DOI:http://dx.doi.org/10.21123/bsj.2016.13.4.0674

دراسة الفعالية التثبيطية لتركيبة من عدة زيوت طيارةمستخلصة من الاعشاب الطبية ضد اعفان الماء

رنا هادي حميد الشمري

قسم علوم الحياة، كلية العلوم، الجامعة المستنصرية

البريد الالكتروني:rana_ecology@yahoo.com

استلام البحث 7/ 2015/10
قبول النشر 10/ 2016/1

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International Licens

الخلاصة:

هدفت هذه الدراسة الى تقييم الفعالية التثبيطية لاعفان الماء من قبل تركيبة تتكون من عدة زيوت طيارة اذ تم تحليل المحتوى الكيميائي باستعمال تقنية كروماتوغرافيا السائل العالي HPLC للمركبات الفعالة لتركيبة مكونة من الزيوت الطيارة المستخلصة من عدة اعشاب وهي(النعناع *Menthapiperita*،الزعتر *Thymusvulgaris*، المريمية *Salviaofficinalis* L.)،اذ كانت المركبات CamphorMenthol, Thujone, Thymolوبتراكيز مختلفة.اجري اختبار التركيز المثبط الادنى(MIC) والتركيزالقاتل الادنى (MFC) تم اختبارالجرعة الوسطية المميتة LD50 للتركيز القاتل لتركيبة الزيوت الطيارة بعد مرور48و96 ساعة من معاملة اصبعيات سمك الكارب الفضي*Hypophthalmichthysmolitrix* في احواض التربية الزجاجية . تراوحت قيم الـ(MIC) بين 0.025مايكروليتر\مل للفطر *Aphanomyces* sp. والتركيز 0.015 مايكروليتر\مل *Achlya* sp.و*Fusariumsolani* للفطرين ، اذ سجلت هذه التراكيز فروقا" معنوية (P<0.05) عن تراكيز الملكايت غرين اذ كانت 0.06 مايكروليتر\مل للفطر *Aphanomyces* sp. و 0.042 مايكروليتر\مل للفطر *Achlya* sp. و 0.041 مايكروليتر\مل للفطر*Fusariumsolani*. اما بالنسبة للتركيز القاتل الادنى(MFC) فكان التركيز0.06 مايكروليتر\مل للفطر *Aphanomyces* sp. والتركيز 0.02 مايكروليتر\مل للفطرين *Achlya* sp.و *Fusarium solani* ، اذ سجلت هذه التراكيز فروقا" معنوية (P<0.05) عن تراكيز الملكايت غرينMalachite green التي هي 0.45 مايكروليتر\مل للفطر *Aphanomyces* sp. و 0.25 مايكروليتر\مل للفطر *Achlya* sp. و 0.31 مايكروليتر\مل للفطر*Fusarium solani*.اما فحص LD50 بعد 48 و96 ساعة فسجل التركيز 34.51 جزء بالمليون ولم تسجل فروقا" في قيم LC50 بعد مرور48، 72و96 ساعة بعد اضافة تركيبة الزيوت الطيارة الى الاحواض.

الكلمات المفتاحية: تركيبة من الزيوت الطيارة، اعفان الماء، كروماتوغرافيا السائل العالي، التركيز المثبط الادنى، التركيز القاتل الادنى.

المقدمة:

تعد الأصابة بالاعفان المائية من اهم المشاكل التي تواجهها المستزرعات المائية مسببة خسائر مادية كبيرة بالثروة السمكية[2،1]،و في السنوات الاخيرة لوحظ اتجاه الباحثين لأستعمال طرائق امينة وصديقة للبيئة مثل استعمال المستخلصات المائية لتثبيط نمو المسببات المرضية مثل الفايروسات، البكتريا والفطريات [3،4،5، 6] اذ ان استعمال المستخلصات النباتية يعد بديلا" جيدا" للمواد الكيمياوية المستعملة للتخلص من الاصابة الفطرية في المستزرعات المائية وذلك لآثارها الضارة والتطفيرية والسمية للأسماك والانسان على السواء[8،7].ونظراً لقلة الدراسات المعنية باستعمال المستخلصات للنباتات والاعشاب الطبية بوصفه علاجا للفطريات المائية فقد تمت دراسة تاثير مستخلصات اوراق نبات اليوكاليبتوس *Eucalyptusincrassate* في بعض الخصائص البايولوجية للفطرين *Saprolegniaferax*و*Saprolegniahypogyna*

