دراسة الفاعلية الضد بكتيرية والمضادة للأكسدة للايض الثانوي المعزول من الفطر *Penicilliumsp* المعزول من التربة العراقية

م.م. مهدي سيد شخينب

الخلاصة

هدفت الدراسة الى عزل وتشخيص الفطر*Penicilliumsp*من التربة المحلية وتنقيته وتنميته في وسط PDB واستخلص الايض الثانويباستخدام المذيب اثيل استيتللحصول على الايض الايض الفطري. وقد اظهر هذا المستخلص فعالية واضحة تجاه الانواع البكتيريه *Escherichia coli* و *Staphylococcus aureusStreptococcus pyogenes*,*Psedomonasaeruginosa*باستخدام تقنيه الانتشار بالحفر وكانت اقطار مناطق التثبيط للمستخلص الفطري 31.5 ملم تجاه *S.aureus* و29.5ملم تجاه *E.coli*،30.0 ملم تجاه*K.pneumoniae*و 17.0 ملم تجاه*S.pyogenes* فيما لم تتأثر العزلة .*Ps.aeruginosa*وكشف اختبار لتركيز المثبط الادنى (MIC) للمستخلص الفطري اقل تركيز مثبط تجاة العزلة*S.aureus* بلغ3.12ميكروغرام/ملوكذلك اقل تركيز قاتل(MBC) ايضا تجاه العزلة *S.aureus* بلغ 6.25ميكروغرام/مل.كما.كما لم يظهر المستخلص الفطري أي سميه تجاه كريات الدم الحمر للإنسان. اظهرت الكشوفات الكيميائية للمستخلص الفطري احتواءه على التانيناتوالفينولات وعدم احتواءه على احماض امينيه وفلافونيدات.اختبرت الفعالية ضد تأكسدية للمستخلص الفطري من خلال قياس قابليتها على اختزال أيونات الحديد الثنائي (Fe^{Π}) وقد اظهرت نسب تثبيط عالية.ان الايض المنتج من فطرياتالتربة يمكن ان يكون مصدرا بديلا للمضادات البكتيرية التجارية .

الكلمات المفتاحية: الفعالية الضد بكتيرية، المستخلص الفطري، البكتريا المرضية، السمية الخلوية.

المقدمة

تعد الفطريات من أهم الكائناتالحيه الدقيقة في أنتاج الايوض الثانوية والتي هي عباره عن مركبات ناتجة في أوساط زرعية كنواتج خارج خلوية وقد تكون لها فوائد أخرى ، وأن نوعية وكمية أنتاج الايوض الثانوية يتأثر بعوامل عده منها نوع الفطر وطبيعة الوسط الغذائي ودرجة الحرارة والحامضية أضافه الى وجود بعض المحفزات (Demain,1986) . فقد عزلت وشخصت العديد من الايوض الثانوية لعدد من الانواع الفطرية النامية في أوساط زرعية والتي لها فعالية مثبطة لاحياء مجهرية أخرى لاسيما البكتريا (Scarselletti and Faull ,1994 ; Forche*et al* .,1991)ويقدر الان عدد الايوضالميكروبيه المعروفة الى مايقارب50.000 نوعا"كماتنتج الأحياء المجهرية أيوض ثانويه (كالمضادات الحيوية والسموم والقلويداتوالستيرويدات وغيرها)خلال مرحلة النمو الطردي للخلية Stationary phase او خلال طور الاستقرار ., *et al* Mohamed) 2007).وتلعب هذه المركبات دورا" هاما" في حياتية الفطر فهي تسهم في حدوث الاصابة الفطرية للمضيف النباتي أو الحيواني أو قد تسهم كوسائل دفاعية ضد الكائنات الحية الاخرى في البيئة لأدامة حياة الفطر اذ أن المركبات الحيوية المستخلصة من الفطريات تتفاوت في مدى فعاليتها لتثبيط البكتريا أو الممرضات الفطرية وهذا يعتمد على طبيعة المركب الناتج في الوسط الزرعي والظروف التي ينمى فيها الفطر(Anke,1989) . ومن المعروف ان الايوض الثانوية تنتجها العديد من النباتات والبكتريا وكذلك الفطريات وتصنف حسب تركيبها الكيميائي وخواصها الفيزيائية الى , Alkaloides, Terpenoide , polyketide Organic acid Phenols, Steriodes , Saponins , Peptides , Ethers , Oils وغيرها (Demain and Fang ,2000).أن المركبات الحيوية المستخلصة من الفطريات تتفاوت في مدى فعاليتها لتثبيط البكتريا وهذا يعتمد على طبيعة المركب الناتج في الوسط الزرعي والظروف التي ينمى فيها الفطر(Anke,1989)وبسبب ازدياد مقاومة سلالات من البكتريا للمضادات الحيويةالمستعملة ، فقد توالت الدراسات والأبحاث حول اكتشاف مضاداتعديده بعد اختبار فعاليتها الحيوية وتشخيصها ومعرفة تركيبها الكيميائي(Stephen and Horace , 2000) .

