

دراسة للفعالية التثبيطية للفطر
Agaricus bisporus ضد بعض العزلات البكتيرية

بان موسى حسن الزبيدي

قسم علوم الحياة، كلية التربية للعلوم الصرفة، جامعة كربلاء، العراق

تاريخ الإستلام: 2015/Oct/6

تاريخ قبول النشر: 2015/Dec/6

Abstract

The antimicrobial properties of cold water, hot water, ethanol and acetone extracts of mushroom *Agaricus bisporus* on some gram positive bacteria (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Bacillus cereus*), gram negative bacteria (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*) were investigated the present showed that acetone extract (50 mg/ml) exhibited maximum antibacterial activity to all bacteria isolated. Its showed wide spectrum of antimicrobial effect against *Streptococcus pneumoniae* (31.6 mm), *Escherichia coli* (27.4 mm), *Bacillus cereus* (12 mm), *Salmonella typhi* (20.6 mm), *Staphylococcus aureus* (18 mm), *Pseudomonas aeruginosa* (10.2 mm). The minimum inhibitory concentration (MIC) reached 6.25 mg/ml for positive bacteria and 12.5 mg/ml for negative bacteria while the (MBC) reached 12.5 mg/ml for positive bacteria and 25 mg/ml for negative bacteria except *Pseudomonas aeruginosa* were reached (MIC) 25mg/ml and (MBC) 50 mg/ml.

Keywords

extracts of mushroom *Agaricus bisporus*, antimicrobial effect,

الخلاصة

تم في هذا البحث دراسة تأثير مستخلصات الفطر (*Agaricus bisporus*) المائية (ماء بارد، ماء حار) والكحولية (أيثانول، أسيتون) ضد ستة أنواع من البكتيريا ثلاثة منها سالبة لصبغة غرام (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*) وثلاثة أخرى موجبة لصبغة غرام (*Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*) وقد أظهرت جميع المستخلصات المائية والكحولية تأثير تثبيطي كبير ضد كل الأنواع البكتيرية المدروسة، سجل المستخلص الأسيتوني وبتركيز 50 (ملغم/ مل) أعلى نسبة تثبيط لكل الأنواع البكتيرية إذ بلغ قطر منطقة التثبيط 31.6 (ملغم) ضد بكتريا 27.4 (ملغم)، (*Streptococcus pneumoniae*) ضد بكتريا 21 (ملغم)، (*Escherichia coli*) تجاه بكتريا 20.6 (ملغم)، (*Bacillus cereus*) تجاه بكتريا *Salmonella typhi* تلتها بكتريا *Staphylococcus aureus* بقطر تثبيط قدره 18 (ملغم) بينما سجلت بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* أقل قطر تثبيط وقدره 10.2 (ملغم)، وكذلك أظهرت النتائج أن قيمة التركيز المثبط الأدنى MIC والتركيز القاتل MBC للمستخلص الأسيتوني ضد الأنواع البكتيرية الموجبة لصبغة غرام المدروسة هي 6.25 (ملغم/ مل)، 12.5 (ملغم/ مل) للتركيزين على التوالي بينما سجلت الأنواع البكتيرية السالبة لصبغة غرام تركيز مثبط أدنى MIC قدره 12.5 (ملغم/ مل) وتركيز قاتل MBC قدره 25 (ملغم/ مل)، ماعدا بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* التي سجلت 25 (ملغم/ مل)، 50 (ملغم/ مل) للتركيزين على التوالي.

الكلمات المفتاحية

مستخلصات الفطر، تأثير تثبيطي، قطر منطقة التثبيط

1. المقدمة:

المركبات الكيميائية الفعالة والتي تستخدم حالياً مضادات للأكسدة، مضادات أورام ومضادات ميكروبية [6]. تعد العرايين (Mushroom) من الأنواع الفطرية الكبيرة الحجم (Macrofungus) التي تمتاز برؤية الأجسام الثمرية لها (Fruiting body) بالعين المجردة، وهي تتضمن أنواعاً صالحة للأكل (Edible species) مثل الفطر (Agaricus bisporus) والفطر (Pleurotus sajor) اللواتي تمتلك قيمة غذائية عالية، كما تعتبر معززة للجهاز المناعي وقد تعمل كعوامل مضادة للميكروبات (Antimicrobiol)، وأخرى سامة (Non-edible species) قد يستخدم البعض منها لأغراض طبية [7,8].