مختبريا"كما درس[9] المستخلصات المائية لبذور الكزبرة *Coriandrumsativum* ومستخلص اوراق الحناء *inermisLawsonia* لعلاج الاسماك الذهبية المصابة بالفطر *Saprolegnia* sp. لهذا تم اجراء هذه الدراسة التي كان الهدف منها استعمال تركيبة من الزيوت الطيارة المستخلصة من عدة نباتات واعشاب طبية لتقييم فعاليتها التثبيطية والسمية لاعفان الماء داخل المختبر وداخل الحقل.

المواد وطرائق العمل:

عينات النباتات والاعشاب الطبية

تم الحصول على بذور الاعشاب الطبية من الاسواق المحلية في مدينة بغداد اذ تم تشخيصها من قبل المعشب الوطني-الهيئة العامة لفحص وتصديق البذور وزارة الزراعة ،بعد زراعة هذه البذور جمعت أجزاء الأوراق وجففت بدرجة حرارة الغرفة وطحنت بوساطة مطحنة كهربائية وحفظت باكياس نايلون محكمة الغلق بمكان جاف إلى حين الاستعمال.

تركيبة الزيوت الطيارة

تم اختبارعشرة اعشاب طبية،اخترنا ثلاثة منها والتي اعطت افضل نتيجة وهي :النعناع ، الزعتر والميرمية،تم تحضير الزيت الطيار كما في[10] اذ تم وزن 50 غرام من اوراق الاعشاب (كل عشب على حدة)في وعاء جهاز التقطير أضيف الماء بنسبة 1:10(حجم:وزن)،استمرت عملية التقطير لمدة اربع ساعات لاستخلاص الزيت الطيار.تكونت التركيبة النهائية للزيوت الطيارة من 30% و35%و35%.

تم تحضير التركيبة النهائية على شكل مستحلبليسهل انتشاره بالوسط وذلك باضافة(1.5%) من مادة Tween-80 الى حجم معين من الزيت الطيار. اذ تم فحص سمية مادةTween-80 للاسماك التي تستعمل بوصفها مذيبا" لمبيدات الحشرات اذ ان قيمة LD50=8%(حجم\حجم) في البيئة المائية[11].

تقدير المركبات الفعالة باستعمال جهاز(HPLC) High Performance Liquid Chromatograph.

أستعملجهازالكروماتوغرافياالسائل العالينوع Shimadzu10 AV-LC،تمت قراءة النتائج باستعمال مطيافنوعUV-Vis 10 A-SPD تم تحديد تراكيز المركبات الفعالة بمقارنتها بالعينة القياسية التي تم تحضيرها بالاعتماد على [12]، تم حساب تركيز الزيوت الطيارة اعتمادا" على المعادلة المستعملة في[13] وهي:

التركيز %= مساحة العينة المجهولة\ مساحة العينة القياسية× تركيز العينة القياسية×معامل التخفيف×100

جمع عزلات الفطريات

تم عزل الفطريات الاتية *AphanomycesAchlya* sp., *Fusarium solani*) عشوائيا" من بيوض اسماك الكارب العادي المصابة من احد مفاقس الاسماك الاهلية جنوب مدينة بغداد خلال موسم التكثير الاصطناعي لعام 2014 شّخصت الفطريات بالاعتماد على المفاتيح التصنيفية[15,14]اذ تم تحضير عالق السبورات على وفق طريقة [16] وبتركيز(1×10^4)سبور\مل .

