



جامعة الموصل

كلية التربية للعلوم الصرفة

فصلُ وتشخيصُ بعض مُركبات الأيض الثانوي لبعض أنواع  
فطريات الجنس *Ganoderma* وتقييم فعاليتها المضادة للبكتريا  
والأكسدة والسرطان. نينوى/ العراق

هبة فارس سعدون سلطان الطائي

أطروحة دكتوراه

علوم الحياة

بإشراف

أستاذ مساعد

أستاذ

الدكتورة شمال يونس عبدالهادي

الدكتور أياد جاجان الداودي

٢٠٢١م

١٤٤٣هـ

# بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

﴿ أَلَمْ تَرَوْا أَنَّ اللَّهَ سَخَّرَ لَكُمْ مَّا فِي السَّمَوَاتِ وَمَا فِي الْأَرْضِ  
وَأَسْبَغَ عَلَيْكُمْ نِعْمَهُ ظَهْرَهُ وَبَاطِنَهُ وَمِنَ النَّاسِ مَن يُجَادِلُ  
فِي اللَّهِ بغيرِ عِلْمٍ وَلَا هُدًى وَلَا كِتَابٍ مُّنِيرٍ ﴾

صدق الله العظيم

سورة لقمان (20)

### إقرار المشرف

أشهد أن إعداد هذه الأطروحة جرت تحت إشرافي في جامعة الموصل/ كلية التربية للعلوم  
الصرفة ، وهي جزء من متطلبات نيل شهادة الدكتوراه في علوم الحياة .

التوقيع : .

المشرف: أ. د. اياد جاجان الداودي

المشرف: أ. م. د. شمال يونس عبدالهادي

التاريخ : 2021/ /

التاريخ : 2021/ /

### إقرار المقوم اللغوي

أشهد أن هذه الأطروحة تمت مراجعتها من الناحية اللغوية وتصحيح ماورد فيها من أخطاء  
لغوية وتعبيرية وبذلك أصبحت هذه الأطروحة مؤهلة للمناقشة بقدر تعلق الأمر بسلامة الأسلوب  
وصحة التعبير .

التوقيع :

الاسم : م. د. الاء اكرم الصفار

التاريخ: 2011/ 6 / 23

### إقرار رئيس لجنة الدراسات العليا

بناء" على التوصيات المقدمة من قبل المشرف والمقوم اللغوي والمقوم العلمي ، أرحش هذه الأطروحة  
للمناقشة.

التوقيع:

الاسم : أ.د.محمد سعيد فيصل

التاريخ: 2021/ /

### إقرار رئيس قسم علوم الحياة

بناء على التوصيات المقدمة من قبل المشرف والمقوم اللغوي ولجنة الدراسات العليا ، أرحش هذه  
الأطروحة للمناقشة .

التوقيع:

الاسم: أ.د.محمد سعيد فيصل

التاريخ: 2021/ /

## الإهداء

الى من علمني دون انتظار ... الى من أحمل أسمه بكل افتخار ...  
والدي الغالي

الى ملاكي في الحياة .. ومعنى الحب، والحنان، والتفاني .. التي كان  
دعائها سر نجاحي ...  
أمي الحبيبة

للقلوب الطاهرة الرقيقة ... الى رياحين حياتي ...  
اخي وأخواتي

الى من يسعد قلبي بقلائه ... وروضة الحب التي تثبت أزكى الأزهار  
زوجي الغالي

الى كل من أخلص لوجه الله عطاءه لي لأبلغ هدفي  
أساتذتي ... صديقاتي

وكل شخص التقيت به في دراستي لكم جميعاً اهدي ثمرة جهدي

## الشكر والتقدير

الحمد لله رب العالمين، والصلاة والسلام على خاتم الأنبياء والمرسلين محمد النبي الامي وعلى ازواجه أمهات المؤمنين وذريته الطيبين الطاهرين وصحبة الغر الميامين ومن تبعهم بإحسان الى يوم الدين.

أما بعد ففي هذه اللحظات وأنا أخطو الخطوات الاخيرة استكمالاً لأطروحتي ، أتقدم بجزيل الشكر، والامتنان الى رئاسة جامعة الموصل وأتقدم بجزيل الشكر، والعرفان لعمادة كلية التربية للعلوم الصرفة متمثلةً بالأستاذ المساعد الدكتور قيس اسماعيل ابراهيم على التسهيلات التي قدمها أثناء مسيرتي العلمية، و أتقدم بالشكر الجزيل لرئيس قسم علوم الحياة الأستاذ الدكتور محمد سعيد، وأساتذة القسم كافة وموظفيه لتقديم يد العون، وأخص بالذكر الأستاذ الدكتور علي أشكر لما قدمه لي من تسهيلات أثناء مسيرتي وأدعو من الله عز وجل أن يسددهم حيث حلّوا.

واتقدم بجزيل الشكر والعرفان للمشرفين الفاضلين الأستاذ الدكتور أياد جاجان الداودي، والأستاذة الدكتورة شمال يونس عبد الهادي، إذ تشرفت بمتابعتهما لي، وإشرافهما على أطروحتي، فمحناني من خبرتهم، وأمداني بقوة الاندفاع في خط خطواتي الأولى، ولم يبخلا عليّ بالنصح والتوجيه لأكمل مسيرتي في مفاصل دراستي، حتى أستوى عملي الى ما انتهى إليه، فكانت ملاحظاتهم قيّمةً وتوجيهاتهما سديدةً وأخلاقهما طيبةً، غمراني بكرم أخلاقهم وسديد نُصحهم وأنا ادعوا من الله ان يجزيهما عني خير الجزاء .

واتقدم بالشكر، والتقدير للسادة أعضاء لجنة المناقشة لما بذلوه من وقت وجهد وعناء سفر ليتداولوا مراحل الدراسة ونتائجها .

وختاماً أتقدم بالشكر والامتنان لكل من أخلص لوجه الله عطاءه لي .

الباحثة

هبة فارس

## الخلاصة

جرت الدراسة في مختبر الفطريات في وحدة البحوث التابعة لقسم علوم الحياة / كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة الموصل، تناولت الدراسة المسح الميداني لفطريات التعفن الأبيض التي تعود لجنس *Ganoderma* المصاحبة لأنواع مختلفة من الأشجار، ومن مصادر زراعية مختلفة في مدينة الموصل للفترة من تموز 2019 الى كانون الثاني لسنة 2020. فقد تمكنا من خلال الرحلات المسحية من الحصول على أجسام ثمرية أختلفت في توزيعها، وعددها، وعوائلها، وشُخِّصت العزلات جزئياً بنفاعل البلمرة المتسلسل اعتماداً على بادئات متخصصة تعود الى جين ITS. وكشفت النتائج احتواء جميع العزلات على الجين بدلالة ظهور حزمة واحدة لكل منها بحجم 650 زوج قاعدي، أتاح لنا التابع النيوكليوتيدي معرفة عائديتها للأنواع *Ganoderma .resinaceum* ، *G.applanatum* ، *Ganoderma* sp ، *G.oregonense* ، *G.cupreolaccatum* ، *G.tuberculosis* ، *G.curtisii* ، *G.cf.resinaceum* ، *G.adspersum* ، و *G.lucidum* التي لم يتنسى من قبل تسجيلها، وسجلت في هذه الدراسة لأول مرة في العراق في بنك الجينات.

وللتعرف على مخزون النواتج الطبيعية التي تكتنئها بعض أنواع الفطريات، أنتخبت ثلاثة أنواع فطرية من مجموعة الفطريات المستحصل عليها، لاستخلاص المركبات الفعالة منها وهي: *G.curtisii* ، *G.cupreolaccatum* و *G.oregonense*، باستخدام نظام المذيبات المتعاقبة بدءاً بمذيبين غير قطبيين: الأيثر البترولي، والكلوروفورم وأعقبهما المذيب شبه القطبي الأسيتون، وأنتهاءً بالمذيب القطبي IMS بجهاز الأستخلاص المستمر السكسوليت (Soxhlet)، وبعدها تم الأستخلاص بالماء الحار. وقد شُخِّصت مجموعة واسعة الطيف من الاحماض الدهنية باستخدام جهاز السائل - الغازي (GLC) Gas Chromatography Liquid لمستخلصات الفطريات المنتخبة، ونتج عنها خمسة عشر حامض دهني وهي: Butyric acid و Myristic acid و Palmatic acid و Hepadecanoic acid و Stearic acid،Oleic acid، و Enolic acid و Eicosenoic acid و Arachidic acid و Linolenic acid و Erucic acid و Arachidonic acid و Tricosanoic acid و

Nervonoic و Cisdocosadienoic. وأسوة بالاجراءات التشخيصية آسُخِدمَ جهاز كروماتوكرافيا السائل عالي الأداء (HPLC)؛ لتشخيص المركبات الفينولية وهي: Vanillic acid، Epigenin،Rutin، Catchin، Quercetin، Keampferol ، Caffeic acid، Cumarine ، Ferulic acid.

كما سُخِصَت الزيوت الطيارة بجهاز الغاز - السائل (GLC) بعد استخلاصها بجهاز التقطير كليفنجر (Clevenger) المحور أذ تبين توفر ثمانية زيوت طيارة وهي: Camphor، Terpinen و Sabinen و Myrcine و Limonine و Cineole و Linalool و Alph- Pinene. في حين كشف جهاز تحليل الأحماض الأمينية Amino acid analyses احتواء العزلات الفطرية المنتخبة على تشكيلة متنوعة منها هي: Aspartic acid و Glutamic acid و Serine و Glycine و Threonine و Phenylalanine و Arginine و Isoleucine و Cysteine و methionine و Leucine و Proline.

وتحت عنوان تقييم الفعالية البايولوجية تجاه بعض أنواع البكتريا الممرضة للإنسان، أبدت المستخلصات المختلفة بعد اقل من 24 ساعة فعالية تثبيطية آختلفت حسب نوع المستخلص، وتركيزه، ونوع البكتريا المختبرة، وأكدت أن لمستخلص الأيثر البترولي للأحماض الدهنية من عزلة الفطر *G.oregonense* اعطت فعالية تثبيطية بلغت 41 ملم عند التركيز 400 ملغم / ملم تجاه بكتريا *Escherichia coli*، وكانت المركبات الفينولية المستخلصة بالاسيتون من عزلة الفطر *G.cupreolaccatum* الأكثر تثبيطا تجاه بكتريا *Staphylococcus aureus* فقد بلغ قطر هالة التحلل 38 ملم عند التركيز 400 ملغم / مل، بينما أعطت مستخلص الزيت الطيار من عزلة الفطر *G.curtisii* قطر هالة تحلل بلغ 43 ملم تجاه كل من بكتريا *Psudomonas aeruginosa* و *E.coli* عند التركيز أعلاه. كما أثبت سكر  $\beta$ -glucan فعاليته في تثبيط البكتريا الممرضة، إذ بلغ قطر هالة التحلل 46 ملم تجاه بكتريا *E. coli*.

ونستنتج من الفعالية المضادة للأكسدة دور المستخلصات الفطرية المختلفة وتأثيرها في قنص الجذر الحر لمادة DPPH بلغت اقصاها للمستخلص الفينولي بالمذيب IMS من مسحوق الجسم الثمري لعزلة الفطر *G.cupreolaccatum* 79.85 % عند التركيز 800

مايكروغرام / مل مقارنةً مع مضاد الأكسدة القياسي Vitamine C، والتي بلغت 72.46 % عند نفس التركيز.

افادت النتائج التي تناولت اختبار السُمِّية الخلوية Cytotoxicity بتقنية MTT لحامض caffeic acid المنقى من عزلة الفطر *G. cupreolaccatum* على الخط الخلوي لسرطان الكبد Hep G2، والخط الخلوي الطبيعي WRL68، وباستخدام تراكيز مختلفة منه 1.0 ، 1.5 ، 2.0 ، 2.5 ، 3.0 مايكروغرام / مل وجود تأثير سُمي عالٍ لحامض الكافئيك على خلايا الخط الخلوي لسرطان الكبد، إذ أنَّ نسبة التنشيط تزداد بزيادة تركيز الحامض المستخدم، وبلغت أقصاها 57 % عند التركيز 3.0 مايكروغرام / مل، بينما لم يُلاحظ أي تأثير للحامض المنقى على خط الخلايا الطبيعية. وبصورة بدت غريزية أثمرت نتائج التأثير السمي للسكر المتعدد  $\beta$ -glucan المنقى من عزلة الفطر *G.curtisii* على الخط السرطاني ذاته، وتباين في التأثير السمي لجميع التراكيز المستخدمة من السكر المنقى، لكنها كانت تميل للزيادة، بزيادة تركيز السكر، وأنعكس على النسبة المئوية لتنشيط الخلايا السرطانية حتى بلغت أعلى قيمة للتنشيط بنسبة 52 % عند التركيز 3.0 مايكروغرام / مل، بينما بلغت النسبة المئوية لتنشيط الخلايا السرطانية 14 % عند التركيز الأدنى 1.0 مايكروغرام / مل. واغتماماً لنتائج السُمِّية الخلوية دُرِسَت التغيرات التي تطرأ على خط الخلايا السرطانية للكبد لبعض المؤشرات الخلوية، وهي كل من نفاذية الخلية، وعدد الخلايا، والمحتوى النووي فضلاً عن نفاذية غشاء الماييتوكوندريا، وتحرر Cytochrome C منها ، في خطوة تعد الأصعب على الإطلاق، وبمدى فعالية مستخلص حامض الكافئيك المنقى كللت التجربة بالنجاح، إذ لوحظ أنَّ لمستخلص حامض الكافئيك المنقى تأثيراً واضحاً على المؤشرات الخلوية، باستعمال التراكيز العالية، إذ ازدادت نفاذية الجدار الخلوي بمقدار 41 % عند التركيز الأعلى 200 مايكروغرام / مل، وانخفضت نسبة الخلايا الحية حتى بلغت 58 % عند نفس الجرعة . وتبين التأثير المعنوي على الكثافة النووية عند التراكيز 50,100,200 مايكروغرام / مل على التوالي، والتي بلغت 47 و 37.3 و 23.2 % مقارنةً مع معاملة السيطرة ، ولوحظ زيادة في نفاذية غشاء الماييتوكوندريا، انعكس على تحرر Cytochrome C منه عند التراكيز العالية من المستخلص المنقى، بينما لم يظهر

أي تأثير معنوي عند التراكيز الواطئة. وفي نتيجة مماثلة تستحق الإشادة بها تم متابعة تأثير سكر  $\beta$ -glucan المنقى على المؤشرات الخلوية، وتبين زيادة في معدل نفاذية غشاء الخلية ومحتواها النووي، وزيادة في تثبيط عدد الخلايا، وفي نفاذية غشاء الماييتوكوندريا، وتحرر سايتوكروم C عند التراكيز العالية، والذي شجع الخلايا على الموت الخلوي المبرمج. يُعدّ هذا العمل إنجازاً علمياً كبيراً، إذ يفتح معه ابواباً عدة لعلاج السرطان.

## ثبت المحتويات

الصفحة	الموضوع	التسلسل
أ- ث	الخلاصة	
ج- ر	ثبت المحتويات	
ز- ص	ثبت الجداول	
ض- ق	ثبت الأشكال	
ك- ل	ثبت المختصرات	
4-1	<b>الفصل الأول</b> <b>المقدمة Introduction</b>	
43-5	<b>الفصل الثاني</b> <b>استعراض المراجع Review of Literatures</b>	2
7-5	الفطريات البازيدية	1-2
8-7	فطر <i>Ganoderma</i>	2-2
10-9	النمو والتوزيع	1-2-2
11-10	التصنيف	2-2-2
12-11	الوصف المورفولوجي للجانودرما	3-2-2
15-12	الأهمية الأقتصادية والطبية للجانودرما	4-2-2
16-15	Natural products النواتج الطبيعية	3-2
19-16	Metabolism الأيض	4-2
20-19	Terpenes التربينات	5-2
22-20	Volatile oils الزيوت الطيارة	6-2
22	تقسم الزيوت الطيارة الى قسمين أساسيين	1-6-2
25-23	أهم الزيوت الطيارة	2-6-2
26-25	Fixed oil الزيوت الثابتة	7-2
28-26	Fatty acids الأحماض الدهنية	1-7-2
32-28	أهم الأحماض الدهنية	2-7-2
34-32	Phenolic Compounds المركبات الفينولية	8-2
34	أنواع الفينولات	1-8-2
34	أولاً: الفينولات البسيطة	1-1-8-2

الصفحة	الموضوع	التسلسل
35-34	ثانياً: الأحماض الفينولية Phenolic acids	2-1-8-2
36-35	ثالثاً: الفلافونويدات Flavonoids	3-1-8-2
36	رابعاً: الكومارينات Coumarins	4-1-8-2
37-36	خامساً: التانينات Tannins	5-1-8-2
37	أنواع التانينات	1-5-1-8-2
39-37	أهم المركبات الفينولية	2-8-2
40	الفعالية المضادة للبكتريا المرضية	9-2
42-41	الفعالية المضادة للأكسدة	10-2
43-42	الفعالية المضادة لخطوط الخلايا السرطانية	11-2
73-44	<b>الفصل الثالث</b> <b>المواد وطرائق العمل Material and methods</b>	3
44	خطة البحث والمعدات والأجهزة المختبرية والمواد الكيماوية المستخدمة	1-3
45-44	خطة البحث	1-1-3
47-45	المعدات والأجهزة المختبرية المستعملة	2-1-3
49-47	الأوساط الزرع الخاصة بعزل وإنماء العزلات الفطرية	2-3
47	وسط أكار دكستروز البطاطا Potato Dextrose Agar Media PDA	1-2-3
48	وسط مستخلص البطاطا والدكستروز : Potato Dextrose Broth PDB	2-2-3
48	الوسط الانتخابي <i>Ganoderma</i> Selective media GSM	3-2-3
49-48	وسط إدامة العزلات الفطرية	4-2-3
49	الأوساط الزراعية الخاصة بأنماء العزلات البكتيرية	3-3
49	وسط المرق المغذي Nutrient Broth	1-3-3
49	وسط الأكار المغذي Nutrient Agar	2-3-3
49	وسط مولر هنتون الصلب : Muller Hinton Agar	3-3-3
49	إدامة العزلات البكتيرية	4-3-3
49	الكواشف والمحاليل الدارئة والصبغات	4-3

الصفحة	الموضوع	التسلسل
50-49	محلول المضاد الحيوي الكلورومفينيكول : Chloromphenicol	1-4-3
50	محلول دارى TBE 10X	2-4-3
50	محلول صبغة GelRed	3-4-3
50	الواسم الحجمي : DNA Ladder	4-4-3
51-50	جمع الأجسام الثمرية	5-3
52-51	الحصول على الخيوط الفطرية	6-3
52	التشخيص الجزيئي للعزلات الفطرية	7-3
52	تتمية العزلات	1-7-3
52	البادئات المستخدمة : Primers	2-7-3
54-52	أستخلاص الحامض النووي - DNA من العزلات الفطرية المنقاة	3-7-3
54	تركيز ونقاوة الحامض النووي المستخلص	4-7-3
55-54	الترحيل الكهربائي على هلام الاكاروز Agarose gel electrophoresis	5-7-3
55	تحضير المزيج الرئيسي لتفاعل التضخيم التسلسلي	6-7-3
56-55	برنامج عمل جهاز التضخيم الحلقي Thermocycler	7-7-3
56	التتابع النيوكليوتيدي للحامض النووي DNA sequencing	8-7-3
57	استخلاص المركبات الفعالة من العزلات الفطرية المنتخبة	8-3
58-57	تحضير المستخلصات الفطرية باستخدام جهاز الاستخلاص المستمر السكسوليت Preparation of Some Fungal Extracts Using Continuous Soxhlet Apparatus.	1-8-3
58	استخلاص الزيت الطيار Volatile oils باستعمال جهاز التقطير البخاري كليفنجر The converted steam distillation Clevenger	2-8-3
58	استخلاص الأحماض الدهنية من الفطريات المنتخبة	3-8-3
59-58	الصوينة : Saponification	1-3-8-3
59	المثيل أستر الأسترة Esterification:	2-3-8-3

الصفحة	الموضوع	التسلسل
60-59	استخلاص المركبات الفينولية من العزلات الفطرية المنتخبة بعملية التحلل الحامضي	4-8-3
60	أستخلاص الأحماض الامينية	5-8-3
60	استخلاص سكر المتعدد $\beta$ -glucan من مسحوق الأجسام الثمرية للفطريات المنتخبة	6-8-3
61	تشخيص المركبات الفعالة	9-3
61	تشخيص الأحماض الدهنية باستخدام جهاز كروماتوغرافيا الغاز السائل GLC	1-9-3
61	تشخيص المركبات الفينولية باستخدام جهاز كروماتوغرافيا السائل العالي الأداء HPLC	2-9-3
62-61	تشخيص الزيوت الطيارة باستخدام جهاز كروماتوغرافيا الغاز -السائل GLC	3-9-3
62	تشخيص الأحماض الأمينية باستخدام جهاز محلل الأحماض الأمينية Amino acid analyser	4-9-3
62	تنقية بعض المركبات الفعالة	10-3
63-62	تنقية حامض الكافئيك من المستخلص الاسيتوني من عزلة الفطر <i>G.cupreolaccatum</i>	1-10-3
63	تنقية سكر المتعدد $\beta$ -glucan من عزلة الفطر <i>G.oregonense</i>	2-10-3
63	تقييم الفعالية البايولوجية للمستخلصات الفطرية	11-3
63	الفعالية البايولوجية ضد البكتريا المرضية	1-11-3
64	العزلات البكتيرية المستعملة	1-1-11-3
64	تحضير تراكيز المركبات الفعالة للمستخلصات قيد الدراسة	2-1-11-3
65-64	تقدير الفعالية البايولوجية للمركبات الفعالة ضد البكتريا بطريقة الانتشار بالحفر	3-1-11-3
65	الفعالية المضادة للأكسدة للمركبات الفعالة	2-11-3
66	الفعالية البايولوجية المضادة لخطوط الخلايا السرطانية	3-11-3
67-66	محاليل وكواشف الزراعة الخلوية والأوساط الزرعية	1-3-11-3

الصفحة	الموضوع	التسلسل
67	خطوط الخلايا السرطانية المستخدمة	2-3-11-3
68-67	تتمية خلايا خطوط الخلايا السرطانية	3-11-3-3
69	اختبار MTT لفحص حيوية الخلايا	4-3-11-3
70-69	تقييم السمية الخلوية باختبار High Content Screening HCS	5-3-11-3
72-70	تحضير المحاليل المستخدمة	6-3-11-3
72	التحليل الاحصائي	12-3
<b>245-73</b>	<b>الفصل الرابع النتائج والمناقشة Results and Discussions</b>	<b>4</b>
76-73	المسح الجغرافي للأجسام الثميرية	1-4
78-77	التشخيص الجزيئي للعزلات الفطرية	2-4
90-78	التتابع النيوكليوتيدي للعزلات الفطرية	3-4
91-90	شجرة التقارب الوراثي	4-4
120-92	تشخيص الأحماض الدهنية بتقنية كروماتوغرافيا الغاز - السائل GLC من العزلات الفطرية المنتخبة	5-4
140-121	تشخيص المركبات الفينولية بتقنية كروماتوغرافيا السائل العالى الأداء HPLC للعزلات الفطرية المنتخبة	6-4
154-140	التشخيص الزيوت الطيارة بتقنية GLC للعزلات الفطرية المنتخبة	7-4
159-154	تشخيص الاحماض الامينية للعزلات الفطرية المنتخبة	8-4
161-159	تشخيص $\beta$ -glucan باستخدام كروماتوغرافيا السائل عالى الأداء HPLC	9-4
162	الفعالية البيولوجية للمستخلصات الفطرية	9-4
179-162	الفعالية البيولوجية لمستخلصات الأحماض الدهنية من العزلات الفطرية المنتخبة ضد البكتريا الممرضة للإنسان	1-9-4
192-179	الفعالية البيولوجية لمستخلصات المركبات الفينولية من العزلات الفطرية المنتخبة ضد البكتريا الممرضة للإنسان	2-9-4

الصفحة	الموضوع	التسلسل
201-192	الفعالية البايولوجية للزيوت الطيارة المستخلصة من العزلات الفطرية المنتخبة ضد البكتريا الممرضة للإنسان	3-9-4
209-201	الفعالية البايولوجية $\beta$ -glucan المستخلصة من العزلات الفطرية المنتخبة ضد البكتريا الممرضة للإنسان	4-9-4
210	الفعالية الحيوية للمستخلصات الفطرية	10-4
214-210	الفعالية المضادة للأكسدة للاحماض الدهنية	1-10-4
219-214	الفعالية المضادة للأكسدة للمستخلصات الفينولية	2-10-4
221-219	الفعالية المضادة للأكسدة للزيوت الطيارة	3-10-4
223-221	الفعالية المضادة للأكسدة لسكر $\beta$ -glucan	4-10-4
225-223	السمية الخلوية لحامض الكافائيك	11-4
227-225	السمية الخلوية للسكر المتعدد $\beta$ -glucan	12-4
227	تقييم السمية الخلوية على الخط الخلوي لسرطان الكبد باستخدام اختبار High Content Screening HCS	13-4
236-227	تقييم السمية الخلوية لحامض Caffeic acid على بعض المؤشرات الخلوية	1-13-4
245-236	تقييم السمية الخلوية للسكر المتعدد $\beta$ -glucan على بعض المؤشرات الخلوية	2-13-4
<b>247-246</b>	<b>الفصل الخامس</b> <b>الاستنتاجات والتوصيات</b> <b>Conclusions and Recommendations</b>	<b>5</b>
246	الاستنتاجات Conclusions	1-5
247	التوصيات Recommendation	2-5
<b>283-248</b>	<b>المصادر</b> <b>References</b>	<b>6</b>
249-248	المصادر العربية	1-6
283-250	المصادر الأجنبية	2-6

## ثبت الجداول

الصفحة	العنوان	رقم الجدول
20	اقسام التربينات وعدد ذرات الكربون التابعة لها الحمداني وايوب ، 1990	1-2
46-45	المعدات والأجهزة المختبرية المستعملة في الدراسة والشركة المصنعة لها	1-3
47	المواد الكيميائية المستعملة قيد الدراسة والشركات المجهزة	2-3
52	البادئات المستعملة قيد الدراسة مع تتابعاتها النيوكلوטיديّة	3-3
55	مكونات المزيج الرئيسي لتفاعل التضخيم التسلسلي	4-3
56	خطوات عمل برنامج تفاعل التضخيم التسلسلي الخاص بالجين ITSrRNA	5-3
64	العزلات البكتيرية المستخدمة قيد الدراسة	6-3
70	مكونات العدة التشخيصية المجهزة من قبل الشركة اليابانية	7-3
75	الاجسام الثمرية المستحصل عليها ونوع المضيف وتاريخ الجمع وعدد الاجسام الثمرية	1-4
79	التغايرات الوراثية لجين ITS لعزلة الفطر <i>G.resinaceum</i>	2-4
80	التغايرات الوراثية لجين ITS لعزلة الفطر <i>G.applanatum</i>	3-4
81	التغايرات الوراثية لجين ITS لعزلة الفطر <i>G.sp</i>	4-4
82	التغايرات الوراثية لجين ITS لعزلة الفطر <i>G.oregonense</i>	5-4
83	التغايرات الوراثية لجين ITS لعزلة الفطر <i>G.cupreolaccatum</i>	6-4
84	التغايرات الوراثية لجين ITS لعزلة الفطر <i>G.tuberculosis</i>	7-4
85	التغايرات الوراثية لجين ITS لعزلة الفطر <i>G.curtisii</i>	8-4
86	التغايرات الوراثية لجين ITS لعزلة الفطر <i>G.cf.resinaceum</i>	9-4

رقم الجدول	العنوان	الصفحة
10-4	التغايرات الوراثية لجين ITS لعزلة الفطر <i>G.adspersum</i>	87
11-4	التغايرات الوراثية لجين ITS لعزلة الفطر <i>G.lucidum</i>	88
12-4	الاحماض الدهنية للفطر <i>G. curtisii</i> المشخصة بتقنية GC	96
13-4	الاحماض الدهنية للفطر <i>G.cupreolaccatum</i> المشخصة بتقنية GC	106
14-4	الاحماض الدهنية للفطر <i>G.oregonense</i> المشخصة بتقنية GC	115
15-4	المركبات الفينولية المشخصة بتقنية HPLC من مسحوق الجسم الثمري الفطر <i>G.curtisii</i>	123
16-4	المركبات الفينولية المشخصة بتقنية HPLC من مسحوق الجسم الثمري الفطر <i>G.cupreolaccatum</i>	124
17-4	المركبات الفينولية المشخصة بتقنية HPLC من مسحوق الجسم الثمري الفطر <i>G.oregonense</i> .	125
18-4	الزيوت الطيارة باستخدام تقنية GLC لأنواع الفطرية المنتخبة	143
19-4	الاحماض الامينية المشخصة للفطر <i>G.curtisii</i> باستخدام جهاز Amino acid analyser	155
20-4	الاحماض الامينية المشخصة للفطر <i>G.cupreolaccatum</i> باستخدام جهاز Amino acid analyser	156
21-4	الاحماض الامينية المشخصة من الفطر <i>G.oregonense</i> باستخدام جهاز Amino acid analyser	156
22-4	الفعالية البيولوجية لمستخلصات الاحماض الدهنية من العزلات الفطرية المنتخبة ضد بعض انواع البكتريا المرضية	170-168
23-4	الفعالية البيولوجية للمركبات الفينولية المستخلصة من العزلات الفطرية المنتخبة ضد بعض انواع البكتريا المرضية	184-183

رقم الجدول	العنوان	الصفحة
24-4	الفعالية البيولوجية للزيوت الطيارة المستخلصة من العزلات الفطرية المنتخبة ضد بعض انواع البكتريا المرضية.	194-195
25-4	الفعالية التثبيطية للسكر المتعدد $\beta$ -glucan المستخلص من العزلات الفطرية المنتخبة ضد بعض انواع البكتريا المرضية.	203
26-4	تأثير حامض الكافنيك المنقى من عزلة الفطر <i>G. cupreolaccatum</i> على الخط الخلوي لسرطان الكبد HepG2 باستخدام تقنية MTT لمدة 24 ساعة عند درجة حرارة 37 °م	224
27-4	تأثير سكر $\beta$ -glucan المنقى من عزلة الفطر <i>G. cupreolaccatum</i> على الخط الخلوي لسرطان الكبد HepG2 باستخدام تقنية MTT لمدة 24 ساعة عند درجة حرارة 37 °م	226
28-4	تأثير حامض الكافنيك المنقى على نفاذية خلايا الخط الخلوي لسرطان الكبد Hep-G2 لمدة 24 ساعة بدرجة حرارة 37 °م باستخدام تقنية HCS	228
29-4	تأثير حامض الكافنيك المنقى على عدد خلايا الخط الخلوي لسرطان الكبد Hep-G2 لمدة 24 ساعة بدرجة حرارة 37 °م باستخدام تقنية HCS	229
30-4	تأثير حامض الكافنيك المنقى على الكثافة لخلايا الخط الخلوي لسرطان الكبد Hep-G2 لمدة 24 ساعة بدرجة حرارة 37 °م باستخدام تقنية HCS	231
31-4	تأثير حامض الكافنيك المنقى على نفاذية غشاء المايونكندريا لخلايا الخط الخلوي لسرطان الكبد Hep-G2 لمدة 24 ساعة بدرجة حرارة 37 °م باستخدام تقنية HCS	233
32-4	تأثير حامض الكافنيك المنقى على معدل تحرر سايتوكروم C لخلايا الخط الخلوي لسرطان الكبد Hep-G2 لمدة 24 ساعة بدرجة حرارة 37 °م باستخدام تقنية HCS	234
33-4	تأثير سكر $\beta$ -glucan المنقى على نفاذية غشاء خلايا الخط الخلوي لسرطان الكبد Hep-G2 لمدة 24 ساعة بدرجة حرارة 37 °م باستخدام تقنية HCS	236

الصفحة	العنوان	رقم الجدول
238	تأثير سكر $\beta$ -glucan المنقى على نفاذية غشاء خلايا الخط الخلوي لسرطان الكبد Hep-G2 لمدة 24 ساعة بدرجة حرارة 37 °م باستخدام تقنية HCS	34-4
239	تأثير سكر $\beta$ -glucan المنقى على الكثافة النووية لخلايا الخط الخلوي لسرطان الكبد Hep-G2 لمدة 24 ساعة بدرجة حرارة 37 °م باستخدام تقنية HCS	35-4
241	تأثير سكر $\beta$ -glucan المنقى على معدل نفاذية غشاء الماييتوكوندريا لخلايا الخط الخلوي لسرطان الكبد Hep-G2 لمدة 24 ساعة بدرجة حرارة 37 °م باستخدام تقنية HCS	36-4
242	تأثير سكر $\beta$ -glucan المنقى على معدل تحرر سايتوكروم C لخلايا الخط الخلوي لسرطان الكبد Hep-G2 لمدة 24 ساعة بدرجة حرارة 37 °م باستخدام تقنية HCS	37-4

## ثبت الأشكال

الصفحة	العنوان	رقم الشكل
18	مسار حامض الشيكيميك	1-2
20	التركيب الكيميائي لوحدة الايسوبرين Isoprene	2-2
25-24	التراكيب الكيميائية لبعض الزيوت الطيارة	3-2
27	التركيب الكيميائي لثلاثي الكليسيرين Triacylglycerol وارتباط الاحماض الدهنية به في الموقع sn-1 و sn-2 و sn-3	4-2
32-31	التراكيب الكيميائية لبعض الاحماض الدهنية	5-2
39	التراكيب الكيميائية لبعض المركبات الفينولية	6-2
45-44	مخطط تفصيلي لمسار خطة البحث	1-3
51	خريطة لموقع الرحلات المسحية لجميع الاجسام الثمرية	2-3
76	الاجسام الثمرية للفطريات المستحصل عليها قيد الدراسة ومستعمراتها النقية على وسط PDA	1-4
78	نواتج تضخيم الحامض النووي للعزلات الفطرية قيد الدراسة على هلام الاكاروز حيث يمثل المسار M : الواسم الحجمي ، المسارات 1-10 نواتج التضخيم الحامض النووي للعزلات قيد الدراسة .	2-4
91	شجرة التقارب الوراثي والعلاقة التطورية للعزلات التابعة لجنس <i>Ganoderma</i> المشخصة والمسجلة في بنك الجينات قيد الدراسة باستعمال برنامج Mega-7 .	3-4
97	المنحني القياسي للأحماض الدهنية بتقنية GC	4-4
98	منحني الأحماض الدهنية لمستخلص البتروليوم إيثر للفطر <i>G.curtisii</i>	5-4
99	منحني الاحماض الدهنية لمستخلص الكلوروفورم للفطر <i>G.curtisii</i>	6-4

الصفحة	العنوان	رقم الشكل
100	المنحني الأحماض الدهنية لمستخلص الأسيتون للفطر <i>G.curtisii</i>	7-4
101	منحني الأحماض الدهنية لمستخلص IMS للفطر <i>G.curtisii</i>	8-4
102	منحني الأحماض الدهنية لمستخلص المائي للفطر <i>G.curtisii</i>	9-4
107	منحني الأحماض الدهنية لمستخلص البتروليوم إيثر للفطر <i>G.cupreolaccatum</i>	10-4
108	منحني الأحماض الدهنية لمستخلص الكلوروفورم للفطر <i>G.cupreolaccatum</i>	11-4
109	منحني الأحماض الدهنية لمستخلص الأسيتون للفطر <i>G.cupreolaccatum</i>	12-4
110	منحني الأحماض الدهنية لمستخلص IMS للفطر <i>G.cupreolaccatum</i>	13-4
111	منحني الأحماض الدهنية لمستخلص المائي للفطر <i>G.cupreolaccatum</i>	14-4
116	منحني الأحماض الدهنية لمستخلص البتروليوم إيثر للفطر <i>G.oregonense</i>	15-4
117	منحني الأحماض الدهنية لمستخلص الكلوروفورم للفطر <i>G.oregonense</i>	16-4
118	منحني الأحماض الدهنية لمستخلص الإسيتون للفطر <i>G.oregonense</i>	17-4
119	منحني الأحماض الدهنية لمستخلص IMS للفطر <i>G.oregonense</i>	18-4
120	منحني الأحماض الدهنية لمستخلص المائي للفطر <i>G.oregonense</i>	19-4
126	المنحني القياسي للمركب الفينولي Vanillic acid بتقنية HPLC	20-4
127	المنحني القياسي للمركب الفينولي Rutin بتقنية HPLC	21-4
128	المنحني القياسي للمركب الفينولي Quercetin بتقنية HPLC	22-4
129	المنحني القياسي للمركب الفينولي gallic acid بتقنية HPLC	23-4

الصفحة	العنوان	رقم الشكل
130	المنحني القياسي للمركب الفينولي Keamferol بتقنية HPLC	24-4
131	المنحني القياسي للمركب الفينولي Cumarin بتقنية HPLC	25-4
132	المنحني القياسي للمركب الفينولي Catechine بتقنية HPLC	26-4
133	المنحني القياسي للمركب الفينولي Epigenen بتقنية HPLC	27-4
134	شكل 28-4 المنحني القياسي للمركب الفينولي Ferrulic acid بتقنية HPLC	28-4
135	شكل 29-4 المنحني القياسي للمركب الفينولي Caffeic acid بتقنية HPLC	29-4
136	المنحني القياسي للمركبات الفينولية في مستخلص الأسيتوني للفطر <i>G.curtisii</i>	30-4
136	المنحني القياسي للمركبات الفينولية في مستخلص الـ IMS للفطر <i>G.curtisii</i>	31-4
137	المنحني القياسي للمركبات الفينولية في مستخلص المائي للفطر <i>G.curtisii</i>	32-4
137	المنحني القياسي للمركبات الفينولية في مستخلص الأسيتوني للفطر <i>G.cupreolacctum</i>	33-4
138	المنحني القياسي للمركبات الفينولية في مستخلص الـ IMS للفطر <i>G.cupreolacctum</i>	34-4
138	المنحني القياسي للمركبات الفينولية في مستخلص المائي للفطر <i>G.cupreolacctum</i>	35-4
139	المنحني القياسي للمركبات الفينولية في مستخلص الأسيتوني للفطر <i>G.oregonense</i>	36-4
139	المنحني القياسي للمركبات الفينولية في المستخلص الـ IMS للفطر <i>G.oregonense</i>	37-4

الصفحة	العنوان	رقم الشكل
149	المنحني القياسي للمركبات الفينولية في مستخلص المائي للفطر <i>G.oregonense</i>	38-4
144	المنحني الزيوت الطيارة للفطر <i>G.curtisii</i>	39-4
145	منحني الزيوت الطيارة للفطر <i>G.cupreolacatum</i>	40-4
146	منحني الزيوت الطيارة للفطر <i>G.oregonense</i>	41-4
147	المنحني القياسي للزيت الطيار a-pinen	42-4
148	المنحني القياسي للزيت الطيار Cineole	43-4
149	المنحني القياسي للزيت الطيار Camphor	44-4
150	المنحني القياسي للزيت الطيار Lemonine	45-4
151	المنحني القياسي للزيت الطيار Linalool	46-4
152	المنحني القياسي للزيت الطيار Sabnine	47-4
153	المنحني القياسي للزيت الطيار Myrcine	48-4
154	المنحني القياسي للزيت الطيار Terpinen	49-4
158	الأحماض الأمينية المشخصة في الفطر <i>G.curtisii</i> باستخدام جهاز Amino acid analyser	50-4
158	الأحماض الأمينية المشخصة في الفطر <i>G.cupreolacatum</i> باستخدام جهاز Amino acid analyser	51-4
159	الأحماض الأمينية المشخصة في الفطر <i>G.oregonense</i> باستخدام جهاز Amino acid analyser	52-4
160	المنحني القياسي للسكر المتعدد $\beta$ -glucan باستخدام HPLC	53-4
160	السكر المتعدد $\beta$ -glucan المستخلص من الفطر <i>G.curtisii</i> باستخدام جهاز HPLC	54-4

الصفحة	العنوان	رقم الشكل
161	السكر المتعدد $\beta$ -glucan المستخلص من الفطر <i>G.cupreolaccatum</i> باستخدام جهاز HPLC	55-4
161	السكر المتعدد $\beta$ -glucan المستخلص من الفطر <i>G. oregonense</i> باستخدام جهاز HPLC	56-4
210	الفعالية المضادة للأكسدة للأحماض الدهنية المستخلصة بالمذيبات المتعاقبة من عزلة الفطر <i>G.curtisii</i> باختبار DPPH	57-4
211	الفعالية المضادة للأكسدة للأحماض الدهنية المستخلصة بالمذيبات المتعاقبة من عزلة الفطر <i>G.cupreolaccatum</i> باختبار DPPH	58-4
213	الفعالية المضادة للأكسدة للأحماض الدهنية المستخلصة بالمذيبات المتعاقبة من عزلة الفطر <i>G.oregonense</i> باختبار DPPH	59-4
215	الفعالية المضادة للمركبات الفينولية المستخلصة بنظام المذيبات المتعاقبة من عزلة الفطر <i>G.curtisii</i> باختبار DPPH	60-4
216	الفعالية المضادة للمركبات الفينولية المستخلصة بنظام المذيبات المتعاقبة من عزلة الفطر <i>G.cupreolaccatum</i> باختبار DPPH	61-4
218	الفعالية المضادة للمركبات الفينولية المستخلصة بنظام المذيبات المتعاقبة من عزلة الفطر <i>G.oregonense</i> باختبار DPPH	62-4
220	الفعالية المضادة للأكسدة للزيوت الطيارة المستخلصة من العزلات الفطرية المنتخبة باختبار DPPH	63-4
222	الفعالية المضادة للأكسدة للسكر المتعدد $\beta$ -glucan المستخلص من العزلات الفطرية المنتخبة باختبار DPPH	64-4
225	تأثير حامض الكافئيك المنقى من عزلة الفطر <i>G.cupreolaccatum</i> على الخط الخلوي لسرطان الكبد HepG2 باستخدام تقنية MTT لمدة 24 ساعة عند درجة حرارة 37 °م باستخدام تقنية HCS.	65-4

الصفحة	العنوان	رقم الشكل
227	تأثير سكر المتعدد $\beta$ -glucan المنقى من عزلة الفطر <i>G.curtisii</i> على الخط الخلوي لسرطان الكبد HepG2 باستخدام تقنية MTT لمدة 24 ساعة عند درجة حرارة 37 °م باستخدام تقنية HCS	66-4
228	تأثير حامض الكافنيك المنقى على نفاذية غشاء لخلايا الخط الخلوي لسرطان الكبد Hep-G2 لمدة 24 ساعة بدرجة حرارة 37 °م باستخدام تقنية HCS	67-4
230	تأثير حامض الكافنيك المنقى على عدد لخلايا الخط الخلوي لسرطان الكبد Hep-G2 لمدة 24 ساعة بدرجة حرارة 37 °م باستخدام تقنية HCS	68-4
231	تأثير حامض الكافنيك المنقى على الكثافة النووية لخلايا الخط الخلوي لسرطان الكبد Hep-G2 لمدة 24 ساعة بدرجة حرارة 37 °م باستخدام تقنية HCS	69-4
233	تأثير حامض الكافنيك المنقى على نفاذية غشاء الماينوكونديريا لخلايا الخط الخلوي لسرطان الكبد Hep-G2 لمدة 24 ساعة بدرجة حرارة 37 °م باستخدام تقنية HCS	70-4
234	تأثير حامض الكافنيك المنقى على معدل تحرر سايتوكروم C لخلايا الخط الخلوي لسرطان الكبد Hep-G2 لمدة 24 ساعة بدرجة حرارة 37 °م باستخدام تقنية HCS	71-4
235	تقييم السمية الخلوية لحامض الكافنيك تجاه بعض المؤشرات الخلوية لخلايا الخط الخلوي لسرطان الكبد Hep-G2 لمدة 24 ساعة بدرجة حرارة 37 °م باستخدام تقنية HCS وصيغات مختلفة .	72-4
237	تأثير سكر المتعدد $\beta$ -glucan المنقى على نفاذية غشاء خلايا الخط الخلوي لسرطان الكبد Hep-G2 لمدة 24 ساعة بدرجة حرارة 37 °م باستخدام تقنية HCS	73-4
238	تأثير سكر المتعدد $\beta$ -glucan المنقى على عدد خلايا الخط الخلوي لسرطان الكبد Hep-G2 لمدة 24 ساعة بدرجة حرارة 37 °م باستخدام تقنية HCS	74-4

الصفحة	العنوان	رقم الشكل
239	تأثير سكر المتعدد $\beta$ -glucan المنقى على الكثافة لخلايا الخط الخلوي لسرطان الكبد Hep-G2 لمدة 24 ساعة بدرجة حرارة 37 °م باستخدام تقنية HCS	75-4
241	تأثير سكر المتعدد $\beta$ -glucan المنقى على معدل نفاذية غشاء الماييتوكوندريا لخلايا الخط الخلوي لسرطان الكبد Hep-G2 لمدة 24 ساعة بدرجة حرارة 37 °م باستخدام تقنية HCS	76-4
242	تأثير سكر المتعدد $\beta$ -glucan المنقى على معدل تحرر سايتوكروم C لخلايا الخط الخلوي لسرطان الكبد Hep-G2 لمدة 24 ساعة بدرجة حرارة 37 °م باستخدام تقنية HCS	77-4
243	تقييم السمية الخلوية للسكر المتعدد $\beta$ -glucan تجاه بعض المؤشرات الخلوية لخلايا الخط الخلوي لسرطان الكبد Hep-G2 لمدة 24 ساعة بدرجة حرارة 37 °م باستخدام تقنية HCS وصبغات مختلفة	78-4

## ثبت المختصرات

Symbols	Description
DXN	Daxen
FRAP	Ferric reducing antioxidant power
DPPH	Diphenyl picril hydrazine
WHO	World Health Organization
HPLC	High-performance liquid chromatography
GLC	Gas Liquid Chromatography
ITS	Internal Transcribed Spacer
PDA	Potato Dextrose agar medium
PDB	Potato Dextrose Broth medium
GSM	Ganoderma Selective medium
NB	Nutrient Broth medium
NA	Nutrient Agar medium
MHA	Muller Hinton Agar medium
WRL68	A hepatic human cell line
HeP-G2	Human Liver cancer cell Line
HCS	High Content Screening
TBE	Tris Boric EDTA buffer
UV Transilluminator	Ultra Violet Transilluminator
NCBI	National center of Biotechnology information
IMS	Industrial Methylated Spirit
HCS	High Content Screening
Kpa	Kilo pascall
Rt	Retantion Time
DMSO	Dimethyl sulfoxide
RPMI-1640	Rosswell Park Memarial Institute

<b>Symbols</b>	<b>Description</b>
PBS	Physiological Buffer saline solution
MTT	Cytotoxicity
N	Normality
MT	Melting Temperature
Blast	Basic Local Alignment Search Tool
F	Forward
R	Reverse
PCR	Polymerase Chain Reaction
MMP	Mitochondrial Membrane Potential
EDTA	Ethylene- Diamine- tetra acetic acid
SD	Standard error
V	Volume
VCC	Cell viability
NC	Non Sighificant
TNI	Total Nuclear Intensity
CMP	Cell Membrane Permeability
ATP	Adenine triphosphates
TAG	Triacylglycerol
ROS	Reactine oxygene species
RNS	Radical Nitrogen Species
RVE	Rotary Vaccum Evaporator
bp	Base pair
M	Marker

**الفصل الأول**

**المقدمة**

## الفصل الاول

### 1- المقدمة Introduction

اهتمام الانسان بالفطريات يعود الى ازمان سحيقة، اذ كان متمرسا في استغلال انشطتها المختلفة - دون ان يدري - في صناعات مختلفة كصناعة البيرة، والاجبان، والالبان، وانواع لا حصر لها من الاطعمة والمشروبات ، وكانت طرق الانتاج هذه غير مفهومة بصورة علمية فقد عَدَّ قدماء المصريين التخمر منحةً الاله اوزيريس (Oziris) الى الانسان، وذكر الرومان أنَّ ظهور الكما، والعrehون راجع الى رمي الارض بالبرق من قبل كوكب المشتري. ودور هذه الفطريات الايجابي في تلك الصناعات لم يُعرف ولم يشخص ماهيته الا في القرن السابع والثامن عشر بعد تطور علم التقانات الحياتية، والكيمياء الحياتية، التي ساهمت بشكل ملموس، وحقيقي في تحسين رفاهية الانسان، وصحته (Deacon، 2006، Carter، 2011)

عرفت الفطريات الكبيرة، وخاصة فطريات عُش الغراب كمصدر لغذاء الانسان البدائي منذ بداية عهده على الارض التي كان يجْدُ في طلبها، والبحث عنها بين الاعشاب ، واستاثر بها الاغنياء، والنبلاء دون بقية الشعب، اذ استطابوا مذاقها بعد عدد لا نهائي من التجارب لتمييزها عن الانواع السامة ، وشملت الانواع الماكولة من عُش الغراب الكماة truffles، والمورشيلا Morels، والفطريات المرجانية Coral fungi فضلا عن البوليتس Boletus. وقد ذكر Chang (1993) ان فطريات عش الغراب عرفت، واستهلك كغذاء في الصين منذ سنة 600 قبل الميلاد في حين ذكر Rojas و Mansur ، (1995) ان سكان شيلي Chile عرفوا، واستهلكوا عش الغراب منذ 13000 سنة، او قبل ذلك بفترة طويلة (نخيلان ، 2012) ، واستخدمت الكثير من ثمار الفطريات الكبيرة في معالجة الجروح في الحضارات القديمة، واعتبرت في ذلك الوقت نوع من التراث الشعبي، وهناك ما يثبت أنَّ اجدادنا القدماء قد استخدموا فطر عش الغراب Agaricus في علاج الالتهابات الجلدية، كما استخدم فطر الكرات النافثة العملاقة Giant puff balls كعلاج في ايقاف النزيف الدموي ، ويندرج في الشهرة العلاجية للفطريات قائمة طويلة بالاسماء التي تشتمل على خصائص علاجية، والتي حظيت مع الوقت بمزيد من

التقدير بعد ان حققت سلسلة من النجاحات في علاج الكثير من الامراض (Keller واخرون، 2005؛ Ferreira واخرون، 2015)

تنتج الفطريات مدىً واسعاً من المركبات الكيموحيوية خلال تمثيلها الغذائي ، ولبعض من هذه المركبات اهمية لنمو الفطر، وتكوين خلاياه، وتراكيبه، ومنها البروتينات ، والاحماض النووية، والانزيمات، و يطلق عليها مركبات الايض الاولي ، تستعمل الكثير منها في صناعة عديد من انواع الاغذية، والمشروبات الكحولية، وبعض الادوية. وبعد ثبات نمو الفطريات تتحول المواد المتراكمة عن التمثيل الغذائي الاولي فضلا عن المركبات الوسطية الى منتجات اخرى يطلق عليها النواتج الثانوية للتمثيل الغذائي، ومن المعروف انها غير ضرورية لنمو الفطريات لكنها تتكون في ظل ظروف خاصة؛ نتيجة مسارات التمثيل الغذائي الثانوي ، وثمة عدد كبير من هذه المركبات ذات اهمية بالغة للانسان، ولعل اهمها المضادات الحيوية التي تمثل مفخرة الايض الثانوي للفطريات للبشرية، وهذا ما بينه الواقع فضلا عن الفيتامينات، والاحماض العضوية، والاصباغ، وحاليا تدرس ضمن علم التكنولوجيا الحيوية الفطرية Fungal Biotechnology (Klaus و Niksic ، 2007؛ Liu واخرون، 2010 )

ازداد الاهتمام العالمي بالفطريات الكبيرة خاصة البازيدية منها ذات الاستخدامات العلاجية على وجه الخصوص مع مرور الوقت، بعد ان اظهرت الدراسات البحثية قدرة بعض المركبات الفعالة المستخلصة من انواع معينة منها على علاج بعض حالات السرطان في الانسان ، اذ وجد انّ المستخلص المائي للفطر *Boletus edulis* قادر على تثبيط نمو الخلايا السرطانية التي تصيب الانسجة الضامة في فئران التجارب البيضاء في فريق بحثي كبير ضم العديد من الدول مثل اليابان، والولايات المتحدة، والصين، وتبين من النتائج انّ المادة الفعالة التي تثبط الخلايا السرطانية عبارة عن سكر متعدد ، ويتوالي البحوث والدراسات تبين ان السكريات المتعددة الفطرية المعقدة قادرة على زيادة مقاومة المريض ضد الخلايا السرطانية عن طريق تشجيعها على تكوين مواد مضادة للفيروس Interferon، كما تعمل على قتل الخلايا الورمية دون الخلايا الطبيعية (Peraro واخرون، 2007؛ William، 2011).

باستمرار البحوث العلمية تم اكتشاف ما يزيد عن 60 نوعا من الفطريات الكبيرة التي تمتلك مركبات فعالة، ذات تأثير مثبت لنمو الخلايا السرطانية ، والبعض من هذه الفطريات تستخدم كغذاء صحي في دول شرق اسيا، ومنها فطر الشيتاكي *Lentinus edodes* الذي حظى بدراسات عديدة اذ يُعدُّ غذاءً، و دواءً في ذات الوقت. كذلك وجد أنّ بعض فطريات عيش الغراب البرية التابعة لجنس الـ *Ganoderma* تنتج احماضا عضويةً، وسكريات متعددة من نوع  $\beta$ -glucan، لها تأثير فعال ضد الخلايا السرطانية ، وفي الولايات المتحدة يشكل الانتاج التجاري للمركبات الفعالة المنتجة بواسطة الفطريات قيمة اجمالية تقدر 3.5 مليار دولار سنويا. (شريف ، 2012 ، Wang ; واخرون، 2018).

شكل التقدم في علم المنتجات الحيوية الطبيعية بصفة خاصة ثورة بايولوجية فلا يكاد يمر يوم دون ان تنصدر الكثير من المنجزات في هذا المجال وسائل الاعلام المكتوبة، والمرئية، والمسموعة، ووسائل التواصل الاجتماعي، ومما لا شك فيه انّ الثورة العلمية الحديثة التي استخدمت الفطريات كأدلة لاستكشاف الطب الحيوي تستحق الاهتمام؛ لأنّها تهتم بصحة الانسان، وغذائه، وتمس كل جوانب حياته، ومستقبله (Joshi واخرون، 2009؛ Reis واخرون، 2014).

وعلى الرغم من التقدم في مجال الفطريات، ودراستها الاّ أنّه ما زال الكثير منها يلفه الغموض، وما زال الانسان يحمل في داخله شعورَ الانسان البدائي تجاه عالم الفطريات فتراه يزداد انبهارا، واعجابا يوما بعد يوم بقدراتها الخارقة التي سخرها الله لها.

ولمواكبة التغير المطرد الذي تحدّثه التقنيات الحيوية على جوهر حياة الانسان، وبطريقة لم تخطر على قلب بشر من قبل ، ولكون الانجاز الاكثر حداثة يتمثل في ابتكار وسائل، وطرائق جديدة في معالجة الامراض الخطرة، والمستعصية ، وعلى الرغم من هذا التطور الكبير الذي صنع اعدادا هائلةً من الادوية التي تعالج الكثير من الامراض خلال القرن المنصرم الاّ أنّها تشهد عودةً لاستخدام النباتات الطبية، والفطريات على انها وحدة من فروع الطب البديل لاستخلاص المركبات الفعالة منها، واستخدامها في تراكيب دوائية مختلفة (Wang واخرون، 2012) وهذا في حد ذاته سبب وجيه للقيام بهذه الدراسة؛ لارساء بنى تحتية لهذه المركبات،

والاستثمار الجدي للموارد الطبيعية؛ ولأننا ندرك ان الغوص في بحار المعرفة العلمية في القلب منها وهو في الاصل جبلة في الانسان المفطور على حب الاستطلاع، واستكشاف المجهول الذي قد يصل الى حد الفهم.

وتهدف هذه الدراسة الى الاهداف التالية:

1. دراسة التنوع البايولوجي للفطريات الكبيرة في الغطاء الخضري التابعة لجنس *Ganoderma* في محافظة نينوى.
2. التشخيص الجزيئي للفطريات المستحصل عليها، وايجاد التتابع النيوكليوتيدي لها، وتسجيلها في بنك الجينات، وايجاد درجة القرابة، والبعد الوراثي بينها.
3. فصل، وتشخيص، وتنقية عدد من مركبات الايض الثانوي، وتقييم الفعالية البايولوجية المضادة لبعض انواع البكتريا الممرضة للانسان، والفعالية المضادة للاكسدة، والفعالية المضادة على بعض خطوط الخلايا الخلوية السرطانية.

# الفصل الثاني

## استعراض المراجع

## الفصل الثاني

### 2- استعراض المراجع

#### 1-2 الفطريات البازيدية

انحسر اهتمام الباحثين حتى نهاية القرن العشرين بقابلية الفطريات الخيطية على انتاج المركبات ذات الفعالية الطبية، وخاصة المضادات الحيوية ، في حين كان الاهتمام بالفطريات الراقية، وخاصة الفطريات البازيدية محدودا جدا (Muhsin واخرون، 2011).

ومعرفتنا بالفطريات ضئيلة جدا على الرغم من انها اكثر الكائنات الحية في النظام البيئي تنوعا ، وفي الوقت الذي يواجهه العالم اوقاتا عصيبة في ادارة البيئة، وفي اطار الجهود المبذولة للقضاء على الكثير من المشاكل البيئية نحتاج الى وقفة، وتأمل حقيقي للبحث عنها في كل بقاع العالم. قد يبدو الامر غريبا للكثير حين نقول ان مستقبل العرق البشري تحت اقدامنا مباشرة، فعندما تضغط قدمك على الارض، او عندما تتساقط الامطار، او عندما تُقَطَع شجرة تستجيب الخيوط الفطرية باطلاق اشارات كيميائية في جميع الاتجاهات على غرار النظام العصبي الى حد كبير، وتعمل على ادارة النظام البيئي للارض. هذه الكائنات التي تقضي نصف حياتها غير مرئية تحت الارض، تمزق فيها انسجة النباتات الميتة، وتنتشر بشكل شبكة عنكبوتية لؤلؤية البياض دون شكل محدد لهيئتها، لا يكاد يخلو منها مكان في الطبيعة، وابعاد كبيرة قد تصل الى خمسة اضعاف اعداد النباتات على الرغم من ان اكثر من 90% من انواع الفطريات ما زالت غير معروفة وامام علماء الفطريات، والباحثين، ومن يأتي بعدهم مجالات واسعة لاكتشاف، وتشخيص الاف الانواع التي ما تزال غير معروفة، وهي توجد بينا بالتأكيد (Wang و اخرون، 2012؛ Jakubczyk واخرون، 2020).

والفطريات البازيدية مجموعة كبيرة من الانواع التي تمتاز بكونها اجساما ثمرية مختلفة الاحجام، والتي تنمو بصورة طبيعية على الكثير من المواد العضوية، وجدير بالذكر ان من بين مليون، ونصف المليون نوع من الفطريات المعروفة، والمشخصة على مستوى العالم 7.3% فقط

تضم فطريات كبيرة منها 21.679 نوعا يعود للفطريات البازيدية (Basidiomycota Tang) واخرون، 2006).

تعد الفطريات البازيدية من ارقى المجاميع الفطرية، فتضم فيما بينها انواعا مترممة تقوم بامتصاص المواد العضوية البسيطة، وتحليل المواد العضوية المعقدة بفعل الانزيمات المحللة التي تفرزها في وسط النمو، وانواع تقيم علاقةً تعايشية من نوع المايكورايزا مع جذور بعض النباتات، وعادة تتحدد مساحة نموها بكمية وسعة البيئة المناسبة للنمو وديمومة الظروف البيئية الملائمة، والتي تنعكس على قدرتها على تكوين الاجسام الثمرية التي تُشاهد غالبا في فصل الربيع، والخريف، وعليه لا ينصح بتناولها الا اذا كان نوعها معروفا، وهذه المعرفة مؤكدة من قبل ذوي الاختصاص؛ لان هناك انواعا سامةً تشبهها، ويمكن انْ تهدد حياة الانسان. ومن الفطريات البازيدية الشائعة فطريات عش الغراب Mushrooms التي تؤكل، وفطر الشيتاكي *Lentinula edodes*، والفطريات عالية السمية *Amanita phalloides*، وفطريات مايكورايزية تجمع من الحقول، والغابات، ومنها: *Bolutes edulis* و *Cantharellus cibarius*، كما وتضم اكثر الفطريات تعميرا على سطح الارض *Armillaria gallica*، والفطريات الرفية Shelf fungi، والقرون العفنة Stink horns، والفطريات الجبلية Jelly fungi، والنجوم الارضية Earth stars، وفطريات اعشاش الطير Nests fungi (Mueller واخرون، 2007؛ Ghosh، 2014).

شملت الاستخدامات التقليدية للفطريات البازيدية انتاج غذاءٍ للانسان الذي استفاد منها عبر تاريخه الطويل، واعتمد عليها كمصدر هامٍ لغذائه، وفي الوقت الحاضر تُعدُّ زراعة عش الغراب، والذي ينحصر في زراعة فطر *Agaricus bisporus* من المشاريع العالية القيمة الاقتصادية في الكثير من دول العالم، ومنها الدول العربية، فضلا عن بعض الانواع الاخرى، ومنها عش الغراب المحاري *Pleurotus ostreatus* الذي يزرع بوفرة في دول شرق اسيا. واستخدمت في الكثير من الصناعات الغذائية كمواد مكسبة للطعم (المنكهات)، ومواد ملونة (اصباغ) فضلا عن انتاج البروتين الفطري Mycoprotein (Royse، 2005؛ Suliaman واخرون، 2017).

تتسم الفطريات البازيدية بانتاجها العديد من المركبات الحيوية خلال الايض الثانوي، ولا يُعدُّ ما سبقته الاشارة اليه مثيرا للدهشة، اذ اظهرت الابحاث العلمية اهميتها في علاج كثير من الامراض نظرا لنشاطها المضاد للفطريات، والمضاد للبكتريا (Niksic و Klaus، 2007). واثبتت الدراسات الحديثة في اوربا، واليابان ان الفطريات البازيدية الكبيرة من عائلة Agaricaceae ورتبة Aphylphorales خاصة انواع فطر *Ganoderma spp*، وتكمن اهميتها من الناحية الدوائية في معالجة الاورام، ونقص المناعة، ودورها كعوامل مانعة للتاكسد (Chien واخرون، 2011). واظهرت الدراسات العلمية وجود انواع من فطريات عش الغراب البرية غير المأكولة، ومن امثلتها عش الغراب الرفي *Pyropolyporus fomentarius* اذ يحتوي على مركبات فعالة من شأنها ان تخفض نسبة الكولسترول في الدم ، ومن الابحاث الطبية العلاجية ما ذكره العالم Wright في كتابه الصادر عام 1992 من قدرة بعض فطريات عش الغراب على مجابهة بعض امراض السرطان، وحماية الجسم من فقد المناعة الطبيعية الايذر AIDS (Osinska-Jaroszuk واخرون، 2015). وعلى الرغم من اهمية الفطريات البازيدية التي تعتبر الحجر الاساس للكثير من المشاكل الصحية الا انها تعاني من الاهدال في العراق، وهذا ما يدعو للحزن في الوقت الذي يتجه العالم باجمعه الى استخدام النواتج الطبيعية من الفطريات في مختلف العمليات التصنيعية بما يضمن سلامة غذائه، وصحته.

## 2-2 فطر *Ganoderma*

يعد فطر *Ganoderma* ابرز انواع فطريات التعفن الابيض المُحللة للاخشاب، والذي يمتاز باستغلال الخشب، وتحليله معتمدا على الظروف البيئية وعلى وجه الخصوص درجات الحرارة، والرطوبة في تحليله للخشب الصميمي للاشجار مؤديا الى قصر لونها. ويُعدُّ من اوائل الفطريات التي عرفت في التاريخ القديم اذ يعيد علماء الاثار استعماله في الطب الشعبي بالتداوي، وعلاج الكثير من الامراض ، وشهد الفطر اهتماما واسعا، ويعود تاريخه التصنيفي الى عام 1881 اذ عكف عالم الفطريات الفنلندي Petter على دراسته بصورة مفصلة تحت مسمى *Polyporus lucidus* وحاليا *G. lucidum* (Bishop واخرون، 2015).

تشير الاساطير القديمة الى استخدام الجانودرما منذ ازمان بعيدة اذ حظي بتاريخ طويل من الاستعمال، والاستغلال لدى قدماء الصين لتمتعه بميزات دوائية فريدة، وانتجت منه مركبات دوائية مهمة، واصبح رائدا في هذا المجال خاصة في الصين، وجنوب شرق اسيا. ويضم عددا كبيرا من الانواع ذات المظهر اللطيف المميز، والذي يتكرر نموها في نفس الاماكن سنويا، ومن البساطة التعرف عليه كجنس، ونوع في البعض منه. هذه الانواع عرفت باسما متعددة منها LingZhi، والتي استعملت طبيا، وروحيا واعتبرت رمزا للتنبؤ بالسعادة، والصحة، والمال. وتنمو العديد من انواع الجانودرما بشكل طفيلي على مجموعة متنوعة من الاشجار الخشبية الدائمة الخضرة، والنفضية ذات القيمة الاقتصادية، والجمالية؛ ويسبب للبعض منها امراض تعفن الجذور او تعفن الساق القاعدية في نخيل الزيت الناجم عن *G. philippii*, *G. mastoporum* (Kinge و Mih، 2011؛ Richter وآخرون، 2015).

تتفاوت الاجسام الثمرية لجنس *Ganoderma* تفاوتا كبيرا في الحجم من صغيرة الى كبيرة، وفي اللون من عديمة اللون الى الملونة، والتي تستطيع النمو على مدى واسع من الاشجار، وقد تكتفي انواع منها بالنمو على عائل واحد (Jing وآخرون، 2012).

الجانودرما او كما يلقب بملك الاعشاب يستخدم مكمل غذائي على الرغم من انه لا يؤكل لخشونة وصلابة الجسم الثمري وقساوته الا انه يمكن اضافته كمسحوق الى بعض المشروبات والاطعمة ويتميز بعدم وجود اي عارض جانبي له مما يعزز استخدامه اكثر حيث يستعمل في علاج بعض الامراض مثل منع ارتفاع ضغط الدم والسيطره على الكوليسترول وخفض مستواه في الدم وبناء مقاومة الجسم للامراض كما انه له خصائص مضادة للاورام. كما انه يحل العديد من المشاكل مثل تصلب الشرايين وعدم انتظام ضربات القلب والسكتة الدماغية لغناه بالسكريات المتعددة التي يعزى لها هذا التأثير (Rosyida وآخرون، 2017؛ Hapuarachchi وآخرون، 2019).

## 2-2-1 النمو والتوزيع

ينمو الفطر برياً في الطبيعة، ويفضل جنس *Ganoderma* النمو على أصول الأشجار ذات التغلظ الثانوي، أو أفرع الأشجار المقطوعة، إذ تتميز بتوفر الرطوبة من خلال الجذور، أو الأشجار المحترقة المقطوعة. وتظهر الأجسام الثمرية للأنواع المختلفة التابعة لهذا الجنس من فطريات التعفن الأبيض في أراضي الغابات وعلى أشجار الخشب الصلب غالباً، بشكل مفرد، أو في تجمعات تُشاهد في مراحل نموها المختلفة، ويمكن مشاهدتها بالعين المجردة في المناطق المعتدلة، والاستوائية، وشبه الاستوائية، ويزداد انتشاره، ونموه في الغابات الكثيفة الأشجار ذات الرطوبة العالية، والاضاءة الخافتة، ودرجة حرارة تتراوح بين 15-45 م (Idris وآخرون، 2004؛ Thakur، 2013).

ويمكن أن ينمو، ويزدهر على الأخشاب المتحللة، لأشجار المخروطيات، والتراب الغنية بالمواد العضوية التي تحتوي على خشب مدفون، وأعقاب الأشجار المتعفنة، والمناطق غير مأهولة بالناس بشكل رمي، وبهذا يساهم مساهمة فاعلة في تنظيف البيئة، وإتمام دورة الكربون في الطبيعة. يقدر العلماء عدد أنواع جنس الجانودرما الموجود عالمياً بحدود 250 نوعاً، والتي تنمو برياً دون تدخل الإنسان وأكثرها تكون خشبية *Woody* أو قوية *Tough* ذات مذاق غير مستساغ، أو بدون طعم (Thuy و Tuyen، 2015).

والفطريات لها القدرة على النمو على جذوع الأشجار الحية، والتي يعود لامتلاكها اليات فعالة لتحطيم اللكنين إذ تحصل على الطاقة، وتمنع مرور الماء والمغذيات لأجزاء النبات، وتقتل وتتحلل أكثر من النصف للانسجة المصابة، وقد يؤدي إلى إصابة النبات بمرض تعفن الجزء القاعدي لكثير من النباتات، ومنها تصيب أشجار زيت النخيل بالنوع *G. boninense* (Coetzee وآخرون، 2015، King وآخرون، 2015).

وفطر الجانودرما يتوزع عالمياً بشكل واسع حيث نجده ينمو بكثافة في الدول الآسيوية، والأوربية، والأفريقية وفي الدول العربية، وسجلت أنواع قليلة في مصر، والعراق حتى الآن، وهناك محاولات جادة للتعرف على أنواعها مع استمرار البحث العلمي، وفطر الجانودرما ينمو، ويتواجد في بعض دول العالم إذ يُعدُّ مورداً اقتصادياً كبيراً، فقد وجد ما لا يقل عن 650 نوعاً من الفطريات

تشكل الجانودرما نسبة كبيرة منها في مقاطعة ميكونغ (mikungh) البالغة مساحتها 2.5 مليون كيلومتر مربع فضلا عن الفطريات المسببة لأمراض النبات (Hyde وآخرون، 2018؛ Luangharn وآخرون، 2019).

لقد نشر Al – Khesraji، وآخرون (2017) بحثا عن الفطريات الكبيرة في العراق، وسجل لأول مرة النوع *G.lucidum* بالاعتماد على الصفات المظهرية والمجهريّة والتشريحية في مزرعة تعود الى ناحية العلم في محافظة صلاح الدين المعروفة بمنطقة زراعية.

## 2-2-2 التصنيف

مر تصنيف الفطريات البازيدية كمجاميع الفطريات الأخرى بتغيرات مستمرة، فهي عملية معقدة جدا، وتحتاج الى إمكانيات، وخبرات خاصة، أنّها تمتاز بكثرة عددها، والفروقات المظهرية متداخلة جدا بين الأنواع لذا اختلف العلماء في مسألة التصنيف اختلافا كبيرا؛ بسبب عدم وجود اسس ملموسة ثابتة للتصنيف؛ لذلك عدّنا أكثر من أن يكون علما ومن هذا المنطلق لا نجد غرابة أن نجد بعض الفطريات على مستوى الجنس أو النوع في مراتب تصنيفية مختلفة باختلاف العالم المصنف لها، فوجود أو غياب الحواجز في البازيدات، ونوع انقسام البازيدات والية تحرر السبورات البازيدية من الصفات المعتمدة في تصنيفها، وظهر فيما بعد أنّ تلك الصفات المظهرية لم تنعكس على بناء النمو التطوري لهذه المجموعة من الفطريات، وحاليا أظهرت المعطيات الجزيئية أنّ الصفات المرافقة لفتحة الحاجز والجسم القطبي المغزلي في توافق مع النمو التطوري الجزيئي وتركيب الحاجز والقلنسوة تمثل مؤشرات مهمة لتصنيف العرايين البازيدية.

وتخضع عملية التصنيف للمراقبة بشكل دقيق للتأكد منها، خاصة تلك التي تعتمد على الصفات المظهرية تجنباً للخلط بين الأنواع، وبالاستناد الى كتب التصنيف الحديثة يعود جنس الجانودرما الى مملكة الفطريات الحقيقية شعبة الفطريات البازيدية رتبة Aphyllphorales، عائلة Ganodermaceae، والتي عرفت سابقا بالفطريات المتقبة، أو عديدة الثقوب Polyporaceae (Alexpoulous وآخرون، 1996) ويضم هذا الجنس العديد من الأنواع ذات الأهمية الطبية والبالغ عددها 250 نوعا (Buchanan و Moncalvo، 2008). وهذه الأنواع

البرية التي يشيع تواجدها في الغابات تمتلك مدىً واسعاً من التنوع بجميع مراحل نموها، وهذا ما يجعل عملية التصنيف صعبةً، وشاقّةً على النطاق المظهري، كونها تظهر تغيراً شديداً في الأنواع، وشكل الجسم الثمري ونوع العائل (Muthelo، 2009؛ Jargalmaa وآخرون، 2017) لذا تستخدم الطرائق الجزيئية لتأكيد الهوية الحقيقية للأنواع التابعة لجنس *Ganoderma*، والذي اتاح تسجيل أنواع جديدة لم تكن معروفة سابقاً (Tchoumi وآخرون، 2019).

## 2-2-3 الوصف المورفولوجي للجانودرما

يتسم الجنس *Ganoderma* بكونه أكثر اجناس الفطريات البازيدية تنوعاً، وأكثرها تعقيداً، هذا الفطر الرمي الطفيلي الذي ينمو بشكل مفرد أو بشكل اجسام مبعثرة على قطع اشجار الخشب الصلب، يثمر مع بداية الامطار في الخريف الى نهاية الشتاء في المناطق الاستوائية، وشبه الاستوائية، نُجده ينمو في فصل الربيع في بعض بلدان العالم، وخاصة دول شرق اسيا، ويستمر بالنمو طول العام متحدياً الظروف البيئية القاسية (Li وآخرون، 2013).

ينجم عن نشاط الخيوط الفطرية لها تكوين عقد غير منتظمة، او في بعض الأنواع متطاولة تمثل بداية الجسم الثمري، ومع استمرار النمو يتخذ الشكل المروحي القاسي الملمس وغالبا المغطى بطبقة سميكة جلدية مع سطح لامع يظهر تمنطق بالوان مختلفة بالاصفر والاحمر، وحافات ناصعة البياض في بعض الأنواع منحنية نحو الداخل، والسطح السفلي للجسم الثمري متقرب بثقوب صغيرة جدا وغالبا يكون ابيض اللون او بني. وساق الجسم الثمري قد يكون مفقودا في بعض الأنواع الا أنه موجود في الغالب بشكل منتظم او غير منتظم، قصير ولماع كراس الجسم الثمري، ويتميز بأنه زاوي من جهة واحدة من الراس الذي يكون لنا في بداية النمو وسرعان ما يصبح قويا وصلداً، ويقوم بوظيفة تثبيت الجسم الثمري بوسط النمو لاستيفاء احتياجاته الغذائية. ويظهر الجسم الثمري بالوان متميزة، وجذابة تتدرج من اللون الابيض حتى الاسود مع الوان زاهية كاللون الارجواني، والاحمر، والاحمر المشوب بالاصفر، والبني الغامق، وتلعب الظروف البيئية دورا كبيرا في لون الجسم الثمري، وحجمه الذي يميل الى اللون الداكن مع تقدم العمر (Hapuarachchi وآخرون، 2019). والجسم الثمري غير صالح للاكل يمتاز

بطعمه المر في بعض الانواع، الا انه غير سام، ويغلب عليه رائحة العفن خاصة في الانواع التي تنمو على الاشجار المقطوعة المتعفنة (Lu واخرون، 2020).

ويتكون الجسم الثمري من عدة طبقات، الخارجية منها تعرف بطبقة القشرة تمتاز بسمكها، وغناها بالمواد الراتنجية، التي تعطي للجسم الثمري لونه المميز، ولمعانه الا ان هناك بعض الانواع تخلو من هذه المواد الراتنجية وتلاحظ فيها الاجسام الثمرية بلون باهت خالٍ من اللمعان كالنوع *G. applanatum*. والطبقة الداخلية ذات قوام اسفنجي تضم خيوطا متشابكة رابطة كثيرة التفرع، والطبقة الاخيرة هي الطبقة الخصيية السميكة الانبوبية، لونها بني داكن تنتهي بتقوب صغيرة، تمثل السطح السفلي للجسم الثمري ذات جدران رقيقة، وتضم خيوطا فطرية ذات نهايات منتقخة تعطي تركيبا يسمى البازيدة، تترتب عليها سبورات بازيدية مغلقة بجدارين سميكين، وتعد السبورات البازيدية، وترتيبها على البازيدة وسمكها صفة تصنيفية بين الانواع والبصمة السبورية تكون بنية ذات شكل اهليجي مقطوع النهاية احيانا، وذات سطح املس تحت القوى الصغرى للمجهر الضوئي، وشوكية دقيقة تحت العدسة الكبرى للمجهر بالابعاد  $7-13 \times 5-9$ ، وتنتشر السبورات البازيدية عند النضج بوساطة التيارات الهوائية لمسافات بعيدة بشكل دفعات متتالية، وتنمو وتكون خيوط فطرية جديدة عند سقوطها على التربة بالقرب من اصول الاشجار ذات التلغظ الثانوي (Kamble واخرون، 2011؛ Smith و Sivasithamparam، 2000)

#### 4-2-2 الاهمية الاقتصادية والطبية للجانودرما

تشكل الفطريات في المقام الاول مكسبا اقتصاديا اذ عملت على سد الثغرة لنقص الغذاء في الكثير من دول العالم، وخاصة الدول النامية التي اصبحت مشكلة توفير الغذاء فيها مشكلة عالمية مع الارتفاع الحاد في معدلات النمو والقصور في الموارد الغذائية وامتلكت الفطريات تاريخا لا يمكن ان يحدد في هذا المجال فنجد ان الكثير من المخلفات الزراعية، والصناعية استخدمت كاساط لتنمية الفطريات الماكولة بعد ان كانت اصابع الاتهام تشير الى تسببها في مشاكل بيئية كبيرة، اثبتت نجاحها في اطعام ملايين الافواه الجائعة من اطاييب الغذاء، بل اصبحت عماد الصناعة، والاقتصاد في هذا العصر.

وعلى الرغم من ان الفطر *Ganoderma* لم يُصنف ضمن الفطريات الصالحة للاكل، لاحتوائه على نسبة مرتفعة من الكايتين وهي صعبة الهضم، والطعم المر، لاحتوائها على مركبات التربينات الثلاثية (Khastini وآخرون، 2018)، الا ان تبني زراعته تم منذ عقود في البلدان الاسيوية خاصة (الصين، واليابان) ؛ لاستخدامه على نطاق واسع كمكملات غذائية، بل اصبح في وسع الكثير من الفلاحين خوض غمارها، وترتب على ذلك نهضة اقتصادية كبيرة.

وقد احرزت اولى النجاحات بزراعة الفطر *G.lucidum* على مخلفات زراعية مختلفة، وحملت تلك التجربة في طياتها امالا كبيرة في القدرة على تجاوز مشكلة ازمة توفير المكملات الغذائية من مصادر غير تقليدية، وفي نفس الوقت التخلص من اطنان النفايات التي لا حصر لها، وهي ثروة وطنية اذا احسن استغلالها فيما بعد. تلا ذلك محاولات كثيرة جادة لزراعة انواع اخرى ومنها: *G.applanatum*، و *G. seninse* (Hapuarachchi وآخرون، 2017).

وفي الاونة الاخيرة توسعت زراعة *Ganoderma* نظرا لكثرة الطلب العالمي عليها ويتم تسويق الاجسام الثمرية بشكل مسحوق جاف، او بشكل كبسولات ويبلغ الانتاج العالمي 6000 طناً تُنتج سنويا، وتاتي الصين بالمرتبة الاولى، وبنسبة 50 % من الانتاج العالمي، والتي يصل سعر الكيلو غرام الواحد من مسحوق الجسم الثمري 600 دولارا. (Bhatt و Kamra ، 2013) ومن البلدان الرائدة في مجال زراعة فطر *Ganoderma* ماليزيا التي تستخدم العديد من المخلفات الزراعية، والصناعية في تنميته، ويتم تسويق الاجسام الثمرية المجففة باشكال مختلفة من قبل شركة DXN الماليزية التي تضم 25 فرعا موزعة على مختلف دول العالم، ومنها العراق (Hapuarachchi وآخرون، 2018).

تعد الفطريات البازيدية مصدرا غير محدود للعناصر النشطة بايولوجيا والمفيدة علاجيا فهناك مايقارب اكثر من 700 نوعا من الفطريات البازيدية وُجِدَ انها تمتلك تأثيرات دوائية فعّالة، فقد اثبتت الدراسات الحديثة لاجناس الفطر ان العديد من انواع جنس الجانودرما تُستخدم في العلاجات وقد اثبتت انها تمتلك خصائص طبية كبيرة (Kozarski وآخرون، 2015).

وفي هذا المقام سنستطرد دون عجلة في التعريف بالفوائد الطبية للفطر *Ganoderma* في خطوة كبيرة للمحافظة على صحتنا التي تزداد سوءا في ظل نظام غذائي لا صحي وبيئة غنية بمصادر التلوث.

اعتبر فطر *Ganoderma* مصدرا لمجموعة واسعة جدا من المنتجات الطبيعية التي لها تطبيقات طبية حيوية ودوائية فعالة، ويعد حامض *Ganodermic acid*، احد هذه المنتجات التي وصلت للأسواق في العديد من دول العالم، والذي يمتاز بقدرته على مكافحة الشيخوخة والابقاء على نضارة وحيوية الوجه. من جانب اخر تمَّ عزل 119 مُركبا عُضويا من الاجسام الثمرية للفطر، والغزل الفطري: عبارة عن احماض منها (Lucidenic acids)، وبروتينات تبين أنَّها تحوي على الاحماض الامينية الاساسية الغنية بشكل اساسي باللايسين (Lysine)، والليوسين (Leucine) (Lin) واخرون، (2019) وجدير بالذكر انَّ هناك مساعٍ لاكتشاف ادوية وعقاقير تستخدم في العديد من الحالات الصحية اذ تستخلص من الفطريات البازيدية، وخاصة *Ganoderma* ذات التأثير الفعال ويمكن انتاجها بدقة، وكفاءة عالية لا تتوفر في احداث المصانع (Hu واخرون، 2018).

استخدمت الاجسام الثمرية، او مستخلصات الاجسام الثمرية لفطر الجانودرما، وعلى وجه الخصوص النوع *G.lucidum* في خفض تراكم الصفائح الدموية، وبذلك قللت من تخثر الدم ويصحح من عدم انتظام ضربات القلب ويعمل على خفض الكوليسترول الضار وخفض ضغط الدم، ويجدد خلايا الكبد ويحسن الدورة الدموية ويعالج القرحة ويحسن من القدرة التنظيمية للكلية ويحفز الجسم على افراز *interferon* و *interleukins* المضادة للسرطان من خلال السكريات المتعددة الموجودة في الفطر وتمتلك خصائص مضادة للاورام وهو علاج شائع لحالات التهاب الكبد والروماتيز والشلل، ومشاكل القلب (Cao واخرون، 2006؛ Singh واخرون، 2014).

اشارة الابحاث الحديثة الى انَّ نواتج التمثيل الغذائي الثانوي ومنها: الاحماض الدهنية المستخلصة من الاجسام الثمرية فضلا عن المركبات الفينولية اذ تمتلك فعالية مضادة للحياة المجهرية، ومضادة للاكسدة اما السكريات المتعددة التي تمتلك هيكل غير متجانسة لها القدرة على منع انتشار الخلايا السرطانية، وتنشيط الجهاز المناعي ومضادة للالتهاب الفيروسي

والبكتيري، وهي الاكثر نشاطا وفعالية في التأثيرات العلاجية مثل 1.6-D-glucans والذي يعمل على تحسين الدورة الدموية (Kao واخرون، 2013؛ Xian واخرون، 2017). تُعدُّ السُّكريات المُتعددة Polysaccharides، والمُركبات العُضوية غير المُشبعة triterpenes هي المكونات الرئيسية النشطة في الفطر *G.lucidum*، اذ تمَّ عَزَل اكثر من 100 نوع من السكريات في الجسم اشهرها: Beta-D-glucans الذي يمتلك فعالية مضادة للخطوط الخلوية السرطانية (Zhou واخرون، 2012؛ Yang، 2019؛ Sohretoglu و Huang، 2019).

انَّ القدرة على خفض الكوليسترول، وبناء الخلايا، وتنشيط الجهاز الهضمي، ومنع حدوث الحساسية تجاه المضادات الحيوية التي تمتلكها الاجسام الثمرية لفطر الجانودرما تعود الى احتواءها على التربينات الثلاثية، والتي تتضمن اكثر من 112 نوعا وكذلك تأثيرها المضاد للسرطان، وتنشيط السيتوكينات، ويعود بالفضل الى وجود مادة اللانوستان (Smina واخرون، 2011؛ Sharma واخرون، 2019).

## 3-2 النواتج الطبيعية Natural products

تداخلت الفطريات في حياة الانسان منذ زمن بعيد جدا حين اسْتُئِدَّ بطعم الانواع التي تؤكل، وازداد هذا التداخل للفطريات في حياة الانسان بصورة كبيرة كلما تطورت، وتعقدت متطلبات الحياة، ولعب الايض الاولي، والثانوي في هذا المجال دورا كبيرا لكون اغلب المركبات الكيميائية التي تنتجها الفطريات، وتكون بتماس مع حياة الانسان، وتستعمل في مختلف الصناعات الغذائية، والدوائية، ونتاجة عن مسارات الايض سواء الايض الاولي، او الايض الثانوي.

وهو مصطلح يشير الى المواد الكيميائية الفعالة التي تُنتجها الكائنات الحية، ولها تأثيرات فعالية، ودوائية مميزة، وهي مركبات عضوية ناتجة من اصل طبيعي، واكثر هذه المكونات اهمية تلك التي تؤثر في تفاعلات الاستقلاب (شوقالية، 2010). وانَّ جميع هذه المركبات الكيميائية ناتجة عن الايض الثانوي، ولا تشارك في التمثيل الغذائي الاساسي ؛ لكنها مفيدة على الاغلب

كدفاعات كيميائية للكائن الحي وغالبية هذه النواتج ذات نشاط دوائي متميز في علاج العديد من الامراض المهمة، ومنها السرطان (Lemin، 2005).

انَّ الاهتمام المتزايد للنواتج الطبيعية في الوقت الحاضر يعود الى عدة عوامل منها التنوع المتميز في التراكيب الكيميائية، والفعاليات الحيوية للمركبات الايضية الثانوية الطبيعية، وتطور التقنيات الحديثة، والحساسية لتحديد، وتشخيص النواتج الطبيعية الفعالة حيويًا، والحاجة الملحة الى مركبات علاجية جديدة، وتطور تقنيات عزل، وتنقية، وتشخيص هذه المركبات الفعالة (Rout واخرون، 2009).

لفترة ليست طويلة كانت معظم الادوية، والمركبات الدوائية التي تستعمل لعلاج اغلب الامراض التي تصيب الانسان تحضر صناعيا من المركبات الكيماوية او من منتجات نباتية، او حيوانية، ولكن اختلف الامر بعد اكتشاف المضادات الحيوية، وخاصة البنسلين الذي استخلص من الفطر *Penicillium* الذي حقق خطوة مميزة عكست اتجاه انظار العلماء الى الاحياء المجهرية، وخاصة الفطريات ؛ لانتاج بعض المركبات الدوائية، وفعلا نجحوا بانتاج الكثير من الادوية والعلاجات، بوجه خاص من الفطريات، ومنها ادوية تستعمل لتقليل كولستيرول الدم، وادوية مضادة للاورام السرطانية ( Fathima و Reena، 2016).

## 4-2 الايض Metabolism

يشير هذا المصطلح الى جميع التحولات الكيماوية، وتحولات الطاقة التي تحدث داخل الخلية عند استعمال الغذاء والطاقة للنمو، والتكاثر والتنفس والتي تساعد الفطر على مقاومة مختلف الظروف البيئية والتعايش مع المحيط الخارجي الذي تتواجد فيه تقسم نواتج الايض تبعا لطريقة تكوينها ومصدرها الى قسمين رئيسين:

### القسم الاول: الايض الاولي Primary metabolites

تحدث عملية الايض الاولي في مختلف الكائنات الحية، ويتضمن مسارات التفاعلات الايضية لتكوين الجزئيات الكبيرة التي يحتاجها الفطر كمصدر لتكوين الطاقة Adenine triphosphates (ATP) كالكاربوهيدرات والبروتينات والدهون والاحماض الامينية، والاحماض

النوية التي توفر للفطر مستلزمات عمليات النمو، والتكاثر، والتشبث بالحياة، وتنتج خلال مسار الايض الاولي العديد من المواد الكيميائية التي تستغل تجاريا تحت مسمى منتجات الايض الاولي، ومنه الانزيمات، والاحماض العضوية (Rakib وآخرون، 2014).

### القسم الثاني: الايض الثانوي Secondary metabolites

لوحظ منذ زمن بعيد قابلية الفطريات على تكوين مركبات طبيعية معقدة غير معروفة الاهمية للفطر يحدث تكوين هذه المركبات في نهاية مرحلة نمو الفطر وظروف تكوين هذه المركبات تكون اشد صرامةً من تلك الظروف التي يحتاجها الفطر في تكوين السبورات والنمو الخضري، وتستعمل في مسارات تكوين الايض الثانوي نواتج مسارات الايض الاولي وتسمى المركبات التي تنتج خلال عمليات الايض الثانوي بنواتج الايض الثانوي وقد وضعت العديد من الفرضيات لايضاح سبب تكوينها من قبل الفطريات ومنها اعتبارها وسيلة للدفاع عن الفطر وتحقيق توازن للفطريات مع الكائنات الاخرى التي تنمو معها في نفس بيئة النمو فضلا عن حماية الفطر من الاشعة فوق البنفسجية وبغض النظر عن السبب والغاية من تلك المنتجات فإن مركبات الايض الثانوي تُعدّ اهم ما يمكن استغلاله في الكثير من الصناعات في كل زمان (Jargalmaa وآخرون، 2017).

تسمى المواد الكيميائية العضوية المعقدة التي تطلق العنان للفطريات لانتاجها نتيجة عمليات الايض الثانوي (بنواتج الايض الثانوي في الفطريات) وتتداخل كثيرا من العوامل في نوعها، وكمياتها، ومنها نوع الفطر، والمادة العضوية التي يعيش عليها؛ لذا نجدها تختلف من فطر الى اخر فضلا عن العوامل الوراثية.

تتداخل منتجات الايض الثانوي للفطريات بصورة رئيسة وكبيرة في حياتنا اليومية من خلال استغلالها في الصناعة، وخاصة صناعة الادوية التي تستعمل لعلاج الكثير من الامراض التي تصيب الانسان، وخاصة المزمرة منها وقد اشار بعض العلماء الى ان نسبة عالية من الوصفات الطبية التي يصفها الاطباء لمرضاهم مصادرها منتجات الايض الثانوي الفطري، اذ يصل عدد المكتشف منها لحد اللحظة حوالي 20000 منتج ابيض ثانوي، وهذا ما وثقه Cole،

واخرون في كتابه كتاب اليد لمنتجات الايض الثانوي للفطريات Handbook of Secondary Fungal metabolites وقد نُشرَ في ثلاث مجلدات (Taofiq واخرون، 2016)، يتم تكوين ونتاج مركبات الايض الثانوي من خلال مسارات معقدة رئيسة وهي: (Dewick، 2009):

### 1. مسار حامض الشيكيمك Shikimic acid pathway:

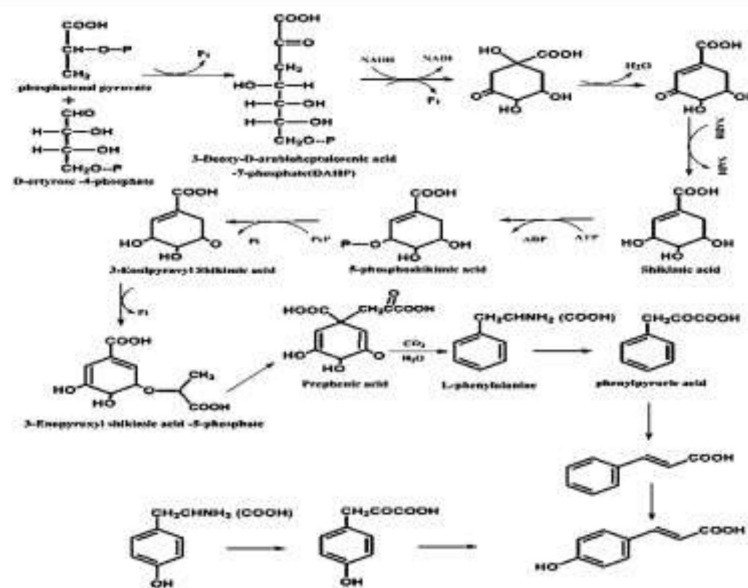
ينتج من تفاعل مركب Phosphoenolpyruvate (PEP) مع مركب Erythrose-4-phosphate فينتج من تفاعلها حامض الشيكيمك (بسبع ذرات كاربون)، والذي يتحول بواسطة عدد من التفاعلات الى عدد من المركبات الفينولية مثل Tyrosin، والحامض الاميني Phenylalanine، والذي يتكون منه حامض الكافثيك والكومارينات واللكتينات وغيرها من المركبات الفينولية.

### 2. مسار الاحماض الامينية Amino acid pathway:

مسار يؤدي الى تكوين القلويدات، والمضادات الحيوية الببتيدية وتشمل البنسلينات والسيفالوسبورينات.

### 3. مسار حامض الخلات Acetate acid pathway:

نتاج من تفاعلات التنفس، او تفاعلات اكسدة الدهون، والوحدات الرئيسية الداخلة في تكوين الفلافينويدات وكما موضح في شكل 1-2.



شكل 1-2 مسار حامض الشيكيمك (Shikimic acid) (Harborne، 1973)

تصنف منتجات الايض الثانوي في حد ذاتها الى ثلاث مجاميع كيميائية اساسية

(Anulik وآخرون، 2016) هي:

1. التربينات ومشتقاتها.
2. المركبات الفينولية.
3. القلويدات واشباهها.

## 5-2 التربينات Terpenes:

تنتمي الى مركبات الايض الثانوي للفطريات الاكثر تنوعا، وعددا من بين مختلف المنتجات الطبيعية الاخرى، ويزداد، ويتضاعف عددها مع تقدم الزمن، وتطور طرق الاستخلاص، والتشخيص وهي عبارة عن مركبات هيدروكربونية يطلق عليها احيانا Isoprenoids ، اذ تتكون من خمس ذرات كاربون، وثمان ذرات هيدروجين  $(C_5H_8)_n$  كما في الشكل (2-2) وتمثل (n) عدد وحدات الايسوبرين، وتحتوي على زوج من الروابط المتبادلة، وتتكون سلسلة الايزوبرين من وحدات الايزوبرين او اكثر باتحاد راس الى ذيل او راس في وحدة اخرى بروابط متعددة لتشكل انواع مختلفة الهياكل التربينية (الحمداني وايوب، 1990؛ Carter، 2011).

وتعرف التربينات بأنها هيدروكربونات حلقيه غير مشبعة تتالف من وحدتين ايزوبرين تتحدان عند ذرة الكاربون الاولى، والرابعة مثل الليمونين ، وتوجد التربينات بصيغة مركبات غير حلقيه مثل السكوالين وهو: مركب وسطي ينتج من مسار التخليق الحيوي للستيرويدات، والتربينات استخدمت في علاج عدد من الامراض الخطرة كالسرطان مثل عقار Paclitaxel وعقار Artemisinin المضاد للملاريا، و تعد بعضها مكملا غذائيا مثل: اللايكوبين (Lycopene)، واللينالول (Linalool) (Luo وآخرون، 2015).

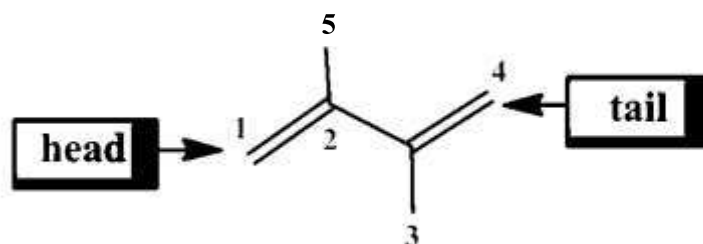
تبعاً لعدد وحدات الايسوبرين التي تتشكل منها التربينات تقسم الى عدة اقسام كما في

الجدول 1-2.

جدول 1-2 اقسام التربينات وعدد ذرات الكاربون التابعة لها (الحمداني وايوب، 1990).

عدد وحدات الايسوبرين	اسم التربين	عدد ذرات الكاربون
2	التربينات الاحادية Monoterpenoids	10
3	تربينات سيسكوى Sesquiterpenoids	15
4	التربينات الثنائية Diterpenoids	20
6	التربينات الثلاثية Triterpenoids	30
8	التربينات الرباعية Tetraterpenoids	40
اكبر من 8	التربينات المتعددة Polyterpenoids	40 من اكبر

وفي اوائل القرن العشرين تمكن Ruzicka (1993) من اكتشاف الايسوبرين (Isoprene) وهي الوحدة الاساسية لبناء التربينات كما مبين في شكل 2-2:



شكل 2-2 التركيب الكيميائي لوحدة الايسوبرين Isoprene (Ruzicka، 1993)

## 6-2 الزيوت الطيارة Volatile oils

وهي مركبات عضوية متطايرة (Volatile Fungal) ذات اوزان جزيئية واطئة جدا تُعدُّ كنواتج للايض الثانوي في الفطريات وتشتمل عددا كبيرا من المركبات الكيميائية مثل: الكحولات والاسترات والكي-tonات والالديهيدات، فضلا عن بعض المركبات الاروماتية (Aromatic compounds) والاليفاتية (Aliphatic compounds)، (Obodai واخرون، 2017).

تسمى الزيوت الايثرية (Ethereal oil) لذوبانها في الايثر، والزيوت العطرية (Aromatic oil) لرائحتها العطرية او الزيوت الاساسية (Essential oils)، (Paterson، 2001) وهي مركبات فاعلة كمواد ايضية في الفطريات (Al-Fatimi و اخرون، 2016) غالبيتها عديمة اللون وذات رائحة مميزة لا تذوب في الماء لكنها قابلة للذوبان بالكحول والايثر ومعظمها يتواجد بصورة سائلة والقليل منها يكون صلبا وتتأكسد بتعرضها للضوء والهواء وتتحول لراتجات وتتطاير دون تحلل وهذا يميزها عن الزيوت الثابتة (Hariharan و اخرون، 2009؛ Taofiq و اخرون، 2017). تم استخدام الزيوت الطيارة على نطاق واسع في الصناعات منها مستحضرات التجميل والعطور والتي تتركب عادةً من التربينات الاحادية (Monoterpenes) وتربينات السسكوى (Sesquiterpenes)، تحوي الزيوت العطرية مركبات طيارة، وتختفي بسرعة دون ان تترك اثرا على ورق الترشيح فضلا عن عدم تزنخها وغالبا ماتكون مرتبطة مع مواد اخرى مثل: الاصماغ، او الراتجات في حين تحوي الزيوت الثابتة على كليسيريدات (Glycerides) الاحماض الدهنية فضلا عن الاثر الذي تتركه على ورق الترشيح ان بعض الزيوت الطيارة المستخرجة من الفطريات قد يكون لها نشاط مضاد للاكسدة والتي يمكن ان تخفف من المضاعفات المرتبطة بالسمنة بما فيها تصلب الشرايين وبعض انواع السرطان (Al-Fatimi و اخرون، 2016؛ Rajesh و Tamilselvan، 2019).

تستعمل الزيوت الطيارة على نطاق واسع في ميدان الطب اذ تمتلك فعاليةً مضادةً للفطريات ولها دور علاجي فقد تكون كمنظمات لحركة الامعاء وازالة التقلصات المعوية التي تسبب المغص وتأثيرها على الرحم، وعلاج اضطرابات الدورة الشهرية، وبعض هذه المركبات تفيد في علاج السعال ونزلات البرد ويستعمل في زيادة افرازات البول (Ligia و Zuzarte، 2015؛ Dhifi و اخرون، 2016).

تتكون الزيوت الطيارة من خليط معقد قد تحوي اكثر من 300 مركبٍ مختلف، وتنتمي هذه المركبات الى فئات كيميائية مختلفة مثل: الكحولات والايثرات او اكاسيد والدهايدات وكيونات واسترات وامينات واميدات وفينولات وبشكل رئيس فانها تنتمي الى التربينات (Ligia و Zuzarte، 2015).

ومن الزيوت المتطايرة التي تنتجها الفطريات وخاصة الكبيرة مركب Oct-1-en-3-OI اذ يستخلص من الفطر *Agaricus bisporus* فيعطي الرائحة المميزة للفطر، ويستخلص من الكثير من الفطريات الكبيرة، وتمكن بعض الباحثين من استخلاص بعض مركبات الكبريت المتطايرة من الكما، وخاصة المركب 2,4-Diterpentene والذي يعد اهم المركبات الاروماتية المتطايرة في الكما الابيض *Terfezia*. (نخيلان، 2012).

## 1-6-2 تقسم الزيوت الطيارة الى قسمين اساسيين:

### اولا: اوليوبيتين Oleoptene

ويمثل الجزء السائل من الزيت الطيار، اذ يشكل الجزء الاكبر من الزيت الطيار، ويتكون من مركبات هيدروكاربونية التربينية وتتكون المركبات الهيدروكاربونية هذه من وحدات الايسوبرين، وكل وحدة تتركب من 5 ذرات كاربون، ورمزها الكيميائي  $C_5H_8$ ، وتندمج وحدات الايسوبرين مع بعضها عند تكوين الزيت الطيار (ناصر الدين، 2015).

