

تأثير خلاصة طحلب *Spirogyra* في ثلاثة أنواع من الفطريات المسببة لأمراض النبات

فردوس مصطفى كورجك¹ ، سيراؤوس يوسف محمد²

¹طالبة دكتوراه، جامعة دمشق، علم الحياة النباتية،

frdous.korjak@damascusuniversity.edu.sy

² أستاذ مساعد، جامعة دمشق، ميكروبیولوجیا تطبيقیة،

seraoos.mohamad@damascusuniversity.edu.sy

الملخص

جمعت ثلاثة أنواع من طحلب *Spirogyra* هي *S. crassa* و *S. fluviatilis* و *S. variformis* من منطقتي دير العصافير وحور عين في محافظة ريف دمشق، وأجري الاستخلاص بمذيب الميثانول والكلوروفورم وأُجري الكشف النوعي عن المركبات الفعالة حيوياً لوحظ وجود التربينات، الثنائيات، القلويات، الفينولات، الفلافونوئيدات، الكومارينات والغلوکوزیدات في جميع الخلاصات، ودرس تأثير التراكيز المتدرجة للخلاصات على ثلاثة أنواع من الفطريات هي *Penicillium digitatum* و *Aspergillus flavus* و *Aspergillus niger*. بلغت أعلى نسبة تثبيط 63.30% لخلاصة الميثانول للنوع *S. fluviatile* على فطر *P. digitatum* عند التركيز 100ملغ/مل، وكانت أقل نسبة تثبيط 1.97% لخلاصة الكلوروفورم للنوع *S. variformis* على فطر *A. flavus* عند التركيز 60 ملغ/مل.

تاريخ الإبداع: 2023/09/29
تاريخ الموافقة: 2023/12/11



حقوق النشر: جامعة دمشق -
سورية، يحتفظ المؤلفون بحقوق
النشر بموجب الترخيص
CC BY-NC-SA 04

الكلمات المفتاحية: *Aspergillus flavus* ، *Aspergillus niger*— *Spirogyra* و *Penicillium digitatum* و فينولات - تربينات - فلافونوئيدات.

The effect of *Spirogyra* extract on three types of fungi that cause plant diseases

Frdous Mustafa Korjak^{1*}, Serarous Yosef Mohammad²

^{1*} PhD Student, University of Damascus, Plant Biology,
frdous.korjak@damascusuniversity.edu.sy

² Assistant Professor, Damascus University, Applied Microbiology
seraoos.mohamad@damascusuniversity.edu.sy

Abstract

Three species of *Spirogyra*, *S. variformis*, *S. fluviatilis* and *S. crassa*, were collected from the areas of Deir al-Asafir and Hour Ain in the Damascus countryside governorate. Extraction was carried out with methanol and chloroform solvents. The terpenes, tannins, alkaloids, phenols, flavonoids, coumarins and glucosides was observed in all extracts qualitative detection of biologically active compounds was carried out, and the effect of graded concentrations of the extracts on three types of fungi was studied. The fungi are *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus* and *Penicillium digitatum*.. The highest inhibition rate was 63.30% for the methanol extract of *S. fluviatile* on *P. digitatum* at a concentration of 100 mg/ml, and the lowest rate of inhibition was 1.97% for chloroform extract of *S. variformis* on *A. flavus* at a concentration of 60 mg/ml.

Received :2023/09/29
Accepted:2023/12/11



Copyright: Damascus University- Syria, The authors retain the copyright under a CC BY- NC-SA

Keywords: *Spirogyra* - *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus* and *Penicillium digitatum* - Phenols - Terpenes - Flavonoids.

المقدمة:

الطحالب كائنات حية تقوم بعملية التركيب الضوئي وتوجد في معظم النظم البيئية؛ المياه البحرية والمياه العذبة وفي الجليد وعلى اليابسة، وتكون أحاديد الخلية إلى متعددة الخلايا وتُعد القاعدة الأساسية في السلالس والشبكات الغذائية، فهي المنتجات الأولية التي تقوم بالتمثيل الضوئي لتركيب السكريات وتُنتج الطحالب نحو 30-50% من الأكسجين في الجو الضروري لتتنفس الكائنات الحية (Srivastava *et al.*, 2020). تُنتج الطحالب المركبات النشطة التي تظهر نشاطاً مضاداً للأكسدة ومضادات للفطريات والجراثيم (Thomas and Kim, 2013). كما تحوي مواد تحفز على الحماية ضد الالتهابات الفيروسية والفتيرية والجرثومية في النباتات (Shannon and Abu Ghannam, 2016). ينتهي طحلب Spirogyra إلى طحالب المياه العذبة الخضراء الخيطية في قسم

. (Ansari *et al.*, 2012) *Zygnemataceae* ، فصيلة *Zygnematales*، رتبة *Chlorophyta*

يحتوي طحلب *Spirogyra* على كمية عالية من المركبات الكيميائية بما في ذلك العناصر الغذائية الأساسية مثل السكريات، الدسم، البروتينات، الفيتامينات، المعادن ومضادات الأكسدة (Peerapornpisal 2007)، كما يحتوي على مركبات كيميائية فعالة ضد الجراثيم كالفينولات، الفلافونويدات، والتانينات والصابونينات (Champa *et al.*, 2016) (Dwaish *et al.*, 2016)

تعتبر أمراض النبات وخاصة تلك التي تسببها أنواع من الفطريات الرزقية Ascomycota من العوامل الرئيسية في إنتاج وجودة المحاصيل (Sagar *et al.*, 2020). من بين هذه الكائنات الممرضة فطر *Aspergillus niger* هو المسؤول عن مرض العفن الأسود في الفواكه والخضروات (Palencia *et al.*, 2010)، ويُعرف أيضاً بأنه ملوث للأطعمة المجففة في الشمس والحبوب والفول السوداني، ويُعد مسبباً للأمراض الانتهائية للبشر (Ziani *et al.*, 2009). يُعد فطر *Aspergillus flavus* من الفطريات الممرضة للذرة والفول السوداني وغالباً ما ينتج مواد مسرطنة من طبيعة الأفلاتوكسينات والتي لها العديد من الآثار الضارة على الإنسان (Cho *et al.*, 2022). أما فطر البنسليموم *Penicillium digitatum* المصدر الرئيسي لتعفن الحمضيات بعد الحصاد ويسبب إلاتها (Costa *et al.*, 2019).

