وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة كربلاء
كلية التربية للعلوم الصرفة
قسم علوم الحياة

تقييم فاعلية بعض الرواشح الفطرية العادية والنانوية ضد الفطرالأسود *Rhizopus stolonifer* خارج الجسم الحي

رسالة مقدمة

إلى مجلس كلية التربية للعلوم الصرفة/جامعة كربلاء وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة/علم النبات-فطريات

من قبل
نبأ محمد عبيس
بكالوريوس علوم حياة/ كلية التربية
جامعة القادسية-٢٠٠٦
بأشراف
أ.د. بان طه محمد
جامعة كربلاء / كلية التربية للعلوم الصرفة

آذار ٢٠٢٣م رمضان ١٤٤٤هـ

﴿ يَرْفَعِ اللَّهُ الَّذِينَ آمَنُوا مِنْكُمْ وَالَّذِينَ أُوتُوا الْعِلْمَ دَرَجَاتٍ ﴾

صدق اللة العلي العظيم

المجادلة أية ١١

إقرار المقوم اللغوي

أشهدُ إن هذه الرسالة الموسومة (**تقييم فاعلية بعض الرواشح الفطرية العادية والنانوية ضد الفطر الأسود *Rhizopus stolonifer* خارج الجسم الحي**) تمت مراجعتها من الناحية اللغوية وتصحيح ما ورد فيها من أخطاء لغوية وتعبيرية وبذلك أصبحت الرسالة مؤهلة للمناقشة بقدر تعلق الأمر بسلامة الأسلوب وصحة التعبير .

التوقيع:

الاسم: مسلم مالك الأسدي

المرتبة العلمية: استاذ دكتور

الكلية والجامعة: كلية العلوم الإسلامية - جامعة كربلاء

التاريخ: / / ٢٠٢٣

إقرار المشرف على الرسالة

نشهد أن أعداد هذه الرسالة (**تقييم فاعلية بعض الرواشح الفطرية العادية والنانوية ضد الفطرالأسود *Rhizopus stolonifer* خارج الجسم الحي**) قد جرى تحت أشرافنا في قسم علوم الحياة/ كلية التربية للعلوم الصرفة/ جامعة كربلاء/ وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في الفطريات / علم النبات .

التوقيع:

الاســـم: أ.د بان طه محمد

المرتبة العلمية:

العنوان: كلية التربية للعلوم الصرفة/ جامعة كربلاء

التاريخ: / /٢٠٢٣

توصية رئيس قسم علوم الحياة

أشارة الى التوصية أعلاه من الأستاذ المشرف، أحُيل هذه الرسالة الى لجنة المناقشة لدراستها وبيان الرأي فيها.

التوقيع:

الاســم: أ. د. نصير ميرزا حمزة

المرتبة العلمية: أستاذ

العنوان: كلية التربية للعلوم الصرفة/ جامعة كربلاء

التاريخ: / /٢٠٢٣

إقرار لجنة المناقشة

نحن أعضاء لجنة المناقشة الموقعين أدناه نشهد بأننا قد أطلعنا على الرسالة الموسومة (**تقييم فاعلية بعض الرواشح الفطرية العادية والنانوية ضد الفطر الأسود *Rhizopus stolonifer* خارج الجسم الحي**) المقدمة من قبل الطالبة (نبأ محمد عبيس) كجزء من متطلبات نيل درجة الماجستير قسم علوم الحياة / كلية التربية للعلوم الصرفة /جامعة كربلاء، وبعد أجراء المناقشة العلمية وجد أنها مستوفية لمتطلبات الشهادة وعليه نوصي بقبول الرسالة بتقدير ( ).

عضو لجنة المناقشة

التوقيع :

الاسم : أ.د. جابر غازي عبد الحسن

المرتبة العلمية : استاذ

مكان العمل : كلية الزراعة / جامعة كربلاء

التاريخ : / /٢٠٢٣

رئيس لجنة المناقشة

التوقيع :

الاسم : أ.د. نيران عبيد جاسم

المرتبة العلمية : استاذ

مكان العمل : جامعة القادسية / كلية العلوم

التاريخ : / /٢٠٢٣

عضو لجنة المناقشة

التوقيع :

الاسم : د. زهير حميد عبود

المرتبة العلمية : استاذ مساعد

العنوان : كلية العلوم / جامعة كربلاء

التاريخ : / /٢٠٢٣

المشرف

التوقيع :

الاسم : أ.د. مازن طه محمد

المرتبة العلمية : استاذ

العنوان : جامعة كربلاء / كلية التربية للعلوم الصرفة

التاريخ : / /٢٠٢٣

مصادقة عمادة كلية التربية للعلوم الصرفة

التوقيع :

الاسم : الاستاذ الدكتور حميدة عيدان سلمان عميد كلية التربية للعلوم الصرفة

المرتبة العلمية :

التاريخ : 23/ 7/٢٠٢٣

الإهداء

إلى من قاد قلوب البشرية وعقولهم إلى مرفأ الأمان، معلم البشرية الأول محمد صلى اللة عليه واله وسلم...

إلى ولينا وشفيعنا، قسيم الجنة والنار علي بن أبي طالب عليه السلام...

إلى الولي المنتظر الحجة أبن الحسن عجل الله تعالى فرجه الشريف..

إلى والدتي الغالية ووالدي العزيز....

إلى من كان ظلي حين كان يلفحني التعب، زوجي المخلص..

إلى بذرة الأمل وأمل الغد، أولادي الأحبة.. وسام، أحمد، علي

إلى أختي الغالية.. أيمان..

إلى صديقتي.. منى..

إلى شهداء العراق الأبرار...

إلى كل يد وقلب سار معي درب الأنجاز لأكون ...

إلى كل هؤلاء أهدي هذه الدراسة، راجية من الله أن تكون نافذة علم وبطاقة معرفة ...

نبأ

شكر وتقدير

الحمد والشكر لله جل علاه، إليه ينسب كل الفضل

بعد رحلة بحث وجهد تكلل بإنجاز هذا البحث، لا يسعني الأ أن أخص بأسمى عبارات الشكر والتقدير للأستاذ الدكتورة بان طه محمد لما قدمته لي من جهد ونصح ومعرفة طيلة إنجاز هذا البحث..

وأقدم جزيل شكري وتقديري إلى رئاسة قسم علوم الحياة وأساتذتي الأفاضل لتعاونهم اللامحدود أثناء الدراسة...

وشكري وأمتناني للدكتورة شروق كاني ياسين والست نضال وهاب حميد والدكتورة ميساء تقي عبدالحسن لما كان لهن من نصائح وتوجيهات، والست منى جابر نعمة، رفيقة دربي.

وأتوجه بشكري وأمتناني إلى الست زينب حسين عذاب..

وتعجز كلمات الشكر لمن شد أزري وأنار دربي، زوجي الحبيب وأمي وأبي وأخواتي متمنية لهم دوام الصحة والعافية ..

والشكر والأمتنان لجميع الأساتذة وطلبة الدراسات العليا في كلية التربية للعلوم الصرفة..

وأخيرا أود أن أشكر كل من ساعدني ولو بكلام طيب ولم أستطع ذكر أسمائهم ...

نبأ

الخلاصة Summary

أجريت الدراسة في مختبرالدراسات العليا بكلية التربية للعلوم الصرفة في جامعة كربلاء خلال الفترة من ٢٠٢١/١١/١٥ لغاية ٢٠٢٢/٨/١٥. بهدف السيطرة على الفطر المسبب لمرض العفن الأسود بإستخدام ظاهرة التضاد الفطري مع الفطريات المعزولة من قشع sputum بعض الأشخاص الذين تعافوا من الإصابة بكوفيد ١٩. مع أمكانية تحويل الفضة والزنك من الحالة المعدنية الى حالة نانوية باستخدام تلك الرواشح الفطرية .

تضمنت الدراسة تشخيص أربع عشرة فطرا معزولا من قشع أشخاص تعافوا من الإصابة بكوفيد ١٩ تشخيصا تقليديا ؛ ثم شخصت جزيئيا بإستخدام تقنية تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR) بالإعتماد على بواديء (Primers) خاصة بالتشخيص الجزيئي .

تم تسجيل الفطريات بالبنك الجيني العالمي Genbank وتعد هذه الدراسة كأول دراسة تعنى بهذا العمل على مستوى العراق والمنطقة . وهذه الفطريات هي *Rhizopus americanus* ورقمه التسلسلي ON٩٨١١٠٦ والفطر *Rhizopus stolonifer* ورقمه التسلسلي ON٩٨١٠٩٧ والفطر *Aspergillus brasiliensis* ورقمه التسلسلي ON٩٨١١٠٤ والفطر *Aspergillus costaricensis* ورقمه التسلسلي ON٩٨١١٠٢ والفطر *Aspergillus flavus* ورقمه التسلسلي ON٩٨١٢٩٧ والفطر *Aspergillus minisclerotigenes* ورقمه التسلسلي ON٩٨١١٠١ والفطر ١ *Aspergillus niger*ورقمه التسلسلي ON٩٨١٠٩٨ والفطر ٢ *Aspergillus niger* ورقمه التسلسلي ON٩٨١١٠٧ والفطر ٣ *Aspergillus niger* ورقمهالتسلسلي ON٩٨١١٠٥ والفطر *Aspergillus oryzae* ورقمه التسلسلي ON٩٨١٢٩٥ والفطر *Aspergillus piperis* ورقمه التسلسلي ON٩٨١١٠٣ والفطر ١ *Aspergillus tubingensis* رقمه التسلسلي ON٩٨١١٠١ والفطر ٢ *Aspergillus tubingensis* رقمه التسلسليON٩٨١٢٩٦ والفطر *Aspergillus welwitschiae* رقمه التسلسلي ON٩٨١٠٩٩.

أظهرت النتائج التقارب والتشابه بين الفطريات المسجلة مع العزلات العالمية . وتم التركيز على ظاهرة التضاد الفطري للفطريات المعزولة من البلغم، فضلا عن بعض الفطريات الجلدية التي تم الحصول عليها من تجارب سابقة .

بينت نتائج التضاد الفطري حصول تباين في القدرة التضادية للفطريات المستخدمة في الدراسة مع فطر *R. stolonifer* ، أذ بلغت ٣ حسب مقياس Bell بعد زراعتها على الوسط الزرعي سايبروايد دكستروز أكار(SDA) بدرجة حرارة ٢٨ ° م لمدة خمسة أيام . ومن ثم تنقيتها وتحويلها إلى رواشح فطرية .

أوضحت النتائج وجود فروقات معنوية عند مستوى أحتمالية ٠.٠٥ لنوع مستخلص الفطر وتركيزه إذ لوحظ تذبذب تأثيرالرواشح الفطرية لكن بصورة عامة جميعها قد ثبطت نمو الفطر *R. stolonifer* مقارنة بمعاملة السيطرة التي أعطت معدل نمو قطري للفطر ٨.٠ سم بعد خمسة ايام من الحضن بدرجة حرارة ٢٨ ° م . أظهر الراشح الفطري بالتركيز٧٥% تفوقا في تأثيره التثبيطي على التراكيزالاخرى ١٠٠%،٥٠%، ٢٥ % في نمو *R. stolonifer*. وبفروقات معنوية عند مستوى أحتمالية ٠.٠٥ ، إذ أعطى معدل نمو الفطر ٢.٥٧١ سم وبنسبة تثبيطية ٦٨% مقارنة ببقية

التراكيز ١٠٠%، ٥٠% ،٢٥% التي أعطت معدل نمو للفطر على التوالي ٣.١١٩، ٦.١٤٣، ٣.٦١٩ سم وبنسب تثبيطية ٦١%،٢٣%،٥٥%.

خضعت جميع الرواشح النانوية بعد استخدام الرواشح الفطرية في تحويل الفضة والزنك المعدني الى نانوي إلى الأختبارات وكان أول نقطة تحول إلى راشح نانوي هو الدالة اللونية وأختلاف في لون الراشح النانوي عن الراشح العادي قبل المعاملة بأوكسيد الزنك أو نترات الفضة ومن ثم إجريت الفحوصات الأخرى المتعلقة بتأكيد الحصول على المادة النانوية منها فحص الأشعة فوق البنفسجية والأشعة تحت الحمراء.

أوضحت النتائج وجود فروقات معنوية عند مستوى أحتمالية ٠.٠٥ لنوع راشح الفطرالنانوي بالزنك وتركيزه والتداخلات الثنائية في معدل قطر مستعمرة الفطر *R. stolonifer.* إذ أظهرت النتائج تذبذب في تأثير الرواشح ، ولكن بصورة عامة جميع الرواشح الفطرية ثبطت نمو الفطر *R. stolonifer* . أما تركيز الراشح الفطري بالزنك النانوي فقد أظهر التركيز ٢٥% تفوقا على التراكيز ٥٠% ، ٧٥% ، ١٠٠% في تأثيره التثبيطي في نمو الفطر *R. stolonifer* وبفروقات معنوية عند مستوى ٠.٠٥ ، إذ أعطى معدل نمو الفطر ٠.٧٣٨ سم وبنسبة تثبيطية ٩١% مقارنة ببقية التراكيز ٥٠ %،٧٥% ، ١٠٠% التي أعطت معدل نمو للفطر ١.٣١٠، ١.٨٥٧ ، ١.٨٣٣سم على التوالي وبنسب تثبيطية مقدارها ٨٤% ، ٧٧%، ٧٧% . أما معاملة السيطرة فقد أعطت معدل نمو قطري للفطر ٨.٠ سم . كذلك أظهرت النتائج هناك فروقات معنوية عند مستوى أحتمالية ٠.٠٥ لنوع راشح الفطرالنانوي بالفضة وتركيزه ، اذ أظهرت النتائج تذبذبا في تأثير الرواشح لكن بصورة عامة جميعها ثبطت نمو الفطر *R. stolonifer* . من حيث تركيز الراشح الفطري النانوي أظهر التركيز ٥٠% تفوقا على التراكيز ٢٥%،٧٥%،١٠٠% في تأثيره التثبيطي على نمو *R. stolonifer* وبفروقات معنوية عند مستوى أحتمالية ٠.٠٥ ، أذ أعطى معدل نمو الفطر ٢.٤٠٥ سم وبنسبة تثبيطية ٧٠% مقارنة ببقية التراكيز التي أعطت معدل نمو٨ ،٢.٧١٤، ٥ سم على التوالي وبنسب تثبيط صفر ،٦٦% ،٣٨% على التوالي ، مقارنة معاملة السيطرة التي أعطت معدل نمو قطري ٨.٠ سم .

أجريت العديد من الفحوصات المجهرية على فطر*RhizopusR. stolonifer* المعامل بالرواشح الفطرية والمحاليل النانوية وأوضحت تأثير المعاملات المختلفة وتباين هذا التأثير بين تحلل أو تشوهات في الغزل الفطري وتجزء البروتوبلازم وتكتله في مناطق أخرى فضلا عن التشوهات في الحوافظ البوغية وأختلاف أحجامها ونضجها.