كما أظهرت أنواع عديدة من العرايين كفاءة عالية في تثبيط العديد من البكتريا، الفطريات والفايروسات [9]. بالنظر لما تقدم ولعدم وجود دراسة محلية بحسب المصادر المتوفرة لدينا ولغرض التعرف على القدرة التضادية للفطر (Agaricus bisporus) فقد جاءت هذه الدراسة للبحث في امكانية دراسة القدرة التثبيطية للفطر ضد أنواع من البكتريا المرضية بأعتبره بديلاً طبيعياً عن المضادات الحيوية وقد تمحورت الدراسة حول الأتي:

1. تحضير عدة مستخلصات من الفطر (Agaricus bisporus) باستعمال الماء البارد (Cold water)، الماء الحار (Hot water)، الكحول الأيثلي (Ethanol) والأسيتون (Aceton).

2. إجراء بعض الاختبارات النوعية الكيميائية للمستخلصات.

3. اختبار الفعالية التضادية للمستخلصات الخام للفطر (Agaricus bisporus) ضد ستة أنواع من

صاغ مصطلح التضاد الحيوي (Antibiosis) لأول مرة عالم الأحياء المجهرية الفرنسي (Fuolemin) وهو يعني ضد الحياة وأطلقه كأسم وصفي لهذه الظاهرة التي أظهرتها العقاقير الطبية [1].

استمرت التجارب في هذا المجال على يد العالمين أرنست جاين (Ernest chein) وهوارد فلوري (Heward flory) للوصول الى الشكل المنقى لأول مضاد حيوي هو البنسلين (Penicillin) الذي أبدى نشاطاً واسعاً ضد العديد من البكتريا المرضية [2].

أن أكثر الصعوبات التي تواجه المختصين في المجال الطبي والصيدلاني هو ظهور سلالات مقاومة من الأحياء المجهرية للمضادات الحيوية ومما زاد هذه المشكلة تعقيداً هو الاستخدام العشوائي للمضادات الحيوية، وقطع الاستخدام دون إتمام مدة العلاج [3].

أمام هذه التحديات دعى الكثير من الباحثين للرجوع الى الطبيعة والبحث في العديد من النباتات الطبية ومعرفة إمكانياتها في تثبيط نمو أو قتل الكائنات المجهرية المرضية دون اللجوء للأدوية والمواد الصناعية الضارة [4].

كما أزداد البحث في هذا المجال لأيجاد بدائل جديدة مثل العرايين (Mushroom) والتي حققت نتائج باهرة كمصدر طبيعي للمضادات الحياتية إذ ان الإفرازات الخارج خلوية (Extra cellular secretions) للغزل الفطري للعرايين فاعلة ومقاومة جداً للبكتريا [5].

العرايين من الفطريات البازيدية (Basidiomycota) إستخدمها الإنسان منذ القدم في المجالات الطبية وأشارت الدراسات الحديثة الى إحتواء العديد منها على العديد من

200 (Aceton 96%) إذ وضع 50 (غراماً) من الفطر لكل 200 (مل) من الأيثانول في حالة المستخلص الأثيلي وترك لمدة 36 ساعة بدرجة 28 م° مع الرج المستمر في جهاز الهزاز Shaker كررت نفس العملية في حالة مستخلص الأسيتون ولكن بأستبدال الأيثانول بالأسيتون.

a. الاستخلاص المائي:

2. الماء البارد وضع 50 (غم) من الفطر لكل 200 (مل) من الماء البارد المعقم وترك لمدة 36 ساعة بدرجة 28 م° مع الرج المستمر في جهاز الهزاز (Shaker).

3. الماء الحار وضع 50 (غم) من الفطر لكل 200 (مل) من الماء المغلي بدرجة 100 م° وترك لمدة 4 ساعات فقط مع الرج في جهاز الهزاز (Shaker).

بعد انتهاء مدة النقع رشحت المستخلصات بورق ترشيح واتمان رقم 1 ثم جمعت الرواشح في بيكرات معقمة تم تعليمها ثم بخرت حتى الجفاف بواسطة الهواء حتى ثبات الوزن مع ملاحظة وزن البيكرات قبل وبعد التجفيف، حفظت الخلاصات الجافة في الثلاجة بدرجة 4 م° لحين الأستعمال.

