مجلة جامعة تشرين للدراسات والبحوث العلمية _ سلسلة العلوم البيولوجية المجلد (29) العدد (5) 2007
Tishreen University Journal for Studies and Scientific Research - Biological Sciences Series Vol. (29) No. (5) 2007

دراسة الفعالية الصادية لثلاثة فطريات دعامية (Basidiomycetes) ضد بعض الأحياء الدقيقة في الزجاج (in vitro)

الدكتورة ميساء يازجي *
راميا سعود **

(تاريخ الإيداع 3 / 7 / 2007. قبل للنشر في 2007/12/30)

□ الملخّص □

اختبـــرت الفعاليـــة الصـــادية للخلاصـــات المائيـــة لثلاثـــة فطريـــات دعاميـــة (*Coprinus micaceus*، *Lepista nudus*، *Omphaletus olearius*)، تجـاه الأحيـاء الدقيقـة التاليـة (*Trichophyton mentagrophytes*، *T.rubrum*، *Epidermophyton floccosum*، *Aspergillus niger*، *Candida albicans*، *Fusarium oxysporum*، *Botrytis cinerea* ، *Escherichia coli*، *Pseudomonas aeruginosa*، *Acintobacter lowffii*، *Micrococcus Luteus* ، *Klebsiella pneumoniae*، *Staphylococcus aureus*)، باستخدام طريقة ثقب الآغار والتخفيف في الآغار.

بينت النتائج أن الخلاصات المائية للدعاميات الثلاثة أثرت و بشكل متفاوت على الفطريات الجلدية الممرضة فقط، وتراوحت أقطار التثبيط بين (1–14 mm) و بتراكيز تثبيط تقع بين (1–16 mg/ml)، بينما كانت الفطريات الأخرى مقاومة لكل الخلاصات. كما تأثرت الجراثيم بتراكيز من الخلاصات أدنى من تلك بالنسبة للفطريات تراوحت بين (0.15–8 mg/ml) في حين أبدت جراثيم *A. Lowffii* و *M.Luteus* و *S.aureus* مقاومة لجميع الخلاصات. وكانت خلاصة الفطر الدعامي *C.micaceus* الأكثر تأثيراً على الفطريات والجراثيم.

كلمات مفتاحية: الفعالية الصادية الفطرية، الدعاميات، الخلاصات المائية، المشروم، البكتيريا.

* أستاذ مساعد في قسم النبات . كلية العلوم . جامعة تشرين . اللاذقية . سورية.
** طالبة دكتوراه في قسم النبات . كلية العلوم . جامعة تشرين . اللاذقية . سورية.

مجلة جامعة تشرين للدراسات والبحوث العلمية _ سلسلة العلوم البيولوجية المجلد (29) العدد (5) 2007
Tishreen University Journal for Studies and Scientific Research - Biological Sciences Series Vol. (29) No. (5) 2007

A study of Antifungal Activity of Three Basidiomycetes Against Some Microorganism in Vitro

Dr. Maysa Yaziji *
Ramia Saoud **

(Received 3 / 7 / 2007. Accepted 30/12/2007)

□ ABSTRACT □

The antifungal activity of water extracts of three Basidiomycetes *(Coprinus micaceus, Lepista nudus, Omphaletus olearius*) was tested against following microorganism (*Trichophyton mentagrophytes, T. rubrum, Epidermophyton floccosum, Aspergillus niger, Candida albicans* and *Fusarium oxysporum, Botrytis cinerea, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Acintobacter lowffii,, Klebsilla pneumoniae, Micrococcus luteus, Staphylococcus aureus*) using agar dilution and hole diffusion test. The results have shown that extracts were affected on Dermatophytes, the Diamater of inhibitory ranged Between (1 – 14 mm) and inhibitory Concentration (1 – 16 mg / ml), while others fungi resisted to all extracts.

Also, the Bacteria, were effected with concentration of low extracts according to fungi, ranged between (0.15 – 8 mg / ml). while *A. lowffii, M. luteus, Staphylococcus aureus* were resistant to all extract.

The extract of *C. micaceus* was the most effect on the Basidomycetes and Bacteria.

Key words: antifungal activity, Basidiomycetes, water Extracts, Mushrooms, Bacteria.

*Associate professor, Department of Botany, Faculty of Science, Tishreen University, Lattakia, Syria.
**ph. D. Student,, Department of Botany, Faculty of Science, Tishreen University – lattakia – Syria.

مقدمة:

إن ازدياد الإصابة بالأمراض الجرثومية والفطرية في السنوات الأخيرة، خاصة في البلدان المتقدمة، يعود بشكل كبير إلى المشاكل الصحية العديدة للإنسان، وإلى ازدياد عدد الكائنات الدقيقة الممرضة المقاومة للمضادات الحيوية المتوفرة في الوقت الحاضر، بسبب الاستخدام غير المنظم للمضادات الحيوية التجارية المستخدمة عادة في معالجة الإصابات المرضية (Ribeiro de paiva *et al.*, 2003).

ويعرف حالياً بان هناك بعض المضادات الفطرية الاصطناعية المستخدمة في معالجة الإصابات الفطرية السطحية ولا سيما فطريات الـ *Dermatophytes*، تبدي تأثيرات جانبية عديدة، إضافة إلى فعاليتها المحدودة تجاه هذه الفطريات (Gupta *et al.*, 1998). مما نبه الباحثين للتقصي عن مركبات جديدة مضادة للأحياء الدقيقة تكون أكثر فعالية وأماناً.

تميز النصف الثاني من القرن العشرين بإنجازات هامة في دراسة المواد الفعالة بيولوجياً من أصل نباتي (Wyma – Simpson *et al.*, 1991 ; Keen & Bruegger, 1977 ; Vanetten, 1976)، وقد أدى استخدام الفطريات القبعية (*Macromycetes*)، كمادة أساسية في هذا المجال، إلى اكتشاف مركبات عديدة مختلفة في البنية وطريقة التأثير (Belova, 2001).

هذا وكانت الفطريات قد استخدمت منذ القديم، ومازالت في الطب الشعبي في العديد من البلدان الآسيوية خاصة في الصين واليابان (Werner, 2004). ويوجد حالياً العديد من الأنواع التي تملك خواص صيدلانية هامة لاحتوائها أو لإفرازها مواد فعالة بيولوجياً، مثل السكريات المتعددة، الببتيدات السكرية المعقدة، البروتينات. وهي مواد تملك طيفاً واسعاً من الفعالية ضد الفيروسات و البكتريا والفطريات الممرضة والطفيليات. إضافة إلى امتلاكها خواص مضادة للأكسدة والالتهابات والأورام، كما أنها تعتبر مدرة للبول، ومقوية للقلب والكبد ومعززة للجهاز المناعي عند الإنسان. .. (Ezerony, 2005 ; Werner, 2004 ;Roza, 2003 ; Engler *et al.*, 1998)

لقد تم عزل العديد من المركبات الكيميائية من الفطريات الدعامية، و درست خصائصها البيولوجية (Rouillon *et al.*, 1985 ; Arpin *et al.*, 1976). وأولى هذه المواد المعزولة الـ Kerstin و Lentinan و Schizophyllan ذات خواص مضادة للورم و مقوية للجهاز المناعي
(Badalin *et al.*, 2001; Reshetnikov *et al.*, 001 ;Gerasimenya *et al.*, 2002 ; Antkowiok *et al.*, 2003).

