)					متوسط تأثير المستخلص
	0	5	10	15	20	
مستخلص كحولي	0	20.26	68.30	85.06	100.00	54.72[a]
مستخلص مائي	0	6.50	12.00	51.76	75.00	29.05 [b]
متوسط تأثير التراكيز	0	13.38[d]	40.15[c]	68.41[b]	87.50[a]	
$LSD_{0.01}$	المستخلص: 0.46		التراكيز: 0.51		التفاعل:0.65	
CV%	0.7					

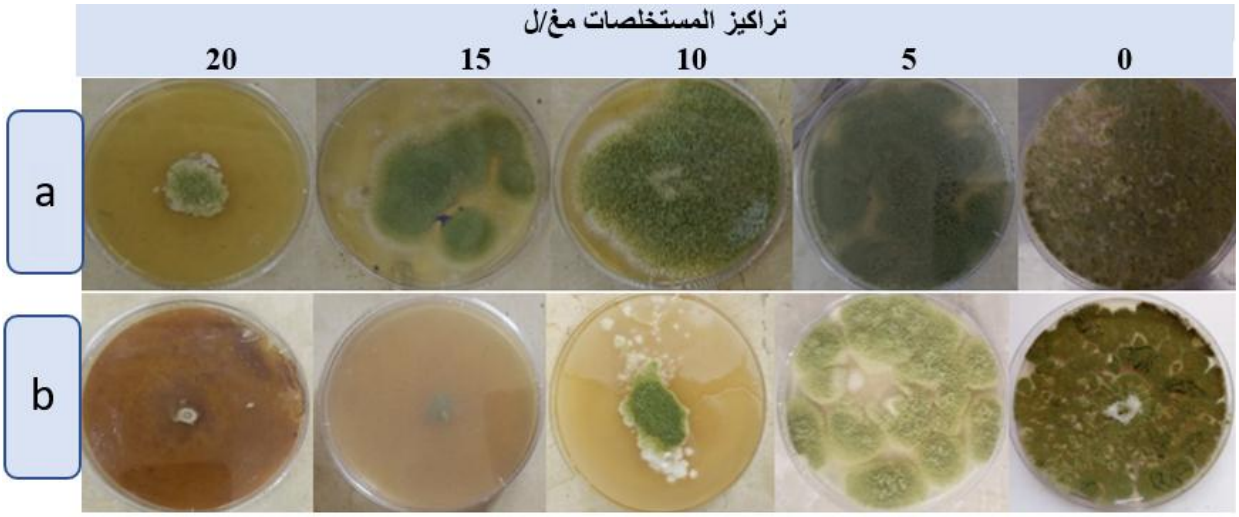
يتضح من الشكل (1) أن الاستجابة التثبيطية للفطر *A. flavus* اختلفت باختلاف النوع النباتي، ونوع المستخلص وأيضاً باختلاف التركيز المستخدم. تمثلت هذه الاستجابة بانعدام نمو الفطر كلياً عند التركيزين (15،20) ملغ/مل للمستخلص الكحولي للزعتر الخليلي، تشوه للهيفات وعدم انتظامها، وتأخر تكون الأبواغ عند التراكيز المرتفعة للمستخلص المائي للزعتر الخليلي.



الشكل (1) نمو مستعمرات الفطر *A. favus* على بيئة PDA وفق تراكيز المستخلصات المائية والكحولية لنبات الزعتر الخليلي (a: مستخلص مائي، b: مستخلص كحولي)

ويتضح من الشكل (2) أن استجابة الفطر *A. flavus* للمستخلصات الكحولية لإكليل الجبل تمثلت بانعدام نمو الفطر كلياً عند التركيز 20 ملغ/مل وتثبيط شبه تام عند التركيز 15 ملغ/مل. لم ينعدم نمو الفطر كلياً عند استخدام المستخلصات المائية حتى عند التراكيز المرتفعة، لكن كان هناك أشكالاً مختلفة لاستجابة الفطر لهذه المستخلصات، تمثلت بانخفاض التبوغ، ظهور هيفات غير منتظمة أو متقطعة، وصولاً لتمزق واضح للهيفات عند التركيزات العالية، ظهر جلياً عند فحصها بالمجهر.

