مجلة جامعة تكريت للعلوم الزراعية المجلد (16) العدد (4) – (2016)
ISSN-1813-1646

فاعلية بكتريا *Bifidobacterium bifidus* التثبيطية ضد بعض انواع الفطريات المرضية المعزولة محليا

لؤي برهان مصطفى محمد
كلية التربية– قسم علوم الحياة– جامعة تكريت – جمهورية العراق

الخلاصة

هدفت الدراسة الى محاولة عزل وتشخيص بكتريا *Bifidobacterium bifidus* من عينات الالبان ومحاولة اختبار قابليتها في مستويات مختلفة من درجة الحرارة والاس الهيدروجيني على تثبيط بعض انواع الفطريات المرضية المعزولة من التربة. بينت النتائج امكانية عزل اربعة انواع من الفطريات من التربة وهي *Microsporium canis*، *Trichophyton mentagrophytes*، *Aspergillus fumigatus* و*Rhizopus stolinfer*. وعند دراسة القابلية التثبيطية للنوع *Bif. bifidus* ضد انواع الفطريات *M. canis* ، *T. mentagrophytes* ، *A. fumigatus* و *R. stolinfer* تبينت القدرة التثبيطة حيث كانت اقطار التثبيط 20 ، 18 ، 20 و 19 ملم على التوالي عند درجة حرارة 30°م. اما عند تغيير درجات الحرارة المستخدمة في تنمية هذا النوع من البكتريا فقد بينت النتائج ان افضل درجة حرارة ملائمة لحصول التثبيط كانت عند 35°م وباقطار تثبيط عند 25 ، 28 ، 26 و 27 ملم على التوالي. كما تبين ايضا ان افضل قيمة من الاس الهيدروجيني لحصول اكفا قدرة تثبيطية ضد انواع الفطريات هي عند قيمة pH 5.5 وكانت عند اقطار مناطق تثبيط 28 ، 32 ، 30 و 30 ملم على التوالي.

الكلمات المفتاحية:
الفاعلية التثبيطية ، بكتريا *Bifidobacterium bifidus* ، الفطريات المرضية .

للمراسلة :
لؤي برهان مصطفى محمد
كلية التربية– قسم علوم الحياة– جامعة تكريت – **العراق**

Inhibition Effect of *Bifidobacterium bifidus* Against Some Locally Isolates of Pathogenic Fungi Species

Luay B. Mustafa
Department of Biology- College of Education - Tikrit University

ABSTRACT

Key words: Inhibition Effect, *Bifidobacterium bifidus*, Pathogenic Fungi Species.

Correspondence:
Luay B. Mustafa
Department of Biology- College of Education - Tikrit University- **IRAQ**

The aims of this study isolation and identification of *Bifidobacterium bifidus* from dairy sources samples and tests the ability of inhibition effect isolates at different temperatures and pH levels against some locally isolates of pathogenic fungi species. The results was indicated that ability to isolates five species of pathogenic fungi from different sources and the identification was appear as *Microsporum canis, Trichophyton mentagrophytes, Aspergillus fumigatus* and *Rhizopus stolinfer* species**.** The highest inhibition effect against the above mentioned fungi was shown when the temperature was at 35°C and the diameter of inhibition zone with the *M. canis, T. mentagrophytes, A. fumigatus* and *R. stolonifer* were at 25, 28, 26 and 27 mm respectively. While the effects of the pH levels was appear in a highest effects in the 5.5 levels, and the diameter of inhibition zone for above mention fungi were became at 28 , 32 , 30 and 30 mm respectively.

المقدمة Introduction :

تتصف بكتريا *Bif. Bifidus* بانها موجبة لصبغة كرام غير متحركة غير مكونة للابواغ اشكالها متغيرة قد تكون بشكل عصيات قصيرة نحيفة او بيضوية او عصوية طويلة لاهوائية تتواجد بشكل رئيسي كنبيت طبيعي في القناة الهضمية للانسان والحيوان وهي غير مرضية، تعد بكتريا *Bif. bifidus* من المجاميع الرئيسية المستخدمة كمعززات حيوية، (Wood

و Holzapfel، 1995) وكلمة المعزز (Probiotic) تتضمن مقطعين الاول هو (Pro) الذي يعني لاجل والثاني (biotic) ويعني الحياة والكلمة يونانية الاصل وتعني من اجل الحياة، لهذه المعززات اهمية كبيرة في التاثير التضادي بين الاحياء ودور مهم في السيطرة الاحيائية (Biological control)، مما جعلها تحظى باهتمام الباحثين الذين حاولوا ومازالوا يحاولون الافادة من هذا التاثير بما يخدم الانسان والحيوان (Miles و Bootwala، 1995 و Susckovic وآخرون ، 2001).