بعد ذلك بينت دراسات عديدة أن مركبات أخرى مثل الـ Lenthionine و Cortinellin المعزولة من *Lentinus edodes* و الـ Lanestenol المعزول من *Daedalea dickinsii* تثبط نمو بعض الخمائر والجراثيم والفطريات الجلدية(Rosa, 2003;Bae *et al.*, 2000 ; Pacumbaba *et al.*, 1999).

ومع ازدياد الاهتمام بالفطريات كمصدر طبيعي للمضادات الحيوية برزت أنواع عديدة تابعة لعدة فصائل مثل *Tricholomaceae* و *Coprinaceae*ذات قيمة طبية وغذائية، وتحوي مواد فعالة حيوياً. ويستخدم بعض هذه الانواع مثل *Lepista nudus* و *Lentinus edodes* في الطب التقليدي كخافضة لنسبة السكر ونسبة الكوليسترول في الدم و مضادة للأورام والميكروبات. كما يستخدم بعضها الآخر مثل أنواع جنس *Tricholoma* و *Coprinus* و *Omphaletus* و *Mycena* كمضاد لنمو وتكاثر البكتريا والخمائر لغناها

بالمركبات متعددة الأستيلين (Polyacetylenes) و مركبات استقلابية عديدة أخرى،
(Hirasawa *et al.*, 1999; Daferner *et al.*, 1998, Bendict *et al.*, 1972 ; Sasaki *et al.*, 2001 ; Volz, 2000 ; Rosa *et al.*, 2003).

أهمية البحث وأهدافه:

تعتبر المناطق في الساحل السوري بيئات متنوعة وغنية بالفطريات الكبيرة، وفي دراسات سابقة تم تحديد أكثر من 153 نوعاً منها (سعود، 2003) التي يمكن أن تكون مصدراً للعديد من المركبات الطبية المضادة للأحياء الدقيقة الممرضة ومنبعاً مستقبلياً لمواد علاجية في نواحٍ عدة، ونظراً لقيمة هذه الأنواع في المجال الطبي والغذائي ولتوفرها بكثرة في مناطقنا الساحلية، فقد قمنا بدراسة الفعالية الصادية الفطرية لبعض منها تجاه بعض الأحياء الدقيقة الممرضة، وفي هذا البحث:

1- تمت دراسة تأثير الخلاصات المائية للأنواع *Coprinus micaceus*، *Omphaletus olearius*، *Lepista nudus* على نمو بعض الفطريات الممرضة للإنسان والنبات وبعض الجراثيم الموجبة والسالبة الغرام بتراكيز مختلفة.

2- تمّ تحديد الأنواع الأكثر فعالية وأنواع الأحياء الدقيقة الممرضة الأكثر حساسية.

طريقة البحث ومواده:

أولاً: الأنواع الفطرية الدعامية المدروسة:

جمعت العينات الفطرية المدروسة (*C. micaceus*، *O. olearius*، *L. nudus*) في الفترة الواقعة بين (2006 . 2004) من مناطق مختلفة من الساحل السوري ذكرت في بحث سابق (سعود، 2003)، وقد تم اختيار هذه الأنواع بسبب توفرها بكميات كبيرة في مناطق الساحل السوري كافية لاجراء البحث.

ثانياً: الأنواع الجرثومية والفطرية المختبرة:

لدراسة الفعالية الصادية الفطرية للفطريات الدعامية المدروسة استخدمنا بعض العزولات الجرثومية السالبة الغرام (*Pseudomonas aeruginosa*، *Escherichia coli* و *Klebsiella pneumoniae* و *Acintobacter Lowffii*) و الموجبة الغرام (*Staphylococcus aureus, Micrococcus Luteus*) تم الحصول عليها من مخبر الجراثيم . مشفى الأطفال بدمشق.

كذلك استخدمنا بعض الفطريات الممرضة الجلدية (*Trichophyton mentagrophytes*، *T. rubrum*، *Epidermophyton floccosum*) إضافة إلى *Candida albicans*، حيث تم الحصول عليها من مشفى الأسد الجامعي باللاذقية . إضافة إلى الفطريات الممرضة النباتية *Fusarium oxysporum*، *Botrytis Cinerea* التي تم الحصول عليها من مخبر الوقاية . كلية الزراعة . جامعة تشرين . كما استخدمنا الـ *Aspergillus niger*، لأنه من فطريات العفن الأكثر انتشارا و المسبب لأمراض عديدة.

ثالثاً: أوساط الزراعة المستخدمة:

تم استخدام الأوساط التالية لزراعة الأحياء الدقيقة:

أ . وسط Sabouraud لزراعة الفطريات الجلدية و *Candida albicans* و *Aspergillus niger*.

ب . وسط PDA لزراعة الفطريات الممرضة النباتية.

ج . وسط EMB لزراعة الجراثيم السلبية الغرام ووسط الآغار المغذي لزراعة الجراثيم الموجبة الغرام.

رابعاً: تحضير الخلاصات المائية للفطريات القبّعية:

تم إضافة (150 ml) ماء مقطر معقم سابقاً إلى (15 g) بودرة فطر مجفف بالهواء ومسحوق بشكل مسبق، وتركت مغطاة في الظل بدرجة حرارة المخبر لمدة (72 ساعة) ثم رشحت الخلاصة بأوراق ترشيح (1 watmann)، بعد ذلك جفف المرشح حتى حصلنا على عجينة لينة القوام (Gbolagade *et al.*, 2003). ثم تم إجراء الاختبارات عليها. استخدمنا الماء المقطر المعقم كمخفف (Gbolagade *et al.*, 2005). **خامساً: تقدير الفعالية الصادية الفطرية للخلاصات المائية للفطريات الدعامية:**

1 . من أجل اختبارحساسية الجراثيم تجاه الخلاصات المائية للفطريات الدعامية، استخدمنا تقنية ثقب الآغار (Pelezar *et al.*, 1972) من خلال حفر ثقوب بقطر (5 mm) في الوسط الملقح سابقاً بأنواع جرثومية محددة، بعد ذلك حقنت هذه الثقوب بكميات مختلفة من الخلاصات المائية المخففة بالماء المقطر المعقم وذلك للحصول على التراكيز النهائية التالية (0.15, 0.50, 1, 2, 4, 8 mg / ml)، وتركت الأطباق فترة ثم حضنت بدرجة حرارة ($37\ C^{o}$) و سجلت أقطار التثبيط بعد (24 ساعة) من الحضن.

