دولة ليبيا

وزارة التعليم

الأكاديمية الليبية مصراتة

قسم علوم الحياة

شعبة الأحياء الدقيقة

تأثير مستخلصات العكبر الليبي على بعض الكائنات الحية الدقيقة الممرضة والملوثة للغذاء

Effect of Libyan Propolis Extracts on Some Pathogenic and Food Contaminated Microorganisms

قدمت هذه الرسالة استكمالاً لمتطلبات نيل درجة الإجازة العالية الماجستير في مجال الأحياء الدقيقة

مقدمة من طالبة الدراسات العليا

رجاء محمد عبد الله أبوشويقير

تحت إشراف الأستاذ الدكتور

فرج علي بالقاسم أبوشعالة

أستاذ الأحياء الدقيقة بكلية العلوم / جامعة مصراتة

2019

الإهـــــداء

إلى روح من ربتني على الحق وبذل الخير.. وعلمتني أن الحياة أخد وعطاء.. وزرعت في الصبر والإرادة.. اليوم أحصد ثمرة جهدي برضاها عني.. أمــي الحنـونـة رحمها الله

إلى من علمني العطاء بدون انتظار.. إلى من أحمل أسمه بكل افتخار.. أرجو من الله أن يمد في عمره ليرى ثماراً قد حان قطافها بعد طول انتظار.. أبـي الغـالي

إلى الذي كلما تظلمت الطريق أمامي لجأت إليه فأنارها لي.. وكلما دب اليأس في نفسي زرع فيّ الأمل لأسير قدما.. وكلما سألت عن المعرفة زودني بها.. وكلما طلبت كمية من وقته الثمين وفره لي بالرغم من مسؤولياته المتعددة.. مشرفي الأستاذ الدكتور فــرج عــلي أبـوشعـالـة

إلي رفيق عمري وسندي في الحياة.. إلى من زرع التفاؤل والأمل في طريقي.. ودفعني إلى الأمام لتحقيق طموحي.. زوجــي المحــب

إلى فلذات كبدي.. وقرة عيني.. وتكتمل سعادتي في وجودهم.. فأحفظهم يا الله لي.. بنـاتي روعــه ورنيـم

إلى من حبهم يجري في عروقي.. وتلهج بذكراهم قلبي.. إلى من عاشوا معي الحياة بحلوها ومرها.. إلى أهل الوفاء.. ومنبع الإخاء.. ورصيدي في الحياة.. إخوتــي وأخواتــي

إلى تلك النجوم التي تزين سماء حياتي.. وتنير درب طريقي.. إلى من وقفوا معي في السراء والضراء.. صـديقــاتــي الوفيــات

إلى من علمني كيف أمسك القلم.. وكيف أكتب وأختار الكلمة.. إلى من علمني حرف من ذهب.. وكلمات من درّر وعبارات من أسمى العبارات في العلم.. أسـاتـذتــي الكـرام

إليكم جميعا أهدي خلاصة جهدي المتواضع.

...رجـــــاء

الشـكر والتقـديـر

الحمد لله حمدا كثيراً، كما يحب ويرضى على نعمته التي أنعم بها عليّ، وعلى عطائه الجزيل سبحانه وتعالى ومن ذلك نعمة الصبر على تحصيل العلم والمعرفة التي أمدتني بالقدرة على انجاز هذا البحث والصلاة والسلام على رسول الله، أفصح من نطق، وأبلغ من خطب، وعلى آله وصحبه الذين ملكوا عنان البيان، وأعطوا فصاحة اللسان

بدأت بالكثير من التعب، وقاسيت أكثر من هم، وها أنا اليوم أطوي تعب السنين وتعب الليالي نحو تحقيق هذا الذي بين أيديكم، ولم أكن أعلم أنه سوف يأتي وقت تتبعثر فيه الحروف على لساني وتضيع المرادفات التي تمكنني من أن أقول كلمة شكر تليق بكل من له يد في هذا الإنجاز المتواضع

وإلى عني إلا أن أتقدم بجزيل الشكر والامتنان من القلب لن تكفيه الكلمات إلى دكتوري الفاضل

"أ. د. فرج علي بالقاسم أبوشعالة "

الذي تفضل مشكورا بالإشراف على هذه الرسالة وتقديم توجيهاته وانتقاداته البناءة لإنجازها بهذه الصورة كما نتوجه بخالص الشكر والامتنان إلى الدكتور فتحي الأميل والأستاذ مهند الو شيش والأستاذ محمد حسونه على توفير المعلومات ومقدرة لهما ما خصصاه لي من ثمين أوقاتهما كما أشكر الأستاذ الصديق بالحاج على مساعدته في إجراء التحليل الإحصائي

وأتوجه بخالص الشكر والعرفان إلى أعضاء هيئة التدريس بقسم الأحياء الدقيقة وإلى كل زميلاتي وزملائي الفنيين والمعيدين بالقسم، ولكل من قدم لي يد العون خلال فترة الدراسة والبحث

وأخيراً وليس آخر الكلام شكري واحترامي لجميع أفراد أسرتي، لما بذلوه من صبر وجهد طيلة فترة إعدادي لهذا البحث

فحفظكم الله جميعا بكامل الصحة والعافية والسعادة والله ولي التوفيق

...رجـــــــاء

فهـرس المحتـويـــات List of Contents

ت	الموضوع	رقم الصفحة
	الفصل الأول	
1	المقدمة	2
1.1	تمهيد	2
2.1	العكبر Propolis	3
3.1	التركيب الكيميائي للعكبر	5
4.1	فعالية مادة العكبر العلاجية	6
5.1	العوامل المؤثرة على العكبر	9
6.1	أهداف الدراسة	10
	الفصل الثاني	
2	الدراسات السابقة	13
1.2	تأثير العكبر على البكتيريا	13
2.2	تأثير العكبر على الفطريات والخمائر	19
3.2	المواد الفعالة وميكانيكية التأثير	23
4.2	الأمراض المتسببة عن بعض الأحياء الدقيقة	25
	الفصل الثالث	
3	المواد وطرائق البحث	28
1.3	جمع العينات	28
2.3	الكائنات الحية الدقيقة المختبرة	28
3.3	المحاليل الكيميائية والمواد المستخدمة	29
4.3	المضادات الحيوية والمبيدات المستخدمة	29
5.3	الأجهزة المستخدمة	30
6.3	الأوساط الغذائية المستخدمة	30
7.3	استخلاص العكبر	31
8.3	تأثير المستخلص الكحولي للعكبر على البكتيريا	31
9.3	تأثير المستخلص الكحولي للعكبر على الفطريات والخمائر	32

10.3	التحليل الاحصائي	32
الفصل الرابع		
4	النتائج	34
1.4	كفاءة مستخلصات العكبر للمناطق المختلفة في تثبيط بعض الأنواع البكتيرية الممرضة والملوثة للغذاء	34
2.4	تأثير مستخلصات العكبر الليبي على بعض الأنواع البكتيرية الممرضة للإنسان والملوثة للغذاء	37
3.4	تأثير العكبر والمضاد الحيوي على بكتيريا المدروسة	40
4.4	كفاءة العكبر المنتج من المناطق المختلفة في تثبيط الخمائر الممرضة والملوثة للغذاء	42
5.4	تأثير مستخلصات العكبر على بعض أنواع الخميرة الممرضة للإنسان والملوثة للغذاء	44
6.4	تأثير العكبر والمستحضر الطبي Nystatin على الخمائر المدروسة	47
7.4	كفاءة العكبر المنتج من المناطق المختلفة في تثبيط بعض الفطريات الممرضة والملوثة للغذاء	49
8.4	تأثير مستخلصات العكبر الليبي على بعض أنواع الفطريات الممرضة للإنسان والملوثة للغذاء	52
9.4	تأثير العكبر والمبيد الكيميائي على الفطريات المدروسة	55
الفصل الخامس		
5	المناقشة	58
1.5	تأثير العكبر على أنواع البكتيرية موضوع الدراسة	58
2.5	تأثير العكبر على الخمائر موضوع الدراسة	60
3.5	تأثير العكبر على بعض الفطريات موضوع الدراسة	61
–	الملخص	72
–	التوصيات والدراسات المستقبلية	80
–	المراجع	82
–	ملاحق	

فهرس الجداول والأشكال List of Tables & Figures

فهرس الجداول		
ت	العنوان	رقم الصفحة
1	الأمراض المتسببة عن بعض الأحياء الدقيقة	26
2	أنواع البكتيريا المختبرة	28
3	تركيب الوسط الغذائي Mannitol salt agar	30
4	تركيب الوسط الغذائي PDA	30
5	كفاءة مستخلصات العكبر للمناطق المختلفة في تثبيط بعض الأنواع البكتيرية	36
6	تأثير مستخلصات العكبر على بعض الأنواع البكتيرية الممرضة للإنسان والملوثة للغذاء	38
7	تأثير مستخلص العكبر والمضاد الحيوي على البكتيريا	41
8	كفاءة مستخلصات العكبر للمناطق المختلفة في تثبيط بعض أنواع الخميرة	43
9	تأثير مستخلصات العكبر على بعض أنواع الخميرة الممرضة للإنسان والملوثة للغذاء	45
10	تأثير مستخلص العكبر والمستحضر الطبي على الخمائر	48
11	كفاءة مستخلصات العكبر للمناطق المختلفة في تثبيط بعض الأنواع الفطرية	51
12	تأثير مستخلصات العكبر على بعض أنواع الفطريات الممرضة للإنسان والملوثة للغذاء	52

13	تأثير مستخلص العكبر والمبيد الكيميائي على الفطريات	56
فهرس الأشكال		
1	كفاءة مستخلصات العكبر للمناطق المختلفة في تثبيط بعض الأنواع البكتيرية	37
2	متوسط أقطار التثبيط لبعض أنواع البكتيريا	39
3	يوضح البكتيريا الملوثة للغذاء	39
4	يوضح البكتيريا الممرضة	39
5	تأثير العكبر والمضاد الحيوي على البكتيريا	42
6	كفاءة العكبر من المناطق المختلفة في تثبيط بعض أنواع الخميرة	44
7	متوسط قطر التثبيط لبعض أنواع الخميرة	46
8	يوضح الخميرة الممرضة	46
9	يوضح الخميرة الملوثة للغذاء	46
10	تأثير العكبر والمستحضر Na على الخمائر	49
11	كفاءة العكبر من المناطق الثلاث لتثبيط بعض أنواع الفطريات	51
12	متوسط أقطار التثبيط لبعض أنواع الفطريات	53
13	يوضح الفطريات الممرضة	53
14	يوضح الفطريات الملوثة للغذاء	53
15	تأثير العكبر والمبيد الكيميائي على الفطريات	56

List of Abbreviations فهرس الاختصارات

الرمز	الدلالة
MIC	Minimum Inhibitory Concentration
VVC	Vulvovaginal Candidiasis
CHX	Chlorohexidine
PDA	Potato Dextrose Agar
RNA POLYMERASE	Ribonucleic Acid Polymerase
ANOVA	Analysis of Variance
E	Extract
ml	Mile liter
mg	Mile gram
FF	Flavonol/Flavone
FD	Flavanone/Dihydro Flavonols
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences

الفصـــــل الأول

1. المقدمــة

INTRODUCTION

المقدمة

1.1 تمهيد

الأحياء الدقيقة أو الميكروبات من أكثر الكائنات تواجداً وأكثرها إثارة للدهشة؛ لتواجدها في مناطق في غاية البرودة أو الحرارة وفي المناطق الإشعاعية أو الحمضية أو ذات ضغط جوي عالي أو المياه شديدة الملوحة حيث تتواجد في كل مكان من حولنا وفي أجسامنا، وفي الهواء والماء والتربة والطعام مما تسبب العديد من الأمراض المختلفة للإنسان والحيوان والنبات؛ الأمر الذي جعل العلماء يقومون بدراسة هذه الأمراض ومسبباتها وإيجاد العلاج لها ومن ضمنها إنتاج المضادات الحيوية للقضاء على هذه الميكروبات، ولقد أثبتت الدراسات في الآونة الأخيرة ظهور سلالات بكتيرية جديدة مقاومة المضادات الحيوية نتيجة للاستخدام المفرط لتلك المضادات الحيوية التي تتسبب أمراضا تؤدي إلى نسب عالية من الوفيات، كذلك تنتج العديد من الشركات الكثير من المبيدات الكيميائية للقضاء على الفطريات الممرضة للنبات أو تقليل الضرر الناتج عنها بخفض لقاحاتها وكذلك تلك المنتجة للسموم الفطرية في الحبوب المخزنة والملوثة للأغذية في محاولة لتحقيق الأمن الغذائي، ولا يخفى على أحد أن التطبيق المتكرر للمبيدات الكيميائية بأنواعها نتج عنه أضرار جسيمة و لا يمكن حصرها للإنسان والبيئة ولكافة أشكال الحياة، كون هذه الأضرار متباينة في زمن ظهورها ومختلفة في شدة ضررها بين مختلف الكائنات الحية والحديث عن ذلك يتطلب عشرات بل مئات الصفحات ويتطلب تضافر جميع الجهود إلى حظر بيع واستخدام المبيدات المعروفة باحتمال خطورتها على الصحة والبيئة، فقد ناضلت منظمتي "تحالف الصحة البيئية" و"الحركة من أجل حقوق واحترام الأجيال المقبلة" في معظم الدول الأوروبية في سبيل نشر الوعي عند المواطنين وأطلقت المنظمتان حملة تحت شعار "مبيدات وسرطانات" من أجل التحذير من علاقة المبيدات الكيميائية بالإصابة بالسرطان، كما تركّز هذه الحملات أساساً على دعوة الحكومات

وكافة الفعاليات إلى الاهتمام بالموضوع ومنع استخدام مبيدات يتم تسويقها بصفة عادية ومن دون قيود صارمة، ولهذا ظهرت أصوات تنادي بالبحث عن بدائل للمضادات الحيوية والمبيدات الكيميائية من المستخلصات الطبيعية كمواد مثبطة للبكتيريا والفطريات والخمائر وبالتالي إيجاد علاجات بديلة آمنة ورخيصة وفعالة بالوقت نفسه والتي تقلل من الأخطار الناجمة عن الاستخدام المفرط للمضادات الحيوية والتطبيق غير السليم للمبيدات الكيميائية، ولعل من بين هذه المستخلصات مستخلص العكبر كمادة لها فعالية بيولوجية ضد البكتيريا والفطريات والفيروسات وأيضاً كمادة مضادة للأكسدة والالتهابات (Aliyazicioglu *et al.*, 2011 ، Sforcin & Bankova, 2011).

2.1 العكبر (غراء النحل) Propolis

يعتبر نحل العسل من أهم الحشرات التي عرفها الإنسان، حيث استفاد من منتجاتها المختلفة من عسل و غذاء ملكي و حبوب لقاح ، بالإضافة إلى مادة العكبر (Propolis) وهي مادة راتنجية يجمعها نحل العسل من براعم و أوراق أنواع مختلفة من الأشجار مثل الحور و الصنوبر و الأناناس و الصفصاف و النخيل، وهي مادة صلبة عندما تكون باردة، و تكون طرية لاصقة إذا سخنت، و ذات رائحة مميزه كما يتفاوت لونها من الأخضر المصفر إلى البني الغامق (Kosalec *et al*., 2005 ;Vladimir-Knezevic, 2004).

العكبر أنواع كما ذكر (Marquiafável *et al.*, 2015)، منها النوع الأخضر والنوع الأحمر، وقد بيّن (Yang *et al.*, 2011) أن النوع الأخضر أكثر فاعلية من الناحية الطبية، ويستعمل نحل العسل مادة العكبر في سد الفجوات في الخلية، وفي لصق أجزائها بعضها ببعض، كما يستعمله في تحنيط بعض الكائنات التي تدخل إلى خلاياه و التي يقتلها النحل و لا يستطيع حملها خارج الخلية، مثل الصراصير و فراشات و الفئران فتبقى داخل الخلية دون أن تتحلل (Harvey, 2000)، وبسبب خصائصها المميزة و تركيبها الكيميائي و

فعاليتها البيولوجية ضد العديد من الكائنات الدقيقة فهي تستخدم الأن كعلاج طبيعي في عدة أقطار من العالم (Hegazi *et al*., 2000)، فقد أوضح (Fernandes *et al*., 2007) أنه تم إجراء دراسات صيدلانية ودراسات كيميائية للعكبر منذ أكثر من 30 سنة، وهو متنوع الاستعمالات وله نشاطات حيوية عديدة ضد الأمراض، فهو يعمل كمضاد بكتيري ومضاد فطرى ومضاد فيروسي، لاحتوائه على مواد ذات طبيعة تضادية للبكتيريا والفطريات والفيروسات، لذا يعد سلاحاً كيميائياً مهم ضد الميكروبات الممرضة، حيث يستعمل في المجال الطبي منذ القدم، وأضاف كل من (Fernandes *et al*., 2007، Bankova, 2005) على ذلك بأن العكبر يعمل كمضاد للبكتيريا (Antibacterial)، الفطريات (Antifungal)، الفيروسات (Antiviral) مضاد للإتهابات (Inflammatory) ولتقدير المناعة (Immune- stimulating).

ووصف (Fernandes *et al*., 2007)، العكبر على أنه مركب معقد جداً، وتعود طبيعة تركيبته المعقدة إلى بعض العوامل منها بيئة النبات، وطبيعة المنطقة التي جمعة منها العكبر كما أن الصفات الوراثية للنحلة تلعب دور في المكونات الكيميائية، حيث سجل في العكبر العديد من المواد الحيوية والنشاطات الدوائية أهمها وجود الفلافونيدات، الأحماض العطرية، الاسترات.

وأشار (Nedji & Loucif-Ayad, 2014) إلى وجـود علاقة مـوجبة الارتباط بين النشاط الميكـروبي ومكـونات الكيميـائي للعكبر، وأعتبر (Waldner-Tomic *et al*., 2014) أن العكبر كمركب طبيعي هو بديل كيميائي قوي للمضادات الحيوية (Antibiotics) ومضادات فطرية (Antifungals)، ولفت انتباه البحاث والمهتمين بتربية النحل للاهتمام بإنتاجهما وإلى إجراء الدراسات والأبحاث العلمية للتعرف على تركيبها الكيميائي وخصائصها وفاعليتها البيولوجية في التأثير على الميكروبات المرتبطة بالإنسان.

3.1 التركيب الكيميائي للعكبر

أوضحت العديد من الدراسات العلمية بأن التحليل الكيميائي لمادة العكبر يتركب بصفة عامة من 50% مواد راتنجية، 30% شمع نحل، 10% زيوت طيارة ، 5% حبوب لقاح و 5% مخلفات خشبية و طينية، كما يحتوي أيضا على عدة أحماض عضوية و عدة معادن من أهمها: المنجنيز ، الزنك ، الكالسيوم ، الفسفور و النحاس، بالإضافة الى الفيتامينات $B_1 - B_2 - B_6 - C - E$ و عدة أحماض أمينية (Marcucci, 1995)، وقد ذكر (Capoci *et al.*, 2015) إن العكبر يعد من النواتج الأيضية للنبات، وهو مكون من فينولات بسيطة والمعقدة، و تعتبر الفلافونيدات من المكونات الرئيسية في العكبر، فهي عبارة عن مواد لها تأثير تضادي حيث تعمل كمضاد بكتيري، مضاد فطرى، مضاد فيروسي (Hernández & Bernal, 1990 ; TEMiz *et* .(Sforcin *et al*., 2000 ; *al*., 2011

وقد عرف (Wagh, 2013) الفلافيونيدات على أنها مركبات مهمة تابعة للفينولات المتعددة (Polyphenols)، و في عام (2012) تم التعرف على أكثر من 300 مركب ناتج من العكبر في مختلف دول العالم، و تشير الأبحاث من أهم هذه المركبات تنتمي إلى (Flavonoids - Terpenoids (Phenylpropanoids) (Huang *et al*., 2014) ، في حين اوضح (Temiz *et al*., 2013) وجود العديد من المركبات التي تم التعرف عليها في مستخلص العكبر هي: فلافونيدات، كحولات عطرية، أسترات، أحماض عطرية، كحولات، هيدروكربونات عطرية، وأكد (Fernandes *et al*., 2007) على وجود الفلافونيدات، وأيضا الأحماض العطرية، والاسترات، بينما سجل كل من (Bankova *et al*., 2001 ; Marcucci, 1999) باستخدام تقنيات الفصل الكرموتوغرافى تم تعريف 35 مركب منهم : Caffeic acid، Myricetin، Quercetin، Kaempferol، Apigenin، Pinocembrin، Galangin ، وأشار(Marquiafável *et al*., 2015) إلى احتواء العكبر على Caffeic acid، P-coumaric acid، Cinnamic acid، Aromadendrin، Isosakuranetin، Artepillin .

كما أضاف (Marcucci *et al.*, 2001) مكونات أخرى فى العكبر منها (Cinnamic acid) وبعض (Flavonoids)، و من المكونات الهامة الاخرى للعكبر التربينات (Terpenoids) وهي مواد مضادة للأكسدة و تؤثر على البكتيريا و الفطريات (Daugsch *et al.*, 2008 ; Burdock, 1998).

4.1 فعالية مادة العكبر العلاجية

العديد من الدراسات الفيزوكيميائية و الصيدلانية الحديثة أكدت على امتلاك مادة العكبر خصائص بيولوجية كعلاج تقليدي، و له نشاطات حيوية عديدة ضد العديد من الأمراض و يؤثر على نمو البكتيريا و الفطريات (Burdock, 1998)، فقد استخدمت مادة العكبر منذ القدم في الطب الشعبي كعلاج للعديد من الأمراض في عدة مناطق من العالم وقد عرف الفراعنة القدامى منذ 3000 عام قبل الميلاد، لفاعليتها كمضاد للتعفن فاستخدموها في عمليات التحنيط التي اشتهرت بها حضارتهم (Ghisalberti, 1979) ، كما عرفت هذه المادة في الخمسين سنة الماضية كمادة لها فعالية بيولوجية ضد البكتيريا و الفطريات و الفيروسات و أيضا كمادة مضادة للأكسدة (Antioxidant) وللالتهابات (Anti-inflammatory) (Sforcin & Bankova, 2011)، و من خصائصها كمادة علاجية وعند مقارنتها بمواد علاجية أخرى وجد أنها أكثر فاعلية كما أنها في الوقت نفسه كانت أقل سمية، ورخيص الثمن (Aliyazicioglu *et al.*, 2011) ، و قد تم استخدام مادة العكبر لأول مرة كعقار طبي عام 1965 في رومانيا (Peña, 2008) و تستخدم هذه المادة الآن كعلاج طبيعي لعلاج عدة أمراض جلدية خاصة حب الشباب حيث تستعمل على هيئة مراهم و كريمات و محاليل مطهرة و تنظيف، كما تستخدم أيضا كعلاج لالتهابات الجروح والحروق وفي عمليات تجديد الأنسجة، فقد تم شفاء 97 حالة مصابة بمرض (Trichophyton) من بين 110 بعد علاجها بمادة العكبر بتركيز 50% (Marcucci, 1995).

واستخدم (Silici & Kutluca, 2005) ؛ (Uzel, 2005) العكبر كعلاج للأمراض الجلدية الناجمة عن الفطريات الجلدية (Superficial Mycoses Fungi) التي تهاجم الجلد و الشعر والأظافر كما وجد أن أقل تركيز مثبط (MIC) ضد الخمائر *Candida albicans* المسببة لمرض Mycoses يتراوح بين 0.1- 1.65 ميكروجرام/مل، و ذكر (Guo *et al.*, 2011) أنه كان لمادة العكبر تأثير فعال في علاج مرض القوباء في أوكرانيا، و أضاف إن نجاح هذه المادة في منع و علاج الإصابة بهذا المرض يعود إلى كونها مادة مضادة للأكسدة، كما أكد (Herrera, 2010) على أنه قادر على أن يكون مضاد لعدد كبير من سلالات *Candida albicans* التي تسبب التهاب اللثة وألم الأسنان.

بينما قام (Capoci *et al.*, 2015) بتقييم العكبر ضد فطر *C. albicans* المعزول من مريض مصاب (Vulvovaginal Candidiasis) (VVC) وذلك باستخدام المجهر الماسح الإلكتروني، فكان أقل تركيز مثبط (MIC) يتراوح بين 68.35 -546 ميكروجرام/ مل، وأدى تركيز 546 ميكروجرام/مل إلى قتل خلايا الفطر بنسبة تصل إلى 75% كما وجد للعكبر نشاط Antibiofilm من خلال تأثيره على مرض (VVC) (Capoci *et al.*, 2015).

في حين أظهر (Waldner-Tomic *et al.*, 2014) فاعلية العكبر ضد 4 ممرضات تصيب الفم وهى: *C. albicans*, S. *mutans*, *P. gingivalis*, *F. nucleatum*، إلى جانب استخداماتها كبودرة ومراهم و كريمات جلدية فهي تستخدم الآن على نطاق تجاري واسع كمحاليل الغرغرة و مطهرات الفم، بالإضافة إلى معاجين الأسنان (Castaldo & Capasso, 2002) كما كان للعكبر فوائد علاجية لمرضى السكر فقد أشار (El-Sayed, Abo-Salem, Aly, & Mansour, 2009) إلى استخدامه من قبل مرضى السكر وتأثيراته على نقص الدهون (Hypolipidemic) ، وأكد (Choi *et al.*, 2011) على إنه خفض مخاطر النوع الثاني من السكر، بالإضافة إلى أنه يحمى من أمراض القدم السكرية (Henshaw *et al.*, 2014).

وأشار (Marquiafável *et al.*, 2015) إلى أن العكبر يعمل على حماية الخلايا الدماغية و في تجربة على فئران المعامل و جد أن مادة العكبر تتحكم في جلوكوز الدم، ولها القدرة على تنظيم عمليات أيض الجلوكوز و دهون الدم (Fuliang *et al.*, 2005) ، و قد أثبتت عدة تجارب أخرى على فئران المعامل أن مادة العكبر لها تأثير فعال على أمراض تصيب القلب و الكبد و الدماغ (Lotfy, 2006)، كما ثبت أن لهذه المادة مضادة للالتهابات أيضا (Inflammatory) حيث أشار كل من (Sonmez *et al.*, Cushnie & Lamb, 2005 ; Capoci Hori *et al.*, 2013 ; Henshaw *et al.*, 2014 ; Machado *et al.*, 2012 ; 2005 ; *et al.*, 2015) إلى أن العكبر يمتلك خاصية المضاد للالتهابات.

فقد سجل (Onlen *et al.*, 2007) انخفاض معنوي في عدد المستعمرات البكتيرية كاستجابة مضاد للالتهابات مقارنة بمعاملات الشاهد، وذكر (Ozkul *et al.*, 2005) على أنه مضاد لمرضى السرطان (Anticarcinogenic)، كما أشارت كثير من الأبحاث إلى أن مادة العكبر لها تأثير فعال على بعض الخلايا السرطانية إلاّ أن ميكانيكية التأثير ضد هذه الخلايا غير كامل الفهم حتى الآن (Akao *et al.*, 2003) (Li *et al.*, 2010).

كما أكدت العديد من التجارب على مقدرة العكبر على العمل كمضاد للطفيليات (Pontin *et al.*, 2008) (Salomao *et al.*, 2011)، و في تجربة على الدجاج أدت إضافة العكبر 200-400 ملجم/كجم لعليقة دجاج إلى زيادة معنوية في وزن وحجم الدجاج مقارنة مع الشاهد غير المعامل، دون أن تتأثر القيمة الغذائية لهذه الدواجن المختبرة (Haščík *et al.*, 2015).

وبصفة عامة تعتبر مادة العكبر مادة آمنة الاستعمال لمعظم الناس إلاّ أن هناك البعض من لديهم حساسية (Allergic) تجاهها وقد يرجع هذا إلى حمض caffeic (Parolia *et al.*, 2010)، وأوضح (Oliveira *et al.*, 2006) أن العكبر بالإضافة إلى كونه منتج يعمل كمضاد فطرى فهو يمتاز بأنه أقل تكلفة وضعيف

السمية على صحة الإنسان عند المعاملة، إلّا انه يجب أخذ الحيطة و الحذر في استعمال هذه المادة في حالات الربو و مرض الجلد الأكزيما (Castaldo & Capasso, 2002).