### ثانيا: ستيروبتين Steroptene

يمثل المواد الاوكسجينية الموجودة في الزيت الطيار ومنها: الكحولات والاسترات والالدهايدات والفينولات والكيتونات الاوكسيدات والبيروكسيدات والمواد الكبريتية ويمثل مجموعة من المواد الصلبة المنتشرة بالجزء السائل للزيت وتتكون من مركبات مؤكسدة مشتقة من الهيدروكاربونات المكونة للجزء الصلب (الاطرقي واخرون، 2019).

على الرغم من اختلاف الزيوت العطرية في التركيب الكيميائي فيما بينها الا ان هذا لا يمنع ان تشترك في معظم صفاتها الطبيعية منها: الرائحة اذ تمتاز الزيوت العطرية برائحتها العطرية المميزة، ولكل زيت رائحته الخاصة والمميزة واللون اذ تكون عديمة اللون قبل تحللها او تاكسدها ولكن بعضها له لون حسب نوع المادة المستخلصة منها قد تكون: احمر شفاف او اصفر فاتحا ويترسب البعض منها بالتبريد تاركا جزءا سائلا (Dubai و Kholaidi، 2005).

## 2-6-2 اهم الزيوت الطيارة:

### اولا: Linalool

من التربينات الاحادية (Monoterpene)، ويوجد في العديد من الفطريات وخاصة فطر *Ganoderma* ورائحته تشبه رائحة الزهور مع قليل من رائحة التوابل ويستخدم في مكافحة الحشرات كالصرصر والبراغيث ويعد مركبا فعالا ضد البكتريا والفطريات ويستخدم لاعطاء رائحة في 60-80% من منتجات التعقيم وعناصر التنظيف ويحدث اللينالول تأثيرا تازريا مع فرمون عثة التطعيم المسمى Coldlemone (Taofiq واخرون، 2017).

### ثانيا: Alpa-pinene

مركب عضوي من المجاميع التربينية، يوجد في فطر الـ *Ganoderma*، ويستخدم كمضاد بكتيري وكمضاد اكسدة (Mahizan واخرون، 2019).

### ثالثا: Sabine

وهو من التربينات الاحادية، يوجد في العديد من الفطريات منها *Ganoderma*، ويعمل كمضاد اكسدة (Hayati واخرون، 2020).

### رابعا: Limonene

مركب هيدروكاربوني عديم اللون سائل، يوجد في العديد من الفطريات منه *G. applanatum*، يدخل في مختلف الصناعات منها صناعة الادوية يُضاف لاختفاء المذاق المر لبعض المركبات القلويدية، ويدخل كنكهة في صناعة الاغذية، ويستخدم للتخفيف من الحصوات المرارية، وحرقة المعدة، وفي المستحضرات التجميلية (Sun، 2007؛ Hakkim واخرون، 2016).

### خامسا: Myrcine

من التربينات الاحادية: وهو مركب هيدروكاربوني وعنصر هام من عناصر الزيوت الاساسية للعديد من الفطريات كفطر *Ganoderma* (Hartsel واخرون، 2016).

## سادسا: Camphor

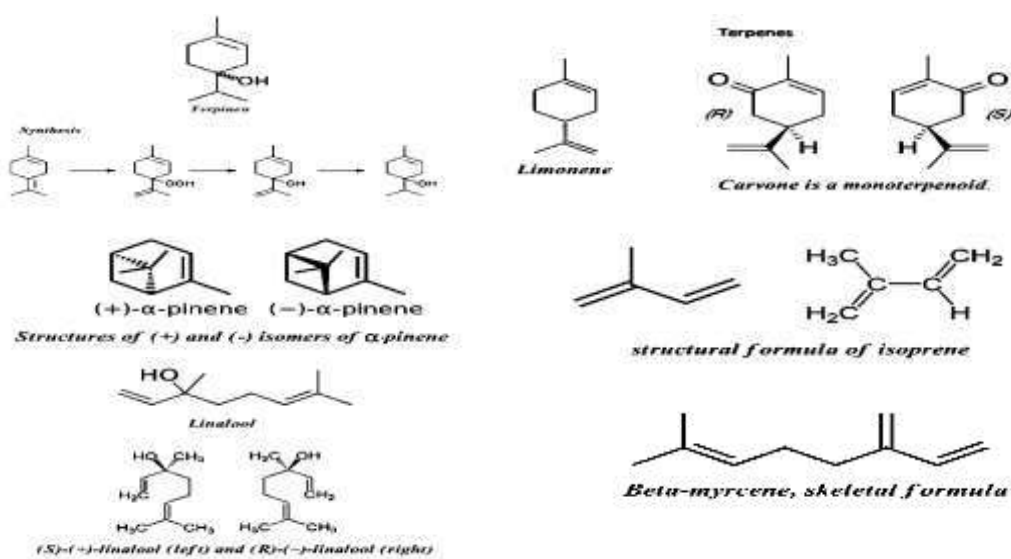
مادة تريبنية شفافة شمعية بيضاء صلبة ذات رائحة عطرية قوية وتستخدم كمكون في الطبخ لرائحتها المميزة خاصة في الهند وتستخدم في الاغراض الطبية كسائل للتحنيط (Kumar و Ando، 2007).

## سابعا: Terpinen

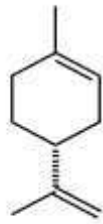
من التربينات الاحادية وهو: مركب ايزوميري وهذه الايزوميرات متماثلة من حيث الصيغة الكيميائية لكنها تختلف بوضع الاواصر المزدوجة الكربونية - الكربونية تستخدم لاضفاء رائحة لطيفة على السوائل الصناعية لما لها من خصائص عطرية ومنكهة (Hartsel واخرون، 2016).

## ثامنا: Cineole

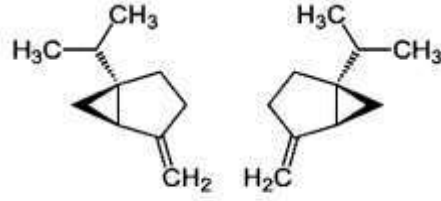
مركب عضوي طبيعي تريبي عديم اللون سائل، يوجد في الزيت العطري، و يستخدم كمضاد حشري، و بكتيري، و يستخدم في الاغراض الطبية، والدوائية، وفي علاج الالتهابات الجلدية، والتنفسية، و يستخدم كغسول للفم، ومادة منكهة، وعطرية وفي العديد من الصناعات الدوائية (et al., 2016). (Hakim واخرون، 2016). والشكل 2-3 يوضح بعض التراكيب الكيميائية للزيوت الطيارة



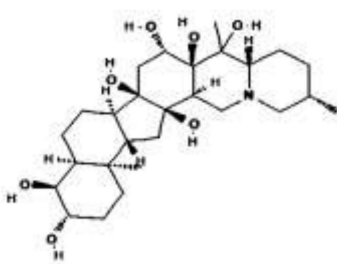
شكل 2-3 التراكيب الكيميائية لبعض الزيوت الطيارة (Harborne، 1973)



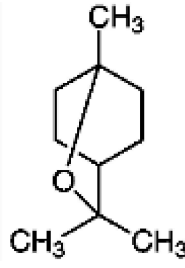
Limonene extracted from orange peels.



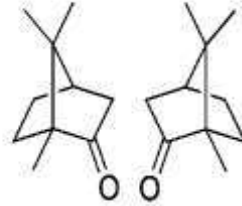
*R,5R*-(+)-Sabinen (links) und *1S,5S*-(-)-Sabinen (rechts)



Structural formula of sabinine



Cine



Structural formula of (R) and (S)-camphor

شكل 2-3 التراكيب الكيميائية لبعض الزيوت الطيارة (Harborne، 1973)

## 7-2 الزيوت الثابتة Fixed oil:

هي عبارة عن استرات الاحماض الدهنية مرتبطة مع الكليسرول او الكحول وتمتاز بأنها لا تتبخر ولا تتطاير بعكس الزيوت العطرية وهي مواد سائلة او نصف صلبة كما انها ذات رائحة مميزة وطعم دهني مقبول وتمتاز بذوبانها في المذيبات العضوية كالاثير والكلوروفورم وعند تعرضها للهواء لا تتبخر بل تتأكسد فتصبح رائحتها غير مرغوبة، وطعمها مر وتتصوبن بسرعة بالحرارة العالية الى كليسيرول واحماض دهنية وتتنزخ عند تعرضها للضوء والرطوبة فيتغير لونها، ورائحتها، وهي غير قابلة للذوبان في الماء، ولكنها تذوب في مذيبات عضوية مختلفة، والزيوت الثابتة تنتج في عدد من الفطريات منها انواع جنس *Ganoderma*، وتعتمد جودتها على نوع الحامض الدهني الذي يدخل في تركيبها واغلب احماضها الدهنية تكون غير مشبعة (Wang واخرون، 2018؛ Mahizan واخرون، 2019).

تستخدم الزيوت الثابتة مصدر لعلاج بعض الامراض كضيق التنفس والربو والسعال العصبي اذ تقوم بطرد اعراض البرد والزكام واوجاع الصدر وامراض القلب والدورة الدموية والام الروماتيزم وتعالج الامراض الجلدية من خلال التدليك وتستعمل لعلاج الامراض السرطانية وفي

تقوية الجهاز المناعي للجسم وتستهمل كمضاد بكتيري (Hartsel وآخرون، 2016؛ Khalid، 2017).

### وتصنف الزيوت الثابتة الى:

الزيوت الجافة (Drying oils): وهي زيوت تمتص الاوكسجين عند تعرضها للهواء وتكون اوكسيدات وتتبلر فتكون طبقة مرنة الا انها مقاومة للماء وهي زيوت غنية بالاحماض الدهنية غير المشبعة مثل حامض اللينوليك مع عدد قليل من مركبات حامض الاولييك وتستخدم في صناعة الدهانات وتصنيع المطاط الصناعي وصناعة الورنيش.

الزيوت شبه الجافة (Semidrying oils): تتميز هذه الزيوت بامتصاصها الاوكسجين بقدرة اقل من الزيوت الجافة اذ تحتوي على روابط غير مشبعة او مزدوجة وهي وسط بين الزيوت الجافة وغير الجافة.

والزيوت غير الجافة (Nondrying oils): وهي زيوت لا تمتص الاوكسجين اذ انها غير قادرة على تشكيل طبقة مرنة عند التعرض لفترة طويلة للهواء (Mark، 2007).

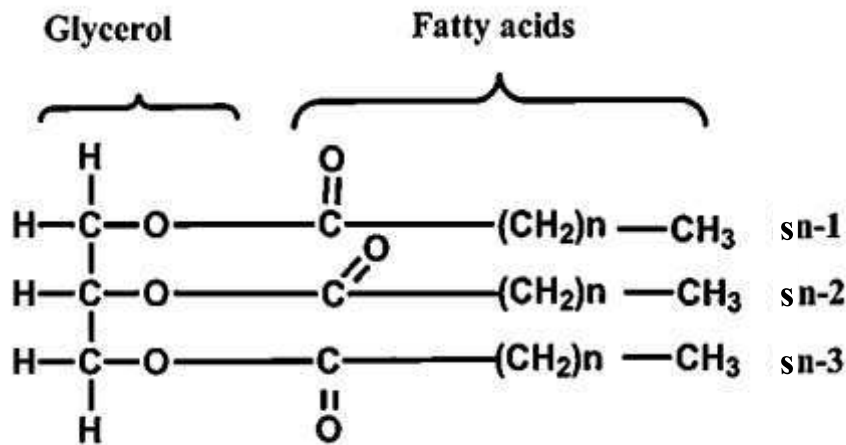
### 2-7-1 الاحماض الدهنية Fatty acids

مصادر بديلة لانتاج الدهون وهناك الكثير من انواع الفطريات التي تعود لمجاميع مختلفة لها القابلية على انتاج الاحماض الدهنية ولكن استعمالها تجاريا ما زال محدودا. وهي متكونة من سلسلة هيدروكاربونية طويلة منتهية بمجموعة كربوكسيلية (اما مشبعة او غير مشبعة)، اي انها احماض كربوكسيلية متكونة من سلسلة اليفاتية طويلة اساسية غير متفرعة، وهي الوحدات الاساسية التي يصنع منها الدهون وتمثل واحدة من الجزيئات البسيطة المشاركة في بناء العديد من الدهون اذ توجد بصورة حرة بكميات قليلة جدا ويتم تحضير الاحماض الدهنية صناعيا بتحلل روابط الاستر في الدهون او الزيوت الطبيعية التي تكون عبارة عن غليسريدات ثلاثية فينتج الغليسرين كنواتج ثانوي ويمكن ان تستخلص العديد من الاحماض الدهنية من الفطريات البازيدية وبالاخص انواع جنس الجانودرما اذ تتكون الاحماض الدهنية الموجودة بشكل ثلاثي الكليسرين (Triacylglycerol)، (TAG) وترتبط به ثلاثة احماض

دهنية مختلفة في الغالب، وبمواقع مختلفة على جزيء الكليسيرول وتسمى sn-1 و sn-2 و sn-3 كما في الشكل 4-2 (Khalid، 2017).

تختلف الخصائص في نقطة الانصهار والهضم باختلاف مواقع الاحماض الدهنية على جزيء الكليسيرول وتتراوح الاحماض الدهنية في الطول من (2-80) ذرة كاربون مثل: حامض بيوتاريك (Butyric acid) من 4 ذرات كاربون او حامض بروبايونيك (Propionic) من 3 ذرات كاربون فتتشكل الاحماض الدهنية قصيرة السلسلة (Jose واخرون، 2017).

ان تحويل الاحماض غير المشبعة الى مشبعة والزيوت السائلة الى صلبة والاقل ثباتا الى الاعلى ثباتا وتصبح صلبة ويزيد ثباتها بدرجة الزيوت اي اشباع الروابط او الاواصر التي تحتويها الاحماض الدهنية غير المشبعة باضافة الهيدروجين اليها، وللتأكد من ثبات الزيوت تجري فحوصات الرقم الايودي، ورقم التصوبن ورقم الحامض (William، 2011).



شكل 4-2 التركيب الكيميائي لثلاثي الكليسيرين (Triacylglycerol) وارتباط

الاحماض الدهنية به في الموقع ( sn-1 و sn-2 و sn-3 )، (Arthur، 1972).

وتكون الاحماض الدهنية عادة بالشكلين التاليين:

اولا: احماض دهنية مشبعة Saturated fatty acids

وتكون جميع ذرات الكاربون مشبعة بالهيدروجين، وصيغتها

الجزيئية  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_n\text{COOH}$ ، اذ ترمز n الى عدد المثلين وتختلف من حامض لآخر فقد

تكون صفر كما في حامض الخليك، او 18 كما في حامض الستياريك (Stearic acid)، او 86 في حامض المايوكولك (Mycolic).

### ثانيا: احماض دهنية غير مشبعة Unsaturated fatty acids

وتتميز هذه الاحماض باحتوائها على اصرة مزدوجة بين ذرتي كاربون، اذ تزداد درجة الذوبان في المذيبات غير القطبية، وتنخفض درجة الانصهار بسبب عدم التشبع، وان وجود الاصرة المزدوجة في الاحماض الدهنية غير المشبعة يجعلها تميل لتفاعلات الاضافة، والاكسدة، وهذا يجعلها من المكونات المميزة للزيوت (المظفر، 2009)، وتقسم الى:

1. احماض دهنية غير مشبعة تحوي على اصرة مزدوجة واحدة، وصيغتها العامة  $C_nH_{2n-1}COOH$  مثل: حامض الاوليك (C18)، (Oleic acid).
  2. احماض دهنية غير مشبعة تحوي على اصرتين مزدوجتين، وصيغتها العامة  $C_nH_{2n-3}COOH$  مثل: حامض اللينوليك (Linoleic acid).
  3. احماض دهنية غير مشبعة تحوي ثلاثة اواصر مزدوجة، وصيغتها العامة  $C_nH_{2n-5}COOH$  مثل: حامض اللينولينيك (Linolenic acid).
  4. احماض دهنية غير مشبعة تحوي اربعة اواصر مزدوجة، وصيغتها العامة  $C_nH_{2n-7}COOH$  مثل: حامض الاركيدونك (Monica واخرون، 2009) ومن الضروري ان يزود به الجسم من خلال الطعام لان الجسم لا يتمكن من تصنيعة.
- 2-7-2 اهم الاحماض الدهنية:

### اولا: Butyric acid

هو حامض كاربوكسيلي صيغته البنائية  $C_4H_8O_2$  وجد في الزيوت الفطرية وفي الفطر *G.lucidum*، يُعدُّ من الاحماض قصيرة السلسلة ويكون عديم اللون ورائحة كريهة، وطعمه مثل الزبدة، قابل للذوبان في الماء بسهولة والايثانول والايثر وله اهمية في منع الاورام القولونية ويعزز الخلايا الظهارية القولونية السليمة ويرفع المناعة من الاصابة بالسكر من النوع الثاني (Abate واخرون، 2020).

### ثانيا: Undecanoic acid

حامض كاربوكسيلي صيغته البنائية  $C_{11}H_{22}O_2$ ، له رائحة غير مرغوب فيها، يستخدم لمعالجة التواء القدم، وكذلك يستعمل كمضاد فطري وجد في فطر (*G.lucidum* Obodai) واخرون، (2017).

### ثالثا: Myristic acid

حامض دهني مشبع صيغته البنائية  $C_{33}H_{66}O_2$ ، وزيادته تزيد من خطر الاصابة بامراض الدورة الدموية، والقلب (Beare-Rogers واخرون، 2001).

### رابعا: Stearic acid

حامض دهني مشبع صيغته الكيميائية  $C_{17}H_{35}COOH$  وهو مادة صلبة شمعية وهو من اشهر الاحماض الدهنية المشبعة الموجودة في الطبيعة بعد حامض البالمتيك يستعمل في صناعة مستحضرات التجميل والصابون (Lv واخرون، 2012).

### خامسا: Elaidic acid

حامض دهني غير مشبع صيغته الكيميائية  $C_{18}H_{34}O_2$ ، وهومادة صلبة عديمة اللون يزيد من نشاط بروتين CETP الذي يخفض الكوليستيرول (Salvatore واخرون، 2020).

### سادسا: Oleic acid

حامض دهني غير مشبع وصيغته الكيميائية  $C_{18}H_{34}O_2$  وهومن اكثر الاحماض الدهنيه شيوعا في الطبيعة يوجد بشكل طبيعي في العديد من الزيوت الفطرية، والحيوانية، والدهون، وهو عديم اللون والرائحة يعمل على تخفيض خطر الاصابة بسرطان الثدي وتخفيض الدم (Elkholi واخرون، 2014؛ Obadai واخرون، 2017).

### سابعا: Palmatic acid

حامض دهني مشبع صيغته الكيميائية  $C_{16}H_{32}O_2$  وهو اكثر الاحماض الدهنيه المشبعة الموجودة في الحيوانات، والفطريات، والكائنات الدقيقة، وهو مكون اساسي لزيت الفطر الجانودرما ويمكن ان يوجد في اللحوم و الزبدة والجبن ووفقا لمنظمة الصحة العالمية فان استهلاك حامض البالمتيك يزيد من خطر الاصابة بامراض الاوعية الدموية، والقلب (Lv واخرون، 2012).

### ثامنا: Arachidic acid

حامض دهني مشبع صيغته البنائية  $C_{20}H_{32}O_2$ ، يوجد في العديد من الفطريات ووجد في فطر *Ganoderma lucidum* (Salvatore واخرون، 2020).

### تاسعا: Lenolic acid

حامض كربوكسيلي دهني غير مشبع صيغته البنائية  $C_{18}H_{32}O_2$  يستعمل في صناعة المستحضرات التجميلية بسبب خصائصه المفيدة للجلد، ويعد مضادا للالتهاب وحب الشباب يوجد في العديد من الفطريات منها فطر *G. lucidum* (Abate واخرون، 2020).

### عاشرا: Hepatadecanoic acid

حامض كربوكسيلي دهني مشبع صيغته البنائية  $C_{17}H_{34}O_2$  يكون على شكل مسحوق بلوري ابيض، طويل السلسلة له دور في الاستخدامات الصناعية كصناعة الورق وتصنيع المنتجات البلاستيكية ويسمى Margaric acid (Yang واخرون، 2019).

### حادي عشر: Alpha- Linolenic acid

حامض دهني غير مشبع وهو اساسي ينتمي الى مجموعة احماض اوميغا 3 صيغته البنائية  $C_{18}H_{30}O_2$  وهو سائل شفاف عديم اللون يتركز بشكل كبير في الفطريات منها فطر الجانودرما يعمل على تقليل الالتهاب والوقاية من بعض الامراض المزمنة وله تأثير مضاد للتخثر (Lu واخرون، 2020).

### ثاني عشر: Erucic acid

حامض دهني غير مشبع ويصنف من احماض اوميغا 3 له صيغة كيميائية  $C_{22}H_{42}O_2$  مع وجود اصرة مزدوجة واحدة يستخدم في صناعة المزلقات كما يستخدم كمادة اولية في وقود الديزل (Vazirian واخرون، 2014؛ Hu واخرون، 2018).

### ثالث عشر: Tricosanoic acid

حامض دهني مشبع كربوكسيلي صيغته البنائية  $C_{23}H_{46}O_2$  صلب عديم اللون يمتلك سلسلة مستقيمة طويلة وله دور في الايض (Obadai واخرون، 2017).

#### رابع عشر: Eicosenoic acid

حامض دهني غير مشبع له الصيغة الكيميائية  $C_{20}H_{38}O_2$  مع وجود اصرة مزدوجة واحدة تقع على كاربون رقم تسعة، ويصنف من احماض اوميغا 3 (William، 2011، Taofiq؛ واخرون، 2017).

#### خامس عشر: Nervonoic acid

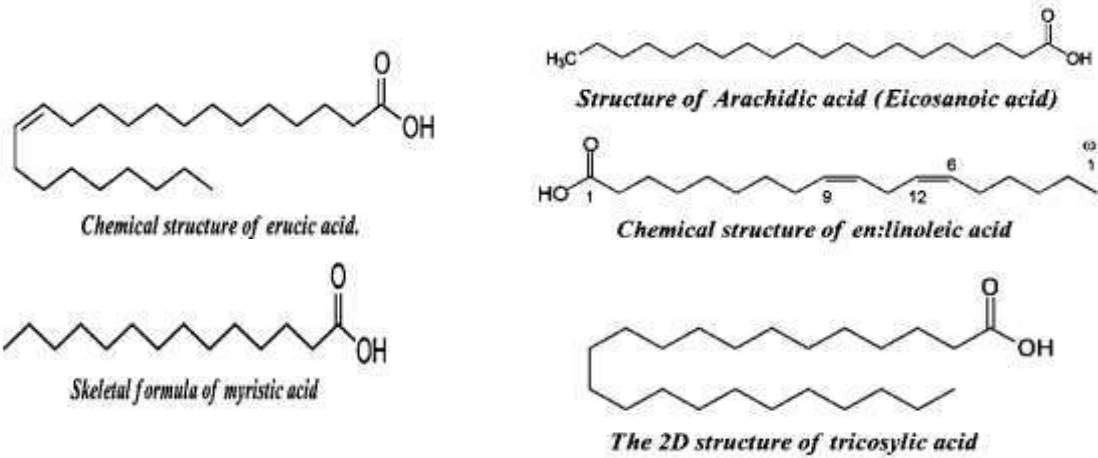
حامض دهني غير مشبع له صيغة كيميائية  $C_{24}H_{46}O_2$  مع وجود اصرة مزدوجة واحدة تقع على ذرة الكاربون رقم 9 من الطرف المثلي للسلسلة ويصنف كحامض اوميغا 9 (Vazirian واخرون، 2014).

#### سادس عشر: docosadienoic acid

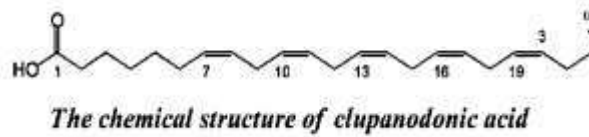
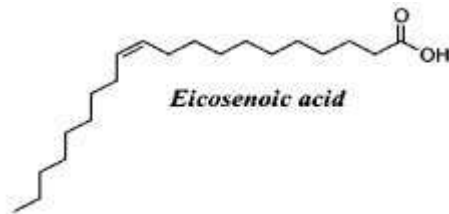
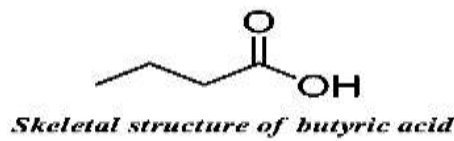
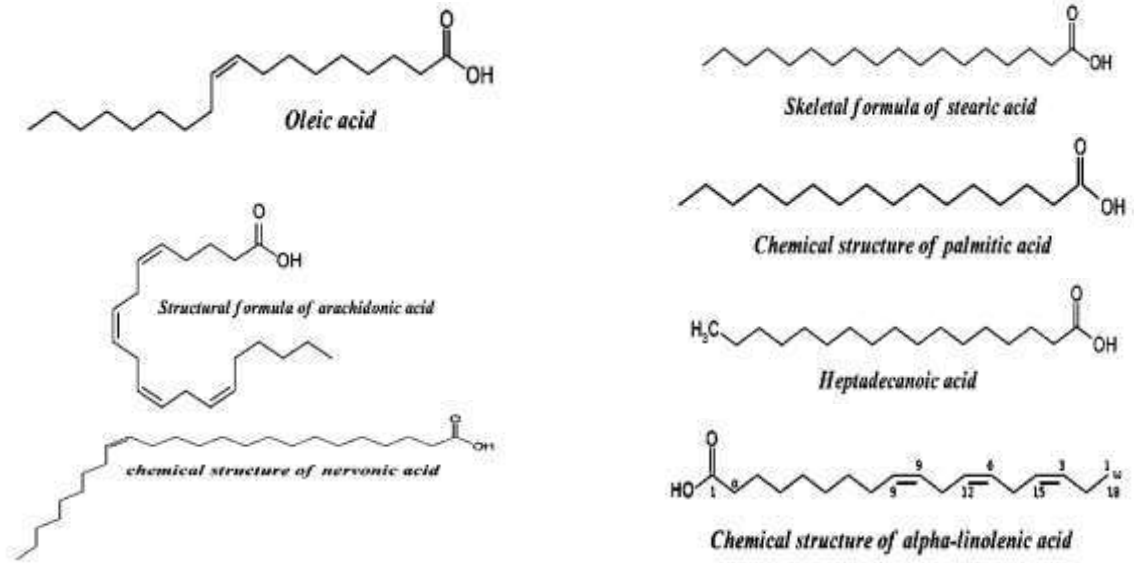
حامض دهني غير مشبع اساسي يوجد في الاسماك والفطريات منها فطر *Ganoderma* (Lu واخرون، 2020).

#### سابع عشر: Arachidonic acid

حامض دهني غير مشبع اساسي ينتمي الى اوميغا 6 صيغته الكيميائية  $C_{20}H_{32}O_2$  يتكون من تخليق حمض اللينوليك الغذائي يوجد في الفطريات وفي الدهون الحيوانية والبشرية في الكبد، والدماغ، والاعضاء الغدية (William، 2012؛ Salvatore واخرون، 2020). وكما موضح في الشكل 2-5 التراكيب الكيميائية لبعض الاحماض الدهنية.



شكل 2-5 التراكيب الكيميائية لبعض الاحماض الدهنية (Harborne، 1973)



شكل 2-5 التراكيب الكيميائية لبعض الاحماض الدهنية (Harborne، 1973)

## 8-2 المركبات الفينولية Phenolic Compounds

مركبات هيدروكسيلية تحوي مجموعة هيدروكسيل تتصل بحلقة بنزين، وصيغتها العامة Ar-OH تسمى بمشتقات الفينول باستخدام البادئ أورثو أو بارا للدلالة على موقع المجموعة من حلقة البنزين اما عند وجود حلقتين بنزين ملتصقتين تضاف لها احرف لاتينية الفا او بيتا، او كما تمتاز المركبات الفينولية بكونها قادرة على تكوين اواصر هيدروجينية وتتجاذب

مع الماء ؛ وبسبب عدد ذرات الكربون المتعددة في المركبات الفينولية، فأثما شحيحة الذوبان في الماء لكنها تذوب بسهولة في الاثير والكحول (Yang وآخرون، 2012).

وتجدر الاشارة الى تواجد المركبات الفينولية بمدى واسع في الفطريات ومنها المركبات الفينولية المعروفة الفلافينويدات، والتي تعد اكبر مجموعة فينولية والفينولات ذات الحلقات البسيطة، وبروبونات الفينيل فضلا عن الكيتونات الفينولية والاحماض الفينولية والكومارينات والتانينات وهذه جميعها موجودة باعداد واسعة (Zhao وآخرون، 2018).

الاحماض الفينولية توجد باشكال قابلة للذوبان ومرتبطة مع الاحماض العضوية او السكريات اذ تدخل في تركيب مركبات معقدة، والتانينات (Muhsin وآخرون، 2011) وتنتج المركبات الفينولية من مسار الايض لحمض الشيكيمك (Shikimic acid)، والتي تكون بين جزيئات فينولية بسيطة الى مركبات متعددة الفينولات (Modi وآخرون، 2014؛ Singh وآخرون، 2014).

تصنف المركبات الفينولية الى فينولات متعددة او فينولات بسيطة بالاعتماد على عدد وحدات الفينول في الجزيء، فاذا تكونت من وحدة فينولية واحدة فهي فينولات بسيطة اما اذا تكونت من وحدتين من جزيئة الفينول او اكثر فهي فينولات متعددة لقد اهتم الباحثون في دراسة المركبات الفينولية من خلال فصلها وتشخيصها لما لها من اهمية من الناحية الطبية والغذائية والصيدلية ومكافحة الحشرات فضلا عن قابليتها في تغيير التفاعلات الانزيمية والكيميائية (Xia وآخرون، 2014).

الفينولات تمتلك العديد من التأثيرات البيولوجية والتي تُعزى الى نشاطها المضاد للاكسدة في ازالة الجذور الحرة، وتثبيط التاكسد (Gowrie وآخرون، 2014) ومن امثلتها الكيومارينات (Coumarins) والفلافونول (Flavonols) وحامض الكافنيك (Caffeic acid)، وحامض السناميك (Cinnamic acid) فاعلها مركبات متعددة الفينولات ذات خصائص قوية كمضادات اكسدة، والتي تقوم باعطاء ذرة هيدروجين للجذور الحرة، وتثبط فعاليتها (Uddin وآخرون، 2011؛ Obodai وآخرون، 2017). ذكر Castellano، وآخرون (2012) ان مجموعة الهيدروكسيل الفينولية تُعدّ مجموعة من مضادات الاكسدة اذ تقوم بمنح ذرة الهيدروجين

فتشبت تفاعل اوكسجين الجذر الحر فضلا عن ايقافها لتوليد جذور حرة جديدة، ان عمل الفينولات يكون بشكل اساسي دفاعي كرد فعل للضغوط الفسيولوجية، والبيئية مثل هجوم الحشرات، والجروح، وكعامل حماية ضد الاشعة فوق البنفسجية UV (Quereshi واخرون، 2010؛ Brzezicha-Cirocka واخرون، 2019).

## 2-8-1 انواع الفينولات:

### 2-8-1-1 اولاً: الفينولات البسيطة Simple phenol

وهي الفينولات التي تتكون من وحدة فينولية واحدة كالثايمول والفينول ويعد الهيدروكينون اكثر وجودا من البايروكالول والكاتيكول والفلوروكوسينول والريسورسينول التي تكون بشكل اقل (Xia واخرون، 2014).

### 2-8-1-2 ثانياً: الاحماض الفينولية Phenolic acids

وهي من الفينولات الرئيسية ونادرا ما تكون بشكل حُر وبحسب عدد وموقع مجاميع الهيدروكسيل على الحلقة العطرية تتباين الاحماض الفينولية فقد تكون بشكل استرات (Esters) او اميدات (Amides) او كلايكوسيدات (Glycosides)، (Vazirian واخرون، 2014).  
تكون الاحماض الفينولية مضادات اكسدة من خلال نسبتها العالية في الفطريات خصوصا فطر *G.lucidum* اذ تقوم بتنشيط امراض الاضرار التاكسدية مثل الامراض السرطانية والسكتة الدماغية وامراض القلب التاجية (Thuy و Tuyen، 2015).  
الاحماض الفينولية تتضمن تركيبين اساسيين هما:

### اولاً: هايدروكسي حامض البنزوك Hydroxybenzoic acid

هي مركبات يوجد في تركيبها سلسلة كاربونية (C6-C1) يشمل احماض الكاليك (acid Gallic)، والهايدروبنزوك (P-hydroxybenzoic)، والفانليك (Vanillic)، والسيرينجك (Syringic)، وبروتوكاتيكوك (Protocatechic).

## ثانيا: هايدروكسي حامض السينامك Hydroxycinnamic acid

وهي عبارة عن مركبات اروماتية ذات سلسلة جانبية ثلاثية الكربون (C6-C3)، ويُعدُّ حامضا ذا نشاط مضاد للاكسدة، مقارنة مع حامض هايدروكسي بنزوك وسبب فعاليته العالية يعود لاحتوائه على مجموعة  $\text{CH}=\text{CH}(\text{COOH})$ ، والذي يحتوي على قدر كبير من الهيدروجين للتبرع به للجذر الحر، ويشمل احماض الفيروليك (Ferulic)، والكيومارك (P- coumaric)، والكافئيك (Caffeic)، والسنايك (Sinapic)، (Ahmad، 2018).

اظهر التشخيص بتقنية كروماتوغرافيا السائل - العالي الاداء احتواء المستخلص المائي، والكحولي للفطر *G.lucidum* تراكيز عالية من الفينولات المتعددة (Polyphenols) والفلافونولات (Flavonols)، والفلافينويدات (Flavonoids)، والفلافانولات (Flavanols)، (Jasmina واخرون، 2014).

### 2-8-1-3 ثالثا: الفلافونويدات Flavonoids

توجد الفلافونويدات على نطاق واسع في الفطريات منها المشروم، وفطر الـ *Ganoderma*، وهي من اكثر الفينولات شيوعا وقد اشار الباحثان Orsat و Routray (2012) بأن جميع المركبات الفلافينويدية مشتقة من الاحماض الامينية العطرية، والتايروسين (Tyrosine)، والفنيل النين (Phenylalanine)، وهيكلها يتكون من ثلاث حلقات بشكل عام. غالبا ماتكون الفلافونويدات مسؤولة مع الكاروتينات عن اللون الاحمر، والبرتقالي، والارجواني والاصفر والازرق ومن اهم انواع الفلافينويدات: الفلافون (Flavone)، والايزو-فلافونول (Iso-flavonol)، والانثوسيانين (Anthocyanin)، وكايتشين (Catechins)، وپروانثوسيانيدين (Proanthocyanidin)، وفلافونول (Flavonol)، معظم المركبات الفينولية هي مركبات لونية وتكون صفراء في الاغلب او مائلة من اللون الازرق الى الارجوني يزداد تخليق الفلافينويدات عند الاصابة بالميكروبات اذ تقوم الفلافينويدات بالدفاع من الاضرار التاكسدية، وبعضها قادر على امتصاص الاشعاع الزائد للاشعة فوق البنفسجية (Domingos UV، 2017).

لقد اثبتت الدراسة التي قام بها Slynko، وآخرون (2017) وجود الفلافونيدات في الاجسام الثمرية لانواع الفطر جانودرما منها: *G. lucidum* و *G. oregonense* و *G. resinacium* وعدة انواع اخرى.

#### 2-8-1-4 رابعا: الكومارينات Coumarins

الكومارين مركب كيميائي موجود في العديد من الفطريات اذ يتكون من مجموعة كبيرة من المواد الفينولية، والمركبة من البنزين المنصهر، وحلقات من الفا-بايرون  $\alpha$ -pyrone، واصل الكلمة فرنسي وتعني الرائحة الطيبة، لذا فهي مسؤولة عن اعطاء الروائح الطيبة، وهي مركبات كيميائية ينتجها الفطر لاغراض دفاعية ضد اعدائه بوصفها مستقلبات ثانوية من النباتات والفطريات، والبكتريا اذ يتم تكوينها من الفينيل النين (Phenylalanine) من خلال مسار حامض الشيكيميك (Du وآخرون، 2018).

والكومارينات الطبيعية عادة تكون لاكتونات غير مشبعة وتشكل فئة اخرى من مركبات C3-C6، الكومارينات فعالة ضد الالتهاب كالتهاب القولون وذات نشاط ضد حدوث تخثر الدم وتعمل كمضادات اكسدة، ومضادات سرطانية وفعالة في معالجة تصلب الشرايين ومضادات فطرية وفايروسية (Yang وآخرون، 2012؛ Sargowo وآخرون، 2017).

هناك اربعة انواع اساسية، وفرعية من الكومارينات وهي: الكومارينات البسيطة، والبايرانكومارينات (Pyranocoumarins)، والفورانوكومارينات (Furanocoumarins)، والبايرون كومارينات المستبدلة (Pyrone-substituted coumarins)، ويوجد بمستويات عالية جدا في بعض الزيوت الطيارة (Wu وآخرون، 2017).

كما اشار Slynko، وآخرون (2017) الى وجود الكومارينات في العرايين على وجه

الخصوص في الفطر *G. lucidum*.

#### 2-8-1-5 خامسا: التانينات Tannins

هي مركبات فينولية متعددة ذات وزن جزيئي عالٍ جدا يتراوح بين 500-3000 كيلو دالتون، وتكون بلون اصفر او بني فاتح وسميت التانينات بالمواد القابضة لاثرها الطبي في ايقاف الاسهال توجد التانينات في العرايين كما في فطر *Ganoderma* اذ يكون عملها دفاعي من

الكائنات الحية الدقيقة، وتعد من مضادات الاكسدة المهمة، ولها أنشطة فسيولوجية متنوعة وتستخدم في صناعة الادوية والاصباغ والدباغة والتصوير الفوتوغرافي وتعمل كمضادات للاغذية اذ تقلل من امتصاص بعض المواد في الجسم، فمثلا: تتسبب بحدوث فقر الدم وهشاشة العظام في الجسم اذ يعمل الى انقاص الكالسيوم والحديد (Wu وآخرون، 2013).

## 2-8-1-5-1 أنواع التانينات

قسمت التانينات الى نوعين رئيسين وهما (Miller & Sellers., 2004)

### اولا: التانينات المتحللة **Hydrolysable**

وهي خليط من الفينولات البسيطة، وحامض الكاليك والاسترات والكلوكوز وان اكثر استعمالها في المجالات الطبية ومن الممكن استعمالها كبدايل للفينولات في اصماغ الفورمالديهايد.

### ثانيا: التانينات المتكثفة **Condensed tannins**

يشكل هذا النوع من التانين 90% من الانتاج العالمي للتانين وتتميز هذه التانينات بوجود وحدات الفلافونويد التي تكون مسؤولة عن كثافة التانين ونوعه الموجود ومن اهم الدول التي تقوم بانتاجه جنوب افريقيا والارجنتين وفنلدة واستراليا وامريكا الشمالية ونيوزلندا والبرازيل.

## 2-8-2 اهم المركبات الفينولية

### اولا: **Catchin**

مركب فلافينويدي، وصيغته الجزيئية  $C_{15}H_{14}O_6$ ، يحتوي على خمس مجاميع هيدروكسيلية، استخدم في علاج امراض القلب والسرطان وهومن مضادات الاكسدة الفعالة اذ يساعد في الوقاية من الامراض الالتهابية والشرىانية (Lee وآخرون، 2017).

### ثانيا: **Gallic acid**

حامض فينولي حلقي وصيغته الجزيئية  $C_7H_6O_5$  يحوي اربع مجاميع هيدروكسيلية ويمتلك خواصا مضادة للاكسدة ويوجد في عدد من فطريات العرايين منها: *G.lucidum* (Chiocchetti وآخرون، 2020).

### ثالثا: Apigenin

من المركبات الفلافونويدية وصيغته الجزيئية  $C_{15}H_{10}O_5$ ، يكون بشكل حلقة سداسية ترتبط فيه ثلاث مجاميع من الهيدروكسيل، ويكون بشكل مادة صلبة بلورية، يستخدم لعلاج عدد من الامراض مثل: امراض القلب، والاعوية الدموية، وبعض انواع السرطان كونه من مضادات اكسدة، يستعمل كذلك في علاج الزهايمر، ويقلل من الاصابة بالفايروسات، والبكتريا، والفطريات (Qu و اخرون، 2017).

### رابعا: Rutin

من المركبات الفينولية، وصيغته الجزيئية  $C_{27}H_{30}O_{16}$  يوجد في عدد من الفطريات منها: *G.lucidum* له خصائص مضادة للاكسدة والسرطان، ومهدئ للاعصاب وموسع للاوعية الدموية ويعمل كمخفض لمستوى السكر في الدم (Al-Dhabi و اخرون، 2015؛ Boonsong و اخرون، 2016).

### خامسا: Quercetin

مركب حلقي فلافينويدية يحوي خمس مجاميع هيدروكسيلية وصيغته الجزيئية  $C_{15}H_{10}O_7$ ، وهو مادة لونية متعددة الفينولات تعد من مضادات الاكسدة، ومثبطا لعدد من الانزيمات، ومحفزا لبعض المسارات الحيوية، وتدخل في صناعة العديد من الادوية مثل: Estrogen , Cisplatin , Digoxin ,Fellodipine (الحرباوي، 2019).

### سادسا: Keampferol

مركب فلافينويدية حلقي يحوي اربع مجاميع هيدروكسيلية بشكل مادة صلبة بلورية صفراء، وصيغته الجزيئية  $C_{15}H_{10}O$  يوجد في *G.lucidum* يعد فعّالا ضد البكتريا والالتهاب ومضاد للاكسدة من خلال الحد من الاجهاد التاكسدي فضلا عن فعاليته المضادة للسرطان (Wani و اخرون، 2010).

## سابعا: Coumarine

مركب فلافينويدي، وجد في فطريات العرھون *G.lucidum*، وهو الاكثر انتشارا في الطبيعة له اهمية كبيرة بسبب خصائصه الدوائية، وله نشاط فسيولوجي، ومضاد للاورام، والجراثيم، وللتهاب، وكمحفز للمناعة (Jakubczyk و Dussart، 2020).

## ثامنا: Vanillic acid

مركب فينولي متعدد يوجد في فطر الـ *Ganoderma* له دور في الامراض المزمنة وكمضاد للاكسدة وفي الاغراض الصناعية العديدة، ويتم انتاجه باستخدام التكنولوجيا الحيوية (Su واخرون، 2001).

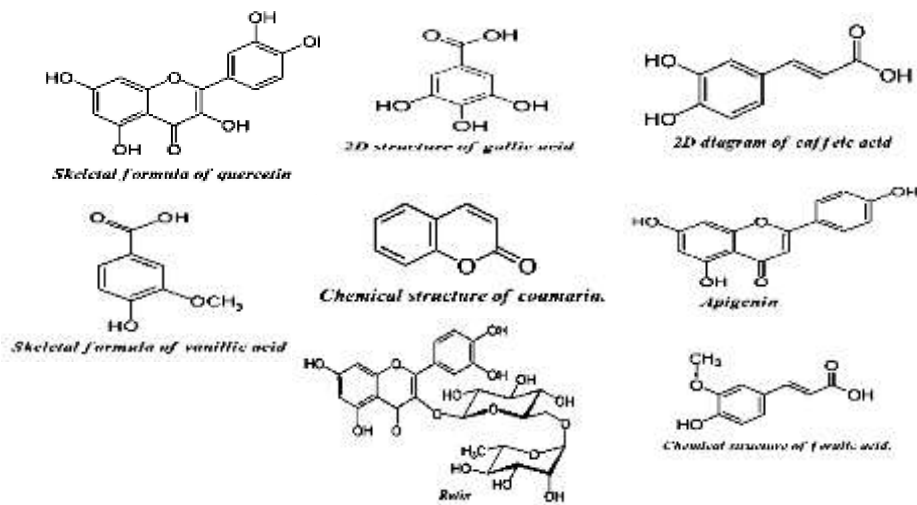
## تاسعا: Caffeic acid

مركب فينولي له دور كمضاد اكسدة ومضاد للتهاب ومضاد للسرطان خاصة سرطان الكبد (Espindola واخرون، 2019).

## عاشرا: Ferulic acid

مركب فينولي يعمل كمضاد اكسدة غذائي وله نشاط بيولوجي وله تأثيرات ضد السرطان والسكري والامراض التنكسية العصبية ويستخدم للاغراض الصناعية في صناعة الاغذية ومستحضرات التجميل وتحويله الحيوي الى جزيئات ذات قيمة تجارية (Lu واخرون، 2020).

والشكل 2-6 يوضح بعض التراكيب الكيميائية للمركبات الفينولية



شكل 2-6 التراكيب الكيميائية لبعض المركبات الفينولية (Harbarne، 1973).

## 2-9 الفعالية المضادة للبكتريا المرضية

لقد رافق التطور في قابلية البكتريا المرضية على مقاومة المضادات الحيوية (التي كان يعتقد انها الحل الامثل لمشاكل البكتريا الممرضة للانسان)، وظهور سلالات مقاومة نتيجة الاستعمال المفرط لهذه المضادات، واختلاف تراكيبيها، وقد نصّب اهتمام كبير وجهد متزايد في ايجاد وسائل بديلة لتثبيط نموها، وايقاف تكاثرها الذي يحدث باسرع ما يمكن (Sargowo واخرون، 2017).

تمتلك مركبات الايض الثانوي المستخلصة من الاجسام الثمرية للفطريات الكبيرة التابعة لصنف الفطريات البازيدية على وجه الخصوص كالفينولات والاحماض الدهنية والسكريات المتعددة العديد من التأثيرات المضادة للبكتريا المرضية التي تعمل على تثبيط نموها والحد من انتشار الامراض البكتيرية، وهذه الحالة يمكن ملاحظتها واثبات فعاليتها في المزارع الصناعية، والتي تتمثل بظهور هالة فاتحة اللون حول المستعمرات البكتيرية والتي تدل على خلو المنطقة من النمو بتأثير مركبات الايض في رواشح الفطريات (Huang و Sohretoglu ، 2019).

وفي سياق هذا الموضوع نجد الكثير من الادلة العلمية التطبيقية المؤكدة التي حظيت بدراسات مستفيضة حول تأثير مركبات الايض المستخلصة من الاجسام الثمرية للفطريات الكبيرة في تثبيط نمو وقتل البكتريا الممرضة للانسان ، ومن المشاهدات المهمة ما اشار اليه Quereshi واخرون (2010) حول تأثير كل من المستخلصات الاسيتوني والميثانولي والماء الحار على الانواع البكتيرية *Pseudomonas aeruginosa* و *Escherichia coli* و *Klebsiella pneumoniae* و *Bacillus subtilis* و *Staphylococcus typhi* اذ كان المستخلص الاسيتوني الاكثر تأثيرا ضد الكلبسيلا الرئوية ومن ثم اظهر تأثيرا متساويا ضد الانواع البكتيرية الاخرى وكان المستخلص الميثانولي *G.lucidum* مثبطا لجميع السلالات البكتيرية، وظهر تأثيرا مضادا للبكتريا، وفي ضوء دراسة اجراها الباحث Smania واخرون (2007) بين النشاط المضاد للبكتريا العالي في المستخلص الميثانولي ضد *P.aeruginosa* و *E. coli* و *K. pneumoniae* و *S. Aureus* وضد انواع *Bacillus* اذ سجل هالة تثبيط عالية.

## 2-10 الفعالية المضادة للاكسدة:

حظيت السنوات القليلة الماضية زيادةً في الاهتمام بالجذور الحرة، وعلاقتها بالاصابة ببعض الامراض ، وظهرت الكثير من الاقتراحات مفادها انّ عملية التقدم في السن، وتأثير بعض السموم الناتجة عن العوامل البيئية، والعديد من مسببات الامراض، فتلعب الجذور الحرة كوسيط، ومنتشط لحدوثها (Sargowo واخرون، 2017).

تعرف الجذور الحرة Free Radicals بأنها عبارة عن جزيئات او ذرات تحتوي على الكترون او عدة الكترونات في محيطها الخارجي في صورة نشطة تسبب لها حالة من عدم الاتزان فتحاول الاستيلاء على هذا الالكترون او الالكترونات من مركبات اخرى لتستعيد توازنها في عملية تسمى بالاكسدة Oxidation. ويعد الاوكسجين المصدر الرئيس للجذور الحرة في الجسم اذ تتكون بشكل مستمر عن طريق التفاعلات المختلفة والتي تشمل تفاعلات انزيمية، وتفاعلات غير انزيمية، تؤدي الى اضرار في الجسم منها اكسدة دهون الجسم مما يؤدي الى الاصابة بمرض تصلب الشرايين فضلا عن مهاجمة الحامض النووي مما يسبب موت الخلية او تحولها الى خلايا سرطانية (Wang واخرون، 2018).

الجذور الحرة غالبا تكون مشتقات اوكسجينية (Reactive Oxygen Species) (ROS) او مشتقات لذرات اخرى كالأزوت الالكسجينية (Radical Nitrogen species) (RNS) فضلا عن وجود انواع اخرى تشتق من الاوكسجين مثل الاوكسجين المنفرد  $O_2$  وثاني اوكسيد الهيدروجين  $H_2O_2$  وثاني اكسيد الازوت (ONOOH) وهذه الانواع الاخيرة لا تعد جذورا حرة ؛ لكنها تشكل بواذر لتكوين الجذور الحرة (Celal، 2019).

### مضادات الاكسدة: Antioxidants

يمكن وصفها بانها المركبات التي يمكنها التخلي عن الالكترونات حتى تعادل المواد المؤكسدة او الجذور الحرة المتكونة في الجسم وتمتاز بقدرتها على معالجة الاجزاء المصابة بالجذور الحرة، وتقوم باصلاح، واعادة الجزيئات التي تعرضت للضرر من الدهون، والبروتينات والاحماض النووية بواسطة انزيمات المعالجة الداخلية ومنها انزيم الليبيز (Lipase) والبروتياز

(Protease) والكاتليز (Catalase) والبيروكسيداز (Peroxidase)، كما تقوم بمهاجمة الجزيئات الكبيرة المتكونة بفعل الجذور الحرة وتمنع استمرار التفاعل في حين تعمل مضادات الاكسدة الخارجية اللانزيمية مثل: الاملاح المعدنية والفيتامينات ومنها: Vitamin C على تقوية الاجهزة الدفاعية في الجسم، والقضاء على الجذور الحرة، وتثبيط عملية تكوينها من بداية السلسلة الكيميائية، وحماية الخلايا من عملية الاكسدة (Tseng وآخرون، 2008؛ Chien وآخرون، 2011).

وهناك الكثير من الاختبارات التي تستعمل لتحديد الفعالية المضادة للاكسدة، ومنها الاكثر استعمالا اختبار  $\beta$ -carotene ، Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) ، 2,2-Diphenyl 1-1-picrylhyrazyl (DPPH) ، وجميعها لها القابلية على قنص الجذور الحرة.

اظهر استعراض المراجع العلمية أنّ العديد من من نواتج الايض الثانوي الفطري للفطريات الكبيرة تمتلك أنشطة مضادة للاكسدة ففي دراسة اجراها Chen ، وآخرون (2009) اظهرت مستخلصات الايثانول لسلاسل مختارة من *G.lucidum* امكانات عالية للعمل كمضادات اكسدة مماثلة او اعلى من العديد من المستخلصات التي سبق دراستها وفي بحث نشر عام 2014 سجل الباحث Jasmina وآخرون الامكانات الكبيرة لفطر *G.lucidum* كمضاد للاكسدة فقد اظهر المستخلص الميثانولي للجسم الثمري تأثيرا كبيرا في انشطتها المضادة للاكسدة.

## 2-11 الفعالية المضادة لخطوط الخلايا السرطانية

وفقا لتعريف منظمة الصحة العالمية ينتج مرض السرطان وهو ثاني مسببات الوفاة على مستوى العالم عن تحول الخلايا العادية الى خلايا ورمية في عملية متعددة المراحل تتطور عموما من افة محتملة التسرطن الى اورام خبيثة وهذه التغيرات ناجمة عن التفاعل بين عوامل الفرد الجينية، وعوامل خارجية محفزة وتشير ارقام منظمة الصحة العالمية الى ان مرض السرطان يتسبب في وفاة 17 شخصا في الدقيقة الواحدة، وانه يحصد سنويا ارواح ما يقارب 8.8 ملايين شخص معظمهم من بلدان منخفضة الدخل واخرى متوسطة الدخل (WHO، 2011).

أكثر أنواع السرطان شيوعاً في العالم سرطان الثدي، وسرطان عنق الرحم لدى النساء وسرطان الرئة والكبد والجلد والمعدة والبروستات لدى الرجال فضلاً عن سرطان الدم والدماغ وهما الأكثر شيوعاً لدى الأطفال (WHO، 2014). أبرز العقبات أمام التعامل الإيجابي مع المرض هو التأخر في تشخيصه حتى في البلدان التي تمتلك نظاماً وخدمات طبية متقدمة مما يقلل من فرص المريض في الشفاء. وهناك دراسات مستفيضة لإيجاد أدوية لعلاج السرطان بأنواعه المختلفة التي تصيب الإنسان.

نجح العلماء مؤخراً باستخراج دواء من الفطريات أطلق عليه تسمية Taxol من الفطر *Taxomyces andreanae* والذي أثبت فعاليته ضد سرطان الثدي، والمبايض، وقد بيع من الدواء في سنة 2000 ما قيمته مليار دولار. وتبين من استعراض المراجع العلمية في الورقة البحثية التي نشرت من قبل Kumar وآخرون 2013 أنّ الفطر *Fusarium oxysporum* الذي تم عزله من نبات *Catharanthus roseus* يمتلك قابلية كبيرة على إنتاج عقار vinblastine المضاد للورام. كما ورد في البحث المنشور سنة 2020 من قبل Cheng، وآخرون أنّ المستخلص المائي الحار للجسم الثمري للفطر البازيدي *G.lucidum* يمتلك فعالية مضادة للسرطان على خطوط الخلايا السرطانية الورمية الدبقية في الدماغ (Glioblastoma cell). كما بين الباحث Harhaji، وآخرون (2009) الخصائص المضادة للسرطان للمستخلص الميثانولي للجسم الثمري *G.lucidum* على جسم الكائن الحي (Sohretoglu و Huang، 2019).

# **الفصل الثالث**

## **المواد وطرائق العمل**

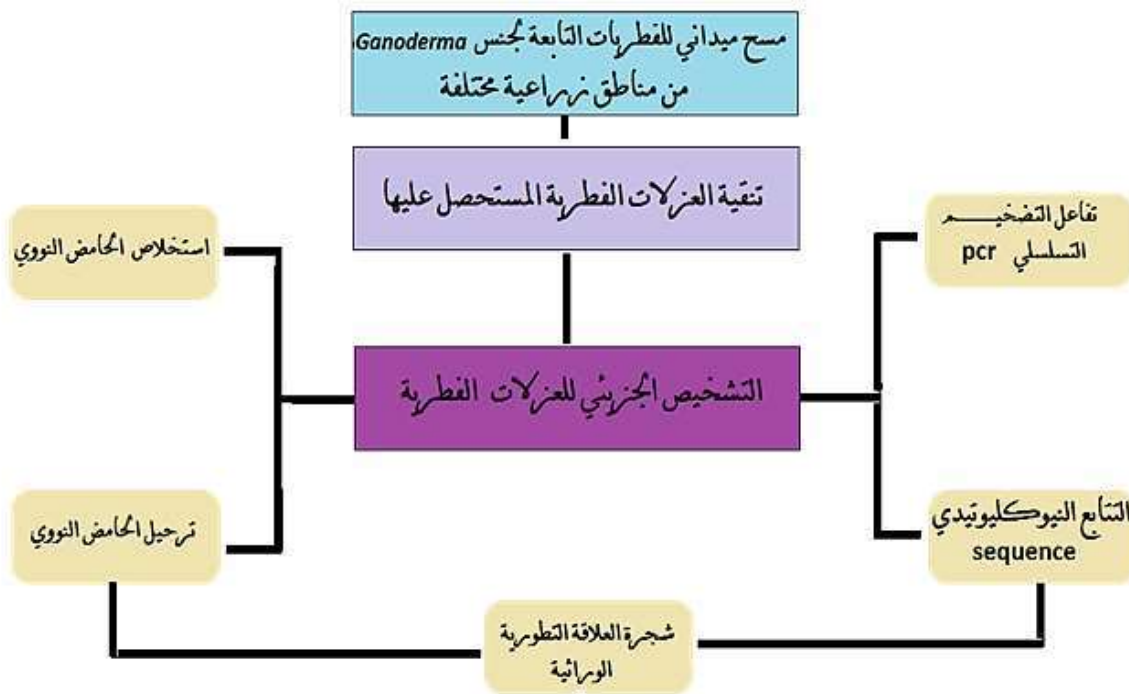
## الفصل الثالث

### 3- المواد وطرائق العمل

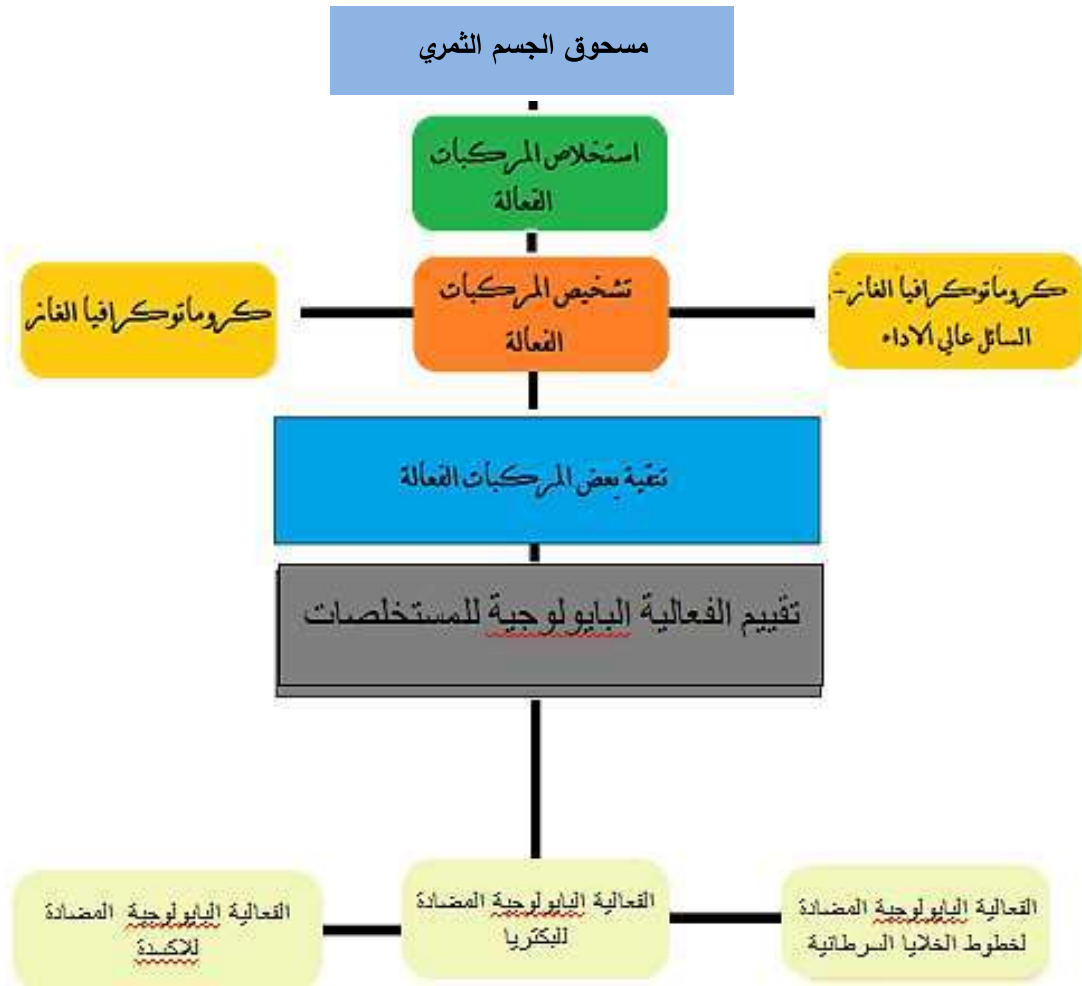
جرت الدراسة في جامعة الموصل/ كلية التربية للعلوم الصرفة/ وحدة البحوث التابعة لقسم علوم الحياة ؛ ولعدم توفر الامكانيات المخبرية فقد اجري استخلاص الحامض النووي في مختبر Lab RNA قرب جامعة الموصل، اما تجارب السمية، والفعالية البايولوجية ضد خط الخلايا الخلوية لسرطان الكبد فانجزت في مركز بحوث التقانات الاحيائية في جامعة النهريين، واكملت في جامعة ملايا/ ماليزيا، مركز التحري عن العلاجات الجديدة في قسم الصيدلية في كلية الطب. و في مجال تشخيص المركبات الفعالة فقد كان التوجه الاكثر مصداقية للمختبرات التابعة لوزارة العلوم والتكنولوجيا / دائرة البيئة والمياه / بغداد والتي استثمرت بشكل اساسي.

1-3 خطة البحث والمعدات، والاجهزة المخبرية، والمواد الكيماوية المستخدمة

1-1-3 خطة البحث:



شكل 1-3 مخطط تفصيلي لمسار خطة البحث (أ)



شكل 3-1 مخطط تفصيلي لمسار خطة البحث (ب)

### 3-1-2 المعدات والاجهزة المختبرية المستعملة:

الجدول 3-1 المعدات والاجهزة المختبرية المستعملة قيد الدراسة والشركة المصنعة لها:

الشركة المصنعة	بلد المنشأ	اسم الجهاز
Lab Tech	Korea	المؤسدة Autoclave
Met	Switzerland	ميزان حساس Sensitive balance
Leitz	Germany	مجهر ضوئي مركب Compound light microscope
Heraens	Germany	الطرد المركزي Centrifuge
Techne	UK	كابينة تلقیح Inoculation Chamber
Heidolph	Germany	مازج كهربائي Vortex
Gallen Kamp	England	تقطير الماء Water Distillater
Philips	Holand	مقياس الاس الهيدروجيني pH-meter

الشركة المصنعة	بلد المنشأ	اسم الجهاز
Vulkan	Germany	Incubater حاضنة
GallenKamp	England	Soxhlet apparatus جهاز الاستخلاص
Leybold	Germany	Vacuum pump مضخة تفريغ
GallenKamp	England	Magnetic stirrer محرك مغناطيسي
Cole-parmer	USA	Water bath حمام مائي
Gallenkamp	England	Electrical oven فرن كهربائي
Shimadzu	Japan	Spectrophotometer المطياف الضوئي
Major-Ms-300v Science	Taiwan	Electrophoresis جهاز الترحيل الكهربائي
Germany	BÜHLER	Rotary evaporator المبخر الدوار
England	Jenway	المطياف الضوئي ذو القطرة الدقيقة Spectrophotometer Biodrop
Japan	Bioner	المبلبر الحراري Thermo cycler
Italy	Unique	باعت الاشعة فوق البنفسجية UV.Transluminator
USA	Labent international	مجهر القدرة الكهربائية Power Supply
		Clevenger apparatus كليفنجر
Japan	LC20-Shimadzu	كروماتوكرافيا السائل فائق الاداء HPLC
Japan	LC20-Shimadzu	كروماتوكرافيا الغاز - السائل GC Gas Liquid Chromatography
Turkey	Arcelik	Laboratory refrigerator ثلاجة مختبرية
Brand	Germany	Millipore filter المرشح الدقيق
Germany	Janetzki	Cork Porer ثاقب فليبي
Brand	Germany	Separating funnel اقماغ فصل
USA	Sigma-Aldrich	Eppendroff tubes انابيب ابندروف
USA	Sigma-Aldrich	Micropipetes P(20,100,1000) ماصات دقيقة

### جدول 2-3 المواد الكيميائية المستعملة قيد الدراسة والشركات المجهزة

الشركة المصنعة	بلد المنشأ	المادة
Oxoid	England	Ethyl acetate Potatose Dextrose Agar – Nutrient agar – Nutrient broth –
Sigma-Aldrich	USA	Streptomycin sulfate
BDH	England	– ميثانول MgSO <sub>4</sub> – كبريتات المغنيسيوم Ethanol-qs ايثانول – ايثانول NaOH – هيدروكسيد الصوديوم Methanol
Fluka	Germany	– HCL، حامض الهيدروكلوريك H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> حامض الكبريتيك المركز – Soidum Hipoclorat 10% - CHCl <sub>3</sub> كلوروفورم
Sigma	USA	– Ethyl خلاص الاثيل MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O كبريتات المغنيسيوم المائية acetate
GCC	UK	OPA اورثوفثالين الديهايد 5% Chloromphenicol ، Aceton اسيتون
Merck	Germany	(DMSO) Dimethyl sulfoxide (40-60) ، C-بيتروليوم ايثر <sup>0</sup> Ethylen Glycol
HiMedia	India	اكار Agar

### 2-3 الاوساط الزرعية الخاصة بعزل وانماء العزلات الفطرية

#### 1-2-3 وسط اكار دكستروز البطاطا (PDA) Potato Dextrose Agar Media

لغرض تنقية العزلات الفطرية، والتعرف عليها ودراستها مختبريا حضر الوسط حسب تعليمات الشركة المجهزة والمثبتة على العبوة باذابة 39 غم من مسحوق الوسط في كمية من الماء المقطر مع التحريك ثم اكمل الحجم الى لتر بالماء المقطر المعقم ضبط الاس الهيدروجيني عند 5.6 عقم الوسط بالمؤصدة بدرجة حرارة 121 °م وضغط 1كغم / سم 2 لمدة 20 - 15دقيقة ترك الوسط بعدها ليتصلب في جو المختبر، وتجنبنا لنمو البكتريا اضيف للوسط 250 ملغم/لتر من الكلورمفينكول (Chlormphenicol) وفقا لطريقة Atlas (1998)، صب الوسط في اطباق بلاستيكية معقمة وتركت الاطباق بصورة مقلوبة في الثلاجة بدرجة حرارة 4 °م لحين الاستخدام.

### 3-2-2 وسط مستخلص البطاطا والدكستروز: Potato Dextrose Broth(PDB)

حضر بوزن 200 غم من البطاطا المقشرة، والمقطعة بشكل مكعبات غليت في 500 مل من الماء المقطر حتى النضج ثم رشحت باستخدام عدة طبقات من الشاش، واضيف للمزيج 20 غم من الدكستروز اكمل الحجم الى اللتر بالماء المقطر، وضبط الاس الهيدروجيني عند 7.

### 3-2-3 الوسط الانتخابي (GSM) Ganoderma Selective media

يعد هذا الوسط انتخابيا لتحفيز نمو الفطريات التابعة لجنس *Ganoderma* فقط وبحسب الطريقة الموصوفة من قبل (Ariffins and Idris,1992) حضر الوسط من جزئين: الجزء A من المكونات الاتية غم/مل:  
Bacto-pepton-5 , Agar-20 , MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O-0.25 , K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> - 0.50 -  
وتذاب في 900 مل ماء مقطر معقم.

اديببت المكونات الخاصة بالجزء B الاتية في 80 مل من الماء المقطر:

Streptomycin sulfate - 300mg , Chloromphenicol - 100mg, PCNB pure -285mg , Ridomil (25%-wp) - 130mg , Ethanol 95% -20ml ,Lactic acid 50% -2ml , Tannic acid - 1.25gm

ضبط الاس الهيدروجيني لكلا الجزئين عند 5.5. مزجت مكونات الجزء A على محرك مغناطيسي عند درجة حرارة 100 °م، وعقم بجهاز المؤصدة لمدة 15 دقيقة، اما الجزء B فتركت مكوناته للمزج على محرك مغناطيسي لمدة ساعتين عند درجة حرارة الغرفة، تركت مكونات الجزء A لتبرد في جو المختبر واضيفت اليه مكونات الجزء B مع التحريك لغاية التجانس، صب الوسط في اطباق بتري بلاستيكية معقمة وحفظت الاطباق في الثلاجة عند درجة حرارة 4°م.

### 3-2-4 وسط ادامة العزلات الفطرية

اديمت العزلات الفطرية المنقاة بنجاح على وسط PDA الذي حضر بصورة مائلة (Slants) حسب الطريقة الواردة من قبل (Valls واخرون، 1999). لقحت العزلات الفطرية على الوسط المائل الصلب، وتركت لتنمو في الحاضنة عند درجة حرارة 28 ± 2 °م لمدة 10 ايام، بعد اكتمال النمو نقلت الى الثلاجة بدرجة حرارة 4 °م لحين الاستخدام وتم تجديد العزلات

الفطرية كل اسبوعين. للحفاظ لفترة زمنية طويلة غمر سطح النمو بالكليسروول 60% المعقم وتركت الانابيب في درجة حرارة الغرفة. وجدير بالذكر انّ هذا الوسط يستخدم في حفظ عموم الفطريات.

### 3-3-3- الاوساط الزرعية الخاصة بانماء العزلات البكتيرية

#### 1-3-3 وسط المرق المغذي (NB) Nutrient Broth

حضر الوسط الذي تنتجه الشركة المجهزة على هيئة مسحوق جاف ضمن التعليمات المثبتة على العلبة باذابة 13 غم من الكمية المقررة من الوسط في لتر من الماء المقطر. تم قياس، وضبط الاس الهيدروجيني الى 7، ترك الوسط ليعقم بالظروف السابق ذكرها اعلاه.

#### 2-3-3 وسط الاكار المغذي (NA) Nutrient Agar

من الاوساط الشائعة السهلة المستخدمة بشكل واسع ، حضر بوزن 28 غم من الوسط المزود من الشركة المجهزة بشكل مسحوق في دورق مخروطي، واذيب في 1 لتر من الماء المقطر ، عدّل الاس الهيدروجيني الى 7.2. عقم الوسط بعد وضع السداة القطنية على فوهة الدورق المخروطي بنفس الطريقة التي ورد ذكرها سابقا.

#### 3-3-3 وسط مولر هنتون الصلب: Muller Hinton Agar

وفق التعليمات الواردة والمثبتة على العبوة من الشركة المجهزة اذيب 38 غم من مسحوق الوسط في لتر من الماء المقطر عقم الوسط بعد ضبط الاس الهيدروجيني عند 7.2 في جهاز المؤسدة، وصب في اطباق بتري معقمة بعد ان تُرك ليبرد الى درجة 45-50 م°.

#### 3-3-4 ادامة العزلات البكتيرية:

حفظت العزلات البكتيرية في انابيب اختبار مائلة تحتوي على وسط الاكار المغذي ، بعد تنميتها في حاضنة عند درجة حرارة 37 م° لمدة 24 ساعة، وتم تجديد المزارع كل شهر.

#### 3-4 الكواشف والمحاليل الدائرة والصبغات:

#### 1-4-3 محلول المضاد الحيوي الكلورومفينيكول: Chloromphenicol

جهز المضاد الحيوي من الشركة العامة للادوية، والمستلزمات الطبية / سامراء، حضر المحلول الخزين بالتركيز 10 ملغرام/ مل باذابة 100 ملغم منه في 10 مل من الماء المقطر

المعقم ، رشح المحلول الخزين من خلال مرشح غشائي ذو قطر 0.45، حفظ في الثلجة لحين الاستعمال لمنع نمو البكتريا والاحياء المجهرية الاخرى.

### 3-4-2 محلول دارئ TBE 10X

استخدم المحلول الدارئ في تجارب التشخيص الجزيئي، حضر بوزن المكونات الاتية

غم / مل:

Tris base-10.8 , Boric acid-5.5 , Na<sub>2</sub>EDTA-7.44 اذبيت المكونات في 70

مل من الماء المقطر، وعدل الاس الهيدروجيني الى 7.8، واكمل الحجم الى 100 مل بالماء المقطر، وخفف المحلول بسحب 100 مل منه، واطافة 900 مل من الماء المقطر للحصول على التركيز 1X. حفظ المحلول المحضر في الثلجة لحين الاستعمال عند درجة حرارة 4°م.

### 3-4-3 محلول صبغة GelRed

من انتاج شركة ( GelRed GenNet Bio, Korea ) جهزت الصبغة بشكل محلول

خزين Stock Solution واستعملت بالمزج مع هلام الاكاروز عند الترحيل الكهربائي لعينات الـ DNA.

### 3-4-4 الواسم الحجمي: DNA Ladder

زود الواسم الحجمي بحجم 100bp DNA Marker من شركة ( GenNet Bio, Korea )

احتوى على 11 قطعة DNA منها اربع قطع غامقة بالاحجام 1500,1000,500,100 bp، واستخدمت لتحديد حجم قطع DNA.

### 3-5 جمع الاجسام الثمرية

بدا البحث عن الاجسام الثمرية للفطريات البازيدية الكبيرة التي تعود لجنس الجانودرما. شقت الرحلات طريقها في مواقع زراعية مختلفة في مدينة الموصل وسهل نينوى وهي كل من حي العربي، الرشيدية، الكبة، سد الموصل، حمام العليل، الحمدانية، برطلة، غابات الموصل، الشخان، والقيارة بعد طلب الاذن من مالكيها كما مثبت في الشكل 2-3 في مهمة لم تكن سهلة على الاطلاق.

بدا الهواء نفيا في كل المواقع الزراعية خاصة تلك الواقعة على ضفاف نهر دجلة وكانه خضع لمعالجة وصمت شديدين، وانتظار ان يرى وقع اقدام، مر الكثير من الوقت الذي يحده الامل دون جدوى لكن قبل حلول المغيب للرحلة المسحية الاولى في مزرعة تابعة لناحية حمام العليل حالفنا الحظ بالحصول على اجسام ثمرية على قاعدة اشجار التين الموعلة في القدم عددها تخطى في لحظة دهشة 5 اجسام. بتوالي الرحلات المسحية التي امتدت لخمسة اشهر كانت فرصة الحصول على اجسام ثمرية ذات الرائحة العطرة تُشَمُّ على مسافة ليست بالقصيرة وازدادت مع تغير المناخ، وزيادة الرطوبة، وتساقط الامطار.



شكل 2-3 خريطة لمواقع الرحلات المسحية لجمع الاجسام الثمرية

### 6-3 الحصول على الخيوط الفطرية

حفظت الاجسام الثمرية التي تم جمعها في كل رحلة بحثية في اكياس ورقية، وتم غسلها بالماء الجاري عدة مرات لازالة الاتربة حال الوصول الى المختبر، بعدها قُطعت الى عدة اجزاء صغيرة بشكل شرائط رقيقة، اخذت خزعات صغيرة من قلب الجسم الثمري، عُقت بمحلول هابيوكلورات الصوديوم 10% لمدة خمس دقائق، ثم اعقبها الغمر بالكحول الايثيلي 70% لمدة دقيقتين، تلاها الغسل بالماء المقطر المعقم لمدة 3-5 دقائق، وبعدها تُركت القطع لتجف على اوراق الترشيح من النوع Whatman No.1 معقمة. زُرعت بحدود 1-2 قطعة في اطباق بتري معقمة حاوية على وسط PDA باستخدام ملقط معقم باللهب الكحولي، وتركت الاطباق في

الحاضنة عند درجة حرارة  $28 \pm 2$  °م بعد تغليفها برقائق الالمنيوم لمدة 7-10 ايام تم خلالها مراقبة نمو المستعمرات الفطرية خلالها (Ueitele واخرون، 2014).

### 7-3 التشخيص الجزيئي للعزلات الفطرية

#### 1-7-3 تنمية العزلات:

نميت العزلات الفطرية المنقاة على وسط PDB في حاضنة هزازة لمدة 10 ايام عند درجة حرارة  $28 \pm 2$  °م وبعد انتهاء مدة التحضين فصلت الخيوط الفطرية من راشح المزرعة بالترشيح بواسطة اوراق الترشيح من نوع Whatman No.1 مثبتة على قمع بخنر مع التفريغ بجهاز Vaccum، استعملت الخيوط الفطرية لاستخلاص الحامض النووي وتضخيمه.

#### 2-7-3 البادئات المستخدمة: Primers

جهزت البادئات المتخصصة بمنطقة ITS بنوعها الامامي، والخلفي من شركة Bioneer الكورية بشكل مجفف بالتجفيد، تم حلها حسب تعليمات الشركة المجهزة للحصول على تركيز 10 بيكامول وذلك باخذ 10 مايكروليتر من كل بادئ في انبوبة ابندروف، واذابته في 90 مايكروليتر من الماء منزوع الايونات (Chen واخرون، 2017) والجدول 3-3 يبين البادئات المستعملة مع تتابعها النيوكليوتيدية.

#### جدول 3-3 البادئات المستعملة قيد الدراسة مع تتابعاتها البيوكليوتيدية

البادئ	التتابعات النيوكليوتيدية (3' - 5')	حجم الناتج bp
F-ITS1	TCCGTAGGTGAACCTGCGG	650-630
R-ITS4	TCCTCCGTTATTGATATGC	

#### 3-7-3 استخلاص الحامض النووي الـ DNA من العزلات الفطرية المنقاة

استخلص الحامض النووي من الخيوط الفطرية بعمر 10 ايام بعدة الاستخلاص المجهزة من شركة (i-genomic BYF DNA Extraction mini kit, iNtRON Bio, Korea) الكورية واتبعت عدد من الخطوات وفقا للبروتوكول الخاص بالشركة المجهزة وكما يلي:

اخذت الخيوط الفطرية لكل عزلة على حده في انبوبة اختبار معقمة سعة 10 مل تحتوي على محلول Phosphate buffer saline (pH=7).

واجريت عملية الطرد المركزي للانابيب على سرعة 13000 دورة / دقيقة ، اهمل الراشح، واحتفظ بالراسب الحاوي على الخيوط الفطرية.

اضيف 100 مايكرو لتر من المحلول المنظم (Buffer MP)، و 3 مايكرو لتر من (Lyticase) مع مراعاة المزج بصورة جيدة باستخدام جهاز الـ Vortex لمدة 30 ثانية ، تركت الانابيب في الحاضنة بدرجة حرارة 37 °م ولمدة 15 دقيقة.

اعيدت العملية باضافة 200 مايكرو لتر من المحلول المنظم Buffer MG و 20 مايكرو لتر من Protinase K ، و 5 مايكرو لتر من RNase A مزج الخليط جيدا ثم وضعت الانابيب في حمام مائي باستخدام حاملة انابيب طافية بدرجة حرارة 65 °م، ولمدة 30 دقيقة.

اضيف 250 مايكرو لتر من المحلول المنظم Buffer MB مع المزج جيدا باستخدام الماصة الميكانيكية ، وجرى اضافة 250 مايكرو لتر من 80% كحول ethanol مع المزج بصورة جيدة.

سكبت محتويات الانابيب من الخطوة السابقة كُلاً على حده بهدوء وعناية داخل عمود الترشيح (spin column) المجهز من الشركة، وركب على انبوبة التجميع ( Collection tube) سعة 2 مل، واضيف اليه 750 مايكرو لتر من المزيج السابق، ثم وضع في جهاز الطرد المركزي بسرعة 13000 دورة / دقيقة ولمدة دقيقة واحدة ثم نبذ الانبوب الجامع مع الراشح معا.

تم تحضير انبوب جامع جديد، وتركيبه مع عمود الترشيح واضيف اليه 700 مايكرو لتر من Buffer MW ثم وضع في جهاز الطرد المركزي بسرعة 13000 دورة / دقيقة، ولمدة دقيقة واحدة ثم نبذ الراشح فقط، ثم اعاد عمود الترشيح مع الانبوبة معا الى جهاز الطرد المركزي بسرعة 13000 دورة / دقيقة، ولمدة دقيقة واحدة للتخلص من سائل الغسل Buffer MW.

تم نبذ الانبوب الجامع ووضع العمود في انبوبة Eppendorf 1.5 مل، واضيف 50 مايكرو لتر، وترك العمود لمدة دقيقة واحدة ثم وضع في جهاز الطرد المركزي بسرعة 13000

دورة / دقيقة، ولمدة دقيقة واحدة بعدها حفظ ناتج الاستخلاص بدرجة حرارة -20° م لحين استخدامه لاحقا في تفاعل التضخيم التسلسلي (Mohanty وآخرون، 2012).

### 3-7-4 تركيز ونقاوة الحامض النووي المستخلص

استخدم جهاز المطياف الضوئي ذو القطرة الدقيقة Nanodrop لمعرفة تركيز، ونقاوة الحامض النووي DNA بعد عملية الاستخلاص، بحسب تعليمات الشركة المصنعة تم تصفير الجهاز باستعمال محلول TE بوصفه محلولاً بلانك Blank. تم إضافة 1.0 مايكروليتر من عينة DNA المستخلص، وتمت القراءة عند الطولين الموجيين 280/260 نانوميتر (Chong وآخرون، 2011).

### 3-7-5 الترحيل الكهربائي على هلام الاكاروز Agarose gel electrophoresis

تم التحري عن الحامض النووي المستخلص بتحضير هلام الاكاروز بتركيز 1.2%، وتم ذلك بإذابة 1.2 غم من مسحوق الاكاروز في 100 مل من المحلول المنظم TBE بقوة 1X باستخدام دورق زجاجي سعة 250 مل، وضع الدورق بالميكروويف حتى الغليان بعدها ترك ليبرد لدرجة 50° م، وقبل التصلب تمت إضافة 3 مايكروليتر من صبغة GelRed مع المزج جيدا، صبَّ الهلام في قالب الصب الخاص بجهاز الترحيل الكهربائي بعد تثبيت المشط الخاص لتكوين الحفر Wells، وترك الهلام ليتصلب في جو المختبر لمدة 20-30 دقيقة. رفع المشط الذي يكون الحفر بهدوء، وعناية، ونقل هلام الاكاروز الى حوض الترحيل، وملئ حوض الترحيل بمحلول TBE بقوة 1X حتى ينغمر سطح الهلام بالكامل. اخذ 5 مايكروليتر من عينات DNA المستخلص، ومزج مع 2 مل من دارئ التحميل، ونقل باستعمال الماصة الميكانيكية الى الحفر، وتم ربط اسلاك التوصيل بجهاز مجهز الفولتية (Bio Power supply, Rad, USA) وتم تسليط فرق جهد كهربائي على الحوض الحاوي على هلام الاكاروز المطمور في دارئ TBE بمقدار 80 فولت و300 ملي امبير لمدة 50 دقيقة للكشف عن حزم DNA المتألقة البراقة بسبب ارتباطها بصبغة GEL فحص الهلام بعد اكمال عملية الترحيل الكهربائي في غرفة مظلمة مزودة بجهاز Gel Documentation system, Gel Doc EZ Image,

(Bio-Rad, USA) المزود بمصدر قوة من الأشعة فوق البنفسجية (UV transilluminator)، وصور الهلام بكاميرا رقمية بعد ارتداء نظارات خاصة تحجب أشعة UV (White وآخرون، 1990).

### 3-7-6 تحضير المزيج الرئيسي لتفاعل التضخيم التسلسلي

تم تحضير المزيج الرئيس (Master Mix) لجميع عينات تفاعل التضخيم التسلسلي باستخدام Master Mix GeNet Bio, Korea، والتي توفر معظم مكونات التفاعل بالتراكيز المثلى بإضافة البادئات إلى شريط DNA القالب من التسلسل الهدف وفق الاتجاه 5' إلى 3' لتشكل نقطة ابتداء التسلسل المضخم من خلال التضخيم التسلسلي الذي يتم بواسطة إنزيم البلمرة، وإضافة النيوكليوتيدات منقوصة الأوكسجين على مراحل تتكرر في كل دورة يتم في كل منها التضخيم للمنطقة المحصورة ما بين البادئين الأمامي والخلفي (Chen وآخرون 2017) الجدول 3-4 يبين الأحجام اللازمة لمكونات التفاعل لكل عينة.

### جدول 3-4 مكونات المزيج الرئيسي لتفاعل التضخيم التسلسلي

الحجم / مايكروليتر	المكونات
10	المحلول الرئيسي 2X Master Mix
1	البادئ الأمامي Forward primer (10 بيكومول/مايكروليتر)
1	البادئ الراجع Reverse primer (10 بيكومول/مايكروليتر)
6	ماء مقطر خال من إنزيمات PCR grade water
2	الدنا المستخلص من العينة (DNA Template)
20	الحجم النهائي

### 3-7-7 برنامج عمل جهاز التضخيم الحلقي Thermocycler

بعد تجهيز أنابيب PCR tube وضعت في جهاز Thermocycler T 100 TM Thermal Cycler, Bio-Rad, USA، واستخدام البرنامج الخاص بتفاعل التضخيم التسلسلي وهو موضح في الجدول 3-5 تم برمجة البيانات للدورات المتعاقبة وتمت بدرجات حرارية مختلفة مبينة في الجدول أدناه:

### جدول 3-5 خطوات عمل برنامج تفاعل التضخيم التسلسلي الخاص بالجين ITS rRNA.

عدد الدورات	المدة المطلوبة	درجة الحرارة °م	الخطوة
1	10 دقائق	95	المسخ الاولي لشريط الـ DNA Denaturation
35	45 ثانية	95	مسح الشريط المزدوج الـ DNA Denaturation
	45 ثانية	55	ارتباط البادئ بـ DNA Annealing
	1 دقيقة	72	استطالة البادئات المرتبطة Extension
1	5	72	الاستطالة النهائية Final Extension
-		4	التبريد Cooling

### 3-7-8 التتابع النيوكليوتيدي للحامض النووي DNA sequencing

بعد انجاز عملية التضخيم للحامض النووي للعينات قيد الدراسة، وللحصول على ناتج التضخيم ، استخدم مشروط معقم تحت ظروف معقمة لقطع حزم الحامض النووي التي وضعت في انبوبة ابندروف مع البادئ الامامي، واكمل المزيج بالماء المقطر الخالي من الايونات ليكون حجم المزيج النهائي 12 مايكروليتر، وارسل المزيج الى شركة Macrogen الكورية لمعرفة التتابعات النيوكليوتيدية Nucleotide sequence. بعد وصول التتابعات النيوكليوتيدية للعينات المدروسة جرى تحليل التتابعات في المركز الوطني للتقانات الاحيائية National Center of Biotechnology Information (NCBI)، وباستعمال برنامج Blast قورنت التتابعات النيوكليوتيدية للعينات المدروسة مع التتابعات النيوكليوتيدية للسلاطات المرجعية المودعة في بنك الجينات لتحديد هوية العزلات الفطرية المستحصل عليها وبالاستعانة ببرنامج Mega-7 تم رسم شجرة العلاقة التطورية لمعرفة مدى التقارب والتباعد بين العزلات الفطرية (Sanger وآخرون، 1977).

### 3-8 استخلاص المركبات الفعالة من العزلات الفطرية المنتخبة

#### 3-8-1 تحضير المستخلصات الفطرية باستخدام جهاز الاستخلاص المستمر السكسوليت

#### Preparation of Some Fungal Extracts Using Continuous Soxhlet Apparatus.

بعد جمع الاجسام الثمرية غسلت عدة مرات بالماء الجاري، وتركت (في الظل بمكان جيد التهوية وظل مناسب) على قطعة من القماش كلا على حدى مع مراعاة ثقلها بصورة دورية ولمدة ثلاث ايام. قطعت الاجسام الثمرية الى عدة اجزاء، وتركت في الفرن الكهربائي عند درجة حرارة 40 °م لمدة يومين مع الاحتفاظ بعينة مرجعية، حُفِظَت في الايثانول بتركيز 70 % . اجريت عملية استخلاص المركبات الفعالة الفطرية بحسب الطريقة التي ذكرها Al-Daody (1998)، باستعمال توليفة من خمس مذيبات متفاوتة القطبية وهي: الايثر البترولي (60-80 °C) (Petroleum ether)، والكلوروفورم (Chloroform)، والاسيتون (Aceton)، Industrial Methylated Spirit (IMS)، والماء الحار (Hot aqueous extract).

وزن 25 غراما من مسحوق الجسم الثمري الذي طحن بوساطة طاحونة كهربائية بشكل مسحوق ناعم انيا، عبئ المسحوق في الباج (Batch) الذي وضع في جهاز الاستخلاص ( Soxhlet ) نقع الباج بالمذيب الاول باضافة 400 مل من المذيب، وترك لمدة 24 ساعة. شُغل جهاز الاستخلاص في اليوم التالي بحسب درجة غليان كل مذيب، واستمرت عملية الاستخلاص بمعدل 7 ساعات يوميا الى ان يصبح المذيب المستخدم عديم اللون. اعيدت العملية بنفس الطريقة مع مراعاة تجديد المذيب في كل مرة، رُكزت المستخلصات باستعمال جهاز المبخر الدوار (RVE)، (Rotary Vacuum Evaporator) تحت الضغط المنخفض وبدرجة حرارة لا تتجاوز 40 °م. حفظت المستخلصات الفطرية في قوارير معتمة، ووضعت في الثلاجة عند درجة حرارة 4 °م لحين الاستعمال للحصول على مستخلص الماء الحار سكبت محتويات الباج (مسحوق الجسم الثمري) في دورق زجاجي سعة 1 لتر، واضيفت اليه 400 مل ماء مقطر، ترك الدورق على جهاز المحرك المغناطيسي بدرجة حرارة 60 °م لمدة 3

ساعات ،رشحت محتويات الدورق باستعمال اوراق ترشيح من نوع Whatman No.1، وحفظ الراشح الخام في قوارير معتمة في الثلاجة (Harborne، 1984).

### 3-8-2 استخلاص الزيت الطيار Volatile oils باستعمال جهاز التقطير البخاري كليفنجر

#### The converted steam distillation (Clevenger)

تم استخلاص الزيت الطيار (Volatile oil) من مسحوق الاجسام الثمرية للفطريات المنتخبة باستعمال جهاز التقطير المائي الذي يعتمد على كفاءة بخار الماء على حمل الزيت الخفيف، فوزن 15 غراما من مسحوق كل فطر على حدى، ومزج مع 200 مل من الماء المقطر، اجريت عملية التقطير باستخدام هيتز نسيجي، وعند درجة الغليان 100 ° م للسماح للماء المقطر بالتبخر حاملا معه الزيت ، ستمت العملية لمدة ساعتين.

بعد انتهاء المدة الزمنية جمع الماء المقطر الحاوي على الزيت الطيار، ووضع 100 مل منه في قمع الفصل مع اضافة 50 مل من ثنائي ايثيل ايثر (Di ethyl ether)، ولمرحلتين، رُجَّ المزيج يدويا بصورة جيدة لدقائق قليلة، ومع توقف عملية الرج تشكلت طبقتين : طبقة عليا تحتوي على الايثر مع الزيت، وطبقة سفلى مائية، اهملت الطبقة السفلى، واخذت الطبقة العليا، واضيف اليها كبريتات المغنيسيوم اللامائية MgSO<sub>4</sub> بمقدار 3 غرام لتجفيف ما تبقى من الماء في طبقة الايثر. ركز المستخلص باستخدام المبخر الدوار (Rotary vacuum evaporator)، وبدرجة حرارة 25-30 °م (British، 1958). جمع الزيت الخام في قوارير معتمة بعيدا عن الضوء محكمة الغلق وحُفظت في الثلاجة لحين الاستعمال.

### 3-8-3 استخلاص الاحماض الدهنية من الفطريات المنتخبة

#### 1-3-8-3 الصوبنة: Saponification

لاستخلاص الاحماض الدهنية بشكل حر اجريت عملية الصوبنة باضافة 100 مل من محلول 7.5 مولاري KOH الى 10 غرامات لكل من مستخلص البتروليوم ايثر، والكلوروفورم، والاسيتون، IMS والمستخلص المائي كلا على حدى، اجري التصعيد الحراري لمدة 90 دقيقة وبدرجة حرارة 100 °م، ترك المزيج بعدها ليبرد في درجة حرارة الغرفة اعقبها اضافة 100 مل من الماء المقطر، ترك الزيغ في قمع الفصل مع مراعاة اضافة 25 مل من

الايثر ولثلاث مرات لازالة الدهون التي لم يحصل بها صوبنة اخذت الطبقة المتصوبنة واضيف اليها 20% من حامض الكبريتيك المركز  $H_2SO_4$  الى ان يصل الاس الهيدروجيني الى 2، ويصبح المحلول رائقا، وتم اضافة الايثر بمقدار 25 مل، ولمرتين لاستخلاص الدهون المتصوبنة بقمع الفصل، اخذت طبقة الايثر العليا واهملت الطبقة المائية السفلى (Arthur، 1972) تم حفظ العينات في قوارير معتمة، وتركت في الثلاجة لحين الاستعمال، والتشخيص.

### 3-8-3-2 المثلث استر(الاسترة): Esterification

اجريت الطريقة بحسب (Loury، 1967) والتي تعتمد على استرة الحامض الدهني المفصول بعملية الصوبنة، وذلك باضافة مجموعة المثلث الى الحامض الدهني، وذلك لتحويله الى حالة ذات قطبية اقل، وجعله ذا قابلية اكثر للتطاير عند استخدام تقنية GLC، اذ تم اضافة 0.5 مل من مستخلص الحامض الدهني الى 25 مل من الميثانول، و 15 مل من حامض الكبريتيك (1N)، ونسخ بعدها المحلول، وبعد تبريده يضاف للمحلول 15 مل من بيكاربونات الصوديوم للتخلص من الحامض الزائد، وبعدها نقوم بالترشيح للتخلص من بيكاربونات الصوديوم، نقوم بحفظ المحاليل التي حصلنا عليها، والتي تحوي الحامض الدهني المؤستر وحفظت في قوارير معتمة لحين الاستعمال، واستخدمت المعادلة الموثقة من قبل (Behbahani واخرون، 2011). لحساب تركيز المركب المفصول:

$$\text{تركيز المركب المفصول من العينة (ملغم/غم)} = \frac{\text{مساحة المنحني للمركب المفصول}}{\text{مساحة المنحني للمركب القياسي}} \times \text{تركيز المركب القياسي} \times \frac{\text{حجم المستخلص}}{\text{وزن العينة المطحونة}}$$

### 3-8-4 استخلاص المركبات الفينولية من العزلات الفطرية المنتخبة بعملية التحلل الحامضي

بما ان اغلب الفينولات لا توجد بصورة حرة بل ترتبط باصرة كلايكوسيدية مع السكر فتكون بشكل كلايكوسيدات، واجريت عملية التحلل الحامضي لكسر الاصرة الكلايكوسيدية، وتحرير المركبات الفينولية، واخذ 5 مل من مستخلص الاسيتون IMS والمستخلص المائي كلا على حدى، و اضيف اليها 25 مل من حامض (1N) HCL، ثم اجري التصعيد الحراري بدرجة حرارة 100 °م لمدة ساعة واحدة. تُرك المزيج ليبرد، ثم سكب في قمع الفصل مع اضافة 50 مل من خلات الاثيل (Ethyl acetate)، ولمرتين مع الرج المستمر بغية الحصول على

طبقتين: طبقة عليا (العضوية) لخلات الاثيل وطبقة سفلى واهملت الطبقة السفلى واخذت الطبقة العليا التي اضيف اليها 3 غرام من كبريتات المغنيسيوم اللامائية  $MgSO_4$ . حفظت العينات في قوارير معتمة، وتركت في الثلاجة لحين استخدامها في التشخيص بجهاز HPLC (Harborne، 1998) لحساب تركيز المركبات الفينولية المفصولة من خلال المنحنيات القياسية.

### 3-8-5 استخلاص الاحماض الامينية

تم استخلاص الاحماض الامينية وفق الطريقة المقدمة من قبل العالم (Rasmus واخرون، 2018) وُزن 3 غرام من مسحوق الجسم الثمري للفطريات المنتخبة، وترك في قنينة حجمية سعة 50 مل ثم اضيفت 3 مل من حامض الهيدروكلوريك (6) مولاري مع 0.1% فينول غلقت القنينة جيدا، وتركت في فرن حراري عند درجة حرارة 45 °م لمدة 24 ساعة. بعدها اضيف لكل عينة 3 مل من هيدروكسيد الصوديوم و 0.1 ملغم حامض الترتريك مع الرج جيدا لمدة 15 دقيقة، رشحت العينات باستخدام مرشح بلاستيكي ذو قطر 0.45 مايكرون. واجري التشخيص باخذ 1 مل من كل عينة، واطافة 200 مايكروليتر من مادة اورثوفثالين الديهايد 5%(OPA) مع الرج اليدوي لدقيقتين ومن المزيج اعلاه اخذ 100 مايكروليتر، وحقن في جهاز محلل الاحماض الامينية (Amino acid analyzer).

### 3-8-6 استخلاص سكر $\beta$ -glucan من مسحوق الاجسام الثمرية للفطريات المنتخبة

استخلص سكر البيتا كلوكان بمعاملة 10 غرامات من مسحوق الاجسام الثمرية للفطريات المنتخبة مع 10 غرامات من القلويات الساخنة KOH لمدة 5 ساعات لازالة monoprotein مع الرج الميكانيكي بين حين لآخر، بعدها تم فصل الخلايا باجراء طرد مركزي عند سرعة 10000 دورة / الدقيقة لمدة 10 دقائق عند درجة 4 °م، واطيفت كمية من الايثانول للراسب، وترك المزيج لمدة 24 ساعة، عومل الراسب بعدها بكمية من الاسيتون وتم الترشيح باستخدام اوراق ترشيح من نوع Whatman No.1 لازالة الدهون جُفِّفَ الراشح عند درجة حرارة 70 °م بجهاز المبخر الدوار تحت الضغط المنخفض للحصول على السكر بشكل مسحوق جاف (Natakankitkul واخرون، 2016).

### 3-9-9- تشخيص المركبات الفعالة

3-9-1 تشخيص الاحماض الدهنية باستخدام جهاز كروماتوغرافيا الغاز السائل

#### Gas liquid Chromatography (GLC)

لتشخيص الاحماض الدهنية استخدام جهاز كروماتوغرافيا الطور الغازي Shimadzu GLC ياباني المنشأ والمجهز بعمود فصل من نوع SE-30 ذو طول 30 ملم، وقطر 0.25 مايكروميتر وتم برمجة الجهاز بدرجة حرارة الحقن 310 °م ودرجة حرارة الكاشف 280 °م في حين ارتفعت درجة حرارة عمود الفصل 120 °م تدريجيا الى ان وصلت الى درجة حرارة 290 °م بمعدل 10 درجات/ دقيقة، واستعمل غاز النتروجين السائل كغاز ناقل بمعدل 1 مل/ دقيقة 100 Kpa، وتم التعرف على الاحماض الدهنية بالمقارنة بينها وبين الاحماض الدهنية معلومة البنية بالنظر الى دليل الاحتباس الخاص بكل حامض دهني.

3-9-2 تشخيص المركبات الفينولية باستخدام جهاز كروماتوغرافيا السائل العالي الاداء

#### High Performance liquid Chromatography (HPLC)

استكمالا لعملية الاستخلاص شُخِّصَت المركبات الفينولية بعد اجراء عملية التحلل الحامضي لها والموضحة في الفقرة 3-8-4 بجهاز كروماتوغرافيا السائل عالي الاداء HPLC نوع SYKAM الماني المنشأ والعمود المستعمل نوع (C18) وبابعاد (4.6 ملم و 25 سم). الطور المتحرك فهو A و B .

A=Methanol: D.W.:acetic acid (85:13:2).

B=Methanol: D.W.: acetic acid (25:70:5).

حقن 1 مايكروليتر من النموذج بمعدل سرعة تدفق 1 مل/ دقيقة، قيس الامتصاصية عند الطول الموجي 360 نانوميتر .

3-9-3 تشخيص الزيوت الطيارة باستخدام جهاز كروماتوغرافيا الغاز -السائل GLC

بعد استخلاص الزيوت الطيارة من مسحوق الاجسام الثمرية للعزلات الفطرية المنتخبة بجهاز Clevenger ، استعمل جهاز كروماتوغرافيا الغاز GLC موديل Shimadzu-2010 ياباني المنشأ ، كاشف اللهب المتاين (FID)، وحقن 1 مايكروليتر في عمود الفصل الشعري

وباستخدام (DM5-MS) ذو الابعاد 30 م، وقطر 0.25 ملم، وظروف تشغيل مماثلة لظروف التحليل بتقنية GLC اذ كانت درجة حرارة الحقن، والكاشف (280،340)°م على التوالي بينما كانت درجة حرارة عمود الفصل تدريجية تبدا من 100-300 °م بمعدل ارتفاع 10 درجات / دقيقة. استخدم غاز النتروجين الخامل كغاز ناقل بمعدل Kpa100 .

### 3-9-4 تشخيص الاحماض الامينية باستخدام جهاز محلل الاحماض الامينية ( Amino acid analyser)

اعتمدت طريقة (Scriver واخرون، 2001). لتشخيص الاحماض الامينية، وباستخدام جهاز محلل الاحماض الامينية (amino acid analyser)، حقن 100 مايكروليتر من النموذج الموضح مسبقا في فقرة 3-8-5 في عمود الفصل ( ZORBAX Eclipse-AAA ) بالابعاد 3.5 مايكروميتر، و 4.6\*150 ملم ، الطور المتحرك يتكون من ميثانول:اسيتونتريل: 5% حامض الفورميك ، بالنسب 20:60:20 على التوالي. واجري التحليل تحت الظروف المثالية التالية: 1مل / دقيقة معدل سرعة التدفق، درجة حرارة التفاعل 130 °م ، كاشف الفلورة بالاطوال الموجية 445-465 نانوميتر .