الأهمية والأهداف:

تُعد المواد الكيميائية المستعملة كمبيدات للاقات في حماية المحاصيل ملوثات بيئية ولها تأثيرات بيولوجية غير مرغوب فيها على الحيوانات والبشر ، ويمكن التغلب على التأثير السام لهذه المواد الكيميائية من خلال البحث المستمر عن مبيدات جديدة أكثر أماناً، والتي تعتبر فعالة وصديقة للبيئة (Mohana *et al.*, 2011)، ومن الممكن أن تُعد الطحالب مصدر للمنتجات الطبيعية التي تستعمل في المبيدات الفطرية الجديدة حيث أظهرت دراسات أن الطحالب الكبيرة Macroalgae تحتوي على مركبات لها خواص كيميائية مختلفة يمكنها السيطرة على مسببات أمراض نباتية معينة (Ambika and Sujatha 2014). تأتي أهمية البحث بأنه الأول في سوريا لدراسة تأثير خلاصة طحلب السبیروجیرا في نمو الفطريات الممرضة وبذلك فإن البحث يهدف إلى:

1. الكشف النوعي عن المركبات الكيميائية الفعالة في خلاصة الميتانول والكلوروفورم لطحلب *Spirogyra*
2. دراسة تأثير خلاصة الميتانول والكلوروفورم على الفطريات الممرضة *Penicillium* و *Aspergillus* و *Aspergillus* *flavus* و *Aspergillus* *niger* و *Penicillium* *digitatum*

الدراسة المرجعية:

ذكرت دراسات سابقة وجود العديد من المركبات النشطة في الطحالب وذات فعالية على الفطريات كدراسة Al-Rekabi عام (2011) والتي بينت تأثير خلاصات بعض الطحالب الخضراء ضد الفطريات الممرضة *Aspergillus flavus* *Trichophyton rubrum* في *Ulva lactuca* (Al-Rekabi,2011, 35)، ودراسة Selim وآخرون عام (2015) التي بينت التأثير المثبت لخلاصة طحلب *Fusarium solani*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Alternaria solani*, (Pourakbar (Selim *et al.*, 2015, 419) *Phytophthora infestans* and *Botrytis cinerea* (2021) وأظهرت دراسة

فعالية خلاصات الطحالب البحرية الغنية بالمركبات الفينولية ضد أنواع الفطريات *Aspergillus niger*, *Botrytis cinerea*, *Pyricularia oryzae* و *Penicillium expansum* (2008) Peerapornpisal (Pourakbar *et al.*, 2021, 1) Rutikanga (2008,180). كما بينت دراسةPeerapornpisal وجود مركبات فعالة في طحلب Spirogyra كالسكريات، البروتينات، الدهون، الفيتامينات ومضادات الأكسدة (Peerapornpisal, 2008)، وكذلك أكدت Rutikanga عام (2014) وجود الفينولات، الفلافونويدات، الصابونينات والقلويات في خلاصة السبيروجيرا (Rutikanga *et al.*, 2014,88)، كما يحيى طحلب سبيروجيرا على أصبغة وكاروتينات (Pinto *et al.*, 2018, 228)، حيث تعد هذه المركبات كمضادات للجراثيم والفطريات (Al-Radadi *et al.*, 2022, 417).

المواد والطرائق:

1. جمع العينة وتحضير الخلاصات

جمعت العينات في شهري تموز وأب من عام 2022 حيث أخذ طحلب *S. fluviatile* من أحواض مفتوحة خاصة بالتنمية في دير العصافير - ريف دمشق، وجُمع النوعان *S. cracca* و *S. variformis* من منطقة عين حور - ريف دمشق، غسلت الأنواع بالماء المقطر لإزالة الملوثات الكبيرة والمجهرية ودرست عينات الطحالب تحت المجهر الضوئي وتم تحديد وتصنيف الأنواع مورفولوجيًّا وفقاً للخصائص المورفولوجية المعتمدة في تصنيف الطحالب الخيطية والتي شملت (طول الخلية وعرضها، عدد الصانعات في كل خلية وعدد لفاتها، أبعاد البيضة الملقحة Zygospora وشكل غلافها)، ومقارنة تلك الملاحظات والقياسات للعينات المدروسة بالمعطيات الواردة في المراجع العلمية والمفاتيح التصنيفية العالمية (Stancheva *et al.*, 2013).

جُففت العينة ضمن فرن عند درجة حرارة 50 °C في مختبر الدراسات العليا في قسم علم الحياة النباتية، كلية العلوم، جامعة دمشق ثم طُحنت إلى مسحوق ناعم. وزن 10 g من مسحوق الكتلة الجافة ووضعت في زجاجة سعة 250 mL، وأضيف 100 mL من المذيب (الميثانول 100%， كلوروفورم 100%) كلاً على حدا، عُرضت للأمواج فوق الصوتية لمدة 60 دقيقة عند درجة حرارة ثابتة تبلغ 35 °C (Champa *et al.*, 2016, 2392). نُقلت الزجاجيات إلى هزازة لمدة 48 ساعة عند 140 دورة/ دقيقة في حرارة الغرفة (Klavina and Kviesis, 2015). رُشحت العينات ثم أزيل المذيب باستعمال المبخر الدوار عند الدرجة 70 °C، ووضعت في حاضنة هزازة في الدرجة 40 °C لإزالة بقايا المذيب وحفظت في عبوات زجاجية عند الدرجة 4 °C.

2. الكشف عن المركبات الكيميائية الفعالة في الخلاصة:

الكشف عن الغليكوزيدات القلبية

اختبار كيلر كيلياني: أضيف 1 mL من حمض الخل 99% إلى الخلاصة ومزجت، ثم أضيفت بضع قطرات من كلوريد الحديد (FeCl₃) 5%， ثم أضيفت قطرات من حمض الكبريت المركز (H₂SO₄) إلى أنبوب الاختبار، ظهر لونبني محرم - حلقة ملونة عند تقاطع الطبقتين يؤكد وجود الغليكوزيدات القلبية (Alhajali and Adnan, 2021, 404).

الكشف عن الغليكوزيد

أضيفت قطرات من حمض كلور الماء (HCl) المركز إلى 1 mL خلاصة ومزجت جيداً. نُقلت إلى حمام مائي لمدة دقيقتين، ثم وضعتها في حمام مائي بدرجة 45 °C لمدة دقيقتين، ثم أضيف 2 mL من كاشف بنديكت Benedict، Na₂CO₃، CuSO₄·5H₂O (Na₂C₆H₅O₇) ووضعت في حمام مائي لمدة 5 دقائق، يتغير اللون من الأزرق إلى الأحمر القرمزي دليلاً لتشكل السكريات الأحادية، مع تشكيل راسب أحمر من أكسيد النحاس (Evans, 1999).

