مجلة الخليج العربي للبحوث العلمية ،19 (1) ، ص ص 44-51 (2001)

بحث أصلي

أ أ العوضي و ع ع الجديبي

# التأثير الضد فطري لبول الإبل على النمو وبعض الأنشطة الأيضية لفطر *Aspergillus niger*

**المستخلص:** في هذه الدراسة تم التعرف على التأثير الضد فطري لبول الإبل على النمو وبعض الأنشطة الأيضية لفطر *Aspergillus niger* وأثبتت النتائج بأن تأثر بعض الأنشطة الأيضية للفطر الإختباري اعتمدت على تركيز البول المستخدم بالإضافة إلى عمر الفطر. فأشارت النتائج إلى أن التركيز المنخفض من بول الإبل كان له تأثيراً تنشيطياً لاستهلاك الجلوكوز ثم انخفض هذا التأثير بتقدم عمر المزرعة الفطرية ،بينما كان لتركيزي 4% و 6 % تأثيراً تثبيطياً على استهلاك الجلوكوز . أما التركيز المنخفض 4% فقد أدى إلى تثبيط شديد في استهلاك النترات بواسطة الفطر ولكن انخفض هذا التأثير إلى أن اصبح تأثيراً تنشيطياً بتقدم عمر الفطر إلى اليوم السادس.أما كمية الأحماض الأمينية المفرزة بواسطة الفطر ، فقد ارتفعت في المنبت الغذائي في جميع التركيزات المستخدمة، وكانت الزيادة مطردة مع التركيز المستخدم ، ولكن تحول هذا التأثير التنشيطي إلى تثبيطي بتقدم عمر المزرعة الفطرية.

**كلمات مدخلية :** الابل، بول الابل، تأثير ضد فطري، إمتصاص الجلوكوز

**Effect of Antifungal Camel's Urine on the Growth and Some Other Metabolic Activities of *Aspergellius niger***

**A A Al-Awadi and A A Al-Jedabi**

**Abstract:** This study has shown the effect of camel's urine on the growth and some other metabolic activities of *Aspergellius niger* . The results proved that the effect on metabolic activity of *A. niger* depended on the camel's urine concentration and the fungal age. The results further indicated that the lower concentration of camel's urine had a stimulative effect on glucose uptake. This effect decreased with the progress of fungal culture age, while 4 % and 6 % of the camel's urine had a suppressive effect on glucose uptake. The lower concentrations lead to the highest suppression in nitrate uptake by the fungus, however, the effect decreased until it turned into a progressive stimulative effect until the age of fungal culture reached the sixth day. The amount of amino acids secreted, increased in the nutrient media in all concentrations used. This increase was synchronized with the concentration, whereas the stimulative effect turned to an inhibitory one with the progress of fungal culture age.

**Key words:** Camel, Urine, *Aspergellius niger,* Glucose uptake

**المقدمة :**

من الدراسات الحديثة في مجال مضادات الحيوية اكتشاف علمي جديد قد يفتح أبواباً واسعة في المجال الطبي حيث يكون إضافةً جديدةً للمصادر المعروفة لإنتاج مضادات الحيوية والتي ذكرها أحمد (1991م) في أن مصادر مضادات الحيوية إما النباتات أو الأحياء المجهرية وأهمها الاكتينوميسيتات Actinomycetes والتي تنتج 3000 نوع من مضادات الحيوية، ويليها الفطريات الخيطية وتضم ست أجناس تنتج نحو 1000 نوع ، ثم البكتيريا غير الخيطية وتنتج نحو 500 نوع ، إلاّ أن أنواعها غير شائعة الاستخدام ولكن هناك أبحاثاً جديدة أضافت مصدراً جديداً لمضادات الحيوية ذو فعالية عالية، والذي يتمثل في بول الإبل. Al-Awadi and Al-Jedabi (2000)

أحلام أحمد العوضي و عواطف عابد الجديبي
كلية التربية/ جدة
ص.ب.:11388 / جدة
هاتف 055603681/055660345

. وقد اتضحت فعاليته الضد فطرية التي اكتشفت لأول مرة في بحث العوضي وهيكل (1997م) وذلك على فطر *A. spergillus niger* وبحث العوضي (1998م) على خميرة *Candida albicans* وعلاج بعض الأمراض الجلدية . دراسة العوضي والجديبي (1999م) على فطر *A. niger*, *Fusarium oxysporum* and *Rhizoctonia solani* بالإضافة لخميرة *C. albicans*. وبالرغم من كون الإبل مصدر طبيعي لمضادات الحيوية، يتمثل في أبوالها إلاّ أن أبوالها أيضاً تحتوي على بكتيريا تفرز مضادات الحيوية، وقد اكتشف ذلك ولأول مرة بواسطة الباحثتين Al-Awadi and Al-Jedabi (2000) حيث عزلتا من بول الإبل بكتيريا تمتلك قدرة المكافحة الحيوية لفطر *A. niger* ، *Fusarium oxysporum* ، خميرة *albicans* وبكتيريا *C. Staph. Aureus and E. coli* وذلك بإنتاج مضادات الحيوية . وحيث أن محتويات بول الإبل وما يحتويه من بكتيريا لهما دور ضد فطري فعّال على الفطريات الممرضة فمن الضروري أن يظهر ذلك نتيجة لتأثيره على الأنشطة الأيضية للفطريات والتي تنعكس بالتأكيد على نموه ، مما يؤدي إلى تثبيطه أو قتله ، لذا فمن الأهمية توضيح بعض التفسيرات العلمية التي توضح بعض الأسباب التي لها

دوراً هاماً في تلك الفعالية من خلال دراسة بعض الأنشطة الأيضية للفطر والتي تنعكس على نمو الفطر خاصة أنه لا توجد دراسات سابقة في هذا المجال لذا فقد صممت تلك الدراسة للتعرف على تأثير بول الإبل على النمو وبعض الأنشطة الأيضية على فطر *Aspergillus niger*

**المواد والطرق**

**الفطر المستخدم** : Fungus used

*Aspergillus niger* الممرض للإنسان والحيوان والذي ينمو على الحبوب ويؤدي إلى فسادها بالإضافة إلى أنه يلعب دوراً رئيسياً في التلوث البيئي خاصة المعامل الميكروبيولوجية

**عينة بول الإبل** : Camel's urine sample

جمعت من أربع إناث إبل لقاح ترعى في جنوب محافظة جدة على نباتات صحراوية شملت :

*Dipterygium glaucum Dence.* (Capparaceae), *Anabasis setifera Moq.* (Chenopodiaceae), *Acacia ehrenberiana Hayne* (Leguminosae), *Convolvulus hystrix Vahl* (Convolvulaceae), *Citrullus colocynthis* (L). *Schrad.* (Cucurbitaceae), *Rhazya Stricta Decne* (Apocynaceae).