اختبار التركيز المثبط الادنى(MIC) والتركيزالقاتل الادنى (MFC)

تم اعتماد طريقة سلسلة التخافيف بالانابيب لتحديد MIC الذكورة في[13] مع بعض التحويراتفي عدد التخافيف، تمت اضافة حجم معلوم من تركيبة الزيوت الطيارة من محلول الخزين10مايكروليتر\مل للحصول على التراكيز الآتية: 1,0.5,0.4,0.3 0.2,0.12,0.06,0.03,0.015,والتي اضيف منها0.1مل الى الانابيب الزجاجية المعقمة الحاوية على9.8 مل من وسط كلوكوز- مستخلص الخميرة السائل (GYB) ، ثم تمت اضافة 0.1 من عالق السبورات وحضنت بدرجة 20 م^0 لمدة 24 ساعة وقورنت انبوبة السيطرة ،اما اختبارMFCفتم اخذ 0.1 مل من الانابيب خالية العكورة وزرعت على اطباق وسط آكار(GYA) وحضنت بدرجة 20 م^0 لمدة 24 ساعة لتحديد التركيز الادنى القاتل.

اختبار LD50الجرعة الوسطية المميتة

تم ملئ ستة احواض زجاجية ابعادها(30×50×15) سم بماء نهرمفلتر تم توزيع 60 من اصبعيات سمك الكارب الفضي*Hypophthalmichthysmolitrix* (من مفقس اهلي لتكثير الاسماك جنوب بغداد) وبمعدل وزن 2±0.2غم، زرعت هذه الاصبعيات في هذه الاحواض لمدة96 ساعة قبل اجراء التجربة للتكيف،اضيفت العليقة الخاصة بتغذية الاسماك ثلاث مرات باليوم.جهزت الاحواض بالاوكسجين بوساطة جهاز ضخ الاوكسجين الخاص باحواض الاسماك، تمت قياس بعض الخصائص الفيزيائية والكيميائية يوميا"خلال مدة التجربة الموضحة في الجدول (1) تمت اضافة تراكيز مختلفة من تركيبة الزيوت الطيارة لهذه الاحواض(125,100,50,25,10) جزء بالمليون، ترك الحوض من دون اضافة كمعاملة سيطرة، اذ تمت مراقبة الاصبعيات وتسجيل التغيرات في سلوك الاصبعيات بعد 96,48,24 ساعة،تم حساب وتسجيل نسبة الموت اذ اجري هذا الفحص بواقع ثلاثة مكررات.

جدول(1) الخصائص الكيميائية والفيزيائية المقاسة (المعدل±الانحراف المعياري) لماء الاحواض لفحص LD50

الخصائص	القيم
درجة الحرارة (م0)	0.4±20
الاوكسجين المذاب (ملغم\لتر)	1±12
العسرة الكلية (ملغم\لتر)	0.1±169
الرقم الهيدروجيني	0.4±7.2

الملكايت غرين

الملكايت غرين المستعمل في التجربة (ملح الاوكزالات) تم تحضير عدة تراكيز منه كالاتي 1,0.5,0.4,0.3,0.2,0.12,0.06,0.03,0.01 اذ ان الملكايت غرين هو المادة المستعملة في مفاقس الاسماك العراقية للتخلص من الاعفان المائية.

التحليل الاحصائي

تم تحليل النتائج باستعمال البرنامج الاحصائيStatistical 2010 System (SAS) Analysis [17]، باستعمال اختبار LSD تم المقارنة بين المتوسطات. تمت تحديد LC50 بالاعتماد على [18].