4. زراعة البكتيريا Bacteria culture

تم تحضير وسط Nutrient broth وصب في أنابيب اختبار معقمة ثم لقمح ب 0.1 (مل) من كل من العزلات البكتيرية قيد البحث والواردة في الفقرة 2 وبواقع ثلاثة مكررات لكل عذلة وكل على حدة حضنت العزلات بدرجة 37 م° لمدة 5 ساعات قيست عكورة الزرع بطريقة محلول العد البكتيري (Bacterial count solution) باستخدام جهاز (Spectrophotometer) على طول موجي 650 (نانوميتر) للحصول على كثافة بكتريا $10^8 \times 1$ (خلية/ مل) [11].

البكتريا ثلاثة منها موجبة لصبغة غرام هي: (Bacillus cereus, Staphylococcus aureus, Streptococcus pneumonia) وثلاثة أخرى سالبة لصبغة غرام هي: (Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Salmonella typhi).

4. تحديد التركيز المثبط الأدنى MIC والتركيز القاتل MBC للمستخلص الأكفأ في الشبيط.

2. المواد وطرائق العمل

1. مصدر الفطر Sources of fungal

تم الحصول على عذلة الفطر (Agaricus bisporas) من الأسواق المحلية في كربلاء ومنشأ الفطر (العراق/ أربيل)

2. مصدر العزلات البكتيرية Bacteria strains

reference

تم الحصول على العزلات البكتيرية من مستشفى الحسين العام - قسم المختبرات المركزية وتم تأكيد تشخيصها بأستخدام جهاز (Vitek نوع Biomerieux فرنسي المنشأ) وهي (Escherichia coli, Bacillus cereus, Staphylococcus aureus, Streptococcus pneumonia, Pseudomonas aeruginosa, Salmonella typhi).

3. تحضير مستخلصات الفطر Preparation of

fungal extracts

تم أستخلاص الفطر بحسب طريقة (10) إذ غسل الفطر بالكامل بماء نظيف ثم قطع الى قطع صغيرة بسكين نظيفة وجفف في الهواء ثم سحق بهاون خزفي ثم أستخلص بطريقتين:

a. الأستخلاص الكحولي:

تم باستخدام (الأيثانول 96% Ethanol)، الأسيتون

وذلك بأذابة المستخلص الخام الجاف للفطر (*Agaricus bisporas*) بإداة الأسيتون (*Acetone*) وبحسب التركيز المطلوب جففت الأقراص للتخلص من المادة الكحولية ثم وزعت على أطباق المولر هنتون أكار (*Mullar Hinton Agar*) المزروعة بأنواع بكتريا الدراسة وكل نوع بكتيري على حدة وبواقع أربعة أقراص لكل طبق وثلاث مكررات لكل تركيز حضنت الأطباق بدرجة 37 م° لمدة 24 ساعة بعدها حسبت أقطار التثبيط حول الأقراص مع حساب عدد المستعمرات النامية أن وجدت حول الأقراص واعتبار التركيز الأدنى الذي يسبب إختزال لعدد المستعمرات هو التركيز المثبط الأدنى MIC أما التركيز الذي يسبب تثبيط النمو بنسبة 99.9% هو التركيز القاتل MBC وتم التأكد من ذلك بأخذ مسحة من مناطق التثبيط وزراعتها على وسط المولر هنتون أكار ثانية للتأكد من قتل البكتيريا [14].

7. الكشف عن المركبات الفعالة للمستخلص الفطري أجريت عدة كشوفات نوعية للمستخلص المائي والكحولي للفطر (*Agaricus bisporas*) بحسب ما جاء به (15) وكانت كالتالي:

a. الكشف عن الفلافونيدات باستخدام كاشف هيدروكسيد البوتاسيوم الكحولي

b. الكشف عن القلويدات باستخدام كاشف ماير

c. الكشف عن الفينولات باستخدام كاشف كلوريد

الحديديك

d. الكشف عن التانينات باستخدام كاشف خلاص

الرصاص المائية

e. الكشف عن الصابونينات باستخدام كاشف ليبرمان

- بوركارد

5. تقدير الفعالية التثبيطية للمستخلص الفطري الخام

للفطر *Agaricus bisporas*

قدرت الفعالية التثبيطية للمستخلص الفطري للفطر (*Agaricus bisporas*) بطريقة الانتشار بواسطة الأكار (*Agar well diffusion*)، أذ تم أخذ لقاح بواقع 0.2 (مل) من المزارع البكتيرية النامية على وسط (*Nutrient broth*) الذي تم تحضيره في الفقرة 4 وكل على حدة، وزرعت على وسط (*Mullar Hinton Agar*) نشر اللقاح بواسطة (*swab*) معقم على الأطباق وبواقع ثلاث مكررات لكل نوع بكتيري تركت الأطباق لمدة ربع ساعة لتجف ثم عملت ثقبوب بواسطة ثاقب فليبي (*Cork borer*) معقم بقطر 6 (ملم) عملت خمسة حفر أربعة محيطية وواحدة مركزية وبأبعاد متساوية، وضعت المستخلصات في الحفر المحيطية حيث ذوبت كمية مقدارها 0.1 غم من المستخلص في 1 مل من الماء المقطر المعقم أي ما يعادل 100 ملغم/مل لكل حفرة وتركت الحفر المركزية بدون مستخلص للمقارنة حضنت الأطباق بدرجة 37 م° لمدة 24-48 ساعة ثم قيست أقطار مناطق التثبيط (ملم) حول الحفر الحاوية على الرواشح الفطرية باستخدام مسطرة مدرجة بقياس قطرين متعامدين وأخذ المعدل [12,13].

6. تحديد التركيز المثبط الأدنى MIC والتركيز القاتل

MBC للمستخلص الخام للفطر *Agaricus bisporas*

تم تحديد التركيز المثبط الأدنى MIC والتركيز القاتل MBC بطريقة الانتشار بواسطة الأقراص (*Agar Disk diffusion*) إذ تم تحميل تراكيز مختلفة للمستخلص الخام على أوراق ترشيح واتمان رقم (3) بقطر 5 (ملم) وكالتالي: 12.5, 25, 50, 100, 200, 400 (مايكروغرام/قرص) - بوركارد

المستخلص الأستيني الذي أعطى اللون الأزرق المتوقع دلالة على إيجابية الكشف، في حين كانت النتيجة موجبة لكل المستخلصات عند استخدام كشف التانينات إذ أعطت كل المستخلصات أثناء الكشف راسباً أبيض، كذلك الأمر بالنسبة لكل من كسفي الصابونينات والكربوهيدرات فقد كانت موجبة لكل المستخلصات المختبرة إذ أعطت المستخلصات راسباً أبيضاً، حلقة بنفسجية اللون للأختبارين على التوالي. نلاحظ من خلال النتائج أن المستخلص الأستيني قد ظهرت فيه جميع المجاميع الكيميائية المختبرة، بينما اعطى مستخلص الايثانول ومستخلص الماء الحار نتيجة سالبة في الكشف عن الفينولات، كما كانت النتيجة سالبة لكل من كسفي الفينولات والقلويدات لمستخلص الماء البارد قد يعود السبب في ذلك الى قدرة المادة المذيبة على إذابة المواد الفعالة للفطر وبالتالي كمية ونوعية المواد الذائبة في المستخلص، وأحتواء مستخلصات الفطر (*Agaricus bisporus*) على هذه المكونات يفسر قدرتها على تثبيط العزلات البكتيرية المدروسة، هذه النتائج تتوافق مع العديد من الدراسات في مجال قدرة مستخلصات العرايين في تثبيط العديد من الكائنات المرضية [12,17,18].

جدول (1) الأختبارات النوعية الكيميائية لمستخلصات الفطر *Agaricus bisporus*.

نوع المستخلص	نوع الكشف				
	الفلافونيدات	القلويدات	الفينولات	التانينات	الصابونينات
الماء البارد	+	-	-	+	+
الماء الحار	+	+	-	+	+
الأيثانول	+	+	-	+	+
الأسيتون	+	+	+	+	+

1. الفعالية التثبيطية للمستخلصات الخام للفطر *Agaricus bisporus* ضد الأنواع البكتيرية أظهرت كل من المستخلصات المائية والكحولية للفطر

f. الكشف عن الكربوهيدرات باستخدام كاشف مولش
8. التحليل الأحصائي
تم تحليل النتائج وفقاً «للتصميم العشوائي الكامل وحيد العامل واختبرت النتائج إستناداً» لاختبار الاقل فرق معنوي L.S.D عند مستوى إحتمالية 5% (16).