**المنبت الغذائي** : Medium

استخدم منبت تشابكس دوكس Czapek's Dox المعدل (Naguib,1968 ) والذي يتكون من:

| | |
|---|---|
| جلوكوز | 20 جم |
| فوسفات البوتاسيوم أحادية الهيدروجين | 1 جم |
| نترات الصوديوم | 3 جم |
| كبريتات المغنيسيوم | 0.5 جم |
| كلوريد البوتاسيوم | 0.5 جم |
| كبريتات الحديدوز | 0.01 جم |
| ماء مقطر | لتر |

**التقديرات الكيميائية** : Chemical determination

أجريت جميع التحاليل الكيميائية في المنبت الغذائي بقياس الكثافة الضوئية السبكتروفوتومترية على جهاز سبكتروفوتوميتر وشملت التقديرات التالية :

أ-تقدير الجلوكوز : Determination of Glucose

تم تقدير الجلوكوزإنزيمياً . Enzymatically

ب- تقدير النترات : Determination of Nitrates

قدرت النترات تبعاً لطريقة ( Peach and Tracy , 1955) وذلك بتبخير حجم معلوم من العينة في حمام مائي حتى تجف ثم تترك لتبرد ويضاف للمادة الجافة 1 مل من محلول فينول ثنائي حمض السلفونيك ( Phenol disulphonic acid) وتخلط جيداً بالرج وتترك لمدة 10 -15 دقيقة ثم يضاف 5 مل من الماء المقطر ويضاف محلول 20 % هيدر وكسيد الصوديوم حتى يصبح المحلول قلوياً بالاستدلال بظهور اللون الأصفر ويكمل المحلول إلى حجم مناسب بالماء المقطر ، ثم تقاس درجة اللون الناتج عند طول موجة 430 ن .م " nm" على جهاز قياس الكثافة الضوئية سبكتروفوتوميتر .

ج- تقدير الأحماض الأمينية :Determination of Amino Acids

اتبعت طريقة ( Russel , 1944) بإضافة حجم معلوم من العينة بعد ضبط قلويتها إلى 1 مل من محلول البوراكس 1 % ثم يضاف محلول 0,25 % نافثوكينون حمض السلفونيك (Naphthoquinon-Sulphonic Acid) والمحضر قبل إجراء التجربة مباشرة . يترك المخلوط في حمام مائي عند درجة الغليان لمدة 15 دقيقة ثم يبرد ويضاف إليه 1 مل من محلول الفورمالين الحامضي ( فورمالين : حمض الخليك الثلجي : حمض الهيدروكلوريك "1.5 عياري" ) ثم يضاف 1 مل من محلول ثيوكبريتات الصوديوم "0.1 عياري" مع الرج جيداً، وتقاس الكثافة اللونية الناتجة بعد مضي 20 دقيقة عند طول موجة 470 ن . م "nm" على جهاز قياس الكثافة الضوئية سبكتروفوتوميتر .

**الوزن الجاف** : Dry weight

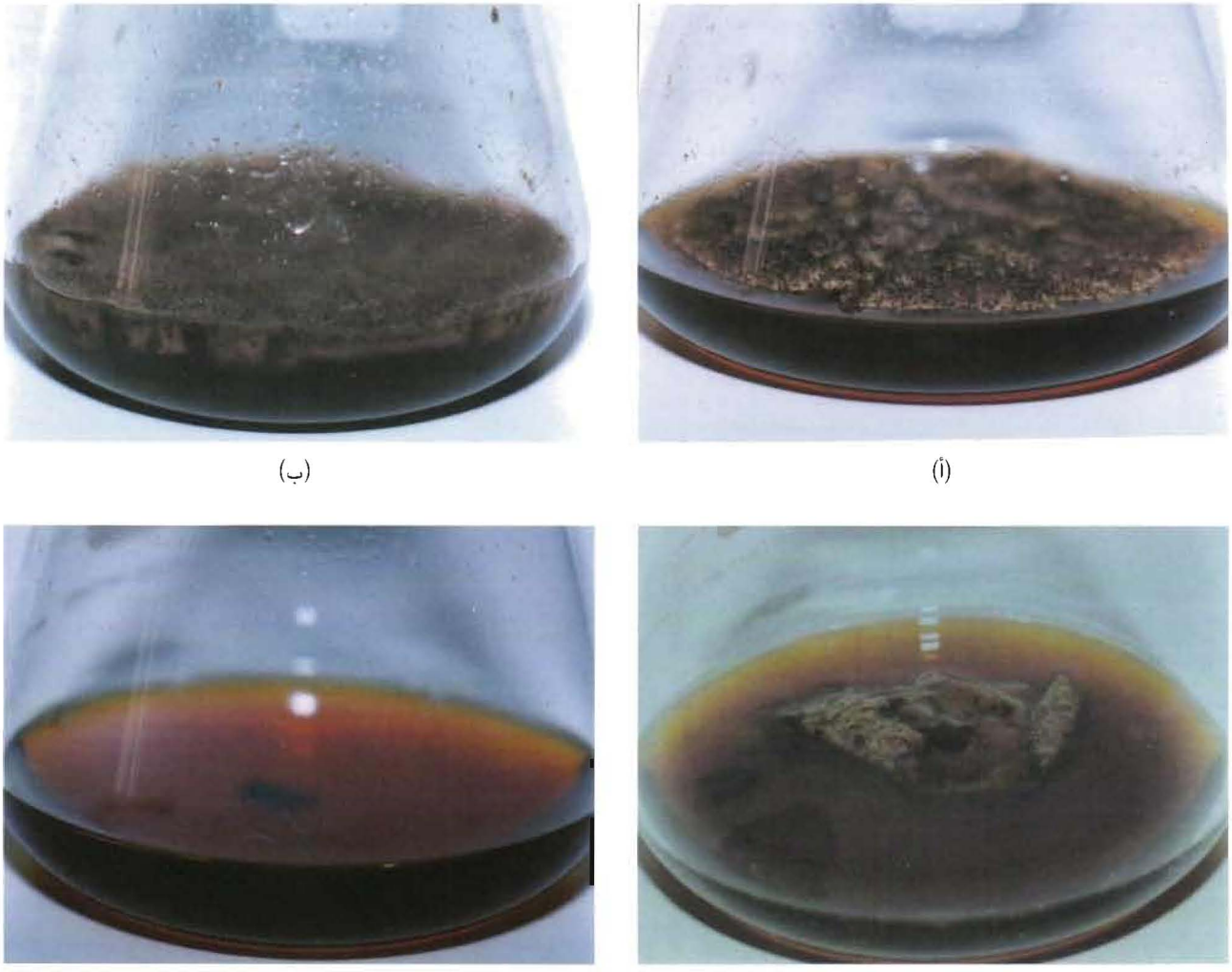
أضيف بول إبل جنوب محافظة جدة إلى دوارق مخروطية سعة 250 مل ولكل تركيز عدد ستة مكررات يحتوي كل منها على منبت تشابكس دوكس السائل المعدل والمبرد وذلك للحصول على تركيزات 2 %، 4% و 6 % من بول الإبل بالإضافة إلى العينة الضابطة . وتم تلقيح كل دورق بقرص من فطر *A. niger* عمره 7 أيام ، ثم حضنت الدوارق المزروعة بالفطر الإختباري عند 37° م لمدة 3 و 6 أيام .

