الملخص

تضمنت الدراسة عزل وتشخيص بعض الأنواع الفطرية المتمثلة بالفطريات البازيدية Agaricus bisporus، Clitocype phyllophila،Cortinarius sp. ، Ganoderma applanatum ،Phanerochaete chrysosporium وPodaxis pistillaris فضلاً عن الفطر Myrothecium verrucaria العائد إلى الفطريات الناقصة Deuteromycotina .

أظهرت الأنواع الفطرية المدروسة جميعها فعالية تثبيطية تجاه بكتريا Escherichia coli وStaphylococcus aureus وتفاوتت مستخلصات الأنواع الفطرية في فعلها التثبيطي بفروق معنوية عند مستوى أحتمال $P\leq 0.05$ ، وانفردت الأنواع M. verrucaria ، Cortinarius sp. و P. chrysosporium بفعلها التثبيطي تجاه الفطريات الجلدية والخميرة Candida albicans .

تم تنقية المادة الفعالة من مستخلصات خمسة أنواع فطرية فقط بطريقة كروماتوعرافيا الترشيح الهلامي ، إذ انفصلت المادتين C1 وC2 من مستخلص الفطر Cortinarius sp. والمادتين G1 وG2 من مستخلص الفطر G. applanatum والمادتين M2 و M3 من مستخلص الفطر M. verrucaria والمادة Ph من مستخلص الفطر P. chrysosporium والمادتين P1 و P2 من مستخلص الفطر P. pistillaris .

أمتلكت المادة C1 أعلى فعالية تثبيطية تجاه البكتريا والفطريات الجلدية والخميرة المختبرة . حدد التركيز المثبط الأدنى والقاتل الأدنى للمواد المستخلصة تجاه البكتريا السالبة والموجبة لصبغة غرام والفطريات الجلدية والخميرة .

أختبرت السمية الخلوية للمستخلصات الفطرية إذ أظهر مستخلص الفطر P. chrysosporium تحلل لكريات الدم الحمر عند التركيز 100 مايكروغرام / مل بينما لم تظهر مستخلصات بقية الأنواع المختبرة تحللاً لكريات الدم الحمر عند التركيز نفسه .

أظهرت عملية دمج الأنواع الفطرية فروقات معنوية في فعلها التثبيطي تجاه بكتريا E. coli و S. aureus ، إذ بلغ أعلى فعل تثبيطي عند دمج الفطرين Cortinarius sp. و M. verrucaria ، P. pistillaris و P. chrysosporium في حين لوحظ انخفاض معنوي في القدرة التثبيطية عند دمج الفطرين Cortinarius sp. و M. verrucaria والفطرين Cortinarius sp. وP. chrysosporium ، ولوحظ زيادة معنوية في فعالية مستخلص الفطرين P. pistillaris و G. applanatum عند دمج المستخلصين معاً وانعدمت فعالية مستخلص الفطر Cortinarius sp. عند دمجه مع مستخلصات بقية الأنواع المختبرة .

شخصت جميع المواد الفعالة المنقاة من الفطريات المختبرة باستخدام طيف الأشعة فوق البنفسجية Ultra violet radiation لتحديد قمم الامتصاص لتلك المواد وطيف الأشعة تحت الحمراء Infra red radiation لتحديد المجاميع الفعالة .

تم تحديد الوزن الجزيئي Molecular weight والصيغة الجزيئية والتركيبية بالاعتماد على تقنيتي H1NMR و GC-Mass للمواد الفعالة G2 ، G1، C1 و M3 وكما يلي : المادة الفعالة C1 (الوزن الجزيئي = 403 ، الصيغة الجزيئية $C_{21}H_{40}O_3$) والذي يعود إلى مجموعة مركبات Fatty acid esters ويحمل المركب الاسم ،المادة G1 (الوزن الجزيئي = 336 ، الصيغة الجزيئية $C_{20}H_{32}O_4$) والذي يعود الى مجموعة التانينات Tannins ويحمل المركب الأسم :