الكشف عن القلويات

أجري الكشف عن القلويات باستعمال كاشف دراغندروف Dragendorff الذي حضر وفقاً ل Harborne (1998,) Harborne، وضع 3 mL خلاصة وأضيف إليها قطرات من الكاشف. تشكل راسب أحمربني دليلاً وجود القلويات. (208)

الكشف عن التانينات

أخذ 1 مل خلاصة وأضيف لها 1 مل كلوريد الحديد ($FeCl_3$) 1%， ظهر اللون الأخضر المزرق دليل وجود التانينات (Shihata, 1951, 10).

الكشف عن التربينات والستيروئيدات

أضيف 2 مل كلوروفورم إلى 1 مل خلاصة وأضيفت قطرات أنهيدريد الخل ($C_4H_6O_3$)، ثم أضيفت قطرات من حمض الكبريت (H_2SO_4) بشكل إسالة على الجدران. يمثل ظهر اللون البني وجود التربين وظهور اللون الأخضر المزرق دليل على وجود الستيروئيدات (Al-Abid, 1985, 146).

الكشف عن الكومارينات

وضع 3 مل من الخلاصة في أنبوب اختبار وتمت تغطيته بورق ترشيح مبلل بمحلول هيدروكسيد الصوديوم 10% ووضع في حمام مائي مع التسخين حتى الغليان. بعد ذلك عُرضت ورقة الترشيح لمصباح الأشعة فوق البنفسجية، يشير ظهر اللون الأصفر إلى وجود الكومارين (Al-Haidari, 2013, 279).

الكشف عن الصابونينات

أضيف 20 مل من الماء المقطر إلى 1 مل من الخلاصة، وتم الرج بقوة لمدة 5-10 دقائق. يشير تكوين عمود رغوة لا يختفي بإضافة حمض كلور الماء إلى وجود الصابونينات (Savithramma and Suhrulatha, 2011, 581).

الكشف عن الفلافونويدات

اختبار القلوية: أضيف 1-2 مل من هيدروكسيد الصوديوم إلى 1 مل خلاصة، ظهر اللون الأصفر المحرر في أنبوب الاختبار يؤكد وجود الفلافونويدات (Sati and Kumar, 2015, 1002).

الكشف عن الفينولات

أضيف 1 مل من كلوريد الحديد ($FeCl_3$ 5%) إلى 1 مل من الخلاصة، يشير تكون اللون الأسود المزرق إلى وجود الفينولات (Sati and Kumar, 2015, 1002).

3. الفعالية الحيوية على بعض الفطريات الممرضة للنبات:

أخذت ثلاثة أنواع من الفطريات *Penicillium digitatum*، *Aspergillus flavus*، *Aspergillus niger* المعزولة والمصنفة مرجعاً وفقاً للمعايير المورفولوجية من مختبرات الدراسات العليا في قسم علم الحياة النباتية، كلية العلوم، جامعة دمشق. اختر النشاط المضاد عن طريق إضافة 1 مل من الخلاصة بترانكيز متدرجة 60، 80 و 100 مل/ملي مل إلى 20 مل وسط Sabouraud dextrose agar (SDA) عند درجة حرارة 45 °م قبل صبها في أطباق بيتربي قطرها 9 سم ضمن غرفة الزرع الجرثومي. تركت الأطباق حتى تتصسب ولقحت بالفطر عن طريق وضع قرص قطره 5 مل من مشيخة كل فطر بعمر 24 ساعة في وسط كل طبق، واستعملت ثلاثة مكررات لكل معاملة (Yousif *et al.*, 2014, 1622).

استعمل الا DMSO ك محل للخلاصات وكشاهد سلبي. وضعت الأطباق في حاضنة خاصة للفطريات عند الدرجة 28 °م لمدة 6 أيام في الظلام. قيس نمو الفطريات (قطر المستعمرة) وحسبت نسبة التثبيط وفق للمعادلة:

$$\text{النسبة المئوية للثبيط} = \frac{\text{قطر المستعمرة للشاهد} - \text{قطر المستعمرة في عينة الاختبار}}{\text{قطر المستعمرة الشاهد}} \times 100$$

الدراسة الإحصائية:

أجريت الدراسة الإحصائية بعمل ثلاثة مكررات للتجربة الواحدة، واستعمل برنامج SPSS 22 لمعالجة البيانات إحصائياً وتحليلها وبرنامج الإكسيل Excel لرسم المنحنيات البيانية، كما أعتمد اختبار تحليل التباين شائي الاتجاه Tow Way Analysis Of Variance (ANOVA) لدراسة الفروق المعنوية بين النسب المئوية للثبيط عند استعمال ترانكيز مختلفة من الخلاصة الميتانولية والكلوروفورمية

لأنواع الثلاثة من طحلب *Spirogyra*، كما أستعمل اختبار المقارنات المتعددة Post Hoc Multiple Comparisons بطريقة الفرق المعنوي الأصغر (LSD) Significant Differencr ($P < 0.05$)، وعُدَت القيمة يعتد بها إحصائياً بمستوى ثقة 95%.

النتائج والمناقشة:

1. المواد الكيميائية الفعالة

أظهرت نتائج التحليل الكيميائي للمركبات الكيميائية الفعالة في خلاصة طحلب *Spirogyra* الجدول (1) وجود كل من الميتانول، والفينولات والفالفونوئيدات في الخلاصة الميتانولية للنوع *S. fluviatile* وهي مركبات قابلة للانحلال في المنيبات العضوية، وتميزت الخلاصة الميتانولية للنوع *S. variformis* بوجود التربينات مقارنة بأنواع الأخرى، ولوحظ وجود الغليوكوزيدات، الكومارينات، والقلويدات في جميع الخلاصات لأنواع *S. cracca*، *S. fluviatile* و *S. variformis*. ولم يتم العثور على الصابونينات في الخلاصة الكلوروفورمية لأنواع الثلاثة، كما غابت الغليوكوزيدات القلبية من جميع الخلاصات. لوحظ غياب الستيروئيدات من الخلاصة الميتانولية للنوع *S. cracca*.