**النتائج والمناقشة**

**1** – تقدير الوزن الجاف لفطر: *A. niger*

تشير النتائج في جدول (1) وشكل (1–1 و 1–2) بأن التركيز المنخفض من بول الإبل 2% كان له تأثيراً تنشيطياً لنمو فطر *A. niger* حيث ارتفعت نسبة النمو فيه إلى 62.52% عن العينة الضابطة بعد 3 أيام من التحضين لوحة (1–ب) ثم انخفض هذا التأثير التنشيطي إلى النصف تقريباً 35.48 % مع تقدم عمر الفطر مقارنة بالعينة الضابطة ، لوحة (1– أ) . أما في تركيزي 4% لوحة (1– ج) و 6% (1– د) من بول الإبل فقد كان لهما تأثيراً تثبيطياً لنمو الفطر بعد 3 أيام من التحضين وارتفع هذا التأثير عند تركيز 6% حيث بلغت نسبة الانخفاض 100%، ولكن انخفضت هذه النسبة بتقدم عمر المزرعة الفطرية وكانت بدرجة عالية عند تركيز 6% فأصبحت 29.03% بينما انعكس إلى تأثير تنشيطي بدرجة منخفضة عند تركيز 4% فبلغت 22.58% وذلك مقارنة بالعينة الضابطة وسجلت جميع النتائج الإحصائية قيمة مرتفعة المعنوية.

كما أظهر الفحص المجهري للأغزال الفطرية تأثيراً واضحاً على السيتوبلازم حيث أنكمش وتجمع في مناطق من الأغزال الفطرية عند تركيز 2 % لوحة (2– ب) وازدادت نسبة الانكماش عند تركيز 4 % لوحة (2– ج) مقارنة بالعينة الضابطة لوحة (2– أ) .



(أ) (ب)

(ج) (د)

**لوحة (1)**: تأثير بول الإبل على فطر *Aspergillus niger* بعد ثلاثة أيام من النمو.
(أ) : العينة الضابطة ،(ب) : تركيز 2% ,(ج) : تركيز 4% ،(د) : تركيز 6%

(أ) : العينة الضابطة (ب) : تركيز 2% (ج) : تركيز 4%

**لوحة (٢)**: تأثير بول الإبل على أغزال فطر *Aspergillus niger*

جدول (1) : الوزن الجاف لفطر *A. niger* بعدالمعاملة بتركيزات مختلفة من بول الإبل والنسبة المئوية للزيادة والنقص في الوزن الجاف مقارنة بالعينة الضابطة بعد 6 أيام من النمو

(الوزن الجاف بالملجم /50 مل في المنبت الغذائي)

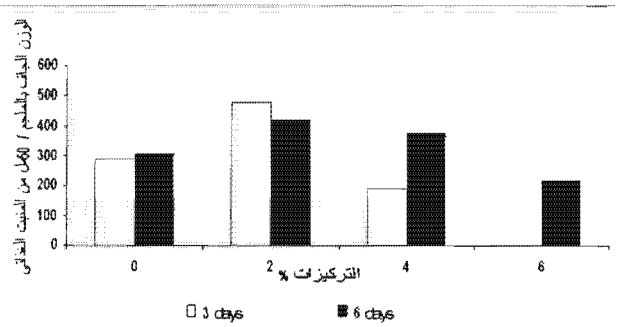
| الأيام | العينة الضابطة | | التركيزات | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | %2 | | %4 | | %6 | |
| | أ | ب | أ | ب | أ | ب | أ | ب |
| 3 | 0.014 ± 290 | صفر | 0.003 ** ± 480 | 62.52 | 0.009** ± 190 | 34.48 | 0.000** ± صفر | 100- |
| 6 | 0.005 ± 310 | صفر | 0.005 ** ± 420 | 35.48 | 0.007** ± 380 | 22.58 | 0.066 ± 220 | 29.03- |

أ: الوزن الجاف

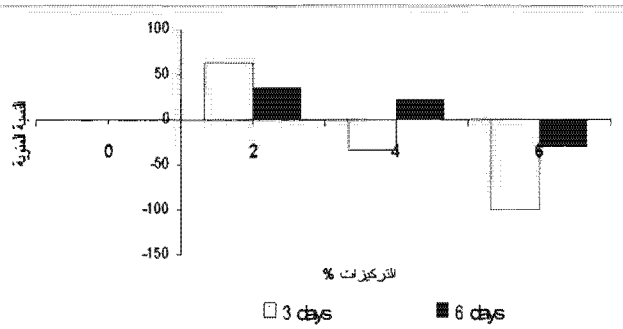
ب:النسبة المئوية للزيادة أو النقص مقارنة بالعينة الضابطة.