فهرس المحتويات

المحتويات

الخلاصةSummary ..... أ-ب

الفصل الاول: المقدمة ١

1.1 المقدمة Introduction ١

2.1 الهدف من الدراسة: ٢

3.1 محاور الدراسة : ٢

الفصل الثاني : أستعراض المراجع 4

1.2 عفن الفطريات الاسود "Mucormycosis, "Black Fungus 4

2.2 التضاد الفطري: 8

3.2 فوائد الفطر *Rhizopus* spp. : 8

4.2 تقنية النانو الفطرية Fungal Nanotechnology 9

الفصل الثالث :المواد وطرائق العمل 12

1.3 الأجهزة والمواد المستعملة Device and Materials ١٢

2.3 الأوساط الزرعيةCulture Media ١٤

3.3 طرائق التعقيم Sterilization methods ١٥

4.3 المحاليل والصبغات Solution and Stains 15

5.3 عزل وتشخيص الفطريات 16

6.3 :الخواص الجزيئية 17

7.3 تأثير الفطريات المعزولة والجلدية قي نمو الفطر *Rhizopus stolonifer* 21

8.3: التحليل الاحصائي Statistical analysis ٢٤

الفصل الرابع: النتائج 25

1.4 عزل وتشخيص الفطريات Isolation and Identification of Fungi 25

1.1.4 عزل الفطريات: 25

2.1.4 تشخيص الفطريات 25

3.1.4 صفات الفطريات الجلدية 33

4.1.4 الدراسة الجزيئية للعزلات الفطرية 35

2.4 خصائص الرواشح الفطرية المحضرة 53

1.2.4 **الوصف المظهري للرواشح الفطرية والنانوية بالزنك والفضة** 53
2.2.4 **خصائص المركب النانوي لجسيمات نترات الفضة *AgNpS* الناتجة من الرواشح الفطرية مع نترات الفضة بواسطة *UVL* (جهاز مقياس الأشعة فوق البنفسجية)** 54
3.2.4 **:خصائص جسيمات أوكسيد الزنك النانوية** Characterization of ZnO Nanoparticles **الناتجة من الرواشح الفطرية** 69
4-2-4 **مطياف الأشعة تحت الحمراء Fourier transform infrared (FTIR)** 78
3.4 **:تأثير تراكيز مختلفة من رواشح الفطريات بالزنك النانوي في معدل قطر (سم) *Rhizopus stolonifer*** 99
4.4 **تأثير تراكيز مختلفة من الرواشح الفطرية المختلفة في الفطر *Rhizopus stolonifer* مجهريا** 112
الفصل الخامس: المناقشة 123
1.5 **عزل وتشخيص الفطريات Isolation and Identification of Fungi** ١٢٣
2.5 **الكفاءة التضادية للفطريات المعزولة ضد الفطر *Rhizopus stolonifer*** 124
3.5 **تأثير تراكيز مختلفة من الرواشح الفطرية في نمو أقطار (سم) فطر *Rhizopus stolonifer*** 125
4.5: **خصائص الرواشح الفطرية بالمواصفات النانوية :** 127
5.5 **الصفات المجهرية لفطر *Rhizopus stolonifera* المعامل بالرواشح المختلفة** 132
الفصل السادس: الاستنتاجات والتوصيات 133
1.6 **الاستنتاجات** 133
2.6 **التوصيات** 134
المصادر 135
الملاحق 157

فهرس الصور

اسم الشكل	رقم الصفحة
الشكل(٤-١):فطر *Rhizopus* spp على وسط SDA, بدرجة حرارة ٢٨ م A : وجه المستعمرة B: ظهر المستعمرة C: الشكل المجهري	٢٦
الشكل (٤-٢): فطر *Aspergillus brasiliensis* على وسط SDA ، بدرجة حرارة ٢٨ ٠ م ، لمدة عشرة ايام. A: وجه المستعمرة B: ظهر المستعمرة C: الشكل المجهري X٤٠	٢٧
الشكل(٤-٣): فطر *Aspergillus costaricensis*على وسط SDA ، بدرجة حرارة ٢٨ ٠ م ، لمدة عشرة ايام. A: وجه المستعمرة B: ظهر المستعمرة C: الشكل المجهري X٤٠	٢٨
الشكل (٤-٤) : فطر *Aspergillus flavus*على وسط SDA ، بدرجة حرارة ٢٨ ٠ م ، لمدة عشرة ايام. A: وجه المستعمرة B: ظهر المستعمرة C: الشكل المجهري X٤٠	٢٨
الشكل(٤-٥): فطر *Aspergillus minisclerotigenes* على وسط SDA ، بدرجة حرارة ٢٨ ٠ م ، لمدة عشرة ايام. A :وجه المستعمرة B: ظهر المستعمرة C: الشكل المجهري X٤٠ D : مقطع مكبر من مزرعة فطرية يظهر فيه الاجسام الحجرية sclerotia .	٢٩
الشكل(٤-٦): فطر *Aspergillus niger* على وسط SDA ، بدرجة حرارة ٢٨ ٠ م ، لمدة خمسة ايام. A :وجه المستعمرة B: ظهر المستعمرة C: الشكل المجهري X٤٠	٣٠
الشكل (٤-٧): فطر *Aspergillus oryzaer* على وسط SDA ، بدرجة حرارة ٢٨ ٠ م ، لمدة خمسة ايام. A :وجه المستعمرة B: ظهر المستعمرة C: الشكل المجهري X٤٠	٣٠
الشكل (٤-٨):فطر *Aspergillus piperisr* على وسط SDA ، بدرجة حرارة ٢٨ ٠ م ، لمدة خمسة ايام. A :وجه المستعمرة B: ظهر المستعمرة C: الشكل المجهري X٤٠	٣١
الشكل (٤-٩): الفطر *Aspergillus tubingensis* على وسط SDA ، بدرجة حرارة ٢٨ م ، لمدة خمسة ايام. A :وجه المستعمرة B: ظهر المستعمرة C: الشكل المجهري X٤٠	٣٢
الشكل(٤-١٠): الفطر *Aspergillus welwitschiae* على وسط SDA ، بدرجة حرارة ٢٨ م ، لمدة خمسة ايام.	٣٢
الشكل(٤-١١) : فطر *Trichophyton rubrum*على وسط SDA ، بدرجة حرارة ٣٠ ٠ م ، لمدة ٢٨ يوما A : وجه المستعمرة B: ظهر المستعمرة C: الشكل المجهري X٤٠	٣٣
الشكل (٤-١٢) : فطر *Microsprum canis*على وسط SDA ، بدرجة حرارة ٣٠ ٠ م ، لمدة ٢٨ يوما .A : وجه المستعمرة B: ظهر المستعمرة C: الشكل المجهري X٤٠	٣٤

الشكل(٤- ١٣): فطر *Epidermophyton floccosum* على وسط SDA ، بدرجة حرارة ٣٠ ٠ م ، لمدة ٢٨ يوما .A : وجه المستعمرة B: ظهر المستعمرة C: الشكل المجهري X٤٠	٣٤
الشكل(٤-١٤) : فطر *Microsprum gypseum* على وسط SDA ، بدرجة حرارة ٣٠ ٠ م ، لمدة ٢٨ يوما .A : وجه المستعمرة B: ظهر المستعمرة C: الشكل المجهري X٤٠	٣٥
الشكل (٤-١٥): الترحيل الكهربائي على هلام الاكاروز ١.٥% وفولتية ١٠٠ لمدة ساعة . ايجابي الفحص بين ٦٠٠-٧٠٠bp	٣٥
الشكل (٤-١٦) يمثل الشجرة الوراثية للعزلة الفطرية الاولى للفطر *Rhizopus stolonifer*(مؤشر بمثلث) مع أنواع وسلالات أخرى معروفة تعود للجنس نفسه	٣٧
الشكل (٤-١٧) يمثل الشجرة الوراثية للعزلة الفطرية الثانية للفطر *Aspergillus niger* (مؤشر بمثلث) مع أنواع وسلالات أخرى معروفة تعود للجنس نفسه	٣٨
الشكل (٤-١٨) يمثل الشجرة الوراثية للعزلة الفطرية االثالثة *للفطر Aspergillus welwitschiae* (مؤشر بمثلث) مع أنواع وسلالات أخرى معروفة تعود للجنس نفسه	٣٨
الشكل (٤-١٩) يمثل الشجرة الوراثية للعزلة الفطرية االثالثة للفطر *Aspergillus minisclerotigenes* (مؤشر بمثلث) مع أنواع وسلالات أخرى معروفة تعود للجنس نفسه	٣٩
الشكل (٤-٢٠) يمثل الشجرة الوراثية للعزلة الفطرية االخامسة للفطر *Aspergillus tubingensis*)مؤشر بمثلث) مع أنواع وسلالات أخرى معروفة تعود للجنس نفسه	٤٠
الشكل (٤-٢١) يمثل الشجرة الوراثية للعزلة الفطرية السادسة للفطر *Aspergillus costaricensis*)مؤشر بمثلث) مع أنواع وسلالات أخرى معروفة تعود للجنس نفسه	٤٠
الشكل (٤-٢٢) يمثل الشجرة الوراثية للعزلة الفطرية السابعة للفطر *Aspergillus oryzae* (مؤشر بمثلث) مع أنواع وسلالات أخرى معروفة تعود للجنس نفسه	٤١
الشكل (٤-٢٣) يمثل الشجرة الوراثية للعزلة الفطرية الثامنة للفطر (مؤشر بمثلث) مع أنواع وسلالات أخرى معروفة *Aspergillus piperis* تعود للجنس نفسه	٤٢
الشكل (٤-٢٤) يمثل الشجرة الوراثية للعزلة الفطرية التاسعة للفطر (مؤشر بمثلث) مع أنواع وسلالات أخرى *Aspergillus brasiliensis* معروفة تعود للجنس نفسه	٤٢
الشكل (٤-٢٥) يمثل الشجرة الوراثية للعزلة الفطرية العاشرة للفطر *Aspergillus flavus* (مؤشر بمثلث) مع أنواع وسلالات أخرى معروفة تعود للجنس نفسه	٤٣
الشكل (٤-٢٦) يمثل الشجرة الوراثية للعزلة الفطرية الحادية عشر للفطر (مؤشر بمثلث) مع أنواع وسلالات أخرى معروفة *Rhizopus americanus* تعود للجنس نفسه	٤٣

٤٥	الشكل (٤-٢٧) : الكفاءة التضادية للفطريات المعزولة ضد الفطر *Rhizopus stolonifer* ، بدرجة حرارة ٢٨ ٠ م ، لمدة بين SDA على وسط خمسة أيام
٥٣	الشكل (٤ – ٢٨) : تأثير تراكيز مختلفة من الرواشح الفطرية المعزولة والفطريات لتثبيط *Rhizopus stolonifer*الجلدية في معدل قطر (سم) والنسبة المئوية الجهة الامامية للطبق =A . لمدة خمسة ايام حرارة٢٨ م على وسط SDAالفطر الجهة الخلفية للطبق =B،
٥٤	الشكل (٤- ٢٩) : الخواص المظهرية للرواشح الفطرية المستخلص الاخضر :B .مستخلص الفطر: A راشح الفطرالمعامل بالزنك النانوي بالفضة النانوية. :C
٥٥	الشكل (٤-٣٠) الراشح الفطري لفطر *A.brasiliensis*
٥٦	الشكل (٤- ٣١) الراشح الفطري لفطر *Aspergillus costaricensis*
٥٧	*الشكل* (٤ -٣٢) الراشح الفطري لفطر *Aspergillus flavu*
٥٨	الشكل (٤ – ٣٣) الراشح الفطري لفطر *Aspergillus minisclerotigene*
٥٩	الشكل (٤- ٣٤) الراشح الفطري لفطر *Aspergillus niger*
٦٠	الشكل (٤-٣٥) الراشح الفطري لفطر *Aspergillus oryzae*
٦١	الشكل (٤- ٣٦) الراشح الفطري لفطر *Aspergillus piperis*
٦٢	الشكل (٤-٣٧) الراشح الفطري لفطر *Aspergillus tubigensis*
٦٣	الشكل (٤-٣٨) الراشح الفطري لفطر *Aspergillus welwitschiae*
٦٤	الشكل (٤- ٣٩) الراشح الفطري لفطر *Epidermophyton floccosum*
٦٥	الشكل (٤- ٤٠) الراشح الفطري لفطر *Microsporum canis*
٦٦	الشكل (٤-٤١) الراشح الفطري لفطر *Microsporum gypseum*
٦٧	الشكل (٤- ٤٢) الراشح الفطري لفطر *Trichophyton rubrum*
٦٨	الشكل (٤- ٤٣) الراشح الفطري لفطر *Rhizopus americanus*
٦٩	الشكل (٤-٤٤) المطياف أعلى طول موجي لأوكسيد الزنك النانوي لراشح فطر *A.brasiliensis*
٧٠	الشكل (٤- ٤٥) المطياف أعلى طول موجي لأوكسيد الزنك النانوي لراشح فطر *Aspergillus welwitschiae*

الشكل (٤-٤٦) المطياف أعلى طول موجي لأوكسيد الزنك النانوي لراشح فطر *Aspergillus costaricensis*	٧١
الشكل (٤-٤٧) المطياف أعلى طول موجي لأوكسيد الزنك النانوي لراشح فطر *Aspergillus flavus*	٧١
الشكل (٤-٤٨) المطياف أعلى طول موجي لأوكسيد الزنك النانوي لراشح فطر *Aspergillus minisclerotigenes*	٧٢
الشكل (٤-٤٩) المطياف أعلى طول موجي لأوكسيد الزنك النانوي لراشح فطر *Aspergillus niger*	٧٣
الشكل (٤-٥٠) المطياف أعلى طول موجي لأوكسيد الزنك النانوي لراشح فطر *Aspergillus oryza*	٧٣
الشكل (٤-٥١) المطياف أعلى طول موجي لأوكسيد الزنك النانوي لراشح فطر *Aspergillus piperis*	٧٤
الشكل (٤-٥٢) المطياف أعلى طول موجي لأوكسيد الزنك النانوي لراشح فطر *Aspergillus tubigensis*	٧٥
الشكل (٤-٥٣) المطياف أعلى طول موجي لأوكسيد الزنك النانوي لراشح فطر *Epidermophyton floccosum*	٧٥
الشكل (٤-٥٤) المطياف أعلى طول موجي لأوكسيد الزنك النانوي لراشح فطر *Microsporum canis*	٧٦
الشكل (٤-٥٥) المطياف أعلى طول موجي لأوكسيد الزنك النانوي لراشح فطر *Microsporum gypseum*	٧٦
الشكل (٤-٥٦) المطياف أعلى طول موجي لأوكسيد الزنك النانوي لراشح فطر *Trichophyton rubrum*	٧٧
الشكل (٤-٥٧) المطياف أعلى طول موجي لأوكسيد الزنك النانوي لراشح فطر *Rhizopus americanus*	٧٨
الشكل (٤-٥٨) طيف الاشعة تحت الحمراء لجسيمات الفضة النانوية للفطر *Microsporum gypsum*	٧٩
الشكل(٤-٥٩) يوضح طيف الاشعة الحمراء لراشح الفطر *Aspergillus flavus*	٧٩
الشكل (٤-٦٠) طيف الاشعة الحمراء لراشح الفطر *Aspergillus welwitschiae*	٨٠
الشكل (٤- ٦١) طيف الاشعة الحمراء لراشح الفطر *Trichophyton rubrum*	٨١
الشكل (٤-٦٢) يوضح طيف الاشعة الحمراء للفطر *Aspergillus niger*	٨٢
الشكل (٤-٦٣) يوضح طيف الاشعة الحمراء لراشح الفطر *Aspergillus piperis*	٨٣
الشكل (٤-٦٤) يوضح طيف الاشعة الحمراء لراشح الفطر *Aspergillus brasiliensis*	٨٤
الشكل (٤-٦٥) يوضح طيف الاشعة الحمراء لراشح الفطر *Aspergillus minisclerotigenes*	٨٥
الشكل (٤-٦٦) يوضح طيف الاشعة الحمراء لراشح الفطر	٨٥