المعززات الحيوية تعمل على خفض مستوى الكولسترول بالدم وتنشيط الجهاز المناعي وذات تاثير مثبط للفعالية السرطانية من خلال اختزال فعالية الانزيمات التي تفرزها الاحياء المجهرية في المنطقة المعوية المشجعة لتكوين الخلايا السرطانية، كما وتعمل على خفض الاس الهيدروجيني للوسط بسبب الحوامض العضوية التي تنتجها كما إن مستويات الإنتاج من المعززات الحيوية يعتمد كثيرا على نوعية السلالة والعوامل البيئية النامية فيها وطبيعة الوسط (Suskovic وجماعته، 2001 و Dinakar و Mistry ، 1994 و Lankaputhra و Shah ، 1995).

تمتلك انواع هذه البكتريا العديد من الاليات التي تظهر من خلالها تاثيراتها المفيدة من خلال قابليتها على انتاج عدد من المركبات والمضادات الحيوية والحوامض العضوية ذات الفعالية التضادية مثل حامض اللاكتيك Lactic acid والاستيك Acetic acid فضلا عن أنتاج مواد أخرى مثل بيروكسيد الهيدروجين (H_2O_2) ، حامض الفورميك (Formic acid) ، حامض البروبيونك (Probionic acid) ، والبكتريوسينات ، وتعزى اليه تثبيط الفطريات الى مقدرة هذه البكتريا على انتاج انزيمات تعمل على تحليل الجدران الخلوية للفطريات وايضا عن طريق التنافس على المغذيات الموجودة في الوسط (Adams و Nicolaides ، 1997 و Thomas و اخرون ، 1997 و Salam و Antony ، 1993).

اهتم الباحثون من جهة أخرى بالفطريات (Fungi) وذلك لقدرتها على أنتاج مركبات أيضية سامة تسببت في حصول كوارث صحية نتجت عن امراضية الفطريات أو سمومها المنتجة والتي أودت بحياة الآلاف من البشر والحيوانات (Denning ، 1995).

فمثلا النوعين *M. canis* و *T. mentagrophytes* هما المسبب الرئيسي للعديد من الامراض مثل سعفة الجسم الحلقية (Tinea corporis) وسعفة الراس (Tinea capitis) وتمتلك هذه الفطريات القابلية على افراز انزيمات قادرة على تحليل واذابة الكيراتين المتمثلة بالجلد والشعر والاظافر (Jochen و Yvonne ، 2005).

اما الفطر *A. fumigatus* فيسبب طيفا واسعا من الامراض الرئوية والاصابة بهذا الفطر تسبب ما يعرف بالـ Aspergilloma حيث تتكون كرة من العفن في التجاويف التي حدثت في الرئة نتيجة اصابة سابقة بالسل او اصابة فيروسة، وقد يتسبب الفطر *A. fumigatus* بخثرة دموية اذا ما دخل مجرى الدم ووصل الى الاعضاء الاخرى مثل القلب والدماغ (Ines *et al* ، 2011 و Artico وآخرون ، 1997 و Alan و Sugar ، 2001).

يسبب الفطر *R. stolinfer* سنويا خسائر كبيرة بسبب اتلافه للمواد الغذائية وتحديدا الخبز والفواكه والمعجنات ويسبب مايسمى بعفن الخبز الاسود (Skory واخرون ، 1998).