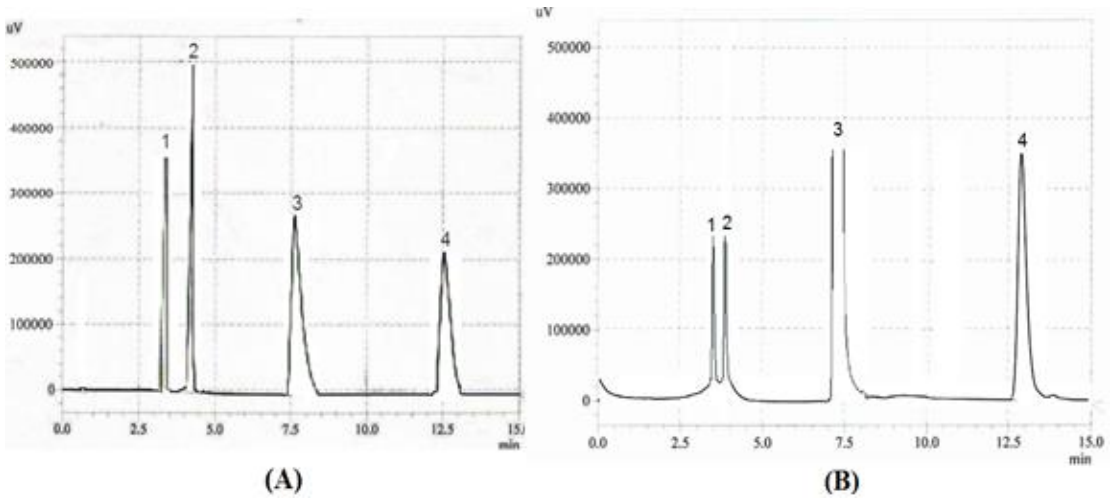
النتائج والمناقشة:

اظهرت نتائج التحليل لخليط الزيوت الطيارة باستعمال جهاز HPLC الجدول(2) و الشكل(1) يوضحان المركبات الفعالة ضد الاحياء الممرضة بصورة عامة، اذ كان اعلى تركيز للمركب Camphor بنسبة 35.7% ثم Menthol 17.8% وThujone 17.3% واقل تركيز للمركب Thymol 6.8% اذ ان الكافور والثايجون من الكيتونات والمانثول هو كحول الثايمول و يصنف ضمن الفينولات اذ ان اغلب المركبات الاساسية لزيوت ومستخلصات الاعشاب موضحة في[19]،هناك دراسات محلية كثيرة عن هذه المركبات الاربعة والتي اثبتت فعاليتها التثبيطيةلعدد كبير من البكتريا المرضية مثل *Staphylococcus aureus, Salmonella typhi, Escherichia coli, Proteus sp,Klebsiella pneumoniae*وللخمائر مثل*Candidaalbicans*, [22,21,20]. كما اختبرت فعاليتها التثبيطية للفطريات الخيطية من قبل[24,23]وتعزى فعالية هذه المركبات في تثبيط نمو الاحياء المجهرية كونها محبة للدهون تتداخل مع الاغشية الخلوية وتسبب اضطرابا" في وظيفة الغشاء الخلوي وتسبب خللا" في عملية انتقال الالكترونات وبالنتيجة تكتل العضيات الداخل خلوية[25]. اكد الباحثون ان استعمال خليط من الزيوت الطيارة له فعالية تآزرية ضد الفطريات وتثبيط اعلى مما لو استعملت هذه الزيوت كلا" على حدة[27,26].

جدول(2): تراكيز المواد الفعالة لتركيبة الزيوت الطيارة باستعمال HPLC

المواد الفعالة	التركيز%
Thymol	%6.8
Camphor	%35.7
Thujone	%17.3
Menthol	%17.8

(A) (B)



شكل(1): المركبات الفعالة (A) العينة القياسية (B) عينة تركيبة الزيوت الطيارة المحللة باستعمال جهاز HPLC- 1 , Camphor -2, Thujone3, Menthol4 --.Thymol