3. النتائج والمناقشة

1. الكشف عن المركبات الفعالة لمستخلصات الفطر *Agaricus bisporus*
أعطت مستخلصات الفطر (*Agaricus bisporus*) خلال الاختبارات النوعية العديد من المركبات الكيميائية جدول (1)، إذ أعطى كشف الفلافونيدات لكل المستخلصات المائية والكحولية حلقة بنفسجية اللون دلالة على إيجابية الكشف لكل المستخلصات، وكانت النتيجة موجبة لكشف القلويدات لكل من مستخلص الماء الحار، مستخلص الأيثانول ومستخلص الاسيتون بإعطاء لون بني محمر دلالة على إيجابية الكشف بينما كانت النتيجة سالبة لمستخلص الماء البارد، أما بالنسبة لكشف الفينولات فقد كانت النتيجة سالبة لكل المستخلصات ماعدا

1. الفعالية التثبيطية للمستخلصات الخام للفطر *Agaricus bisporus* ضد الأنواع البكتيرية أظهرت كل من المستخلصات المائية والكحولية للفطر

تثبيط نفس العزلات فقد بلغت أعلى نسبة تثبيط لمستخلص الماء الحار ضد بكتريا (*Streptococcus pneumonia*) بقطر تثبيط قدره 9.4 (ملم) بينما كانت أعلى نسبة تثبيط لمستخلص الماء البارد بهالة قدرها 11.3 (ملم) لنفس النوع من البكتريا، كما سجل كلا المستخلصين الماء الحار والماء البارد أقل نسبة تثبيط ضد بكتريا (*Pseudomonas aeruginosa*) ولكن بقطر تثبيط 6.2 (ملم)، 8 (ملم) للمستخلصين على التوالي، الفعالية المتنوعة لمستخلصات العرايين ضد المايكروبات قد تكون بسبب إختلاف المركبات البايولوجية الفعالة فيها أو إختلاف تراكيزها أو طرق الأستخلاص [20].

إستخلص العديد من الباحثين مركبات غير ذائبة في الماء من النباتات والعرايين لذا يتوقع أن المذيبات العضوية المنخفضة القطبية سوف تعطي مركبات أكثر فعالية ضد المايكروبات [23,22,21] نلاحظ من خلال النتائج أن القدرة التثيضية للمستخلص الأستيتوني للفطر *Agaricus bisporus* وبتركيز 50 (ملغم/ مل) كانت متقاربة جدا في التأثير على العزلات البكتيرية المدروسة بالمقارنة مع المضاد الحيوي جنتاميسين سلفيت *Gentamycin sulphate* ولنفس التركيز، توصل [24] أن الخلاصات المتنوعة للفطر *Ganderma lucidum* أعطت فعالية معادلة للمضاد الحيوي جنتاميسين سلفيت *Gentamycin sulphate*، بين [25] أن مستخلص الأيثانول للنباتات التي تناوها في دراسته كان أفضل من المستخلصات المائية في نوعية المركبات المنتجة منها، سجل [17] فعالية مايكروبية عالية لأربع أنواع من المستخلصات للفطر *Cantharellus cibarius* ضد 50 نوعاً من الممرضات ولاحظ من خلال دراسته أن مستخلصات الأيثانول والأستيتون كانت