ونظراً لانتشار هذه الفطريات والارتفاع السريع في معدلات الإصابة وخطورة سمومها والخسائر الاقتصادية التي تتسبب بها فقد اهتمت العديد من البحوث في مجال تصنيع الأدوية المضادة لهذه الإصابات، لكن وبسبب الاستعمال المستمر لهذه المضادات الفطرية ظهرت سلالات مقاومة لها ، وكان الاتجاه في بعض الدراسات إلى التقليل من استعمال الأدوية الكيماوية المنتجة صناعيةً بغية إيجاد بدائل كاستعمال بعض الأحياء المجهرية المفيدة ونتيجة لهذه الأبحاث فقد برز استعمال أنواع من الاحياء المجهرية في معالجة العديد من الأمراض وذلك لامتلاكها آليات تعمل من خلالها على تثبيط نمو الأحياء المجهرية الاخرى بفعل ما تنتجه من مواد ايضية مختلفة (Rolf ، 2000).

اعتمادا على ماذكر فان الدراسة هدفت الى محاولة عزل النوع البكتيري *Bif. bifidus* وكذلك انواع من الفطريات المرضية ودراسة قابلية النوع البكتيري التثبيطية ضد انواع الفطريات المعزولة وكذلك التوصل الى معرفة افضل درجة حرارة واس هيدروجيني يحصل عنده التثبيط الاعلى.

مواد وطرائق العمل:

عزل وتشخيص بكتريا *Bifidobacterium bifidus*: جمعت خمسة نماذج من الألبان المتخمرة من كل من مناطق كركوك ، تكريت وبغداد في دوارق معقمة حجم 250 مل ووضعت في الثلاجة لحين إستخدامها في عزل البكتريا. عزل نوع البكتريا *Bifidobacterium bifidus* من عينات الألبان المشار اليها بعد تخفيفها باستخدام المحلول الملحي وزرعها على الوسط الزرعي De Man Regosa Sharpe Agar (MRS) Agar الصلب وبالطريقة اللاهوائية باستخدام حجرة الزرع اللاهوائي (Candle jar). وتم التشخيص باتباع الفحوصات الزرعية والمجهرية والاختبارات الكيموحيوية المعتمدة من قبل (Wood و Holzapfel، 1995).

محلول ثابت العكرة القياسي McFarland Standard Solution : تم تحضير محلول ماكفرلاند رقم 0.5 الذي تكون من محلولين :

أ- حضر بإذابة 1.75 غم من كلوريد الباريوم في 100 مللتر من الماء المقطر .

ب- حضر بإضافة 1 مل من حامض الكبريتيك المركز إلى 100 مل من الماء المقطر .

عند الاستعمال أضيف 0.5 مللتر محلول أ إلى 99.5 مللتر من محلول ب ، وضع المحلول في أنبوبة زجاجية ذات غطاء محكم لمنع التبخر، واستعمل المحلول في المقارنة لإعطاء عدد تقريبي للنمو الجرثومي مقدراه 1.5×10^8 خلية / مللتر، إذ أن عكورة هذا المحلول مطابقة للكثافة الخلوية لمعلق الجراثيم عند الأعداد المشار إليها (Barry، 1979).

عزل وتشخيص الفطريات: تم عزل الفطريات من التربة وذلك بعد أن تم عمل تخافيف متسلسلة منها واخذ 1 مل من التخفيف 10^{-5} ونقلت إلى الأطباق المعقمة الحاوية على وسط Malt Extract Agar ، Potato Dextrose Agar (PDA) Agar و Sabouraud`S Dextrose Agar وتم التحريك بشكل دائري للتجانس وبعد تصلب الاكار حضنت بدرجة 30°م لمدة 5 أيام. شخصت الفطريات عن طريق الشكل الخارجي للمستعمرات وبطريقة الفحص المجهري المباشر وذلك بعد أن تم عمل شرائح زجاجية من كل منها والتي وضع فيها أجزاء الفطر من المايسيليوم أو الكونيديا واستخدمت المفاتيح التصنيفية المذكورة في Samson وآخرون ، (1996) و Winn وآخرون ، (2006).