*:قيمة معنوية (5%)

**: قيمة مرتفعة المعنوية (1%)




شكل (1-1) :الوزن الجاف لفطر *A. niger* لمدة 6 أيام من النمو بعد المعاملة بتركيزات مختلفة من بول الابل مقارنة بالعينة الضابطة (الوزن الجاف بالملجم / 50 مل من المنبت الغذائي)



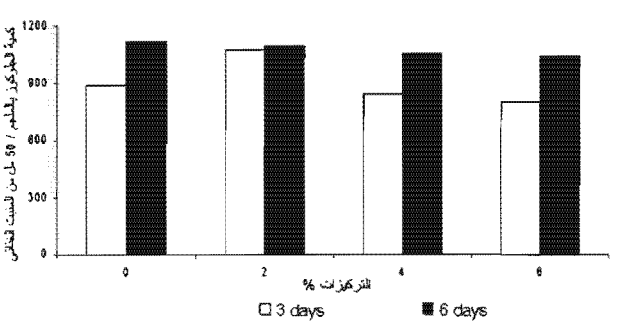

شكل (2-1) :االنسبة المئوية لزيادة أو نقص الوزن الجاف لفطر *A. niger* لمدة 6 أيام من النمو بعد المعاملة بتركيزات مختلفة من بول الابل مقارنة بالعينة الضابطة

جدول (2): كمية الجلوكوز المستهلكة بفطر *A. niger* بعدالمعاملة بتركيزات مختلفة من بول الإبل لمدة 6 أيام من النمو.

(كمية الجلوكوز بالملجم /50 مل في المنبت الغذائي)

| الأيام | العينة الضابطة | التركيزات | | |
|---|---|---|---|---|
| | | %2 | %4 | %6 |
| 3 | 5.985 ± 889 | 4.926** ± 1078 | 3.460* ± 847 | 6.465** ± 806 |
| 6 | 0.000 ± 1119 | 2.531 ** ± 1097 | 0.786** ± 1060 | 10.805* ± 1044 |

كمية الجلوكوز الإبتدائية 2511 ملجم/ 50 مل من المنبت الغذائي




شكل (2) :كمية الجلوكوز المستهلكة بفطر *A. niger* لمدة 6 أيام من النمو بعد المعاملة بتركيزات مختلفة من بول الابل مقارنة بالعينة الضابطة (كمية الجلوكوز بالملجم / 50 مل من المنبت الغذائي)

2- امتصاص الجلوكوز بفطر *A. niger*:

يوضح جدول (2) وشكل (2) بأن التركيز المنخفض 2% كان له تأثيراً تنشيطياً لاستهلاك الجلوكوز بنسبة 21.52% ثم انخفض هذا التأثير بتقدم عمر المزرعة الفطرية حيث انخفض الاستهلاك بنسبة 2% فقط عن العينة الضابطة. أما تركيزي 4 %و 6 % من بول الإبل فكان لهما تأثيراً تثبيطياً لاستهلاك الجلوكوز وارتفع هذا التأثير عند التركيز الأول حيث بلغ الانخفاض حوالي النصف 54.72% بينما انخفض هذا التأثير عند تركيز 6% حيث بلغ 9.34%، واستمر التأثير التثبيطي إلى نهاية فترة التحضين مقارنة بالعينة الضابطة . وقد سجلت جميع النتائج السابقة قيمة معنوية معظمها كانت مرتفعة.

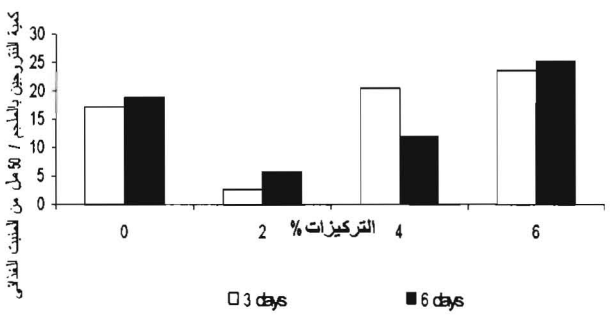
**3**- امتصاص النـــترات بفـــطر *A. niger*:

يوضح جدول (3) وشكل (3) بأن التركيز المنخفض من بول الإبل 2% أدى إلى تثبيط شديد في استهلاك النترات بواسطة الفطر حيث بلغت نسبة الانخفاض 84.74%، ولكن انخفض هذا التأثير بدرجة قليلة مع تقدم عمر المزرعة الفطرية حيث بلغ 70.02% وذلك مقارنة بـالعينـة الضـابطة .وقد أدى تركيز 4% مـن بـول الإبـل إلى تنشيط استهلاك النترات بواسطة الفطر وذلك بنسبة 18.67% بعد 3 أيام من النمو ثم انعكس هذا التأثير التنشيطي إلى تثبيطي فانخفضت نسبة الاسـتـهـلاك إلى 36.59% بـتـقـدم عـمـر المزرعة مقـارنـة بـالـعـيـنـة الضـــابطة .أما تركيز 6 % من بول الإبل فأدى إلى تنشيط استهلاك النترات بواسطة الفطر طوال فترة التحضين حيث بلغت نسبة الزيـادة 37% و 33.47% بعد اليوم الثالث والسادس على التوالي مقارنة بالعينة الضابطة . وقد سجلت جميع النتائج السابقة قيمة مرتفعة المعنوية في اليوم السادس .