اظهرت نتائج التركيز المثبط الادنى (MIC) والتركيزالقاتل الادنى (MFC) لتركيبة الزيوت الطيارة الموضحة في الجدول (3) ، اذ كانت تراكيز (MIC)هي 0.025مايكروليتر\مل للفطر .sp *Aphanomyces* والتركيز 0.015 مايكروليتر\مل للفطرين.sp *Achlya* و*Fusariumsolani* ، اذ سجلت هذه التراكيز فروقا" معنوية (P<0.05) عن تراكيز الملكايت غرين اذ كانت 0.06 مايكروليتر\مل للفطر .sp *Aphanomyces* و 0.04 مايكروليتر\مل للفطرين.sp *Achlya* و *Fusariumsolani*. اما بالنسبة للتركيز القاتل الادنى(MFC) فكان التركيز0.06مايكروليتر\مل للفطر .sp *Aphanomyces* والتركيز 0.02

مايكروليتر\مل للفطرين *Achlya* sp.و*Fusariumsolani* ، اذ سجلت هذه التراكيز فروق معنوية ($P<0.05$) عن تراكيز الملكايت غرين والتي هي 0.45 مايكروليتر\مل للفطر *Aphanomyces* sp. و 0.25 مايكروليتر\مل للفطر*Achlya* sp. و 0.31 مايكروليتر\مل للفطر*Fusariumsolani*.كما هو واضح من النتائج ان تركيبة الزيوت الطيارة لها القدرة على تثبيط نمو الفطريات كما ان تركيزها القاتل الادنى اقل من تركيز الملكايت غرين، اذ اشارت دراسات سابقة الى دور الزيوت الطيارة والمستخلصات للأعشاب الطبية في تثبيط نمو الفطريات [28,27,25].

ان العديد من الدراسات السابقة اكدت الفعالية التثبيطية للزيوت الطيارة والمستخلصات المائية والكحولية للكثير من الاعشاب الطبية على الفطريات ولكن القليل منها درس اختبار(MIC) و (MFC) لخليط من الزيوت الطيارة لعدة انواع من الاعشاب ، اذ اظهرت نتائج الدراسة الحالية توافقا" مع نتائج الدراسات الاتية[27,26,25].

جدول (3): التركيز المثبط الادنى (MIC) والتركيزالقاتل الادنى (MFC) لتركيبة الزيوت الطيارة والملكايت غرين ضد الفطريات الممرضة(مايكروليتر\التر).

اجناس الفطريات	تركيبة الزيوت الطيارة		الملكايت غرين	
	SD±MIC	SD±MFC	SD±MIC	SD±MFC
Aphanomyces sp.	0.31±0.025	0.1±0.06	0.7±0.06	1.1±0.45
Achlya sp.	0.5±0.015	0.1± 0.02	1.2±0.04	0.5±0.25
Fusarium solani	0.4±0.015	0.1±0.02	0.9±0.04	0.3±0.31

اظهرت نتائج فحص الجرعة الوسطية المميتةLD50بعد 48 و96 ساعة كما موضح في الجدول(4) ان التركيز34.51±0.5 جزء بالمليون ولم تسجل فروق في قيم LD50 بعد مرور 72،48و96 ساعة بعد اضافة تركيبة الزيوت الطيارة الى الاحواض. سجلت دراسات سابقة قيما" LD50 لمركبات كيميائية عديدة منها الفورمالين و كانت قيمة LD50هي(0.072 ملغم\التر) بعد 96 ساعة من الاضافة وللملكايت غرين (0.035 ملغم\التر) والتي سجلت من قبل[29]. في دراسة اخرى[30] وجد الباحثون ان LD50للملكايت غرين (1.4 ملغم\التر) بعد 48 و96 ساعة في اصبعيات سمك *Heteropneustesfossilis*.سجل الباحثون[31] قيمة LD50 لمستخلص الزيوت الطيارة لعشبة النعناع بعد 24 ساعة كان(9±5 مايكروليتر\مل) على قشريات *Artemiasalina* .