5.1 العوامل المؤثرة على العكبر

أشار (Stepanović *et al.*, 2003) إلى أن العكبر مركب معقد جداً، و يتأثر بعدة عوامل من بينها بيئة النبات لذا فأن خصائصه الكيميائية تختلف باختلاف الغطاء النباتي، و الموقع الذي جمع منه، كما أن الموقع الجغرافي و تنوعه النباتي يلعب دور كبير في اختلاف الصفات الكيميائية و الخصائص الطبية له (Wagh, 2013) وتشير العديد من الدراسات إلى وجود تباين في الصفات والخصائص للأنواع من العكبر منها: الروسي و التركي (Waldner-Tomic *et al.*, 2014 ; Cafarchia *et al.*, 1999) والعكبر الأفريقي والأسيوي والعكبر المجموع من شمال وجنوب القارة الأمريكية، وكما أكد (Lotfy, 2006 ; Togan *et al.*, 2015 ; De & Drago, 2007) على أن كل من المصدر النباتي ووقت الجمع يؤثران في مكونات الكيميائية، وعلى هذا الأساس فسّر (Bankova *et al.*, 2000) سبب تنوع تأثير أنواع العكبر، وقد أكد (Wagh, 2013) على أن النوع النباتي ودرجة حرارة الجو من العوامل المؤثرة على خصائص العكبر، وبيّن أيضا أن للموقع الجغرافي دور كبير في اختلاف الصفات الكيميائية والخصائص الطبية، حيث سجل اختلاف بين أنواع العكبر في الهند وعزى هذا التباين إلى هذا السبب.

بينما فسّر كل من (Waldner-Tomic *et al.*, 2014) (Cafarchia *et al.*, 1999) الاختلاف بين تركيب العكبر الروسي والتركي إلى تباين في الموقع الجغرافي الذي جمعت منه، بالرغم أنه لا يوجد فرق في التأثير القاتل بينهما ضد بكتيريا *Staphylococcus aureus*، و بين (Herrera *et al.*, 2010) أسباب الاختلافات في الخصائص الكيميائية للعكبر وما يترتب عليها من نتائج متباينة في الاختبارات الحيوية، إلى التغير كمياً

ونوعياً في مكوناته الكيميائية اعتماداً على نوع النبات والموقع الجغرافي ، بالإضافة إلى طبيعة الاستخلاص كما وجد أن التأثير البيولوجي للعكبر يرجع إلى طريقة استخلاصه (Park *et al*., 2002) حيث قسم العكبر البرازيلي إلى 12 مجموعة مختلفة و فقا للصفات الفيزوكيميائية وهي تعطي نتائج متباينة في الاختبارات الحيوية و قد عزي هذا الاختلاف الكمي و النوعي إلى عدة عوامل من بينها طريقة الاستخلاص، بالإضافة إلى نوع النبات والموقع الجغرافي (Herrera *et al*., 2010) و يعتبر نوع الاستخلاص عامل آخر في رفع كفاءة العكبر ضد الميكروبات، فقد وجد أن الاستخلاص الكحولي له دور كبير في معظم النشاطات البيولوجية، بينما الاستخلاص المائي ضعيف التأثير كمضاد فطري أو بكتيري (Siqueira *et al*., 2015)، كما يثبط الاستخلاص الكحولي نمو الخمائر المقاومة للمضادات الحيوية (Souza *et al*., 2014) و قد وجد أن الاستخلاص الكحولي يحتوى على Flavonoids , Cinnamic acid ، أما الهكساني يحتوى على الليبيدات وشمع و هي ليس لها أي تأثير تضادي (Cafarchia *et al*., 1999) .

6.1 أهداف الدراسة Aims of the study

إن الدراسات على العكبر الليبي كمثبط لنمو الأحياء الدقيقة مازالت محدودة، ونظرا لما للعكبر من فعالية تضادية عالية ضد الميكروبات فان هذه الدراسة تهدف إلى:

* دراسة تأثير مستخلصات العكبر الليبي على بعض الأنواع البكتيرية الممرضة للإنسان والملوثة للغذاء.

* دراسة تأثير مستخلصات العكبر الليبي على بعض أنواع الفطريات والخمائر الممرضة للإنسان والحيوان والنبات والملوثة للغذاء والمنتجة للسموم الفطرية.

* مقارنة التأثير التثبيطي لمستخلصات العكبر الليبي مع بعض المضادات الحيوية والمبيدات الكيميائية الشائعة الاستخدام في ليبيا.

* مقارنة كفاءة مستخلصات العكبر الليبي المنتج من عدة مناطق مختلفة بليبيا في تثبيط الكائنات الحية الدقيقة موضوع الدراسة.

الفصـــل الثاني

2. الدراسات السابقة

Review of Literature

البحوث والدراسات السابقة

1.2 تأثير العكبر على البكتيريا

أثبتت دراسة أجراها (الرسام وآخرون 2008) لتحديد التأثير التثبيطي لمادة العكبر ضد بعض الجراثيم الموجبة لصبغة جرام *Staphylococcus aureus, Streptococcus pyogenes, Streptococcus faecalis* والجراثيم السالبة لصبغة جرام *Klebsiella pneumonia, Salmonella typhimurium, Proteus vulgaris ,Pseudomonas aeruginosa, Escherichia coli* وقد أظهرت النتائج امتلاك هذه المادة فعالية مضادة للجراثيم *Staphylococcus aureus, Streptococcus pyogenes, Klebsiella pneumonia,* وحدد التركيز المثبط الأدنى له على هذه الأنواع من الجراثيم التي أظهرت حساسية له وكان التركيز المثبط الأدنى للنوع *Streptococcus pyogenes* 2.5 ميكروجرام/ قرص ولكل من *Staphylococcus aureus, Klebsiella pneumonia* 0.25 ميكروجرام /قرص.

أوضحت دراسة قامت بها (الزبيدي ،2009) لمعرفة المواد الفعالة المستخلصة من الكحول الإيثيلي من مادة العكبر في تثبيط نمو بكتيريا المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus* خارج الجسم الحي وذلك لي أهميتها السريرية بصفتها من البكتيريا الممرضة المسببة العديد من الأخماج في الإنسان، وقد بينت نتائج الكشف التمهيدي للمستخلص الكحولي للعكبر أنه يحتوي على مواد فعاله مثل القلويدات والمركبات الفينوليه التي تضم الفلافونات Flavonoids والكرومارين Coumarin والتانينات Tannins وكما يحتوي على التربنيات Terpin وبلغ أعلى معدل لقطر التثبيطي للمستخلص الكحولي (23ملم) عند تركيز 100ملجرام/مل.

في دراسة قام بها (السلطاني وآخرون، 2010) معرفة الفعالية المضادة للمستخلص الكحولي 30% لمادة العكبر التجاري والطبيعي على البكتيريا الموجبة لصبغة جرام المسببة للإصابات الجلدية، حيث تم جمع 82

عينة من المرضى وتم الحصول على 56 عينة موجبة لصبغة جرام و26 عينة سالبة لصبغة جرام، شخصت العزلات الموجبة الصبغة بواسطة الفحوصات المظهرية والزراعية الكيموحيوية، وقد تم الحصول على 35 عزلة من بكتيريا *Staphylococcus epidermidis* و21 عزلة من بكتيريا *Staphylococcus aureus* ولقد تم اختبار تأثير المستخلص الكحولي لمادة العكبر بتركيز 30% على عزلات البكتيريا المعزولة بواسطة استخدام طريقة الانتشار الحفري وذلك بإضافة 2.0 مل من المستخلص الكحولي لمادة العكبر بكل حفرة، مع استخدام 2.0 مل من الكحول الإيثيلي تركيز 70 %، وقد لوحظ ان للمستخلص الكحولي للعكبر التجاري تأثير تثبيطي أعلى من المستخلص الطبيعي للعكبر إذ بلغ أعلى معدل قطر تثبيط هو 5.35ملم لبكتيريا *S. epidermidis* و5.29 ملم لبكتيريا *S. aures* أما المستخلص الكحولي للعكبر التجاري فبلغ أعلى معدل لقطر التثبيط فهو 45 ملم ، 40 ملم لبكتيريا *S. epidermidis* & *S. aures* على التوالي

وقد بينت الدراسة إن المستخلص الكحولي لمادة العكبر ذات تأثير أعلى من 15 مضاد حيوي مستخدم قيد الدراسة أن للعكبر التجاري تأثير مضاد للبكتيريا الموجبة لصبغة جرام المعزولة من الجلد أكثر من العكبر الطبيعي، أشار (خضير وآخرون، 2010) في دراسة للتعرف على قابلية مستخلص على تثبيط نمو بعض أنواع البكتيريا الموجبة والسالبة لصبغة جرام، باستخدام طريقة الانتشار في الحفر للمقارنة بين المستخلص المائي والكحولي للعكبر حيث بلغت أقطار التثبيط لبكتيريا *Escherichia, Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus, Bacillus subtilis, coli* (8.1 ، 9.8 ، 15.3 ، 16.7) ملم على التوالي للمستخلص الكحولي بينما كانت أقطار التثبيط للمستخلص المائي (2.1، 2.7، 3.4، 4.8) ملم لنفس الأنواع من البكتيريا على التوالي.

ثم جرى اختبار التركيز المثبط الأدنى MIC للمستخلص الكحولي للعكبر باستخدام طريقة التخفيف آجار (Agar Dilution Method)، حيث كانت البكتيريا الموجبة لصبغة جرام المتمثلة ببكتيريا *B. subtilis* & *Staph. aureus* هي الأكثر تأثراً إذ بلغ التركيز المثبط الأدنى (MIC) لها 4 ملجم/ مل لكلا النوعين، في

حين كانت البكتيريا السالبة لصبغة جرام أكثر مقاومة للمستخلص الكحولي للعكبر إذ بلغ التركيز المثبط الأدنى (MIC) لها 16 و32 ملجم/ مل لكل من بكتيريا *E. coli* and *P. saeruginosa* على التوالي.

أوضحت (بروج، 2014) في دراسة تأثير المستخلص الكحولي للعكبر على أنواع البكتيريا المعزولة من الاطفال المصابين بالقوباء، ثم أخذ 42 عينة بكتيرية من المكورات العنقودية الذهبية والمكورات المسبحية والمتقلبات لمرضى القوباء وتم إجراء اختبار الحساسية لسبعة من مضادات الحيوية وتم انتقاء العزلات المقاومة لإجراء اختبار الحساسية للمستخلص الكحولي للعكبر ومركباتها الفينولية عليها، أظهرت الدراسة بأن المستخلص الكحولي للعكبر ومركباتها الفينولية ذات تأثير كمضاد حيوي على المسببات البكتيرية المختلفة للقوباء والتي تشمل بكتيريا المكورات العنقودية والمكورات المسبحية و المتقلبات.

ذكرت (ميس وآخرون، 2015) استخلاص نوعين من الفلافونويدات هما Flavonol / Flavone, (FF) و Flavanone / Dihydroflavonols, (FD) من العكبر وأظهرت النتائج أن الإيثانول بتركيز 70 % بمدة استخلاص 96 ساعة أعطت أعلى حصيلة من الفلافونويدات وتمت تنقية الفلافونويدات المذكورة واشتملت خطوات التنقية على الاستخلاص بالإيثانول 95 % فكروماتوغرافيا الإدمصاص باستخدام الهلام Sephadex -LH 20 إذ بلغت الحصيلة النهائية 19.31 % للفلافونويدات.

تم تقييم الفعالية التثبيطية لمستخلص العكبر الإيثانولي ضد بعض أنواع الأحياء المجهرية المرافقة لتسوس الأسنان والتي شملت ثمانية أنواع من بكتيريا *Streptococcus* إضافة إلى الخميرة *Candida albicans*، واتضح من النتائج أن لمستخلص العكبر فعلا تثبيطاً قوياً ضد أنواع الأحياء المجهرية قيد الدراسة، كما درس الفعل التآزري لمستخلص العكبر مع المضاد الحيوي الكلوروهكسيدين Chlorohexidine (CHX) ضد نوعين من بكتيريا *Streptococcus* واتضح أن الفعل التثبيطي للعكبر إزداد عند إضافة المضاد المذكور إذ ارتفع قطر التثبيط ضد البكتيريا *Streptococcus mutans* من 18 ملم ليصبح (24, 21.5, 21) باستخدام التراكيز (0.2,0.1,0.01) % من المضاد على التوالي كما لوحظ

التأثير ذاته عند دراسة الفعل التآزري للعكبر مع المضاد (CHX) ضد بكتيريا *S. salivarius* (حسن وكاظم، 2015).

تشير كل التجارب المخبرية التي أجريت لمعرفة مدى تأثير مادة العكبر كمضاد حيوي ضد البكتيريا (Antibacterial) على ان لهذه المادة تأثير فعال وقوي على سلالات بكتيرية عديدة، ففي تجربة لاختبار الحساسية على 75 سلالة من بكتيريا *Staphylococcus* spp. & *Streptococcus* spp. أظهرت 69 سلالة منها حساسية عالية (Meresta & Meresta, 1985).

كما كان لمستخلص العكبر الكحولي (Ethanol extract propolis) تأثير تثبيطي لنمو عدة سلالات تابعة لبكتيريا *Bacillus* & *Streptococcus* و لوحظ أن هذا المستخلص بتركيز 3 مجم / مل قد ثبط بالكامل نمو بكتيريا *Escherichia coli & Pseudomonas aeruginosa*، كما كان له تأثير عالي ضد عدد من البكتيريا منها: *Branhamella catarrhalis, Enterococcus* spp., *Staphylococcus aureus Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Bacillus cereus, Corynebacterium* sp. *Mycobacterium tuberculosis, Klebsiella pneumoniae,* (Grange & Davey, 1990) وقد وجد (Nedji & Loucif-Ayad, 2014) العكبر الجزائري فعال ضد *Bacillus cereus Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa*، وتحصل (Wagh, 2013) على نتائج إيجابية ضد *Pseudomonas, Bacillus subtilis, Staphylococcus aureus Escherichia coli, aeruginosa*، وأيضا بيّن (Souza *et al*., 2014) إن هذا المركب فعال ضد *Escherichia coli , Staphylococcus aureus* وأكد (Marquiafável *et al*., 2015) على خاصيته التضادية و تأثيره العالي ضد *Escherichia coli, Staphylococcus aureus*، كما كان لتركيز العكبر عند 0.02 % تأثير تضادي على أنواع من البكتيريا المرتبطة بالعمليات الغذائية من بينها *Bacillus cereus Staphylococcus aureus, Salmonella typhimurium, Escherichia coli, Bacillus subtilis,*

Erkmen). *Listeria monocytogenes, Enterococcus faecalis, Yersinia, enterocolitica* .(& Özcan, 2008

وقد ذكر(Togan *et al*., 2015) أن العكبر مضاد بكتيري قديم وحديث الاستعمال على البكتيريا الموجبة والسالبة جرام، وأوضح (Nedji & Loucif-Ayad, 2014) أن للعكبر تأثير تضاد عالي ضد البكتيريا الموجبة جرام وذكر (Rahman *et al.*, 2010) أن العكبر يعتبر مضاد بكتيري ضد بكتيريا سالبة جرام أيضاً.

ومن الملفت للنظر أن تأثير مادة العكبر التثبيطي كان أكثر فعالية ضد البكتيريا موجبة لصبغة جرام منه على البكتيريا سالبة صبغة جرام، فقد وجد أن مستخلص العكبر الذي جمع من منطقة مرمرا بتركيا كان له تأثير قوي على البكتيريا موجبة لصبغة جرام *Staphylococcus aureus, Staph. beta-hemolytic* تأثير أقل على البكتيريا سالبة صبغة جرام *Pseudomonas aeruginosa, Escherichia coli* Keskin *et*) *al*., 2001) ، كما ذكر (Sforcin *et al.*, 2000) ، أن المستخلص الكحولي للعكبر البرازيلي تركيز 0.4% ثبط البكتيريا الموجبة جرام، لكنه كان أقل تأثيراً على السالبة، كما كان لمستخلص مادة العكبر من شجر الحور في بلغاريا و تركيا و اليونان و الجزائر تأثير تثبيطي فعال ضد بكتيريا موجبة صبغة جرام *Staphylococcus aureus*، وفي الوقت نفسه كان التأثير ضعيفا على بكتيريا سالبة صبغة جرام *Escherichia coli* (Velikova *et al.*, 2000).

وفي دراسة على 3 أنواع من البكتيريا موجبة صبغة جرام *S. epidermidis, B. subtilis, S. aureus* أظهرت النتائج تأثير فعال ضدها (Marcucci, 1995)، وعلى الرغم من أن (Bankova *et al*., 2014) قد سجل 9 أنواع من البكتيريا الموجبة صبغة جرام أبدت حساسية لمستخلص العكبر هي *Staphylococcus Bacillus. Subtilis, Micrococcus glutamicus, Staphylococcus epidermidis, aureus Streptococcus mutans, Streptococcus pyogenes, Sarcina lutea, Bacillus cereus,*

S. faecalis، إلا أنه سجل أيضا 4 أنواع من البكتيريا سالبة صبغة جرام تضمنت *Escherichia coli* , *Pseudomonas aeruginosa, Klebsiella pneumonie, Enterobacter cloacae*، لها نفس الحساسية أيضا، ثم ذكر آن معظم الدراسات تشير إلى أن مستخلص العكبر له تأثير ضعيف على بكتيريا سالبة صبغة جرام، وهذا ما أكده ايضاً (Stepanović *et al.*, 2003) (Szente & Szejtli, 1987)، و قد عزى (Stepanović *et al.*, 2003) سبب هذا الاختلاف في التأثير على النوعين (موجبة و سالبة لصبغة جرام) إن الأخيرة لها جدار خلوي أكثر تعقيد كيميائيا وذو محتوى دهني أكبر.

العكبر الكحولي لتركيز 1 مليجرام / مل (Kedzia *et al.*, 1990) ، وأشار (Victorino *et al.*, 2009) إلى أنه تم تثبيط 66% من البكتيريا بواسطة العكبر، وأعطى فاعلية عالية ضد عدد من البكتيريا الهوائية شملت *Escherichia coli, Kocuria rhizophila, Staphylococcus aureus, Streptococcus mutans, Enterococcus hirae, Pseudomonas aeruginosa*، وكان أعلى فاعلية من هيدروكسيد الكالسيوم المستخدم في الدراسة كمقارنة، و كما أثر مستخلص العكبر على بكتيريا *Paenibacillus larvae* و هي البكتيريا المسببة لأهم مرض يصيب حضنة نحل العسل المعروف بمرض تعفن الحضنة الأمريكي (American foulbrood) (Bilikova *et al.*, 2013).

يزداد تأثير مستخلص العكبر كمادة مضادة للبكتيريا في حالة استعمالها إلى جانب مواد أخرى ، فقد لوحظ زيادة التأثير على بكتيريا *Staphylococcus aureus* & *Escherichia coli* باستعمال خليط من الزنجبيل و زيوت النعناع الطيارة (Probst *et al.*, 2011)، كما ثبت في عدة تجارب حدوث ما يعرف بعملية التأزر أو التعاضد (synergistic) لمادة العكبر مع بعض المضادات الحيوية، فقد كان لها تأثير فعال على بكتيريا *S. aureus* عند استخدامها مع المضاد الحيوي Streptomycin و Cloxacillin (Krol *et al.*, 1996)

كما لوحظ زيادة قطر منطقة التثبيط لبكتيريا *Staphylococcus epidermidis, Staph. aureus* *Pseudomonas aeruginos* في تجربة لدراسة التآزر أو التعاضد لمادة العكبر مع المضاد الحيوي Streptomycin و Tetracycline (حنا، 2010).

2.2 التأثير على الفطريات والخمائر

أثبتت دراسة آجراها (دويش و آخرون، 2008) لتحديد تأثير تراكيز مختلفة من المستخلص الإيثانول للعكبر ضد الفطر *Fusarium oxysporum* المسبب للعديد من الأمراض النباتية حيث بينت النتائج الكفاءة التثبيطية العالية لهذا المستخلص، إذ أدى التركيز العالي (5 ملجم / مل) إلى تثبيط النمو الشعاعي كلياً على الأوساط الغذائية (PDA) بينما تفاوت التركيزان (2.5 – 1.25 ملجم/ مل) في التأثير وبنسب وصلت إلى 83.3% و 73.75% على التوالي، وقد أظهرت نتائج البحث أيضا قدرة المستخلص الكحولي للعكبر عند التركيز (5 ملجم / مل) المرشوش علي ثمار الخيار المصابة بالفطر في منع تطور إصابة المرض وحقق حماية جيدة بشكل ملفت خاصة عند الرش بالمستخلص قبل 24 -48 ساعة من التلقيح بالفطر من خلال منع نمو وانتشار الفطر بشكل كامل، في حين تفاوت قدرة المستخلص الكحولي للعكبر المرشوش بعد 24-48 ساعة من التلقيح بالفطر على منع حدوث الإصابة بالمقارنة مع معاملة الشاهد إذ ظهر نمو بطيء للمسبب المرضي.

أثبتت دراسة أجراها (السدرة، 2010) معرفة قابلية المستخلص الكحولي للعكبر على تثبيط نمو 3 أنواع من الخمائر المعزولة من عصائر فواكه التالفة وهي *Debaryomyce hansenii* & *Candida tropicalis* & *Pichia tropicalis*، حيث أظهرت النتائج أن التركيز المثبط الأدنى (MIC) للمستخلص الكحولي للعكبر بلغ 0.1 ، 0.4 ، 0.1 ملجم / مل على التوالي في عصير البرتقال و 0.4 ، 0.8 ، 0.2 ملجم / مل على التوالي في عصير التفاح في حين التركيز المثبط الأدنى (MIC) لبنزوات الصوديوم قد بلغ 80،160،40 ميكروجرام / مل على التوالي في عصير البرتقال و 320 ، 640 ، 320 ميكروجرام / مل على التوالي في

عصير التفاح، حيث بينت نتائج الكشف الكيميائي النوعي احتواء العكبر على الراتنجات (Resins) والفلافونويدات (Flavonoids) والفينولات (Phenols) كمكونات فعالة.

ذكر (Berretta *et al.*, 2012) إن العكبر يعتبر مضاد فطرى عالي التأثير، وأكد كل من (Bonvehí & Kujumgiev *et al.*, 1999 ; Monzote *et al.*, 2012 ; Gutiérrez, 2012) على أن التركيب الكيميائي للعكبر يعتبر ذو تأثير قوي على الفطريات، كما قام (Aly & Elewa, 2007) بتقييمه على عدد من الفطريات المختلفة من *Candida , Aspergillus*، بينما أشار (Hegazi & El Hady, 2001 Stepanović *et al.*, 2003 ;) إلى أن أكثر خميرة مقاومة كانت خميرة *Candida albicans*، كما ذكر (Marcucci, 1995) أن مستخلص العكبر الكحولي كان له تأثير تثبيطي فعال ضد فطر *Candida albicans* حيث أظهرت 98 % من العينات الفطرية *C. guilliermondii C. tropicalis, C. parapsilosis,* المختبرة حساسية تجاه هذا المستخلص بتركيزات أقل من 50%، كما ذكر أيضا أن مستخلص العكبر بتركيزات 5% و 10% قد منع نمو فطر *Trichophyton verrucosum* ، وكان للعكبر تأثير فعال ضد فطر *Trichophyton , Mycrosprum* وعند استخدام مستخلص العكبر مع بعض المضادات الفطرية بنسبة 10% زادت فعاليته على خمائر *Candida albicans* (Holderna & Kedzia, 1987) و في دراسة بالمجهر الالكتروني بينت أن مستخلص العكبر الأخضر البرازيلي قد منع تكون الأنابيب الجرثومية لخميرة *Candida albicans* (Mello *et al.*, 2006) ، و كان لمستخلص العكبر تأثير تثبيطي فعال ضد 6 أنواع من الفطريات غير الممرضة و الممرضة للإنسان تضمنت *Aspergillus niger* , *Saccharomyces cerevisiae* , *Candida albicans* , *C. tropicalis* , *C. glabrata* , *Cladosporium cladosporioides* , *Cladosporium sphaerospermum* (Bankova *et al.*, 2014) و في البرتغال أبدى *Staphylococcus aureus* حساسية شديدة تجاه مستخلص العكبر في حين كان فطر *Candida albicans* أكثر مقاومة له (Marquele *et al.*, 2006) وأشار (Wagh, 2013) إلى فاعلية

العكبر ضد *Asparagillus niger* , *Candida albicans*، وأوضح (Siqueira Koc *et al.*, 2005 ; *et al.*, 2015) أنه فعال ضد *Trichophyton* و قد كان لتركيز 5% من مستخلص الكحولى للعكبر له مقدرة تضادي ضد أنواع من فطر *Candida*، (Cafarchia *et al.*, 1999) وسجل (Ota *et al.*, 2001) ، فاعلية العكبر ضد 80 سلالة من خمائر *Candida* وأيضا أكد (Fernandes *et al.*, 2007) ، على أنه مضاد لفطر الخميرة الواسعة الانتشار *Cryptococcus neoformans*، حيث تثبط نمو الفطر عند تركيز 0.2 مليجرام/مل، بينما أعتبر تركيز 1.6 مليجرام /مل مبيد قاتل للفطريات وذكر (Siqueira *et al.*, 2015) أن المستخلص الكحولي للعكبر الأحمر كان له تأثير كمبيد فطرى ضد أنواع من فطر *Candida* وهى: *C. albicans*, *C. tropicalis* ، *C. glabrata* حيث يمتلك نشاطات مختلفة منها خاصية التأثير الموقف fungistatic عند تركيز 32 – 64 ميكروجرام/ مل، و تأثير إبادى fungicidal عند تركيز 64 -512 ميكروجرام/مل، و في إيران ذكر (Gavanji *et al.*, 2011) أن العكبر كان مضاد فطري قوي ضد 3 من الفطريات المسببة للالتهابات الجلدية هي *T. tonsurans* , *Trichophyton violaceum* *Epidermophyton floccosum*، وبالنسبة للفطريات الممرضة للنبات فقد ذكر (ÖZDEMİR *et al.*, 2010 ; Özcan, 1999) أن للعكبر تأثير على هذه الفطريات الممرضة حيث ثبط أكثر من 50 ممرض نباتي، كما كان للعكبر تأثير فعال على العديد من فطريات التربة الممرضة للنبات ففي تجربة على 4 فطريات منها شملت *Fusarium oxysporum* , *Pythium ultimum* , *Siphalosparium maydis* *Alternaria solani*، و من خلال دراسة قطر النمو الفطري ووزن الميسليوم الفطري وجد أن للعكبر تأثير فعال على هذه الفطريات وقد لوحظ أن فطر *Alternaria* أكثر حساسية بينما كان فطر *Siphalosparia* الأكثر مقاومة (الفضالي و آخرون 2008) وبين (Erkmen & Özcan, 2008) أن العكبر مضاد فطرى ضد الخمائر *Saccharomyces cerevisiae* , *Candida rugosa* وفطريات الأعفان *Aspergillus niger* , *Rhizopus oryzae* كما أوضح (Özcan *et al.*, 2004) تأثير العكبر على فطر *Fusarium*

(Soylu *et al.*, 2008 ; Soylu *et al.*, 2004) و ذكـر *Alternaria alternata , oxysporum* sp. أنه أعطى فاعلية ضد *Penicillium digitatum*، و أكدت دراسات أخرى على تأثير العكبر على الفطريات التي تصيب الثمار و الفواكه حيث ذكر (Aly & Elewa, 2007) أن نتائج دراسات أظهرت تأثير العكبر على الفطريات المحمولة على الثمار، و أختبر (Koc *et al.*, 2007) مستخلص العكبر الكحولي كمضاد فطرى للخمائر التي تهاجم الفواكه الطرية والعصائر، وأعطت هذه المعاملة ضد 6 أنواع من الخمائر تابعة للجنس *Candida* وهى: *Pichia , C. pellicules , C. parapsilos , C. famatoy , C. glabrate ohmeri*، تأثيرا عالي المعنوية دون أن يوثر على المواد الغذائية، أما (Candir ; La Torre *et al.*, 1990 *et al.*, 2009) فقد أكدوا على فاعليته ضد فطر *Botrytis cinerea* الذي يصيب ثمار الفراولـة، وقـام (Candir *et al.*, 2009) تطبيق معاملات بالعكبر في مكافحة الفطريات (ÖZDEMİR *et al.*, 2010) التي تنمو على الثمار المختلفة أثناء التخزين ، كما أثر مستخلص العكبر على نمو الميسليوم الفطري و على إنبات الجراثيم الفطرية للفطريات *Penicillium , Rhizopus arrhizus , Fusarium moniliforme Aspergillus flavus , camemberti* وهي من الفطريات المسببة لفساد الأغذية و الحبوب المخزونة (الفضالي وآخرون، 2007)، و في مقارنة بين تأثير العكبر و شمع النحل على 4 من الفطريات الممرضة للنبات شملت *Rhizoctonia , Aspergillus terreus , F. oxysporum , Fusarium solani* أظهرت النتائج تفوق العكبر في انقاص النمو الفطري أثناء تكوين الخيوط الفطرية، كما لوحظ زيادة نسبة الثتبيط إلى 100% عند استخدام المادتين معا بتركيز 5% (قمقجي، 2010).