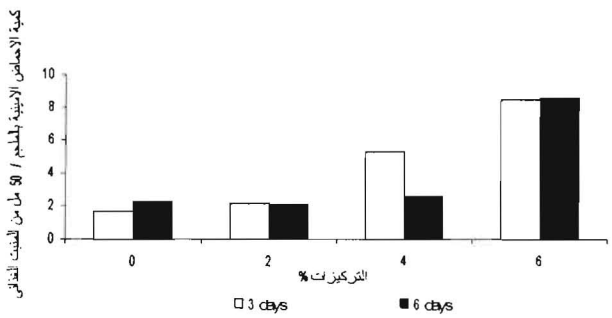
**جدول (3)**: كمية النترات المستهلكة بفطر *A.niger* بعدالمعاملة بتركيزات مختلفة من بول الإبل لمدة 6 أيام من النمو.
(كمية نيتروجين النترات بالملجم /50 مل في المنبت الغذائي)

| الآيام | العينة الضابطة | التركيزات %2 | %4 | %6 |
|---|---|---|---|---|
| 3 | 0.206 ± 17.3 | 0.019* ± 2.64 | 0.013 ± 20.53 | 0.019 ± 23.7 |
| 6 | 0.002 ± 18.94 | 0.017 ± 5.68 | 0.024** ± 12.01 | 0.004** ± 25.28 |

كمية نيتروجين النترات الإبتدائية 26.07 / 50 مل من المنبت الغذائي




**شكل (3)** :كمية النيتروجين في النترات و المستهلكة بفطر *A. niger* لمدة 6 أيام من النمو بعد المعاملة بتركيزات مختلفة من بول الابل مقارنة بالعينة الضابطة
(كمية النيتروجين في صورة نترات بالملجم / 50 مل من المنبت الغذائي)




**شكل (4)** :كمية الأحماض الأمينية المتكونة بفطر *A. niger* لمدة 6 أيام من النمو بعد المعاملة بتركيزات مختلفة من بول الابل مقارنة بالعينة الضابطة
(كمية الأحماض الأمينية بالملجم / 50 مل من المنبت الغذائي)

**جدول (4)**: الأحماض الأمينية المفرزة بفطر *A. niger* في المنبت الغذائي بعدالمعاملة بتركيزات مختلفة من بول الإبل لمدة 6 أيام من النمو.
(الأحماض الأمينية بالملجم /50 مل في المنبت الغذائي)

| الآيام | العينة الضابطة | التركيزات %2 | % 4 | %6 |
|---|---|---|---|---|
| 3 | 0.006 ± 1.68 | 0.024.± 2.18 | 0.026** ±.5.31 | 0.018**.± 8.52 |
| 6 | 0.007 ± 2.26 | 0.005 ± 2.1 | 0.004** ± 6.2 | 0.024** ± 8.63 |

*:قيمة معنوية (5%) **: قيمة مرتفعة المعنوية (1%)

**4**- الأحمـاض الأمـينيـــة المـفـــرزة بـفـــــطر: *A. niger*

دلت النتائج في جدول (4) وشكل (4) إلى ارتفاع كمية الأحماض الأمينية المتكونة بالفطر في المنبت الغذائي في جميع التركيزات المستخدمة وكانت تلك الزيادة مطردة مع التركيز وارتفعت بدرجة عالية عند تركيزي 4% و 6% حتى بلغت نسبة 216.07% و 407.74% على التوالي وذلك بعد 3 أيام من النمو مقارنة بالعينة الضابطة .ثم انخفض هذا التأثير التنشيطي للفطر مع تقدم عمر الفطر حيث انخفضت النسبة التنشيطية إلى النصف تقريباً في كل من تركيزي 4% و 6% فبلغت 174.34% و 281.86% على التوالي، بينما انعكس التأثير التنشيطي إلى تثبيطي بسيط عند 2% فبلغت نسبة الانخفاض 7.08% وذلك مقارنة بالعينة الضابطة وسجلت جميع النتائج الإحصائية قيمة مرتفعة المعنوية ماعدا تركيز 2% .

أثبتت أبحاثاً جديدة عدم وجود تأثيرات ضارة للبول على التركيب النسيجي في فئران التجارب وجاء ذلك في بحث خليفة (1999م) حيث أثبت أن أبوال الإبل وألبانها لم يكن لهما أيّ تأثيراً ضاراً على التركيب النسيجي للكبد في الفئران لمختلف التركيزات والتي وصل فيها بول الإبل 100% وذلك مقارنة بالعينات الضابطة للذكور والإناث . إضافة إلى بحث العلياني (1999م) والتي توصلت إلى أن أبوال الإبل وألبانها لم يكن لها أيّ تأثير ضار على التركيب النسيجي لكلية الفئران المختبرة حيث أنه لم يكن هناك أيّ تغيير يذكر في التركيب النسيجي للكلية في جميع التركيزات المستخدمة ومنها 100% من بول الإبل وذلك مقارنة بالعينة الضابطة . بينما بول الإبل كان له تأثيراً فعالاً ضاراً على الميكروبات الممرضة كالفطريات التي وردت في العديد من أبحاثنا السابقة (العوضي وهيكل،1997م ؛العوضي ،1998م ؛ العوضي والجديبي ،1999 م) وقد يشير ذلك إلى تميز بول الإبل بالتأثير الإنتقائي الضار على الميكروبات الممرضة، بحيث يؤثر على مركبات تتواجد في الميكروب دون الإنسان (كما سيرد لاحقاً) بالإضافة إلى تأثير بول الإبل على الأنشطة الأيضية للفطر الممرض واتضح ذلك من تأثير بول الإبل على بعض الأنشطة الأيضية التي تنعكس على الوزن الجاف لفطر *A. niger*. ويمكن تفسير تلك النتائج بإيجاد العلاقة التي تربط بين الوزن الجاف وبعض الأنشطة الأيضية التي يحدثها الفطر، ومنها امتصاص الجلوكوز والنترات من المنبت الغذائي وإفراز الأحماض الأمينية في المنبت الغذائي. ومن ذلك توضح الجداول (2) ( 4) والأشكال (2) ( 4) بأن الجرعة المنخفضة 2 % من بول الإبل أبدت تأثيراً تنشيطياً لامتصاص الجلوكوز من المنبت الغذائي فأرتفع بنسبة 21,52% عن العينة الضابطة ولكن انخفض هذا التأثير بتقدم عمر الفطر فأنخفض امتصاص الجلوكوز عن العينة الضابطة بنسبة ضئيلة بلغت 2% وقد يشير ذلك إلى أن التركيز المنخفض 2% من بول الإبل لم يكن له تأثير ضد فطري قوي على فطر *A. niger* فتمكن الفطر من استخدام اليوريا المنخفضة في البول كمصدر غذائي نيتروجيني مما أدى إلى زيادة استهلاك الجلوكوز المصاحب بارتفاع في الوزن الجاف للفطر وما يؤكد ذلك نتائج استهلاك النترات بالفطر عند نفس التركيز والمثيرة للانتباه حيث ثبط بول الإبل استهلاك النترات من المنبت الغذائي بنسبة مرتفعه بلغت 84.74% بالرغم من الارتفاع في امتصاص الجلوكوز والوزن الجاف مما يتوقع حدوث ارتفاع نسبة استهلاك النترات لبناء البروتينات الخلوية التي تتطلبها زيادة النمو ولكن أثبتت النتائج عكس ذلك مما يبرهن بأن الفطر استخدم اليوريا الموجودة في البول كمصدر غذائي للحصول على النيتروجين بدرجة أكبر من النترات المتواجدة في المنبت الغذائي وقد يرتبط استهلاك الفطر لليوريا بارتفاع نسبه الأحماض الأمينية والتي قد تكون فائضة عن حاجة الفطر وبالتالي أُفرزت في المنبت الغذائي خاصة في الأيام الأولى من النمو حيث ظهر ذلك بعد 3أيام من النمو مقارنة بالعينة الضابطة ، وقد يشير إلى ذلك أن الزيادة في استهلاك الجلوكوز والوزن الجاف لم تستمر بالإضافة إلى ظهور ارتفاع في استهلاك النترات عن الفترة السابقة .