تحضير معلق الفطريات: بعد أن تم تنمية أنواع الفطريات على الأوساط المناسبة لنمو كل منها ولفترة 7 أيام تم الحصول منها على المعلق الفطري الكامل باستخدام المحلول الملحي الفسيولوجي الذي حضر بإذابة (0.85) غم من كلوريد الصوديوم في (100) مل من الماء **المقطر** ووضع في انابيب وعقم بدرجة حرارة (121°) م وضغط 15 باوند/إنج2 لمدة (15) دقيقة (Atlas , 1995). ثم نقل ملئ ناقل من مزرعة حديثة العمر الى انابيب الاختبار ورجت جيدا حتى حصل على عالق فطري متجانس، وكان التحضير أنيا عند الاستعمال.

اختبار قابلية الـ*Bif. bifidus* التثبيطية ضد الفطريات: استخدمت الخلايا الحية من هذا النوع بعد أن تم عمل الحفر في الأطباق وبقطر 6 ملم وأضيف فيها 50 مايكروليتر من معلق الخلايا وبأعداد 1.5×10^8 خلية / مللتر، نشرت أنواع الفطريات على سطح وسط Muller Hinton Agar في طباق بتري معقمة وتركت الأطباق على درجة حرارة المختبر لمدة ساعة للتخلص من الرطوبة الزائدة على سطح الوسط وتم التحضين على 30°م لمدة 5 أيام.

قياس الفعالية التثبيطية لأنواع بكتريا حامض اللاكتيك ضد الفطريات: استعملت أربعة أنواع من الفطريات لبيان مدى فعالية بكتريا *Bif. bifidus* التثبيطية ضدها وكما جاء في الطريقة الموصوفة في (Winn وآخرون ، 2006) التي استعملت فيها الحفر Wells وبقطر 6 ملم وكما يلي :

تحديد القدرة التثبيطية عند قيم من الـ pH مختلفة: استخدمت طريقة التثبيط كما في الخطوة السابقة ماعدا إن التحضين كان عند قيم من الـ pH 5.5 ، 6.5 و 7.5 ودرجة حرارة 30°م لمدة 5 أيام.

تحديد القدرة التثبيطية عند درجات حرارة مختلفة: استخدمت طريقة التثبيط كما في الخطوة السابقة ماعدا إن التحضين كان على 25 ، 30 و 35° م عند 6.5 pH لمدة 5 أيام.

تم تقدير القابلية التثبيطية للخلايا البكتيرية في الخطوتين السابقتين ضد الفطريات من خلال قياس قطر منطقة التثبيط بالمليمتر حول كل حفرة وكانت التنمية بمعدل طبقين من كل فطر.

التحليل الإحصائي: تم تنفيذ التجربة بموجب التصميم العشوائي الكامل (Completely Randomized Design)، واجري تحليل التباين باستخدام النموذج الخطي العام (General Linear Model) ، ضمن البرنامج الإحصائي الجاهز SAS ، (2001). وفي حالة وجود فروقات معنوية بين متوسطات المتغيرات استخدم اختبار دنكن Duncan test، (1955) لتحديد معنوية الفروقات مابين المتوسطات المختلفة عند مستوى احتمالية 0.05 .

النتائج والمناقشة:

1- الصفات الشكلية لبكتريا الـــــ *Bif. bifidus* :

ظهرت لون المستعمرات عند تنميتها في وسط الـــ MRS agar بلون قاتم وذات شكل محدب دائري في الظروف اللاهوائية، معظم المستعمرات قريبة من السطح وقليل منها تحت السطح وبحجم اصغر وهذا يطابق وصف (DuBey و Mistry ، 1996) لهذه البكتريا عند تنميتها في وسط الـــــMRS agar في ظروف لاهوائية.

2- تشخيص انواع الفطريات:

اظهرت الدراسة ان الانواع الفطرية كانت *Microsporum canis*، *Trichophyton mentagrophytes* ، *Aspergillus fumigatus* و *Rhizopus stolinfer* وذلك من خلال الصفات الظاهرية التي تبينت عند تنميتها على الاوساط الزرعية الخاصة بها وهي Malt Extract Agar ، Potato Dextrose Agar ، Sabouraud`S Dextrose Agar و Rose Bengal Agar بعد إتباع الخطوات المثبتة في المفتاح التصنيفي في (Samson وآخرون ، 1996) وكذلك بعد المقارنة مع نماذجها في Maza وآخرون ، (1997).

