



جامعة الموصل

كلية التربية للعلوم الصرفة

استخدام المستخلصات الكحولية لبعض منتجات نحل العسل
كمضادات حيوية طبيعية ضد الفطريات المسببة لتعفن ثمار
الخضر في مدينة الموصل

ايمان جاسم عبدالله علي الطائي

رسالة ماجستير

علوم الحياة / الأحياء المجهرية

بإشراف

الأستاذ الدكتور

عصام داؤد سليمان الراوجي

الخلاصة:

تم عزل الفطريات المسببة لتعفن ثمار الخضراوات والدرنات والقرنات من الأجزاء النباتية المصابة المأخوذة من أسواق مدينة الموصل وهي *Botrytis cinerea* من قرنات الفاصوليا و *Fusarium solani* من درنات البطاطا و *Phoma lycopersici* من ثمار الطماطا و *Pythium aphanidermatum* من الخيار و *Sclerotinia sclerotiorum* من القرع.

تم اختبار تأثير المستخلصات الكحولية لبعض منتجات نحل العسل الطبيعية المأخوذة من منطقة الرشيدية في الموصل وهي العكبر والشمع وحبوب اللقاح في نمو الفطريات المذكورة وتميز المستخلص الإيثانولي للعكبر بامتلاكه أعلى قدرة تثبيطية للفطريات المختبرة يليه مستخلص حبوب اللقاح إذ بلغ التركيز القاتل لمستخلص العكبر في نمو الفطر *B. cinerea* (2.5) ملغم/مل فقط بينما بلغت نسبة التثبيط 100 % أيضا لكل من الفطريات *F. solani* و *P. lycopersici* أكثر الفطريات المعزولة مقاومة للتراكيز المختلفة للمستخلصات الثلاثة إذ بلغ التركيز القاتل الأدنى لمستخلص العكبر 25 ملغم/مل بينما كانت التراكيز الأخرى من المستخلصات مثبطة لنمو الفطريات فقط . تفوق مستخلص حبوب اللقاح على العكبر في تثبيط نمو الفطر *S. sclerotiorum* إذ بلغ التركيز القاتل 10 ملغم/مل فضلا عن *B. cinerea* إذ أدى الى منع نمو الفطر بصورة كاملة. وكان مستخلص الشمع أقلها تأثيرا في تثبيط نمو الفطريات. أظهر خليط منتجات نحل العسل الثلاث العكبر والشمع وحبوب اللقاح معاً تأثيراً تآزرياً عند إضافتها سويا الى الوسط الغذائي بمعدل 50 % من التراكيز الدنيا من كل المستخلصات والتي أعطت أعلى تثبيط لنمو الفطر إذ أحدثت عند إضافتها سويا الى الوسط الغذائي تثبيطا كاملا لنمو جميع الفطريات المختبرة بنسبة 100 %.

تم استخلاص المواد الفعالة في مستخلص العكبر النقي وتقدير المحتوى الفينولي لها باستعمال جهاز السوكسلت Soxhelt فضلا عن عملية التصعيد الحراري Reflux. من أجل تحديد المواد الفعالة في عينة العكبر استعملت تقنية كروماتوغرافيا العمود بأربعة مذيبات مختلفة القطبية هي التولوين والكلوروفورم والاسيتون والميثانول على التوالي. وتم تشخيص المركبات الفينولية باستعمال جهاز الأشعة تحت الحمراء (IR) Infra-Red وتم الفصل والتشخيص عن طريق كروماتوغرافيا الصفائح الرقيقة Thin Layer Chromatography (TLC) وباستعمال نوعين من أنظمة المذيبات النظام الأول (بتروليوم أثير-خالات الأثيل-حامض الفورميك) والنظام

الثاني (تولوين-خلات الاثيل-حامض الفورميك) وتم التعرف على خمسة مركبات فينولية من بين اثنى عشرة مركبا فينوليا وهي الكرايسين والفلافون والكومارين والكافائينين والكالانجين أذ بلغ المحتوى الفينولي للمركبات الخمسة سوية 16.1 ملغم/غم من المستخلص.