3.2 المواد الفعالة وميكانيكية التأثير

تعددت وتباينت آراء الباحثين حول المواد الفعالة وميكانيكية تأثير مادة العكبر على بعض الميكروبات، فقد ذكر (Takaisi-Kikuni & Schilcher, 1994) أن تأثير مادة العكبر يشبه ما تقوم به المضادات الحيوية فهي تمنع عملية انقسام الخلايا و يؤثر على نفاذية الغشاء الخلوي و تثبيط عملية تصنيع البروتين.

و أضاف (Waldner-Tomic *et al.*, 2014) أن العكبر يؤثر على الغشاء السيتوبلازمى، و الإنزيمات البكتيرية، وعلى انقسام الخلية، وإنتاج البروتينات ، بينما فسر(Takaisi-Kikuni & Schilcher, 1994) ميكانيكية فاعلية التثبيط للعكبر بأنها تعتمد على تثبيط إنزيم RNA polymerase، و أشار (Kim & Chung, 2011) أن العكبر الكوري كان عالي الفاعلية ضد ميكروبات الغذاء و أبدى تأثير إبادي ضد البكتيريا الموجبة جرام *Staphylococcus aureus* , *Listeria monocytogenes* , *Bacillus cereus* و السالبة جرام *Pseudomonas fluorescence* , *Escherichia coli* , *Salmonella typhimurium*، حيث تم تثبيط إنبات الجراثيم خلال 30 ساعة، بالفحص المجهر الإلكتروني أظهرت النتائج تدمير في الخلايا البكتيرية من خلال التأثير على الغشاء الخلوي ومحتويات الخلية، و قد تعود فاعليته إلى تأثيره على الأنظمة الإنزيمية للخلية (Sforcin *et al.*, 2000) ، في حين ذكر (Bankova *et al.*, 2014) أن تأثير مادة العكبر على الميكروبات يعود إلى الزيوت الطيارة (volatiles)، وأضاف (Tosi *et al.*, 1996) أنه توجد عدة مواد تعمل على تثبيط نمو الكائنات الدقيقة من أهمها المركبات الفينولية و الفلافونات ، وقد يرجع تأثيرها إلى Esters & flavonoids و الأحماض العطرية و الأملاح العضوية (Meresta & Meresta, 1985) و أكد (Kim & Chung, 2011) أن الفينولات الكلية والفلافيونيدات تعود إليها فاعلية العكبر الكوري ضد الميكروبات، و تعتبر المواد Pinostrobin & Pinocembrin & Galangin و هي أهم المواد الفينولية فاعلية ضد البكتيريا بالإضافة إلى حمضي Caffeic & Ferulic (Dimov *et al.*, 1992) في حين أشار (Kedzia *et al.*, 1990) إلى أن ميكانيكية الفاعلية ضد البكتيريا عملية معقدة جدا و قد تعود إلى تعاون ما

بين المركبات الفينولية وSesquiterpenes & Hydroxy acids وعزى (Negri *et al.*, 2014) أسباب فاعلية العكبر إلى التربينات (Terpenoids) التي تعد من مضادات الأكسدة، ومضادات بكتيرية ضد العديد من الممرضات، و بصفة عامة تؤكد الكثير من الدراسات أن التأثير البيولوجي لمادة العكبر يعود إلى تركيبها ومكوناتها الكيميائية وهذه المركبات الكيميائية مرتبطة بالموقع الجغرافي والمصدر النباتي بالإضافة إلى نوع النحل الذي يجمعها (Harvey, 2000) ففي مقارنة بين تأثير مستخلص العكبر من منطقة اسطنبول و آخر من منطقة بالكسير بتركيا وجد أن مستخلص منطقة اسطنبول له تأثير أقوى على البكتيريا وعلل ذلك أنه يحتوي على 3 مواد هي phenyl alcohol , diethyl succinate , 3- methyl butanoate و هي غير موجودة في العكبر منطقة بالكسير (Keskin *et al*., 2001).

كما أثبت حنا (2010) أن الفعالية التثبيطية للعكبر ضد الأحياء الدقيقة يختلف باختلاف المنطقة التي جمع منها ودرجة تركيز الاستخلاص في تجربة مقارنة بين مستخلصي العكبر من العراق وثالث من إيران وباستخدام تركيزان (70 % , 95 %) واستنتج إن سبب الاختلاف يعود إلى التركيب الكيميائي للعكبر والذي مكونه الأساسي المواد الراتنجية التي يجمعها النحل من المكان المتواجد فيه ومواد الأيض الثانوي التي يفرزها النحل، بالإضافة إلى إنزيمات ومواد شمعية يضيفها إلى العكبر أثناء عملية تصنيعه.

وقد أثبت (Silici & Kutluca, 2005) أن تأثير العكبر على الميكروبات يختلف باختلاف سلالة نحل العسل (race) الذي جمع مادة العكبر في مقارنة بين 3 من سلالات نحل العسل هي القوقازي *A. m. caucasica* والأناضولي *A. m. anatolica* و الكرنيولي *A.m. carnica* رغم جمع مادة العكبر بواسطة السلالات الثلاثة من نفس الموقع، وقد ذكر (Fernandes *et al.*, 2007) أن الصفات الوراثية للنحل تلعب دور كبير في المكونات الكيميائية للعكبر وقد يرجع إليها التباين في المواد الحيوية والنشاطات العلاجية له.

أما بالنسبة للفطريات فإن تأثير مادة العكبر يعود في أنها تسبب في تغيير النفاذية في الجدار الخلوي مما يحدث تغيرات في شكل و حجم العضيات الداخلية (Organelles) مثل الميتوكوندريا و الفجوات العصارية

(Nakamura *et al.*, 2007)، وقد أظهرت دراسة بواسطة المجهر الإلكتروني على الفطر *Candida albicans* أن أحد ميكانيكية تأثير مادة العكبر هي تحطيم الجدار الخلوي للفطر (Mello *et al.*, 2006) وتشير معظم الدراسات أن فاعلية تأثير العكبر على الفطريات بصفة عامة يرجع إلى الفلافونيدات flavonoids (Grange & Davey, 1990 ، Oliveira *et al.*, 2006 ، Wagh, 2013) ، ففي تجربة على اعفان مرتبطة بالغذاء مثل *Penicillium aurantiogriseum* و *Aspergillus versicolor* كان للعكبر تأثير قوي عند تركيز 10% و عزيت هذه الفاعلية إلى ما يحتويه من الفلافونيدات (Temiz *et al.*, 2013) ، بينما أكد (Mello *et al.*, 2006) على أن التربينات Terpenoids تعمل أيضا كمضادات فطرية كما أنها تؤثر على نمو الفطريات بالإضافة إلى البكتيريا (Burdock, 1998).

كما ذكر (Hegazi, 2000) أن التأثير المثبط لمادة العكبر على الفطريات يعود إلى مادة trans-p-coumaric acid وهي مادة لها تأثير قاتل على الخمائر و الفطريات وبصفة عامة فأن فاعلية وقوة تأثير العكبر على الميكروبات يتم تقديرها اعتماد على قطر مسافة التثبيط للكائن الحي (Stepanović *et al.*, 2003 ; Koc *et al.*, 2005).

4.2 الأمراض المتسببة عن بعض الأحياء الدقيقة

بعض الأحياء الدقيقة تسبب العديد من الأمراض للإنسان والحيوان والنبات والتي يجب مقاومتها وعلاجها ومن الأمراض التي تسببها ما يلي ذكره في جدول (1):

(Cheesbrough, 2006 ; Bailey & Scott, 2007)

جدول (1) الأمراض المتسببة عن بعض الميكروبات

الأحياء الدقيقة	المرض
Klebsiella pneumoniae	التهاب بالصدر خراجات رئوية - عدوى الجروح.
Staphylococcus aureus	عدوى المستشفيات -عدوى الجروح - دمامل وخراجات - قرحة -التهاب شغاف القلب- التهاب رئوي وسحائي - تسمم غذائي.
Staph. epidermidis	التهابات الجلدية – التهاب العظم – تسمم الغذائي
Escherichia coli	التهاب الجروح - تعفن الدم- التهاب سحائي ودموي لحديثي الولادة عدوى الجهاز البولي -إسهالات ونزيف.
Bacillus cereus	تسمم غذائي.
Enterobacter spp.	إلتهاب بالجهاز التنفسي السفلي وإلتهاب شغاف القلب وعجوى الجهاز البولي.
Listeria innocua	تسمم غذائي.
Alternaria alternata	التبقع الأسود للطماطم
Aspergillus flavus	إلتهاب كبدي - التهاب بالجلد والجيوب الأنفية -تحسس رئوي.
Aspergillus niger	العفن الأسود للبصل - مرض الرشرشات للأنسان
Fusarium moniliforme	تبقع أوراق النباتات.
Penicillium notatum	العفن الأزرق للموالح.
Botrytis fabae	تبقع البني للفول.
Candida albicans	داء المبيضات، اللتهاب اللثة.
Saccharomyces cerevisiae	إلتهاب شغاف القلب ونادرا إلتهاب رئوي.
Rhodotorula rubra	إلتهاب شغاف القلب.

الفصـــــل الثالث

3. المواد وطرائق البحث

MATERIALS AND METHODS

المـــــواد وطـرائق البـــحث

1.3 جمع العينات Collection of Samples

جمعت عينات العكبر الليبي من ثلاث مناطق مختلفة (المنطقة الغربية – المنطقة الوسطى – المنطقة الشرقية) بصورة عشوائية وذلك خلال الفترة الممتدة من أبريل 2017 م حتى أغسطس 2017 م، ثم نقلت العينات إلى المعمل لإجراء التجارب المعملية.

2.3 الكائنات الحية الدقيقة المختبرة Tested Microorganisms

تم الحصول على أنواع البكتيريا المدروسة من الشركة الأمريكية Microbiologics المعرفة بأرقام محددة حسب كل نوع ورقمه

جدول (2) أنواع البكتيريا المختبرة

البكتيريا	الرقم
Staphylococcus epidermidis	0371p
Shigella sonnei	0303p
Escherichia coli	0314p
Klebsiella pneumoniae	0456p
Staphylococcus aureus	0315p
Listeria innocua	0523p
Enterobacter cloacae	0497p
Bacillus cereus	0614p
Bacillus subtilis	كلية العلوم
Enterobacter agglomerans	كلية الصيدلة

تم الحصول على أنواع الخميرة المدروسة من معمل الأحياء الدقيقة بكلية الصيدلة وهي :

Candida albicans, Candida parapsilosis, Candida tropicali, Saccharomyces cerevisiae, Rhodotorula rubra, Pichia.

تم الحصول على أنواع الفطريات المدروسة من معمل الأحياء الدقيقة بكلية العلوم وهي :

Alternaria alternata, Aspergillus flavus Aspergillus oryza, Aspergillus niger, Fusarium solani, Fusarium moniliforme, Penicllium notatum, Penicllium chrysogenum, Penicllium digitatum, Botrytis fabae.

3.3 المحاليل الكيميائية والمواد المستخدمة Used Materials and Chemical Solutions

ماء مقطر Distilled water - كحول إيثيلي Ethanol alcohol - محلول Dimethyl Sulfoxide أطباق بتري - مخبار مدرج - كؤوس زجاجية - أوراق ترشيح - ماصات - إبرة تلقيح ذات الحلقة - قطن - أكياس نايلون معقمة - غطاء معدني - ميزان حساس - قوارير زجاجية.

4.3 المضادات الحيوية والمبيدات المستخدمة Used Antibiotics and Pesticides

استخدمت المضادات الحيوية التالية Penicillin and Amoxicillin لدراسة تأثيرها على البكتيريا المدروسة، الشركة المصنعة MN Pharmaceuticals.

استخدم المستحضر الطبي Nystatin لمنع نمو الخمائر المدروسة، الشركة المصنعة Amman Pharmaceutical Industries Co. LTD.

أما المبيدات الكيميائية المستخدم لتثبيط للفطريات فقد استخدم المبيد Thiophanate بتركيز 70% الشركة المصنعة Indofil Industries Limited.

5.3 الأجهزة المستخدمة Used Equipment

جهاز التعقيم (Autoclave) - حضانة (Incubator) - جهاز فوق الموجات الصوتية (Ultra-Sonic Generator) - حمام مائي (Water Bath) - فرن التجفيف (Drying Oven)

6.3 الأوساط الغذائية المستخدمة Food Media Used

جدول (3) تركيب الوسط الغذائي (Mannitol salt agar) (pH=7.4 ± 0,2)

المادة الكيميائية	الكمية
Meat extract	1.0 جرام/ لتر
Casein peptone	5.0 جرام/ لتر
Meat peptone	5.0 جرام/ لتر
Sodium chloride	75.0 جرام/ لتر
D- Mannitol	10.0جرام/ لتر
Phenol red	0.025 جرام/ لتر
Agar	12.00 جرام/ لتر

جدول (4) تركيب الوسط الغذائي (PDA) (pH=5.6 ± 0,2)

المادة الكيميائية	الكمية
Potato peptone	4.0 جرام/ لتر
Glucose	20.0 جرام/ لتر
Agar	15.0 جرام/ لتر

7.3 استخلاص العكبر Extract Propolis

حسب الطريقة التي وصفها (Kubiliene *et al*., 2015) تم طحن عينات العكبر من المناطق الثلاث كل على حده للحصول على مسحوق ناعم ، و تم وزن 30جرام من عينة العكبر المطحون من المناطق الثلاث بميزان حساس ووضع في مخبار مدرج وأضيف إليه 150 مل من الكحول الإيثانول بتركيز 70% وتم تحريك المخبار لخلط العكبر والكحول، ومن تم وضعه في جهاز فوق الموجات الصوتية لمدة 45 دقيقة و800 هيرتز ليتم فصل المستخلص من الراسب، وتم سحب المستخلص بواسطة ماصة ووضعه في قارورة مظلمه، وثم تكرار هذه العملية ثلاث مرات على نفس راسب العكبر لكل منطقة على حده، وثم وضعه في فرن التجفيف لكي يتبخر الكحول تحت درجة حرارة 40 درجة مئوية بعد أسبوعين يتبخر الكحول بالكامل ويتبقى مستخلص العكبر وحفظ جيداً إلى حين الاستعمال.

أخدت 10جرام من مستخلص العكبر وتم إذابته في 10 مل من محلول Dimethyl Sulfoxide المخفف بتركيز 1% وتم تحضير تركيزين منه 5% و10%.

8.3 تأثير المستخلص الكحولي للعكبر على البكتيريا

بإتباع طريقة (Andrews, 2001) تم تحضير الوسط المغذي (Muller Hinton agar) وزراعة البكتيريا بطريقة التخطيط على أطباق بتري تحت ظروف معقمة ، تم وضع عليها الأقراص الورقية المشبعة بمستخلص العكبر والتركيزين 5% ، 10% ومضاد الحيوي .

وبعد التحضين الهوائي لمدة 24 ساعة، تحت درجة حرارة 37 ْم، تم ملاحظة تثبيط العكبر للبكتيريا وذلك بقياس قطر منطقة التثبيط لكل من التركيزات المختلفة لمستخلص العكبر والمضاد الحيوي المستخدم.

9.3 تأثير المستخلص الكحولي للعكبر على الفطريات والخمائر

تم استخدام الوسط المغذي Potato dextrose agar (PDA) لزراعة الفطريات والخمائر مع إضافة مضاد حيوي (Amoxicillin) لتثبيط نمو البكتيريا بتركيز 5mg/ml، ثم زرع الفطريات والخمائر على الأطباق المجهزة بالوسط (PDA) ووضع أقراص ورقية مشبعة بالتركيزات المختلفة للمستخلص العكبر والمبيد الكيميائي في الأطباق لكل منطقة ثلاثة مكررات وتم تحضنيها عند درجة حرارة الغرفة، عند درجة حرارة 25ْم من 48 ساعه إلى أسبوع، تم قياس قطر منطقة التثبيط لهذه التركيزات وكذلك قياس قطر منطقة التثبيط للمبيد الكيميائي.

10.3 التحليل الإحصائي Statistics Analysis

تم استخدام برنامج SPSS تحليل التباين الأحادي ANOVA لمعرفة إذا كان هناك فروق معنوية بين تثبيط العكبر على البكتيريا والفطريات والخمائر موضوع الدراسة عند مستوى معنوية 0.05، واستخدام برنامج أكسل لتوضيح الأشكال.

الفصـــــل الرابع

4. النتائج

RESULTS

النتـــــــائـــــــج

استخدم في هذه الدراسة ثلاثة أنواع من العكبر والتي تم تجميعها من ثلاث مناطق في ليبيا (شرقية، وسطى، غربية)، حيث درس تأثير مستخلص العكبر على بعض أنواع الكائنات الدقيقة ذات الأهمية الاقتصادية؛ وباختبار تأثير هذا المستخلص على هذه الأنواع وكذلك مقارنته ببعض المضادات الحيوية والمبيدات الكيميائية والمستحضرات التجارية، واستخدمت بعض الاختبارات الإحصائية لوصف وتأكيد العلاقة بين هذه المتغيرات تحصلنا على النتائج التالية:

1.4 كفاءة مستخلصات العكبر للمناطق المختلفة في تثبيط بعض الأنواع البكتيرية الممرضة والملوثة للغذاء

من خلال النتائج المتحصل عليها في الجدول (5) يتضح أن مستخلص العكبر كان ذو تأثير مثبط على أربعة أنواع بكتيرية وبكل التراكيز المستخدمة وهذه الأنواع هي

(*Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus epidermidis*, *Shigella sonnei*)

في حين لم يكن مؤثراً على ستة أنواع بكتيرية وهي

(*Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Enterobacter agglomerans*, *Enterobacter cloacae*, *Listeria innocua*)

وتتفاوت النتائج المتحصل عليها؛ حيث اتضح اختلاف تأثير مستخلص العكبر على بعض الأنواع البكتيرية وكان الاختلاف حسب تركيز هذا المستخلص، وكذلك على حسب المنطقة المأخوذ منها المستخلص حيث اتضح أن مستخلص العكبر بالمنطقة الشرقية أفضل أنواع العكبر تأثيراً على بعض الأنواع البكتيرية المدروسة.

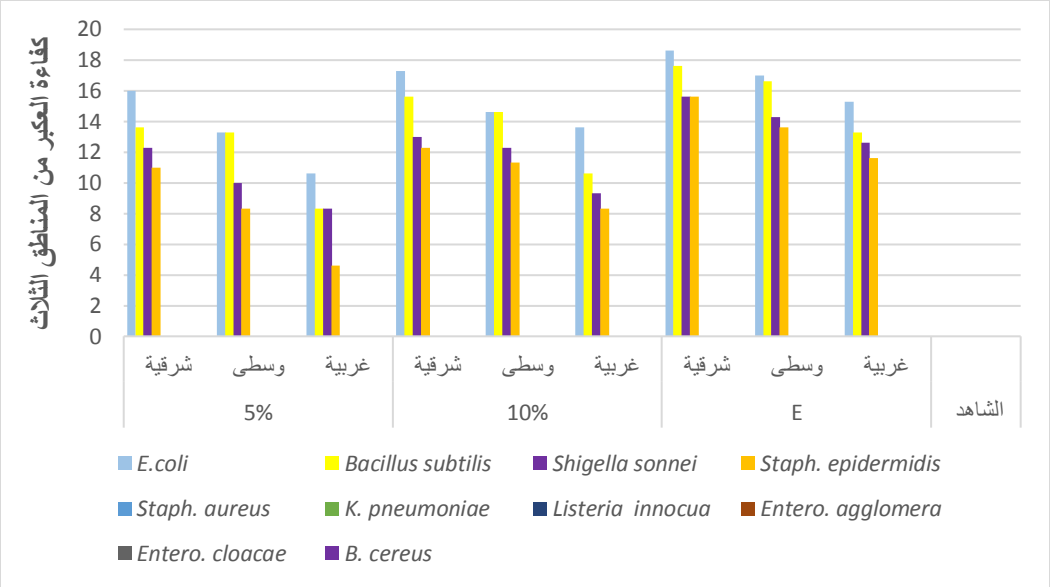
وكانت البكتيريا *Escherichia coli* هي الأكثر حساسية لمستخلص العكبر في المنطقة الشرقية حيث بلغ متوسط قطر منطقة التثبيط (16) ملم عند تركيز 5% و بلغ متوسط قطر منطقة التثبيط (17.3) ملم في المنطقة الشرقية عند تركيز 10% وبلغ متوسط قطر منطقة التثبيط عند تركيز الخام (E) وهو أعلى متوسط قطر منطقة التثبيط بلغ (18.6) ملم في المنطقة الشرقية، و في المقابل تنخفض حساسية هذه البكتيريا في المنطقة الوسطى ومن تم تليها المنطقة الغربية، وتقل حساسية البكتيريا تدريجيا بين أنواع البكتيريا الأخرى وتنخفض عنها بكتيريا *Bacillus subtilis* حيث كان متوسط قطر منطقة التثبيط في المنطقة الشرقية بلغ (13.6) ملم عند تركيز 5% وفي تركيز 10% بلغ المتوسط قطر منطقة التثبيط (15.6) ملم وبلغ في التركيز الخام متوسط قطر منطقة التثبيط (17.6) ملم، وتنخفض حساسية بكتيريا *Shigella sonnei* لمستخلص العكبر في المنطقة الشرقية عند تركيز 5% بلغ (12.3) ملم وعند تركيز 10% بلغ (13) ملم وعند تركيز الخام (E) بلغ (15.6) ملم وتنخفض حساسية البكتيريا في المنطقة الوسطى والغربية على التوالي، وسجلت أقل نوع بكتيريا *Staphylococcus epidermidis* تأثراً بمستخلص العكبر بكل التراكيز في كل المناطق فكان متوسط قطر منطقة التثبيط في المنطقة الشرقية (11) ملم عند التركيز 5% وفي التركيز 10% بلغ (12.3) ملم وفي تركيز الخام (E) بلغ (15.6) ملم، وبلغ متوسط أقطار التثبيط بين المناطق الثلاث المأخوذ منها العكبر لكل أنواع البكتيريا عند تركيز 5% في المنطقة الشرقية (13.2) ملم وفي المنطقة الوسطى (11.2) ملم وفي المنطقة الغربية (8.0) ملم وعند التركيز 10% في المنطقة الشرقية (14.6) ملم وفي الوسطى (13.2) ملم وفي الغربية (10.4) ملم، وعند تركيز الخام (E) في المنطقة الشرقية (16.8) ملم وعند المنطقة الوسطى (15.3) ملم وفي المنطقة الغربية (13.2) ملم على التوالي، وبين من النتائج المتوسط بين التراكيز فبلغ عند تركيز 5% (10.8)

ملم وعند تركيز 10% بلغ المتوسط (12.8) ملم وعند تركيز الخام (E) بلغ المتوسط (15.1) ملم، وكذلك بين وجود فروق معنوية عالية مقارنة بالشاهد و بين أنواع البكتيريا المدروسة وكذلك بين المناطق المختلفة التي أخذا منه العكبر كما هو مبين في الجدول (4) شكل (1).

جدول (5) كفاءة مستخلصات العكبر للمناطق المختلفة في تثبيط بعض الأنواع البكتيرية

نوع البكتيريا	التركيز								
	الشاهد	5%			10%			E	
		مناطق							
		شرقية	وسطى	غربية	شرقية	وسطى	غربية	شرقية	وسطى	غربية
		متوسط قطر منطقة التثبيط (ملم)							
E .coli	0	16	13.3	10.6	17.3	14.6	13.6	18.6	17	15.3
Bacillus subtilis	0	13.6	13.3	8.3	15.6	14.6	10.6	17.6	16.6	13.3
Shigella sonnei	0	12.3	10	8.3	13	12.3	9.3	15.6	14.3	12.6
Staph. epidermidis	0	11	8.3	4.6	12.3	11.3	8.3	15.6	13.6	11.6
Staph. aureus	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
K. pneumoniae	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Listeria innocua	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Entero. agglomera	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Entero. cloacae	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Bacillus cereus	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
المتوسط بين المناطق	0	13.2	11.2	8	14.6	13.2	10.4	16.8	15.3	13.2
المتوسط بين التركيز	0	10.8			12.85			15.1		

L.S.D Bacteria = 0.342 L.S.D Area = 0.188



شكل (1) كفاءة مستخلصات العكبر للمناطق المختلفة في تثبيط بعض الأنواع البكتيرية

2.4 تأثير مستخلصات العكبر الليبي على بعض الأنواع البكتيرية الممرضة للإنسان والملوثة للغذاء

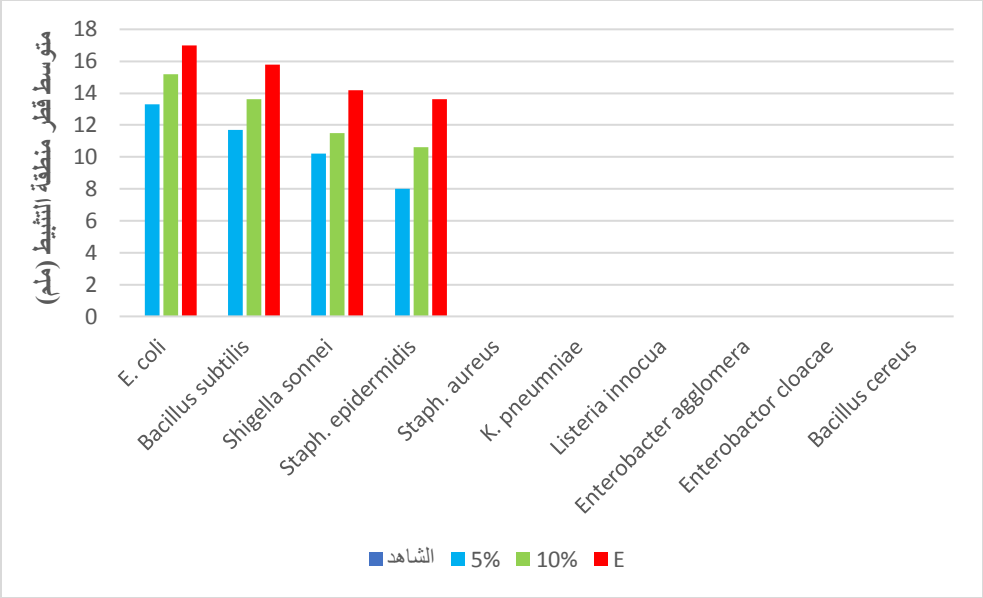
تبين النتائج المعروضة في الجدول (6) تفاوت تأثير مستخلص العكبر بتركيزات مختلفة (5%، 10%، E) على بعض أنواع البكتيريا المدروسة ومقارنتها بالشاهد، تبين وجود فروق معنوية بين التراكيز العكبر المدروسة (5%، 10%، E) والشاهد؛ وحيث لوحظ أعلى تأثير لمستخلص العكبر بتركيز الخام (E) فكان متوسط قطر منطقة التثبيط (17) ملم في البكتيريا *Escherichia coli* وبلغ (15.8) ملم في البكتيريا *Bacillus subtilis* وبلغ (14.2) ملم في البكتيريا *Shigella sonnei* وبلغ (13.6) ملم في البكتيريا *Staphylococcus epidermidis* وبقطر منطقة التثبيط أقل في تركيز 10% حيث بلغ متوسط قطر منطقة

التثبيط للبكتيريا *Escherichia coli* (15.2) ملم وفي بكتيريا *Bacillus subtilis* بلغ (13.6) ملم وبلغ في بكتيريا *Shigella sonnei* (11.5) ملم وفي بكتيريا *Staphylococcus epidermidis* (10.6) ملم وعند تركيز 5% أوضحت النتائج أقل متوسطات أقطار التثبيط لكل أنواع البكتيريا *Bacillus subtilis* *Escherichia coli, Shigella sonnei, Staphylococcus epidermidis* المتأثرة بمستخلص العكبر فبلغ متوسط قطر منطقة التثبيط (13.3) ملم ، (11.7) ملم ، (10.2) ملم ، (8) ملم على التوالي.