Aspergillus oryza	
الشكل (٤-٦٧) يوضح طيف الاشعة الحمراء لراشح فطر *Rhizopus americanus*	٨٦
الشكل (٤-٦٨) يوضح طيف الاشعة الحمراء لراشح الفطر *Aspergillus costaricensis*	٨٧
الشكل (٤-٦٩) يوضح طيف الاشعة الحمراء للفطر *Aspergillus tubigensis*	٨٨
الشكل (٤-٧٠) يوضح طيف الاشعة الحمراء لراشح الفطر *Microsporum canis*	٨٨
الشكل (٤-٧١) يوضح طيف الاشعة الحمراء لراشح الفطر *Epidermophyton floccosum*	٨٩
الشكل(٤-٧٢) يوضح طيف الاشعة الحمراء لراشح الفطر *Microsporum gypsym*	٩٠
الشكل (٤-٧٣) يوضح طيف الاشعة الحمراء لراشح الفطر *Aspergillus flavus*	٩١
الشكل (٤-٧٤) يوضح طيف الاشعة الحمراء لراشح الفطر *Aspergillus welwitschiae*	٩١
الشكل (٤-٧٥) يوضح طيف الاشعة الحمراء لراشح الفطر *Trichophyton rubrum*	٩٢
الشكل (٤-٧٦) يوضح طيف الاشعة الحمراء لراشح الفطر *Aspergillus niger*	٩٣
الشكل (٤-٧٧) يوضح طيف الاشعة الحمراء لراشح فطر *Asergillus piperis*	٩٣
الشكل (٤-٧٨) يوضح طيف الاشعة الحمراء لراشح فطر *Aspergillus brasiliensis*	٩٤
الشكل (٤-٧٩) يوضح طيف الاشعة الحمراء لراشح فطر *Aspergillus minisclerotigenes*	٩٥
الشكل (٤-٨٠) يوضح طيف الاشعة الحمراء لراشح فطر *Aspergillus oryza*	٩٥
الشكل (٤-٨١) يوضح طيف الاشعة الحمراء لراشح فطر *Rhizopus americanus*	٩٦
الشكل (٤-٨٢) يوضح طيف الاشعة الحمراء لراشح فطر *Aspergillus costaricensis*	٩٧
الشكل (٤-٨٣) يوضح طيف الاشعة الحمراء لراشح فطر *Aspergillus tubingensis*	٩٧
الشكل (٤-٨٤) يوضح طيف الاشعة الحمراء لراشح فطر *Microsporum canis*	٩٨
الشكل (٤-٨٥) يوضح طيف الاشعة الحمراء لراشح فطر *Epidermophyton floccosum*	٩٩
الشكل (4-86) يوضح تأثير تراكيز مختلفة من رواشح الفطريات بالزنك النانوي في *Rhizopus stolonifer*معدل قطر (سم)	١٠٥
الشكل (4-87) يوضح تأثير تراكيز مختلفة من رواشح الفطريات المعاملة بالفضة	١١١

Rhizopus stolonifer النانوية في معدل قطر (سم)	
الشكل (4-88) يوضح تأثير تراكيز مختلفة من رواشح الفطرية المعاملة بالزنك مجهريا*Rhizopus stolonifer*النانوي في الفطر	١١٦
الشكل (4-89) يوضح تأثير تراكيز مختلفة من الرواشح الفطرية المعاملة بالفضة مجهريا*Rhizopus stolonifer*النانوية في الفطر	١٢٢

فهرس الجداول

اسم الجدول	رقم الصفحة
الجدول(٣-١): الأجهزة والمعدات المختبرية التي أستخدمت في الدراسة مع أسم الشركة وبلد المنشأ	١٢
الجدول(٣-٢) المواد الكيميائية التي أستخدمت في الدراسة مع أسم الشركة وبلد المنشأ	١٣
الجدول(٣-٣) يوضح تسلسل البادئات التي أستخدمت في الدراسة primary used in the study	٢٠
الجدول(٣-٤) يوضح تفاعل Reaction components of PCR :PCR	٢٠
الجدول (٣-٥) يوضح حالات الدورات الحرارية لفحص PCR Thermocycler	٢١
الجدول(٤ – ١): الانواع الفطرية المعزولة من ٢٥ عينة مع الارقام التسلسلية المسجلة في البنك الجيني العالمي ، بغض النظرعن sputum العمر والجنس وسواء اكان الشخص متعافي من مرض كوفيد-١٩ أو غير مصاب . ، بدرجة حرارة ٢٨ ٠ م ، لمدة بين خمسة الى عشرة ايام حسب SDA على وسط . نوع الفطر	٢٥
الجدول (٤-٢) الأرقام التسلسلية للعزلات الفطرية في البنك الجيني GinBank	٣٧
الجدول(٤ – ٣) : الكفاءة التضادية للفطريات المعزولة والفطريات الجلدية ضد الفطر	٤٤
الجدول(٤ –٤) : تأثير تراكيز مختلفة من الرواشح الفطرية المعزولة والفطريات الجلدية في معدل قطر (سم) والنسبة المئوية لتثبيط الفطر *Rhizopus stolonifer* ، بدرجة حرارة ٢٨ ٠ م ، لمدة خمسة أيام على وسط SDA	٤٨
الجدول (٤-٥) : تاثير تراكيز مختلفة من رواشح الفطريات المعاملة بالزنك النانوي بدرجة *Rhizopus stolonifer* في معدل قطر (سم) والنسبة المئوية لتثبيط الفطر حرارة حرارة ٢٨ ٠ م لمدة خمسة أيام	١٠١
الجدول (٤-٦) : تاثير تراكيز مختلفة من رواشح الفطريات المعاملة بالفضة النانوية بدرجة *Rhizopus stolonifer* في معدل قطر (سم) والنسبة المئوية لتثبيط *الفطر* حرارة حرارة ٢٨ ٠ م لمدة خمسة أيام	١٠٧

الفصل الأول

المقدمة

Introduction

الفصل الأول: المقدمة

١.١ المقدمة Introduction

الفطريات هي مجموعة من الكائنات الحية التي لم يتم دراستها بقدر أهميتها في نواحي الحياة المتنوعة والمثيرة للأنتباه والجدل ، ولعل أبرز ماتم تسجيله عن تلك الكائنات هو أهميتها من الناحية الطبية Homei (٢٠٠٦) والصناعية Leatham (٢٠١٢) والزراعية Khachatourians و Arora(٢٠٠١) والبيئية Jones و Pang (٢٠٢٢) و بسبب سماتها الفريدة في المعيشة والتكيف تم تطبيقها في التكنولوجيا الحيوية والصناعية علاوة على ذلك يمكن زراعتها بسهولة نسبية وإنتاجها على نطاق واسع كإنتاج البنسلين ولوفاستاتين وأدوية أخرى ذات أهمية عالمية ولا تزال مورداً غير مستغل مع إمكانات صناعية هائل (Hyde وأخرون ، ٢٠١٩).

ظهر داء الغشاء المخاطي Mucormycosis بشكل إصابة فطرية تسببها فطريات إنتهازية opportunistic fungi تعود إلى مجموعة الفطريات الزيجية Zygomycetes Choudhary وأخرون (٢٠٢١) ويحدث هذا الداء بسبب عدوى ثانوية نتيجة أستنشاق الفطريات الخيطية خاصة في المرضى الذين يعانون من نقص المناعة فتسبب مايعرف بالعفن الأسود وهي عدوى خطيرة نادرة وتنتشر بسرعة في العضو المصاب وغيرمعدية (Mahalaxmi وأخرون ،٢٠٢١).

ظهرت العدوى بهذا الداء بشكل واضح خلال جائحة كورونا COVID-١٩ وخاصة المرضى الذين يعانون من مرض السكري وعن طريق إعطاؤهم العلاج وخاصة الأدوية المثبطة للمناعة مثل الستيرويد Al-Khikani (٢٠٢١) ويمكن أن تظهر الأصابة في الجيوب الأنفية أو الرئة بعد أستنشاق الهواء المحمل بالفطر فضلا عن ذلك يمكن أن تؤثر الفطريات على الدماغ والجلد والكلى ويمكنها أختراق الجلد عن طريق الجروح أو القروح المفتوحة كما يصيب الأشخاص المصابين بالسرطان أو المصابين بمرض فيروس نقص المناعة (Karthikeyan وأخرون ،٢٠٢٢).

يعد الأنتشار الهائل للفطريات الإنتهازية في البيئة تحديًا صعبا وبسبب القدرة الفريدة على التكيف مع البيئة و مقاومة آليات الدفاع المختلفة التي يستخدمها المضيف فضلا عن العوامل المضادة للفطريات مما يجعل السيطرة على التلوث الفطري والإصابة بالفطريات موضع جدل وأهتمام الباحثين (Kuzikova وMedvedeva ،٢٠٢١) .

أتجهت بعض الأبحاث إلى تطبيق ظاهرة التضاد الفطري Antagonism لما له من أهمية في المكافحة الحيوية أذ تمتلك بعض الفطريات درجة تضاد مختلفة فيما بينها إعتمادا على نوع الفطر

والوسط الغذائي قاسم و أنفال (٢٠٢١) وإن ظاهرة التضاد الفطري للفطريات المسببة للأمراض النباتية بوساطة الفطريات غير ممرضة نتيجة لوجود التنافس على المادة الغذائية أو بسبب أنتشار مادة كيميائية ينتجها الفطر غير الممرض وقد يكون مركبا عضويا متطايرا مثل الهيدروكربونات والكحولات والكيتونات والألديهايدات والإسترات والأحماض والإيثرات وفئات مختلفة من التربينات والذي تلعب دورًا في تضاد الفطريات المسببة للأمراض كما في حالة فطر *Trichoderma* عند زراعته بطبق مزدوج من الفطريات الممرضة *Sclerotinia sclerotiorum* و *Sclerotium rolfsii* و *Fusarium oxysporum*- Rajan وأخرون (٢٠٢١). ومع تطور طرق الأستخلاص تم إستخلاص الرواشح الفطرية والأستفادة من فعاليتها الكيمياوية والحيوية في تثبيط بعض الفطريات الجلدية كما حصل في نتائج الزرع المزدوج للفطرالبازيدي *Marasmius palmivorus* المضاد بتغلبه على الفطر الممرض *Trichophyton rubrum* أذ أحدث ضررا وتشويها للغزل فطري وأثر على تقارب الحواجز Septa وإنتاج مشوه أنعكس على الجدار الخلوي وأنخفاض أعداد الأبواغ الكبيرة (ALmasoodi ،٢٠٢١).

دخلت المواد النانوية ومستحضراتها الحيوية الجوانب العملية إذ أمكن الإستفادة من تحويل المستخلصات المائية والكحولية لفطر المشروم *Agaricus bisporus* إلى مركبات نانوية بالزنك النانوي والفضة النانوية كمحاولة لأيجاد بديلا للمضادات الفطرية وتثبيط نمو الفطرين الممرضين *Trichophyton rubrum* و *Microsporum canis* عن طريق تأثيره على جين الإنزيم Serine protease المسؤول عن تكوين الجدار الخلوي للفطرين الممرضين (Hameedd ،٢٠٢١).

٢.١ الهدف من الدراسة:

السيطرة على الفطر الاسود بأستخدام الرواشح الفطرية المستحصل عليها من النبت الطبيعي للأشخاص المتعافين وغير المصابين بكورونا و التي ستظهر تضادا عاليا ضد الفطر *Rhizopus* spp. ومعاملتها بنترات الفضة وأوكسيد الزنك وتحويلها الى محاليل نانوية وحساب نسبة التثبيط بدلالة أقطار المستعمرات .

٣.١ محاور الدراسة :

١) الحصول على النبت الطبيعي من العزلات الفطرية من بلغم sputum الأشخاص الذين تم شفاؤهم من كورونا أو غير المصابين وتشخيصها تقليديا وجزيئيا.

٢) زراعة البلغم على وسط مناسب وعزل وتشخيص الفطريات التي ستظهر تقليديا بالفحص المجهري .

٣) عزل الفطر .*Rhizopus* spp وعمل تضاد له بالزراعة المزدوجة في طبق بتري مع الفطريات الأخرى المعزولة .

٤) يتم الإستعانة بالفطريات التي أظهرت تضادا مع فطر .*Rhizopus* spp لغرض تحضيرالرواشح الفطرية منها وتنميتها على الوسط السائل Broth .

٥) تسجيل الفطريات التي أظهرت التضاد في البنك الجيني العالمي genbanck وتحديد الشجرة الوراثية ومدى التقارب والتباعد مع العزلات العالمية .

٦) تحويل الرواشح الفطرية للفطريات التي أظهرت تضادا مع فطر الـ *Rhizopus* إلى محاليل نانوية متمثلة بالزنك النانوي والفضة النانوية.

٧) تسجيل النتائج بدلالة أقطار المستعمرات والصفات المظهرية والمجهرية .

٨) تحليل البيانات أحصائيا .

الفصل الثاني

أستعراض المراجع

literature Review

الفصل الثاني : أستعراض المراجع

١.٢ عفن الفطريات الأسود "Mucormycosis, "Black Fungus

يسبب العفن الأسود Black Fungus مجموعة من الفطريات التي تنتمي للأعفان اللاقحية Zygomycetes من رتبة Mucorales Prakas وأخرون(٢٠١٦) مثل Apophysomyces و Cokeromyces و Cunninghamella و Lichtheimia و Mortierella و *Mucor* و *Rhizopus* و Rhizomucor و Saksenaea و Syncephalastrum و Thamnostylum كما ذكر Grossman وأخرون(٢٠١٢) . جاءت تسمية "الفطر الأسود" على أنواع Mucorales المسببة للأمراض البشرية بسبب تكوين sporangium ذات اللون الأسود Hariprasath و Arunaloke (٢٠١٩) . يحدث داء الغشاء المخاطي بشكل رئيسي عن طريق *Rhizopus* spp. مثل *R. oryzae* و *R. microsporus* و *R. arrhizus* و *R. homothallicus* . Ghosh وأخرون(٢٠٢٢) وبشكل عام يكون الغزل الفطري غير مقسم لا يحتوي حواجز عرضية بين الخلايا ويظهر المايسيليوم بشكل أنبوبي يحتوي على السايتوبلازم والعديد من الأنوية وهي أما أن تتكاثر جنسيا عن طريق الأخصاب بين حافظتين متشابهتين في الشكل والحجم وقد تكون ذات أصل واحد أو أصلين منفصلين وينتج من هذا التزاوج تركيب ما يعرف Zygosporse والذي يتميز بقدرته على مقاومة الظروف البيئية المختلفة و يحتوي على أشباه جذور Rhizoid يختلف موقعها بحسب الجنس داخل الوسط الزرعي فتكون تحت الحامل السبورانجي في ال *Rhizopus* وفي مكان بعيد عن الحامل في ال *Mucor* تتكاثر بسرعة عن طريق الأبواغ اللاجنسية spores التي تتطور داخليًا داخل حويصلة تسمى sporangium وتتميز بإحتوائها على أنبعاج الى داخل الحافظة يسمى Columella و تتميز الحافظة بأنها تحتوي عدد كثيرا من الأبواغ و يتراوح قطر الأبواغ في Mucorales من ٣ إلى ١١ ميكرومتر ويمكن بسهولة تطايرها بالهواء الجوي (Carmen و Sciortino ،٢٠١٧) .

تعد أجناس Mucorales واحدة من أفضل مُحللات المواد العضوية وغالبًا ما توجد في المواد العضوية المتحللة مثل الفواكه والخضروات وفي القمامة وروث الحيوانات وأن الجراثيم الفطرية توجد محمولة في الهواء الداخلي والخارجي وفي الغبار وفي بيئات المستشفى و أسرة المستشفى وغرف العناية المركزة وأماكن المياه والمعدات الطبية الملوثة وأعمال البناء Richardson (٢٠٠٩) ينتشر داء الغشاء المخاطي عادة عن طريق أستنشاق الأبواغ أو عن طريق تناول الطعام الملوث أو عن طريق الجرح المفتوح ويعد الجهاز التنفسي والجلد هما نقاط الدخول الرئيسية

وتجدر الإشارة إلى أنه لا ينتقل بين الناس (Richardson و Rautemaa-Richardson ،٢٠١٩).

ظهر فطار الغشاء المخاطي كثالث أكثر أنواع الفطريات الغازية شيوعًا من حيث الأهمية بعد داء المبيضات وداء الرشاشيات في مرضى زرع الخلايا الجذعية الدموية ونقل الأعضاء Liberatore وأخرون(٢٠٢١) وبعد المرحلة الأولى من ١٩-Covid ظهرت في الموجة الثانية وخاصة في الهند إصابة فطرية عرفت Mucormycosis والتي ظهرت متزامنة مع إستخدام مثبطات المناعة لمكافحة كوفيد -١٩ خاصة عند المرضى الذين يعانون من أرتفاع السكر في الدم ومرضى السكري ومرضى زرع الأعضاء و نخاع العظام و تليف الكبد و فقر الدم الوراثي هم أكثر عرضة بالإصابة بالعفن الأسود مصاحبا لكورونا وهنا يكون التشخيص المبكر والعلاج المضاد للفطريات في الوقت المناسب مع التداخل الجراحي لجميع الأنسجة المصابة والعلاجات المساعدة هي العوامل الرئيسية للقضاء على فطار الغشاء المخاطي Choudhary وأخرون(٢٠٢١) وقد ثبت إن عوامل مثل أرتفاع السكر في الدم وتركيزات الحديد المرتفعة والحمض الكيتوني لدى مرضى السكر تساهم في التسبب في الإصابة الفطرية (Ghosh وأخرون ،٢٠٢٢).

