

## تأثير بعض المستخلصات المائية للمخلفات الحيوانية ضد الفطرين

### *Aspergillus flavus* و *Aspergillus niger*

محمد علي السندي\* ومحمود أحمد الميسري\*\*

\*قسم الأحياء كلية التربية/ عدن، جامعة عدن

\*\*قسم الأحياء كلية التربية/ زنجبار، جامعة أبين

DOI: <https://doi.org/10.47372/uajnas.2022.n1.a01>

### الملخص

تم تنفيذ التجربة في مختبر قسم الأحياء كلية التربية / صبر-جامعة عدن-اليمن خلال الفترة مايو- يوليو 2017م. لمعرفة فعالية أربعة أنواع من المستخلصات المائية للمخلفات الحيوانية وهي روث الأبقار، وروث الأغنام، وروث الحمير، وزرق الدواجن (10 % وزن / حجم) ضد الفطرين *Aspergillus niger* المسبب للعفن الأسود في البصل، *Aspergillus flavus* المسبب للعفن في الفول السوداني. تشير النتائج إلى وجود فروق معنوية بين المعاملات المختلفة وكانت فعالية زرق الدواجن الأكثر فاعلية بين المعاملات المختلفة ضد الفطرين *A. niger*، *A. flavus* حيث بلغت نسبة التثبيط 70.69، 67.30% على التوالي. وكانت الفعالية الأدنى لروث الحمير حيث لم تتجاوز نسبة التثبيط 36.53، 30.81% على التوالي. وبناءً عليه فإن نتائجنا تشير إلى فعالية المستخلصات المائية للمخلفات الحيوانية (روث الأبقار، وروث الأغنام، وروث الحمير، وزرق الدواجن (10 % وزن / حجم)) ضد الفطرين *Aspergillus niger* المسبب للعفن الأسود في البصل، *Aspergillus flavus* المسبب للعفن في الفول السوداني ولكن بصورة متفاوتة.

**الكلمات المفتاحية:** مخلفات الحيوانات، المستخلصات المائية، فطريات، *Aspergillus niger*، *Aspergillus flavus*.

### المقدمة:

الآفات الفطرية من أخطر الآفات التي تتعرض لها المحاصيل الزراعية وتتسبب في خسائر اقتصادية كبيرة للإنتاج الزراعي. وقد أشارت بعض الدراسات إلى أن الأمراض الفطرية تؤدي إلى خسائر قد تصل إلى 12 % (20). وتعتبر فطريات *Aspergillus niger*، *Aspergillus flavus* من الفطريات الواسعة الانتشار وتصيب عدد كبير من المحاصيل الزراعية حيث تؤدي الإصابة إلى تعفن المنتجات الزراعية (26). وتلعب العوامل المناخية (الرطوبة والحرارة) في المناطق الاستوائية بدور مؤثر وكذلك الطرق الزراعية بالإضافة إلى وسائل النقل والمخازن في زيادة الخسائر من خلال ارتفاع الصابة بالفطريات التي تؤدي بدوره إلى خسائر مادية عالية (5، 6، 8، 10، 15، 16، 18، 21، 23). كما أكدت العديد من الدراسات ان الفطر *A. flavus* ينتج سموم خطيرة على صحة الانسان والحيوان (7، 10، 15، 18، 24، 23، 25، 28) ومن اهم السموم الذي ينتجها هذا الفطر الفلاتوكسين Aflatoxin تؤدي إلى إصابة الإنسان بمرض سرطان الكبد كما أكدت الدراسة (27). وقد أكدت التجارب أن استعمال المبيدات الكيميائية الفطرية لمكافحة هذه الفطريات من أكثر طرق مكافحة فعالية للحد من الخسائر التي تسببها هذه الفطريات مثل برميد الميثيل المستخدم في تعقيم التربة (13). إلا أن هذه المبيدات الكيميائية تتسبب في جملة من المشاكل منها إيجاد سلالات مقاومة لهذه المبيدات بالإضافة إلى تكاليفها الباهظة كما أنها تشكل خطورة كبيرة على البيئة والكائنات غير المستهدفة لذلك كان من الضروري البحث عن مصادر مكافحة تُعتمد نهج صديق للبيئة (17). وقد أظهرت العديد من الدراسات أن