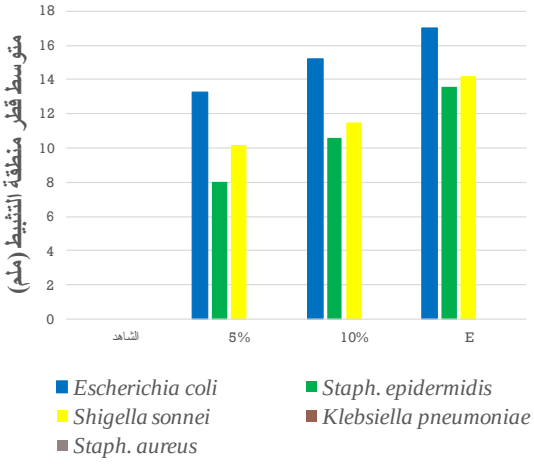
جدول (6) تأثير مستخلصات العكبر على بعض الأنواع البكتيرية الممرضة للإنسان والملوثة للغذاء

نوع البكتيريا	متوسط قطر منطقة التثبيط (ملم)			
	الشاهد	5%	10%	E
E. coli	0	13.3	15.2	17
Bacillus subtilis	0	11.7	13.6	15.8
Shigella sonnei	0	10.2	11.5	14.2
Staph. epidermidis	0	8	10.6	13.6
Staph. aureus	0	0	0	0
K. pneumoniae	0	0	0	0
Listeria Innocua	0	0	0	0
Enterobactor agglomera	0	0	0	0
Enterobactor cloacae	0	0	0	0
Bacillus cereus	0	0	0	0

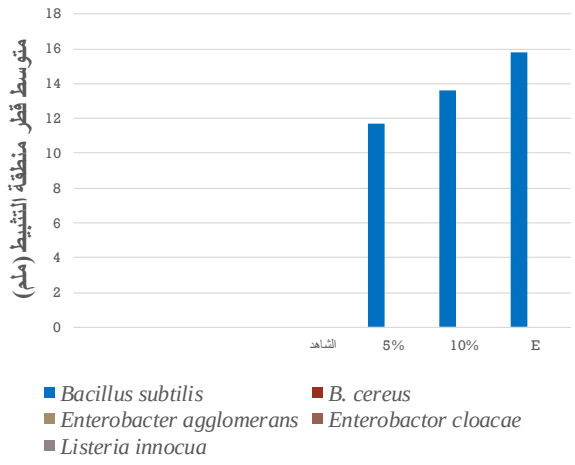
LSD Cone = 0.216



شكل (2) متوسط أقطار منطقة التثبيط لبعض أنواع البكتيريا



شكل (3) يوضح أنواع البكتيريا الممرضة



شكل (4) يوضح أنواع البكتيريا الملوثة للغذاء

أظهرت النتائج كما الشكل (3-4) تأثير مستخلص العكبر على بعض أنواع البكتيريا الممرضة التي تتمثل:

Klebsiella pneumoniae, Staph. aureus, Staph. epidermidis, Escherichia coli, Shigella sonnei، حيت كان تأثير مستخلص العكبر ع ثلاث أنواع بكتيرية فقط *Staph. epidermidis* *Shigella sonnei , Escherichia coli* لكل التركيز وبين وجود فروق معنوية بين أنواع البكتيريا المدروسة ولم يحدث أي تأثير على النوعين *Klebsiella pneumoniae, Staph. aureus* في كل التركيز.

ومقارنة ببعض أنواع البكتيريا الملوثة للغذاء المتمثلة في:

Bacillus subtilis, B. cereus, Entero. agglomerans, E. cloacae, Listeria innocua *أوضحت* النتائج أن بكتيريا *Bacillus subtilis* البكتيريا الوحيدة عندا معاملتها بمستخلص العكبر تم تثبيطها في كل التراكيز، ولم يحدث أي تأثير يذكر في أنواع البكتيريا المدروسة الأخرى، وبين وجود فروق معنوية بين أنواع البكتيريا المدروسة الأخرى

3.4 تأثير العكبر والمضاد الحيوي على بكتيريا المدروسة

تبين من نتائج هذا الجدول (7) تفاوت في متوسطات قطر التثبيط بين المستخلص العكبر الخام (E) ونوعين من المضادات الحيوية المدروسة Penicillin and Amoxicillin في تثبيط الأنواع البكتيرية المدروسة وهي:

Escherichia coli, Bacillus subtilis, Staphylococcus epidermidis, Shigella sonnei,

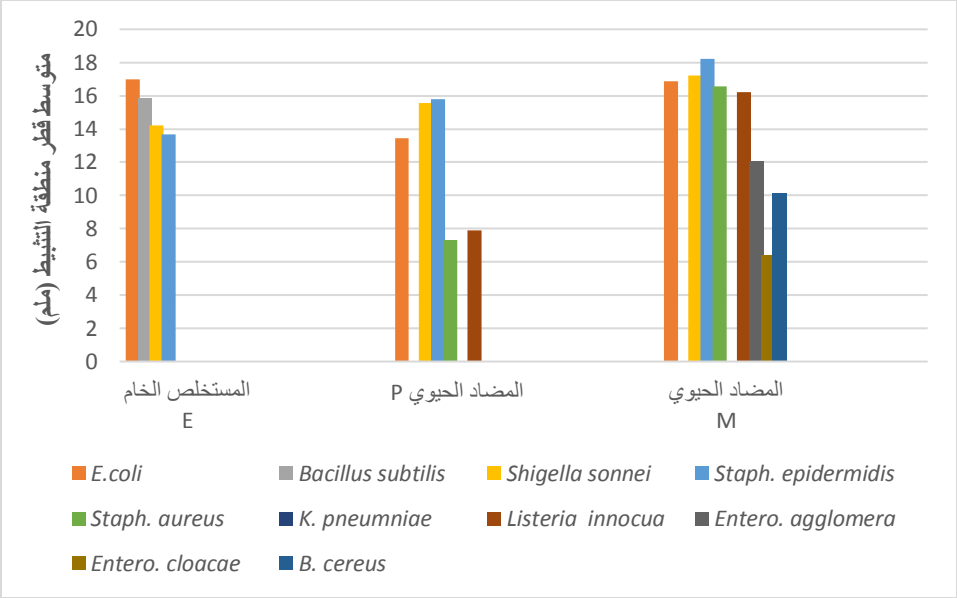
Klebsiella pneumoniae, Staphylococcus aureus, Bacillus cereus, Enterobacter agglomerans, Enterobacter cloacae, Listeria innocua

أظهرت نتيجة تأثير مستخلص العكبر الخام الذي بلغ متوسط قطر التثبيط للبكتيريا *E. coli* (17) ملم أعلى تأثير من المضاد الحيوي Amoxicillin والمضاد الحيوي Penicillin الذي بلغ متوسط قطريهما (16.8-13.4) ملم، وبينما بكتيريا *Bacillus subtilis* كان المستخلص العكبر الخام ذو تأثير فعال عليها فبلغ متوسط قطر التثبيط (15.8) ملم مع مقاومة هذه البكتيريا للمضادين المستخدمين ، وكذلك حساسية النوعين *Shigella sonnei* و *Staphylococcus epidermidis,* للعكبر والمضادين الحيويين وعدم فعالية العكبر ضد باقي الأنواع البكتيريا المدروسة وفي بكتيريا *K. pneumoniae* لم يحدث أي تأثير تثبيطي فيها من المستخلص العكبر الخام وكلا المضادين الحيويين، وبين أن المضاد الحيوي Amoxicillin الأكثر فاعلية في تثبيط الأنواع البكتيرية من المضاد الحيوي Penicillin وبين وجود فروق معنويه بين المضادين الحيويين المستخدمة والعكبر الخام.

جدول (7) تأثير مستخلص العكبر والمضاد الحيوي على البكتيريا

نوع البكتيريا	المعـــــامـــــــــــلات		
	متوسط قطر منطقة التثبيط (ملم)		
	المستخلص الخام E	المضاد الحيوي P	المضاد الحيوي M
E. coli	17	13.4	16.8
Bacillus subtilis	15.8	0	0
Shigella sonnei	14.2	15.5	17.2
Staph. epidermidis	13.6	15.7	18.2
Staph. aureus	0	7.3	16.5
K. pneumoniae	0	0	0
Listeria innocua	0	7.8	16.2
Entero. agglomera	0	0	12.1
Entero. cloacae	0	0	6.4
B. cereus	0	0	10.1

L.S.D = 1.35



شكل (5) تأثير العكبر الخام والمضاد الحيوي على البكتيريا

4.4 كفاءة العكبر المنتج من المناطق المختلفة في تثبيط الخمائر الممرضة والملوثة للغذاء

من الجدول (8) وشكل (6) بين تأثير مستخلص العكبر على كل أنواع الخمائر المدروسة المتمثلة في:

Candida albicans, Candida parapsilosis, Candida tropicali, Saccharomyces cerevisiae, Rhodotorula rubra, Pichia

حيث تم حساب متوسط قطر منطقة التثبيط لتركيزات مختلفة ومن مناطق مختلفة ومقارنتها بالشاهد ووجد فروق معنوية واضحة بين مستخلص العكبر والمضادات الحيوية المدروسة، وكان أعلى تأثير العكبر المأخوذ من المنطقة الشرقية ومن تم المنطقة الوسطى ومن ثم المنطقة الغربية في التأثير العكبر حيث بلغ المتوسط بين المناطق فكان متوسط المنطقة الشرقية (8.4) ملم ومتوسط المنطقة الوسطى (6.3) ملم ومتوسط المنطقة الغربية (4.5) ملم عند التركيز 5% وبلغ المتوسط عند تركيز 10% فوجد متوسط المنطقة الشرقية (10.9)

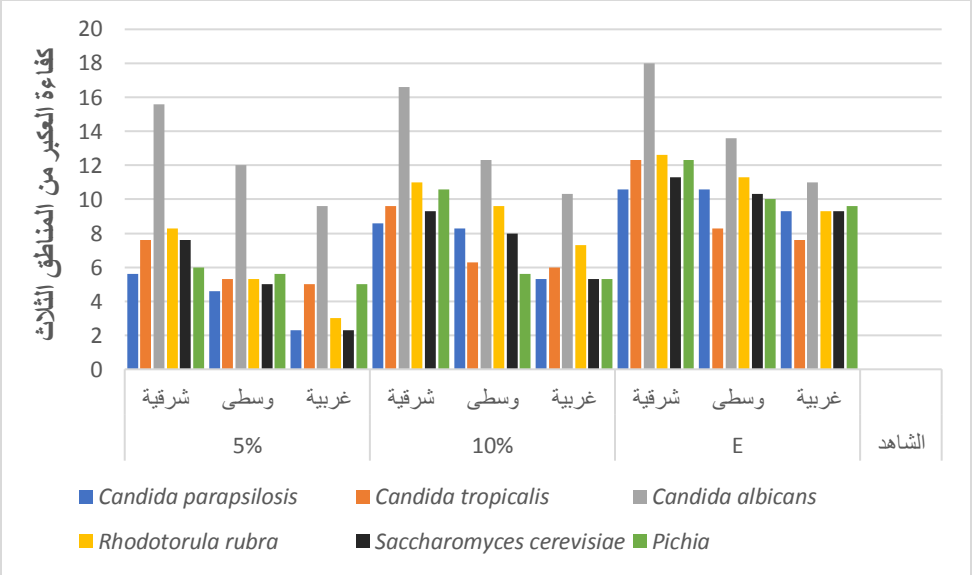
ملم ومتوسط المنطقة الوسطى (8.3) ملم وفي المنطقة الغربية (6.5) ملم ، وكان متوسط بين التراكيز في التثبيط عند التركيز 5% بلغ (6.4) ملم ويزيد عند التركيز 10% بلغ (8.5) ملم ويكون أكثر تثبيط عند التركيز مستخلص العكبر الخام (E) حيث بلغ (10.9) ملم .

أظهرت هذه النتائج جميع الخمائر لديها حساسية عالية من مستخلص العكبر بكل التراكيز الأعلى والأدنى وتتفاوت حساسية هذه الأنواع في جميع المناطق الشرقية والوسطى والغربية فكانت نوع الخميرة *Candida albicans* الأكثر لحساسية المستخلص العكبر ثم تليها *Rhodotorula rubra* ثم تليها *Pichia* وتليها *Saccharomyces cerevisiae* وتليها *Candida parapsilosis* وأقلها حساسية خميرة *Candida tropicalis*.

جدول (8) كفاءة مستخلصات العكبر للمناطق المختلفة في تثبيط بعض أنواع الخميرة

نوع الخميرة	التركيز									
	الشاهد	5%			10%			E		
		المناطق								
		شرقية	وسطى	غربية	شرقية	وسطى	غربية	شرقية	وسطى	غربية
	متوسط قطر منطقة التثبيط (ملم)									
Candida parapsilosis	0	5.6	4.6	2.3	8.6	8.3	5.3	10.6	10.6	9.3
Candida tropicalis	0	7.6	5.3	5	9.6	6.3	6	12.3	8.3	7.6
Candida albicans	0	15.6	12	9.6	16.6	12.3	10.3	18	13.6	11
Rhodotorula rubra	0	8.3	5.3	3	11	9.6	7.3	12.6	11.3	9.3
Saccharomyces cerevisiae	0	7.6	5	2.3	9.3	8	5.3	11.3	10.3	9.3
Pichia	0	6	5.6	5	10.6	5.6	5.3	12.3	10	9.6
المتوسط بين المناطق	0	13.2	11.2	8	14.6	13.2	110.4	16.8	15.3	13.2
المتوسط بين التراكيز	0	10.8			12.8			15.1		

L.S.D Yeast = 1.385 L.S.D Area = 0.979



شكل (6) كفاءة العكبر من المناطق المختلفة في تثبيط بعض أنواع الخميرة

5.4 تأثير مستخلصات العكبر على بعض أنواع الخميرة الممرضة للإنسان والملوثة للغذاء

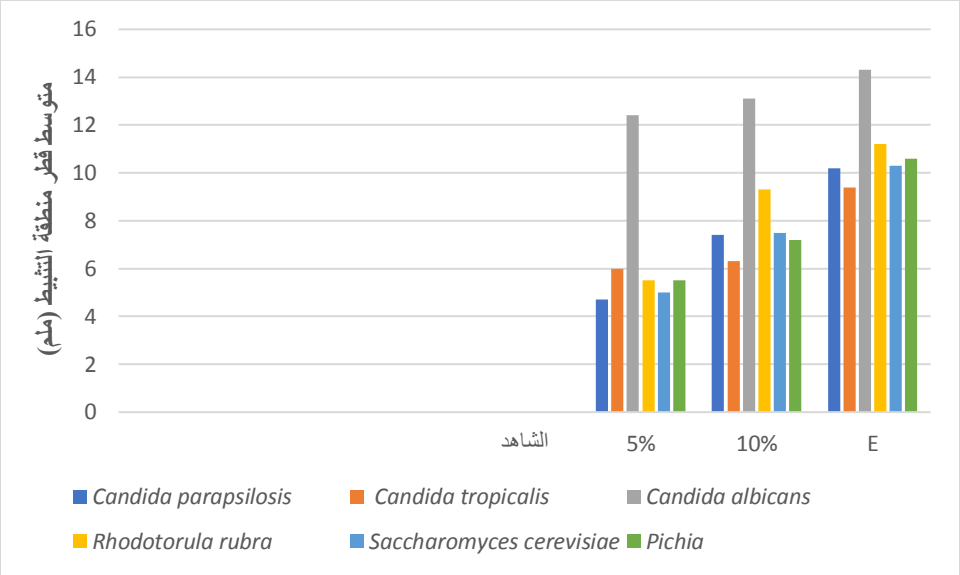
أوضحت النتائج تأثير مستخلص العكبر على الأنواع الستة المدروسة فكان متوسط قطر التثبيط الأعلى لنوع الخميرة *Candida albicans* فبلغ (14.3) ملم عند التركيز الخام (E) ويقل متوسط قطر التثبيط عند التركيز 10% فبلغ (13.1) ملم ويقل عنه عند تركيز 5% حيث بلغ (12.4) ملم وبترتيب تنازلي على التوالي تقل نوع الخميرة *Rhodotorula rubra* بلغ متوسط التثبيط عند التركيز الخام (E) (11.2) ملم وينخفض تدريجياً عند تركيز 10% حيث بلغ (9.3) ملم وعند تركيز 5% بلغ (5.5) ملم ثم تليها نوع الخميرة *Pichia* حيث بلغ متوسط قطر التثبيط (10.6) ملم عند التركيز الخام (E) وعند التركيز 10% بلغ (7.2) ملم وعند تركيز 5% بلغ (5.5) ملم، ويكون متوسط أقطار التثبيط لنوعين الخميرة *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida parapsilosis* متقاربتان فبلغ متوسط القطر التثبيط كل منهما عند التركيز الخام (E) (10.3، 10.2) ملم

وفي التركيز 10% بلغ (7.4، 7.2) ملم وعند التركيز 5% بلغ (5.5، 4.7) ملم، وينخفض متوسط قطر التثبيط لنوع الخميرة *Candida tropicalis* حيث بلغ في تركيز الخام (E) (9.4) ملم وعند تركيز 10% بلغ (6.3) ملم وبلغ عند تركيز 5% (6) ملم على التوالي، وبين وجود فروق معنوية بين التركيزات المختلفة لمستخلص العكبر و مقارنتها بالشاهد كما في الجدول (9) والشكل (7).

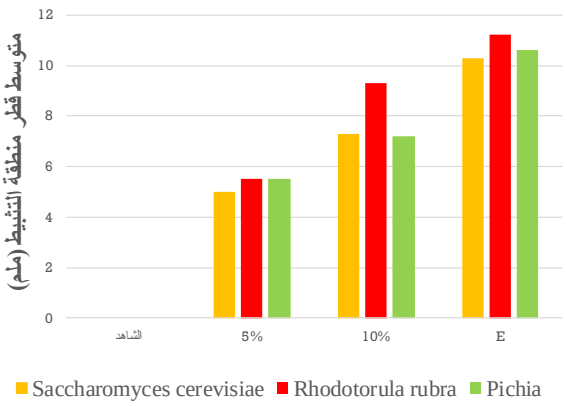
جدول (9) تأثير مستخلصات العكبر على بعض أنواع الخميرة الممرضة للإنسان والملوثة للغذاء

نوع الخميرة	متوسط قطر منطقة التثبيط (ملم)			
	الشاهد	5%	10%	E
Candida parapsilosis	0	4.7	7.4	10.2
Candida tropicalis	0	6	6.3	9.4
Candida albicans	0	12.4	13.1	14.3
Rhodotorula rubra	0	5.5	9.3	11.2
Saccharomyces cerevisiae	0	5	7.5	10.3
Pichia	0	5.5	7.2	10.6

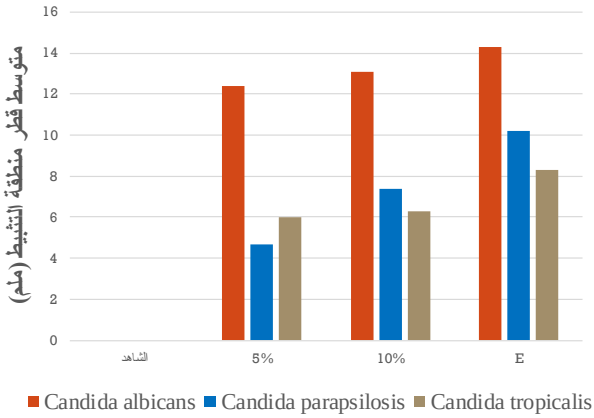
L.S.D Conc = 1.131



شكل (7) متوسط قطر منطقة التثبيط لبعض أنواع الخميرة



شكل (9) يوضح أنواع الخميرة الملوثة للغذاء



شكل (8) يوضح أنواع الخميرة الممرضة

بينت النتائج من هذا الشكل (8-9) حساسية أنواع الخمائر الممرضة لمستخلص العكبر المتمثلة في:

Candida albicans, Candida parapsilosis, Candida tropicalis

لمستخلص العكبر لكل التركيز بقيم متفاوتة أظهرت نتائج إيجابية عالية وخاصةً على نوع الخميرة *Candida albicans.*

وكذلك سجلت بعض أنواع الخمائر الملوثة للغذاء مدى حساسيتها لمستخلص العكبر وبكل التركيز المتمثلة في:

Saccharomyces cerevisiae, Rhodotorula rubra, Pichia

وهذا يبين لنا مدى أهمية مستخلص العكبر في مقاومة الأمراض وتلوث الغذاء الناتجة من هذه الخمائر كما في الشكل (8-9).

6.4 تأثير العكبر والمستحضر الطبي Nystatin على الخمائر المدروسة

أوضحت النتائج ان مستخلص العكبر ومستحضر Nystatin كانا ذو تأثير فعال على كل أنواع الخمائر الستة المدروسة وهي

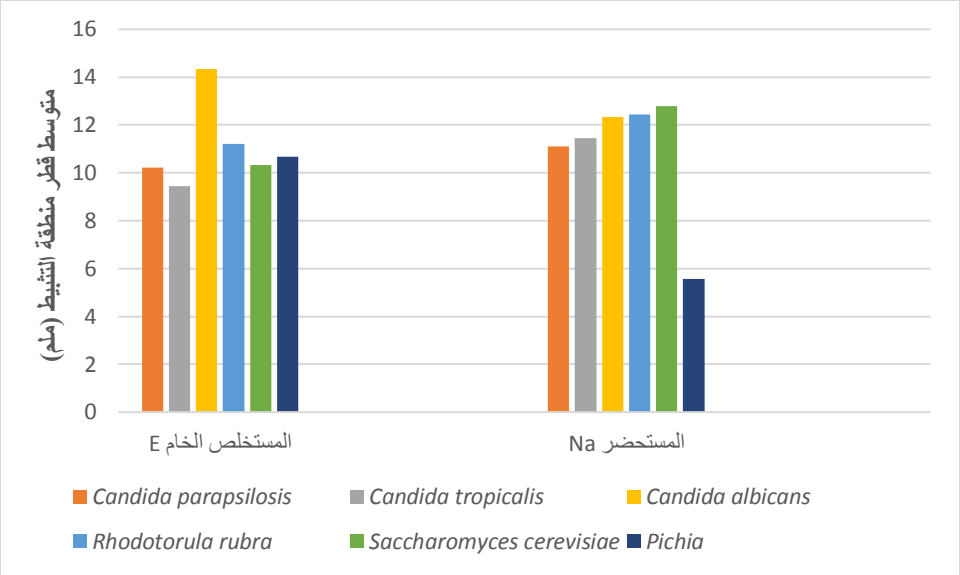
Candida albicans, Candida parapsilosis, Candida tropicali, Saccharomyces cerevisiae, Rhodotorula rubra, Pichia

بينت النتائج أن تأثير مستخلص العكبر الخام (E) يتراوح متوسط قطر منطقة التثبيط ما بين (9.4) ملم إلى (14.3) ملم على التوالي، ومستحضر Nystatin يتراوح متوسط قطر منطقة التثبيط ما بين (5.5) ملم إلى

(12.7) ملم على أنواع الخمائر المدروسة عدا النوع *Pichia* كان المستخلص العكبر الخام والذي قطره (10.6) ملم أعلى من مستحضر Nystatin بقطر (5.5) ملم كما في الجدول (10) وشكل (10).

جدول (10) تأثير مستخلص العكبر والمستحضر الطبي على الخمائر

نوع الخميرة	المعاملات	
	متوسط قطر منطقة التثبيط (ملم)	
	المستخلص الخام E	المستحضر Na
Candida parapsilosis	10.2	11.1
Candida tropicalis	9.4	11.4
Candida albicans	14.3	12.3
Rhodotorula rubra	11.2	12.4
Saccharomyces cerevisiae	10.3	12.7
Pichia	10.6	5.5



شكل (10) تأثير العكبر والمستحضر Na على الخمائر

7.4 كفاءة العكبر المنتج من المناطق المختلفة في تثبيط بعض الفطريات الممرضة والملوثة للغذاء

بينت النتائج من الجدول (11) مقارنة كفاءة مستخلص العكبر من المناطق الثلاث (الشرقية، الوسطى، الغربية) فكان مستخلص عكبر المنطقة الشرقية هي الأفضل في تأثير ويقلها في التأثير المنطقة الوسطى وتليها المنطقة الغربية، وبين وجود فروق معنوية بين المناطق المختلفة وبين أنواع الفطرية المدروسة المتمثلة في:

Alternaria alternata, *Aspergillus flavus*, *A. oryza*, *A. niger*, *Fusarium solani*,

F. moniliforme, *Penicillium notatum*, *P. chrysogenum*, *P.digitatum*, *Botrytis fabae*.

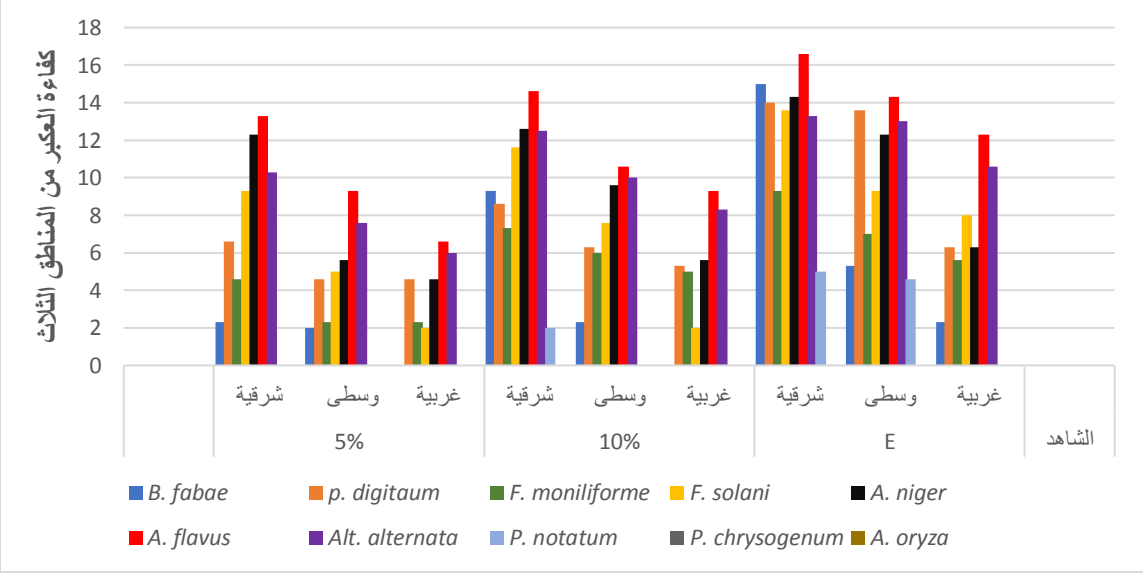
وأوضح من الجدول فطر *A. flavus* أكثر حساسية لمستخلص العكبر في المنطقة الشرقية فبلغ قطر التثبيط (16.6) ملم عند التركيز الخام (E) وفي نفس المنطقة عند التركيز 10% والتركيز 5% بلغ (14.6 ، 13.3)

ملم، وينخفض قليلاً حساسية فطر *Alternaria alternata* في المنطقة الشرقية فبلغ متوسط قطر التثبيط عند التركيز الخام (E) (13.3) والتركيز 10% والتركيز 5% (12.5 ، 10.3) ملم على التوالي ويليها فطر *P. digitatum* فبلغ متوسط قطر التثبيط عند التركيز الخام (E) (14) ملم وينخفض عند التركيز 10% و 5% فبلغ (8.6 ، 6.6) ملم وينخفض عنه فطر *A. niger* في نفس المنطقة فبلغ متوسط قطر التثبيط عند التركيز الخام (E) (14.3) ملم وعند تركيز 10% و 5% بلغ (12.6 ، 12.3) ملم ، وانخفض عنه حساسية فطر *Fusarium solani* لمستخلص العكبر بالتراكيز الثلاثة في المنطقة الشرقية فبلغ متوسط قطره عند التركيز الخام (E) (10.3) ملم وعند التركيز 10% و 5% فبلغ (7.1 ، 5.4) ملم ويليه فطر *F. moniliforme* فكان متوسط قطره في المنطقة الشرقية عند التركيز الخام (E) (9.3) ملم وينخفض عنه بالترتيب عند التركيز 10% والتركيز 5% فبلغ (7.3 ، 4.6) ملم ، وتنخفض جداً حساسية الفطرين *Botrytis fabae* , *Penicillium notatum* لمستخلص العكبر في المنطقة الشرقية فبلغ متوسط قطر التثبيط عند التركيز الخام (E) في المنطقة الشرقية (15 ، 5) ملم وعند التركيز 10% بلغ (9.3 ، 2) ملم وعند التركيز 5% (2.3 ، 0) ملم، ومن النتائج تؤكد لنا الأفضل تثبيط المنطقة الشرقية بسبب تنوع الغطاء النباتي وفاعلية المواد الفعالة ،وتنعدم حساسية كل من الفطرين *A. oryza* , *P. chrysogenum* لمستخلص العكبر بكل التراكيز وفي كل المناطق.

