تقييم الفعالية الضد بكتيرية والمضادة للأكسدة لمستخلص الفطر **Alternaria chlamydospora** المعزول من التربة

رشيد رحيم حتيت

جامعة ميسان/ كلية العلوم / قسم علوم الحياة

مهدي سيد شخينب

الجامعة التقنية الجنوبية .المعهد التقني في العمارة

الخلاصة

تضمنت الدراسة عزل وتشخيص الفطر *Alternaria chlamydospora*من التربة المحلية وتنقيته وتنميته في وسطPotato Dextrose Agar واستخلص الراشح باستعمال المذيب اثيل استيت (ethyl acetate) للحصول على المستخلص الفطري. وقد اظهر هذا المستخلص فعالية واضحة تجاه كلتا العزلتين القياسيتين *E.coli* (ATCC25922) و*S.aureus*(NCTC6571) والعزلات المرضية *S.pyogenes ,K. pneumonia* *Ps.aeruginosa*, باستعمال تقنيه الانتشار بالأقراص وكانت اقطار مناطق التثبيط للمستخلص الفطري 31.5 ملم تجاه *S.aureus* و29.5ملم تجاه *E.coli*و30.0 ملم تجاه *K.pneumoniae*و17.0 ملم تجاه *S.pyogenes* فيما لم تتأثر العزلة *Ps.aeruginosa*.وكشف اختبار لتركيز المثبط الادنى minimal inhibitory concentration للمستخلص الفطري اقل تركيز مثبط تجاه العزلة *S.aureus* بلغ3.12ميكروغرام/مل وكذلك اقل تركيز قاتل minimal bactericidal concentration أيضا تجاه العزلة *S.aureus* اذ بلغ 6.25ميكروغرام/مل.كما لم يظهر المستخلص الفطري أي سميه تجاه كريات الدم الحمر للإنسان. واظهرت الكشوفات الكيميائية للمستخلص الفطري احتواءه على التانينات والفينولات وعدم احتوائه على احماض امينيه وفلافونيدات.وقد اختبرت الفعالية ضد تأكسدية للمستخلص الفطري من خلال قياس قابليتها على اختزال أيونات الحديد الثنائي (Fe Π) وقد أظهرت نسب تثبيط عالية.إذ أن الايض المنتج من فطريات التربة يمكن أن يكون مصدرا بديلا للمضادات البكتيرية التجارية .

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

المقدمة

تعد الفطريات من أهم الكائنات الحية الدقيقة في أنتاج مركبات الايض الثانوي والتي هي عبارة عن مركبات ناتجة في أوساط زرعية وهي ليست ضرورية لنمو الفطر وإنما كنواتج خارج خلوية وقد تكون لها فوائد أخرى ، وأن نوعية وكمية أنتاج الايض الثانوي يتأثر بعوامل عده منها نوع الفطر وطبيعة الوسط الغذائي ودرجة الحرارة والحامضية أضافه إلى وجود بعض المحفزات (Demain,1986) .يعد العالم(1873) Sachs أول من عرف الايض الثانويsecondary metabolites والذي أشار إليها كمنتجات طبيعية من الإحياء المجهرية (Berdy ,2005) وما تلاها من أبحاث حول هذا الموضوع في عام 1940 وحتى وقتنا الحاضر فقد عزلت وشخصت العديد من مركبات الايض الثانوي لعدد من الأنواع الفطرية النامية في أوساط زرعيه والتي لها فعالية مثبطة لأحياء مجهريه أخرى لاسيما البكتريا (Forche *et al* .,1991) ويقدر الان عدد مركبات الايض الثانوي الميكروبية المعروفة إلى مايقارب50.000 نوع (Berdy , 2005)تنتج الأحياء المجهرية مركبات ايض ثانويه(كالمضادات الحيوية والسموم والقلويدات والستيرويدات وغيرها)خلال مرحلة النمو الطردي للخلية Exponential phase او خلال طور الاستقرار Stationary phase) Mohamed *et al* ., 2007) .ومن المعروف ان الايوض الثانوية تنتجها العديد من النباتات والبكتريا وكذلك الفطريات وتصنف حسب تركيبها الكيميائي وخواصها الفيزيائية إلى Alkaloides, Terpenoide , polyketide Organic acid Phenols, Steriodes Saponins, Peptides , Ethers , Oils وغيرها(Demain and Fang ,2000)وقدعزلت العديد من المضادات الحيوية المثبطة لنمو البكتريا المقاومة *S. aureus* والبكتريا الأخرى مثل المضاد الحيوي Gonomycin المعزول من الفطر *Gonodermaannulane* و Oxalic acid المعزول من الفطر *Lentinusedodes*(Bender *et al*., 2003).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