تأثير التغير في درجة الحرارة في القدرة التثبيطية لأنواع بكتريا حامض اللاكتيك ضد بعض أنواع الفطريات:

الجدول(1) يوضح تأثير التغير في درجة حرارة التنمية عند 25 ، 30 و 35 م في مستوى التداخل بين بكتريا *Bif. bifidus* وبعض أنواع الفطريات المرضية.

بينت نتائج التنمية عند 25°م لنوع البكتريا *Bif. bifidus* والفطريات في إن هذا النوع من البكتريا كانت اقطار التثبيط له عند ($P < 0.05$) ضد أنواع الفطريات *M. canis* ، *T. mentagrophytes* ، *A. fumigatus* و *R. stolinfer* هي 15 ، 13 ، 14 و 14 ملم على التوالي. وقد استمر هذا النوع من البكتريا بالتثبيط عند زيادة درجة الحرارة الى30°م حيث كانت أقطار منطقة التثبيط 20 ، 18 ، 20 و 19 ملم على التوالي للأنواع الفطرية.

وعندما ارتفعت درجة حرارة التنمية إلى 35°م فقد اختلفت نتائج القدرة ضد الأنواع الفطرية *M. canis* ، *T. mentagrophytes* ، *A. fumigtus* و *R. stolonifer* ، حيث كانت أقطار منطقة التثبيط عند 25 ، 28 ، 26 و 27 ملم على التوالي.

تأثير التغير في قيم الـpH في القدرة التثبيطية لأنواع من بكتريا حامض اللاكتيك ضد أنواع من الفطريات:

إن تأثير التغير في قيم الـpH عند 5.5 ، 6.5 و 7.5 في القدرة التثبيطية بين أنواع بكتريا حامض اللاكتيك وأنواع من الفطريات المرضية قد تم توضيحها في الجدول (2).

بينت النتائج عند ($P < 0.05$) ومستوى pH 5.5 ضد الأنواع من الفطريات *M. canis* ، *T. mentagrophytes* ، *A. fumigtus* و *R. stolonifer* حيث كانت أقطار مناطق التثبيط هي 28 ، 32 ، 30 و 30 ملم على التوالي. وعندما ازداد مستوى الـpH إلى 6.5 فقد كانت القدرة التثبيطية هي 22 ، 26 ، 25 و 26 ملم على التوالي ، أما في حالة زيادة قيم الـpH إلى 7.5 فأن القدرة التثبيطية قد انخفضت بشكل عام مقارنة مع المستويات السابقة حيث كانت 22 ، 22 ، 24 و 20 ملم (الجدولان 1 و 2) .

التأثير التثبيطي لبكتريا الـــــ *Bif. bifidus* :

اظهرت النتائج بأن هذا النوع من البكتريا كان له فعالية تثبيطية واضحة ضد أنواع الفطريات المذكورة باختلاف ظروف التنمية حيث ظهر افضل قطر للتثبيط عند درجة حرارة 35°م و5.5 pH، ويعتقد ان الفاعلية التثبيطية لهذا النوع يمكن ان تعود الى قدرته على التنوع في انتاج المواد الايضية المثبطة لانواع الفطريات مثل الحوامض العضوية ووجود حوامض دهنية قصيرة السلسلة من جهة وقدرتها على انتاج مواد ذات تاثير تثبيطي واسع المدى تجاه الفطريات حيث يتمحور فعل هذه الحوامض على تغيير الأس الهيدروجيني للوسط وبالتالي زيادة مستوى الحامضية داخل سايتوبلازم الخلية مما يسبب مسخ البروتينات والأنزيمات الخلوية وبالتالي موت الخلية (Piard و Desmazeaud ، 1991 و Naidu وآخرون ، 1999 و Lievin وآخرون ، 2000).