يمكن تصنيف داء الغشاء المخاطي تبعا لموضع الإصابة : (١) الأنف rhinocerebral (٢) الرئوي pulmonary (٣) الجلدي cutaneous (٤) الجهاز الهضمي gastrointestinal (٥) منتشر disseminated و (٦) إضافة الى حالات غير شائعة uncommon presentations وتلعب الظروف المحيطة دورا هاما في ظهور الحالات السريرية

يعد إستخدام الستيرويدات كأدوية علاجية جيدة في ١٩-COVID من ناحية أخرى وبسبب الإستخدام قد يكون المرضى عرضة للإصابة بالعفن علاوة على ذلك فإن لمرض السكري أهمية خاصة في هذا المجال وقد تتفاقم الحالة وتصل إلى الموت المحتم Mohammadi وأخرون(٢٠٢١) وأكد Petrikkos وأخرون (٢٠١٢) إن فطار الغشاء المخاطي هو عدوى فطرية حادة تسببها عائلة mucoraceae يكون بشكل قاتل لمرضى السكري غير المنضبط ونقص المناعة.

تسبب أعراض الإصابة بالجهاز التنفسي وتهيج الجيوب الأنفية Raza وأخرون(٢٠٢١) وتبدأ العدوى في تجاويف الأنف والجيوب الأنفية إذ تشمل تورم الوجه من جانب واحد والصداع والحمى وإلتهاب وتدلي الجفن وتظهر النموات السوداء على الأنف ويكون أنتشاره سريع Ferguson (٢٠٠٠) وتشمل العلامات الأخرى السعال والحمى وأحتقان الأنف وظهور النموات السوداء على الأنف أو الجزء العلوي من الفم Selvamurugan (٢٠٢١) وأعراض الغشاء المخاطي الرئوي تشمل الحمى والسعال وأنزعاج الصدر وضيق التنفس Bhadra وأخرون(٢٠٢١) وتشمل

أعراض عدوى الجلد ظهور بثور أو قرح و قد تتحول المنطقة المصابة الى اللون الأسود و قد يكون هناك أنزعاج وأحمرار مفرط وأنتفاخ حول الجرح المصاب Burdová (٢٠١٤) و بالمثل تشمل أعراض أمراض الغشاء المخاطي المعوي ألما معويا وغثيانا ونزيفا معديا معويا (Gandra وأخرون ،٢٠٢١) .

يسبب الفطر ضررا في الأنسجة التي ينمو فيها بفعل فعاليته الإنزيمية العالية وينتج عنه الأحتشاء والنخر Challa (٢٠١٩) كما وتشمل طرائق تشخيص داء الفطريات في علم أمراض الأنسجة كالإختبار المباشر والزراعة في المختبر كذلك فحص عينات الدم ويبقى أهمها طريقة التشخيص الجزيئي PCR كما ذكر Skiada وأخرون(٢٠٢٠) إلى إن الطرائق الجزيئية DNA Mucorales أكتسبت قبولًا لتأكيد العدوى و هنالك طرائقا واعدة للتشخيص المبكر والسريع ويمكن أستخدامها كأختبارات فحص في المرضى المعرضين لمخاطر عالية كما تم تطوير بعض الطرائق السريعة والتي لا تتطلب إجراءات جراحية كالإعتماد على الأمصال أو أختبارات التنفس القائمة على الأيض .

يعد الفطر *Rhizopus* spp هو المسبب الرئيسي لمرض الغشاء المخاطي لدى الأشخاص المصابين بمرض فيروس كورونا (COVID-١٩) في العام ٢٠١٩ بسبب أمتلاكه لأليات وعوامل الغزو أولها جدار الخلية الذي يحتوي على البروتينات المستقبلة والإنبات السريع لأبواغه ومستقبل الإنزيمات التي تساعد على عزل الحديد والتنظيم الإيجابي لمستقبل الخلية الذي يبسط عملية الألتقام والغزو الوعائي (Ghosh وأخرون ،٢٠٢٢) .

إن إعطاء المنشطات العشوائي من قبل الأطباء للمرضى الذين يعانون من COVID-١٩ ساهم في تطور فطار الغشاء المخاطي فتعمل العقاقير على مهاجمة الفيروس مع تأثير كبير على المناعة وبسبب زيادة نسبة السيتوكينات التي يفرزها جهاز المناعة لمقاومة فيروس كورونا ويضطر الأطباء إلى إعطاء المريض منشطات لتثبيط جهاز المناعة وتقليل إفراز السيتوكينات ومع ذلك تعد من مسببات أرتفاع مستويات السكر وضعف جهاز المناعة Woods وأخرون(٢٠٢٠) وتوفر الإصابة بفيروس كورونا بيئة كافية للإصابة بالفطار المخاطي منها نقص الأوكسجين وزيادة في الجلوكوز في مرض السكري أرتفاع السكر في الدم الناجم عن السترويدات والحمض الكيتوني السكري من الحديد (نسبة عالية من الفيريتين) وهذا يؤدي إلى أنخفاض النشاط البلعمي لخلايا الدم البيضاء ويساعد على إنبات جراثيم المخاط (Singh وأخرون ، ٢٠٢١) .

تعد الأدوية المضادة للفطريات أنسب طريقة للعلاج وأكثرها فعالية ومع ذلك فأن خطة العلاج مكلفة للغاية ومن أشهر المركبات المستخدمة Liposomal amphotericin B أمفوتيسيرين B

وتتراوح فترة العلاج من خمسة أيام إلى أثني عشر أسبوعا حتى يصل المريض إلى نقطة الشفاء وفي بعض الحالات تتطلب خطة العلاج إزالة الأجزاء المتضررة لمنع أنتشار الفطريات Skiada وأخرون(٢٠٢٠) وتم مؤخرا أستخدام Isavuconazole عن طريق الوريد بموافقة أدارة الغذاء والدواء أو أقراص posaconazole بشكل بطيء كما يوصى بإستخدام كل من triazoles كعلاجات إنقاذ ولاينصح بإستخدام Amphotericin B deoxycholate وقد يكون الحل الوحيد لبعض الحالات Cornely وأخرون(٢٠١٩) فضلا عن ذلك أثبتت الدراسات قدرة الأوكسجين عالي الضغط في علاج الفطريات السوداء لأنه يمكن أن يرفع من كفاءة العدلات من حيث القضاء على الفطريات ووفقا لمكتبة الطب الوطنية الامريكية يجب إزالة جميع الأنسجة الميتة والملوثة بسرعة أو أجزاء من الأنف أو العين ممايؤدي إلى حدوث تشوه ومع ذلك إذا لم يتم هذا الأجراء تقل أحتمالات البقاء على قيد الحياة بشكل كبيرو يعطى الدواء المضاد للفطريات عن طريق الوريد يمكن تحويل المريض إلى علاج مختلف مثل بوساكونازول أو أيزافوكونازول وعندما يكون الشخص مصابا بمرض السكري يجب أن تظل مستويات السكر لديه ضمن النطاق الصحي Shinde وKore (٢٠٢١) ومن العلاجات الأخرى يوديد البوتاسيوم ،ميكونازول ،تيربينافين ،كوتريموكسازول ،أيتراكونازول ، كيتوكونازول وقد أستخدم التنظير الجراحي بشكل كبير Rawlani وأخرون(٢٠٢١) و أظهرت بعض العقاقير فشلها سريريا مثل الأمفوتريسين B Holmes أخرون(٢٠٢١) لا يوجد دواء واحد مضاد للفطريات ذو تأثير ثابت وقد يساعد أختبار الحساسية في تخطيط العلاج(Prabhu وPatel ، ٢٠٠٤) .

إن الدفاع المناعي الكفوء للمضيف قادرا بشكل عام على القضاء على مسببات الأمراض الفطرية الإنتهازية ولذا فإن الذين يعانون من نقص المناعة يمكن للفطر أن يتهرب بسهولة أكبر من الكشف عن طريق مكونات دفاع المضيف Hage وأخرون (٢٠٠٢) وغالبا ماتعتمد نتيجة العدوى الفطرية على حالة الجهاز المناعي للمضيف وهو خط الدفاع الأول ضد مسببات الأمراض الغريبة وذلك فأن المرضى الذين يعانون من ضعف جهاز المناعة هم أكثر عرضة لتطور عدوى فطرية خطيرة والتي يمكن أن تتطور الى حالة خطيرة Romani (٢٠١١) طورت الفطريات المسببة للأمراض العديد من الإستراتيجيات للتهرب من جهاز المناعة للمضيف ويبدو أن أليات الهروب المتعددة تعمل معا لمنع هجوم المراحل المختلفة لكل من الأستجابة المناعيةالتكيفية والفطرية وهكذا بعد دخول المضيف تقاتل هذه العوامل الممرضة للتغلب على جهاز المناعة للسماح ببقائها وأستعمارها وأنتشارها إلى مواقع مختلفة من العدوى Marcos وأخرون (٢٠١٦) تعتمد مراقبة مسببات الأمراض الفطرية والقضاء عليها بشكل كبير على السلوك النشط للخلايا البلعمية في الجهاز المناعي وخاصة البلاعم والعدلات Erwig و Gow (٢٠١٦) وذكر Romani (٢٠١١) إن من هذه

الإستراتيجيات المعقدة التي طورتها الفطريات لزيادة أحتمالية بقائها قيد الحياة هي ١) التخفي : حيث يمكن للفطر أن يخفي نفسه بشكل فعال من الكشف عن طريق خلايا مناعية ٢) السيطرة: التي تحدث عندما يستطيع العامل الممرض تنشيط الأليات المثبطة لمناعة المضيف أو توجيه الأستجابات المناعية تجاه الأنواع غير الفعالة ٣) الهجوم : خلالها قد ينتج الممرض جزيئات تدمر أو تعطل الدفاعات المناعية للمضيف .

٢.٢ التضاد الفطري:

التضاد الحيوي Microbial antagonism هو معيشة كائنين معا يعمل أحدهما على إحداث ضرر بالكائن الأخر نتيجة لإفرازه مادة كيمياوية تعرف بأسم المضادات الحيوية Antibiotics التي هي مواد كيمياوية عضوية تتكون نتيجة للتفاعلات الأيضية لبعض الأحياء الدقيقة يؤدي إلى إعاقة نمو أو قتل كائنات دقيقة أخرى عند إستخدامها بتراكيز قليلة جدا وعرفت ظاهرة التضاد الحيوي منذ زمن طويل وأستعملت أول مرة من قبل العالم Vullemin عام ١٨٨٩ التي عرفها بأنها الظروف التي يمكن أن ينتجها كائن حي لإبادة كائن حي أخر ليحتفظ هو بحياته Cook و Baker (١٩٨٣) وتختلف أليات التضاد الحيوي أما بإستخدام فطريات أخرى أو بكتريا حسب كفاءة الكائن وظهر إن هناك قدرة من التضاد الفطري بإفراز نوع من المضادات الحيوية من قبل الفطر *Trichoderma* ضد الفطر الجلدي الممرض *T. rubrum* Omero وأخرون (٢٠٠٤) كما إن أنواع الجنس *Aspergillus* spp تتميز بالقدرة العالية على النمو والتنافس على الغذاء مع بقية الفطريات التي تسبب أمراض للنبات الأمر الذي أتاح الفرصة لإستخدام الفطر في المقاومة الأحيائية Damann Jr(٢٠١٥) . وفي دراسة أجراها Shiping و Qing (٢٠٠٠) تم تقييم مضاد الخميرة *Pichia Membranefaciens* المعزول من ثمار الخوخ لقدرته على المكافحة الحيوية ضد *R. stolonifer* عند درجات حرارة مختلفة وفي دراسة أخرى أجراها Sathe وأخرون (٢٠٠٧) تم عزل بكتريا اللاكتيك المضادة للفطريات من الخضراوات الطازجة وتقييم قدرتها على منع التلف الفطري ضد فطريات التلف *Rhizopus stolonifer* و *Aspergillus flavus* و *Rhizoctonia solani* و *Fusarium graminearum* و *Sclerotium oryza* .

٣.٢ فوائد الفطر .*Rhizopus* spp :

تم وصف الفطر *Rhizopus* أعلاه كفطرا أنتهازي يعادي الإنسان ويهدد صحته وخاصة للأشخاص الذين يعانون من نقص المناعة بكل أشكالها ومن باب التوازن والحكم العادل لابد من التطرق إلى هذا الفطر من جانبه الأخر.

يحتل فطر *Rhizopus* مركز الصدارة في العديد من الصناعات وبالأخص الغذائية والدوائية منها كأنتاج البيتيدات النشطة بيولوجيًا من منتجات فول الصويا المخمرة ودورها في الوقاية والعلاج من العديد من أمراض التمثيل الغذائي فيتم إنتاج ببتيدات نشطة بيولوجيًا نتيجة للتحلل المائي لبروتينات فول الصويا (الجليسينين وبيتا-كونجليسينين) لإنتاج المركبات المضادة لأرتفاع ضغط الدم ومضادات الميكروبات ومضادات الأكسدة ومضادات السكري والسرطان ، في إندونيسيا يحتل التمبي Tempe وهو غذاء يحضر من فول الصويا المخمر ويتم تصنيعه عن طريق تلقيح *Rhizopus* spp.على فول الصويا المطبوخ والمنزوع وهوغذاء نباتي عالي القيمة الغذائية . أستخدمت الفطريات *Aspergillus* spp. و *Rhizopus* spp والبكتيريا *Bacillus subtilis* و *lactic acid* والخميرة *Saccharomyces cerevisiae* في إنتاج الفينولات النشطة بيولوجيًا و مضادات الأكسدة من الحبوب والبقوليات والمنتجات الثانوية من خلال إنزيمات شطر الكربوهيدرات وزيادة محتوى الفينول والببتيد النشط بيولوجيًا والذي له دور في تحسين مضادات الأكسدة ومضادات الألتهابات ومضادات للسرطان ومضادات للسكري في المنتجات الغذائية الزراعية المخمرة (Sanjukta و Rai ،٢٠١٦).

وجد أن العديد من الفطريات ومن ضمنها *Rhizopus* spp. أنتجت أحماضا عضوية مختلفة بما في ذلك أحماض الأوكزاليك وحمض الستريك وحمض الفوماريك وحمض الخليك وحمض الجلوكونيك وحمض السكسينيك وتعد تلك الأحماض ذات أهمية غذائية ودوائية وصناعية Farooq وأخرون (٢٠١٥) كما ويستخدم *Rhizopus* spp لإنتاج إنزيم الفايتيزPhytase الذي يعمل على تحليل حامض الفايتك Ramachandran وأخرون(٢٠٠٥) وأرتباطه بالعناصر الغذائية وتحقيق أفضل إستفادة و خاصة في العلائق المقدمة للطيور الداجنة والذي يفتقر الجهاز الهضمي للدواجن أليه (Hamodi و Hussein ، ٢٠١١) .