عزل الفطريات

جُمعت عينات تربة زراعية من مناطق مختلفة في ميسان شملت خلال عام2014 وذلك بإزاحة1 سم من الطبقة السطحية واخذت العينات على عمق 2– 5 سم ووضعت في اكياس بلاستيكية نظيفة وجلبت إلى المختبر،استخدمت طريقة التخفيف (Johnson *et al.*,1959) وذلك بوزن 10 غم من العينة ووضعت في دورق زجاجي يحتوي 100 مللتر من الماء المقطر المعقم ثم رج المزيج جيدا" . نقل 1 مللتر من العالق بوساطة ماصة معقمة وأضيفت إلى 9 مللتر من الماء المقطر المعقم للحصول على تخفيف 10^{-2} ، ثم نقل 1 مللتر من هذا التخفيف إلى 9 مللتر من الماء المقطر المعقم للحصول على تخفيف 10^{-3}. ونقل 1 مللتر من هذا التخفيف ووضع في أطباق بتري معقمة وأضيف إليها الوسط ألزرعي (Potato Dextrose Agar) الذائب والمعقم وحرك حركة رحوية لتوزيع العينة بشكل متجانس ثم ترك ليتصلب بدرجة حرارة الغرفة ثم حضنت الإطباق في الحاضنة بدرجة حرارة 25 ± 2 م ولمدة 5–7 أيام . استخدمت ثلاث مكررات لكل تركيز. فحصت الإطباق بواسطة مجهر التشريح وأخُذت قطعه من النمو الفطري وزرعت على وسط (PDA) للحصول على مزارع نقيه ثم نقلت أجزاء من المستعمرات المعزولة إلى أوساط مائلة slant tubes وحضنت بدرجة حرارة 25 ± 2 م لمدة 5 – 7 أيام ثم حفظت في الثلاجة بدرجة 8 م لحين الاستخدام ، لغرض تصنيف الأنواع المعزولة وتشخيصها نقل جزء من المستعمرات إلى شريحة زجاجية نظيفة حاوية على صبغة Lacto phenol cotton blue وشخصت العزلات الفطرية المنقاة حسب مصادر تصنيفيه (Ellis,1971, 1976;Domsch *et al.*,1980) .

نمو الفطر *A.chlamydospora* على أوساط التخمر

نمي الفطر *A. chlamydospora* على وسط مرق البطاطا الدكستروز Potato dextrose Broth (PDB) كوسط للتخمر وذلك لغرض الحصول على المركبات الأيضية الفعالة إذ لقحت دوارق زجاجية سعة 500 مل حاوية على 300 مللتر من الوسط (PDB) ب5 أقراص مأخوذة بوساطة ثاقب الفلين من مستعمرة الفطر النقية ثم حضنت الدوارق في درجة حرارة 25م لمدة 10 أيام .

استخلاص المواد الفعالة من راشح المزرعة الفطرية

بعد انتهاء فترة الحضن فصل راشح مزرعة الفطر بوساطة الطرد المركزي بمعدل 5000 دورة لمدة 15 دقيقة ثم رشحت باستعمال أوراق ترشيح نوع Whatman No.1 ثم عدل الأس الهيدروجيني للراشح إلى 3 حامض الهدروكلوريك HCL بتركيز 0.1 عياري ، بعدها استخلصت المواد الفعالة ثلاث مرات من الراشح بإضافة كمية من المذيب العضوي خلات الاثيل Ethyl acetate يعادل حجم الراشح باستعمال قمع الفصل Separating funnel مع الرج لمدة 10 دقائق . جمعت الطبقة العضوية ووضعت في اطباق زجاجية وتركت تتبخر بدرجة حرارة 45م ثم جمعت المستخلصات وحفظت في قناني زجاجيه معقمه ومحكمة الغلق في الثلاجة بدرجة حرارة 8م لحين الاستعمال (Kim *et al* ,.1999).