المواد وطرائق العمل

عـــــزل الفطريـات

تم جمع عينات تـــــــرب زراعية من مناطق مختلفة في ميسان خـــــــلال عام2016 وذلك بإزاحة1 سم من الطبقـــــة السطحيـة واخذت العينات على عمق 2- 5 سم ووضـــعت في اكياس بلاســـتيكية نظيفـــــة وجـــــلبت الى الـمختبراستخدمت طريقة التخفيـف ونقل ١ ملمن التخفيف10^{-3} ووضع في اطباق بتري معقمة وأضيف اليهـا الوسط الزرعي(PDA) الذائب والمعقم وحرك حركـة رحوية لتوزيع العينة بشكل متجانس ثم ترك ليتصلب بدرجة حرارة الغرفة ثم حضنت الاطباق في الحاضنة بدرجـــــــة حرارة 25 ± 2 °م ولمدة 5-7 ايام . استخدمت ثلاث مكررات لكل تـخفيف . فحصـت الاطـباق بـواســـــطة مجهـر التشريح وأخُـــذت قطعه من النمو الـــــفطري وزرعت على وســـــط (PDA) للحصول على مزارع نـــقيه ثم نقلت اجزاء من المستعمرات المعزولـــــــة الى اوســـــاط مائلـــة slant tubes وحضنت بدرجة حرارة 25 ± 2 º م لمدة 5 – 7 ايام ثـــــم حفظت في الثـــــلاجة بدرجة 8 ºم لحين الاستخدام ، لغرض تصنيف الانـــــــــــــواع المعـزولـــــــــة وتشخـيصها نقل جـــــزء من المستعمرات الى شـــــريحة زجاجية نـظيفة حـــــاوية على صبغة Lacto phenol Blueوشـــــــخصت العـــــــــزلات الفطرية المنقـــــــــاة حســـــــب مصـــــــادر تصنيفيـــــــــه (Ellis,1971, 1976;Domsch *et* . (*al.*,1980

أنماء الفطر واستخلاص المواد الفعالة من راشح المزرعة الفطرية

نمي الفطر على وسط مرق البطاطا الدكستروز(Potato dextrose Broth (PDB كوسط للتخمر وذلك لغرض الحصول على المركبات الأيضية الفعالة حيث لقحت دوارق زجاجية سعة 500مل حاوية على 300 مل من الوسط (PDB) بـ5 أقراص مأخوذة بواسطة ثاقب الفلين من مستعمرة الفطر النقية ثم حضنت الدوارق في درجة حرارة 25°م لمدة 10 أيام .

بـعد انتهاء فترة الحضن فصل راشـح مزرعـة الفطر باستخداماوراقترشيحنـوعWhatman No.1ثم بالطرد المركـزي بمعدل 5000 دورة لمـدة 15 دقيقة ثم ثم عـدل الاس الهيدروجيني للراشـح الـى pH = 3بإضافةHCl0.1 N ، بعدها اسـتخلصت المواد الفعالة ثـلاث مرات من الراشـح بإضافة كمية من المذيب العضوي خـــلات الاثيل Ethyl acetate يعادل حجم الراشح باسـتخدام قمع الفصـل Separating funnel مع الـرج لمدة 10 دقائق . جمعت الطبقة العضـوية ووضعت في اطباق زجاجية وتـركت تتبخر

بدرجة حـرارة 45 °م ثم جمعت المستخلصات وحفظت في قنانـــي زجاجيه معقمـــه ومحكمـة الغلق في الثلاجة بدرجة حراره 8°م لحين الاستعمال (Kim *et al* ,.1999).

