مجلة جامعة طرطوس للبحوث والدراسات العلمية_ سلسلة العلوم الأساسية المجلد (6) العدد (1) 2022

Tartous University Journal for Research and Scientific Studies –Basic Sciences Series Vol. (6) No. (1) 2022

تحديد المحتوى الكمي لمركب اللوفاستاتين في مستخلصات ثلاثة أنواع من الفطريات الدعامية ومقارنة فعاليتها الحيوية

الدكتورة نوال علي*

الدكتورة هاجر ناصر**

الدكتورة ريم سلامة***

أمجد ديب****

(تاريخ الإيداع 24/10/ 2021– تاريخ النشر 4/ 1/ 2022)

□ ملخّص □

نُفذ البحث لتحديد المحتوى الكمي لمركب اللوفاستاتين في المستخلصات الإيتانولية للفطريات الدعامية *Schizophyllum commune*، *Pleurotus ostreatus*، *Agaricus bisporus*، حيث بلغ تركيز مركب اللوفاستاتين في تلك المستخلصات (10.05، 18.75، 25.32) ملغ/غ خلاصة جافة على التتالي.

أُختبرت فعالية المستخلصات الفطرية بتراكيز (0.5، ١، 2، 4) ملغ/مل في تثبيط نمو الخيوط الفطرية وإنتاش الأبواغ الكونيدية للفطرين *Aspergillus flavus* و *Aspergillus terreus*، تباينت فعالية المستخلصات، حيث أبدى مستخلص الفطر *A. bisporus* فعالية تثبيطية ملحوظة تجاه الفطرين المدروسين، إذ تزايدت الفعالية بازدياد التركيز، وكان التركيز 4 ملغ/مل أعلاها تأثيراً إذ ثبط نمو الخيوط الفطرية وإنتاش الأبواغ للفطر *A.terreus* بنسب 63.93 و 72.47 % وللفطر *A.flavus* بنسب 57.42 و 62.06 % على التتالي مقارنةً بالشاهد، تلاه مستخلص الفطر *P. ostreatus*، فكانت نسب التثبيط عند التركيز ذاته للفطر *A.terreus* 58.45 و 63.40 % وللفطر *A.flavus* 51.94 و 58.11 % على التتالي مقارنةً بالشاهد، أما بالنسبة لمستخلص الفطر *S.commune* فكان الأقل تأثيراً مقارنةً بالمستخلصين السابقين عند التركيز ذاته، إذ بلغت نسب التثبيط للفطر *A.terreus* 53.35 و 59.75 % وللفطر *A.flavus* 48.66 و 56.45 % على التتالي مقارنةً بالشاهد.

الكلمات المفتاحية: مستخلص، لوفاستاتين، فطريات دعامية، *Aspergillus*، فعالية مضادة للفطريات.

*أستاذ– قسم علم الحياة النباتية – كلية العلوم – جامعة تشرين – اللاذقية – سورية.

**أستاذ – قسم الكيمياء – كلية العلوم – جامعة تشرين – اللاذقية – سورية.

***مدرس– قسم العقاقير – كلية الصيدلة – جامعة تشرين – اللاذقية – سورية.

****طالب دراسات عليا (دكتوراة)– قسم الكيمياء البيئية– المعهد العالي لبحوث البيئة– كلية العلوم– جامعة تشرين– اللاذقية– سورية.

– البريد الإلكتروني: amjaddeeb7@gmail.com

مجلة جامعة طرطوس للبحوث والدراسات العلمية_ سلسلة العلوم الأساسية المجلد (6) العدد (1) 2022

Tartous University Journal for Research and Scientific Studies –Basic Sciences Series Vol. (6) No. (1) 2022

Determination a quantity content of lovastatin compound at extracts of three spieces of Basidiomycetes fungi and comparisation of their biological activity

Dr. Nawal Ali*
Dr. Hajar Nasser**
Dr.Reem Salamah***
Amjad Deeb****

(Received 24/10/2021.Accepted 4/1/2022)

□ABSTRACT □

This research was carried out to determine a quantity content of lovastatin compound at ethanolic extracts of basidiomycetes fungi (*Schizophyllum commune*, *Pleurotus ostreatus* , *Agaricus bisporus*), and the concentration of lovastatin at those extracts reached (10.05, 18.75, 25.32) mg/g of dry extract ,respectively.

The efficacy of fungal extracts was tested with concentrations of (0.5, 1, 2, 4) mg/ml in inhibiting the growth of fungal hyphae and conidia spores germination of two fungi (*Aspergillus terreus*, *Aspergillus flavus*), the efficacy of extracts varied, where fungal extract of *A.bisporus* showed a remarkable inhibitory efficacy towards the studied fungi, as the efficacy increased with increasing concentration, at concentration 4 mg/ml inhibited the growth of fungal hyphae and spores germination of *A.terreus* by ratios reached (63.93, 72.47)%, while inhibited of *A.flavus* by ratios (57.42, 62.06)% respectively, compared to control, followed by fungal extract of *P.ostreatus* where the inhibition rates at the same concentration reached (58.45, 63.40)% for *A.terreus*, and (51.94, 58,11)% for *A.flavus*, respectively, compared to control, while for the fungal extract of *S.commune* was the least effective compared to the previous two extracts, at the same concentration, where the ratios of inhibition reached (53.35, 59.75)% for *A.terreus*, and (48.66, 56.45)% for *A.flavus*, respectively, compared to control.

Key words: Extract, Lovastatin, Basidiomycetes fungi, *Aspergillus*, Antifungal activity.