الجدول 1. التحليل الكيميائي النوعي لوجود المركبات الكيميائية أو عدم وجودها في مستخلص ثلاثة أنواع لـ *Spirogyra*

<i>S. cracca</i>		<i>S. fluviatile</i>		<i>S. variformis</i>		المواد الكيميائية
كلوروفورم	ميتانول	كلوروفورم	ميتانول	كلوروفورم	ميتانول	
-	-	-	-	-	-	الغليوكوزيدات القلبية
+	+	++	++	+	+	الغليوكوزيدات
+	+	++	+	++	+	القلويدات
+	+	+++	+++	++	++	الميتانول
+	++	+	+	++	+++	التربينات
++	-	+	++	++	+	الستيروئيدات
+	+	++	++	+	+	الكومارينات
-	++	-	++	-	+	الصابونينات
+	+	++	+++	++	++	الفينولات
+	+	++	+++	+	++	الفالفونوئيدات

دلائل الرموز: - غياب المجموعة الكيميائية + وجود ضعيف ++ وجود متوسط +++ ظهور قوي

توافقت نتائج دراستنا مع دراسة Wizi (2022) وآخرون حيث أظهرت وجود نفس المركبات الفعالة في طحلب *Spirogyra sp.* (Wizi *et al.*, 2022). وأظهرت دراسة Daniel (2019, 2022) اختلاف في وجود المركبات حسب المذيب المستعمل للاستخلاص ولم تذكر الدراسة وجود الكومارين في الخلاصات (Daniel *et al.*, 2019, 272)، قد يعود السبب في الاختلاف إلى التركيب الوراثي لأنواع المدروسة واختلاف وقت الجمع والظروف البيئية من إضاءة ومتغريات، وكذلك نوع المذيب المستعمل والذي يُعد من العوامل المهمة في تحسين القدرة على استخلاص المركبات الفعالة (Lafka *et al.*, 2007, 1210).

2. الفعالية الحيوية على بعض الفطريات الممرضة للنبات:

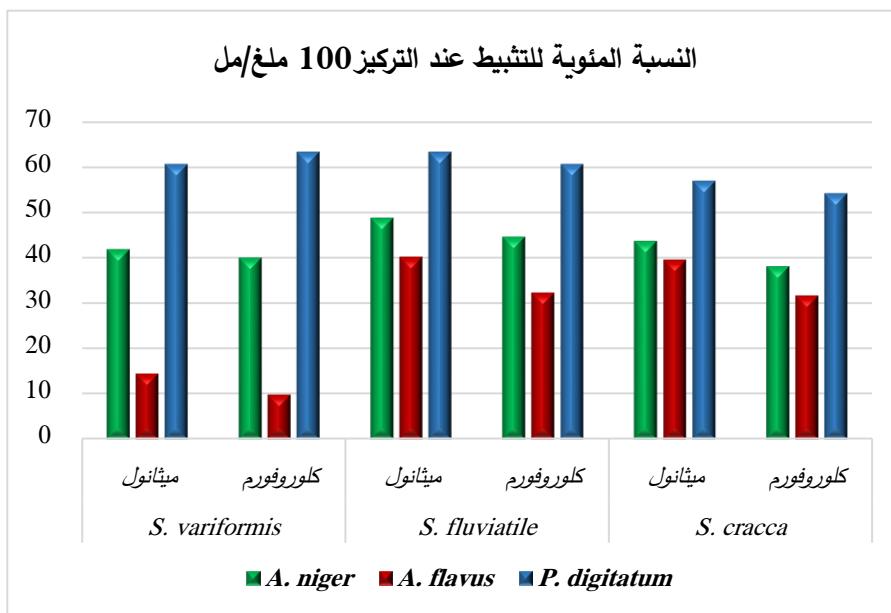
يظهر الجدول رقم (2) النسبة المئوية لتبطط نمو المستعمرات لثلاثة أنواع من الفطريات *P. digitatum*، *A. niger* و *A. flavus* باستعمال تراكيز متدرجة (60، 80 و 100) ملغم/مل من خلاصة الميتانول وخلاصة الكلوروفورم لثلاثة أنواع من طحلب سبيروجيرا (*S. cracca*، *S. fluviatile* و *S. variformis*) كما تظهر الأشكال (2)، (3) و (4) شكل المستعمرة لدى أنواع الفطريات *A. niger*، *P. digitatum* و *A. flavus*. حيث بلغت أعلى نسبة تبطط 63.30% لخلاصة الميتانول للنوع *S. fluviatile* على فطر *P. digitatum*.

عند التركيز 100ملغ/مل، وكانت أقل نسبة تثبيط 1.97% لخلاصة الكلوروفورم للنوع *S. variformis* على فطر *A. flavus* عند التركيز 60 ملغ/مل.

الجدول 2. النسبة المئوية للتثبيط باستعمال خلاصة طحلب *Spirogyra* بعد 72 ساعة من الحضن.