٤.٢ تقنية النانو الفطرية Fungal Nanotechnology

برزت تقنية النانو كواحدة من أكثر الأبتكارات الصناعية أثارة في جميع أنحاء العالم Hartung وأخرون (٢٠١٠) في مجالات متعددة من التصميم الأنشائي والمادي وهندسة الأجهزة والأنظمة ،تعرف الجسيمات النانوية هياكل تقع أحجامها في نطاق من ١ الى ١٠٠ نانومتر في واحد أو أثنين أو ثلاثة أبعاد بينما المواد النانوية مجموعة من مواد صغيرة الحجم يتم تطبيقها لتنفيذ خصائصها المميزة على سبيل المثال الهندسة البصرية المغناطيسية والميكانيكية والكهربائية Goncalves وأخرون(٢٠١١) تتميز أيضا بالخاصية البايولوجية الفريدة لنسبة السطح الى الحجم لذلك يمكنها بسهولة أختراق الحواجز الخلوية للوصول لأنظمة الجسم وأيضا ترتبط ببروتينات الخلايا وتبدأ في أرسال الإشارات وتنشط خلايا وتعطل خلايا أخرى وفي بعض الحالات تسبب تفاعلات

خلوية غير متوقعة Nogueira وأخرون (٢٠١٣) في تقنية النانو الحيوية يتم إدخال الهياكل النانوية مع الأنظمة البيولوجية أو ما تسمى بالأساليب الخضراء ،تمثل الكائنات الدقيقة دورا واعدا في التخليق الحيوي وخاصة الفطريات التي تفرز الإنزيمات والبروتينات كعوامل إختزال-Abdel Azizوأخرون (٢٠١٨) تتوفر هذه الميزة في هضم المواد العضوية خارج الخلية بإفراز إنزيمات معينة لتحليل التراكيب المعقدة إلى جزيئات أسهل والتي يتم أمتصاصها وأستخدامها كمصدر طاقة فأجتذبت مزيدا من الأهتمام في مايتعلق بالإنتاج البيولوجي وبسبب قدرتها على التراكم الأحيائي المعدني Sastry و Kumar (٢٠٠٣) تم إستخدام الكتلة الحيوية الفطرية والمستخلص الفطري للفطر *Neurospora crassa* بنجاح كعوامل إختزال للتخليق الحيوي للجسيمات النانوية البلاتينية

Amin وأخرون(٢٠٢١) أن إمكانية إستخدام الكتلة الحيوية ميزة أخرى لإستخدام النهج الأخضر بواسطة الفطريات علاوة على ذلك الإنبات السريع لأبواغها وبالتالي فأن أستزراعها والأحتفاظ بها في المختبر أمر بسيط للغاية كما ويعد تطوير عمليات الإنتاج التي يمكن أن تقلل من التأثير البيئي وتقليل النفايات وزيادة كفاءة الطاقة خطوة مهمة في مجال تطبيق تقنية النانو(Castro-Longoria-وأخرون ،٢٠١١) .

ولتوليف الجسيمات النانوية المعدنية بنجاح تم إستخدام كمية كبيرة من الأنواع الفطرية أو المستخلص الخالي من الخلايا لقد تم إنتاج الجسيمات النانوية المعدنية خارج الخلية بوساطة عدة سلالات من الفطر *Fusarium oxysporum* حيث وجد أن أيونات الفضة المائية قد أنخفضت في المحلول عندما تعرضت لسلالات *F. oxysporum* مما يدل على تكون جسيمات الفضة النانوية بأبعاد حوالي ٢٠-٥٠ نانومتر بعملية إختزال أيونات المعدن الذي يعتمد على النترات وعملية خارج خلوية وقد يكون لها أهمية كمواد مضادة للبكتيريا Shankar وأخرون(٢٠٠٤)حيث هناك تفاوت كبير في أحجام وأشكال الجسيمات النانوية تبعا لظروف الحضانة ودرجة الحرارة Mukherjee وأخرون(٢٠٠١) وكذلك أظهرت الأبحاث تثبيط كائنات حية دقيقة مثل البكتريا والفطريات بأستخدام الجسيمات النانوية وحدها أو مع المضادات الحيوية Birla وأخرون(٢٠٠٩) وفي مجال تحويل المستخلص الكحولي والمائي لفطر المشروم *Agaricus bisporus* إلى مستخلصات نانوية من الفضة والزنك والذي أستخدم في تثبيط نمو وفعالية الفطريات الجلدية *T. rubrum* و *M. canis* كما أثرت مستخلصات الفطر بالفضة والزنك النانوي على الغزول الفطرية وتباين هذا التأثير بين تحلل أو التشوهات في الغزل الفطري وأنفصال البروتوبلازم في بعض المناطق وتجمعها في مناطق أخرى فضلا عن أختفاء الأبواغ الصغيرة وتشوه الأبواغ الكبيرة و تكتل البروتوبلازم في داخل الخلايا الفطرية وأنفصال الغشاء البلازمي Hameedd (٢٠٢١)في دراسة أجريت من قبل Yassin و Mohammed (٢٠٢١) أوضحت إن التداخل بين تراكيز الزنك النانوي والزنك المعدني والمضاد

الفطري والفعل التأزري بينهما أثرت وبصورة معنوية في معدلات نمو الأقطاروالاوزان لفطري *Trichophyton* و *Microsporum* وإن زيادة التركيز يزيد من معدل التثبيط بدلالة أنخفاض معدل قطر المستعمرة الفطرية وأنخفاض في الوزن الجاف للمستعمرة الفطرية وبين Lin وأخرون(٢٠١٤) إن تأثير الزنك النانوي وبسبب صغر حجم الدقائق النانوية ومساحتها السطحية الكبيرة هذا يؤدي الى التأثير على نفاذية الغشاء البلازمي للخلية وبالتالي موت الخلية .

الفصل الثالث

المواد وطرائق العمل

Materials & methods

الفصل الثالث

المواد وطرائق العملMaterials and methods

١.٣ الأجهزة والمواد المستعملة Device and Materials

الأجهزة والمعدات المختبرية التي أستخدمت في الدراسة مع أسم الشركة وبلد المنشأ. كما في الجدول(٣-١):

الجدول(٣-١): الأجهزة والمعدات المختبرية التي أستخدمت في الدراسة مع أسم الشركة وبلد المنشأ.

ت	أسم الجهاز	الشركة المصنعة
١.	فرن كهربائي Electric Oven	Blinder-Germany
٢.	ميزان الكتروني حساس Sensitive electronic balance	Sartorius-Germany
٣.	حاضنة Incubator	Blinder-Germany
٤.	مجهر مركب Compound Microscope	NOVEX-HOLLANND
٥.	حجرة تلقيح Hood	Tiauja Taisite-China
٦.	جهاز التعقيم البخاري Autoclave	Lab Tech-Korea
٧.	جهاز تقطير الماء Distiller water apparatus	Arston-Turkey
٨.	ثلاجة Refrigerator	Arston-Turkey
٩.	مازج كهربائي Vortex	Bionerr-Korea
١٠.	محرك مغناطيسي Magnetic Stirrer	China
١١.	مصباح غاز Benzene Burner	Iraq
١٢.	مفرغ هوائي Vacuum Pump	Yangyi
١٣.	أدوات زجاجية مختلفة الأشكال Laboratory glassware	Germany
١٤.	ثاقب فليني Cork Borer	India
١٥.	الناقل الزرعي القياسي Stander Wirel Loop	India
١٦.	أطباق بتري بلاستيكية Disposable Petri dishes	China

١٧.	شرائح زجاجية مع غطاء الشريحة Slides and cover slide	China
١٨.	شاش	Local market
١٩.	حاضنة هزازة Shaking Incubator	Korea
٢٠.	جهاز الطرد المركزي Centerfuge	Hitech
٢١.	تيوبات+كبات	Turkey
٢٣.	شريط بارافليم Parafilm	India
٢٤.	سلفون+قطن	China
٢٥.	كفوف+كمامات Latex gloves+Face mask	China
٢٦.	مقياس الطيف المرئي للأشعة فوق البنفسجية Spectro photo meter	Japan
٢٧.	أوراق ترشيح أعتيادية Filter Paper	Citotest-China
٢٨.	مرشح Milipore (Filter Type AC,SC) ٠.٢	Sartorius Stedim Biotech-Germany
٢٩.	خلاط كهربائي Blender	Jlassco-India
٣٠.	كاميرا رقمية Digital Camera	Canon-Japan
٣١.	قمع ترشيح	Hlalab-China
٣٢.	محاقن طبية ml٣	Nusafe-India
٣٣.	جهاز تسخين Hot Plate&Stirrer	Korea
٣٤.	أواني تجفيف خزفية	China
٣٥.	مسحات قطنية معقمة Sterilized cotton Swabs	Sterellin Ltd-UK
٣٦.	ماصات دقيقة بأحجام مختلفة Micropipettes	Brand-W –Germany

الجدول(٣-٢) المواد الكيميائية التي أستخدمت في الدراسة مع أسم الشركة وبلد المنشأ

ت	أسم المواد	الشركة المصنعة
١.	Sabouroud Dextrose Agar	Condalab-Spain
٢.	Potato Dextrose Agar	HIMEDIA-India
٣.	أكار-أكار Agar-Agar	HIMEDIA-India

٤.	المضاد الحيوي كلوروامينيفيكول Chloramphenicol	Roseto-Italy
٥.	مضاد السايكلوهكسمايد Cychloheximide	HI Media-India
٦.	صبغة اللاكتوفينول أزرق القطن lactophenol Coton blue Stain	Fluka-Swiss
٧.	الزنك النانوي Zinc Nanoparticles	تخليق حيوي
٨.	الفضة النانوية Ag Nanoparticles	تخليق حيوي
٩.	الكحول المثيلي Methyl alchohol	BDH-England

٢.٣ الأوساط الزرعية Culture Media

١.٢.٣ وسط Sabouraud Dextrose Agar (SDA)

حضر الوسط الجاهز حسب توصيات شركة Condalab-Spin بإذابة ٦٥غم من مسحوق Sabouraud Dextrose Agar في ١٠٠٠ مل من الماء المقطر ويستخدم هذا الوسط في تنمية الفطريات الجلدية والخمائر والعفن مع إضافة Chloramphenicol ٢٥٠ ملغم/لتر ؤيستخدم هذا المضاد ضد البكتريا السالبة والموجبة لصبغة غرام ثم رج الدورق جيدا لضمان تجانس الوسط وعقم في المؤصدة وبعدها ترك ليبرد وأستعمل للعزل وتنمية الفطريات (Odds، ١٩٩١) .

٢.٢.٣ وسط Potato Dextrose Agar (PDA)

حضر الوسط بإذابة ٤١ غم من المسحوق الجاهز في ١٠٠٠مل من الماء المقطر وحسب تعليمات الشركة المصنعة HIMEDIA ثم أضيف اليهChloramphenicol ٢٥٠ ملغم/لتر ثم رج الدورق جيدا لضمان تجانس الوسط وعقم في المؤصدة وبعدها ترك ليبرد وأستعمل لتنمية وحفظ العزلات (Tamur وأخرون ، ٢٠١٩) .

٣.٢.٣ :وسط مستخلص البطاطا والدكستروز السائل potato Dextrose Broth(PDB)

حضر الوسط بغلي ٢٠٠ غم من قطع البطاطا بعد غسلها وتقطيعها إلى قطع صغيرة في ٥٠٠مل من الماء المقطر ولمدة ٢٠-٣٠ دقيقة وبعد أنتهاء مدة الغليان رشح المخلوط بوساطة قطعة من القماش للحصول على الراشح ، أذيب ٢٠غم من الدكستروز في ٥٠٠مل من الماء المقطر ثم أضيف له راشح البطاطا وأكمل الحجم إلى ١ لتر علما إن هذه الكمية من الوسط السائل تكفي لخمس عينات فطرية وعليه تم تحضير ٨٠٠ غم من قطع البطاطا بعد الغسل والتقطيع وإضافة ٢لتر ماء مقطر وبعد الغليان والترشيح وإضافة٨٠غم من الدكستروز إضيفت هذه الكمية إلى ٢لتر ماء مقطر وبعد

التجانس وزعت هذه الكمية في أربع دوارق زجاجية سعة ١ لتر وأضيف في كل دورق المضاد الحيوي Chloramphenicol ٢٥٠ ملغم/لتر ورجت الدوارق جيدا وعقمت في المؤصدة وبعدها تركت لتبرد . وحضر هذا الوسط طبقا لما ورد في(Pitt و Hocking ،١٩٨٥) .

٤.٢.٣: وسط السابرويد دكستروز أكار مع السايكلوهكساميد والكلورامفينيكول Sabouraud Cycloheximide Chloramphenicol Agar

حضر الوسط حسب الفقرة ٣-٢-١ ثم أضيف اليه ٠.٥ غم/لتر من السايكلوهكساميد بعد التعقيم والتبريد لمنع نمو الفطريات الإنتهازية (Mentese وأخرون ،٢٠١٧) .

٣.٣ طرائق التعقيم Sterilization methods

a) التعقيم بالحرارة الرطبة Sterilization Wet hot

تم إضافة المضاد الحيوي Chloramphenicol بمعدل ٢٥٠ ملغم/لتر إلى جميع الأوساط الزرعية ثم عقمت بوساطة جهاز المؤصدة الحرارية Autoclave بدرجة حرارة ١٢١ درجة مئوية وضغط ١٥ باوند/أنج لمدة ٢٠ دقيقة بعدها تركت لتبرد(Sultana ، ٢٠٠٧).

b) التعقيم بالحرارة الجافة Dry hot sterilization

عقمت الزجاجيات المستخدمة بوساطة الفرن الكهربائي Oven بدرجة حرارة ١٦٠- ١٨٠ درجة مئوية لمدة ٣-٤ ساعات وكذلك أبر التلقيح عقمت بإستعمال لهب بنزن المباشر (Kenneth وأخرون ،٢٠١٩) .

c) التعقيم بالترشيح Sterilization by Filtration

عقمت الرواشح الفطرية التي تتأثر بالحرارة بوساطة مرشحات دقيقة Milipore filters بقطر تنافذي ٠.٢ مايكروميتر (Kenneth وأخرون ، ٢٠١٩) .

d) التعقيم بوساطة المواد الكيميائية Sterilization by chemicals

عقمت حجيرة التلقيح Hood بالكحول الأثيلي بتركيز ٧٠% والكلور بتركيز ٣٠% على التتابع (Sultana ، ٢٠٠٧).

٤.٣ المحاليل والصبغات Solution and Stains

أستخدمت خلال الدراسة صبغة اللاكتوفينول أزرق القطن الجاهزة لتصبيغ وتثبيت الفطريات لغرض الفحص المجهري وحسب تعليمات الشركة المصنعة

٣.٥ عزل وتشخيص الفطريات

٣.٥.١ جمع العينات Collection of Samples

تم جمع العينات لأعمار مختلفة ولكلا الجنسين من الأشخاص الأصحاء والمتعافين من مرض كوفيد-١٩ في محافظتي بابل وكربلاء المقدسة للفترة من تشرين الأول إلى تشرين الثاني ٢٠٢١ وتضمنت ٢٥ عينة مأخوذة من البلغم Sputum بوساطة مسحات قطنية ناقلة معقمة Transport Cotton Swap وقد تم تسجيل معلومات الأشخاص الذين أخذت منهم العينات والتي تضمنت جنس الشخص والعمر ووقت الإصابة بمرض كوفيد-١٩ بالنسبة للأشخاص المصابين بعدها نقلت العينات إلى مختبر الدراسات العليا في كلية التربية للعلوم الصرفة .

ولغرض دعم أختبار التضاد الفطري بمجموعة مهمة من الفطريات الجلدية تم الحصول على فطريات جلدية مشخصة ومسجلة بالبنك الجيني العالمي وبأرقام تسلسلية في تجارب سابقة وهي *Microsporum canis* MH٨٥٩٢٩٤.١ *Trichophyton rubrum* MH٨٦٥٩٤٠.١ و *M . gypsum* KT٨٠٤١٥٩.١ و *Epidermophyton floccosum* MH٨٦٢٤٨٩.١ من الأستاذ الدكتور.بان طه محمد في مختبر الدراسات العليا في كلية التربية للعلوم الصرفة / قسم علوم الحياة

٣.٥.٢ زرع العينات Culturing of Samples

زرعت كل عينة على أطباق بتري قطر ٨ سم (أعتمد نفس قطر الأطباق في كافة التجارب اللاحقة) يحتوي على ٢٠مل من وسط SDA المشار أليه في الفقرة ٣-٢-١ .حضنت الأطباق بدرجة حرارة ٢٨ ْم ولمدة من ٥-١٠ يوم وفحصت بأستمرار.