### (ZORBAX Eclipse-AAA; 3.5mm ; Lx i.d.=150x4.6mm)

تمت معايرة الجهاز باذابة 0.1 غم من مزيج الاحماض الامينية بنسبة نقاوة (99.9%) في ماء لاايوني في ورق مخروطي سعة 250 مل، واكمل الحجم الى ان يصبح تركيزها 250 جزء بالمليون ، استعمل قانون التخفيف لتحضير تراكيز منحنى المعايرة الذي تم حقنه بالجهاز، ووُظفَ برنامج clarity لتحليل الاحماض الامينية.

$$N_1 V_1 = N_2 V_2$$

### 3-10-10 تنقية بعض المركبات الفعالة

#### 3-10-10-1 تنقية حامض الكافريك من المستخلص الاسيتوني من عذلة الفطر *G.cupreolaccatum*

بعد الحصول على المستخلص الاسيتوني الخام (Crude)، وعمل له تحلل حامضي، وتم سحب المركبات الفينولية بوساطة خلاص الاثيل 50 مل، فقد تم اخذ 20 مل منه، وبعد تجفيفها بشكل كامل تم الحصول على 0.8 ملغم، واذيبت بوساطة قطرات من الميثانول، وتم

اجراء تقنية كروماتوغرافيا الورقة باتجاهين Two-dimentional chromatography، باستعمال مذيبين الاول بنزين = حامض الخليك = ماء 7: 6: 3 الثاني 15% حامض الخليك في الماء، وتمّ تنقيط كل عينة مختارة اسفل الزاوية اليسرى للورقة، واجراء القياس بالمذيب الاول، ومن ثم تدوير الورقة لنعمل القياس بالمذيب الثاني، فنحصل على المركبات الفينولية، ومنها مركب حامض الكافنيك، فيكون ذو  $R_t = 0.79$  من المركب القياسي، وتم قص الورقة الحاملة للحامض، واذابة المادة من على الورقة بوساطة الميثانول 10مل، وبعد الترشيح، والتبخير تم الحصول على راسب اصفر باهت، ومقداره 0.1 ملغم ويمكن ان يكون لونه ازرقا عند اضافة الامونيا، وتعرضة لاشعة فوق البنفسجية (Harborne، 1998).

### 3-10-2 تنقية سكر الـ $\beta$ -glucan من عزلة الفطر *G.curtisii*

بعد الحصول على مسحوق سكر البيتا- كلوكان الخام بالفقرة 3-8-6 ووزن 12 ملغم منه، واذيب في 2 مولاري من حامض HCL 25 مل من اجل ترسيب جميع البروتينات الدهنية التي ممكن ان تتاصر مع البيتا- كلوكان، وضع المزيج بجهاز الطرد المركزي عند سرعة 12000 دورة / دقيقة، لمدة 20 دقيقة بدرجة حرارة 4°م اهمل الراسب واضيف للراشح كحول مثيلي 99 % وبنسبة متساوية لحجم الراشح (1=1) وثرِكَ المزيج لمدة 12 ساعة في درجة حرارة 4°م واعدت عملية الطرد المركزي عند سرعة 3000 دورة لمدة 15 دقيقة، ودرجة حرارة 4°م ، واهمل الراشح واخذ الراسب، وبلور بالكحول المثيلي ثم نقل الى جفنة زجاجية، وجفف بالفرن الكهربائي عند درجة حرارة 55°م لمدة 24 ساعة حفظ السكر المنقى في الثلاجة، وهو بشكل مسحوق نقي، وبلون اصفر باهت (Musa و Al-Alithy، 2012).

### 3-11-11 تقييم الفعالية البايولوجية للمستخلصات الفطرية

#### 3-11-11-1 الفعالية البايولوجية ضد البكتريا المرضية

#### 3-11-11-1-1 العزلات البكتيرية المستعملة

لاختبار الفعالية التثبيطية للمستخلصات الفطرية المختلفة ضد بعض انواع البكتريا المرضية، استعملت كل من العزلات البكتيرية المثبتة في الجدول 3-6 وتم الحصول عليها من بنك العزلات في جامعة الموصل التابع لكلية العلوم/ قسم علوم الحياة.

### جدول 3-6 العزلات البكتيرية المستخدمة قيد الدراسة.

ت	الاسم العلمي للعزلات البكتيرية	الاستجابة لصبغة كرام
1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	سالية
2	<i>Escherichia coli</i>	سالية
3	<i>Klebsilla pneumoniae</i>	سالية
4	<i>Bacillus cereus</i>	موجبة
5	<i>Staphylococcus aureus</i>	موجبة

### 3-11-1-2 تحضير تراكيز المركبات الفعالة للمستخلصات قيد الدراسة

تم تحضير تركيز 400 ملغم/مل من المركبات الفعالة من المستخلصات قيد الدراسة، وذلك بإذابة 0.002 ملغرام من المركبات الفعالة للأحماض الدهنية والمركبات الفينولية في 5 مل من مادة Dimethyl sulfoxide (DMSO) في حين اذيتت الأحماض الدهنية والزيوت الطيارة بمادة Ethylen Glycol ومنه أخذت بقية التراكيز 200 و 100 ملغم/مل، تركت المستخلصات لتعقم بطريقة البسترة بدرجة 62 °C لمدة 10-15 دقيقة أما الأحماض الدهنية والزيوت الطيارة عُقمت من خلال تمريرها على مرشحات غشائية 0.22 مايكرون (Shareef, 1998).

### 3-11-1-3 تقدير الفعالية البايولوجية للمركبات الفعالة ضد البكتريا بطريقة الانتشار بالحفر

انجز اختبار الفعالية البايولوجية للمركبات الفعالة بالتراكيز 400 و 200 و 100 ملغم/مل

ضد العزلات البكتيرية المعتمدة في الجدول 3-6 باتباع طريقة الانتشار بالحفر (Well Diffusion Method) ، وفقا لما وصفه (Magaldi وآخرون، 2004) وجُهِّرتْ أطباق بتري معقمة بقطر 9 سم حاوية على 20 مل من وسط مولر هنتون MHA الصلب عمل على سطح الوسط خمس حفر لكل طبق باستعمال ثاقب فليني معقم بالتلبيب الكحولي ذو القطر 6 ملم لتكون المسافات متساوية بين حفرة وأخرى، وتُسبَر 0.1 مل من المعلق البكتيري النامي على وسط المرق المغذي بعمر 14-16 ساعة باستخدام ممسحة قطنية معقمة (Cotton Swab)

وتركت الاطباق لمدة 15 دقيقة لحصول التشرب. غمرت كل حفرة بوضع 40 مايكروليتر من كل تركيز من تراكيز المركبات الفعالة. استخدام المضاد الحيوي Gentamycine بوصفه سيطرة موجبة في حين استخدم المذيب DMSO بالنسبة للمركبات الفينولية والاثيلين كلايكلول للامحاض الدهنية، والزيوت الطيارة بوصفه سيطرة سالبة، حُضنت الاطباق بدرجة حرارة 37 °م لمدة 24 ساعة اخذت اقطار تثبيط نمو البكتريا باستخدام مسطرة مدرجة، وسجلت النتائج بوحدة قياس (ملم).

### 3-11-2 الفعالية البيولوجية المضادة للاكسدة للمركبات الفعالة

اخضعت المركبات الفعالة المستخلصة من العزلات الفطرية المنتخبة لاختبار الفعل المضاد للاكسدة بالية الاسر لجذر DPPH. وزن 0.04 غم من Diphenyl (DPPH) Pecril Hydrazine، واذيب في 100 مل من الميثانول للحصول على التركيز 400 مايكروغرام / مل، وبنفس الالية تم تحضير محلول الشاهد باذابة 0.5 غم من حامض الاسكوريك في 100 مل من الميثانول والماء بنسبة 1:1. حضرت سلسلة من التراكيز من كل المركبات الفعالة وحامض الاسكوريك 800، 500، 250، 64.4، 31.2 مايكروغرام / مل. مزج 1 مل من محلول DPPH مع 1 مل من كل تركيز من مستخلصات المركبات الفعالة، رج خليط التفاعل بقوة، وترك في الظلام عند درجة حرارة المختبر  $28 \pm 2$  °م لمدة 30 دقيقة. احتوى الشاهد (السيطرة) على نفس الحجم لمحلول التفاعل باستثناء استخدام المذيب (الايثانول) في مكان المستخلصات اعلاه. لقياس امتصاصية لـ DPPH، واستخدم الطول الموجي 517 نانوميتر. عُبر عن النتائج بصورة النسبة المئوية لتثبيط جذر DPPH، واعتمدت طريقة (Sumathy وآخرون، 2013)، وبحسب المعادلة ادناه:

النسبة المئوية لتثبيط جذر DPPH = امتصاصية الشاهد - امتصاصية العينة / امتصاصية الشاهد  $\times 100$ .

3-11-3 الفعالية البايولوجية المضادة لخطوط الخلايا السرطانية

3-11-3 محاليل وكواشف الزراعة الخلوية والايوساط الزرعية

حضرت المحاليل وفقا لطريقة (Taylor، 2007).

### 1- بيكربونات الصوديوم Sodium Bicarbonate

اذيب 4.4 غرام من بيكربونات الصوديوم احادية الهيدروجين في 100 مل ماء مقطر، عقم المحلول بجهاز المعقم المؤصدة بدرجة حرارة 121م، وضغط 1 كغم/ سم 2 لمدة 15 - 20 دقيقة، حفظ المحلول في الثلاجة بدرجة 4 °م لحين الاستعمال.

### 2- الوسط الزرعى (RPMI-1640) Roswell Park Memorial Institute

جهز الوسط من المكونات التالية: كما ورد في (Freshney ، 2015)

10.4-RPMI-1640 غم ، 0.5-Penicillin مل ، 0.5-Streptomycin مل ، Fetal calf serum (10%) 100 مل. خَلِطَتْ مكونات الوسط، واضيف لها 4.4% من محلول بيكربونات الصوديوم المحضر في الفقرة 3. 11. 3. 1. اكمل الحجم الى 900 مل بالماء المقطر، وضبط الاس الهيدروجيني الى 7.2 واكمل الحجم بالماء المقطر الى لتر. عقم الوسط بمرشح ذي ثقوب بقطر 0.22 مايكروميتر، وحضن بدرجة 37 °م لمدة 72 ساعة للتأكد من خلوه من الملوثات.

### 3- المحلول الملحي الفسيولوجي (BS) Buffer Saline

حضر باذابة 0.85 غم من ملح كلوريد الصوديوم في 100 مل من الماء المقطر وعقم بالمؤصدة كما ذكر اعلاه، وترك بالثلاجة لحين الاستعمال (Cruickshank وآخرون، 1996).

### 4- محلول التريسين Trypsin

حضر باذابة 1 غرام من مسحوق التريسين في 100 مل من محلول BS المحضر اعلاه عقم بمرشح ذي ثقوب بقطر 0.22 مايكروميتر وحفظ بدرجة -20 °م لحين الاستعمال.

## 5- وسط التجميد

حضر وسط التجميد باضافة 5% من محلول DMSO الى 95% من الوسط الجاهز (RPMI-1640 مضاف اليه 10% مصل عجل البقر).

### 3-11-3 خطوط الخلايا السرطانية المستخدمة

اجريت التجربة باستخدام خط الخلايا السرطانية لسرطان الكبد HepG2 فضلا عن خط الخلايا الطبيعي WRL68 والتي حُصل عليها من كلية الطب\ قسم الصيدلة\ مركز التحري عن العلاجات الجديدة / جامعة ملايا في ماليزيا Centre For Natural Product Research And Drug Discovery \ Department Of Pharmacology \ Faculty Of Medicine \ University Of Malaya Kuala Lumpur \ Malaysia. تم في مركز بحوث التقانات الاحيائية في جامعة النهريين ادامة، وتنمية خلايا الخطوط السرطانية واجراء الفحوصات.

### 3-3-11-3 تنمية خلايا الخطوط الخلوية السرطانية

نُميت خلايا الخطوط السرطانية، وفقا لطريقة (Freshney، 2012) واتباع الخطوات

التالية:

1. تمت عملية اذابة خلايا الخطوط الخلوية السرطانية في حمام مائي عند درجة حرارة 37°م.
2. وضعت الخلايا في وعاء زرع للخلايا الحيوانية بقطر 25 سم<sup>2</sup> حاوٍ على الوسط الزرعى RPMI-1640 وعلى 10 % مصل عجل البقر.
3. حضن الوعاء الحاوي على المعلق الخلوي، والوسط الزرعى في حاضنة 5% CO<sub>2</sub> عند درجة حرارة 37 °م ولمدة 24 ساعة. وتم اجراء مزارع ثانوية منها بعد انتهاء مدة التحضين، والتأكد من نمو المزرعة الخلوية وخلوها من الملوثات.
4. تم فحص الخلايا لمعرفة حيويتها، ونموها بالعدد 10000 خلية \ مل تقريبا باستخدام المجهر المقلوب Inverted microscope.
5. نقلت الخلايا الى كابينة النمو، وغسلت باستخدام محلول BS الذي تم التخلص منه بالغسل لمرتين، وبمعدل 10 دقائق في كل مرة.

6. اضيفت للخلايا كمية كافية من انزيم الترسين اعقبها التحضين لمدة 30 - 60 ثانية عند درجة حرارة 37°م مع المراقبة الى ان تتحول من طبقة احادية الخلايا الى خلايا مفردة، عندئذ تم ايقاف عمل الانزيم باضافة وسط تنمية جديد حاوٍ على مصـل عجل البقر.

7. جمعت الخلايا في انابيب ووضعت في جهاز الطرد المركزي عند سرعة 2000 دورة ا دقيقة، ولمدة 10 دقائق بدرجة حرارة المختبر لترسيب الخلايا، والتخلص من الترسين، والوسط الزراعي المستخدم. علقت الخلايا المترسبة في وسط زرعـي حاوٍ على 10 % مصـل عجل البقر بعد ان تم التخلص من الراشح.

8. اخذ حجم معين من المعلق الخلوي واطيف اليه نفس الحجم من صبغة التريبان الازرق (Trypan Blue) ؛ لمعرفة عدد الخلايا ونسبة حيويتها وتم عد الخلايا باستخدام شريحة عد كريات الدم الحمراء Hemacytometer بتطبيق المعادلة التالية:

$$C = N \times 10^4 \times F/ml$$

حيث ان: -

C = يمثل عدد الخلايا في مل واحد من المحلول

N = يمثل عدد الخلايا في شريحة العد

F = يمثل عامل التخفيف

$10^4$  = تمثل ابعاد شريحة العد

9. اما نسبة حيوية الخلايا في العينة فتم حسابها باستخدام شريحة Hemacytometer وفقا للمعادلة: -

نسبة حيوية الخلايا الحية = (الخلايا الحية) / ((الخلايا الحية) + (الخلايا الميتة)) × 100

10. وزع المعلق الخلوي في اوعية جديدة ثم حضن في حاضنة 5% CO<sub>2</sub> عند درجة حرارة 37°م ، ولمدة 24 ساعة.

### 3-11-3-4 اختبار MTT لفحص حيوية الخلايا

dimethylthiazol- 2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide (MTT -4,5)-3  
(dya

لتحديد تأثير السمية الخلوية لكل من حامض الكافنيك، وسكر البيتا كلوكان على خط الخلايا السرطانية للكبد اجري الاختبار وكما يلي:

1. جهزت خلايا الخطوط السرطانية باتباع الخطوات الموضحة في الفقرة 3. 11. 3.3 وضع المعلق الخلوي في صفيحة ذات 96 حفرة مسطحة القاعدة حضنت الصفيحة في حاضنة 5% CO2 عند درجة حرارة 37° م لمدة 24 ساعة وزع المعلق الخلوي بمقدار 100 مايكروليتر في كل حفرة.

2. اضيفت التراكيز المجهزة مسبقا من حامض الكافنيك، وسكر البيتا كلوكان كل على حد الى الحفر، وبواقع (3) حفر لكل تركيز. تركت الصفيحة في الحاضنة عند درجة حرارة 37° م ولمدة 24 ساعة.

3. اضيف لكل حفرة 10 مايكروليتر من محلول MTT بالتركيز 0.45 ملي غرام 1 مل.

4. حضنت الصفيحة لمدة 4 ساعات عند درجة حرارة 37° م.

5. اضيف 100 مايكروليتر من محلول الاذابة (Solubilization) في كل حفرة لاذابة Formazan Crystals.

6. قُرئت الامتصاصية لكل عينة عند الطول الموجي 570 نانومتر باستخدام جهاز الاليزة ELASIS.

### 3-11-3-5 تقييم السمية الخلوية باختبار (HCS) High Content Screening

شمل الاختبار قياس، ومراقبة التغيرات التي تحدث في انوية الخلايا، ونفاذية الاغشية الخلوية وتحرر الساييتوكروم من المايتوكوندريا واجري الاختبار في جامعة ملايا قسم الصيدلة مركز التحري عن الادوية الجديدة في ماليزيا. وباستخدام معدات تشخيصية مجهزة من شركة (Thermo Fisher Japan) تحتوي على المكونات الموضحة بالجدول 3- 7.

جدول 3-7 يبين مكونات العدة التشخيصية المجهزة من قبل الشركة اليابانية.

ت	المادة	الكمية
1	Cytochrome C Primary Antibody	75ml
2	DyLight 649 Conjugated Goat-Mouse Antibody	72ml
3	Mitochondrial Membrane Potential Dye	1ml
4	Permeability Dye	25ml
5	Hoechst Dye	30ml
6	Wash Buffer	100ml
7	Permeabilization Buffer	100ml
8	Blocking Buffer	85ml
9	Thin Plate Seal Assembly	7/pack

### 3-11-3-6 تحضير المحاليل المستخدمة

دارئ الغسل (Wash buffer): اخذ 20 مل من محلل الخزين لدارئ البفر واضيف الى 180 مل من الماء المقطر النقي ليصبح الحجم النهائي 200 مل. حفظ المحلول الدارئ في درجة حرارة 4 م° في الثلاجة لمدة 7 ايام.

محلول التثبيت (Fixation solution): يحوي هذا المحلول على 16% فورمالديهايد، ويستخدم ساخنا بدرجة حرارة 37 م°.

محلول النفاذية (Permilization buffer): جهز بحجم 100 مل، وذلك باخذ 10 مل من محلول الخزين، واضيف الى 90 مل من الماء المقطر النقي، حفظ المحلول في الثلاجة عند درجة حرارة 4 م° لمدة 7 ايام.

محلول الاجسام المضادة الاولية (Primary antibody): اضيف 60 مايكرو ليتر من  $MgCl_2$ ، و 100 مايكرو ليتر من الاجسام المضادة الاولية، و 12 مايكرو ليتر من فوسفات

هستون H3 للجسام المضادة الاولية الى 5.9 مل من محلول التحطيم (Blocking buffer) حضر المحلول انيا.

محلول التصبيغ: حُضِرَ باضافة 3 مايكروليتر من DAPI، و 12 مايكرو ليتر من dylight 488 goat anti-muse و 12 مايكروليتر من dylight 549 goat anti-rabbit الى 6 مل من محلول التحطيم.

#### طريقة العمل:

1. جهزت خلايا الخط الخلوي HepG2، وكما ورد سابقا في الفقرة 3. 11. 3.3، ووضعت في صفيحة (96 حفرة)، وحضنت في حاضنة 5% CO<sub>2</sub> عند درجة حرارة 37°م لمدة 24 ساعة.
2. جرى اضافة 50 مايكروليتر من تراكيز المستخلص الفطري لكلا من حامض الكافنيك، وسكر البيتا كلوكان كل على حدى، وبالتراكيز 200، 100، 50، 25، 12.5 مايكرو غرام ا مل لكل حفرة، وبواقع 3 حفرة لكل تركيز. واضيف 50 مايكرو ليتر من الوسط الزرعي الى حفرة السيطرة فقط دون اضافة المستخلص.
3. اعقبها اضافة 50 مايكروليتر من صبغة الخلايا الحية الى كل حفرة، وحضنت الصفيحة لمدة 30 دقيقة عند درجة حرارة 37°م.
4. تم التخلص من الوسط الزرعي مع محلول التصبيغ من الخطوة السابقة تلاها اضافة 150 مايكروليتر من محلول التثبيت، وحضنت الصفيحة لمدة 20 دقيقة عند درجة حرارة الغرفة. تم التخلص من محلول التثبيت، وغسل بالماء، ومن ثم اضيفت 100 مايكروليتر لكل حفرة من محلول الازابة Solubilization، وتركت بعدها الصفيحة لمدة 10 دقائق بدرجة حرارة الغرفة بعيدا عن الضوء.
5. غسلت الصفيحة بـ 100 مايكروليتر من محلول الغسل، ولمرتين في كل مرة لمدة 10 دقائق للتخلص من محلول الازابة، بعدها اضيف 100 مايكروليتر من محلول التحطيم لكل حفرة، وحضنت لمدة 15 دقيقة عند درجة حرارة الغرفة.

6. تم اضافة 50 مايكروليتر في كل حفرة من محلول الاضداد الاولية، وحضنت لمدة ساعة واحدة عند درجة حرارة الغرفة، وفي ظروف الظلام، وتم التخلص من محلول الاضداد الاولية بعد الحضانة ثم غسلت بالماء المقطر.

7. تم اضافة 50 مايكروليتر من محلول التصبيغ (الاضداد الثانوية)، وحضنت لمدة 60 دقيقة عند درجة حرارة الغرفة بعيدا عن الضوء، بعدها جرى التخلص من محلول التصبيغ، والغسل بالماء.

8. اضيف 100 مايكروليتر من محلول دارى الغسل في كل حفرة ثم اخذت الصفيحة لقراءتها باستخدام Array Scan HCS Reader.

### 3-12 التحليل الاحصائي

حللت النتائج باستخدام نظام الحاسب، وفق اختبار تحليل التباين ANOVA، وقورنت المتوسطات الحسابية باستخدام اختبار DNCN بفرق معنوي عند مستوى احتمالية  $p < 0.05$ ، وفرق معنوي بالمستوى  $p < 0.01$ .

# **الفصل الرابع**

## **النتائج والمناقشة**

## الفصل الرابع

### 4- النتائج والمناقشة

#### 4-1 المسح الجغرافي للاجسام الثمرية

توزعت الاجسام الثمرية للفطريات التابعة لجنس *Ganoderma* المستحصل عليها من الرحلات البحثية المسحية على مر عدة شهور سبعة اشهر وهذا ما تبين من خلال النتائج المثبتة في الجدول 4-1، والشكل 4-1 وعُنوانت بشيفرات (كود) علمية كما يلي:

في البداية جاءت النتائج المرئية بالحصول على خمسة اجسام ثمرية اعطت الكود العلمي G1 على اصول شجرة تين حية مقطوعة في ناحية حمام العليل التي تمتاز بكثافة الغطاء النباتي فيها في حين احتضنت مزرعة في ناحية الشخان على ثلاث اجسام ثمرية بالكود العلمي G2 وتواجدت على شجرة مقطوعة غير معروفة الملامح لسوء حالتها. وتم الحصول على جسم ثمري بالكود العلمي G3 في مشتل في منطقة حي العربي وبمعدل جسم ثمري واحد على اصول شجرة سفرجل حية. وفي غابات الموصل التي تقع على الضفة الشرقية من نهر دجلة تم الحصول على جسم ثمري بحجم كبير اعطي الكود العلمي G4 على شجرة سرو كبيرة.

وجد على اصول شجرة المشمش في مزرعة تابعة لناحية القيارة 5 اجسام ثمرية مختلفة الاحجام اعطيت الكود العلمي G5 وهي اكثر الرحلات البحثية نجاحا، وقد سيطر الجسم الثمري بالكود العلمي G6 على اصول شجرة الخوخ في مزرعة تابعة لناحية الحمدانية، وكشفت الرحلة الميدانية المسحية في مزرعة تابعة لمنطقة الرشيدية المطلة على نهر دجلة جسم ثمري بالكود العلمي G7 اذ تواجد على اصول شجرة التفاح، بينما استحصل على جسم ثمري تمثل بالكود العلمي G8 على شجرة زيتون مقطوعة في مزرعة تعود لناحية برطلة وسجل الجسم الثمري بالكود العلمي G9 في منطقة سد الموصل على شجرة توت حية. وفي ظل ظروف طبيعية، وحيوية سخرت لاشباع حاجة الاجسام الثمرية، وزيادة رفاهيتها وجدت اجسام ثمرية بمعدل 4 اجسام مختلفة الاحجام على اصول شجرة تين عملاقة، اعطيت الكود العلمي G10 في مزرعة تابعة لمنطقة الكبة شقت الاجسام الثمرية طريقها داخل الخشب الصميمي في رحلة استغرقت

يوما كاملا، وجدير بالذكر انه لم تثمر الرحلة المسحية لناحية بعشيقة في الحصول على اي جسم ثمري لاي صنف من اصناف الفطريات الكبيرة.

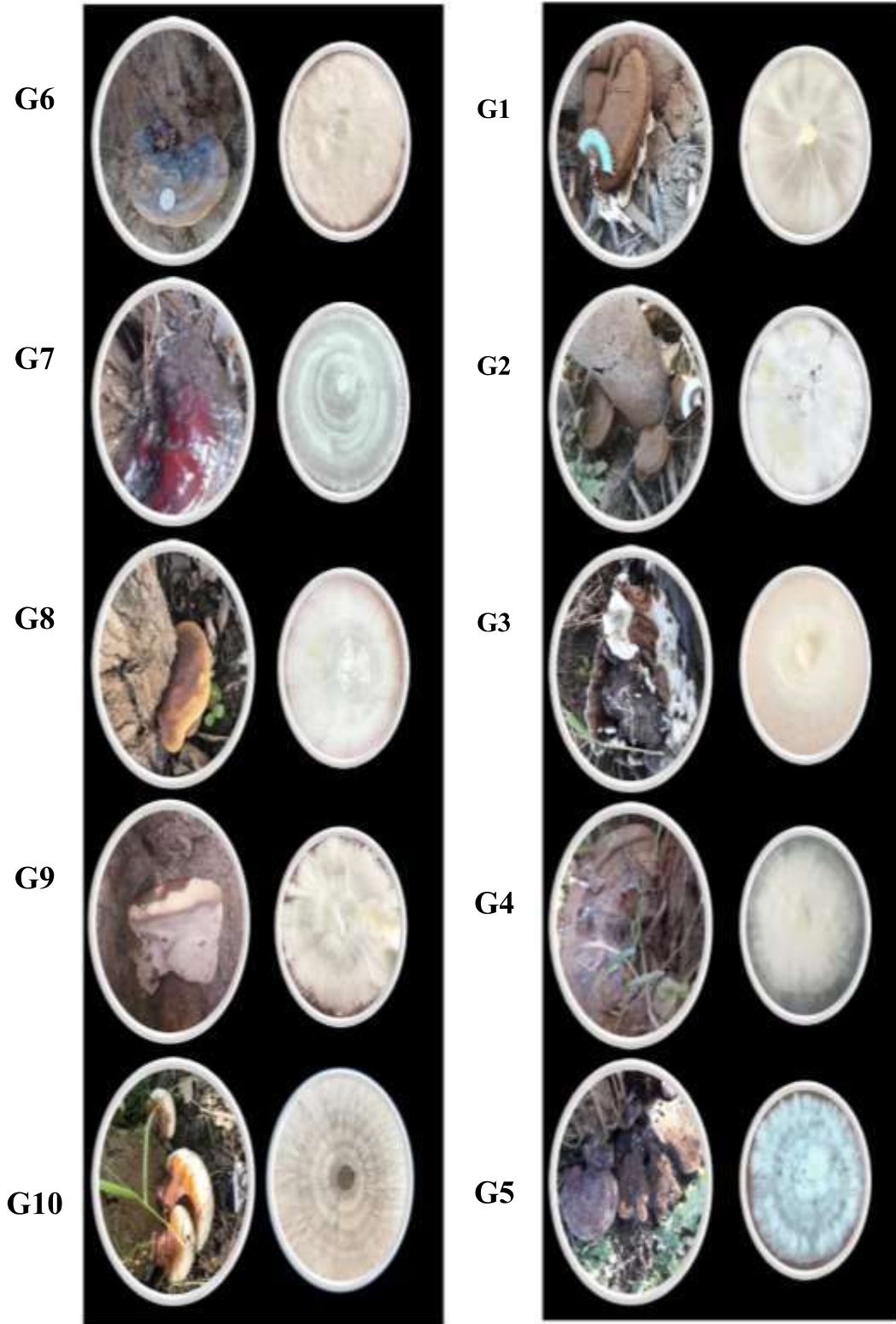
لا يخفى علينا انّ البيئات الزراعية مزيج من المادة العضوية، والمعدنية وماء وهواء فضلا عن الكائنات الحية وهي من اكثر البيئات تعقيدا لنمو هذه الاحياء فعالية الكائنات المختلفة بما فيها الفطريات على اختلاف انواعها، ونموها وتوزيعها تتاثر بالكثير من العوامل الغير حيوية، والحيوية التي تمثل العلاقة المتداخلة مع محيطها. كما وتلعب فصول السنة دورا كبيرا في نموها، اذ ينمو اكثرها في فصلي الربيع، والخريف؛ بسبب درجات الحرارة الملائمة فضلا عن الاوراق النباتية المتساقطة التي تكون غذاءً جاهزا للفطريات، الا ان هذه الالية عكست في حالة الجانودرما فقد تبين من خلال الرحلات البحثية المسحية تواجدها في معظم فصول السنة وتلك هبة من الله سبحانه وتعالى الذي منحها قوة النمو تحت الظروف المناخية القاسية من برودة في الشتاء الى جفاف في الصيف على الرغم من أنّها تفضل البيئة التي يزداد فيها معدل الرطوبة، وما زالت هناك فجوات عظيمة في معرفتنا بالتنوع الحيوي للفطريات خاصة التي تكون اجساما ثمرية، ولا يسعنا هنا الا ان نقول اننا حققنا بعض التقدم وما علينا الا ان نتشبت بالحفاظ عليه الان.

في دراسة مسحية اجراها Naplavova وآخرون سنة 2020 من الحصول على 9 اجسام ثمرية باحجام مختلفة نامية على جذوع اشجار حية مختلفة في سلوفاكيا المركزية، وتبين أنّها تعود للنوع *G.resinaceum*.

جدول 1-4 الاجسام الثمرية المستحصل عليها ونوع المضيف وتاريخ الجمع وعدد

الاجسام الثمرية

عدد الاجسام الثرمية	تاريخ الجمع	الوصف	نوع المضيف	مواقع جمع العينات	الكود العلمي
5	3- تموز 2019	حية	شجرة تين	قضاء حمام العليل	G1
3	12- تموز 2019	مقطوعة	شجرة غير معروفة	ناحية الشيخان	G2
1	8- اب 2019	حية	شجرة سفرجل	مشتل حي العربي	G3
1	9- ايلول 2019	حية	شجرة سرو	غابات الموصل	G4
5	26- ايلول 2019	حية	شجرة مشمش	ناحية القيارة	G5
1	10- تشرين الاول 2019	حية	شجرة خوخ	قضاء الحمدانية	G6
1	15- تشرين الثاني 2019	حية	شجرة نفاح	حي رشيدية	G7
1	7- كانون الاول 2019	مقطوعة	شجرة زيتون	ناحية برطلة	G8
1	15- كانون الثاني 2020	حية	شجرة توت	سد الموصل	G9
4	22- كانون الثاني 2020	حية	شجرة تين	قرية الكبة	G10

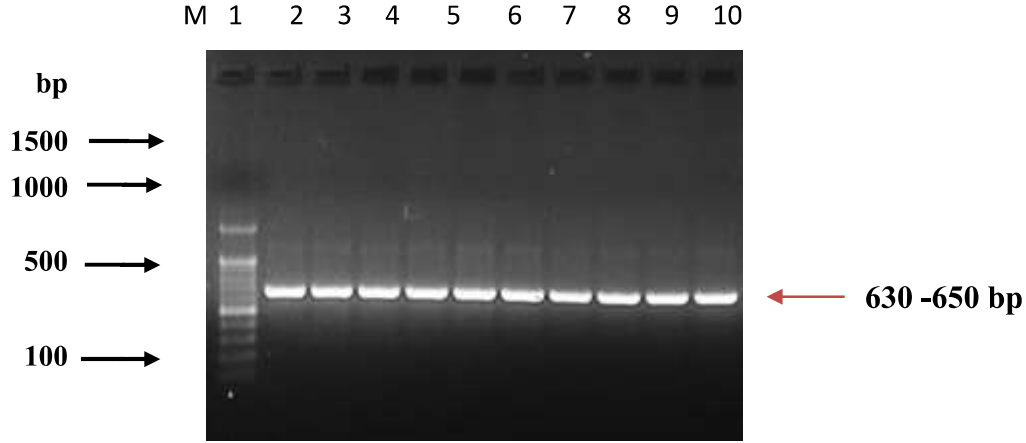


شكل 1-4 الاجسام الثمرية للفطريات المستحصل عليها قيد الدراسة ومستعمراتها النقية على

وسط PDA

## 4-2 التشخيص الجزيئي للعزلات الفطرية

بعد الحصول على المستعمرات الفطرية بصورة نقية، واختبار نقاوتها على وسط الانتخابي GSM ، كرست جل الجهود لاستخلاص الحامض النووي من الخيوط الفطرية بنقاوة عالية جدا بعد تصميم بواقي متخصصة لجين ITS من كلا طرفيه لتضخيمه الى ملايين النسخ بتقانة التضخيم التسلسلي، وهي التقانة المعتمدة في البحث العلمي في تشخيص الفطريات الى مستوى النوع بحيث اصبحت مؤشرا حساسا لتشخيص الانواع، وتتوفر في الوقت الحاضر معطيات تتابع ITS كثيرة من مختلف المجاميع التصنيفية الفطرية. افرزت نتائج الكشف عن نواتج التضخيم عند الترحيل الكهربائي على هلام الاكاروز، ظهور حزمة واحدة متألقة لكل عذلة فطرية ذات وزن جزيئي يتراوح بين 630-650 زوج قاعدي، وتم قراءتها بسهولة بالاستعانة بالواسم الحجمي ذو الاوزان المعلومة الحجم 100 bp، وهذا هو الحجم المتوقع الذي ينتجه زوج البادئات المتخصصة المستخدمة مع DNA الهدف يؤكد نجاح عملية التضخيم الذي اعتمد على جودة ونقاوة الحامض النووي المستخلص من العزلات الفطرية المختلفة كما في الشكل 4-2 برهنت النتائج التي توصل اليها Xing ، وآخرون (2018) عند استخدام تقنية تفاعل سلسلة البلمرة نجاحها في تشخيص نوعين من جنس *Ganoderma* هما *G.angustisporum* و *G.casuarinicola* باستعمال بادئات متخصصة تعود الى جين ITS، واثمرت الدراسة التي قام بها Tchoumi ، وآخرون (2019) من الحصول على عدة انواع تعود لجنس *Ganoderma* ، وشخصت جزيئيا اعتمادا على جين ITS حُصل عليها بعملية مسح للفطريات التي تسبب التعفن للاخشاب في حديقة في جنوب افريقيا ، وسجل فيها *G.cf.cupreum* ، و *G.cf.resinaceum* لأول مرة. وفي رحلات متتالية ناجحة تمكن Luangharn ، وآخرون (2019) من الاستعانة بتقنية PCR لتشخيص عدة عزلات تعود للنوع *G.gibbosum* جمعت من منطقة Yunnan Province خلال الفترة الممتدة من شهر اغسطس الى شهر ديسمبر من عامي 2016-2017.



الشكل 4-2 نواتج تضخيم الحامض النووي للعزلات الفطرية قيد الدراسة على هلام الاكاروز حيث يمثل المسار M: الواسم الحجمي، المسارات 1-10 نواتج التضخيم الحامض النووي للعزلات قيد الدراسة.

### 3-4 التابع النيوكليوتيدي للعزلات الفطرية

استعملت نواتج التضخيم المتمثلة بحزم مفردة لكل عزلة فطرية تابعة لجنس *Ganoderma* للتحري عن مدى خصوصية المادة الوراثية لكل عزلة فطرية، ولمعرفة التابع النيوكليوتيدي استخلصت الحزم المتألقة من هلام الاكاروز باستعمال عدة خاصة، وباتباع الخطوات المجهزة مع عدة الاستخلاص بعد اضافة احد البادئات المتخصصة، وهو البادئ الامامي، ارسل مزيج التفاعل الى شركة MacroGene وبعد مرور 30 يوما وردت النتائج النيوكليوتيدية كما موضح في الملحق 1. استعانةً ببرمجية Blast وهي مجموعة برامج متوفرة على موقع ([http://: www.ncbi.gov/ Blast](http://www.ncbi.gov/Blast)) التي تستخدم مجاناً من قبل الجمهور العلمي من مبدأ الاستفادة العلمية المستمرة Scientific community، وثُوْمُنُ الاستدلال على مواقع التماثل ما بين النتائج النيوكليوتيدية الواردة من الشركة الكورية للعزلات الفطرية قيد الدراسة وبيانات النتائج النيوكليوتيدية للسلالات المرجعية المودعة في بنك الجينات.

ولمعرفة الهوية الكاملة للعزلات الفطرية تمت عملية الاصطاف للنتائج النيوكليوتيدية لكل عزلة مع النتائج الاساس المودعة في بنك الجينات وتبين ان العزلة بالكود العلمي G1

تعود للنوع *G.resinaceum*، وابتدت تطابقا تاما بنسبة 100 % مع السلالة الاساس *Ganoderma resinaceum* strain SAAF3M3 بالرقم التسلسلي MT581895.1 في حين ابدت نسبة تطابق بلغت 99.69 % مع العزلة المرجعية الايطالية *Ganoderma resinaceum* بالرقم التسلسلي MW748297.1 بدلالة ظهور بعض تغيرات على مستوى قاعدتين في المواقع 7 و 11 يتضح ذلك في ملحق 1 والجدول 4-2 .

#### جدول 4-2 التغيرات الوراثية لجين ITS لعزلة الفطر *G.resinaceum*

No.	Query Coverage	E-value	Identity	Accession No.
<i>G.resinaceum</i> strain SAAF3M3	100%	0.0	100%	MT581895.1
<i>G. resinaceum</i> isolate SAAF3M4	98%	0.0	99.69%	MT581896.1

في ماييلي التتبعات النيكلوتيدية للعزلة

#### *G. Resinaceum*

CGCTTTCGGTAGTGACCTGCGGAGGATCATTATCGAGTTTTGACTGGGTTG  
TAGCTGGCCTCCGAGGCATGTGCACACCCTGCTCATCCACTCTACACCTG  
TGCACTTACTGTGGGTTCCAGACGTTGTGAAGCGGGCTCTTTACGGAGCTT  
GTAAAGCGGCGTGCCTGTGCCTGCGTTTATCACAACTCTATAAAGTATTA  
GAATGTGTATTGCGATGTAACGCATCTATATACAACTTTCAGCAACGGATC  
TCTTGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGT  
GAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCGCTCC  
TTGGTATTCCGAGGAGCATGCCTGTTTGAGTGTCATGAAATCTTCAACTTA  
CAGACCTTTGCGGGTTTGTAGGCTTGGACTTTGGAGGCTTGTCGGCCATGT  
TTTGGTCGGCTCCTCTTAAATGTATTAGCTTGATTCCTTGCGGATCGGCTCT  
CGGTGTGATAATGTCTACGCCGCGACCGTGAAGCGTTTTGGCGAGCTTCTA  
ACCGTCTCGTTTGTGAGACAGCTTTATGACCTCTGACCTCAAATCAGGTAG  
GACTACCCGCTGAACTTAAGCATATCATTAAAGCGG.

وظهرت المقارنة في ادق صورها مع العزلة بالكود العلمي G2 بعد مطابقتها مع السلالة المرجعية *Ganoderma applanatum* strain HFJAU0343 ذات الرقم التسلسلي MN258633.1 بنسبة 100 % ، في حين ظهرت بعض التغيرات عند المقارنة مع السلالة الاساس الكورية المودعة في بنك الجينات بالرقم التسلسلي MN294816.1، وحقت نسبة

تطابق بلغت 99.28% مع استبدال القاعدة النيتروجينية A بالقاعدة النيتروجينية C في الموقع 65 واستبدال القاعدة النيتروجينية T بالقاعدة A في الموقع 68، واستبدال القاعدة النيتروجينية T بالقاعدة C في الموقع 255 وهو موضح في ملحق 1 والجدول 3-4.

### جدول 3-4 التغيرات الوراثية لجين ITS لعزلة الفطر *G.applanatum*

No.	Query Coverage	E-value	Identity	Accession No.
<i>G. applanatum</i> strain HFJAU0343	100%	0.0	100.00%	MN258633.1
<i>G. applanatum</i> strain KA17-0004407	97%	0.0	99.28%	MN294816.1

في مايلي التتبعات النيكلوتيدية للعزلة

#### *G.applanatum*

GGTGGAAAGTAAAAGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGG  
ATCATTATCGAGTTATGTCTGGGTTGTAGCTGGCCTTCCGAGGCATGTGCA  
CGCCCTGCTCATCCACTCTACACCTGTGCACTTACTGTGGGTTTACGGGTC  
GTGAAACGGGCTCGTTTATTCGGGCTTGTGAGCGCACTTGTTCCTGCGT  
TTATCACAAACTCTATAAAGTATCAGAATGTGTATTGCGATGTAACGCATT  
TATATACAACTTTCAGCAACGGATCTCTTGGCTCTCGCATCGATGAAGAAC  
GCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCG  
AATCTTTGAACGCACCTTGCGCTCCTTGGTATTCCGAGGAGCATGCCTGTT  
TGAGTGTGCATGAAATTGAACGCACCTTGCCTCCTTGGTATTCCGAGGAGC  
ATGCCTGTTTGAGTGTGCATGAAATCTTCAATCTACAAACTTCTTATGGGGT  
TTGTAGGCTTGGACTTGGAGGCTGGTCCGTCCTTACAGGTCGGCTCCTA  
TTAAATGCATTAGCTTGGTTCCTTGCAGATCGGCTTGTGCGGTGTGATAATG  
TCTACCACGCGATCGTGAAGCGTGTGGGCGAGCTTCTAACCGTCTCGTT  
ACAGAGACAACTTTTATGACCTCTGACCTCAAATCAGGTAG

وجاءت الهوية الكاملة للعزلة بالكود العلمي G3 لتشهد انها تعود للنوع *Ganoderma* sp

نظرا للتطابق الذي ابدته التتابعات النيوكليوتيدية مع تتابعات السلالة الاساس *G.sp* strain 16SHD01-01 ذات الرقم التسلسلي MN911335.1 ، وبنسبة تطابق 99.69% . بينما بلغت نسبة التطابق 99.36% مع العزلة الاساس الصينية المودعة في بنك الجينات بالرقم التسلسلي MN911333.1، بتغيرات في اربع قواعد نيتروجينية، وتمت باستبدال القاعدة

النيتروجينية T بالقاعدة النيتروجينية C في الموقع 217، وحذف قاعدة نيتروجينية في الموقع 426، واستبدال القاعدة النيتروجينية C بالقاعدة النيتروجينية T في الموقع 529، واستبدال القاعدة النيتروجينية G بالقاعدة C في الموقع 635 وهو موضح في ملحق 1 والجدول 4-4.

#### جدول 4-4 التغيرات الوراثية لجين ITS لعزلة الفطر *G.sp*

NO.	Query Coverage	E-value	Identity	Accession No.
<i>G.sp</i> . strain 16SHD01-01	100%	0.0	99.69%	MN911335.1
<i>G. sp</i> . strain 16JL01-01	96%	0.0	99.36%	MN911333.1

في مايلي التتبعات النيكلوتيدية للعزلة

#### **G.sp**

CTCTTTTCCGTAGGGTGACCTGCGGAAGGATCATTATCGAGTTTTGACCGG  
GTTGTAGCTGGCCTTCCGAGGCATGTGCACGCCCTGCTCATCCACTCTACA  
CCTGTGCACTTACTGTGGGCTTCAGATTGCGAGGCACGCTCTTACCGGGC  
TTGCGGAGCATATCTGTGCCTGCGTTTATCACAACTCTATAAAGTAACAG  
AATGTGTATTGTGATGTAACACATCTATATACAACTTTCAGCAACGGATCT  
CTTGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTG  
AATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCCTCCT  
TGGTATTCCGAGGAGCATGCCTGTTTGTGAGTGTCATGAAATCTTCAACCTAC  
AAGCTTTTGTGGTTTGTAGCTTGGACTTGGAGGCTTGTGCGCCGTTATCGG  
TCGGCTCCTCTTAAATGCATTAGCTTGGTTCCTTGCAGGATCGGCTCTCGGT  
GTGATAATGTCTACGCCGCGACCGTGAAGCGTTTGGCGAGCTTCTAACCG  
TCTTATAAGACAGCTTTATGACCTCTGACCTCAAATCAGGTAGGACTACCC  
GCTGAACTTAAGCATATCAAAAGGCCGGAAGGAGGA.

وحققت العزلة بالكود العلمي G4 نسبة تطابق للتتابعات النيوكليوتيدية بلغت 100 % مع

السلالة المرجعية المودعة في بنك الجينات *Ganoderma oregonense* strain ASI 7049

ذات الرقم التسلسلي JQ520194.1، بينما ابدت العزلة الصينية المودعة في بنك الجينات بالرقم

التسلسلي MW748296.1 نسبة تطابق 99.53 % بتغيرات على مستوى ثلاث قواعد

نيتروجينية استبدلت فيها القاعدة النيتروجينية G في الموقع 228 بالقاعدة النيتروجينية A،

واستبدلت القاعدة النيتروجينية T في الموقع 522 بالقاعدة النيتروجينية A وفي الموقع 538

حدث استبدال للقاعدة النيتروجينية C بالقاعدة النيتروجينية T وهو موضح في ملحق 1 والجدول 5-4.

#### جدول 5-4 التغيرات الوراثية لجين ITS لعزلة الفطر *G.oregonense*

NO.	Query Coverage	E-value	Identity	Accession No.
<i>G. oregonense</i> strain ASI 7049	100%	0.0	100.00%	JQ520194.1
<i>G. oregonense</i> strain 2560	100%	0.0	99.53%	MW748296.1

في مايلي التتبعات النيكلوتيدية للعزلة

#### *G.oregonense*

TCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTATCGAGTTTTGACTGGGTTGTA  
GCTGGCCTCCCGAGGCATGTGCACGCCCTGCTCATCCACTCTACACCTGTG  
CACTTACTGTGGGCTTCAGACGTCGTGAAGCGGGCTCTTTACGGAGCTTGT  
AGAGCGTGTCTGTGCCTGCGTTTACCACAACTCTATAAAGTATTAGAATG  
TGTATTGCGATGTAACGCATCTATGTACAACCTTTCAGCAACGGATCTCTTG  
GCTCTCGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATT  
GCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCAGCTCCTTGGT  
ATTCCGAGGAGCATGCCTGTTTGTGAGTGTGCATGAAATCTTCAACTTACAAAC  
CTTTGCGGGTTTGTAGGCTTGGACTTGGAGGCTTGTGCGGCCGTGTTTCGGT  
CGGCTCCTCTTAAATGTATTAGCTTGATTCCCTTGCAGGATCGGCTCTCGGTG  
TGATAATGTCTACGCCGTGACCGTGAAGCGTTTTGGCGAGCTTCTAACCGT  
CTCGTTTGTGAGACAGCTTTATGACCTCTGACCTCAAATCAGGTAGGACTA  
CCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGA.

وجاء تشخيص العزلة بالكود العلمي G5 على انها تعود للنوع *G.cupreolaccatum* اذ

ابدت تطابقا بالتتابع النيوكليوتيدي مع السلالة المرجعية *Ganoderma cupreolaccatum*

strain CBS 221.48 المودعة بالرقم التسلسلي MH856316.1، وبنسبة 99.84 % وهي

السلالة الوحيدة المودعة في بنك الجينات من هولندا بحذف قاعدة نيتروجينية في الموقع 584

وهو موضح في ملحق 1 والجدول 4-6، وتظهر النتيجة انَّ تسجيل العزلة المحلية العراقية لهذا

النوع يأتي بالمرتبة الثانية على مستوى العالم في بنك الجينات.

جدول 4-6 التغيرات الوراثية لجين ITS لعزلة الفطر *G.cupreolaccatum*

NO.	Query Coverage	E-value	Identity	Accession No.
<i>G. cupreolaccatum</i> strain CBS 221.48	100%	0.0	99.84%	MH856316.1

في مايلي التتبعات النيكلوتيدية للعزلة

***G.cupreolaccatum***

CGTACCAAGGTTCCGGAAGGTAACCTGGCGAAGGATTCTTATTGAATTTT  
GGCCTGGTTGGAAGTGGCCCTTCGAGGCAAGGTCCAGCCCTGGTTATTCCC  
TTTTCCCCTGGTCCACTTATGGGGGGTTTAGGGGTCGCGAAACGGGCCCGT  
TTATTCGGGCTTGTTGAGCGCACTTGTTCCTGCGTTTATCACAACTCTA  
TAAAGTATTAGAATGTGTATTGCGATGTAACGCATCTATATACAACTTTCA  
GCAACGGATCTCTTGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGA  
TAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCA  
CCTTGCGCTCCTTGGTATTCCGAGGAGCATGCCTGTTTGAGTGTCATGAAA  
TCTTCAACCTACAAGCTTTTTGTGGTTCGTAGGCTTGGACTTGGAGGCTTG  
TCGGCCTTTGTCGGTTCGGCTCCTCTTAAATGTATTAGCTTGGTTCCTTGCGG  
ATCGGCTGTCGGTGTGATAATGTCTACTCCGCGACCGTGAAGCGTTTGGCA  
GGCTTCTAACCGTCTCGCTTTAGAGCAAATTTATGACCTCTGACCTCACAT  
GA

وبينت نتائج الاصطاف للعزلة الفطرية المحلية بالكود العملي G6 أنّها تعود للنوع *G.*

*tuberculosis* لكونها اعطت نسبة تطابق بلغت 100% مع السلالة الاساس *G.*

*tuberculosis* stain 324 Fl بالرقم التسلسلي MG654353.1 ، بينما حققت نتائج

الاصطاف نسبة تطابق 99.85% مع السلالة الاساس *G. tuberculosis* isolate PLM

540 ذات الرقم التسلسلي KY646216.1 التي عزلت من جنوب شرق الولايات المتحدة، وكان

التغاير بواقع قاعدة نيتروجينية واحدة اذ استبدل G بالقاعدة النيتروجينية U في الموقع 564 وهو

موضح في ملحق 1 والجدول 4-7 .

جدول 4-7 التغيرات الوراثية لجين ITS لعزلة الفطر *G. tuberculosum*

NO.	Query Coverage	E-value	Identity	Accession No.
<i>G.tuberculosum</i> stain 324FL	100%	0.0	100.00%	MG654353.1
<i>G. tuberculosum</i> strain PLM 540	100%	0.0	99.85%	KY646216.1

في مايلي التتبعات النيكلوتيدية للعزلة

***G. tuberculosum***

AAGTAAAAGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCAT  
TATCGAGTTTTGACTGGGTTGTAGCTGGCCTCCCGAGGCATGTGCACGCC  
TGCTCATCCACTCTACACCTGTGCACTCACTGTGGGCTTCAGATTGTCGTG  
AAGCGGGCTCCTTACCGGGCTTGTGAAGCGGTGTCTGTGCCTGCGTTTACT  
ACAAACTATTAAGTATCAGAATGTGTATTGCGATGTAACGCATCTATAT  
ACAACCTTCAGCAACGGATCTCTTGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGCAG  
CGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATC  
TTGAACGCACCTTGCCTCCTTGGTATTCCGAGGAGCATGCCTGTTTGAG  
TGTCATGAAATCTTCAACCTGCAAGCTTATGTGGTTTGTAGGCTTGGACTT  
GGAGGCTTTGTCGGCCATGCCCGGTCGGCTCCTCTCAAATGCATTAGCTTG  
GTTCTTGCAGGATCGGCTCTCGGTGTGATAATGTCTACGCCGTGACCGTGA  
AGCGTGTGGCGAGCTTCTAATCGTCTCGGTTAGAGACAGCTTTATGACCTC  
TGACCTCAAATCAGGTAGGACTACCCGCTGAACTTAAGCATA.

وظهر انَّ العزلة بالكود العلمي G7، وتعود للنوع *G.curtisii* والتي اظهرت نسبة تطابق عالية مع السلالة المرجعية *G.curtisii* strain 224FL ذات الرقم التسلسلي MG654168.1 ، وبنسبة 97.54%. وجاءت نسبة التطابق للتتابعات النيوكليوتيدية للعزلة المحلية مع العزلة المرجعية الامريكية *Ganoderma curtisii* strain BHA092809-5 ذات الرقم التسلسلي بنسبة MF773591.1 بنفس النسبة اعلاه بتغايرات تمثلت باضافة 10 قواعد نيتروجينية انحصرت بالموقع ما بين 257-267، وتغايرات بقاعدتين نيتروجينيتين في الموقعين 418، و 419 استبدلت فيها القاعدة النيتروجينية C بالقاعدة A، والقاعدة النيتروجينية A بالقاعدة C كما وجد تغاير بمقدار قاعدة نيتروجينية واحدة استبدل فيها G بالقاعدة T في الموقع 483 واستبدلت القاعدة H بالقاعدة G كما موضح في الملحق 1 والجدول 4-8.

جدول 4-8 التغيرات الوراثية لجين ITS لعزلة الفطر *G. curtisii*

NO.	Query Coverage	E-value	Identity	Accession No.
<i>G. curtisii</i> strain 224FL	100%	0.0	97.54%	MG654168.1
<i>G. curtisii</i> strain BHA092809-5	99%	0.0	97.74%	MF773591.1

في مايلي التتبعات النيكلوتيدية للعزلة

***G. curtisii***

TAGAGGAAGTAAAAGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAG  
GATCATTATCGAGTTTTGACCGGGTTGTAGCTGGCCTTCCGAGGCATGTGC  
ACGCCCTGCTCATCCACTCTACACCTGTGCACTTACTGTGGGCTTCAGATC  
GCGAGGCAGGCTCTTTACCGGGCTTGCGGAGCGCATCTGTGCCTGCGTTTA  
TCACAAACTCTATAAAGTAACAGAATGTGTATTGCGATGTAACGCATCTA  
TATAACAACGGATCTCTTGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATG  
CGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAAC  
GCACCTTGCGCTCCTTGGTATTCCGAGGAGCATGCCTGTTTGAGTGTGCATG  
AAATCTTCAACCTCAAAGCTTTTGTGGTTTGTAGGCTTGGACTTGGAGGCT  
TGTCGGCCGTTATTGGTCGGCTCCTCTGAAATGCATTAGCTTGGTTCCTTG  
CGGATCGGCTTTCGGTGTGATAATGTCTACGCCGCGACCGTGAAGCGTTTG  
GCGAGCTTCTAACCGTCTTATAGACAHCTTTATGACCTCTGACCTCAAATC  
AGGTAGGACTACCCATGAACTTAAGCATATT.

وسجلت العزلة المحلية بالكود العلمي G8 على أنها تعود للنوع *Ganoderma cf.*

*resinaceum* تبعا لنتائج الاصطافاف مع السلالة المرجعية *Ganoderma cf. resinaceum*

strain CMW50326، واعطت نسبة تطابق بلغت 98.43% بالرقم التسلسلي

MH571692.1 . في حين تحققت نسبة تطابق بلغت 98.25% مع السلالة المرجعية

*G. cf. resinaceum* strain CMW49711 ذات الرقم التسلسلي MH571691.1 المعزولة

في South Africa، وتمثلت التغيرات بعدم ارتباط قواعد نيتروجينية في الشريط المتمم في

الموقع 230-238، واستبدال القاعدة نيتروجينية C بالقاعدة T في الموقع 416 وهو موضح في

الملحق 1 والجدول 4-9 .

جدول 4- 9 التغيرات الوراثية لجين ITS لعزلة الفطر *G.cf.resinaceum*

NO.	Query Coverage	E-value	Identity	Accession No.
<i>G.cf. resinaceum</i> strain CMW50326	100%	0.0	98.43%	MH571692.1
<i>G.cf. resinaceum</i> strain CMW49711	98%	0.0	98.25%	MH571691.1

في مايلي التتبعات النيكلوتيدية للعزلة

***G. cf. resinaceum***

GCCTGCGGAAGGATCATTATCGAGTTTTGACTGGGTTGTAGCTGGCCTTCC  
GAGGCATGTGCACGCCCTGCTCATCCACTCTACACCTGTGCACTTACTGTG  
GGTTCCAGACGTTGTGAAGCGGGCTCCTTTACGGAGCTTTACGGAGCTTGT  
AAAGCGGCGTGCCTGTGCCTGCGTTTATCACAACTCTATAAAGTATTAG  
AATGTGTATTGCGATGTAACGCATCTATATACTTTTCAGCAACGGATCT  
CTTGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTG  
AATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCCTCCT  
TGGTATTCCGAGGAGCATGCCTGTTTGAGTGTGATGAAATCTTCAACTTAC  
AGACCTTTGCGGGTTTGTAGGCTTGGACTTGGAGGCTTGTGCGGCCGTGTTT  
TGGTCGGCTCCTCTTAAATGTATTAGCTTGATTCCTTGC GGATCGGCTCTC  
GGTGTGATAATGTCTACGCCGCGACCGTGAAGCGTTTTGGCGAGCTTCTA  
ACCGTCTCGTTTGTGAGACAGCTTTATGACCTCTGACCTCAAATCAGGTAG  
GACTACCCGCTGAACTTAAGCATATCAAA.

وحققت العزلة بالكود العلمي G9 نسبة تطابق بلغت 99.69 % مع السلالة المرجعية  
*Ganoderma adpersum* strain FBozok0505 ذات الرقم التسلسلي MT138615.1،  
وكانت نسبة التطابق مع السلالة الاساس الايطالية *Ganoderma adpersum* strain  
isolate GaTO00 ذات الرقم التسلسلي AM906057.1 بنسبة 97 % بتغيرات في عدة  
مواقع شملت استبدال قواعد نيتروجينية مختلفة اذ استبدلت القاعدتين النتروجينية في المواقع  
308، و 309، G، و C بالقاعدتين النتروجيتين C، و G على التوالي، وهو موضح في الملحق 1  
والجدول 4- 10.

جدول 4- 10 التغيرات الوراثية لجين ITS لعزلة الفطر *G.adspersum*

No.	Query Coverage	E-value	Identity	Accession No.
<i>G.adspersum</i> Strain FBozok0505	100%	0.0	99.69%	MT138615.1
<i>G. adspersum isolate</i> <i>GaTO00</i>	95%	0.0	97%	AM906057.1

في مايلي التتبعات النيكلوتيدية للعزلة

***G. adspersum***

CTTGGGCAATTTGGAGGAAGTAAAATTGGTACCAAGGTTTCGGTAGGGGA  
CCTTGGGGAAGGTTCTTTATGGAGTTTGGATTGGGTGGAAGCGGCCCTTAC  
GAGGCATGTGCACGCCCTGCTCATCCGCTCCTACACCTGTGCACTTACTGT  
GGGTTTACGAGTCGCGAAACAGGCCCGTTCATTCGGGCTTGTGGAGCGCA  
CTTGTTGCCTGCGTTTATCACAACTCTATAAAGTATTAGAATGTGTATTG  
CGATGTAACGCATCTATATACAACTTTCAGCAACGGATCTCTTGGCTCTCG  
CATGCATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAAT  
TCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCCTCCTTGGTATTCCGA  
GGAGCATGCCTGTTTGGAGTGTGATGAAATCTTCAACTTACGAGCTTCTTGC  
GAGGTTTGTAGGGTTGGACTTGGAGGCTTGTGCGGTCTTTAAAGGTCGGCTC  
CTCTTAAATGCATTAGCTTGGTTCCTTGCAGATCGGGTTGTGCGGTGTGATA  
ATGTCTACGCCGCGACCGTGAAGCGTTTGGCAAGCTTCTAACCGTCTCGGT  
ATAGAGACAAGTTTTATGACCTCTGACCTCAAATCAGG.

وجاءت الهوية الحقيقية للعزلة بالكود العلمي G10 لتشهد أنها تعود للنوع *G.lucidum*

نظرا لتطابق التتابعات النيوكليوتيدية لها مع تتابعات السلالة المرجعية *Ganoderma*

*lucidum* strain BEOFB 431 بنسبة 98.00% ، بينما اظهرت نتيجة الاصطاف مع

السلالة المرجعية البلغارية *Ganoderma lucidum* strain BEOFB 434 المودعة في بنك

الجينات بالرقم التسلسلي KX371596.1 نسبة 97.06% بتغايرات متعددة في القواعد

النيتروجينية، وبعدها مواقع اذ استبدلت القاعدة النيتروجينية T في الموقع 187 بالقاعدة النيتروجينية

A بينما تم استبدال القاعدة النيتروجينية T في الموقع 203 بالقاعدة النيتروجينية A، وفي الموقع

244 استبدلت ايضا القاعدة T بالقاعدة النيتروجينية A، في حين اضيفت القاعدة النيتروجينية G

في الموقع 325، واستبدلت القاعدة النتروجينية G بالقاعدة A في الموقع 425، واستبدلت القاعدة النتروجينية G بالقاعدة T عند الموقع 438، واستبدلت القاعدتين النتروجينيتين C و C بالقاعدتين النايتروجيتين A و A عند الموقع 446 و 447 على التوالي، كما استبدلت القاعدة النتروجينية G بالقاعدة النتروجينية A عند الموقع 474 واستبدلت كذلك القاعدة النتروجينية C بالقاعدة النتروجينية A عند الموقع 576، وحدث استبدال بالمواقع 585، و 586 للقاعدتين النتروجينيتين G، و G بالقاعدتين A و A على التوالي، وفي الموقع 595 استبدلت القاعدة النتروجينية C بالقاعدة A، في حين حُذفت القاعدة النتروجينية G في الموقع 611، واستبدلت القاعدة النتروجينية C بالقاعدة T عند الموقع 613 واخيرا استبدل القاعدة النتروجينية T بالقاعدة A عند الموقع 619 وهو موضح في الملحق 1 والجدول 4-11.

#### جدول 4- 11 التغيرات الوراثية لجين ITS لعزلة الفطر *G.lucidum*

NO.	Query Coverage	E-value	Identity	Accession No.
<i>G. lucidum</i> strain BEOFB 431	94%	0.0	98%	KX371594.1
<i>G. lucidum</i> strain BEOFB 434	94%	0.0	97.06%	KX371596.1

في مايلى التتبعات النيكلوتيدية للعزلة

#### *G.lucidum*

AATAAATTGGTGTCTACCTGATTTGAGGTCAGAGGTCATAAAGCTGTCTCA  
CAAACGAGACGGTTAGAAGCTCGCCAAAACGCTTCACGGTCGCGGCGTAG  
ACATTATCACACCGAGAGCCGATCCGCAAGGAATCAAGCTAATACATTTA  
AGAGGAGCCGACCAAAACACGGCCGACAAGCCTCCTAAGTCCAAGCCTA  
CTAACCCGCAAAGGTCTGTAAGTTGAAGATTTTCATGACACTCATAACAGGC  
ATGCTCCTCGGAATACCAAGGAGCGCAAGGTGCGTTCAAAGATTCGATGA  
TTCACTGAATTCTGCAATTCACATGTACTTATCGCATTTTCGCTGCGTTCTTC  
ATCGATGCGAGAGCCAAGAGATCCGTTGCTGAAAGTTGTATATAGATGCG  
TTACATCGCAATACACATTCTGATACTTTATAGAGGTTGTGATCCACGCAG  
GCGCAGGCACGCCGCTTTACGAGCTCCGTAAAGAGCCCGCTTCACAACGT  
CTGGAACCCACAGTAAGTGCACAGGTGTAGAGTGGATGAGCAGGGTGTGC  
ACATGCCTCGGAAGGCCAGTACCACCCAGTCGGAACCTCGATCATGATCC  
TTCCGCAGTCCCCCTTCGGA AAAAGGAAAATTTTGGGGTTTACTGG.

وفي محاولة لتفسير التغيرات التي ظهرت عند مقارنة التتابعات النيوكليوتيدية للعزلات الفطرية التي تم دراستها مع نظيراتها المودعة في بنك الجينات من مختلف دول العالم ، فهناك ما يثبت أنّ الظروف البيئية التي تنمو فيها الاجسام الثمرية للفطريات تلعب دورا كبيرا في احداث التغيرات، وهذا ما يوضح التتابعات التي اظهرت نسبة تطابق عالية جدا مع التتابعات المودعة في بنك الجينات عند المقارنة مع دول الجوار كتركيا، ودول شرق اسيا. ويمكن ان يعود السبب الى حجم الجين المضخم 630-650 زوجا قاعديا، لا تغطي كافة التغيرات للجين المستهدف (على الرغم من انه الجين الاساس الذي يبدي ثقته عالية في مختبرات البحث العلمي) مما ينعكس على تشخيص العزلات، ودرجة تطابق تتابعاتها النيوكليوتيدية مع التتابعات النيوكليوتيدية للعزلات المرجعية المودعة في بنك الجينات (Wu وآخرون، 2013).

تظهر تفاصيل البحث المنشور من قبل The، وآخرون (2019) استخدام جين ITS في التشخيص الجزيئي لعدة عزلات تابعة لجنس *Ganoderma* جُمعت من مناطق مختلفة من فيتنام. وحسبما اشار الباحث Luangharn وجماعته (2020) انه يمكن الاعتماد على جين ITS في التحري الجزيئي عن 8 عزلات تعود للنوع *G.gibbosum* جمعت اجسامها الثمرية من منطقة Yunnan Province الصينية. وحقق الجين ITS النتائج المرجوة في تشخيص 9 عزلات اثبتت عائديتها للنوع *G.resinaceum* عند مقارنة تتابعاتها النيوكليوتيدية مع التتابعات المودعة في بنك الجينات (Naplavova وآخرون، 2020)

ولاهمية اكتشاف هذه العزلات الفطرية ضمن الفطريات الكبيرة، وخاصة جنس *Ganoderma* جرت الاستعانة بقاعدة بيانات بنك الجينات التي تستمر بالنمو باطراد اذ تضاف انواع جديدة باستمرار بعد ان يقوم القائمون على بنك الجينات باعطاء التسلسل، ورقم ادخال للتسلسل بعد استلامه مؤكدين بذلك نجاح ايداعه في قاعدة البيانات، وتخضع مسبقا تلك التسلسلات للمراجعة من قبل فريق بنك الجينات قبل ادخالها لقاعدة البيانات، وعلى ضوءها تكون التسلسلات المودعة متاحة للباحثين على اعتبار انها نوع من النشر Research ؛ ولان ايداع التتابعات النيوكليوتيدية من متطلبات النشر العلمي في المجالات المحلية، والعالمية ،

اودعت التتابعات النيوكليوتيدية وتم تسجيلها في بنك الجينات (GeneBank) واعطاءها الهوية العلمية والمبين ادناه: - *G.resinacum* بالرقم التسلسلي MW471402 والعزلة *G.applanatum* بالرقم التسلسلي MW471403 والعزلة *G.sp* بالرقم التسلسلي MW471404 والعزلة *G.oregonense* بالرقم التسلسلي MW471405 والعزلة *G.cupreolaccatum* بالرقم التسلسلي MW471406 والعزلة *G.tuberculosis* بالرقم التسلسلي MW471407 والعزلة *G.curtisii* بالرقم التسلسلي MW471408 والعزلة *G.cf.resinaceum* بالرقم التسلسلي MW471409 والعزلة *G.adspersum* بالرقم التسلسلي MW471410 والعزلة *G.lucidum* بالرقم التسلسلي MW471411 كما في الملحق 2.

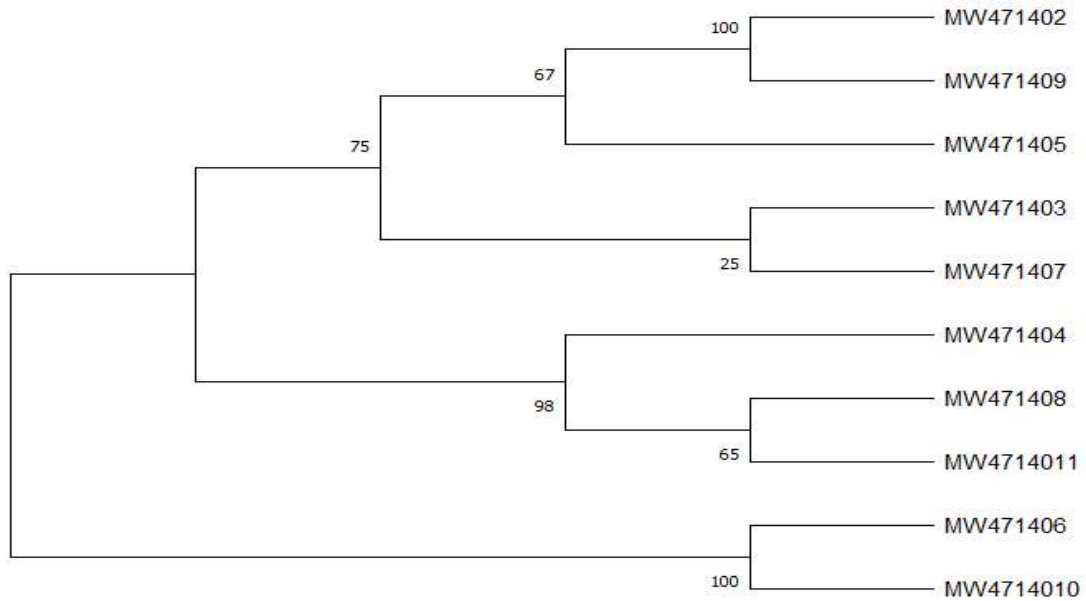
تبين ان العزلات الفطرية المستحصل عليها في هذه الدراسة تسجل لأول مرة في بنك الجينات على مستوى العراق، والوطن العربي على الرغم من ان العزلة *G.lucidum* وجدت في محافظة صلاح الدين في مزرعة تابعة لناحية العلم، الا أنه تم تشخيصها اعتمادا على الصفات المظهرية فقط، ولم تسجل في بنك الجينات (Al-Khesraji وآخرون، 2017)، والامر بالنسبة لعزلة الفطر ايضا *G.resinaceum*، فقد تمكنت (حسين ، 2020) من الحصول عليها في مزرعة تابعة لمنطقة الرشيدية الا انها لم تسجل في بنك الجينات لذا يعد هذا التسجيل الاولي للعزلات الفطرية المختلفة التي تم الحصول عليها.

#### 4-4 شجرة التقارب الوراثي

بعد ان سجلت العزلات المستحصل عليها في بنك الجينات NCBI، وبارقام تسلسلية لكل منها وهو موضح في الشكل 4-3، ومثبت في الملحق 2 لاعتمادها كعزلات مرجعية، رسمت شجرة التقارب الوراثي باستخدام البرنامج Mega-7، اذ تعقدت 5 عزلات تابعة للانواع *G.resinaceum* و *G.applanatum* و *G.oregonense* و *G.tuberculosis* و *G.cf.resinaceum* في العنقود الاول، وبنسبة تطابق 75 % مما يؤكد انها عزلات تعود لانواع مختلفة ، في حين تعقدت عزلات تابعة للانواع *Gaonderma.sp* و *G.curtisii* و *G.lucidum* في العنقود الثاني، وبنسبة تطابق 98 % في حين العنقود الثالث تضمنت عزلات تابعة للنوعين *G.cupreolaccatum*، و *G.adspersum* وبنسبة تطابق 100 %.

ان استخدام التقنيات المعتمدة على دراسة تتابع قواعد الحامض النووي DNA مثلت ثورة في الكشف عن التنوع الاحيائي ووفرت معلومات اضافية عن العلاقات التطورية للانواع المختلفة.

ونستعرض في دراسة النص الكامل للورقة العلمية المحكمة من قبل Utomo وآخرون (2005) من بناء شجرة التقارب الوراثي لعدة عزلات مختلفة تعود لجنس الجانودرما المسببة لتعفن الساق القاعدي لزيت النخيل بعد تشخيصها بالطرائق الجزيئية. وفي دراسة اجراءها Midot وآخرون (2019) بناء شجرة التقارب الوراثي 117 عزلة تعود للنوع *G.boninense* التي تم الحصول عليها من شجرة زيت النخيل، ومن مواقع مختلفة من مدينة Sarawak الماليزية. كما تمكن Haroun وآخرون (2020) من رسم شجرة التقارب الوراثي بعد الحصول على 12 عزلة فطرية تعود للنوع *G.lucidum* التي تم الحصول عليها في رحلة مسحية لمناطق مختلفة في مدينة Abuja في نيجيريا.



شكل 3-4 شجرة التقارب الوراثي والعلاقة التطورية للعزلات التابعة لجنس *Ganoderma*

المشخصة والمسجلة في بنك الجينات قيد الدراسة باستعمال برنامج Mega-7

#### 4-5 تشخيص الاحماض الدهنية بتقنية كروماتوغرافيا الغاز - السائل GLC(Gas Liquid chromatography) من العزلات الفطرية *G.curtisii* و

#### *G.oregonense* و *G.cupreolacatum*

بعد اجراء التحليل الكروماتوغرافي لمستخلصات الاحماض الدهنية بين التحليل الطيفي عن وجود عدة قمم مما يدل على غنى المستخلصات الفطرية بالاحماض الدهنية وتم التعرف عليها حسب زمن الاحتجاز لكل حامض دهني، ومطابقتها بزمن احتجاز العينة القياسية. وظهر التشخيص مطابقة الاحماض الدهنية المفصولة لعدد من الاحماض الدهنية القياسية في الجدول

4-12 Butyric acid بزمن احتجاز 3.485 دقيقة و Undecanoic acid بزمن احتجاز 4.786 دقيقة و Myristic بزمن احتجاز 5.486 دقيقة و Palmatic بزمن احتجاز 6.260 دقيقة و Hepadecanoic بزمن احتجاز 6.918 دقيقة و Stearic acid بزمن احتجاز 8.663 دقيقة و Elaidic acid بزمن احتجاز 9.904 دقيقة و Oleic acid بزمن احتجاز 10.731 دقيقة و Lenolic acid بزمن احتجاز 12.550 دقيقة و Arachidic acid بزمن احتجاز 14.184 دقيقة و Eicosenoic acid بزمن احتجاز 15.683 دقيقة و Linolenic acid بزمن احتجاز 16.308 دقيقة و Erucic acid بزمن احتجاز 17.041 دقيقة، و Arachidonic acid بزمن احتجاز 17.741 دقيقة و Tricosanoic acid بزمن احتجاز 18.294 دقيقة و Cisdocosadienoic بزمن احتجاز 19.517 دقيقة و Nervonoic بزمن احتجاز 20.008 دقيقة وقد جاءت هذه النتائج متوافقة مع نتائج عينات الدراسة للانواع الفطرية المدروسة وشملت من خلال الجداول 4-12 نجد احتواء مستخلصات الايثر البترولي والكلوروفورم والاسيتين وIMS والماء الحار على حامض Butyric acid عند زمن احتجاز 4.032 و 4.056 و 4.042 و 4.032 و 4.032 دقيقة وبتركيز 0.001287 و 0.000368 و 0.001262 و 0.001206 و 0.001963 ملغم/ غم على التوالي للفطر *G.curtisii* وكما اظهرت نتائج التشخيص وجود الحامض الدهني Myristic acid في مستخلصات الايثر البترولي والكلوروفورم والاسيتون وIMS والماء الحار عند زمن احتجاز 5.128 و 5.104 و 5.114 و

5.104 و 5.104 دقيقة وبتركيز 0.000399 و 0.000261 و 0.000908 و 0.000586 و 0.000589 ملغم/ غم على التوالي للفطر *G.curtisii* وكما اظهرت النتائج تواجد الحامض الدهني Palmatic acid في مستخلصات الايثر البترولي والكلوروفورم والاسيتون وIMS والماء الحار عند زمن احتجاز 6.382 و 6.356 و 6.369 و 6.360 و 6.360 دقيقة وبتركيز 0.000018 و 0.000010 و 0.000015 و 0.000017 و 0.000024 ملغم/غم على التوالي للفطر *G.curtisii* وكذلك اشارت نتائج التشخيص الكروماتوغرافي الى احتواء مستخلصات الايثر البترولي، والكلوروفورم، والاسيتون وIMS والماء الحار على الحامض الدهني Hepadecanoic acid عند زمن احتجاز 7.736 و 7.704 و 7.729 و 7.718 و 7.718 دقيقة وبتركيز 0.011900 و 0.007390 و 0.018564 و 0.018170 و 0.020645 ملغم/غم على التوالي للفطر *G.curtisii* واطهر التشخيص وجود الحامض الدهني Stearic acid في مستخلصات الايثر البترولي والكلوروفورم والاسيتون وIMS، والماء الحار عند زمن احتجاز 8.610 و 9.077 و 9.103 و 9.092 و 9.092 دقيقة وبتركيز 0.005612 و 0.000336 و 0.001042 و 0.000784 و 0.001067 ملغم/ غم على التوالي للفطر *G.curtisii* وتبين وجود الحامض الدهني Oleic acid في مستخلصات الايثر البترولي والكلوروفورم والاسيتون وIMS والماء الحار عند زمن احتجاز 10.44 و 10.427 و 10.459 و 10.437 و 10.437 دقيقة وبتركيز 0.000594 و 0.000395 و 0.001006 و 0.000449 و 0.000759 ملغم/ غم على التوالي للفطر *G.curtisii* واطهر النتائج الى وجود الحامض الدهني Lenolic acid في مستخلصات الايثر البترولي والكلوروفورم والاسيتون وIMS والماء الحار عند زمن احتجاز 13.020 و 12.994 و 13.005 و 12.991 و 12.991 دقيقة وبتركيز 0.000394 و 0.000288 و 0.000160 و 0.000529 و 0.000493 ملغم/ غم على التوالي للفطر *G.curtisii* اظهر التشخيص وجود الحامض الدهني Arachidic acid في مستخلصات الايثر البترولي والكلوروفورم والاسيتون وIMS والماء الحار عند زمن احتجاز 14.224 و 14.198 و 14.204 و 14.192 و 14.192 دقيقة وبتركيز 0.000221 و 0.000178 و 0.000354 و 0.000317 و 0.000287 ملغم/ غم على التوالي للفطر

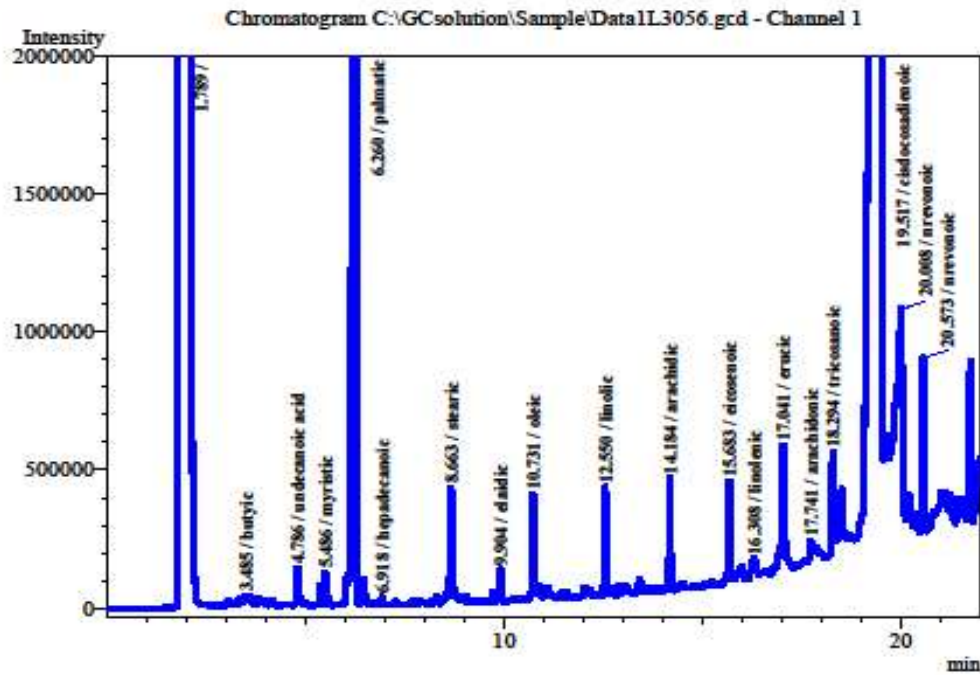
*G.curtisii* ويظهر من التشخيص وجود الحامض الدهني Eicosenoic acid في مستخلصات الايثر البترولي والكلوروفورم والاسيتون وIMS والماء الحار عند زمن احتجاز 15.383 و15.353 و15.353 و15.342 و15.340 دقيقة وبتركيز 0.000122 و0.000100 و0.000208 و0.000175 و0.000006 ملغم/ غم على التوالي للفطر *G.curtisii* ويظهر من الجدول وجود الحامض الدهني Linolenic acid في مستخلصات الايثر البترولي والكلوروفورم والاسيتون وIMS والماء الحار عند زمن احتجاز 16.480 و16.454 و16.451 و16.438 و16.438 دقيقة وبتركيز 0.000201 و0.000328 و0.000298 و0.000302 و0.000230 ملغم/ غم على التوالي للفطر *G.curtisii* واثبت التشخيص وجود الحامض الدهني Arachidonic acid في مستخلصات الايثر البترولي والكلوروفورم والاسيتون وIMS والماء الحار عند زمن احتجاز 17.510 و17.517 و17.544 و17.496 و17.496 دقيقة وبتركيز 0.000256 و0.000293 و0.000142 و0.000249 و0.000246 ملغم/ غم على التوالي للفطر *G.curtisii* واثبت التشخيص وجود الحامض الدهني Tricosanoic acid في مستخلصات الايثر البترولي والكلوروفورم والاسيتون وIMS والماء الحار عند زمن احتجاز 18.510 و18.509 و18.521 و18.531 و18.559 دقيقة وبتركيز 0.000083 و0.000047 و0.000070 و0.000256 و0.000014 ملغم/ غم على التوالي للفطر *G.curtisii* واثارت نتائج الجداول 4-12 وجود الحامض الدهني docosadienoic acid في مستخلصات الايثر البترولي والكلوروفورم والاسيتون وIMS والماء الحار عند زمن احتجاز 19.480 و19.480 و19.494 و19.504 و19.531 دقيقة وبتركيز 0.000007 و0.000003 و0.000007 و0.000007 و0.000002 ملغم/ غم على التوالي للفطر *G.curtisii* وكذلك اظهر التشخيص وجود الحامض الدهني Nervonoic acid في مستخلصات الايثر البترولي والكلوروفورم والاسيتون وIMS والماء الحار عند زمن احتجاز 20.464 و20.439 و20.428 و20.413 و20.413 دقيقة وبتركيز 0.000009 و0.000005 و0.000011 و0.000006 و0.000004 ملغم/ غم على التوالي للفطر *G.curtisii* ويظهر من التشخيص وجود الحامض الدهني Erucic acid في مستخلص الايثر

البترولي فقط عند زمن احتجاز 17.323 دقيقة وبتركيز 0.000061 ملغم/ غم وعدم وجوده في بقية المستخلصات للفطر *G.curtisii* ومن النتائج المستحصل عليها تبين ان استخدام نظام المذيبات المتعاقبة لفصل المركبات يكون اكثر فعالية في فصل الاحماض الدهنية، وان ظهور الاحماض الدهنية لا يتوقف على مذيب واحد اذ يمكن ان يظهر في اكثر من مذيب تبعا لتوافق قطبية المركبات الدهنية لقطبية المذيب فقد تبين من النتائج انّ *Elaidic* و *Undecanoic acid* لم يظهروا في جميع المستخلصات الفطرية لهذا الفطر بينما الحامض الدهني *Erucic acid* وجد فقط في مستخلص الايثر البترولي للفطر *G.curtisii*.

بينت دراسات سابقة ومنها دراسة Usman، وآخرون (2012) توفر عدد من الاحماض الدهنية في الجسم الثمري للفطر *G.lucidum* فقد كانت بنسبة 30.25%. وسجل Obodai، وآخرون (2017) عند التحليل الكروماتوغرافي للاحماض الدهنية بتقنية GC وجود عدة احماض دهنية في مستخلص الاجسام الثمرية بدلالة زمن الاحتجاز، وكان محتوى الدهون في الفطر منخفضا بشكل عام، ويتراوح من 0.6% الى 3.2%.

جدول ( 12-4 ) الأحماض الدهنية الفطر *Grutisii* الشخصية بتقنية GLC

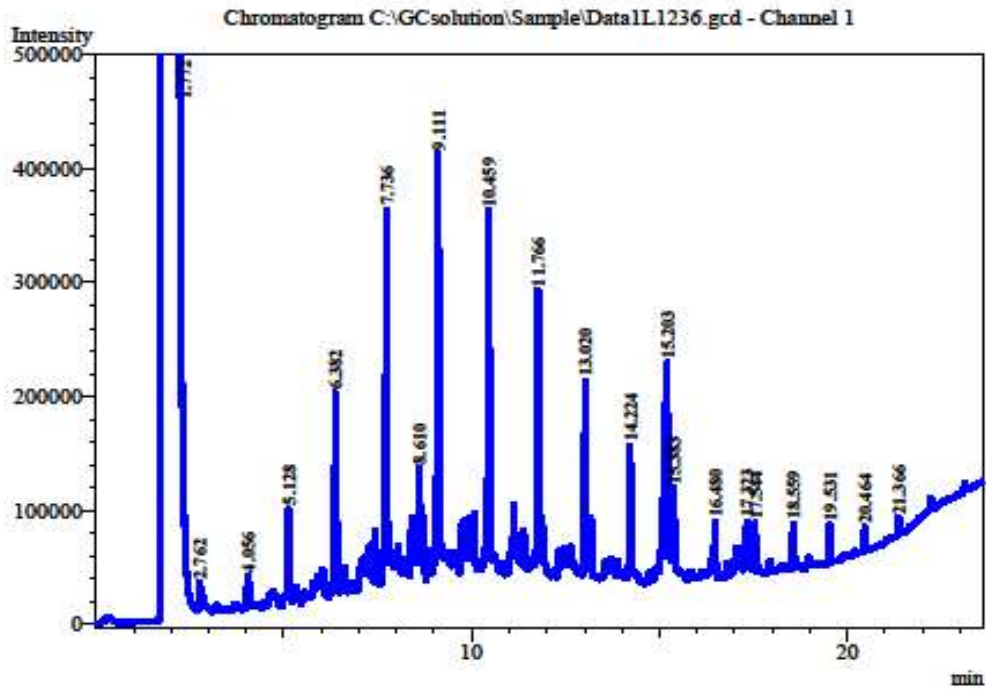
ت	مركبات الأحماض الهوية القياسية	زمن الاحتجاز القياسي (دقيقة)	الأيثر البترولي		الكلورفورم		الاستون		IMMS		المستخلص العائلي		
			زمن الاحتجاز (دقيقة)	التركز ملغم/غم	زمن الاحتجاز (دقيقة)	التركز ملغم/غم	زمن الاحتجاز (دقيقة)	التركز ملغم/غم	زمن الاحتجاز (دقيقة)	التركز ملغم/غم	زمن الاحتجاز (دقيقة)	التركز ملغم/غم	
.1	Butyric acid	3.485	0.001287	4.056	0.000368	4.032	0.001262	4.042	0.001963	4.032	0.001206	4.032	0.001963
.2	Undecanoic	4.786	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
.3	Myristic acid	5.486	0.000399	5.128	0.000261	5.104	0.000908	5.114	0.000589	5.104	0.000586	5.104	0.000589
.4	Palmitic acid	6.260	0.000018	6.382	0.000010	6.356	0.000015	6.369	0.000024	6.360	0.000017	6.360	0.000024
.5	Hepadecanoic	6.918	0.011900	7.736	0.007390	7.704	0.018564	7.729	0.020645	7.718	0.018170	7.718	0.020645
.6	Stearic acid	8.663	0.005612	8.610	0.0003386	9.077	0.001042	9.103	0.001067	9.092	0.000784	9.092	0.001067
.7	Elaidic acid	9.904	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
.8	Oleic acid	10.731	0.000594	10.459	0.000395	10.427	0.001006	10.448	0.000759	10.437	0.000449	10.437	0.000759
.9	Linoleic acid	12.550	0.000394	13.020	0.000288	12.994	0.000160	13.005	0.000493	12.991	0.000529	12.991	0.000493
.10	Arachidic acid	14.184	0.000221	14.224	0.000178	14.198	0.000354	14.204	0.000287	14.192	0.000317	14.192	0.000287
.11	Eicosenoic acid	15.683	0.000122	15.383	0.000100	15.353	0.000208	15.353	0.000006	15.342	0.000175	15.342	0.000006
.12	Linolenic	16.308	0.000328	16.480	0.000201	16.454	0.000298	16.451	0.000230	16.438	0.000302	16.438	0.000230
.13	Erucic acid	17.041	0.000061	17.323	--	--	--	--	--	--	--	--	--
.14	Arachidonic	17.741	0.000249	17.544	0.000142	17.517	0.000293	17.510	0.000246	17.496	0.000256	17.496	0.000246
.15	Tricosanoic	18.294	0.000083	18.559	0.000047	18.531	0.000070	18.521	0.000014	18.509	0.000066	18.509	0.000014
.16	docosadienoic	19.517	0.000007	19.531	0.000003	19.504	0.000007	19.494	0.000002	19.480	0.000007	19.480	0.000002
.17	Nervonic	20.008	0.000009	20.464	0.000005	20.439	0.000011	20.428	0.000004	20.413	0.000006	20.413	0.000004



Peak Table - Channel 1

Peak#	Ret Time	Area	Area%	Height	Name
1	1.789	8757736973	96.5758	479923849	
2	3.485	78248	0.0020	17354	butyric
3	4.786	446524	0.0115	123856	undecanoic acid
4	5.486	498134	0.0128	111467	myristic
5	6.260	24476180	0.6291	4119974	palmitic
6	6.918	53932	0.0014	27438	heptadecanoic
7	8.663	1139321	0.0293	366464	stearic
8	9.904	283710	0.0073	113578	elaidic
9	10.731	1006479	0.0259	366429	oleic
10	12.550	841200	0.0216	351995	linolic
11	14.184	1099883	0.0283	404266	arachidic
12	15.683	1081835	0.0278	355923	eicosenoic
13	16.308	469989	0.0121	64080	linolenic
14	17.041	1863019	0.0479	425211	erucic
15	17.741	341981	0.0088	61968	arachidonic
16	18.294	1261425	0.0324	346168	tricosanoic
17	19.517	91285767	2.3461	7436458	cisdocosadienoic
18	20.008	5090487	0.1308	630853	nervonoic
19	20.573	1915554	0.0492	625830	nervonoic
<b>Total</b>		<b>8890970641</b>	<b>100.0000</b>	<b>495873161</b>	

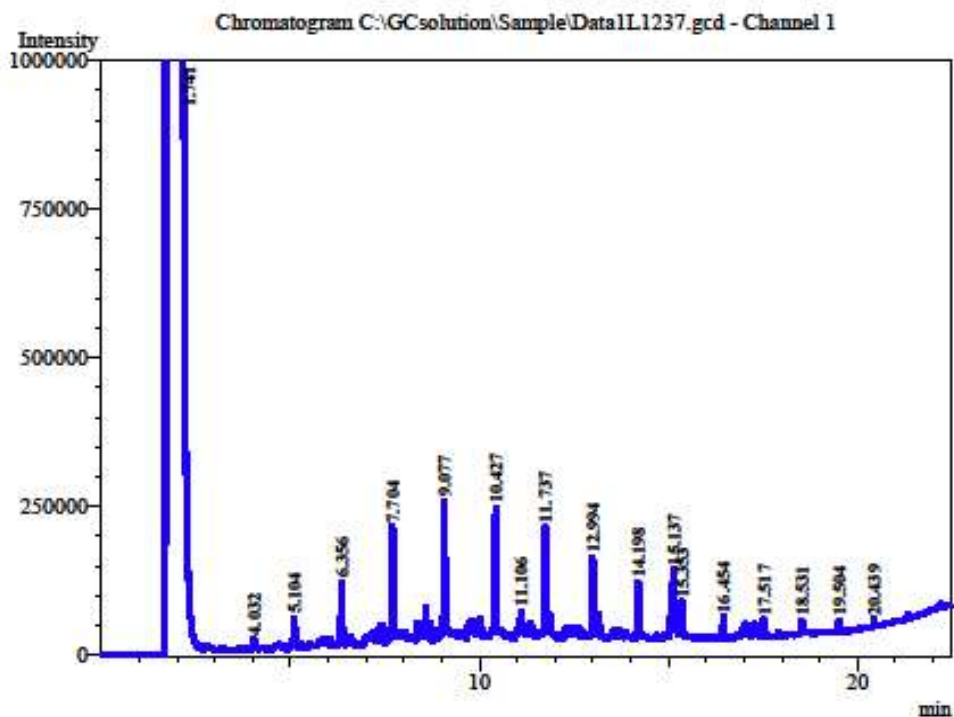
شكل 4-4 المنحني القياسي للاحماض الدهنية بتقنية GLC



Peak Table - Channel 1

Peak#	Ret.Time	Area	Area%	Height	Name
1	1.772	666545930	98.9575	58304368	
2	2.762	101759	0.0151	21051	
3	4.056	125890	0.0187	26641	
4	5.128	248718	0.0369	72564	
5	6.382	576471	0.0856	172008	
6	7.736	802247	0.1191	296401	
7	8.610	162401	0.0241	71293	
8	9.111	906259	0.1345	340232	
9	10.459	748406	0.1111	293509	
10	11.766	536524	0.0797	223885	
11	13.020	414637	0.0616	163140	
12	14.224	304954	0.0453	110740	
13	15.203	1171131	0.1739	176243	
14	15.383	165071	0.0245	65166	
15	16.480	192871	0.0286	46809	
16	17.323	143508	0.0213	38746	
17	17.544	106593	0.0158	41565	
18	18.559	131249	0.0195	38750	
19	19.531	81697	0.0121	33087	
20	20.464	59016	0.0088	21247	
21	21.366	42560	0.0063	14399	
<b>Total</b>		<b>673567892</b>	<b>100.0000</b>	<b>60571844</b>	

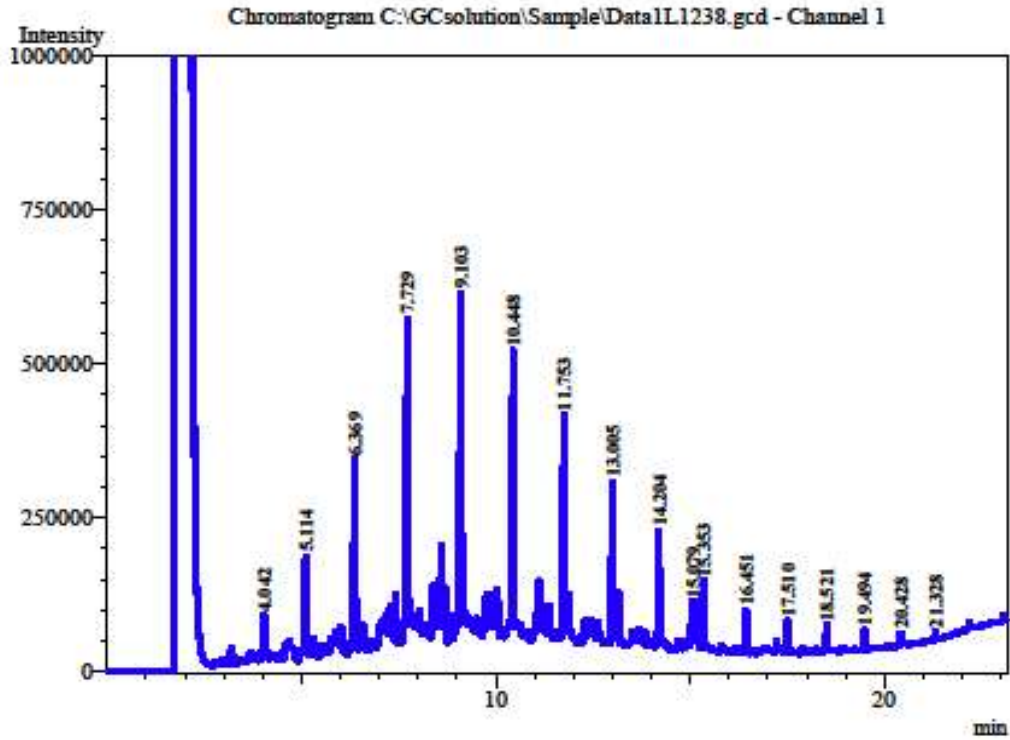
شكل 4-5 منحنى للاحماض الدهنية لمستخلص البتروليوم ايثر للفطر *G. curtisii*



Peak Table - Channel 1

Peak#	Ret.Time	Area	Area%	Height	Name
1	1.741	758584917	99.5137	63533311	
2	4.032	36083	0.0047	12614	
3	5.104	162931	0.0214	47048	
4	6.356	327922	0.0430	103340	
5	7.704	498231	0.0654	178740	
6	9.077	479259	0.0629	199881	
7	10.427	497012	0.0652	202282	
8	11.106	146593	0.0192	35169	
9	11.737	426359	0.0559	169963	
10	12.994	303083	0.0398	125386	
11	14.198	245625	0.0322	92142	
12	15.137	112728	0.0148	39184	
13	15.353	136286	0.0179	53962	
14	16.454	118099	0.0155	34904	
15	17.517	60808	0.0080	25887	
16	18.531	74958	0.0098	22873	
17	19.504	45072	0.0059	18318	
18	20.439	36030	0.0047	11852	
<b>Total</b>		<b>762291996</b>	<b>100.0000</b>	<b>64906856</b>	

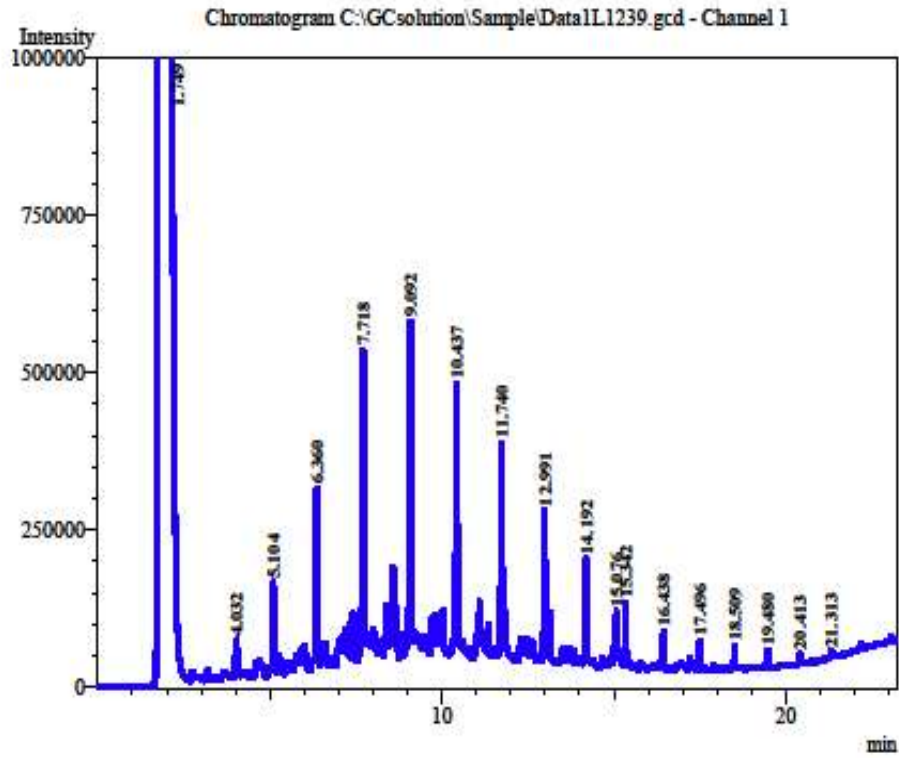
شكل 4-6 منحنى الاحماض الدهنية لمستخلص الكلوروفورم للفطر *G. curtisii*



Peak Table - Channel 1

Peak#	Ret Time	Area	Area%	Height	Name
1	4.042	123475	1.6681	36609	
2	5.114	565652	7.6416	153518	
3	6.369	471631	6.3715	184367	
4	7.729	1251511	16.9072	441312	
5	9.103	1484419	20.0537	499393	
6	10.448	1266563	17.1106	437860	
7	11.753	689650	9.3168	305993	
8	13.005	169136	2.2849	131175	
9	14.204	486872	6.5774	179133	
10	15.079	5636	0.0761	3230	
11	15.353	282576	3.8174	106321	
12	16.451	175583	2.3720	66459	
13	17.510	125672	1.6978	50176	
14	18.521	110503	1.4928	40985	
15	19.494	80113	1.0823	32189	
16	20.428	73789	0.9969	20006	
17	21.328	39454	0.5330	12790	
<b>Total</b>		<b>7402235</b>	<b>100.0000</b>	<b>2701516</b>	

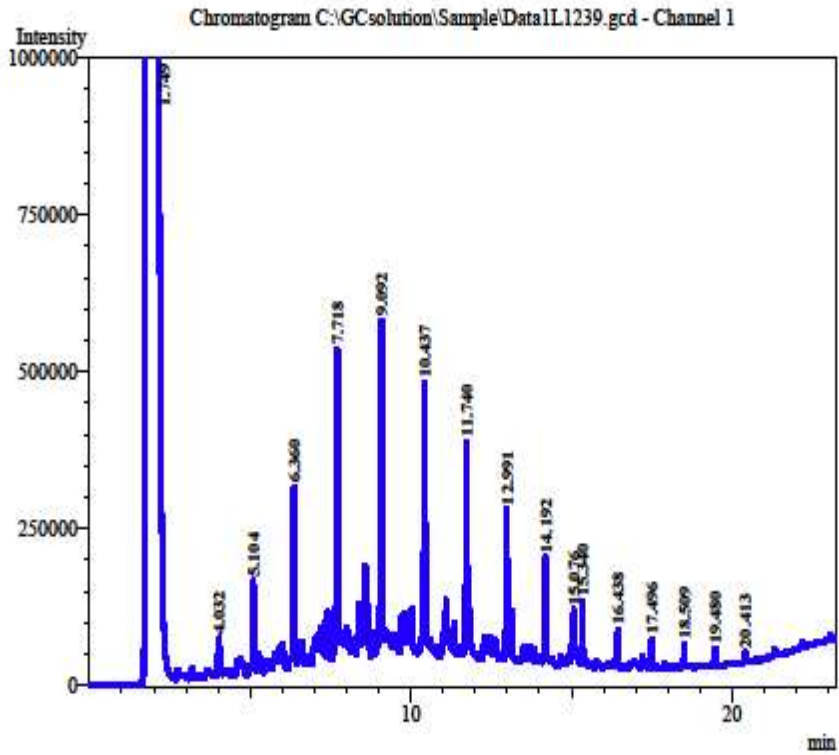
شكل 4-7 المنحني للاحماض الدهنية لمستخلص الاسيتون للفطر *G. curtisii*



Peak Table - Channel 1

Peak#	Ret. Time	Area	Area%	Height	Name
1	1.749	750434091	99.1141	64223973	
2	4.032	118045	0.0156	37276	
3	5.104	365261	0.0482	116096	
4	6.360	534588	0.0706	208719	
5	7.718	1224964	0.1618	428862	
6	9.092	1116941	0.1475	451530	
7	10.437	565082	0.0746	282964	
8	11.740	702703	0.0928	279132	
9	12.991	556971	0.0736	218224	
10	14.192	436977	0.0577	161439	
11	15.076	299221	0.0395	71568	
12	15.342	237595	0.0314	95764	
13	16.438	177529	0.0234	60298	
14	17.496	109845	0.0145	44150	
15	18.509	104296	0.0138	36996	
16	19.480	80848	0.0107	26694	
17	20.413	42546	0.0056	15884	
18	21.313	33924	0.0045	9741	
<b>Total</b>		<b>757141427</b>	<b>100.0000</b>	<b>66769310</b>	

شكل 4-8 منحنى للاحماض الدهنية لمستخلص IMS للفظر *G. curtisii*



Peak Table - Channel 1

Peak#	Ret.Time	Area	Area%	Height	Name
1	1.749	746176071	99.0282	64197722	
2	4.032	192083	0.0255	49178	
3	5.104	367223	0.0487	119136	
4	6.360	739848	0.0982	250645	
5	7.718	1391808	0.1847	447893	
6	9.092	1520161	0.2017	505847	
7	10.437	956078	0.1269	384540	
8	11.740	674788	0.0896	297206	
9	12.991	518956	0.0689	208859	
10	14.192	395498	0.0525	154002	
11	15.076	247110	0.0328	66918	
12	15.340	-8465	-0.0011	8137	
13	16.438	135480	0.0180	56341	
14	17.496	105417	0.0140	42938	
15	18.509	23430	0.0031	14075	
16	19.480	33323	0.0044	16839	
17	20.413	29585	0.0039	13337	
<b>Total</b>		<b>753498394</b>	<b>100.0000</b>	<b>66833613</b>	

شكل 4-9 منحنى اللاحماض الدهنية لمستخلص المائي للفطر *G. curtisii*

ومن خلال الجدول 4-13 نجد احتواء مستخلصات الايثر البترولي والكلوروفورم والاسيتون وIMS والماء الحار على حامض Butyric acid عند زمن احتجار 4.056 و4.032 و4.056 و4.032 و4.056 دقيقة وبتركيز 0.000670 و0.000292 و0.000670 و0.001850 و0.001307 ملغم/ غم على التوالي للفطر *G.cupreolaccatum* واحتواء مستخلصات الايثر البترولي والكلوروفورم والاسيتون وIMS والماء الحار على حامض الدهني Myristic acid عند زمن احتجاز 5.128 و5.104 و5.128 و5.104 و5.128 دقيقة وبتركيز 0.000145 و0.000161 و0.000305 و0.000363 و0.000056 ملغم/ غم على التوالي للفطر *G.cupreolaccatum* كما احتوت مستخلصات الايثر البترولي والكلوروفورم والاسيتون وIMS والماء الحار على الحامض الدهني Palmitic acid عند زمن احتجاز 6.382 و6.356 و6.382 و6.360 و6.382 بتركيز 0.000014 و0.000003 و0.000012 و0.000013 و0.000006 ملغم/ غم على التوالي للفطر *G.cupreolaccatum* وكما احتوت مستخلصات الايثر البترولي والكلوروفورم والاسيتون وال IMS والماء الحار على الحامض الدهني Hepadecanoic acid عند زمن احتجاز 7.736 و7.704 و7.736 و7.718 و7.736 دقيقة وبتركيز 0.013713 و0.005676 و0.011900 و0.015551 و0.004273 ملغم / غم على التوالي للفطر *G.cupreolaccatum* كما احتوت مستخلصات الايثر البترولي والكلوروفورم والاسيتون وIMS والماء الحار على الحامض الدهني Stearic acid عند زمن احتجاز 9.111 و9.077 و9.111 و9.092 و9.111 دقيقة وبتركيز 0.000639 و0.000336 و0.000523 و0.000720 و0.000274 ملغم / غم على التوالي للفطر *G.cupreolaccatum*، كما احتوت مستخلصات الايثر البترولي والكلوروفورم والاسيتون وIMS والماء الحار على الحامض الدهني Oleic acid عند زمن احتجاز 10.459 و10.427 و10.459 و10.437 و10.459 دقيقة وبتركيز 0.000625 و0.000237 و0.000610 و0.000833 و0.000444 ملغم / غم على التوالي للفطر *G.cupreolaccatum* كما احتوت مستخلصات الايثر البترولي والكلوروفورم والاسيتون وIMS والماء الحار على الحامض الدهني Lenolic acid عند زمن احتجاز 13.020 و

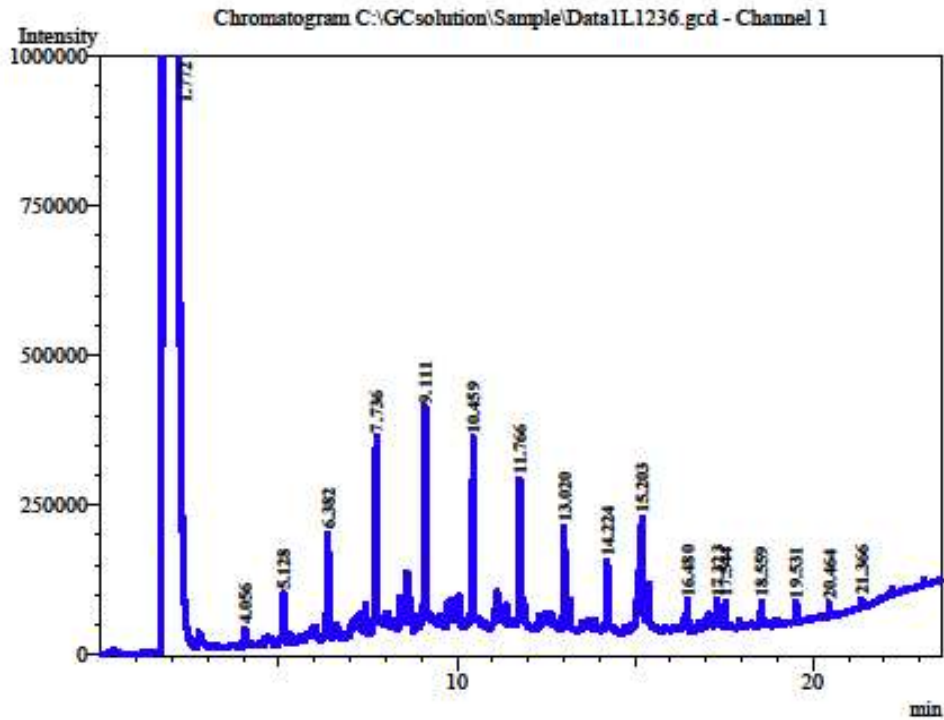
12.994 و 13.020 و 12.991 و 13.020 دقيقة وبتركيز 0.000234 و 0.000216 و 0.000227 و 0.000030 و 0.000008 ملغم / غم على التوالي للفطر *G.cupreolaccatum*، كما احتوت مستخلصات الايثر البترولي والكلوروفورم والاسيتون وIMS والماء الحار على الحامض الدهني Arachide acid عند زمن احتجاز 14.224 و 14.192 و 14.224 و 198.14 دقيقة وبتركيز 0.000152 و 0.000134 و 0.000177 و 0.000212 و 0.000178 ملغم / غم على التوالي للفطر *G.cupreolaccatum*، كما احتوت مستخلصات الايثر البترولي والكلوروفورم والاسيتون وIMS والماء الحار على الحامض الدهني Eicosenoic acid عند زمن احتجاز 15.203 و 15.353 و 15.203 و 15.342 و 15.383 دقيقة وبتركيز 0.000637 و 0.000069 و 0.000302 و 0.000080 و 0.000062 ملغم / غم على التوالي للفطر *G.cupreolaccatum*، واحتوت مستخلصات الايثر البترولي والكلوروفورم والاسيتون وIMS والماء الحار على الحامض الدهني Linolenic acid عند زمن احتجاز 16.454 و 16.480 و 16.480 و 16.438 و 16.480 دقيقة وبتركيز 0.000112 و 0.000128 و 0.000295 و 0.000148 و 0.000336 ملغم / غم على التوالي للفطر *G.cupreolaccatum*، وكذلك احتوت مستخلصات الايثر البترولي والكلوروفورم والاسيتون وIMS والماء الحار على الحامض الدهني Arachidonic acid عند زمن احتجاز 17.517 و 17.544 و 17.496 و 17.544 دقيقة وبتركيز 0.000188 و 0.000093 و 0.000114 و 0.000192 و 0.000132 ملغم / غم على التوالي للفطر *G.cupreolaccatum*، كما احتوت مستخلصات الايثر البترولي والكلوروفورم والاسيتون وIMS والماء الحار على الحامض الدهني Tricosanoic acid عند زمن احتجاز 18.531 و 18.559 و 18.509 و 18.559 دقيقة وبتركيز 0.000054 و 0.000033 و 0.000054 و 0.000192 و 0.000054 ملغم / غم على التوالي للفطر *G.cupreolaccatum*، واحتوت مستخلصات الايثر البترولي والكلوروفورم والاسيتون وIMS والماء الحار على الحامض الدهني Decosadienoic acid عند زمن احتجاز 19.531 و 19.504 و 19.531 و 19.480 و 19.531 دقيقة وبتركيز 0.000007 و 0.0000004 و

0.0000007 و 0.0000004 و 0.0000006 ملغم/ غم على التوالي للفطر *G.cupreolaccatum*، واحتوت مستخلصات الايثر البترولي والاسيتون وIMS والماء الحار على الحامض الدهني Nervonic acid عند زمن احتجاز 20.464 و 20.464 و 20.413 و 20.464 دقيقة وبتركيز 0.000008 و 0.000007 و 0.000004 و 0.000004 ملغم/غم على التوالي للفطر *G.cupreolaccatum* تبين عدم وجوده في مستخلص الكلوروفورم، كذلك اظهرت النتائج احتوت مستخلصات الايثر البترولي والكلوروفورم والاسيتون والماء الحار على الحامض الدهني Erucic acid عند زمن احتجاز 17.323 و 17.032 و 17.323 و 17.323 دقيقة وبتركيز 0.000044 و 0.000016 و 0.000040 و 0.000044 ملغم/غم على التوالي للفطر *G.cupreolaccatum*، وتبين عدم وجوده في مستخلص IMS فقط.