السلالات البكتيرية المختبرة

أ: العزلات البكتيرية القياسية

Escherichia coli(ATCC 6572)
Staphylococcus aureus(ATCC 25923)

ب:العزلات البكتيرية المرضية (تم الحصول عليها من م.الصدر التعليمي .ميسان)

Streptococcus pyogenes
Klebsiella pneumoniae
Psedomonas aeruginosa

اللقاح البكتيري

حضر عالق البكتريا بعد تنميتها على وسط Nutrient Agar لمدة 24 ساعة بنقل عدد من المستعمرات الى 5 مللتر من الماء المقطر وعدل التركيز بحيث يكون 10^6خلية/ مل باستخدام مقياس أنبوبة مكفرلاند .

اختبار الفعالية الحيوية للمواد الفعالة المستخلصة من الفطر

أتبعت طريقة الانتشار من الأقراص على الوسط الصلب Disk diffusion method Agarإذ حضرت الاقراص المشبعة بالمادة الخام اعتمادا على طريقة Gould and Bowie(1952) اذ عملت أقراص بقطر6 ملم من ورق الترشيح عددها 100قرص ثم وضعت في قنينة زجاجية وعقمت بالفرن بدرجة حرارة 150م ولمدة 60 دقيقة ، ثم وزن 3 ملغم من المستخلص الخام للفطر و أذيب في 1مللتر 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 30مايكرو غرام / قرص ، ثم خزنت هذه الأقراص في الثلاجة لحين الاستعمال .وضعت الأقراص المشبعة بالمادة الخام على أطباق بتري حاوية على وسطMuller Hinton Agar وملقحة ب 0.1 مللتر من العالق البكتيري لكل سلالة من البكتريا المختبرة والمنشورة بواسطة ناشر زجاجي ،ثم حضنت الأطباق في الحاضنة وتحت درجة حرارة 37م ولمدة 24 ساعة بعدها فحصت الإطباق وقيست الفعالية التثبيطية بقياس قطر منطقة التثبيط حول كل قرص بالمليمتر .

تحديد التركيز المثبط الادنى والقاتل الادنى للمواد الفعالة المستخلصة من الفطر

قدر التركيز المثبط الأدنى MIC للسلالات البكتيرية من خلال اجراء تخفيف ثنائي متسلسل للمادة المضادة في أطباق بلاستيكية Microdilution trays حاوية على 96 حفرة Cupped button well بإتباع الطريقة الموصوفة من قبل (Schaude*et al.*, 1987) . وكما يأتي :

1. نقل 50 مايكروليتر من الماء المقطر المعقم في جميع الحفر باستعمال الماصة الدقيقة.
2. أضيف 50 مايكروليتر من محلول المستخلص الفطري (800 مايكروغرام /مل) في الحفرة الأولى من الصف المناسب في صفين، وللحصول على 12 تخفيفاً ثنائياً نقل 50 مايكروليتر من حفرة الى أخرى في الصف نفسه .
3. نقل 50 مايكروليتر من المعلق البكتيري 1 × 10^6 خلية / مل لجميع الحفر ليصبح التركيز النهائي 2 × 10^5خلية / مل .
4. اضيف 100 مايكروليتر من وسط MHB المضاعف التركيز للحفر جميعها لتعطي تركيزاً نهائياً للمادة المستخلصة يتراوح بين 0.05 – 100 مايكروغرام/ مل .
5. غطيت الأطباق البلاستيكية ووضعت بدرجة حرارة 37 ْ م ولمدة 1–3 أيام ، حدد التركيز المثبط الأدنى على اساس اخر حفرة خالية من النمو .
6. حدد التركيز القاتل الأدنى MBC 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 37 ْ م .

اختبار السمية الخلوية للمواد الفعالة المستخلصة من الفطر

استعملت كريات الدم الحمر للإنسان 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 اختبار معقمة ، وأضيف لكل أنبوبة 0.2 مللتر من الدم ليصبح الحجم النهائي 1 مللتر لكل أنبوبة . حضنت الأنابيب في الحاضنة بدرجة حرارة 37م لمدة ثلاث ساعات ، فحصت الانابيب لملاحظة التحلل الدموي Hemolysis وسجلت النتائج .

اختبار الفعالية الضد تأكسدية للمواد الفعالة المستخلصة من الفطر

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) (II وأجري الاختبار بناء على الطريقة الموصوفة من قبل Furman(2000) 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 الماء الايوني deionized water باستخدام قنينة دورق حجمي سعة (100 مل) ثم حضرت منة تركيز(1ppm) في قنينة حجمية سعة 20 مل .