إن الفعل التثبيطي لهذا الحامض لايقتصر على خفض الأس الهيدروجيني للوسط بل يعتمد على امتلاك حامض اللاكتيك شكلين متأينين في المحاليل المائية أحدهما متفكك (Dissociation) والأخر غير متفكك (Undissociation) وان الشكل غير المتفكك للحوامض الضعيفة ينتشر وبصورة حرة خلال الغشاء الخلوي إلى السايتوبلازم واعتمادا على مستوى الأس الهيدروجيني الداخل خلوي فإنه ينتقل إلى الشكل المتفكك داخل الخلية مطلقا أيونات H^+ حرة والتي ستسبب في زيادة حامضية السايتوبلازم (Axelsson ، 1998). وان الشكل غير المتفكك للجزيئة سيؤدي إلى تأثير تضادي أخر إضافة إلى تأثيره على حامضية الوسط وذلك من خلال تحطيم الآلية الكيموكهربائية لانتقال البروتونات مسببا تغير في نفاذية غشاء الخلية وتحطيم نظام انتقال البروتونات وبالتالي تغير نفاذية غشاء الخلية وتحطيم نظام انتقال المواد عبر الغشاء وكما ذكر Adams و Nicolades ، (1997).

وقد لاحظ Helander وآخرون، (1997) إن الحامض بشكله غير المتفكك يملك تأثيرا يفوق (10 – 100) مرة الشكل الأخر وذلك لقدرته في اختراق الغشاء السايتوبلازمي للخلية بفعل الخاصية المحبة للدهون (Lipophilic) ومن خلال الآلية التي وضحت أعلاه فإن حامض اللاكتيك يعد المنتج الحامضي الأبرز والأكثر فعالية ضد العديد من الكائنات الأخرى (Germicidal و Fungicidal) وقد اعتمد كأحد العوامل ضد ميكروبية من قبل منظمة الغذاء والدواء العالمية لقدرته في تثبيط العديد من الميكروبات (Yang ، 2000).

جدول (1): التأثير التثبيطي لنوع البكتريا *Bifidobacterium bifidus* بالملم ضد بعض أنواع الفطريات بعد تنميتها على درجات حرارية مختلفة لمدة 72 ساعة ومستوى pH 6.5 .

أنواع الفطريات المرضية / نوع البكتريا	*Microsporum canis*	*Trichophyton mentagrophytes*	*Aspergillus fumigates*	*Rhizopus stolinfer*	*Microsporum canis*	*Trichophyton mentagrophytes*	*Aspergillus fumigates*	*Rhizopus stolinfer*	*Microsporum canis*	*Trichophyton mentagrophytes*	*Aspergillus fumigates*	*Rhizopus stolinfer*
	درجـة حرارة 25 ْم			درجـة حرارة 30 ْم				درجـة حرارة 35 ْم				
	قطر منطقة التثبيط (ملم)											
Bifidobacterium bifidus	15 ±0.5 a	13 ±0.2 b	14 ±0.5 a	14 ±0.5 a	20 ±0.6 e	18 ±0.1 a	20 ±0.6 e	19 ±0.6 e	25 ±1.4 b	28 ±1.1 c	26 ±1.4 a	27 ±0.2 b

d-a : الأحرف المختلفة في العمود الواحد تعني وجود اختلافات معنوية عند مستوى الاحتمالية 0.05 .

جدول (2): التأثير التثبيطي لنوع البكتريا *Bifidobacterium bifidus* بالملم ضد بعض أنواع الفطريات بعد تنميتها على 30 ْم لمدة 72 ساعة ومستويات مختلفة من الـ pH.

أنواع الفطريات المرضية / نوع البكتريا	*Microsporum canis*	*Trichophyton mentagrophytes*	*Aspergillus fumigates*	*Rhizopus stolinfer*	*Microsporum canis*	*Trichophyton mentagrophytes*	*Aspergillus fumigates*	*Rhizopus stolinfer*	*Microsporum canis*	*Trichophyton mentagrophytes*	*Aspergillus fumigates*	*Rhizopus stolinfer*
	مستوى 5.5 pH			مستوى 6.5 pH				مستوى 7.5 pH				
	قطر منطقة التثبيط (ملم)											
Bifidobacterium bifidus	28 ±2.0 b	32 ±2.2a	30 ±2.1 a	30 ±2.1 a	22 ±1.7 d	26 ±2.0 c	25 ±1.7 d	26 ±0.3 c	22 ±1.7 d	22 ±0.9 d	24 ±1.1 d	20 ±3.5 d

d-a : الأحرف المختلفة في العمود الواحد تعني وجود اختلافات معنوية عند مستوى الاحتمالية 0.05 .