2 . من أجل اختبارحساسية الفطريات الممرضة المستخدمة تجاه الخلاصات المائية للفطريات الدعامية، استخدمنا طريقة التخفيف بالآغار (Georgii *et al.*, 1991). حيث حقنا الوسط بالخلاصة بتراكيز (1, 2, 4, 8, 16 mg/ ml) قبل التصلب في الدرجة ($45\ C^{o}$)، بعد التصلب استنبتت الفطريات الممرضة بوساطة إبرة زراعة معقمة، بعد ذلك حضنت الأطباق بالدرجة ($28\ C^{o}$) وقرئت النتائج، وسجلت أقطار النمو بالميليمتر مقارنة بالشاهد دون خلاصة واعتبرنا الفرق ما بين قطري المستعمرتين هو قطر التثبيط.

أما بالنسبة لفطر *C. albicans* فقد استخدمت طريقة ثقب الآغار حيث اتبعت الطريقة المذكورة سابقاً، وحضنت الأطباق بدرجة ($28\ C^{o}$) و قرئت النتائج بعد (48 سا).

لقد أجريت ثلاثة مكررات لكل تجربة (سواء للاختبارات الجرثومية أو الفطرية)، وتم تصوير المزارع النامية في الأطباق بكاميرا تصوير عادية،وقد وضعت الصور في البحث حسب توفرها.

النتائج والمناقشة:

تمت دراسة الفعالية التثبيطية للخلاصات المائية لثلاثة أنواع فطرية دعامية هي *C. micaceus*، *O.olearius*، *L. nudus* على نمو بعض أنواع الفطريات الممرضة على الإنسان والحيوان والنبات وبعض الجراثيم.

أولاً: الفعالية الصادية الفطرية للفطريات الدعامية المدروسة تجاه الفطريات الممرضة المختبرة:

بينت النتائج أن الخلاصات المائية للأنواع الدعامية المدروسة أثرت فقط على الفطريات المسببة للأمراض الجلدية عند الإنسان والحيوان (جدول 1) وبدرجات مختلفة، وتراوحت أقطار التثبيط بين (1–14mm) جدول (2)، ولم نلاحظ أي تأثير لهذه الخلاصات على أي من الفطريات الأخرى والخميرة المدروسة جدول(1).

كما لوحظ أن الخلاصة المائية للفطر *C. micaceus* تملك فعالية تثبيطية عالية مقارنة بالنوعين الآخرين *O. olearius*، *L. nudus* فقد ثبطت نمو الفطريات الجلدية الثلاثة *T.mentagrophytes, T. rubrum, E. floccosum* جدول (1) بأقطار تثبيط (7, 7, 14 mm) على التوالي بالتركيز (8 mg / ml) جدول (2)، أما اللوحة (1) فتظهر صوراً لتأثير الخلاصة المائية للنوع *C. micaceus* على الفطريات المذكورة بتراكيز مختلفة مقارنة بالشاهد. ولم تبد خلاصة الفطر *L. nudus* تأثيراً إلا على الفطر *E. floccosum* و كان قطر التثبيط معادلاً لـ (12 mm) عند التركيز (8 mg / ml).

أما خلاصة الفطر *O. olearius* فقد أثرت فقط على نمو *T. mentagrophytes* بأقطار تثبيط (4, 3 mm) في التراكيز (8 mg / ml و 16) على التوالي جدول (2).

لم نلاحظ أي تأثير لهذه الخلاصات على الفطريات الأخرى والخميرة المدروسة (*B. cinerea, F.oxysporum, A. niger، C. albicans*) جدول (1)، بل على العكس فإن الفطر *F.oxysporum* قد تنشط نموه بوجود الخلاصات المائية. وقد توافقت نتائجنا هذه مع نتائج عدد من الباحثين (Gbolagade et al.,2003;Paccola et al., 2001;Becker et al., 1997; Turkoglu et al.,2006).

التي بينت مقاومة أنواع الـ *F. oxysporum, A. niger, C. albicans* لخلاصات عدة فطريات دعامية وزقية، كما بين (جهار وعبد المنعم 2003) أنَّ فطري *F. oxysporum* و *C. albicans* لم يتأثرا إطلاقاً برشاحة الوسط السائل الذي استنبت فيه كل من فطر الـ *Lycoperdon pyriforme* و *Clitopilus prunulus* أما الـ *A.niger* فلم يتأثر بالفطر الأخير بل أبدى تأثراً بالفطر *L. pyriforme* بقطر تثبيط (22 mm).

في حين أكدت أبحاث أخرى(Gbolagade *et al.,* 2003) أن الخلاصة المائية للفطر *Lycoperdon giganteum* تؤثر بشكل واضح على نمو الـ *A.niger* بقطر تثبيط (5 mm) وعلى *C. albicans* بقطر تثبيط (8 mm) مما يدل على اختلاف المواد الفعالة للخلاصات المائية للفطريات الدعامية باختلاف الأنواع. كما أن هذه المواد تختلف عن تلك الموجودة لدى النباتات الراقية المستخدمة في الطب الشعبي كمضادات للفطريات ففي دراسة لـ Souza *et al.*، (2003) تبين أن الخلاصة المائية لنبات *Hyptis ovalifolia* لم تكن فعالة إطلاقاً تجاه الفطريات الجلدية المستخدمة في البحث بل كانت الخلاصة الميتانولية والزيوت الأساسية لهذا النبات ذات فعالية واضحة خاصة تجاه الفطر *T. rubrum*.

إضافة إلى ذلك نلاحظ من خلال الجدول (2) أن خلاصة الفطر *C. micaceus* تؤثر على نمو الفطر *T.mentagrophytes* بشكل أكبر من تأثيرها على نمو الفطر *T. rubrum* حيث كانت أقطار التثبيط (14mm) و(7 mm) على التوالي في التركيز(8 mg / ml)، كما كان تأثير هذه الخلاصة أكبر من تأثير خلاصة الفطر *O. olearius* على نفس الفطر الجلدي *T.mentagrophytes* حيث كانت أقطار التثبيط (14 mm) لخلاصة النوع الأول و(3 mm) للثاني في التركيز (8 mg / ml). مما يدل على أن تأثير المواد الفعالة للخلاصات المائية المدروسة يختلف باختلاف الفطر القبعي المستخدم و باختلاف أنواع الأحياء الدقيقة المدروسة، و يمكن مقارنة هذا بتأثير بعض السابونينات المستخلصة من نباتات راقية تستخدم في الطب الشعبي، حيث ثبط سابونين الـ *Majidea fosteri* نمو الـ *T.mentagrophytes* بشكل كامل في التركيز 1 mg /ml وكان نمو الفطر *T. rubrum* واضحاً

في التركيز 2 mg / ml بوجود نفس السابونين، واستمر نمو هذا الأخير بوجود (8 mg / ml) من سابونين *Medicago sativa* (yaziji,1993).