بينت النتائج عدم وجود الاحماض الدهنية Undecaonic acid و Elaidic acid على الاطلاق في جميع المستخلصات في الفطر بينما الحامض الدهني Nervonic acid لم يظهر في مستخلص الكلوروفوم فقط والحامض الدهني Erucic acid لم يظهر في المستخلص IMS فقط، واكد Slynko وآخرون (2017) انَّ مستخلصات الاجسام الثمرية لانواع الفطر جانودرما منها *G.lucidum* و *G. oregonense* و *G. resinacium* غنية بالاحماض الدهنية وتختلف حسب كل نوع وحسب نوع المذيب المستخدم في عملية الفصل، كما توصل Dogam و Akbas سنة (2013) الى وجود احماض دهنية اساسية في المستخلصات المختلفة من عزلة الفطر *Amanita*.

جدول ( 4-13) الأحماض الدهنية للقطر *G.cupreolacatum* المشخصة بتقنية GLC

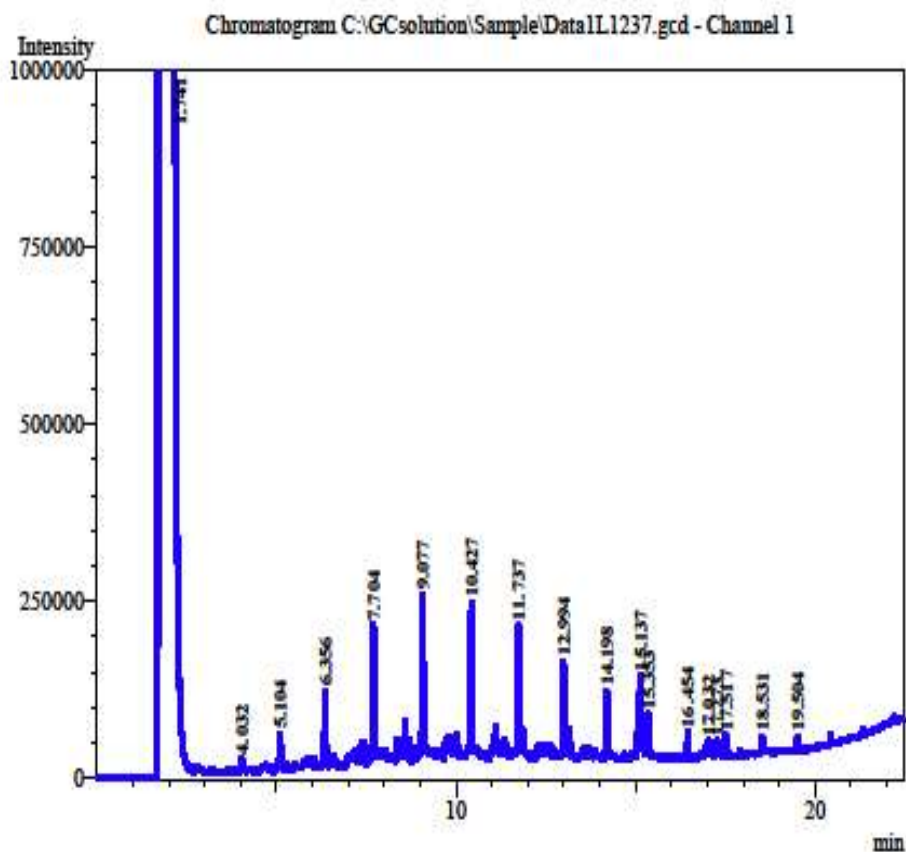
ت	مركبات الأحماض الدهنية القياسية	زمن الاحتجاز (دقيقة)	الأبزر التكراري		العلور فورم		الاستيون		IMS		المستخلص العائلي	
			زمن الاحتجاز (دقيقة)	التوكيز ملغم/غم	زمن الاحتجاز (دقيقة)	التوكيز ملغم/غم	زمن الاحتجاز (دقيقة)	التوكيز ملغم/غم	زمن الاحتجاز (دقيقة)	التوكيز ملغم/غم	زمن الاحتجاز (دقيقة)	التوكيز ملغم/غم
.1	Butyric acid	3.485	4.056	0.000670	4.032	0.000292	4.056	0.000670	4.032	0.001850	4.032	0.001307
.2	Undecanoic	4.786	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
.3	Myristic acid	5.486	5.128	0.000145	5.104	0.000161	5.128	0.000305	5.104	0.000363	5.104	0.000056
.4	Palmatic acid	6.260	6.382	0.000014	6.356	0.000003	6.382	0.000012	6.382	0.000013	6.360	0.000006
.5	Hepadecanoic	6.918	7.736	0.013713	7.704	0.005676	7.736	0.011900	7.736	0.015551	7.718	0.004273
.6	Stearic acid	8.663	9.111	0.000639	9.077	0.000336	9.111	0.000523	9.111	0.000720	9.092	0.000274
.7	Elaidic acid	9.904	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
.8	Oleic acid	10.731	10.459	0.000625	10.427	0.000237	10.459	0.000610	10.459	0.000833	10.437	0.000444
.9	Lenolic acid	12.550	13.020	0.000234	12.994	0.000216	13.020	0.000227	13.020	0.000030	12.991	0.000008
.10	Arachidic acid	14.184	14.224	0.000152	14.198	0.000134	14.224	0.000177	14.224	0.000212	14.192	0.000178
.11	Eicosenoic acid	15.683	15.203	0.000637	15.353	0.000069	15.203	0.000302	15.203	0.000080	15.342	0.000062
.12	Linolenic	16.308	16.480	0.000112	16.454	0.000128	16.480	0.000295	16.480	0.000148	16.438	0.000336
.13	Erucic acid	17.041	17.323	0.000044	17.032	0.000016	17.323	0.000040	---	---	---	0.000044
.14	Arachidonic	17.741	17.544	0.000188	17.517	0.000093	17.544	0.000114	17.544	0.000192	17.496	0.000132
.15	Tricosanoic	18.294	18.559	0.000054	18.531	0.000033	18.559	0.000054	18.559	0.000043	18.509	0.000054
.16	docosadienoic	19.517	19.531	0.000007	19.504	0.000004	19.531	0.000007	19.531	0.000004	19.480	0.000006
.17	Nervonic	20.008	20.464	0.000008	---	---	20.464	0.000007	20.464	0.000004	20.413	0.000004



Peak Table - Channel 1

Peak#	Ret Time	Area	Area%	Height	Name
1	1.772	665318791	99.1560	58091631	
2	4.056	65613	0.0098	18258	
3	5.128	90538	0.0135	38451	
4	6.382	457866	0.0682	156283	
5	7.736	924504	0.1378	301853	
6	9.111	910941	0.1358	339639	
7	10.459	786787	0.1173	299273	
8	11.766	600781	0.0895	233869	
9	13.020	246616	0.0368	118896	
10	14.224	209907	0.0313	91358	
11	15.203	862189	0.1285	160129	
12	16.480	66098	0.0099	26598	
13	17.323	103658	0.0154	33971	
14	17.544	80541	0.0120	36262	
15	18.559	86411	0.0129	35128	
16	19.531	86165	0.0128	33503	
17	20.464	53678	0.0080	20930	
18	21.366	30774	0.0046	13050	
<b>Total</b>		670981858	100.0000	60049082	

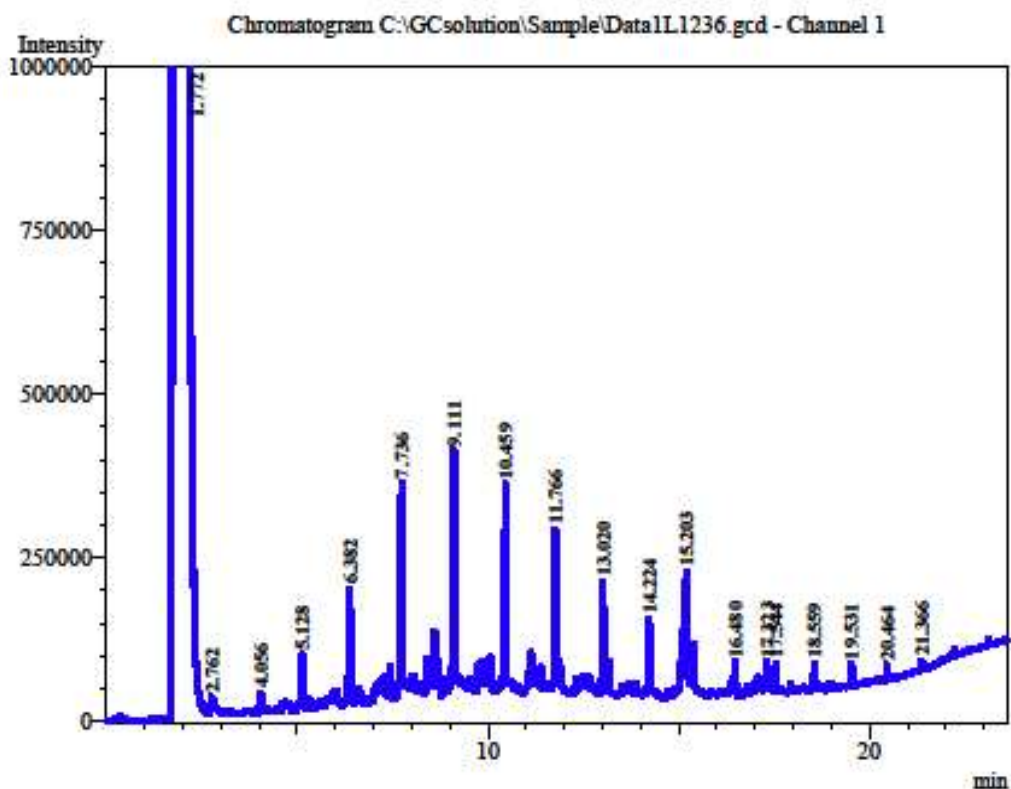
شكل 10-4 منحنى للاحماض الدهنية لمستخلص البتروليوم ايثر للفظ *G. cupreolaccatum*



Peak Table - Channel 1

Peak#	Ret Time	Area	Area%	Height	Name
1	1.741	749675971	99.6508	63251691	
2	4.032	28630	0.0038	9981	
3	5.104	100766	0.0134	36405	
4	6.356	105293	0.0140	51669	
5	7.704	382708	0.0509	159189	
6	9.077	479259	0.0637	199881	
7	10.427	299200	0.0398	146570	
8	11.737	197502	0.0263	101907	
9	12.994	227854	0.0303	108802	
10	14.198	184458	0.0245	81646	
11	15.137	245578	0.0326	69204	
12	15.353	94557	0.0126	44674	
13	16.454	75237	0.0100	28666	
14	17.032	38699	0.0051	11679	
15	17.273	28265	0.0038	12123	
16	17.517	40074	0.0053	20152	
17	18.531	52319	0.0070	20892	
18	19.504	46933	0.0062	18541	
<b>Total</b>		<b>752303303</b>	<b>100.0000</b>	<b>64373672</b>	

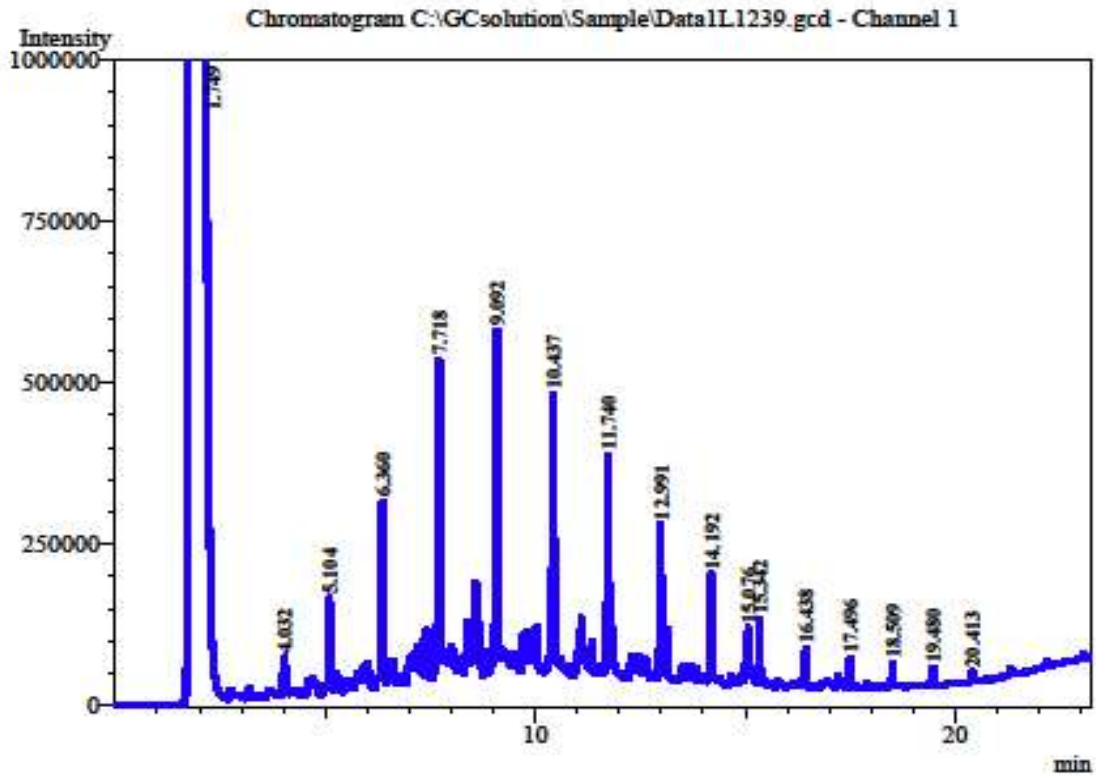
شكل 4-11 منحنى للاحماض الدهنية لمستخلص الكلوروفورم للفظر *G. cupreolaccatum*



Peak Table - Channel 1

Peak#	Ret Time	Area	Area%	Height	Name
1	1.772	665970403	99.2906	58100682	
2	2.762	97498	0.0145	21139	
3	4.056	65613	0.0098	18258	
4	5.128	190059	0.0283	60645	
5	6.382	389253	0.0580	140608	
6	7.736	802247	0.1196	288081	
7	9.111	744878	0.1111	306698	
8	10.459	768436	0.1146	296258	
9	11.766	253261	0.0378	133833	
10	13.020	238696	0.0356	117774	
11	14.224	244145	0.0364	101445	
12	15.203	409187	0.0610	91269	
13	16.480	173885	0.0259	45831	
14	17.323	94071	0.0140	32411	
15	17.544	49029	0.0073	26203	
16	18.559	86411	0.0129	35128	
17	19.531	86479	0.0129	33547	
18	20.464	45904	0.0068	19285	
19	21.366	18855	0.0028	9580	
<b>Total</b>		<b>670728310</b>	<b>100.0000</b>	<b>59878675</b>	

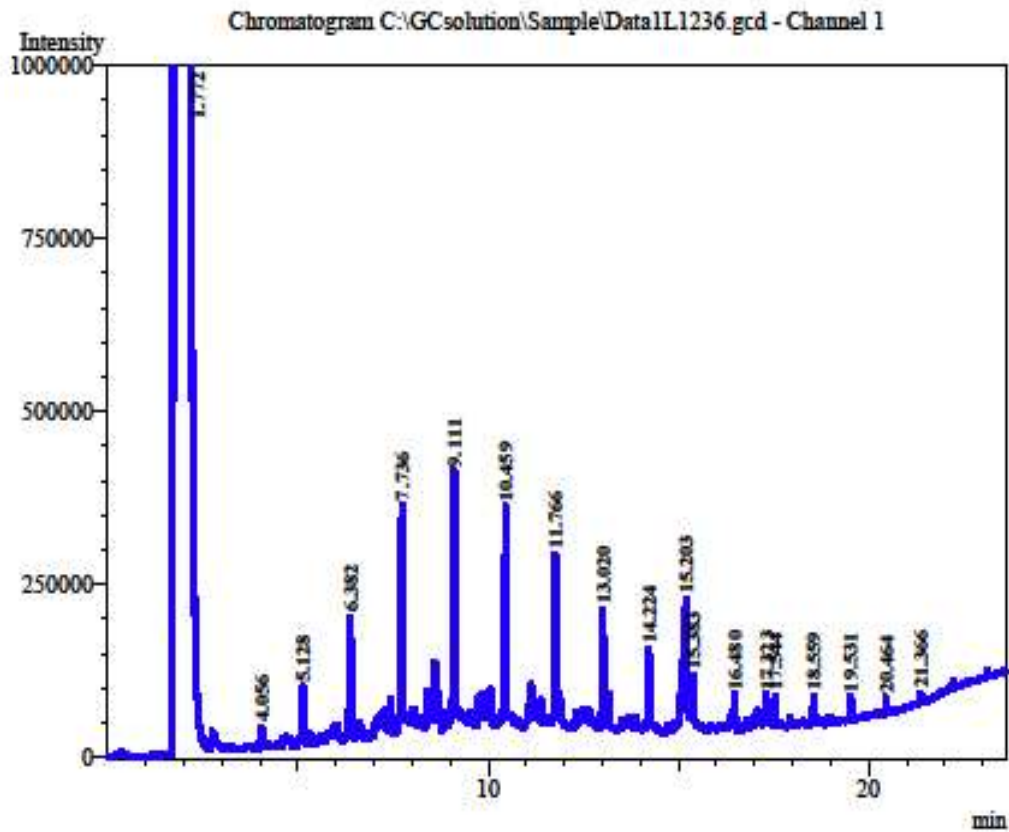
شكل 4-12 منحنى للاحماض الدهنية لمستخلص الاسيتون للفطر *G. cupreolaccatum*



Peak Table - Channel 1

Peak#	Ret. Time	Area	Area%	Height	Name
1	1.749	748119894	99.2642	64208009	
2	4.032	180996	0.0240	47726	
3	5.104	226327	0.0300	88129	
4	6.360	408102	0.0541	166886	
5	7.718	1048396	0.1391	384695	
6	9.092	1026671	0.1362	435717	
7	10.437	1047998	0.1391	393531	
8	11.740	594159	0.0788	262423	
9	12.991	32246	0.0043	58291	
10	14.192	292253	0.0388	135455	
11	15.076	255674	0.0339	64250	
12	15.342	109028	0.0145	63670	
13	16.438	87378	0.0116	43964	
14	17.496	82456	0.0109	37673	
15	18.509	68559	0.0091	31280	
16	19.480	55942	0.0074	23701	
17	20.413	29585	0.0039	13337	
<b>Total</b>		<b>753665664</b>	<b>100.0000</b>	<b>66458737</b>	

شكل 4-13 منحنى للاحماض الدهنية لمستخلص IMS للفطر *G. cupreolaccatum*



Peak Table - Channel 1

Peak#	Ret.Time	Area	Area%	Height	Name
1	1.772	665923073	99.4472	58098706	
2	4.056	127841	0.0191	26679	
3	5.128	35088	0.0052	14010	
4	6.382	195879	0.0293	88808	
5	7.736	288108	0.0430	193653	
6	9.111	391082	0.0584	192331	
7	10.459	558943	0.0835	255851	
8	11.766	314310	0.0469	170993	
9	13.020	8935	0.0013	35273	
10	14.224	245219	0.0366	102005	
11	15.203	871984	0.1302	146455	
12	15.383	85096	0.0127	43328	
13	16.480	197751	0.0295	47608	
14	17.323	103658	0.0155	33971	
15	17.544	56463	0.0084	29107	
16	18.559	86233	0.0129	34951	
17	19.531	78635	0.0117	32182	
18	20.464	26639	0.0040	13794	
19	21.366	29961	0.0045	12935	
<b>Total</b>		<b>669624898</b>	<b>100.0000</b>	<b>59572640</b>	

شكل 4-14 منحنى الاحماض الدهنية لمستخلص المائي للفطر *G. cupreolaccatum*

كما اثبتت النتائج احتواء مستخلصات الايثر البترولي والكلوروفورم والاسيتون وIMS والماء الحار على حامض Butyric acid عند زمن احتجاز 4.032 و 4.032 و 4.056 و 4.032 و 4.032 دقيقة وبتركيز 0.000358 و 0.001540 و 0.000866 و 0.000458 و 0.001469 ملغم /غم على التوالي للفطر *G.oregonense* واحتواء مستخلصات الايثر البترولي والكلوروفورم والاسيتون وIMS والماء الحار على حامض الدهني Myristic acid عند زمن احتجاز 5.104 و 5.104 و 5.128 و 5.104 و 5.104 دقيقة وبتركيز 0.000179 و 0.000243 و 0.000385 و 0.000102 و 0.000450 ملغم / غم على التوالي للفطر *G.oregonense*، و احتوت مستخلصات الايثر البترولي والكلوروفورم والاسيتون وIMS والماء الحار على الحامض الدهني Palmatic acid عند زمن احتجاز 6.360 و 6.382 و 6.356 و 6.360 ملغم /غم على التوالي للفطر *G.oregonense*، واحتوت مستخلصات الايثر البترولي والكلوروفورم والاسيتون والـ IMS والماء الحار على الحامض الدهني Hepadecanoic acid عند زمن احتجاز 7.704 و 7.718 و 7.736 و 7.718 و 7.704 دقيقة وبتركيز 0.003097 و 0.015551 و 0.009543 و 0.006702 و 0.020016 ملغم /غم على التوالي للفطر *G.oregonense*، واحتوت مستخلصات الايثر البترولي والكلوروفورم والاسيتون وIMS والماء الحار على الحامض الدهني Stearic acid عند زمن احتجاز 9.077 و 9.092 و 9.111 و 9.077 و 9.092 دقيقة وبتركيز 0.000235 و 0.000981 و 0.000439 و 0.000380 و 0.000714 ملغم /غم على التوالي للفطر *G.oregonense*، واحتوت مستخلصات الايثر البترولي والكلوروفورم والاسيتون والـ IMS والماء الحار على الحامض الدهني Oleic acid عند زمن احتجاز 10.427 و 10.437 و 10.459 و 10.427 و 10.437 دقيقة وبتركيز 0.000210 و 0.000541 و 0.000475 و 0.000412 و 0.000521 ملغم /غم على التوالي للفطر *G.oregonense*، واحتوت مستخلصات الايثر البترولي والكلوروفورم والاسيتون وIMS والماء الحار على الحامض الدهني Lenolic acid عند زمن احتجاز 12.994 و 12.991 و 13.020 و 12.991 و 12.994 دقيقة وبتركيز 0.000293 و 0.000443 و 0.000052 و 0.000084 و 0.000284 ملغم /غم على

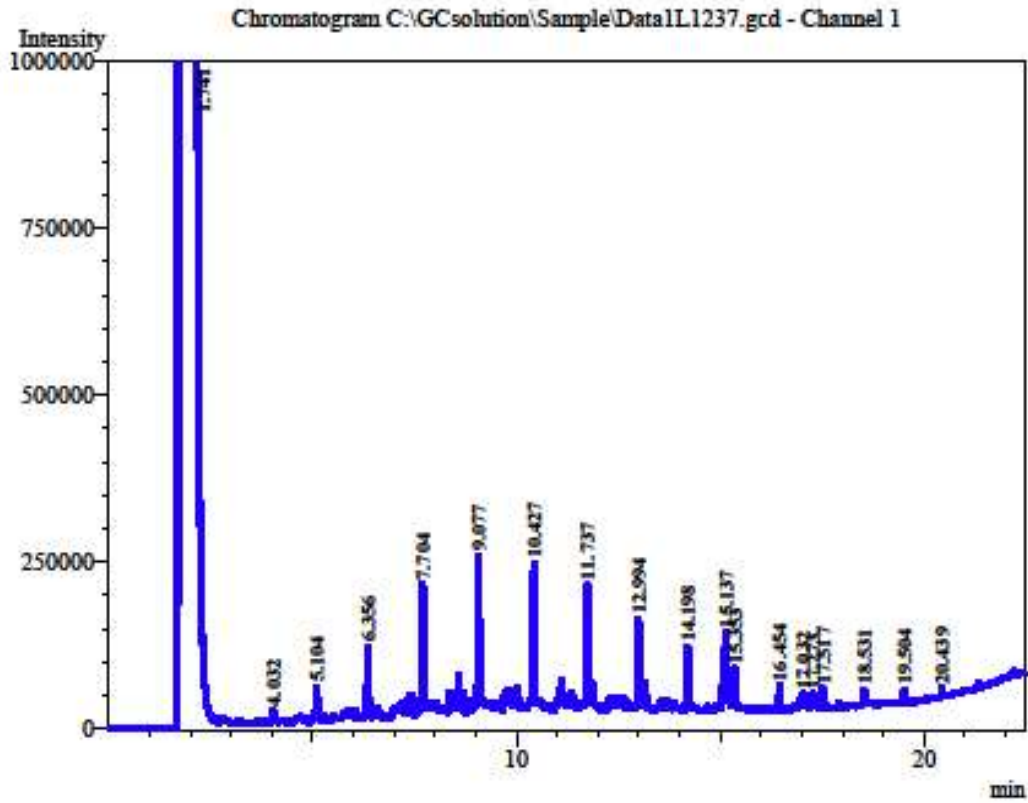
التوالي للفطر *G.oregonense*، و احتوت مستخلصات الايثر البترولي والكلوروفورم والاسيتون وIMS والماء الحار على الحامض الدهني Arachidic acid عند زمن احتجاز 14.198 و 14.192 و 14.224 و 14.198 و 14.192 دقيقة وبتركيز 0.000133 و 0.000182 و 0.000318 و 0.000132 و 0.000206 ملغم / غم على التوالي للفطر *G.oregonense*، و احتوت مستخلصات الايثر البترولي والكلوروفورم والاسيتون وIMS والماء الحار على الحامض الدهني Eicosenoic acid عند زمن احتجاز 15.342 و 15.353 و 15.203 و 15.342 و 15.353 دقيقة وبتركيز 0.000095 و 0.000085 و 0.000318 و 0.000051 و 0.000136 ملغم / غم على التوالي للفطر *G.oregonense*، و احتوت مستخلصات الايثر البترولي والكلوروفورم والاسيتون وIMS والماء الحار على الحامض الدهني Linolenic acid عند زمن احتجاز 16.438 و 16.454 و 16.480 و 16.438 و 16.454 دقيقة وبتركيز 0.000107 و 0.000208 و 0.000240 و 0.000162 و 0.000212 ملغم / غم على التوالي للفطر *G.oregonense*، وكما احتوت مستخلصات الايثر البترولي والكلوروفورم والاسيتون وIMS والماء الحار على الحامض الدهني Arachidonic acid عند زمن احتجاز 17.496 و 17.517 و 17.544 و 17.496 و 17.517 دقيقة وبتركيز 0.000165 و 0.000192 و 0.000071 و 0.000140 و 0.000238 ملغم / غم على التوالي للفطر *G.oregonense*، و احتوت مستخلصات الايثر البترولي والكلوروفورم والاسيتون وIMS والماء الحار على الحامض الدهني Tricosanoic acid عند زمن احتجاز 18.531 و 18.509 و 18.559 و 18.531 و 18.509 دقيقة وبتركيز 0.000034 و 0.000014 و 0.000046 و 0.000036 و 0.000037 ملغم / غم على التوالي للفطر *G.oregonense*، و احتوت مستخلصات الايثر البترولي والكلوروفورم والاسيتون وIMS والماء الحار على الحامض الدهني Decosadienoic acid عند زمن احتجاز 19.504 و 19.480 و 19.531 و 19.504 و 19.480 دقيقة وبتركيز 0.0000003 و 0.0000002 و 0.0000005 و 0.0000002 و 0.0000004 ملغم / غم على التوالي للفطر *G.oregonense*، و احتوت مستخلصات الايثر البترولي والكلوروفورم والاسيتون والماء الحار على الحامض الدهني

Nervonic acid عند زمن احتجاز 20.439 و 20.413 و 20.464 و 20.413 دقيقة وبتراكيز 0.000002 و 0.000006 و 0.000007 و 0.000002 ملغم / غم على التوالي للفطر *G.oregonense* حيث تبين عدم وجوده في مستخلص IMS ، واحتوت مستخلصات الايثر البترولي والاسيتون و IMS على الحامض الدهني Erucic acid عند زمن احتجاز 17.032 و 17.323 و 17.032 دقيقة وبتراكيز 0.000020 و 0.000036 و 0.000019 ملغم / غم على التوالي للفطر *G.oregonense* وتبين عدم وجوده في مستخلص الكلورفورم والماء الحار، بينت النتائج عدم وجود الاحماض الدهنية Undecaonic acid و Elaidic acid على الاطلاق في جميع المستخلصات في الفطر بينما الحامض الدهني Nervonic acid لم يظهر في مستخلص IMS فقط والحامض الدهني Erucic acid لم يظهر في كلا المستخلصين الكلورفورم و IMS.

بينت النتائج احتواء المستخلصات الفطرية للفطريات الثلاثة المدروسة على احماض دهني بمختلف التراكيز كلا حسب نوع الفطر ونوع المذيب المستخدم قد يعود السبب الى اختلاف المركبات العضوية التي ينمو عليها الفطر او يعود الى عوامل وراثية (Hyde واخرون، 2018). وفي دراسة اجراها الباحث Rawat واخرون (2012) بين توفر عدد من الاحماض الدهنية في الجسم الثمري للفطر *G. lucidum* وهذه الاحماض (احماض دهنية اساسية) تنتمي Omega 3 حيث تسهم في خفض الكوليسترول في الدم و كذلك تخفف ضغط الدم وتحسن الدماغ والجهاز العصبي.

جدول ( 4-14) الأحماض الدهنية للقطر *G.oregonense* المشخصة بتقنية GLC

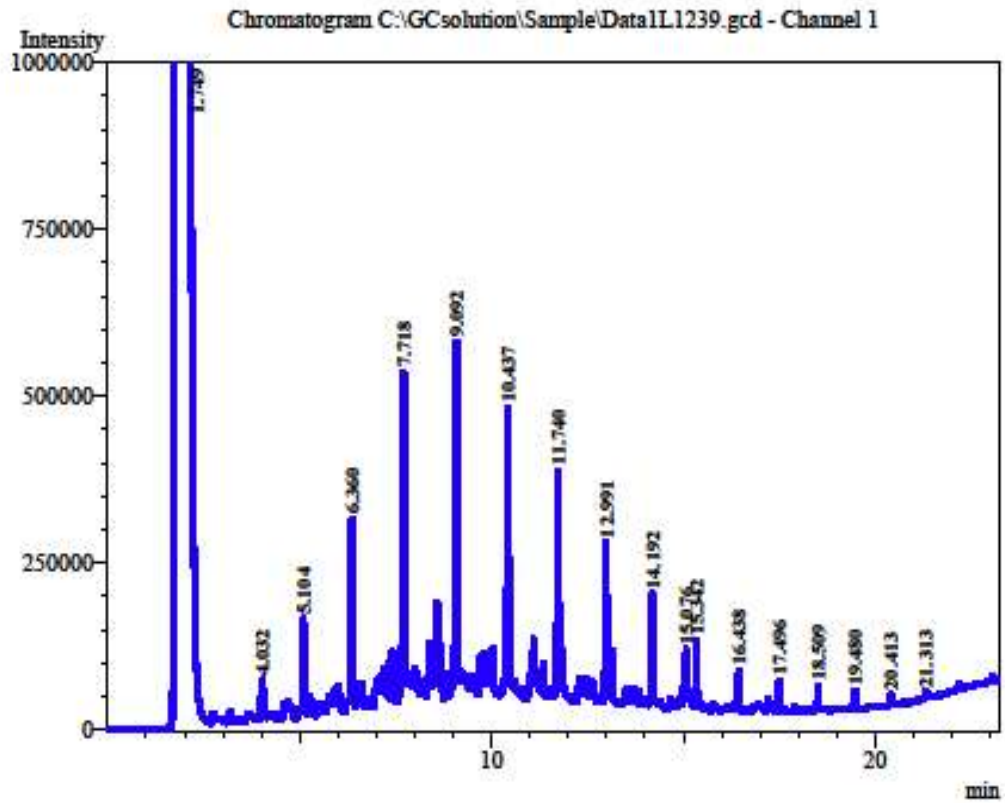
ت	مركبات الأحماض الدهنية القياسية	زمن الاحتجاز القياسي (دقيقة)	الأيون التبرولي			الكروماتوغرام			المستخلص العالي		
			الايون التبرولي	زمن الاحتجاز (دقيقة)	التكبير ملغم/غم	زمن الاحتجاز (دقيقة)	التكبير ملغم/غم	زمن الاحتجاز (دقيقة)	التكبير ملغم/غم	زمن الاحتجاز (دقيقة)	التكبير ملغم/غم
1	Butyric acid	3.485	0.000358	4.032	0.001540	0.000866	4.032	0.000458	4.032	0.001469	4.032
2	Undecanoic	4.786	---	---	---	---	---	---	---	---	---
3	Myristic acid	5.486	0.000179	5.104	0.000243	0.000385	5.128	0.000102	5.104	0.000450	5.104
4	Palmitic acid	6.260	0.000003	6.360	0.000022	0.000006	6.382	0.000008	6.356	0.000024	6.360
5	Hepadecanoic	6.918	0.003097	7.704	0.015551	0.009543	7.736	0.006702	7.704	0.020016	7.718
6	Stearic acid	8.663	0.000235	9.077	0.000981	0.000439	9.111	0.000380	9.077	0.000714	9.092
7	Elardic acid	9.904	---	---	---	---	---	---	---	---	---
8	Oleic acid	10.731	0.000210	10.427	0.000541	0.000475	10.459	0.000412	10.427	0.000521	10.437
9	Lenoic acid	12.550	0.000293	12.994	0.000443	0.00052	13.020	0.000084	12.994	0.000284	12.991
10	Arachidic acid	14.184	0.000133	14.198	0.000182	0.000205	14.224	0.000139	14.198	0.000206	14.192
11	Eicosenoic acid	15.683	0.000095	15.353	0.000085	0.000318	15.203	0.000051	15.137	0.000136	15.342
12	Linolenic	16.308	0.000107	16.454	0.000208	0.000240	16.480	0.000162	16.454	0.000212	16.438
13	Erucic acid	17.041	0.000020	17.032	---	0.000036	17.323	0.000019	17.032	---	---
14	Arachidonic	17.741	0.000165	17.517	0.000192	0.000071	17.544	0.000140	17.517	0.000238	17.496
15	Triosanoic	18.294	0.000034	18.531	0.000014	0.000046	18.559	0.000036	18.531	0.000037	18.509
16	docosadienoic	19.517	0.0000003	19.504	0.000002	0.000005	19.531	0.000002	19.504	0.0000004	19.480
17	Nervonic	20.008	0.000002	20.439	0.000006	0.000007	20.464	---	---	0.000002	20.413



Peak Table - Channel 1

Peak#	Ret.Time	Area	Area%	Height	Name
1	1.741	758183259	99.6130	63535259	
2	4.032	35059	0.0046	11146	
3	5.104	111855	0.0147	38279	
4	6.356	107317	0.0141	58009	
5	7.704	208837	0.0274	102180	
6	9.077	335861	0.0441	158813	
7	10.427	264993	0.0348	140564	
8	11.737	457883	0.0602	175306	
9	12.994	309037	0.0406	126662	
10	14.198	183074	0.0241	79480	
11	15.137	467302	0.0614	101672	
12	15.353	129738	0.0170	52542	
13	16.454	63210	0.0083	27742	
14	17.032	47263	0.0062	12581	
15	17.273	43160	0.0057	15343	
16	17.517	70855	0.0093	27612	
17	18.531	55171	0.0072	21389	
18	19.504	40706	0.0053	17362	
19	20.439	14255	0.0019	7520	
<b>Total</b>		<b>761128835</b>	<b>100.0000</b>	<b>64709461</b>	

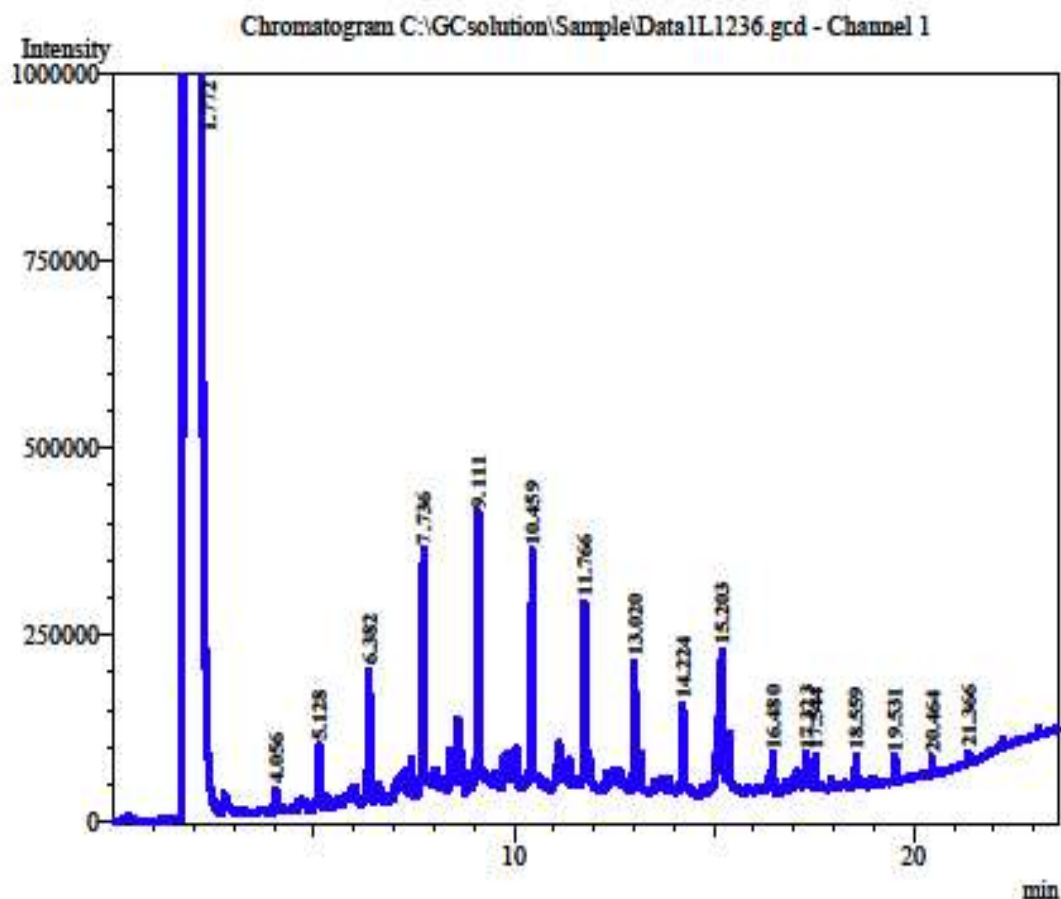
شكل 4-15 منحنى للاحماض الدهنية لمستخلص البتروليوم ايثر للفطر *G. oregonense*



Peak Table - Channel 1

Peak#	Ret.Time	Area	Area%	Height	Name
1	1.749	746088358	99.1883	64193537	
2	4.032	150693	0.0200	42296	
3	5.104	151701	0.0202	59292	
4	6.360	698789	0.0929	243769	
5	7.718	1048396	0.1394	384695	
6	9.092	1398210	0.1859	491893	
7	10.437	681780	0.0906	330257	
8	11.740	686603	0.0913	277258	
9	12.991	466207	0.0620	201226	
10	14.192	250433	0.0333	117738	
11	15.076	133876	0.0178	40210	
12	15.342	115797	0.0154	66581	
13	16.438	122588	0.0163	53839	
14	17.496	82456	0.0110	37673	
15	18.509	23430	0.0031	14075	
16	19.480	33531	0.0045	17553	
17	20.413	38409	0.0051	15335	
18	21.313	22519	0.0030	9286	
<b>Total</b>		<b>752193776</b>	<b>100.0000</b>	<b>66596513</b>	

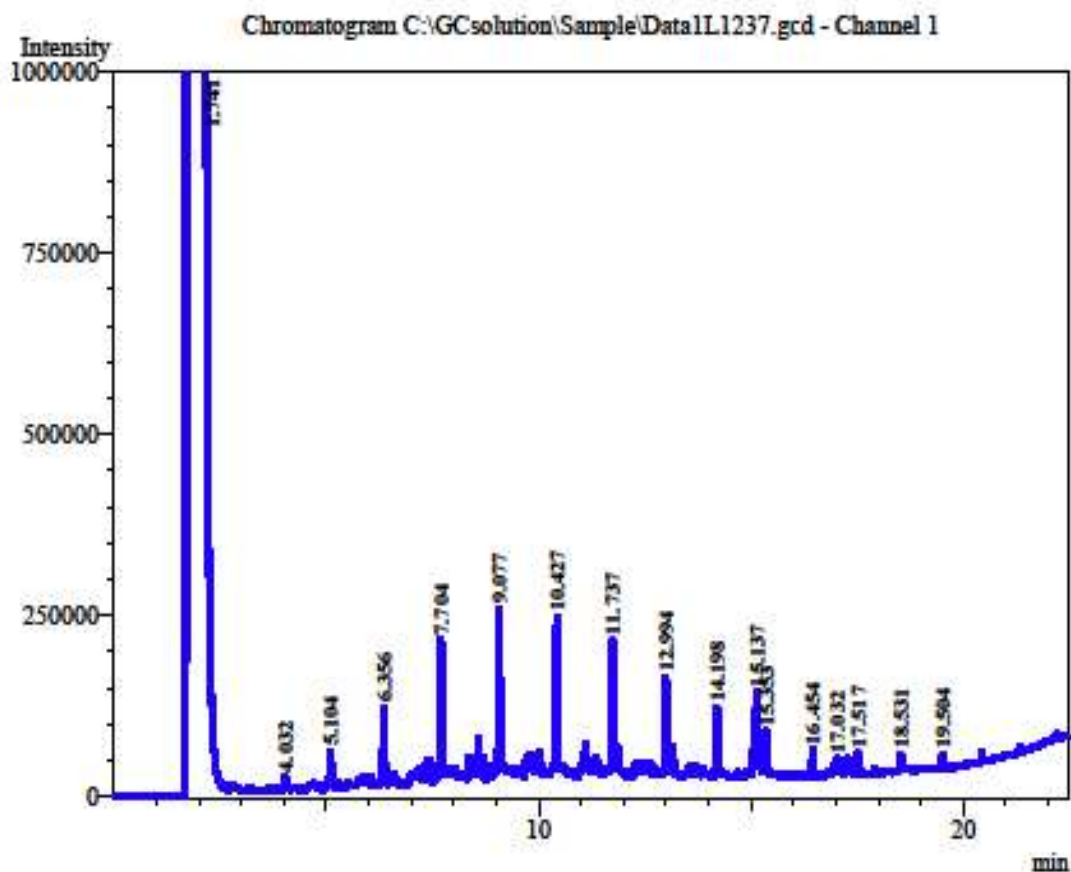
شكل 4-16 منحني للاحماض الدهنية لمستخلص الكلوروفورم للفطر *G. oregonense*



Peak Table - Channel 1

Peak#	Ret.Time	Area	Area%	Height	Name
1	1.772	664315993	99.4166	58079571	
2	4.056	84769	0.0127	20843	
3	5.128	239837	0.0359	70307	
4	6.382	211796	0.0317	90793	
5	7.736	643377	0.0963	250879	
6	9.111	625730	0.0936	286428	
7	10.459	598747	0.0896	266861	
8	11.766	253261	0.0379	133833	
9	13.020	55555	0.0083	39086	
10	14.224	281957	0.0422	107242	
11	15.203	430348	0.0644	91784	
12	16.480	141065	0.0211	43306	
13	17.323	84663	0.0127	29368	
14	17.544	30762	0.0046	24331	
15	18.559	73101	0.0109	32818	
16	19.531	66337	0.0099	29257	
17	20.464	47276	0.0071	19561	
18	21.366	29517	0.0044	12875	
<b>Total</b>		<b>668214091</b>	<b>100.0000</b>	<b>59629143</b>	

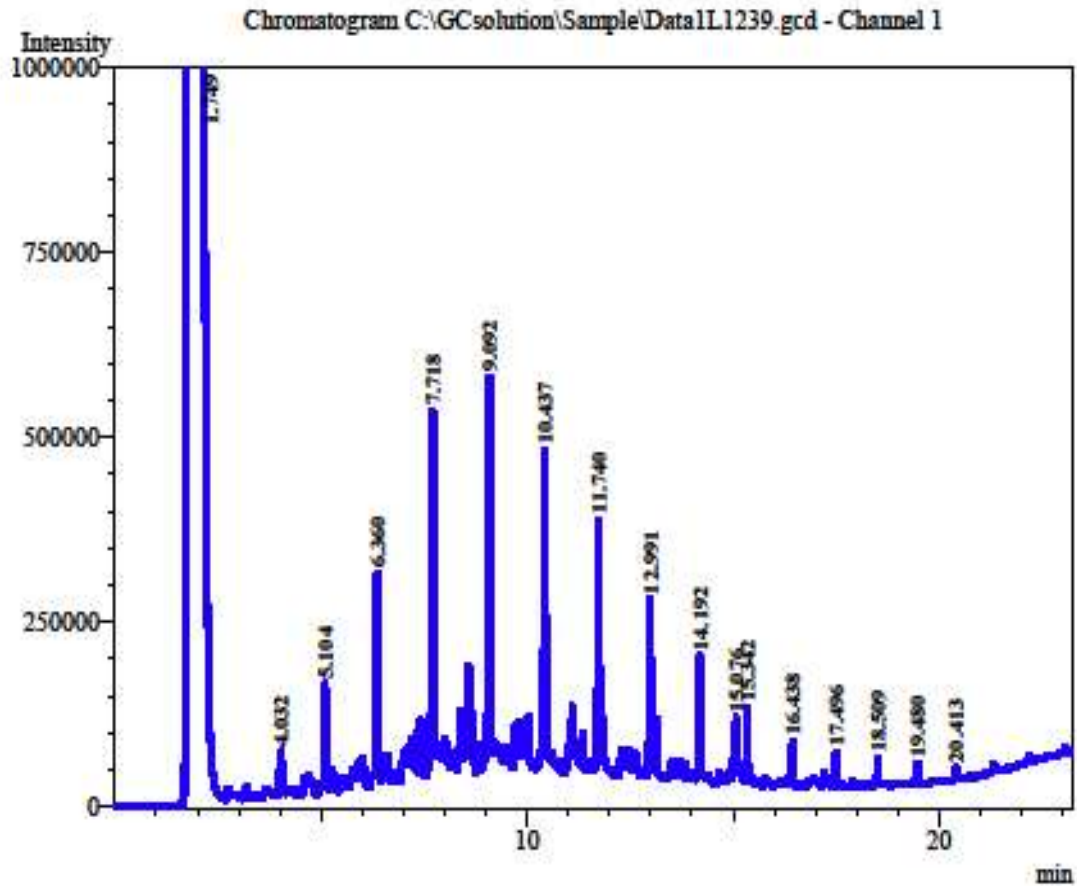
شكل 4-17 منحني للاحماض الدهنية لمستخلص الاسيتون للفطر *G. oregonense*



Peak Table - Channel 1

Peak#	Ret Time	Area	Area%	Height	Name
1	1.741	751287668	99.5608	63258101	
2	4.032	44865	0.0059	12722	
3	5.104	63971	0.0085	26133	
4	6.356	248804	0.0330	92639	
5	7.704	451824	0.0599	171713	
6	9.077	542026	0.0718	211138	
7	10.427	519084	0.0688	205104	
8	11.737	339959	0.0451	152991	
9	12.994	88447	0.0117	80984	
10	14.198	181781	0.0241	79327	
11	15.137	477891	0.0633	101095	
12	15.353	70257	0.0093	37107	
13	16.454	95290	0.0126	32602	
14	17.032	45841	0.0061	12464	
15	17.517	60154	0.0080	25600	
16	18.531	57702	0.0076	21743	
17	19.504	26321	0.0035	13735	
<b>Total</b>		<b>754601885</b>	<b>100.0000</b>	<b>64535198</b>	

شكل 4-18 منحني للاحماض الدهنية لمستخلص IMS للفطر *G. oregonense*



Peak Table - Channel 1

Peak#	Ret Time	Area	Area%	Height	Name
1	1.749	749811079	99.1583	64220920	
2	4.032	143713	0.0190	41099	
3	5.104	280747	0.0371	98145	
4	6.360	734611	0.0971	249786	
5	7.718	1349414	0.1785	444293	
6	9.092	1017424	0.1345	414275	
7	10.437	655928	0.0867	297235	
8	11.740	811321	0.1073	307176	
9	12.991	298654	0.0395	142076	
10	14.192	283837	0.0375	135190	
11	15.076	247110	0.0327	66918	
12	15.342	184333	0.0244	83262	
13	16.438	124935	0.0165	54169	
14	17.496	102001	0.0135	42279	
15	18.509	59521	0.0079	28472	
16	19.480	55942	0.0074	23701	
17	20.413	15328	0.0020	8365	
<b>Total</b>		<b>756175898</b>	<b>100.0000</b>	<b>66657361</b>	

شكل 19-4 منحني للاحماض الدهنية لمستخلص المائي للفطر *G. oregonense*

#### 6-4 تشخيص المركبات الفينولية بتقنية كروماتوغرافيا السائل العالي الاداء HPLC للعضلات الفطرية *G.curtisii* و *G.cupreolaccatum* و *G.oregonense*:

بعد استخلاص المركبات الفينولية من مسحوق الاجسام الثمرية للعضلات الفطرية المنتخبة، كشفت نتائج التحليل الكروماتوغرافي بتقنية HPLC عن توفر عدد من المركبات الفينولية بدلالة المركبات القياسية. بينت الاشكال (4)-(20-36)) ظهور المركبات الفينولية منها **Keampferol** اذ ظهر في جميع المستخلصات الفطرية وبتراكيز مختلفة حسب نوع المذيب المستخدم فقد ظهر المركب الفينولي في الفطر *G.curtisii* بتركيز 43.52 و 427.03 و 11.48 مايكروغرام/ مل على التوالي وفي الفطر *G.cupreolaccatum* بتركيز 6.87 و 719.10 و 183.66 مايكروغرام/ مل على التوالي بينما في الفطر *G.oregonense* كان بتركيز 56.87 و 911.20 و 106.24 مايكروغرام/ مل على التوالي. من النتائج السابقة نلاحظ ان اعلى تركيز للمركب الفينولي في المستخلص - IMS و اقل تركيز في المستخلص الاسيتوني وكان تركيزه معتدلا في المستخلص المائي للانواع الفطرية الثلاثة المدروسة. **Quercetin** كشف عن تواجده في عينات الفطر *G.curtisii*. للمستخلصات الاسيتوني وال IMS والمائي وبتراكيز 5.61 و 33.33 و 64.64 مايكروغرام/ مل على التوالي بينما ظهر المركب في الفطر *G.cupreolaccatum* في المستخلص المائي حصرا وبتراكيز 411.66 مايكروغرام/ مل وظهر المركب في المستخلص الاسيتوني والمائي للفطر *G.oregonense* وبتراكيز 52.78 و 44.82 مايكروغرام/ مل على التوالي. **Catchin** يتضح من النتائج ظهوره في مستخلص IMS للفطر *G.curtisii*. بتركيز 11.78 مايكروغرام/ مل وظهر ايضا في المستخلص المائي للفطر *G.cupreolaccatum* بتركيز 6.32 مايكروغرام /مل ولوحظ ظهوره في جميع المستخلصات الاسيتوني والمائي IMS للفطر *G.oregonense* بالتراكيز 101.80 و 23.20 و 7.26 مايكروغرام/ مل على التوالي. **Gallic acid** تشير النتائج الى ظهور هذا المركب الفينولي في جميع المستخلصات الفطرية للفطر *G.curtisii* بالتراكيز 29.57 و 19.02 و 2.35 مايكروغرام/

مل على التوالي بينما ظهر في المستخلص الاسيتوني فقط في الفطر *G.cupreolacatum* وبتركيز 82.22 مايكروغرام /مل ونلاحظ عدم ظهوره في اي من المستخلصات الاخرى للفطر *G.oregonense*. **Rutin** تشير نتائج التحليل الكروماتوكرافي الى ظهوره في المستخلص المائي للفطر *G.curtisii* وبتركيز 2.73 مايكروغرام/ مل بينما ظهر هذا المركب في المستخلص الاسيتوني والمائي للفطر *G.cupreolacatum* وبالتراكيز 43.56 و359.19 مايكروغرام/ مل على التوالي وظهر في المستخلص الاسيتوني في الفطر *G.oregonense* بتركيز 95.99 مايكروغرام/ مل **Apigenin**. ظهرت له قيمة في مستخلصات الـ IMS للانواع الفطرية المنتخبة وعدم وجوده في باقي المستخلصات الفطرية الاخرى اذ اعطى تركيزا 20.30 مايكروغرام/مل للفطر *G.curtisii* وتركيز 11.30 مايكروغرام/مل للفطر *G.cupreolacatum* وتركيز 39.91 مايكروغرام/ مل للفطر *G.oregonense* . **Vanillic acid** وجد في كل من المستخلص المائي والاسيتوني للفطر *G.curtisii* وبالتراكيز 10.42 و1.5 مايكروغرام/ مل بينما لم يظهر في اي من المستخلصات الفطرية للفطر *G.cupreolacatum* وظهر هذا المركب الفينولي اذ ظهرت له قمة في مستخلص الـ IMS للفطر *G.oregonense* وبتركيز 400.17 مايكروغرام/مل.

**Coumarine** بدلالة المركبات القياسية تبين وجوده في المستخلص الاسيتوني للفطر *G.curtisii* وبتركيز 15 مايكروغرام/ مل وفي مستخلص الـ IMS بتركيز 97.03 مايكروغرام/مل للفطر *G.cupreolacatum* لم يظهر باي من مستخلصات الفطر . *G.oregonense* اما **Caffeic acid** اظهرت نتائج التحليل الكروماتوكرافي الى فصل هذا المركب الفينولي في المستخلص الاسيتوني للفطر *G.curtisii* وللوفر *G.cupreolacatum* وبتركيز 804.12 و9.15 مايكروغرام/ مل ولم يظهر الكافنيك في باقي المستخلصات الفطرية. **Ferulic acid** من خلال النتائج ظهر في المستخلص المائي للفطر *G.curtisii* وبتركيز 15.96 مايكروغرام/ مل.

ويمكن ان تعزى الفروقات في نوعية المركبات الفينولية وتراكيزها الى الظروف الجغرافية والمناخية التي تتمثل بدرجات الحرارة وكمية الامطار فضلا عن عمر الاجسام الثمرية التي لها

دور كبير في مردودية نواتج الايض الثانوي الفينولية فضلا عن طبيعة المادة العضوية النامية عليها الفطر.

وتتفق هذه النتائج مع ما توصل اليه Gowrie وآخرون (2014) من التعرف على عدد من المركبات الفينولية والتي ظهرت بتراكيز مختلفة من مسحوق الجسم الثمري للفطر *G.lucidum* باستخدام نظام المذيبات المتعاقبة. وأشار Ivone وآخرون (2016) الى فصل وتشخيص عدد من المركبات الفينولية باستعمال مذيبات متفاوتة القطبية (الايثانولي والميثانولي والمائي) لعدة انواع من الجنس *Ganoderma* كالنوع *G. Curtisii* و *G.lucidum* و *G.applanatum*. وجاءت النتائج في البحث الذي قام به Slynko وآخرون (2017) مؤكدة كنتائجنا ان مستخلصات الاجسام الثمرية لانواع مختلفة من فطر *Ganoderma* غنية بالمركبات الفينولية عند التحليل الكروماتوكرافي للفطريات *G.lucidum* و *G. Resinacium* و *G.pfeifferi* و *G.tsugae* و *G.japonicum*.

جدول 4-15 المركبات الفينولية المشخصة بتقنية HPLC من مسحوق الجسم الثمري الفطر

*G.curtisii*

تركيز المركب في المستخلص المائي (مايكروغرام/مل)	تركيز المركب في المستخلص IMS (مايكروغرام/مل)	تركيز المركب في المستخلص الاسيتوني (مايكروغرام/مل)	المركبات الفينولية	ت
11.48	427.03	43.52	Keampferol	.1
64.64	33.33	5.61	Quercetin	.2
--	11.78	--	Catchin	.3
2.35	19.02	29.57	Gallic acid	.4
2.73	--	--	Rutin	.5
--	20.30	--	Apigenin	.6
--	--	15	Cumarine	.7
1.5	--	10.42	Vanillic acid	.8
--	--	804.12	Cafeic acid	.9
15.96	--	--	Ferulic acid	.10

جدول 16-4 المركبات الفينولية المشخصة بتقنية الـ HPLC من مسحوق الجسم الثمري

الفطر *G.cupreolaccatum*

تركيز المركب في المستخلص المائي (مايكروغرام/مل)	تركيز المركب في المستخلص الـIMS (مايكروغرام/مل)IMS	تركيز المركب في المستخلص الاسيتوني (مايكروغرام/مل)	المركبات الفينولية	ت
183.66	719.10	6.87	Keampferol	1
411.66	--	--	Quercetin	2
6.32	--	--	Catchin	3
--	--	82.22	Gallic acid	4
359.19	--	43.56	Rutin	5
--	11.30	--	Apigenin	6
--	97.03	--	Cumarine	7
--	--	--	Vanillic acid	8
--	--	9.15	Cafeic acid	9
--	--	--	Ferulic acid	10

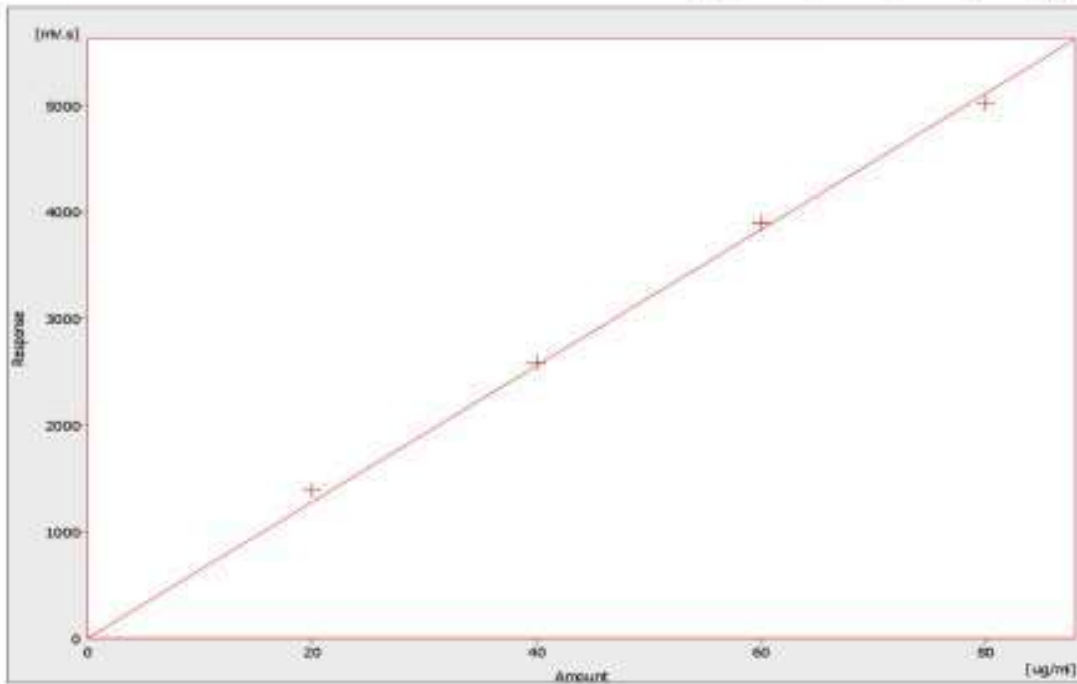
جدول 17-4 المركبات الفينولية المشخصة بتقنية الـ HPLC من مسحوق الجسم الثمري

*G.oregonense*. الفطر

تركيز المركب في المستخلص المائي (مايكروغرام/مل)	تركيز المركب في المستخلص الـ IMS (مايكروغرام/مل)	تركيز المركب في المستخلص الاسيتوني (مايكروغرام/مل)	المركبات الفينولية	ت
106.24	911.20	56.87	<b>Keampferol</b>	<b>1</b>
44.82	--	52.78	<b>Quercetin</b>	<b>2</b>
7.26	23.20	101.80	<b>Catchin</b>	<b>3</b>
--	--	--	<b>Gallic acid</b>	<b>4</b>
--	--	95.99	<b>Rutin</b>	<b>5</b>
--	39.91	--	<b>Apigenin</b>	<b>6</b>
--	--	--	<b>Cumarine</b>	<b>7</b>
--	400.17	--	<b>Vanillic acid</b>	<b>8</b>
--	--	--	<b>Cafeic acid</b>	<b>9</b>
--	--	--	<b>Ferulic acid</b>	<b>10</b>

Compound Type : Other  
 Left Window : 0.2 min  
 Right Window : 0.2 min  
 Response Base : Area  
 Curve Fit Type : Linear  
 Origin : Curve passes through Origin  
 Weighting Method : None  
 Equation :  $Y = 03.915 * X$   
 Correlation Factor : 0.999998  
 Residuals : 71.12640 [mV.s]  
 Linearization X : None  
 Linearization Y : None

	Response	Amount	Resp. Factor	Ret. No.	Used
1	1380.0000	30.0000	0.0464	1	<input type="checkbox"/>
2	2567.0000	40.0000	0.0275	1	<input type="checkbox"/>
3	3000.0000	60.0000	0.0254	1	<input type="checkbox"/>
4	5025.0000	80.0000	0.0279	1	<input type="checkbox"/>
5	0.0000	0.0000	0.0000	1	<input type="checkbox"/>
6	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input type="checkbox"/>
7	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input type="checkbox"/>
8	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input type="checkbox"/>
9	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input type="checkbox"/>
10	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input type="checkbox"/>
11	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input type="checkbox"/>
12	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input type="checkbox"/>
13	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input type="checkbox"/>
14	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input type="checkbox"/>
15	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input type="checkbox"/>
16	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input type="checkbox"/>
17	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input type="checkbox"/>
18	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input type="checkbox"/>
19	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input type="checkbox"/>
20	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input type="checkbox"/>
21	0.0000	Blank	0.0000	0	<input type="checkbox"/>

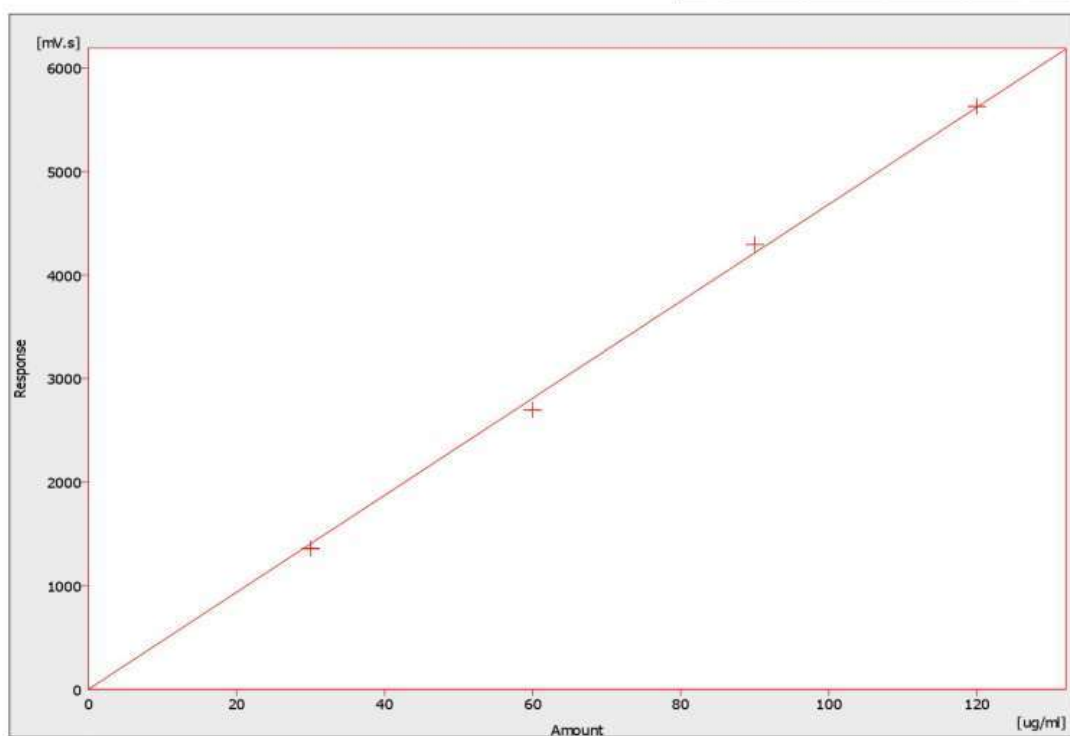


شكل 20-4 المنحني القياسي للمركب الفينولي Vanillic acid بتقنية HPLC

rutin - Signal 1 - 0 min.

Compound Type : Ordnr  
 Left Window : 0.2 min  
 Right Window : 0.2 min  
 Response Base : Area  
 Curve Fit Type : Linear  
 Origin : Curve passes through Origin  
 Weighting Method : None  
 Equation :  $Y = 46.84889 * X$   
 Correlation Factor : 0.9993831  
 Residuum : 65.15131 [mV.s]  
 Linearisation X : None  
 Linearisation Y : None

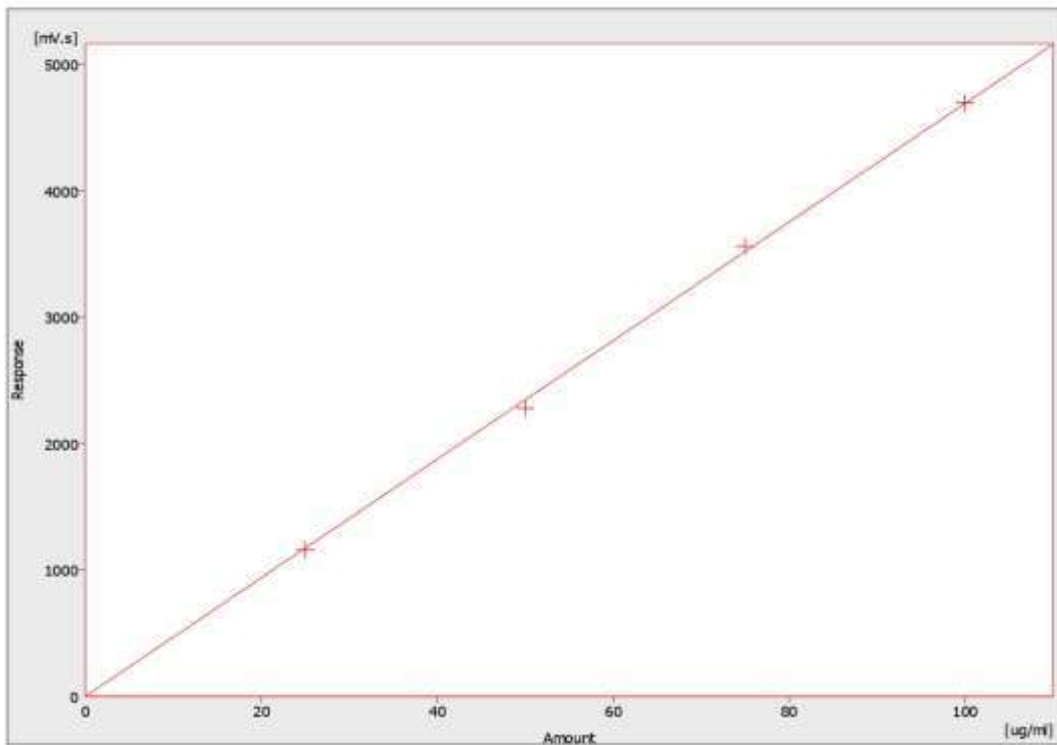
	Response	Amount	Resp. Factor	Rec No.	Used
1	1360.0000	30.0000	0.0221	1	<input checked="" type="checkbox"/>
2	2698.0000	60.0000	0.0222	1	<input checked="" type="checkbox"/>
3	4296.0000	90.0000	0.0209	1	<input checked="" type="checkbox"/>
4	5630.0000	120.0000	0.0213	1	<input checked="" type="checkbox"/>
5	0.0000	0.0000	0.0000	1	<input checked="" type="checkbox"/>
6	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
7	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
8	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
9	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
10	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
11	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
12	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
13	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
14	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
15	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
16	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
17	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
18	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
19	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
20	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
BL	0.0000	Blank	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>



شكل 4-21 المنحني القياسي للمركب الفينولي Rutin بتقنية HPLC

Compound Type : Ordnr  
 Left Window : 0.2 min  
 Right Window : 0.2 min  
 Response Base : Area  
 Curve Fit Type : Linear  
 Origin : Curve passes through Origin  
 Weighting Method : None  
 Equation :  $Y = 46.932 * X$   
 Correlation Factor : 0.9996947  
 Residual : 36.19475 [mV.s]  
 Linearization X : None  
 Linearization Y : None

	Response	Amount	Resp. Factor	Rec No.	Used
1	1156.0000	25.0000	0.0216	1	<input checked="" type="checkbox"/>
2	2280.0000	50.0000	0.0219	1	<input checked="" type="checkbox"/>
3	3563.0000	75.0000	0.0210	1	<input checked="" type="checkbox"/>
4	4698.0000	100.0000	0.0213	1	<input checked="" type="checkbox"/>
5	0.0000	0.0000	0.0000	1	<input checked="" type="checkbox"/>
6	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
7	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
8	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
9	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
10	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
11	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
12	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
13	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
14	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
15	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
16	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
17	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
18	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
19	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
20	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
BL	0.0000	Blank	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>

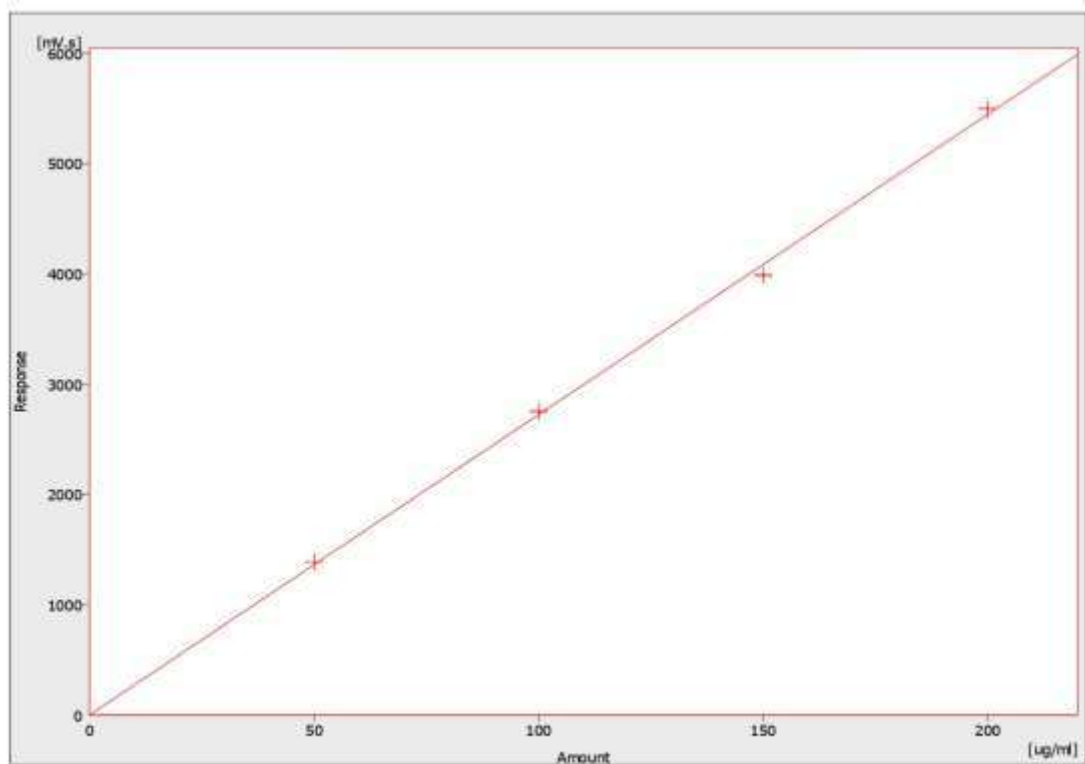


شكل 22-4 المنحني القياسي للمركب الفينولي Quercetin بتقنية HPLC

keanferol - Signal 1 - 0 min.

Compound Type : Ordni  
 Left Window : 0.2 min  
 Right Window : 0.2 min  
 Response Base : Area  
 Curve Fit Type : Linear  
 Origin : Curve passes through Origin  
 Weighting Method : None  
 Equation :  $Y = 27.22467 * X$   
 Correlation Factor : 0.9993805  
 Residual : 52.64288 [mV.s]  
 Linearisation X : None  
 Linearisation Y : None

	Response	Amount	Resp. Factor	Rec. No.	Used
1	1389.0000	50.0000	0.0360	1	<input checked="" type="checkbox"/>
2	2753.0000	100.0000	0.0363	1	<input checked="" type="checkbox"/>
3	3995.0000	150.0000	0.0376	1	<input checked="" type="checkbox"/>
4	5496.0000	200.0000	0.0364	1	<input checked="" type="checkbox"/>
5	0.0000	0.0000	0.0000	1	<input checked="" type="checkbox"/>
6	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
7	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
8	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
9	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
10	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
11	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
12	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
13	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
14	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
15	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
16	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
17	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
18	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
19	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
20	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
BL	0.0000	Blank	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>

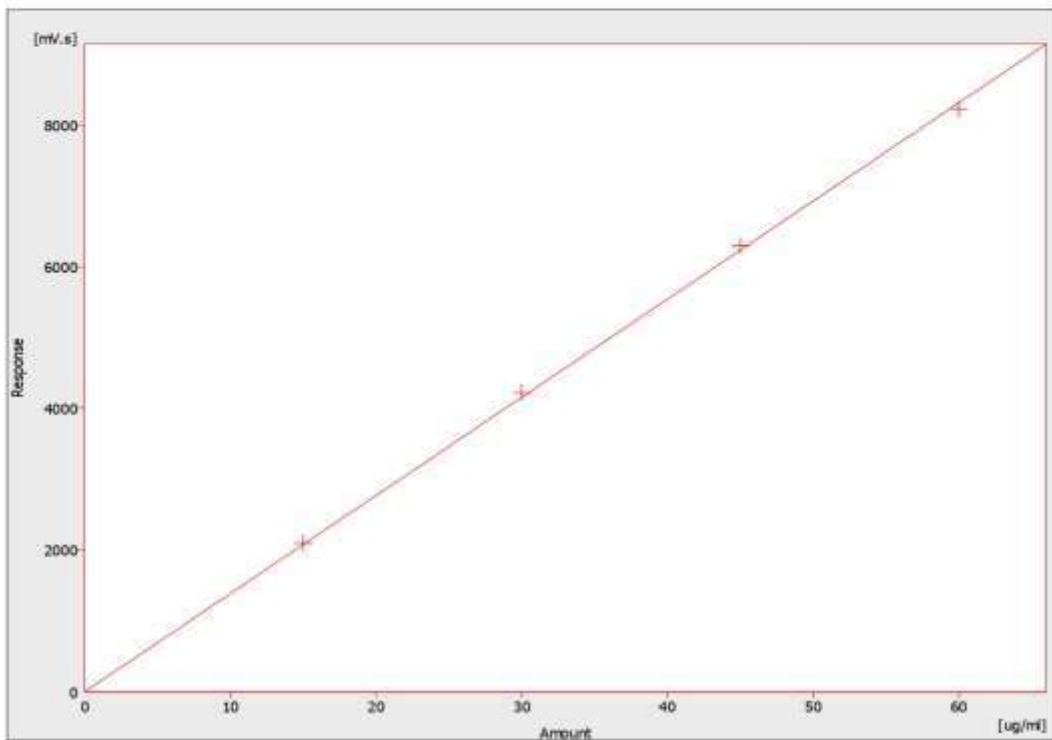


شكل 4-23 المنحني القياسي للمركب الفينولي gallic acid بتقنية HPLC

cumarine - Signal 1 - 0 min.

Compound Type : Ordnr  
 Left Window : 0.2 min  
 Right Window : 0.2 min  
 Response Base : Area  
 Curve Fit Type : Linear  
 Origin : Curve passes through Origin  
 Weighting Method : None  
 Equation :  $Y = 138.55111 * X$   
 Correlation Factor : 0.9997958  
 Residuals : 55.03793 [mV.s]  
 Linearization X : None  
 Linearization Y : None

	Response	Amount	Resp. Factor	Rec No.	Used
1	2100.0000	15.0000	0.0071	1	<input checked="" type="checkbox"/>
2	4220.0000	30.0000	0.0071	1	<input checked="" type="checkbox"/>
3	6296.0000	45.0000	0.0071	1	<input checked="" type="checkbox"/>
4	8230.0000	60.0000	0.0073	1	<input checked="" type="checkbox"/>
5	0.0000	0.0000	0.0000	1	<input checked="" type="checkbox"/>
6	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
7	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
8	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
9	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
10	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
11	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
12	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
13	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
14	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
15	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
16	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
17	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
18	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
19	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
20	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
BL	0.0000	Blank	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>

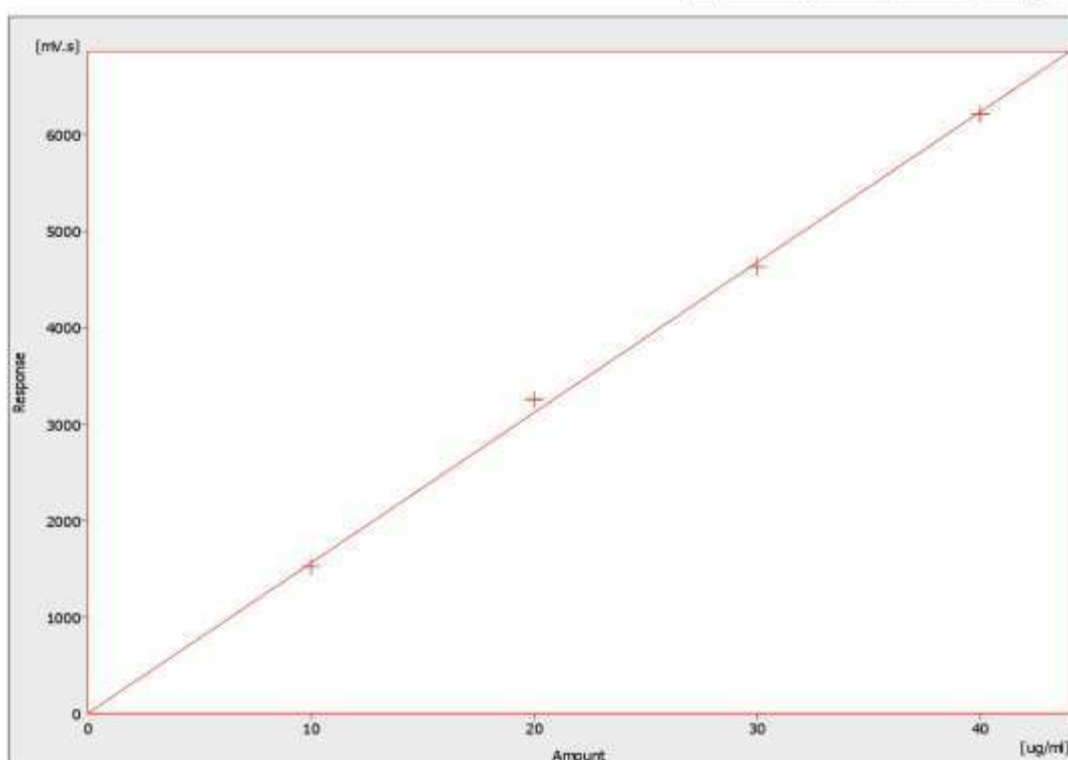


شكل 24-4 المنحني القياسي للمركب الفينولي Keamferol بتقنية HPLC

catechine - Signal 1 - 0 min.

Compound Type : Ordnr  
 Left Window : 0.2 min  
 Right Window : 0.2 min  
 Response Base : Area  
 Curve Fit Type : Linear  
 Origin : Curve passes through Origin  
 Weighting Method : None  
 Equation :  $Y = 155.92667 * X$   
 Correlation Factor : 0.9992237  
 Residium : 68.19951 [mV.s]  
 Linearisation X : None  
 Linearisation Y : None

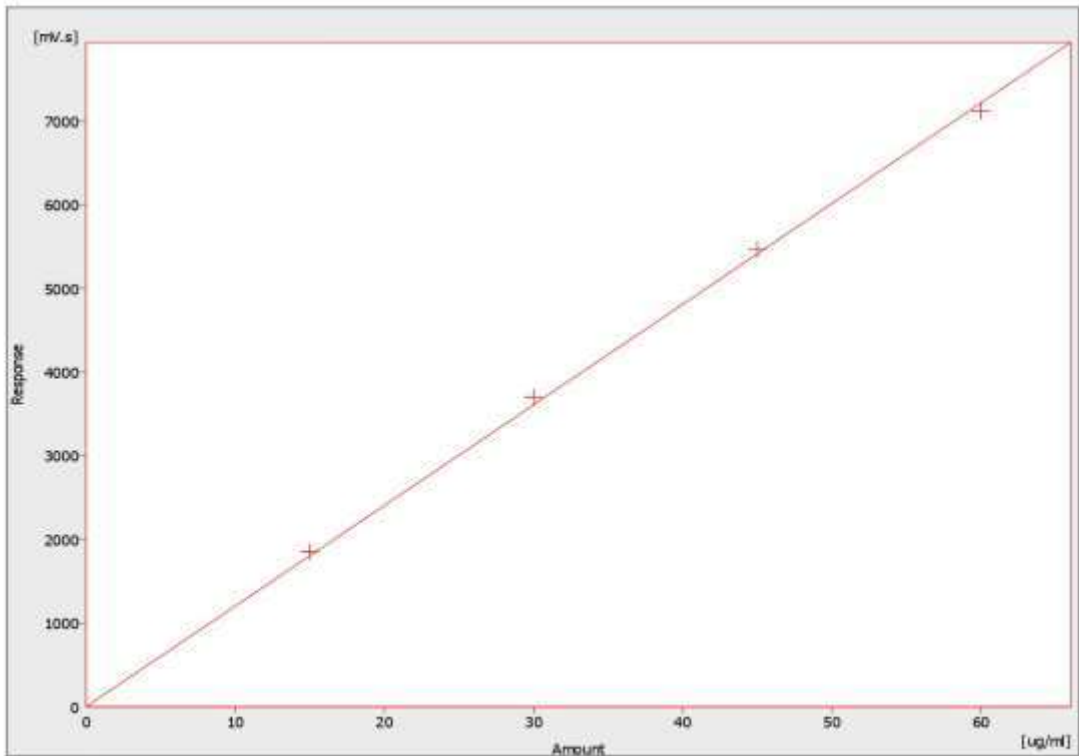
	Response	Amount	Resp. Factor	Rec No.	Used
1	1520.0000	10.0000	0.0066	1	<input checked="" type="checkbox"/>
2	3256.0000	20.0000	0.0061	1	<input checked="" type="checkbox"/>
3	4630.0000	30.0000	0.0065	1	<input checked="" type="checkbox"/>
4	6214.0000	40.0000	0.0064	1	<input checked="" type="checkbox"/>
5	0.0000	0.0000	0.0000	1	<input checked="" type="checkbox"/>
6	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
7	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
8	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
9	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
10	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
11	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
12	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
13	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
14	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
15	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
16	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
17	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
18	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
19	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
20	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
BL	0.0000	Blank	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>



شكل 25-4 المنحني القياسي للمركب الفينولي Coumarin بتقنية HPLC

Compound Type : Ordnr  
 Left Window : 0.2 min  
 Right Window : 0.2 min  
 Response Base : Area  
 Curve Fit Type : Linear  
 Origin : Curve passes through Origin  
 Weighting Method : None  
 Equation :  $Y = 120.25333 * X$   
 Correlation Factor : 0.9996925  
 Residuals : 66.51135 [mV.s]  
 Linearisation X : None  
 Linearisation Y : None

	Response	Amount	Resp. Factor	Rec No.	Used
1	1852.0000	15.0000	0.0081	1	<input checked="" type="checkbox"/>
2	3698.0000	30.0000	0.0081	1	<input checked="" type="checkbox"/>
3	5462.0000	45.0000	0.0082	1	<input checked="" type="checkbox"/>
4	7120.0000	60.0000	0.0084	1	<input checked="" type="checkbox"/>
5	0.0000	0.0000	0.0000	1	<input checked="" type="checkbox"/>
6	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
7	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
8	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
9	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
10	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
11	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
12	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
13	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
14	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
15	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
16	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
17	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
18	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
19	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
20	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
BL	0.0000	Blank	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>

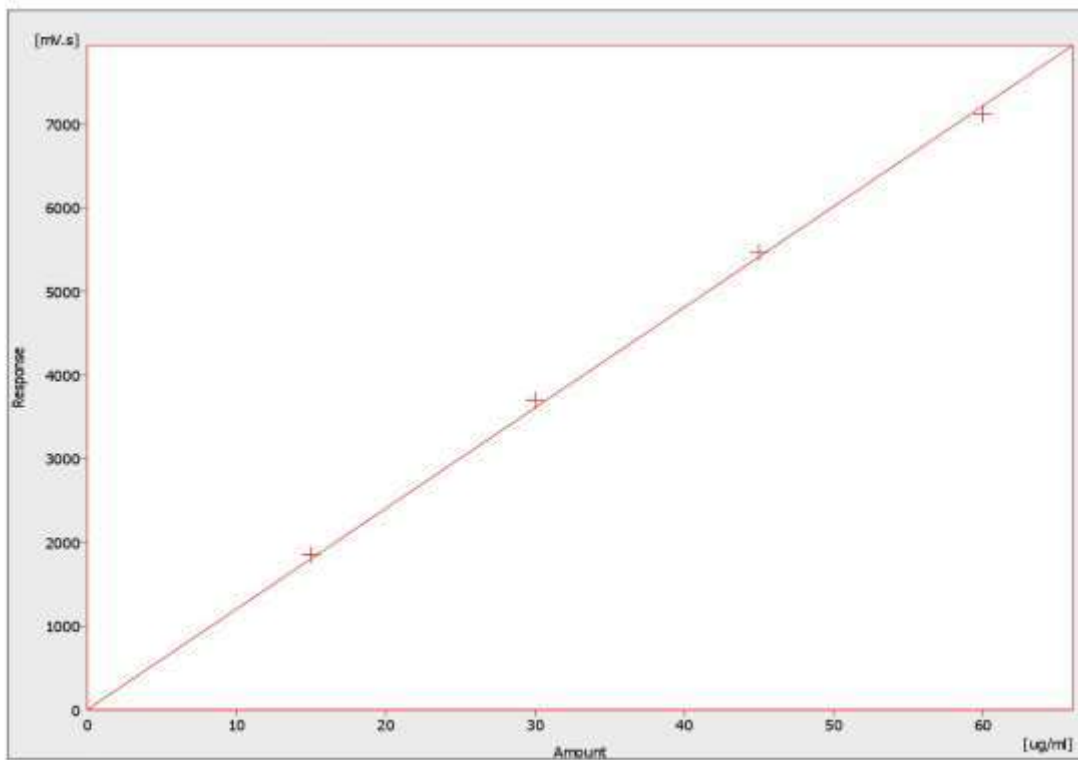


شكل 4-26 المنحني القياسي للمركب الفينولي Catechine بتقنية HPLC

epigene - Signal 1 - 0 min.