* Professor, Department of Botany, Faculty of Sciences, Tishreen University, Lattakia, Syria.
** Professor , Department of Chemistry, Faculty of Sciences, Tishreen University, Lattakia, Syria.
*** Assistant professor, Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy, Tishreen University, Lattakia, Syria.
**** PhD student, Department of Environmental Chemistry at Higher Institute for Environmental Researches, Faculty of Sciences, Tishreen University, Lattakia, Syria.
-E-mail: amjaddeeb7@gmail.com.

مقدمة:

بينت منظمة الصحة العالمية أن حوالي ٢٣.٦ مليون من البشر سيموتون بحلول العام ٢٠٣٠ م بسبب أمراض قلبية وعائية، وحوالي ٨٠% من معدل الوفيات هم من البلدان منخفضة إلى متوسطة الدخل، ويشكل ارتفاع كوليسترول الدم السبب الرئيس لمعظم الأمراض القلبية، لذا يهدف العلاج الدوائي إلى خفضه عن طريق التقليل من إنتاج البروتين الشحمي منخفض الكثافة low-density lipoprotein (LDL) (Pushpa *et al.*, 2016).

يستخدم مركب اللوفاستاتين بشكل واسع نظراً لتأثيره الخافض لكوليسترول الدم، كما يعد أول دواء من مجموعة الستاتينات وافقت منظمة الغذاء والدواء على استخدامه عام ١٩٨٧ م (Radha and Lakshmanan, 2013).

تنتج الفطريات مجموعة واسعة من المستقلبات الفعالة حيوياً، والتي استخدمت قديماً في علاج العديد من الأمراض، أما حديثاً تستخدم الفطريات في المجالات الطبية والصيدلانية لإنتاج أدوية مهمة كالصادات الحيوية، مضادات السرطان وخافضات الكوليسترول وغيرها (Tsiantas *et al.*, 2021).

يمكن الحصول على مركب اللوفاستاتين من أجناس وأنواع مختلفة من الفطريات مثل *Aspergillus*, *Monoascus*, *Paecilomyces*, *Trichoderma*, *Agaricus* وغيرها (Pushpa *et al.*, 2016; Srinu *et al.*, 2010; Chakravarti and Sahai, 2004; Casas Lopez *et al.*, 2004; Bedford *et al.*, 1995).

يمتلك مركب اللوفاستاتين إضافةً لتأثيره الخافض للكوليسترول، خصائص مضادة للالتهاب، كما يلعب دوراً مهماً في علاج العديد من الاضطرابات، وُوجد أيضاً أن له تأثيراً مثبطاً لنمو بعض الأحياء الدقيقة الممرضة للإنسان (Morimoto *et al.*, 2006; Seenivasan *et al.*, 2008; Barrios and Miranda, 2010).

ازدادت في الآونة الأخيرة العدوى بالفطريات وبشكل رئيس الفطريات العائدة لجنس *Aspergillus*، ولُوحظت أغلب الإصابات عند المرضى ضعيفي المناعة نتيجة الاستهلاك الزائد للصادات الحيوية واسعة الطيف، مما أدى لظهور سلالات فطرية مقاومة لأغلب الصادات (Scorzoni *et al.*, 2007; Razzaghi and Rai, 2013).

يعد جنس *Aspergillus* من الأجناس الفطرية الواسعة الانتشار في الطبيعة إذ يضم أكثر من 200 نوعاً إلا أن أشد الأنواع إمراضية للإنسان هي *A.fumigatus, A.niger, A.terreus, A.flavus* (Lamoth, 2016).

تتراوح الأعراض التي تحدثها العدوى بالفطريات العائدة لجنس *Aspergillus* ما بين أعراض سطحية إلى أعراض جهازية مهددة للحياة تترافق مع عدوى غازية تعرف بداء الرشاشيات (Aspergillosis)، ويعد داء الرشاشيات الرئوي أكثرها شيوعاً (Erjavec *et al.*, 2009; Mayr and Lass, 2011).

أهمية البحث و أهدافه:

تحظى الفطريات في الآونة الأخيرة بالاهتمام الكبير، نظراً لتطبيقاتها المتنوعة في المجالات الغذائية والدوائية، ولكونها تشكل مصدراً مهماً للعديد من المستقلبات الفعالة حيوياً، والتي تحتفظ بالعديد من الخصائص العلاجية كفعاليتها الشافية للجروح والمضادة للالتهاب، والتي قد تكون أكثر أماناً على الصحة والبيئة من المركبات الكيميائية المستخدمة في المعالجة، لذا هدف هذا البحث إلى:

١-تحضير مستخلصات إيتانولية من ثلاثة أنواع من الفطريات الدعامية (*Schizophyllumcommune*, *Pleurotus ostreatus*, *Agaricus bisporus*).

٢-تحديد محتوى المستخلصات من مركب اللوفاستاتين.

٣-اختبار فعالية المستخلصات في تثبيط نمو الخيوط الفطرية وإنتاش الأبواغ الكونيدية للفطرين *A.flavus* و *A.terreus*.

مواد البحث وطرائقه:

١-جمع العينات:

تم الحصول على عينات الأنواع الفطرية *S.commune*, *P.ostreatus*, *A.bisporus* من مناطق مختلفة شمال محافظة اللاذقية، أُحضرت إلى مختبر الدراسات العليا في كلية العلوم، صُنفت من الناحية المورفولوجية وفق (Garnweidner, 1985)، نُظفت من الشوائب والأتربة العالقة، جُففت في الظل لمدة (٤-٧) أيام للتخلص من الرطوبة الزائدة، ثمّ وضعت في فرن بالدرجة ٤٠°م حتّى ثبات الوزن، بعدها طُحنت باستخدام الخلاط الكهربائي، وحُفظ المسحوق بعبوات زجاجية معتمة في الثلاجة حتى لا يتخرب بفعل الحرارة والضوء لحين استعماله في خطوات الاستخلاص اللاحقة.