أما الفطريات الجلدية نشطت وزرعت على الوسط SDA لمدة أسبوعان Sandven و Lassen (١٩٩٩) كما درست الخواص المظهرية والمجهرية لها قبل وبعد إجراء التجارب.

٣.٥.٣ الفحص المظهري للفطريات Phenotypic examination of fungi

أعتمدت الخصائص المظهرية للتفريق بين الفطريات الإنتهازية وشملت العديد من الخصائص التي يجب أن تؤخذ بنظر الأعتبار منها معدل النمو أو سرعة النمو ولون المستعمرة وتماسك وطبيعة لون المستعمرة كأن تكون على شكل مسحوق Powdery أو زغبي downy أو حبيبي Granular أو ملساء Glabrous وكذلك في فحص المستعمرات يلاحظ طريقة نمو خيوط الفطر (Senanayake وأخرون ،٢٠٢٠) .

٤.٥.٣ الفحص المجهري للفطريات Colonial microscopy

تم إجراء الفحص المجهري لملاحظة التراكيب الفطرية مثل الخيوط الفطرية وأشكالها وأشباه الجذور والمدادات والحوافظ البوغية الكروية الداكنة المنتصبة على حوامل غير متفرعة بالنسبة للفطريات المعزولة ، أما بالنسبة للفطريات الجلدية يمكن ملاحظة تفرعات الخيوط الفطرية والأبواغ الكبيرة Macroconidia والأبواغ الصغيرة Microconidia وأحجامها وذلك بأخذ جزء من المستعمرة الفطرية النامية بأستعمال Loop ووضعها في قطرة من محلول صبغة الأزرق مثيلين الموضوعة على شريحة زجاجية وفحصت بالمجهر بقوة تكبير ١٠x و ٤٠x وبالإعتماد على المصادر التصنيفية الفطرية الأتية (Naranjo-Ortiz و Gabaldon ،٢٠١٩) و (Levetin ، ٢٠١٦)

٣-٦ الخواص الجزيئية:

١.٦.٣: التشخيص الجزيئي للفطريات التي تم عزلها

تم إرسال أربع عشرة عينة من الفطريات التي تم جمعها من الأشخاص الأصحاء وكذلك المتعافين من مرض كوفيد-١٩ بضمنها عينة الفطر ١و٢ *Rhizopus* بعد فحصها مختبريا ومجهريا .وبعد أجراء تجارب التضاد (الزرع المزدوج) ضد الفطر*Rhizopus* أرسلت العينات إلى مختبر التقدم للتشخيص الجزيئي في محافظة بغداد .

١.١.٦.٣: إستخلاص الحامض النووي منقوص الاوكسجين (Deoxy ribonucleic acid)

أستخلص الحامض النووي DNA بإستخدام العدة

FavorPrep Fungi/ Yeast Genomic DNA Extraction Mini Kit (Cat. No.: FAFYG ٠٠١)

المجهزة من شركة Macro gene في كوريا الجنوبية وكالأتي:-

١. نقل ٥-١×١٠ من المزارع (الفطريات/خلايا الخميرة) إلى ١.٥ إلى أنبوب الطرد المركزي الدقيق .
٢. أضيف١ مل من FA العازلة إلى الخلايا وأعيد تعليق الخلايا عن طريق الأنابيب.تنزل الخلايا بالطرد المركزي عند ٥٠٠٠ دورة في الدقيقة لمدة ٢ دقيقة وتجاهل المادة الطافية تماما .
٣. أعيد تعليق الخلايا في ٥٥٠ ميكروليتر من المخزن المؤقت FB وإضافة ٥٠ ميكروليتر من محلول اللايتكاز، والخلط الجيد عن طريق دوامة إحتضان العينة عند ٣٧ درجة مئوية لمدة ٣٠ دقيقة .

تحذير:محلول اللايتكاز و FB Buffer المحتوي على ١٤ ملي مولاري من ب-ميركابوثينول يشكل خطرا على صحة الإنسان.

تنفيذ الإجراءات التي تنطوي على محلول Lyticase وFB Buffer في غطاء دخان كيميائي. نزلت الخلايا بالطرد المركزي عند ٥٠٠٠ دورة في الدقيقة لمدة ١٠ دقائق وأزيلت المادة الطافية تماما

٤. أضيف ٣٥٠ ميكروليتر من TG١ العازلة وخلطها جيدا عن طريق الماصات.نقل خليط العينة إلى أنبوب حبة.تخلط جيدا بوساطة plus-vortexing لمدة ٥ دقائق.

٥. .أضيف ٢٠ ميكرولتر من Protenase K(١٠مجم/مل) والخلط الجيد عن طريق الدوامة إحتضان عند ٥٥ درجة مئوية لمدة ١٥ دقيقة دوامة ٣٠ ثانية لكل حضانة ٥ دقائق.

٦. نزلت الخلايا عن طريق الطرد المركزي عند ٥٠٠٠ دورة في الدقيقة لمدة دقيقة واحدة ونقل ٢٠٠ ميكرولتر من المادة الطافية إلى أنبوب جديد للطرد المركزي بحجم ١.٥مل (غير مزود).

٧. أضيف ٢٠٠ميكرولتر من TG٢ Buffer وخلط جيدا عن طريق الماصات.

٨. أضيف ٢٠٠ ميكرولتر من الايثانول(٩٦-١٠٠%) وخلطه جيدا عن طريق الدوامة النبضية لمدة ١٠ ثوان.

٩. وضع عمود TG Mini في أنبوب المجموعة .نقل خليط العينة (بما في ذلك أي راسب) بعناية إلى TG Mini Column ثم عرض الى جهاز الطرد المركزي بسرعة ١٤٠٠٠ دورة في الدقيقة لمدة ٣٠ ثانية ثم وضع عمود TG الصغير في أنبوب مجموعة جديدة.

١٠. أضيف ٤٠٠ ميكرولتر من W١ Buffer إلى عمود TG Mini.وأجريت عملية الطرد المركزي عند ١٤٠٠٠ دورة في الدقيقة لمدة ٣٠ ثانية ووضع عمود TG Mini مرة أخرى في أنبوب المجموعة.-التأكد من إضافة الإيثانول إلى W١ Buffer عند الإستخدام لأول مرة.

١١. أضيف ٧٥٠ ميكرولتر من محلول الغسل إلى عمود TG Mini وعرضت الى الطرد المركزي عند ١٤٠٠٠ دورة في الدقيقة لمدة ٣٠ ثانية ووضع عمود TG Mini مرة أخرى في أنبوب المجموعة –التأكد من إضافة الإيثانول إلى Wash Buffer عند الإستخدام أول مرة.

١٢. عرضت الى جهاز الطرد المركزي بأقصى سرعة ١٤٠٠٠ دورة في الدقيقة لمدة ٣ دقائق إضافية لتجفيف العمود.

١٣. وضع عمود TG Mini في أنبوب شطف.

١٤. أضيف ٥٠ - ١٠٠ ميكرولتر من محلول الشطف Elution Buffer أو ddH٢O إلى مركز الغشاء لعمود TG Mini.وقف العمود TG Mini لمدة ٣ دقائق.

١٥. عرضت الى جهاز الطرد المركزي بأقصى سرعة ١٤٠٠٠دورة في الدقيقة لمدة ١ دقيقة لإستخراج الحمض النووي في ٤ درجات مئوية أو -٢٠ درجة مئوية.

٢.١.٦.٣: تحديد تركيز الحامض النووي: Determination of DNA Concentration

الترحيل الكهربائي الهلامي لتحليل جودة الحامض النووي:-

Gel Electrophoresis to Analyze DNA Quality:-

تمت عملية الترحيل الكهربائي وفقا ل Sambrook (١٩٨٩) .

١. حضر محلول الأكاروز بإذابة ١ غم من مسحوق الأكاروز في ١٠٠مل من TBE×١ في دورق ١٠٠مل،صهر الأكاروز في قالب ساخن حتى يصبح المحلول صافيا.
٢. برد محلول الأكاروز إلى حوالي ٥٠-٥٥ درجة مئوية ودور الدورق من حين لأخر ليبرد بالتساوي.
٣. أضيفت صبغة حمراء ٣ ميكرولتر إلى الجل الدافئ وتم ختم أطراف طبق الصب بطبقتين من الشريط اللاصق.
٤. وضعت الأمشاط في طبق الصب الهلامي.
٥. سكب محلول الأكاروز المذاب في طبق الصب.
٦. ترك الأكاروز ليتصلب في درجة حرارة الغرفة ، سحب المشط بعناية وأزيل الشريط ووضع الجل على حجرة الترحيل الكهربائي التي كانت مملوءة بعازل TBE ١X.
٧. خلطت عينات الحمض النووي ٥ مايكرولتر مع محلول تحميل DNA ٣مايكرولتر وتحميلها في أبار هلام الأكاروز.
٨. أكتمل الفصل الكهربائي لجل الأكاروز عند ٧٠ فولت ،٦٥ أمبير لمدة ساعة واحدة. تمت ملاحظة الحمض النووي من خلال المشاهدة تحت ضوء الأشعة فوق البنفسجية.

٣.١.٦.٣: تحضير البرايمرThe Primers Preparation

جففت البادئات بالتجميد وتم إذابتها في ddH٢٠ الحر لإعطاء تركيز نهائي قدره ١٠٠ ميكرولتر/ميكرولتر كمحلول مخزن والإحتفاظ بالمخزن عند-٢٠ لتحضير تركيز ١٠ ميكرولتر/ميكرولتر كعامل تمهيدي معلق، ١٠ ميكرولتر من محلول المخزون في ٩٠ ميكرولتر من الماء الحر(ddH٢O)للوصول إلى الحجم النهائي ١٠٠ ميكرولتر.

الجدول (٣-٣) يوضح تسلسل البادئات Primers used in the study التي أستخدمت في الدراسة

Primer	Sequence	Primer sequence	Tm (ºC)	GC%	Size of Product (bp)
ITS	F	٥′- **TCCGTAGGTGAACCTGCGG** - ٣′	٦٠.٣	٥٠ %	٥٥٠
	R	٥′ **TCCTCCGCTTATTGATATGC**- ٣′	٥٧.٨	٤١ %	

تم تضخيم جزء من **ITSI** بأستخدام البادئ الامامي

ITSI F: (**٥′- TCCGTAGGTGAACCTGCGG -٣′**)

والبادئ العكسي **ITS٤ R:(٥′ TCCTCCGCTTATTGATATGC-٣′)**

تم إجراء تضخيم **PCR** في حجم أجمالي مقداره ٢٥ مايكرولتر ،يحتوي على ١.٥ مايكرولتر من الحامض النووي **DNA** (Master Mix or GoTaq® Green Master Mix) ١٠ مايكرولتر، كل من البادئ الأمامي والعكسي ((**١ µl) picomols/µl ١٠** بعد ذلك تمت إضافة الماء المقطر في الأنبوب إلى الحجم الكلي من ٢٥ مايكرولتر .

الجدول(٣-٤) يوضح تفاعل PCR :- Reaction components of PCR .

Component	٢٥ µL (Final volume)
Master Mix or GoTaq® Green Master Mix	١٢.٥µl
Forward primer	١٠ picomols/µl (١ µl)
Reverse primer	١٠ picomols/µl (١ µl)
DNA	١.٥µl

٩ µl	Distill water

تم إجراء التفاعل في الظروف الحرارية الأتية بإستخدام **Cycler** الحراري

١- مسخ أولي Initial Denaturation :عند ٩٥ درجة مئوية لمدة ٥ دقائق

٢- تليها ٣٥ دورة مكونة من :

المسخ النهائي **Final denaturation** عند ٩٥ درجة مئوية لمدة ٤٥ ثانية

أرتباط البوادئ **Primer annealing** عند٥٢ درجة مئوية لمدة دقيقة واحدة

أستطالة أولية **Initial extension** عند ٧٢ درجة مئوية لمدة دقيقة واحدة

أستطالة نهائية **Final extension** عند٧٢ درجة مئوية لمدة ٥ دقائق

الجدول (٣-٥) يوضح حالات الدورات الحرارية لفحص PCR Thermocycler

No.	Phase	Tm (°C)	Time	No. of cycle
١-	Initial Denaturation	٩٥°C	٥ min	١ cycle
٢-	Denaturation -٢	٩٥°C	sec٤٥	٣٥ cycle
٣-	Annealing	٥٢°C	١ min	
٤-	Extension-١	٧٢°C	١ min	
٥-	Extension -٢	٧٢°C	٥ min.	١ cycle

٧.٣ : تأثير الفطريات المعزولة والجلدية في نمو الفطر *Rhizopus stolonifer*

١.٧.٣: إستخدام طريقة الزرع المزدوج Dual-culture technique

تم إختبار القدرة التضادية للفطريات التي حددت من أجل التجربة ضد عزلة الفطر *R. stolonifer* بإعتماد طريقة الزرع المزدوج ، حضر الوسط الغذائي PDA وصب في أطباق بتري معقمة قطر ٨سم وبعد تصلبه قسم كل طبق إلى نصفين متساويين إذ لقح مركز النصف الاول بقرص قطره ٠.٥ سم بوساطة ثاقب فليني من حواف الوسط الغذائي النامي عليه الفطريات المعزولة بعمر ٥أيام ولقح النصف الثاني من الطبق بعزلة خيوط فطرية من الفطر الأسود ،نفذت التجربة بثلاثة مكررات مع معاملة المقارنة إذ لقحت بالفطريات في مركز الطبق كل على حدة ، وضعت الأطباق في الحاضنة تحت درجة حرارة ٣٠ ° م ، وبعد وصول نمو الفطر الممرض إلى حافة الطبق في معاملة السيطرة Control تم تقدير التضاد حسب مقدار إمتداد النمو الفطري لكل مستعمرة وثم تقدير معدل التضاد للفطر الممرض حسب مقياس Bell وأخرون (١٩٨٢) والمكون من ٥ درجات كما يأتي:-

درجة ١ = الفطر المضاد يغطي كل الطبق.

درجة ٢ = الفطر المضاد يغطي ٤/٣ الطبق.

درجة ٣ = الفطر المضاد والفطر الممرض يغطي كل منهما نصف مساحة الطبق

درجة ٤ = الفطر الممرض يغطي ٤/٣ الطبق.

درجة ٥ = الفطر الممرض يغطي كل الطبق.

علما إن درجة(١) و (٢) تدل على إن الفطر المضاد له قدرة على التضاد الحيوي ويمكن إعتماده ككائن مضاد للفطر *R. stolonifer*

٢.٧.٣: رواشح الفطريات المعزولة والجلدية:

حضرت الرواشح الخام للفطريات من خلال تهيئة ٤٢ دورق زجاجي سعة ٣٠٠مل يحوي كل منها على ٢٠٠مل من الوسط الغذائي السائل Potato Dextrose Broth والمحضر مسبقا وفقا لما جاء في الفقرة (٣-٢-٣) لقح كل دورق بخمسة أقراص فطرية قطر ١سم من حافة مستعمرة الفطريات النامية بعمر ٥ أيام في الوسط الغذائي PDA وبواقع ثلاثة مكررات لكل فطر .

حضنت الدوارق بدرجة حرارة ٢٨ درجة مئوية في الحاضنة الهزازة ولمدة أسبوع مع مراعاة رج القناني كل يومين كحد أقصى وبعد إنتهاء مدة الحضن وضعت كل عينة في الخلاط الكهربائي لمدة دقيقتان ثم فصل الخليط بإستعمال أوراق الترشيح الأعتيادية ثم رشحت مرة أخرى بوساطة دورق وقمع ترشيح Millipore وأستخدمت أوراق ترشيح (٠.٢) ملي مايكروميتر بمساعدة جهاز التفريغ الهوائي Vacuum Pump وجمعت الرواشح في دوارق زجاجية معقمة كل منها على حدة وتحت ظروف التعقيم ثم حفظت الرواشح في الثلاجة لحين الأستعمال (Melo وأخرون ،٢٠١١) .