يدل على أن المستخلصات ذات طيف واسع المدى (*Broad spectrum*)، أشار (19) إلى أن المركبات السكرية المتعددة الموجودة في العديد من العرايين تجعلها ذات فعالية عالية في تثبيط العديد من المايكروبات، بينت نتائج الدراسة الحالية أن مستخلص الأستيتون بتركيز 50 (ملغم/ مل) كان الأكثر فعالية في تثبيط جميع الأنواع البكتيرية وبفارق معنوي بلغ 0.26 عند مستوى احتمالية 0.05، إذ سجلت أعلى نسبة تثبيط ضد بكتريا *Streptococcus pneumonia* بقطر تثبيط قدره 31.6 (ملم) تلتها منطقة التثبيط التي سجلت ضد بكتريا *Escherichia coli* والتي بلغت 27.4 (ملم)، تقاربت مناطق التثبيط ضد كل من بكتريا (*Bacillus cereus* و *Salmonella typhi*) والتي بلغت 21 (ملم)، 20.6 (ملم) لنوعي البكتريا على التوالي، بينما بلغ قطر منطقة التثبيط 18 (ملم) ضد بكتريا (*Staphylococcus aureus*)، سجل مستخلص الأستيتون أقل نسبة تثبيط ضد بكتريا (*Pseudomonas aeruginosa*) إذ بلغ قطر منطقة التثبيط 10.2 (ملم) لنفس التركيز المستخدم. واتضح من خلال النتائج أن مستخلص الأيثانول بتركيز 50 (ملغم/ مل) تلى المستخلص الأستيتوني في التأثير على العزلات البكتيرية وبفارق معنوي بلغ 0.18 عند مستوى احتمالية 0.05 إذ كانت أعلى نسبة تثبيط ضد بكتريا (*Streptococcus pneumonia*) حيث بلغ قطر منطقة التثبيط 21.3 (ملم) بينما سجلت أقل نسبة تثبيط ضد بكتريا (*Pseudomonas aeruginosa*) بقطر تثبيط قدره 10 (ملم)، أما بالنسبة للمستخلصات المائية فقد كانت أقل تأثير من المستخلصات الكحولية في تثبيط العزلات البكتيرية المدروسة وكان مستخلص الماء البارد كان أكفأ من مستخلص الماء الحار في

الأكفأ في تثبيط أغلب الممرضات، توصل [26] الى أن المستخلص الأستيتوني للفطر *Agaricus bisporus* ثبت نمو بكتريا *Staphylococcus aureus* وبكتريا *E.coli* الى 16.67% و 17.77% للنوعين على التوالي، إستخدم [27] الميثانول في الحصول على مستخلص من الفطر *Agaricus bisporus* وبين أن المستخلص الميثانولي كان ذا كفاءة في تثبيط خمسة أنواع بكتيرية بالإضافة الى قدرته على تثبيط نمو الفطر *Aspergillus niger* وأستنتج [28] أن كمية المواد الفعالة لمستخلصات الماء البارد كانت أقل بكثير بالمقارنة مع مستخلصات الأيثانول لنفس النبات ولكنه فضل استخدام الماء لأنه عادة يوضع في المستحضرات الطبية التقليدية. نلاحظ كذلك من خلال النتائج للدراسة

الحالية أن مستخلص الماء البارد كان أكفأ من مستخلص الماء الحار في تثبيط العزلات البكتيرية المدروسة بالرغم من أن مستخلص الماء الحار بالاختبار النوعي يحوي مركبات أكثر من مستخلص الماء البارد قد يعود التباين في نتائج المستخلصات المائية الا أن مستخلص الماء الحار قد أثر سلبا في بعض المواد الفعالة الموجودة في الفطر *Agaricus bisporus*، إذ قد تكون تأثرت بالحرارة (elibal - taeh) [92]، كما تبين من خلال الدراسة الحالية أن بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* كانت البكتريا الأقل تثبيط ولكل المستخلصات المدروسة قد يعود السبب إلى أن هذا النوع من البكتريا يمتلك ميكانيكية لتقليل سمية المواد الفعالة للمستخلص [30].

جدول (2) معدل مناطق التثبيط لمستخلصات الفطر *Agaricus bisporus* ضد الأنواع البكتيرية.

قطر منطقة التثبيط (ملغم) للمستخلصات بتركيز 50 ملغم/مل					الأنواع البكتيرية
ماء بارد	ماء حار	ايثانول	أستيتون	جنتاميسين سلفيت	
10.6	8.3	20.1	27.4	27.4	<i>Escherichia coli</i>
10	8	19	21	22.2	<i>Bacillus cereus</i>
9	8	16.3	18	22	<i>Staphylococcus aureus</i>
11.3	9.4	21.3	31.6	31.7	<i>Streptococcus pneumonia</i>
8	6.2	10	10.2	10.1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
10	7	17	20.6	20.7	<i>Salmonella typhi</i>
0.14	0.10	0.18	0.26	0.38	<i>L.S.D (P=0.05)</i>