19,19a-dihydroxy-2-methyl-2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15-tetradecahydrobenzo[b][1]oxacycloheptadecin-17(19aH)-one

المادة الفعالة G2 (الوزن الجزيئي = 360 ، الصيغة الجزيئية $C_{21}H_{29}O_5$) والذي يعود إلى مجموعة مركبات Terpenoides ويحمل المركب الاسم :

2-(2-(2,5-dihydroxyphenyl)ethylidene)- 11-hydroxy-6,10-dimethylundeca-5,9-dienoic acid))

والمادة الفعالة M3 (الوزن الجزيئي= 280 ، الصيغة الجزيئية $C_{18}H_{32}O_2$) والذي يعود إلى مجموعة مركبات الكيتونات الحلقية ويحمل المركب الاسم:

3-(5,5-dimethylhexyloxy) 2,2,4,4-tetramethylcyclohexanone

Abstract

This study included isolation , purification and identification of some active substances from fungal isolates represented by basidiomycetes fungi : Agaricus bisporus , Clitocype phyllophila , Cortinarius sp. , Ganoderma applanatum, Phanerochaete chrysosporium , Podaixix pistillaris , In addition to deuteromycetes fungus Myrothecium verrucaria .

All isolated fungi showed inhibitory effect against two bacterial species Escherichia coli and Staphylococcus aureus , while the fungal extracts were significantly differences in their inhibition activity at propability $p \leq 0.05$. The fungal species Cortinarius sp. , M. verrucaria and P. chrysosporium were specific in their inhibition activity against dermatophytes and Candida albicans .

Active substances were purified from five fungal species by using column gel chromatography technique . These purified substances have been extracted such as C1 , C2 from Cortinarius sp. , G1 , G2 from G. applanatum , M2 , M3 from M. verrucaria , Ph from P. chrysosporium , and P1 , P2 from Podaxis pistillaris .

The purified substance C1 revealed highly inhibition activity against bacteria , dermatophytes and Candida. Minimum inhibitory concentration and minimum cidal concentration were detected on gram negative and positive bacteria , dermatophytes and Candida .

Cytotoxicity for all fungal extract was tested . Fungal extract of P. chrysosporium showed a lysis of red blood cells at concentration 100 µg/ml , while all other fungal extracts did not show cytotoxicity at this concentration .

Synergistic fungal species mixture was showed significant differences in their inhibition activity on two bacterial species (E. coli and S. aureus).

High inhibition activity for synergistic interacted species was observed when mixing Cortinarius sp. + P. pistillaris and M. verrucaria + P. chrysosporium , on contrary , the inhibitory activity was decreased by mixing Cortinarius sp. + M. verrucaria and Cortinarius sp. + P. chrysosporium . In addition to that highly significant increasing was observed by mixing the extract of G. applanatum + P. pistillaris , but no inhibition activity was appeared by mixing extract of Cortinarius sp with other fungal extracts .

All purified active substances were identified using Ultra violet radiation and Infra red radiation .

Molecular weight (M.wt.) , chemical formula and chemical structure were determind using H1NMR and GCMass for the purified substances C1 , G1 , G2 and M3 as following :

C1 (M.wt. = 340 , chemical formula $C_{21}H_{40}O_3$) that belongs to fatty acid esters group and namely : (Oxiran-2-ylmethyl stearate)

G1 (M.wt. = 336 , chemical formula $C_{20}H_{32}O_4$)

that belongs to tannins chemical groups and namely :

19,19a-dihydroxy-2-methyl-2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15-tetradecahydrobenzo[b][1]oxacycloheptadecin-17(19aH)-one

G2 (M.wt. = 360 , chemical formula C21H29O5) that belongs to terpenoid and was have namely :

2-(2-(2,5-dihydroxyphenyl)ethylidene)- 11-hydroxy-6,10-dimethylundeca-5,9-dienoic acid))

M3 (M.wt. = 280 , chemical formula C18H32O2) that belongs to chemical group of cycloid ketons and was have namely :

3-(5,5-dimethylhexyloxy) 2,2,4,4-tetramethylcyclohexanone