١.٢.٧.٣ تأثير الرواشح الفطريات المعزولة والجلدية في نمو الفطر *Rhizopus stolonifer*

بعد أن تم تحضير الوسط الغذائي PDA حسب ماجاء في الفقرة (٣-٢-٢) صب الوسط في أطباق بتري وعند مرحلة التصلب وبإستخدام الثاقب الفليني Cork Borer تم عمل خمسة حفر في الطبق الحاوي على الوسط الغذائي المتصلب ،تم أضافة الراشح الفطري بتركيز ١٠٠% الى الطبق وبواقع ثلاث مكررات للتركيز وتم تكرار العملية مع باقي التراكيز ٧٥% و ٥٠% و٢٥% ، بعدها لقح مركز كل طبق بمجموعة خيوط فطرية حاوية على أبواغ من العفن الأسود وحضنت الأطباق بدرجة حرارة٢٨ درجة مئوية لمدة خمسة أيام وعند وصول النمو في معاملة السيطرة Control إلى حافة الطبق قيست أقطار المستعمرات (معدل قطرين متعامدين) وسجلت النتائج .

٣.٧.٣: تحضير المركبات النانوية من الرواشح الفطرية

١.٣.٧.٣: تحضير الفضة النانوية من الرواشح الفطرية

تم تحضيرمحلول الفضة النانوية من إذابة ٠.١٦٨ غرام بتركيز ٠.٠١ مولاري في ١٠٠ مل من الرواشح الفطرية المحضرة مسبقا كما في الفقرة (٣-٦-٢) وتم إستخدام جهاز المحرك المغناطيسي بدرجة حرارة ٢٨ درجة مئوية وعند ملاحظة التغير اللوني للمحلول الفطري وحسب نوع الفطر تم قياس النفاذية لكلا المحلولين ،الراشح الفطري و المحلول النانوي في مقياس الطيف المرئي للأشعة فوق البنفسجية Spectrometer وتمت القراءة ما بين nm ١٩٠-٧٠٠ بدأت الحزمة بالنهوض عند ٣٠٠ نانومتر وأختلفت معدلات وصولها إلى أعلى قيمة حسب نوع المحلول وعند ٧٠٠ نانومتر هبطت الحزمة مماتشير إلى الطيف الخاص بالفضة النانوية وإختزال الفضة ووضع المحلول بالحاضنة الهزازة Shaker incubator لمدة ٢٤ ساعة وعند الإستخدام تم إضافة المحلول النانوي بأربع نسب (١٠٠% و٧٥% و٥٠% و٢٥%) بعد أن تم تحضير الوسط الزرعي PDA كما ورد في الفقرة(٣-٢-٢) تم إضافة المحلول النانوي إلى الوسط الزرعي بعد صبه في أطباق بتري قبل التصلب حسب النسب المذكورة أعلاه وعند نسبة ١٠٠% تم إضافة ٤مل من المحلول النانوي لكل طبق (ثلاثة مكررات) مع وجود معاملة السيطرة للفطر *R. stolonifer* على الوسط الغذائي PDA غير المعامل بأي محلول نانوي وعند نسبة ٧٥% تم خلط ٣مل من المحلول النانوي و ١مل من الماء المقطر معا وإضافته لكل طبق أما عند نسبة ٥٠% تم خلط ٢مل من المحلول النانوي إلى ٢مل ماء مقطر وإضافته لكل طبق، أما عند نسبة ٢٥% تم خلط ١مل من المحلول النانوي إلى ٣مل ماء مقطر وإضافته لكل طبق (Soni وPrakash، ٢٠١٣) .

٢.٣.٧.٣: تحضيرأوكسيد الزنك النانوي من الرواشح الفطرية بإستخدام Zinc Oxide

تم تحضير محلول أوكسيد الزنك النانوي الناتج من إذابة ١ غم من أوكسيد الزنك في ٥٠ مل من الراشح الفطري وحرك المزيج بوساطة المحرك المغناطيسي بدرجة حرارة الغرفة لمدة ٢٤ ساعة ثم وضع المزيج في الحاضنة الهزازة عند درجة حرارة ٤٠ درجة مئوية لمدة ١٨ ساعة وعند تكون راسبا أبيضا في قعر الدورق Rajan وأخرون (٢٠١٦) و Gunalan وأخرون (٢٠١٢) تم قياس النفاذية لمحلول الزنك النانوي في مقياس الطيف المرئي للأشعة فوق البنفسجية وكانت ذروة الإمتصاص ضمن المعدل ٣٦٠-٣٨٠ نانومتر .

عند الإستخدام تم إضافة محلول الزنك النانوي إلى الوسط الزرعي بعد صبه في أطباق بتري قبل التصلب وبأربع تراكيز(١٠٠% و ٧٥% و ٥٠% و ٢٥%) كلا على حدة و بثلاثة مكررات مع وجود معاملة السيطرة للفطر *R. stolonifer* على الوسط الغذائي PDA غير المعامل بأي محلول نانوي أما نسب الإضافة تمت حسب ما ماورد في إضافة محلول الفضة النانوي الى الوسط الزرعي ٣-٦-٣-١ Bashi وأخرون(٢٠١٣) والكمية المتبقية من محلول الفضة والزنك النانويين بعد إضافته

للأوساط الزرعية تم فصل الراسب بوساطة جهاز الطرد المركزي Centrifuge (٥٠٠ دورة لمدة ٢٠ دقيقة) ثم غسل بالماء المقطر عدة مرات وجفف عند درجة حرارة ٥٠ درجة مئوية للحصول على مسحوق ناعم وخزن في الثلاجة لأجراء عليه بعض الفحوصات المختبرية اللاحقة (Poinern ، ٢٠١٤) .

٣.٣.٧.٣: الأختبارات التي تم أجراؤها للكشف عن تكوين المركبات النانوية للزنك والفضة

١) مطياف الأشعة فوق البنفسجية (Spectrophotometer UV-VIS)

تم تحضير ٢٨ عينة من محلول الفضة النانوية والزنك النانوي المضاف لكليهما الرواشح الفطرية المحضرة مسبقا من الفطريات التي تم جمعها من الأصحاء و المتعافين من مرض كوفيد-١٩ فضلا عن مجموعة أخرى من الفطريات الجلدية *Epidermophyton floccosum* *Microsprum gypseum* *Microsprum canis* *Trichophyton rubrum*

وتم إجراء هذا الفحص في مختبرالأبحاث في قسم الكيمياء بكلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة كربلاء.

٢) مطياف الأشعة تحت الحمراء FTIR (Fourier transform infrared spectrophotometer)

أن مبدأ عمل مطياف الأشعة تحت الحمراء هو التعرف على المجاميع الفعالة في المركبات الكيميائية التي يتم تحضيرها ويمكن من خلاله الكشف عن مركبات مختلفة Ahmed وأخرون ،٢٠٢٢) أذ تهتز الجزيئات الطبيعية وفقا لجميع مخططات أهتزازها ولكن بسعات ضعيفة جدا، أذا كان توتر الأهتزاز يتوافق مع توتر أهتزاز المخططات العادية للجزيء عندئذ سيتجاوب معه ويهتز بسعة كبيرة جدا.

٨.٣: التحليل الأحصائي Statistical analysis

أعتمد تصميم القطاعات العشوائية الكاملة Complete Randomized Design (CRD) وقورنت متوسطات المعاملات بإستعمال أقل فرق معنوي Least Significant Difference (LSD) عند مستوى إحتمال ٠.٠٥ (Steel and Torrie ١٩٨١) وأستخدم برنامج Genstat في التحليل الأحصائي.

الفصل الرابع

النتائج

Results

الفصل الرابع: النتائج

١.٤ عزل وتشخيص الفطريات Isolation and Identification of Fungi

١.١.٤ عزل الفطريات:

بعد سلسلة من التجارب التي تضمنت نتائج زراعة ٢٥ عينة من البلغم sputum وظهور العشرات من الفطريات التي تمت تنقيتها بمزارع نقية ، تم التركيز على فطر *Rhizopus* والذي ظهر منه نوعين فقط بأعتباره من الفطريات المسببة لداء الغشاء المخاطي وعلى الفطريات التي شكلت تضادا لفطر الـ *Rhizopus* وتمثلت بأثني عشر نوعا فطريا يعود إلى الـ *Aspergillus* بغض النظر عن العمر والجنس وسواء أكان الشخص متعافي من مرض كوفيد-١٩ أم غير مصاب وهذه الأنواع مبينة في الجدول(٤-١) .

الجدول(٤ – ١): الأنواع الفطرية المعزولة من ٢٥ عينة البلغم sputum مع الأرقام التسلسلية المسجلة في البنك الجيني العالمي بغض النظرعن العمر والجنس وسواء اكان الشخص متعافي من مرض كوفيد-١٩ أم غير مصاب . على وسط SDA، بدرجة حرارة ٢٨ ° م ، لمدة بين خمسة إلى عشرة أيام حسب نوع الفطر .

ت	الأنواع الفطرية	الأرقام التسلسلية
١	***Rhizopus americanus** **	ON٩٨١١٠٦
٢	***Rhizopus stolonifer** **	ON٩٨١٠٩٧
٣	***Aspergillus brasiliensis***	ON٩٨١١٠٤
٤	***Aspergillus costaricensis***	ON٩٨١١٠٢
٥	***Aspergillus flavus***	ON٩٨١٢٩٧
٦	***Aspergillus minisclerotigenes***	ON٩٨١١٠١
٧	***Aspergillus niger* ١***	ON٩٨١٠٩٨
٨	***Aspergillus niger* ٢***	ON٩٨١١٠٧
٩	***Aspergillus niger* ٣***	ON٩٨١١٠٥
١٠	***Aspergillus oryzae***	ON٩٨١٢٩٥
١١	***Aspergillus piperis***	ON٩٨١١٠٣
١٢	***Aspergillus tubingensis* ١***	ON٩٨١١٠١
١٣	***Aspergillus tubingensis* ٢***	ON٩٨١٢٩٦
١٤	***Aspergillus welwitschiae***	ON٩٨١٠٩٩

*** تم تشخيصها تقليديا على مستوى الجنس فقط ، وبعد التشخيص الجزيئي ، تم معرفة النوع لكل منها .**

٢.١.٤ تشخيص الفطريات

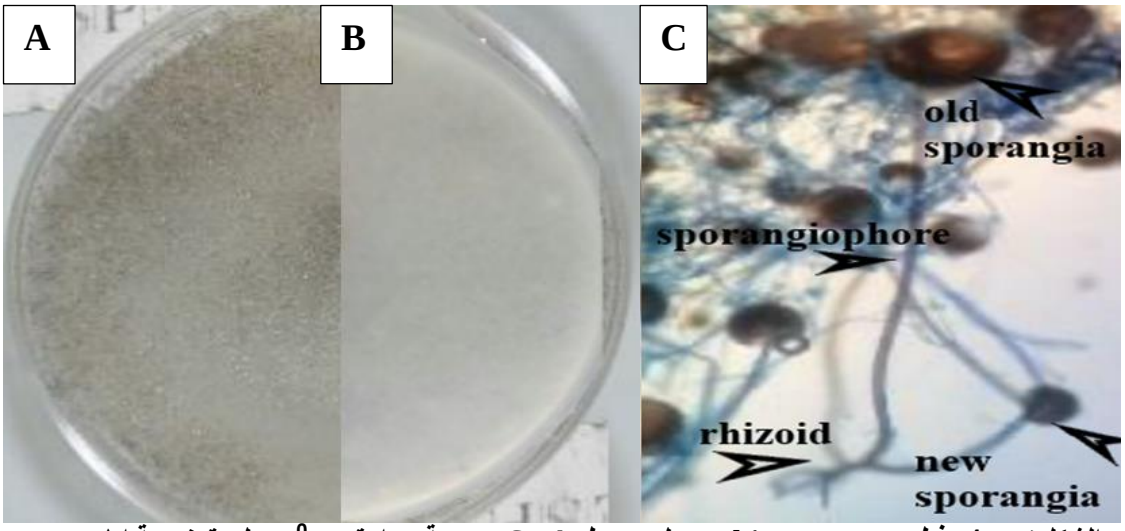
تم تشخيص الفطريات إعتمادا على الصفات المظهرية والمجهرية على مستوى الجنس ومنها على مستوى النوع ، وفقا لما سيتم ذكره في أدناه .

وفيما بعد ، تم تشخيص الفطريات جزيئيا كما ذكرت في الجدول(٤-١) أعلاه .

١) *Rhizopus* spp (*Rhizopus stolonifer* و *Rhizopus americanus*)

الوصف المظهري : مشابها كما ذكره Carmen(٢٠١٧) مع أختلاف الوسط الزرعي ودرجة الحضن ،أذ ظهرت المستعمرات الفطرية على وسط SDA نموا سريعا ، غطت الطبق ٨سم بأربعة أيام من الزراعة بدرجة حرارة ٢٨ ° م ، الغزل الفطري هوائي ، زغبي Fluffy أبيض ، تحول إلى اللون الرمادي مع حواف بنية ، الجهة الخلفية ذات لون رمادي بني مع تقدم العمر.

الوصف المجهري : تظهر الغزول الفطرية بقوة تكبير ٤٠X شريطية الشكل، مختلفة الحجم ،غير مقسمة ، الحوامل البوغية Sporangiophores لونها بني غامق ويظهر أكثر من حامل بوغي من نفس نقطة الأتصال ، غير مقسمة ، وتتصل بالمدادات stolon ، وتظهر أشباه الجذور rhizoid في نهاية الحوامل البوغية ، وقد تم ملاحظة الخلية القدمية في نفس منطقة أشباه الجذور ، بلغ أرتفاع Sporangiophores عن الوسط الزرعي ١٤٠ ملمتر. الحافظة البوغية Sporangia كروية ، ذات لون بني غامق إلى أسود رمادي ، مع قاعدة مسطحة يصل قطرها إلى ١٧٥ ميكرومتر وتحتوي على العديد من الجراثيم، columella صغيرة بإمتداد الحامل البوغي.،الأبواغ بيضوية إلى كروية ، بنية اللون ،كما في الشكل (٤-١) .



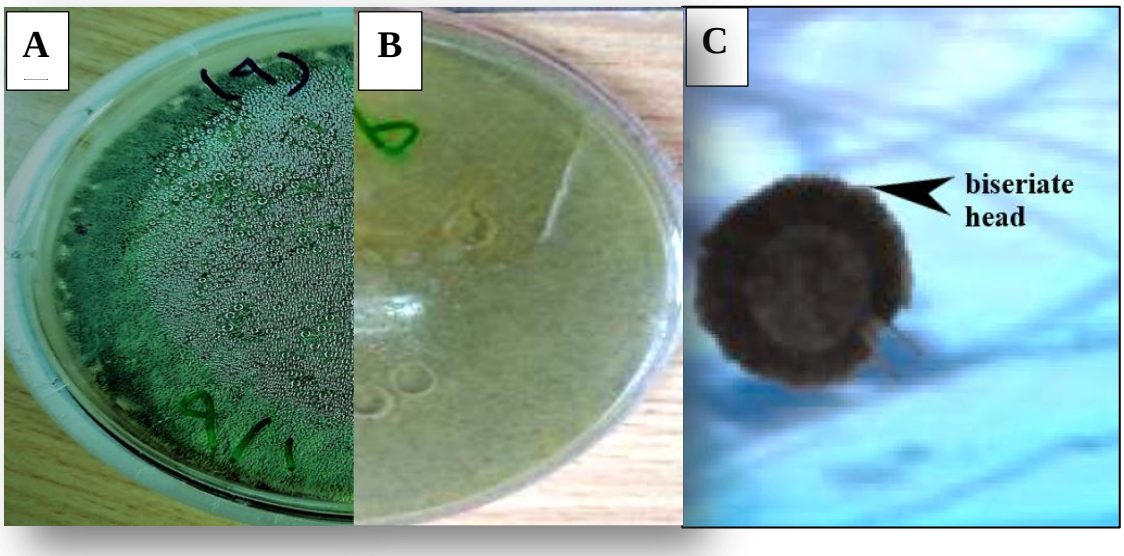
الشكل(4-1) : فطر *Rhizopus* spp. على وسط SDA، بدرجة حرارة 28 ^{0} م ، لمدة خمسة ايام.
A : وجه المستعمرة B: ظهر المستعمرة C: الشكل المجهري 40X

٢) فطر *Aspergillus brasiliensis*

ظهر من الشكل (٤-٢) الوصف المظهري والمجهري للفطر على وسط SDA وهو مشابها ببعض الصفات لماوصفه Nyongey وأخرون (٢٠١٥) وكالأتي :- **الوصف المظهري :** قطر المستعمرة بعد عشرة أيام حضانة على وسط SDA تراوح ٨٠-٩٠ ملم ، بدرجة حرارة ٢٨ ° م النمو كان

ضعيفا في بادئ الأمر، لون المستعمرة أخضر غامق مائل للسواد ، يكون لون ظهرالمستعمرة بني مخضر ، وتظهر عليه حلقات نمو بشكل دوائر متحدة المركز .