بينما تم الحصول على الفطرين *A.flavus* و *A.terreus* من مشفى تشرين الجامعي في اللاذقية، حيث أُخذت عينات من القشع، زُرعت بعدها على مستنبت Sabouraud Dextrose Agar (SDA)، حُضنت عند درجة حرارة ٢٨°م ± ٢ لمدة اسبوع، بعدها تمّ عزل وتنقية النوعين الفطريين، حُددا وفقاً لبعض المفاتيح التصنيفية (Diba *et al.*, 2007; McClenny, 2005) بالاعتماد على المواصفات المورفولوجية والمجهرية مثل (لون المستعمرة، قطر النمو، أبعاد الأبواغ الكونيدية، شكل وثخانة الحامل الكونيدي) ثمّ حُفظ النوعان في أنابيب مائلة تحتوي على مستنبت SDA في الثلاجة عند درجة حرارة ٤°م، بحيث يمكن إعادة تنشيط نموها على مستنبت صلب عند الحاجة.

٢-تحضير المستخلصات:

حُضرت المستخلصات وفقاً لطريقة Raghunath *et al.* (2012) مع بعض التعديلات حيث أُخذ ١٠ غ من مساحيق الفطريات الثلاث كل على حده وُوضع في دورق مخروطي معقم، وأُضيف إليه ١٠٠ مل من مذيب الإيتانول 95 %،غُطي بورق من الألمنيوم، وُضع المزيج في حمام مائي هزاز عند درجة حرارة ٢٨°م لمدة ساعتين، ثُفل بسرعة 1500 دورة/دقيقة لمدة 20 دقيقة، ثم رُشح بأوراق Whatman No.1، أُخذت الطبقة السائلة ومُزجت مع حمض الخل بتركيز 1 % بنسبة مل/مل، بُخرت بجهاز المبخر الدوار عند درجة حرارة ٤٠°م للحصول على خلاصة

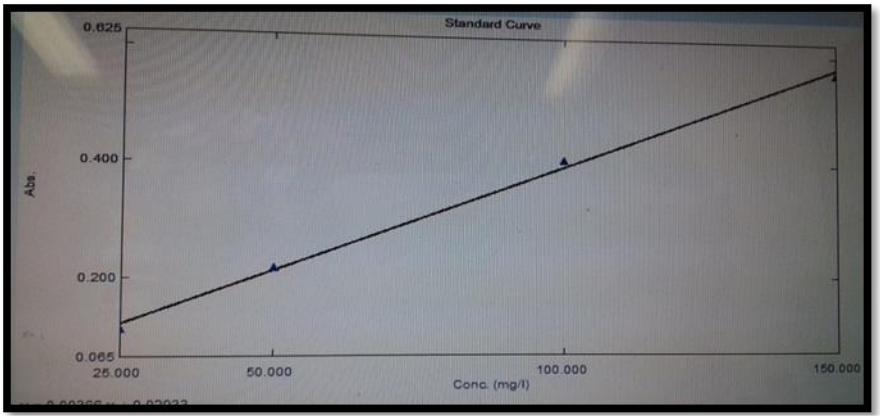
مركزة، ثم جُففت في فرن بدرجة حرارة ٣٥°م للحصول على كتلة عجينية، حُفظ في البراد عند درجة حرارة ٤°م ضمن عبوات زجاجية عاتمة لحين الاستخدام.

٣-تحديد محتوى المستخلصات من مركب اللوفاستاتين:

مُدِّد المستخلص بالإيتانول ٩٥ %، قيست الامتصاصية عند طول موجة ٢٣٨ نانومتر باستخدام جهاز السبيكتروفوتومتر، ثم حُسب تركيز مركب اللوفاستاتين وفق (Mielcarek *et al.*, 2009):

$$\text{تركيز اللوفاستاتين (ملغ/غ)} = \frac{\text{تركيز اللوفاستاتين(ملغ/مل)}}{\text{وزن الخلاصة (غ)}} \times \text{عامل التمديد}$$

- تم الحصول على تركيز مركب اللوفاستاتين بواحدة ب لوفاستاتين قياسي (الشكل ١).



شكل (١): المنحني العياري لتغيرات الامتصاصية Abs بدلالة التركيز ملغ/ل لمركب لوفاستاتين قياسي

٤-اختبار فعالية المستخلصات في تثبيط نمو الخيوط الفطرية للفطرين*A.flavus* و *A.terreus*:

أُختبرت فعالية المستخلصات في تثبيط نمو الخيوط الفطرية للفطرين المدروسين بطريقة الغذاء المسموم (Nene and Thapilyal, 2002) مع بعض التعديلات، حُضر المستخلص بتراكيز 5، 10، 20، 40 ملغ/مل باستخدام الماء المقطر والمعقم، ثم أُضيف 1 مل من كل تركيز من التراكيز المذكورة إلى 10 مل من مستنبت SDA وحُرّك جيداً، لتصبح التراكيز النهائية 0.5، 1، 2، 4 ملغ/مل، ثمّ صُب المزيج في أطباق بتري بلاستيكية قطرها 9 سم، تُركت الأطباق لتتصلب في درجة حرارة المختبر، أُخذ بعد ذلك قرص بقطر (5) مم من أطراف مستعمرة الفطر المدروس بعمر أسبوع، وُضعت في منتصف كل طبق، أما الأطباق الشاهدة فتمت باستنبات الفطر على مستنبت SDA خالٍ من المستخلص، حُضنت الأطباق عند درجة حرارة ٢٨°م ± ٢ لمدة (7) أيام (Dhar *et al.*, 2015).