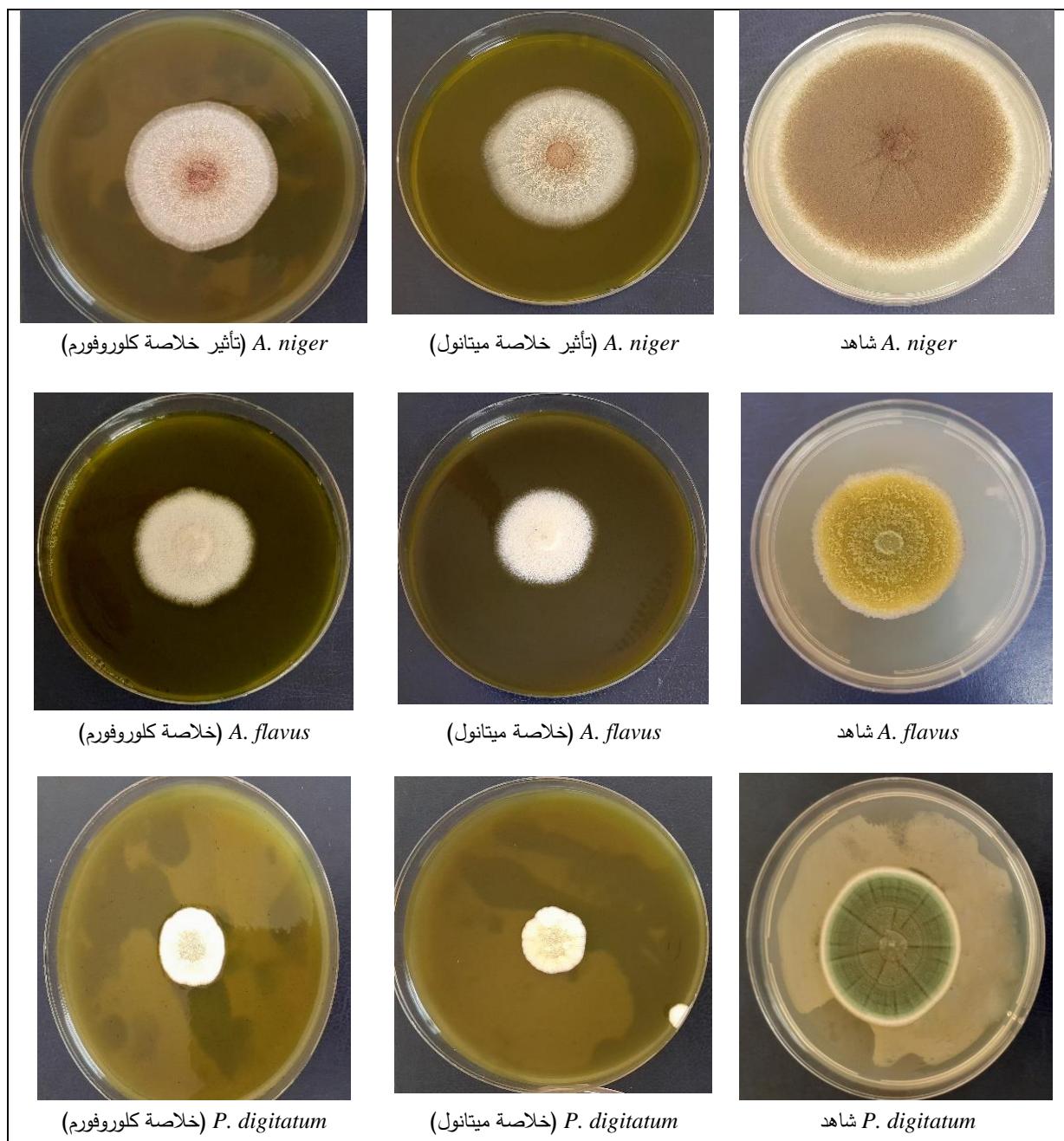
النسبة المئوية للتثبيط (%)			الخلاصة	نوع الفطر	نوع الطحلب	
التركيز 100	التركيز 80	التركيز 60				
41.86	36.28	23.72	ميثانول	<i>A. niger</i>	<i>S. variformis</i>	
40	33.49	20.93	كلوروفورم			
14.47	12.50	7.89	ميثانول			
9.87	6.58	1.97	كلوروفورم			
60.55	57.80	54.13	ميثانول	<i>P. digitatum</i>	<i>S. fluvatile</i>	
55.05	55.96	50.46	كلوروفورم			
48.84	41.86	35.35	ميثانول	<i>A. niger</i>		
44.65	38.14	32.56	كلوروفورم			
40.13	34.21	27.63	ميثانول			
32.24	27.63	23.68	كلوروفورم			
63.30	56.88	52.29	ميثانول	<i>P. digitatum</i>		
60.55	57.80	53.21	كلوروفورم			
43.72	34.88	25.12	ميثانول			
38.14	24.19	18.14	كلوروفورم	<i>A. flavus</i>	<i>S. cracca</i>	
39.47	30.92	26.32	ميثانول			
31.58	20.39	11.84	كلوروفورم			
56.88	51.38	46.79	ميثانول			
54.13	45.87	39.45	كلوروفورم	<i>P. digitatum</i>		

تبين في الدراسة أن فطر *P. digitatum* أكثر حساسية من نوعي الأسبيرجليس للخلاصات الميتانولية والكلوروفورمية حيث بلغت النسبة المئوية للتثبيط عند التركيز 100 ملغ/مل من الخلاصة الميتانولية 60.55%، 63.30% و 56.88% لأنواع الطحالب *S. variformis* على التوالي. وكانت نسبة تثبيط الخلاصة الميتانولية والكلوروفورمية لنمو فطر *A. niger* و *S. cracca* و *S. fluvatile* و *variformis* على التوالي. وكانت نسبة تثبيط الخلاصة الميتانولية والكلوروفورمية لنمو فطر *A. flavus* متقاربة جداً عند التركيز 100 ملغ/مل فقد تراوحت بين 40-41.86% للنوع *S. variformis* ، 44.65-48.84% للنوع *S. fluvatile* و 43.72-43.14% للنوع *S. cracca*. أما بالنسبة للفطر *A. flavus* فقد كان الأقل تحسناً لتأثير الخلاصة الميتانولية والكلوروفورمية فقد تراوحت النسبة المئوية للتثبيط عند التركيز 100 ملغ/مل 9.87-14.74% للنوع *S. variformis* ، 32.24-38.14% للنوع *S. fluvatile* و 31.58-39.47% للنوع *S. cracca*. كما هو موضح في الشكل (1). كما أكدت نتائج الدراسة الإحصائية وجود فروق معنوية بين متوسطات قيم الفعالية لخلاصات الأنواع الثلاثة لطحلب سيروجيرا على الأنواع الثلاثة من الفطريات حيث بلغت قيمة LSD لأنواع الطحلب 0.6 للخلاصة الميتانولية و 0.642 للخلاصة الكلوروفورمية.