2- حساب الطول الموجي لا أعلى امتصاصية (λmax)

أخذ محلول يتكون من الحديد الثنائي بتركيز 1ppm وأضيف إلية 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) باستخدام جهاز مقياس الطيف الضوئي(spectrophotometer) ومن ثم تم تحديد الطول الموجي

المقابل لأعلى امتصاصية (λmax) . بعدها تم تحديد فعالية المادة الخام المضادة للتأكسد حيث أضيف (0.5 ، 1 ، 2 ، 3 ، 4،5) 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 ، اذ ان انخفاض الامتصاصية مع ازدياد حجم محلول المادة الخام يدل على فعالية المادة الخام المضادة للأكسدة.

النتائج والمناقشة

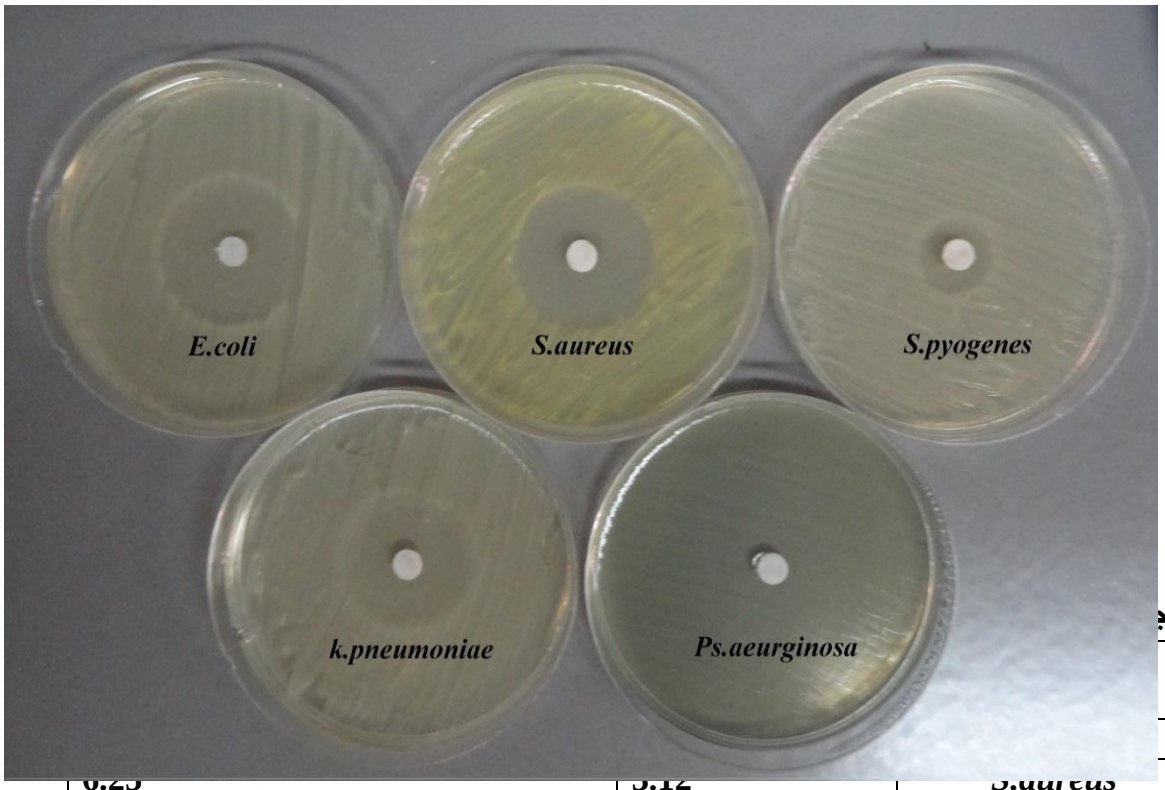
أظهرت النتائج امتلاك المستخلص الفطري فعالية تثبيطية تجاه البكتريا القياسية والمرضية المختبرة باستثناء العزلة*Ps.aeurginosa*بأقطار تثبيط متباينة فقد اظهر المستخلص الفطري اعلى فعاليه تثبيطية تجاه العزلة *S.aureus*بقطر تثبيط بلغ 31.5 ملم تلتها العزلة *K.pneumoniae*بقطرتثبيط بلغ 30.0 ملم فيما اظهر اقل فعالية تثبيطيه تجاه العزله*S.pyogenes* (جدول1) .قد يعود هذا التباين في تاثير المستخلص الفطري الى اختلاف المكونات الكيميائية التي يحتويها كالتانينات والتربينات الاحادية والفينولات وغيرها وكذلك امتلاك البكتريا لعدد من اليات المقاومة للمضادات الحيويةفقدرة بعض انواع البكتريا على تغير التركيب الكيميائي للمضاد الحيوي بينما تمتلك انواع آخرى القدرة على إعادة إخراج المضاد الحيوي من جسمها او تغير في تركيب مادتها الوراثية من خلال الطفرات ، جميعها عوامل جعلت تصب باتجاه البحث عن انواع جديدة من المضادات الحيوية كما تفاوتت قيم التركيز المثبط الادنى MIC للمادة المستخلصة الخام للفطر *A. chlamydospora*تجاه السلالات البكتيرية القياسية والمرضية(جدول2) ربما يعود ذلك الى الاختلاف في تركيب الجدار الخلوي للبكتريا السالبة والموجبة لصبغة كرام اذ يتصف جدار البكتريا السالبة بقلة نفاذية الغلاف الخارجي للمضادات الحيوية بسبب وجود الطبقة الخارجية والتي تحول دون وصول المضادات إلى المنطقة الهدف (Yoshimura and Nikaido , 1982) .وكذلك فأن احتواء جدار البكتريا السالبة لصبغة كرام على مركبات Lipopolysaccharides وLipoprotein بينما تمتاز جدران البكتريا الموجبة لصبغة كرام بنفاذيتها للمركبات الفعالة ولذلك تكون أكثر تأثرا من البكتريا السالبة لصبغة كرام (Chandrashekhara ,2010).