تضمنت التجربة ثلاثة مكررات لكل تركيز إضافةً إلى الشاهد، ثم قُيسَ قطر المستعمرة النامية في منتصف كل طبق، حُسب متوسط أقطار نمو المستعمرات الفطرية للمكررات الثلاثة، ومن ثمّ النسبة المئوية للتثبيط فى كل معاملة وفق المعادلة الآتية (Yigit and Korukluoglu, 2007):

$$\text{النسبة المئوية للتثبيط} = \frac{\text{متوسط قطر مستعمرات الشاهد} - \text{متوسط قطر المستعمرات المعاملة}}{\text{متوسط قطر مستعمرات الشاهد}} \times 100$$

٥-اختبار فعالية المستخلصات في إنتاش الأبواغ الكونيدية للفطرين *A.flavus* و *A.terreus*:

حُضر المعلق البوغي من المستعمرات الفطرية الشاهدة بعمر أسبوع، حيث أضيف للمستعمرة الفطرية ٥ مل من الماء المقطر المعقم، أُجري كشط بسيط لسطح المستعمرة بوساطة إبرة الزرع، رُشح المزيج من أجل الحصول على معلق الأبواغ الفطرية، حُددت كثافة الأبواغ في المعلق بالاعتماد على الفحص المجهري للمعلق في شريحة مالاسية (malassz)، ثمّ عدل بمحلول توين للحصول على التركيز المطلوب ($١٠^{٦}$ بوغة/ مل) وفق المعادلة: نسبة التخفيف = النسبة المحسوبة / النسبة المطلوبة (Benslim *et al.*, 2016)، بعد ذلك مُزج (١) مل من المعلق البوغي مع (١) مل من المستخلص و (٨) مل من المستنبت المغذي رُج جيداً حتّى تمام تجانس المزيج.

أُخذت عدة قطرات من المزيج (مستنبت، مستخلص، معلق) بوساطة ماصة دقيقة معقمة، وضعت في شرائح زجاجية مقعرة،(الشرائح المقعرة مصنوعة من الزجاج، تحوي كل منها على حفر دائرية الشكل)، وُضعت الشرائح بعد ملء حجراتها ضمن أطباق بتري على حرف V مصنوع من أوراق ترشيح مشبعة بالماء المقطر والمعقم لتفادي الجفاف ضمن الحجرة المقعرة، ثمّ وُضعت الاطباق في الحاضنة عند الدرجة ٢٨°م ولمدة (٢٤-٤٨) ساعة (Kudi *et al.*, 2008)، فُحصت الشرائح مجهرياً بمعدل (١٠٠) بوغة لكل مكرر للتعرف على عدد الأبواغ المنتشة وغير المنتشة، وحُسبت نسبة تثبيط الإنتاش (Ibrahim *et al.*, 2014):

النسبة المئوية لتثبيط الانتاش= عدد الابواغ المنتشة / مجموع الابواغ × ١٠٠

النتائج و المناقشة:

يبين الجدول (1) التصنيف العلمي للفطريات *P.ostreatus*, *S.commune*, *A.bisporus* وفقاً لبعض المراجع التصنيفية (Cooke, 1961; Imbach, 1946; Kummer, 1871):

الجدول (1): التصنيف العلمي للفطريات (*P.ostreatus*, *S.commune*, *A.bisporus*)

الفطر	*A.bisporus*	*S.commune*	*P.ostreatus*
المملكة	الفطريات	الفطريات	الفطريات
الصف	*Basidiomycetes*	*Basidiomycetes*	*Basidiomycetes*
الرتبة	*Agaricales*	*Agaricales*	*Agaricales*
الفصيلة	*Agaricaceae*	*Schizophyllaceae*	*Pleurotaceae*
الجنس	*Agaricus*	*Schizophyllum*	*Pleurotus*

بينما يُظهر الجدول (2) التصنيف العلمي للفطرين *A.flavus* ,*A.terreus* وفقاً ل Geiser, (2009):

الجدول (2): التصنيف العلمي للفطرين (*A.terreus*, *A.flavus*)

مملكة	الفطريات
صف	*Ascomycetes*
رتبة	*Eurotiales*
فصيلة	*Eurotiaceae*
جنس	*Aspergillus*

`

وتشير النتائج الواردة في الجدول (3) بأن هناك تبايناً واضحاً في محتوى المستخلصات الفطرية من مركب اللوفاستاتين، إذ أظهر مستخلص الفطر *A.bisporus* المحتوى الأعلى من مركب اللوفاستاتين وبتركيز بلغ 25.32 ملغ/ غ خلاصة جافة، تلاه مستخلص الفطر *P.ostreatus* بتركيز 18.75 ملغ/ غ، ثم مستخلص الفطر *S.commune* بتركيز ١٠.٠٥ ملغ/ غ.

توافقت نتائج الدراسة مع نتائج (Kata *et al.*, 2020; Pandey *et al.*, 2018; Pushpa *et al.*, 2016)، والتي بينت إمكانية استخلاص مركب اللوفاستاتين من الفطريات (*P.ostreatus*, *S.commune*, *A.bisporus*)، وتراوح تركيز مركب اللوفاستاتين المستخلص منها بين (5–70) ملغ/ل، ويمكن أن يعزى التباين في التركيز إلى الاختلاف في المناطق التي جُمعت منها العينات، إضافةً إلى اختلاف طريقة الاستخلاص المتبعة.

