وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامــعة ديالى

كلية التربية للعلوم الصرفة

قسم علوم الحياة

تأثير البروتينات المثبطة للرايبوسوم المستخلصة من نباتات مختلفة في معايير نمو الفطر *Aspergillus niger* ونشاط بعض الانزيمات

رسالة مقدمة إلى

مجلس كلية التربية للعلوم الصرفة في جامعة ديالى، وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة

من قبل

سحر كاظم محمد كاظم

بكالوريوس علوم حياة / كلية التربية للعلوم الصرفة ابن الهيثم / جامعة بغداد 1997-1998

بإشراف

أ.م.د. مثنى محمد إبراهيم **أ.م.د. رباب مجيد عبد**

رجب/ 1442هـ آذار/2021 م

1- المقدمة Introduction

تسبب الفطريات أمراضاً كثيرة للإنسان منها الجلدية والجهازية وتعد الفطرية من الأمراض الشائعة إذ نادراً ما يوجد إنسان لم يصب بالفطريات في فترة من فترات حياته لمرات عديدة. بعض الفطريات تكون غير مرضية إلا أنها مع ذلك تسبب الأمراض للانسان لاسيما عند وجود ضعف في دفاعات الجسم فتسمى بالفطريات الانتهازية Opportunistic fungi كالفطريات *Candida* و*Aspergillus* و*Cryptococcus* التي يرتبط حدوث الإصابة بها بتعرض الانسان إلى بعض الأمراض مثل التدرن الرئوي والأمراض السرطانية ونقص المناعة (Tortoraوآخرون،2002).

يعد الفطر *Aspergillus* من الأجناس واسعة الانتشار في البيئة فهو يمتلك القدرة على الإفادة من ركائز عضوية متنوعة والتكيف مع مدى واسع من الظروف البيئية، وينمو على المواد العضوية المتحللة وعلى النباتات وفي وعلى الحيوانات وفي التربة والهواء والماء (Cray وآخرون، 2013). معظم أنواع الفطر *Aspergillus* فطريات انتهازية ممرضة للانسان والحيوان والنبات (Sabater-vilar وآخرون، 2004)، كالفطر Aspergillus niger الذي يسبب الأمراض الجلدية وكذلك يصيب الجهاز التنفسي للانسان مسبباً مرض داء الرشاشيات الرئوي Pulmonary Aspergillosis (Kwon-chung وBennette، 1992).

استخدامت المضادات الفطرية بوصفها علاجاً تقليدياً للأمراض الفطرية ومع ذلك فإن استخدامها المفرط وغير المناسب يؤدي إلى ظهور سلالات فطرية مقاومة للمضادات الفطرية مما يجعل علاج الالتهابات تحدياً هائلاً (Van Boeckel وآخرون، 2015). فضلاً عن إن الأمراض الفطرية تحتاج الى مضادات فطرية خاصة ومناسبة والعلاج بالمضادات الفطرية ليس نافعاً كما هو الحال باستخدام المضادات البكتيرية ضد البكتريا لأن الفطريات كائنات حية حقيقية النواة ولعدم توفر لقاحات ضدها فإن ذلك يؤدي إلى زيادة صعوبة السيطرة عليها (Madigan وآخرون، 2000) .

تعد النباتات الطبية مصدراً مهماً للمركبات الحيوية الفعالة التي لها قيمة علاجية للعديد من الأمراض (Pandey وGupta، 2020)، إذ تحتوي النباتات الطبية على العديد من مركبات الأيض الثانوية ذات الخصائص العلاجية كالفينولات phenolic والقلويدات alkaloids والفلافونويدات flavonoids وغيرها من المواد الفعالة (Cowan، 1999)، التي أثبتت قدرتها في تثبيط نمو وإمراضية

العديد من المسببات المرضية للإنسان كالبكتريا والفطريات (El-Kamali و El-Amir، 2010). وقد أشارت العديد من الدراسات إلى قدرة بعض النباتات على إنتاج أنواع من البروتينات المتخصصة ذات خصائص سمية التي تتميز بقدرتها على تثبيط نشاط المسبب المرضي (Zhu وآخرون، 2018). وتسمى بالبروتينات المثبطة للرايبوسومات Ribosome-Inactivating Proteins وتكتب اختصاراً RIPs. تعرف على انها تلك البروتينات التي تثبط وظيفة الرايبوسومات في الخلايا المستهدفة من خلال استهداف البنية التركيبية للرايبوسوم مخلفةً اضراراً لايمكن إصلاحها. وكما هو معروف فإن الرايبوسومات هي أماكن تصنيع البروتين في الخلية لذا فان أي خلل تركيبي أو وظيفي فيها يؤدي إلى حدوث تثبيط في عملية تخليق البروتين في الخلية وعليه لن تكون الخلية قادرة على الحفاظ على وظائفها الحيوية وبالتالي موتها. تنتج RIPs من قبل العديد من النباتات، وكذلك بعض الأحياء الأخرى كالفطريات والبكتريا وبعض أنواع الطحالب (Stirpe و Gilabert-Oriol، 2017) .