نلاحظ من خلال الجدول (2) أن فعالية الخلاصة المائية لـ *C. micaceus* تظهر اعتباراً من التركيز 1mg / ml)) تجاه النوعين *T.mentagrophytes* و *E. floccosum* ولم يلاحظ أي تأثير في هذا التركيز على نمو *T. rubrum*، ويظهر تأثيرها اعتباراً من التركيز (8 mg / ml) و تكون نسبة التثبيط عالية وتعادل (59 %) وبلغت نسبة التثبيط (46 %) بالنسبة *T.mentagrophytes* و (27 %) بالنسبة لـ *E. floccosum* عند هذا التركيز.

أما بالنسبة لخلاصتي *O. olearius*، *L. nudus* فقد اقتصر تأثيرهما فقط على كل من *T.mentagrophytes* و *E. floccosum*، على الترتيب صورة (1 و 2) حيث لوحظ التأثير الواضح لخلاصة *L. nudus* تجاه *E. floccosum* بنسبة تثبيط (47 %) جدول (3).

الجدول (1) يبين فعالية الخلاصات المائية للدعاميات المدروسة ضد الفطريات الممرضة.

	C. micaceus	*O. olearius*	*L. nudus*
T. mentagrophytes	+	+	–
T. rubrum	+	–	–
E. floccosum	+	–	+
A. niger	–	–	–
F.oxysporum	–	–	–
B. cinerea	–	–	–
C. albicans	–	–	–

فعال: + ، غير فعال: –

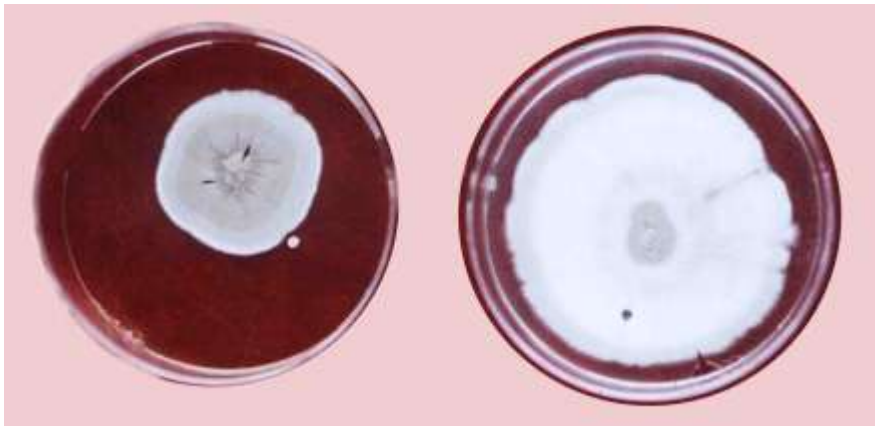
الجدول (2) يبين أقطار التثبيط للفطريات الممرضة المثبطة (مقدرة بـ mm)

	C. micaceus					*O. olearius*					*L. nudus*				
Concentration / *Microorganism*	1	2	4	8	16	1	2	4	8	16	1	2	4	8	16
T.mentagrophytes	8	10	13	14	7.5	–	–	–	3	4	–	–	–	–	–
T. rubrum	.	.	.	7	4	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
E. floccosum	1	6	6	7	14	–	–	–	–	–	6	6	5	12	8

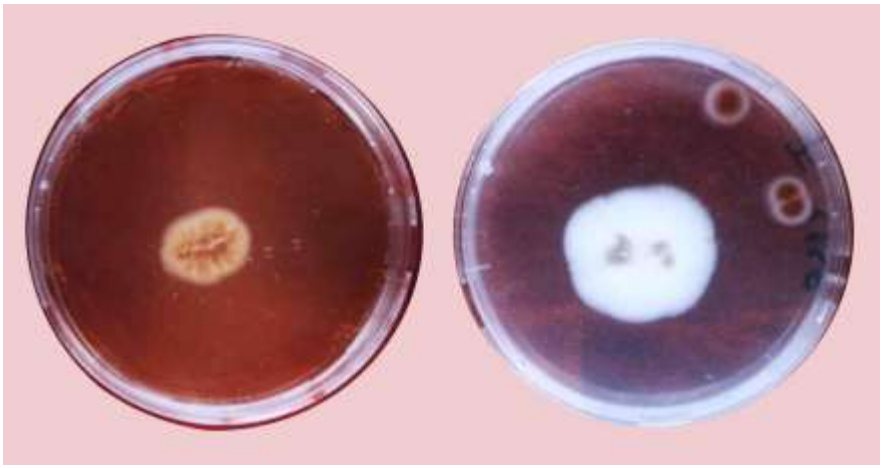
تراكيز الخلاصات المائية مقدرة بـ 1, 2, 4, 8, 16 mg / ml

الجدول (3) يبين النسبة المئوية لتثبيط الفطريات الممرضة الجلدية بواسطة التراكيز المختلفة للخلاصات المائية للدعاميات المدروسة.

	C. micaceus					*O. olearius*					*L. nudus*					*شاهد*
Concentration / *Microorganism*	1	2	4	8	16	1	2	4	8	16	1	2	4	8	16	
T.mentagrophytes	26	31	42	46	25	–	–	–	10	13	–	–	–	–	–	31
T. rubrum	.	.	.	59	34	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	11
E. floccosum	4	24	24	27	54	–	–	–	–	–	24	24	20	47	31	26