الجدول (3): تركيز مركب اللوفاستاتين في مستخلصات الفطريات المدروسة ± حد الثقة

الفطر	*A.bisporus*	*P.ostreatus*	*S.commune*
تركيز اللوفاستاتين (ملغ/ غ)	25.32±0.65	18.75±1.02	10.05±0.88

يبين الجدول (4) متوسط أقطار المستعمرات الفطرية (سم) والنسب المئوية لتثبيط نمو الفطر *A.terreus* بوجود تراكيز مختلفة من المستخلصات الفطرية المستحصل عليها، حيث لُوحظ ازدياد الفعالية بازدياد التركيز، كما تباين التأثير باختلاف نوع المستخلص، وأظهر مستخلص *A.bisporus* التأثير الأعلى مقارنةً بمستخلصي الفطرين *P.ostreatus*، *S.commune*، وبلغت نسب التثبيط 40.04، 50.24، 59.95 و 63.93 % عند التراكيز 0.5، 1، ٢ و ٤ ملغ/مل على التتالي، بينما كانت نسب التثبيط لدى المعاملة بمستخلص الفطر *P.ostreatus* 35.94، 47.13، 52.11، 58.45 %، وبلغت 32.71، 38.80، 42.91، 53.35 % لدى المعاملة بمستخلص *S.commune*وذلك عند التراكيز السابقة ذاتها.

الجدول (4): متوسط أقطار المستعمرات الفطرية (سم) والنسب المئوية لتثبيط نمو الفطر *A.terreus* بوجود تراكيز مختلفة من المستخلصات الفطرية

المستخلصات الفطرية	الشاهد		0.5 ملغ/مل		1 ملغ/مل		2 ملغ/مل		4 ملغ/مل	
	القطر	%	القطر	%	القطر	%	القطر	%	القطر	%
A.bisporus	8.04	٠	40.04e	4.82	50.24c	4	59.95ab	3.22	63.93a	2.9
P.ostreatus	8.04	٠	35.94f	5.15	47.13d	4.25	52.11c	3.85	58.45b	3.34
S.commune	8.04	٠	32.71g	5.41	38.80f	4.92	42.91e	4.59	53.35c	3.75

*** الحروف المتشابهة تدل على عدم وجود فروق معنوية عند مستوى دلالة ٥%.**

يبين الجدول (5) متوسط أقطار المستعمرات الفطرية (سم) والنسب المئوية لتثبيط نمو الفطر *A.flavus* بوجود تراكيز مختلفة من المستخلصات الفطرية، حيث أظهر أيضاً مستخلص الفطر *A.bisporus* نسب التثبيط الأعلى مقارنةً بمستخلصي الفطرين *P.ostreatus* ، *S.commune* وذلك عند جميع التراكيز، وبلغت النسب التثبيط 36.13، 43.67، 52.43 و 57.42 % وذلك عند التراكيز 0.5، 1، ٢ و ٤ ملغ/مل على التتالي، تلاه مسخلص الفطر*P.ostreatus* بنسب بلغت 34.30، 40.38، 48.54 و 51.94

%، ثم مستخلص الفطر *S.commune* بنسب 31.87، 36.25، 41.60 و 48.66 % وذلك عند التراكيز السابقة ذاتها.

الجدول (5): متوسط أقطار المستعمرات الفطرية (سم) والنسب المئوية لتثبيط نمو الفطر *A.flavus* بوجود تراكيز مختلفة من المستخلصات الفطرية

المستخلصات الفطرية	الشاهد		0.5 ملغ/مل		1 ملغ/مل		2 ملغ/مل		4 ملغ/مل	
	القطر	%	القطر	%	القطر	%	القطر	%	القطر	%
A.bisporus	8.22	٠	5.25	36.13e	4.63	43.67d	3.91	52.43b	3.5	57.42a
P.ostreatus	8.22	٠	5.4	34.30f	4.9	40.38d	4.23	48.54c	3.95	51.94b
S.commune	8.22	٠	5.6	31.87	5.24	36.25e	4.8	41.60d	4.22	48.66c

*** الحروف المتشابهة تدل على عدم وجود فروق معنوية عند مستوى دلالة ٥%.**

لُوحظ مـن النتائج في الجدول (٦) أن لمستخلص الفطر *A.bisporus* التأثير الأكبر في تثبيط إنتاش أبواغ الفطر *A.terreus* عند جميع التراكيز مع وجود فروق معنوية بين التركيز و الشاهد، حيث ازدادت نسبة تثبيط إنتاش الأبواغ تدريجياً بازدياد التركيز وذلك اعتباراً من التركيز 0.5 ملغ/مل بنسبة تثبيط بلغت 45.25% وبلغت أقصاها 72.47% عند التركيز 4 ملغ/مل، في حين كانت النسب 56.50 و 65.34 % وذلك عند التركيزين ١ و٢ ملغ/مل على التتالي.

بينما احتل مستخلص الفطر *P.ostreatus* المرتبة الثانية من ناحية تثبيط إنتاش الأبواغ، إذا ثبط بنسب بلغت 38.36، 53.22، 57.25، 63.40% وذلك عند التراكيز 0.5، 1، ٢ و ٤ ملغ/مل على التتالي.

أما مستخلص الفطر *S.commune* فقد كان الأقل تأثيراً في تثبيط أبواغ الفطر المدروس، حيث أظهر نسب بلغت 35.15، 43.66، 47.02، 59.75%على التتالي عند التراكيز السابقة ذاتها.