جدول (11) كفاءة مستخلصات العكبر للمناطق المختلفة في تثبيط بعض الأنواع الفطرية

نوع الفطر	الشاهد	التركيز								
		5%			10%			E		
		المناطق								
		شرقية	وسطى	غربية	شرقية	وسطى	غربية	شرقية	وسطى	غربية
		متوسط قطر منطقة التثبيط (ملم)								
B. fabae	0	2.3	2	0	9.3	2.3	0	15	5.3	2.3
P. digitaum	0	6.6	4.6	4.6	8.6	6.3	5.3	14	13.6	6.3
F. moniliforme	0	4.6	2.3	2.3	7.3	6	5	9.3	7	5.6
F. solani	0	9.3	5	2	11.6	7.6	2	13.6	9.3	8
A. niger	0	12.3	5.6	4.6	12.6	9.6	5.6	14.3	12.3	6.3
A. flavus	0	13.3	9.3	6.6	14.6	10.6	9.3	16.6	14.3	12.3
Alt. alternata	0	10.3	7.6	6	12.6	10	8.3	13.3	13	10.6
P. notatum	0	0	0	0	2	0	0	5	4.6	0
P. chrysognum	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
A. oryza	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
المتوسط بين المناطق	0	8.3	5.2	2.8	9.8	7.4	5	14.4	9.9	7.3
المتوسط بين التركيز	0	5.4			6.4			10.5		

L.S.D Fungi= 1.134 L.S.D Area = 0.621



شكل (11) كفاءة العكبر من المناطق الثلاث لتثبيط بعض أنواع الفطريات

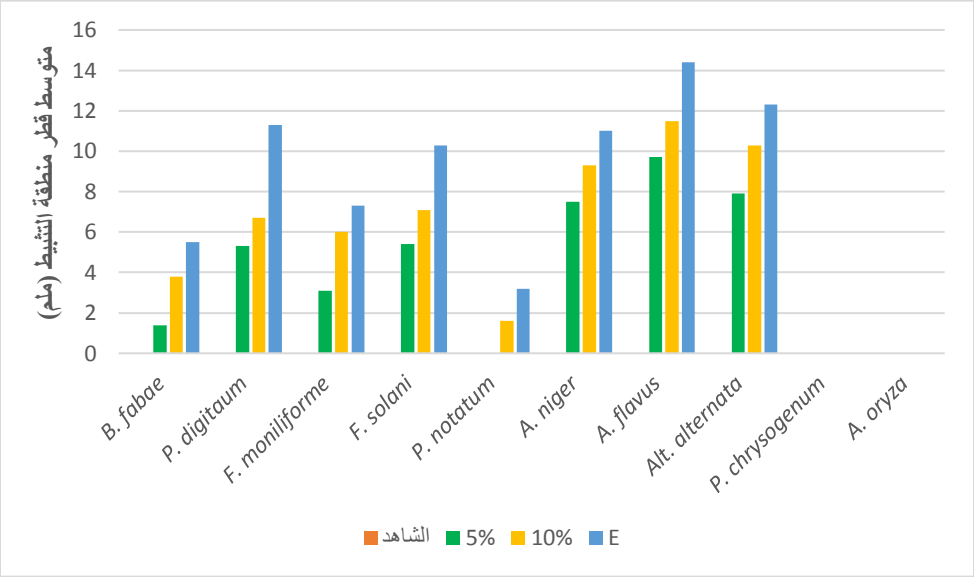
8.4 تأثير مستخلصات العكبر الليبي على بعض أنواع الفطريات الممرضة للإنسان والملوثة للغذاء

سجلت نتائج تأثير مستخلص العكبر على بعض أنواع الفطريات الممرضة والملوثة للغذاء حيث لوحظ تفاوت في متوسطات أقطار منطقة التثبيط لتركيزات مختلفة (5%، 10%، الخام (E)) على الفطريات المدروسة ووجود فروق معنوية بين التراكيز لمستخلص العكبر مقارنة بالشاهد؛ فكان أعلى متوسط لتركيز مستخلص الخام (E) لفطر *A. flavus* بلغ متوسط قطر منطقة التثبيط (14.4) ملم، وأقل متوسط لتركيز الخام (E) لفطر*P. notatum* بلغ متوسط قطر منطقة التثبيط (3.2) ملم ، وفي التركيز 10% بلغ متوسط قطر منطقة التثبيط لنفس الفطرين (11.3) ملم و(1.6) ملم وفي التركيز 5% لنفس الفطرين بلغ قطر منطقة التثبيط (9.7) ملم و (0) ملم وبينت النتائج جميع الفطريات المدروسة حصل لها تثبيط بكل التركيزات ماعدا فطرين المتمثلين في *A. oryza* , *P. chrysogenum* لم يحصل لهما تثبيط في جميع التركيز كما في الجدول (12) الشكل (12).

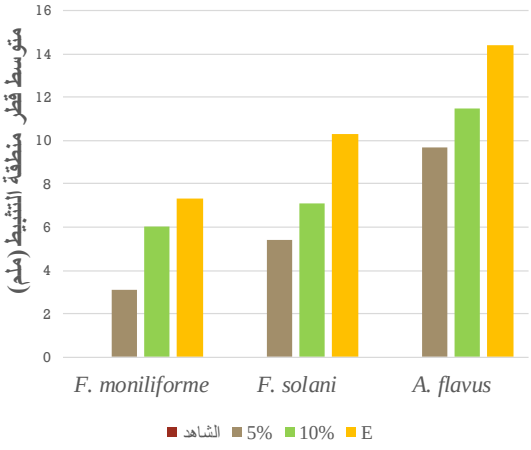
جدول (12) تأثير مستخلصات العكبر على بعض أنواع الفطريات الممرضة للإنسان والملوثة للغذاء

نوع الفطر	متوسط قطر منطقة التثبيط (ملم)			
	الشاهد	5%	10%	E
B. fabae	0	1.4	3.8	7.5
p. digitaum	0	5.3	6.7	11.3
F. moniliforme	0	3.1	6	7.3
F. solani	0	5.4	7.1	10.3
P. notatum	0	0	1.6	3.2
A. niger	0	7.5	9.3	11
A. flavus	0	9.7	11.5	14.4
Alt. alternate	0	7.9	10.3	12.3
P. chrysogenum	0	0	0	0
A. oryza	0	0	0	0

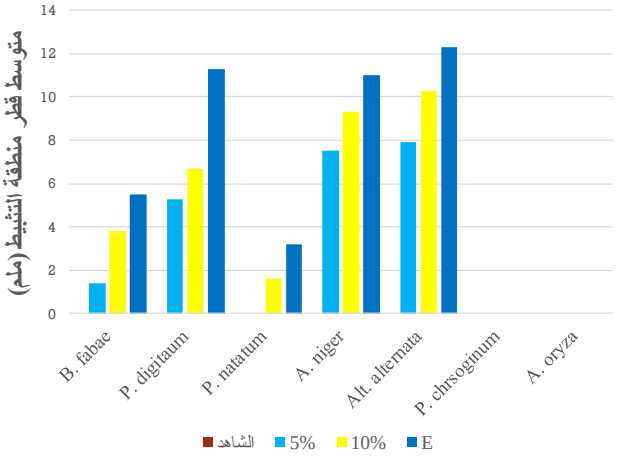
L.S.D Con = 0.717



شكل (12) متوسط قطر منطقة التثبيط لبعض أنواع الفطريات



شكل (13) يوضح الفطريات الممرضة



شكل (14) يوضح الفطريات الملوثة للغذاء

بين من هذا الشكل (13-14) أنواع الفطريات الممرضة المتمثلة في:

Fusarium moniliforme, Fusarium solani, Aspergillus flavus.

كانت نتائج 3 أنواع فطرية ذات حساسية عالية لمستخلص العكبر بالتركيزات الثلاث الخام ،10%،5% وهي من أخطر أنواع الفطرية المسببة للأمراض للإنسان والحيوان حيث تم تثبيط هذه الأنواع عند معاملتها بمستخلص العكبر

والفطريات الملوثة للغذاء المتمثلة في:

Alternaria alternata, Aspergillus oryza, A. niger, Penicillium notatum,

P. chrysogenum, P. digitatum, Botrytis fabae.

وأوضحت النتائج 5 أنواع فطرية وهي

Alternaria alternata, A. niger, Penicillium notatum, P.digitatum , Botrytis fabae .

تم تثبيطها بمستخلص العكبر وبكل التراكيز المختلفة وبقيم متفاوتة عند معاملتها بمستخلص العكبر فهي فطريات خطيرة تسبب أمراض للنبات وبالتالي تلوث الغذاء الذي يمكن أن يصل إلى الأنسان بطريقة غير مباشرة وتسبب له الأمراض، وهذا يؤكد لنا أهمية هذه الدراسة من هذه النتائج المتحصل عليها أوضحت استخدام مستخلص العكبر في الحد من الأمراض المسببة للإنسان والحيوان وكذلك أمراض النبات والملوثة للغذاء والتي تسبب مشاكل صحية وأمراض.

بينما الفطرين، *Aspergillus oryza , Penicillium chrysogenum* لم يحدث لهما أي تثبيط عند معاملتهم بمستخلص العكبر بكل التراكيز وتم مقاومة هذا المستخلص.

9.4 تأثير العكبر والمبيد الكيميائي على الفطريات المدروسة

بينت النتائج أن مستخلص العكبر الطبيعي قام بتثبيط بعض الأنواع المدروسة من الفطريات الممرضة والملوثة للغذاء وهي

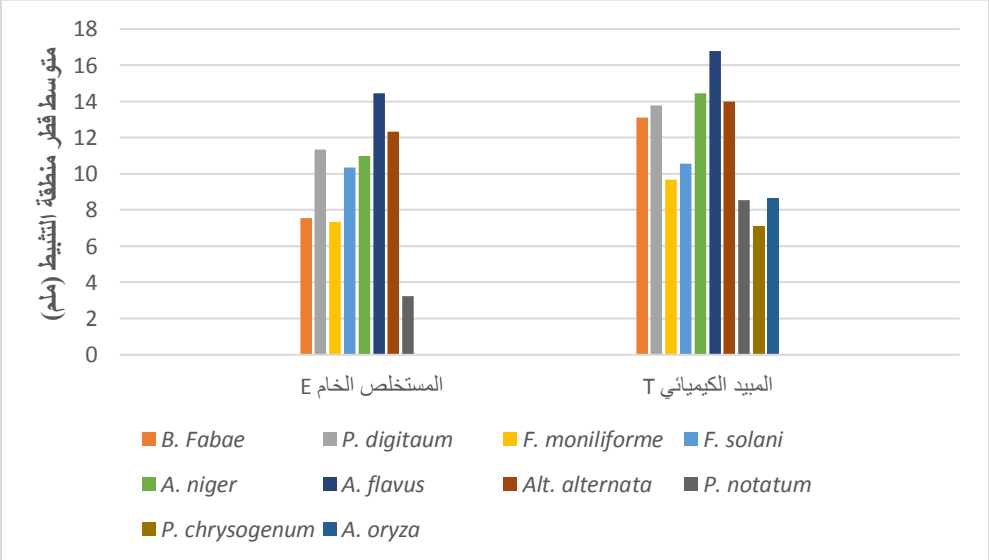
Alternaria alternata, Aspergillus flavus, A. oryza, A. niger, Fusarium solani,

F. moniliforme, Penicillium notatum, P. chrysogenum, P.digitatum, Botrytis fabae.

وأظهرت النتائج أن تأثير مستخلص العكبر الخام كان واضحاً حيث تتراوح متوسط قطر منطقة التثبيط من (3.2) ملم حتى (14.4)؛ وفي المقابل كان تأثير المبيد الكيميائي يتراوح متوسط قطر منطقة التثبيط من (8.5) ملم إلى (16.7) ملم، وكان الأكثر في تثبيط نمو الفطريات المدروسة ويعني ذلك ممكن إستخدام مستخلص العكبر مع المبيد في الحد من الأمراض والآفات التي تسببها بعض من الفطريات كما في الجدول (13) وشكل (15).

جدول (13) تأثير مستخلص العكبر والمبيد الكيميائي على الفطريات

نوع الفطر	المعـــــــاملات	
	متوسط قطر منطقة التثبيط (ملم)	
	المستخلص الخام E	المبيد الكيميائي T
B. fabae	7.5	13.1
P. digitaum	11.3	13.7
F. moniliforme	7.3	9.6
F. solani	10.3	10.5
A. niger	11	14.4
A. flavus	14.4	16.7
Alt. alternata	12.3	14
P. notatum	3.2	8.5
P. chrysogenum	0	7.1
A. oryza	0	8.6



شكل (15) تأثير العكبر والمبيد الكيميائي على الفطريات

الفصـــــل الخامس

5. المناقشة

DISCUSSION

المنـــــــاقشـــــة

1.5 تأثير العكبر على أنواع البكتيرية موضوع الدراسة

أظهرت نتائج تأثير مستخلص العكبر بنسب متفاوتة على كل من أنواع البكتيريا

Escherichia coli, Bacillus subtilis, Staphylococcus epidermidis, Shigella sonnei

ويعود تأثير مستخلص العكبر على الخلايا البكتيرية حيث كان تأثيره متفاوت في بعض الأحيان كان أعلى وأقل مقارنة بالمضادات الحيوية المستخدمة وهذا يشجع على استخدامه مع المضادات الحيوية بشكل تآزري لزيادة تأثير هذه المضادات الحيوية وبناءاً على ما أكده (Takaisi and Schilcher., 1994).

تبين تأثير مستخلص العكبر في تثبيط النمو البكتيري قد يرجع إلى ذكره عبر منع انقسام الخلية مؤديا بذلك الى تكوين Pseudo Multicellular ، و يعمل على تشويه السايتوبلازم والغشاء السايتوبلازمي والجدار الخلوي مسببا بذلك تحللا جزئيا للبكتيريا، و منع تصنيع البروتين.

ولوحظ من خلال أن النتائج بكتيريا *E. coli* كانت الأكثر حساسية لهذه المادة وتليها بكتيريا *Bacillus subtilis* ومن تم بكتيريا *Shigella sonnei* وتم بكتيريا *Staphylococcus epidermidis*

ولم يظهر العكبر أي تأثير مثبط على باقي أنواع البكتيريا المدروسة وهي

Klebsiella pneumoniae, Staphylococcus aureus, Bacillus cereus, Enterobacter agglomerans, Enterobacter cloacae, Listeria innocua

ومن الممكن أن يكون أحد أسباب عدم تأثير مادة العكبر على الأنواع البكتيرية هو احتمال امتلاك هذه الأنواع لعوامل معينة قد تكون جينية أو عوامل أخرى تمكنها من المقاومة التأثير التثبيطي لهذه المادة

(Bankova , 2000 ; Drago *et al*., 2007)

وهذه الدراسة أظهرت التأثير التثبيطى لبعض أنواع البكتيريا حيث تتفق نتائج هذه الدراسة مع النتائج المتحصلة من دراسات سابقة في بلدان مختلفة مع كل من:

(بروج، 2014 ; خضير وآخرون، 2010 ; Bankova *et al.*, 2014 ; Souza *et al.*, 2014 ;

(Wagh , 2013 ; Marquiafave *et al*., 2015

وكذلك تبين في هذه الدراسة التأثير الأعلى على الأنواع الميكروبية لمستخلص العكبر المأخوذ من المنطقة الشرقية عنه في المنطقة الغربية والوسطى والذي يؤكد اختلاف المواد الفعالة والتأثير والتنوع الغطاء النباتي لهذه المنطقة وكل من المصدر النباتي ووقت الجمع يؤثران في مكونات الكيميائية وتتفق هذه الدراسة مع كل من (Hegazi and Elhady , 2001 ; Wagh , 2013 ; Waldner _ Tomic *et al* , 2014)

وكذلك يبين لنا وجود فروق معنوية بين المناطق المختلفة المأخوذ منها العكبر وكذلك بين التراكيز مستخلص العكبر وجود فروق معنوية بينها، وقد أظهر التأثير الإيجابي للاستخلاص الكحولي من الاستخلاص المائي، وبتركيزات مختلفة؛ حيث كان الأعلى تأثير ببن التراكيز المدروسة تركيز الخام (E) عنه من التركيزين (5%،10%) في الحد من نمو الأنواع الميكروبية، ويرجع سبب ذلك أن الاستخلاص الكحولي يحتوي على Flavonoids , Cinnamic acid، حيث تتوافق هذه النتائج مع دراسات سابقة كل من

(Keskin *et al*., 2001 ; Herrera *et al*., 2010 ; Bankova *et al*., 2014 ; Souza *et al*., 2014 ; Negri and Loucif., 2014; Siqueira *et al*., 2015)

2.5 تأثير العكبر على الخمائر موضوع الدراسة

أظهر تأثير العكبر بشكل واضح على ستة الأنواع الخمائر المدروسة وبقيم متفاوتة بين هذه الأنواع وهي

Candida albicans, Candida parapsilosis, Candida tropicali, Saccharomyces cerevisiae, Rhodotorula rubra, Pichia

اتضح من خلال حساب المتوسطات أن متوسط نوع الخميرة *Candida albicans* كانت الأعلى حساسية لمستخلص العكبر عند التركيز الخام كحد أعلى (14.3) ملم وتليها أنواع الخميرة الأخرى على التوالي بمتوسط (8.3،10.2،10.3،10.6،11.2) ملم، ومن تم التركيزين (10% ،5%) لهما تأثير مثبط بمتوسطات متفاوتة على الخمائر سته المدروسة، ويرجع أن أحد ميكانيكية تأثير مادة العكبر هي تحطيم الجدار الخلوي للخميرة (Mello *et al*., 2006)، وبين وجود فروق معنوية بين أنواع الخمائر المدروسة والتركيزات المختلفة، وكذلك تبين من النتائج ان أعلى منطقة كانت المنطقة الشرقية التي أخد منها العكبر مقارنة بالمنطقة الوسطى والمنطقة الغربية كانت أقل ويرجع الى التنوع في الغطاء النباتي والموقع الذي جمع منه العكبر الذي يلعب دور كبير في اختلاف الصفات الكيميائية والخصائص الطبية للعكبر، والمواد الفعالة الموجودة في العكبر، وقد تبين وجود فروق معنوية بين المناطق المختلفة المأخوذ منها العكبر، وقد تطابق نتائج هذه الدراسة مع نتائج دراسات سابقة درست تأثير العكبر على الخمائر ومنها

(Stepanovic *et al*., 2003 ; Mello *et al*., 2006 ; Ozdemir *et al*., 2010 ; Wagh, 2013 ; Bankova *et al*., 2014 ; Waldner-Tomic *et al*., 2014 ; Togan *et al*., 2014 ; Siqueira *et al*., 2015)

و أوضحت النتائج أن مستخلص العكبر الخام (E) ذو تأثير فعال ع الخمائر المدروسة ويفوق المستحضر الطبي Nystatin في بعض الخمائر كنوع خميرة *Candida albicans, Pichia* حيث يبلغ متوسطيهما

(14.3،10.6) ملم عند التركيز الخام أما متوسط قطر التثبيط عند Nystatin يظهر أقل (12.3،5.5) ملم

وهذا يحفز استخدام مستخلص العكبر ومستحضر الطبي Nystatin مع بعض للحصول على نتيجة أفضل في مقاومة الأمراض التي تسببها الخمائر.

3.5 تأثير العكبر على بعض الفطريات موضوع الدراسة

بينت نتائج تأثير مستخلص العكبر بشكل ملحوظ وبمتوسطات أقطار منطقة تثبيط مختلفة على عشرة أنواع فطرية مدروسة وهي

Alternaria alternata, *Aspergillus flavus*, *A. oryza*, *A. niger*, *Fusarium solani*,

F. moniliforme, *Penicillium natatum*, *P. chrysogenum*, *P. digitatum*, *Botrytis fabae*.

أما بالنسبة للفطريات فإن تأثير مادة العكبر يعود في أنها تسبب في تغيير النفاذية في الجدار الخلوي مما يحدث تغيرات في شكل وحجم العضيات الداخلية مثل الميتاكوندريا والفجوة العصارية (Nakamura *et al*., 2007)

فوجد فروق معنوية بين أنواع الفطريات عند تثبيطها بمستخلص العكبر فسجل فطر *Aspergillus flavus* أعلى متوسط قطر منطقة التثبط عند التركيز الخام (E) فبلغ (14.4) ملم ويليه فطر *Alternaria alternata* فبلغ متوسط قطره (11.5) ملم وثم فطر *P. digitatum* بلغ متوسط قطره (11.3) ملم وثم فطر *A. niger* (11) ملم ويقل متوسط تثبيط الأنواع الفطرية الأخرى بمتوسطات متفاوتة على التوالي ، ويقل متوسطات التثبيط عند التركيزين (10%،5%)، ولم يحدث أي تثبيط لكل التراكيز لمستخلص العكبر لنوعين من الفطريات

المدروسة *P. chrysogenum , A. oryza*، وكذلك يبين وجود فروق معنوية بين التركيز المستخلص العكبر المختلفة، وتتفق نتائج هذه الدراسة مع نتائج دراسات سابقة ومنها

(الفضالي وآخرون 2008 ; قمقجى ، 2010 ; Ozdemir *et al*., 2010 ; Bankova *et al*., 2014)

وسجلت النتائج أن المنطقة الشرقية المأخوذ منها العكبر أفضل منطقة في التثبيط أنواع الفطريات المدروسة مقارنة بالمنطقة الوسطى والمنطقة الغربية وربما يرجع السبب لذلك أن التأثير البيولوجي لمادة العكبر يعود إلى تركيبها ومكوناتها الكيميائية وهذه المركبات الكيميائية مرتبطة بالموقع الجغرافي والمصدر النباتي

(Harvey, 2000 ; Keskin *et al*., 2001)

وأظهرت النتائج أن مستخلص الخام (E) له تأثير فعال على بعض الفطريات المدروسة فبلغ الحد الأدنى لمتوسط قطر منطقة التثبيط (3.2) ملم لفطر *Penicillium natatum*، وبلغ الحد الأعلى لمتوسط قطر منطقة التثبيط (14.4) ملم لفطر *Aspergillus flavus*، وفطرين *P. chrysogenum , A. oryza* لم يحدث لهما تثبيط ، واتضح تأثير المبيد الكيميائي بشكل فعال على كل أنواع الفطريات المدروسة وتتراوح متوسط قطر منطقة التثبيط ما بين (7.1- 16.7) ملم وهذا يشجع استخدام المبيد والعكبر لزيادة فاعلية التأثير والحد من الأمراض وعلاجها.

الملخـــــــــــــــــص

Abstract

الملخـــــص

العكبر (propolis) هي مادة راتنجية طبيعية، من افرازات الأشجار، تجمع بواسطة النحل، جمع العكبر من ثلاث مناطق مختلفة بصورة عشوائية (المنطقة الشرقية، المنطقة الوسطى، المنطقة الغربية) وتم استخلاصه بواسطة الكحول الايثيلي (بتركيز 70%)، حضر تركيزات مختلفة من المستخلص الكحولي للعكبر (10%، 5%) كما استخدم العكبر الخام (E)، تهدف هذه الدراسة لتقييم تأثير مستخلص العكبر الكحولي والعكبر الخام على بعض الكائنات الحية الدقيقة الممرضة والملوثة للغذاء (بكتيريا، فطريات، خمائر).

أكدت نتائج الدراسة حساسية بعض أنواع البكتيريا لمستخلص العكبر وهي *Escherichia coli,*

Bacillus subtilis, Staphylococcus epidermidis, Shigella sonnei

وبينت النتائج ان بكتيريا *E. coli* كانت أكثرالانواع البكتيرية المختبرة حساسية لمستخلص العكبر ومن ثم بكتيريا *Bacillus subtilis* وتليها *Shigella sonnei* ومن ثم *Staph. epidermidis* حيث بلغ قطر منطقة التثبيط عند استخدام مستخلص العكبر الخام (17 ، 15.8 ، 14.2 ، 13.6 ملم) على التوالي، اما باقي أنواع البكتيريا المختبرة كانت مقاومة لمستخلص العكبر و أكدت النتائج وجود فروق معنوية بين أنواع البكتيريا وبين التركيزات المختلفة لمستخلص العكبر، يتضح من نتائج الدارسة ان نتائج العكبر المجمع من المناطق المدروسة أظهر فروقا معنوية فقد تبين من النتائج أن عكبر المنطقة الشرقية كانت الأفضل مقارنة بعكبر المنطلقة الوسطى والغربية حيث بلغ متوسط قطر منطقة التثبيط لعكبر للمنطقة الشرقية عند التركيز الخام (18.6) ملم لبكتيريا *E. coli* و (17.6) ملم *Bacillus subtilis* أما متوسط قطر منطقة التثبيط للبكتيريا *Shigella sonnei* و بكتيريا *Staph. epidermidis* فبلغ (15.6) ملم.

أظهرت أنواع الخمائر الستة المدروسة وهي *Candida albicans, Candida parapsilosis, Saccharomyces cerevisiae, Rhodotorula rubra, Pichia, Candida tropicali* حساسيتها لمستخلص العكبر وبدرجة متفاوتة، فعند التركيز الخام بلغ متوسط قطر منطقة التثبيط لأنواع الخمائر على الترتيب (14.3 ، 11.2 ، 10.6 ، 10.3 ، 10.2 ، 8.3) ملم وعند التركيز (10%) بلغ متوسط القطر على الترتيب (13.1 ، 9.3 ، 7.5 ، 7.4 ، 7.2 ، 6.3) ملم أما عند التركيز (5%) بلغ متوسط القطر على الترتيب (12.4 ، 6 ، 5.5 ، 5.5 ، 5 ، 4.7) ملم، تؤكد نتائج الدراسة وجود فروق معنوية بين التركيزات المختلفة (الخام ، 10% ، 5%) لمستخلص العكبر وبين أنواع الخمائر، كما اتضح أن عكبر المنطقة الشرقية هو الأفضل من حيث التأثير مقارنة بالعكبر المجمع من المنطقة الوسطى والغربية، و قد أكدت نتائج التحليل الإحصائي وجود فروق معنوية في التأثير على الخمائر وذلك وفقا للمناطق المجمع منها العكبر، ففي حالة الخمائر المعاملة بالعكبر الخام للمنطقة الشرقية بلغ متوسط قطر منطقة التثبيط (18) ملم للخميرة *Candida albicans* (12.6) ملم *Rhodotorula rubra* أما *Candida tropicali* و *Pichia* فبلغ متوسط قطريهما (12.3) ملم وتليها خميرة *S. cerevisiae* بلغ متوسط قطرها (11.3) ملم ومن ثم خميرة *Candida parapsilosis* (10.6) ملم وينخفض عنها متوسط قطر التثبيط للخمائر المعاملة بالعكبر الخام و المجمع من المنطقة الوسطى والغربية.