السلالات البكتيرية المرضيـة المختبرة

استخدمت خمسة انواع بكتيرية والتي تم الحصول عليها من مختبر الاحياء المجهرية في كلية الصيدلة في جامعة ميسان

Escherichia coli, Streptococcus pyogenes,Staphylococcus aureus,Klebsiellapneumoniae,Psedomonasaeruginosa

اللقـاح البكتـيري

حضر عالق البكتريا بعد تنميتها على وسط NA لمدة ٢٤ ساعة بنقل عدد من المستعمرات الى ٥ مل من الماء المقطر وعدل التركيز بحيث يكون 10^6خلية / مل باستخدام مقياس انبوبة ماكفارلند .

اختبار الفعاليـة الحيوية للمواد الفعالة المستخلصة مـن الفطر

اعتمدت طريقة الانتشار من الأقراص على الوسط الصلب Disk diffusion method Agarاذ حضرت الاقراص المشبعة بالمادة الخام اعتمادا على طريقة Gould and Bowie(1952)حيث وزن 3 ملغم من المستخلص الخام للفطر و أذيب في 1مـل من المذيب العضوي ثنائي مثيل أوكسيد الكبريت Dimethyl sulphoxide(DMSO)(20%) ووضع في القنينة الحاوية على 100 قرص ثم تركت القنينة مفتوحة في درجة حرارة المختبر ليجف المذيب وليصبح تركيز المستخلص المحمل على كل قرص 30مايكروغرام / قرص ، ثم خزنت هذه الأقراص في الثلاجة لحين الأستعمال .وضعت الاقراص المشبعة بالمادة الخام على أطباق بتري حاوية على وسط MHAوملقحة بـِ 0.1 مل من العالق البكتيري لكل سلالة من سلالات البكتريا المختبرة والمنشورة بواسطة ناشر زجاجي ،ثم حضنت الاطباق في الحاضنة وتحت درجة حرارة 37 °م ولمدة 24 ساعة بعدها فحصت الاطباق وقيست الفعالية التثبيطية بقياس قطر منطقة التثبيط حول كل قرص بالمليمتر .

تحديد التركيز المثبط الادنى والقاتل الادنى للمواد الفعالة المستخلصة مـن الفطر

قدر التركيز المثبط الأدنى Minimum Inhibition Concentration للسلالات البكتيرية من خلال اجراء تخفيف ثنائي متسلسل للمادة المضادة في أطباق بلاستيكية Microdilution trays حاوية على ٩٦ حفرة Cupped button well باتباع الطريقة الموصوفة من قبل (1987) ,.Schaude*et al* . وكما يلي:

١. نقل ٥٠ مايكروليتر من الماء المقطر المعقم في جميع الحفر باستخدام الماصة الدقيقة .
٢. أضيف ٥٠ مايكروليتر من محلول المستخلص الفطري (٨٠٠ مايكروغرام /مل) في الحفرة الأولى من الصف المناسب في صفين، وللحصول على ١٢ تخفيفاً ثنائياً نقل ٥٠ مايكروليتر من حفرة الى اخرى في الصف نفسه .
٣. نقل ٥٠ مايكروليتر من المعلق البكتيري ١ × 10^6 خلية / مل لجميع الحفر ليصبح التركيز النهائي ٢ × 10^5خلية / مل .
٤. اضيف ١٠٠ مايكروليتر من وسط MHB المضاعف التركيز للحفر جميعها لتعطي تركيزاً نهائياً للمادة المستخلصة يتراوح بين 0.05 – ١٠٠ مايكروغرام/ مل .
٥. غطيت الأطباق البلاستيكية ووضعت بدرجة حرارة ٣٧ ْ م ولمدة ١–٣ أيام ، حدد التركيز المثبط الأدنى على اساس اخر حفرة خالية من النمو .
٦. حدد التركيز القاتل الأدنى MFC لكل مادة على اساس اوطأ تركيز مثبط لايظهر فيه نمو وحدد من خلال اخذ مسحة من MIC ومن التراكيز التي تليه ونقلت على وسط MHA وحضنت بدرجة ٣٧ ْ م .