جدول(4):قيم LD50 الجرعة الوسطية المميتةعلى اصبعيات سمك الكارب الفضي

الوقت(ساعة)	LD50 (متوسط± الانحراف المعياري)جزء بالمليون
1	0.4±40.5
24	0.1±34.23
48	0.3±34.33
72	0.5±34.51
96	0.2±34.51

الاستنتاجات والتوصيات

استنادا الى النتائج هذه الدراسة وبمقارنتها و الجدول(5) تعد تركيبة الزيوت الطيارة من المواد معتدلة السمية اما الملكايت غرين فهو من المواد الكيميائية ذات السمية العالية. لم تسجل لحد الان اي دراسة عن التاثيرات السمية للمستخلصات النباتية في الاسماك والانسان، لذلك يمكن اقتراح استخدام تركيبة الزيوت الطيارة للسيطرة على اعفان الماء النامية على بيوض ويرقات الاسماك و بوصفه بديلا"أمنا" للمواد الكيميائية المستخدمة في المستزرعات المائية. ان عند العمل في الدراسات المستقبلية على الزيوت الطيارة لا يجوز تجفيف النبات اطلاقا" لانه سوف يفقد اكثر من نصف زيت النبات. يجب استعمال نبات طري عندما يراد الحصول علىvolatiile كما ان مدة اربع ساعات غير كافية للحصول على نسبة جيدة من المواد الفعالة فللمستقبل ينصح بمضاعفة الوقت بما لا يقل عن 12 ساعة لاستخلاص الزيت الطيار.

جدول(5):سمية المواد الكيمياوية المعتمدة على قيمة LD50(جزء بالمليون) بعد 48 ساعة كما ورد في[18].

التسلسل	نسبة السمية	حدود تراكيز LD50
1	سمية واطنة جدا	1000< LD50<10000
2	سمية واطنة	100<LD50<1000
3	سمية معتدلة	10<LD50<100
4	سمية عالية	1<LD50<10
5	سمية عالية جدا	0.1<LD50<1
6	سمية عالية جدا جدا	LD50<0.1

المصادر:

[1] Lilly, J. H.; Callinan, R. B.; Chinbut, S.; Kanchanakhan, S.; Macrae, I. H. and Philips, M.J. 1998. Epizootic ulcerative syndrome(EUS), Technical hand book. Aquatic animal healthresearch institute. Bangkok. 69P.

[2] Czeczuga, B.; Mazalska, B.; Godlewska, A. and Muszynska, E. 2005. Aquatic fungigrowing on dead

fragments of submerged plants. Limnologica, 35 (4): 283-297.

[3] Chao, S. C., Young, D. G. and Obery, C. J. 2000. Screening for inhibitory of essential oil on selected bacteria,fungi and viruses. J. Essent. Oil Res.,12:639-649.

[4] حسن، رنا علي. 2015. الفعالية المضادة المايكروبية للمستخلص الكحولي والمائي لثمار نبات الزرشك (*Berberisvulagaris*) على نمو بعض الانواع البكتيرية الممرضة. مجلة مركز بحوث التقنيات الاحيائية،9(1) :77-81.

[5] علي، بتول زينل و طلال سالم مهدي. 2012. تقييم فعالية المستخلص المائي والكحولي والزيت الطيار لاوراق نبات اليوكاليبتوس *EucalyptusincrassateLabill* تجاه بعض الخصائص البايولوجية للفطر المائي *Saprolegniaferax*. مجلة ابن الهيثم للعلوم الصرفة والتطبيقية،2(25):1-8.

[6] السامرائي، طلال سالم مهدي. 2011. تقييم فعالية المستخلص المائي والكحولي والزيت الطيار لاوراق نبات اليوكاليبتوس *Eucalyptusincrassate Labill* تجاه بعض الخصائص البايولوجية للفطر المائي *Saprolegniaferax*. *Saprolegniahypogyna*. رسالة ماجستير/ كليةابن الهيثم/ جامعة بغداد.