الجدول (٦): النسب المئوية لتثبيط إنتاش الأبواغ للفطر *A.terreus* بوجود تراكيز مختلفة من المستخلصات الفطرية

المستخلصات الفطرية	الشاهد	0.5 ملغ/مل	1 ملغ/مل	2 ملغ/مل	4 ملغ/مل
	%	%	%	%	%
A.bisporus	٠	45.25f	56.50d	65.34b	72.47a
P.ostreatus	٠	38.36h	53.22e	57.25d	63.40c
S.commune	٠	35.15h	43.66g	47.02f	59.75cd

*** الحروف المتشابهة تدل على عدم وجود فروق معنوية عند مستوى دلالة ٥%.**

تُظهر النتائج الواردة في الجدول (٧) أن لمستخلص الفطر *A.bisporus* أيضاً التأثير الأكبر في تثبيط إنتاش أبواغ الفطر *A.flavus* عند جميع التراكيز مع وجود فروق معنوية بين التركيز و الشاهد، حيث ازدادت نسبة التثبيط اعتباراً من التركيز 0.5 ملغ/مل بنسبة 41.32% ، وبلغت أعلى نسبة 62.06% عند التركيز 4 ملغ/مل، بينما كانت النسب 50.24 و 58.36% وذلك عند التركيزين 1 و ٢ ملغ/مل على التتالي.

أتى أيضاً مستخلص الفطر *P.ostreatus* في المرتبة الثانية من حيث تثبيط إنتاش الأبواغ للنوع المدروس، إذ بلغت النسب 36.20، 46.06، 55.90 و58.11 % وذلك عند التراكيز 0.5، 1، ٢ و ٤ ملغ/مل على التتالي.

كان مستخلص الفطر *S.commune* أقل المستخلصات تأثيراً في تثبيط الإنتاش، حيث بلغت النسب 34.55، 1، ٢ و ٤ 34.55, 41.75, 46.68, 56.45% على التتالي عند التراكيز السابقة ذاتها.

الجدول (٧): النسب المئوية لتثبيط إنتاش الأبواغ للفطر *A.flavus* بوجود تراكيز مختلفة من المستخلصات الفطرية

المستخلصات الفطرية	الشاهد	0.5 ملغ/مل	1 ملغ/مل	2 ملغ/مل	4 ملغ/مل
	%	%	%	%	%
A.bisporus	٠	41.32e	50.24c	58.36b	62.06a
P.ostreatus	٠	36.20f	46.06d	55.90b	58.11b
S.commune	٠	34.55fg	41.75e	46.68d	56.45b

*** الحروف المتشابهة تدل على عدم وجود فروق معنوية عند مستوى دلالة ٥%.**

توافقت نتائج الدراسة مع نتائج دراسات سابقة (Sultan *et al.*, 2020; Waithaka *et al.*, 2017)، حيث بينت فعالية مستخلصات الفطر *A.bisporus* في تثبيط نمو بعض الفطريات ومنها الفطر *A.flavus* وبأقطار تثبيط تراوحت بين ٢ و ٨ سم، ويمكن أن تُعزى الفعالية لوجود بعض المركبات الببتيدية والحموض الفينولية.

توافقت أيضاً مع نتائج (Kermasha, 2020; Butrus and Saoud, 2020, Naji *et al.*, 2016)، والتي بينت فعالية مستخلصات الفطر *P.ostreatus* في تثبيط نمو عدة أنواع من الفطريات ومنها الفطرين المدروسين في هذا البحث، وقد عُزيت الفعالية لوجود بعض المركبات الفعالة حيوياً كالحموض الدهنية، الحموض الأمينية وبعض المركبات السامة خلوياً كالحموض الفينولية والفلافونوئيدات.

كما توافقت مع دراسات أخرى (Miskovic *et al.*, 2021; Dahima *et al.*, 2020)، بينت فعالية مستخلصات الفطر *S.commune* في تثبيط نمو بعض الفطريات العائدة لجنس *Aspergillus* وبأقطار تثبيط تراوحت بين 2 و 3 سم، وقد عُزيت الفعالية لوجود بعض الحموض الفينولية كحمض الغاليك وحمض الكينيك.

يحتوي مركب اللوفاستاتين الذي تم تحديد تركيزه في المستخلصات على عدة حلقات عطرية إضافةً لبعض الوظائف الهيدروكسيلية، وبالتالي يمكن أن يدعم تأثير المركبات الأخرى المثبطة لنمو الفطريات، إذ يتفاعل مع بعض المركبات الستيرولية الداخلة في بنية الجدار الخلوي للخلية الفطرية مؤدياً لإحداث ثقوب، ينتج عنها تفكك في الغشاء السيتوبلاسمي وفقدان المحتوى السيتوبلاسمي للخلية (Lucchini *et al.*, 1990).

الاستنتاجات والتوصيات:

الاستنتاجات:

١-أظهرت الدراسة وجود مركب اللوفاستاتين في المستخلصات الفطرية المدروسة وبلغ أعلى تركيز 25.32 ملغ/غ في مستخلص الفطر *A.bisporus*.

٢-أظهرت المستخلصات الفطرية المدروسة فعالية حيوية جيدة في تثبيط نمو الخيوط الفطرية وإنتاش الأبواغ الكونيدية للفطرين *A.flavus* و *A.terreus*، وكان مستخلص الفطر *A.bisporus* أكثرها فعالية عند التركيز 4 ملغ/مل تجاه الفطر *A.terreus* بنسب تثبيط بلغت 63.93 و 72.47 %، وللفطر *A.flavus* بلغت النسب 57.42 و 62.06 % على التتالي مقارنةً بالشاهد.