1. التركيز المثبط الأدنى MIC والتركيز القاتل MBC للمستخلص الأستيتوني من الفطر *A. bisporus* من خلال الدراسة الحالية تبين أن مستخلص الأستيتون كان الأكفأ في تثبيط كل العزلات البكتيرية المدروسة لذا اختبرت قيم التركيز المثبط الأدنى MIC والتركيز القاتل MBC لهذا المستخلص، بينت نتائج الأختبارات أن أقل قيمة للتركيز المثبط الأدنى كانت 12.5 (ملغم/مل) للأنواع البكتيرية السالبة لصبغة غرام في حين كانت قيمة التركيز القاتل 25 (ملغم/مل) ماعدا بكتريا (*Pseudomonas aeruginosa*) التي كانت قيمة التركيز المثبط الأدنى والتركيز القاتل 50, 25 (ملغم/مل) للتركيزين على التوالي، بينما سجلت الأنواع البكتيرية الموجبة لصبغة غرام قيمة تركيز مثبط أدنى قدرها 6.25 (ملغم/مل) في حين كانت قيمة التركيز القاتل 12.5 (ملغم/مل)

أن بكتريا (*Pseudomonas aeruginosa*) سجلت أعلى قيمة للتركيزين، قد يعزى السبب الى قدرة هذه البكتريا على انتاج الخمائر (Enzymes) والذيفانات (Toxins) المختلفة ما يجعلها أكثر مقاومة للمضادات الحياتية والمطهرات [32].

جدول (3) قد يعود التباين في نتائج التركيز المثبط الأدنى والتركيز لقاتل للبكتريا الموجبة والسالبة لصبغة غرام الى نوع المواد الفعالة في المستخلص وحساسية أو مقاومة الأنواع لبكتيرية لها (31)، نلاحظ من خلال نتائج قياس التركيز المثبط الأدنى والتركيز القاتل لمستخلص الأستيون

جدول (3) قيم التركيز المثبط الأدنى MIC والتركيز القاتل MBC للمستخلص الأستيني من الفطر *A. bisporus*

التركيز ملغم / مل							الأنواع البكتيرية
400	200	100	50	25	12.5	6.25	
-	-	-	-	-	+	+	<i>Escherichia coli</i>
-	-	-	-	-	-	+	<i>Bacillus cereus</i>
-	-	-	-	-	-	+	<i>Staphylococcus aureus</i>
-	-	-	-	-	-	+	<i>Streptococcus pneumonia</i>
-	-	-	-	+	+	+	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
-	-	-	-	-	+	+	<i>Salmonella typhi</i>

+ ظهور نمو

- عدم ظهور نمو

- [6] Hardman, A.L. and Goodmon,G.A. The pharmacological basis of therapeutics. McGraw -Hill publication. 10th Ed. New York (2001).
- [7] Lindequist U,Niedermeyer THJ, Julich W. The pharmacological potentials of mushroom. Ecam 2: 285-299 (2005).
- [8] Jonathan, S.G. and Fasidi, J. O. Antimicrobiol activities of some selected Nigerian mushroom.A.J. Biom. Res., 8:83-87 (2005).
- [9] Jonathan, S.G. and Fasidi, J. O. Antimicrobiol activities of two Nigerian edible macrofungi – *Lycoperdon pusillum* and *Lycoperdon giganteus*. Afri.J.Biom.Res.6: 84-90 (2003).
- [10] Trease,G.E.and Evans,W.C. Pharmacognosy Xii. Ed.London, Bailere London (1994).
- [11] Williams, P.A.; Lambert, M.R.; Brown. R.J. The role of the o and k antigen is determining the resistance of

المصادر Referenes

- [1] Foster,W.;Raoult,A. Early description of antibiosis J.R Coll.Gen pract 24(149):89-94 (1974).
- [2] Chater,K.F. Genetics regulation of secondary metabolic pathways in Streptomyces:Their function and evolution,ciba found, symb vol.171.chanwich,D.J and Whetan,J.(edu).P.144-162 (1992).
- [3] Aledort, J.;Laxminarayan, R. ;Howard, D.; Seiguer, E. and Weldon, S. International workshopon antibiotic resistant: Global policies and options. Center for International development. Harv uni: PP: 1-22 (2000).
- [4] Ates,D.A. and Erdogru, O.T. Antimicrobiol activities of various medicinal and commercial plant extracts. Turk. J. Biol., 27:157-162 (2003).
- [5] Hawks Worth, D.L. Mushroom: The extent of the unexplored potential. Intl. J.Med. Mushroom,3: 333-337 (2001).