و قد يفسر الانخفاض في الأنشطة الأيضية بتقدم عمر الفطر بأن الملوحة في بول الإبل قد أدت إلى تسرب المحتوى المائي من الخلايا الفطرية تدريجياً وذلك في التركيزات المنخفضة 2% من بول الإبل مما أدى ظهور ظاهره الانكماش الاسموزي plasmolysis في داخل الخلايا تدريجياً والتي ظهرت بوضوح بعد 6 أيام من النمو في لوحه (2-ب) وعليه فإن انخفاض المحتوى المائي الذي يلعب دوراً هاماً في إتمام عمليات الأنشطة الأيضية قد أدى إلى انخفاضها بمرور الزمن والذي يظهر في صوره انخفاض في استهلاك الجلوكوز والنترات الذي ينعكس على انخفاض الوزن الجاف ، كما أن انخفاض المحتوى المائي في الخلايا يؤدي إلى اختزال في سمك قطر الأغزال الفطرية وحويصلة الرأس الكونيدية الذي يظهر في صورة انخفاض الوزن الجاف ، و قد توضح لوحة (3-ب) هذا التفسير مقارنة بالعينة الضابطة (3-أ). والذي يؤكد ذلك أيضاً انخفاض الوزن الجاف بعد 6 أيام من النمو عن الفترة الزمنية السابقة في حين أن الوزن الجاف للعينة الضابطة أرتفع بعد 6 أيام عن الفترة السابقة .

أما حساسية الفطر لتركيز 4% فقد كانت أعلى من تركيز 2 % واتضح ذلك من تثبيط امتصاص الجلوكوز المصاحب بتثبيط في الوزن الجاف ، وقد يرجع ذلك إلى سرعة تأثر الفطر بتركيز الملوحة المرتفع مما أدى إلى سرعة انكماش السيتوبلازم وبالتالي انخفاض الأنشطة الأيضية المرتبطة بانخفاض نسبة المحتوى المائي . كما أنه قد يكون لزيادة الملوحة في بول الإبل دوراً هاماً للتأثير التثبيطي على الأنشطة الأيضية ويتفق ذلك مع ما وجده Ward & Brock (1978) بأن الملوحة لها تأثيراً فعّالاً على الأنشطة الأيضية للأحياء المجهرية . وما وجده(1988) Zall & El-Samrgy بأن كلوريد الصوديوم يلعب دوراً هاماً في تقليل أو كبح عملية التخمر الأيضية التي تحدث داخل الخميرة . وما وجدته زكي وقشقري (1997م) بأن الأنشطة الأيضية لاستهلاك الهيدروكربونات لفطر *Aspergillus terreus* وخميرة *Candida albicans* تتأثر في وجود كميات مختلفة من كلوريد الصوديوم . حيث انخفضت الكتلة الحية في الفطر بدرجة أكبر من الخميرة . أو قد يشير ذلك إلى تداخل المواد الفعالة في بول الإبل كمضادات حيوية مع بعض المركبات الوسطية الناتجة من هدم الجلوكوز وبالتالي ثبط استهلاك الجلوكوز المصاحب بانخفاض في الوزن الجاف بالرغم من تنشيط استهلاك النترات المصاحب بارتفاع نسبة الأحماض الأمينية المفرزة في المنبت الغذائي. مما يشير إلى أن المواد الفعالة في بول الإبل لم تؤثر على تفاعلات بناء الأحماض الأمينية بل ثبطت تكاثف الأحماض الأمينية إلى ببتيدات ومن ثم إلى البروتينات الخلوية مما أدى إلى انخفاض الوزن الجاف مع زيادة إفراز الأحماض الأمينية في المنبت الغذائي . أو قد ترجع زيادة استهلاك النترات مع زيادة إفراز الأحماض الأمينية في البيئة إلى تأثير مضادات الحيوية المتواجدة في البول على طبيعة عمل نفاذية الأغشية السيتوبلازمية ويتفق ذلك مع ما ذكره :

(Jawetz *et al,* 1982; Brooks *et al 1995* ; Black, 1996; Reynolds & Prasad,1996; Ellliott *et al* , 1997 and Madigan *et al* , 1997)

بأن مضادات الحيوية قد ترتبط أو تثبط بناء الاستيرولات في الأغشية الخلوية للفطريات وبالتالي تُغير من طبيعة نفاذيتها مما يؤدي إلى خروج المركبات الخلوية من داخلها إلى خارجها أو العكس . أو بتأثيره على نفاذية الجدار الخلوي ويتفق ذلك مع ما ذكره :

McCarthy *et al* , 1985; Elliot, 1997 and Madigan *et al* , 1997)

بأن مضادات الفطريات تؤثر على الجدار بتثبيطها لبناء مادة الكيتين في الجدار الخلوي .