ذكـــر Misshra و Lambert، (1996) انه يمكن لبكتريا الـــ***Bif. Bifidus*** ان تنتج مثبطات اخرى غير الحوامض العضوية مثل البكتريوسينات ونوع البكتريوسين الذي تنتجـــه بكتريا الـ***Bif. Bifidus*** هو البفدين (Bifidin) والذي يمتلك فعلا مشابها للمضادات الحيوية تمتلك البكتريوسينات التي تنتجها هذه البكتريا تأثيرات قاتلة على الخلايا من الأحياء المجهرية الحساسة لها وتعتمد فعاليتها على مستوى الأس الهيدروجيني في الوسط ، إذ أن انخفاضه في الوسط يزيد من قدرة تلك المركبات على الارتباط بجدران الخلايا الحساسة لها وزيادة شحنتها الموجبة وهذه تسبب تمزق الغشاء السايتوبلازمي وتدفق الأحماض الامينية والايونات الموجبة الشحنة إلى داخل الخلايا لحصول الخلل في الضغط الازمـــوزي للخلية ونضوح الماء ثم موتها ، (Hildeng-Hauge ، 1998 و Nes و Holo ، 2000 و Wan - Kyu، 1999).

وبناءً على النتائج المتحصل عليها يمكن استنتاج الاتي :

1- إن القابلية التثبيطية لنـوع البكتريا *Bifidobacterium bifidus* كـــانت ذا كفـــاءة عاليـــة فـــي تـــثبيط أنـــواع الفطريـــات المرضيـــة *Mycrosporium canis* و*Trichophyton mentagrophytes* و*Aspergillus fumigatus* و *Rhizopus stolinfer* المعزولة محليـــاً.

2- إن أفضل درجة حرارة تنمية لحصول أفضل تثبيط هي عند 35°م .

3- تبيـن أن الأس الهيدروجيني المفضل لحصـــول أكفـــأ تثبيط ضد أنـــواع الفطريـــات كـــان عنـــد pH 5.5 .

المصادر :

Adams, M.R. and Nicolaides , L. (1997). Review of the Sensitivity of different food borne Pathogens of fermentation. J. Food conrrel, 8(516):227-239.

Alan, M. and Suger, M.D. (2001). Clinical feature and diagnosis of lnvasire Aspergillosis, www. uptodate.com (800) 998-6374. May; 22.

Artico, M.; Pastor, F.S. and Polosa, M. (1997). Interacerebral Aspergillus abscess. Case reporte and review of the literature-Neur Surg Rev; 20:135.

Atlas, R. M. (1995). Laboratory Manual of Exprimentla Microbiology . Mosby-Yearbook, Inc., U.S.A.

Axelsson, L.T. (1998). Lactic acid bacteria: classification and Physiology. in: Lactic acid bacteria: microbiology and functional aspects, 2nd ed. Salminen, S. and A. Von Wright eds. Marcel Dekker Inc., New York, PP:1-72.

Barry, A. L. (1979). The Antimicrobic Susceptibility Test: Principles and practices. Lea and Febiger Philadelphia. USA.

Denning, J.p.; Morras, J.U. and Carren, A.M. (1995). Introduction to food-and airborne fungi. International Journal of food Microbiology. 50:25-27.

Dinakar, P. and V. Mistry. " Grwoth and viability of *Bifidobacterium bifidum* in Cheddar cheese " .J.Dairy Sci., 77:2854-2864, 1994.

DuBey, U.K. and V.Mistry. "Growth characteristics of *Bifidobacteria* in infant formula". J.Dairy Sci., 79: 1146-1155, 1996.

Duncan, D. B. (1955). Multiple Range and F. test. Biometric. 11:42.

Helander, I.M.; Von Wright, A. and Mattila-sandholm, T.M. (1997). Potential of lactic acid bacteria and novel antimicrobials against Gramnegative bacteria. Trends Food Sci Technol.

Hildeng-Hauge, H. (1998). Amphiphilic alpha-helices in membrane-permeabilizing bacteriocins of lactic acid bacteria. University of Oslo, Norway.

Ines, F.M.; Almedia,H.M.; Lourdesrdes, M.;Sara,M.O.;Santos,M.S.; Freitas, J.M.;Gasper, N.C.& Fernando, (2011). Mycobiot and aflatoxin B1 In feed forfarmed sea Bass.