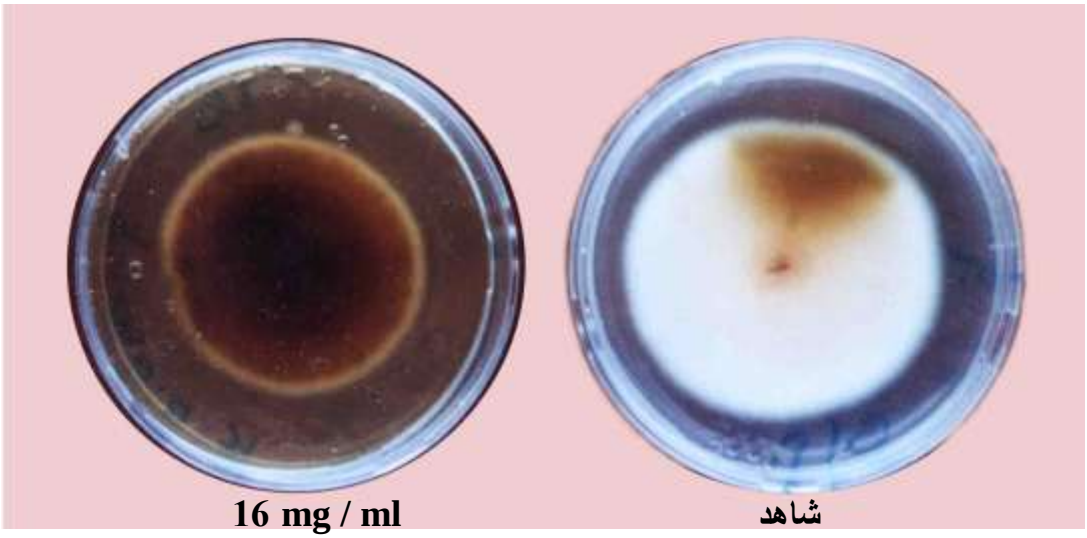
8 mg/ ml *E. floccosum* **شاهد**



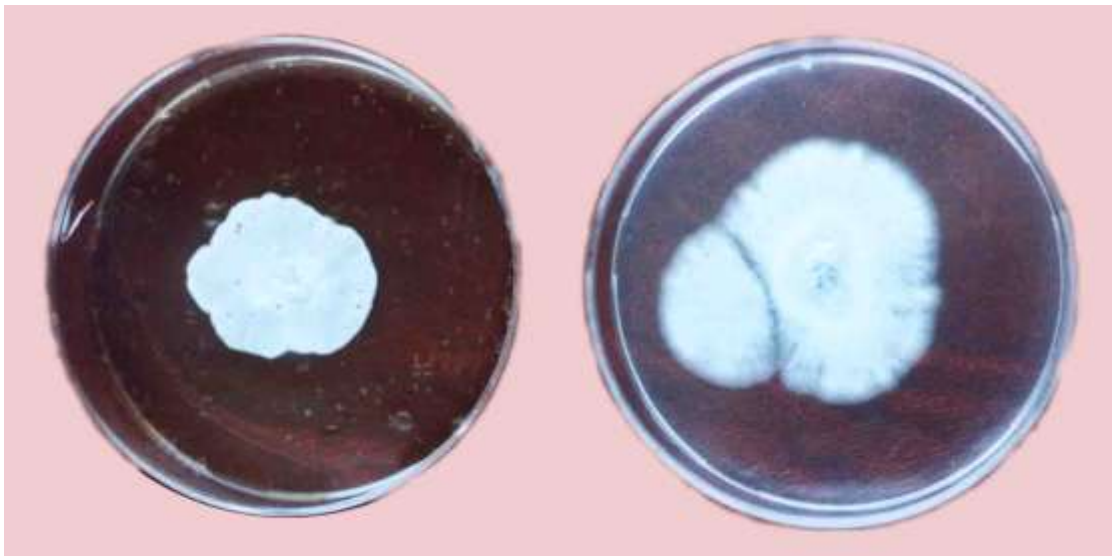
16 mg / ml *T. rubrum* **شاهد**

8 mg/ml *T.mentagrophytes* **شاهد**

لوحة (1) توضح تأثير الخلاصة المائية لـ *C. micaceus* على الفطريات الجلدية المدروسة



صورة (1) توضح تأثير الخلاصة المائية لـ *O. olearius* على
(16 mg / ml) *T. mentagrophytes*



صورة (2) توضح تأثير الخلاصة المائية لـ *L. nudus* على
(16 mg / ml) *E. floccosum*

ثانياً: الفعالية الصادية الفطرية للفطريات الدعامية المدروسة تجاه الجراثيم المختبرة:

يبين الجدول (4) تأثير الخلاصات المائية للفطريات القبعية المدروسة على نمو الجراثيم المختبرة، حيث نلاحظ، أن خلاصة كل من *C. micaceus* و *O. olearius* أثرت على معظم الجراثيم السلبية الغرام المدروسة، ولم يكن لها أي تأثير على الجراثيم الموجبة الغرام في حين لم نسجل أي تأثير لخلاصة الفطر *L. nudus* على أي من الأنواع الجرثومية المدروسة على الرغم من أن دراسات عديدة سابقة بينت تأثير عدة أنواع من المشروم *mushrooms*، وبطرائق مختلفة، على الجراثيم الموجبة الغرام و عدم تأثيرها على الجراثيم السلبية الغرام (Turkoglu *et al.*, 2006 ; Gezer *et al.*, 2006; Ishikawa *et al.*, 2001 جهار, 2003)، هذا ربما عائد الى اختلاف السلالات الفطرية أو طرائق الاستخلاص المستخدمة أو الى الشروط البيئية والفيزيولوجية التي تؤثر بدورها على فعالية الفطريات.

وبشكل عام فقد أبدت خلاصة *C. micaceus* فعالية أكبر من تلك لخلاصة *O. olearius* شكل (1). و كان تأثيرها على النوع *P. aeruginosa* كبيراً حيث وصل قطر التثبيط إلى (13 mm) (شكل 1) صورة (3) وبتركيز ضعيف من الخلاصة (0.50 mg / ml) على الرغم من أن هذا النوع يعتبر من الجراثيم السلبية الغرام التي يصعب السيطرة عليها و تبدي مقاومة لخلاصات معظم أنواع المشروم Mushrooms تقريباً، و هذا ما أكدته أبحاث عديدة

(Rosa *et al.*, 2003 ;Gbolagade *et al.*, 2003, Medigan *et al.*, 1997 Gezer *et al.*, 2006 ; Turkoglu *et al.*, 2006)