[7] Rach, J. J.; Gaikowski, M. P.; Howe, G. E.; Schreier, T. M. 1998. Evaluation of the toxicity and efficacy of hydrogenperoxide treatments on eggs of warm- and cool water fishes. Aquaculture, 165:11–25.

[8] Schreier, T. M.; Rach, J. J.; Howe, G. E. 1996. Efficacy of formalin, hydrogen peroxide, and sodium chloride on fungal-infected rainbow trout eggs. Aquaculture, 140:323–331.

[9] ياسين،علي نزار. 2009. استخدام بعض المستخلصات النباتية المائية لعلاج الاسماك الذهبية نوع *Carassiusauratus* المصابة بالفطر.sp *Saprolegnia*مجلة ابن الهيثم للعلوم الصرفة والتطبيقية،22(4):11-19

[10] Harborne, J. B. 1984. Phytochemical methods. Aguid to modern techniques of plantanalysis. Chapman and Hill, London, UK.

[11] European Centre for Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals. 1996. Aquatic toxicity testing of sparingly soluble, volatile and unstable substances. Monograph No. 26. Brussels, Belgium.

[12] Adams, R. P. 2001.Identification of essential oil components by Gas chromatography/Quadrupolc Mass spectroscopy. Allured publication. Crop., Carol sream IL.

[13] Redaeli, C.; Formentini, L. and Santaniello, E. 1981.Reversed-phase high performance liquid chromatography analysis of apigenin and its glycosides in flowers of Marticariachummomolla and Chamomile extract. J. Planta Medica., 42(3):288-292.

[14] Barnett, H.L. and Hunter, B. B. 1972. Illustrated genera of imperfect fungi. Burgess Pub. Co., Minneapolis, Minnesota, USA. Barnett H.L. Illustrated Genera of Imperfect Fungi. 2nd. Ed. Burgess publishing company.

[15] Johnson, T. W. Jr.; Seymour, R. L. and Padgett, D. E.2002. Biology and Systematics of the Saprolegniaceae. Available.

[16] Khomvilai, C.; Kashiwagi, M. and Yoshioka, M. 2006. Fungicidal activities of horse radish extract on fish-pathogen, Oomycetes Saprolegnia. Bull. Fac. Bioresources Mie. Univ., 33 :1-7.

[17] SAS. 2010. Statistical Analysis System, User's Guide. Statistical. Version9.1th ed. SAS. Inst. Inc. Cary. N.C. USA.

[18] Svobodova, Z. and Vikosoa, B. 1991. Diagnostics Prevention and therapy of fish diseases and toxications. Czech. P

[19] Bauer, K.; Garbe, D. and Surburg, H. 2001. Common fragrance and flavor materials, preparation, properties and uses. Willy VCH Weinhelm,PP293.

[20] Nader, M. I.; Rasheed, M .N. and Ibraheem A. H. 2010. Antibacterial Activities of Volatile oils from *menthaPiperia* Against Growth of

Pathogenic Bacteria. Baghdad Scie. J., 7(2):977-983.

[21] Ahmed S. A. 2012. Antibacterial Activity of *Mentha Piperita* and *Allium Sativum* Against Some of Gram-ve Bacteria. Al- Mustansiriyah J. Sci.23 (5):39-48.(In English).

[22] الساعدي،هادي علوان محمد، نجم عبدالله جمعة الزبيدي و ابتهال قاسم محمد دنبوس.2012 . الفاعلية التثبيطية للمستخلصات النباتية الخام لنباتي الزعتر والنعناع *menthaPiperia* و *Thymusvulgaris* ضد. *Candida albicans* مجلة ديالى للعلوم الزراعية ،4(1):128 139-.

[23] Rai, M. K.; Qureshi, S. and Pandey, A.K. 1999. In Vitro susceptibility of opportunistic *Fusarium* sp.to essential oils. Mycoses, 42:97-101.