أوضحت نتائج الفطريات العشرة المدروسة وهي *Alternaria alternata, Aspergillus flavus, A. oryza, A. niger, Fusarium solani, F. moniliforme, Penicillium natatum, P. chrysogenum, P. digitatum, Botrytis fabae.*

والمعاملة بالعكبر بتراكيزه المدروسة أن ثمانية أنواع فطرية أظهرت حساسيتها لمستخلص العكبر وفطرين *P. chrysogenum , A. oryza* مقاومين لمستخلص العكبر وتبين أن مستخلص العكبر الخام كان الأفضل

في التثبيط من التركيزين (10% ، 5%) حيث تراوح متوسط قطر منطقة التثبيط عند التركيز الخام (3.2 - 14.4) ملم وفي التركيز (10%) تراوح متوسط قطر منطقة التثبيط (1.6 - 11.3) ملم وفي التركيز (5%) تراوح متوسط قطر منطقة التثبيط (1.4 - 8.8) ملم ووفقا لنتائج التحليل الإحصائي و التي بينت وجود فروق معنوية بين التركيزات المختلفة وبين أنواع الفطرية الحساسة لمستخلص العكبر، وكذلك وجود فروق معنوية بين المناطق الثلاثة المختلفة وكانت العكبر المجمع من المنطقة الشرقية هي الأفضل من حيث تثبيط الفطريات فتراوح متوسط قطر التثبيط عند التركيز الخام ما بين (16.6 - 5) ملم .

نستخلص من نتائج تحليل الاحصائي وجود فروق معنوية بين أنواع البكتيريا والفطريات والخمائر وبين التراكيز المختلفة لمستخلص العكبر وكذلك بين المناطق الثلاثة التي جمع منها العكبر.

Abstract

Propolis is a naturally occurring resinous substance collected by bees from tree secretions. Propolis was collected from different three regions at random (Eastern Region, Central Region, Western Region) and extracted by ethanol (70%). Different concentration of ethanoic propolis extract was prepared at concentrations of (E, 10%, 5%)

This study aims to evaluate the effect of ethanoic propolis extract on some microorganisms that are pathogenic and food contaminated (bacteria, fungus, yeast).

The results of this study emphasis a sensitivity of some bacterial species of ***Escherichia coli, Bacillus subtilis, Staphylococcus epidermidis, Shigella sonnei.***

Results of the study showed that ***E. coli*** was more sensitive to the extract, followed by ***B. subtillis***, ***S. sonnei*** and ***S. epidermidis***, were the inhibition zones reached to (17, 15.8, 14.2, 13.6) mm, respectively, The other of tested bacteria were resistant to the extract of the propolis, The statistical analysis results emphasis there were significant differences between the bacteria and the different concentrations of the propolis extract, furthermore, propolis collected from tested areas showed a significant differences in its effect. Thus, propolis that collected from Eastern region

gives the best effect compared to that collected from Central and Western regions. The average diameter for bacteria, treated with the propolis extract collected from Eastern regions, were (18.6) mm for ***E. coli***, ***Bacillus subtilis*** (17.6 mm in diameter), ***Shigella sonnei*** and bacteria ***Staph***. ***epidermidis*** with a mean diameter of (15.6) mm. This indicates significant differences between the three regions (Eastern, Central, Western).

The six types of studied yeast, were ***Candida albicans***, ***Candida parapsilosis***, ***Candida tropicali***, ***Saccharomyces cerevisiae***, ***Rhodotorula rubra***, ***Pichia***,

showed their sensitivity to propolis extract with different degree, thus at concentrated extract of propolis the mean diameter reached up to (14.3, 11.2, 10.6, 10.3, 10.2, 8.3) mm and at 10% concentration, the mean diameter was (13.1, 9.3, 7.5, 7.4, 7.2, 6.3) mm while at 5% concentration the inhibition zones recorded were (12.4, 6, 5.5, 5.5, 5, 4.7) mm, respectively, The statistical analysis emphasis that there was a significant difference in the effect of propolis extract on yeast, this is depends on the regions that collected from. Thus, in the case of the yeast treated with concentrated propolis extract, collected from eastern region, the mean diameters recorded were (18) mm *Candida albicans*, (12.6) mm *Rhodotorula rubra, Candida tropicali* & *Pichia* (12.3) mm *S. cerevisiae* (11.3) mm and *Candida parapsilosis* (10.6) mm respectively, with a decrease in the mean diameter of inhibition in the

central and western regions For all types of yeast and this indicates the existence of significant differences between the types of areas collected from the propolis

The results of the ten studied fungi, ***Alternaria alternata, Aspergillus flavus,***

A. oryza, A. niger, Fusarium solani, F. moniliforme, Penicillium natatum,

P. chrysogenum, P.digitatum, Botrytis fabae.

That treated with different studied concentrations that eight out of 10 types of fungi appear their sensitivity while two types of fungi were more resistant to the propolis extracts. The concentrated extract of propolis shown the best result of inhibition when compared with the extracts with concentration (5% - 10%). The average diameter of the inhibition at concentrated concentration was (3.2-14.4)mm whereas the average diameter of inhibition at (10%) concentration (1.6 - 11.3) mm and in concentration (5%) ranged in the mean diameter of inhibition (1.4 - 8.8) mm. Depends in statistical analysis results there were significant differences between the different concentrations and fungal types sensitive to the extract of propolis also there were significant differences between the three different regions, and the best was the eastern region where the propolis was collected in inhibition of certain fungi, the average diameter of inhibition at the concentrated concentration was between (16.6 - 5) mm.

From the results of this study, it can be concluded that, there was a significant difference between different types of microbes and different concentrations of the extract of propolis and the three areas collected from the propolis.

التـــوصيـــات والدارســات المســتقبلية

Recommendations & Future Study

التوصيـــــات والدارســـات المســـتقبلية

- استخلاص ودراسة المركبات الفعالة وخاصةً الفلافونيدات من العكبر الليبي لإمكانية الحصول على أعلى فاعلية كمضاد طبيعي ضد الكائنات الحية الدقيقة الممرضة والملوثة للغذاء وتحديد أي المركبات مضادة لكل كائن حي دقيق.
- إجراء دراسات باستخدام المضادات الحيوية والمبيدات الكيميائية بشكل تآزري لزيادة تأثير هذه المضادات الحيوية والمبيدات.
- تشجيع الصناعات المحلية واستعمال العكبر الليبي للحد من استخدام المضادات الحيوية والمبيدات الكيميائية لتفادي مخاطرها على الإنسان والبيئة.
- إجراء دراسة مقارنة بين العكبر الليبي والعكبر الدول العربية الأخرى من حيث الفاعلية التثبيطية والتركيب الكيميائي.

المـــــراجـــــع

References

المراجـــــــــــــــع

الرسام، زياد والطوبجي، شريف وشريف، أدبية (2008). دراسة التأثير التثبيطي لمادة العكبر على عدد من الجراثيم الموجبة والسالبة لصبغة جرام. كلية العلوم / جامعة الموصل.

الزبيدي، بشرى (2009). دراسة تأثير المستخلص الكحولي للبربوليس في نمو بكتيريا المكورات العنقودية الذهبية خارج الجسم الحي. مجلة جامعة كربلاء العلمية.

السلطاني، ايمان وجميل، فريال وتاج الدين، وجدان (2013). تأثير المستخلص الكحولي لمادة العكبر على البكتيريا المعزولة من الإصابات الجلدية / كلية العلوم.

السدرة، زياد (2010). تأثير العكبر العراقي في بعض أنواع الخمائر لتلف عصائر الفواكه جامعة ديالي - كلية الزراعة.

السلطاني، ايمان وجميل، فريال وتاج الدين، وجدان (2012). تأثير المستخلص الإيثانولي للعكبر في علاج الإصابات الجلدية المتسببة عن البكتيريا الموجبة لصبغة جرام المستخدمة في الأرانب. كلية العلوم / جامعة بابل.

الفضالي، حسين والكردي، بهاء والليثي، أحمد (2008). تأثير العكبر كمبيد حيوي طبيعي ضد فطريات التربة الممرضة للنباتات. المجلة المصرية للعلوم الطبيعية. 23 : 44 – 53.

الفضالي، حسين وفتحي، حسن وثروت، عماد و طه، عبد المنعم (2007). النشاط المضاد للفطريات لمستخلص الايثانول لعكبر نحل العسل. مجلة جامعة المنصورة للعلوم الزراعية. 32: 5697 – 5703.

حسين، ميس والكاظم، على (2015). استخلاص وتنقية الفلافونويدات من العكبر وتقييم فعاليتها ضد بعض انواع الاحياء المجهرية المرافقة لتسوس الاسنان. مجلة جامعة بابل. 1 : 204 – 218.

حنا، اقبال (2010). الفعالية البيولوجية التثبيطية لمستخلص العكبر تجاه بعض الاحياء المجهرية الممرضة. مجلة بغداد للعلوم 7: 269 – 276.

خضير، طه وزياد، السدرة والطائي، الهادي (2010). فعالية العكبر العراقي المضادة لبعض أنواع البكتيريا، جامعة ديالي - قسم الثروة الحيوانية.

دويش، أحمد وقاسم، مهند وحسن، زيد (2008). دراسة الفعالية التضادية للمستخلص الكحولي للعكبر ضد الفطر *Fusarium oxysporum* مجلة جامعة المستنصرية.

رزوقي، بروج (2014). نشاط العكبر المضاد للجراثيم المعزولة من الأطفال المصبين بالقوباء. كلية الطب / جامعة ديالي.

قمقجي، نهاد (2010). التأثير التثبيطي للعكبر والشمع على بعض الفطريات الممرضة. مجلة جامعة الملك عبد العزيز. 21 : 103 - 128.

Akao, Y., Maruyama, H., Matsumoto, K., Ohguchi, K., Nishizawa, K., Sakamoto, T., . . . Nozawa, Y. (2003). Cell growth inhibitory effect of cinnamic acid derivatives from propolis on human tumor cell lines. *Biological and Pharmaceutical Bulletin, 26*(7), 10 1059-57.

Aliyazicioglu, Y., Demir, S., Turan, I., Cakiroglu, T., Akalin, I., Deger, O., & Bedir, A. (2011). Preventive and protective effects of turkish propolis on H2O2-induced DNA damage in foreskin fibroblast cell lines. *Acta Biologica Hungarica, 62* (4) 388-396.

Aly, S. A., & Elewa, N. A. (2007). The effect of Egyptian honeybee propolis on the growth of Aspergillus versicolor and sterigmatocystin biosynthesis in Ras cheese. *Journal of dairy research, 74*(1), 74-78 .

Andrews, J. M. (2001). The development of the BSAC standardized method of disc diffusion testing. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 48*(suppl_1), 29-42.

Bailey, W. R., & Scott, E. G. (2007). Diagnostic Microbiology: A Textbook for the Isolation and Identification of Pathogenic Microorganism. CV Mosby 654-656.

Bankova, V. (2005). Chemical diversity of propolis and the problem of standardization. *Journal of ethnopharmacology, 100*(1-2), 114-117 .

Bankova, V., Popova, M., & Trusheva, B. (2014). Propolis volatile compounds: chemical diversity and biological activity: a review. *Chemistry Central Journal, 8*(1), 28 .

Bankova, V. S., de Castro, S. L., & Marcucci, M. C. (2000). Propolis: recent advances in chemistry and plant origin. *Apidologie*, *31*(1), 3-15 .

Berretta, A. A., Nascimento, A. P., Bueno, P. C. P., & Leite, M. M. d. O. L. (2012). Propolis standardized extract (EPP-AF®), an innovative chemically and biologically reproducible pharmaceutical compound for treating wounds. *International Journal of Biological Sciences*, *8*(4), 512 .

Bilikova, K., Popova, M., Trusheva, B., & Bankova, V. (2013). New anti-Paenibacillus larvae substances purified from propolis. *Apidologie*, *44*(3), 278-285 .

Bonvehí, J. S., & Gutiérrez, A. L. (2012). The antimicrobial effects of propolis collected in different regions in the Basque Country (Northern Spain). *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, *28*(4), 1351-1358 .

Burdock, G. (1998). Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (propolis). *Food and Chemical toxicology*, *36*(4), 347-363 .

Cafarchia, C., De Laurentis, N., Milillo, M., Losacco, V & ,.Puccini, V. (1999). Antifungal activity of Apulia region propolis. *Parassitologia*, *41*(4), 587-590 .

Candir, E. E., Ozdemir, A., Soylu, E. M., Sahinler, N., & Gul, A. (2009). Effects of propolis on storage of sweet cherry cultivar Aksehir Napolyon. *Asian J. Chem*, *21*, 2659-2666 .

Capoci, I. R. G., Bonfim-Mendonça, P. d. S., Arita, G. S., Pereira, R. R. d. A., Consolaro, M. E. L., Bruschi, M. L., . . . Svidzinski, T. I. E. (2015). Propolis is an efficient fungicide and inhibitor of biofilm production by vaginal Candida albicans. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, *2015* .

Castaldo, S., & Capasso, F. (2002). Propolis, an old remedy used in modern medicine. *Fitoterapia*, *73*, S1-S6 .

Cheesbrough, M. (2006). *District laboratory practice in tropical countries*. Cambridge university press 141 , 157-195.

Choi, S.-S., Cha, B.-Y., Iida, K., Lee, Y.-S., Yonezawa ,T., Teruya, T., . . . Woo, J.-T. (2011). Artepillin C, as a PPARγ ligand, enhances adipocyte differentiation and glucose uptake in 3T3-L1 cells. *Biochemical Pharmacology, 81*(7), 925-933 .

Cushnie, T. T., & Lamb, A. J. (2005). Antimicrobial activity of flavonoids. *International journal of antimicrobial agents, 26*(5), 343-356 .

Daugsch, A., Moraes, C. S., Fort, P., & Park, Y. K. (2008). Brazilian red propolis—chemical composition and botanical origin. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 5*(4) 435-441.

De, E. V., & Drago, L. (2007). Propolis' antimicrobial activity: what's new? *Le infezioni in medicina: rivista periodica di eziologia, epidemiologia, diagnostica, clinica e terapia delle patologie infettive, 15*(1), 7-15 .

Dimov, V., Ivanovska, N., Bankova, V., & Popov, S. (1992). Immunomodulatory action of propolis: IV. Prophylactic activity against gram-negative infections and adjuvant effect of the water-soluble derivative. *Vaccine, 10*(12), 817-823 .

El-Sayed, E.-S. M., Abo-Salem, O. M ,.Aly, H. A., & Mansour, A. M. (2009). Potential antidiabetic and hypolipidemic effects of propolis extract in streptozotocin-induced diabetic rats. *Pakistan journal of pharmaceutical sciences, 22* .(2)

Erkmen, O., & Özcan, M. M. (2008). Antimicrobial effects of Turkish propolis, pollen, and laurel on spoilage and pathogenic food-related microorganisms. *Journal of medicinal food, 11*(3), 587-592 .

Fernandes, F. F., Dias, A. L. T., Ramos, C. L., Ikegaki, M., Siqueira, A. M. d., & Franco, M. C. (2007). The" in vitro" antifungal activity evaluation of propolis G12 ethanol extract on Cryptococcus neoformans. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, 49*(2), 93-95 .

Fuliang, H., Hepburn, H., Xuan, H., Chen, M., Daya, S., & Radloff, S. (2005). Effects of propolis on blood glucose, blood lipid and free radicals in rats with diabetes mellitus. *Pharmacological Research, 51*(2), 147-152 .

Gavanji, S., Asgari, M. J., Vaezi, R., & Larki, B. (2011). Antifungal effect of the extract of propolis on the growth of three species of Epidermophyton flucosum, Trichophyton violaseum and Trichophyton tonsorans in laboratory environment. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology, 5*(24), 2642-2646 .

Ghisalberti, E. (1979). Propolis: a review. *Bee world, 60*(2), 59-84 .

Grange, J., & Davey, R. (1990). Antibacterial properties of propolis (bee glue). *Journal of the Royal Society of Medicine, 83*(3), 159-160 .

Guo, X., Chen, B., Luo, L., Zhang, X., Dai, X., & Gong, S. (2011). Chemical compositions and antioxidant activities of water extracts of Chinese propolis. *Journal of agricultural and food chemistry, 59*(23), 12610-12616 .

Harvey, A. (2000). Strategies for discovering drugs from previously unexplored natural products. *Drug discovery today, 5*(7), 294-300 .

Haščík, P., Elimam, I. O., Kročko, M., Bobko, M., Kačániová, M., Garlík, J., . . . Saleh, A. A. (2015). The influence of propolis as supplement diet on broiler meat growth performance, carcass body weight, chemical composition and lipid oxidation stability. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis, 63*(2), 411-418 .

Hegazi, A. G., El Hady, F. K. A., & Allah, F. A. A. (2000). Chemical composition and antimicrobial activity of European propolis. *Zeitschrift für Naturforschung C*, *55*(1-2), 70-75.

Hegazi, A. G., & El Hady, F. K. A. (2001). Egyptian propolis: 1-antimicrobial activity and chemical composition of Upper Egypt propolis. *Zeitschrift für Naturforschung C*, *56*(1-2) 82-88.

Henshaw, F. R., Bolton, T., Nube, V., Hood, A., Veldhoen, D., Pfrunder, L., . . . Twigg, S. M. (2014). Topical application of the bee hive protectant propolis is well tolerated and improves human diabetic foot ulcer healing in a prospective feasibility study. *Journal of Diabetes and its Complications, 28*(6), 850-857 .

Herrera, C. L., Alvear, M., Barrientos, L., Montenegro, G., & Salazar, L. A. (2010). The antifungal effect of six commercial extracts of Chilean propolis on Candida spp. *Ciencia e Investigación Agraria*, *37*(1), 75-84 .

Holderna, E., & Kedzia, B. (1987). Investigation upon the combined action of propolis and antimycotic drugs on Candida albicans. *Herba Pol, 33*(2), 145-151 .

Hori, J. I., Zamboni, D. S., Carrão, D. B., Goldman, G. H & ,.Berretta, A. A. (2013). The inhibition of inflammasome by Brazilian propolis (EPP-AF). *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2013* .

Huang, S., Zhang, C.-P., Wang, K., Li, G. Q., & Hu, F.-L. (2014). Recent advances in the chemical composition of propolis. *Molecules, 19*(12), 19610-19632 .

Kedzia, B., Geppert, B., & Iwaszkiewicz, J. (1990). Pharmacological investigations of ethanolic extract of propolis. *Phytothérapie, 6*, 7-10 .

Keskin, N., Hazir, S., Baser, K. H. C., & Kürkçüoglu, M. (2001). Antibacterial activity and chemical composition of Turkish propolis. *Zeitschrift für Naturforschung C, 56*(11-12), 1112-1115 .

Kim, Y.-H., & Chung, H.-J. (2011). The effects of Korean propolis against foodborne pathogens and transmission electron microscopic examination. *New biotechnology, 28*(6), 713-718 .

Koc, A., Silici, S., Ayangil, D., Ferahbaş, A., & Cankaya, S. (2005). Comparison of in vitro activities of antifungal drugs and ethanolic extract of propolis against Trichophyton rubrum and T. mentagrophytes by using a microdilution assay. *Mycoses, 48*(3), 205-210 .

Koc, A. N., Silici, S., Mutlu-Sariguzel, F., & Sagdic, O. (2007). Antifungal activity of propolis in four different fruit juices. *Food Technology and Biotechnology, 45*(1), 57-61 .

Kosalec ,I., Bakmaz, M., Pepeljnjak, S., & Vladimir-Knezevic, S. (2004). Quantitative analysis of the flavonoids in raw propolis from northern Croatia. *Acta Pharmaceutica, 54*(1), 65-72 .

Krol, W., Scheller, S., Czuba, Z., Matsuno, T., Zydowicz, G., Shani, J & ,.Mos, M. (1996). Inhibition of neutrophils' chemiluminescence by ethanol extract of propolis (EEP) and its phenolic components. *Journal of ethnopharmacology, 55*(1), 19-25 .

Kubiliene, L., Laugaliene, V., Pavilonis, A., Maruska, A., Majiene, D., Barcauskaite, K., ... & Savickas, A. (2015). Alternative preparation of propolis extracts: comparison of their composition and biological activities. *BMC complementary and alternative medicine*, *15*(1), 156.

Kubota, Y., Umegaki, K., Kobayashi, K., Tanaka, N., Kagota, S., Nakamura, K., ... & Shinozuka, K. (2004). Anti-hypertensive effects of Brazilian propolis in spontaneously hypertensive rats. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, *31*, S29-S30.

Kujumgiev, A., Tsvetkova, I., Serkedjieva, Y., Bankova, V., Christov, R., & Popov ,S. (1999). Antibacterial, antifungal and antiviral activity of propolis of different geographic origin. *Journal of ethnopharmacology*, *64*(3), 235-240 .

La Torre, A., Imbroglini, G., & Guccione, M. (1990). Action of propolis based preparations against Botrytis cinerea Pers. of strawberry. *First Observation Agric, 6*, 169-177 .

Li, F., Awale, S., Tezuka, Y., & Kadota, S. (2010). Cytotoxicity of constituents from Mexican propolis against a panel of six different cancer cell lines. *Natural product communications, 5*(10), 1601-1606 .

Lotfy, M. (2006). Biological activity of bee propolis in health and disease. *Asian Pac J Cancer Prev, 7*(1), 22-31 .

Machado, J. L., Assunçao, A. K. M., da Silva, M. C. P., Reis, A. S. d., Costa, G. C., Arruda, D. d. S., . . . Guerra ,R. N. M. (2012). Brazilian green propolis: anti-inflammatory property by an immunomodulatory activity. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2012* .

Marcucci, M. (1999). Chemical composition, plant origin and biological activity of Brazilian propolis. *Current Topics Phytochem., 2*, 115-123 .

Marcucci, M. C. (1995). Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity. *Apidologie, 26*(2), 83-99 .

Marcucci, M. C., Ferreres, F., Garcıa-Viguera, C., Bankova, V., De Castro, S., Dantas, A., . . . Paulino, N. (2001). Phenolic compounds from Brazilian propolis with pharmacological activities. *Journal of ethnopharmacology, 74*(2), 105-112 .

Marquele, F., Stracieri, K., Fonseca, M., & Freitas, L. (2006). Spray-dried propolis extract. I: physicochemical and antioxidant properties. *Die Pharmazie-An International Journal of Pharmaceutical Sciences, 61*(4), 325-330 .

Marquiafável, F. S., Nascimento, A. P., da Silva Barud, H., Marquele-Oliveira, F., de-Freitas, L. A. P., Bastos, J .K., & Berretta, A. A. (2015). Development and characterization of a novel standardized propolis dry extract obtained by factorial design with high artepillin C content. *Journal of Pharmaceutical Technology and Drug Research, 4*(1), 1 .

Mello, A., Gomes, R .T., Lara, S., Silva, G., Alves, B., Cortés, M. E., . . . Santos, V. R. (2006). The effect of Brazilian propolis on the germ tube formation and cell wall of Candida albicans. *Pharmacologyonline, 3*, 352-358 .

Meresta, L., & Meresta, T. (1985). An attempt to use the extract from propolis in the treatment of mastitis of cows. *Medycyna Weterynaryjna, 41*(8), 489-492 .

Monzote, L., Cuesta-Rubio, O., Campo Fernandez, M., Márquez Hernandez, I., Fraga, J., Pérez, K., . . . Cos, P. (2012). In vitro antimicrobial assessment of Cuban propolis extracts. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 107*(8), 978-984 .

Nakamura, Kumazawa, S., Usui, Y., Nakayama, J., Matsuka, M., Zhu, F., & Ahn, M. R., T. (2007). Antioxidant activity and constituents of propolis collected in various areas of China. Food Chemistry, *101*(4), 1383-1392.

Nedji, N., & Loucif-Ayad, W. (2014). Antimicrobial activity of Algerian propolis in foodborne pathogens and its quantitative chemical composition. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease, 4*(6), 433-437 .

Negri, M., Salci, T. P., Shinobu-Mesquita, C. S., Capoci, I. R., Svidzinski, T. I., & Kioshima, E. S. (2014). Early state research on antifungal natural products. *Molecules, 19*(3), 2925-2956 .

Oliveira, A. C. P ,.Shinobu, C. S., Longhini, R., Franco, S. L., & Svidzinski, T. I. E. (2006). Antifungal activity of propolis extract against yeasts isolated from onychomycosis lesions. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 101*(5), 493-497 .

Onlen, Y., Tamer, C., Oksuz, H ,.Duran, N., Altug, M. E., & Yakan, S. (2007). Comparative trial of different anti-bacterial combinations with propolis and ciprofloxacin on Pseudomonas keratitis in rabbits. *Microbiological research, 162*(1), 62-68 .

Ota, C., Unterkircher, C., Fantinato, V & ,.Shimizu, M. (2001). Antifungal activity of propolis on different species of Candida. *Mycoses, 44*(9-10), 375-378 .

Özcan, M. (1999). Antifungal properties of propolis. *Grasas y Aceites, 50*(5), 395-398 .

Özcan, M., Ünver, A., Ceylan, D. A., & Yetisir ,R. (2004). Inhibitory effect of pollen and propolis extracts. *Food/Nahrung, 48*(3), 188-194 .

ÖZDEMİR, A. E., Candir, E. E., Kaplankiran, M., Soylu, E. M., ŞAHİNLER, N., & GÜL, A. (2010). The effects of ethanol-dissolved propolis on the storage of grapefruit cv. Star Ruby. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 34*(2), 155-162 .

Ozkul, Y., Silici, S., & Eroğlu, E. (2005). The anticarcinogenic effect of propolis in human lymphocytes culture. *Phytomedicine, 12*(10), 742-747 .

Park, Y. K., Alencar, S. M & ,.Aguiar, C. L. (2002). Botanical origin and chemical composition of Brazilian propolis. *Journal of agricultural and food chemistry, 50*(9), 2502-2506 .

Parolia, A., Thomas, M. S., Kundabala, M., & Mohan, M. (2010). Propolis and its potential uses in oral health. *International Journal of Medicine and Medical Science, 2*(7), 210-215 .

Peña, R. C. (2008). Propolis standardization: a chemical and biological review. Cien. Inv. Agr. 35 (1): 17-26. *Ciencia e Investigación Agraria, 35*(1), 11-20 .

Pontin, K., Da Silva Filho, A. A., Santos, F. F., e Silva, M. L. A., Cunha, W. R., Nanayakkara, N. D., . . . de Albuquerque, S. (2008). In vitro and in vivo antileishmanial activities of a Brazilian green propolis extract. *Parasitology research, 103*(3), 487-492 .

Probst ,I., Sforcin, J., VLM, R., Fernandes, A., & Fernandes Júnior, A. (2011). Antimicrobial activity of propolis and essential oils and synergism between these natural products. *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases, 17*(2), 159-167 .

Rahman, M. M., Richardson, A., & Sofian-Azirun, M. (2010). Antibacterial activity of propolis and honey against Staphylococcus aureus and Escherichia coli. *African Journal of Microbiology Research, 4*(18), 1872-1878 .

Rojas Hernández, N. M., & Cuétara Bernal, K. d. l. (1990). Efecto antibiótico del propóleo frente a cepas de staphylococcusn aureus de origen clínico humano. *Rev Cubana Farm, 24*(1), 45-50 .

Salomao, K., de Souza, E. M., Henriques-Pons, A., Barbosa, H. S., & de Castro, S. L. (2011). Brazilian green propolis: effects in vitro and in vivo on Trypanosoma cruzi. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2011* .