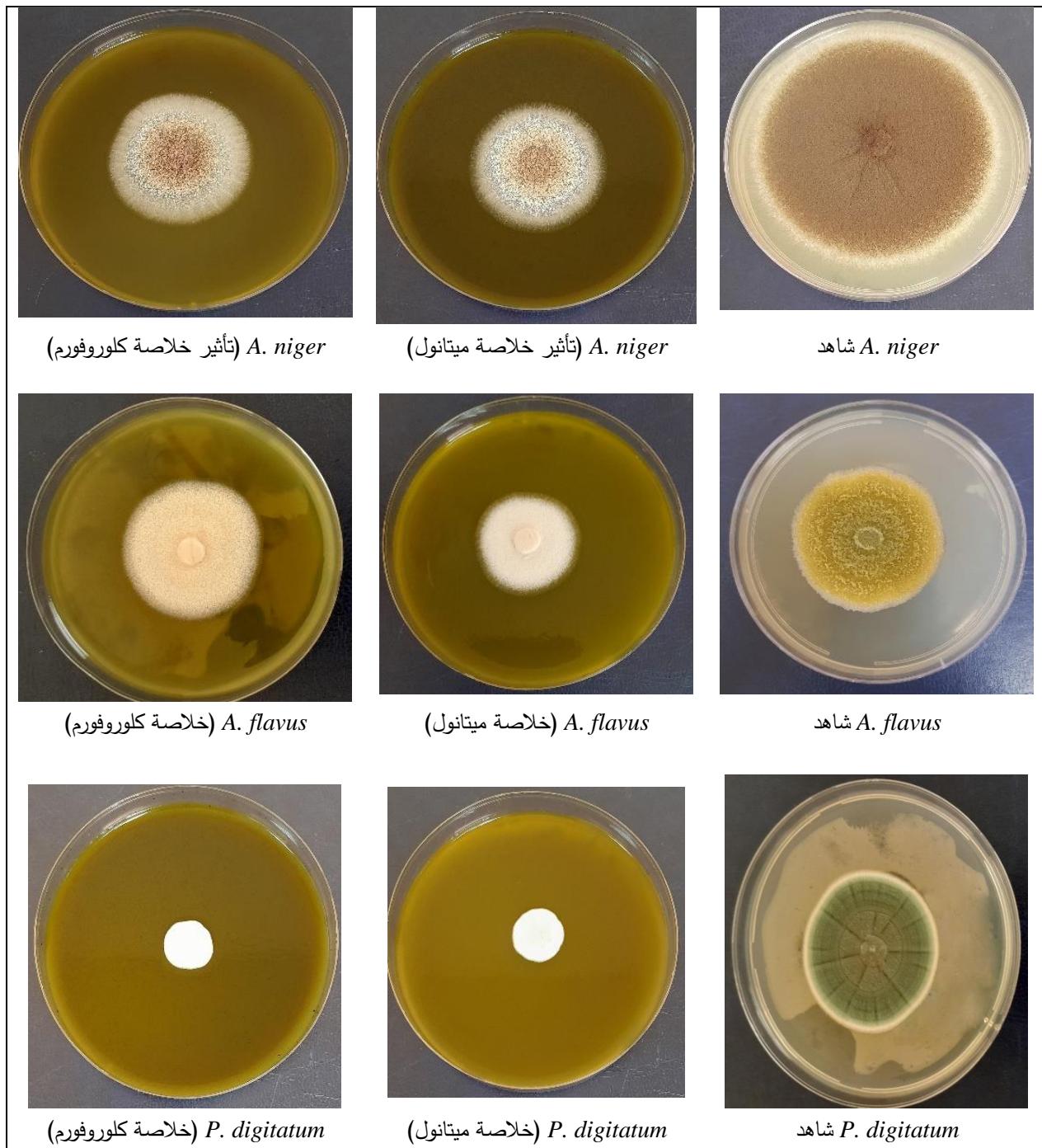


الشكل 1. النسبة المئوية للتحبيط باستعمال خلاصة الميثانول والكلوروفورم.

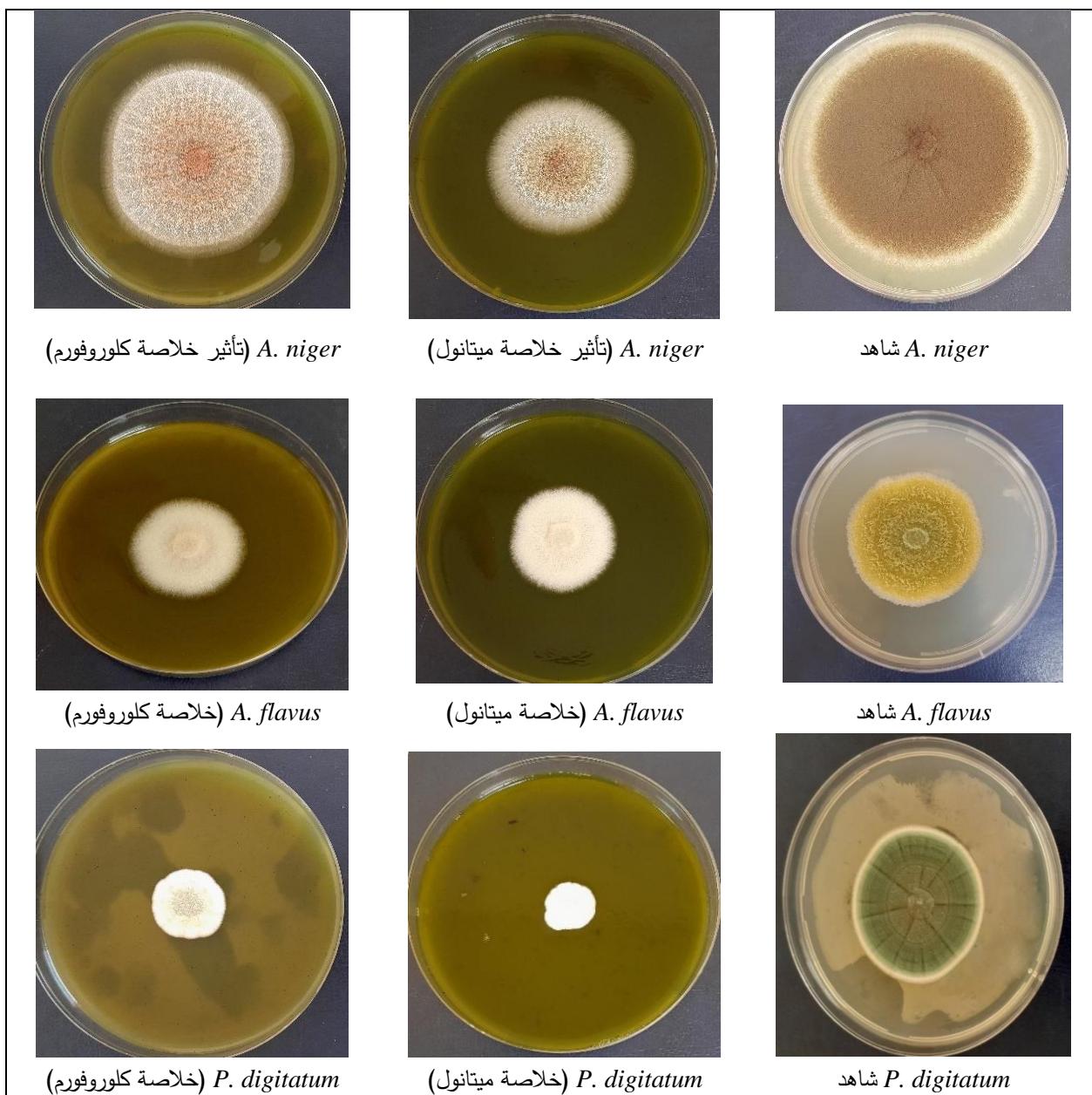
يعود النشاط المضاد للفطريات للخلاصات بسبب وجود المستقلبات الثانوية وهي مواد كيميائية مختلفة مثل مركبات الفلافونويد والتربيونويدات بالإضافة إلى الفينولات التي قد تؤثر على عمليات الاستقلاب والنمو للمشجية الفطرية، كما يمكن أن يكون لها تأثير منشط أو مثبط على نمو الكائنات الحية الدقيقة والفطريات وفقاً لتكوينها وتركيزها (Yu *et al.*, 2009, 130) كما تعمل الفينولات على تقليل من تبوغ مسببات الأمراض الفطرية وتُعزى السمية ضد الفطريات إلى تثبيط الأنزيمات من خلال أكسدة المركبات لديها (Castillo *et al.*, 2012, 83)، وقد ترتبط المركبات الفينولية مع الموضع النشطة للأنزيمات وتغيير طبيعتها وترسب الأنزيمات على شكل معقد يثبط التفاعلات الحيوية الأساسية لنمو وتكاثر الفطريات (Reed 1995, 1518)، كما أن القلويات لها تأثير مماثل للفينولات ولكنها أقل قدرة تثبيطية ضد نمو الكائنات الحية الدقيقة (Al-Rekabi 2011, 39). توافقت نتائج الدراسة مع دراسة Saidani وآخرون عام 2012 حيث بينت تأثير الخلاصة الميثانولية للطحالب الخضراء على فطر *A. niger* (Saidani *et al.*, 2012, 9498)، كما توافقت مع دراسة Vehapi وآخرون عام 2020 حيث بلغت نسبة تثبيط نمو المستعمرة عند استعمال الخلاصة الميثانولية للطحالب الخضراء عند التركيز 100 ملخ/مل 53.3% و 36.3% لكل من فطر *A. niger* وفطر *P. expansum* على التوالي (Vehapi *et al.*, 2020, 450). كما بينت دراسة حديثة لـ Aljbori و Hussei عام 2023 كفاءة جزيئات الفضة النانوية الحيوية المصنعة محلياً بواسطة طحالب *Spirogyra* في تثبيط إنتاج الأفلاتوكسينات Aflatoxins من فطر *A. flavus*.