التوصيات:

١-دراسة إمكانية استخلاص مركب اللوفاستاتين من فطريات أخرى.

٢-اختبار فعالية المستخلصات في تثبيط نمو فطريات ممرضة أخرى.

٣-عزل وتنقية مركب اللوفاستاتين من المستخلصات الفطرية ودراسة خصائصه وتطبيقاته الصيدلانية.

المراجع:

1-BARRIOS, G.J., and MIRANDA, R.U. 2010, *Biotechnological production and applications of statins*. Appl Microbiol Biotech, Vol. 85, 869-883.

2-BEDFORD, J.D, SCHWEIZER, E., HOPWOOD, D.A., and KHOSLA, C. 1995, Expression of a fungal polyketide synthase in the bacterium *Streptomyces coelicolor* A3(2). J Bacteriol, Vol. 177, 4544-4548.

3-BENSLIM, A., Nora, H., AICHOUR, S.M., and CHEBEL, S. 2016, Evaluation of Inhibition of Fungal Spore Germination by Rhizospheric Bacterial Extracts. *Annual Research & Review in Biology* , Vol. 11, No. 5, 1-7.

4-BUTRUS, R., and SAOUD, R. 2020, *Antifungal activity of Pleurotus ostreatus* (Jacq. Ex: Fr.) Kummer from Syria. International Journal of Advancements in Research & Technology, Vol. 9, No. 3, 14-17.

5-CASAS LÓPEZ, J.L., SÁNCHEZ PÉREZ, J.A., FERNÁNDEZ SEVILLA, J.M., ACIÉN FERNÁNDEZ, F.G., MOLINA GRIMA, E., and CHISTI, Y. 2004, Fermentation optimization for the production of lovastatin by *Aspergillus terreus*: Use of response surface methodology. J. Chem. Technol. Biotechnol, Vol.79, 1119–1126.

6-CHAKRAVARTI, R., and SAHAI, V. 2004, Compactin-a review. *Appl Microbiol Biotechnol*, Vol.64, 618-24.

7-COOKE, W.B. 1961, The Genus *Schizophyllum*, Mycologia, Vol. 53, No. 6, 575-599.

8-DAHIMA, V., DOSHI, A., and SINGH, H. 2020, Screening of Antifungal Activity of *Pleurotus pulmonarius*, *Pleurotus florida* and *Shizophyllum commune*, *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci,* Vol. 9, No. 4, 997-1004.

9-DHAR, R., CHOUDHURY, G.B., and NIGAM, V.K. 2015, *Screening of different fungi for production of lovastatin, Asian Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences*, Vol. 5, No. 44, 24-29.

10-DIBA, K., KORDBACHEH, P., MIRHENDI, S.H., REZAIE, S., and MAHMOUDI, M. 2007, *Identification of Aspergillus species using morphological characteristics.* Pak. J. Med. Sci, Vol. 23, No. 6, 867-872.

11-ERJAVEC, Z., KLUIN-NELEMANS, H., and VERWEIJ, P. 2009, *Trends in invasive fungal infections, with emphasis on invasive aspergillosis. Clin. Microbio*l. Infect. Vol. 15, 625–633.

12-GARNWEIDNER, E. 1985, GU *Naturfuhrer Pilze: d.wichtigen Pilze Mitteleuropas erkennen u.bestimmen:* Grafe und Unzer.

13-GEISER, D. 2009, Sexual structures in *Aspergillus*: morphology, importance and genomics. Medical mycology: *official publication of the International Society for Human and Animal Mycology.* Vol. 47, No. 1, 21-26.

14-IBRAHIM, M., SHEHU, K., TAFINTA, I.Y., IMAM, U.A. and HASSANA, Y.A. 2014, Efficacy of Some Plant Extracts on Growth and Germination of *Rhizopus*

`

stolonifer and *Fusarium oxysporum* Isolated from Rotten Irish Potato Tubers. *Annals of Biological Sciences*, Vol. 2, No. 3, 63-67.

15-IMBACH, E.J. 1946, *Pilzflora des kantons Luzern und der angrenzen innerschweiz. Mitteilungen der naturforschenden Gesellschaft Luzern* (in German), Vol. 15, 5-85.

16-KATA, K., POPRAWA, A.K., RZEWIŃSKA, A., and MUSZYŃSKA, B. 2020, *Fruiting bodies of selected edible mushrooms as a potential source of lovastatin. European Food Research and Technology*, Vol. 246, 713–722.

17-KERMASHA, H.S.N. 2020, Evaluation of the efficiency of *Plearotus Ostreatus* in the percentage of inhibition of fungi *Aspergillus niger, Aspergillus flavus, Aspergillus terreus* and *Penicillium* sp. Eurasia J Biosci, Vol. 14, 4783-4787.

18-KUDI, T.M., AKPO, J.G., and YADA., P. 2008, *Savanna Journal of Agriculture*, Vol, 3, 23-37.

19-KUMMER, P. 1871, *Der Fuhrer in die Pilzkunde* (1st ed).

20-LAMOTH, F. 2016, *Aspergillus fumigatus*-Related Species in Clinical Practice. *Frontiers in Microbiology*, Vol. 7, 1-8.

21-LUCCHINI, J.J., CORRE. J., and CREMIEUX , A. 1990, *Antibacterial activity of phenolic compounds and aromatic alcohols. Res Microbiol*, Vol. 141, 499–510.

22-MAYR, A., and LASS-FLÖRL, C. 2011, *Epidemiology and antifungal resistance in invasive aspergillosis according to primary disease - review of the literature. E*ur. J. Med. Res. Vol. 16, 153.