Sforcin, J., Fernandes Jr, A., Lopes, C., Bankova, V., & Funari, S. (2000). Seasonal effect on Brazilian propolis antibacterial activity. *Journal of ethnopharmacology, 73*(1-2), 243-249 .

Sforcin, J. M., & Bankova, V. (2011). Propolis: is there a potential for the development of new drugs? *Journal of ethnopharmacology, 133*(2), 253-260 .

Silici, S., & Kutluca, S. (2005). Chemical composition and antibacterial activity of propolis collected by three different races of honeybees in the same region. *Journal of ethnopharmacology, 99*(1), 69-73 .

Siqueira, A. B. S., Rodriguez, L. R. N. D. A., SANTOS, R. K. B., MARINHO, R. R. B., ABREU, S., PEIXOTO, R. F., & Gurgel, B. C. d. V. (2015). Antifungal activity of propolis against Candidaspecies isolated from cases of chronic periodontitis. *Brazilian oral research, 29*(1), 1-6 .

Sonmez, S., Kirilmaz, L., Yucesoy, M., Yücel, B., & Yilmaz, B .(2005) . The effect of bee propolis on oral pathogens and human gingival fibroblasts. *Journal of ethnopharmacology, 102*(3), 371-376 .

Souza, E. A. d., Inoue, H. T., Fernandes Júnior, A., Veiga, N., & Orsi, R. d. O. (2014). Influence of seasonality and production method on the antibacterial activity of propolis. *Acta Scientiarum. Animal Sciences, 36*(1), 49-53 .

Soylu, E., Özdemir, A., Ertürk, E., & Şahinler, N. (2004). *Antifungal activity of propolis against Penicillium Digitatum, causal agent of green mold of citrus fruits.* Paper presented at the European Conference of Apidology, Udine, Italy.

Soylu, E., Özdemir, A., Ertürk, E., Şahinler, N., & Soylu, S. (2008). Chemical composition and antifungal activity of propolis against Penicillium digitatum. *Asian J .Chem, 20*, 4823-4830 .

Stepanović, S., Antić, N., Dakić, I., & Švabić-Vlahović, M. (2003). In vitro antimicrobial activity of propolis and synergism between propolis and antimicrobial drugs. *Microbiological research, 158*(4), 353-357 .

Szente, L., & Szejtli, J. (1987). Formulation of propolis with β-cyclodextrin. *Acta pharmaceutica technologica, 33*(4), 218-221 .

Takaisi-Kikuni, N. B., & Schilcher, H. (1994). Electron microscopic and microcalorimetric investigations of the possible mechanism of the antibacterial action of a defined propolis provenance. *Planta Medica, 60*(03), 222-227 .

Temiz, A., Mumcu, A. Ş., Tüylü, A. Ö., Sorkun, K., & Salih, B. (2013). Antifungal activity of propolis samples collected from different geographical regions of Turkey against two food-related molds, Aspergillus versicolor and Penicillium aurantiogriseum. *Gıda, 38*(3), 135-142 .

TEMiz, A., ŞENER, A., TÜYLÜ, A. Ö., Sorkun, K., & SALiH, B. (2011). Antibacterial activity of bee propolis samples from different geographical regions of Turkey against two foodborne pathogens, Salmonella enteritidis and Listeria monocytogenes. *Turkish Journal of Biology, 35*(4), 503-511 .

Togan, T., Evren, E., Ciftci, O., Narci, H., Ozcan, M., & Arslan, H. (2015). The antibacterial effect of Propolis against clinical isolates. *7*(7), 30 .

Tosi, B., Donini, A., Romagnoli, C., & Bruni, A. (1996). Antimicrobial activity of some commercial extracts of propolis prepared with different solvents. *Phytotherapy research, 10*(4), 335-336 .

Uzel, A., Önçağ, Ö ,.Çoğulu, D., & Gençay, Ö. (2005). Chemical compositions and antimicrobial activities of four different Anatolian propolis samples. *Microbiological research, 160*(2), 189-195 .

Velikova, M., Bankova, V., Sorkun, K., Houcine, S., Tsvetkova, I., & Kujumgiev ,A. (2000). Propolis from the Mediterranean region: chemical composition and antimicrobial activity. *Zeitschrift für Naturforschung C, 55*(9-10), 790-793 .

Victorino, F. R., Bramante, C. M., Watanabe, E., Ito, I. Y., Franco, S. L., & Hidalgo, M. M .(2009) . Antibacterial activity of propolis-based toothpastes for endodontic treatment. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences, 45*(4), 795-800 .

Wagh, V. D. (2013). Propolis: a wonder bees product and its pharmacological potentials. *Advances in pharmacological sciences, 2013* .

Waldner-Tomic, N. M., Vanni, R., Belibasakis, G. N., Thurnheer, T., Attin, T., & Schmidlin, P. R. (2014). The in vitro antimicrobial efficacy of propolis against four oral pathogens: a review. *Dentistry Journal, 2*(3), 85-97 .

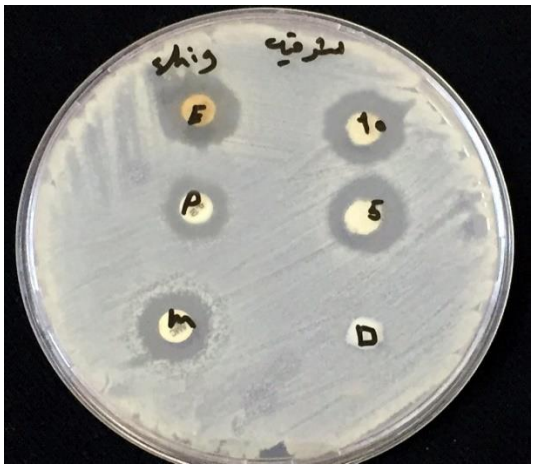
Yang, Z ,.Zhang, J., Kintner-Meyer, M. C., Lu, X., Choi, D., Lemmon, J. P., & Liu, J. (2011). Electrochemical energy storage for green grid. *Chemical reviews, 111*(5), 3577-3613 .

الملـــحـق

Appendice

صور بكتيريا المنطقة الشرقية

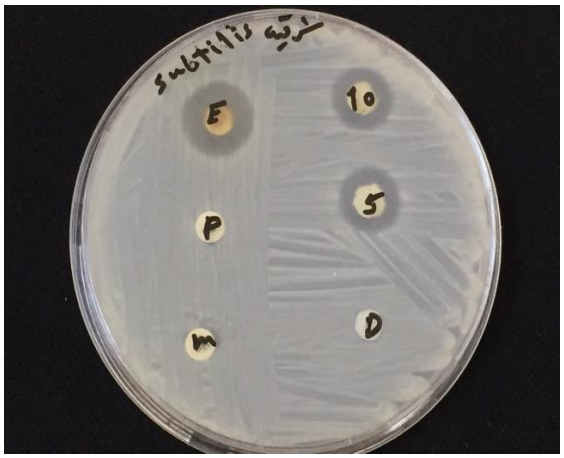
A



B

C

D



A = ***Shigella sonnei***

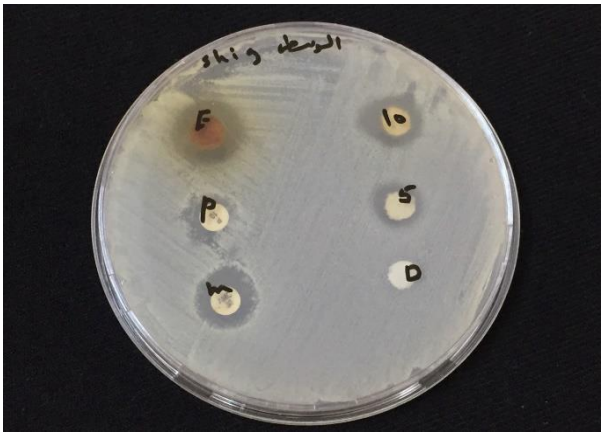
B = ***Escherichia coli***

C = ***Staphylococcus epidermidis***

D = ***Bacillus subtillis***

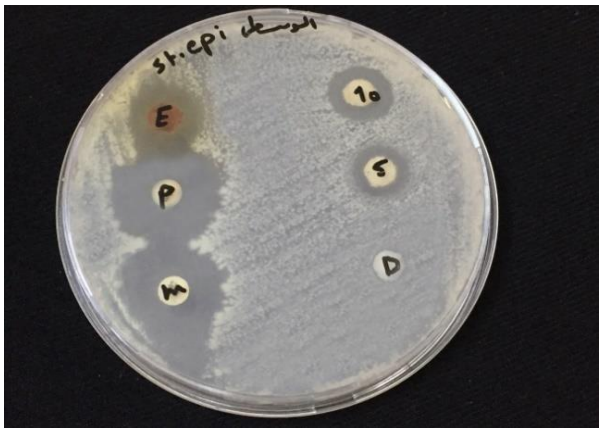
صور بكتيريا المنطقة الوسطى

A



B

C



D

A = ***Shigella sonnei***

B = ***Escherichia coli***

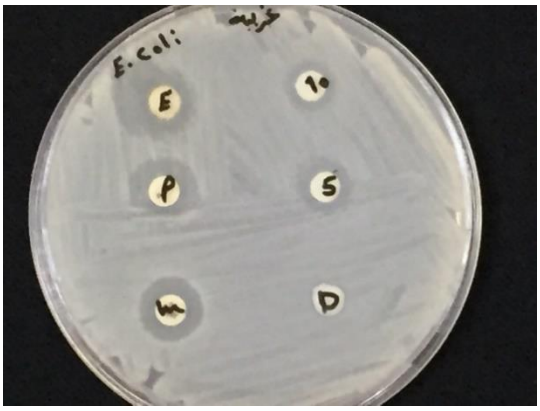
C = ***Staphylococcus epidermidis***

D = ***Bacillus subtilli***

صور بكتيريا المنطقة الغربية

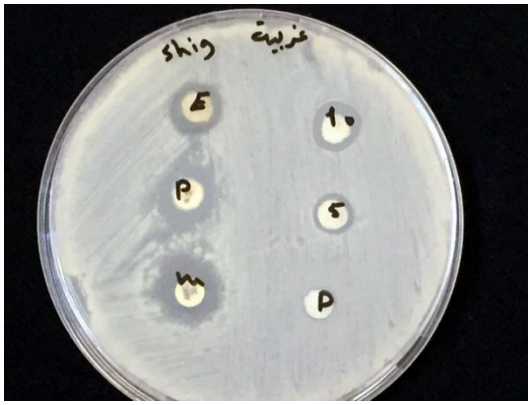
A

B



C

D



A = *Staphylococcus epidermidis*

B = *Escherichia coli*

C = *Bacillus subtilli*

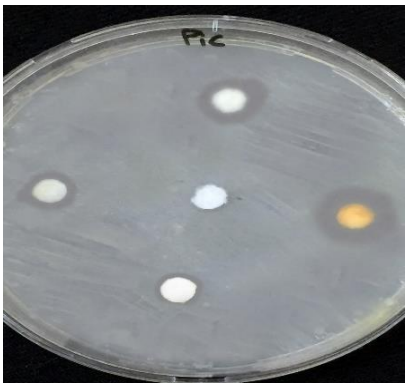
D = *Shigella sonnei*

صور الخميرة المنطقة الشرقية

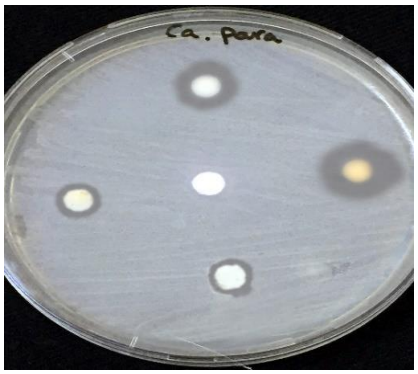
A

B

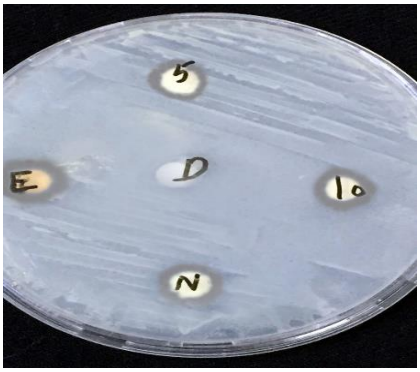
C



D



E



F

A = *Candida tropicalis*

B = *Candida albicans*

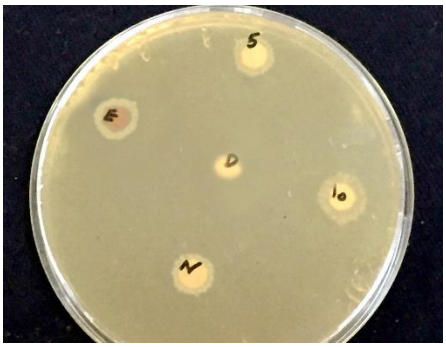
C = *Rhodotorula rubra*

D = *Pichia*

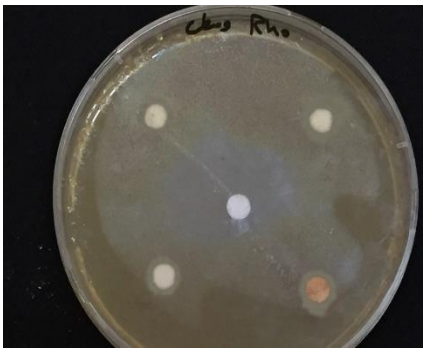
E = *Candida parapsilosis*

F = *Saccharomyces cerevisiae*

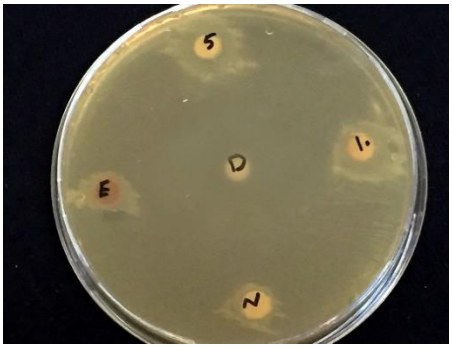
صور الخميرة المنطقة الوسطى



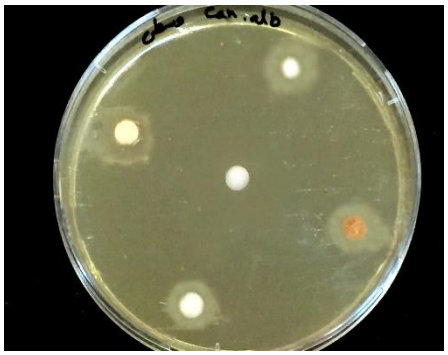
A



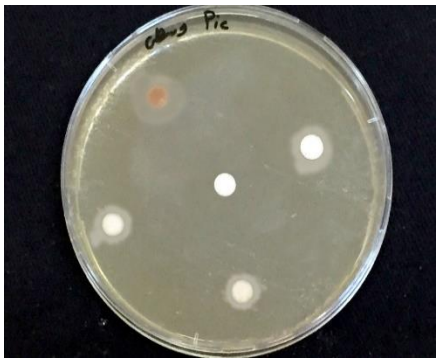
B



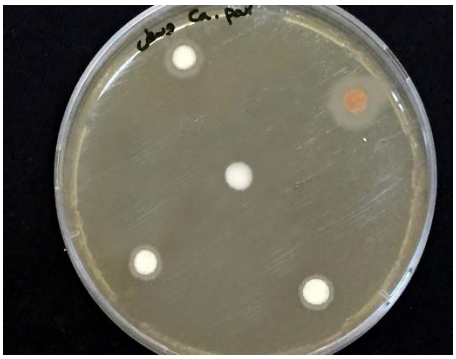
C



D



E



F

A = *Candida tropicalis*

B = *Rhodotorula rubra*

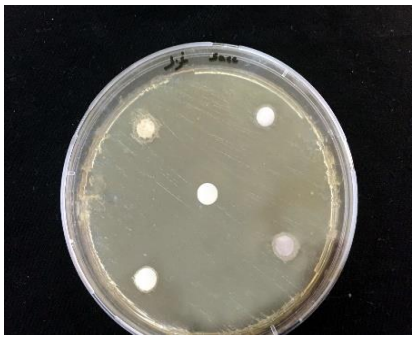
C = *Saccharomyces cerevisiae*

D = *Candida albicans*

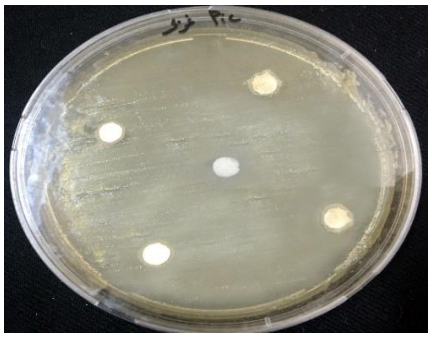
E = *Pichia*

F = *Candida parapsilosis*

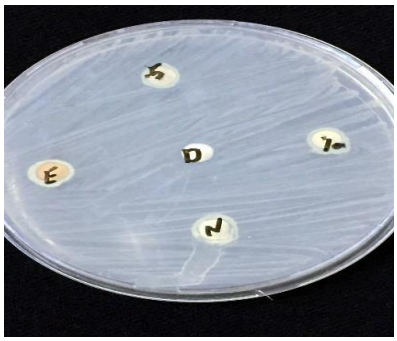
صور الخميرة المنطقة الغربية



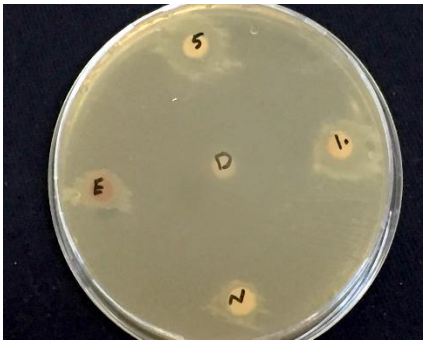
A



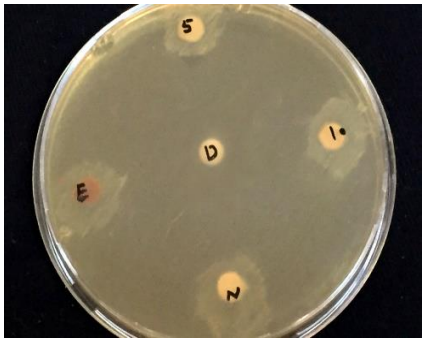
B



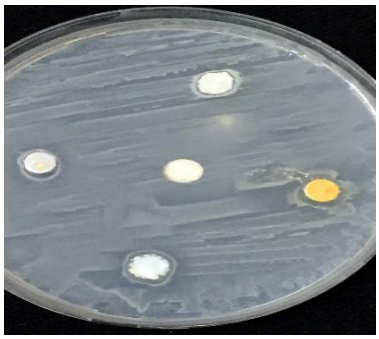
C



D



E



F

A = *Saccharomyces cerevisiae*

B = *Pichia*

C = *Candida tropicalis*

D = *Rhodotorula rubra*

E = *Candida albicans*

F = *Candida parapsilosis*

صور الفطريات للمنطقة الشرقية

A

B

C

D

A= *Aspergillus flavus*

B= *Penicillium notatum*

C= *Fusarium solani*

D= *Botrytis fabae*

صور الفطريات للمنطقة الشرقية

E

F

G

H

E= *Alternaria alternata*

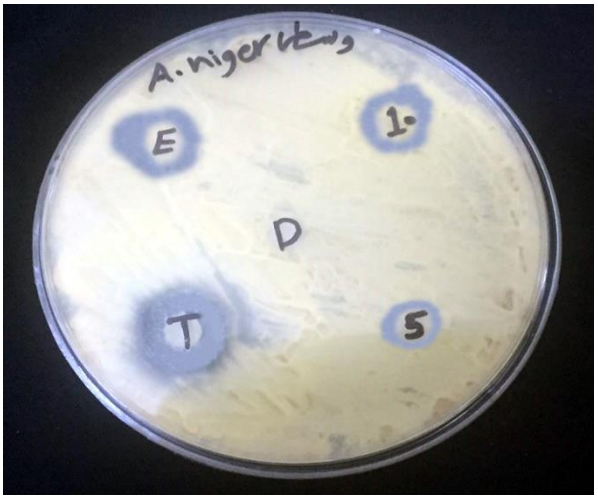
F= *Fusarium moniliforme*

G= *Penicillium digitatum*

H= *Aspergillus niger*

صور الفطريات للمنطقة الوسطى

A



B

C

D

A= *Aspergillus niger*

B= *Aspergillus flavus*

C= *Alternaria alternate*

D= *Penicillium digitatum*

صور الفطريات للمنطقة الوسطى

E

F

G

E= *Fusarium solani*

F= *Fusarium moniliforme*

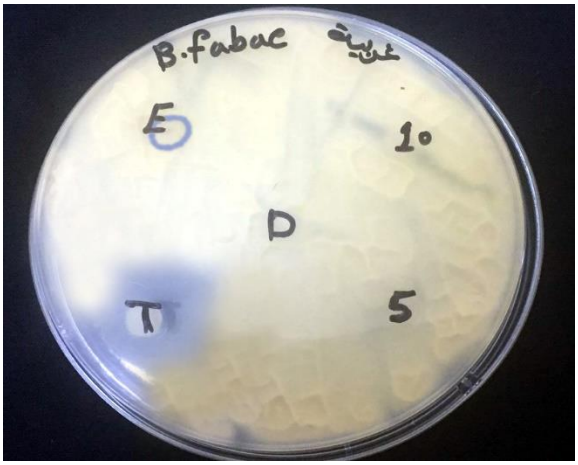
G= *Botrytis fabae*

صور الفطريات للمنطقة الغربية

A

B

C



D

A= *Fusarium solani*

B= *Aspergillu niger*

C= *Botrytis fabae*

D= *Aspergillus flavus*

صور الفطريات للمنطقة الغربية

E

F

G

E= *Alternaria alternate*

F= *Penicillium digitatum*

G= *Fusarium moniliforme*

الأجهزة المستخدمة

جهاز فوق الموجات الصوتية

ميزان حساس

حضانة

جهاز التعقيم

حمام مائي

Between-Subjects Factors

		Value Label	N
Concentration	1.00	*0%*	*90*
	2.00	*5%*	*90*
	3.00	*10%*	*90*
	4.00	E	*90*
Bacteria Type	1.00	*E.coli*	*36*
	2.00	*B.Subtilis*	*36*
	3.00	*Shigella Sonnei*	*36*
	4.00	*Staph.epidermidis*	*36*
	5.00	*Staph.aureus*	*36*
	6.00	*K.pneumoniae*	*36*
	7.00	*Listeria.innocua*	*36*
	8.00	*Enterobacter.agglomerans*	*36*
	9.00	*E.cloacae*	*36*
	10.00	*B.cereus*	*36*
Area	1.00	*East*	*120*
	2.00	*Middle*	*120*
	3.00	*West*	*120*

Descriptive Statistics

Dependent Variable:Inhibition Zone (mm)

Concentration	Bacteria Type	Area	Mean	Std. Deviation	N
0%	*E. coli*	East	.0000	.00000	3
		Middle	.0000	.00000	3
		West	.0000	.00000	3
		Total	.0000	.00000	9
	B. Subtilis	East	.0000	.00000	3
		Middle	.0000	.00000	3
		West	.0000	.00000	3
		Total	.0000	.00000	9
	Shigella Sonnei	East	.0000	.00000	3
		Middle	.0000	.00000	3
		West	.0000	.00000	3
		Total	.0000	.00000	9
	Staph. epidermidis	East	.0000	.00000	3
		Middle	.0000	.00000	3
		West	.0000	.00000	3
		Total	.0000	.00000	9
	Staph. aureus	East	.0000	.00000	3
		Middle	.0000	.00000	3
		West	.0000	.00000	3
		Total	.0000	.00000	9
	K. pneumoniae	East	.0000	.00000	3

		Middle	***.0000***	***.00000***	***3***
		West	***.0000***	***.00000***	***3***
		Total	***.0000***	***.00000***	***9***
	Listeria. innocua	**East**	***.0000***	***.00000***	***3***
		Middle	***.0000***	***.00000***	***3***
		West	***.0000***	***.00000***	***3***
		Total	***.0000***	***.00000***	***9***
	Entero. agglomerans	**East**	***.0000***	***.00000***	***3***
		Middle	***.0000***	***.00000***	***3***
		West	***.0000***	***.00000***	***3***
		Total	***.0000***	***.00000***	***9***
	E. cloacae	**East**	***.0000***	***.00000***	***3***
		Middle	***.0000***	***.00000***	***3***
		West	***.0000***	***.00000***	***3***
		Total	***.0000***	***.00000***	***9***
	B. cereus	**East**	***.0000***	***.00000***	***3***
		Middle	***.0000***	***.00000***	***3***
		West	***.0000***	***.00000***	***3***
		Total	***.0000***	***.00000***	***9***
	Total	**East**	***.0000***	***.00000***	***30***
		Middle	***.0000***	***.00000***	***30***
		West	***.0000***	***.00000***	***30***
		Total	***.0000***	***.00000***	***90***
5%	***E. coli***	**East**	***16.0000***	***1.00000***	***3***

		Middle	***13.3333***	***.57735***	***3***
		West	***10.6667***	***1.52753***	***3***
		Total	***13.3333***	***2.50000***	***9***
	B. Subtilis	**East**	***13.6667***	***1.15470***	***3***
		Middle	***13.3333***	***1.15470***	***3***
		West	***8.3333***	***.57735***	***3***
		Total	***11.7778***	***2.72845***	***9***
	Shigella Sonnei	**East**	***12.3333***	***1.15470***	***3***
		Middle	***10.0000***	***1.00000***	***3***
		West	***8.3333***	***.57735***	***3***
		Total	***10.2222***	***1.92209***	***9***
	Staph. epidermidis	**East**	***11.0000***	***1.73205***	***3***
		Middle	***8.3333***	***.57735***	***3***
		West	***4.6667***	***4.04145***	***3***
		Total	***8.0000***	***3.53553***	***9***
	Staph. aureus	**East**	***.0000***	***.00000***	***3***
		Middle	***.0000***	***.00000***	***3***
		West	***.0000***	***.00000***	***3***
		Total	***.0000***	***.00000***	***9***
	K. pneumoniae	**East**	***.0000***	***.00000***	***3***
		Middle	***.0000***	***.00000***	***3***
		West	***.0000***	***.00000***	***3***
		Total	***.0000***	***.00000***	***9***
	Listeria. innocua	**East**	***.0000***	***.00000***	***3***
		Middle	***.0000***	***.00000***	***3***

		West	***.0000***	***.00000***	***3***
		Total	***.0000***	***.00000***	***9***
	Entero .agglomerans	**East**	***.0000***	***.00000***	***3***
		Middle	***.0000***	***.00000***	***3***
		West	***.0000***	***.00000***	***3***
		Total	***.0000***	***.00000***	***9***
	E. cloacae	**East**	***.0000***	***.00000***	***3***
		Middle	***.0000***	***.00000***	***3***
		West	***.0000***	***.00000***	***3***
		Total	***.0000***	***.00000***	***9***
	B. cereus	**East**	***.0000***	***.00000***	***3***
		Middle	***.0000***	***.00000***	***3***
		West	***.0000***	***.00000***	***3***
		Total	***.0000***	***.00000***	***9***
	Total	**East**	***5.3000***	***6.74230***	***30***
		Middle	***4.5000***	***5.79387***	***30***
		West	***3.2000***	***4.37390***	***30***
		Total	***4.3333***	***5.72203***	***90***
10%	***E. coli***	**East**	***17.3333***	***1.15470***	***3***
		Middle	***14.6667***	***1.15470***	***3***
		West	***13.6667***	***1.15470***	***3***
		Total	***15.2222***	***1.92209***	***9***
	B. Subtilis	**East**	***15.6667***	***.57735***	***3***
		Middle	***14.6667***	***.57735***	***3***
		West	***10.6667***	***.57735***	***3***