تتفق هذه النتائج مع الدراسة [41] التي بينت أن المستخلصات الإيتانولية لكل من إكليل الجبل والزعتر البري (*Thymus vulgaris*) تؤثر على التطور الصحيح للفطر *A. flavus* وتسبب تغيرات شكلية ومظهرية في المستعمرات الفطرية، تشوه للهيفات وتدمير للجدار الخلوي. كما تتفق مع دراسة [42] والتي أظهرت تغيرات شكلية مشابهة عند استخدام الزيت العطري للزعتر الخليلي، تمثلت هذه التغيرات في تشوه الخيوط الفطرية وفقدان انتظامها، إضافة لانخفاض واضح في تكوين الأبواغ.



الشكل (2) نمو مستعمرات الفطر *A. favus* على بيئة PDA وفق تراكيز المستخلصات المائية (a) والكحولية (b) لنبات إكليل الجبل(a: مستخلص مائي، b: مستخلص كحولي

الاستنتاجات والتوصيات:

-تفوقت المستخلصات المائية والكحولية للزعتر الخليلي على مستخلصات إكليل الجبل في التأثير على نمو مستعمرات الفطر *A. flavus*، وكان المستخلص الكحولي أكثر كفاءة في التثبيط مقارنة مع المستخلص المائي لكلا النباتين.

-حقق التركيز 20 ملغ/مل للمستخلصات المائية والكحولية أعلى تأثير في تثبيط نمو الفطر *A. flavus*، مع تفوق معنوي لمستخلصات نبات الزعتر الخليلي على مستخلصات نبات إكليل الجبل عند التركيز نفسه.

-امتلاك كل من إكليل الجبل والزعتر الخليلي إمكانيات واعدة كمبيدات فطرية طبيعية للسيطرة على فطر *A. flavus* والحد من خطر تلوث الأغذية والأعلاف بسموم الأفلاتوكسين الخطيرة، نظرًا لاختلاف فعاليتها حسب نوع النبات والمستخلص.

References:

[1]- C. Viegas, A. C. Pinheiro, R. Sabino, Viegas, J. Brandão, C. Veríssimo, "Environmental mycology in public health: fungi and mycotoxins risk assessment and management". *Academic Press*,2015.
[2]- M. A. Egbuta, M. Mwanza, O.O. Babalola, "Health risks associated with exposure to filamentous fungi", **International journal of environmental research and public health**, 14(7), 719, 2017.
[3]- M. A. Klich, "Aspergillus flavus: the major producer of aflatoxin", *Molecular plant pathology*, 8(6), 713-722,2007.
[4]- M. T. Hedayati, A. C. Pasqualotto, P. A. Warn, P. Bowyer, D. W. Denning, "Aspergillus flavus: human pathogen, allergen and mycotoxin producer", *Microbiology*, 153(6), 1677-1692, 2007.
[5]- P. D. Babu, R. S. Subhasree, "Antimicrobial activities of Lawsonia inermis-a review", *,Acad J Plant Sci*, 2(4), 231-2, 2009.
[6]- K. R. N. Reddy, S. B. Nurdijati, B. Salleh, "An overview of plant-derived products on control of mycotoxigenic fungi and mycotoxin", *,Asian Journal of Plant Sciences* **,** 9(3), 126, 2010. DOI:10.3923/ajps.2010.126.133
[7]- H. S. Elshafie, I. Camele, A. A. Mohamed, "A comprehensive review on the biological, agricultural and pharmaceutical properties of secondary metabolites based-plant origin", , *International journal of molecular sciences*, *24*(4), 3266, 2023**.**
[8]- N. N. Azwanida, "A review on the extraction methods use in medicinal plants, principle, strength and limitation", *Med aromat plants,* 4(196), 2167-0412, 2015.
[9]- R. M. Spréa, C. Caleja, J. Pinela, "Finimundy,T.C.; Calhelha, R. C. ;Kostić,M.; Barros,L. Comparative study on the phenolic composition and in vitro bioactivity of medicinal and aromatic plants from the Lamiaceae family", *,Food Research International*, 161, 111875, 2022**.**
[10]- K . Akshay, K. Swathi, V. Bakshi, N. Boggula, "Rosmarinus officinalis L.: an update review of its phytochemistry and biological activity", *J. drug deliv. Ther**, ,**9, 323-330, 2019. DOI: http://dx.doi.org/10.22270/jddt.v9i1.2218
[11]- E. Aziz, R. Batool, Akhtar, W. Shahzad, A. Malik, M. A. Shah, "Thiruvengadam,M. Rosemary species: a review of phytochemicals, bioactivities and industrial applications", *,South African Journal of Botany* , 151, 3-18, 2022**.**
[12]- M . Farhat, J .Tóth, B.É. Héthelyi, S. Szarka, S. Czigle, "Analysis of the essential oil compounds of Origanum syriacum L", *,European Pharmaceutical Journal*,2012, 59(2), 6-14, 2012.
[13]- J. Mesmar, R. Abdallah, A. Badran, M. Maresca, E. Baydoun, "Origanum syriacum phytochemistry and pharmacological properties: a comprehensive review", *,Molecules*, 27(13), 4272, 2022.
[14]- K. Zomorodian, M. J. Saharkhiz, M. J. Rahimi, A. Bandegi, G. Shekarkhar, A. Bandegani, A. Bazargani, "Chemical composition and antimicrobial activities of the essential oils from three ecotypes of Zataria multiflora", *,Pharmacognosy magazine*, 7(25), 53, 2011. doi: 10.4103/0973-1296.75902
[15]- J. Mesmar, R. Abdallah, A. Badran, M. Maresca, E. Baydoun, "Origanum syriacum phytochemistry and pharmacological properties:a comprehensive review" *Molecules***,** 27(13), 4272, 2022.