- [23] Dulger, B. A.; Gonuz, A. Antimicrobiol activity of certain plants used in Turk traditional medicine. *Asian Journal of plant science*; 3: 104-107 (2004).
- [24] Leung, S. W.; Yeung, K. Y.; Ricky, Y. L.; Man. Y. K. *Ganoderma: Genetics, Chemistry, Pharmacology and Therapeutics*. ZB Lin (Ed) Beijing medical university press, Beijing; 1-9 (2002).
- [25] Ljeh, L. L.; Omodamiro, O. D.; Nwanna, I. J. Antimicrobiol effects of aqueous and ethanolic fraction of two species *Ocimum gratissimum* and *Xylopi aethiopica*. *Afri. J. Biotechnol.* 4(9):953-956 (2005).
- [26] Ibrahim, M. B.; Owonubi, M. O.; Onadapu, J. A. Antimicrobiol effects of extracts of leaf, stem and root bark of *Anogiessus leicarpus* on *S. aureus*, *E. coli* and *Proteus vulgaris*. *J. Pharma. Res. Dev.* 2: 20-26 (2001).
- [27] Manu, V.; Anand, S.; Madhavi, J. Study on antibacterial activity of *Agaricus bisporus*. *Int. J. Curr. Microbiology. App. Sci* 4(2):553-558 (2015).
- [28] Parashara, V. M and Bhandari, A. Antimicrobial and nutritional studies on *Agaricus bisporus* and *Pleurotus ostreatus*. *Acta Biologica Indica* 2 (1): 310-315 (2013).
- [29] Bandow, J.; Brotz, H.; Leichert, L. Proteomic approach to understanding antibiotic action. *Chemother* 47: 948-955 (2003).
- [30] Chika, C. O.; Jude, N. O.; Beatrice, N. A. The effect of ethanolic and boiling water extracts of root barks and leaves of *Uvaria chamae* on some hospital isolates. *J. Am. Sci.* 3 (3): 68-73 (2007).
- [31] الجبوري، محييمد مد الله. علم البكتريا المرضية. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي. جامعة الموصل. 388 صفحة (1990).
- [32] Al-Jebouri, M. M. The effect of sublethal concentrations of disinfectants on the antibiotic resistance patterns of *Pseudomonas aeruginosa*. *Jornal of hospital infection* 14: 99-105 (1989).
- Klebsiella aerogenes* to serum killing and phagocytosis, *J. Gen. Microbial.* 129: 2181 -2191 (1983).
- [12] Bauer, A.W.; Kirby, W.M.; Sherris, J.C.; Turck, M. Antibiotic susceptibility testing by a standard single disc method. *Am J. Clin. pathol.* 45: 493-496 (1966).
- [13] Egarov, N. S. *Antibiotics Scientific Approach*. Mir publishers. Moscow (1985).
- [14] Warren Levinson. *Review of medical microbiology and immunology*. London. Eleventh edition. P: 79-80 (2008).
- [15] Harbone, J. B. *Phytochemical method*. Chapman and hall Ltd, London. pp.11-113 (1973).
- [16] الراوي، خاشع محمود. مدخل الى الأحصاء، الطبعة الثانية، كلية الزراعة والغابات، جامعة الموصل (2000).
- [17] Dulger, B. A.; Gonuz, A. and Gucin, F. Antimicrobiol activity of the macrofungus *Cantharellus cibarius*. *Pak. J. Bio. Sci.*, 7: 1533-1539 (2004).
- [18] Lwalokun, B. A.; Usen, U. A.; Otunba, A. A.; Olukoya, D. K. Comparative phytochemical evaluation, antimicrobial and antioxidant properties of *Pleurotus ostreatus*. *Afri. J Biotechnol.* 6 (15): 1732-1739 (2007).
- [19] Gao, Y.; Zhou, S.; Huang, M. Antibacterial and antiviral value of the genus *Ganoderma* P. Karst. species (*Aphyllphoromycetidae*): A review *International journal of medicinal mushroom*; 5 (3): 235-246 (2003).
- [20] Sonar, T. P. and Tambekar, D. H. Antibacterial activities of mushroom. 46th Annual conference of association of microbiology of India, Osmania uni, Hydrabad. 8-10 (2005).
- [21] Cowen, M. M. Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Review*; 12(4): 564-582 (1999).
- [22] Bender, S.; Lonergan, J.; Backhaus, C.; Dumitrache, A and Backer, W. The antibacterial activity of the edible and medicinal mushroom *Lentinus edodes* (Berk) Sing. *Intl, J. Med. Mushroom*, 3: 118 (2001).