اختبار السمية الخلوية للمواد الفعالة المستخلصة من الفطر

أستعملت كريات الدم الحمر للأنسان لتحديد السمية الخلوية للمستخلص الفطري وحسب طريقة Xian– guo and Ursula (1994) . إذ حُضرِت التراكيز التالية (400 ، 200 ، 100، 50 ، 25) مايكروغرام / مل من مستخلص كل فطر في محلول الفوسفات المنظم الملحي Phosphate buffer saline وأستخدم معامل سيطرة موجب يحتوي على ماء حنفية ومعامل سيطرة سالب يحتوي على phosphate buffer saline فقط . بعدها وضع 0.8 مل من كل تخفيف في أنبوبة أختبار معقمة ، وأضيف لكل أنبوبة 0.2 مل من الدم ليصبح الحجم النهائي 1 مل لكل أنبوبة . حضنت الانابيب في الحاضنة بدرجة حرارة 37º م لمدة ثلاث ساعات ، فحصت الانابيب لملاحظة التحلل الدموي Hemolysis وسجلت النتائج .

اختبار الفعالية الضد تأكسدية للمواد الفعالة المستخلصة من الفطر المدروس

اختبرت فعالية المادة المستخلصة الخام كمضاد للأكسدة من خلال قياس قابليتها على الاختزال إذ اختبرت قدرة المادة المستخلصة الخام على اختزال أيونات الحديد الثنائي (Fe Π) وأجري الاختبار بناء على الطريقة الموصوفة من قبل (2000)Furman مع أجراء التحوير اللازم والاتي:–

1–تحضير المحلول الخازن Stock solution

حضر محلول الحديد الثنائي بتركيز 100 PPM بوزن (0.0227 غم) من كلوريد الحديدوز ($FeCl_2$) واذيبت في 100 مل من الماءالاايوني deionized waterباستخدام قنينة دورق حجمي سعة (100 مل) ثم حضرت منة تركيز(1ppm) في قنينة حجمية سعة 20 مل .

2- حساب الطول الموجي لا أعلامتصاصية(λmax)

أخذ محلول يتكون من الحديد الثنائي بتركيز 1ppm وأضيف ألية 0.1 مل من حامض HCl بتركيز (0.1N) تم المزج في قنينة زجاجية أسطوانية سعة 25 مل مع التحريك المستمر للحصول على محلول متجانس ثم أضيف 3 مل من المحلول المائي للكاشف (phen) 1,10-phenanthroline العديم اللون بتركيز0.2% فتكون معقد الحديد –الكاشف وهو محلول لونه احمر بعد ذلك رج المحلول بصورة جيدة ليتجانس المحلول ومن ثم قيست الامتصاصية في مدى من الأطوال الموجية مابين(360-630nm) بأستخدام جهاز مقياس الطيف الضوئي(spectrophotometer) ومن ثم تم تحديد الطول الموجي المقابل لأعلامتصاصية (λmax) . بعدها تم تحديد فعالية المادة الخام المضادة للتأكسد حيث أضيف (0.5 ، 1 ، 2 ، 3 ، 4،٥) مل الى التركيز 25 ملغ/مل معقد الحديد-الكاشف وثم تحدد امتصاصية المحلول في كل مرة بعد زمن قدرة 15 دقيقة مقابل محلول سيطرة يتكون من معقد الحديد-الكاشف فقط ، حيث ان انخفاض الامتصاصية مع ازدياد حجم محلول المادة الخام يدل على فعالية المادة الخام المضادة للأكسدة.

النتائج والمناقشة

بينت النتائج امتلاك المستخلص الفطري قدرة تثبيطية تجاه البكتريا المرضية المختبرةباقطار تثبيط متباينة فقد اظهر المستخلص الفطري اعلى فعاليه تثبيطيه تجاه العزلة *S.aureus*بقطر تثبيط بلغ 22.5 ملم تلتهاالعزله*S.pyogenes*بقطرتثبيط بلغ 20.0 ملم فيما اظهر اقل فعالية تثبيطيه تجاه العزلة *K.pneumoniae* (جدول١) .قد يعود هذا التباين في اقطار التثبيط الى اختلاف المكونات الكيميائية التي يحتويها المستخلص كالتانيناتوالتربينات الاحادية والفينولات وغيرها وكذلك امتلاك البكتريا لعدد من اليات المقاومة للمضادات الحيويةفقدرة بعض انواع البكتريا القدرة على تغيير التركيب الكيميائي للمضاد الحيوي بينما تمتلك انواع آخرى القدرة على اعادة اخراج المضاد الحيوي من البكتريا او تغير في تركيب مادتها الوراثية من خلال الطفرات ، جميعها عوامل جعلت تصب باتجاه البحث عن انواع جديدة من المضادات الحيوية (Kambaand Hassan, 2010) كما تباينت قيم التركيز المثبط الادنى MIC للمادة المستخلصة الخام تجاه السلالات البكتيريةالمرضية(جدول٢) وقد يعود ذلك الى الاختلاف في تركيب الجدار الخلوي للبكتريا السالبة والموجبة لصبغة كرام حيث يتصف جدار البكتريا السالبة بقلة نفاذية الغلاف الخارجي للمضادات