Jochen, B. and Yvonne , G. (2005). Trichophyton ebroeum sp. Nov. isolated from human skin .J. Clin. Microbial ; 43(10): 5230-5237.

Lankaputhra, W.E.V. and N.P. Shah**.** "Survival of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidibacterium bifidum* ssp. In presence of acid and bile salts". Cultural dairy products journal, 3013, 1995.

Lievin, V. ; Peiffer, I. ; Hudault, S. ; Rochat, F. and Servin, A.L.2000. *Bifidibacterium* strains from resident infant human gastrointestinal microflora exert antimicrobial activity. GUT., Vol. 47, No.5, pp. 646-652

Maza, L.M.; Pezzlo, M.T. and Baron, E. (1997). Color Atlas of Diagnostic Microbiology, Mosby-Year Book. Inc. St. Louis. Missouri 63146, pp. 119-150.

Miles, R.D. and Bootwala, S.M. (1991). Direct-Feed Microbials in animal production " Avian", In: Direct-Feed Microbials in animal production. Arevico of literature. National Feed Ingredients Association. West Des Moines, IA.

Misshra, C. and Lambert, J. (1996). Production of antimicrobial substances by probiotics. Asia pacific. J. Clin. Nutr., 5: 20-24.

Naidu, A.S.; Bidlack, W.R. and Clemens, R.A. (1999). Probiotic spectra of lactic acid bacteria (LAB). Crit. Rev. Food Sci, Nutr., 38(1): 13-126.

Nes, I.F. and Holo, H. (2000). Class ∏ antimicrobial peptides from Lactic acid bacteria. Biopolymers 55:50-61.

Piard , J.C. and Desmazeaud, M. (1991). Inhibiting factors Produced by lactic acid bacteria: 1.Oxygen metabolites and end Products from catabolism. Hait, 71: 525-541. (cited from Piard and Desmazeaud, 1992).

Rolf, R.D. (2000). The role of probiotic cultures in the control of gastrointestinal health .J. Nutr., 130:396-402.

Salam, A.I. and B. Antony**.** "Inhibition of *E. coli* by *Bifidobacterium* " J. of food protection. (56) pp: 713-715, 1993.

Samson, R. A.; Hoekstra, E.S.; Frisrad, C. and Filterborg, O. (1996). Introduction of food borue fungi. 5th Ed. Central burean voor Schimmelcultures born. Delfet. Netherland.

SAS Version, Statistical Analysis System (2001). SAS Institute Inc., Cary, NC. 27512-8000, U.S.A.

Skory, D.; Freer ,N. and Bothast, J. (1998).Production of L-Lactic acid by Rhizopus oryzae under oxygen limiting condition. Agricultural Research Service, (Tektran)(Abst).

Susckovic, J.; Kos, B.; Goreta, J. and Matosic, S. (2001) Role of lactic acid bacteria and Bifidiobacteria in Sunbiotic effect food. Technol. Biotechnol ., 39(3): 227-235.

Thomas, L.V.; Wimpenny, J.W.T. and Barker, G.C. (1997). Spatial interactions between subsurface bacterial colonies in a model system: aterritory model describing the initiation of Listeria monocytogenes by a nisin- producing lactic acid bacteria.

Wan - Kyu L., L. Sange - Myeong , L.Soo-Jin, B.Hyoung - Suk and B. young - Jin. " Effect of *Bifidibacterium longum* Hy 8001. Administration on human fecal bacterial enzymes and microflora " in (sixth symposium on Lactic acid bacteria, Genetics Metabolism and Application. (Book of Abstract), 1999.

Winn, J. W.; Allen, S.; Janda, W.; Koneman, E.; Procop, G.; Schreckenberger, P. and Woods, G. (2006). Konemans Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 6th ed. Lippincott Williams and Wilkins. U.S.A.

Wood, B.J. and Holzapfel, W.H.1995. The General of Lactic Acid Bacteria. Blackie A and P.

Yang. Z. (2000). Antimicrobial compounds and extra cellular Poly sacharides produced by lactic acid bacteria: Structures and properties. Department of food Technology , University of Helsinki.