الشكل 2. شكل المستعمرة عند استعمال خلاصة النوع *S. variformis* ضد ثلاثة أنواع من الفطريات



الشكل 3. شكل المستعمرة عند استعمال خلاصة النوع *S. fluviatile* ضد ثلاثة أنواع من الفطريات.



الشكل 4. شكل المستعمرة عند استعمال خلاصة النوع *S. cracca* ضد ثلاثة أنواع من الفطريات.

الاستنتاجات .

- وجود الغلويديات، الثنائيات، التربينات، الفينولات والفالافونوئيدات في خلاصات جميع أنواع *Spirogyra* المدروسة وهي المركبات الأساسية ذات الفعالية ضد الفطريات.
- خلاصة الميتانول أكثر فعالية لتبطيل نمو المستعمرات الفطرية للأنواع *A. niger*، *A. flavus* و *P. digitatum* من خلاصة الكلوروفورم.
- الفطر *P. digitatum* الأكثر حساسية لتأثير خلاصات أنواع طحلب *Spirogyra*، بينما الفطر *A. flavus* الأقل حساسية للخلاصات من الأنواع الفطرية المدروسة.

الوصيات:

- الكشف عن المركبات الفعالة حيوياً ب Technique الكروموموتوغرافيا السائلة عالية الأداء HPLC.
- دراسة تأثير خلاصات طحلب سبيروجيرا على أنواع أخرى من الفطريات المسببة للأمراض كالـ *Fusarium* و *Alternaria*.
- دراسة إمكانية استعمال خلاصة سبيروجيرا كمبيدات من مصدر طبيعي ضد الفطريات المسببة للأمراض.

المراجع :

1. Al-Abid, M. R. (1985). Zurzzusamme mse turungder Abschla B membrane in Phoenix dactylifera. *Wurzburg University. Wuzzburg, FR of Germany.* pp, 140-153.
2. Al-Haidari, A. M. D. (2013). Effect of the Crude Leaf Extracts of Dodonaea Viscosa on Some of Algae. *Engineering and Technology Journal, 31*(2).p 276-285.
3. Alhajali, O., & Adnan, A. N. (2021). Phytochemical Screening and Antibacterial Activity of Pistacia atlantica and Pinus canariensis Extracts. *Journal of the Turkish Chemical Society Section A: Chemistry, 8*(2), 403-418.
4. Aljbori, N. M., & Hussein, H. Z. (2023, August). Testing the Efficiency of Silver Nanoparticles Manufactured Locally by the Alga Spirogyra in Inhibiting the Fungus Aspergillus flavus and Reduction of Aflatoxin B1. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 1225, No. 1, p. 012062). IOP Publishing.
5. Al-Radadi, N. S., Hussain, T., Faisal, S., & Shah, S. A. R. (2022). Novel biosynthesis, characterization and bio-catalytic potential of green algae (Spirogyra hyalina) mediated silver nanomaterials. *Saudi Journal of Biological Sciences, 29*(1), 411-419.
6. Al-Rekabi, H. (2011). Study the effect of some algae extracts against activity of some fungi, *J. Thi-Qar Univ, 4*(6), 35-42.
7. Ambika, S. and Sujatha, K. (2014). Comparative studies on brown, red and green alga seaweed extracts for their antifungal activity against *Fusarium oxysporum f.sp. udum* in Pigeon pea var. CO (Rg)7 (*Cajanus cajan (L.)* Mills.). *Journal of Biopesticides. 7*(2):167-176.
8. Ansari Naik A, Hemavani C and Thippeswamy B, “Evaluation of antimicrobial property of Spirogyra species”, International Multidisciplinary Research Journal, Vol. 2, No. 2, 2012, pp. 13-15.
9. Castillo, F., Aguilar, C. N., Hernández, D., Gallegos, G., & Rodríguez, R. (2012). *Antifungal properties of bioactive compounds from plants*. INTECH Open Access Publisher.81-106.
10. Champa, P., Whangchai, N., Jaturonglumlert, S., Nakao, N., & Whangchai, K. (2016). Determination of phytochemical compound from Spirogyra sp. using ultrasonic assisted extraction. *GEOMATE Journal, 11*(24), 2391-2396
11. Cho, H. J., Son, S. H., Chen, W., Son, Y. E., Lee, I., Yu, J. H., & Park, H. S. (2022). Regulation of Conidiogenesis in Aspergillus flavus. *Cells, 11*(18), 2796.
12. Costa, J. H., Bazioli, J. M., de Moraes Pontes, J. G., & Fill, T. P. (2019). Penicillium digitatum infection mechanisms in citrus: What do we know so far?. *Fungal biology, 123*(8), 584-593.
13. Daniel, E., Girma, T., & Jayakumar, V. (2019). Bio-assay guided isolation of lead bioactive molecules from Spirogyra rhizopus CC. Jao. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, 8*(3), 3874-3879.
14. Dwaish. S. Ahmed, Yousif. Y. M. Dina and Lefta. N. Siham (2016). Use Of Spirogyra Sp. Extract Against Multidrug Resistant Bacterial Pathogens. *International Journal of Advanced Research, Volume 4, Issue 7*, 575-579
15. Evans, W. (1999). Trease and Evan's Pharmacognosy, 14th (Ed.) WB Saunders Company Ltd.
16. Harborne, A. J. (1998). *Phytochemical methods a guide to modern techniques of plant analysis*. springer science & business media. 208.
17. Harlapur, S. I., Kulkarni, M. S., Wali, M. C., and Srikantkulkarni, H. (2007). Evaluation of plant extracts, bio-agents and fungicides against *Exserohilum turcicum* causing Turcicum leaf blight of Maize. *Journal of Agricultural Science, 20*(3):541-544.
18. Klavina, L., & Kviesis, J. (2015). Solid Phase Extraction of Bryophyte Lipids. *Material Science & Applied Chemistry, 32*(1).
19. Lafka, T. I., Sinanoglou, V., & Lazos, E. S. (2007). On the extraction and antioxidant activity of phenolic compounds from winery wastes. *Food chemistry, 104*(3), 1206-1214.
20. Mohana, D. C., Prasad, P., Vijaykumar, V., and Raveesha, K. A. (2011). Plant extracts effect on Seed-borne pathogenic fungi from seeds of paddy grown in southern India. *Journal of Plant Protectection Research, 51*(2): 101-106.
21. Palencia, E. R., Hinton, D. M., & Bacon, C. W. (2010). The black Aspergillus species of maize and peanuts and their potential for mycotoxin production. *Toxins, 2*(4), 399-416.
22. Peerapornpisal Y (2008) Edible freshwater macroalgae in Northern Thailand. *J Fish Technol Res 1*:178–189.