الحيوية (Yoshimura and Nikaido , 1982) .وكذلك فأن احتواء جدار البكتريا السالبة لصبغة كرام على مركبات Lipopolysaccharides ، Lipoprotein و Protein–lipid بينما تمتاز جدران البكتريا الموجبة لصبغة كرام بمحتواها الدهني الذي يجعلها أكثر نفاذية للمركبات الفعالة ولذلك تكون أكثر تأثرا من البكتريا السالبة لصبغة كرام (Chandrashekhara,2010).

جدول(١) معدل أقطار مناطق تثبيط النمو (ملم) للمستخلص الفطري

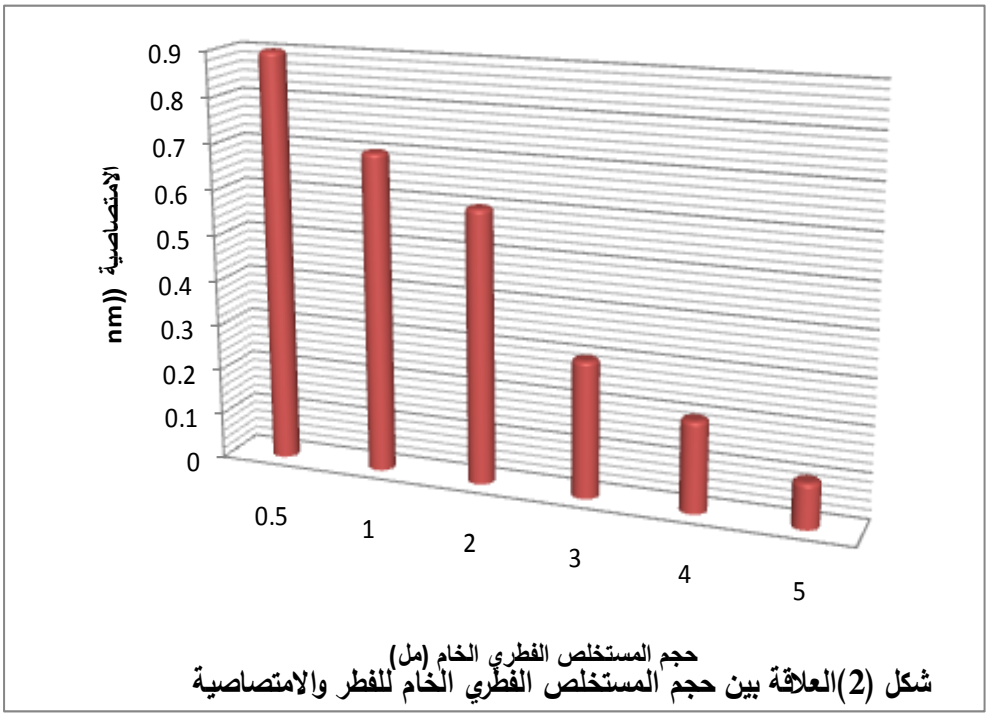
السلالات البكتيرية	معدل اقطار التثبيط(ملم)
E.coli	14.5
S.aureus	22.5
S.pyogenes	20.0
K.pneumoniae	12.0
Ps.aeruginosa	16.0

جدول (2) التركيز المثبط الأدنى والقاتل الأدنى MIC وMBCللمستخلص الفطري

السلالات البكتيرية	MIC	MBC
E.coli	**25.5**	**50.0**
S.aureus	**12.5**	**25.0**
S.pyogenes	**25.5**	**50.0**
K.pneumoniae	**50.0**	**100**
Ps.aeruginosa	**50.0**	**100**