في اختبار تأثير المواد الفعالة على الفطريات المعزولة وجد ان المادة الفعالة الكالانجين كانت أفضل المركبات التي تم تشخيصها من حيث تفوق تأثيرها التثبيطي معنويا في نمو الغزل الفطري لكل من *B. cinerea* و *S. sclerotiorum* بنسبة 91.87 و 93.74% على التوالي وأيضا *F.solani* و *P.aphanidermatum* و *Ph. lycopersici* بنسب قدرها 72.50 و 68.12 و 84.37 % على التوالي مقارنة بالمضاد الفطري فلوكونازول الذي بلغت نسب تثبيطه لنمو المستعمرات الفطرية 63.75 و 48.75 و 71.25% على التوالي عند تركيز 1.5 ملغم/مل. كذلك الكافائين الذي حقق تثبيطا عاليا في نمو جميع الفطريات تراوحت نسبته بين 79.99-91.87%.

Abstract:

Several fungi were isolated from the infected plant parts, *Botrytis cinerea* from bean pods, *Fusarium solani* from potato tubers, *Phoma lycopersici* from tomato fruits, *Pythium aphanidermatum* from cucumber fruits and *Sclerotinia sclerotiorum* from squash fruits taken from the market of Mosul city. Different concentrations of alcoholic extracts of some natural bee products, propolis, wax and pollen grains were used to test their biological activities against the above mentioned pathogens. Ethanolic extract of propolis actively gave the highest inhibitory effect against all tested fungi. The Minimum Fungicidal Concentration (MFC) for propolis was 2.5 mg/ml on *B. cinerea*, while it inhibited the growth of *F. solani*, *P. aphanidermatum* and *S. sclerotiorum* completely by 100% at Conc. of 20 mg/ml. *Ph. lycopersici* was the most tolerant fungus among all tested fungi against propolis extract with MFC equal to 25 mg/ml., whereas the other Concs. had only inhibitory effects for the growth of fungi. Bee pollen grain extract were superior than propolis in reducing the radial growth of *S. sclerotiorum* with MFC was 10 mg/ml., as well as *B. cinerea* growth which was inhibited completely using the same concentration. Wax extracts had the least inhibitory effect among the three bee products extracts on all isolated fungi. Mixture of the three extracts propolis, wax and pollen grains had synergistic effect when added together to Potato Sucrose Agar (PSA) by 50% of the least Conc. that gave highest inhibition and used for each extract/fungus and gave complete inhibition for all the isolated fungi by 100%.

Active substances of pure propolis were extracted and the phenolic content was determined by Soxhlet as well as Reflux apparatus. In order to identify the active substances of propolis extract, Column Chromatography was used with four polarity different solvents are Toluene, Chloroform, Acetone and Methanol respectively. Phenolic compounds were identified by Infra-Red, and the separation and identification was performed by Thin Layer Chromatography (TLC) using two solvent systems (Petroleum ether-Ethyl acetate-Formic acid) and the second system was (Toluene-Ethyl acetate-Formic acid). Five phenolic compounds were identified among 12 phenolic substances, they were Chrysin, Flavone, Coumarin, Caffeic acid and Galangin. Total phenolic content was 16.1 mg/g of the extract.

Testing the efficacy of the five active substances on the isolated fungi, showed that Galangin was the best identified compound in inhibiting significantly the mycelial growth of *B. cinerea* and *S. sclerotiorum* by 91.87 and 93.74% respectively and also *F. solani*, *P. aphanidermatum* and *Ph.*

lycopersici by 72.50, 68.12 and 84.37% respectively as compared with antifungal agent Fluconazole at 1.5 mg/ml which showed percent inhibition equal to 63.75, 48.75 and 71.25% respectively. Also Caffeic acid had significant inhibition for the growth of all tested fungi by 79.99-91.87%.

**University of Mosul
College of Education
For Pure Sciences**



**The Use of Alcoholic Extracts of Some Honey Bee
Products As Natural Antibiotics Against Fungi
Causing Fruit Rot of Vegetables At Mosul City**

Eman Jasim Abdullah Ali Al-Taie

M.Sc / Thesis
Biology / Microbiology

Supervised By

Professor

Dr. Esam Dawood Sulaiman AL-Rawatchy

2018 A.D

1439 A.H