[24] Pinto, E. Riberio, S. L. Cavalerio, C. Palmeria, A. and Jose Goncalves, M. 2007. In vitro susceptibility of some species of yeast and filamentous fungi to essential oils of *Salviaoffcinalis*. Ind. Crops and prod.,26:135-141.

[25] Burt, S. 2004. Essential oils: Their antimicrobial properties and potential application in foods-A review. Int. J. Food Microbiol., 94 :223-253.

[26] Mousavi, S. M.; Mirzargar, S. S.; Mosavi, H. E.; Omidbaigi, R.; Khosravi, A. and bahonar, A. 2012. Antifungal and toxicity effect of new combined essential olis on Onchynchus mykiss in comparative with malachite green. Iranian J. of Veterin. Scie. And Technolo.,4(2): 1-8.PP:164-217.

[27] عباس، ابراهيم صالح، محمد جاسم جواد وعبد الامير عيدان الجبوري.2014 .تقييم فعالية الزيوت الطيارة لبعض اوراق *Salviaofficinalis* L.، *Pimipinallanisum*، *Thymusvulgaris* كمضاد لقراد الابقار(HyalommaTick) . مجلة جامعة كربلاء 21(3):178-181.

[28] Mousavi, S. M.; Mirzargar, S. S.; Ebrahim, Z.; Mosavi, H. E.; Omidbaigi, R.; Khosravi, A. and Ahmedi, M.R. 2009. Evaluation of antifungal activity of new combined essential oils in compared with malachite green on hatching rate in rainbow Trout Onchynchus mykiss eggs. Canadian J. of Fisheri. And Aquat. Scien.,4(2):103-110.

[29] Post, G.W. 1987. Textbook of Fish Health. TFH Publications, Inc. Ltd., USA. 288P.

[30] Srivastava, S. J.; Sinha, N. D. Srivastava, A. K. and Sinha, R. 1995. Acute toxicity of malachit green and its effects certain blood parameters of a catfish *Heteropneustesfossilis*. Aquatic Toxicolo., 31:241-247.

[31] Hadjikhoondi, A.; Aghel, N.; Zamanizadeh, N. and Vatandoost, H. 2000. Chemical and Biological study of Mentha species essential oils from Iran. Daru., 8(1,2):19-21.

A study of anti fungal activity of a combination of essential oils from medical herbs against water molds

Rana Hadi Hameed al-Shammari

Department of Biology, College of Science, Al- Mustansiriyah University

Received 7/ 10/2015
Accepted 10 /1 /2016

Abstract:

The aim of this study is to evaluate the anti fungal activity of a combination of essential oils against water molds. HPLC analysis was done to evaluate the quantity and quality of the active compounds in this combination which extracted from three herbs(Peppermint *Menthapiperita* ,Thyme *Thymusvulgaris*, Common sage *Salvia* officinalis L.) and the active compounds are Camphor,Menthol,,Thujone and *Thymol* with different concentrations. In this study (MIC) , (MFC) were measured and (LD50) determined after 48,96 h from fingerlings treatment of common carp in aquariums .The results of (MIC) were 0.025µl/ml for *Aphanomyces* sp. and 0.015µl/ml for both *Achlya* sp. and *Fusariumsolani* which showed significant differences($p<0.05$) from Malachite green concentrations which were0.06µl/ml for Aphanomyces sp. and 0.04 µl/ml for both *Achlya* sp. *Fusarium solani*. According to the results of (MFC) were 0.06µl/ml for *Aphanomyces* sp. and 0.02µl/ml for both *Achlya* sp. and *Fusarium solani* which showed significant differences($p<0.05$) from malachite green concentrations whichwere0.4 µl/ml for *Aphanomyces* sp. and 0.25µl/ml for *Achlya* sp. and0.3l/ml for *Fusarium solani*. the results of (LD50) after 48,96 h was34.51 ppm and there were no differences in LD50 concentrations after 48,72,96 h after adding the combination to the aquariums.

Key words: Combination of essential oils, Water molds, HPLC,MIC,MFC,LD50.