[16]- H. Shokri, A. Sharifzadeh, "Zataria multiflora Boiss.: A review study on chemical composition, anti-fungal and anti-mycotoxin activities, and ultrastructural changes" *Journal of herbmed pharmacology*, 6(1), 1-9, 2016.
[17]- A. N. El Gendy, M. Leonardi, L. Mugnaini, F. Bertelloni, V.V. Ebani, S. Nardoni, L. Pistelli, "Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of wild and cultivated Origanum syriacum plants grown in Sinai, Egypt" *Industrial Crops and Products*, 67, 201-207, 2015.
[18]- J. C. Z. Romoli, M. V. Silva,M, G. C. Pante, D. Hoeltgebaum, J. C. Castro, G. H. Oliveira da Rocha, M. Machinski, "Anti-mycotoxigenic and antifungal activity of ginger, turmeric, thyme and rosemary essential oils in deoxynivalenol (DON) and zearalenone (ZEA) producing Fusarium graminearum". *Food Additives & Contaminants Part A*, 39(2), 362-372, 2022.
[19]- S. Al-Fahdawi, S. AL-Warshan, "Effective of some plant extracts on the growth of fungus Aspergillus flavus and reduce the production of aflatoxin B1 on stored corn" *Anbar Journal of Agricultural Sciences*, 2024.
[20]- D. Tagoe, S. Baidoo, I. Dadzie, V. Kangah, H. Nyarko, "A comparison of the antimicrobial (antifungal) properties of garlic, ginger and lime on Aspergillus flavus, Aspergillus niger and Cladosporium herbarum using organic and water base extraction methods" *The Internet Journal of Tropical Medicine*, 7(1), 1-11, 2009.
[21]- N. Ibrahim, A Ali, Y Hammad, "Isolation and characterization of the fungus *Aspergillius flavus* from peanuts and pistachios and evaluate its ability to produce aflatoxin" *Arab Journal of Plant Protection* in press.
[22]- K. Hassanzadeh, S. Aliniaeifard, M. N. Farzinia, M. Ahmadi, "Effect of phenological stages on essential oil content, composition and rosmarinic acid in Rosmarinus officinalis L" 2017.
[23]- S. Abbasi, S. Houshmand, T. Ahmadi, "Volatile compositions and glandular trichomes of Zataria multiflora in different phenological stages under normal and drought stress conditions". *BMC Plant Biology*, 24(1), 483, 2024.
[24]- R. Zgheib, S. Chaillou, N. Ouaini, A. Kassouf, D. Rutledge, D. El Azzi, M. El Beyrouthy, "Chemometric tools to highlight the variability of the chemical composition and yield of Lebanese Origanum syriacum L. essential oil", *Chemistry & Biodiversity*, 13(10), 1326-1347, 2016.
[25]- M. Horablaga,N, A. Cozma, E. Alexa, D. Obistioiu, I. Cocan, M. A. Poiana, C. Buzna, "Influence of sample preparation/extraction method on the phytochemical profile and antimicrobial activities of 12 commonly consumed medicinal plants in Romania" *Applied Sciences*, 13(4), 2530, 2023.
[26]- O. A. O. Adam, R. S. M. Abadi, S. M. H. Ayoub, "The effect of extraction method and solvents on yield and antioxidant activity of certain sudanese medicinal plant extracts", *The journal of Phytopharmacology*, 8(5), 248-252, 2019.
[27]- R. M. Humphries, J. Ambler, S. L. Mitchell, M. Castanheira, T. Dingle, J. A. Hindler, K. Sei, "CLSI methods development and standardization working group best practices for evaluation of antimicrobial susceptibility tests", *Journal of clinical microbiology*, 56(4), 10-1128, 2018.
[28]- B. Anthika, S. P. Kusumocahyo, H. Sutanto, "Ultrasonic approach in Clitoria ternatea (butterfly pea) extraction in water and extract sterilization by ultrafiltration for eye drop active ingredient", *Procedia Chemistry*, 16, 237-244, 2015.
[29]- L. A. Seidman, "Basic laboratory calculations for biotechnology. CRC Press" 2021.