23. Peerapornpisal, Y. (2007). Edible freshwater macroalgae in Northern Thailand. *Fisheries Science Journal*, 1, 178-188.
24. Pinto T, Gouveia L, Ortigueira J, Saratale GD, Moura P (2018) Enhancement of fermentative hydrogen production from *Spirogyra* sp. by increased carbohydrate accumulation and selection of the biomass pretreatment under a biorefinery model. *J Biosci. Bioeng* 126(2):226–234.
25. Pourakbar, L., Moghaddam, S. S., Enshasy, H. A. E., & Sayyed, R. Z. (2021). Antifungal activity of the extract of a macroalgae, *Gracilaria* *persica*, against four plant pathogenic fungi. *Plants*, 10(9), 1781.
26. Reed, J. D. (1995). Nutritional toxicology of tannins and related polyphenols in forage legumes. *Journal of animal science*, 73(5), 1516-1528.
27. Rutikanga A, Gitu LM, Oyaro N (2014) Mineral composition, antioxidants and antimicrobial activities of freshwater algae (*Spirogyra* genus) from Jomo Kenyatta University of Agriculture and Technology (JKUAT). *World Rural Observ* 6:86–91.
28. Sagar, A., Sayyed, R. Z., Ramteke, P. W., Sharma, S., Marraiki, N., Elgorban, A. M., & Syed, A. (2020). ACC deaminase and antioxidant enzymes producing halophilic *Enterobacter* sp. PR14 promotes the growth of rice and millets under salinity stress. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 26, 1847-1854.
29. Saidani, K., Bedjou, F., Benabdesselam, F., & Touati, N. (2012). Antifungal activity of methanolic extracts of four Algerian marine algae species. *African journal of biotechnology*, 11(39), 9496-9500.
30. Sati, S. C., & Kumar, P. (2015). Assessment of Himalayan juniper, *Juniperus squamata* buch–ham ex d. don for phytochemical screening and antimicrobial potential against some infection causing pathogens. *World J Pharmaceut Res*, 4, 998-1011.
31. Savithramma, N., Rao, M. L., & Suhrulatha, D. (2011). Screening of medicinal plants for secondary metabolites. *Middle-East Journal of Scientific Research*, 8(3), 579-584.
32. Selim, R. E., Ahmed, S. M., El-Zemity, S. R., Ramses, S. S., & Moustafa, Y. T. (2015). Antifungal activity and seasonal variation of green alga (*Ulva lactuca*) extracts. *Asian Journal of Agriculture and Food Sciences*, 3(5)
33. Shannon E, and Abu-Ghannam N (2016) Antibacterial derivatives of marine algae: an overview of pharmacological mechanisms and applications. *Mar Drugs* 14:1–23.
34. Shihata, I. M. (1951). *A pharmalogical study of Anagallis arvensis*. MD Vet (Doctoral dissertation, Thesis, Cairo University. 10
35. Srivastava, A., Villalobos, M. B., & Singh, R. K. (2020). Engineering photosynthetic microbes for sustainable bioenergy production. *Contemporary environmental issues and challenges in era of climate change*, 183-198.
36. Stancheva, R., Hall, J. D., McCourt, R. M., & Sheath, R. G. (2013). Identity and phylogenetic placement of *Spirogyra* species (Zygnematophyceae, Charophyta) from California streams and elsewhere1. *Journal of phycology*, 49(3), 588-607.
37. Thomas, N. V., and Kim, S. K. (2013). Beneficial effects of marine algal compounds in cosmeceuticals. *Marine drugs*, 11(1), 146-164.
38. Vehapi, M., Koçer, A. T., Yılmaz, A., & Özçimen, D. (2020). Investigation of the antifungal effects of algal extracts on apple-infecting fungi. *Archives of microbiology*, 202, 455-471
39. Wizi, J., Ni, L., Darkwah, W. K., & Xianglan, L. (2022). Analysis of Bioactive Compounds from Different Algae Samples Extracted with Ultrasound: Characterizations, Phytochemical Contents and Antioxidant Potentials. *Pharmacognosy Research*, 14(1).
40. Yousif, D. Y., Dwish, A. S., & Shafiq, S. A. (2014). Antifungal activity of algal *Spirogyra* sp. against fungal *Fusarium oxysporum*. *W. J Pharm. Res*, 4(1), 1620-1628.
41. Yu, H., Jia, S., & Dai, Y. (2009). Growth characteristics of the cyanobacterium *Nostoc* flagelliforme in photoautotrophic, mixotrophic and heterotrophic cultivation. *Journal of Applied Phycology*, 21, 127-133.
42. Ziani, K., Fernández-Pan, I., Royo, M., & Maté, J. I. (2009). Antifungal activity of films and solutions based on chitosan against typical seed fungi. *Food Hydrocolloids*, 23(8), 2309-2314.