استعمال الأسمدة العضوية ومستخلصاتها يزيد في الإنتاج الزراعي ومكافحة أمراض النبات وتعتمد تأثيراتها على طريقة إنتاجها (تخمرها)، وقد وجد أن الأسمدة العضوية المنتجة هوائياً (المتخمرة هوائياً) تكون فيها كثافة المحتوى من الكائنات الدقيقة المفيدة عالية وتكون فعالة في مكافحة الأمراض (15). وتعد الأسمدة العضوية من العوامل الإيجابية المخفضة للعديد من الأمراض، واستخدام الأسمدة العضوية من الطرق السهلة والفعالة في مكافحة الأمراض بسبب كثرة الكائنات الدقيقة الموجودة فيها طبيعياً (9،29). وتعتمد مكافحة الحيوية للأسمدة العضوية على الميكروبات المضادة Antagonists الموجودة فيها والتي تعمل على تثبيط الكائنات الدقيقة الممرضة Pathogens للنبات.

ويعد استخدام الأسمدة العضوية المتخمرة من الطرق الحديثة للسيطرة على الأمراض والمعلومات في هذا الموضوع تتزايد غير أن الكثير من هذه الأعمال طبقت في المناخ الاستوائي (11). وقد أجريت هذه الدراسة بهدف معرفة تأثير المستخلصات المائية للمخلفات العضوية المتخمرة في فطريات *Aspergillus niger*، *Aspergillus flavus*.

## مواد وطرق البحث

### 1. تجهيز المخلفات الحيوانية

#### 1.1. تخمير المخلفات العضوية

أحضرت أربعة أنواع من المخلفات الحيوانية (روث الأبقار، وروث الحمير، وروث الأغنام، وزرق الدواجن)، وجففت هذه المخلفات الحيوانية ونظفت من الشوائب المختلفة (الحصى والأجسام الصغيرة وبقايا النباتات والريش والشوائب الأخرى) وقد تم تخميرها من خلال إضافة الماء إليها أسبوعياً مع التقليب المستمر لمدة ثلاثة أشهر.

#### 2.1. تحضير المستخلصات المائية للمخلفات الحيوانية

استعملت الأنواع الأربعة من المخلفات الحيوانية (روث الأبقار، وروث الحمير، وروث الأغنام، وزرق الدواجن) المتخمرة في الدراسة. حيث سحقت هذه المخلفات الحيوانية كل على حدة وتم وزن 10 جم من كل نوع وضع كل منها في قارورة زجاجية ملونة أكمل بالماء المقطر إلى حجم 100 مل). تركت المحاليل لمدة 18 ساعة في مكان دافئ مع الرج لمدة 10 دقائق كل 3 ساعات بمعدل 400 دورة/ دقيقة بواسطة جهاز التسخين والدوران المغناطيسي موديل 3001MR ثم رشح المحلول بواسطة شاش معقم للحصول على محلول المستخلص المائي للمخلفات الحيوانية من كل نوع من أنواع المخلفات بتركيز 10% وزن/ حجم، حفظ المستخلص في الزجاجات نظيفة ومعقمة لحين الاستعمال (1).