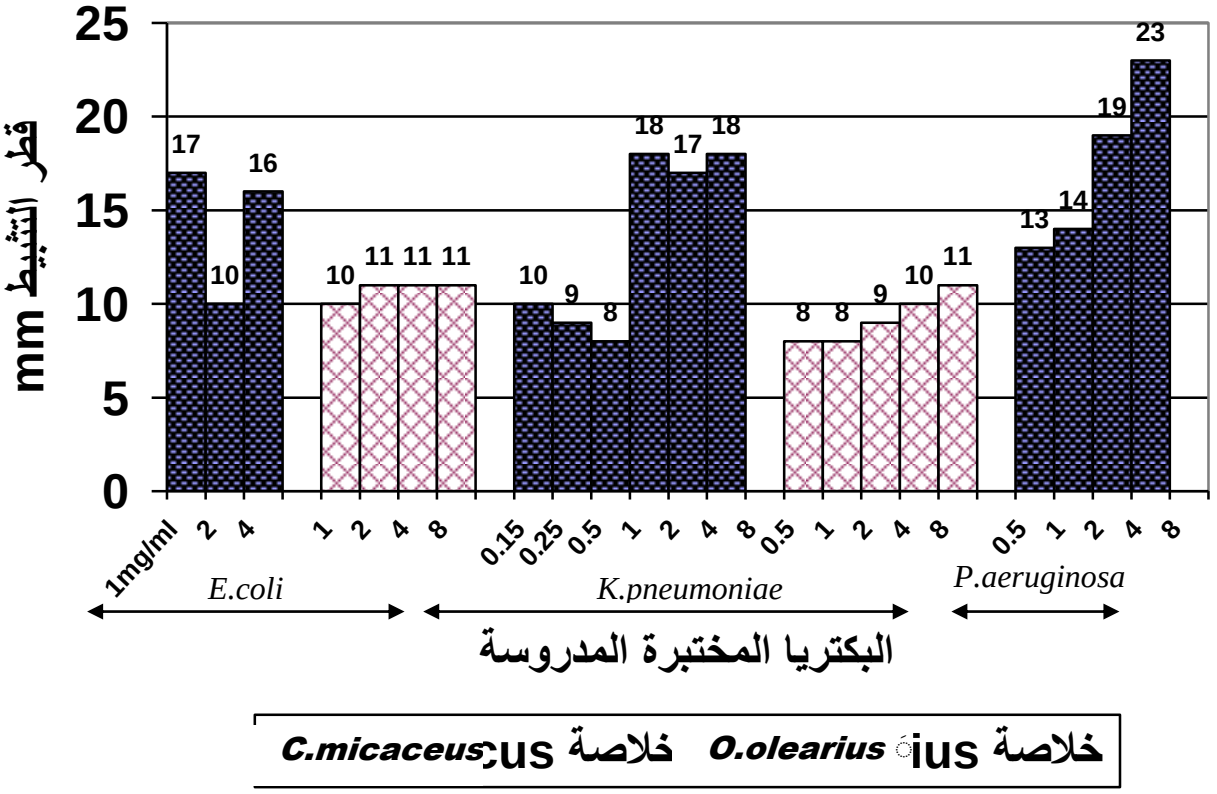
كذلك نلاحظ في الشكل (1) أنّ كلا النوعين *K. pneumoniae, E. coli* تحسسا لكلتا الخلاصتين *C. micaceus* و *O. olearius* و بدأ تثبيط النوع الأول عند التركيز (1 mg / ml) بوجود كلتا الخلاصتين. في حين تثبط النوع الثاني بتراكيز قليلة جداً تصل إلى (0.50 mg / ml) من خلاصة *O. olearius* و (0.15 mg /ml) من خلاصة *C. micaceus* و بقطر تثبيط (10 mm) بالنسبة للخلاصة الأخيرة، على الرغم من أن *K. pneumoniae* أثبت مقاومته لمعظم الصادات الحيوية (تكريتي وآخرون، 2003)، وخلاصات العديد من أنواع المشروم الأخرى (Gbolagade *et al.*, 2005).

بالمقابل لم تتأثر الأنواع *S. aureus* و *A. lowffii* و *M. luteus* بأي من الخلاصات المستخدمة في بحثنا هذا، وكانت مقاومة لجميع خلاصات الأنواع الفطرية القبعية المدروسة، وهذا يؤيد بعض الأبحاث التي تبين مقاومة *S. aureus* و *A. lowffii* للعديد من الصادات الحيوية (Nester, 1983، تكريتي، 2003).

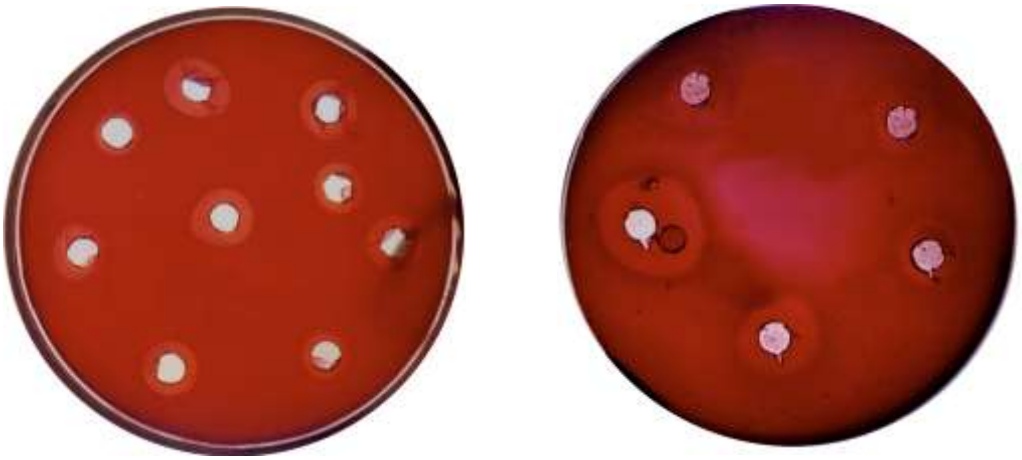
الجدول (4) يبين فعالية الخلاصات المائية للدعاميات المدروسة تجاه الجراثيم المختبرة

	L. nudus	*C. micaceus*	*O. olearius*
E. coli	–	+	+
P. aeruginosa	–	+	–
A. lowffii	ND	–	–
K. pneumoniae	ND	+	+
M. luteus	–	–	–
S. aureus	–	–	–

فعال: + ، **غير فعال: –** ، **ND: غير محدد**



شكل (1) يبين الأثر التثبيطي لتراكيز الخلاصات الفطرية الفعالة ضد البكتيريا



P.aeruginosa (0.50 mg/ml)

K.pneumoniae (1mg/ml)

صورة (3) توضح تأثير الخلاصة المائية لـ *c.micaceus* على كلا النوعين بتراكيز مختلفة

صورة (4) تبين تأثير الخلاصة المائية لـ *c.micaceus* على *E. coli* بالتركيز 2 mg/ ml

صورة (5) تبين تأثير الخلاصة المائية لـ *O. olearius* على *E. coli* بالتركيز 2 mg/ml

عند مقارنة تأثير الخلاصات المائية عل كل من الفطريات و الجراثيم المختبرة، نجد أن هذه الخلاصات تملك فعالية على عدد من الفطريات و الجراثيم في آن واحد، وهذه الفعالية تختلف باختلاف نوع المشروم المستخدم من جهة وأنواع الأحياء الدقيقة من جهة أخرى، كما أن خلاصة *C. micaceus* كانت الأكثر فعالية من بين خلاصات الفطريات المستخدمة، حيث أثرت على عدد أكبر من الأحياء الدقيقة و بتراكيز ضعيفة، إضافة إلى ذلك كانت تراكيز الخلاصات التي تثبط الجراثيم منخفضة مقارنة بتلك بالنسبة للفطريات، وكان (2005) Gbolagade *et al.,* قد اقترح في بحث سابق بأن بعض أنواع المشروم يمكن أن تملك خواص مضادة للفطريات ضعيفة، ولكن عدم تأثير الخلاصات المائية للفطريات المدروسة في بحثنا هذا على بعض الأحياء الدقيقة المختبرة لا يعني أن هذه الفطريات لا تحتوي مواد

فعالة مضادة لها، لأنه ربما تكون خلاصات بمحلات أخرى لنفس الفطريات ذات تأثير على هذه الأحياء، حيث يمكن أن تحتوي على عدة مواد فعالة تختلف بانحلالها بالمحلات العضوية المختلفة.