جدول(1) معدل أقطار مناطق تثبيط النمو (ملم) للمستخلص الفطري

السلالات البكتيرية	معدل اقطار التثبيط(ملم)

29.5	***E.coli***
31.5	***S.aureus***
17.0	***S.pyogenes***
30.0	***K.pneumoniae***
0	***Ps.aeruginosa***

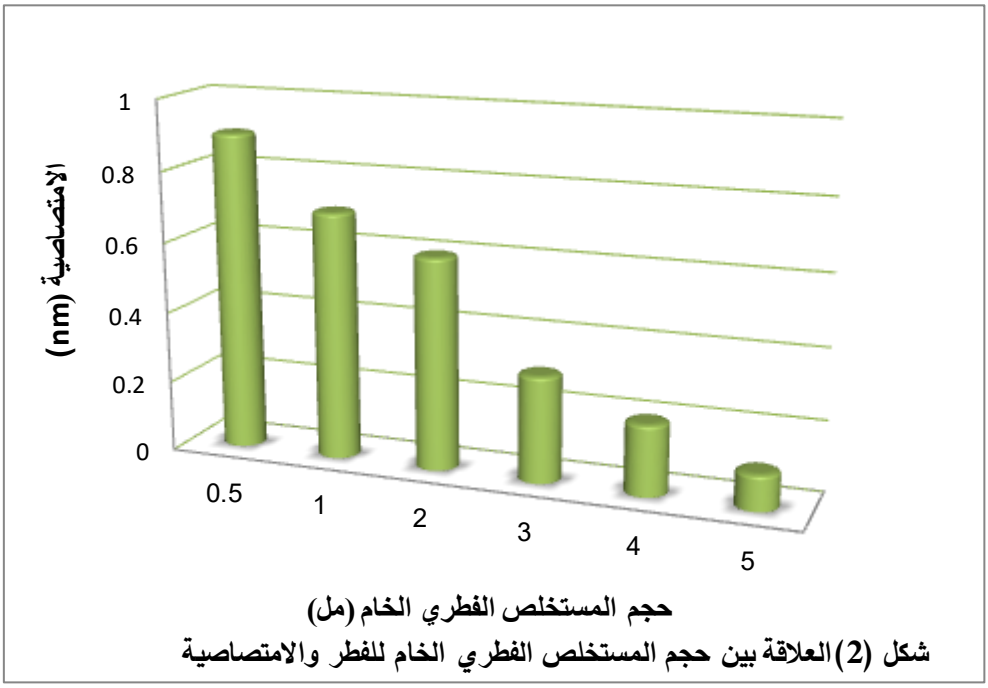
شكل(1) الفعالية الضد بكتيرية للمستخلص الفطري