وكان تأثير البول على الفطر بدرجة أكبر في الأيام الأولى عن الأيام التالية ، وقد يرجع ذلك إلى أن الفطر يكون أكثر حساسية في مراحل النمو السريع، ويتفق ذلك مع ما ذكره Turk & Borter (1986) بأن خلايا البكتيريا التي تكون في تكاثر سريع في طور النمو السريع (اللوغاريتمي) exponential growth phase بشكل خاص، عرضه للتحطيم بالمطهرات ومضادات الحيوية. كما يتفق ذلك مع ما ذكره Brooks *et al.* (1995) بأن خلايا الأحياء المجهرية ترتفع حساسيتها لمضادات الحيوية في طور النمو السريع بدرجة أكبر من طور السكون . ويتفق ذلك أيضاً مع العديد من الدراسات السابقة التي أثبتت اختلاف تأثير مضادات الفطريات المفصولة من النباتات على خميرة *C. albicans* باختلاف مراحل النمو المختلفة حيث اتضح أن تثبيط النمو يرتفع بدرجة أعلى في مرحلة النمو السريع (Gale ,1974: Hammond & Kliger, 1974; Gale *et al,* 1975 and McCarthy *et al*, 1985 )

كما يتفق ذلك مع ما وجده Berdicevsky & Grossowicz (1977) من تأثير مضاد الحيوية polyene بدرجة أكبر في المراحل الأولى من نمو خميرة *C. albicans* عن المراحل التالية حيث أحدث المضاد تأثيراً شديداً على امتصاص الفسفور خلال المراحل الأولى من النمو بينما اختفى هذا التأثير بتقدم عمر الخميرة . ويؤكد ذلك انخفاض تأثير البول على الأنشطة الأيضية والوزن الجاف بعد 6 أيام من النمو .

ومن النتائج أيضاً اتضح زيادة حساسية الفطر بزيادة تركيز البول في المنبت الغذائي، فكان من المثير للاهتمام في نتائج هذه الدراسة ، ما أظهره تركيز 6% من بول الإبل بعد 3أيام من النمو حيث أظهر استهلاك للجلوكوز ولكن بنسبة تنخفض 9.34% عن العينة الضابطة بالإضافة إلى ذلك، زيادة نشاط استهلاك النترات بالرغم من أن ذلك لم ينعكس على الوزن الجاف الذي انخفض بنسبة 100% مما قد يشير إلى أن الجلوكوز والنترات المستهلكة لم تستخدم في بناء المكونات الخلوية بل استخدمها البادئ الفطري في محاولة لمقاومة التأثير الضد فطري لبول الإبل وذلك لبناء مركبات أيضية خلوية هامة في تركيب الجدار كالكيتين chitin الذي يدخل في بناء الجدار الخلوي وقد يكون الفطر قد لجأ إلى ذلك لزيادة سمك الجدار، ليلعب دوراً هاماً في منع ولوج مضادات الفطريات المتواجده في البول إلى داخل الخلية وذلك في المراحل الأولى من النمو ويتفق ذلك مع ما وجده Hammond & Kliger (1974) من دراستهما على بروتوبلاست خميرة *C. albicans* حيث وجدا أن قلة حساسية الخلايا الكاملة في مرحلة السكون lag phase تكمن في الجدار الخلوي الذي قد يكون أسمك في هذه المرحلة ، فيعمل كحاجز يمنع مضاد الحيوية amphotericin-B من الولوج إلى الخلية . كما يتفق ذلك أيضاً مع دراسة (Gale *et al.*,1975 and Gal *et al.*,1977) حيث وجدوا أن خميرة C.albicans تنتج مركبات أيضية في جدار الخلية أثناء مرحلة الثبات تساعد في مقاومة مضادات الحيوية . كما يتفق ذلك أيضاً مع ما ذكره (Brooks *et al*, 1995 , and Madigan *et al.*,1997) بأن أحد طرق ميكانيكية مقاومة الفطريات لمضادات الحيوية تغيير نفاذيتها لولوج مضادات الحيوية إلى داخل خلاياها . كما قد تشير هذه النتائج إلى استهلاك الفطر للجلوكوز للحصول على الطاقة اللازمة لإخراج المواد الضد فطرية التي تمكنت من الدخول إلى خلاياها عن طريق ضخها للخارج efflux في محاولة للتخلص من تأثيره الضار في الخلية .ويتفق ذلك مع ما ذكره Madigan *et al.* (1997) بأن إحدى طرق مقاومة الفطريات لمضادات الحيوية محاولتها ضخ تلك المضادات التي بداخلها إلى خارج خلاياها ، وقد يشير إلى ذلك التفسير استهلاك الجلوكوز بنسبة قاربت العينة الضابطة ويمكن اعتبارها مرتفعة إذا قورنت بانعدام النمو الذي وصل إلى 100% . ولكن بتقدم الزمن بدأ الفطر يستعيد نشاطه وتنمو خلاياه ولكن بدرجة أقل من العينة الضابطة ويكون ذلك مصاحباً بانخفاض في استهلاك الجلوكوز مع تنشيط في استهلاك النترات وارتفاع نسبة الأحماض الأمينية المفرزة، ولكن بدرجة أقل من الفترة السابقة مما يشير إلى أن الفطر قاوم تأثير البول ولكن بدرجة منخفضة مما أدى إلى نموه ، ولكن زيادة استهلاك النترات وإفراز الأحماض الأمينية قد تشير بأن تأثير بول الإبل على الأغشية الخلوية أو الجدار الخلوي مازال قائماً بالإضافة إلى عدم تأثيره على تفاعلات بناء الأحماض الأمينية بل ثبطت تكاثف الأحماض الأمينية إلى ببتيدات ،ومن ثم إلى البروتينات الخلوية، مما أدى إلى انخفاض الوزن الجاف مع زيادة في إفراز الأحماض الأمينية في المنبت الغذائي . وقد يرجع ارتفاع الأحماض الأمينية في المنبت الغذائي إلى تحلل خلايا الفطر ذاتياً autolysis وخاصة في التركيزات المرتفعة حيث تظهر البلزمة plasmolysis بدرجة واضحة لوحة (2-ب ، ج) بالإضافة إلى انخفاض الوزن الجاف لوحة (1-ج ، د) .