Compound Type : Ordnr  
 Left Window : 0.2 min  
 Right Window : 0.2 min  
 Response Base : Area  
 Curve Fit Type : Linear  
 Origin : Curve passes through Origin  
 Weighting Method : None  
 Equation :  $Y = 120.25333 * X$   
 Correlation Factor : 0.9996925  
 Residual : 66.51135 [mV.s]  
 Linearisation X : None  
 Linearisation Y : None

	Response	Amount	Resp. Factor	Rec No.	Used
1	1852.0000	15.0000	0.0081	1	<input checked="" type="checkbox"/>
2	3698.0000	30.0000	0.0081	1	<input checked="" type="checkbox"/>
3	5462.0000	45.0000	0.0082	1	<input checked="" type="checkbox"/>
4	7120.0000	60.0000	0.0084	1	<input checked="" type="checkbox"/>
5	0.0000	0.0000	0.0000	1	<input checked="" type="checkbox"/>
6	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
7	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
8	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
9	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
10	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
11	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
12	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
13	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
14	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
15	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
16	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
17	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
18	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
19	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
20	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
BL	0.0000	Blank	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>

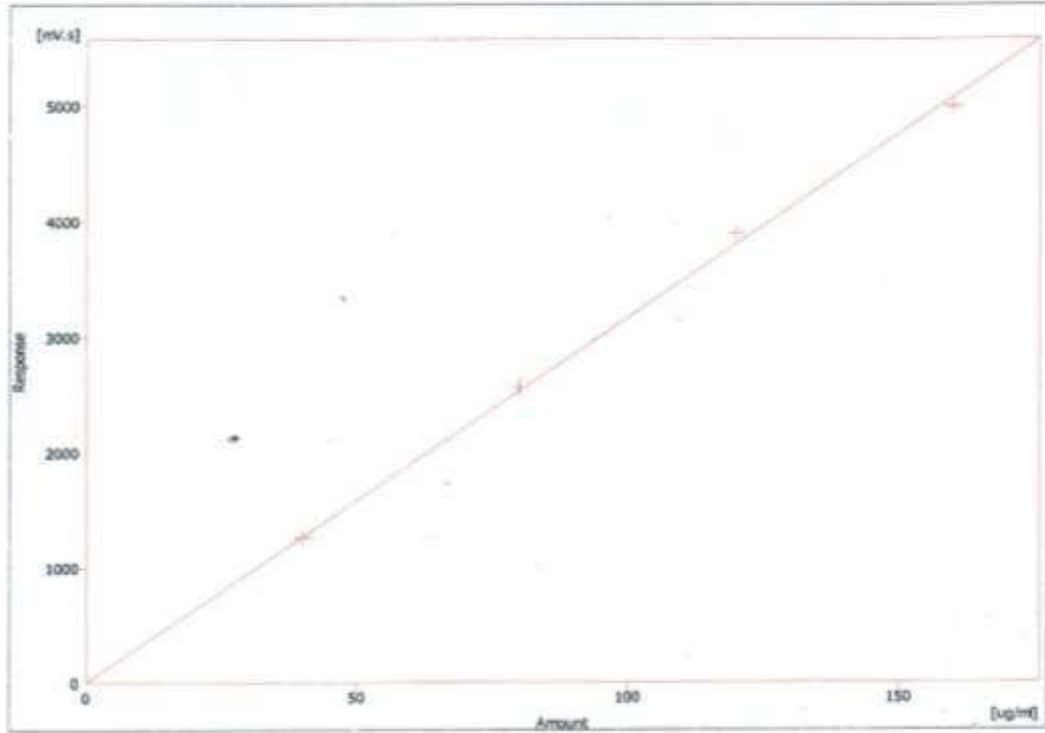


شكل 27-4 المنحني القياسي للمركب الفينولي Apigenen بتقنية HPLC

ferrulic acid - Signal 1 - 0.mn

Compound Type : 1 Order  
 Left Window : 1 6.2 min  
 Right Window : 1 6.2 min  
 Response Size : 1 Area  
 Curve Fit Type : 1 Linear  
 Origin : 1 Curve passes through Origin  
 Weighing Method : 1 None  
 Equation : 1  $Y = 31.6725 * X$   
 Correlation Factor : 1 0.9951339  
 Residuals : 1 36.1677 [mV.s]  
 Linearization X : 1 None  
 Linearization Y : 1 None

	Response	Amount	Resp. Factor	Rec. No.	Used
1	1156.0000	40.0000	0.0218	1	<input checked="" type="checkbox"/>
2	2569.0000	80.0000	0.0211	1	<input checked="" type="checkbox"/>
3	3888.0000	120.0000	0.0209	1	<input checked="" type="checkbox"/>
4	4986.0000	160.0000	0.0211	1	<input checked="" type="checkbox"/>
5	0.0000	0.0000	0.0000	1	<input checked="" type="checkbox"/>
6	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
7	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
8	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
9	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
10	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
11	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
12	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
13	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
14	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
15	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
16	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
17	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
18	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
19	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
20	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
21	0.0000	Blank	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>

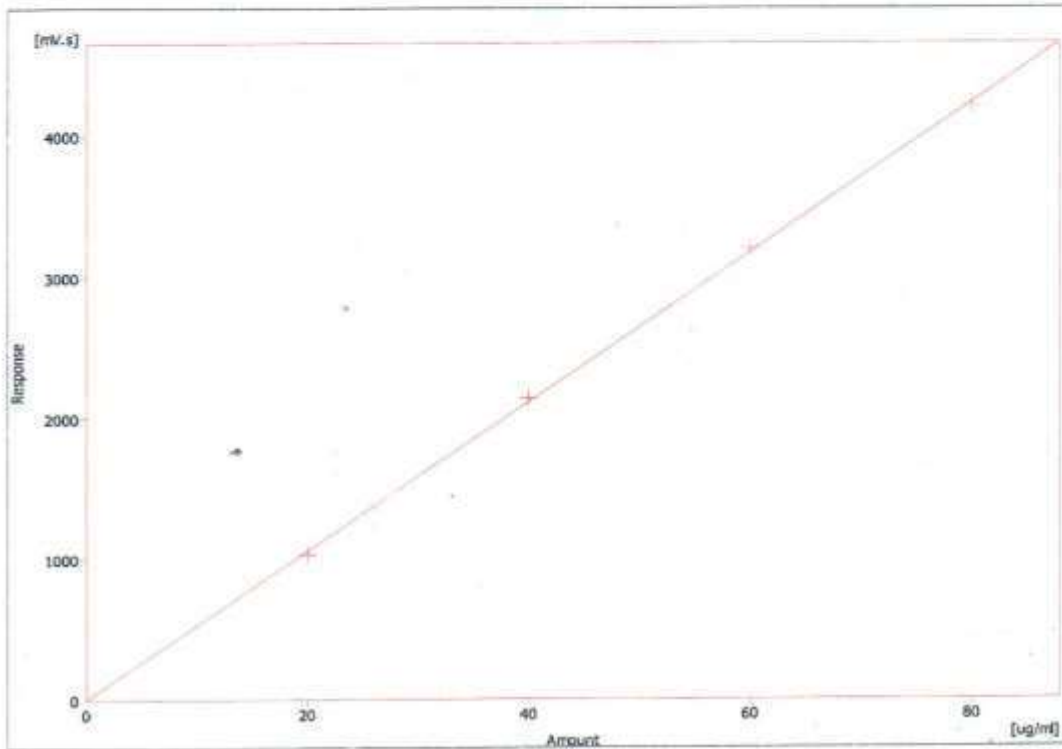


شكل 28-4 المنحني القياسي للمركب الفينولي Ferrulic acid بتقنية HPLC

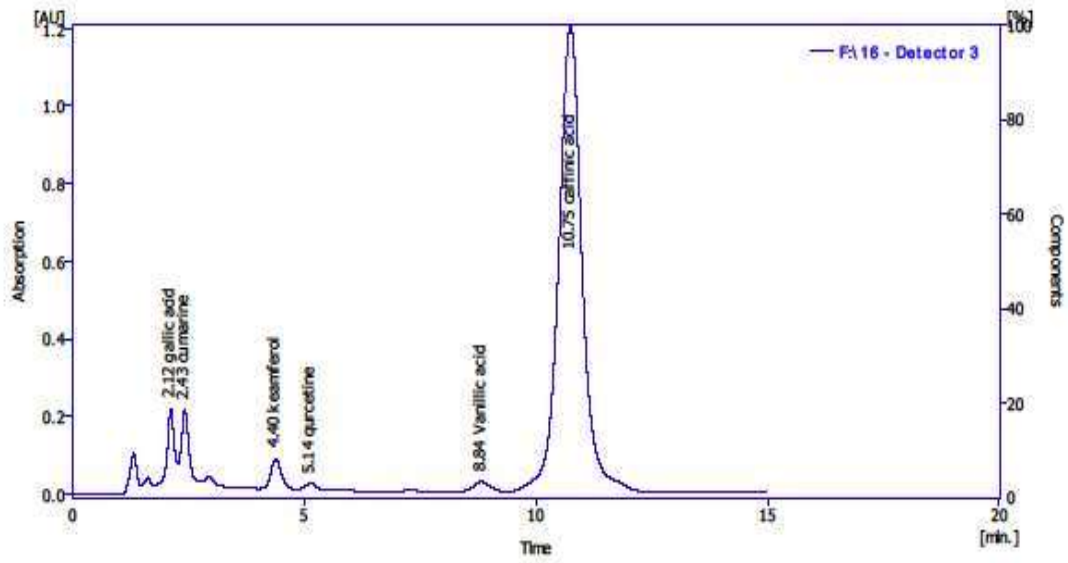
caffeic acid - Signal 1 - 0 min.

Compound Type : Orinr  
 Left Window : 0,2 min  
 Right Window : 0,2 min  
 Response Base : Area  
 Curve Fit Type : Linear  
 Origin : Curve passes through Origin  
 Weighting Method : None  
 Equation :  $Y = 52.92167 * X$   
 Correlation Factor : 0.9997593  
 Residuals : 23.34252 [mV.s]  
 Linearisation X : None  
 Linearisation Y : None

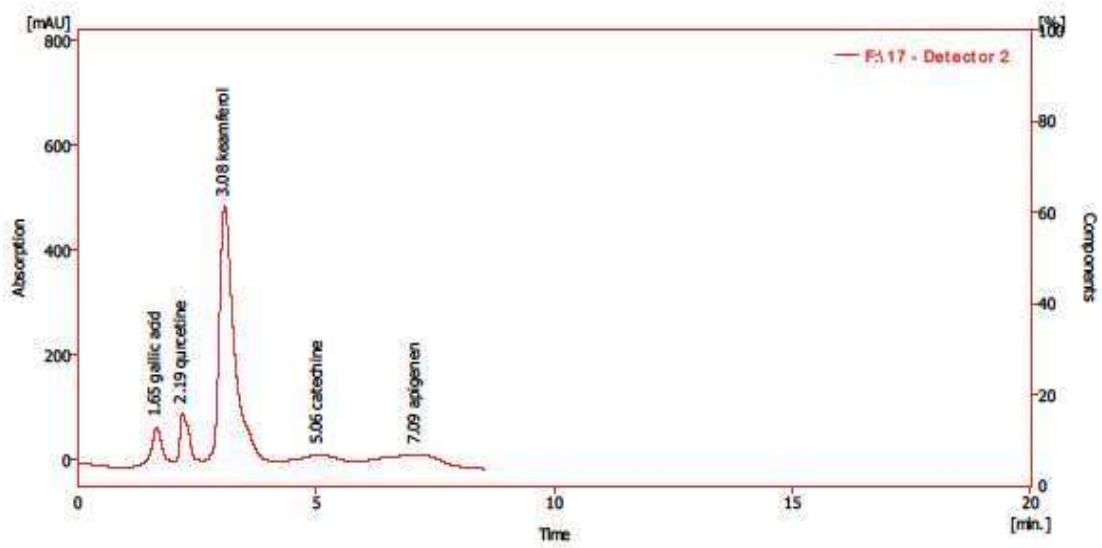
	Response	Amount	Resp. Factor	Rec No.	Used
1	1036.0000	20.0000	0.0193	1	<input checked="" type="checkbox"/>
2	2145.0000	40.0000	0.0186	1	<input checked="" type="checkbox"/>
3	3201.0000	60.0000	0.0187	1	<input checked="" type="checkbox"/>
4	4256.0000	80.0000	0.0190	1	<input checked="" type="checkbox"/>
5	0.0000	0.0000	0.0000	1	<input checked="" type="checkbox"/>
6	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
7	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
8	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
9	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
10	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
11	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
12	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
13	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
14	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
15	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
16	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
17	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
18	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
19	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
20	0.0000	0.0000	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>
BL	0.0000	Blank	0.0000	0	<input checked="" type="checkbox"/>



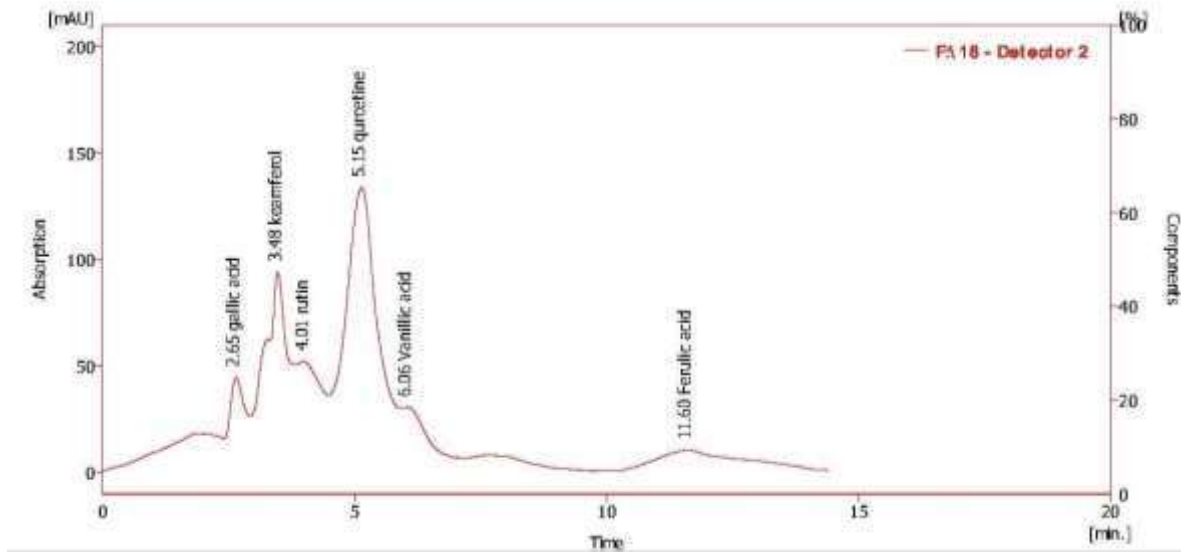
شكل 4-29 المنحني القياسي للمركب الفينولي Caffeic acid بتقنية HPLC



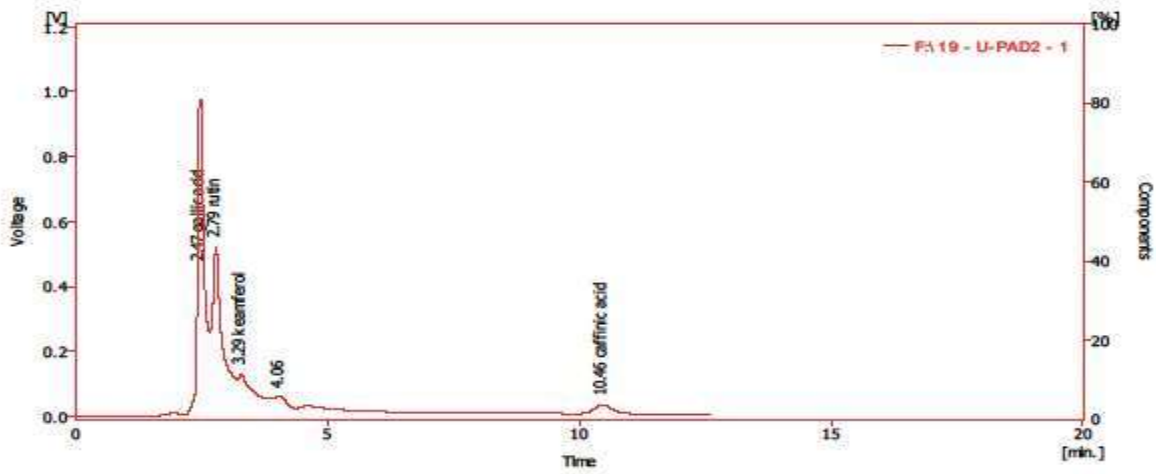
شكل 30-4 المنحني للمركبات الفينولية في مستخلص الاسيتوني للفطر *G. curtisii*



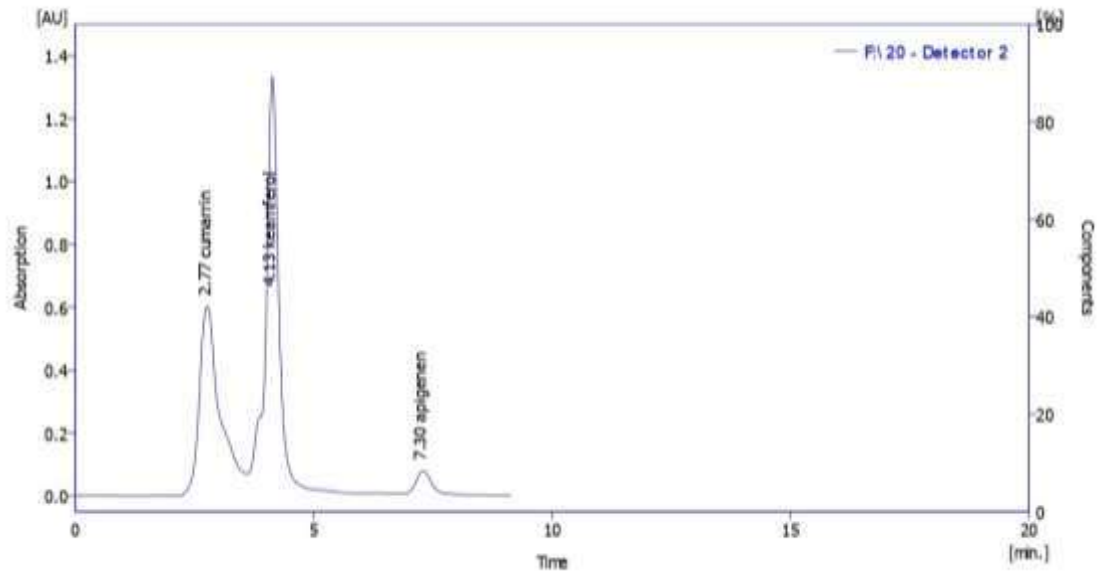
شكل 31-4 المنحني للمركبات الفينولية في مستخلص الـ IMS للفطر *G. curtisii*



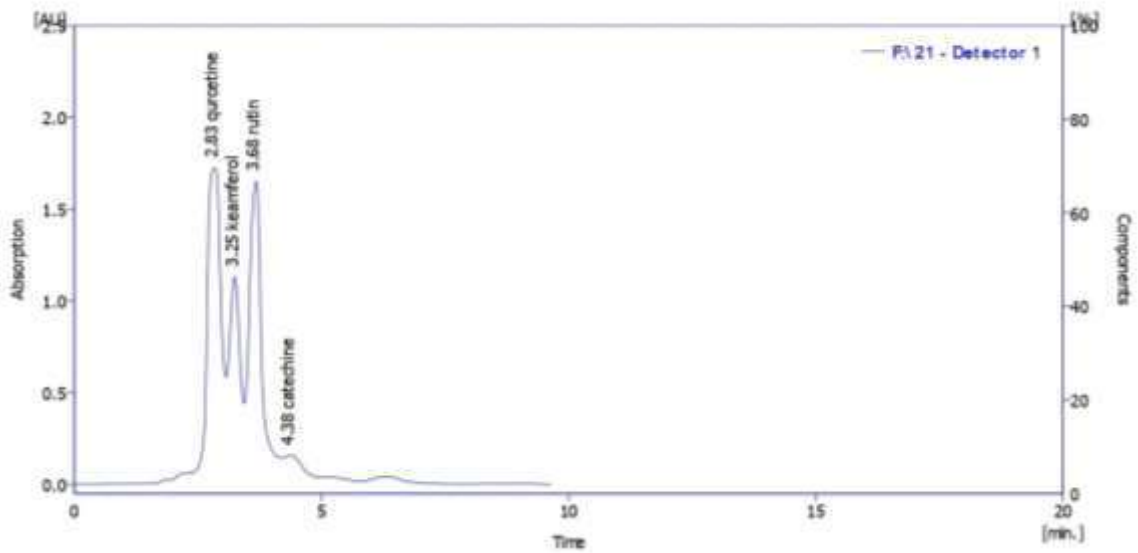
شكل 32-4 المنحني للمركبات الفينولية في مستخلص المائي للفطر *G. curtisii*



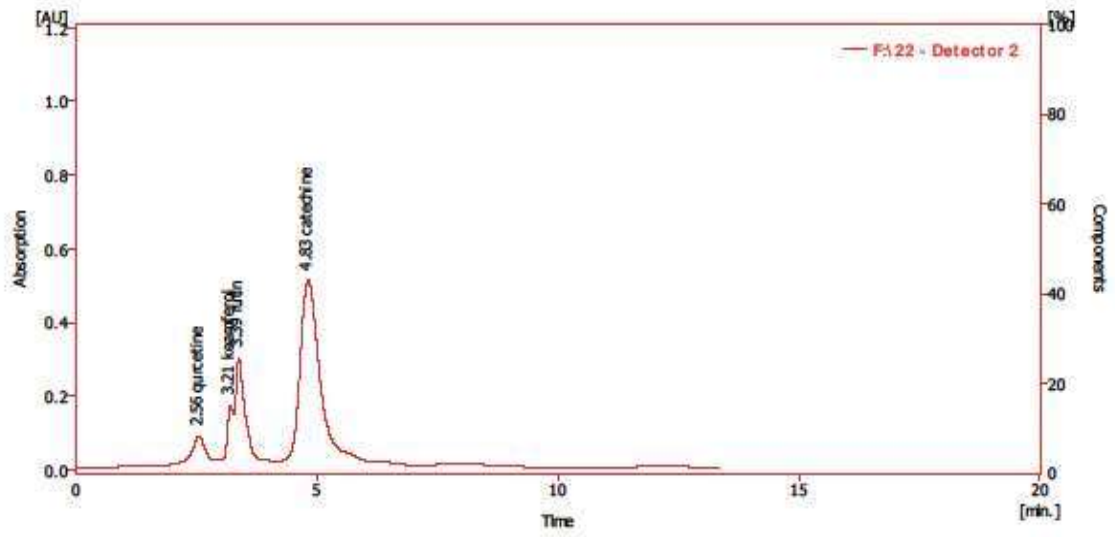
شكل 33-4 المنحني للمركبات الفينولية في مستخلص الاسيتوني للفطر *G. cupreolaccatum*



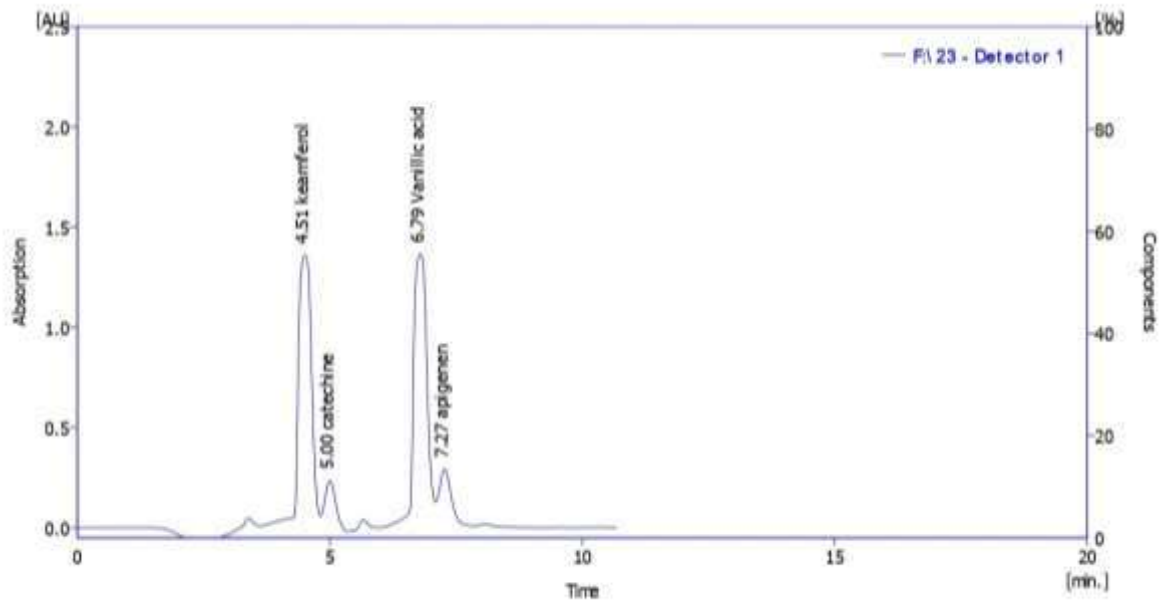
شكل 4-34 المنحني للمركبات الفينولية في مستخلص الـ IMS للفطر *G. cupreolaccatum*



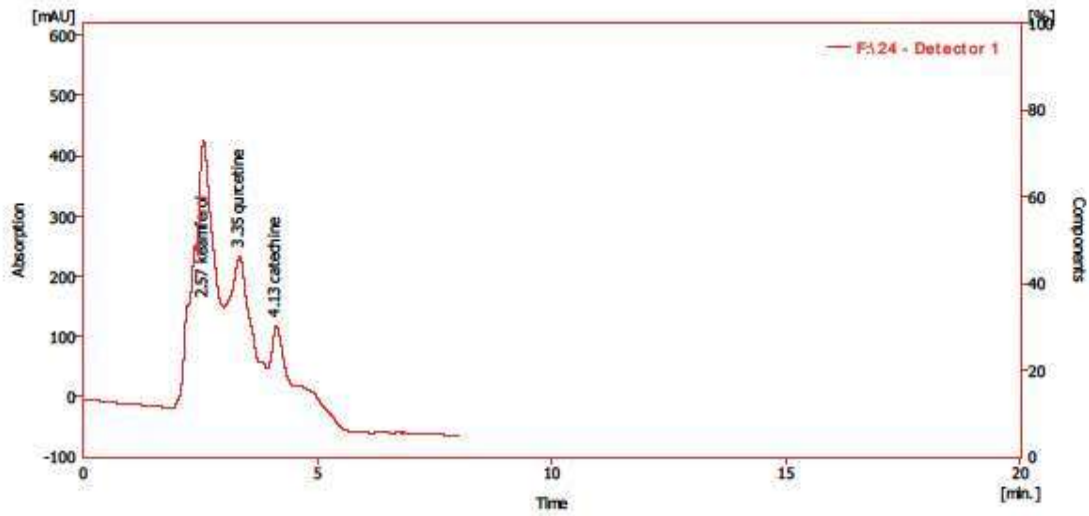
شكل 4-35 المنحني للمركبات الفينولية في مستخلص المائي للفطر *G. cupreolaccatum*



شكل 36-4 المنحني للمركبات الفينولية في مستخلص الاسيتوني للفطر *G. oregonense*



شكل 37-4 المنحني للمركبات الفينولية في مستخلص IMS للفطر *G. oregonense*



شكل 4-38 منحنى المركبات الفينولية في مستخلص المائي للفطر *G. oregonense*

#### 4-7 تشخيص الزيوت الطيارة بتقنية GLC للعزلات الفطرية *G. curtisii* و

#### *G. oregonense* و *G. cupreolaccatum*

تم الكشف عن انواع الزيوت الطيارة المستخلصة من مسحوق الاجسام الثمرية للعزلات الفطرية حسب برنامج الفصل المستخدم بتقنية GC ، وقد امكن التعرف على عدد من الزيوت الطيارة لكل نوع من الفطريات المنتخبة بعد تحديد زمن الاحتجاز ومقارنته مع زمن احتجاز العينة القياسية كما في الجدول 4-18 وظهر ان زمن احتجاز العينة القياسية الـ Camphor 3.553 و Sabinen 4.620 دقيقة و Terpinen 4.951 دقيقة و Myrcine 6.003 دقيقة و Limonine 8.005 دقيقة و Cineole دقيقة و Linalool 12.198 دقيقة و Alph-Pinene 15.612 الجدول 4-18 قد اظهر التشخيص موافقة الزيوت الطيارة المفصولة للانواع الفطرية المدروسة لعدد من المركبات الطيارة القياسية والتي شملت:

ظهر Camphor في مستخلص الجسم الثمري للفطر *G. curtisii* عند زمن احتجاز 3.418 دقيقة كما في الشكل 4-39 وبتركيز 0.000036 ملغم/غم وفي مستخلص الفطر

*G.cupreolaccatum* بزمن احتجاز 3.420 دقيقة كما في الشكل 4-40 وبتركيز 0.000018 ملغم/غم وظهر في مستخلص الفطر *G.oregonense* ايضا بزمن احتجاز 3.437 دقيقة وهو موضح في الشكل 4-41 وبتركيز 0.000688 ملغم/غم كما كشف عن وجود المركب العطري Sabinen في مستخلص الجسم الثمري للفطر *G.curtisii* عند زمن احتجاز 4.614 دقيقة وبتركيز 0.010580 ملغم/غم وفي مستخلص الجسم الثمري للفطر *G.cupreolaccatum* بزمن احتجاز 4.608 دقيقة وبتركيز 0.056976 ملغم/غم وكذلك الحال للفطر *G.oregonense* بزمن احتجاز 4.636 دقيقة وبتركيز 0.284090 ملغم/غم واطهر التحليل الكروماتوغرافي وجود الزيت الطيار Terpinen في مستخلصات الاجسام الثمرية للفطريات *G.curtisii* و *G.cupreolaccatum* و *G.oregonense* بازمان احتجاز 4.866 و 4.851 و 4.865 دقيقة على التوالي بالاعتماد على التحليل الكروماتوغرافي واتضح ايضا غنى مستخلصات الاجسام الثمرية للأنواع الفطرية بالزيت الطيار وبتراكيز 0.000579 و 0.000077 و 0.000041 ملغم/غم على التوالي، وكذلك ظهور Myrcine و بازمان احتجاز متباينة 6.189 و 6.171 و 6.204 دقيقة على التوالي كما في الجدول 4-18 وبتراكيز 0.136477 و 0.017975 و 0.001396 ملغم/غم على التوالي. تكرر الامر ذاته اذ كشف عن وجود الزيت الطيار في Limonine في مستخلصات الاجسام الثمرية للأنواع الفطرية بزمن احتجاز 8.025 و 8.003 و 8.036 دقيقة على التوالي وبتراكيز 0.000941 و 0.000117 و 0.000052 ملغم/غم على التوالي ، و اشارت النتائج الى وجود الزيت الطيار Cineole في مسحوق العزلات الفطرية المنتخبة الثلاثة الفطرية المدروسة و بزمن احتجاز 10.142 و 10.012 و 10,048 دقيقة على التوالي وبتراكيز 0.038605 و 0.015769 و 0.002165 ملغم/غم على التوالي ، واطهرت الاشكال وجود الزيت الطيار Linalool في العينات الفطرية الثلاثة المدروسة و بزمن احتجاز 11.972 و 11.955 و 11.970 دقيقة على التوالي وبتراكيز 0.004338 و 0.001239 و 0.000754 ملغم/غم على التوالي واطهر التحليل الكروماتوغرافي ان الزيت الطيار Alpa-pinene موجود في مسحوق العزلات الفطرية المنتخبة

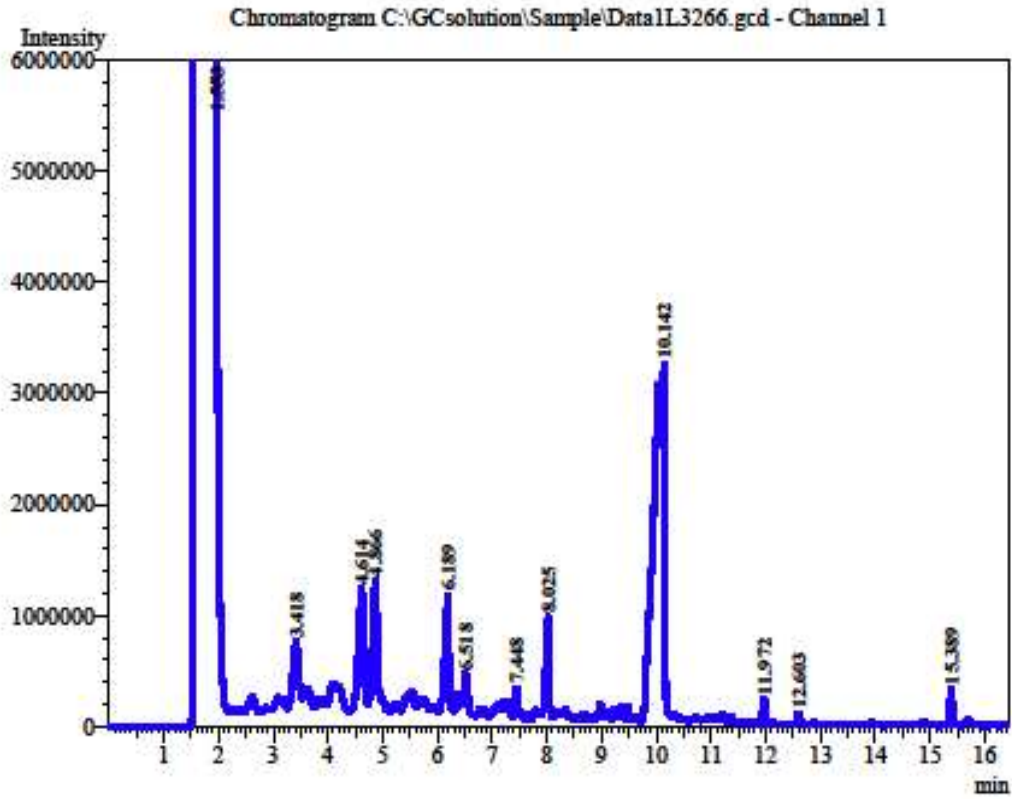
الثلاثة الفطرية المدروسة بزمان احتجاز 15.377 و 15.375 و 15.389 دقيقة على التوالي وبتراكيز 0.000091 و 0.000034 و 0.000032 ملغم/ غم على التوالي.

وتعذر تشخيص بعض الزيوت الطيارة التي ظهرت لها قمم حسب ما يوضحه التحليل الكروماتوكرافي لعدم توفر المركبات القياسية وتتكون مركبات الايض الثانوي في الفطريات ضمن مسارات معقدة ونتيجة لتداخل عدد من العوامل الخارجية والداخلية في تكوين هذه المنتجات ومنها الزيوت الطيارة فضلا عن اشتراك عدد من الانزيمات التي تعمل على تحويل منتجات الايض الاولي الى منتجات طبيعية وارتباط انتاج مركبات الايض الثانوي بالمراحل النهائية لنمو وتطور الفطر قد يفسر تباين محتوى مستخلصات الاجسام الثمرية من الزيوت التي كشف عنها للانواع الفطرية المنتخبة وهذا امر طبيعي للغاية (Taofiq وآخرون، 2016).

وقد استطاع الباحث Al-Fatimi وآخرون (2006) من التحري عن محتوى الجسم الثمري للفطر *G.pfeifferi* من الزيوت الطيارة المستخلصة وكشفت نتائج التحليل الكروماتوكرافي عن عدد من الزيوت الطيارة منها: Myrcine Limonine Cineole Linalool. تمكن الباحث Hartsel وآخرون (2016) من الحصول على عدد من الزيوت الطيارة منها: Cineole , Limonene, Linalool,  $\alpha$ -pinene, Terpene, Citral من مستخلص الجسم الثمري للفطر *G.applanatum*.

الجدول 18-4 الزيوت الطيارة باستخدام تقنية GLC للأنواع الفطرية المنتخبة

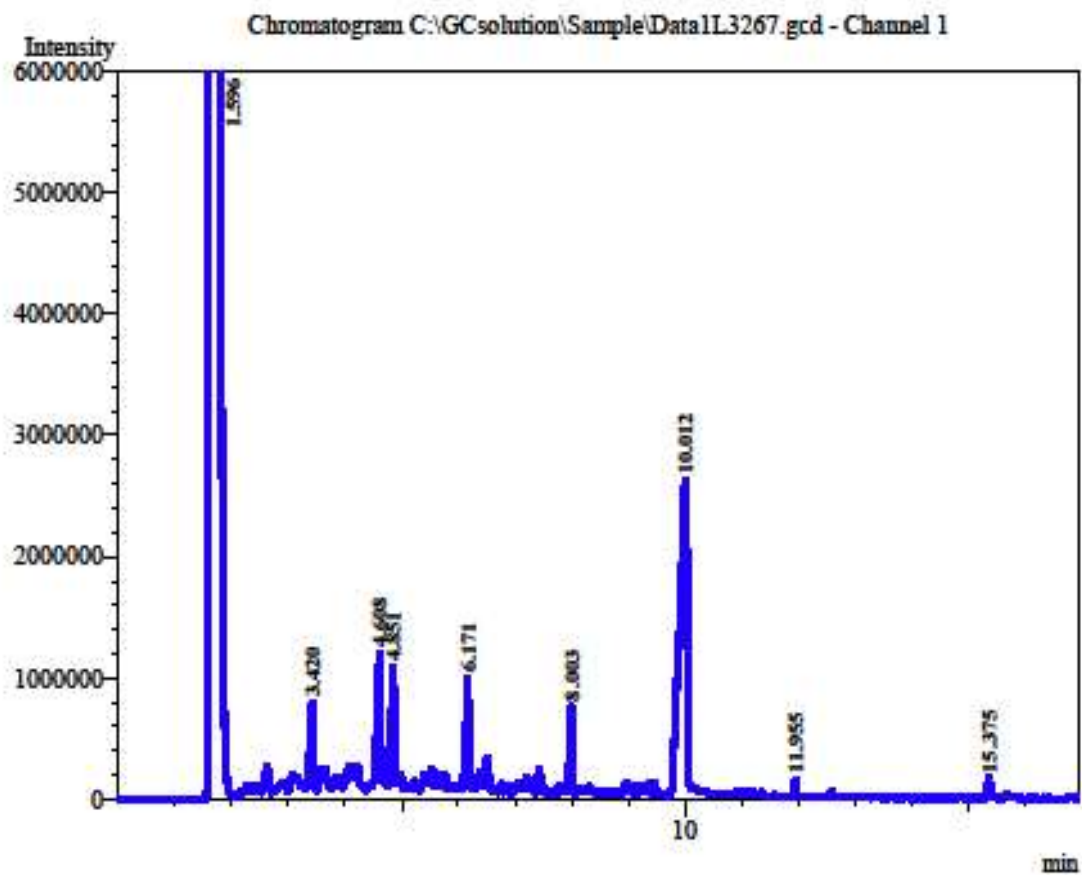
<i>G.oregonense</i>		<i>G.cupreolacatum</i>		<i>G.curtisii</i>		زمن الاحتجاز القياسي (دقيقة)	الزيوت الطيارة القياسية
تركيز ملغم/غم	زمن الاحتجاز (دقيقة)	تركيز ملغم/غم	زمن الاحتجاز (دقيقة)	تركيز ملغم/غم	زمن الاحتجاز (دقيقة)		
0.000688	3.437	0.000018	3.420	0.000036	3.418	3.553	Camphor
0.284090	4.636	0.056976	4.608	0.010580	4.614	4.620	Sabinen
0.000579	4.865	0.000077	4.851	0.000041	4.866	4.951	Terpinene
0.136477	6.204	0.017975	6.171	0.001398	6.189	6.003	Myrcine
0.000941	8.036	0.000117	8.003	0.000052	8.025	8.005	Limonine
0.038605	10.048	0.015769	10.012	0.002165	10.142	10.132	Cineole
0.004338	11.970	0.001239	11.955	0.000754	11.972	12.198	Linalool
0.000091	15.377	0.000034	15.375	0.000032	15.389	15.612	$\alpha$ -pinene



Peak Table - Channel 1

Peak#	Ret.Time	Area	Area%	Height	Name
1	1.553	5042102642	99.9469	500185330	
2	3.418	215839	0.0043	65748	
3	4.614	238189	0.0047	136309	
4	4.866	192644	0.0038	102187	
5	6.189	49079	0.0010	64349	
6	6.518	29011	0.0006	22184	
7	7.448	35809	0.0007	25498	
8	8.025	198780	0.0039	167294	
9	10.142	1408916	0.0279	949827	
10	11.972	93741	0.0019	54644	
11	12.603	36292	0.0007	25982	
12	15.389	181640	0.0036	117796	
<b>Total</b>		<b>5044782582</b>	<b>100.0000</b>	<b>501917148</b>	

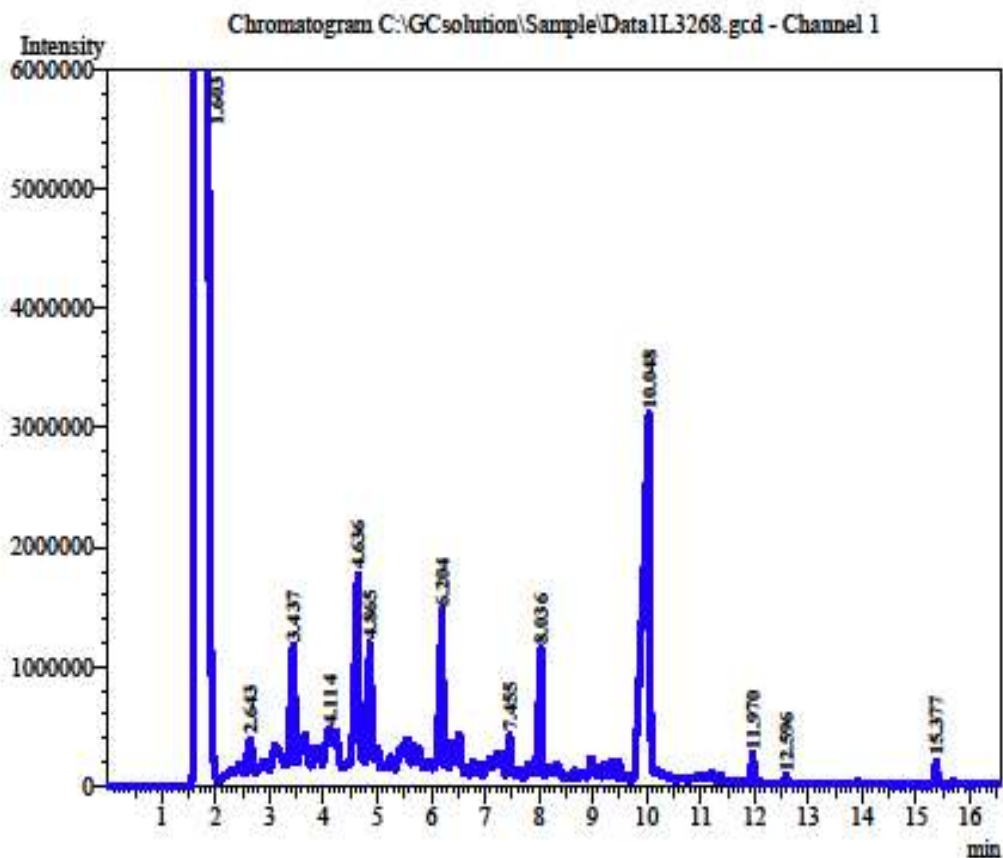
شكل 4-39 المنحني للزيوت الطيارة للفطر *G. curtisii*



Peak Table - Channel 1

Peak#	Ret Time	Area	Area%	Height	Name
1	1.596	2765276882	99.5162	451942678	
2	3.420	112215	0.0040	40532	
3	4.608	1282662	0.0462	623492	
4	4.851	364900	0.0131	257636	
5	6.171	630867	0.0227	384862	
6	8.003	444522	0.0160	294020	
7	10.012	10259868	0.3692	1872948	
8	11.955	153948	0.0055	65583	
9	15.375	194691	0.0070	87288	
<b>Total</b>		<b>2778720555</b>	<b>100.0000</b>	<b>455569039</b>	

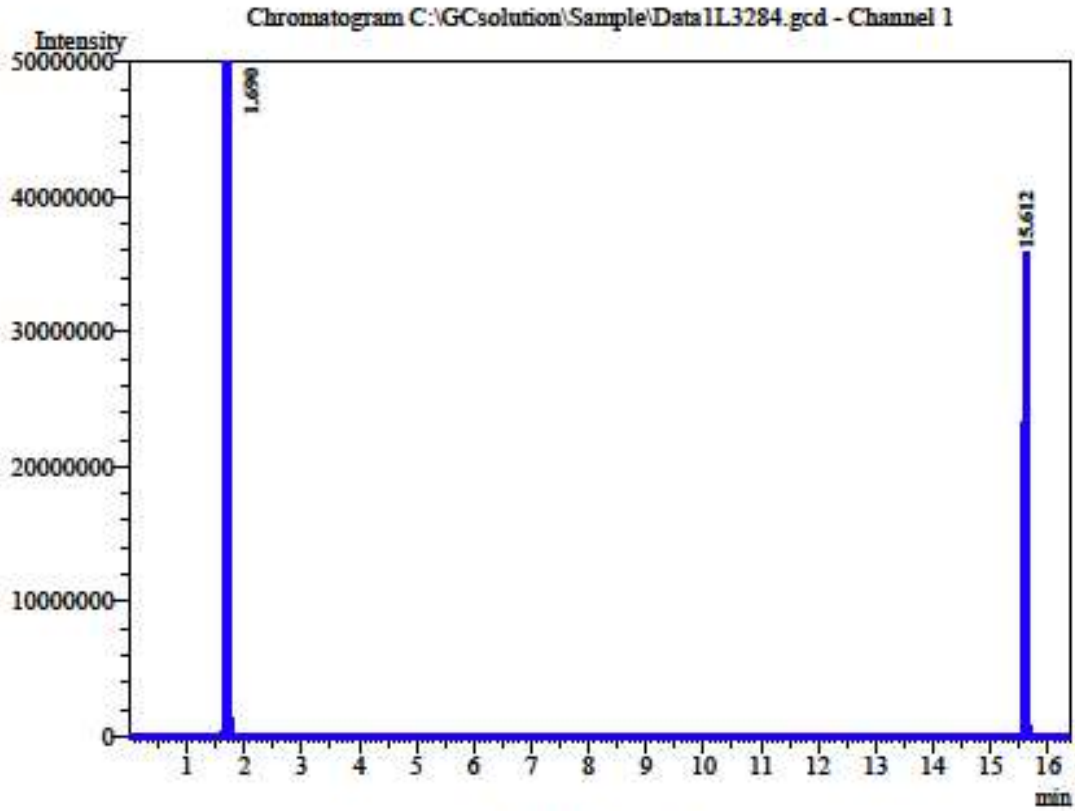
شكل 4-4 منحنى للزيوت الطيارة للفطر *G. cupreolaccatum*



Peak Table - Channel 1

Peak#	Ret Time	Area	Area%	Height	Name
1	1.603	8201922313	98.4236	459008510	
2	2.643	1001577	0.0308	208612	
3	3.437	4116199	0.1265	878889	
4	4.114	1706815	0.0525	169133	
5	4.636	6395508	0.1966	1458016	
6	4.865	2715171	0.0835	809654	
7	6.204	4789742	0.1472	1219764	
8	7.455	746358	0.0229	238272	
9	8.036	3564160	0.1096	967214	
10	10.048	25117222	0.7721	2940321	
11	11.970	538908	0.0166	188812	
12	12.596	85532	0.0026	37517	
13	15.377	507144	0.0156	170141	
<b>Total</b>		<b>8253206649</b>	<b>100.0000</b>	<b>468294855</b>	

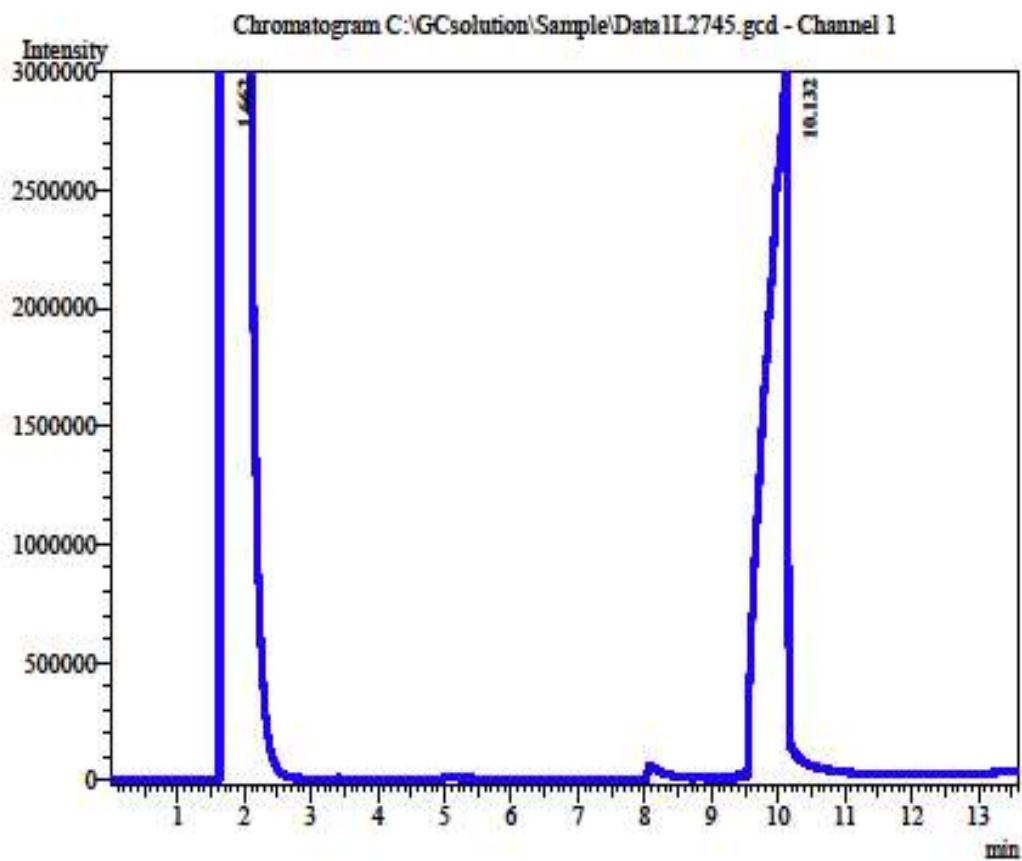
شكل 41-4 منحني للزيوت الطيارة للفطر *G. oregonense*



Peak Table - Channel 1

Peak#	Ret. Time	Area	Area%	Height	Name
1	1.690	227862785	83.6604	2615116	
2	15.612	44503618	16.3396	4569004	
<b>Total</b>		272366403	100.0000	7184120	

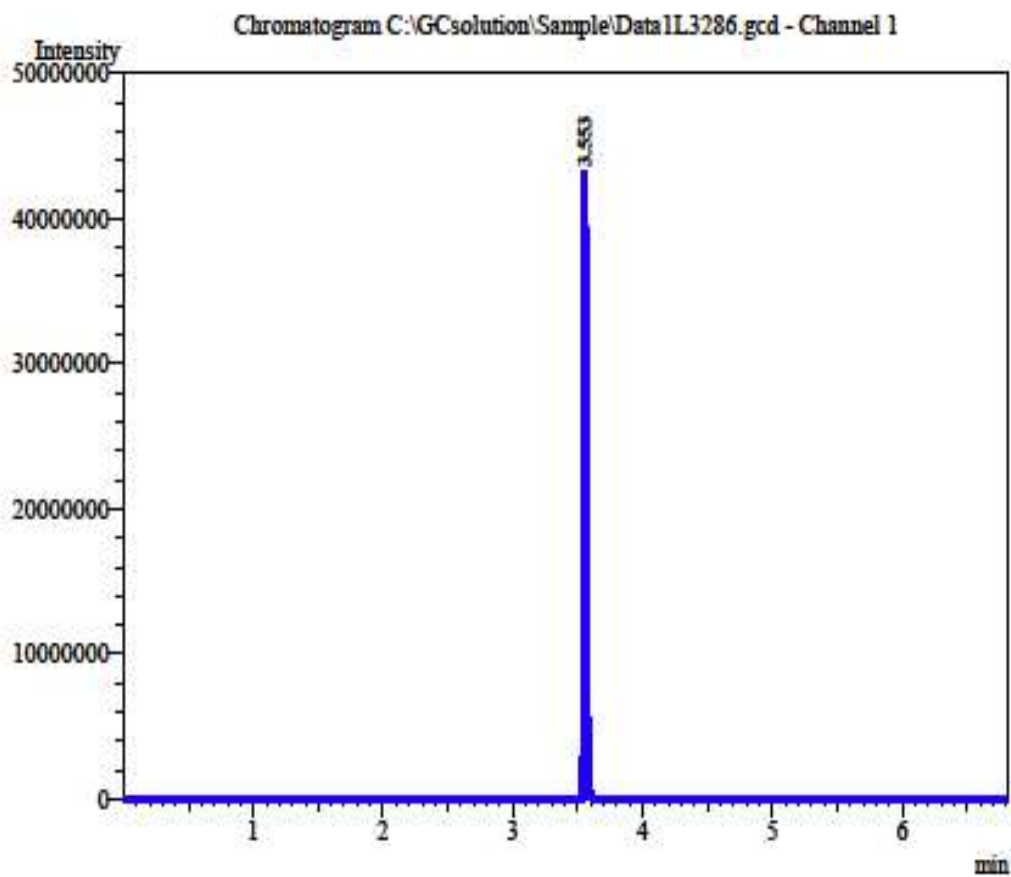
شكل 4-42 المنحني القياسي للزيت الطيار  $\alpha$ -pinen



Peak Table - Channel 1

Peak#	Ret. Time	Area	Area%	Height	Name
1	1.662	975504626	99.4693	5481244	
2	10.132	5204956	0.5307	1907053	Oleic acid
<b>Total</b>		980709582	100.0000	7388297	

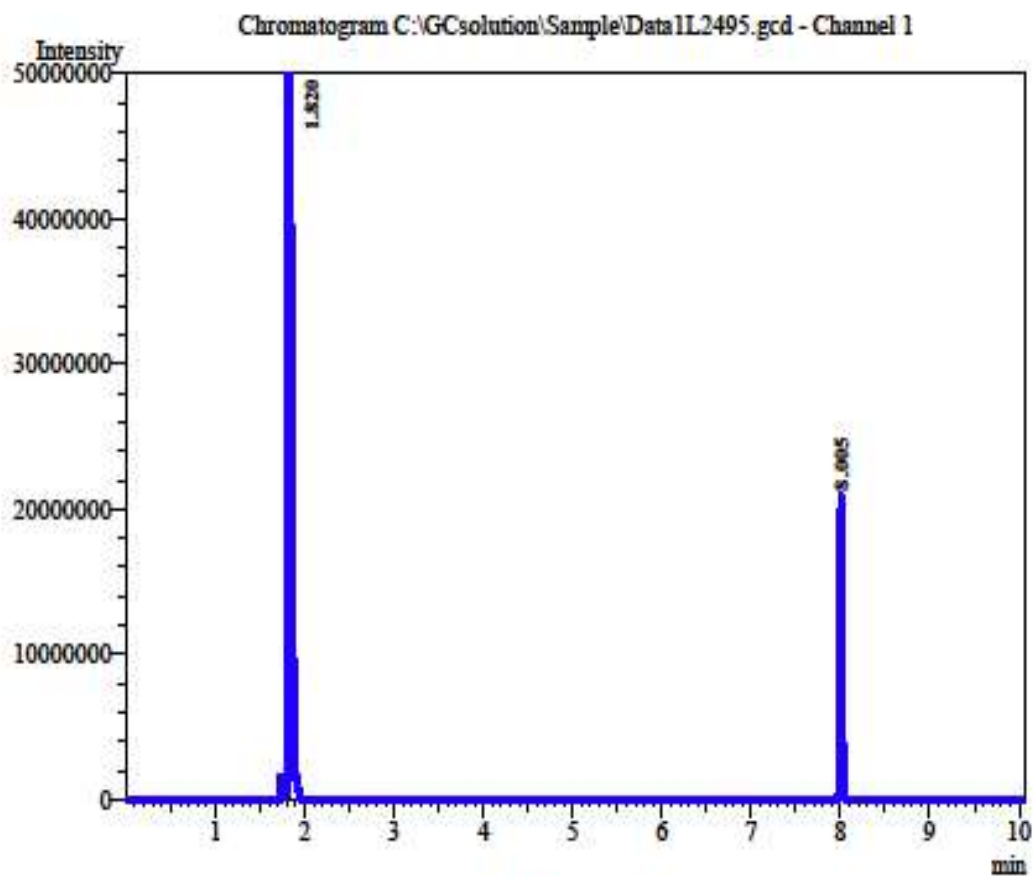
شكل 4-43 المنحني القياسي للزيت الطيار Cineole



Peak Table - Channel 1

Peak#	Ret.Time	Area	Area%	Height	Name
1	3.553	47802571	100.0000	9472373	
<b>Total</b>		47802571	100.0000	9472373	

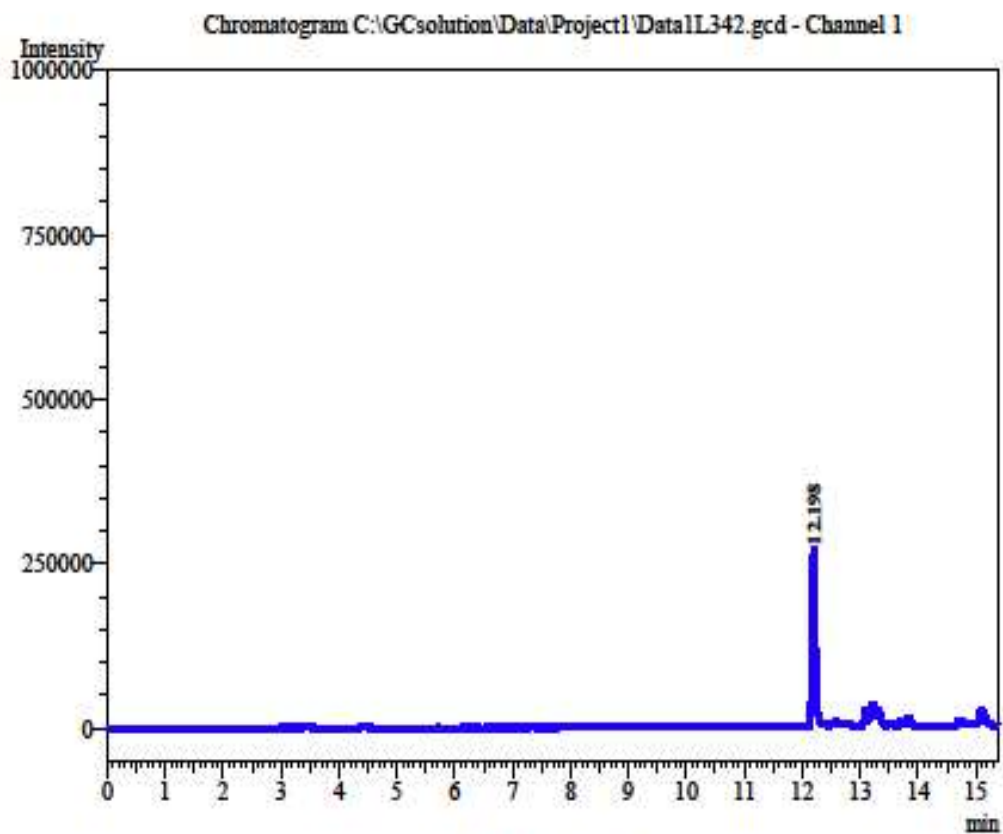
شكل 4-4 المنحني القياسي للزيت الطيار Camphor



Peak Table - Channel 1

Peak#	Ret Time	Area	Area%	Height	Name
1	1.820	215581535	87.6768	2594090	
2	8.005	30300670	12.3232	0426730	
<b>Total</b>		245882205	100.0000	3020820	

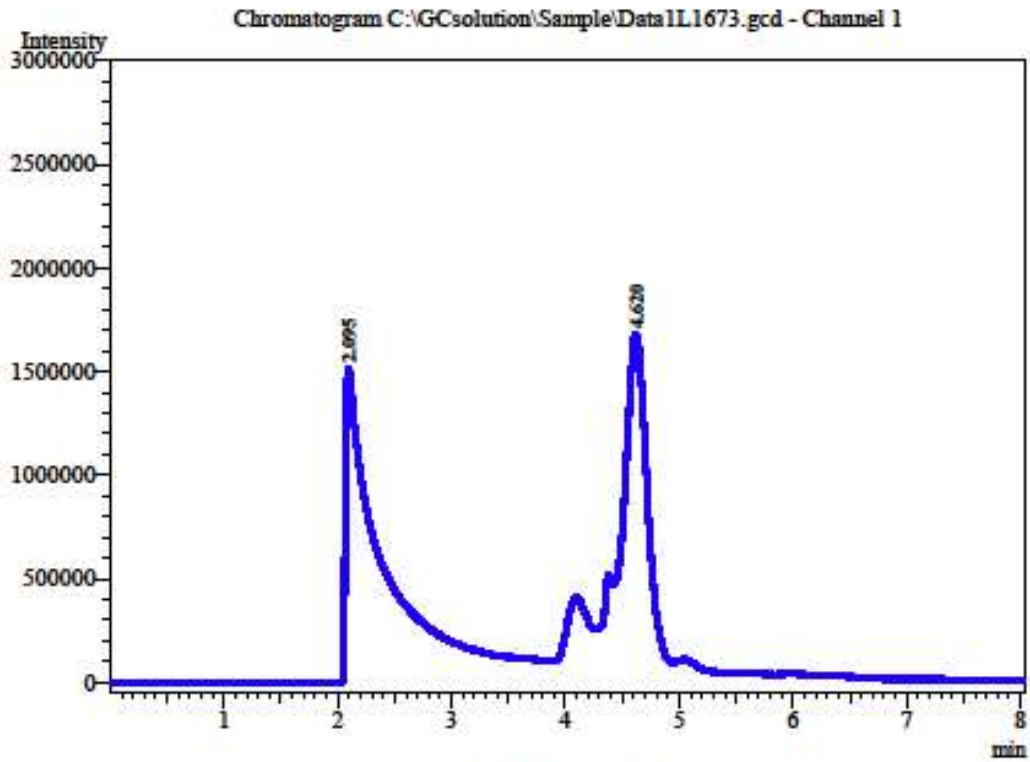
شكل 4-45 المنحني القياسي للزيت الطيار Lemonine



Peak Table - Channel 1

Peak#	Ret. Time	Area	Area%	Height	Name
1	12.198	993806	100.0000	264715	
<b>Total</b>		<b>993806</b>	<b>100.0000</b>	<b>264715</b>	

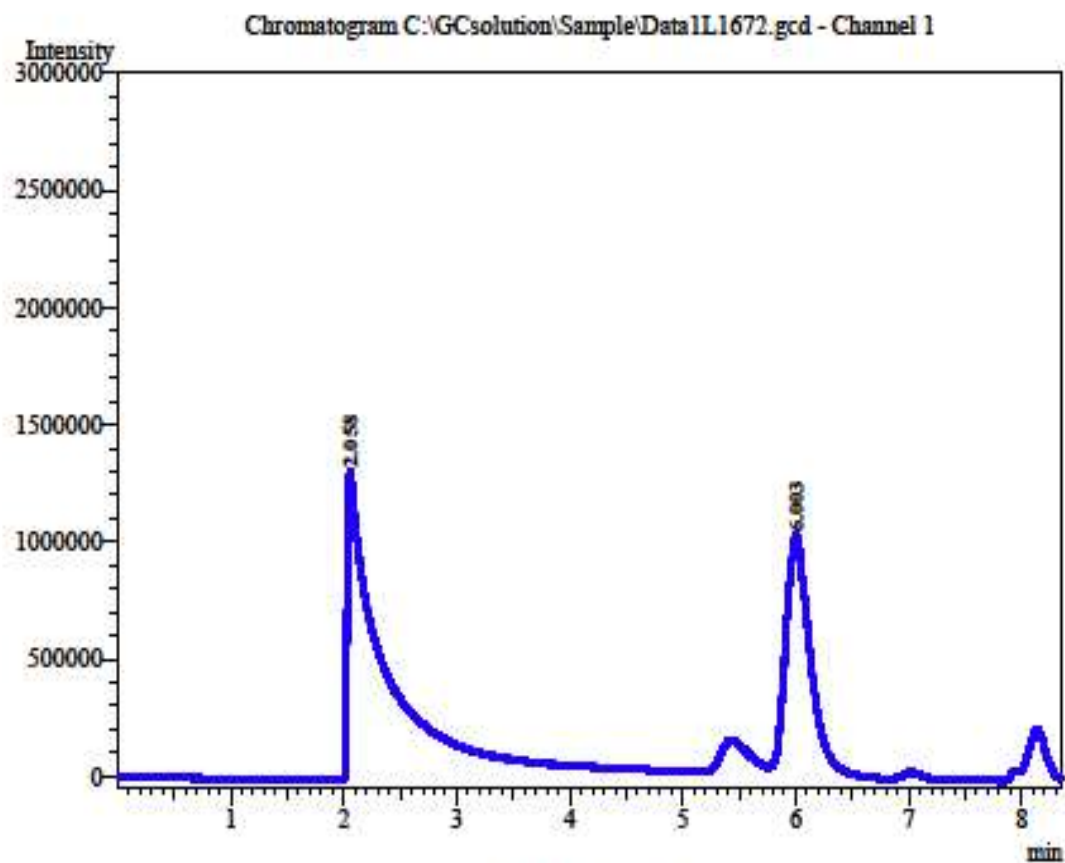
شكل 4-46 المنحني القياسي للزيت الطيار Linalool



Peak Table - Channel 1

Peak#	Ret. Time	Area	Area%	Height	Name
1	2.095	14342111	98.7598	1415792	
2	4.620	180098	1.2402	78899	
<b>Total</b>		14522209	100.0000	1494691	

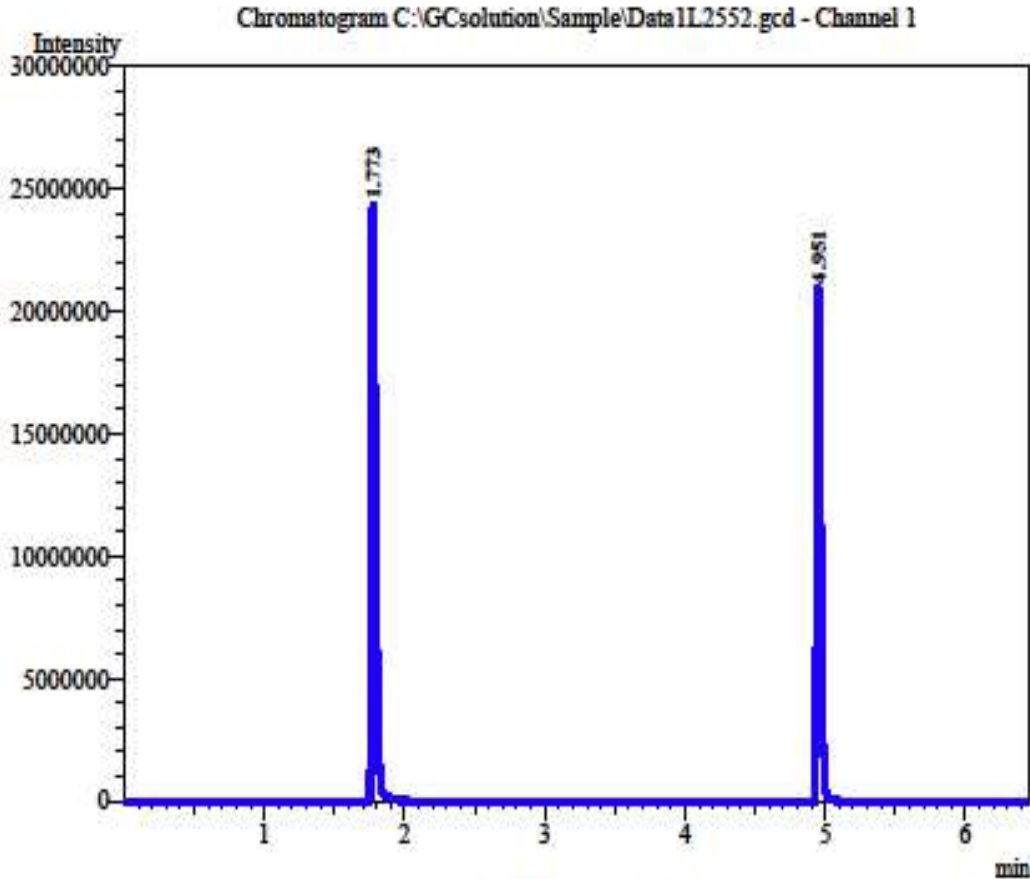
شكل 4-47 المنحني القياسي للزيت الطيار Sabine



Peak Table - Channel 1

Peak#	Ret Time	Area	Area%	Height	Name
1	2.058	341542	54.8834	191129	
2	6.003	280763	45.1166	93698	
<b>Total</b>		<b>622305</b>	<b>100.0000</b>	<b>284827</b>	

شكل 4-48 المنحني القياسي للزيت الطيار Myrcine



Peak Table - Channel 1

Peak#	Ret Time	Area	Area%	Height	Name
1	1.773	52428578	58.3162	3512270	
2	4.951	37475445	41.6838	9522145	
<b>Total</b>		<b>89904023</b>	<b>100.0000</b>	<b>3034415</b>	

شكل 49-4 المنحني القياسي للزيت الطيار Terpinen

#### 8-4 تشخيص الاحماض الامينية للعزلات الفطرية *G. crutisii*

#### *G. oregonense* و *G. cupreolacatum*

تشير القائمة الطويلة لمركبات الايض الثانوي في الفطريات التابعة لجنس الـ *Ganoderma* الى غناه بالاحماض الامينية ، ومن هذا المنطلق تم الكشف عن محتوى مسحوق الاجسام الثمرية للأنواع الفطرية المنتخبة من الاحماض الامينية. جاءت نتائج تفسير التحليل للتشخص عن توفر العديد من الاحماض الامينية في الأنواع الفطرية اذ شخّصت في مسحوق الجسم الثمري للفطر *G. crutisii* الاحماض الامينية: Aspartic acid Glutamic

acid Serine Glycine Threonine Phenylalanine Arginine Isoleucine  
 Cysteine و 1.292 و 1.596 و 2.928 و 3.832 و 4.088 و 5.004 و 5.680  
 و 6.568 و 7.572 دقيقة على التوالي بالتركيز 7.8 و 25.9 و 120.3 و 189.7 و 166.4  
 و 58.9 و 120.3 و 88.7 و 69.8 مايكروغرام/ غرام على التوالي بينما التركيز الكلي للاحماض  
 الامينية بلغ 847.8 مايكروغرام/ غرام في مسحوق الجسم الثمري للفطر وكما في الجدول 4-  
 19

#### جدول 4-19 الاحماض الامينية المشخصة للفطر *G.curtisii* باستخدام جهاز

##### Amino acid analyser

ت	الاحماض الامينية	التركيز مايكروغرام/غرام	زمن الاحتجاز (دقيقة)
1	Aspartic acid	7.8	1.292
2	Glutamic acid	25.9	1.596
3	Serine	120.3	2.928
4	Glycine	189.7	3.832
5	Threonine	166.4	4.088
6	Phenylalanine	58.9	5.004
7	Arginine	120.3	5.680
8	Isoleucine	88.7	6.568
9	Cysteine	69.8	7.572

بينما ظهرت في الفطر *G.cupreolacctum* الاحماض الامينية: Aspartic acid  
 Glutamic acid Serine Glycine Threonine Methionine Phenylalanine  
 Proline Leucine و 2.136 و 2.484 و 3.252 و 3.572 و 4.172 و 4.516  
 و 5.080 و 6.068 و 8.120 دقيقة على التوالي وبتركيز 24.8 و 36.5 و 14.8 و 15.4 و 23.6  
 و 25.4 و 23.4 و 68.7 و 58.9 مايكروغرام/ غرام وكما في الجدول 4-20 وكان التركيز الكلي  
 للاحماض الامينية 291.5 مايكروغرام/ غرام.

جدول 4-20 الاحماض الامينية المشخصة للفطر *G.cupreolaccatum* باستخدام

جهاز Amino acid analyser

ت	الاحماض الامينية	التركيز مايكروغرام/غرام	(دقيقة) زمن الاحتجاز
1	Aspartic acid	24.8	2.136
2	Glutamic acid	36.5	2.484
3	Serine	14.8	3.252
4	Glycine	15.4	3.572
5	Threonine	23.6	4.172
6	Methionine	25.4	4.516
7	Phenylalanine	23.4	5.080
8	Proline	68.7	6.068
9	Leucine	58.9	8.120

ومن مسحوق الجسم الثمري للفطر *G.oregonense* تعرف جهاز Amino acid analyser على عدد من الاحماض الامينية وهي Aspartic acid Glutamic acid و Glycine Isoleucine Cysteine ويزمن احتجاز 2.264 و 2.704 و 3.648 و 6.592 و 7.004 دقيقة على التوالي بالتركيز 12.5 و 17.8 و 3.6 و 74.5 و 98.2 مايكروغرام/ غرام وعلى التوالي وكما في الجدول 4-21 حيث كان التركيز الكلي للاحماض الامينية 1399.1 مايكروغرام/ غرام.

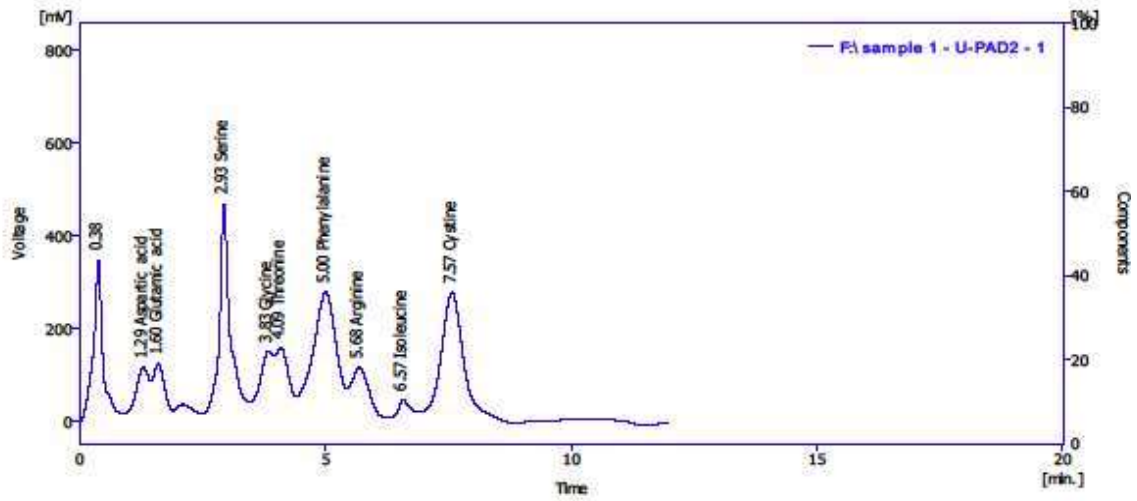
جدول 4-21 الاحماض الامينية المشخصة من الفطر *G.oregonense* باستخدام

جهاز Amino acid analyser

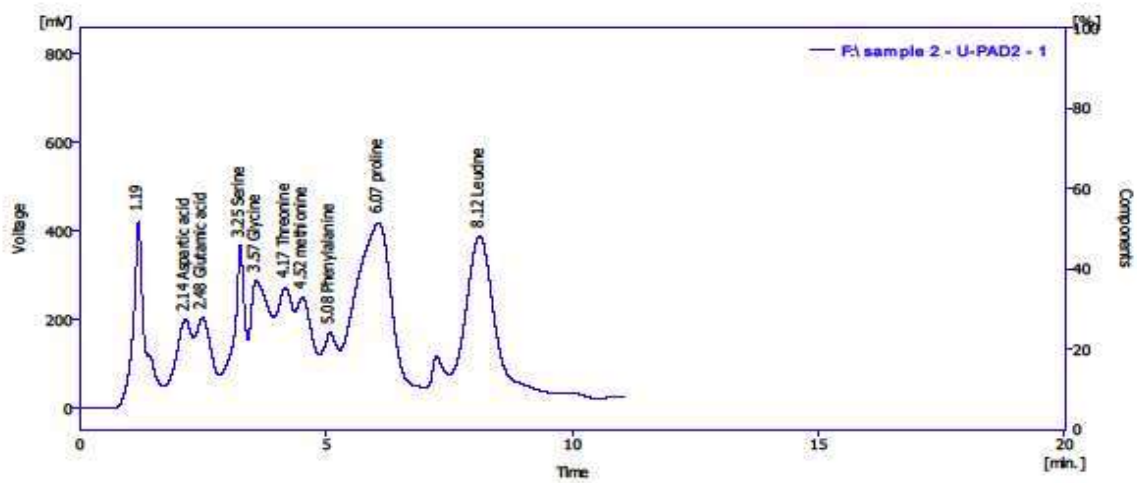
ت	الاحماض الامينية	التركيز (مايكروغرام/غرام)	(دقيقة) زمن الاحتجاز
1	Aspartic acid	12.5	2.264
2	Glutamic acid	17.8	2.704
3	Glycine	3.6	3.648
4	Isoleucine	74.5	6.592
5	Cysteine	98.2	7.004

عرفت الاحماض الامينية بانها من المركبات الضرورية للانسان ؛ لانها اللبنة الاساسية للبروتينات فضلا عن انها تدخل في الكثير من الصناعات الغذائية وتعتبر من المركبات التمهيدية في صناعة بعض المركبات الدوائية وبعض المركبات التي تساهم في عمليات التجميل وللفطريات الكبيرة القابلة على تكوين الاحماض الامينية خلال مسارات الايض الثانوي وجاءت النتائج اعلاه لتبرهن غنى الفطريات بهذه المنتجات الثانوية في خطوة لا تخلو من المصاعب (Thalisa واخرون، 2019).

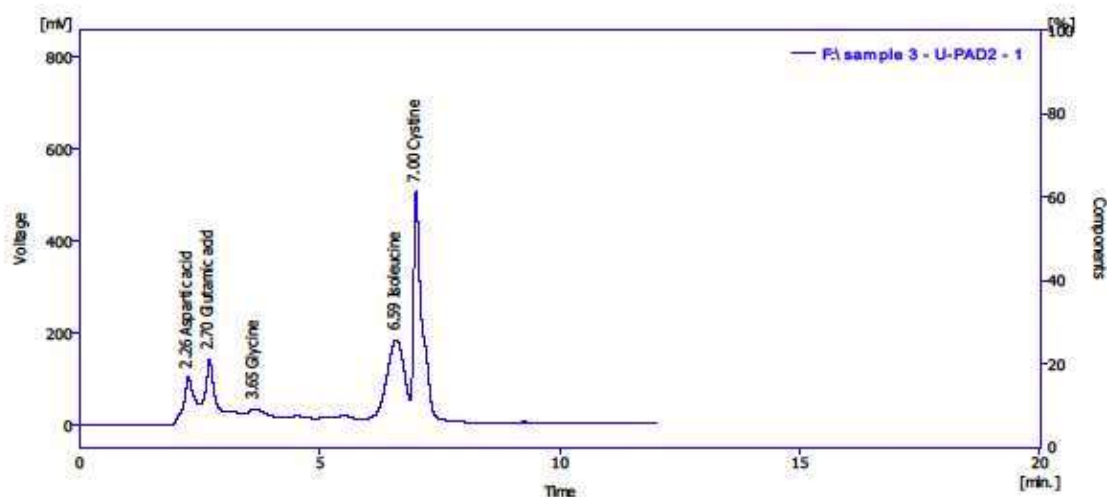
وتوافقت النتائج مع ما ذكره Mattila واخرون (2002) انّ المشروم المزروع في فنلندا يحتوي على عدد من الاحماض الامينية الاساسية منها الايزوليسين والليسين وميثيونين والفينيل النين والثريونين. واثبت علميا من خلال التحليل الكروماتوكرافي الباحث Kouassi واخرون(2016) الى انّ حامض الكلوتامك والفالين هما اكثر الاحماض الامينية انتشارا في المشروم وبتراكيز عالية وكشف البحث العملي المنشور من قبل Thalisa واخرون (2019) انّ المشروم معروف كمصدر للاحماض الامينية الاساسية اذ حصل على 15 حامضا امينيا و 8 منها احماض اساسية و7 احماض غير اساسية بالاستعانة بالتحليل الكروماتوكرافي بتقنية HPLC لـ 22 نوعا من الفطريات تعود لتسع عوائل مختلفة تم جمعها في غابات تعود لمنطقتين مختلفتين في تايلاند .



الشكل 4-50 الاحماض الامينية المشخصة في الفطر *G.curtisii* باستخدام جهاز Amino acid analyser



الشكل 4-51 الاحماض الامينية المشخصة في الفطر *G.cupreolaccatum* باستخدام جهاز Amino acid analyser



الشكل 4-52 الاحماض الامينية المشخصة في الفطر *G.oregonense* باستخدام جهاز

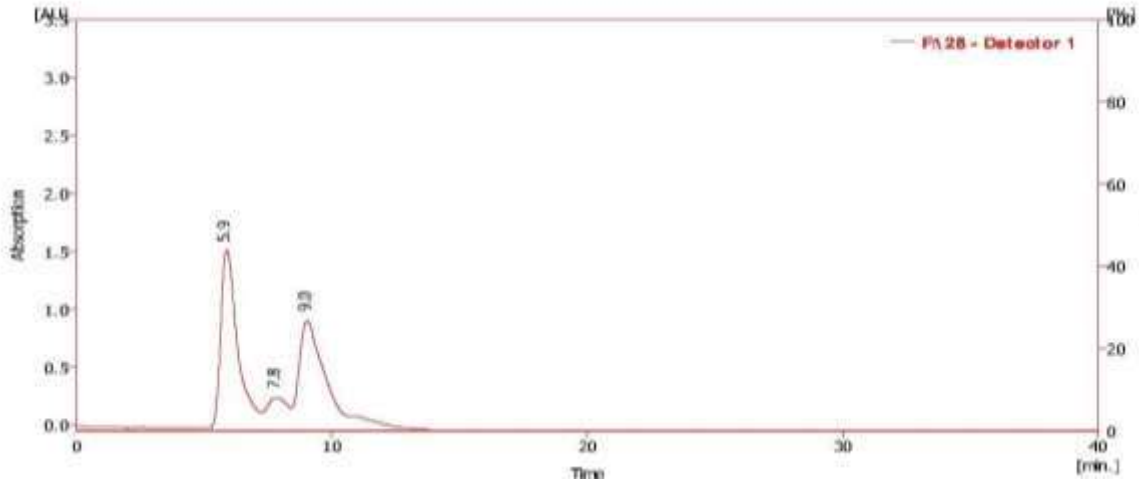
#### Amino acid analyser

#### 8-4 تشخيص السكر المتعدد $\beta$ -glucan باستخدام كروماتوغرافيا السائل عالي

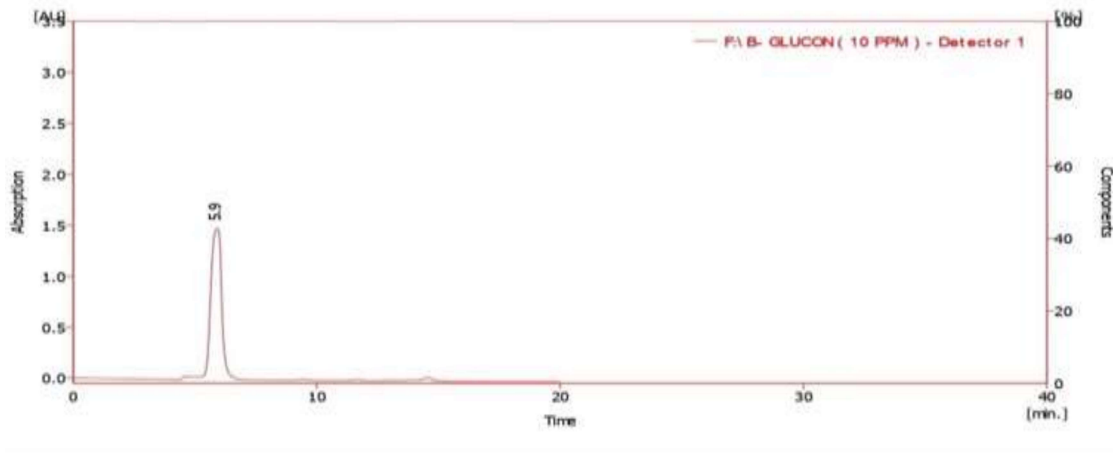
#### الاداء HPLC لفطريات: *G.crutisii* و *G.cupreolaccatum* و *G.oregonense*

كشفت نتائج التحليل الكروماتوغرافي بتقنية HPLC عما كان متوقعا من احتواء مستخلص الجسم الثمري للعزلات الفطرية المنتخبة على السكر المتعدد  $\beta$ -glucan ، اذ تم الاستدلال عليه في مستخلص الفطر *G.crutisii* وهو مبين في الشكل 4-54 وحسب النتائج المبينة في الشكل 4-55 شخص ايضا في الفطر *G.cupreolaccatum* والنتيجة نفسها ظهرت في نتائج التحليل الكروماتوغرافي لمستخلص الفطر *G.oregonense* وكما هو مثبت في الشكل 4-56. من خلال استعراض النتائج اعلاه يتبين ان التجربة اتت اكلها اذ كان الحصول على السكر المتعدد من الانواع التابعة لجنس *Ganoderma* احد الاهداف التي خطط لها منذ الشروع بالبحث وجاءت النتائج مبينة لما للسكر المتعدد من اهمية واستعمالات واسعة ذات قيمة طبية. ومن الابحاث التي تعني الدراسة ما توصل اليه Chen وآخرون (2009) من ان مستخلص الجسم الثمري لفطريات الجنس *Ganoderma* غني بالسكر المتعدد  $\beta$ -glucan وعند قراءة النص الكامل لدراسة Reis وآخرون (2011) يتضح من نتائج التحليل

الكروماتوغرافي احتواء مستخلص الجسم الثمري لعزلة الفطر *G.lucidum* على السكر المتعدد  $\beta$ -glucan. كشفت مشاهدة نتائج البحث الذي قام به Ghosh (2014) عن استخلاص السكر المتعدد من الاجسام الثمرية للفطريات التابعة لجنس *Ganoderma* وتكرر المشهد ذاته في دراسة مستخلص الجسم الثمري *Ganoderma lucidum* اذ تبين وجود السكر المتعدد -  $\beta$  glucan (Wang واخرون، 2018).

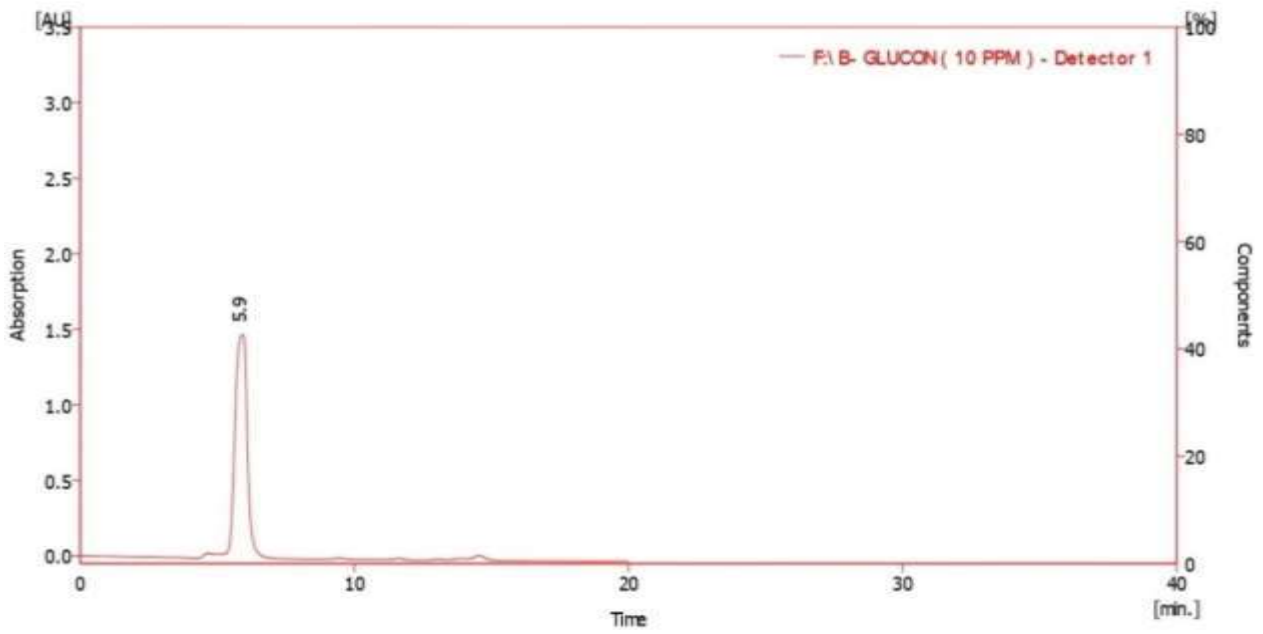


شكل 4-53 المنحني القياسي للسكر المتعدد  $\beta$ -glucan باستخدام جهاز الـHPLC

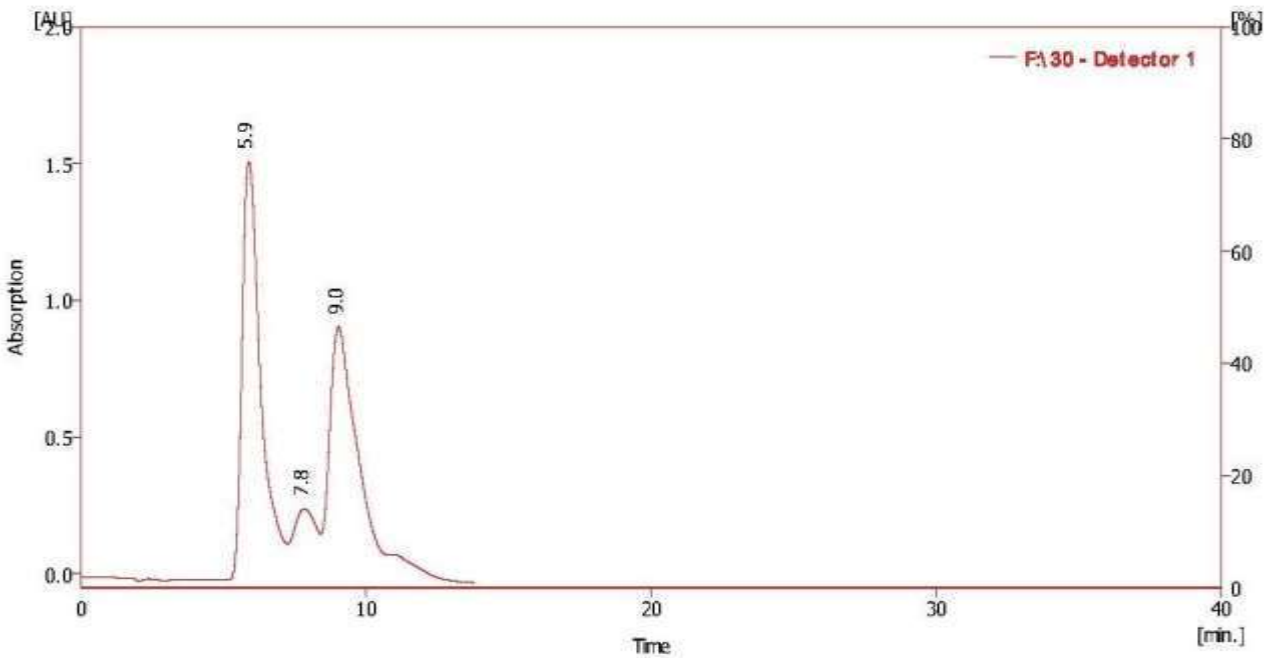


شكل 4-54 منحنى السكر المتعدد  $\beta$ -glucan المستخلص من الفطر *G.curtisii* باستخدام

جهاز الـHPLC



شكل 4-55 منحنى السكر المتعدد  $\beta$ -glucan المستخلص من الفطر  
*G.cupreolaccatum* باستخدام جهاز الـ HPLC



شكل 4-56 منحنى السكر المتعدد الـ  $\beta$ -glucan المستخلص من الفطر  
*G.oregonense* باستخدام جهاز الـ HPLC

#### 9-4 الفعالية البايولوجية للمستخلصات الفطرية:

1-9-4 الفعالية البايولوجية لمستخلصات الاحماض الدهنية من العزلات الفطرية المنتخبة ضد البكتريا الممرضة للانسان

ابدت الاحماض الدهنية المستخلصة بالمذيب العضوي الايثر البترولي للفطر *G.curtisii* وهو مبين في الجدول 4-22 تأثيرا تثبيطيا عاليا ضد بكتريا *S. aureus* اذ بلغ قطر هالة التحلل للتركيز 400 و 200 و 100 ملغم /مل 41 و 39 و 39 ملم على التوالي يليه بكتريا *E.coli* فقد اعطت تأثيرا اقل اذ بلغ قطر هالة التحلل للتركيز 400 و 200 و 100 ملغم /مل 36 و 37 و 37 ملم على التوالي بينما كان قطر هالة التحلل ضد بكتريا *K.pneumoniae* ولنفس التركيز المبينة اعلاه 31 و 34 و 35 ملم على التوالي في حين بلغ قطر هالة التحلل 36 و 31 و 31 ملم على التوالي لبكتريا *P. aeruginosa* عند نفس التركيز بينما اظهرت بكتريا *B. cereus* اكثر مقاومةً للاحماض الدهنية للمستخلص البتروليوم ايثر وهو موضح في الجدول ادناه فقد اعطت اقطار هالات التحلل 21 و 24 و 24 ملم للتركيز 400 و 200 و 100 ملغم /مل على التوالي.

وعلى غرار مستخلص الاحماض الدهنية بالايثر البترولي اعطى مستخلص الكلوروفورم للفطر *G.curtisii* تأثيرا تثبيطيا عاليا ضد بكتريا *S. aureus* فقد بلغت اقطار هالات التحلل 37 و 34 و 34 ملم للتركيز 400 و 200 و 100 ملغم /مل على التوالي بينما في بكتريا *E. coli* بلغت اقطار هالات التحلل 31 و 33 و 37 ملم عند نفس التركيز اعلاه ، وجاء التأثير بدرجة اقل ضد بكتريا *P. aeruginosa* فقد اعطت اقطار هالات التحلل 30 و 26 و 26 ملم على التوالي عند التركيز ذاتها وتكرر الامر نفسه ضد بكتريا *B.cereus* باقطار هالات تحلل بلغت 19 و 20 و 21 ملم على التوالي لنفس التركيز واتي التأثير مشابها ضد بكتريا *K. pneumoniae* وباقل قطر لهالات التحلل 11 و 11 و 12 ملم على التوالي.

وعلى غرار مستخلص الكلوروفورم للاحماض الدهنية اعطى مستخلص الاسيتوني للفطر *G.curtisii* تأثيرا تثبيطيا عاليا ضد بكتريا *S. aureus* فقد بلغت اقطار هالات التحلل 31 و 29 و 28 ملم للتركيز 400 و 200 و 100 ملغم /مل على التوالي بينما في بكتريا *E. coli* بلغت اقطار هالات التحلل 30 و 30 و 32 ملم عند نفس التركيز اعلاه ، وجاء التأثير بدرجة

اقل ضد بكتريا *P. aeruginosa* فقد اعطت اقطار حالات التحلل 30 و 24 و 24 ملم على التوالي عند التراكيز ذاتها وتكرر الامر نفسه ضد بكتريا *B. cereus* باقطار حالات تحلل بلغت 18 و 21 و 22 ملم على التوالي لنفس التراكيز واتى التأثير مشابها ضد بكتريا *K.pneumoniae* ولكن باقل قطر لهالات التحلل 10 و 10 و 13 ملم على التوالي.

بينما اظهر مستخلص IMS للفطر ذاته تأثيرا واضحا ضد بكتريا *E. coli* باقطار حالات تحلل بلغت 28 و 31 و 32 ملم للتراكيز 400 و 200 و 100 كلغم/ مل على التوالي بينما كان للمستخلص الفطري تأثيرا ضد بكتريا *S. aureus* اقطار حالات التحلل 31 و 28 و 28 ملم عند نفس التراكيز المبينة اعلاه وبالنظر الى اقطار حالات التحلل ضد بكتريا *P. aeruginosa* 29 و 22 و 22 ملم على التوالي يتضح تأثير مستخلص IMS على البكتريا بنفس التراكيز، وكان التأثير ضد بكتريا *B. cereus* باقطار حالات تحلل 19 و 20 و 23 ملم على التوالي، بينما اظهر تأثيرا اقل مما سبق ذكره ضد بكتريا *K. pneumoniae* بلغت اقطار حالات التحلل 10 و 13 و 13 ملم لنفس التراكيز على التوالي.

واظهر المستخلص المائي للفطر ذاته تأثيرا واضحا ضد بكتريا *E. coli* باقطار حالات تحلل بلغت 25 و 28 و 28 ملم للتراكيز 400 و 200 و 100 كلغم/ مل على التوالي بينما كان للمستخلص الفطري تأثيرا ضد بكتريا *S.aureus* وبواقع اقطار حالات التحلل 27 و 25 و 25 ملم عند نفس التراكيز المبينة اعلاه وبالنظر اقطار حالات التحلل ضد بكتريا *P. aeruginosa* 27 و 21 و 21 ملم على التوالي يتضح تأثير المستخلص المائي على البكتريا عند بنفس التراكيز ، وكان التأثير ضد بكتريا *B. cereus* باقطار حالات التحلل 17 و 19 و 19 ملم على التوالي ،بينما اظهر تأثيرا اقل مما سبق ذكره ضد بكتريا *K. pneumoniae* وبلغت اقطار حالات التحلل 9 و 11 و 11 ملم لنفس التراكيز على التوالي مقارنة مع المضاد الحيوي Gentamycin.

وباستعراض تفاصيل الفعالية البايولوجية لمستخلصات الاحماض الدهنية لعزلة الفطر *G.cupreolaccatum* تبين الغلبة للمستخلصات الانواع البكتيريا بالمقارنة مع المضاد الحيوي القياسي Gentamycin اذ كان لمستخلص الايثر البترولي فعالية تثبيطية عالية ضد بكتريا *S. aureus* بلغت اقطار حالات التحلل 39 و 39 و 41 ملم للتراكيز 400 و 200 و 100 ملغم/

مل على التوالي تلتها الفعالية ضد بكتريا *E. coli* باقطار حالات تحلل 37 و 37 و 32 ملم على التوالي عند نفس التراكيز السابقة بينما اظهرت فعالية المستخلص ضد بكتريا *B. cereus* اقطار حالات التحلل 26 و 25 و 23 ملم على التوالي لنفس التراكيز وجاء التأثير ضد بكتريا *P. aeruginosa* باقطار حالات التحلل 20 و 24 و 27 ملم على التوالي بينما اظهرت بكتريا *K. pneumoniae* مقاومة لذا جاء التأثير باقطار حالات التحلل بلغت 16 و 21 و 21 ملم للتراكيز 400 و 200 و 100 ملغم/ مل على التوالي.

واظهرت الاحماض الدهنية المستخلصة بالمذيب العضوي الكلوروفورم للفطر *G. cupreolaccatum* تأثيرا تثبيطيا عاليا ضد بكتريا *E. coli* فقد اعطت اقطار حالات التحلل 33 و 35 و 36 ملم للتراكيز 400 و 200 و 100 ملغم/ مل على التوالي فيما اعطى ذات المستخلص فعالية ضد بكتريا *S. aureus* بلغت اقطار حالات تحللها 33 و 29 و 29 ملم لنفس التراكيز السابقة على التوالي وسجلت الفعالية تجاه بكتريا *B. cereus* اقطار حالات التحلل 33 و 29 و 23 ملم على التوالي فيما كانت التأثيرات اقل مما سبق ذكره اعلاه تجاه بكتريا *P. aeruginosa* اذ بلغت اقطار حالات التحلل لنفس التراكيز السابقة 20 و 25 و 29 ملم على التوالي وفي هذا السياق تبين من النتائج انَّ الفعالية تجاه بكتريا *K. pneumoniae* اقل تأثيرا وكانت اقطار حالات التحلل 20 و 19 و 19 ملم للتراكيز المذكورة على التوالي.

واظهرت الاحماض الدهنية المستخلصة بالمذيب العضوي الاسيتوني للفطر ؟؟؟ تأثيرا تثبيطيا عاليا ضد بكتريا *E. coli* فقد اعطت اقطار حالات التحلل 31 و 33 و 33 ملم للتراكيز 400 200 100 ملغم /مل على التوالي فيما اعطى ذات المستخلص فعالية ضد بكتريا *S. aureus* بلغت اقطار حالات تحللها 31 و 27 و 29 ملم لنفس التراكيز السابقة على التوالي وسجلت الفعالية تجاه بكتريا *B. cereus* اقطار حالات تحلل 27 و 29 و 30 ملم على التوالي فيما كانت التأثيرات اقل مما سبق ذكره اعلاه تجاه بكتريا *P. aeruginosa* اذ بلغت اقطار حالات التحلل لنفس التراكيز السابقة 19 و 25 و 26 ملم على التوالي وفي هذا السياق تبين من النتائج انَّ الفعالية تجاه بكتريا *K. pneumoniae* اقل تأثيرا وكانت اقطار حالات التحلل 20 و 17 و 17 ملم للتراكيز المذكورة على التوالي.

واظهرت الاحماض الدهنية المستخلصة بالمذيب العضوي IMS. الفطر *G.cupreolaccatum* كذلك تأثيرا تثبيطيا عاليا ومتساويا تقريبا لكلٍ من بكتريا *E.coli* و بكتريا *S. aureus* فقد اعطت اقطار هالات التحلل 22 و 27 و 29 ملم و 26 و 26 و 30 على التوالي للتركيز 400 و 200 و 100 ملغم /مل فيما اعطى ذات المستخلص فعالية ضد بكتريا *B. cereus* اقطار هالات التحلل 24 و 25 و 29 ملم على التوالي فيما كانت التأثيرات اقل مما سبق ذكره اعلاه تجاه بكتريا *P.aeruginosa* اذ بلغت اقطار هالات التحلل لنفس التركيز السابقة 18 و 25 و 27 ملم على التوالي وفي هذا السياق تبين من النتائج ان الفعالية تجاه بكتريا *K. pneumoniae* اقل تأثيرا وكانت اقطار هالات التحلل 18 و 17 و 17 ملم للتركيز المذكورة على التوالي.

كما واطهرت الاحماض الدهنية المستخلصة بالمذيب المائي للفطر *G.cupreolaccatum* ايضا تأثيرا تثبيطيا معتدلا ومتساويا تقريبا لكلٍ من بكتريا *E. coli* و بكتريا *S. aureus* فقد اعطت اقطار هالات التحلل 20 و 29 و 29 ملم و 25 و 25 و 29 على التوالي للتركيز 400 و 200 و 100 ملغم/ مل فيما اعطى ذات المستخلص فعالية ضد بكتريا *B.cereus* اقطار هالات التحلل 23 و 28 و 33 ملم على التوالي فيما كانت التأثيرات اقل مما سبق ذكره اعلاه تجاه بكتريا *P. aeruginosa* اذ بلغت اقطار هالات التحلل لنفس التركيز السابقة 18 و 22 و 22 ملم على التوالي وفي هذا السياق تبين من النتائج ان الفعالية تجاه بكتريا *K. pneumoniae* اقل تأثيرا وكانت اقطار هالات التحلل 18 و 15 و 15 ملم للتركيز المذكورة على التوالي مقارنة مع المضاد الحيوي القياسي.