وبينت نتائج الدراسة الحالية عدم احتواء المستخلص الفطري الخام على اي فعالية سميه تجاه كريات الدم الحمر حيث لوحظ عدم حدوث تحلل في كريات الدم الحمراء خلال فترة الحضن وعند درجة حرارة 37°م وهي الظروف التي يجرى عندها الاختبار Jain and Pundir; 2011,(Boddington,2009) هي ليست ذات سميه وبالتالي بالإمكان استخدامها كمضادات حيوية لتثبيط نمو البكتريا المرضية لكن بشرط تطبيق البروتوكولات الدوائية بهذا الخصوص مثل أجراء تجارب علـى الفئران المختبرية بعد تلقيحها بالبكتريـــا المرضية لمعرفة مدى فاعليـــة هذه المركبـــات في علاج الفئران المصابة (in vivo) كما اظهرت نتائج الدراسة الحالية بأن للمستخلص الفطري الخام يمتلك فعالية ضد تأكسدية تعمل على اختزال ايونات الحديد الثنائية وتحويلها الى ذرات الحديد مع وجود فرق معنوي ملحوظ عند مستوى احتمال $p \leq 0.05$ ، كما تبين ان الفعالية الضد تأكسدية للمستخلصات الفطريةالخام تزداد بزيادة حجم المستخلص الفطري الخام فقد اظهر عند الحجم 0.5 ملم

اعلى امتصاصية بلغت0.8اما عند الحجم 5.0 مل فقد اظهر اقل امتصاصية بلغت 0.1(شكل ١)اذ كلما قلت نسبة الامتصاصية ارتفعت نسبة الفعالية الضد تأكسدية وقد يعود



شكل (2)العلاقة بين حجم المستخلص الفطري الخام للفطر والامتصاصية

السبب في الفعالية الضد تأكسدية الى وجود مجموعة (OH) الحرة التي تحويها بعض المستخلصات الفطرية، آن هذاالاختبارمستعملبكثرة نظراللخصائصالتييتميزبهامنها السهولة والسرعة وانخفاض الكلفة وقد زاد الاهتمام في الوقت الحاضر بالحصول على مركبات مضادة للتأكسد من مصادر طبيعية ومنها المستخلصات الفطرية (Jayanthia*et al.*,2011)وهنالك دراسات اكدت على اهمية المستخلصات الفطرية كمضادات اكسدة منها دراسة Murthy *et al.*,(2011)الذي اشار الى ان المستخلص الميثانولي لانواع من الفطريات التابعة للأجناس *Fusarium* و *Aspergillus* و*Penicillium* و*Mucor* لها فعالية كمركبات مضادة للتأكسد

References

Anke, T. (1989).Basidiomycetes: Asource for new bioactive metabolites.Prog. Ind. Microbiol.27: 51-66.

Demain ,A.L.(1986).Regulation of secondary metabolism in fungi . Pure and Appl. Chem. 58 :219-226 .

Demain, A .L. (2000). Microbial biotechnology. Trends Biotechnol .18:26–31 .

Scarselletti, R. and Faull, J.L. (1994) . In vitro activity of 6-p_ntyl-∞-

pyrone , a metabolite of *Trichodermaharzinum* , in the inhibition of *Rhizoctoniasolani* and *Fusariumoxysporum*f.sp. lycopersici

. mycol. Res.,98(10) : 1207-1209.

Forche , E. ; Augustiniak , H. ; Hofle , G. and Reichenbach , H. (1991) . Ergokonin : Anew antibiotic from Trichodermakoningii. Planta Med ., 57 (suppl. Issue-2) pp.A15.

Mohamed , A. W. ; Asolkar , R. N. Inderbitzin , P. and Fenical , W. (2007) Secondary metabolite chemistry of the marine - derived Fungus Massarinasp., strain CNTo16 phytochem . 68 , 1212 - 1218.

Bender , S. ; Dumitrache , C. N. ; Backhaw , T. and Christie , G. (2003). A case for caution in assessing the antibiotic activity of extracts of culinary – medicinal shiitake mushroom (*Lentinusedodes*(Berk.)Singer Agaricomycetidae . Int. J. Med.Mush.5:31-35.

Ellis , M.B.(1971). Dematiaceoushyphomycetes .Common wealth .Mycol. Inst. Kew ,Surreu, Englang.

Ellis , M.B. (1976) . More Dematiaceoushyphomycetes .common wealth . Mycol. Inst. Kew, surrey, England , 507 pp.

Mothana, R. A. A. ; Jansen, R. ; Julich, W. D. and Lindequist , U. (2000) .Ganomycin A and B, new antimicrobial farneslyhydrroquinones from thebasidiomycetesGanodermapfeifferi. J. Nat .prod .63 :416 -418.

Stephen, J.C. and Horace, G.C. (2000). Biologically active Natural Products. CRC press New York,Washington, DC. Pp.277.