		Total	***13.6667***	***2.34521***	***9***
	Shigella Sonnei	**East**	***13.0000***	***1.00000***	***3***
		Middle	***12.3333***	***.57735***	***3***
		West	***9.3333***	***2.08167***	***3***
		Total	***11.5556***	***2.06828***	***9***
	Staph.epidermidis	**East**	***12.3333***	***1.52753***	***3***
		Middle	***11.3333***	***.57735***	***3***
		West	***8.3333***	***1.52753***	***3***
		Total	***10.6667***	***2.12132***	***9***
	Staph. aureus	**East**	***.0000***	***.00000***	***3***
		Middle	***.0000***	***.00000***	***3***
		West	***.0000***	***.00000***	***3***
		Total	***.0000***	***.00000***	***9***
	K. pneumoniae	**East**	***.0000***	***.00000***	***3***
		Middle	***.0000***	***.00000***	***3***
		West	***.0000***	***.00000***	***3***
		Total	***.0000***	***.00000***	***9***
	Listeria. innocua	**East**	***.0000***	***.00000***	***3***
		Middle	***.0000***	***.00000***	***3***
		West	***.0000***	***.00000***	***3***
		Total	***.0000***	***.00000***	***9***
	Entero .agglomerans	**East**	***.0000***	***.00000***	***3***
		Middle	***.0000***	***.00000***	***3***
		West	***.0000***	***.00000***	***3***
		Total	***.0000***	***.00000***	***9***

	E. cloacae	**East**	*.0000*	*.00000*	*3*
		Middle	*.0000*	*.00000*	*3*
		West	*.0000*	*.00000*	*3*
		Total	*.0000*	*.00000*	*9*
	B. cereus	**East**	*.0000*	*.00000*	*3*
		Middle	*.0000*	*.00000*	*3*
		West	*.0000*	*.00000*	*3*
		Total	*.0000*	*.00000*	*9*
	Total	**East**	*5.8333*	*7.40495*	*30*
		Middle	*5.3000*	*6.68065*	*30*
		West	*4.2000*	*5.44186*	*30*
		Total	*5.1111*	*6.52126*	*90*
E	*E. coli*	**East**	*18.6667*	*1.15470*	*3*
		Middle	*17.0000*	*2.00000*	*3*
		West	*15.3333*	*.57735*	*3*
		Total	*17.0000*	*1.87083*	*9*
	B. Subtilis	**East**	*17.6667*	*1.52753*	*3*
		Middle	*16.6667*	*.57735*	*3*
		West	*13.3333*	*.57735*	*3*
		Total	*15.8889*	*2.14735*	*9*
	Shigella Sonnei	**East**	*15.6667*	*1.15470*	*3*
		Middle	*14.3333*	*.57735*	*3*
		West	*12.6667*	*.57735*	*3*
		Total	*14.2222*	*1.48137*	*9*
	Staph. epidermidis	**East**	*15.6667*	*2.51661*	*3*

		Middle	***13.6667***	***1.15470***	***3***
		West	***11.6667***	***1.52753***	***3***
		Total	***13.6667***	***2.34521***	***9***
	Staph. aureus	**East**	***.0000***	***.00000***	***3***
		Middle	***.0000***	***.00000***	***3***
		West	***.0000***	***.00000***	***3***
		Total	***.0000***	***.00000***	***9***
	K. pneumoniae	**East**	***.0000***	***.00000***	***3***
		Middle	***.0000***	***.00000***	***3***
		West	***.0000***	***.00000***	***3***
		Total	***.0000***	***.00000***	***9***
	Listeria. innocua	**East**	***.0000***	***.00000***	***3***
		Middle	***.0000***	***.00000***	***3***
		West	***.0000***	***.00000***	***3***
		Total	***.0000***	***.00000***	***9***
	Entero .agglomerans	**East**	***.0000***	***.00000***	***3***
		Middle	***.0000***	***.00000***	***3***
		West	***.0000***	***.00000***	***3***
		Total	***.0000***	***.00000***	***9***
	E. cloacae	**East**	***.0000***	***.00000***	***3***
		Middle	***.0000***	***.00000***	***3***
		West	***.0000***	***.00000***	***3***
		Total	***.0000***	***.00000***	***9***
	B. cereus	**East**	***.0000***	***.00000***	***3***
		Middle	***.0000***	***.00000***	***3***

		West	.0000	.00000	3
		Total	.0000	.00000	9
	Total	East	6.7667	8.51645	30
		Middle	6.1667	7.76412	30
		West	5.3000	6.67548	30
		Total	6.0778	7.62643	90

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:Inhibition Zone (mm)

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	13689.197[a]	119	115.035	211.289	.000
Intercept	5421.136	1	5421.136	9957.189	.000
Conc	1944.519	3	648.173	1190.522	.000
Bacteria	8360.558	9	928.951	1706.236	.001
Area	103.622	2	51.811	95.163	.013
Conc * Bacteria	3005.453	27	111.313	204.453	.022
Conc * Area	38.022	6	6.337	11.639	.032
Bacteria * Area	168.267	18	9.348	17.170	.011
Conc * Bacteria * Area	68.756	54	1.273	2.339	.030
Error	130.667	240	.544		
Total	19241.000	360			
Corrected Total	13819.864	359			

a. R Squared = .991 (Adjusted R Squared = .986)

Estimated Marginal Means

1. Grand Mean

Dependent Variable:Inhibition Zone (mm)

Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
		Lower Bound	Upper Bound
3.881	*.039*	*3.804*	*3.957*

2. Concentration

Dependent Variable:Inhibition Zone (mm)

Concentration	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
0%	*-2.378E-15*	*.078*	*-.153-*	*.153*
5%	*4.333*	*.078*	*4.180*	*4.487*
10%	*5.111*	*.078*	*4.958*	*5.264*
E	*6.078*	*.078*	*5.925*	*6.231*

3. Bacteria Type

Dependent Variable:Inhibition Zone (mm)

Bacteria Type	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
E. coli	*11.389*	*.123*	*11.147*	*11.631*
B. Subtilis	*10.333*	*.123*	*10.091*	*10.576*
Shigella Sonnei	*9.000*	*.123*	*8.758*	*9.242*
Staph. epidermidis	*8.083*	*.123*	*7.841*	*8.326*
Staph. aureus	*-1.506E-15*	*.123*	*-.242-*	*.242*
K. pneumoniae	*-1.506E-15*	*.123*	*-.242-*	*.242*
Listeria. innocua	*-1.506E-15*	*.123*	*-.242-*	*.242*
Enterobacter agglomerans	*-1.506E-15*	*.123*	*-.242-*	*.242*
E. cloacae	*-1.506E-15*	*.123*	*-.242-*	*.242*
B. cereus	*4.620E-15*	*.123*	*-.242-*	*.242*

4. Area

Dependent Variable:Inhibition Zone (mm)

Area	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
East	*4.475*	*.067*	*4.342*	*4.608*
Middle	*3.992*	*.067*	*3.859*	*4.124*
West	*3.175*	*.067*	*3.042*	*3.308*

Between-Subjects Factors

		Value Label	N
Concentration	1.00	*0%*	*54*
	2.00	*5%*	*54*
	3.00	*10%*	*54*
	4.00	*E*	*54*
Yeast Type	1.00	*Ca. parapsilosis*	*36*
	2.00	*Ca. tropicalis*	*36*
	3.00	*Ca. albicans*	*36*
	4.00	*Rhodotorula rubra*	*36*
	5.00	*Pichia*	*36*
	6.00	*Saccharomycs cerevisiae*	*36*
Area	1.00	*East*	*72*
	2.00	*Middle*	*72*
	3.00	*West*	*72*

Descriptive Statistics

Dependent Variable:Inhibition Zone (mm)

Concentration	Yeast Type	Area	Mean	Std. Deviation	N
0%	*Ca. parapsilosis*	East	.0000	.00000	3
		Middle	.0000	.00000	3
		West	.0000	.00000	3
		Total	.0000	.00000	9
	Ca. tropicalis	East	.0000	.00000	3
		Middle	.0000	.00000	3
		West	.0000	.00000	3
		Total	.0000	.00000	9
	Ca. albicans	East	.0000	.00000	3
		Middle	.0000	.00000	3
		West	.0000	.00000	3
		Total	.0000	.00000	9
	Rhodotorula rubra	East	.0000	.00000	3
		Middle	.0000	.00000	3
		West	.0000	.00000	3
		Total	.0000	.00000	9
	Pichia	East	.0000	.00000	3
		Middle	.0000	.00000	3
		West	.0000	.00000	3
		Total	.0000	.00000	9
		East	.0000	.00000	3

	Saccharomyces cerevisiae	**Middle**	*.0000*	*.00000*	*3*
		West	*.0000*	*.00000*	*3*
		Total	*.0000*	*.00000*	*9*
	Total	**East**	*.0000*	*.00000*	*18*
		Middle	*.0000*	*.00000*	*18*
		West	*.0000*	*.00000*	*18*
		Total	*.0000*	*.00000*	*54*
5%	*Ca. parapsilosis*	**East**	*5.6667*	*4.04145*	*3*
		Middle	*4.6667*	*4.93288*	*3*
		West	*2.3333*	*4.04145*	*3*
		Total	*4.7777*	*4.05518*	*9*
	Ca. tropicalis	**East**	*7.6667*	*4.35890*	*3*
		Middle	*5.3333*	*.57735*	*3*
		West	*5.0000*	*4.72582*	*3*
		Total	*6.0000*	*3.46410*	*9*
	Ca. albicans	**East**	*15.6667*	*1.15470*	*3*
		Middle	*12.0000*	*.57735*	*3*
		West	*9.6667*	*1.00000*	*3*
		Total	*12.4444*	*2.74368*	*9*
	Rhodotorula rubra	**East**	*8.3333*	*2.30940*	*3*
		Middle	*5.3333*	*4.72582*	*3*
		West	*3.0000*	*5.19615*	*3*
		Total	*5.5556*	*4.36208*	*9*
	Pichia	**East**	*6.0000*	*5.56776*	*3*
		Middle	*5.6667*	*4.93288*	*3*

		West	***5.0000***	***4.35890***	***3***
		Total	***5.5556***	***4.33333***	***9***
	Saccharomyces cerevisiae	**East**	***7.6667***	***.57735***	***3***
		Middle	***5.0000***	***4.35890***	***3***
		West	***2.3333***	***4.04145***	***3***
		Total	***5.0000***	***3.77492***	***9***
	Total	**East**	***7.5000***	***5.17062***	***18***
		Middle	***6.5000***	***3.68223***	***18***
		West	***5.3889***	***4.74204***	***18***
		Total	***6.4630***	***4.57109***	***54***
10%	***Ca. parapsilosis***	**East**	***8.6667***	***4.72582***	***3***
		Middle	***8.3333***	***1.15470***	***3***
		West	***5.3333***	***1.15470***	***3***
		Total	***7.4444***	***2.96273***	***9***
	Ca. tropicalis	**East**	***9.6667***	***5.29150***	***3***
		Middle	***6.3333***	***2.30940***	***3***
		West	***6.0000***	***5.50757***	***3***
		Total	***7.3333***	***4.35890***	***9***
	Ca. albicans	**East**	***16.6667***	***.57735***	***3***
		Middle	***12.3333***	***.57735***	***3***
		West	***10.3333***	***.57735***	***3***
		Total	***13.1111***	***2.84800***	***9***
	Rhodotorula rubra	**East**	***11.0000***	***1.73205***	***3***
		Middle	***9.6667***	***6.42910***	***3***
		West	***7.3333***	***1.52753***	***3***

		Total	***9.3333***	***3.77492***	***9***
	Pichia	**East**	***10.6667***	***2.08167***	***3***
		Middle	***5.6667***	***4.72582***	***3***
		West	***5.3333***	***4.93288***	***3***
		Total	***7.2222***	***4.40959***	***9***
	Saccharomyces cerevisiae	**East**	***9.3333***	***1.15470***	***3***
		Middle	***8.0000***	***1.73205***	***3***
		West	***5.3333***	***4.72582***	***3***
		Total	***7.5556***	***3.12694***	***9***
	Total	**East**	***9.8333***	***4.66842***	***18***
		Middle	***8.1667***	***3.38248***	***18***
		West	***8.0000***	***4.01468***	***18***
		Total	***8.6667***	***4.06550***	***54***
E	***Ca. parapsilosis***	**East**	***10.6667***	***1.52753***	***3***
		Middle	***10.6667***	***2.08167***	***3***
		West	***9.3334***	***2.08167***	***3***
		Total	***10.2222***	***1.78730***	***9***
	Ca. tropicalis	**East**	***12.3333***	***6.80686***	***3***
		Middle	***8.3333***	***1.52753***	***3***
		West	***7.6667***	***1.52753***	***3***
		Total	***9.4444***	***4.18662***	***9***
	Ca. albicans	**East**	***18.0000***	***1.00000***	***3***
		Middle	***13.6667***	***1.15470***	***3***
		West	***11.3333***	***1.15470***	***3***
		Total	***14.3333***	***3.08221***	***9***

	Rhodotorula rubra	**East**	***12.6667***	***2.08167***	***3***
		Middle	***113334.***	***8.14453***	***3***
		West	***9.3334***	***1.52753***	***3***
		Total	***11.2222***	***4.52155***	***9***
	Pichia	**East**	***12.3333***	***2.51661***	***3***
		Middle	***10.0000***	***2.64575***	***3***
		West	***9.6667***	***1.15470***	***3***
		Total	***10.6667***	***2.29129***	***9***
	Saccharomyces cerevisiae	**East**	***11.3333***	***.57735***	***3***
		Middle	***10.3333***	***1.15470***	***3***
		West	***9.3333***	***1.15470***	***3***
		Total	***103333.***	***1.22474***	***9***
	Total	**East**	***11.9444***	***4.20745***	***18***
		Middle	***10.2778***	***3.33970***	***18***
		West	***10.8889***	***2.11128***	***18***
		Total	***11.0370***	***3.34192***	***54***

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:Inhibition Zone (mm)

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	*4948.958[a]*	*71*	*69.704*	*7.887*	*.000*
Intercept	*9243.375*	*1*	*9243.375*	*1045.872*	*.000*
Conc	*3646.273*	*3*	*1215.424*	*137.523*	*.000*
Yeast	*531.542*	*5*	*106.308*	*12.029*	*.000*
Area	*66.333*	*2*	*33.167*	*3.753*	*.026*
Conc * Yeast	*245.366*	*15*	*16.358*	*1.851*	*.033*
Conc * Area	*36.407*	*6*	*6.068*	*.687*	*.661*
Yeast * Area	*243.833*	*10*	*24.383*	*2.759*	*.004*
Conc * Yeast * Area	*179.204*	*30*	*5.973*	*.676*	*.045*
Error	*1272.667*	*144*	*8.838*		
Total	*15465.000*	*216*			
Corrected Total	*6221.625*	*215*			

a. R Squared = .795 (Adjusted R Squared = .695)

Estimated Marginal Means

1. Grand Mean

Dependent Variable:Inhibition Zone (mm)

Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
		Lower Bound	Upper Bound
6.542	*.202*	*6.142*	*6.941*

2. Concentration

Dependent Variable:Inhibition Zone (mm)

Concentration	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
0%	*4.817E-15*	*.405*	*-.800-*	*.800*
5%	*6.463*	*.405*	*5.663*	*7.263*
10%	*8.667*	*.405*	*7.867*	*9.466*
E	*11.037*	*.405*	*10.237*	*11.837*

3. Yeast Type

Dependent Variable:Inhibition Zone (mm)

Yeast Type	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
Ca. parapsilosis	5.472	.495	4.493	6.452
Ca. tropicalis	5.694	.495	4.715	6.674
Ca. albicans	9.972	.495	8.993	10.952
Rhodotorula rubra	6.528	.495	5.548	7.507
Pichia	5.861	.495	4.882	6.840
Saccharomyces cerevisiae	5.722	.495	4.743	6.702

4. Area

Dependent Variable:Inhibition Zone (mm)

Area	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
East	7.319	.350	6.627	8.012
Middle	6.236	.350	5.544	6.929
West	6.069	.350	5.377	6.762

Between-Subjects Factors

		Value Label	N
Concentration	1.00	*0%*	*90*
	2.00	*5%*	*90*
	3.00	*10%*	*90*
	4.00	*E*	*90*
Fungus Type	1.00	*B. fabae*	*36*
	2.00	*P. digitatum*	*36*
	3.00	*F. moniliforme*	*36*
	4.00	*F. solani*	*36*
	5.00	*P. notatum*	*36*
	6.00	*A. niger*	*36*
	7.00	*A. flavus*	*36*
	8.00	*Alt. alternata*	*36*
	9.00	*P.chrysogenum*	*36*
	10.00	*A. oryza*	*36*
Area	1.00	*East*	*120*
	2.00	*Middle*	*120*
	3.00	*West*	*120*

Descriptive Statistics

Dependent Variable:Inhibition Zone (mm)

Concentration	Fungus Type	Area	Mean	Std. Deviation	N
0%	*B. fabae*	East	.0000	.00000	3
		Middle	.0000	.00000	3
		West	.0000	.00000	3
		Total	.0000	.00000	9
	P. digitatum	East	.0000	.00000	3
		Middle	.0000	.00000	3
		West	.0000	.00000	3
		Total	.0000	.00000	9
	F. moniliforme	East	.0000	.00000	3
		Middle	.0000	.00000	3
		West	.0000	.00000	3
		Total	.0000	.00000	9
	F. solani	East	.0000	.00000	3
		Middle	.0000	.00000	3
		West	.0000	.00000	3
		Total	.0000	.00000	9
	P. notatum	East	.0000	.00000	3
		Middle	.0000	.00000	3
		West	.0000	.00000	3
		Total	.0000	.00000	9
	A.niger	East	.0000	.00000	3

		Middle	***.0000***	***.00000***	***3***
		West	***.0000***	***.00000***	***3***
		Total	***.0000***	***.00000***	***9***
	A. flavus	**East**	***.0000***	***.00000***	***3***
		Middle	***.0000***	***.00000***	***3***
		West	***.0000***	***.00000***	***3***
		Total	***.0000***	***.00000***	***9***
	Alt. alternata	**East**	***.0000***	***.00000***	***3***
		Middle	***.0000***	***.00000***	***3***
		West	***.0000***	***.00000***	***3***
		Total	***.0000***	***.00000***	***9***
	P.chrysogenum	**East**	***.0000***	***.00000***	***3***
		Middle	***.0000***	***.00000***	***3***
		West	***.0000***	***.00000***	***3***
		Total	***.0000***	***.00000***	***9***
	A. oryza	**East**	***.0000***	***.00000***	***3***
		Middle	***.0000***	***.00000***	***3***
		West	***.0000***	***.00000***	***3***
		Total	***.0000***	***.00000***	***9***
	Total	**East**	***.0000***	***.00000***	***30***
		Middle	***.0000***	***.00000***	***30***
		West	***.0000***	***.00000***	***30***
		Total	***.0000***	***.00000***	***90***
5%	***B.fabae***	**East**	***2.3333***	***3.46410***	***3***

		Middle	***2.0000***	***4.04145***	***3***
		West	***.0000***	***.00000***	***3***
		Total	***1.4444***	***2.87711***	***9***
	P. digitatum	**East**	***6.6667***	***4.04145***	***3***
		Middle	***4.6667***	***1.15470***	***3***
		West	***4.6667***	***4.04145***	***3***
		Total	***5.3333***	***3.08221***	***9***
	F. moniliforme	**East**	***4.6667***	***4.04145***	***3***
		Middle	***2.3333***	***4.04145***	***3***
		West	***2.3333***	***4.04145***	***3***
		Total	***3.1111***	***3.68932***	***9***
	F. solani	**East**	***9.3333***	***1.15470***	***3***
		Middle	***5.0000***	***4.35890***	***3***
		West	***2.0000***	***3.46410***	***3***
		Total	***5.4444***	***4.27525***	***9***
	P. notatum	**East**	***.0000***	***.00000***	***3***
		Middle	***.0000***	***.00000***	***3***
		West	***.0000***	***.00000***	***3***
		Total	***.0000***	***.00000***	***9***
	A. niger	**East**	***12.3333***	***4.16333***	***3***
		Middle	***5.6667***	***4.93288***	***3***
		West	***4.6667***	***4.04145***	***3***
		Total	***7.5556***	***5.24669***	***9***
	A.flavus	**East**	***13.3333***	***1.52753***	***3***
		Middle	***9.3333***	***1.52753***	***3***

		West	***6.6667***	***5.19615***	***3***
		Total	***9.7333***	***4.40013***	***9***
	Alt. alternata	**East**	***10.3333***	***.57735***	***3***
		Middle	***7.6667***	***1.15470***	***3***
		West	***6.0000***	***.57735***	***3***
		Total	***7.9667***	***1.83333***	***9***
	P.chrysogenum	**East**	***.0000***	***.00000***	***3***
		Middle	***.0000***	***.00000***	***3***
		West	***.0000***	***.00000***	***3***
		Total	***.0000***	***.00000***	***9***
	A. oryza	**East**	***.0000***	***.00000***	***3***
		Middle	***.0000***	***.00000***	***3***
		West	***.0000***	***.00000***	***3***
		Total	***.0000***	***.00000***	***9***
	Total	**East**	***5.3667***	***5.54905***	***30***
		Middle	***3.6000***	***3.73797***	***30***
		West	***3.2333***	***4.14964***	***30***
		Total	***4.0667***	***4.59066***	***90***
10%	***B. fabae***	**East**	***9.3333***	***4.04145***	***3***
		Middle	***2.3333***	***.57735***	***3***
		West	***.0000***	***.00000***	***3***
		Total	***3.8889***	***4.67559***	***9***
	P. digitatum	**East**	***8.6667***	***5.50757***	***3***
		Middle	***6.3332***	***2.08167***	***3***
		West	***5.3333***	***4.61880***	***3***

		Total	***6.7778***	***4.02423***	***9***
	F.moniliform	**East**	***7.3333***	***4.35890***	***3***
		Middle	***6.0000***	***.57735***	***3***
		West	***5.0000***	***5.19615***	***3***
		Total	***6.1111***	***3.55121***	***9***
	F.solani	**East**	***11.6667***	***1.15470***	***3***
		Middle	***7.6667***	***.57735***	***3***
		West	***2.0000***	***3.46410***	***3***
		Total	***7.1111***	***4.59468***	***9***
	P.notatum	**East**	***2.0000***	***3.46410***	***3***
		Middle	***.0000***	***.00000***	***3***
		West	***.0000***	***.00000***	***3***
		Total	***1.6667***	***2.00000***	***9***
	A.niger	**East**	***12.6667***	***2.51661***	***3***
		Middle	***9.6667***	***1.52753***	***3***
		West	***5.6667***	***5.13160***	***3***
		Total	***9.3333***	***4.24264***	***9***
	A.flavus	**East**	***14.6667***	***.57735***	***3***
		Middle	***10.6667***	***1.52753***	***3***
		West	***9.3333***	***1.00000***	***3***
		Total	***11.5556***	***2.69258***	***9***
	Alt.alternata	**East**	***12.6667***	***1.15470***	***3***
		Middle	***10.0000***	***1.52753***	***3***
		West	***8.3333***	***1.15470***	***3***
		Total	***10.3334***	***2.18581***	***9***

	P.chrysogenum	**East**	*.0000*	*.00000*	*3*
		Middle	*.0000*	*.00000*	*3*
		West	*.0000*	*.00000*	*3*
		Total	*.0000*	*.00000*	*9*
	A.oryza	**East**	*.0000*	*.00000*	*3*
		Middle	*.0000*	*.00000*	*3*
		West	*.0000*	*.00000*	*3*
		Total	*.0000*	*.00000*	*9*
	Total	**East**	*6.5333*	*5.85299*	*30*
		Middle	*6.0333*	*4.18110*	*30*
		West	*4.1667*	*5.05203*	*30*
		Total	*5.5778*	*5.12096*	*90*
E	*B. fabae*	**East**	*15.0000*	*4.72582*	*3*
		Middle	*5.3334*	*2.00000*	*3*
		West	*2.3333*	*4.04145*	*3*
		Total	*7.5556*	*6.59756*	*9*
	P. digitatum	**East**	*14.0000*	*2.00000*	*3*
		Middle	*13.6667*	*2.08167*	*3*
		West	*6.3333*	*5.50757*	*3*
		Total	*11.3333*	*4.87340*	*9*
	F. moniliforme	**East**	*9.3333*	*4.93288*	*3*
		Middle	*7.0000*	*1.52753*	*3*
		West	*5.6667*	*6.08276*	*3*
		Total	*7.3333*	*4.30116*	*9*
	F. solani	**East**	*13.6667*	*.57735*	*3*

		Middle	***9.3333***	***.57735***	***3***
		West	***8.0000***	***7.00000***	***3***
		Total	***10.3333***	***4.35890***	***9***
	P. notatum	**East**	***5.0000***	***4.35890***	***3***
		Middle	***4.6667***	***.00000***	***3***
		West	***.0000***	***4.04145***	***3***
		Total	***3.2222***	***3.83333***	***9***
	A. niger	**East**	***14.3333***	***3.05505***	***3***
		Middle	***12.3333***	***2.51661***	***3***
		West	***6.3333***	***5.68624***	***3***
		Total	***11.0000***	***5.00000***	***9***
	A. flavus	**East**	***16.6667***	***.57735***	***3***
		Middle	***14.3333***	***2.51661***	***3***
		West	***12.3333***	***.57735***	***3***
		Total	***14.4444***	***2.29734***	***9***
	Alt. alternata	**East**	***13.3333***	***1.73205***	***3***
		Middle	***13.0000***	***2.08167***	***3***
		West	***10.6667***	***.57735***	***3***
		Total	***12.3333***	***1.87083***	***9***
	P.chrysogenum	**East**	***.0000***	***.00000***	***3***
		Middle	***.0000***	***.00000***	***3***
		West	***.0000***	***.00000***	***3***
		Total	***.0000***	***.00000***	***9***
	A. oryza	**East**	***.0000***	***.00000***	***3***
		Middle	***.0000***	***.00000***	***3***

		West	.0000	.00000	3
		Total	.0000	.00000	9
	Total	East	8.7667	6.48969	30
		Middle	8.4667	6.09541	30
		West	6.0333	5.64149	30
		Total	7.7556	6.14124	90

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:Inhibition Zone (mm)

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	9023.233[a]	119	75.825	12.702	.000
Intercept	6812.100	1	6812.100	1141.161	.000
Conc	2889.722	3	963.241	161.362	.000
Fungus	3354.011	9	372.668	62.429	.000
Area	201.717	2	100.858	16.896	.006
Conc * Fungus	1340.389	27	49.644	8.316	.018
Conc * Area	104.528	6	17.421	2.918	.009
Fungus * Area	675.672	18	37.537	6.288	.012
Conc * Fungus * Area	457.194	54	8.467	1.418	.041
Error	1432.667	240	5.969		
Total	17268.000	360			
Corrected Total	10455.900	359			

a. R Squared = .863 (Adjusted R Squared = .795)

Estimated Marginal Means

1. Grand Mean

Dependent Variable:Inhibition Zone (mm)

Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
		Lower Bound	Upper Bound
4.350	*.129*	*4.096*	*4.604*

2. Concentration

Dependent Variable:Inhibition Zone (mm)

Concentration	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
0%	*-9.293E-16*	*.258*	*-.507-*	*.507*
5%	*4.067*	*.258*	*3.559*	*4.574*
10%	*5.578*	*.258*	*5.070*	*6.085*
E	*7.756*	*.258*	*7.248*	*8.263*

3. Fungus Type

Dependent Variable:Inhibition Zone (mm)

Fungus Type	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
B. fabae	3.222	.407	2.420	4.024
P. digitatum	5.861	.407	5.059	6.663
F. moniliforme	4.139	.407	3.337	4.941
F. solani	5.722	.407	4.920	6.524
P. notatum	.972	.407	.170	1.774
A. niger	6.972	.407	6.170	7.774
A. flavus	8.667	.407	7.865	9.469
Alt. alternata	7.944	.407	7.142	8.747
P.chrysogenum	3.621E-16	.407	-.802-	.802
A. oryza	6.812E-16	.407	-.802-	.802

4. Area

Dependent Variable:Inhibition Zone (mm)

Area	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
East	5.167	.223	4.727	5.606
Middle	4.525	.223	4.086	4.964
West	3.358	.223	2.919	3.798