### 2. عزل الفطريات الممرضة *A. niger*، *A. flavus*

تم الحصول على الفطريات الممرضة *A. niger* المسبب لمرض العفن الأسود و *A. flavus* العفن الأخضر من محصولي البصل والفول السوداني المصابة التي تم الحصول عليها من مزرعة في منطقة المناصرة- محافظة لحج. وقد عزلت الفطريات بعد تقطيع البصل وحبوب الفول السوداني إلى قطع صغيرة (0.5-1سم) غسلت بماء الحنفية ثم بالماء المقطر وعقمت سطحياً بمحلول هايبيوكلوريد الصوديوم 1% لمدة 5 دقائق، ثم غسلت بالماء المقطر المعقم مرة أخرى لإزالة أثر محلول هايبيوكلوريد الصوديوم 1% ووضعت الأجزاء المصابة في وسط أطباق بتري الزجاجية 90 × 20 ملم التي تحتوي على البيئة الغذائية آجار ديكستروز البطاطس Potato Dextros Agar PDA وحضنت على درجة حرارة (28 ± 2 °م) لمدة 5 أيام. المستعمرات النامية للفطر نقلت إلى أطباق جديدة للتنقية، وأجريت عملية التنقية على الوسط الغذائي نفسه بإتباع طريقة

طرف الهيفال Hyphal Tip تبعًا لـ (14). وبعدها شخّصت الفطريات الممرض بالاعتماد على الصفات الظاهرية لكل فطر (12). وحفظت بالثلاجة لحين استعمالها في التجربة.

### 3. تحضير بيئة PDA

تم وزن 200 جم من البطاطس وغسلها وتقطيعها إلى مكعبات صغيرة وتم غليها في لتر من الماء المقطر لمدة 15 إلى 20 دقيقة حتى أصبحت طرية ثم رشح المحلول عبر قطعة من الشاش المعقم وتم عصر مكعبات البطاطس من خلال الشاش المعقم أيضا. ومن ثم تم أضاف 20 جم أجار، و20 جم ديكستروز وأكمل المحلول بالماء المقطر المعقم إلى لتر ثم حفظ الراشح من أجار ديكستروز البطاطس Potato Dextros Agar PDA في دوارق في الثلاجة (4°م) لحين الاستعمال (3،4).

### 4. اختبار فعالية المستخلصات المائية للمخلفات الحيوانية ضد الفطر *A.niger*

جهزت 30 من أطباق بتري الزجاجية 90 x 20 ملم من خلال غسلها وتعقيمها وغُتت أيضًا البيئات الغذائية Potato Dextros Agar PDA عند 121 درجة مئوية و1 ضغط جوي لمدة 20 دقيقة في جهاز الاتوكلاف موديل 4001404 Cod وزعت البيئات الغذائية بمعدل 20 مل/طبق. أضيفت المستخلصات المائية من روث الأبقار، والحمير، والأغنام، وزرق الدواجن المتخمرة بتركيز 10% وزن/حجم وذلك بمعدل 0.5 مل/طبق ماعدا الشاهد الذي أضيف إلى بيئته الغذائية 0.5 مل من الماء المقطر. لقت الأطباق بالفطر *A.niger* عن طريق وضع قرص قطره 5 ملم من مزرعة للفطر عمرها خمسة أيام في مركز كل طبق. حفظت في درجة حرارة 28±2 درجة مئوية. وسجلت النتائج بحساب قطرين متعامدين للمستعمرات الفطرية بعد 6 أيام، كررت الخطوات السابقة مرة أخرى مع الفطر *A.flavus* وحسبت النسبة المئوية للتثبيط. النسبة المئوية للتثبيط = ق ش - ق م / ق ش x 100 (15) حيث:  
ق ش = قطر الشاهد  
ق م = قطر المعاملة

### 5. التحليل الإحصائي

أجري التحليل الإحصائي في هذه الدراسة باستعمال برنامج Genstat5 وأجريت التجربة باستعمال التصميم العشوائي الكامل حيث إن لكل معاملة أربعة تكرارات وعرضت البيانات المتحصل عليها لتحليل التباين (ANOVA) ولقد تم اختبار جميع الفروق بين جميع المتوسطات الداخلة في هذه الدراسة من البيانات المتحصل عليها باستعمال اختبار معنوية الفروق بين المتوسطات LSD عند مستوى 5%.