23-MCCLENNY, N. 2005, *Laboratory detection and identification of Aspergillus species by microscopic observation and culture: the traditional approach.* J. Med. & Vet. Mycol, Vol. 1, No. 43, 125-128.

24-MIELCAREK, J., NASKRENI, M., and GROBELNY, P. 2009, *Photochemical properties of simvastatin and lovastatin by radiation*, J. Therm. Anal. Calorim. Vol. 96, 301–305.

25-MISKOVIC, J., KARAMAN, M., RAŠETA, M., KRSMANOVIC, N., BEREŽNI, S., JAKOVLJEVIC, D., PIATTONI, F., ZAMBONELLI, A., GARGANO, M.L., and VENTURELLA, G. 2021, *Comparison of Two Schizophyllum commune Strains in Production of Acetylcholinesterase Inhibitors and Antioxidants from Submerged Cultivation*. J. Fungi, Vol. 7, No. 115, 1-17.

26-MORIMOTO, K., JANSSEN, W.J., FESSLER, M.B., MCPHILLIPS, K.A., BORGES, V.M., BOWLER, R.P., XIAO, Y., KENCH, J.A., HENSOM, P.M., and VANDIVIER, R.W. 2006, *Lovastatin enhances clearance of apoptotic cells (efferocytosis) with implications for chronic obstructive pulmonary disease. J Immuol*, Vol. 176, No. 76, 57-65.

27-NAJI, H.S., DEWAN, M.M., and Y.ALSHEQRY, A. 2016, *Effect of Oyster mushrooms (Pleurotus ostreatus) on adiet poultry contaminated with fungus exudate toxins Aspergillus flavus and the possibility of inhibition growth and break down toxins producers from it. International Journal of Scientific & Engineering Research*, Vol. 7, 2, 49-60.

28-NENE, Y., and THAPILYAL, L. 2002, *Poisoned food technique of fungicides in plant disease control*. (3rd eds). Oxford and IBH Publishing Company, New Delhi.

29-PANDEY, V.V., VARSHNEY, V.K., KUMAR, M., KUMARI, A. and PANDEY, A. 2018, *Screening of lovastatin from higher basidiomycetous fungi from NTCC, forest*

pathology discipline, Dehradun, India, Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry Vol. 7, No. 6, 748-756.

30-PUSHPA, H., PRIYATA, H., NOMITA DEVI, K., VIJAYALAKSHMI, A., and RAMESH, D.H. 2016, *Screening of lovastatin (HMG-CoA reductase inhibitor) from edible wild mushrooms*, Current Research in Environmental & Applied Mycology, Vol. 6, No. 3, 190-196.

31-RADHA, K.V., and LAKSHMANAN, D. 2013, A review*: lovastatin production and applications. Asian J Pharma Clincal Res*, Vol. 6, No. 3, 6-21.

32-RAGHUNATH, R., RADHAKRISHNA, A.J., and ANGAYARKANNI, M. 2012, *Palaniswamy, Production and cytotoxicity studies of Lovastatin from Aspergillus niger PN2 an endophytic fungi isolated from Taxus baccata*, IJABPT, Vol. 3, No. 3, 562–570.

33-RAZZAGHI-ABYANEH, M., and RAI, M. 2013, *Antifungal metabolites from plants.* Springer: Berlin Heidelberg.

34- SCORZONI, L., BENADUCCI, T., ALMEIDA, A., SILVA, D.H.S., BOLZANI, V.D.S., and MENDES- GIANNINI, M.JS. 2007, *Comparative study of disk diffusion and microdilution methods for evaluation of antifungal activity of natural compounds against medical yeasts Candida sp and Cryptococcus sp. Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl*., Vol. 28, No. 1, 25-34.

35-SEENIVASAN, A., SHUBAHGAR, S., ARVINDAN, R., and VIRUTHAGIRI, T. 2008, Microbial production and biomedical applications of lovastatin. Ind J of Pharma Sci, Vol. 70, No. 70, 1-9.

36-SRINU, M., BHUSHAN, G.V.P., and MOGES, F. 2010, Screening of HMG CoA *reductase inhibitor producing marine actinomycetes*. Pharm Res Health Care, Vol. 2, 66-74.

37-SULTAN, S.M., AL-TARJUMAN, J.K., and EL ALDORY, M. 2020, The *antifungal activity of aqueous and alcoholic extract of mushroom (Agaricus bisporus) against Aspergillus flavus*. IMDC-SDSP, Cyberspace.

38-TSIANTAS, K., TSIAKA, T., KOUTROTSIOS, G., SIAPI, E., ZERVAKIS, G.I., KALOGEROPOULOS, N., and ZOUMPOULAKIS, P. 2021, *On the Identification and Quantification of Ergothioneine and Lovastatin in Various Mushroom Species: Assets and Challenges of Different Analytical Approaches. Molecules*, Vol. 26, No. 1832, 1-15.

39-WAITHAKA, P.N., GATHURU, E.M., GITHAIGA, B.M., and ONKOBA, K.M. 2017, *Antimicrobial Activity of Mushroom (Agaricus Bisporus) and Fungal (Trametes Gibbosa) Extracts from Mushrooms and Fungi of Egerton Main Campus, Njoro Kenya. Journal of Biomedical Sciences*, Vol. 6, No. 3, 1-6.

40-YIGIT, A., and KORUKLUOGLU, M. 2007, *The effect of potassium sorbate, NaCl and pH on the growth of food spoilage fungi. Annals Microbiol*., Vol. 57, No. 2, 209-215.