[30]- O. Shakeel, A. Lyu, J. Zhang, M. Wu, G. Li, T. Hsiang, L. Yang, "Biocontrol of Aspergillus flavus on peanut kernels using Streptomyces yanglinensis", *Frontiers in microbiology* **,** 9, 1049, 2018.
[31]- M. D. Souza, L. Prietto, A. C. Ribeiro, T. D. D. Souza, E. Badiale-Furlong, "Avaliação da atividade antifúngica de extrato fenólico de Spirulina platensis contra Aspergillus flavus" **Ciência e Agrotecnologia* , 35, 1050-1058, 2011.
[32]- T. Fornari, A. Ruiz-Rodriguez, G. Vicente, E. Vázquez, M. R. García-Risco, G. Reglero. "Kinetic study of the supercritical CO2 extraction of different plants from Lamiaceae family". *The Journal of Supercritical Fluids*, 64, 1-8, 2012.
[33]- P. E. Munekata, C. Alcántara, T. Žugčić, R. Abdelkebir, M.C. Collado, J.V. García-Pérez, J.M. Lorenzo. "Impact of ultrasound-assisted extraction and solvent composition on bioactive compounds and in vitro biological activities of thyme and rosemary". *Food Research International*, 134, 109242, 2020.
[34]- A. D. J. Cenobio-Galindo, A. D. Hernández-Fuentes, U. González-Lemus, A. K. Zaldívar-Ortega, L. González-Montiel, A. Madariaga-Navarrete,I. Hernández-Soto, "Biofungicides based on plant extracts: On the road to organic farming", *International Journal of Molecular Sciences*, 25(13), 6879, 2024.
[35]- N. N. H. Al Masaoodi, "Evaluation of the antifungal effects of phenolic compounds and volatile oils extracted from Petroselinum Sativum L. on microsporum canis and tricophyton mentagrophytes" *Al- Zahraa journal for health and medical sciences***,** 2025.
[36]- A. H. Groll, S. C. Piscitelli, T. J. Walsh, "Antifungal pharmacodynamics: concentration-effect relationships in vitro and in vivo" Pharmacotherapy: *The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy*, 21(8P2), 133S-148S, 2001.
[37]- S. W. Kadium, R. A. Sahib, "Antifungal activity of phenols compound separated from quercus infectoria and citrullus colocynthis against toxic fungi", *Archives of Razi Institute*, 78(1), 297, 2023.
[38]- H. S. Lee, Y. Kim, "Antifungal activity of Salvia miltiorrhiza against *Candida albicans* is associated with the alteration of membrane permeability and (1, 3)-β-D-glucan synthase activity", *Journal of Microbiology and Biotechnology***,** 26(3), 610-617, 2016.
[39]- E. F. Sharaf, H. S. Al-Johani, "The use of cinammon aqueous and eithanolic extracts to control some groth criteria of the opportunistic mold *Aspergillus* fumigatus", *Pak. J. Bot***,** 53(5), 1921-19, 2021.
[40]- H. Wanees Al-Falah, Study of the Antimicrobial efficiency of Aqueous and Ethanol Extract against Streptococcus mutans. ." * Humanities and Natural Sciences Journal*, 6(2), 228-236, 2025.
[41]- S. Centeno, M. A. Calvo, C. Adelantado, S. Figueroa, "Antifungal activity of extracts of Rosmarinus officinalis and Thymus vulgaris against Aspergillus flavus and A. ochraceus" *Pakistan journal of biological sciences: PJBS***,** 13(9), 452-455, 2010.
[42]- H. Gandomi, A. Misaghi, A. A. Basti, S. Bokaei, A. Khosravi, A. Abbasifar; A. J. Javan, "Effect of Zataria multiflora Boiss. essential oil on growth and aflatoxin formation by Aspergillus flavus in culture media and cheese*"* *Food and chemical toxicology*, 47(10), 2397-2400, 2009.