## النتائج والمناقشة

### 1. اختبار فعالية المستخلصات المائية للمخلفات الحيوانية ضد الفطر *A.niger*

أظهرت جميع المستخلصات المائية للمخلفات الحيوانية ضد الفطر *A.niger* فعالية كبيرة من خلال النتائج في جدول (1). ووجد أن أقل معدل لنمو الخيوط الفطرية لفطر *A.niger* كان 2.60 سم في المستخلصات المائية لمخلفات الدواجن المتخمرة (زرق الدواجن) بالمقارنة مع المعاملات الأخرى ووجد أن نسبة التثبيط وصلت إلى 70.69% بينما كانت أدنى فعالية لمستخلص المائي لروث الحمير المتخمر حيث لم تتجاوز نسبة التثبيط 36.53%.

## 2. اختبار فعالية المستخلصات المائية للمخلفات الحيوانية ضد الفطر *A.flavus*

وقد أظهرت النتائج المتحصل عليها من التجربة في جدول (2) ان جميع المستخلصات للمخلفات الحيوانية كانت فعالة بدرجات متفاوتة ولكن أعلى فعالية كانت للمستخلص المائي لزرق الدواجن المتخمر حيث لم تتجاوز نسبة نمو الفطر في هذه المعاملة إلى 2.94 سم. بينما كانت معاملات المستخلصات المائية للمخلفات الحيوانية الأخرى بين 4.92 – 6.22 سم مقارنة بالشاهد الذي وصل إلى 8.99 سم. وربما تعود الفعالية إلى بعض المركبات والكائنات الدقيقة التي تحتويها هذه الأسمدة. والجدير بالذكر أن هذه النتائج كانت مشابهة مع النتائج التي توصل إليها حسن (2) عندما اختبر تأثير أربعة أنواع من المخلفات الحيوانية (أغنام، أبقار، دواجن، خيول) علاوة على مخلفات المجاري.

الجدول (1) فعالية المستخلصات المائية للمخلفات العضوية ضد نمو الفطر *A.niger*

المعاملات	معدلات نمو الميسيليوم بالسم	% للتثبيط
زرق الدواجن	2.60 <sup>a</sup>	70.69
روث الأغنام	4.49 <sup>b</sup>	49.38
روث الأبقار	5.58 <sup>c</sup>	37.09
روث الحمير	5.63 <sup>d</sup>	36.53
الشاهد	8.87 <sup>e</sup>	00.00
L.S.D	0.022774	

الأرقام الموجودة في نفس العمود التي تحمل حروف مختلفة تدل وجود فروق إحصائية معنوية عند مستوى 5%

الجدول (2): فعالية المستخلصات المائية للمخلفات العضوية ضد نمو الفطر *A.flavus*

المعاملات	معدلات نمو الميسيليوم بالسم	% للتثبيط
زرق الدواجن	2.94 <sup>a</sup>	67.30
روث الأغنام	4.92 <sup>b</sup>	45.27
روث الأبقار	5.34 <sup>c</sup>	40.60
روث الحمير	6.22 <sup>d</sup>	30.81
الشاهد	8.99 <sup>e</sup>	00.00
L.S.D	0.015321	

الأرقام الموجودة في نفس العمود التي تحمل حروف مختلفة تدل وجود فروق إحصائية معنوية عند مستوى 5%

## المراجع

1. السندي، محمد علي (2009)- اختبار تأثير المواد النباتية و الأسمدة العضوية و مستخلصات التربة في مكافحة فطريات الذبول التي تصيب بذور بعض المحاصيل الاقتصادية- رسالة دكتوراه- كلية ناصر للعلوم الزراعية- جامعة عدن- الجمهورية اليمنية- ص45.
2. حسن، محمد صادق (2011)- تقويم فاعلية بعض الفطريات وبعض مستخلصات المخلفات العضوية في مكافحة الفطر *solani Rhizoctonia* على الطماطة - مجلة ديالى للعلوم الزراعية ، 3 ( 1 ) : 61 - 67 .
3. شعير، حلمي يحيي آل قاسم، محمد يحيي أحمد (1996)- أمراض النبات وطرق الدراسة العملية- البيئات المغذية- جامعة الملك سعود-المملكة العربية السعودية- ص27.
4. قاسم، نوال أحمد(1991)- تعقيم بذور السمسم *S. indicum* بالمطهرات الفطرية لمكافحة عفن الجنور- تقارير المجموعة البحثية للمحاصيل الصناعية- محطة الأبحاث الزراعية- الكود- اليمن- ص71- 74.