وترافق مع اختبار فعالية مستخلصات الاحماض الدهنية بالمذيبات المتعاقبة ضد البكتريا للفطر *G. oregonense* تأثيرا تثبيطيا عاليا مقارنة مع المضاد الحيوي القياسي اذ جاء تأثير مستخلص الايثر البترولي ضد بكتريا *E. coli* باقطار هالات تحلل بلغت 41 و 39 و 38 ملم للتركيز 400 و 200 و 100 كلغم/ مل على التوالي بينما كان للمستخلص الفطري تأثيرٌ ضد بكتريا *S. aureus* اقطار هالات تحلل 28 و 26 و 26 ملم عند نفس التركيز المبينة اعلاه وبالنظر الى اقطار هالات التحلل ضد بكتريا *B. cereus* 29 و 23 و 23 ملم على التوالي

يتضح تأثير مستخلص الايثر البترولي على البكتريا بنفس التراكيز ، وكان التأثير ضد بكتريا *P. aeruginosa* باقطار حالات التحلل 29 و 23 و 21 ملم على التوالي، بينما اظهر تأثيرا اقل مما سبق ذكره ضد بكتريا *K. pneumoniae* فقد بلغت اقطار حالات التحلل 19 و 14 و 14 ملم لنفس التراكيز على التوالي مقارنة مع المضاد الحيوي القياسي.

اما فيما يتعلق بفعالية مستخلص الكلوروفورم فقد اظهر تأثيرا تثبيطيا يؤهله لاستخدامه كمضاد حيوي ضد بكتريا *S. aureus* فقد بلغت اقطار حالات التحلل (36 36 37) ملم للتراكيز 400 و 200 و 100 ملغم/مل على التوالي واظهر تأثيرا تثبيطيا ضد بكتريا *P. aeruginosa* بمعدل اقطار حالات التحلل 27 و 23 و 21 ملم لنفس التراكيز وجاءت الفعالية لمستخلص الكوروفورم ضد بكتريا *E. coli* باقطار حالات التحلل 29 و 24 و 21 ملم لنفس التراكيز وعلى التوالي ضد بكتريا *B. cereus* بلغت اقطار حالات التحلل 29 و 24 و 24 ملم للتراكيز ذاتها وعلى التوالي، يظهر النتائج تأثيرا واطنا ضد بكتريا *K. pneumoniae* باقطار حالات التحلل 21 و 19 و 19 ملم على التوالي.

وعلى غرار مستخلص الكلوروفورم للاحماض الدهنية اعطى مستخلص الاسيتوني للفطر *G. oregonense* تأثيرا تثبيطيا عاليا ضد بكتريا *S. Aureus* فقد بلغت اقطار حالات التحلل 35 و 34 و 32 ملم للتراكيز 400 و 200 و 100 ملغم /مل على التوالي بينما في بكتريا *E. coli* بلغت اقطار حالات التحلل 26 و 24 و 20 ملم عند نفس التراكيز اعلاه ، وجاء التأثير بدرجة اقل ضد بكتريا *B. cereus* باقطار حالات التحلل بلغت 25 و 21 و 20 ملم على التوالي عند التراكيز ذاتها وتكرر الامر نفسه ضد بكتريا *P. aeruginosa* فقد اعطت اقطار حالات التحلل 22 و 21 و 21 ملم على التوالي لنفس التراكيز واتى التأثير مشابها ضد بكتريا *K.pneumoniae* ولكن باقل قطر لهالات التحلل 21 و 18 و 17 ملم على التوالي.

واظهر المستخلص IMS للاحماض الدهنية للفطر *G. oregonense* تأثيرا تثبيطيا عاليا ضد بكتريا *S. aureus* فقد بلغت اقطار حالات التحلل 34 و 34 و 30 ملم للتراكيز 400 و 200 و 100 ملغم/مل على التوالي وفي بكتريا *E. coli* بلغت اقطار حالات التحلل 25 و 22 و 21 ملم عند نفس التراكيز اعلاه ، وجاء التأثير بدرجة اقل ضد بكتريا *B. cereus* باقطار

هالات التحلل بلغت 24 و 21 و 21 ملم على التوالي عند التراكيز ذاتها وتكرر الامر نفسه ضد بكتريا *P. aeruginosa* فقد اعطت اقطار هالات التحلل 20 و 21 و 22 ملم على التوالي لنفس التراكيز واتى التأثير مشابهها ضد بكتريا *K. pneumoniae* ولكن باقل قطر لهالات التحلل 20 و 18 و 18 ملم على التوالي.

واظهر المستخلص المائي للاحماض الدهنية للفطر *G. oregonense* تأثيرا تثبيطيا عاليا ضد بكتريا *S. aureus* حيث بلغت اقطار هالات التحلل 30 و 30 و 25 ملم للتراكيز 400 و 200 و 100 ملغم/مل على التوالي وفي بكتريا *E. coli* بلغت اقطار هالات التحلل 23 و 20 و 19 ملم عند نفس التراكيز اعلاه، وجاء التأثير بدرجة اقل ضد بكتريا *B. cereus* باقطار هالات التحلل بلغت 22 و 20 و 19 ملم على التوالي عند التراكيز ذاتها وتكرر الامر نفسه ضد بكتريا *P. aeruginosa* فقد اعطت اقطار هالات التحلل 18 و 21 و 23 ملم على التوالي لنفس التراكيز واتى التأثير مشابهها ضد بكتريا *K. pneumoniae* ولكن باقل قطر لهالات التحلل 17 و 14 و 14 ملم على التوالي مقارنة مع المضاد الحيوي القياسي كما في الجدول 4-22.

من خلال ما ورد في النتائج اعلاه يُعزى تفسيرها بان مستخلص كل من البتروليوم ايثر والكلوروفورم المستخدمة لاستخلاص الاحماض الدهنية من الفطرية تمكنت من تحرير حامض *Palmitic* و *Stearic* و *Linaloic* والتي تمتلك فعالية بايولوجية تجاه العديد من الانواع البكتيرية الممرضة للانسان، والتي عملت على نفاذية جدار الخلية الناتج من تفاعل الاحماض الدهنية مع بروتينات جدار الخلية البكتيرية مسببة تشوها في تركيبه وفعاليتها (Donsky، 2013) اذ ان الاحماض الدهنية تسبب تثبيطا لعملية اخذ الاوكسجين ومن ثم تقليل انتاج مركبات الطاقة ATP وبالتالي تؤدي الى موت الخلية فضلا عن تثبيط تصنيع البروتين والاحماض النووية التي تحتاجها الخلية بصورة اساسية او تثبيط تصنيع الغشاء البلازمي وهذا ما اكده Abdelmageid واخرون، (2009).

وتتطابق النتائج كذلك مع اكدته الورقة البحثية التي نشرها الباحث Kamble واخرون (2011) اذ اظهر المستخلص الميثانولي والاسيتوني والكلوروفورم والمستخلص المائي للفطر *G. lucidum* تأثيرات تثبيطية عالية على البكتريا الموجبة والسالبة لصبغة غرام منها *S. aureus* و

*E. coli* و *K. Pneumoniae* و *S. typhi* فضلا عن انواع بكتيرية مرضية اخرى وكانت كل المذيبات المستخدمة بتركيز 100 ملغرام/ مل قد اعطت هالات تحلل عالية في البكتريا الموجبة لصبغة غرام مقارنة مع البكتريا السالبة لصبغة غرام. وأشار الباحثان Tamilselvan و Rajesh عام (2019) الى التأثيرات التثبيطية للمستخلص الايثانولي للفطر *G.lucidum* على خمسة انواع بكتيرية مرضية مختلفة *S. aureus* و *E. coli* و *K. Pneumoniae* و *S. typhi* و *P. aeruginosa* فقد اعطت هالات التحلل باقطار (13, 29 , 16 , 19, 26) ملم على التوالي.

#### جدول 4-22 الفعالية البايولوجية لمستخلصات الاحماض الدهنية من العزلات الفطرية ضد

##### بعض انواع البكتريا المرضية

<i>E. coli</i>		<i>B. cereus</i>		<i>P. aeruginosa</i>		<i>K.pneumoniae</i>		<i>S. aureus</i>		المستخلص/ العزلة الفطرية
معدل قطر التثبيط ملم	التركيز ملغم/مل	معدل قطر التثبيط ملم	التركيز ملغم/مل	معدل قطر التثبيط ملم	التركيز ملغم/مل	معدل قطر التثبيط ملم	التركيز ملغم/مل	معدل قطر التثبيط ملم	التركيز ملغم/مل	
36	400	21	400	36	400	31	400	41	400	مستخلص البتروليوم ايثر
37	200	24	200	31	200	34	200	39	200	للفطر <i>G.curtisii</i>
37	100	24	100	31	100	35	100	39	100	مستخلص الكلوروفرمي
31	400	19	400	30	400	11	400	37	400	للفطر <i>G.curtisii</i>
33	200	20	200	26	200	11	200	34	200	مستخلص الاسيتوني
37	100	21	100	26	100	12	100	34	100	للفطر <i>G.curtisii</i>
30	400	18	400	30	400	10	400	31	400	مستخلص الـ IMS
30	200	21	200	24	200	10	200	29	200	للفطر <i>G.curtisii</i>
32	100	22	100	24	100	13	100	28	100	مستخلص الـ IMS
28	400	19	400	29	400	10	400	31	400	للفطر <i>G.curtisii</i>
31	200	20	200	22	200	13	200	28	200	مستخلص المائي
32	100	23	100	22	100	13	100	28	100	
25	400	17	400	27	400	9	400	27	400	

<i>E. coli</i>		<i>B. cereus</i>		<i>P. aeruginosa</i>		<i>K.pneumoniae</i>		<i>S. aureus</i>		المستخلص/ العزلة الفطرية
معدل قطر التثبيط ملم	التركيز ملغم/مل	معدل قطر التثبيط ملم	التركيز ملغم/مل	معدل قطر التثبيط ملم	التركيز ملغم/مل	معدل قطر التثبيط ملم	التركيز ملغم/مل	معدل قطر التثبيط ملم	التركيز ملغم/مل	
28	200	19	200	21	200	11	200	25	200	للفطر <i>G.curtisii</i>
28	100	19	100	21	100	11	100	25	100	
37	400	26	400	20	400	16	400	39	400	
37	200	25	200	24	200	21	200	39	200	مستخلص البتروليوم ايثر للفطر <i>G.cupreolaccatum</i>
32	100	23	100	27	100	21	100	41	100	
33	400	23	400	20	400	20	400	33	400	مستخلص الكلوروفرمي للفطر <i>G.cupreolaccatum</i>
35	200	29	200	25	200	19	200	29	200	
36	100	33	100	29	100	19	100	29	100	
31	400	27	400	19	400	20	400	31	400	مستخلص الاسيتوني للفطر <i>G.cupreolaccatum</i>
33	200	29	200	25	200	17	200	27	200	
33	100	30	100	26	100	17	100	29	100	
22	400	24	400	18	400	18	400	30	400	مستخلص IMS للفطر <i>G.cupreolaccatum</i>
27	200	25	200	25	200	17	200	26	200	
29	100	29	100	27	100	17	100	26	100	
20	400	23	400	18	400	18	400	29	400	مستخلص المائي للفطر <i>G.cupreolaccatum</i>
29	200	28	200	22	200	15	200	25	200	
29	100	33	100	22	100	15	100	25	100	
41	400	29	400	29	400	19	400	28	400	مستخلص البتروليوم ايثر
39	200	23	200	23	200	14	200	26	200	
38	100	23	100	21	100	14	100	26	100	

<i>E. coli</i>		<i>B. cereus</i>		<i>P. aeruginosa</i>		<i>K.pneumoniae</i>		<i>S. aureus</i>		المستخلص/ العزلة الفطرية
معدل قطر التثبيط ملم	التركيز ملغم/مل	معدل قطر التثبيط ملم	التركيز ملغم/مل	معدل قطر التثبيط ملم	التركيز ملغم/مل	معدل قطر التثبيط ملم	التركيز ملغم/مل	معدل قطر التثبيط ملم	التركيز ملغم/مل	
										الفطر <i>G.oregonense</i>
29	400	29	400	27	400	21	400	37	400	مستخلص
24	200	24	200	23	200	19	200	36	200	الكلوروفرمي
21	100	24	100	21	100	19	100	36	100	الفطر <i>G.oregonense</i>
26	400	25	400	22	400	21	400	35	400	مستخلص
24	200	21	200	21	200	18	200	34	200	الاسيتوني
20	100	20	100	21	100	17	100	32	100	الفطر <i>G.oregonense</i>
25	400	24	400	20	400	20	400	34	400	مستخلص IMS
22	200	21	200	21	200	18	200	34	200	الفطر
21	100	21	100	22	100	18	100	30	100	<i>G.oregonense</i>
23	400	22	400	18	400	17	400	30	400	مستخلص المائي
20	200	20	200	21	200	14	200	30	200	الفطر
19	100	19	100	23	100	14	100	25	100	<i>G.oregonense</i>
20		22		10		20		18		Gentamycin( 10)mg



*E.coli*

*B.cereus*

*P.aeruginosa*

*K. pneumoniae*

*S. aureus*

شكل الفعاليات البيولوجية لمستخلصات الاحماض الدهنيه من العزلات الفطرية  
المنتخبة ضد بعض انواع البكتريا المرضيه

## الاحصائيات لجدول 22-4

جميع احصائيات الفعالية البيولوجية لمستخلصات الاحماض الدهنية من العزلات الفطرية  
المنتخبة ضد بعض انواع البكتريا المرضية

Statistics					
		نوع البكتريا	نوع المستخلص	التركيز ملغم/غم	معدل قطر التثبيط ملم
N	Valid	225	225	225	225
	Missing	0	0	0	0
Mean		3.00	8.00	2.33	25.08
Median		3.00	8.00	2.00	25.00
Mode		1 <sup>a</sup>	1 <sup>a</sup>	1 <sup>a</sup>	21
Std. Deviation		1.417	4.330	1.250	7.033
Variance		2.009	18.750	1.563	49.467
Skewness		.000	.000	.384	.102
Std. Error of Skewness		.162	.162	.162	.162
Minimum		1	1	1	9
Maximum		5	15	4	41
Sum		675	1800	525	5643

الاعداد والنسبة المئوية لأنواع البكتريا المتواجدة في جدول 22-4

نوع البكتريا					
		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	<i>S. aureus</i>	45	20.0	20.0	20.0
	<i>K. pneumonia</i>	45	20.0	20.0	40.0
	<i>P.aeruginosa</i>	45	20.0	20.0	60.0
	<i>B .cereus</i>	45	20.0	20.0	80.0
	<i>E. coli</i>	45	20.0	20.0	100.0
	Total	225	100.0	100.0	

الاعداد والنسبة المئوية لأنواع المستخلصات المتواجدة في جدول 4-22

نوع المستخلص					
		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	مستخلص البتروليوم ايثر للفطر G.curtisii	15	6.7	6.7	6.7
	مستخلص الكلوروفرمي للفطر G.curtisii	15	6.7	6.7	13.3
	مستخلص الاسيتوني للفطر G.curtisii	15	6.7	6.7	20.0
	مستخلص الـ IMS للفطر G.curtisii	15	6.7	6.7	26.7
	مستخلص المائي للفطر G.curtisii	15	6.7	6.7	33.3
	مستخلص البتروليوم ايثر للفطر G.cupreolaccatum	15	6.7	6.7	40.0
	مستخلص الكلوروفرمي للفطر G.cupreolaccatum	15	6.7	6.7	46.7
	مستخلص الاسيتوني للفطر G.cupreolaccatum	15	6.7	6.7	53.3
	مستخلص الـ IMS للفطر G.cupreolaccatum	15	6.7	6.7	60.0
	مستخلص المائي للفطر G.cupreolaccatum	15	6.7	6.7	66.7
	مستخلص البتروليوم ايثر الفطر G.oregonense	15	6.7	6.7	73.3
	مستخلص الكلوروفرمي الفطر G.oregonense	15	6.7	6.7	80.0
	مستخلص الاسيتوني الفطر G.oregonense	15	6.7	6.7	86.7
	مستخلص الـ IMS الفطر G.oregonense	15	6.7	6.7	93.3
	مستخلص المائي الفطر G.oregonense	15	6.7	6.7	100.0
Total	225	100.0	100.0		

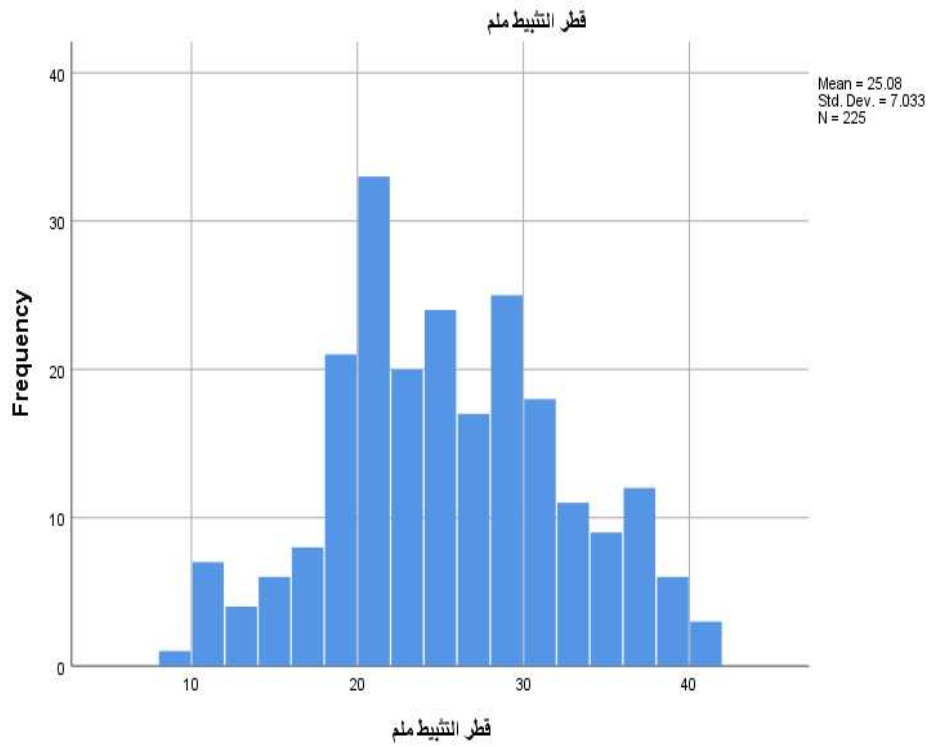
الاعداد والنسبة المئوية لانواع التراكيز المستخدمة في جدول 4-22

التركيز ملغم/غم					
		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	100	75	33.3	33.3	33.3
	200	75	33.3	33.3	66.7
	400	75	33.3	33.3	100.0
	Total	225	100.0	100.0	

الاعداد والنسبة المئوية لأحجام اقطار التثبيط الموجودة في جدول 4-22

معدل قطر التثبيط ملم					
		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	9	1	.4	.4	.4
	10	3	1.3	1.3	1.8
	11	4	1.8	1.8	3.6
	12	1	.4	.4	4.0
	13	3	1.3	1.3	5.3
	14	4	1.8	1.8	7.1
	15	2	.9	.9	8.0
	16	1	.4	.4	8.4
	17	7	3.1	3.1	11.6
	18	9	4.0	4.0	15.6
	19	12	5.3	5.3	20.9
	20	13	5.8	5.8	26.7
	21	20	8.9	8.9	35.6
	22	10	4.4	4.4	40.0
	23	10	4.4	4.4	44.4
	24	11	4.9	4.9	49.3
	25	13	5.8	5.8	55.1
	26	9	4.0	4.0	59.1
	27	8	3.6	3.6	62.7
	28	8	3.6	3.6	66.2
29	17	7.6	7.6	73.8	
30	9	4.0	4.0	77.8	
31	9	4.0	4.0	81.8	

معدل قطر التثبيت ملم					
		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
	32	4	1.8	1.8	83.6
	33	7	3.1	3.1	86.7
	34	6	2.7	2.7	89.3
	35	3	1.3	1.3	90.7
	36	5	2.2	2.2	92.9
	37	7	3.1	3.1	96.0
	38	1	.4	.4	96.4
	39	5	2.2	2.2	98.7
	41	3	1.3	1.3	100.0
	Total	225	100.0	100.0	

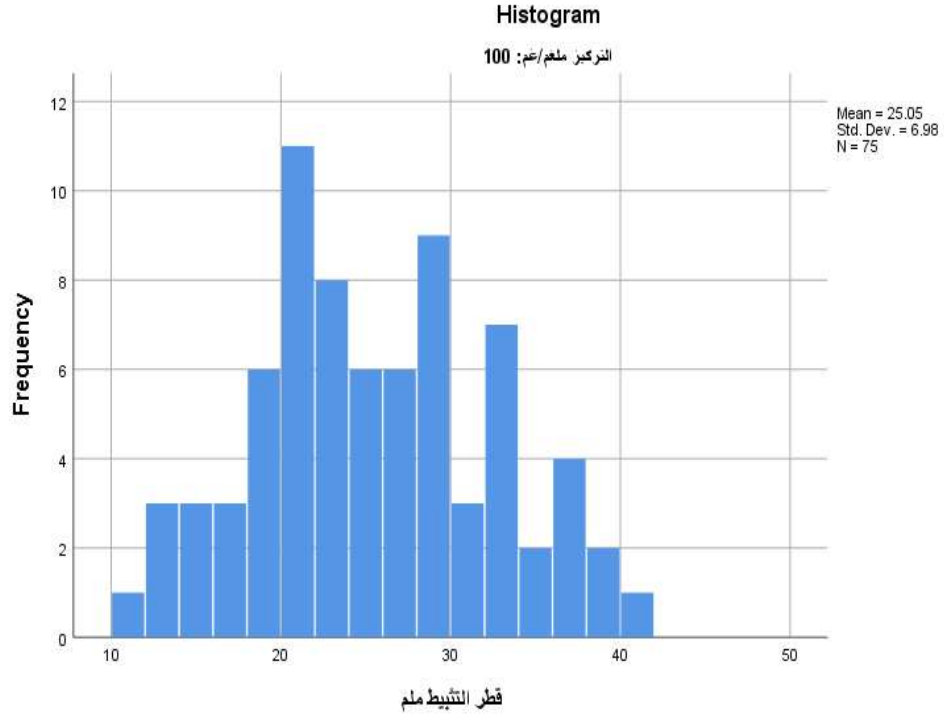


الرسم البياني لأحجام اقطار التثبيت الموجودة في جدول 4-22

التركيز ملغم/غم = 100

الاعداد والنسبة المئوية لأحجام اقطار التثبيط عند تركيز 100 ملغم/غم الموجودة في جدول 22-4

معدل قطر التثبيط ملم <sup>a</sup>					
		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	11	1	1.3	1.3	1.3
	12	1	1.3	1.3	2.7
	13	2	2.7	2.7	5.3
	14	2	2.7	2.7	8.0
	15	1	1.3	1.3	9.3
	17	3	4.0	4.0	13.3
	18	1	1.3	1.3	14.7
	19	5	6.7	6.7	21.3
	20	2	2.7	2.7	24.0
	21	9	12.0	12.0	36.0
	22	4	5.3	5.3	41.3
	23	4	5.3	5.3	46.7
	24	3	4.0	4.0	50.7
	25	3	4.0	4.0	54.7
	26	4	5.3	5.3	60.0
	27	2	2.7	2.7	62.7
	28	3	4.0	4.0	66.7
	29	6	8.0	8.0	74.7
	30	2	2.7	2.7	77.3
	31	1	1.3	1.3	78.7
	32	4	5.3	5.3	84.0
	33	3	4.0	4.0	88.0
	34	1	1.3	1.3	89.3
	35	1	1.3	1.3	90.7
36	2	2.7	2.7	93.3	
37	2	2.7	2.7	96.0	
38	1	1.3	1.3	97.3	
39	1	1.3	1.3	98.7	
41	1	1.3	1.3	100.0	
Total		75	100.0	100.0	



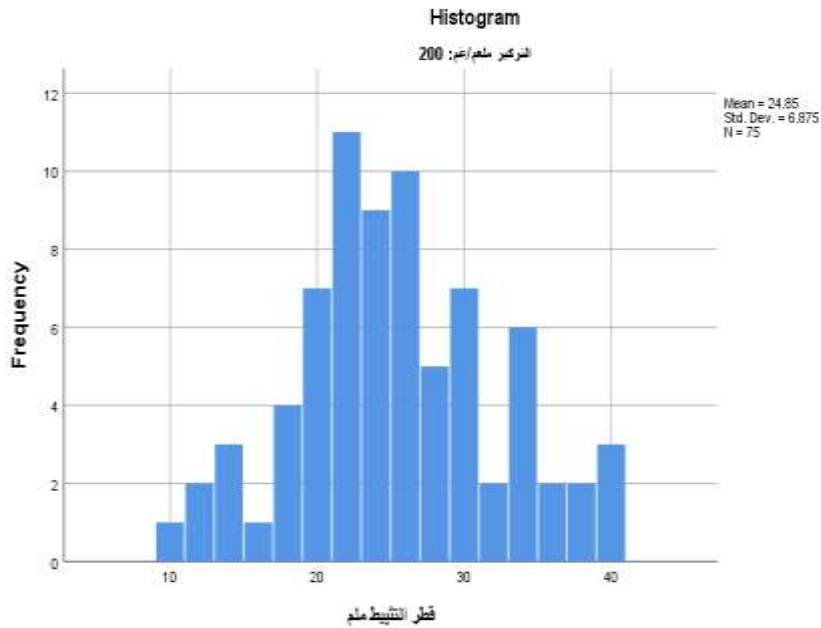
الرسم البياني لأحجام اقطار التثبيت عند تركيز 100 ملغم/غم الموجودة في جدول 22-4

التركيز ملغم/غم = 200

الاعداد والنسبة المئوية لأحجام اقطار التثبيت عند تركيز 200/غم الموجودة في جدول 22-4

قطر التثبيت ملم <sup>a</sup>					
		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	10	1	1.3	1.3	1.3
	11	2	2.7	2.7	4.0
	13	1	1.3	1.3	5.3
	14	2	2.7	2.7	8.0
	15	1	1.3	1.3	9.3
	17	2	2.7	2.7	12.0
	18	2	2.7	2.7	14.7
	19	3	4.0	4.0	18.7
	20	4	5.3	5.3	24.0
	21	8	10.7	10.7	34.7
	22	3	4.0	4.0	38.7
	23	3	4.0	4.0	42.7
	24	6	8.0	8.0	50.7
25	7	9.3	9.3	60.0	

قطر التثبيط ملم <sup>a</sup>					
		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
	26	3	4.0	4.0	64.0
	27	2	2.7	2.7	66.7
	28	3	4.0	4.0	70.7
	29	5	6.7	6.7	77.3
	30	2	2.7	2.7	80.0
	31	2	2.7	2.7	82.7
	33	2	2.7	2.7	85.3
	34	4	5.3	5.3	90.7
	35	1	1.3	1.3	92.0
	36	1	1.3	1.3	93.3
	37	2	2.7	2.7	96.0
	39	3	4.0	4.0	100.0
	Total		75	100.0	100.0

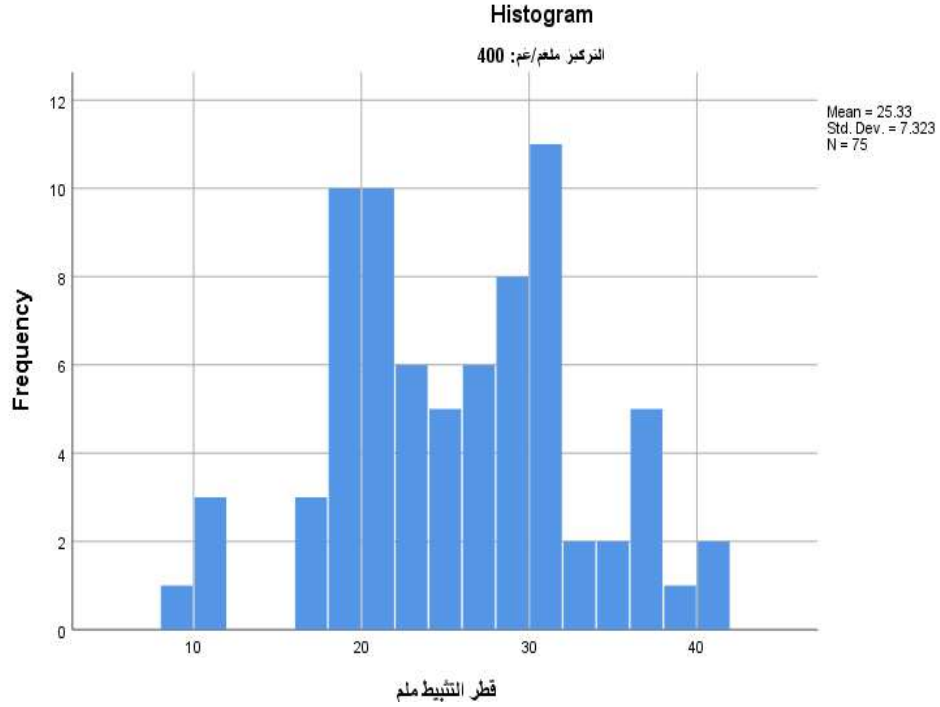


الرسم البياني لأحجام اقطار التثبيط عند تركيز 200 ملغم/غم الموجودة في جدول 4-22

التركيز ملغم/غم = 400

الاعداد والنسبة المئوية لأحجام اقطار التثبيط عند تركيز 400/غم الموجودة في جدول 22-4

قطر التثبيط ملم <sup>a</sup>					
		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	9	1	1.3	1.3	1.3
	10	2	2.7	2.7	4.0
	11	1	1.3	1.3	5.3
	16	1	1.3	1.3	6.7
	17	2	2.7	2.7	9.3
	18	6	8.0	8.0	17.3
	19	4	5.3	5.3	22.7
	20	7	9.3	9.3	32.0
	21	3	4.0	4.0	36.0
	22	3	4.0	4.0	40.0
	23	3	4.0	4.0	44.0
	24	2	2.7	2.7	46.7
	25	3	4.0	4.0	50.7
	26	2	2.7	2.7	53.3
	27	4	5.3	5.3	58.7
	28	2	2.7	2.7	61.3
	29	6	8.0	8.0	69.3
	30	5	6.7	6.7	76.0
	31	6	8.0	8.0	84.0
	33	2	2.7	2.7	86.7
34	1	1.3	1.3	88.0	
35	1	1.3	1.3	89.3	
36	2	2.7	2.7	92.0	
37	3	4.0	4.0	96.0	
39	1	1.3	1.3	97.3	
41	2	2.7	2.7	100.0	
Total		75	100.0	100.0	



الرسم البياني لأحجام اقطار التثبيط عند تركيز 400 ملغم/غم الموجودة في جدول 4-22

#### 4-9-2 الفعالية البايولوجية لمستخلصات المركبات الفينولية من العزلات الفطرية المنتخبة ضد البكتريا الممرضة للانسان.

اظهرت المركبات الفينولية في المستخلص الاسيتوني للفطر *G. curtisii* تاثيرا تثبيطيا عاليا تجاه بكتريا *E. coli* فقد بلغت اقطار التحلل للتركيز 400 و 200 و 100 ملغم /مل 31 و 36 و 38 ملم على التوالي ثم تليه بكتريا *P. aeruginosa* اظهرت تاثيرا معتدلا بالمركبات الفينولية للمستخلص الاسيتوني فقد كانت اقطار التحلل لنفس التركيزات السابقة 26 و 26 و 31 ملم على التوالي وبكتريا *S. aureus* بلغت اقطار التحلل لنفس التركيزات 27 و 26 و 26 ملم على التوالي ومن ثم بكتريا *B. cereus* باقطار تحلل 22 و 26 و 28 ملم على التوالي بينما اظهرت بكتريا *K. pneumoniae* اكثر مقاومة فقد كانت اقل تاثيرا بالمركبات الفينولية للمستخلص الاسيتوني فقد اعطت اقطار التحلل للتركيز ذاتها 15 و 21 و 21 ملم على التوالي مقارنة مع المضاد الحيوي القياسي Gentamycin.

اما فيما يخص المركبات الفينولية لمستخلص IMS للفطر *G. curtisii* فقد اظهرت تثبيطا عاليا على بكتريا *S. aureus* فقد اعطت هالة تحلل باقطار 32 و 29 و 29 ملم للتركيز 400

و200 و100 على التوالي وبكتريا *E. Coli* الاكثر حساسية تجاه هذه المركبات للمستخلص باقطار تحلل 29 و31 و31 ملم لنفس التراكيز السابقة على التوالي تليه بكتريا *B. cereus* باقطار تحلل 26 و26 و20 ملم لنفس التراكيز على التوالي ثم بكتريا *P. aeruginosa* واطهرت تاثرا معتدلا بالمركبات الفينولية واعطت اقطار التحلل 25 و25 و20 ملم للتراكيز ذاتها على التوالي بينما كانت بكتريا *K. pneumoniae* الاقل تاثرا بهذه المركبات الفينولية للمستخلص فقد اعطت اقطار التحلل للتراكيز 400 و200 و100 ملغم /مل 15 و21 و21 ملم على التوالي مقارنة مع المضاد الحيوي Gentamycin.

بالنسبة للمركبات الفينولية للمستخلص المائي للفطر *G.crutisii* فقد اظهرت بكتريا *E.coli* وبكتريا *S. aureus* تاثيرا تثبيطا عاليا اذ اعطت اقطار تحلل لكل منهما 37 و37 و35 و34 و29 و27 ملم على التوالي للتراكيز 400 و200 و100 ملغم/ مل تليها بكتريا *B. cereus* وبلغت اقطار التحلل 29 و29 و23 ملم للتراكيز السابقة على التوالي و بكتريا *P.aeruginosa* باقطار تحلل 20 و29 و31 ملم للتراكيز السابقة على التوالي بينما كانت بكتريا *K. pneumoniae* الاقل تاثرا بهذه المركبات للمستخلص فقد اعطت اقطار التحلل 24 و23 و21 ملم للتراكيز 400 و200 و100 ملغم/ مل مقارنة مع المضاد الحيوي Gentamycin.

اما المركبات الفينولية للمستخلص الالاسيتوني للفطر *G.cupreolaccatum* فقد اظهر تاثيرا تثبيطا عاليا ضد بكتريا *S. aureus* فقد اعطت اقطار التحلل 38 و31 و31 ملم للتراكيز 400 و200 و100 ملغم/مل على التوالي وبكتريا *E. coli* باقطار التحلل 27 و27 و33 ملم وبالتراكيز 400 و200 و100 ملغم/مل على التوالي ومن ثم اظهرت المركبات الفينولية تاثيرا تثبيطا معتدلا لبكتريا *B. cereus* و بكتريا *P.aeruginosa* باقطار تحلل 23 و26 و31 و19 و23 و23 ملم على التوالي وبالتراكيز 400 و200 و100 ملغم / مل على التوالي وتاثيرا تثبيطا متوسطا ضد بكتريا *K. pneumoniae* فقد كانت اقطار التحلل 21 و20 و20 ملم وبنفس التراكيز السابقة مقارنة مع المضاد الحيوي القياسي Gentamycin .

اما المركبات الفينولية في مستخلص IMS للفطر *G.cupreolaccatum* فقد كان لها تأثير معتدل على البكتريا المستخدمة قيد الدراسة مقارنة مع المركبات الفينولية في المستخلصات الاخرى فقد كانت اكثر تأثيرا على بكتريا *P. aeruginosa* وكانت اقطار التحلل 29 و 29 و 22 ملم وللتركيز 400 و 200 و 100 ملغم /مل على التوالي و بكتريا *S. aureus* باقطار التحلل 21 و 23 و 29 ملم ولنفس التركيز السابقة على التوالي و بكتريا *B. cereus* باقطار التحلل 23 و 23 و 26 ملم ولنفس التركيز السابقة على التوالي و اظهرت المركبات الفينولية تأثيرا تثبيطيا متوسطا على بكتريا *E. coli* فقد اعطت اقطار تحلل 19 و 19 و 21 ملم للتركيز ذاتها على التوالي و بكتريا *K. pneumoniae* اظهرت اقطار التحلل 15 و 15 و 20 ملم وللتركيز 400 و 200 و 100 ملغم/ مل على التوالي مقارنة مع المضاد الحيوي Gentamycin.

المركبات الفينولية في المستخلص المائي للفطر *G.cupreolaccatum* كان لها تأثير تثبيطي عالي على بكتريا *S.aureus* و *B. cereus* حيث اعطت اقطار التحلل 22 و 31 و 31 و 27 و 29 و 29 ملم على التوالي وللتركيز 400 و 200 و 100 وعلى التوالي من ثم بكتريا *P. aeruginosa* اعطت اقطار تحلل 19 و 27 و 30 ملم ولنفس التركيز السابقة وعلى التوالي و اظهرت بكتريا *K. pneumoniae* تاثيرا متوسطا بالمركبات الفينولية للمستخلص المائي فقد اعطت اقطار تحلل 19 و 21 و 21 ملم للتركيز ذاتها وعلى التوالي وبكتريا *E. coli* باقطار تحلل 17 و 19 و 19 ملم للتركيز السابقة وعلى التوالي مقارنة مع المضاد الحيوي قيد الدراسة.

اظهرت المركبات الفينولية للمستخلص الاسيتوني للفطر *G. oregonense* تأثيرا تثبيطيا جيدا في بكتريا *S. aureus* واعطت اقطار تحلل 33 و 36 و 36 ملم للتركيز 400 و 200 و 100 ملغم/ مل في حين اظهرت تأثيرا تثبيطيا معتدلا في بكتريا *B. cereus* واعطت اقطار التحلل 24 و 23 و 23 ملم للتركيز السابقة وعلى التوالي بينما اظهرت المركبات الفينولية في المستخلص تأثيرا واطنا في بكتريا *K. pneumoniae* و بكتريا *E. coli* وفي بكتريا *P. aeruginosa* فقد اعطت اقطار تحلل (14 14 19) و (16 16 20) و (21 19 19) ملم على التوالي وللتركيز 400 و 200 و 100 ملغم/ مل وعلى التوالي مقارنة مع المضاد الحيوي القياسي.

المركبات الفينولية في المستخلص IMS للفطر *G. oregonense* وقد اظهرت تأثيرا تثبيطيا متوسطا في بكتريا *B. cereus* و *K. pneumoniae* و بكتريا *E. coli* اذ اعطت اقطار التحلل (17 22 22) و(16 21 28) و(17 20 20) ملم وعلى التوالي وللتركيز 400 و200 و100 على التوالي بينما اظهرت المركبات الفينولية تأثيرا تثبيطيا واطنا في بكتريا *P. aeruginosa* و *S. aureus* فقد اعطت اقطار التحلل 17 و17 و15 و21 و15 و8 ملم لنفس التركيزات السابقة وعلى التوالي مقارنة مع المضاد الحيوي القياسي.

ان للمركبات الفينولية في المستخلص المائي للفطر *G. oregonense* تأثير تثبيطي واطن الى متوسط على جميع الانواع الجرثومية قيد الدراسة فقد اظهرت تأثيرا تثبيطيا متوسط في بكتريا *B. cereus* و *K. pneumoniae* وقد اعطت اقطار التحلل 15 و23 و23 و10 و15 و23 ملم على التوالي وبالتركيز 400 و200 و100 ملغم /ملم وعلى التوالي الجدول 4-23 و بكتريا *E. coli* وقد اعطت اقطار التحلل 12 و17 و21 ملم للتركيز ذاتها وعلى التوالي بينما اظهرت المركبات الفينولية للمستخلص تأثيرا تثبيطيا واطنا في بكتريا *P. aeruginosa* و بكتريا *S. aureus* فقد اعطت اقطار التحلل 13 و11 و8 و18 و18 و15 ملم لنفس التركيزات السابقة على التوالي مقارنة للمضاد الحيوي القياسي.

ان النطاق الواسع لتأثيرات مستخلصات الاسيتوني والمائي و IMS قد ينسب الى محتوياته الفينولية اذ اوضح Shoko وآخرون (1999) بان الفينولات هي اهم المركبات التي تثبط الجراثيم فمنها حامض الكاليك والذي يعرف على انه الاكثر تثبيطا تجاه الجراثيم المختبره وقد اثبت Olukoya وآخرون (1993) انّ الفعالية التثبيطية العالية للاحماض الفينولية ترجع الى امتلاك الفينولات للمجاميع الفعالة الهيدروكسيلية والكاربوكسيلية التي تمتلك القابلية على الارتباط مع الاجزاء الطرفية المشحونة لطبقة الدهون في جدار الخلية البكتيرية وبسبب اتحادها مع جزيئات النقل الفعال اذ ان لبعض انواع المركبات الفينولية طبيعة تأثيرات مختلفة اذ اوضحت دراسة كل من Juven وآخرون (1994) و Marino وآخرون (2001) انّ للمركبات الفينولية القابلية على اذابة الغشاء الداخلي للجرثومة ثم النفاذ الى داخل الخلية ومن ثم تحرر مكوناتها الخلوية الى الخارج و اشارت الدراسات التي قام بها Tamilselvan و Rajesh (2019) التأثيرات الواسعة

للمستخلصات وللمذيبات المتعاقبة لفطر *G.lucidum* على بكتريا *E. Coli* و *S.aureus* و *p.aeruginosa* و *K.sp* وهذا يؤكد ما توصلت اليه نتائج دراستنا.

جدول 4-23 الفعالية البيولوجية للمركبات الفينولية المستخلصة من العزلات الفطرية ضد بعض انواع البكتريا المرضية

<i>E.coli</i>		<i>B.cereus</i>		<i>P.aeruginosa</i>		<i>K. pneumoniae</i>		<i>S. aureus</i>		المستخلص/العزلة الفطرية
معدل التركيز قطر التثبيط ملغم/مل	معدل التركيز قطر التثبيط ملغم/مل	معدل التركيز قطر التثبيط ملغم/مل	معدل التركيز قطر التثبيط ملغم/مل	معدل التركيز قطر التثبيط ملغم/مل	معدل التركيز قطر التثبيط ملغم/مل	معدل التركيز قطر التثبيط ملغم/مل	معدل التركيز قطر التثبيط ملغم/مل	معدل التركيز قطر التثبيط ملغم/مل		
31	400	22	400	26	400	15	400	27	400	مستخلص الاسيتوني
36	200	26	200	26	200	21	200	26	200	للفطر <i>G.curtisii</i>
38	100	28	100	31	100	21	100	26	100	مستخلص IMS
29	400	26	400	25	400	15	400	32	400	للفطر <i>G.curtisii</i>
31	200	26	200	25	200	21	200	29	200	مستخلص المائي
31	100	20	100	20	100	21	100	29	100	للفطر <i>G.curtisii</i>
37	400	29	400	20	400	24	400	34	400	مستخلص المائي
37	200	29	200	29	200	23	200	29	200	للفطر <i>G.curtisii</i>
35	100	23	100	31	100	21	100	27	100	مستخلص
27	400	23	400	19	400	21	400	38	400	الاسيتوني للفطر
27	200	26	200	23	200	20	200	31	200	<i>G.cupreolaccatum</i>
33	100	31	100	23	100	20	100	31	100	مستخلص IMS
19	400	23	400	29	400	15	400	21	400	للفطر
19	200	23	200	29	200	15	200	23	200	<i>G.cupreolaccatum</i>
21	100	26	100	22	100	20	100	29	100	مستخلص المائي
17	400	27	400	19	400	19	400	22	400	

<i>E.coli</i>		<i>B.cereus</i>		<i>P.aeruginosa</i>		<i>K. pneumoniae</i>		<i>S. aureus</i>		المستخلص/العزلة الفطرية
معدل قطر التثبيط ملم	التركيز ملغم/ مل	معدل قطر التثبيط ملم	التركيز ملغم/مل	معدل قطر التثبيط ملم	التركيز ملغم/مل	معدل قطر التثبيط ملم	التركيز ملغم/مل	معدل قطر التثبيط ملم	التركيز ملغم/مل	
19	200	29	200	27	200	21	200	31	200	للفطر
19	100	29	100	30	100	21	100	31	100	<i>G.cupreolaccat um</i>
16	400	24	400	21	400	14	400	33	400	مستخلص
16	200	23	200	19	200	14	200	36	200	الاسيتوني
20	100	23	100	19	100	19	100	36	100	للفطر <i>G.oregonense</i>
20	400	22	400	17	400	28	400	21	400	مستخلص
20	200	22	200	17	200	21	200	15	200	IMS للفطر
17	100	17	100	15	100	16	100	8	100	<i>G.oregonense</i>
12	400	15	400	13	400	10	400	18	400	مستخلص المائي
17	200	23	200	11	200	15	200	18	200	للفطر
21	100	23	100	8	100	23	100	15	100	<i>G.oregonense</i>
20		22		10		20		18		Gentamycin(10 )mmg



*E.coli*

*B.cereus*

*P.aeruginosa*

*K. pneumoniae*

*S. aureus*

شكل الفعاليات البيولوجية لمستخلصات المركبات الفينولية من العزلات الفطرية  
المنتخبة ضد بعض انواع البكتريا المرضيه

**الاحصائيات لجدول 23-4**  
**جميع احصائيات الفعالية البيولوجية لمستخلصات المركبات الفينولية من العزلات الفطرية**  
**المنتخبة ضد بعض انواع البكتريا المرضية**

Statistics					
		نوع البكتريا	نوع المستخلص	التركيز ملغم/غم	معدل قطر التثبيط ملم
N	Valid	135	135	135	135
	Missing	0	0	0	0
Mean		3.00	5.00	2.33	23.31
Median		3.00	5.00	2.00	23.00
Mode		1 <sup>a</sup>	1 <sup>a</sup>	1 <sup>a</sup>	21
Std. Deviation		1.419	2.592	1.252	6.509
Variance		2.015	6.716	1.567	42.365
Skewness		.000	.000	.386	.154
Std. Error of Skewness		.209	.209	.209	.209
Minimum		1	1	1	8
Maximum		5	9	4	38
Sum		405	675	315	3147

**الاعداد والنسبة المئوية لأنواع البكتريا المتواجدة في جدول 23-4**

نوع البكتريا					
		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	<i>S. aureus</i>	27	20.0	20.0	20.0
	<i>K. pneumonia</i>	27	20.0	20.0	40.0
	<i>P.aeruginosa</i>	27	20.0	20.0	60.0
	<i>B .cereus</i>	27	20.0	20.0	80.0
	<i>E. coli</i>	27	20.0	20.0	100.0
	Total	135	100.0	100.0	

الاعداد والنسبة المئوية لأنواع المستخلصات المتواجدة في جدول 4-23

نوع المستخلص					
		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	مستخلص الالاسيتوني للفطر G.curtisii	15	11.1	11.1	11.1
	مستخلص IMS للفطر G.curtisii	15	11.1	11.1	22.2
	مستخلص المائي للفطر G.curtisii	15	11.1	11.1	33.3
	مستخلص الالاسيتوني للفطر G.cupreolaccatum	15	11.1	11.1	44.4
	مستخلص IMS للفطر G.cupreolaccatum	15	11.1	11.1	55.6
	مستخلص المائي للفطر G.cupreolaccatum	15	11.1	11.1	66.7
	مستخلص الالاسيتوني للفطر G.oregonense	15	11.1	11.1	77.8
	مستخلص IMS للفطر G.oregonense	15	11.1	11.1	88.9
	مستخلص المائي للفطر G.oregonense	15	11.1	11.1	100.0
	Total	135	100.0	100.0	

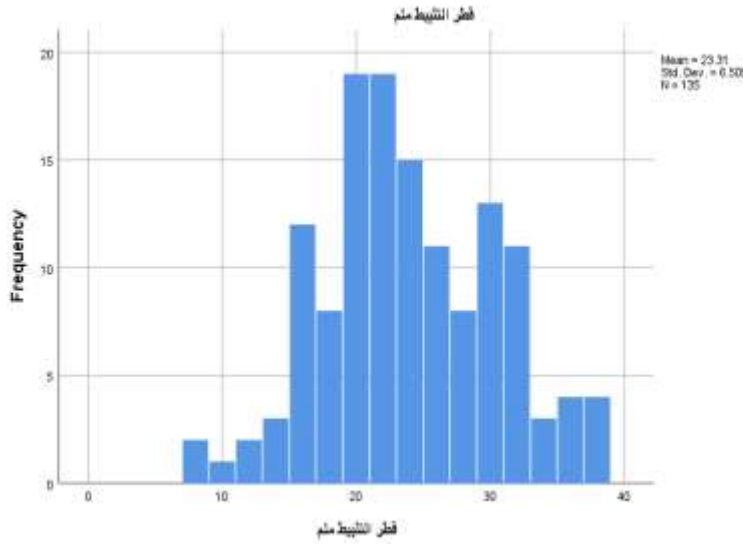
الاعداد والنسبة المئوية لانواع التراكيز المستخدمة في جدول 23-4

التركيز ملغم/غم					
		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	100	45	33.3	33.3	33.3
	200	45	33.3	33.3	66.7
	400	45	33.3	33.3	100.0
	Total	135	100.0	100.0	

الاعداد والنسبة المئوية لأحجام اقطار التثبيط الموجودة في جدول 23-4

معدل قطر التثبيط ملم					
		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	8	2	1.5	1.5	1.5
	10	1	.7	.7	2.2
	11	1	.7	.7	3.0
	12	1	.7	.7	3.7
	13	1	.7	.7	4.4
	14	2	1.5	1.5	5.9
	15	9	6.7	6.7	12.6
	16	3	2.2	2.2	14.8
	17	6	4.4	4.4	19.3
	18	2	1.5	1.5	20.7
	19	10	7.4	7.4	28.1
	20	9	6.7	6.7	34.8
	21	14	10.4	10.4	45.2
	22	5	3.7	3.7	48.9
	23	13	9.6	9.6	58.5
	24	2	1.5	1.5	60.0
	25	2	1.5	1.5	61.5
	26	9	6.7	6.7	68.1
	27	6	4.4	4.4	72.6
	28	2	1.5	1.5	74.1
29	12	8.9	8.9	83.0	
30	1	.7	.7	83.7	
31	10	7.4	7.4	91.1	
32	1	.7	.7	91.9	

معدل قطر التثبيط ملم					
		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
	33	2	1.5	1.5	93.3
	34	1	.7	.7	94.1
	35	1	.7	.7	94.8
	36	3	2.2	2.2	97.0
	37	2	1.5	1.5	98.5
	38	2	1.5	1.5	100.0
	Total	135	100.0	100.0	



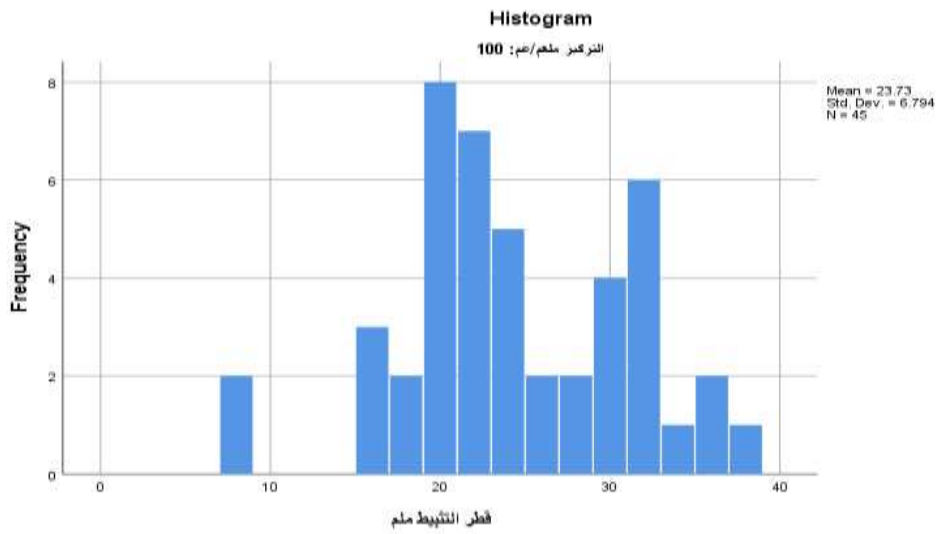
الرسم البياني لأحجام اقطار التثبيط الموجودة في جدول 4-23

التركيز ملغم/غم = 100

الاعداد والنسبة المئوية لأحجام اقطار التثبيط عند تركيز 100 ملغم/غم الموجودة في جدول 4-23

معدل قطر التثبيط ملم <sup>a</sup>					
		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	8	2	4.4	4.4	4.4
	15	2	4.4	4.4	8.9
	16	1	2.2	2.2	11.1
	17	2	4.4	4.4	15.6
	19	3	6.7	6.7	22.2
	20	5	11.1	11.1	33.3

معدل قطر التثبيت ملم <sup>a</sup>					
		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
	21	6	13.3	13.3	46.7
	22	1	2.2	2.2	48.9
	23	5	11.1	11.1	60.0
	26	2	4.4	4.4	64.4
	27	1	2.2	2.2	66.7
	28	1	2.2	2.2	68.9
	29	3	6.7	6.7	75.6
	30	1	2.2	2.2	77.8
	31	6	13.3	13.3	91.1
	33	1	2.2	2.2	93.3
	35	1	2.2	2.2	95.6
	36	1	2.2	2.2	97.8
	38	1	2.2	2.2	100.0
	Total		45	100.0	100.0

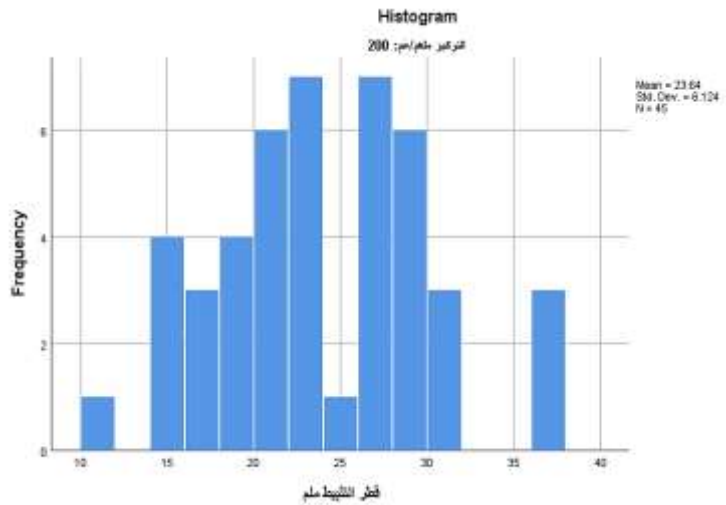


الرسم البياني لأحجام أقطار التثبيت عند تركيز 100 ملغم/غم الموجودة في جدول 4-23

التركيز ملغم/غم = 200

الاعداد والنسبة المئوية لأحجام اقطار التثبيط عند تركيز 200 ملغم/غم الموجودة في جدول 4-23

معدل قطر التثبيط ملم <sup>a</sup>					
		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	11	1	2.2	2.2	2.2
	14	1	2.2	2.2	4.4
	15	3	6.7	6.7	11.1
	16	1	2.2	2.2	13.3
	17	2	4.4	4.4	17.8
	18	1	2.2	2.2	20.0
	19	3	6.7	6.7	26.7
	20	2	4.4	4.4	31.1
	21	4	8.9	8.9	40.0
	22	1	2.2	2.2	42.2
	23	6	13.3	13.3	55.6
	25	1	2.2	2.2	57.8
	26	5	11.1	11.1	68.9
	27	2	4.4	4.4	73.3
	29	6	13.3	13.3	86.7
	31	3	6.7	6.7	93.3
	36	2	4.4	4.4	97.8
	37	1	2.2	2.2	100.0
Total		45	100.0	100.0	

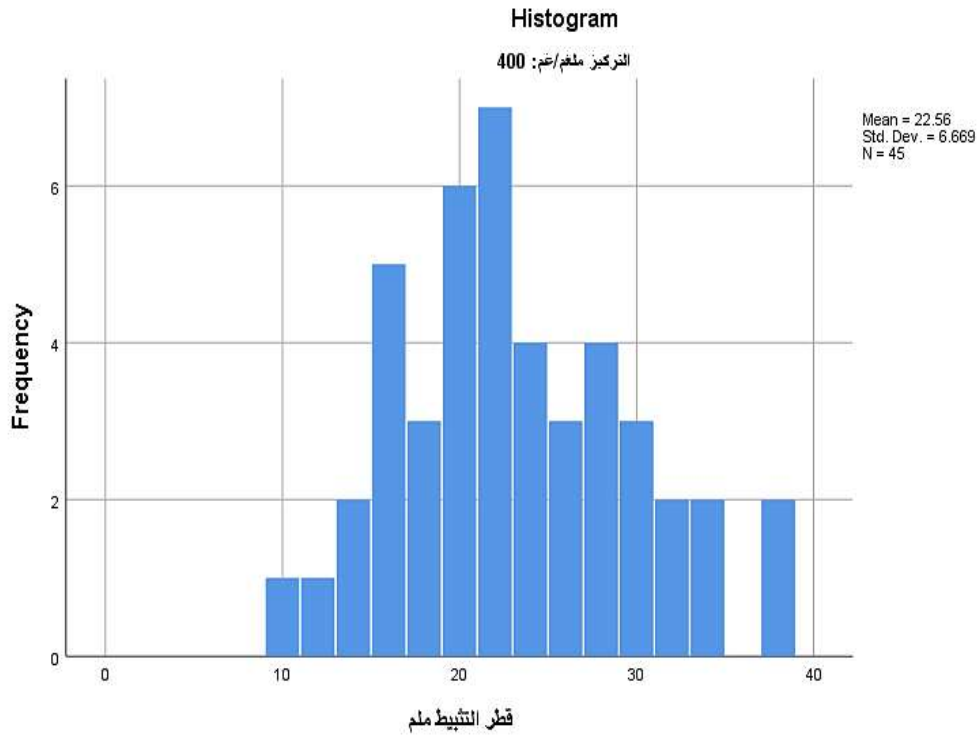


الرسم البياني لأحجام اقطار التثبيط عند تركيز 200 ملغم/غم الموجودة في جدول (4-23)

التركيز ملغم/غم = 400

الاعداد والنسبة المئوية لأحجام اقطار التثبيط عند تركيز 400 ملغم/غم الموجودة في جدول 4-23

معدل قطر التثبيط ملم <sup>a</sup>					
		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	10	1	2.2	2.2	2.2
	12	1	2.2	2.2	4.4
	13	1	2.2	2.2	6.7
	14	1	2.2	2.2	8.9
	15	4	8.9	8.9	17.8
	16	1	2.2	2.2	20.0
	17	2	4.4	4.4	24.4
	18	1	2.2	2.2	26.7
	19	4	8.9	8.9	35.6
	20	2	4.4	4.4	40.0
	21	4	8.9	8.9	48.9
	22	3	6.7	6.7	55.6
	23	2	4.4	4.4	60.0
	24	2	4.4	4.4	64.4
	25	1	2.2	2.2	66.7
	26	2	4.4	4.4	71.1
	27	3	6.7	6.7	77.8
	28	1	2.2	2.2	80.0
	29	3	6.7	6.7	86.7
	31	1	2.2	2.2	88.9
32	1	2.2	2.2	91.1	
33	1	2.2	2.2	93.3	
34	1	2.2	2.2	95.6	
37	1	2.2	2.2	97.8	
38	1	2.2	2.2	100.0	
Total		45	100.0	100.0	



الرسم البياني لأحجام اقطار التثبيط عند تركيز 400 ملغم/غم الموجودة في جدول 4-23

#### 3-9-4 الفعالية البايولوجية للزيوت الطيارة المستخلصة من العزلات الفطرية المنتخبة ضد البكتريا الممرضة للانسان

اظهر الزيت الطيار المستخلص من الفطر *G.curtisii* تأثيرا تثبيطيا عاليا تجاه بكتريا *P.aeruginosa* وهو موضح في الجدول 4-24 اذ اعطت اقطار التحلل 43 و 36 و 31 ملم للتركيز 400 و 200 و 100 ملغم/مل على التوالي و بكتريا *K. pneumoniae* باقطار تحلل 43 و 25 و 25 ملم ولنفس التراكيز وعلى التوالي ثم تليه بكتريا *E. coli* باقطار التحلل 35 و 28 و 28 ملم وللتراكيز ذاتها وعلى التوالي و بكتريا *S. aureus* باقطار التحلل 27 و 34 و 34 ملم وبنفس التراكيز وعلى التوالي واظهرت بكتريا *B.cereus* اقل تاثرا بمستخلص الزيت الطيار اذ بلغت اقطار التحلل 25 و 25 و 22 ملم وعلى التوالي مقارنة بالمضاد الحيوي القياسي.

واظهر الزيت الطيار في المستخلص الفطري للفطر *G.cupreolaccatum* تأثيرا تثبيطيا جيد جدا على جميع الانواع الجرثومية قيد الدراسة اذ اعطت بكتريا *P. aeruginosa* اقطار

التحلل 40 و 36 و 36 ملم للتركيز 400 و 200 و 100 ملغم/ مل على التوالي ثم تليه بكتريا *E. coli* باقطار التحلل 36 و 29 و 29 ملم وبكتريا *S. aureus* باقطار التحلل 31 و 26 و 24 ملم وظهرت بكتريا *B. cereus* اقطار التحلل 31 و 29 و 22 ملم و بكتريا *K. pneumoniae* باقطار التحلل 26 و 17 و 17 ملم ولنفس التراكيز وعلى التوالي مقارنة مع المضاد الحيوي القياسي، ونلاحظ التأثير التثبيطي العالي للزيوت الطيارة على البكتريا قيد الدراسة للفطر *G.oregonense* اذ اعطت تأثيرا تثبيطيا اعلى مقارنة بالعزلات الفطرية السابقة على بكتريا *P. aeruginosa* اقطار التحلل 44 و 34 و 31 ملم للتركيز 400 و 200 و 100 ملغم / مل على التوالي ثم تليه بكتريا *S. aureus* باقطار تحلل 31 و 31 و 26 ملم ثم بكتريا *E. coli* باقطار التحلل 28 و 26 و 26 ملم وظهرت بكتريا *B. cereus* اقطار التحلل 21 و 23 و 25 ملم وبكتريا *K. pneumoniae* باقطار التحلل 20 و 20 و 20 ملم و كان تأثير الزيوت الطيارة والمركبات الفينولية بشكل عام ضد البكتريا الموجبة لصبغة غرام اعلى من الجراثيم السالبة لصبغة غرام وقد يعود السبب الى طبيعة الجدار في نوعي الجراثيم فقد اثبتت العديد من الدراسات انَّ الجراثيم السالبة لصبغة غرام اكثر مقاومة لتاثير المستخلصات الفطرية الحاوية على الزيوت الطيارة والمركبات الفينولية ؛ بسبب التركيب الخارجي للغشاء الخلوي المتكون من الدهون الفوسفاتية الغير نفاذه للتركيب المحبة للدهون وهذا ماكداه Cowan (1999).لنفس التراكيز 400 و 200 و 100ملم وعلى التوالي مقارنة مع المضاد Gentamycin.

اشارت الدراسات التي قام بها Al-Fatimi وآخرون (2006) ان الزيوت الطيارة ذات طيف واسع من التأثير كمضادات بكتيرية ومضادات اكسدة ومع الباحث Asaning Taofiq وآخرون (2016) بيَّن انَّ مستخلصات الزيوت الطيارة لانواع عديدة من المشروم منها *A.bisporus* و *P.ostreatus* و *L.edodes* اذ تعمل كمضادات بكتيرية واسعة التثبيط للبكتريا السالبة والموجبة لصبغة غرام.

يعود السبب في عدم قدرة المستخلص على تثبيط النمو البكتيري الى امتلاك الجراثيم اليات لابطال تاثير لمكونات الفعالة او امتلاكها لاليات تحول المركبات المثبطة لها الى مركبات غير سامة عليها وهذا ماكداه Ogueke وآخرون (2007) ومن هذه الاليات امتلاكها لانزيمات لها

القدرة على مقاومة المضادات المتعددة او قد تمتلك بلازميدات المقاومة التي تنتقل من خلية بكتيرية اخرى عن طريق الاقتران الخلوي (Peraro وآخرون، 2007؛ Ogueke وآخرون، 2007).

وجاءت هذه النتائج مطابقة لما توصل اليه Gao وآخرون (2003) اذ ان *G.lucidum* استعملت نواتجها الايضية كعوامل دوائية في العلاج كمضادات بكتيرية لمختلف الانواع البكتيرية المرضية والمركبات المتعددة السكريات ولها دور مهم في النشاط المضاد للبكتريا و اشار Smania وآخرون (2007) ان مستخلصات *G.lucidum* تعمل كمضادات للبكتريا *E.coli* و *P.aeruginosa* و *b.cereus*.

#### جدول 4-24 الفعالية البايولوجية للزيوت الطيارة المستخلصة من العزلات الفطرية

##### المنتخبة ضد بعض انواع البكتريا المرضية

<i>E. coli</i>		<i>B.cereus</i>		<i>P.aeruginosa</i>		<i>K. pneumonia</i>		<i>S. aureus</i>		مستخلص العزلة الفطرية
معدل قطر التثبيط ملغم	التركيز ملغم/غم	معدل قطر التثبيط ملغم	التركيز ملغم/غم	معدل قطر التثبيط ملغم	التركيز ملغم/غم	معدل قطر التثبيط ملغم	التركيز ملغم/غم	معدل قطر التثبيط ملغم	التركيز ملغم/غم	
35	400	25	400	43	400	43	400	27	400	مستخلص الزيت
28	200	22	200	36	200	25	200	34	200	الطيبار للفطر
28	100	23	100	31	100	25	100	34	100	<i>G.curtisii</i>
36	400	31	400	40	400	26	400	31	400	مستخلص الزيت
29	200	29	200	36	200	17	200	26	200	الطيبار للفطر
29	100	22	100	36	100	17	100	24	100	<i>G.cupreolaccatum</i>
28	400	21	400	44	400	20	400	31	400	مستخلص الزيت
26	200	23	200	34	200	20	200	31	200	الطيبار للفطر
26	100	25	100	31	100	20	100	26	100	<i>oregonense G.</i>
20		22		10		20		18		Gentamycin(10 mmg)



*E.coli*

*B.cereus*

*P.aeruginosa*

*K. pneumoniae*

*S. aureus*

شكل الفعاليات البيولوجية لمستخلصات الزيوت الطيارة من العزلات الفطرية  
المنتخبة ضد بعض انواع البكتريا المرضية

#### الاحصائيات لجدول 4-24

جميع احصائيات الفعالية البيولوجية للزيوت الطيارة المستخلصة من العزلات الفطرية  
المنتخبة ضد بعض انواع البكتريا المرضية

Statistics					
		التركيز ملغم/غم	معدل قطر التثبيط ملم	نوع المستخلص	نوع البكتريا
N	Valid	45	45	45	45
	Missing	0	0	0	0
Mean		2.33	28.76	2.00	3.00
Median		2.00	28.00	2.00	3.00
Mode		1 <sup>a</sup>	31	1 <sup>a</sup>	1 <sup>a</sup>
Std. Deviation		1.261	6.695	.826	1.430
Variance		1.591	44.825	.682	2.045
Skewness		.395	.464	.000	.000
Std. Error of Skewness		.354	.354	.354	.354
Minimum		1	17	1	1
Maximum		4	44	3	5
Sum		105	1294	90	135

الاعداد والنسبة المئوية لأنواع التراكيز المستخدمة في جدول 24-4

التركيز ملغم/غم					
		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	100	15	33.3	33.3	33.3
	200	15	33.3	33.3	66.7
	400	15	33.3	33.3	100.0
	Total	45	100.0	100.0	

الاعداد والنسبة المئوية لأحجام اقطار التثبيط الموجودة في جدول 24-4

معدل قطر التثبيط ملم					
		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	17	2	4.4	4.4	4.4
	20	3	6.7	6.7	11.1
	21	1	2.2	2.2	13.3
	22	2	4.4	4.4	17.8
	23	2	4.4	4.4	22.2
	24	1	2.2	2.2	24.4
	25	4	8.9	8.9	33.3
	26	5	11.1	11.1	44.4
	27	1	2.2	2.2	46.7
	28	3	6.7	6.7	53.3
	29	3	6.7	6.7	60.0
	31	6	13.3	13.3	73.3
	34	3	6.7	6.7	80.0
	35	1	2.2	2.2	82.2
	36	4	8.9	8.9	91.1
40	1	2.2	2.2	93.3	
43	2	4.4	4.4	97.8	

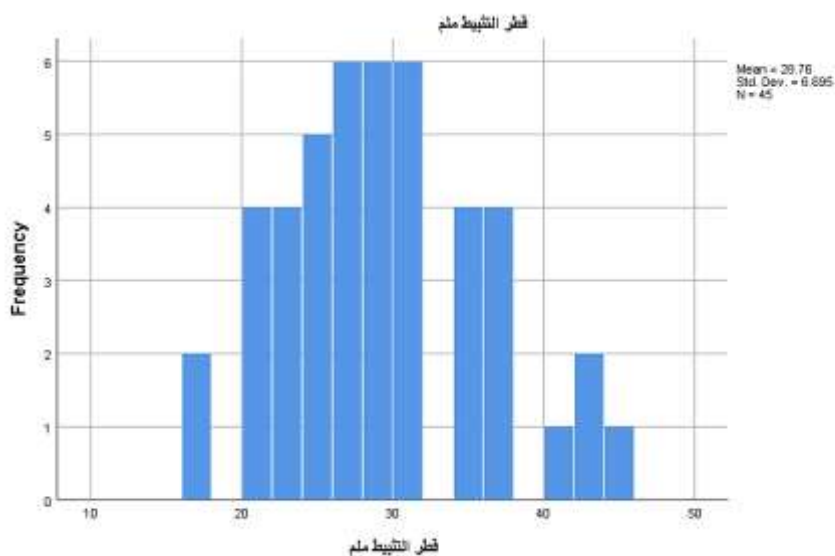
معدل قطر التثبيط ملم					
		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
	44	1	2.2	2.2	100.0
	Total	45	100.0	100.0	

الاعداد والنسبة المئوية لأنواع المستخلصات المتواجدة في جدول 24-4

نوع المستخلص					
		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	مستخلص الزيت الطيار للفطر G.curtisii	15	33.3	33.3	33.3
	مستخلص الزيت الطيار للفطر G.cupreolaccatum	15	33.3	33.3	66.7
	مستخلص الزيت الطيار للفطر G. oregonense	15	33.3	33.3	100.0
	Total	45	100.0	100.0	

الاعداد والنسبة المئوية لأنواع البكتريا المتواجدة في جدول 24-4

نوع البكتريا					
		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	<i>S. aureus</i>	9	20.0	20.0	20.0
	<i>K. pneumonia</i>	9	20.0	20.0	40.0
	<i>P.aeruginosa</i>	9	20.0	20.0	60.0
	<i>B .cereus</i>	9	20.0	20.0	80.0
	<i>E. coli</i>	9	20.0	20.0	100.0
	Total	45	100.0	100.0	

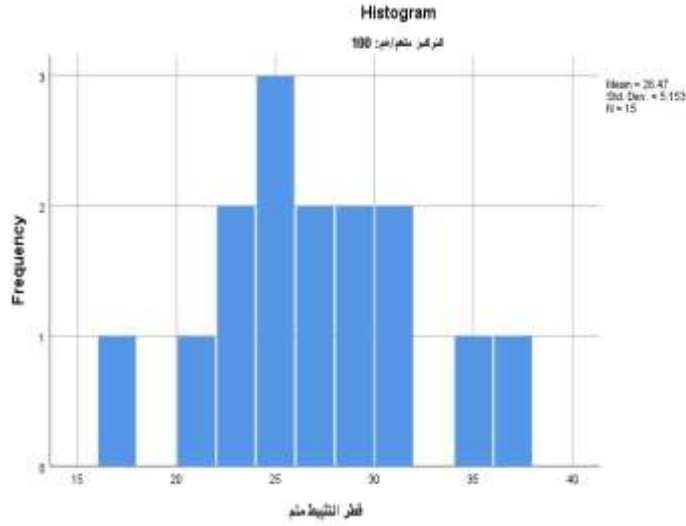


الرسم البياني لأحجام اقطار التثييط الموجودة في جدول 4-24

التركيز ملغم/غم = 100

الاعداد والنسبة المئوية لأحجام اقطار التثييط عند تركيز 100ملغم/غم الموجودة في جدول 4-24

معدل قطر التثييط ملم <sup>a</sup>					
		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	17	1	6.7	6.7	6.7
	20	1	6.7	6.7	13.3
	22	1	6.7	6.7	20.0
	23	1	6.7	6.7	26.7
	24	1	6.7	6.7	33.3
	25	2	13.3	13.3	46.7
	26	2	13.3	13.3	60.0
	28	1	6.7	6.7	66.7
	29	1	6.7	6.7	73.3
	31	2	13.3	13.3	86.7
	34	1	6.7	6.7	93.3
	36	1	6.7	6.7	100.0
Total		15	100.0	100.0	

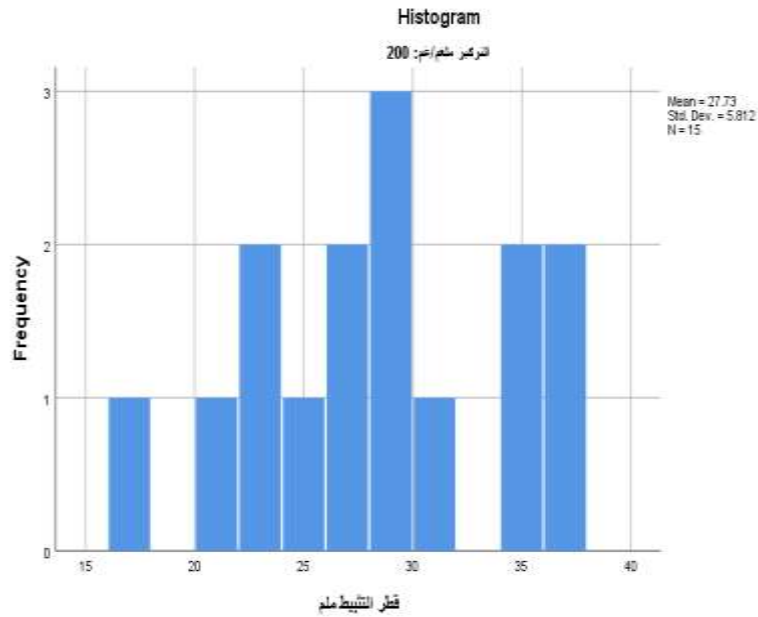


الرسم البياني لأحجام اقطار التثبيت عند تركيز 100 ملغم/غم الموجودة في جدول 24-4

التركيز ملغم/غم = 200

الاعداد والنسبة المئوية لأحجام اقطار التثبيت عند تركيز 200 ملغم/غم الموجودة في جدول 24-4

معدل قطر التثبيت ملم <sup>a</sup>					
		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	17	1	6.7	6.7	6.7
	20	1	6.7	6.7	13.3
	22	1	6.7	6.7	20.0
	23	1	6.7	6.7	26.7
	25	1	6.7	6.7	33.3
	26	2	13.3	13.3	46.7
	28	1	6.7	6.7	53.3
	29	2	13.3	13.3	66.7
	31	1	6.7	6.7	73.3
	34	2	13.3	13.3	86.7
	36	2	13.3	13.3	100.0
	Total	15	100.0	100.0	

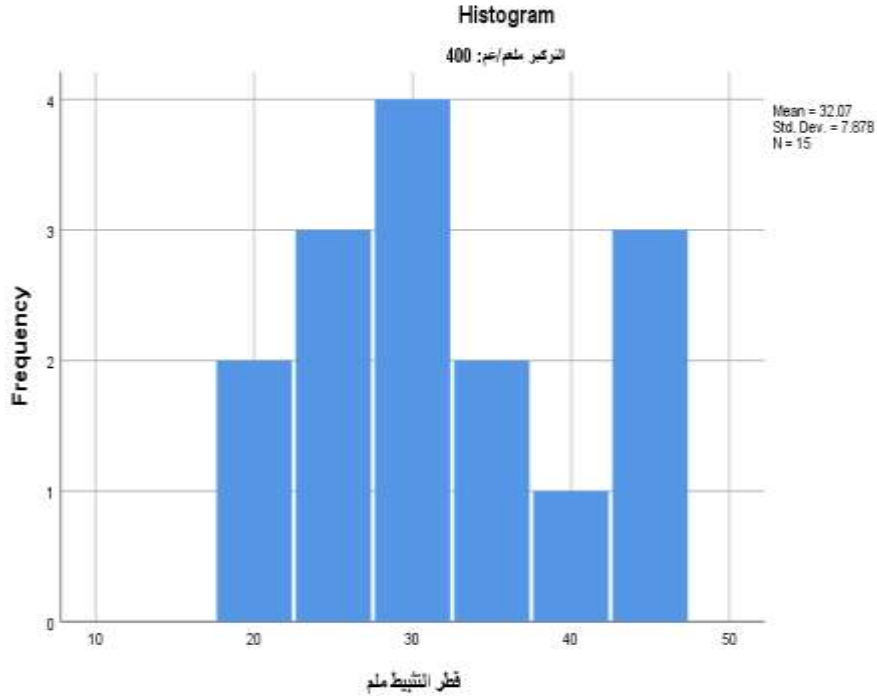


الرسم البياني لأحجام اقطار التثبيط عند تركيز 200 ملغم/غم الموجودة في جدول 4-24

التركيز ملغم/غم = 400

الاعداد والنسبة المئوية لأحجام اقطار التثبيط عند تركيز 400 ملغم/غم الموجودة في جدول 4-24

معدل قطر التثبيط ملغم <sup>a</sup>					
		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	20	1	6.7	6.7	6.7
	21	1	6.7	6.7	13.3
	25	1	6.7	6.7	20.0
	26	1	6.7	6.7	26.7
	27	1	6.7	6.7	33.3
	28	1	6.7	6.7	40.0
	31	3	20.0	20.0	60.0
	35	1	6.7	6.7	66.7
	36	1	6.7	6.7	73.3
	40	1	6.7	6.7	80.0
	43	2	13.3	13.3	93.3
	44	1	6.7	6.7	100.0
Total		15	100.0	100.0	



الرسم البياني لأحجام اقطار التثييط عند تركيز 400 ملغم/غم الموجودة في جدول 4-24

#### 4-9-4 الفعالية البايولوجية للسكر المتعدد $\beta$ -glucan المستخلصة من العزلات الفطرية المنتخبة ضد البكتريا الممرضة للانسان

اشارت نتائج الجدول 4-25 الى دور السكر المتعدد  $\beta$ -glucan في تثبيط نمو الانواع البكتيرية المستخدمة في البحث وظهر انّ السكر المستخلص من الفطر *G.curtisii* اعطى اعلى نسبة للتثييط تجاه بكتريا *E.coli* بالتركيز 100 و 200 و 400 ملغم /غم وكانت هالات التحلل 46 و 45 و 45 ملم على التوالي وهكذا اظهر  $\beta$ -glucan المعزولة من الفطر *G.curtisii* تأثيرا تثبيطيا عاليا على بكتريا *E.coli* في الجدول 4-25 اذ بلغت اقطار التحلل للتركيز 400 و 200 و 100 ملغم/ مل 46 و 45 و 45 ملم على التوالي ثم تليه بكتريا *P. aeruginosa* اظهرت تأثيرا عاليا ايضا 45 و 43 و 43 ملم على التوالي ثم بكتريا *S. aureus* فقد بلغت اقطار التحلل 45 و 43 و 42 ملم ومن ثم بكتريا *B. cereus* باقطار التحلل 40 و 42 و 42 ملم على التوالي بينما اظهرت بكتريا *K. pneumoniae* اكثر مقاومة فقد كانت اقل تاثرا بالبيتا

كلوكان فقد اعطت اقطار التحلل للتراكيز ذاتها 33 و 32 و 31 ملم على التوالي مقارنة مع المضاد الحيوي القياسي.

اما الفطر *G.cupreolaccatum* فقد اظهر تأثيرا تثبيطيا جيد جدا الى جيد على جميع انواع البكتريا فقد اعطت بكتريا *P. aeruginosa* اقطار التحلل 43 و 41 و 41 ملم للتراكيز 400 و 200 و 100 ملغم/ غم ثم تليه بكتريا *E. coli* باقطار التحلل 41 و 39 و 39 ملم و بكتريا *S. aureus* باقطار التحلل 40 و 38 و 37 ملم و اظهرت بكتريا *B. cereus* اقطار التحلل 39 و 34 و 34 ملم و بكتريا *K. pneumoniae* باقطار تحلل 36 و 36 و 33 ملم مقارنة مع المضاد الحيوي القياسي.

واظهرت النتائج فعالية تثبيط عالية لسكر المتعدد  $\beta$ -glucan المستخلص من الفطر *G.oregonense* ضد البكتريا *P. aeruginosa* و باقطار تحلل 44 و 44 و 40 ملم تليها بكتريا *S. aureus* باقطار تحلل 42 و 43 و 44 ملم ثم بكتريا *E.coli* و باقطار تحلل 40 و 40 و 38 ملم وأخيراً *K. pneumoniae* و باقطار تحلل 33 و 32 و 32 ملم بالتراكيز 400 و 200 و 100 ملغم/ غم مقارنة بالسكر المتعدد  $\beta$ -glucan للمستخلص من عذلة الفطر *G.curtisii* . تظهر النتائج إمكانية استخدام وتسخين السكر المتعدد المستخلص من الفطر *G.curtisii* و *G.cupreolaccatum* و *G.oregonense*.

وتتفق نتائجنا مع ما اشار اليه Gao وآخرون (2003) من ان السكر المتعدد المستخلص من الجسم الثمري للفطر *G. lucidum* له تأثيرا تثبيطي ضد انواع مختلفة من البكتريا المرضية.

وجاءت نتائج متوافقة مع ما اثبتهُ الباحث Ghosh (2014) من أنّ السكر المتعدد  $\beta$ -glucan امتلك تأثيرا تثبيطيا ضد بكتريا *S. aureus* وبلغ قطر هالة التحلل بحدود 18 ملم و بكتريا *E. Coli* وبقطر هالة التحلل 20 ملم وبكتريا *B. brevis* تظهر هالة التحلل 14 ملم.

جدول 25-4 الفعالية التثبيطية للسكر المتعدد  $\beta$ -glucan المستخلص من العزلات الفطرية

المنتخبة ضد بعض انواع البكتريا المرضية.

<i>E. coli</i>		<i>B. cereus</i>		<i>P. aeruginos</i>		<i>K. pneumonia</i>		<i>S. aureus</i>		الفطر
قطر التثبيط	التركيز / ملغم / غم	قطر التثبيط	التركيز / ملغم / غم	قطر التثبيط	التركيز / ملغم / غم	قطر التثبيط	التركيز / ملغم / غم	قطر التثبيط	التركيز / ملغم / غم	
46	400	40	400	45	400	33	400	45	400	<i>G.curtisii</i>
45	200	42	200	43	200	32	200	43	200	
45	100	42	100	43	100	31	100	42	100	
41	400	39	400	43	400	36	400	40	400	<i>G.cupreolaccatum</i>
39	200	34	200	41	200	36	200	38	200	
39	100	34	100	41	100	33	100	37	100	
43	400	40	400	44	400	33	400	42	400	الفطر <i>oregonense G.</i>
43	200	40	200	44	200	32	200	43	200	
40	100	38	100	40	100	32	100	44	100	
20		22		10		20		18		Gentamycin(10 mcg)



*E.coli*

*B.cereus*

*P.aeruginosa*

*K. pneumoniae*

*S. aureus*

شكل الفعاليات البيولوجية لمستخلصات  $\beta$ -glucan من العزلات الفطرية المنتخبة

ضد بعض انواع البكتريا المرضية

## الاحصائيات لجدول 25-4

جميع احصائيات الفعالية التثبيطية للسكر المتعدد  $\beta$ -glucan المستخلص من العزلات الفطرية المنتخبة ضد بعض انواع البكتريا المرضية

Statistics					
		نوع البكتريا	نوع المستخلص	التركيز ملغم/غم	معدل قطر التثبيط مم
N	Valid	45	45	45	45
	Missing	0	0	0	0
Mean		3.00	2.00	2.33	39.49
Median		3.00	2.00	2.00	40.00
Mode		1 <sup>a</sup>	1 <sup>a</sup>	1 <sup>a</sup>	40 <sup>a</sup>
Std. Deviation		1.430	.826	1.261	4.331
Variance		2.045	.682	1.591	18.756
Skewness		.000	.000	.395	-.509-
Std. Error of Skewness		.354	.354	.354	.354
Minimum		1	1	1	31
Maximum		5	3	4	46
Sum		135	90	105	1777

الاعداد والنسبة المئوية لأنواع البكتريا المتواجدة في جدول 25-4

نوع البكتريا					
		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	<i>S. aureus</i>	9	20.0	20.0	20.0
	<i>K. pneumonia</i>	9	20.0	20.0	40.0
	<i>P.aeruginosa</i>	9	20.0	20.0	60.0
	<i>B .cereus</i>	9	20.0	20.0	80.0
	<i>E. coli</i>	9	20.0	20.0	100.0
	Total	45	100.0	100.0	

الاعداد والنسبة المئوية لأنواع المستخلصات المتواجدة في جدول 25-4

نوع المستخلص					
		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	مستخلص الزيت الطيار للفطر G.curtisii	15	33.3	33.3	33.3
	مستخلص الزيت الطيار للفطر G.cupreolaccatum	15	33.3	33.3	66.7
	مستخلص الزيت الطيار للفطر oregonense G.	15	33.3	33.3	100.0
	Total	45	100.0	100.0	

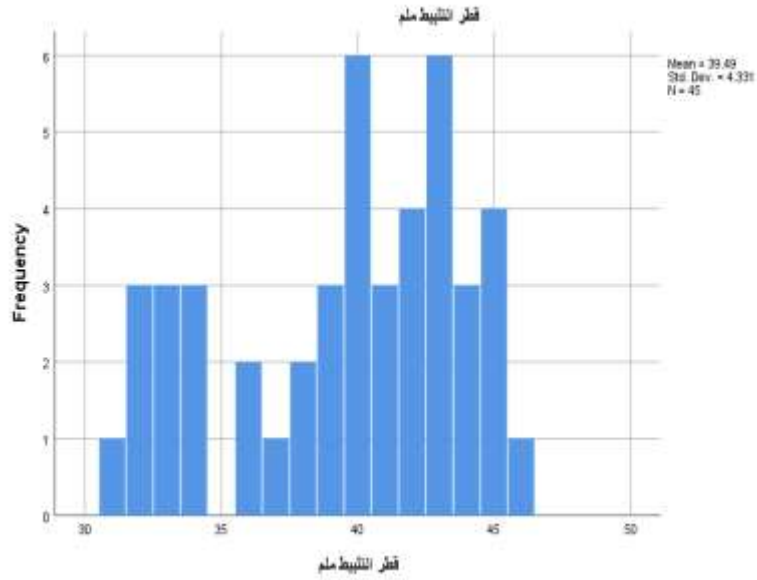
الاعداد والنسبة المئوية لأنواع التراكيز المستخدمة في جدول 25-4

التركيز ملغم/غم					
		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	100	15	33.3	33.3	33.3
	200	15	33.3	33.3	66.7
	400	15	33.3	33.3	100.0
	Total	45	100.0	100.0	

الاعداد والنسبة المئوية لأحجام اقطار التثبيط الموجودة في جدول 25-4

معدل قطر التثبيط ملم					
		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	31	1	2.2	2.2	2.2
	32	3	6.7	6.7	8.9
	33	3	6.7	6.7	15.6
	34	3	6.7	6.7	22.2
	36	2	4.4	4.4	26.7
	37	1	2.2	2.2	28.9
	38	2	4.4	4.4	33.3
	39	3	6.7	6.7	40.0

معدل قطر التثبيت ملم					
		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
	40	6	13.3	13.3	53.3
	41	3	6.7	6.7	60.0
	42	4	8.9	8.9	68.9
	43	6	13.3	13.3	82.2
	44	3	6.7	6.7	88.9
	45	4	8.9	8.9	97.8
	46	1	2.2	2.2	100.0
Total		45	100.0	100.0	



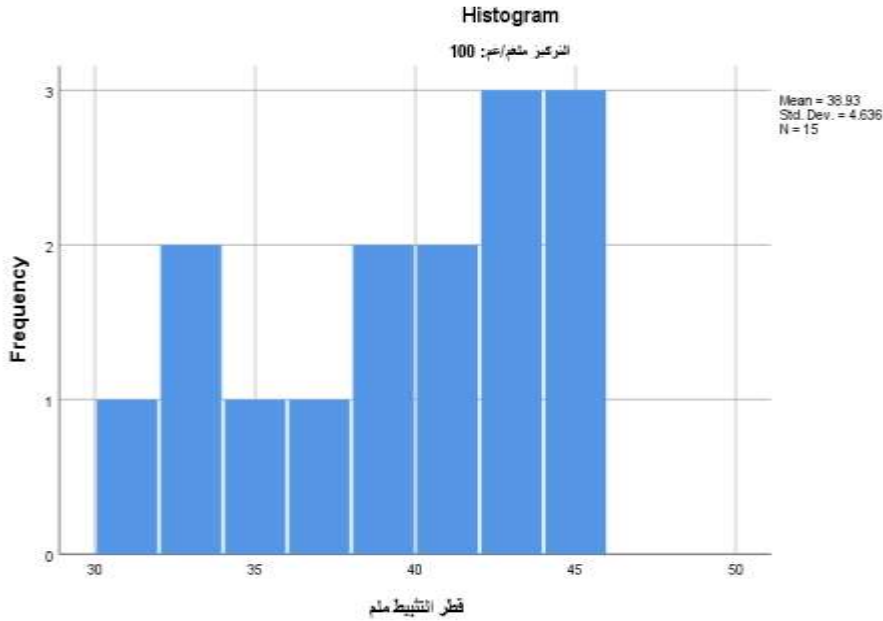
الرسم البياني لأحجام اقطار التثبيت الموجودة في جدول 4-25

التركيز ملغم/غم = 100

الاعداد والنسبة المئوية لأحجام اقطار التثبيت عند تركيز 100 ملغم/غم الموجودة في جدول 4-25

معدل قطر التثبيت ملم <sup>a</sup>					
		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	31	1	6.7	6.7	6.7
	32	1	6.7	6.7	13.3
	33	1	6.7	6.7	20.0

معدل قطر التثبيط ملم <sup>a</sup>					
		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
	34	1	6.7	6.7	26.7
	37	1	6.7	6.7	33.3
	38	1	6.7	6.7	40.0
	39	1	6.7	6.7	46.7
	40	2	13.3	13.3	60.0
	42	2	13.3	13.3	73.3
	43	1	6.7	6.7	80.0
	44	2	13.3	13.3	93.3
	45	1	6.7	6.7	100.0
	Total	15	100.0	100.0	

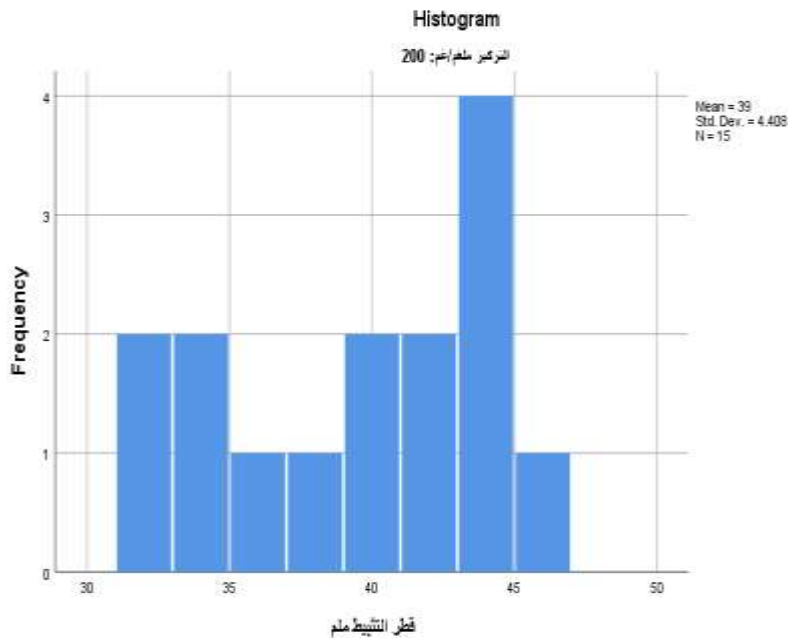


الرسم البياني لأحجام اقطار التثبيط عند تركيز 100 ملغم/غم الموجودة في جدول 4-25

التركيز ملغم/غم = 200

الاعداد والنسبة المئوية لأحجام اقطار التثبيط عند تركيز 200 ملغم/غم الموجودة في جدول 4-25

معدل قطر التثبيط ملم <sup>a</sup>					
		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	32	2	13.3	13.3	13.3
	34	2	13.3	13.3	26.7
	36	1	6.7	6.7	33.3
	38	1	6.7	6.7	40.0
	39	1	6.7	6.7	46.7
	40	1	6.7	6.7	53.3
	41	1	6.7	6.7	60.0
	42	1	6.7	6.7	66.7
	43	4	26.7	26.7	93.3
	45	1	6.7	6.7	100.0
	Total	15	100.0	100.0	

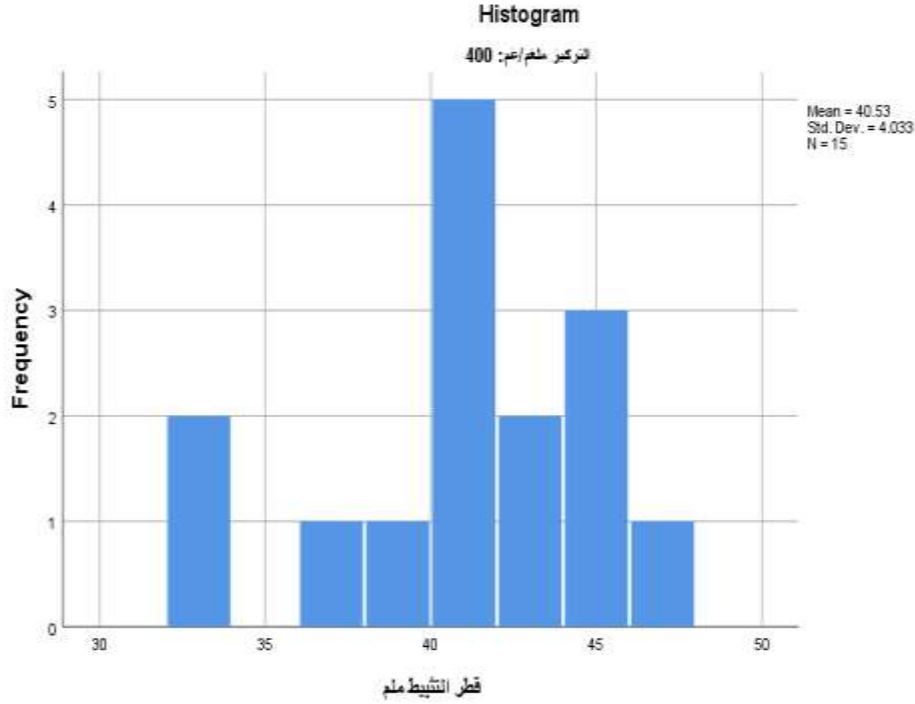


الرسم البياني لأحجام اقطار التثبيط عند تركيز 200 ملغم/غم الموجودة في جدول 4-25

التركيز ملغم/غم = 400

الاعداد والنسبة المئوية لأحجام اقطار التثبيط عند تركيز 400 ملغم/غم الموجودة في جدول 25-4

معدل قطر التثبيط ملم <sup>a</sup>					
		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	33	2	13.3	13.3	13.3
	36	1	6.7	6.7	20.0
	39	1	6.7	6.7	26.7
	40	3	20.0	20.0	46.7
	41	2	13.3	13.3	60.0
	42	1	6.7	6.7	66.7
	43	1	6.7	6.7	73.3
	44	1	6.7	6.7	80.0
	45	2	13.3	13.3	93.3
	46	1	6.7	6.7	100.0
Total		15	100.0	100.0	

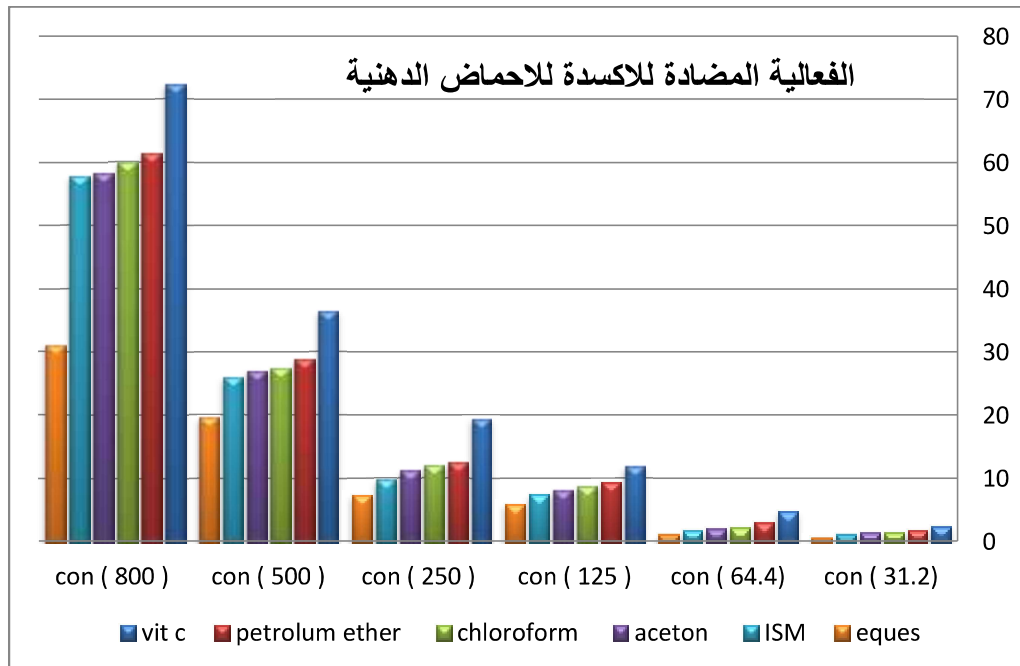


الرسم البياني لأحجام اقطار التثبيط عند تركيز 400 ملغم/غم الموجودة في جدول 25-4

## 10-4 الفعالية الحيوية للمستخلصات الفطرية

### 1-10-4 الفعالية المضادة للاكسدة للاحماض الدهنية:

للتحقق من رؤية امتلاك مستخلصات الاجسام الثمرية للفطريات الكبيرة خاصة التي تعود لجنس *Ganoderma* والتي لفتت انظار العلماء الى فعالية مضادة للاكسدة واثبتت مستخلصات الاحماض الدهنية من عزلة الفطر *G.curtisii* المستخلصة بنظام المذيبات المتعاقبة الموضحة في الشكل 4-57 انّ اعلى فعالية مضادة للاكسدة للاحماض الدهنية المستخلصة بالمذيب العضوي بتروليوم اثير بالتركيز 800 مايكروغرام / مل بلغت 61.58 % اعقبها من حيث الفعالية المضادة للاكسدة للاحماض الدهنية المستخلصة بالمذيب العضوي الكلوروفورم والتي ازدادت بزيادة تركيز المادة المستخلصة وبلغت اقصاها 60.03 % عند التركيز 800 مايكروغرام/مل. وادناها عند التركيز الادنى 31.2 مايكروغرام / مل وبلغت 1.6 % وانخفضت الفعالية المضادة للاكسدة لمستخلص الاحماض الدهنية بالماء الحار الى 31.12 % عند التركيز 800 مايكروغرام / مل ومن خلال استعراض النتائج يتبين انّ الاحماض الدهنية المستخلصة بالمذيب بتروليوم اثير تمتلك فعالية مضادة للاكسدة عالية مقارنة ببقية المذيبات المستخدمة ونستطيع القول انّ مستخلص الاحماض الدهنية نجح في اداء عمله بفاعلية وحقق النتيجة المرجوة في اقتناص الجذر الحر لمركب DPPH.