الاستنتاجات:

1- نستنتج أن الخلاصات المائية للفطريات القبعية الثلاثة: *C. micaceus* و *O. olearius* و *L. nudus* تحتوي على مضادات حيوية طبيعية و بالتالي يمكن أن تكون عوامل مضادة فطرية وجرثومية مستقبلية، ربما تنافس المضادات التجارية.

2- أبدت الخلاصة المائية للفطر *C. micaceus* فعالية تثبيطية عالية مقارنة بالنوعين الآخرين *L. nudus* ،*O. olearius*.

3-كان الفطر *T.rubrum* الأقل حساسية تجاه الخلاصات المائية للأنواع المدروسة مقارنة بالـ *E.floccosum*و *T.mentagrophytes*.

4-لم يتأثر كلٌ من الأنواع *B. cinerea, F. oxysporum, A.niger, C. albicans* *M. luteus,S. aureus* و *A. lowffii* بالخلاصات المائية للفطريات القبعية المدروسة.

5-أثرت الخلاصات المائية للدعاميات المدروسة على الجراثيم السلبية الغرام بتراكيز تثبيط أدنى من تلك بالنسبة للفطريات وبدأ التأثير اعتباراً من التركيز 0.15 mg/ml.

6- تراوحت أقطار التثبيط للفطريات المتأثرة بين (14-1mm) وللجراثيم المتأثرة بين (23mm-8).

ونظرا لامتلاك هذه الفطريات فعالية ضد بعض الأحياء الدقيقة الممرضة الهامة طبيا سوف يتم في بحث لاحق عزل هذه المواد الفعالة و تحديد هويتها و دراسة تأثيرها على الأحياء الدقيقة.

المراجع:

1- جهار، عبد الله ؛ أحمد، عبد المنعم. *عزل أرومات فطرية من فطريات دعامية و زقية واختبار قدرتها على إنتاج الصادات الحيوية*. مجلة بحوث جامعة حلب، سلسلة العلوم الأساسية، عدد، 39، 2003، 19-37.

2- سعود، راميا. *دراسة بيئية تصنيفية للفطريات الكبيرة Macromycetes في بعض مناطق الساحل السوري*، رسالة ماجستير بإشراف د. ميساء يازجي و د. صباح المغربي، 2003، 264.

3- تكريتي، عدنان ؛ شحادة، صلاح الدين. *الجراثيم و الفيروسات الطبية*، منشورات جامعة دمشق. 2003، 525 . 632.

4 – ANTKOWIAK, R. ; ANTKOWIAK, W.Z. ; BANCZYK, I. ;MIKOLAJCZYK, L., *Anew phenolic metabolite, involutone, Isolated from the mushroom paxillus involutus*. Can. J. chem. 81,2003,118-124

5 – APRIN, N.; BONVIN, J.F., et THIVEUD, S., *Structure de La mycosproine (P 310), substance Isolee de Carpophores de stereum hirstutum (willed, ex Fr.,) fr. (basidiomycetcs, aphyllopharales)*. c.r.acad, sc. paris, t. 282, s, d, 1976, d- 997.

6 – BADALIN, S.M. ; SERRANO. J.J. ; RAPIOR, S. ; and ANDARY, C., *Pharmacological activity of the Mushrooms Flammulina velutipes (Cur t.: Fr.) sing., paxillus involutus (Batsch: Fr.) Fr., and Tricholoma pardinum Quel. (Basidiomycota).* international Journal of medicinal mushrooms: vol., 3, 2001, 27 – 33.

7 – BAE, K. G. ;and MIN, J.T., *the structure and antibiotic activities of hydroxyl acid of Lanostenol Compound in Daedalea dickinsii Bull.* Korean chem.. soc. vol., 21, N. 12. 2000, 1199 – 1201

8 – BECKER,U.;ERKEL, G.;KOCKSCH, G.;ANKE,T., and STERNER, O., *Pulvinatal,anovel bioactive Metabolite from the basidiomycetes Nidularia pulvinata (schw.) Fr.* J. of Biosciences, vol., 52, N. 6. 1997, 313 – 318.

9 – BELOVA, N.V., *Studies of Biologically active Metabolites form Macromycetes in the V.I.Komarov Botanical institute, Russian academy of sciences.* I.J. of Medicinal mushroom, vol., 3, 2001, 117.

10 – BENDICT, R.G. ; and BRADY, L.R., *Antimicrobial activity of Mushroom Metabolites,* J. pharms. vol., 61, N. 11, 1972, 1820 – 1821.

11 – DAFERNER, M. ; and ANKE, T., *Strobilurin M, tetrachlorop yrocatechol and tetrarch,* J. of antibiotics. vol., 51, 1998, 816 – 822.

12 – ENGLER, M. ;ANKE, T. ; and STERNER, O., *Production of antibiotics by collybia nivalis, omphaletus olearius, a favolaschia and apterula species on Natural substrates. z- Naturforsch.* 53 c. 1998, 318 – 324.

13 – EZERONYE, O. U. ; DABA, A.S. ; OKWVJICKO and ONUMAJURU, I.C., *Antibacterial effect of crude polysaccharide extracts from sclerotium and fruitbody (sporophore) of pleurotus tuber – regium (Fried) Simger, on some clincal isolates*. I.J. of Molecular Medicine and advance science 1 (3): 2005, 202 – 205.

14 – GBOLAGADE, J. S. ;and FASIDI, I. O., A*ntimicrobial activities of two Nigerian edible macro – Fungi Lycoperdon pusilum (Bat.ex) and Lycoperdon giganteum (pers.),* African Journal of Biomedical Research, vol., 6, 2003, 85 – 90.

15 – GBOLAGADE, J.S. ;and FASIDI, I.O., *Antimicrobial activities of some Nigerian Mushrooms. African Jourrnal of Biomedical Research*, vol., 8, N.2, 2005, 83 – 87.

16 – GEORGII, A. ; and KORTING, H.C., A*ntifungal susceptibility testing with Dermatophytes*, Mycoses 34, 1991, 139 – 199.