- 5 .Abdel-Gawad K.M ,Zohri A.A -(1993 ),Fungal flora and mycotoxins of six kinds of nut seeds for human consumption in Saudi Arabia .*Mycopathologia*.64-55 :( 1)124 .
6. Bankole, S. A. and Joda, A. O. (2004) Effect of lemon grass (*Cymbopogon citrates* Stapf) powder and essential oil on mould deterioration and aflatoxin contamination of melon seeds (*Colocynthis citrullus* L.). *African Journal of Biotechnology*, 3(1), 52-59.
7. Belmont R.M. and Carjaval. M. (1998).Contol of *Aspergillus flavus* in maize with plant essential oils and their components.*J.Foodprot*. 61:616-619.
8. Bhattacharya K, Raha aechS.( 2002)- Deteriorative changes of maize, groundnut and soybean seeds by fungi in storage. *Mycopathologia*. 155(3): 135-41.
9. Boehm, M. J., Madden. L.V., and Hoitink. H. A. J.(1993)- Effect of organic matter decomposition level on bacterial species diversity and composition in relationship to *Pythium* damping-off severity. *Appl. Environ. Microbiol*. 59:4171-4179.
10. Candlish, A. A. G., Pearson, S. M., Aidoo, K. E., Smith, J. E., Kell, B., & Irvine, H. (2001)-A survey of ethnic foods for microbial quality and aflatoxin content. *Food Additives and Contaminants*. 18: 129–136.
11. D'Addabbo, T.(1995)- The nematicidal effect of organic amendmets: A review of the literature, 1982–1994. *Nematol. Medit*. 23: 299–305.
12. Domsch, K.H., W. Gams and T. Anderson.(1980)- *Compendium of soil fungi*, VI. Academic press.PP 589.
13. Duniway, J.M.(2002)- Status of chemical alternatives to methylbromide for pre-plant fumigation of soil. *Phytopathology*-Vol. 92 (12) p. 1337-1343.
14. Flentje,N.T. and Sakesena, H.(1957)- Studies on *Pelliculariafilamentosa*(Pat)Rogers.II. Occurrence and distribution of pathogenic strains. *Transactions of the British Mycological Society*, 40: 95-108.
15. Galvano, F., Piva, A., Ritieni, A., & Galvano, G. (2001). Dietary strategies to counteract the effects of mycotoxins. *Review of Journal of Food Protection*. 64: 10–131.
16. Heperk, D., Aran, A., Ayfer, M.,(1994) Mycoflora and aflatoxin contamination in shelled pistachio nuts. *J Sci Food Agr* 66(3):273-8.
- 17.Hussain,A.I., Anwar.F., HussainSherazi,S.T., Przybylski,R.( 2008) [3% %33Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil \(\*Ocimumbasilicum\*\) essential oils depends on seasonal variations](#)- Vol 108 (3): 986-995.
18. Juglal, ., Govinden, R., Odhav, B. (2002)- Spice oils for the control of co-occurring mycotoxin producing fungi. *Journal of Food Protection*. (65) 683S–687.
19. Khan. R., Shahzad S., Choudhary M. I., Khan S. A., Ahmad A.,( 2007)- Biodiversity of the endophytic fungi isolated from *calotropis procera* (AIT.) R. BR. *Pak. J. Bot.*, 39(6): 2233-2239.
- 20.Lee, S.E., J.E. Kim and H.S. Lee (2001)- Insecticide resistance in increasing interest. *Agri. Chem.Biotechnol.*, 44: 105-112.
21. Njobeh, P.B., Dutton, M.F., Koch, S.H., Chuturgoon, A., Stoev, S., Seifert, K., ( 2009)- Contamination with storage fungi of human food from Cameroon. *Int J Food Microbiol*. 135(3): 193-198.
22. Pandey, D. K., Tripathi. N. N., Tripathi. R. O., Dixit. S. N. (1982) - Fungitoxic and Phytotoxic properties of essential oil of *Phyllissauvolensis*. *Pfkrankh. Pfschutz*. 89: 344-346. 12. Pandey, D. K., Tripathi. N. N., Tripathi. R. O., Dixit. S. N. (1982) - Fungitoxic and Phytotoxic properties of essential oil of *Phyllissauvolensis*. *Pfkrankh. Pfschutz*. 89: 344-346.
- 23.Paster. N. Menasherov M, Ravid U. Juven. B. (1995) .Antifungal activity of oregano and thyme essential oils applied as *fumigants* against fungi attacking stored grain. *J. Food protect*. 58:81-85.