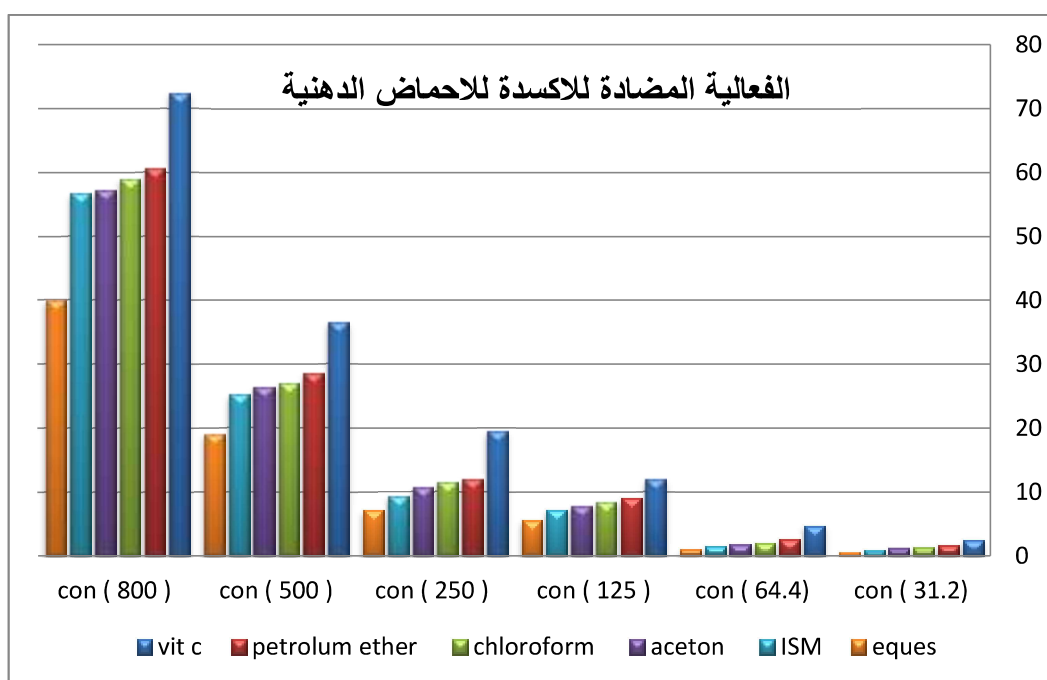
شكل 4-57 الفعالية المضادة للاكسدة للاحماض الدهنية المستخلصة بالمذيبات

المتعاقبة من عزلة الفطر *G.curtisii* باختبار DPPH

التحليل الاحصائي للشكل 4-57

Name %	Con (31.2)	Con (64.4)	Con (125)	Con (250)	Con (500)	Con (800)
Vit C	2.45	4.75	11.95	19.45	36.49	72.46
Petroleum ether	1.82	3.05	9.35	12.58	28.98	61.58
Chlolroform	1.6	2.24	8.86	12.03	27.46	60.03
Aceton	1.52	2.06	8.12	11.26	27.06	58.41
ISM	1.16	1.82	7.46	9.82	26.03	57.84
eques	0.65	1.12	5.98	7.43	19.65	31.12

ويوضح الشكل 4-58 انّ الاحماض الدهنية المستخلصة من عزلة الفطر *G.cupreolaccatum* امتلكت فعالية مضادة للاكسدة مقارنة مع مجموعة السيطرة التي تميزت بتغيير اللون البنفسجي الى اللون الاصفر الفاتح لجذر DPPH عند انتظار وقياس ردة الفعل لازاحته ، واختلفت تلك الفعالية حسب نوع المذيب المستخدم وتركيز المادة المستخلصة ، وبلغت اعلى فعالية مضادة للاكسدة للاحماض الدهنية المستخلصة بالمذيب بتروليوم ايثر 60.58 % عند التركيز 800 مايكروغرام / مل مقارنة بمضاد الاكسدة القياسي Vit C والتي بلغت 72.46 % عند نفس التركيز اعلاه وتلاها المذيب العضوي الكلوروفورم لفعاليتها المضادة للاكسدة 58.96 % عند التركيز 800 مايكروغرام / مل بينما اعطى مستخلص الاسيتون IMS فعالية مضادة للاكسدة بلغت قيمتها 57.15 و 56.25 % على التوالي وكان مستخلص الماء الحار الاقل فعاليةً لمضادات الاكسدة اذ بلغت 40.02 % عند التركيز 800 مايكروغرام / مل و 1.01 % عند التركيز الادنى 31.2 مايكروغرام / مل. تؤكد هذه النتائج زيادة الفعالية بزيادة تركيز المادة المستخلصة وتكون الفعالية قليلة في التراكيز الواطئة وتؤكد اختلاف الفعالية المضادة للاكسدة باختلاف المذيبات المستخدمة للاستخلاص والذي يمكن ان يعزى الى اختلاف قطبية المذيبات المستخدمة.



شكل 4-58 الفعالية المضادة للاكسدة للاحماض الدهنية المستخلصة بالمذيبات

#### المتعاقبة من عذلة الفطر *G.cupreolaccatum* باختبار DPPH

#### التحليل الاحصائي للشكل 4-58

Name %	Con (31.2)	Con (64.4)	Con (125)	Con (250)	Con (500)	Con (800)
Vit C	2.45	4.75	11.95	19.45	36.49	72.46
Petroleum ether	1.65	2.58	9.02	12.03	28.54	60.58
Chloroform	1.32	2.03	8.41	11.45	27.03	58.96
Acetone	1.24	1.78	7.76	10.68	26.34	57.15
ISM	0.91	1.56	7.25	9.34	25.21	56.65
eques	0.52	1.01	5.56	7.09	19.03	40.02

يعبر الشكل 4-59 عن الفعالية المضادة للاكسدة للاحماض الدهنية المستخلصة من

مسحوق الجسم الثمري للفطر *G.oregonense* استخلص بالمذيب العضوي بتروليوم ايثر اذ

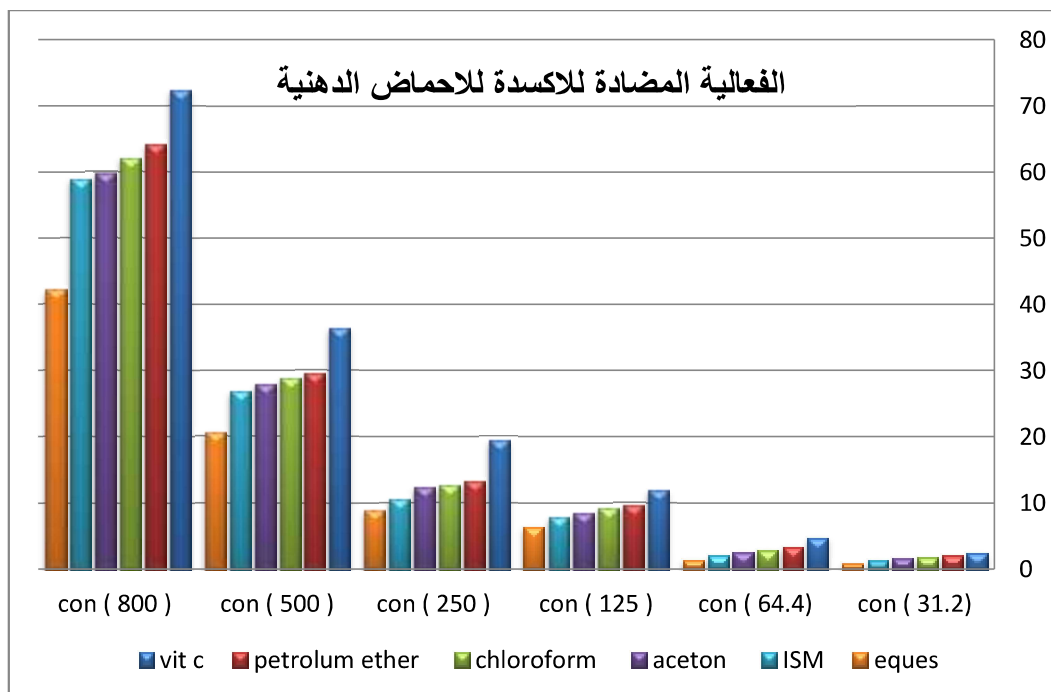
اعطى فعاليةً بلغت 64.26 % عند التركيز الاعلى 800 مايكروغرام / مل ازدادت وكانت

الفعالية تصاعدياً حتى التركيز الاعلى الامثل وتباينت الفعالية المضادة للاكسدة باختلاف

المذيبات وبلغت 62.24 و 59.95 و 58.97 % على التوالي عند التركيز 800 مايكروغرام /

مل لكل من مستخلص الكلوروفورم والاسيتون والـ IMS في حين كانت قيمة الفعالية المضادة

للاكسدة اقل عند الاستخلاص بالماء الحار اذ بلغت 0.87 % عند التركيز 31.2 و 42.26 %  
 عند التركيز 800 مايكروغرام/ مل.



شكل 4-59 الفعالية المضادة للاكسدة للاحماض الدهنية المستخلصة بالمذيبات

#### المتعاقبة من عزلة الفطر *G.oregonense* باختبار DPPH

##### التحليل الاحصائي للشكل 4-59

Name %	Con (31.2)	Con (64.4)	Con (125)	Con (250)	Con (500)	Con (800)
Vit C	2.45	4.75	11.95	19.45	36.49	72.46
Petroleum ether	2.05	3.36	9.65	13.25	29.64	64.26
Chloroform	1.84	2.87	9.15	12.64	28.87	62.24
Acetone	1.69	2.54	8.48	12.35	27.97	59.95
ISM	1.34	2.06	7.89	10.58	26.87	58.97
eques	0.87	1.46	6.23	8.84	20.69	42.26

يتضح من النتائج اعلاه انّ الاحماض الدهنية المستخلصة من العزلات الفطرية المنتخبة

لها القابلية على اكسدة واقتناص الجذور الحرة لمادة DPPH والتي تم التعبير عنها كنسبة مئوية

كما أنّ الفعالية المضادة للاكسدة تختلف باختلاف المذيبات المستخدمة وتعتمد على نوع المذيب وتركيز المستخلص ويسمى هذا النمط بالنمط المضاد للاكسدة المعتمد على المذيب وتركيز المادة.

ويمكن تفسير ما تم التوصل اليه أنّ الاحماض الدهنية عبارة عن مركبات دهنية تتواجد في الفطريات ولها فعالية مضادة للاكسدة كونها غنية بالالكترونات التي تعمل على ازالة الجذور الحرة التي تعتبر نواةً لكثير من الامراض السرطانية فحينما تلتقي بالحامض الدهني تاخذ الالكترونات منه وتلغي عمل الجذور الحرة وبذلك تتعادل تلك الالكترونات وتتحول الى مركبات غير نشطة وينتهي عملها ، والمركبات التي ظهرت لدينا هي احماض دهنية يحمل قسم منها اصرةً مزدوجةً مثل: حامض الاوليك وقسم منها يحمل اصرتين مزدوجتين مثل حامض اللينوليك ومن يحمل ثلاث اواصر مزدوجة مثل: حامض اللينولينك فتعمل هذه الاواصر على كسح الجذور الحرة.

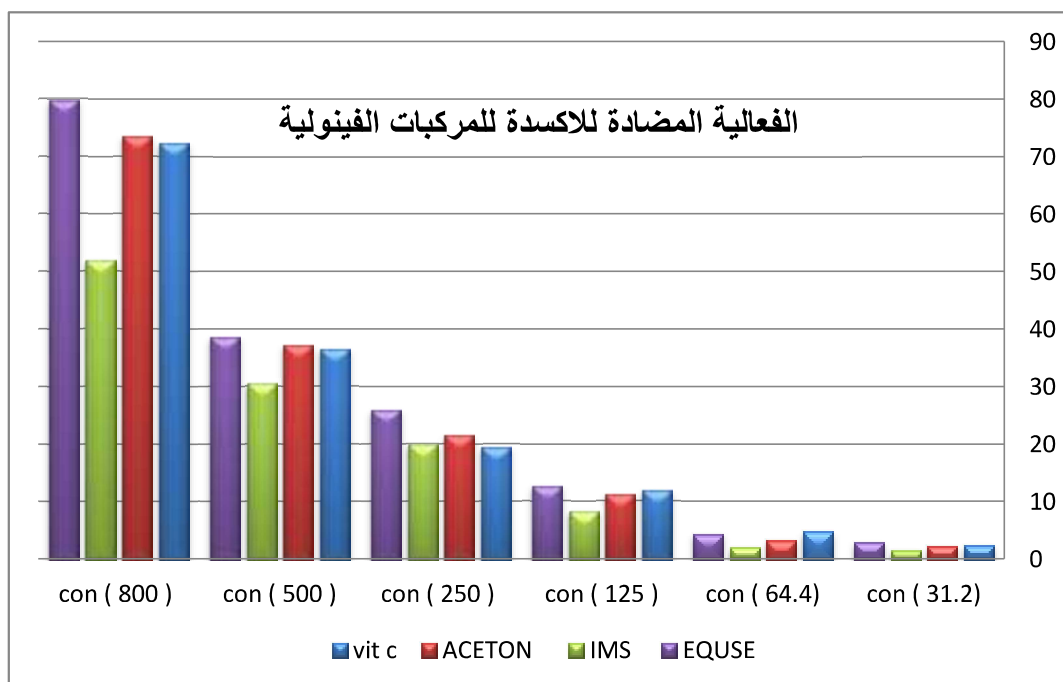
وتوصل Dogam و Akbas (2013) الى أنّ الاحماض الدهنية المستخلصة من عزلة الفطر *Amanita caesarea* تمتلك فعالية مضادة لاكسدة DPPH بنسبة 40.91 % عند التركيز 0.5 ملغم/ مل من المستخلص.

واشار الباحث Gworie واخرون (2014) الى الفعالية المضادة للاكسدة للمستخلص الميثانولي والمستخلص الايثانولي والمستخلص الكلورفورمي للفطر *G.lucidum* فقد كانت نسبة الفعالية المضادة للاكسدة DPPH للمستخلص الميثانولي 74.05 % بينما كانت نسبة الفعالية المضادة للاكسدة DPPH للمستخلص الايثانولي 64.72 % وبالنسبة لمستخلص الكلورفورمي كانت الفعالية المضادة للاكسدة DPPH بنسبة 89.71 % عند التركيز 1 ملغم/مل من المستخلصات.

#### 4-10-2 الفعالية المضادة للاكسدة للمستخلصات الفينولية

استخدم حامض الاسكوريك كمضاد اكسدة قياسي لتحديد الفعالية المضادة للاكسدة المستخلصات الفينولية المستخلصة بالمذيبات المتعاقبة (الاسيتون وIMS ومستخلص الماء الحار) وبتراكيز مختلفة لكل منها. افادت نتائج الشكل 4-60 أنّ الفعالية المضادة للاكسدة

تختلف باختلاف المذيب المستخدم وتركيز المستخلص الفينولي اذ اعطى مستخلص الماء الحار اعلى فعالية مضادة للاكسدة من مسحوق الجسم الثمري للفطر *G.curtisii* بلغت 79.59 % عند التركيز 800 مايكروغرام/مل وكانت اعلى من فعالية مضاد الاكسدة القياسي 72.46 % بينما كانت الفعالية المضادة للاكسدة اقل باستخلاص المركبات الفينولية باستعمال الاسيتون 73.58 % عند التركيز الاعلى 800 مايكروغرام/مل لكنها كانت تزداد من التراكيز الواطئة 31.2 مايكروغرام/مل لغاية التركيز الاعلى 800 مايكروغرام/مل وتستقر الفعالية المضادة للاكسدة على نفس الوتيرة عند هذا التركيز ولجميع المذيبات المستخدمة واعطى IMS اقل فعالية مضادة للاكسدة عند التركيز الادنى 31.2 مايكروغرام/مل وبلغت 1.56 % واعلى قيمة 52.03 % عند التركيز 800 مايكروغرام/مل.



شكل 4-60 الفعالية المضادة للمركبات الفينولية المستخلصة بنظام المذيبات المتعاقبة من

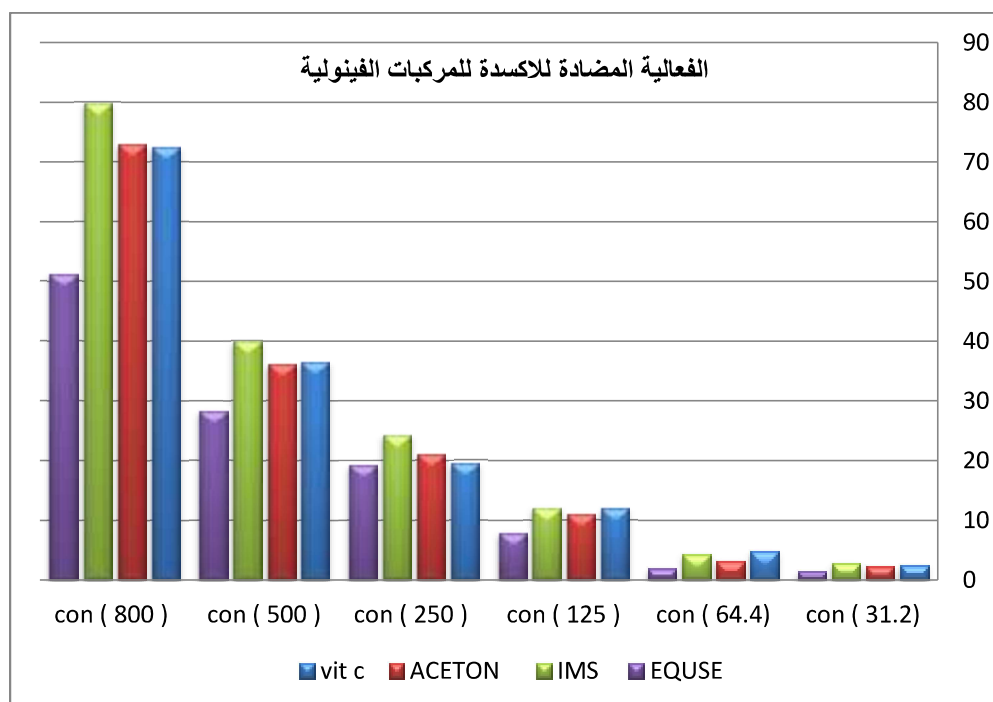
#### عزلة الفطر *G.curtisii* باختبار DPPH

#### التحليل الاحصائي للشكل 4-60

Name %	Con (31.2)	Con (64.4)	Con (125)	Con (250)	Con (500)	Con (800)
Vit C	2.45	4.75	11.95	19.45	36.49	72.46
Aceton	2.35	3.32	11.26	21.55	37.22	73.58

Name %	Con (31.2)	Con (64.4)	Con (125)	Con (250)	Con (500)	Con (800)
ISM	1.56	2.03	8.37	20.03	30.58	62.03
eques	2.98	4.45	12.78	25.98	38.69	78.95

يوضح الشكل 4-61 عن الفعالية المضادة للاكسدة للمركبات الفينولية المستخلصة من مسحوق الجسم الثمري للفطر *G.cupreolaccatum* والتي يتضح من خلالها أنّ الفعالية المضادة للاكسدة تزداد تصاعدياً مع زيادة تراكيز المستخلصات الفينولية المحضرة ولجميع المذيبات ، إذ بلغت الفعالية المضادة للاكسدة للمركبات الفينولية المستخلصة IMS ذروتها 79.85% عند التركيز 800 مايكروغرام / مل الفعالية المضادة للاكسدة تتجه نحو الارتفاع عند استخلاص المركبات الفينولية بالاسيتون إذ بلغت 73.02% عند التركيز 800 مايكروغرام / مل وفي هذا الصدد يتضح أنّ أعلى قيمة للفعالية كانت باستخلاص المركبات الفينولية بالمذيب IMS مقارنة مع حامض الاسكوريك المستخدم كمضاد اكسدة قياسي 72.46% وأعلى بدوره من الفعالية المضادة للاكسدة للمستخلصات الفينولية بالماء الحار 51.31%.



شكل 4-61 الفعالية المضادة للمركبات الفينولية المستخلصة بنظام المذيبات المتعاقبة

من عزلة الفطر *G.cupreolaccatum* باختبار DPPH

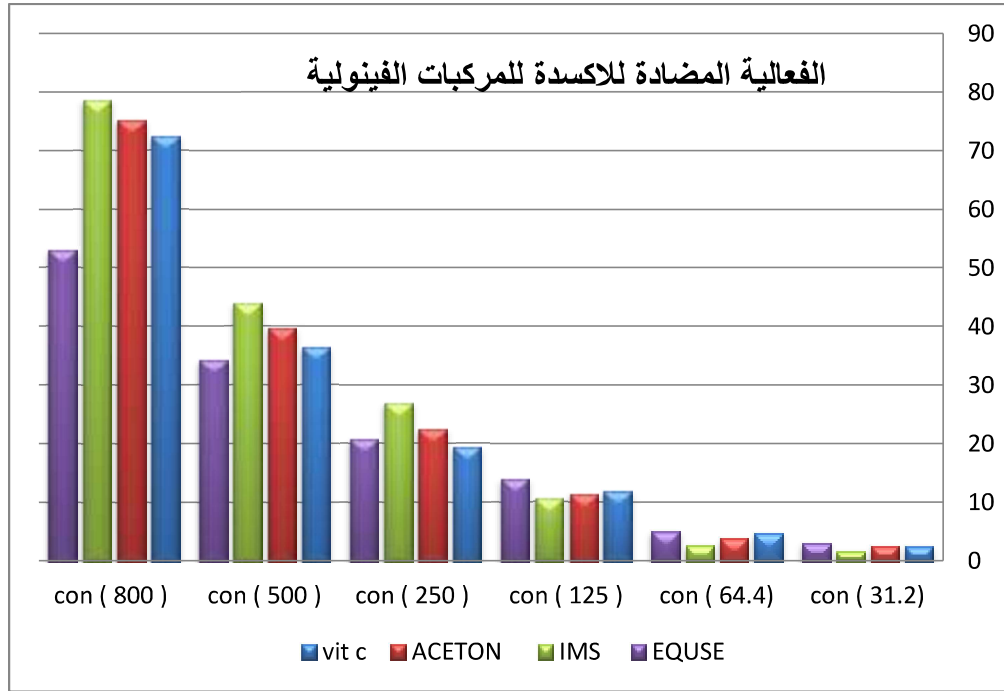
#### التحليل الاحصائي للشكل 4-61

Name %	Con (31.2)	Con (64.4)	Con (125)	Con (250)	Con (500)	Con (800)
Vit C	2.45	4.75	11.95	19.45	39.49	72.46
Aceton	2.21	3.15	10.99	20.98	39.08	73.03
ISM	2.78	4.21	12.07	24.25	39.93	79.85
eques	1.45	1.86	7.87	19.25	28.24	51.31

نستعرض من خلال الشكل 4-62 الفعالية المضادة للاكسدة المركبات الفينولية المستخلصة من مسحوق الجسم الثمري للفطر *G.oregonense* والتي بلغت اقصاها عند الاستخلاص بالمذيب IMS وازدادت الفعالية باطراد مع زيادة تركيز المركبات الفينولية المحضرة وبلغت اعلى قيمة 78.68 % عند التركيز الاعلى 800 مايكروغرام / مل وهذه القيمة للفعالية المضادة للاكسدة الاقل مقارنة مع الفعالية المضادة للاكسدة في المركبات الفينولية المستخلصة من عزلة الفطر *G.curtisii* وعزلة الفطر *G.cupreolaccatum* وللتراكيز المستخدمة. ويمكن القول من النتائج اعلاه الا ان اختلاف فعالية المستخلص الفينولي باختلاف المذيبات المستخدمة لاستخلاص المركبات ذات الفعالية المضادة للاكسدة باختلاف العزلات الفطرية قد يعود الى اختلاف مجاميع المركبات الفينولية المستخلصة الناتجة من الايض الثانوي واختلاف الطبيعة الكيماوية لها.

بما ان مذيب IMS هو مزيج من الايثانول والميثانول وكلاهما من المذيبات القطبية polar والمركبات الفينولية التي تتواجد في الفطريات على شكل كلايكوسيدات وهذه المركبات تحمل جزءاً قطبياً وجزءاً غير قطبي وبذلك تكون غنية جداً بالالكترونات، فعند تحررها تكون مركبات فينولية تسمى بالاكلايكون (aglycon) الذي يكون غنياً جداً بالالكترونات ويؤدي الى ضخ الالكترون الى محيطه المملوء بالجذور الحرة ويتعادل معها ويحولها من مركبات ضارة جداً الى مركبات غير ضارة على الاطلاق وهذا يؤدي الى ايقاف تفاعلات اكسدة الدهون لاحتواء المركبات الفينولية على مجاميع الهيدروكسيل ولعل السبب في تباين الفعالية المضادة للاكسدة الجذور الحرة باختلاف العزلات الفطرية قد يعود الى المحتوى الكلي من المركبات الفينولية الذي

يختلف باختلاف العزلات الفطرية وقد يعزى السبب الى طبيعة وسط النمو الذي كان الجسم الثمري ناميا فيه ( سليمان 2017).



شكل 4-62 الفعالية المضادة للمركبات الفينولية المستخلصة بنظام المذيبات المتعاقبة من عزلة الفطر *G.oregonense* باختبار DPPH

#### التحليل الاحصائي للشكل 4-62

Name %	Con (31.2)	Con (64.4)	Con (125)	Con (250)	Con (500)	Con (800)
Vit C	2.45	4.75	11.95	19.45	39.49	72.46
Aceton	2.54	3.78	11.45	22.48	39.78	75.26
ISM	1.74	2.67	10.65	26.89	43.99	78.68
eques	3.12	5.01	13.98	20.8	34.32	52.97

وفي هذا السياق تمكن Palacios وآخرون 2011 من الحصول على فعالية مضادة للاكسدة بلغت 74 % بالمستخلص الايثانولي للجسم الثمري للفطر *Cantharellus cibarius* نظرا لتشخيص وجود linoleic acid الذي يُعدّ Antioxidation ، في حين اعطى المستخلص الايثانولي للجسم الثمري للفطر *Agaricus bisporus* فعاليةً مضادةً للاكسدة بلغت 10 % وتمكن Taofiq الذي قاد فريق بحثيا سنة 2017 من استخلاص المركبات الفينولية

بالايتانول من مسحوق الجسم الثمري للفطر *G.lucidum* واختبار فعاليته المضادة للاكسدة بطريقة DPPH وبلغت IC50 0.73 ملغرام/مل بينما تمخضت الدراسة التي قام بها Veljovic وآخرون (2017) عن رؤية قيمة والتي تبين أنّ جميع المستخلصات من الفطر *G.lucidum* تمتلك فعاليةً مضادةً للاكسدة باستخدام طرائق مختلفة وهي: DPPH ، FRAP ، TEAC ، وتعتمد الفعالية على نوع المستخلص ونوع المذيب وتركيز المستخلص وزمن الاستخلاص وحصل على أعلى فعالية مضادة للاكسدة عندما كان زمن الاستخلاص بطريقة FRAP ستة أيام وبلغت 6.63 بالمستخلص الايتانولي وتتفق النتائج مع Gebreyohannes وآخرون لسنة (2019) الذي استخلص مركبات فينولية بعدة مذيبات منها الايتانول بالتركيز 70 % والكلوروفورم فضلا عن الماء الحار وتوصلوا الى أنّ المستخلص الايتانولي اعطى أعلى فعالية مضادة للاكسدة من الفطر *Termitomyces* بلغت 63% عند التركيز 50 مايكروغرام / مل ومستخلص الماء الحار أعلى فعالية مضادة للاكسدة فقد بلغت 70.4 % عند التركيز 40 مايكروغرام / مل من الفطر *Auricularia spp*.

### 3-10-4 الفعالية المضادة للاكسدة للزيوت الطيارة:

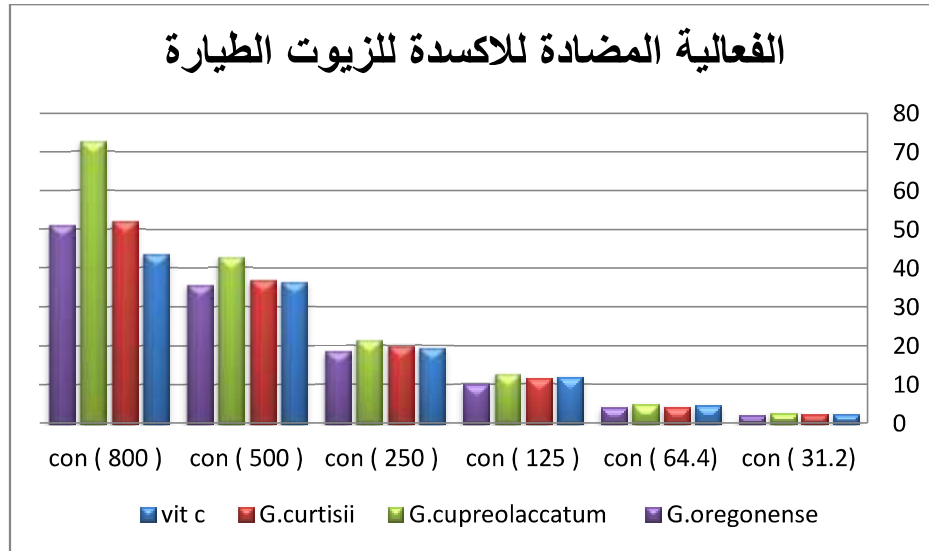
اظهرت نتائج الفعالية المضادة للاكسدة لمستخلصات الزيوت الطيارة من الاجسام الثمرية للفطريات المنتخبة في الشكل 4-63 التي تم تقديرها عن طريق اختبار DPPH أنّ جميع الزيوت الطيارة لها نشاط مضاد للاكسدة ولمختلف التراكيز المستخدمة. اذ اعطى مستخلص الزيوت الطيارة من عزلة الفطر *G.curtisii* فعاليةً مضادةً للاكسدة وزدادت تصاعديا بزيادة تركيز الزيت الطيار اذ بلغت 52.06 % عند التركيز 800 مايكروغرام / مل.

اما الفعالية المضادة للاكسدة للزيت الطيار المستخلص من عزلة الفطر *G.cupreolaccatum* فقد بلغت عند التركيز 800 مايكروغرام / مل 72.69 % وبهذا تكون أعلى قيمة للفعالية المضادة للاكسدة تم الحصول عليها مقارنة بالعزلة السابقة وأعلى من الفعالية المضادة للاكسدة لحامض الاسكوريك القياسي 43.46 % بينما ابدت مستخلصات الزيوت الطيارة من عزلة الفطر *G.oregonense* قدرةً عاليةً على ازالة جذر DPPH بمقدار ( 2.21 51.12 35.78 18.56 10.05 4.02 ) % عند التراكيز (800 500 250 125 64.4 31.2) مايكروغرام / مل على التوالي.

إنّ التباين الواضح في نتائج الفعالية المضادة للاكسدة باختلاف العزلات الفطرية قد يعود الى تباين قدرة كل عزلة منها على انتاج المركبات المضادة للاكسدة والتي قد تحوي مركبات اقل من العزلات الاخرى ، او قد يعود السبب الى تكوين بعض المركبات المثبطة للمركبات المضادة للاكسدة.

ويمكن تفسير النتائج اعلاه بأنّ اغلب الزيوت الطيارة تمتلك في تركيبها الكيماوي اواصر مزدوجة والمعروف عن الاواصر المزدوجة أنّها غنية بالالكترونات وأنّ كل ما تحتاجه الجذور الحرة هو معادلتها بوسط يحمل الكترونات متعددة وعليه فعند معادلة الجذور الحرة تتحول من مركبات نشطة الى مركبات غير فعالة وبذلك تمتلك الزيوت الطيارة خاصية مضادات الاكسدة.

وجدت AL-Fatimi وآخرون 2016 أنّ الزيوت الطيارة المستخلصة من عزلة الفطر *G.pfeifferi* تمتلك فعالية مضادة للاكسدة تختلف باختلاف تركيز الزيت الطيار وبلغت اعلى قيمة 90.94 % عند التركيز الاعلى المستخدم في التجربة 1000 مايكروغرام / مل. في حين توصل Taofiq وآخرون (2016) الى أنّ الزيت الطيار المستخلص من عزلة الفطر *p.ostreatus* اذ يمتلك فعالية مضادة للاكسدة بلغت اقصاها 73.6 %.



شكل 4-63 الفعالية المضادة للاكسدة للزيوت الطيارة المستخلصة من العزلات الفطرية

#### المنتخبة باختبار DPPH

#### التحليل الاحصائي للشكل 4-63

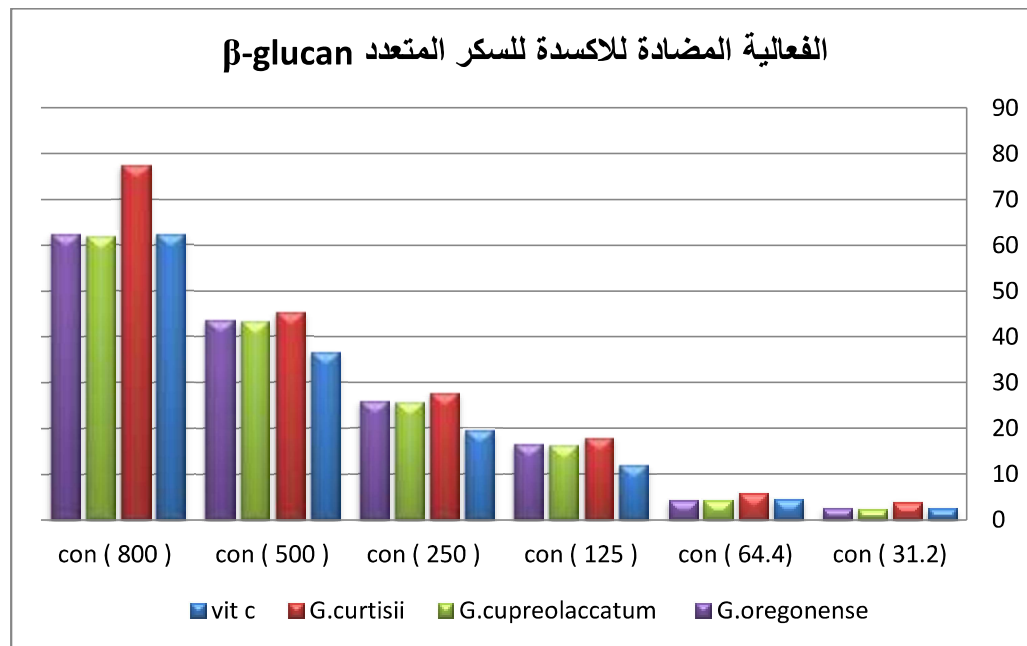
Name %	Con (31.2)	Con (64.4)	Con (125)	Con (250)	Con (500)	Con (800)
Vit C	2.45	4.75	11.95	19.45	36.49	43.46
<i>G.curtisii</i>	2.32	4.26	11.58	20.02	36.98	52.06
<i>G.cupreolaccatum</i>	2.72	4.88	12.85	21.45	42.77	72.69
<i>G. oregonense</i>	2.21	4.02	10.05	18.56	35.78	51.12

#### 4-10-4 الفعالية المضادة للاكسدة للسكر المتعدد $\beta$ -glucan:

من اجل مكافحة الجذور الحرة وُظف السكر المتعدد  $\beta$ -glucan المستخلص من مسحوق الاجسام الثمرية للفطريات المنتخبة لتحقيق هذا الهدف في ظل ظروف التجربة المسيطر عليها بالفدر المستطاع. ومن النتائج الموضحة في الشكل 4-64 سجل السكر المتعدد المستخلص من الاجسام الثمرية للعزلتين *G.cupreolaccatum* و *G. oregonense* فعالية مضادة للاكسدة متقاربة ولكل التراكيز المحضرة وازدادت هذه الفعالية تصاعديا بزيادة التركيز وبلغت اعلى قيمة لها عند التركيز 800 مايكروغرام/مل وهي 62.03 و 62.54 % لكل منهما على الترتيب وشهدت الفعالية المضادة للاكسدة قابليةً على ازالة جذر DPPH بلغت 77.58 % من عزلة الفطر *G.curtisii* وهي اعلى مما تم الحصول عليه من العزلتين الوارد ذكرهما اعلاه واعلى من حامض الاسكوريك القياسي الذي بلغت فعاليته المضادة للاكسدة عند نفس التركيز 62.36%.

سكر الكلوكان من المركبات المتعددة للسكر اغلب المركبات السكرية تحوي على عددا هائلا من المجاميع الفعالة لمجموعة الهيدروكسيل (OH) والمعروف عن هذه المجاميع انها مطوره للون OX-Chrome مما يجعل هذه المركبات ذات قطبية عالية وتحوي على العديد من الالكترونات فتكون لها خاصية اعطاء الالكترونات للجذور الحرة وبالتالي معادلتها وتحويلها الى مركبات غير ضارة.

وتشير الدراسات العلمية أنّ الفعالية المضادة للاكسدة السكر المتعدد  $\beta$ -glucan المستخلص من الاجسام الثمرية للفطريات البازيدية يختلف باختلاف التركيز المستخدم ، وحصل Seedeви وآخرون 2019 على فعالية مضادة للاكسدة بلغت قيمتها 70.09 % عند التركيز 125 مايكروغرام/مل للسكر المتعدد بيتا كلوكان المستخلص من عذلة الفطر *G.lucidum* باختبار ABTS بلغت الفعالية المضادة للاكسدة 16.01 % عند التركيز 25 مايكروغرام / مل بالمقارنة مع مضاد الاكسدة القياسي حامض الاسكوريك 82 % وتمكن Pk وآخرون 2019 عند استخلاص السكر المتعدد بيتا كلوكان من الفطر *P.ostreatus* من الحصول على فعالية مضادة للاكسدة بلغت اعلى قيمة لها 1038.38 مايكروغرام / مل عند التركيز 0.5 ملغم / مل باستخدام اختبار DPPH والفعالية المضادة للاكسدة 824.37 مايكروغرام / مل عند نفس التركيز باستخدام اختبار ABTS.



شكل 4-64 الفعالية المضادة للاكسدة للسكر المتعدد  $\beta$ -glucan المستخلص من العزلات

#### الفطرية المنتخبة باختبار DPPH

#### التحليل الاحصائي للشكل 4-63

Name %	Con (31.2)	Con (64.4)	Con (125)	Con (250)	Con (500)	Con (800)
Vit C	2.45	4.45	11.95	19.45	36.49	42.36
<i>G.curtisii</i>	3.85	5.76	17.89	27.53	45.26	77.58
<i>G.cupreolaccatum</i>	2.35	4.25	16.26	25.46	42.25	62.03
<i>G. oregonense</i>	2.54	4.26	16.47	25.79	42.65	62.54

#### 11-4 السمية الخلوية لحمض الـ Caffeic acid

اعتمادا على نتائج الفعالية المضادة للاكسدة التي عُدت اختبارا اوليا لاختبارات لاحقة اكثر دقة في توفير ادوية مضادة للسرطان بعد ان فشلت ادوية عديدة مرشحة لعلاج في الكثير من التجارب التي كانت تمضي بخطى بطيئة جدا وللاستثمار الجدي للموارد الطبيعية استُخدمت تقنية MTT لتقدير السمية الخلوية Cytotoxicity لحمض caffeic acid المنقى من عزلة الفطر *G. cupreolaccatum* على الخط الخلوي لسرطان الكبد ( Human Liver Cancer Cell Line (Hep G2 والخط الخلوي الطبيعي WRL68 وباستخدام تراكيز مختلفة من الحامض وهي 1.0 ، 1.5 ، 2.0 ، 2.5 ، 3.0 مايكروغرام /مل. يتضح من نتائج الجدول 4-26 وجود تأثير سمي عالٍ لحمض الكافئيك على خلايا الخط الخلوي السرطاني للكبد اذ ان نسبة التثبيط تزداد بزيادة تركيز الحامض المستخدم وبلغت اعلى نسبة للتثبيط 57 % عند التركيز 3.0 مايكروغرام / مل وانعكست نسبة التثبيط العالية على حيوية الخلايا وبلغت عند التركيز الاعلى 30 % بينما وجدت اقل نسبة لتثبيط نمو الخلايا السرطانية عند التركيز الادنى 1.0 مايكروغرام / مل وبلغت 7 % بينما بلغت حيوية الخلايا 90 % عند نفس التركيز، ولم يُظهر الحامض المنقى اي تأثير مثبط على الخلايا الطبيعية. كما تبين وجود اختلاف معنوي في قيم IC50 عند مقارنة التأثير لحمض الكافئيك على الخلايا السرطانية للكبد وكانت قيمته 86.3 مايكروغرام / مل بالمقارنة مع الخلايا الطبيعية 124 مايكروغرام / مل ، ويمكن القول ان قلة قيمة IC50 في الخلايا السرطانية ينعكس على المادة بشكل افضل اي ان استخدام اقل كمية من المادة التي تقتل اكبر عدد من الخلايا السرطانية في نفس الوقت ان هذا التركيز غير مؤثر

على الخلايا الطبيعية ويمكن تفعيله ليؤثر فيها باستخدام 124 مايكروغرام / مل من حامض الكافنيك كي يعطي تأثيرا ضارا على الخلايا الطبيعية كما في الشكل 4-65.

تشير النتائج المستحصل عليها الى ان التركيز المستخلص المستخدم تأثيرا كبيرا على تثبيط الخلايا السرطانية بشكل لا لبس فيه ويمكن تفسير ظهور التأثير السمي لجميع التراكيز المستعملة الى حامض الكافنيك وهو حامض عضوي معروف بفعالته المضادة للاكسدة ويُعد من المركبات الطبيعية الواعدة التي تؤدي الى ايقاف او تثبيط نمو الخلايا السرطانية .

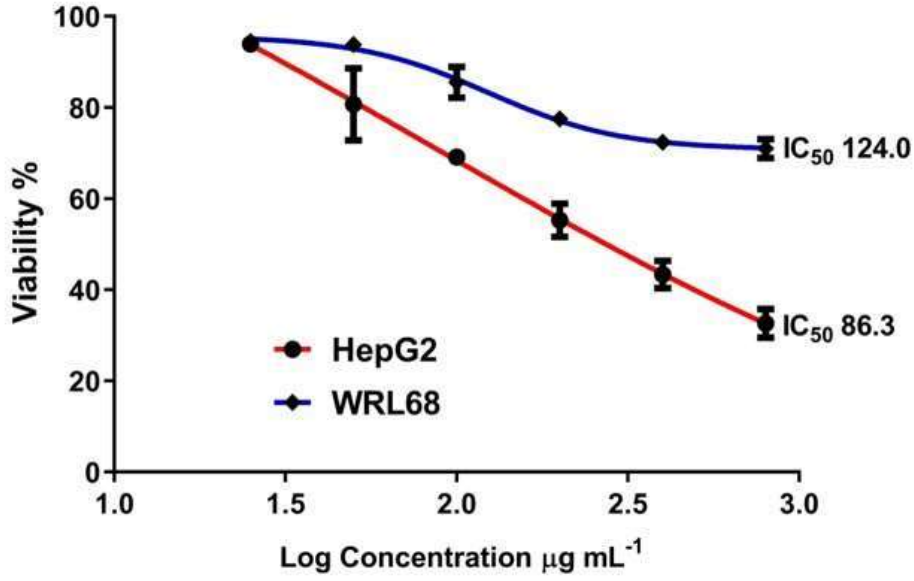
ضمن التوجه ذاته تمكن Reena و Fathima (2016) من اختبار السمية الخلوية للمستخلص الايثانولي لمسحوق الجسم الثمري للفطر *G.lucidum* على الخط الخلوي لسرطان الكبد وبتركيز مختلفة وتبين من الورقة البحثية المنشورة ان السمية الخلوية تختلف حسب التركيز المستخدم وحسب نوع المذيب ايضا، وقد بلغت 31.2 % عند التركيز 3 مايكروغرام / مل و اشار Garg و Gour (2020) الى ان المستخلص الايثانولي من عذلة الفطر *G. lucidum* له فعالية سمية ضد خطوط الخلايا السرطانية لسرطان الثدي بالتراكيز المختلفة 100- 500 مايكروغرام/ مل وخلال فترات التحضين المختلفة والتي تراوحت بين 12-48 ساعة، اذ كانت حيوية الخلايا السرطانية تتخفض بزيادة التركيز وفترة التحضين وبلغت اعلى قيمة لحيوية الخلايا عند التركيز 100 مايكروغرام/ مل وكانت 100% بعد 12 ساعة من التحضين في حين بلغت 88% بعد 48 ساعة من التحضين.

جدول 4-26 تأثير حامض الكافنيك المنقى من عذلة الفطر *G. cupreolaccatum* على

الخط الخلوي لسرطان الكبد HepG2 باستخدام تقنية MTT لمدة 24 ساعة عند درجة

حرارة 37 °م

النسبة المئوية % لتثبيط نمو الخلايا السرطانية					الخط الخلوي
التراكيز المستخدمة مايكروغرام / مل					
3.0	2.5	2.0	1.5	1.0	
57	45	31	20	7	HepG2
28	23	15	7	6	WRL68



شكل 4-65 تأثير حامض الكافئيك المنقى من عذلة الفطر *G.cupreolaccatum* على الخط الخلوي لسرطان الكبد HepG2 باستخدام تقنية MTT لمدة 24 ساعة عند درجة حرارة 37 °م.

#### 12-4 السمية الخلوية للسكر المتعدد $\beta$ -glucan

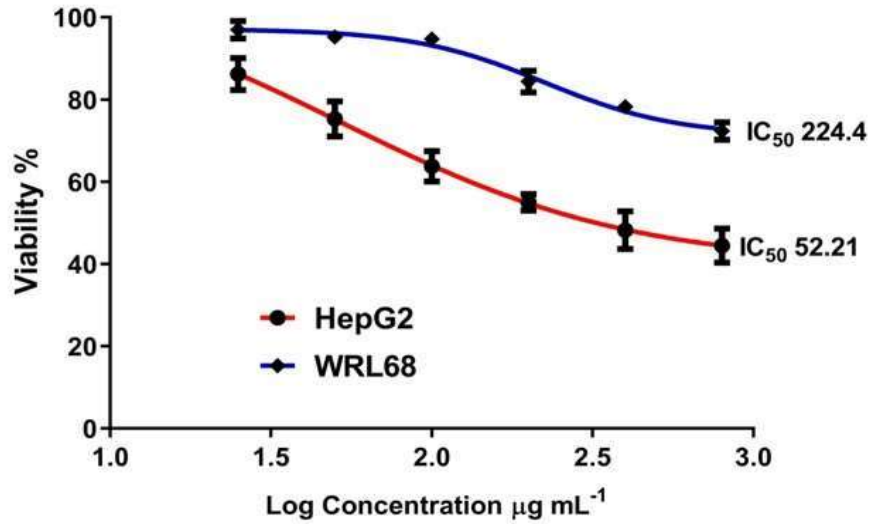
أظهرت نتائج التأثير السمي للسكر المتعدد  $\beta$ -glucan على الخط الخلوي لسرطان الكبد الجدول 4-27 تباينا في التأثير السمي ولجميع التراكيز المستخدمة من السكر المنقى من عذلة الفطر *G.curtisii* وتبين أنّ السمية الخلوية تزداد بزيادة تركيز السكر والذي ينعكس على النسبة المئوية لتنشيط الخلايا السرطانية. والتي بلغت أعلى قيمة لها 52 % عند التركيز 3.0 مايكروغرام/ مل بينما بلغت النسبة المئوية لتنشيط الخلايا السرطانية 14 % عند التركيز الأدنى 1.0 مايكروغرام/ مل. وانعكست الحالة بالنسبة لحيوية الخلايا والتي بلغت أعلى قيمة لها عند التركيز الأدنى 85 % وبلغت حيوية الخلايا السرطانية 50 % عند التركيز الأعلى المستخدم قيد التجربة ضد الخلايا السرطانية. وتبين وجود فروقات معنوية في قيمة  $IC_{50}$  عند مقارنة تأثير السكر المنقى على كل من خط الخلايا السرطانية وخط الخلايا الطبيعية والتي تُظهِر أنّ التركيز

3.0 مايكروغرام/ مل تمكن من قتل 52 % من الخلايا السرطانية في حين لم يكن لها تأثير ملموس على الخلايا الطبيعية التي تحتاج 224.4 مايكروغرام/ مل لكي يظهر لها تأثير على الخلايا الطبيعية كما موضح في الشكل 4-66.

ومن التفسيرات للنتيجة المستحصل عليها أنّ السكر المتعدد  $\beta$ -glucan يستخدم في الصناعات الدوائية بنطاق واسع والاجنحة الطبية زاخرة باستخدامه وفعالته في علاجات العديد من الامراض وخاصة العلاجات التي تستهدف الخلايا السرطانية وقد اظهرت دراسات سابقة ومنها دراسة Kao وآخرون 2013 من أنّ السكر المتعدد  $\beta$ -glucan المستخلص من الاجسام الثمرية للفطر *G.lucidum* يمتلك فعالية مضادة للسرطان RAW264.7 cells بالتراكيز المستخدمة 200-25 مايكروغرام/ مل خلال 24 ساعة وازدادت نسبة تثبيط الخلايا السرطانية بزيادة التركيز المستخدم وبرهنت نتائج البحث المنجز من قبل فريق بحثي بقيادة Jaroszuk وآخرون (2014) أنّ السكر المتعدد  $\beta$ -glucan المستخلص من الفطر *G. applanatum* يمتلك فعالية في مواجهة خط الخلايا السرطانية لسرطان البروستات والتي بلغت 42.8 % و 34 % عند التراكيز 228.5 و 225.5 مايكروغرام/ مل على التوالي.

جدول 4-27 تأثير سكر  $\beta$ -glucan المنقى من عذلة الفطر *G.curtii* على الخط الخلوي لسرطان الكبد HepG2 باستخدام تقنية MTT لمدة 24 ساعة عند درجة حرارة 37 °م

النسبة المئوية % لتثبيط نمو الخلايا السرطانية					الخط الخلوي
التراكيز المستخدمة مايكروغرام / مل					
3.0	2.5	2.0	1.5	1.0	
52	46	37	25	14	HepG2
22	16	6	5	4	WRL68



شكل 4-66 تأثير سكر  $\beta$ -glucan المنقى من عزلة الفطر *G.curtisii* الخط الخلوي لسرطان الكبد HepG2 باستخدام تقنية MTT لمدة 24 ساعة عند درجة حرارة 37 °م

#### 4-13 تقييم السمية الخلوية على الخط الخلوي لسرطان الكبد باستخدام اختبار

#### High Content Screening (HCS)

##### 4-13-1 تقييم السمية الخلوية لحمض الـ Caffeic على بعض المؤشرات الخلوية:

وفقاً لنتائج السمية الخلوية باختبار MTT وللتحري عن الآلية التي يتم من خلالها الموت الخلوي المبرمج لخط الخلايا الخلوية لسرطان الكبد التي تتم فوق الية متعاقبة ومنظمة ، اجريت التجربة للكشف عن التغيرات التي تحدث في الخلايا وذلك بقياس المؤشرات الخلوية التي تعاني منها الخلايا وتتضمن بعض التغيرات الشكلية ومنها نفاذية غشاء الخلية Cell membrane permeability (CMP) وعدد الخلايا (Viable Cell Count (VCC) والكثافة النووية Total Nuclear Intensity (TNI) ونفاذية غشاء المايتوكوندريا MMP فضلا عن تحرر سايتوكروم سي Cytochrom C من الخلايا الى الخارج بما يضمن الموت النظيف للخلايا الخلوية السرطانية دون ان يتسبب في استجابة التهابية في البيئة المحيطة بالخلية.

بينت النتائج الواردة في الجدول 4-28 والشكل 4-67 أنّ حامض الكافنيك المنقى من عزلة الفطر *G.cupreolaccatum* قد زاد من معدل نفاذية الجدار الخلوي بشكل معنوي بالتركيز

200 مايكروغرام/ مل مقارنة مع مجموعة السيطرة بينما التراكيز الاخرى لم تظهر اي فروق معنوية.

جدول 28-4 تأثير حامض الكافنيك المنقى على نفاذية غشاء خلايا الخط الخلوي

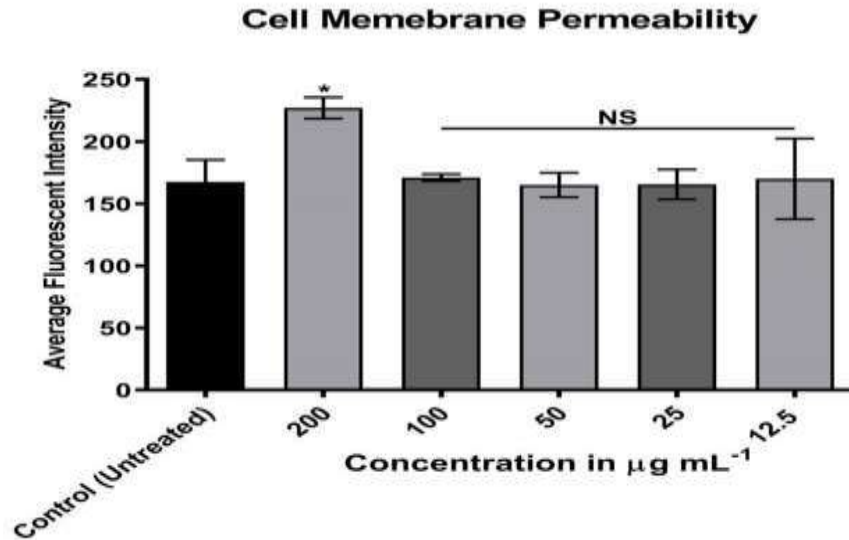
لسرطان الكبد Hep-G2 لمدة 24 ساعة بدرجة حرارة 37 °م باستخدام تقنية HCS

P-value	المعنوية	معدل نفاذية غشاء الخلية SE ±	التراكيز مايكروغرام / مل
—	—	663.5±13.5	معاملة السيطرة
0.0001	**	389.5±11.50	200
0.9997	NS	451±14	100
0.9998	NS	500±10.5	50
0.9998	NS	554.5±6.5	25
0.9998	NS	598±14	12.5

SE:Standard Error

\*\* : Highly Significant

NS:Non Significant



شكل 67-4 تأثير حامض الكافنيك المنقى على نفاذية غشاء خلايا الخط الخلوي

لسرطان الكبد Hep-G2 لمدة 24 ساعة بدرجة حرارة 37 °م باستخدام تقنية HCS

ولبيان المؤشر الثاني الذي يتمثل بعدد الخلايا الحية اجري الاختبار باستخدام جهاز HCS الذي يعمل تلقائياً على عد الخلايا بدرجة عالية الدقة في صفيحة متعددة الحفر وتصويرها بالمجهر المتألق ، ولإجراء هذا الاختبار استعملت عدة تشخيصية جاهزة ذات صبغات مختلفة فتعمل كل صبغة على مؤشر معين من المؤشرات الخلوية ويتضح من الجدول 4-29 أنّ لحامض الكافنيك المنقى من عذلة الفطر *G.cupreolaccatum* تأثيرٌ على عدد الخلايا السرطانية اذ انخفضت نسبة الخلايا الحية وبشكل معنوي في جميع التراكيز المستخدمة قيد التجربة مقارنة مع مجموعة السيطرة ويتضح في الشكل 4-68 فقد تُبَطَّت الخلايا بنسبة وصلت الى 58 % عند الجرعة 200 مايكروغرام/ مل بينما بلغت نسبة تثبيط الخلايا الحية 46 % عند التركيز 100 مايكروغرام/ مل ووصلت نسبة تثبيط الخلايا الحية الى 28 % عند التركيز الادنى 12.5 مايكروغرام/ مل. ويمكن القول أنّ التأثير المثبط يعتمد بشكل اساسي على التركيز المستخدم والذي اظهرته البيانات المستقاة من التجربة ويزداد التأثير المثبط بزيادة التركيز المستخدم.

جدول 4-29 تأثير حامض الكافنيك المنقى على عدد خلايا الخط الخلوي لسرطان الكبد

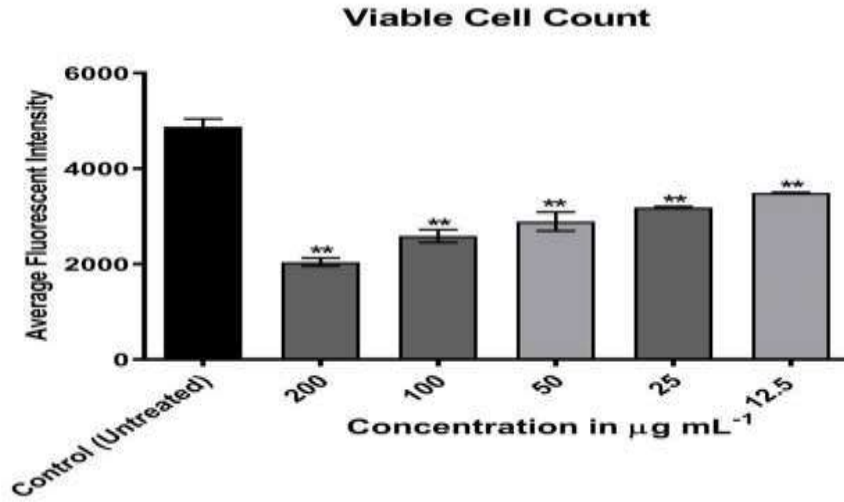
Hep-G2 لمدة 24 ساعة بدرجة حرارة 37 °م باستخدام تقنية HCS

p-value	المعنوية	معدل عدد الخلايا SE±	التراكيز مايكروغرام / مل
—	—	4878±116.5	معاملة السيطرة
0.0001	**	2040±60	200
0.0001	**	2587±94	100
0.0001	**	2891±140	50
0.0001	**	3187±13.5	25
0.0001	**	3491±9	12.5

SE:Standard Error

\*\* : Highly Sighificant

NS:Non Significant



شكل 4-68 تأثير حامض الكافنيك المنقى على عدد خلايا الخط الخلوي لسرطان الكبد

Hep-G2 لمدة 24 ساعة بدرجة حرارة 37 °م باستخدام تقنية HCS

بمتابعة تأثير حامض الكافنيك المنقى على المؤشرات الخلوية لخط الخلايا السرطانية للكبد يظهر ومن خلال الجدول 4-30 والشكل 4-69 أنّ هناك تأثيراً معنوياً على الكثافة النووية عند التراكيز 50,100,200 مايكروغرام/ مل على التوالي والتي بلغت 47 و 37.3 و 23.2 % مقارنة مع معاملة السيطرة ، بينما لم تظهر فروقات معنوية عند التراكيز الواطنة 25, 12.5 مايكروغرام/ مل. إنّ النتيجة التي تم الحصول عليها والتي اعتمدت على نتيجة قتل الخلايا حالة طبيعية اذ تحدث تكسرات في المادة الوراثية DNA.

جدول 4-30 تأثير حامض الكافنيك المنقى على الكثافة النووية لخلايا الخط الخلوي

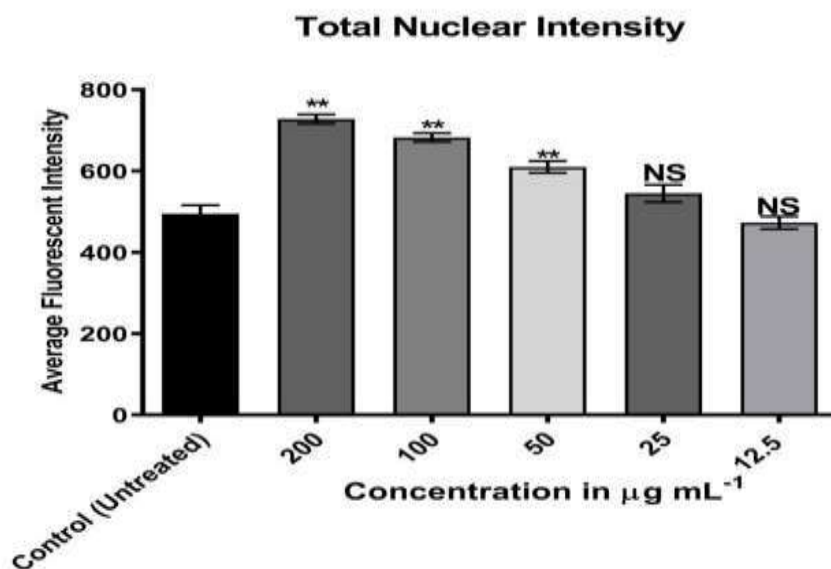
لسرطان الكبد Hep-G2 لمدة 24 ساعة بدرجة حرارة 37 °م باستخدام تقنية HCS

P-value	المعنوية	الكثافة النووية SE ±	التراكيز مايكروغرام / مل
—	—	495.5±15	معاملة السيطرة
0.0001	**	728±8	200
0.0001	**	682±7	100
0.0015	**	610±10	50
0.0724	NS	545±15	25
0.5681	NS	473±11	12.5

SE:Standard Error

\*\* : Highly Significant

NS:Non Significant



شكل 4-69 تأثير حامض الكافنيك المنقى على الكثافة النووية لخلايا الخط الخلوي

لسرطان الكبد Hep-G2 لمدة 24 ساعة بدرجة حرارة 37 °م باستخدام تقنية HCS

وتشير نتائج تأثير حامض الكافنيك المنقى من عذلة الفطر *G.cupreolaccatum* على

مسارات الايض لميتوكوندريا الخلية الجدول 4-31 والشكل 4-71 الذي يظهر تغيرات في نفاذية

غشاء الماييتوكونديريا والتي كانت تزداد بالتراكيز المختلفة 12.5, 25, 50,100,200 مايكروغرام/مل مقارنة مع مجموعة السيطرة. اذ ازدادت نفاذية غشاء الماييتوكونديريا بمقدار 41 % عند التركيز الاعلى 200 مايكروغرام / مل بفارق معنوي بلغ 0.0001 بينما كانت نفاذية غشاء الماييتوكونديريا 32 % عند التركيز 100 مايكروغرام / مل وبفارق معنوي بلغ 0.0003 ، وجدير بالذكر انّ النفاذية كانت تزداد بزيادة تركيز الجرعة المستخدمة من الحامض المنقى والعكس صحيح فقد بلغت 9 % عند التركيز الادنى 12.5 مايكروغرام / مل المستخدم في التجربة ويمكن انّ يعزى السبب الى الاضرار التي يحدثها الحامض بتراكيزه المختلفة على الغشاء الماييتوكونديريا مما يؤدي الى زيادة نفاذيتها.

وعند قياس مستوى تحرر سايتوكروم C من الماييتوكونديريا تشير نتائج الجدول 4-32 والشكل 4-71 انّ لحامض الكافنك تأثيرا كبيرا على مستوى تحرر Cytochrome C، اذ لوحظت زيادة في مستواه عند التركيز 200 مايكروغرام/ مل وبفرق معنوي 0.0002 وتكرر الامر بكل التراكيز باستثناء التركيز الادنى 12.5 مايكروغرام/ مل الذي لم يحدث اي فرق معنوي فقد انعدم فيه التأثير على مستوى تحرر Cytochrome C. انّ النتيجة المستحصل عليها تؤكد تاثير حامض الكافنك على جميع المؤشرات الخلوية وهي الحالة الصحية لموت الخلية بدخولها بعملية الموت الخلوي المبرمج Apoptosis وتم في مراحلها الاولى بتغيير في نفاذية غشاء الخلية وعملية الاكسدة والاختزال والسماح للايونات بالمرور عبر الغشاء الخلوي للخلية مما يؤثر على خلق حالة من التوازن الايوني محررا Cytochrome C داخل الخلية. (Sang، 2002)

جدول 31-4 تأثير حامض الكافنيك المنقى على نفاذية غشاء الماييتوكوندريا لخلايا الخط

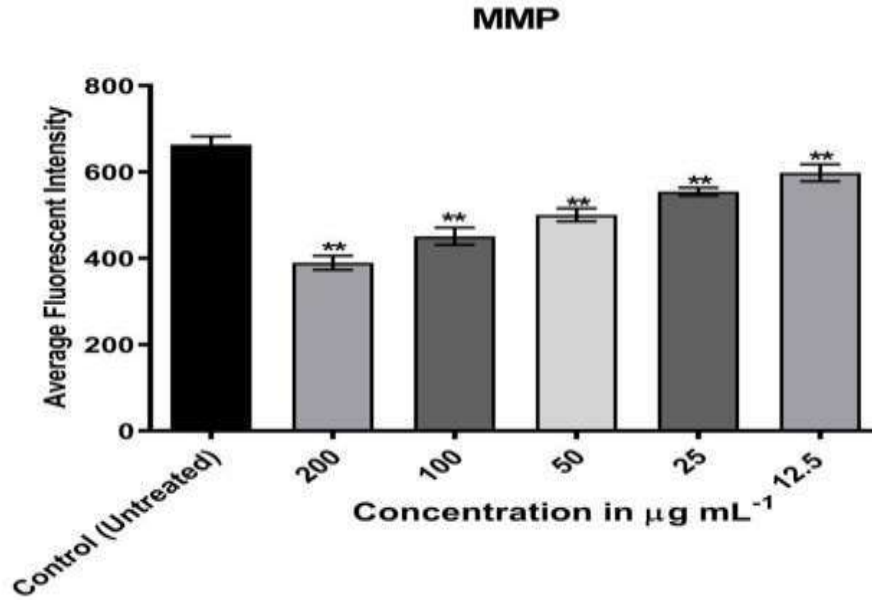
الخلوي لسرطان الكبد Hep-G2 لمدة 24 ساعة بدرجة حرارة 37 °م باستخدام تقنية HCS

P-value	المعنوية	نفاذية غشاء الماييتوكندريا SE ±	التركيز مايكروغرام / مل
—	—	167.5±12.5	معاملة السيطرة
0.0001	**	227±6	200
0.0003	**	171.5±2	100
0.0003	**	165±7	50
0.0024	**	165.5±8.5	25
0.0287	**	170±23	12.5

SE:Standard Error

\*\* : Highly Significant

NS:Non Significant



شكل 70-4 تأثير حامض الكافنيك المنقى على نفاذية غشاء الماييتوكوندريا لخلايا الخط

الخلوي لسرطان الكبد Hep-G2 لمدة 24 ساعة بدرجة حرارة 37 °م باستخدام تقنية HCS

جدول 4-32 تأثير حامض الكافنيك المنقى على معدل تحرر سايتوكروم C لخلايا الخط

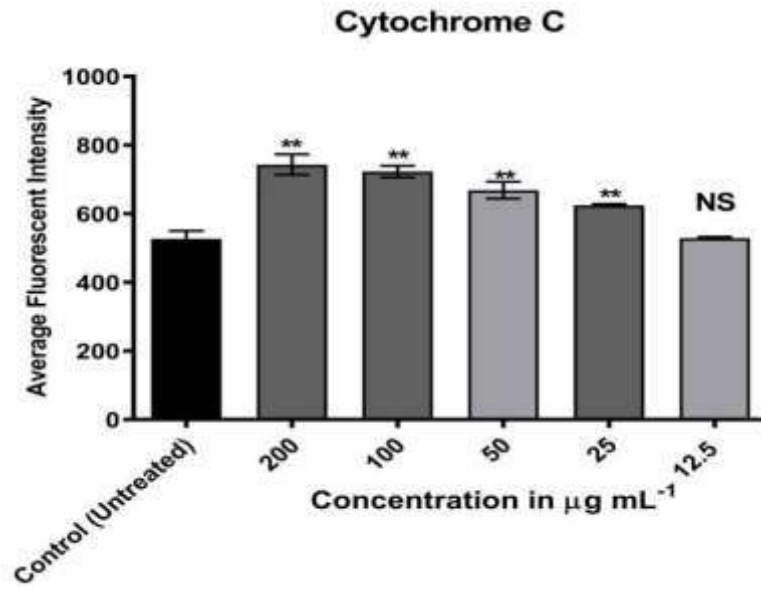
الخلوي لسرطان الكبد Hep-G2 لمدة 24 ساعة بدرجة حرارة 37 °م باستخدام تقنية HCS

P-value	المعنوية	سايتوكروم C SE ±	التراكيز مايكروغرام / مل
—	—	526.5±16.5	معاملة السيطرة
0.0002	**	743±21	200
0.0002	**	723±12	100
0.0014	**	668.5±17.5	50
0.0092	**	624.5±2.5	25
0.9999	NS	528.5±2.5	12.5

SE:Standard Error

\*\* : Highly Significant

NS:Non Significant



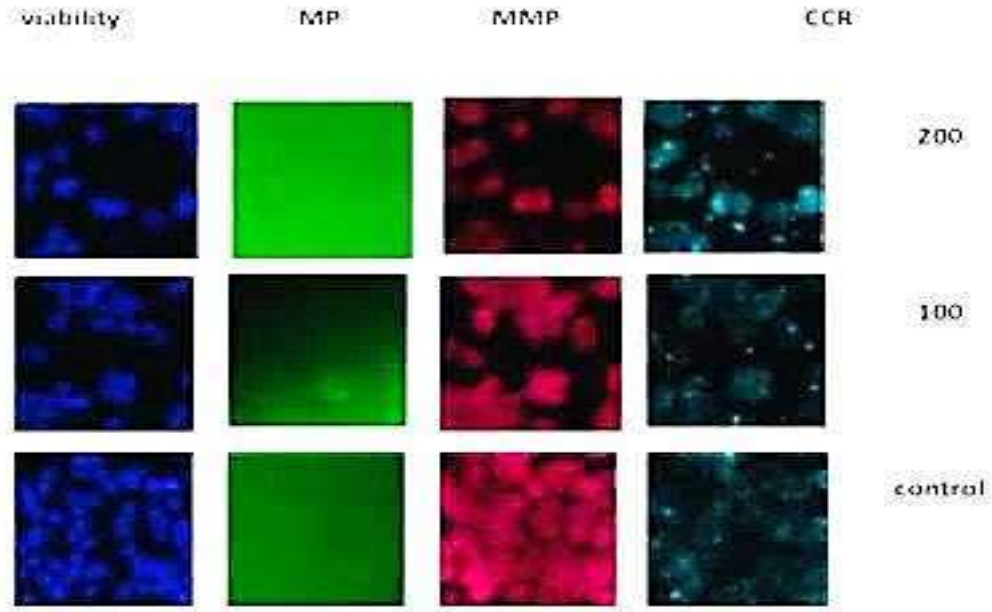
شكل 4-71 تأثير حامض الكافنيك المنقى على معدل تحرر سايتوكروم C لخلايا الخط

الخلوي لسرطان الكبد Hep-G2 لمدة 24 ساعة بدرجة حرارة 37 °م باستخدام تقنية HCS

يتضح من النتائج التي تم عرضها اعلاه استجابة خطوط الخلايا الخلوية السرطانية

لسرطان الكبد لحامض الكافنيك وخاصة عند التراكيز العالية والتي اظهرت تأثيره على مختلف

المؤشرات الخلوية عند تعريضها لمدة 24 ساعة وبدرجة حرارة 37 °م وعملت على تشجيع الموت الخلوي المبرمج للخلايا السرطانية وتوقف دورة حياة الخلية. إنَّ حامض الكافيك زاد نفاذية الجدار الخلوي للمايتوكوندريا وبالتالي ازدادت كمية سايتوكروم سي المتحررة في الوسط والذي يعمل على تحفيز الموت الخلوي المبرمج للخلايا.



شكل 4- 72 تقييم السمية الخلوية لحامض الكافيك تجاه بعض المؤشرات الخلوية لخلايا الخط الخلوي لسرطان الكبد Hep-G2 لمدة 24 ساعة بدرجة حرارة 37 °م باستخدام تقنية HCS وصبغات مختلفة.

هذا وتتوافق الدراسة الحالية مع الدراسات السابقة إذ أكدت الدراسات التي قام بها Qu وآخرون (2017) أنَّ التربيينات الثلاثية المستخلصة من *G.lucidum* كان لها آثار على حيوية الخلية إذ يثبط نمو خلايا البروستات ويثبط الهجرة والغزو ويحفز الاستماتة في خلايا سرطان البروستات البشرية (يحفز موت الخلايا المبرمج) عن طريق تثبيط التعبير الجيني للجين MMP فقد أظهرت النتائج أنَّ الجرعة العالية 2 ملغم/ مل من التربيينات الثلاثية تثبط بقاء الخلية السرطانية بطريقة تعتمد على الجرعة والوقت علاوة على ذلك يتسبب التربيين الثلاثي للجانودرما في موت الخلايا المبرمج للخلايا السرطانية للبروستات إذ يمارس التربيين الثلاثي تأثيره على الخلايا السرطانية عبر اليات عديدة وتبين أنَّ قد يكون له استخداما علاجيا محتملا للوقاية من

السرطان وعلاجه ومن الجدير بالذكر أنّ المكون الرئيسي للتربينات الثلاثية للجانودرما كانت هي حامض الجانوديريك.

وبين كلا من Stanley وآخرون (2005) و Jiang وآخرون (2004) أنّ هناك تأثيرات مضادة للسرطان *G.lucidum* إذ يقوم بتنشيط الاورام ويسبب موت الخلايا المبرمج لخلايا لسرطان البروستات البشرية.

#### 2-13-4 تقييم السمية الخلوية للسكر المتعدد $\beta$ -glucan على بعض المؤشرات الخلوية

يبدو من استعراض النتائج في الجدول 4-33 والشكل 4-73 أنّ للسكر المتعدد  $\beta$ -glucan تأثيرا واضحا على نفاذية الجدار الخلوي وكان التأثير معنويا بالتركيز 200 مايكروغرام/ مل فقد انخفضت كثافة الجدار الخلوي بمقدار 34 % بفرق معنوي 0.0001 مقارنة بمجموعة السيطرة ولم تظهر اي فروقات معنوية بالتركيز الاخرى اذ بلغت نسبة الانخفاض في كثافة الجدار الخلوي 5.2 و 1.1 % للتركيز 25 و 12.5 مايكروغرام/ مل على التوالي.

جدول (4-33) تأثير سكر  $\beta$ -glucan المنقى على نفاذية غشاء خلايا الخط الخلوي لسرطان

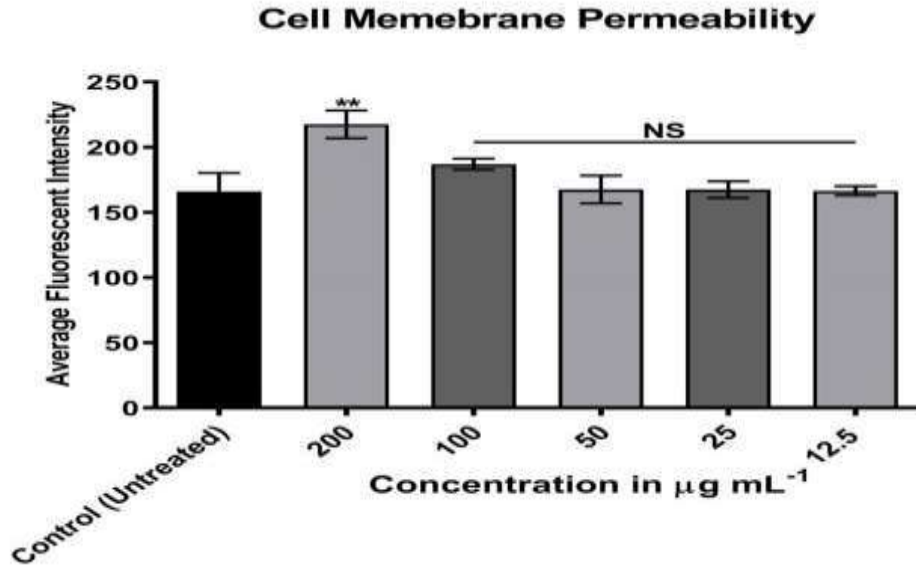
الكبد Hep-G2 لمدة 24 ساعة بدرجة حرارة 37 °م باستخدام تقنية HCS

التراكيز مايكروغرام / مل	معدل نفاذية غشاء الخلية SE ±	المعنوية	P-value
معاملة السيطرة	662±13	—	—
200	434.5±13.5	**	0.0001
100	517.5±6.5	NS	0.0610
50	577±11	NS	0.9991
25	658.5±14.5	NS	0.9997
12.5	654.5±18.5	NS	0.9915

SE:Standard Error

\*\* : Highly Sighificant

NS:Non Significant



شكل 4-73 تأثير سكر  $\beta$ -glucan المنقى على نفاذية غشاء خلايا الخط الخلوي

لسرطان الكبد Hep-G2 لمدة 24 ساعة بدرجة حرارة 37 °م باستخدام تقنية HCS

ويظهر من النتائج الواردة في الجدول 4-34 أنّ سكر  $\beta$ -glucan المنقى من عزلة الفطر *G.curtisii* فيه سُميّة خلوية على خط الخلايا السرطانية للكبد اذ انخفضت نسبة الخلايا الحية وبشكل معنوي في التركيز 200 مايكروغرام/ مل كما مبين في الشكل 4-74 مقارنةً مع مجموعة السيطرة حيث ثبتت الخلايا بنسبة 52.6 % بينما لم تظهر التراكيز الادنى المستخدمة قيد التجربة اي فروقات معنوية مما يؤكد أنّ التأثير المثبط للخلايا السرطانية يعتمد بشكل اساسي على التركيز المستخدم ويزداد هذا التأثير بزيادة التركيز المستخدم.

جدول 4-34 تأثير سكر  $\beta$ -glucan المنقى على عدد خلايا الخط الخلوي لسرطان

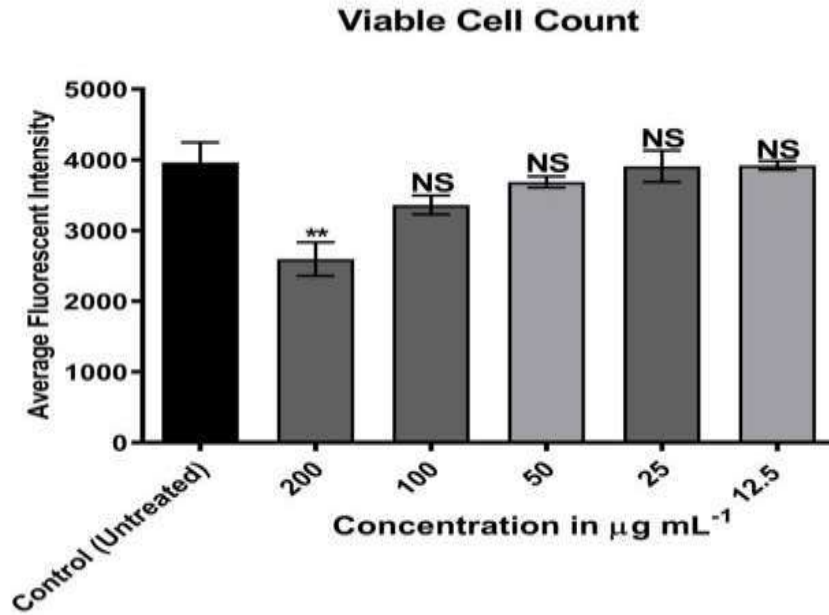
الكبد Hep-G2 لمدة 24 ساعة بدرجة حرارة 37 °م باستخدام تقنية HCS

P-value	المعنوية	عدد الخلايا SE $\pm$	التراكيز مايكروغرام / مل
—	—	3961 $\pm$ 202	معاملة السيطرة
0.0013	**	2597 $\pm$ 1685	200
0.0654	NS	4462 $\pm$ 93.5	100
0.5160	NS	3687 $\pm$ 55.5	50
0.9993	NS	3909 $\pm$ 157.5	25
0.9997	NS	3921 $\pm$ 44	12.5

SE:Standard Error

\*\* : Highly Significant

NS:Non Significant



شكل 4-74 تأثير السكر المتعدد  $\beta$ -glucan المنقى على عدد خلايا الخط الخلوي لسرطان

الكبد Hep-G2 لمدة 24 ساعة بدرجة حرارة 37 °م باستخدام تقنية HCS

والكشف عن تأثير سكر  $\beta$ -glucan ومدى فعاليته على المؤشرات الخلوية تؤكد نتائج

الجدول 4 -35 وجود تأثير معنوي على الكثافة النووية عند التركيز 200 مايكروغرام/ مل اذ

بلغت 51.6 % وبفرق معنوي 0.0002 ، كما اظهر التركيز 100 مايكروغرام/ مل فرقا معنويا

بلغت نسبة الانخفاض في الكثافة النووية فيه الى 28.2%. بينما لم تظهر التراكيز الادنى اي مؤثر لسُمِّيَّة خلوية على خط الخلايا السرطانية للكبد كما في الشكل 4-75.

جدول (35-4) تاثير السكر المتعدد  $\beta$ -glucan المنقى على الكثافة النووية لخلايا

الخط الخلوي لسرطان الكبد Hep-G2 لمدة 24 ساعة بدرجة حرارة 37 °م باستخدام تقنية

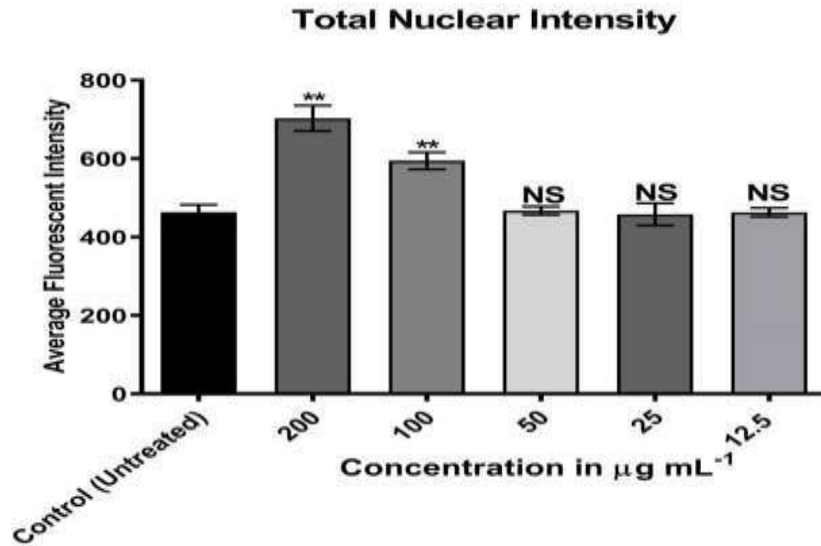
### HCS

P-value	المعنوية	الكثافة النووية SE ±	التراكيز مايكروغرام / مل
—	—	463.5±13.5	معاملة السيطرة
0.0002	**	703±23	200
0.0038	**	594.5±15.5	100
0.9997	NS	467.5±7.5	50
0.9987	NS	458±20	25
0.9999	NS	463±8	12.5

SE:Standard Error

\*\* : Highly Sighificant

NS:Non Significant



شكل 4-75 تاثير السكر المتعدد  $\beta$ -glucan المنقى على الكثافة النووية لخلايا الخط

الخلوي لسرطان الكبد Hep-G2 لمدة 24 ساعة بدرجة حرارة 37 °م باستخدام تقنية HCS

وباستمرار متابعة التغيرات في المؤشرات الخلوية على خلايا الخط السرطاني للكبد بعد تعرضها لسكر  $\beta$ -glucan المنقى ولمدة 24 ساعة يظهر من النتائج المدونة في الجدول 4-36 أنّ التركيز 200 مايكروغرام/ مل احدث زيادةً في نفاذية غشاء الماييتوكوندريا بلغت 31% بفرق معنوي 0.0047 مقارنة مع مجموعة السيطرة كذلك وصلت 21% وبفرق معنوي 0.010 عند التركيز 100 مايكروغرام/ مل الموضحة في الشكل 4-76. ولم تظهر التراكيز 25, 12.5 مايكروغرام/ مل ايّ فروقات معنوية وانعكس التأثير على نفاذية غشاء الماييتوكوندريا بتاثير المعاملة بسكر البيتا كلوكان على مستوى تحرر سايتوكروم من الماييتوكوندريا وتشير نتائج الجدول 4-37 أنّ التركيز العالي 200 مايكروغرام/ مل احدث زيادةً في مستوى تحرره من الماييتوكوندريا بفرق معنوي 0.0003 ، كما اتضح أنّ التركيز 100 مايكروغرام/ مل احدث فرقا معنويا 0.0019 على مستوى تحرر سايتوكروم سي من الماييتوكوندريا عكس التراكيز 12.5, 25, 50 مايكروغرام/ مل التي لم تُظهر ايّ فروقات معنوية كما في الشكل 4-77. هذه التغيرات التي تم استعراضها من خلال النتائج (تغير في نفاذية الخلية وتكسر المادة الوراثية وفقدان الاغشية الخلوية للماييتوكوندريا وظيفتها وتحرر سايتوكروم C) التي رافقت معاملة الخلايا السرطانية للكبد بسكر  $\beta$ -glucan حثت الخلية على الموت المبرمج وهو المسار الداخلي لموت الخلية على العكس من الموت المسمى Necrosis (موت بالتخر) الذي يؤدي الى تمزق وانتفاخ وتورم الخلايا التي تتعرض للموت (Savill وآخرون، 2003).

جدول 36-4 تأثير السكر المتعدد  $\beta$ -glucan المنقى على معدل نفاذية غشاء

المائتوكونديريا لخلايا الخط الخلوي لسرطان الكبد Hep-G2 لمدة 24 ساعة بدرجة حرارة

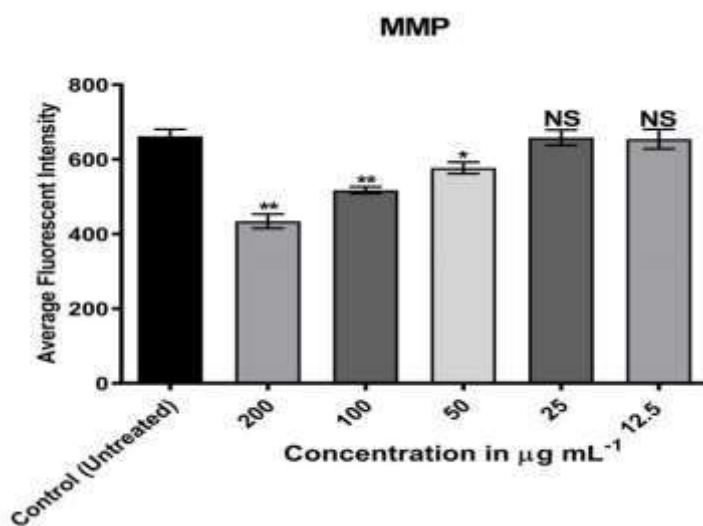
37°م باستخدام تقنية HCS

P-value	المعنوية	معدل نفاذية غشاء المائتوكونديريا $\pm$ SE	التراكيز مايكروغرام / مل
—	—	166 $\pm$ 10	معاملة السيطرة
0.0047	**	217.5 $\pm$ 7.5	200
0.010	**	187 $\pm$ 3	100
0.0417	*	167.5 $\pm$ 7.5	50
0.9997	NS	167.5 $\pm$ 4.5	25
0.9999	NS	166.5 $\pm$ 2.5	12.5

SE:Standard Error

\*\* : Highly Sighificant

NS:Non Sighificant



شكل 76-4 تأثير السكر المتعدد  $\beta$ -glucan المنقى على معدل نفاذية غشاء

المائتوكونديريا لخلايا الخط الخلوي لسرطان الكبد Hep-G2 لمدة 24 ساعة بدرجة حرارة 37

°م باستخدام تقنية HCS

جدول 4-37 تأثير السكر المتعدد  $\beta$ -glucan المنقى على معدل تحرر سايتوكروم C لخلايا  
الخط الخلوي لسرطان الكبد Hep-G2 لمدة 24 ساعة بدرجة حرارة 37 °م باستخدام تقنية

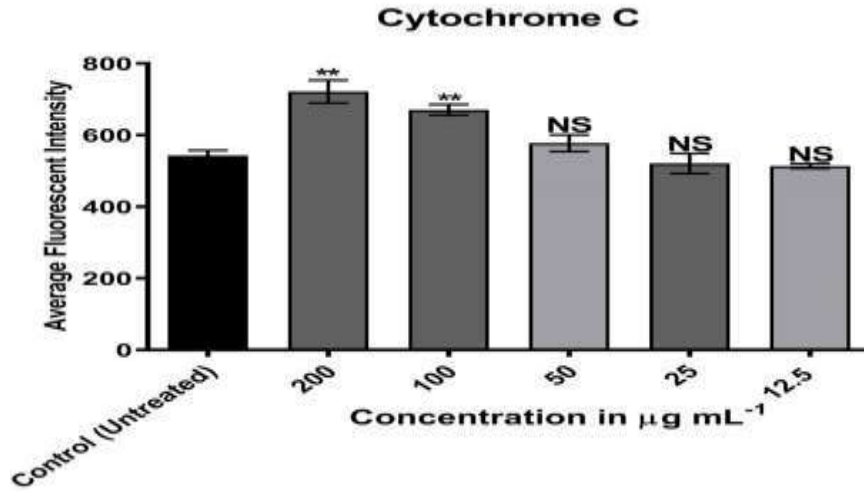
### HCS

P-value	المعنوية	ساييتوكروم C SE $\pm$	التراكيز مايكروغرام / مل
—	—	543 $\pm$ 10	معاملة السيطرة
0.0003	**	721.5 $\pm$ 22.5	200
0.0019	**	670.5 $\pm$ 10.5	100
0.3404	NS	577.5 $\pm$ 16.5	50
0.9999	NS	521 $\pm$ 20	25
0.9976	NS	513.5 $\pm$ 4.5	12.5

SE:Standard Error

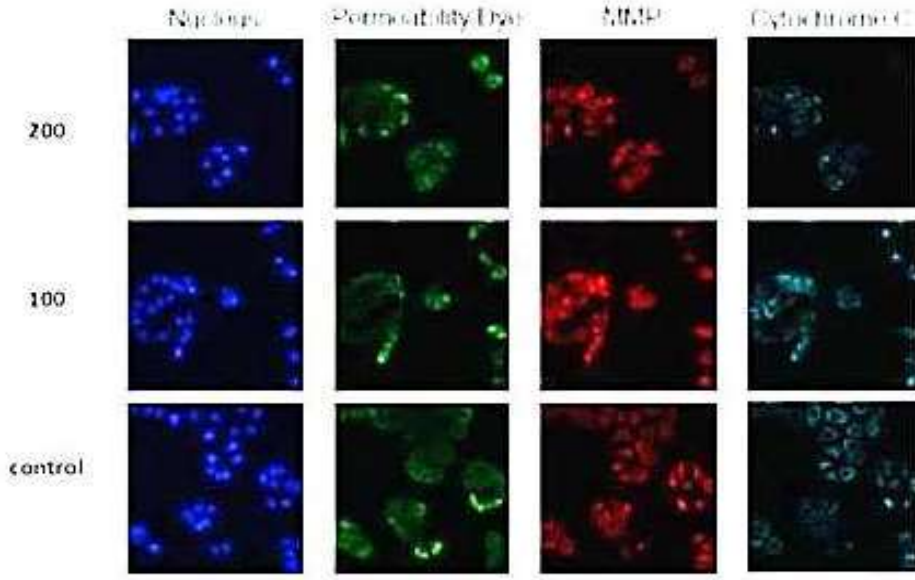
\*\* : Highly Significant

NS:Non Significant



شكل 4-77 تأثير السكر المتعدد  $\beta$ -glucan المنقى على معدل تحرر سايتوكروم C  
لخلايا الخط الخلوي لسرطان الكبد Hep-G2 لمدة 24 ساعة بدرجة حرارة 37 °م باستخدام

### تقنية HCS



شكل 4- 78 تقييم السمية الخلوية للسكر المتعدد  $\beta$ -glucan تجاه بعض المؤشرات الخلوية لخلايا الخط الخلوي لسرطان الكبد Hep-G2 لمدة 24 ساعة بدرجة حرارة 37 °م باستخدام

#### تقنية HCS وصبغات مختلفة

يمكن ان تُفسر النتائج التي تم التوصل اليها الى ان موت الخلية يتم وفق الية منظمة ومتعاقبة اذ يتم من خلالها تحطيم الخلية بنفسها ومن ثم تُلتهم من قبل الخلايا المجاورة دون ان تحدث ضرر او ان تترك اي اثر يُذكر وتعرف هذه الالية بالموت الخلوي المبرمج الذي تمرُّ به الخلايا بسلسلة من التغيرات المظهرية و يتم فيها ازالة الخلايا غير السوية وغير الفعالة والمؤذية للكائن الحي وحفزت عملية الموت الخلوي المبرمج من قبل مجموعة من البروتينات ذات تخصص عالٍ وعملت على تكسير تسلسلات معينة لبروتينات تعمل على احداث تغيرات في الخلية غير الفعالة وظيفيا ؛ لينتهي بها الامر بالموت والالتهام ، تسمى هذه الانزيمات بانزيمات البروتياز Proteases التي تحوي على الحامض الاميني Cystein وتهاجم البروتينات الهدف وهي تشمل الحامض الاميني Aspetic acid وتسمى بمجملها انزيمات Caspases (اذ ان C من السستين و asp من حامض الاسبارتيك). بصورة عامة تكون هذه البروتينات غير فعالة وتبقى في الخلية بهذه الصورة ويتم تحفيرها في حالة الموت الخلوي المبرمج وتكون هذه

البروتينات على نوعين احدهما Initiator caspases الذي يتواجد بشكل طبيعي بصورة مركب غير فعال في سايتوبلازم الخلية ، وفي حالة حدوث الموت الخلوي المبرمج يحفز ويقوم بتجميع عدد من البروتينات الكبيرة وتكون معقدا كبيرا يعمل على تنشيط انزيم البروتياز ويعمل على تنشيط caspases الثاني وهو المنفذ الذي يوجد بشكل معقد ثنائي غير فعال ايضا والاخير يحفز بتنشيطه وتعمل على تكسير انواع مختلفة من البروتينات مما يؤدي الى موت الخلية وتتواجد بروتينات اخرى تقع فريسة caspases المنفذ ومنها البروتينات التي تدخل في تركيب الجدار الخلوي والبروتينات التي تعمل على التصاق الخلية مع الخلايا الاخرى ، وفي حالة الموت الخلوي المبرمج تعمل تلك البروتينات على انفصالها عن الخلايا الاخرى لتسهيل التهامها من قبل الخلايا المجاورة لها دون احداث ضرر هذه الالية برؤمتها تحدث دون توقف الى ان يتم اكمال سلسلة عمليات الموت الخلوي المبرمج (Gewirtz واخرون، 2011).

وجدير بالذكر انّ هناك مسارات تؤدي الى الموت الخلوي المبرمج ، اهمها المسار الداخلي او مسار المايتوكوندريا Intrinsic pathway الذي ينشط من قبل الخلية نفسها نتيجة تعرضها للاجهاد ، ويتم خلال هذا المسار تحرر مجموعة بروتينات المايتوكوندريا الى سايتوبلازم الخلية ، واهم هذه البروتينات Cytochrome C الذي يقوم بسلسلة نقل الالكترونات في المايتوكوندريا وبمجرد تحرره الى الساييتوبلازم يعمل على الارتباط مع بروتين يسمى Apoptotic protease activity factor-1 (Apaf1) يعمل هذا العامل المحفز لبروتياز الموت الخلوي المبرمج على الارتباط بجسيم الموت الخلوي المبرمج (تركيب مكون من 7 اجزاء تشبه العجلة) وهذا العامل يعمل مع كاسباز 9 و كاسباز 8 لتنشيط الكاسباز المنفذ لتحفيز موت الخلية، وتوجد بروتينات تسمى Bcl2 تشجع ايضا على طرح بروتينات سايتوكروم سي الى الخارج من المايتوكوندريا. (Shi و Fesik ، 2011).

على الرغم من انّ الموت الخلوي المبرمج يتسم بالكثير من التعقيد والتفاصيل الا انّ حامض الكافنيك وسكر  $\beta$ -glucan حفزا على الموت المبرمج للخلايا وعملا على توقف دورة الخلية وايقاف تضاعف الخلايا السرطانية للكبد واجبارها على الموت الخلوي المبرمج كما تفعل

الكثير من الادوية المضادة للسرطان وارسلت ايعاز الى الخلايا السليمة الطبيعية مفادها لا تلتهمني (Savill وآخرون، 2003).

اشارت الدراسة التي اجراها Cao وآخرون (2007) الى انّ الببتيد السكريات المتعددة للـ *G. Lucidum* (GL-PP) يثبط هجرة خلايا سرطان الرئة البشرية بطريقة تعتمد على الجرعة عن طريق تثبيط التعبير الجيني. كما تؤكد النتائج التي قام بها الباحث Liu وآخرون (2010) انّ السكريات المتعددة المعزولة من الجسم الثمري *G.lucidum* تعمل كمضادات اكسدة وكمضادات سرطانية اذ تعمل على تثبيط نمو خلايا البطانية الوعائية للخلايا السرطانية الرئوية في رئة الانسان.

واظهرت نتائج الدراسة التي قام بها الباحث Wang وآخرون (2018) انّ ببتيد السكريات المتعددة للـ *G. Lucidum* (GL-PP) منع بشكل كبير التكاثر الخلوي في خلايا الورم الدبقي البشري كما فعل نشاط الكابيسيز-8 اذ انّ GL-PP منعت بشكل مباشر انتشار الورم الدبقي البشري عن طريق التسبب في توقف دورة الخلية وتعزيز موت الخلايا المبرمج فقد حضنت الخلايا بتركيز (50, 100, 200, 400, 800) مايكروغرام/مل لمدة 72 او 48 او 24 ساعة ومنع GL-PP بشكل ملحوظ تكاثر خلايا الورم الدبقي بطريقة تعتمد على الجرعة فقد كان التثبيط الاقصى عند 48 ساعة بين الجميع باستثناء مجموعة 400 مايكروغرام/مل.

ولقد منحت براءة اختراع لعدد من العقاقير الطبية الحاوية على سكر الكلوكان من الفطر *G.rifola* والذي يعمل على تثبيط نشاط الجسم في تكوين الاورام حين اختبر على فئران التجارب المصابة بسرطان النسيج الضام sarcoma-180 في اليابان (احمد والنووي 1999).

**الفصل الخامس**

**الاستنتاجات**

**والتوصيات**

## الفصل الخامس

### 5-الاستنتاجات والتوصيات

#### 1-5 الاستنتاجات Conclusions

- 1- إنَّ التنوع الفريد الذي حصلنا عليه من الفطريات الكبيرة التي تعود للجنس *Ganoderma* والتي سجلت لأول مرة في العراق في هذا المجال يعد خطوة أولى باتجاه صياغة خارطة اشبه بخرائط كوكب توضح توزيع الفطريات البرية في العراق، والتي تمتلك قيمة غذائية وطبية بوجه خاص، وترصد توجهات جديدة في عالم الفطريات على عكس ما كان سائداً في السابق.
- 2- أثمر العمل بنظام المذيبات المتعاقبة المتباينة القطبية في الحصول على العديد من المركبات الفعالة من الفطريات البرية التابعة لجنس *Ganoderma* المستحصل عليها وفعالية تثبيطيه ضد بعض أنواع البكتيريا الممرضة للأسنان، وفعالية مضادة للأكسدة تعتمد بشكل كبير على نوع المذيب، وتركيز المستخلص الفطري المستخدم.
- 3- أظهر اختبار السمية الخلوية بفحص MTT أنَّ كلاً من حامض الكافنيك المنقى، وسكر البيتا كلوكان يمتلكان سُمِّية على خط الخلايا السرطانية للكبد حيث نجح حامض الكافنيك، والسكر المتعدد البيتا كلوكان نجاحاً باهراً في استهداف الخلايا السرطانية، وحقق ما طال انتظاره للقضاء على مرض شرس، وقاتل يهدد الإنسان في جميع انحاء العالم ، من خلال اكتشاف قابلية المركبات الفعالة الفطرية على علاج سرطان الكبد، وهذا ما يدخلها ضمن حدود جديدة في مجال التصنيع الدوائي.

## 2-5 التوصيات Recommendation

- 1- الحفاظ على الطبيعة غير المشروط، وتوسيع نطاق جهود الحفاظ على البيئة لتفادي أزمة التنوع البيولوجي، وتطبيق روح المشاركة في البحث، وتجميع الفطريات كموسوعة، ويكيبيديا، تهتم بشؤون الطبيعة، وتوثيق الفطريات المحلية في كل بلد سواء كان المشارك هاوياً، أو عالماً أو باحثاً من أجل المساعدة في الحفاظ على التنوع الفطري والاستفادة من تأثيراته.
- 2- استغلال المركبات الفعالة المستخلصة من الفطريات في مواجهة المشكلات الصحية، وتطوير علاجات جديدة للأمراض المختلفة، وتخزينها في تقليل العبء الناجم عن ظاهرة مقاومة أدوية مضادة للمكروبات، والسرطان، وتطوير طرق التشخيص المستخدمة.
- 3- تقييم الفعل التآزري للمركبات الفعالة المستخلصة، والمنقاة مع بعض المضادات الحيوية التجارية، وبعض الادوية المضادة للسرطان ضد أنواع البكتريا، والفطريات الممرضة للإنسان.
- 4- استخدام المركبات المنقاة في علاج حالات المرض المتأخرة في المرضى الذين لم يستجيبوا لأي علاج آخر، أو الحالات المرضية التي يفصلها عن الموت دقائق معدودة؛ لتأثيرها السريع، ونتائجها المباشرة للغاية ومحاولة تطويرها وتحويلها الى عقاقير دوائية جديدة من أجل نهضة الطب الحيوي.
- 5- مواصلة الجهود الرامية الى إلقاء مزيد من الضوء على الفطريات الكبيرة، وعلى وجه الخصوص غير المكتشف منها لتساهم في حل بعض المشكلات البشرية كمشكلة التلوث بالمعادن الثقيلة، ومعالجة مياه الصرف الصحي.

المصادر

## 6- المصادر

### 1-6 المصادر العربية

احمد، محمد علي والنووي، محمد عبد الرزاق 1999. *الفطريات الصناعية*. الطبعة الأولى،  
الدار العربية للنشر والتوزيع، مصر، 128.

الاطرجي، عمار عمر؛ الداودي، اياد جاجان؛ الموصلي، مظفر احمد 2019. *النباتات الطبية  
والعظمية*. دار ابن الاثير للطباعة والنشر، كتاب منهجي لطلبة كليات الزراعة في  
الجامعات العراقية، العراق، ص:130.

الحرباوي، صفاء اسعد محمد 2019. *تشخيص جزئي للمركبات الفعالة من بعض السيانوبكتريا  
المعزولة محلياً وملاحظة تأثيراتها على عزلات من البكتريا المرضية*. رسالة ماجستير،  
كلية التربية للعلوم الصرفة، جامعة الموصل، العراق.

حسين، ورقاء حسين، 2020. *تنقية وتوصيف أنزيم اللاكيزمن عزلة الفطر الطبي  
*Ganoderma resinaceum* ودراسة بعض تطبيقاته الصديقة للبيئة*. رسالة  
ماجستير، كلية التربية للعلوم الصرفة، جامعة الموصل، العراق.

الحمداني، رعد اسماعيل وأيوب، مقداد توفيق 1990. *الكيمياء العضوية المتقدمة*. مطابع  
التعليم العالي، جامعة الموصل، العراق، 143-152.

سليمان، سارا قحطان. 2017. *التشخيص المظهري والجزئي لبعض الفطريات البازيدية الكبيرة  
المعزولة من شمال العراق ومحتواها الفعال اطروحة دكتوراه، كلية العلوم، جامعة  
تكريت*.