Johnson , L. E. ; Curl , E. A. ; Bond , J. H. and Fribourgh , H.A. (1959). Methods for studying soil microflora – plant disease relationships .Burgess. publ .Co. Minneapolis .USA.

Domsch , K.H. ; Gams , W. and Aderson , T. (1980) . Compandium of soil Fungi . Academic press , London , Pp.858.

Kamba, A.S. ; Hassan, L.G. (2010).Phytochemical screening andantimicrobial activities ofEuphrobiabalasamifera leaves, stemsand roots against pathogenicmicroorganisms. Afr JPharmaceticalSciandPharmacology15:57-64

Kim , H. J. ; Kim ,J. C. ; Kim , B. S. ; Kim , H. G. and Cho , K. Y. (1999) . Antibiotic and phytotoxic activities of Ophiobol from *Helminthosporium*species .plantpathol .J. 15 (1): 14-20.

Gould , J. C. and Bowie , J. H. (1952) . The determination of bacterial sensitivity to antibiotics .Edinbugh Medical J. 59 -178 .

Furman,N.H.(2000).Standered methods of chemical analysis , 7th edition . D.VanNostradcompany ,INC. ,New Jersey ,USA .

Xian-guo, H.Ursula, M. (1994).Antifungal compound from *Solanumnigrescens*. J. Enthopharm. 43: 173-177.

Yoshimura , F. B. and Nikaidio, H. (1982) . Permeability of *Pseudomo-nasaeruginosa* outer membrane hydrophilic .J. Bacteriol. 152 (2): 630-636 .

Chandrashekhara , S . (2010) . Isolation and characterization of antibiotic production from soil isolates by fermentation. Ph.D. thesis ,Vinayaka Missions University ,India

Jain, P. and Pundir, R.K.(2011). Effect of fermentation medium, pH and temperature variations on antibacterial soil fungal metabolite production . Journal of Agricultural Technology 7: 247-269 .

Boddington,M.(2009). Discovery and Evaluation of Novel Antimicrobial Agents against NosocomialPathogens.M.Sc.thesis, University of SouthernQueensland.pp124 .

Jayanthia , G . , Kamalraja,S . , Karthikeyan,K . , and Muthumary, J. (2011). Antimicrobial and antioxidant activity of the endophytic fungus*Phomopsis*sp. GJJM07 isolated from *Mesuaferrea*. INT J CURR SCI , 1: 85-90 .

Murthy,N. K. , Pushpalatha , K. C. and Joshi ,C.G.(2011) . Antioxidant activity and phytochemical analysis of endophytic fungi isolated from *lobelia nicotianifolia* . J. Chem. Pharm. Res., 3 :218-225

Evaluation antibacterial activities and antioxidant and antioxidant for fungal extract of *Alternaria chlamydospora* isolated from soil

R.R.Hateet[1]and M.S.Shkhinab[2]

1-Department of Biology, College of Sciences, University of Missan, Iraq

Abstract

The study included isolate and diagnose fungus Alternariachlamydospora of the local soil and purified and development in the center of PDB and the filtrate extracted using a solvent Estate ethyl (ethyl acetate) to obtain the fungal extract. This extract has shown clear efficacy against both isolates Alkiesatin (ATCC25922) E.coli and (NCTC6571) S.aureus isolates and pathological S.pyogenes, K. pneumoniae, Ps.aeruginosa using the technique was spreading disk diameters of inhibition zones fungal extract 31.5 mm toward S .aureus and 29.5 mm against E.coli, 30.0 mm towards our K.pneumoniae and 17.0 mm in isolation towards our S.pyogenesPs.aeruginosa .sv test for minimum inhibitory concentration was not affected (MIC) of the extract less mildew inhibitor concentration towards our isolation S.aureus amounted to 3.12 micrograms / ml, as well as less deadly concentration (MBC) also toward isolation S.aureus was 6.25 micrograms /ml.kma.kma fungal extract showed no toxicity to human red blood cells. Chemical statements extract showed an innate fit on tannins and phenols and not fit on amino acids and Flavonidat.achtbert effectiveness against oxidative extract innate ability by measuring the reduction of iron duo ions (Fe Π) have shown high rates of inhibition. The metabolic product of soil fungi can be an alternative source of commercial anti-bacterial.

Key words: Antibacterial, fungal extract, pathogenic bacteria, toxicity.