24. Rasooli. I. Abyaneh. M.R. (2004)-Inhibitory effects of thyme oils on growth and aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus*. *Food Control*. 15: 479-483.
25. Sahin. I. and Korukluoglu. M. (2000)- Mould-Food-Human. Uludag University Pres, Vivas, Bursa. Pp. 3-122 (In Turkish).
26. Saleemulla, A.I., Khalil, I.A., Shah, H., (2006)- Aflatoxin contents of stored and artificially inoculated cereals and nuts. *Food Chem*. 98: 699-703.
27. Scholl. P. and Groopman. J.D. (1995)- Epidemiology of human aflatoxin exposures and its relationship to liver cancer. In: Eklund, M., Richard, J.L. and Mise, K. eds. *Molecular approaches to food safety, issues involving toxic microorganisms*. Fort Collins, Colorado, Alaken. Inc., pp. 169-182.
28. Soliman. K.M. and Badeaa. R.I. (2002)- Effect of oil extracted from some medicinal plants on different mycotoxigenic fungi. *Food Chem. Toxicol*. 40: 1669-1675.
29. You, M. P., and Sivasithamparam. k. (1995)- Changes in microbial populations of an avocadoplantation mulch suppressive to *Phytophthora cinnamomi*. *Appl. Soil Ecol*. 2:33-43.

## The effect of some water extracts of animal waste against the fungi *Aspergillus niger* and *Aspergillus flavus*

Muhammad Ali Al-Sunaidi\* and Mahmoud Ahmad Al-Maisari\*\*

\*Biology Department, College of Education, Aden University, Aden

\*\*Department of Biology, College of Education/ Zanzibar, Abyan University

DOI: <https://doi.org/10.47372/uajnas.2022.n1.a01>

### Abstract

The experiment was carried out in the laboratory of the Biology Department, College of Education/ Sabr - University of Aden – Yemen, during the period May- July 2017. The aim of this study is to find out the effectiveness of four types of aqueous extracts of animal waste, namely cow manure, sheep manure, donkey manure, and poultry blue (10% weight/volume) against *Aspergillus niger* that causes black rot in onions, *Aspergillus flavus* that causes rot in peanuts. There were significant differences between the different treatments, and the effectiveness of poultry glaucoma was the most effective among the different treatments against the fungi *A .niger*, *A .flavus* where the inhibition rate was 70.69, 67.30% over the following. The lowest effectiveness of donkey manure where the inhibition percentage did not exceed 36.53 and 30.81%, respectively.

Accordingly, our results indicate the effectiveness of aqueous extracts of animal waste (cow manure, sheep manure, donkey manure, and poultry glaucoma (10% weight/volume)) against *Aspergillus niger* that causes black rot in onions, *Aspergillus flavus* that causes rot in peanuts, but in a similar way. uneven.

**Key words:** animal waste, aqueous extracts, *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus* .