شريف، فياض محمد 2012. *بيئة الفطريات*. الطبعة الأولى، الذاكرة للنشر والتوزيع، بغداد-  
العراق، 190-192.

شوفاليه، اندرو . 2010 *الطب البديل : التداوي بالاعشاب والنباتات الطبية*. أكاديمية انترناشيونال،  
بيروت - لبنان.

مباركه، بن خناثة 2014. المساهمة في دراسة مستخلصات نبتة الكلخة *Ferula vesceritensis*. رسالة ماجستير، جامعة قاصدي مرياح ورقلة، الجزائر، كلية الرياضيات وعلوم المادة، قسم الكيمياء.

المظفر، سامي عبد المهدي 2009 . أساسيات الكيمياء الحياتية. الطبعة الاولى، دار المسيرة للنشر والتوزيع والطباعة، عمان، ص: 68-72.

ناصرالدين، محمد غياث 2015 . تعيين التركيب الكيميائي للزيت العطري الأساسي في اوراق نبات المليسة وتعيين المحتوى الكلي للفينولات والفلافينويدات من منقوع أوراقها. رسالة ماجستير، الجمهورية العربية السورية، جامعة دمشق، كلية العلوم قسم الكيمياء.

نخيلان، عبد العزيز مجيد 2012 . تكنولوجيا الفطريات الحيوية. دار دجلة، عمان - الأردن، 210-211.

- Abate, M., Pepe, G., Randino, R., Pisanti, S., Basilicata, M.G., Covelli, Bifulci, S., Cabri, W., Ursi, A.M., Campiglia, P., and Rodriguez, M. 2020 . Ganoderma lucidum Ethanol Extracts Enhance Re- Epithelialization and Prevent Keratinocytes from Free-Radical Injury. *Pharmaceuticals*, 13:1-15.
- Abd El Mageid, M.M., Salma, N.A., Saleh, M.A.M., and Abo Taleb, H.M. 2009 . Antioxidant and Antimicrobial characteristics of red and Brown Algae extracts. Conference on recent technologies in Agriculture.
- Ahmad, M.F., 2018 . *Ganoderma lucidum*: Persuasive biologically active constituents and their health endorsement. **Biomed. Pharmacotherapy** , 107, 507-519.
- Al-Dahbi, N. A., Arasu, M.V., Park, C.H., and Park, S.U. 2015 . An up-to-date review of rutin and its biological and pharmacological activities *Excli.J.* 14 :59-63.
- Al-Daody, A.Ch. 1998 ."Chemical Study on some Iraqi Plants" Ph.D. , Thesis, College of Science, University of Mosul, Iraq. 112-113.
- Alexopoulos, C.J., Mims, C. W. and Blackwell, M. 1996 . *Introductory Mycology*. John Wiley and Sons, New York, U.S.A.
- Al-Fatimi M., Wurster, M., Lindequist, U. 2016 . Chemical composition , antimicrobial and antioxidant activities of the volatile Oil of *Ganoderma pfeifferi* Bres. *Medicines*, 3:1-10.
- Al-Fatimi, M., Julich, W.D., Jansen, R., and Lindequist, U. 2006 . Bioactive Components of the Traditionally used Mushroom *Podaxis pistillaris* Evidence – based Complementary and Alternative *Medi.*, 3 1 :87-92.
- Al-Khesraji, T. O., Shugran, A. H. M., and Augul, R. 2017 . Some Basidiomycota Macrofungal species from Salahadin

Governorate North Central Iraq , with the Addition of Four New Species to Iraq. International J. of Current Research in Biosci. and Plant Biology, 4 10 :74-84.

Anulika, N. P., Enodiana O.I., Ezenweani S. R., Osaeo-Itota, O., and Akatah H. A. 2016 .The Chemistry of Natural product : Plant Secondary Metabolites. International Journal of Technology enhancements and emerging engineering research ,4 8 2347-4289.

AOAC (Association of Official Analytical Chemists) 1995. Official Methods of Analysis, 16th Edition. AOAC International, Gaithersburg, MD.

Ariffin, D., and Idris, A.S. 1992 .The Ganoderma selective medium (GSM) .Porim Information Series,ISSN0128-5726.

Arnone, A., Nasini, G.,and Vajina de pava, O. 1997 . Marasmane sesquiterpenes from the basidiomycetes *clitocybe hydrogramma* Phytochemistry. 64 (6) :1099-1101.

Arthur, I. Vogel 1972 . "Practical Organic Chemistry Including qualitative Organic Analysis, 3rd edition, 445.

Atlas, R. M. 1998 .Pathogenesis of Infection Diseases in: Principles of Microbiology. 1st ed., Mosby-Yearbook., Inc. Loui. Baltimore.

Ayer, W., And Browne, L. M., 1981 .Terpenoid metabolisms of mushroom and related Basidiomycetes. Tetrahedron Report. 110 (37) :2199-2248.

Beare-Rogers, J. L, Dieffenbacher, A., and Holm, J. V. 2001 . "Lexicon of lipid nutrition IUPACNTechnical Report ." Pure and Applied Chemistry. 73 (4) :685-744.

- Behbahani, M., Shanehazzadeh, M., and Hessami, M.J. 2011 . Optimization of callus and cell suspension cultures of *Barringtonia racemosa* (Lecythidaceae family) for lycopene production"Scientia Agric. (Piracicaba, Braz) 68: 69-76.
- Binjamin, D. R. 1995 . Mushroom: Poisons and panaceas. W. H. Freeman and company, New York, U.S.A.
- Bishop, K.S.,Kao,C.H.J., Xu, Y.,Glucina, M.P.,Paterson, R.R.M., and Ferguson ,L.R. 2015 .From 2000 years of *Ganoderma lucidum* to recent development in nutraceuticals. Phytochemistry, 114,56-65.
- Boonsong,S., Klaypradit, W., Wilaipun, P. 2016 . Antioxidant activities of extracts from five edible mushrooms using different extractants. J.homepage.Agriculture and Natural Resources 50:89-97.
- Breene, W.M. 1990 .Nutritional and medicinal value of speciality mushroom. Journa Feed. Prot. 53 (10) : 883-894.
- British p. 1958 . "The pharmaceutical press". London App. XI. 1273.
- Brown, G.D., Denning D.W., Gow, N.A.R., Levitz, S.M., Netea, M.G.,and White, T.C. 2012 . Hdden Killers: human fungal infections. Science Translational Medicine 4 (165rv13) .
- Brzeicha-Cirocka,J.,Grembecka,M., Grochowska, I., Falandysz, J., and Szefer, P. 2019 .Elemental composition of selected species of mushrooms based on a chemometric evaluation. Ecotoxicology and Environmental Safety, 173,353-365.
- Cao, Q.Z., and Lin, Z.B. 2006 . *Ganoderma lucidum* Polysaccharides Peptide Inhibits The Growth of Vascular endothelial cell and the Induction of VEGF in Human Lung Cancer Cell. Life Sci 78:1457-1463.
- Cao, Q.Z., Lin S.Q., and Wang, S.Z. 2007 .Effect of *Ganoderma lucidum* Polysaccharides Peptide on Invasion of Human Lung Carcinoma

- Cells in Vitro. Beijing Da Xue Bao Yi Xue Ban 39: 653-656. 2007 (In Chinese) .
- Carter, G.T. 2011 . Natural products and pharma: Strategic changes spurne new opportunities. Nat. Prod. Rep., 11:1783-9.
- Castellano,G.,Jose,T., and Francisco,t. 2012 . Classification of Phenolic Compounds by Chemical Structural Indicators and Its Relation to Antioxidant Properties of *Posidonia oceanica* (L). Delile. MATCH Commun. Math. Comput. Chem.67:231-250.
- Celal, B. 2019 . Antioxidant and antimicrobial capacities of *Ganoderma lucidum*.J.Bacterio.&Mycol.7 (1) :5-7.
- Chang, S. T.and Milles, P. G. 1992 .Mushroom biology. a new discipline. Micologist, 6:64-65.
- Chang,S.T. 1993 .Mushroom biology:The impact on mushroom production and mushroom products.In Mushroom Biology and Mushroom Products.Chang, S.T., Buswell, J.A., and Chiu,S.W., editors Hong Kong: Chinese University Press, pp:3-20.
- Chen, B., Binrong, K., Ye, L., Jin, S., Jie, F., Zhao, L., and Wu, X. 2017 . Isolation and varietal characterization of *Ganoderma resinaceum* from areas of *Ganoderma lucidum* production in China. Scientia Horticulturae, 224:109-114.
- Chen, X., Hu, Z.P., Yang, X.X., Huang, M., Gao, Y., W., Chan, S.Y., Dai. X., Ye. J., Ho, PCI., Duan, W., Yanh, H.Y.,and Zhou, S.F., 2006 . Monitoring of immune responses to a herbal immunomodulator in patients with advanced colorectal cancer. International Immunopharmacology 6, 499-508.
- Chen, X., Xu, X., Zhang, L., and Zeng, F., 2009 .Chain conformation and anti-tumor activities of phosphorylated (1→3) -β-d-glucan from *Poria cocos*. Carbohydr Polymers 78:581-587.

- Cheng, A., Chien, Y., Lee, H., Hsiesh, Y., and Yu, Y. 2020 .Water-Extracted *Ganoderma lucidum* Induces Apoptosis and S-Phase Arrest via Cyclin-CDK2 Pathway in Glioblastoma Cells.J. molecules,25:1-15.
- Chien, Y.L., Ho,C.T., Chiang, B.H., and Hwang, L.S., 2011 . Effect of fermentation time on antioxidative activities of *Ganoderma lucidum* broth using leguminous plants as part of the liquid fermentation medium. Food Chemistry. 126: 1586-1592.
- Chiocchetti, G.M., Latorre,T., Clemente,M.J., Jadan-Piedra, C., Devesa, V., and Velez,D. 2020 .Toxic trace elements in dried mushrooms : Effects of cooking and gastrointestinal digestion on food safety. Food Chemistry, 306,125478.
- Chong, K.P.; Lum, M.S.; Foong, C. P.; Wong, C.; Michael V. L.; Atong, M.; and Rossall, S. 2011 . First identification of *Ganoderma boninense* isolated from Sabah based on PCR and sequence homology.African Journal of Biotech., 10 66 :14718-14723.
- Coetzee, M.P., Marincowitz, S., Muthelo,V.G.,and Wingfield, M.J. 2015 . *Ganoderma* species, including new taxa associated with root rot of the iconic Jacaranda mimosifolia in Pretoria, South Africa. IMA Fungus, 6 (1) : 249-256.
- Cowan, M.M. 1999 . Plant products as antimicrobial agents J. Clinical Biology America Society for Microbiology, Miami University. Oxford. Ohio.12 (4) : 564-582.
- Crozier, A.,Clifford, M.N., and Ashihara, H., 2006 . "Plant secondary Metabolites Occurrence, Structure and Role in the Human" Diet by Blackwell Publishing Ltd.,372.

- Cruickshank, R., Duguid, T. P., Marmion, B. P., and Swain R. H. 1996 .Medical Microbiology. 12th ed. (2) Churchill Livingstone Edinburgh. London. New York.
- Deacon, J. W. 2006 . Fungal Biology, 4th Edition, Blackwell Publishing Ltd.Pp. 371.
- Dewick, P. M. 2009 .Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach (3rd ed). Chichester: Wiley. ISBN978-470-74167-2.
- Dhifi,W.,Sana, B.,Sabrine, J., Nada, B., and Wissem, M. 2016 .Essential oils chemical characterization and investigation of some biological activities : A Critical Review. J.med. icines,Vol:4 (2) 1-16.
- Dogam,H.H.,and Akbas,G. 2013 .Biological activity and fatty acid composition of Caesar'smushroom.Pharmaceutical Biology. 51 (7) .853-871.
- Domingos, M., Souza-Cruz, P.B.D., Ferraz, A., and Prata, A.M.R. 2017 .A new bioreactor design for culturing basidiomycetes: Mycelial biomass production insubmerged cultures of Ceriporiopsis subvermipora. Chemical Engineering Science, 170:670-676.
- Donsky,A. 2013 ."10 Best Sources for Omega-3-fatty acids" Naturally Savvy,Natural and Organic living, on May21Publishing.
- Du, B., Zhu,F.,and Xu,B. 2018 .An insight into the anti-inflammatory properties of edible and medicinal mushroom. J.Functional Foods.,47:334-342.
- Dubai, A.S.,and Kholaidi,A.A. 2005 .Medicinal and Aromatic Plants in Yemen, "deployment- components of effective- uses" Ebadi Center for Studies and Publishing. Sana á - Yemen.p53-54.
- Elkholi, R., Renault, T., Serasinghe, M.,and Chipuk, J. 2014 . Putting the pieces together: How is the mitochondrial pathway of apoptosis

regulated in cancer and chemotherapy ? Cancer& Metabolism, 2:16.

Espindola, K., Ferreira, R.G., Narvaez, L.M., Rosario, A.S., Silva, A.M., Silva, A.B., Vieira, A.O., and Monteiro, M.C. 2019 . Chemical and Pharmacological Aspects of Caffeic Acid and Its Activity in Hepatocarcinoma. *Frontiers in Oncology*. 9, 00541.

Fan, L., Pan, H., Soccol, A. T., Pandey, A., and Soccol, C. R. 2006 .Advances in mushroom research in the last decade. *Food Technol. Biotechnol.* 44 (3) : 303-311.

Fathima, A.T., and Reena, M. 2016 .Anticancer and Antibacterial Activity of *Ganoderma lucidum*. *Int.J. Curr. Microbiol. App. Sci*, 5 (10) :891-909.

Fesik, S.W., Shi, Y. 2001 "Controlling the caspases". *Sci.* 294 (5546): 1477-8.

Felsenstein J. 1985 . Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. *Evolution* 39:783-791.

Ferreira , I. C.F.R., Heleno, S.A., Reis , F.S., Stojkovic, D., Queiroz, M.J.R.P., Vasconcelos, M. 2015 . Chemical features of *Ganoderma* polysaccharides with antioxidant, antitumor and antimicrobial activities. *Phytochemistry*. 114, 38-55.

Flood, J., Bridge, P.D., and Holderness, M., 2000 . *Ganoderma* diseases of perennial crops. CABI Bioscience, Egham, UK. P:275.

Freshney, R. I. 2015 . Culture of animal cells : a manual of basic technique and specialized applications. John Wiley & Sons; 2015 Dec 23.

Freshney, R., 2012 . Culture of Animal Cell. Sixth Edition. Wiley-Liss, New York.

Galor, S. W., Yuen, J., Buswell, J.A., and Benzie, I. F. F. 2011 . *Ganoderma lucidum* ((Lingzhi or Reishi)) , A Medicinal

Mushroom in Herbal Medicine: Biomolecular and Clinical aspects, 2nd edition, Florida.

- Gao, Y., Zhou, S., Huang, M., and Xu, A., 2003 : Antibacterial and antiviral value of the genus *Ganoderma* P. Karst. Species (Aphyllphoromycetideae) : A review. International J. of Medicinal Mushroom, Vol5 (3) :235-246.
- Gebreyohannes, G., Nyerere, A., Bii, C., and Sbhatu, D.B. 2019 . Investigation of Antioxidant and Antimicrobial Activities of Different Extracts of *Auricularia* and *Termitomyces* Species of Mushrooms. The Scientific World Journal. (3) :1-10.
- Gewirtz, D.A., Holt, S.E., Commonwealth, S.G., Richmond, V.A., and Douglas. 2011 . Apoptosis, Senescence, and Cancer. Means to an End: Apoptosis and other Cell Death Mechanisms.
- Ghosh, S. K., 2014 . Isolation of Polysaccharides and Terpenoids from some Basidiomycota and Their Antibacterial Activities. British Microbiology Research Journal, 4 (2) :155-166.
- Gonzalez A. G., Leon F., Riera A, Padron J, Gonale-Plata J., Zuluaga J, Quintana J, Estevez F., and Bermejo J. 2002 . New Lanostanoids from the Fungus *Ganoderma concinna* . Journal of Natural Products., 65:417-421.
- Gould, A. B., 2004. Plant pathogenic fungi. In : Trigliano, R. N., Windham, M. T., Windham, A.S., (Eds) . Plant Pathology concepts and Laboratory Exercises. CRC Press, USA, pp.75- 89.
- Gour, R., and Garg, A.P. 2020 . In-vitro Analysis of *Ganoderma lucidum* Extract Induces Cell Cycle Arrest and Apoptosis in MCF-12 Human Breast Cancer Cell. Int.J.Curr.Microbiol.App. Sci.9 (9) : 3252-3259.
- Gowrie, U. S., Chaturdevi, G., and Rani, K. 2014 . Evaluation of Bioactive Potential of Basidiocarp Extracts of *Ganoderma*

*lucidum*. International Journal of Pharmaceutical Research & Allied Sciences, 3, (1) :36-46.

Guang-Ping, L. V., Zhao, J. , Duan , J. A., Tang , Y. P., Li, S.P. 2012 .Comparison of sterols and fatty acids in two species of *Ganoderma* . National Library of Medicine.Chemistry Central J.,6 (1) : 10.

Hakim , F.L., Al-Buloshi, M.,and Achankunju, J. 2016 .Chemical composition and antiproliferative effect of Omans *Ganoderma applanatum* on breast cancer and cervical cancer cells.J. of Taibah University Medical Sciences.VOL:11 (2) :145-151.

Hapuarachchi K,K., Cheng, C.R., Wen, T.C., Jeewon, R.,and Kakumyan, P. 2017 . Mycosphere Essays 20 : Therapeutic potential of *Ganoderma* species: insights into its use as traditional medicine.Mycosphere, 8:1653-1694.

Hapuarachchi K,K., Elkhateeb, W.A., Karunarathna S.C., Cheng, C.R., Bandara, A.R., Kakumyan, P., Hyde, K.D., Daba, G.M., and Wen,T.C. 2018 . Current status of global *Ganoderma* cultivation,products, industry and market.Mycosphere,9 (5) :1025-1052.

Hapuarachchi K,K., Karunarathna S.C., Phengsintham, P., Yang,H.D., Kakumyan, P., Hyde, K.D., and Wen, T.C. 2019 . *Ganodermataceae* (Polyporales) : Diversity in Greater Mekong Subregion countries (China, Laos, Myanmar, Thailand and Vietnam) . Mycosphere,10 (1) :221-309.

Harborne J.B. 1998 ."Phytochemical Methods ".Aguide to Modern Techniques for plant Analysis,3rd edition.

Harborne, J.B. 1984 . Phytochemical Methods. 2nd ed., Chapman & Hall.

Harhaji, j. M., Mijatovic, S.A., Maksimovic-Ivanic, D. D., Stojanovic. I. D., Momcilovic, M.B., Tufegdzcic , S.J., Maksimovic, V.M.,

- Marjanovic Z.S.,and Stosic-Grujicic, S.D. 2009 . Anticancer properties of *Ganoderma lucidum* methanol extracts in vitro and in vivo. *Nutrition and cancer* 61 (5) .696-707.
- Hariharan, V.S.; Jayakumar, K.V. and Rajagopal, K. 2009 . "Study of the performance and combustion characteristics of adlesel engine using Sea Lemon oil based". *Fuels.*, 2 (4) : 43-47.
- Haroun,A.A., Osuji, C.E., Alhaji, A.I., Ajibade, A., Onuh,K., Etuk-Udo,G. A., Etim, V.A., Onyenekwe,P. C., and Abdulsalam, M.S.; 2020 .Molecular Characterization and in-vitro regeneration of Wild *Ganoderma lucidum* from Abuja, Nigrtia.*Journal of Applied Life Sciences International* ,Vol 23 (12) :1-11.
- Hartsel, J., Eades, J., Hickory, B., Alexandros M. 2016 .Chapte Title : Cannbis sativa and Hemp. [http//store.elsevier.com/Nutraceuticals/isbn-9780128021477/](http://store.elsevier.com/Nutraceuticals/isbn-9780128021477/).*Nutraceuticals : Efficacy, Safety and Toxicity*.Chapter 53, 735-760.
- Hayati, S. N., Rosyida, V. T., Darsih, C., Nisa, K., Indrianingsih, A. W., Apriyana, W., and Ratih, D. 2020 .Physicochemical properties, antimicrobial and antioxidant activity of *Ganoderma* transparent soap.*IOP Conf. Series : Earth and Environmental Science* , 10.1755-1315.
- Hcini, K.Sotomayor,M.J.,Ordan,J., and Bouzid,S. 2013 .Chemical composition of the essential oil of Rosemary (*Rosmaenus officialis* L). of Tunision oryin. *J. of chemistry*.Vol;25 (5) :2601-2663.
- Hibbett, D. S. And Binder, M. 2001 . Evolution of marine mushrooms. *Biol. Bull.* 201:219-322.
- Hu, R., Guo,W., Hunang, Z., Li, L., Liu, B., and Lv, X. 2018 .Extracts of *Ganoderma lucidum* attenuate lipid metabolism and modulate gut microbiota in high- fat diet fed rat. *J.Functi. Foods*,46:403-412.

- Hunter, J. E., Zhang, J., And Kris-Etherton, P. M. 2009 . "Cardiovascular disease risk of dietary stearic acid compared with trans, other review" American Journal of Clinical Nutrition. 91 (1) :46-63.
- Hwang, I.W., Kim, B.M., Kim, Y.C., Lee, S.H.,and Chung, S.K. 2018 . Improvement in b-glucan extraction from *Ganoderma lucidum* enzymatic pre-treatment. Appl Biol Chem 61 (2) :235–242. Online ISSN 2468-0842.
- Hyde, K.D., Norphanphoun,C., Chen, J., Dissanayake, A.J., Doilom, M., Hongsanan, S., Ruvishika, S., Jayawardena, R.J., Rekhani, H.P.,Benjarong, T., Dhanushka, N., and Wanasinghe, D.N. 2018 .Thailand's amazing diversity: up to 96% of fungi in northern Thailand may be novel. Fungal diversity, 93 (1) :215-239.
- Idris, A.S., Kushairi, A., Ismail, S., and Ariffin,D. 2004 .Selection for partial resistance in oil palm progenies to *Ganoderma* basal stem rot. J.Oil Palm Research, 16 (2) :12-18.
- Iranshahi, M., Askari, M., Sahebkar, A., and Hadjipavlou-Litina, D. 2009 .Evaluation of antioxidant, anti-inflammatory and lipoxygenase inhibitory activities of the prenylated coumarin umbelliprenin, DARU,vol.17 (2) : 99-103.
- Ivone, H.A., Jorge M.T., Guadalupe, G. R.,and Berenice, Y. J. 2016Total Polyphenols and Antioxidant Activity of *Ganoderma curtisii* extracts.Journal of Medicinal Plants studies ,4 (4) :136-141.
- Iwalokun, B.A.,Usen, U.A., Otunba, A.A.,and Olukoya, D.K 2007 . Comparative phytochemical evaluation, antimicrobial and antioxidant properties of *Pleurotus ostreatus*. African J. of Biotech,6: (17) 32-39.
- Jakubczyk,D.,and Dussart,F. 2020 .Selected Fungal Natural Product with Antimicrobial Properties.molecules. 25,911.

- Jargalmaa, S., Eimes, J.A., Park, M.S., Park, J.Y., Oh, S.Y., and Lin, Y.W. 2017 . Taxonomic evaluation of selected *Ganoderma* species and database sequence validation. *PeerJ*, 5:3596.
- Jaroszuk, M., Jaszek, M., Dudka, M.M., Blachowicz, A., Rejczak, T.P., Janusz, G., Wydrch, J., Polak, J., Wilkotazka, A.J., and Szerszen, M.K. 2014 . Exopolysaccharide from *Ganoderma applanatum* as a Promising Bioactive Compound with Cytostatic and Antibacterial Properties. *BioMed Research International*. 19, 20-33.
- Jasmina, C., Jelena, V., Mirjana, S., Tatjana, S. and Jasmina, G. 2014 . Biological activity of *Ganoderma lucidum* basidiocarps cultivated on alternative and commercial substrate. *Journal of Ethnopharmacology*, 312-319.
- Jaya, S., Saurabh, G., Sonam, M., and Bharti, A. 2014 . In-vitro Evaluation of Antimicrobial Activity of *Ganoderma lucidum*. *J. homepage*, Vol; 2 (6) :460-466.
- Jiang J., Slivova V., Valachovicova T., Harvey, K., and Sliva, D. 2004 . *Ganoderma lucidum* inhibits proliferation and induces apoptosis in human prostate cancer cells PC-3. *International J. of Oncology*, 24 (5) :1093-9.
- Jin, M.; Hung, H. J. and Choi, J. J. 2003 . Activation of selective transcription factors and cytokines by water soluble extract from *Lentinus lepideus*. *Exp. Biol. Med.* Maywood , Vol: 228 (6) :759-766.
- Jonathan, S. G. And Fasidi, I. O. 2001 . Effect of carbon, nitrogen and mineral sources on growth of *Psathyrella atroumbonata* (Pegler) , a Nigerian edible mushroom. *Food Chem.* 72:479-483.
- Jose, M.T. F., Araujo, L.C., Oliverira, A.P., Guimaraes, A.L., Pacheco, A.G.M., Silva, F.S., Cavalcanti, L.S., Lucchese, A.M.,

- Almeida, J.R.G., and Araujo, E.C. 2017 .Chemical composition and antibacterial activity of essential oil from leaves of *Croton heliotropiifolius* in different seasons of the year. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*.27:440-444.
- Joseph, S. B.,Sabulal, V., George, T.P.,and Smina, K.K.J. 2009 Antioxidative and antiinflammatory found in South India. *Scientia Pharmaceutica* 77:111-121.
- Joshi, B.,Lekhak, S.,and Sharma, A. 2009 . Antibacterial property of different medicinal plant : *Ocimum sanctum* , *Cinnamomum zeylanicum*, *Xanthoxylum armatum* and *Origanum majorana*. *Kathmandu Univ. J. Sci. Engin. Technol.*,5 (1) :143-150.
- Juven, B.J.; Kanner, J.; Schved, F. and Weisslowicz, H. 1994 . Factors that interact with the antibacterial action of thyme essential oil and its active constituents. *J. Appl. Bacteriol.*, 76: 626-631.
- Kamble, R. Venkata, S. & Gupte, A.M. 2011 . Antimicrobial Activity of *Ganoderma lucidum* Mycelia. *J. of Pure and Applied Microbiology*, Vol.5 2 ,p.Proof.
- Kamra, A.N.I.A., and Bhatt, A.B. 2013 .First attempt an organic cultivation of red *Ganoderma lucidum* under subtropical habitat and its economics. *International J. of Pharmaceutical Sciences*, 5: 94-98.
- Kao, C.; Jesuthasan, A.; Bishop, K.; Glucina, M.; and Ferguson, L. R. 2013 .Anti-cancer activities of *Ganoderma lucidum*: active ingredients and pathways. *Functional Foods in Health and Disease*, 3 (2) :48-65.
- Karsten PA. 1881. *Enumeratio boletinearum et polyporearum fennicarum. Systemate novo dispositarum. Review Mycology* 3:16-19.

- Keller, N. P.; Turner, G.; Bennett, J. 2005 . Fungal Secondary Metabolism from Biochemistry to Genomics, *Nature Revi. Microbi.*, 3: 937-47.
- Khalid, K.A. 2017 .Evaluation of Fixed Oil and Fatty Acids of Black Cumin under Cobalt or Kinetin Treatments.*J.Materials and Environmental Scie.*,Vol;8 (5) :1554-1559.
- Khastini, R.O., Wahyuni, I., and Saraswati, I. 2018 .Ethnomycology of bracket fungi in baduy Tribe Indonesia. *Biosaintifika:J.Bioloy and Biology Education*, 10 (2) :424-432
- Kim,M.Y., Seguin, P.,Ahn, J.K.,Kim, J.J.,Chun ,S.C.,Kim, E.H., Seo, S.H.,Kang, E.Y.,Kim, S.L.,Park, Y.J., et al. 2008 .Phenolic Compound Concentration and Antioxidant Activities of Edible and Medicinal Mushrooms from Korea.*Journal Agric. Food Chem.* 56,7265-7270.
- King,T.R., Mih, A.M.,Marcelo, d., Diego,R., and Maria, Z. 2015 . Diversity and distribution of species of *Ganoderma* in south western cameroon.*Journal of Yeast and Fungal Research* , 6 (2) :17-24.
- Kinge T R, Mih AM. 2011 .*Ganoderma ryvardense* sp. nov. Associated with basal stem rot BSR disease of oil palm in Cameroon. *Mycosphere* 2:179-188.
- Kirk, P. M.; Cannon, P. F.; David, J. C.and Stalper, S.J. 2001 . *Ainsworth and Bisbys dictionary of the fungi*. 9th ed. CAB International, Walling ford, UK.
- Klaus, A.,and Niksic M. 2007 . Influence of the extracts isolated from *Ganoderma lucidum* mushroom on some microorganisms. *Matica Srpska Proceeding for Natural Sciences* 113, 219-226.
- Kohlmeyer, J. And Kohlmeyer, E. 1979 .*Marine mycology. The higher Fungi*. Academic prees. NewYork.

- Kouassi, K.A., Konan, K.H., Kouadio, E.J.P., Due, A. E., and Kouame, L.P. 2016 . Proximate composition, minerals and amino acids profiles of selected wild edible Russulaspecies from Cole d Ivoire. Turkish Journal of Agriculture- Food Science and Technology, 4 (10) ,882-886.
- Kozarski, M., Klaus, A., Jakovljevic, D., Todorovic, N., Vunduk,J., Petrovic, P.,Niksic,M., Vrvic,M.,and Griensven,L. 2015 . Antioxidants of Edible Mushrooms.Journal, molecules,20:19489-19525.
- Kumar S., Stecher G., Li M., Knyaz C., and Tamura K. 2018 . MEGA X: Molecular Evo45er4rlutionary Genetics Analysis across computing platforms. Molecular Biology and Evolution 35:1547-1549.
- Kumar, M., Ando, Y. 2007 ."Carbon Nanotubes from Camph :An Environment- Friendly.Nanotechnology ".J.Phys. Conf.Ser. 61 (1) :643-6.
- Kumar,R.,Tapwal,A.,Pandey,S.,Borah,R.K.,Borah,D.,et al. 2013 . Macro-fungal diversity and nutrient content of some edible mushroom of Nagaland, India. Nusantara Biosci,5:1-7.
- Lai, T., Gao, Y., Zhou, S. 2004 .Global marketing of medicinal ling Zhi mushroom *Ganoderma lucidum* (W.Curt.: Fr). Lloyd (Aphyllophoromycetideae) products and safety concerns. International Journal of Medicinal Mushrooms 6:189-194.
- Lee, I. S., Sea, J. J., Kim, J. P., Kim, J. H., Youn, U. J., Lee, J. S., Jung, H. J., Na, M. K., Hattori, M.,Min, B. S.,and BaeK, H. 2017 . Lanostane Triterpenes from the Fruiting bodies of *Ganoderma lucidum* and their inhibitory effects an adipocyte differentiation in 3T3-LI cells Journal of Natural production 73 (2) :172-176.

- Lemin, D. 2005 .Introduction to Natural Products and Medicinal Chemistry. Japan Society for the promotion of Sciences, Post-Doctoral Fellowship, Chiba University.
- Li, P., Deng, Y. P., Wei, X. X., and Xu, J.H. 2013 . Triterpenoid from *Ganoderma lucidum* and their cytotoxic activities. *Nat Prod Res* 27: 17-22
- Li, W.J., Nie, S.P., Liu, X.Z., Zhang, H., Yang, Y., Yu, Q.,and Xie, M.Y. 2012 . Antimicrobial properties, antioxidant activity and cytotoxicity of ethanol- soluble acidic compounds from *Ganoderma atrum*. *Food and Chemical Toxicology* 50, 689-694.
- Limon-Pacheco, j., Gonsebatt, M.E., 2009. The role of antioxidants and antioxidant-related enzymes in protective responses to environmentally induced oxidative stress. *Mutation Research* 674, 137-147.
- Lin, H.C., Hewage, R.T., Lu, Y.C.,and Yit-Heng C. 2019 . Biosynthesis of bioactive natural products from Basidiomycota. *J. organic Biomolecular Chemistry*,17 (5) 1027-1036.
- Liu, W.,Wang, H., Pang, X., Yao, W., and Gao, X. 2010 . Characterization and antioxidant activity of two low- molecular-weight polysaccharides purified from the fruiting bodies of *Ganoderma lucidum* *Int. J. Biol. Macromol* 46:451-457.
- Loury,M. 1967 .A general method for rapid conversion of fats to unsaturated fatty acids.*British Nutrition Foundation Nutrition Bulletin*, 31,178-224.
- Lu, H., Lou, H., Hu, J., Liu, Z., and Chen, q. 2020 .Macrofungi: review of cultivation strategies, bioactivity, and application of mushrooms. *Natural Science Foundation of Zhejiang Province*,2334-2355.

- Lu, Ren. 2014 .Anticancer Ability of Mushroom Polysaccharides, Doctor of philosophy in Food Science.School of Chemical Sciences The university of Auckland Symonds street Auckland 1142 NewZealand.
- Luangharn, T., Karunarathna, S. C., Mortimer, P. E., Hyde, K. D., Thongklang, N., and Xu, J. 2019 . A new record of *Ganoderma tropicum* (Basidiomycota, Polyporales) for Thailand and first assessment of optimum conditions for mycelia production.Journal MycoKeys, 51:65-83.
- Luangharn,T.,Samantha, C. K., Mortimer, P.E.,Hyde,K.D., and Xu,J. 2020 .Morphology, Phylogeny and Culture Characteristics of *Ganoderma gibbosum* Collected from Kunming, Yunnan Province, China.Phyton-International Journal of Experimental Botany.Vol; 89 (3) :1-18.
- Luo, Y.,Bing-Zhi, L., Duo, L., Lu, Z., Yan, C., Bin, J.,Bo-Xuan, Z., Huimin, Z., and Ying-Jin, Y. 2015 .Engineered biosynthesis of natural products in heterologous hosts. The Royal Society of Chemistry.
- Lv, G.P., Zhao,J., Duan, J.A., and Tang, Y.P. 2012 . Comparision of sterols and fatty acids in two species of *Ganoderma*.Chemistry Central Journal ,6 (1) 10.
- Magaldi, S., Mata-Essayag, S.,Capriles, C.H.,Perez,C., Colella, M.T., Olaizola, C.,and Ontiveros, Y. 2004 .Well diffusion for antifungal susceptibility testing. International J. of Infection Diseases, 8,39-45.
- Mahizan, N. A., Yang, S.K., Moo, C.L., Song A. A.L., Chong, C.M. Chong, C.W., Lim. S.H.E. 2019 .Terpene Derivatives as a Potential Against Antimicrobial Resistance (AMR) Pathogens. Molecules ,24:1-12.

- Marino, M.; Bersani, C. and Comi, G. 2001 . Impedance measurements to study the antimicrobial activity of essential oils from Lamiaceae and compositae Int. J. FoodMicrobial., 2140: 1-9.
- Mark, A.U. 2007 .Temperature Effects on sulphur Catalysed Dimerisation of melon seed oil *Colocynthis vulgaris* . Master thesis, Department of pure and Industrial chemistry university of Nigeria, Nsukka, p:16-17.
- Mattila, P.,Salo-Vaananen, P.,Konko, K.,Aro, H.,and Jalava, T. 2002 . Basic composition and amino acid contents of mushrooms cultivated in Finland. J.Agric Food Chem.,50,6419-6422.
- McMeekin D. 2004. The perception of *Ganoderma lucidum* in Chinese and Western culture. Mycologist 18:165-169.
- Meehan, K. 2015 . Composition to Promote Hair Growth in Humans. U. S. Patent N o 9144542, 29 September.
- Midot, F., Lau, S. Y., Wong, W.C., Tung, H. J., Yap, M.L., Lo, M. L., Jee, M. S., Dom, S. P., and Melling L., 2019 .Genetic Diversity and Demographic History of *Ganoderma boninense* in Oil Palm Plantations of Sarawak, Malaysia Inferred from ITS Regions. Microorganisms, Vol ;7 (10) :464.
- Modi, H.A., Shah, P., Shukla, M.D.,and Lahiri, S.K. 2014 . Determination of total phenolic content and antioxidant activity of *Ganoderma lucidum* collected from Dang district of Gujarat, India.NPAIJ,10 (3) :75-83.
- Mohanty,P.S., Harsh,N.S.K., and Pandey, A. 2012 .Molecular phylogeny of *Ganoderma lucidum* isolates collected from northern India.Pathology. Blackwell Verlag GmbH,10:1-8.
- Moncalvo, J.M., Buchanan, P.K. 2008 .Molecular evidence fo long distance dispersal across the Southern Hemisphere in the

- Ganoderma applanatum* -australe species complex (Bisidiomycota) .Mycological Research 112:425-436.
- Monica, E.K.,Goran, G., and Gunnar, H. 2009 . Pulp and Paper Chemistry andTechnology. Volume 1, Wood Chemistry and Wood Biotechnology. Walter de Gruyter GmbH and Co., KG, 10785. Berlin, p. 145-151.
- Moore, D.; Robson, G d.and Trinici, A. P.J. 2011 . 2Ist century guidebook to fungi New York:Cambridge University Press. Pp 605.
- Mueller,G.M., Schmit.J.P., Leacock, P.R., Buyck, B., Cifuentes, J., Desjardin.et al., 2007 .Global diversity and distribution of macrofungi. Biodivers. Conserv.16,37-48
- Muhsin, T.M.,Al-Duboon, A.H., and Khalaf,K.T. 2011 .Bioactive Compounds from a Polypore Fungus *Ganoderma applanatum* Pers.ex Wallr. Pat.Jordan J. ofBiological Sciences, Vol;4 (4) :205-212.
- Musa, M.A.,and Al-Alithy, S.A. 2012 ."Extraction of  $\beta$ -glucan from bartey bran and assement of some functional properties and molecular weight. Iraqi.J. OFAgriculture science ,43 (2) 100-108.
- Muthelo, V. G., 2009 .Molecular characterisation of *Ganoderma* species. magister scientiae , Forestry and Agricultural Biotechnology Institute, University of Pretoria , Pretoria, south Africa.
- Naplavova, K., Beck, T., Pristas, P., Gaperova, S., Sebesta, M., Píknova, M., and Gaper, J.; 2020 .Molecular Data Reveal Unrecognized Diversity in the European *Ganoderma resinaceum*.Forest J.11,850.
- Natakankitkul,S., Homdok,P., Wandee,P., Kisdaphong, T., and Toida, T. 2016 . Development of skincare cosmetic from yeast beta-glucans.J. homepage ,Vol;40:9-12.

- Nei, M. and Kumar, S. 2000 . Molecular Evolution and Phylogenetics. Oxford University Press, New York.
- Nguyen Minh Thuy and Nguyen Thi My Tuyen 2015.Extraction of Bioactive Compounds and spore powder collection from *Ganoderma lucidum*.Can Tho University J. of Science Vol 1 53-60.
- Obodai, M., Mensah, D.L., Fernandes A., Kortei, N.K., Dzo M., Teegarden, M., Schwartz, S.J., Barros, L., Prempeh, J.,Takli, R. K.,and Ferrira, I. C.F. R. 2017 .Chemical Characterization and Antioxidant Potential of Wild *Ganoderma* Species from Ghana.Journal Molecules., 22:1- 18.
- Ogbe, A.O.; Mgbojikwe,L.O.; Owoade, A. A.; Atawodi,S.E.; Abdu,P.A. 2008 .The effect of a wild mushroom *Ganoderma lucidum* supplementation of feed of the immune response of pullet chickents to infection of bursal disease vaccine.Electronic J. of Environmental, Agricultural and food chemistry 7 (4) :28-44.
- Ogueke, C.C.; Ogbuli, J.N.; Okolio, I.C. and Anyanwu, B. N. 2007 .Antibacterial activities and toxicological potentials o fcrude ethanolic extracts of Euphorbia., 3 (3) : 11-16.
- Olarewaju M. Oluba 2019 .*Ganoderma* terpenoid extract exhibited anti-plasmodial activity by a mechanism involving reduction in erythrocyte and hepatic lipids in plsmidium berghei infected mice.Lipids in Health and Disease 18 , Article number: 12.
- Olukoya, D.K.; Indik, N. and Odagbemi, T. 1993 . Antimicrobial activity of some phenolic medicinal plants from Nigeria. J. Ethnopharmacology., 94: 70-75.
- Osinska- Jaroszuk M.; Jarosz-Wilkolazka A.; Jaroszuk-Sciset J.; Artur K. S. 2015 . Extracellular Polysaccharides from Ascomycota and

- Basidiomycota production conditions, Biochemical Characteristics , and Biological Properties.J. Microbi. Biotechnol., 31:1823-1844.
- Palacios, I.,Lozano, M.,Moro, C.D., Arrigo, M.,Rostagno, M.A. ,Martinez , J.A., Garcia-Lafuente , A.,Guillamon, E.,and Villares, A. 2011 .Antioxidant properties of phenolic compounds occurring in edible mushroom. Food Chem., 128, 674-678.
- Paterson , R.R.M. 2001 .*Ganoderma*- A therapeutic fungal biofactory. Phytochemistry ,67,1985-2001.
- Paterson, R.R.M. 2007 .*Ganoderma* disease of oil palm-A white rot prespective necsssary for integrated control.Crop Protection 26:1369-1376.
- Peraro, M.D., Villa, A.J.,Carloni, P. and Klein, M.L. 2007 . Role of zincontent and the catalytic efficiency of B1 metallo  $\beta$ -Lactamase. J American Chemical Society,. 129 (10) : 16-20.
- PK,M.U.,Talukder,R.I.,Sarkar,K.I.,Rahman,T., Pervin,R., Rahman, M.,Zenal,E.A., andAkther,L. 2019 .Effect of Solvents on Phytochemicals Content and Antioxidant Activity of *Ganoderma lucidum*.The Open Microbiology Journal,13,10-15.
- Pohanka, A. 2006 .Antifungal antibiotics from potential biocontrol microorganisms. Ph. D. Thesis. Swedish University of Agricultural sciences.
- Qu, L., Li, S., Zhuo, Y., Chen, J., Qin, X., and Guo, G. 2017 . Anticancer effect of triterpenes from *Ganoderma lucidum* in human prostate cancer cells.Oncology letters 14:7467 - 7472.
- Quereshi, S.,Pandey, A.K., Sandhu ,S.S. 2010 .Evaluation of antibacterial activity of different *Ganoderma lucidum* extracts. People J. of Sci. Res. :Vol.3 (1) ,Jan.

- Rajesh, M. And Nalvar, J., 2019 .In Vitro antioxidant activity of coumarin compounds by DPPH, super oxide and nitric oxide free radical scavenging methods J.,Adva. Pharma. Edu. Res., 1:52-68.
- Rakib, M.R.,Bong,C.F.,Khairulazmi, A., and Idris, S. 2014 .Genetic and Morphological Diversity of *Ganoderma* Species Isolated from Infected Oil Palms *Elaeis guineensis* .Int.j.Agric.Biol.,16:691-699.
- Rasmus Dahl-Lassen, Hecke, J.V.,Jørgensen,H.,Bukh, C., Andersen,B.,and Schjoerring,J.K. 2018 .High-throughput analysis of amino acids in plant material by single quadrupole mass spectrometry.Dahl-Lassen et al.Plant Methods14:8.
- Rawat, A., Mohsin, M., Sah, A.N, Negi, P.S, Singh, . 2012. Biochemical estimation of wildy collected *Ganoderma Lucillum* From Contral Himalay an Hills of India. Pelayia Felayia Research Library 3 (6): 3708.3713.
- Reis, F.S., Ferreira,I.C.F.R., Barros,L.,and Martins,A. 2010 .A comparative study of tecopherols composition and antioxidant properties of in vivo and in vitro ectomycorrhizal fungi. LWT-Food Science and Technology, 44 (4) :820-824.
- Reis,F.S.,Barreira, J.C., Calhelha,R.C.,Van Griensven,L.J.I.D., Ciric , A., Glamoclija, J., Sokovic, M., Ferreira, I. C. F. R. 2014 . Chemical characterization of the medicinal mushroom *Phellus linteus* (Berkeley & Curtis) Teng and contribution of different fractions to its bioactivity. LWT- Food Science and Technology, 58 (2) :478-485.
- Ren, L., Krissansen, G. W., Perera, C. O.,Buchanan, P. K., Sun X. Y., andHemar, Y. 2013 . Anticancer screening of mushroom polysaccharides against melanoma cell lines and their ability to augment the effects of paclitaxel. Nutrition and Cancer,

- Ria, M., Gade, A. and Yadav, A. 2011 .Biogenic Nanoparticles: an introduction to what they are, how they are synthesized and their applications. In: Rai M, Duran, N. (Eds) Metal Nanoparticles In Microbiology. Springer, Berlin, Pp1-14.
- Richter, C., Wittstein, K., Kirk, P.M., and Stadler, M. 2015 . An assessment of the taxonomy and chemotaxonomy of *Ganoderma*. Fungal Diversity , 71 (10) :1-15.
- Rojas, C., and Mansure, E. 1995 .Ecuador: Informations Generales Sobre Productos Non Madereros en Ecuador. In Memoria, Consulta De Expertos Sobre Productos Forestales no Madereros Para America Latina Y el Caribe, pp208-223.
- Rosyida, V.T., Hayati, S.N., Apriyana, W., Darsih, C., and Poeloengasih, C.D. 2017 .Effects of Cultivating Conditions on the Water Soluble Polysaccharides Countent of *Ganoderma lucidum* Mycelium in Submerged Flask Culture. J. Citation and DOI. IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science 101:12008.
- Rout, S.P.; Choudary, K.A.; Kar, D.M.; Das, L. and Jain, A. 2009 . Plants intraditional medicinal system-future source of new drugs. Inter. Journal of Pharm. Sci., 1 (1) : 1-23.
- Routray, W., and Orsat, V. 2012 .Review: Microwave-assisted extraction of flavonoids. Food Bioprocess. Technol., 5:409-424.
- Royse, D.J. 2005 .Foreword to the fifth international conference on mushroom biology and mushroom products, Acta Edulis Fungi Suppl. ,12:1-2.
- Ruan, W., Wei, Y. and Popovich , D.G. 2015: Distinct responses of cytotoxic *Ganoderma lucidum* Triterpenoids in Human Carcinoma Cells. Phytother Res 29: 1744-1752,.
- Salvatore, M. M., Elvetico, A., Gallo, M., Salvatore, F., Greca, M. D., Naviglio, D., and Andolfi, A. 2020 .Fatty Acids from

*Ganoderma lucidum* Spores: Extraction, Identification and Quantification. *Applied Sciences*, 10: 1-12.

Sang, S., Cheng, X., Stark, R., Rosen, T., Yang, C., and Ho, T., 2002 . Chemical studies on antioxidant mechanism of tea catechins: analysis of radical reaction products of catechin and epicatechin with 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl. *Bioorg. Med. Chem.*, 10: 2233-2237.

Sanger, F., Nicklen, S., and Coulson, A.R. 1977 . DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc Natl Acad Sci USA*. Vol; 74 (12) : 5463-5467.

Sargowo, D., Ovianti, N., Susilowati, E., Ubaidillah, N., Nugraha, W. A., Vitriyaturrida, Proboretno, K.S., Failasufi, M., Ramadhan, F., Wulandari, H., Waranugraha, Y., Putri, K.H. 2017 . The role of polysaccharide peptide of *Ganoderma lucidum* as a potent antioxidant against atherosclerosis in high risk and stable angina. *J.homepage*. 10: 1-7.

Savill, J., Gregory, C., and Haslett, C. 2003 . "Eat me or die". *Science*. 302 (5650) : 1516-7.

Scriver, C.R., Beaudet, A.L., Valle, D., Sly, W.S., Childs, B., Kinzler, K.W., Vogelstein, B., eds. 2001 . *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*. 8th ed. New York, NY: McGraw-Hill, Inc; 1665-2105.

Seedevi, P., Ganesan, A.R., Kannan, M., Raguraman, V., Murugesan, S., Palaniappan, S., Loganathan, S., Rajamalar, P., Shanmugam, A., and Vairamani, S. 2019 . Chemical structure and biological properties of a polysaccharide isolated from *Pleurotus sajor-caju*. *RSC Advance*, 9: 20472-20482.

- Sellers, T. and Miller, Q.D. 2004 .Laboratory manufacture of high moisture southern pine standboard bonded with three tannin adhesive types. *Forest Prod. J.* 54 (12) :296-301.
- Shareef, A. Y. 1998 .The molecular effect of some plant extract on the growth and metabolism of some Gram positive and Gram negative bacteria. Ph.D. Thesis, Coll.Sci. Uni.Mosul, Iraq.
- Sharma S., Haber A. and Settleman J., 2010 .Cell line-based platforms to evaluate the therapeutic efficacy of candidate anticancer agents, *Nat. Rev. Cancer*; 10, 241- 253.
- Sharma, C., Bhardwaj, N., Sharma, A., Tuli, H. S., Katyal, P., Beniwal, V.Gupta, G., and Sharma, A. 2019 .Bioactive Metabolites of *Ganoderma lucidum* : Factors, Mechanism and Broad Spectrum Therapeutic Potential. *J. Herbal Medicine.* 17-18.100268.
- Sharma, C., Bhardwaj, N., Sharma, A., Tuli, H., Katyal, P., Beniwal, V., Gupta, G., and Sharma, A. 2019 .Bioactive Metabolites of *Ganoderma lucidum*: Factors, Mechanism and Broad Spectrum Therapeutic Potential. *Journal of Herbal Medicine.* 17-18.100268.
- Sharma, S., Haber, A., and Settleman, J. 2010 .Cell line-based platforms to evaluate the therapeutic efficacy of candidate anticancer agents, *Nat. Rev. Cancer*, 10:241-253.
- Shoko, T., Soich, T., Megumi, M.M., Eri, E., Jun, K. and Michika, W. 1999 .Isolation and identification of an antibacterial compound from grape and its application to foods. *Nippon Nogeikagaku Kaishi*, 73: 125-128.
- Simonic, J., Stajic, M., and Vukojevic, J. 2017 . *Ganoderma lucidum* from tradition to modern medicine. *Zbornik matice srpske Za prirodne nauke* , (133) :151-161.

- Singh, J., Gupta, S., Malviya, S., and Ahrwar, B. 2014 . In-vitro Evaluation of Antimicrobial Activity of *Ganoderma lucidum*. J.homepage , Vol; 2 (6) : 460-466.
- Slynko, N.M., Blinov, A.G., Babenko, V.N., Mihailova, S.V., Bannikova, S.V., Shekhovtsov, S.V., Nechiporenko, N.N., Goryachkovskaya, T.N., Veprev, S.G., and Peltek, S.E. 2017 . Phylogenetic and Biochemical Analysis of the Reishi Mushroom (*Ganoderma lucidum*) Populations from Altai. Annals of Applied Microbiology & Biotechnology Journal, Vol; 1 (1) : 1004-1010.
- Smania, E. F. A., Delle, M.F. , Yunes, R.A., Paulert, R., Smania, A. 2007 . Antimicrobial activity of methyl australate from *Ganoderma australe*. Brazilian Journal of Pharmacognosy. 17 (1) : 14-16.
- Smina, T.P., Mathew, J., Janardhanan , K.K., and Devasagayam , T.P. 2011 . Antioxidant activity and toxicity profile of total triterpenes isolated from *Ganoderma lucidum* Fr . P.Karst occurring in South India. Environmental Toxicology and Pharmacology , 32 (3) : 438-446.
- Smith, B.J., Sivasithamparam, K. 2000 . Internal transcribed spacer ribosomal DNA sequence of five species of *Ganoderma* from Australia. Mycological Research, 104 (8) : 943-951.
- Sohretoglu, D., and Huang, S. 2019 . *Ganoderma lucidum* polysaccharides as an anti-cancer agent. Anticancer Agents Med Chem, 18 (5) : 667-674.
- Songulashvili, G., Elisashvili v., Wasser S., Nevo, E., and Hadar, Y. 2006 . Laccase and Manganese peroxidase activities of *Phellinus robustus* and *Ganoderma adspersum* grown on food industry wastes in submerged fermentation. Biotechnology Letters, 28: 1425-1429.

- Stanley, G., Harvey, K., Slivova, V., Jiang, J., and Sliva, D. 2005 . *Ganoderma lucidum* suppresses angiogenesis through the inhibition of secretion of VEGF and TGF-beta 1 from prostate cancer cells. *Journal of Biochem Biophys Res Commun*, Vol 330 (1) :46-52.
- Su, C.H., Yang, Y.H., Ho, H.O., Hu, C.H., Sheu, M.T. 2001 . High-performance liquid chromatographic analysis for the characterization of triterpenoids from *Ganoderma*. *J. Chromatographic Sci.* 39:93-100.
- Sudheer, S., Alzorqi, I., Manickam, S., and Ali, A. 2018 . Bioactive compounds of the wonder medicinal mushroom *Ganoderma lucidum*. *Bioactive Molecules in Food*; Merillon, J M, Ramawat, K G, Eds, 1863-1893.
- Suliaman, S.Q., Al-Khesraji, T.O., Hassan, A. 2017 . New records of basidiomycetous macrofungi from Kurdistan region- Northern Iraq. *Afr. J. Plant Sci.* 11 (6) ,209-219.
- Sumathy, R., Sankaranarayanan, S., Bama, p., Ramachandra J., Vijayalakshmi, M., Deecaraman, M. 2013 . Antioxidant and antihemolytic activity of flavanoid extract from fruit peel of *Punica Granatum*. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 6 (2) 208-211.
- Sumathy, R.; T.P. and Kumuthakalavalli, R. 2013 . Dpph Free Radical Scavenging Activity and Total Phenolic Content of Three Species of Oyster Mushrooms. Vol :3, 1-3.
- Sun, J. 2007 . "D-Limonene :safety and clinical applications" (PDF) . *Alternative Medicine Review*. 12 (3) :259-264.
- Tamilselvan N. , Rajesh K. 2019 Antimicrobial Efficacy of Medicinal Mushroom *Ganoderma lucidum*. *International Journal of Trend in Scientific Research and Development*, Vol:3 3 :2456-6470.

- Tang, W., Gu, T., and Zhong, J. 2006 .Separation of Targeted ganoderic acids from *Ganoderma lucidum* by reversed phase liquid chromatography with ultraviolet and mass Spectrometry detections. *Biochemical Engineering Journal* 32:205-210.
- Taofiq, O., Heleno, S. A., Calhelha, R.C., Maria Jose Alves, Lillian Barros, Ana M. Gonzalez-Paramas, Maria F. Barreiro, Isabel C.F.R.Ferreira. 2017 .The potential of *Ganoderma lucidum* extracts as bioactive ingredients in topical formulations , beyond its nutritional benefits. *Journal published for the British Industrial Biology Research*, Vol;108:1-20.
- Taofiq, O.; Gonzalez-Paramas, A. M.; Martins, A.; Barreiro, M. F.; and Ferreira, I. 2016 . Mushroom extracts and compounds in cosmetics, cosmeceuticals and nutricosmetics- A review. *Industrial Crops and Products*, 90:38-48.
- Tardy, A., Morio, B., Chardigny, J., and Malpuech-Brugere, C. 2011 ."Ruminant and industrial sources of trans-fat and cardiovascular and diabetic diseases " *Nutrition Research Reviews*. 24 (1) :111-7.
- Tawfik M.M., Abdul-Hafiz A.A., and Kawther T.K. 2011 . Bioactive compounds from apolypore fungus *Ganoderma applanatum* Per s.ex Wallr. *Pat.J. of Biological Sciences*, Vol 4 4 : 205-212.
- Taylor, D.L., 2007 .High content screening. A powerful approach to systems cell biology and drug discovery. *Method Mol.Biol.*, 356:360.
- Tchotet Tchoumi, J M., Coetzee, MP A.; Rajchenberg M, Wingfield MJ, Roux J. 2018 .Three *Ganoderma* species, including *Ganoderma dunense* sp. nov., associated with dying *Acacia cyclops* trees in South Africa. *Australasian Plant Pathology* 47:431-447.

- Tchoumi, T. J. M., Coetzee, M.P A., Rajchenberg, M., and Roux, J. 2019 .Taxonomy and species diversity of *Ganoderma* species in the Garden Route National Park of South Africa inferred from morphology and multilocus phylogenies. *Journal of Mycologia*, 27:1557-2536.
- Thakur, R., 2013 .Studies on genetic variability in *Ganoderma lucidum* (Curtis) P.Karst for identification of elite strains (Doctoral dissertation, CSK Himachal Pradesh Krishi Vishavavidyalaya, Palampur) .
- Thalisa, Y.A., Butkhup, L., Yeunyaw, P. 2019 . Amino acids and antioxidant activities of extracts from wild edible mushrooms from a community forest in the Nasrinual District, Maha Sarakham, Thailand. *Food Science and Technology* ,101: 1-10.
- The, H.V., Ha, V.T.N., and Giau, L.N. 2019 .Classification of Some Commercial LingZhi (*Ganoderma* spp). Accessions in Vietnam by ITS-Based DNA Barcode. *hueuni-jns*.V128,1E,163-171.
- Thuy, N. M. and Tuyen, N. T. M. 2015 .Extraction of Bioactive compounds and spore powder collection from *Ganoderma lucidum*. *Can Tho University J. of Science*. 1:53-60.
- Tseng, Y.H., Yang, J.H., and Mau, J.L. 2008 . Antioxidant properties of polysaccharides from *Ganoderma tsugae*. *Food Chemistry* 107, 732-738.
- Uddin, G., Waliuhha, H., Siddiqui, B.Sh., Alam, M., Sadat, A., Ahmed, A., and Uddin, A. 2011 .Chemical constituents and phytotoxicity of solvent extracted fractions of stem bark of *Grewia optiva* Drummond ex Burret. *Middle East J. Sci. Res., Pakistan*. 8 (1) :85-91.

- Ueitele, I.S. E.,Kadhila-Muanding, N. P.,and Matundu, N. 2014 .Evaluating the production of *Ganoderma* mushroom on corn cobs.African Journal of Biotechnology, 13 (22) : 2215-2219.
- Usman, S.B.,Kyari, S.U.,Abdulrahman, F.I.,Ogbe, A.O., Ahmad, G.Y., Ibrahim , U.I.,and Sakuma, A.M. 2012 .Proximate composition, phytochemical and elemental analysis of some organic solvent extract of the wild mushroom *Ganoderma lucidum*.Journal of Nat.Sci.Res.,2:24-36.
- Utomo, C., Werner, S., Niepold, F., and Deising, H. B., 2005 .Identification of *Ganoderma*, the causal agent of basal stem rot disease in oil palm using a molecular method.Journal of Mycopathologia,159:159-170.
- Valls, S.J.,Baldris, N.R., and Sauchez Coll,M. 1999 .Hand Book of Microbiological Culture Media P250.Sharlau chemie, S.A. Larsota, 8608016 barelona Spain.
- Vazirian, M., Faramarzi, M., Ebrahimi, S.S., Esfahani,H.M., Samadi,N., Hosseini, S.A., Asghari,A., Manayi, A., Mousazadeh, A., Asef,M.R.,Habibi, E., andAmanzadeh,Y. 2014 .Antimicrobial Effect of the Lingzhi or Reishi Medicinal Mushroom, *Ganoderma lucidum* (Higher Basidiomycetes) and Its Main Compounds.International J.Medicinal Mushrooms ,16 (1) :77-84.
- Veljovic,S.,Veijovic,M., Nikicevic, N., Despotovic,S.,Radulovic, S., Niksic,M., and Filipovic,L. 2017 .Chemical composition, antiliferative and antioxidant activity of differently processed *Ganoderma lucidum* ethanol extracts.J. Food Sci Technol, 54 5 :1312-20.
- Wang, C.,Lin, D., Chen, Q., Lin, S., Shi, S., and Chen, C. 2018 . Polysaccharide peptide isolated from gross-cultured *Ganoderma lucidum* induces anti-proliferative and pro- apoptotic effects in

- the human U251 glioma cell line. *Oncology Letters* 15:4330-4336.
- Wang, C., Xi, R., Li, Y., Wang, D., and Yao, Y. 2012 .The Species Identity of the Widely Cultivated *Ganoderma lucidum* (Lingzhi) ,in China. *J.pone.0040857*.
- Wani, B.A., Bodha, R.H., Wani, A.H. 2010 .Nutritional and medicinal importance of mushrooms. *J. Med. Plants. Res.*, 4 (24) :2598-2604.
- Wasser S. P., Nevo E., Sokolov D., Reshetrik S., Timor-Tismenetsky, M. 2000 .Dietary Supplements from Medicinal Mushrooms Diversity of types and variety of regulations. *Interntional Journal of Medicinal Mushroom*, 2:1-19.
- Wasser, S. P. 2002 .Medicinal as a source of antitumor and immunodulating polysaccharides. *Appl. Microbiol.Biotechnol.*
- Wasser, S. P. and Didukly, M. Y. 2005 .Culinary-medicinal higher Basidiomycetes mushrooms as a prominent source of dietary supplements and drugs for the 21st century. *Proc. 5th Intern.Conf.on mushroom biology and mushroom products, Sanghai, China*, 20-34.
- Wawrzyn, T. G., Quin, M.B., Choudhary, S., and Claudia, F. 2012 . Draftgenome of *Omphalotus olearius* provides a predictive frame work for sesquiterpenoid natural product biosynthesis in Basidiomycota. *J. ChemBiol*, 19 (6) :72-83.
- White, T.J., Bruns, T., Lee, S. B., Taylor, J., Innis, M.A., Gelfand, D.H., and Sninsky, J. 1990 .Amplification and Direct Sequencing of Fungal Ribosomal RNA Genes for Phylogenetics. In book: *PCR Protocols* pp.315-322 .Publisher: Academic Press, Inc.

- William W.C. 2011 . James Hutton Institute and My lenfield Lipid Analysis,Invergowrie, Dundee (DD25DA) , Scotland, last updated: October 17th.
- World Health Organization, 2014 .World Cancer Reprt 2014. Pp.Chapter 5.2. ISBN 92-832-04298.
- World Health Organization, 2011 .WHO Fact sheet N 297 February 2011 .Retrieved July 2011,from [Http// who.int/media/centre/factsheets/fs297/en/index.html](http://who.int/media/centre/factsheets/fs297/en/index.html).
- Wu, X., Zeng, J., Hu, J., Liao,Q., Zhou, R., Zhang, P., and Chen, Z. 2013 .Hepataprotective Effects of Aqueous Extract from Lingzhi or Reishi Medicinal Mushroom *Ganoderma lucidum* (Higher Basidiomycetes) on  $\alpha$ -Amanitin-Induced Liver Injury in Mice.
- Wu,D.T., Deng,y., Chen,L.X., Zhao, J., Bzhelyansky,A., and Li, S.P., 2017 .Evaluation on quality consistency of *Ganoderma lucidum* dietary supplements collected in the United States. Scientific Reports, 7 (1) ,7792.
- Xia, Q., Zhang, H., Sun, X., Zhao, H., Wu, L., Zhu, D., Yang, G., Shao, Y., Zhang,X., Mao, X., Zhang,L., and She G. 2014 .Acomprehensive review of the structure elucidation and biological activity of triterpenoids from *Ganoderma* spp. Molecules,19,17478-17535.
- Xian, C., Wu, Q., Zhang, J., Xie, Y., Cai, W., and Tan, J. 2017 . Antidiabtic activity of *Ganoderma lucidum* polysaccharides F31 down-regulated hepatic glucose regulatory enzymes in diabetic mice. J. Ethnopharmacology, 196,47-57.
- Xing, J.H., Song, J.,Sun, Y.F., Han, Y.L., Cui, B.,and Dai,Y. 2018 . Morphological and Molecular identification of two new *Ganoderma* species on *Casuarina equistifolia* from China. J. MycoKeys,34:93-108.

- Xing,J.H., Song, J., Decock, C., Cui, B.K. 2016 .Morphological Characters and phylogenetic analysis reveal a new species within the *Ganoderma lucidum* complex from South Africa. *Phytotaxa* 266:115-124.
- Yang, F.,Ke, Y., Kuo,S. 2000 .Effect of fatty acids on the mycelial growth and polysaccharide formation by *Ganoderma lucidum* in shake flask cultures. *Enzyme Microb. Techno.*27 (3-5) :295-301.
- Yang, J.,Chen Y., Nga-Leong, Zhao J., Duan, J., Tang,Y.,and Li,S. 2012 .Quality evaluation of different products derived from *Ganoderma*.*J. of Medicinal plants Research* Vol.6 (10) 1969-1974.
- Yang, Y., Zhang, H., Zuo, J., Gong, X., Yi, F., Zhu, W., and Li, L. 2019 .Advances in research on the active constituentsand physiological effects of *Ganoderma lucidum*. *Biomedical Dermatology* 3 (6) :1-17.
- Zhang, L.,Li, X., Xu, X., and Zeng F. 2005 .Correlation between anti-tumor activity, molecular weight, and conformation of lentinan. *Carbohydr Res* 340:1515-1521.
- Zhang, Z.,Lv,G., He,W.,Shi,L.,Pan,H., and Fan,L. 2013 . Effects of extraction methods on the antioxidant activities of polysaccharides obtained from *Flammulina velutipes*. *Carbohydrate Polymers*, 98 (2) ,1524-1531.
- Zhao, L., Wu, Q., and Ma, A. 2018 . Biodegradation of Phenolic Contaminants: Current Status and Perspectives *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 111:1-5.
- Zhao,S.,Ye, G., Fu, G.,Cheng,J.X., Yan,G.B.B., and Peng, C. 2011 .*Ganoderma lucidum* exert anti-tumer effects on ovarian cancer cells and enhances their sensitivity to cisplatin. *International Journal of Oncology*, 38 (5) : 1319- 1327.

- Zhou, X.W., Su, K.Q.,and Zhang, Y.M. 2012 . Applied modern biotechnology for cultivation of *Ganoderma* and development of their products. Applied Microbiology and Biotechnology, 93 3 :941-963.
- Zjawiony J. K. 2004 .Biologically active compounds from Aphyllophorales polypore Fungi. Journal of Natural products 67:300-310.
- Zuzarte, M. and Ligia, S. 2015 .Essential Oils Chemistry. Springer International Publishing Switzerland. P:19-28.

## ملحق (1)

**Ganoderma resinaceum isolate SAAFBM4 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence**

Sequence ID: [MT581896.1](#) Length: 641 Number of Matches: 1

Range 1: 4 to 641 [GenBank](#) [Graphical](#) [First Match](#) [Previous Match](#)

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
1168 bits(632)	0.0	637/639(99%)	2/639(0%)	Plus/Plus
Query 3	GCCTTCGATG-GTGACCTGCGAAGGATCATTATCGAGTTTGTGACTGAGTTGTGAGCTGAGCC	88		
Subject 4	GCCTTCG-GTAGGTGACCTGCGAAGGATCATTATCGAGTTTGTGACTGAGTTGTGAGCTGAGCC	82		
Query 61	TTCCGAGGATGTGACACCCCTGCTCATCCACTCTACACCCTGACACTTACTGTGAGTTTC	120		
Subject 63	TTCCGAGGATGTGACACCCCTGCTCATCCACTCTACACCCTGACACTTACTGTGAGTTTC	122		
Query 121	CAAGCATTATGAGGAGGAGCTCTTACGAGGAGCTTGTGAGGAGGAGCTGAGCTGAGCTGAGCT	180		
Subject 123	CAAGCATTATGAGGAGGAGCTCTTACGAGGAGCTTGTGAGGAGGAGCTGAGCTGAGCTGAGCT	182		
Query 181	TATCACAACCTCTATAAAGTATTAGAATGTGTATTCGATGTAAACGATCTATATACAAC	240		
Subject 183	TATCACAACCTCTATAAAGTATTAGAATGTGTATTCGATGTAAACGATCTATATACAAC	242		
Query 241	TTTCAGCAGCAGGATCTCTTGGCTCTGCAATGATGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG	300		
Subject 243	TTTCAGCAGCAGGATCTCTTGGCTCTGCAATGATGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG	302		
Query 361	AATGTGAATTCGAGAAATCAATGATCATCGAATCTTTGAAACGACCTTTCGCTCCCTTGG	360		
Subject 363	AATGTGAATTCGAGAAATCAATGATCATCGAATCTTTGAAACGACCTTTCGCTCCCTTGG	362		
Query 421	TATTCGAGGAGGATGAGCTGTTGAGGAGGATGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG	420		
Subject 423	TATTCGAGGAGGATGAGCTGTTGAGGAGGATGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG	422		
Query 481	GTTTGTAGGCTTGGACTTGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG	480		
Subject 483	GTTTGTAGGCTTGGACTTGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG	482		
Query 541	AAGCATTATGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG	600		
Subject 543	AAGCATTATGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG	602		
Query 601	CAAAATCAGGATGAGGATACCCGCTGAACCTTAAAGCATATCA 639			
Subject 603	CAAAATCAGGATGAGGATACCCGCTGAACCTTAAAGCATATCA 641			

شكل 1 التتابعات النيوكليوتيدية للعزلة المرجعية المودعة في بنك الجينات بالرقم التسلسلي MT581896.1 والتي تبين مواقع التغيرات مع العزلة المحلية *G.resinaceum*

**Ganoderma applanatum voucher KA17-0004 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1 and 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and internal transcribed spacer 2, partial sequence**

Sequence ID: [MN294816.1](#) Length: 627 Number of Matches: 2

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
750 bits(406)	0.0	412/415(99%)	0/415(0%)	Plus/Plus
Query 7	AGTAAAGTCGTAAAGGTTTCGTAAGTGAACCTGCGAAGGATCATTATCGAGTTT	66		
Subject 1	AGTAAAGTCGTAAAGGTTTCGTAAGTGAACCTGCGAAGGATCATTATCGAGTTT	68		
Query 67	GTCGGGTTGATGCTGGCTTTCGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG	126		
Subject 61	GATGGGTTGATGCTGGCTTTCGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG	120		
Query 127	GTCGACTTACTGAGGTTTACGGGCTGTAAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG	186		
Subject 121	GTCGACTTACTGAGGTTTACGGGCTGTAAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG	188		
Query 187	GCACCTGTTTCTGGGTTTATCACAACCTATAAAGTATCAGAATGTATTTGGATGT	246		
Subject 181	GCACCTGTTTCTGGGTTTATCACAACCTATAAAGTATCAGAATGTATTTGGATGT	248		
Query 247	AACGATTATATACAACCTTACGCAACGATCTCTTGGCTCTGSCATGATGAGGAGGAGGAGGAGGAGG	306		
Subject 241	AACGATTATATACAACCTTACGCAACGATCTCTTGGCTCTGSCATGATGAGGAGGAGGAGGAGGAGG	308		
Query 367	CAGCGAAATGCGATAAGTAAATGGAATTCAGAAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAGC	366		
Subject 361	CAGCGAAATGCGATAAGTAAATGGAATTCAGAAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAGC	368		
Query 367	GCACCTTGGCTCTCTTGGATTCGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG	426		
Subject 361	GCACCTTGGCTCTCTTGGATTCGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG	428		

شكل 2 التتابعات النيوكليوتيدية للعزلة المرجعية المودعة في بنك الجينات بالرقم التسلسلي MN294816.1 والتي تبين مواقع التغيرات مع العزلة المحلية *G.applanatum*

**Ganoderma sp. strain 16JL01-01 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence**

Sequence ID: **MN911333.1** Length: **628** Number of Matches: **1**

Score	Expect	Identical	Gaps	Strand
1133 bits(613)	0.0	622/628(99%)	1/626(0%)	Plus/Plus
Query 19	CC TCGGGGAAAGGATCATTATCGAGTTT	CGGGGTTGTAGC TGGCCCTCCGAGGCATG	78	
Subject 2	CC TCGGGGAAAGGATCATTATCGAGTTT	CGGGGTTGTAGC TGGCCCTCCGAGGCATG	61	
Query 70	CACGCCCTGCTCATCCACTTACACCT	CTGACCTTAC TGTGGGTTTAGATTGGAGGCA	138	
Subject 62	CACGCCCTGCTCATCCACTTACACCT	CTGACCTTAC TGTGGGTTTAGATTGGAGGCA	121	
Query 139	CGCTCTTTACCGGGTTGCGGAGGATAT	TGCTTGGCTTTCATCAAAATCTATAGAA	198	
Subject 122	CGCTCTTTACCGGGTTGCGGAGGATAT	TGCTTGGCTTTCATCAAAATCTATAGAA	181	
Query 199	TAACAGAAATGTGATTTATGTAAACAT	CATATACACCTTCAGCAAGGGATCTTT	258	
Subject 182	TAACAGAAATGTGATTTATGTAAACAT	CATATACACCTTCAGCAAGGGATCTTT	241	
Query 259	GGCTCTGCAATGATGAAAGGCAAGGAA	TGCGATAAAGTAATGTAATTCAGAAATTC	318	
Subject 242	GGCTCTGCAATGATGAAAGGCAAGGAA	TGCGATAAAGTAATGTAATTCAGAAATTC	301	
Query 318	AGTGAATCATCGAATCTTGAATGCACT	TTGGCTTCCGAGGAGCATGCTCT	378	
Subject 302	AGTGAATCATCGAATCTTGAATGCACT	TTGGCTTCCGAGGAGCATGCTCT	361	
Query 378	GTTTGAGTGCATGAAGCTTCAACCTA	CAGGCTTTGCTGGCTTGGACTTGG	437	
Subject 362	GTTTGAGTGCATGAAGCTTCAACCTA	CAGGCTTTGCTGGCTTGGACTTGG	420	
Query 438	AGGCTTGTGCGCCGTTATCGGGTGGC	TCTCTTAAATGCAATAGCTTGGCTTC	497	
Subject 422	AGGCTTGTGCGCCGTTATCGGGTGGC	TCTCTTAAATGCAATAGCTTGGCTTC	480	
Query 498	TCGGCTTCGATGTAATGTEATGCTCC	AGCCGTAAGGCTTTGGCGAGCTTCAAC	557	
Subject 482	TCGGCTTCGATGTAATGTEATGCTCC	AGCCGTAAGGCTTTGGCGAGCTTCAAC	540	
Query 558	CGCTCTATAGACAGCCTTATGACCTC	TGACCTCAAAATCAGGTAGGACTTAC	617	
Subject 542	CGCTCTATAGACAGCCTTATGACCTC	TGACCTCAAAATCAGGTAGGACTTAC	600	
Query 618	TTAAGCATATCAAAAGCTTGGAAAGG	643		
Subject 602	TTAAGCATATCAAAAGCTTGGAAAGG	627		

شكل 3 التتابعات النيوكليوتيدية للعزلة المرجعية المودعة في بنك الجينات بالرقيم التسلسلي MN911333.1 والتي تبين مواقع التغيرات مع العزلة المحلية *G.sp*

**Ganoderma oregonense strain 2560 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence**

Sequence ID: **MW748296.1** Length: **645** Number of Matches: **1**

Score	Expect	Identical	Gaps	Strand
1173 bits(636)	0.0	642/645(99%)	0/645(0%)	Plus/Plus
Query 1	TCOSTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATT	ATCGAGTTTGCACGGGCTTAGCTGGCCCTC	60	
Subject 1	TCOSTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATT	ATCGAGTTTGCACGGGCTTAGCTGGCCCTC	60	
Query 61	CCGAGGATGTCACCGCCCTGCTCATCC	CACTTACACCTGCTGACCTTACTGTGGGCTTCA	120	
Subject 51	CCGAGGATGTCACCGCCCTGCTCATCC	CACTTACACCTGCTGACCTTACTGTGGGCTTCA	120	
Query 121	GACSTGCTGAAGCGGGCTCTTACCGAG	CTGTAGAGCGTGTCTGTGCCCTGGCTTACCA	180	
Subject 121	GACSTGCTGAAGCGGGCTCTTACCGAG	CTGTAGAGCGTGTCTGTGCCCTGGCTTACCA	180	
Query 181	CAAACTCTATAAAGTATTGAAATGTTG	TGCGATGTAGCGATCTATGTACAACTTTC	240	
Subject 181	CAAACTCTATAAAGTATTGAAATGTTG	TGCGATGTAGCGATCTATGTACAACTTTC	240	
Query 241	GCAACGGATCTCTTGGCTCTCGCATCG	ATGANGAACCGCAAGTGCATAGTAATGT	300	
Subject 241	GCAACGGATCTCTTGGCTCTCGCATCG	ATGANGAACCGCAAGTGCATAGTAATGT	300	
Query 301	GAATTCAGGAATTCAGTGAATCATGAA	TCTTTGAAACGCACTTGGCTCTCTTGTATTTC	360	
Subject 301	GAATTCAGGAATTCAGTGAATCATGAA	TCTTTGAAACGCACTTGGCTCTCTTGTATTTC	360	
Query 361	CGAGGAGCATGCCCTTTGAGTGCATGA	AATCTTCAACTTACAAACCTTTCGCGGTTTC	420	
Subject 361	CGAGGAGCATGCCCTTTGAGTGCATGA	AATCTTCAACTTACAAACCTTTCGCGGTTTC	420	
Query 421	TAGGCTTGGACTTGGAGGCTTGTGGG	CGGTGTTTGGTGGCTCTCTTAAATGTAATAG	480	
Subject 421	TAGGCTTGGACTTGGAGGCTTGTGGG	CGGTGTTTGGTGGCTCTCTTAAATGTAATAG	480	
Query 481	CTTGAATCTCTTGGGATCGGCTCTCG	GTGTGAATGTCATGCGCTGACCGTGAAGGCT	540	
Subject 481	CTTGAATCTCTTGGGATCGGCTCTCG	GTGTGAATGTCATGCGCTGACCGTGAAGGCT	540	
Query 541	TTTGGCGAGCTTCAACCGTCTGTTTGT	TGAGACAGCTTATGACCTTGTACCTCAAACT	600	
Subject 541	TTTGGCGAGCTTCAACCGTCTGTTTGT	TGAGACAGCTTATGACCTTGTACCTCAAACT	600	
Query 601	AGGTAGGACTACCCGCGAACTTAAGCAT	TCAATTAAGCGGAGG 645		
Subject 601	AGGTAGGACTACCCGCGAACTTAAGCAT	TCAATTAAGCGGAGG 645		

شكل 4 التتابعات النيوكليوتيدية للعزلة المرجعية المودعة في بنك الجينات بالرقيم التسلسلي MW748296.1 والتي تبين مواقع التغيرات مع العزلة المحلية *G.oregonense*

Ganoderma cupreolaccatum strain CBS 221.48 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and internal transcribed spacer 2, partial sequence  
 Sequence ID: MH856316.1 Length: 613 Number of Matches: 1

Score	Expect	IdentPos	Gap	Strand
1125 bits(629)	0.0	612/613(99%)	1/613(0%)	Plus/Plus
Query 1	CGTACCAGGTTCCGGAGGTAAGCTTGGGGAAGGATCTTATGGATTTTGGCCGGTGG	68		
Subject 1	CGTACCAGGTTCCGGAGGTAAGCTTGGGGAAGGATCTTATGGATTTTGGCCGGTGG	68		
Query 61	GAACAGGCTTCGAGGCAAGGTCACACCCTGGTATTCCTTTCCCTTGGTCCACTTA	129		
Subject 61	GAACAGGCTTCGAGGCAAGGTCACACCCTGGTATTCCTTTCCCTTGGTCCACTTA	129		
Query 121	TGGGGGTTTAGGGCTCGGAAAGGAGCCCTTATTCGGGCTTGTAGGCGAATTTCT	189		
Subject 121	TGGGGGTTTAGGGCTCGGAAAGGAGCCCTTATTCGGGCTTGTAGGCGAATTTCT	189		
Query 181	GCTTCGCTTTGACCAACTCTATGAAGTATTAGAGTGTGATTCGAGTGTAGGCACT	249		
Subject 181	GCTTCGCTTTGACCAACTCTATGAAGTATTAGAGTGTGATTCGAGTGTAGGCACT	249		
Query 241	ATATACACTTCGACCAAGGATCTTGGCTCTGGATCGATGAGGAAGCAGCAGAAAT	309		
Subject 241	ATATACACTTCGACCAAGGATCTTGGCTCTGGATCGATGAGGAAGCAGCAGAAAT	309		
Query 361	GCGATAAGTATGTGAATTCAGAAATTCAGTGAATCATGAACTTTTGAAGGACCTTC	369		
Subject 361	GCGATAAGTATGTGAATTCAGAAATTCAGTGAATCATGAACTTTTGAAGGACCTTC	369		
Query 421	GTCTCTGGTATTCGAGGACAGCTCTTTGAGTGTGATGAACTTTCAGCTAGAG	429		
Subject 421	GTCTCTGGTATTCGAGGACAGCTCTTTGAGTGTGATGAACTTTCAGCTAGAG	429		
Query 481	CTTTTGTGGTCTAGGCTTGAAGCTTGAAGCTTCTTGGCTTCTGGTCCACTCTC	489		
Subject 481	CTTTTGTGGTCTAGGCTTGAAGCTTGAAGCTTCTTGGCTTCTGGTCCACTCTC	489		
Query 541	TTAAATATATAGCTGGTCTCTGGATGAGTCTGCGGTGATATGCTACTCCGG	549		
Subject 541	TTAAATATATAGCTGGTCTCTGGATGAGTCTGCGGTGATATGCTACTCCGG	549		
Query 599	GACCTGAAGGCTTTGGCAGGTTTAAACCGTCTGATTTAGAGCAAAATATAGCTC	599		
Subject 599	GACCTGAAGGCTTTGGCAGGCTTAAACCGTCTGATTTAGAGCAAAATATAGCTC	599		
Query 601	TGACCTACATGA 612			
Subject 601	TGACCTACATGA 613			

شكل 5 التتابعات النيوكليوتيدية للعزلة المرجعية المودعة في بنك الجينات بالرقم التسلسلي MH856316.1 والتي تبين مواقع التغيرات مع العزلة المحلية *G.cupreolaccatum*

Ganoderma tuberculosum isolate PLM 540 (MLE) small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence  
 Sequence ID: KY846216.1 Length: 788 Number of Matches: 1

Score	Expect	IdentPos	Gap	Strand
1192 bits(645)	0.0	647/648(99%)	0/648(0%)	Plus/Plus
Query 1	GTAAAGGCTCTAAAGAGTTCTCTGGTGAAGCTCCGGAAGGATCATGCTGGTCTTG	62		
Subject 1	GTAAAGGCTCTAAAGAGTTCTCTGGTGAAGCTCCGGAAGGATCATGCTGGTCTTG	60		
Query 61	ACTGGCTTGTGGTGGCTCTCCAGGATGTCAGCCCTTCCTCCTCCTTGGACTCTG	122		
Subject 61	ACTGGCTTGTGGTGGCTCTCCAGGATGTCAGCCCTTCCTCCTCCTTGGACTCTG	120		
Query 121	TGCACTGACTGTGGCTTCAGATGTCGTGAGGCGGGCTCTTACCGGGCTTGTAGCG	189		
Subject 121	TGCACTGACTGTGGCTTCAGATGTCGTGAGGCGGGCTCTTACCGGGCTTGTAGCG	189		
Query 181	GTGTCTGTGCTTCGCTTAACTACAAACTATTAAATATCAGAAATGCTATTTGATATA	242		
Subject 181	GTGTCTGTGCTTCGCTTAACTACAAACTATTAAATATCAGAAATGCTATTTGATATA	240		
Query 241	CGAATCTATATACAACTTTCAGCAAGGATCTCTGGCTCTGGATGATGAAAGAGCGA	302		
Subject 241	CGAATCTATATACAACTTTCAGCAAGGATCTCTGGCTCTGGATGATGAAAGAGCGA	300		
Query 361	GTAAAGTTCGATTAAGTAAATGAGGATTCAGTGAATCATGAACTTTTGAAGC	362		
Subject 361	GTAAAGTTCGATTAAGTAAATGAGGATTCAGTGAATCATGAACTTTTGAAGC	360		
Query 421	ACTTGGCTCTCTGGTCTCCAGGAGGCTGGCTTCTTGGATCTCAGGAGCTTCAAC	422		
Subject 421	ACTTGGCTCTCTGGTCTCCAGGAGGCTGGCTTCTTGGATCTCAGGAGCTTCAAC	420		
Query 481	CTGCAAGTATTGTGCTTTGAGCTTGGACTTGGGGCTTTGTGGCCATGCCGGTGG	482		
Subject 481	CTGCAAGTATTGTGCTTTGAGCTTGGACTTGGGGCTTTGTGGCCATGCCGGTGG	480		
Query 541	GTCTCTCAAAATGATTAAGCTTGGTCTCTGGATGAGCTCTGGGTTGATATGCT	542		
Subject 541	GTCTCTCAAAATGATTAAGCTTGGTCTCTGGATGAGCTCTGGGTTGATATGCT	540		
Query 601	AGCCCTGAGGCTTGGGCTTTGAGGCTTCTGATGCTCTGGTGGAGGAGCTTTTAT	602		
Subject 601	AGCCCTGAGGCTTGGGCTTTGAGGCTTCTGATGCTCTGGTGGAGGAGCTTTTAT	600		
Query 661	GACTCTGAGCTCAAACTCAAGTACAGCTACCGCTGAATTAAGCATA 608			
Subject 661	GACTCTGAGCTCAAACTCAAGTACAGCTACCGCTGAATTAAGCATA 608			

شكل 6 التتابعات النيوكليوتيدية للعزلة المرجعية المودعة في بنك الجينات بالرقم التسلسلي MH856316.1 والتي تبين مواقع التغيرات مع العزلة المحلية *G.tuberculosum*



**Ganoderma adpersum** voucher FBozok0505 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1 and 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and internal transcribed spacer 2, partial sequence  
 Sequence ID: [MT338615.1](#) Length: 647 Number of Matches: 1

Query	Expect	Ident	Gap	Strand
1184 Mt(641)	0.0	645/647(99%)	0/647(0%)	Plus/Minus
Query 1	CTTGGGCAATTTGGAGGAAGTAAATTTGCTACCAAGTTTCGGTAGGGGACCTTGGGGAA	68		
Sbjct 1	CTTGGGCAATTTGGAGGAAGTAAATTTGCTACCAAGTTTCGGTAGGGGACCTTGGGGAA	68		
Query 61	GGTCTTTATGGACTTGGATTGGGTGGAAAGCGCCCTTACGAGGCAATGTGACGCCCTG	120		
Sbjct 61	GGTCTTTATGGACTTGGATTGGGTGGAAAGCGCCCTTACGAGGCAATGTGACGCCCTG	120		
Query 121	CTCATCOBCTCTACACCTGTGCATTTACTGTGGTTTACGATCGGAAACGGCCCGT	180		
Sbjct 121	CTCATCOBCTCTACACCTGTGCATTTACTGTGGTTTACGATCGGAAACGGCCCGT	180		
Query 181	TCATTGGGCTTGTGGAGCGACTTGTTCCTGCTTTATACAACTCTATAAGTATT	240		
Sbjct 181	TCATTGGGCTTGTGGAGCGACTTGTTCCTGCTTTATACAACTCTATAAGTATT	240		
Query 241	AGAAATGTTATGGATGTAAACCATCTATACAACTTTCAGCAACGGATCTCTGGCT	300		
Sbjct 241	AGAAATGTTATGGATGTAAACCATCTATACAACTTTCAGCAACGGATCTCTGGCT	300		
Query 301	CTGGCATGATGAAAGCGAGCGAAATCGGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATG	360		
Sbjct 301	CTGGCATGATGAAAGCGAGCGAAATCGGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATG	360		
Query 361	AATCATGAACTCTTGAACGCACTTGGCTCTCTGGTATTCGGAGGACATGCTGTTT	420		
Sbjct 361	AATCATGAACTCTTGAACGCACTTGGCTCTCTGGTATTCGGAGGACATGCTGTTT	420		
Query 421	GAGTGTATGAACTTCAACTTACGACTTCTTCGGAGGTTTCTAGGGTTGGAACTTGA	480		
Sbjct 421	GAGTGTATGAACTTCAACTTACGACTTCTTCGGAGGTTTCTAGGGTTGGAACTTGA	480		
Query 481	GGCTTGTGGTCTTTAAAGGTGGCTCTCTTAAATGCAATTAGCTTGGTCTTGGAT	540		
Sbjct 481	GGCTTGTGGTCTTTAAAGGTGGCTCTCTTAAATGCAATTAGCTTGGTCTTGGAT	540		
Query 541	EGGGTGTGGTGTGATGATGTACGCGCGACCGTGAAGCGTTTGGCAACTCTAAE	600		
Sbjct 541	EGGGTGTGGTGTGATGATGTACGCGCGACCGTGAAGCGTTTGGCAACTCTAAE	600		
Query 601	CGTCTCGATATAGAGCAAGTTTATGACTCTGACTTCAATCAGG	647		
Sbjct 601	CGTCTCGATATAGAGCAAGTTTATGACTCTGACTTCAATCAGG	647		

شكل 9 التتابعات النيوكليوتيدية للعزلة المرجعية المودعة في بنك الجينات بالرقم التسلسلي AM906057.1 والتي تبين مواقع التغيرات مع العزلة المحلية *G.adpersum*

**Ganoderma lucidum** strain BEOFB-434 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence  
 Sequence ID: [KX371596.1](#) Length: 864 Number of Matches: 1

Query	Expect	Ident	Gap	Strand
1010 Bnt(508)	0.0	855/864(99%)	2/864(0%)	Plus/Minus
Query 14	CTACTTATTTTAMTTCAGAGTCTATAGACTCTCTGAGAGGAGAGCGTTGAGATCT	71		
Sbjct 14	CTACTTATTTTAMTTCAGAGTCTATAGACTCTCTGAGAGGAGAGCGTTGAGATCT	71		
Query 74	GCAGAGGCTTCAAGTGTGGGCTGGAGATTATGACAGTGGAGGCGGACCGAGGGA	131		
Sbjct 74	GCAGAGGCTTCAAGTGTGGGCTGGAGATTATGACAGTGGAGGCGGACCGAGGGA	131		
Query 134	ATTGACTTATGCTTTAGAGGATGATGAAAGCGGCGAGGCGGCTCTAGCTCT	191		
Sbjct 134	ATTGACTTATGCTTTAGAGGATGATGAAAGCGGCGAGGCGGCTCTAGCTCT	191		
Query 194	AGCTCTACTGCTGAGAGGCTTGGAGTGGAGTTTCTGACACTGATAGGCTCT	251		
Sbjct 194	AGCTCTACTGCTGAGAGGCTTGGAGTGGAGTTTCTGACACTGATAGGCTCT	251		
Query 254	CTCTCGAGTACAGAGGCTGAGGTTCTTAAAGTGTGATTTACTTCAATCTCT	311		
Sbjct 254	CTCTCGAGTACAGAGGCTGAGGTTCTTAAAGTGTGATTTACTTCAATCTCT	311		
Query 314	GAATTCATATGACTTGTGATTTGGTGGCTTGTGATGATGATGATGATGATGATGATG	371		
Sbjct 314	GAATTCATATGACTTGTGATTTGGTGGCTTGTGATGATGATGATGATGATGATGATG	371		
Query 374	TGGTTCGAAAGTTTATATAGAGTCTTACTGGCAATACAGCTTCTATACTTAT	431		
Sbjct 374	TGGTTCGAAAGTTTATATAGAGTCTTACTGGCAATACAGCTTCTATACTTAT	431		
Query 434	AGAGTGTATGACAGGAGGCTGAGGCTGGGCTTTCAGGCTCTTAAAGGCGG	491		
Sbjct 434	AGAGTGTATGACAGGAGGCTGAGGCTGGGCTTTCAGGCTCTTAAAGGCGG	491		
Query 494	TTCAAGCTTGGAGCTCAGACTGATGCTACAGGCTTGAAGTGTGATAGGCTCT	551		
Sbjct 494	TTCAAGCTTGGAGCTCAGACTGATGCTACAGGCTTGAAGTGTGATAGGCTCT	551		
Query 554	ACATCTTGGAGGCTGAGGCTGAGGCTGGGCTTTCAGGCTCTTAAAGGCGG	611		
Sbjct 554	ACATCTTGGAGGCTGAGGCTGAGGCTGGGCTTTCAGGCTCTTAAAGGCGG	611		
Query 611	CGGCTTGGAGG	625		
Sbjct 611	CGGCTTGGAGG	625		

شكل 10 التتابعات النيوكليوتيدية للعزلة المرجعية المودعة في بنك الجينات بالرقم التسلسلي KX371596.1 والتي تبين مواقع التغيرات مع العزلة المحلية *G.lucidum*

## ملحق (2)

الموضوع GenBank MW471402-  
MW471411  
من <gb-admin@ncbi.nlm.nih.gov>  
إلى: <shimal\_y@yahoo.com>,  
<shimalyounis2018@gmail.com>  
التاريخ ١٢ كانون الثاني الساعة ٨:٥٠ م

Dear GenBank Submitter:

Thank you for your direct submission of sequence data to GenBank. We have provided GenBank accession number(s) for your nucleotide sequence(s):

SUB8874330 Seq1	MW471402
SUB8874330 Seq2	MW471403
SUB8874330 Seq3	MW471404
SUB8874330 Seq4	MW471405
SUB8874330 Seq5	MW471406
SUB8874330 Seq6	MW471407
SUB8874330 Seq7	MW471408
SUB8874330 Seq8	MW471409
SUB8874330 Seq9	MW471410
SUB8874330 Seq10	MW471411

GenBank accession numbers should appear in any publication that reports or discusses the data, as it gives the community a unique label with which they may retrieve your data from our online servers.

Based on the data submitted to us, the scheduled release date for your submission is:

Jan 18, 2021

The entire sequence will be released when the article citing this accession number(s) is published or on the above release date, whichever comes first. If this date is not correct, please let us know as soon as possible, otherwise this submission will be released on the

date indicated above. The data will become available from our different servers within a few days of release and are simultaneously made available to ENA in Europe and the DNA Data Bank of Japan.

A copy of your revised files can be viewed at

<https://submit.ncbi.nlm.nih.gov/subs/?search=SUB8874330>

The accession number link in the Submission Portal will not be active until a few days after the public release of the sequences.

Changes may have been made to your original submission in order to conform to database annotation conventions including:

- Strings of N's, low quality sequence, vector or linker trimmed from ends
- Feature spans corrected and descriptions modified for all feature types including coding regions
- Nomenclature edited to 'official' gene names, product labels, etc.
- Exon spans adjusted to conform to the splice donor/acceptor consensus sequences, GT and AG, respectively
- Any mRNA or ribosomal RNA sequences submitted on the minus-strand have been reverse-complemented
- Taxonomic and source data edited, including unpublished organism names changed to temporary names.

Please notify us when the organism names are published and we will update them accordingly.

If you have included voucher, culture collection or biomaterial information within your submission, the controlled list of institution codes can be found at:

[ftp://ftp.ncbi.nlm.nih.gov/pub/taxonomy/coll\\_dump.txt](ftp://ftp.ncbi.nlm.nih.gov/pub/taxonomy/coll_dump.txt)

If the codes in your submission have been interpreted incorrectly, please notify us.

If your submission needs revision, do not submit a new sequence. Instead, please follow the directions to update a sequence record at:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Genbank/update.html> Since the flatfile

record is a display format only and is not an editable format of the data, do not make changes directly to a flatfile.

Send properly formatted updates

to: [gb-admin@ncbi.nlm.nih.gov](mailto:gb-admin@ncbi.nlm.nih.gov)

Sincerely,

GenBank Direct Submission Staff

[gb-admin@ncbi.nlm.nih.gov](mailto:gb-admin@ncbi.nlm.nih.gov)

## Abstract

Seeking to achieve our scientific progress, it had been important to find safe alternatives from nature to be used as antibiotics and medicines to maintain human health far from serious diseases. Therefore, with a main support from Fungi Laboratory in the Research Centre of Department of Biology, College of Education for Pure Sciences, Mosul University/ Iraq .The study It included a field survey of the *Ganoderma* white-rot fungi, which are living among various types of trees and crops in Ninevah for the period (July 2019 – January 2020). The study came up with fruiting bodies in different distributions, numbers, and families. The isolates were identified molecularly through the chain polymerase reaction based on specific primers of ITS gene by (650 base-pair) fasciculus in each. The nucleotide sequences indicated isolates of *Ganoderma resinaceum* , *G.applanatum* , *G.sp* , *G.oregonense* , *G.cupreolaccatum* , *G.tuberculosisum* , *G.curtisii* , *G.cf.resinaceum* , *G.adspersum* , *G.lucidum*,it's recorded for the first time in Iraq and in Gene bank.

To know the content of the natural compounds kept in some fungi. Three types of obtained fungi species, *G.curtisii*, *G.cupreolaccatum* and *G.oregonense* were selected to extract active compounds by using sequential solvents. Initially the non-polar solvents, petroleum ether and chloroform, were used and then followed by using semi-polar solvent, Acetone, and finally using a polar solvent, IMS. This process is performed with the extractor, Soxhlet, and then the extraction is done with hot water. Various types of fatty acids were identified by using Gas Liquid Chromatograph (GLC). Fifteen fatty acids are extracted from the selected fungi: Butyric acid , Myristic, Palmaitic- acid, Hepadecanoic, Stearic acid, Oleic acid, Enolic acid, Eicosenoic acid, Arachidic acid, Linolenic acid, Erucic acid, Arachidonic acid, Tricosanoic acid, Cisdocosadienoic, and Nervonoic. High- Performance Liquid

Chromatography (HPLC) was also used for identifying phenolic compounds: Kaempferol, Quercetin, Catchin, Rutin, Apigenin, Vanillic acid, Cumarine, Caffeic acid, and Ferulic acid

Volatile oils were also identified with Gas Liquid Chromatograph (GLC) after extraction with a modified Clevenger. Eight of them were observed: Camphor, Sabinene, Terpinen, Myrcene, Limonene, Cineole, Linalool, and Alph-Pinene. However, Amino acid analysis device showed that the selected fungi isolates contain various acids: Aspartic acid, Glutamic acid, Serine, Glycine, Threonine, Phenylalanine, Arginine, Isoleucine, Cysteine, methionine, Leucine, and Proline.

To estimate the antimicrobial activity against of some pathogenic bacteria, the different extractions showed an inhibition activity after 24 hours. This inhibition was varied per the extract type, concentration, and tested bacteria type. In addition, it was obvious that petroleum ether of fatty acids extracted from *G.oregonense* had an inhibitory activity of 41 mm at 400mg/ml against *Escherichia coli*. However, phenolic compounds extracted from *G.cupreolaccatum* by using acetone showed the most inhibition against *Staphylococcus aureus* which showed a decomposition diameter of 38 mm at the concentration of 400 mg/ml. As the volatile oil extracted from the fungus isolate *G.curtisii* had a decomposition diameter of 43mm against *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli* at the above concentration,  $\beta$ -glucan also approved its inhibition for the harmful bacteria in 46mm of the decomposition against *Escherichia coli*.

Anti-oxidant activity, on the other hand, showed the effective role of the different fungus extracts in DPPH free radical scavenging. The phenol which was extracted by the IMS solvent from the fruiting body of *G.cupreolaccatum* had the maximum of inhibiting 79.85% at the

concentration 800 mg/ml, compared with the standard anti-oxidant Vitamin C which was 62.46% at the same concentration.

The results of The Cytotoxicity test with MTT technology of the caffeic acid purified from *G. cupreolaccatum* on the cell line of Hep G2 and the natural cell line, WRL68, using different concentrations 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0 mg/ml, revealed a high toxic effect of caffeic acid on the cell line of hepatitis cancer. The inhibition percentage was increasing with the rise of the used acid concentration which was 57% at the concentration of 3.0 mg/ml, while there was not any effect for the purified acid on the natural cell line. Instinctively, the toxicity results of  $\beta$ -glucan purified from *G.curtisii*, on the same cancer line, showed toxicity differences among the used concentrations of purified sugar. However, the toxicity increases when the sugar concentration increases too. The former can also affect the percentage of cancer cell inhibition. The highest inhibition 52% was at the concentration of 3.0 mg/ml, while cancer cell inhibition percentage was 14% at the lowest concentration 1.0mg/ml. Cytotoxicity test observed also the changes that occurred on the hepatitis cell line such as : cell permeability, cell number, nuclear content, as well as mitochondria membrane permeability and its release of the cytochrome. The ever hardest step, with great belief in the ability of the purified caffeic acid, the experiment was successfully accomplished. The extract of purified caffeic acid had a clear effect on the cell indications with using high concentrations. The permeability of the cell membrane was increased to be 41% at the highest concentration of 200mg/ml, as living cells decreased to be 58% on the same dose. An enormous effect was also shown in the nuclear density at the concentration 200, 100, 50 mg/ml respectively to be 47, 37.3, and 23.2%, compared with treatment control. Adding that, a decrease of the mitochondria membrane permeability was observed to help in releasing its cytochrome at high concentration on the

purified extract, while there was no effect at low concentrations. Similarly, worth mentioning that pursuing the effects of the purified  $\beta$ -glucan on cell indications revealed: increasing the cell membrane permeability and its nuclear content, increasing cell number inhibition, and increasing the mitochondria membrane permeability and releasing its cytochrome at high concentration. At last, this has led cells to programmed cell death. Thus, this has been a great scientific accomplishment for the treatment of cancer.

**University of Mosul**

**College of Education for Pure Sciences**



**Separation and Identification of Some  
Secondary Metabolite Compounds from of  
Some Species of the Fungi *Ganoderma* Genus  
and Antibacterial, Antioxidant and Anticancer  
Valuation. Nineveh / Iraq**

**Hiba Fires Saadoon Altaii**

**Ph.D.Thesis**

**Biology**

**Supervised by**

**Prof.**

**Dr. Ayad Chachan**

**2021 A.D.**

**Assist. Prof.**

**Dr. Shimal Y.Abdul-Hadi**

**1443A.H.**