17 – GERASIMENYA, V.P. ; EFREMENKOVA, O.V. ;KAMZOLKINA, O.U. ; BOGUSH, T.A. ;TOLSTYCH, I.V., and ZENKOVA, V.A., *Antimicrobial and antitoxical action of edible and Medicinal Mushroom pleurotus ostreatus (Jacg. Fr.) Kumm. extracts*. I.J. of Medicinal Mushroom, vol., 4, 2002, 127 – 132.

18 – GEZER, K. ;DURU, ME. ; KIVRAK, I. ; TURKOGLU, A. ;MERCAN, N.;TURKOGLU, H. ; and GULCAN, S., Free – radical scaven ging capacity and antimicrobial activity of wild edible mushroom from Turkey, African Journal of Biotechnology, vol., 5 (20), 2006, 1924 – 1928. 13-10-2004<www.academicjournals.org>

19 – GUPTA, A.K.; LYNDE, C.W. ;LAUZON, G.J.; MEHLMAUER, M.A. ; BRADDOCK, S.W.; MILLER, C.A. ; DELROSSO, J.Q. ; SHEAR, N.H., *Cutaneous adverse effects associated with terbinafine therapy: 10 case reports and areview of the Literature*, Br. J.Dermatol. 138: 1998, 529 – 532.

20 – HIRASAWA, M. ;SHOUJI, N. ; NETA, T. ;FUKUSHIMA, K., and TAKADA, K., *Three kinds of antibacterial substances from Lentinus edodes (Brek) sing*. *(shiitake, an edible mushroom)*. int. J.antimic agen. vol., 11. 1999, 151 – 157.

21 – ISHIKAWA, N.K.; KASVYA, M.C.M. ; VANETTI, M.C.D., *Antibacterial activity of Lentnula edodes in Liquid Medium*, Braz, J. micro. vol., 32, N.3, 2001, 206 – 210.

22 – KEEN, N.T. ; BRUEGGER, B., *phytoalexins and chemicals that elicit their production in plants. In: Host plant resistance to pests*. Ed. By Hedin P.A.. Washington: American chemical Society, 1977, 1 – 26 (Acs Symposium series: 62).

23 – MADIGAN, M.T. ; MARTINCO, J.M., and PARKER, J., *Brock Biology of Microorganisms*, 8 th edition, prentice Hall int. Inc. 1997, 6.

24 – NESTER, E.W. ;ROBERT, E.C. ; PEARSALL, N.N. ;NESTER, M.T., *Microbiology*. third edition – holt. Saunders Japan. 1983, 875.

25 – PACCOLA, E.A. ; MAKI, C.S. ; NOBREGA, M.A..G. ;MEIRELLES, L.D.P., *Antagonistic effect of adible mushroom extract on Candida albicans growth*, Braz, J., Microbial. vol., 32, N. 3, 2001, 5.

26 – PACUMBABA, R.P. ;CAULA, A.B. ;and PACUMBABA, R.O., J.r., *Shiitake Mycelial Leachate suppresses growth of some Bacterial species and symptoms of Bacterial with of tomato and Lima Beam invitro – plant*, Dis. 83: 1999, 20 – 23.

27 – PELEZAR, J.R. ;MICHAEL, J. ; REID, R.D., *Microbiology*, McGraw – Hill, Inc. 1972, 947.

28 – RESHETNIKOV, S.V. ; WASSER, S.P., and KHENGTAN, K., *Higher Basidiomycetes asasource of antitumor and immunostimulat in polysaccharides (Review)*. I.J. of Medicine mushroom, vol., 3, 2001, 361 – 394.

29 – RIBEIRO de PAIVA, S. ;FIGUEIREDO, M.R. ; ARAGAO, T.V. ; KAPLAN, M.A., *Antimicrobial activity in vitro of plumbagin Isolated from plumbago species*, Mem, Inst. oswaldo Cruz, vol., 98, N.7, 2003, 6.

30 – ROZA, L.H.; GOMESMACHADO, K.M. ; JACOB. C.C. ;CAPEIARI, M.; ROSA, C.A. ;ZANI, C.L., *Screening of Brazilian basidiomycetes for antimicrobial activity* – Mem. Inst. oswaldo cruz, vol., 98 (7): 2003, 967 – 974.

31 – ROUILLON, R. ;GAY, G. ; BERILLON, J. ; BONVIN, J. F., and BRUCHET, G., *Analysis by HPLC – mass spectrometery of the Indole Compounds release by the*

ectomycorrhizal fungi hebeloma hiemale inpure Cutture. can. J.bot. 64 ; 1986, 1893 – 1897.

32 – SASAKI, S.H. ; LINHARES, R.E.C. ; NOZAWA, C.M. ; MONTAVAN, R. ; METRELLES – PACCOLA, L.D., *Strains of lentinula edodes suppress growth of phytopathogenic fungi and inhibit alagoas serotype of vesicular stomatitis virus*. Braz. J. Micro. vol., 32, N. 1, 2001, 7.

33 – SOUZA, L.KH. ; OLIVEIRA, C.MA. ; FERRI, P.H. ; OLIVEIRA JUNIOR, J.G. ; SOUZA JUNIOR, A.H. ;FERNANDES, O.F.L. ; SILVA, M.R.R., *Antimicrobial activity of Hyptis ovalifolia towards dermatophytes,* Mem. Inst. Loswado Gruz. vol., 98, N. 7, 2003, 5.

34 – TURKOGLU, A.; KIVRAK, I. ; MERCAN, N. ; DURU, M. ;GEZER, K., and TURKOGLU, H., *Antioxidant and antimicrobial activities of Morchella Conica pers. African Journal of Biotechnology*, vol., 5 (11). 2006, 1146 – 1150.

35 – VANETTEN, H.D., *Antifungal activity of pterocarpans and other selected isoflavonoids*. phytochemistry, 15, 1976, 655 – 659.

36 – VOLZ, P.A., *Spawn Media and exudate formation in search of Medicinal Mushrooms,* I.J. of Medicinal Mushroom, vol., 2, 2000, 81 – 86.

37 – WERNER, P., *Mushrooms as Medicines*, Mycena News, vol., 55: 12, 2004,

38 – WYMAN – SIMPSON, C.L.;WALLER, G.R. ;JURZYSTA, M. ; MC PHERSON, J.K. ; YOUNG, C.C., *Biological activity and chemical isolation of root saponins of six cultivars of alfalfa (Medicago satival.)*. plant. soil. 135, 1991,

83 – 94.

39- YAZIJI, M.,*Etude de l'action antifongique des substances d' origine naturelle sur la croissance de Microsporum gypseum, cultivé in vitro.*

Observation en microscopie photonique et en microscopie electronique a transmission. 1993, 285 p.