0.25	**3.12**	***S.aureus***
50.0	**12.5**	***S.pyogenes***
50.0	**12.5**	***K.pneumoniae***

وبينت نتائج الدراسة الحالية عدم احتواء المستخلص الفطري الخام للفطر *A. chlamydospora* لأي فعالية سميه تجاه كريات الدم الحمر اذ لوحظ عدم حدوث تحلل في كريات الدم الحمراء خلال فترة الحضن وعند درجة حرارة 37م وهي الظروف التي يجرى عندها الاختبار (Boddington,2009 ;Jain and Pundir,2011)هي ليست ذات

سميه وبالتالي بالإمكان استعمالها كمضادات حيوية لتثبيط نمو البكتريا المرضية ألا أنه يجب تطبيق البروتوكولات الدوائية بهذا الخصوص ومنها أجراء تجارب على الفئران المختبرية بعد أصابتها بالبكتريا المرضية لمعرفة مدى فاعلية هذه المركبات في علاج الفئران المصابة كما أظهرت نتائج الدراسة الحالية بأن للمستخلص الفطري الخام الفطر *A. chlamydospora*فعالية ضد تأكسدية تعمل على اختزال ايونات الحديد الثنائية وتحويلها إلى ذرات الحديد مع وجود فرق معنوي ملحوظ عند مستوى احتمال $p \leq 0.05$ ، كما تبين إن الفعالية الضد تأكسدية للمستخلصات الفطرية الخام تزداد بزيادة حجم المستخلص الفطري الخام فقد اظهر عند الحجم 0.5 ملم اعلي امتصاصية بلغت 0.9اما عند الحجم 5.0 مل فقد اظهر اقل امتصاصية بلغت 0.1(شكل2)اذ كلما قلت نسبة الامتصاصية ارتفعت نسبة الفعالية الضد تأكسدية وقد يعزى سبب الفعالية الضد تأكسدية الى وجود مجموعة (OH) الحرة التي تحويها المستخلصات الفطرية، آن هذاالاختبار مستعمل بكثرة نظرا للخصائص التي يتميز بها منها السهولة والسرعة وانخفاض الكلفة ولقد زاد الاهتمام في الوقت الحاضر بالحصول على مركبات مضادة للتأكسد من مصادر طبيعية ومنها المستخلصات الفطرية (Jayanthia*et al*.,2011) وهذا يتفق مع دراسة Murthy *et al*.,(2011)الذي أشار إلى أن المستخلص الميثانولي لانواع من الفطريات التابعة للأجناس *Fusarium* و *Aspergillus* و*Penicillium* و*Mucor* لها فعالية كمركبات مضادة للتأكسد.



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

References

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

Berdy,J.(2005). Bioactive Microbial Metabolites . J. Antibiot. 58: 1–26 .

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.

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

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

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 .

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

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.

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

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

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

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 .

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 .

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.

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

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.

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

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

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

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

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

Rashid Rahim Hateet.
Mahdi Sayyid Shkhinab
[1]*PDepartment of Biology, College of Sciences, University of Missan*
[2] *Southern Technical University. Technical institute of Amara*

ABSTRACT

The study included isolate and diagnose fungus *Alternaria chlamydospora* of the local soil and purified and development in the PDB medium and the filtrate extracted using a solvent (ethyl acetate) to obtain the fungal extract. This extract has shown bioactivity against both reference isolates (*E.coli* (ATCC25922) and *S.aureus* (NCTC6571)) and pathogenic isolates *S.pyogenes ,K. pneumonia and Ps.aeruginosa* using agar disk diffusion technique , The diameters of the inhibition zones of fungal extract 31.5 mm against *S.aureus* and 29.5 mm against *E.coli*, and 30.0 mm against *K.pneumoniae* and 17.0 mm against *S.pyogenes* While isolation was not affected *Ps.aeruginosa*. The test revealed the minimum inhibitory concentration (MIC) of the fungal extract less inhibitor concentration towards our isolation *S.aureus* was 3.12 µg/ ml also less deadly concentration (MBC).Also against isolate *S.aureus* was 6.25µg/ Ml. also fungal extract showed no toxicity toward human red blood cells. Chemical statements to fungal extract showed a contain on Tannins and phenols, and it contains amino acids and flavonoids. Tested the antioxidant of the fungal extract by measuring its ability to be reduced 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.

Keywords: Antibacterial activity ,fungal extract, pathogenic bacteria, cellular toxicity.