يوجد العديد من أنواع الـRIPs المختلفة في نحو 50 من الأنواع النباتية التي تغطي 17عائلة من العائلات النباتية ومن العائلات النباتية التي تعد مصادر غنية بـRIPs هي: القرعية Cucurbitaceae والفربيونية Euphorbiaceae والنجيلية Poaceae والقرنفلية Caryophyllaceae(Domashevskiy و Goss، 2015 و Shang وآخرون، 2016). ان RIPs النباتية تعد مضادات حيوية طبيعية بسبب خصائصها المتعددة مثل كونها مضادة للفيروسات ومضادة للبكتيريا ومضادة للفطريات (Akkouh وآخرون، 2015).

وبسبب عدم وجود دراسات كافية عن دور الـRIPs في تثبيط النمو الفطري هدفت الدراسة الحالية إلى:

1- استخلاص البروتين المثبط للرايبوسوم من أوراق نبات السوسن *Iris hollandica* وبذور نبات القثاء *Cucumis melo* flexuosus وأوراق نبات القرنفل .*Dianthus caryophllus* L.

2- دراسة تأثير البروتين المثبط للرايبوسوم المستخلص في نمو الفطر *Aspergillus niger*.

3- دراسة تأثير البروتين المثبط للرايبوسوم المستخلص في نشاط الإنزيمات المرتبطة بالإمراضية للفطر *Aspergillus niger*.

الخلاصة

أجريت هذه الدراسة في مختبر الفطريات التابع لقسم علوم الحياة في كلية التربية للعلوم الصرفة/ جامعة ديالى، بهدف دراسة تأثير البروتينات المثبطة لفعالية الرايبوسوم RIPs المستخلصة من أوراق نبات السوسن وبذور نبات القثاء وأوراق نبات القرنفل في بعض معايير نمو وإمراضية الفطر *Aspergillus niger*. بينت النتائج أن:

- تركيز البروتين RIPs المستخلص من بذور نبات القثاء قد بلغ 66.02 غم. لتر$^{-1}$ والمستخلص من أوراق نبات السوسن 52.67 غم.لتر$^{-1}$، بينما سجل البروتين المستخلص من أوراق نبات القرنفل 50.99 غم. لتر$^{-1}$.
- ان المعاملة بالبروتين المستخلص من بذور نبات القثاء بتركيز 0.75 ملغم. لتر$^{-1}$ ثبط النمو الفطري الشعاعي بنسبة 50.0% بعد 96 ساعة من الحضن تليه معاملة البروتين المستخلص من أوراق نبات السوسن بتركيز 0.75 ملغم.لتر$^{-1}$ بنسبة 44.44%، واخيراً البروتين المستخلص من أوراق نبات القرنفل بتركيز 0.75 ملغم.لتر$^{-1}$ فقد سجل نسبة تثبيط مقدارها 35.55%.
- إن الانخفاض الحاصل في النمو الشعاعي للفطر أنعكس على وزن الكتلة الحيوية الرطبة والجافة، إذ حقق التركيز 0.75 ملغم.لتر$^{-1}$ من RIPs المستخلص من بذور نبات القثاء أعلى نسبة مئوية للانخفاض في متوسطي الوزن الطري والجاف وذلك بعد 96 ساعة من الحضن التي كانت 70.73 و62.65% على التوالي.
- تشير نتائج دراسة تأثير RIPs في نشاط الإنزيمات المرتبطة بإمراضية الفطر *A. niger* أن جميع البروتينات أدت إلى حدوث تغير في النشاط الإنزيمي للبروتيز Protease وأن RIPs المستخلص من بذور نبات القثاء كان أقل البروتينات تاثيراً في تثبيط نشاط الإنزيم خلال مدة الحضن.

- بينت النتائج أن البروتين المستخلص من أوراق نبات القرنفل كان الأكثر تاثيراً في تثبيط إنزيم الفوسفوليبيز Phospholipase، اذ كان السبب في ايقاف نشاط هذا الإنزيم مقارنةً بمعاملة السيطرة التي كان النشاط الإنزيمي فيها مرتفع.
- أظهر RIPs المستخلص من أوراق نبات القرنفل تأثيراً في النشاط الإنزيمي لإنزيم Lipase مقارنةً ببقية النباتات التي أدت الى حصول تغير طفيف وبطيء في النشاط الانزيمي.
- وفيما يخص إنزيم الهيمولايسين Hemolysin، تبين النتائج أن المعاملة بالبروتين المستخلص من أوراق نبات السوسن وبذور نبات القثاء وأوراق نبات القرنفل لم يكن له تأثير معنوي في نشاط هذا الإنزيم.