## الاستنتاج

ويتضح من تلك النتائج بأن تأثير بول الإبل الفعال للقضاء على الفطريات الممرضة قد يرجع إلى عدة اسباب منها التأثير على الأنشطة الأيضية والتي تنعكس على الوزن الجاف و قد يرجع ذلك إلى :

**1** – وجود مضادات الحيوية في البول والتي انتقلت إليه من النباتات البرية التي يتغذى عليها الإبل وقد أثبت ذلك كل من Al-Awadi and Al-Jedabi (2000)

**2** – وجود مضادات الحيوية في البول والتي أُفرزت بواسطة البكتيريا التي تعيش في البول ، والتي أثبتت قدرتها العالية في المكافحة الحيوية بعد أن عُزلت لأول مرة من بول الإبل في بحث Al-Awadi and Al-Jedabi (2000)

**3** – تميز بول الإبل بإحداث البلزمة للخلايا الفطرية والتي يكون للملوحة التي تنتقل إليه من النباتات التي يتغذى عليها دوراً هاماً فيها .

## المراجع العربية :

أحمد ، محمد (1991 م) : دور الأحياء الدقيقة في إنتاج الأدوية الدواء والصناعات الدوائية . مجلة العلوم والتقنية .1 : (17) ، 29-30.

خليفة ، سناء (1999م) : دلائل على الإعجاز العلمي في الطب النبوي لتأثير أبوال الإبل وألبانها على التركيب النسيجي لكبد الفئران . مجلة اتحاد البيولوجيين العرب ، A11. 207-222

**Gale, E. F.; Johnson, A. M. Kerridge, D. and Koh, T. Y.** (1975): Factor affecting the changes in amphotericin senstivity of *Candida albicans* during growth. J. General Microbiology, **87**: 20-36.

**Gale, E. F. Johnson, A. M. Kerridge, D.** (1977) : The effect of aeration and metabolic inhibitors resistance to amphotericin in starved cultures of *Candida albicans*. J. General Microbiology, 99: 77-84.

**Hammond, S. M. and Kliger, B. N.**(1974): Studies on the role of the cell wall of *Candida albicans* in the mode of action of polyene antibiotics. Proceedings of the Society of General Microbiology I, 45.

**Jawetz, E.; Melnick, J. L. and Adelberg, E. A.** 1982):Review of Medical Microbiology. Lange Medical Publications, **15**: 117-145.

**Madigan, M. T.; Martinko, J. M. and Parkev, J.** (1997): Brock Biology of Microorganisms. Prentice Hall, Inc., **8**: 421-422.

**McCarthy, P. J.; Troke, P. F: and Gull, K.** (1985): Mechanism of action of nikkomycin and the peptide transport system of *Candida albicans*. J. Gen. Microbiol., **131**: 775 - 780.

**Najeeb, M.I.** (1968): Effect of various nitrogen sources and 1 or colchicine on the utilization of L-*arabinose* by *Cunninghamella elegans*. Acta. Biol. Acad. Hung., **19**: 437 - 444 .

**Paech, K. and Tracey, M. V.** (1955): Modern methods of plant analysis. Vol. **III**. Springer Verlag, Berlin.

**Reynolds, J. E. F. and Prasad, A. B.** (1996): Martindal. Direction of the Council of the Pharmaceutical Society of Britain and prepared in the society's department of Pharmaceutical Science, 31st edition., 716-729.

**Russel, J. A.** (1944): Colorimetric determination of amino nitrogen. J. Biol. Chem., **56**: 467.

**Turk, D. C and Porter, I. A.** (1986) : Medical Microbiology. Hodder and Stougton, 49-51.

**Ward, D. M and Brock, T. D.** (1978) : Hydrocarbon biodegradation in hypersaline environments. Appl. Environ. Microbiol., **35**: 353-359.

(Received 22/04/2000, in revised form 15/04/2001)

زكي، درية وقشقري ، رقية(1997م) : دراسة تأثير تركيزات مختلفة من الملوحة والهيدروكربونات على قدرة الكائنات الدقيقة على استهلاك الهيدروكربونات للتخلص من تلوث البحار وإنتاج البرويتن وحيد الخلية .بحوث المؤتمر العربي الأول للكيمياء التطبيقية الكيمياء في خدمة التنمية ، مجلد 1 ، 259-268.ص ص

**العلياني ، رحمة علي أحمد** (1999م) : دلائل على الإعجاز العلمي في الطب النبوي لتأثير أبوال الابل وألبانها على التركيب النسيجي لكلية الفئران . مجلة اتحاد البيولوجيين العرب A6 : 223-228

**العوضي ، أحلام** ( 1998 م ) :صور من الإعجاز العلمي لتأثير بول الإبل المضاد لخميرة *C. albicans* الممرضة وعلاج بعض الأمراض الجلدية . المؤتمر الثاني للمرأة والبحث العلمي والتنمية في جنوب مصر ، جامعة اسيوط .

**العوضي ، أحلام و هيكل ، ناهد** (1997 م ) : صور من الإعجاز العلمي في الطب النبوي لتأثير بول الإبل المانع لنمو إحدى الفطريات الممرضة . بحوث المؤتمر العربي الأول للكيمياء التطبيقية الكيمياء وخدمة التنمية ، مجلد 1 ، 181 - 211 .ص ص

**العوضي ، أحلام و الجديبي ، عواطف** (1999 م ) :التأثير الضد فطري لبول الإبل على بعض الفطريات الممرضة والخميرة . مجلة اتحاد البيولوجيين العرب : B6 335-363

المراجع الانجليزية

**Al-Awadi, A. and Al-Jedabi, A.** (2000): Antimicrobial agents in camel's urine. J. Union. Arab Biol.,Cairo, **9**: 265-281.

**Berdicevsky, I. and Grossowicz,** (1977): Effect of polyene antibiotic on growth and phosphate uptake by *C. albicans*. J. of General Microbiology, **102**: 99-304.

**Black, J. G.** (1996): Microbiology Principles and Appliction. Prentice-Hall, Inc., **3**: 380-381.

**Brooks, G. F.; Butel, J. S. and Ornston, L. N.** (1995): Medical microbiology. AIANGE medical book, Appleton and Lange, **20**:137.

**Elliott, T.; Hastings, M. and Desselberger, U.** (1997): Medical Microbiology. Third edition, Blackwell Science Ltd, Osney Mead, Oxford. pp 194-196.

**El-Samrgy, Y. A. and Zall, R. R.** (1988): The activity of yeast in the production of single cell protein in why permeate. J. Dairy Sci., **71**:1135.

**Gale, E. F.** (1974): The release of potasium ions from *Candida albicans* in the presence of polyene antibiotics. J. General Microbiology. **80**: 451-465.