الوصف المجهري : تكون الرؤوس الكونيدية ذات شكل كروي globose من نوع biseraite تنتج الأبواغ الكونيدية ذات أشكال بيضاوية ألى كروية وبعض منها كمثري يتراوح حجمها ٣ -٤.٥ ملي مايكرون، خشنة وبنية اللون تترتب بشكل الشعاع ، وتكون الحويصلة vesicle كبيرة ومنتظمة .



الشكل (4-2) : فطر *Aspergillus brasiliensis* على وسط SDA، بدرجة حرارة 28 ^{0} م ، لمدة عشرة أيام. A: وجه المستعمرة B: ظهر المستعمرة C: الشكل المجهري 40X

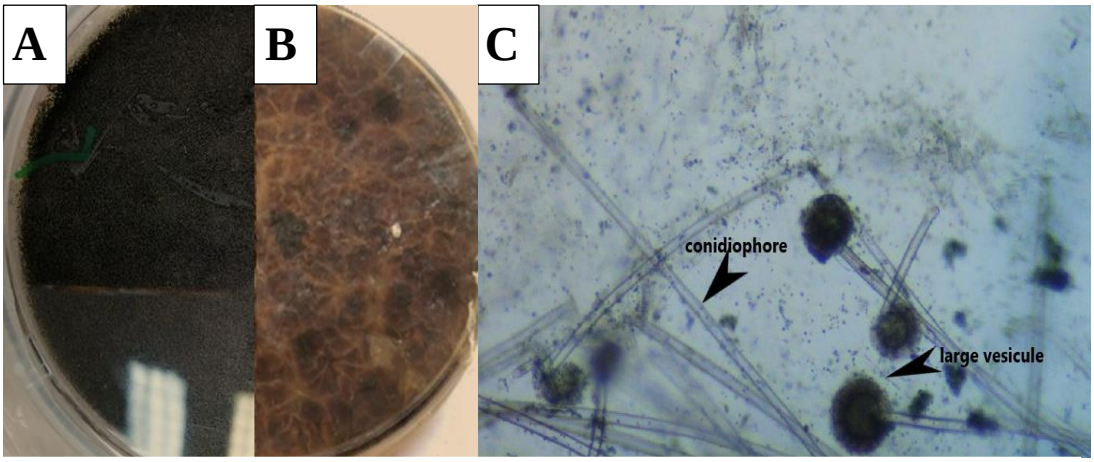
٣) الفطر *Aspergillus costaricensis*

أظهرت المستعمرات الفطرية لهذا الفطر تشابها لما ذكره كلا من Samson وأخرون (٢٠٠٤) و Frisvad وأخرون(٢٠٠٧)

وهي كالتالي :

الشكل المظهري : ظهرت المستعمرات الفطرية على وسط SDA شبيهة بمستعمرات الفطر *A.niger* إلا إن نموها أبطئ ، كانت ملساء في بادئ الأمر ثم تحولت تدريجيا إلى خشنة ، تميزت بمستعمرات قليلة التجرثم تميل إلى اللون البني الغامق وظهرت الجهة الخلفية من المستعمرة لونا بنيا مائلا إلى الأصفر البرتقالي مع وجود بعض الالوان الغامقة ، ربما تشير إلى وجود بعض أنواع الصبغة المفرزة (لم يتم التطرق اليها في هذه الدراسة).

وظهر في الشكل المجهري الحامل الكونيدي conidiophore شفاف وطويل نسبيا مقارنة ب *A.niger* مع وجود عدد قليل من الرؤوس الكونيدية تحمل حويصلات كبيرة ، أما الأبواغ الكونيدية فتظهر متجمعة وذات كثافة قليلة في الحقل المجهري (الشكل ٤-٣)



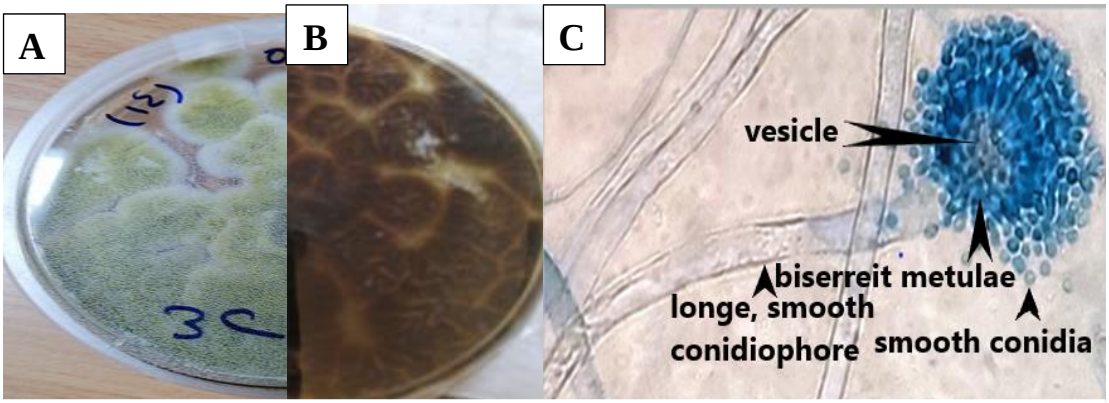
الشكل(4-3): فطر *Aspergillus costaricensis* على وسط SDA، بدرجة حرارة 28 ^{0} م ، لمدة عشرة ايام. A: وجه المستعمرة B: ظهر المستعمرة C: الشكل المجهري 40X

٤) الفطر *Aspergillus flavus*

يتضح من الشكل(٤-٤) مايلي :-

الشكل المظهري : ظهرت المستعمرات الفطرية على وسط SDA صفراءمخضرة إلى أخضر داكن، سريعة النمو، ذات جدران خشنة تحولت إلى البني الغامق مع تقدم العمر ، قطر المستعمرة ٩٥- ٨٠ ملم بعد حضانة ١٠ أيام بدرجة حرارة ٣٨ ْم ،المظهر الخلفي للمستعمرة تميز بهيئة ملساء لماعة بلون بني غامق تتخللها عروق فاتحة اللون تنبع من مركز المستعمرة بأتجاه المحيط .

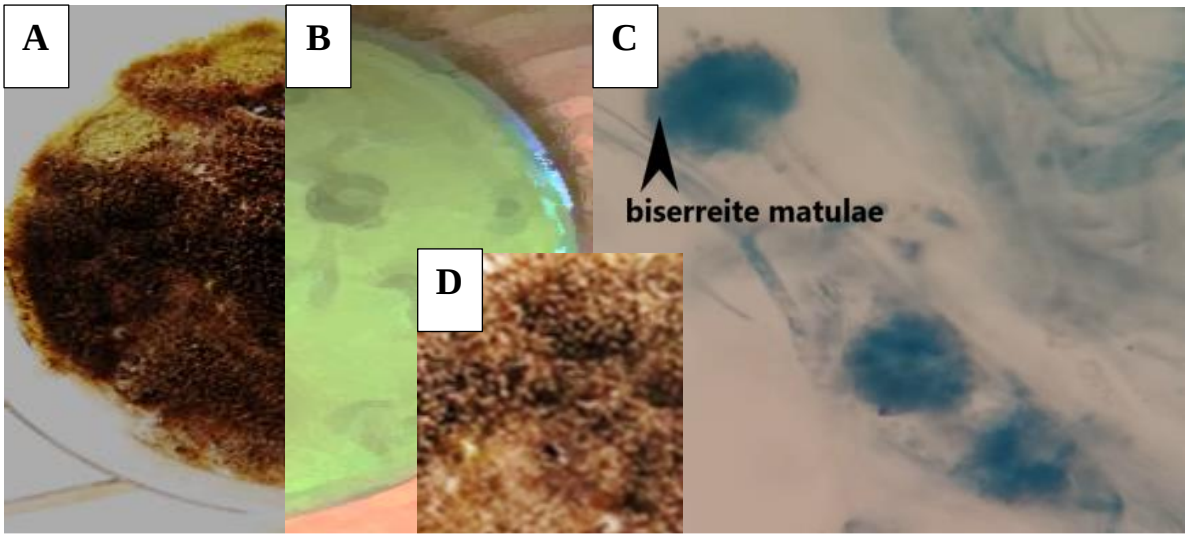
ومن نفس الشكل يلاحظ **الشكل المجهري :** الحامل الكونيدي conidiophore طويل ٤٠٠-٨٠٠مايكروميتر ، أملس يحمل حويصلة خشنة كروية كبيرة biseraite قطرها ٢٠- ٤٥ مايكروميتر Nyongesa وأخرون (٢٠١٥) و Afzal وأخرون(٢٠١٣) وتظهرالأبواغ الكونيدية شفافة ملساء وبشكل كثيف حول الحويصلة ، لم تلاحظ uniseraite في الحقل المجهري الذي تم فحصه .



الشكل (4-4): فطر *Aspergillus flavus* على وسط SDA، بدرجة حرارة 28 ^{0} م ، لمدة عشرة ايام.
A: وجه المستعمرة B: ظهر المستعمرة C: الشكل المجهري 40X

٥ .الفطر *Aspergillus minisclerotigenes*

من الشكل (٤-٥) يلاحظ مستعمرات الفطر على وسط SDA ذات لون أصفر إلى بني غامق وأصفر في الأتجاه المعاكس وقطر المستعمرة ٨٥-٩٠ ملم بعد عشرة أيام من الحضن ، تظهر أجسام حجرية sclerotia سوداء صغيرة جدا ٠.١-٠.٢ ملم كروية غيرمنتظمة الشكل ، ومن نفس الشكل يلاحظ **الفحص المجهري** : تظهر الحوامل الكونيدية شفافة ذات رووس مخروطية الشكل biseraite و uiseraite وحويصلات كروية قطرها ٢٥-٤٠ مايكروميتر (Shoaib وأخرون ،٢٠١٩) .

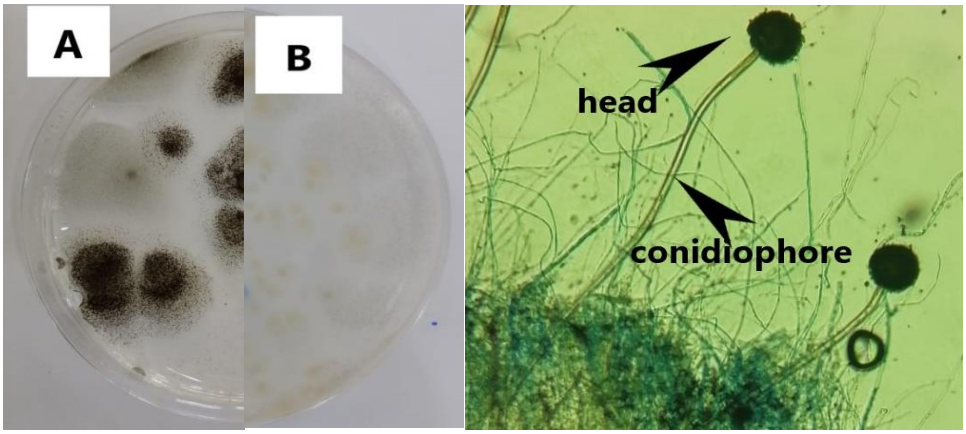


الشكل(4-5) : فطر *Aspergillus minisclerotigenes* على وسط SDA، بدرجة حرارة 28 ^{0} م ، لمدة عشرة ايام. A : وجه المستعمرة B: ظهر المستعمرة C: الشكل المجهري 40X D : مقطع مكبر من مزرعة فطرية يظهر فيه الاجسام الحجرية sclerotia .

٦.الفطر *Aspergillus niger*

من الشكل(٤-٦) **الصفات المظهرية :** تظهر المزرعة الفطرية على وسط SDA في البداية مظهرا حبيبي أملس ولكنها تتحول إلى اللون الأسود بعد بضعة أيام لإنتاجها أبواغ كونيدية وتظهر حواف المستعمرات باللون الأصفر الباهت أما ظهر المستعمرة عديم اللون إلى الأصفر الفاتح (Silva وأخرون ،٢٠١١) .

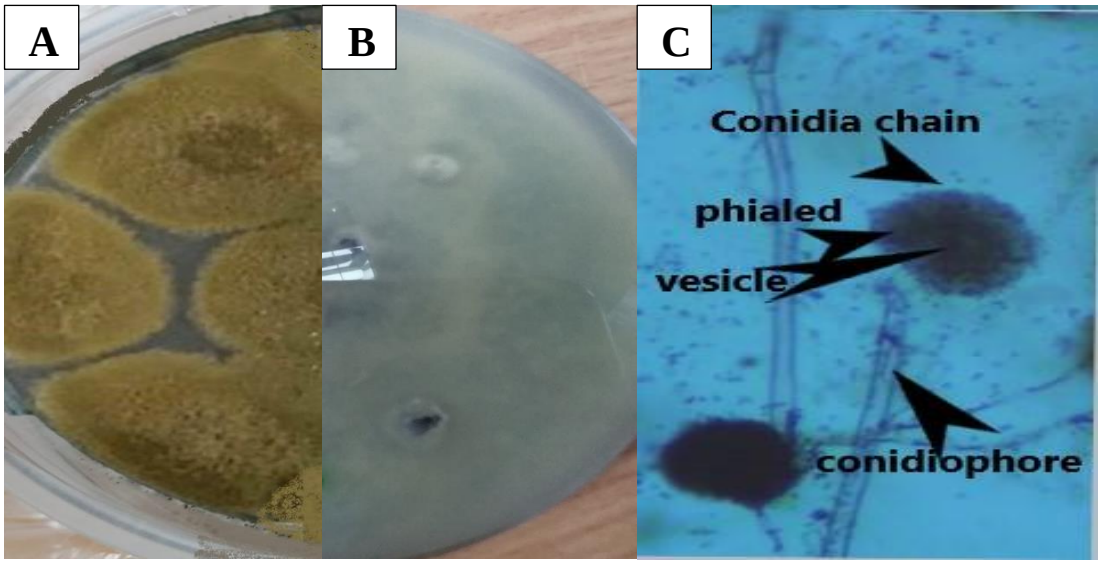
الفحص المجهري: تكون الحويصلة الحاملة للكونيديا صغيرة كروية الشكل تكون من النوع uniseriate، الكونيدات كروية الشكل خشنة بشكل غير منتظم بقطر حوالي ٥ –٣ ملي مايكرون .



الشكل (4-6): فطر *Aspergillus niger* على وسط SDA، بدرجة حرارة 28 ^{0} م ، لمدة خمسة ايام. A : وجه المستعمرة B: ظهر المستعمرة C: الشكل المجهري 40X

٧.الفطر *Aspergillus oryzae* :يظهر من الشكل(٤-٧):

الوصف المظهري : للفطر قابلية على النمو السريع على وسط SDA ويبلغ قطر المستعمرة٧٠ -٨٠ ملم بعد خمسة أيام من الحضانة بدرجة حرارة ٢٨ ° م تتحول تدريجيا إلى اللون البني الغامق، أما عند **الفحص المجهري**: يتميز بسلاسل كونيدية طويلة تبدو مثل الخيوط السوداء زغبية المظهر ، الحويصلة كبيرة تكون unisreaite Moubasher (١٩٩٣) ولم يتم مشاهدة bisreaite في الحقل المجهري .

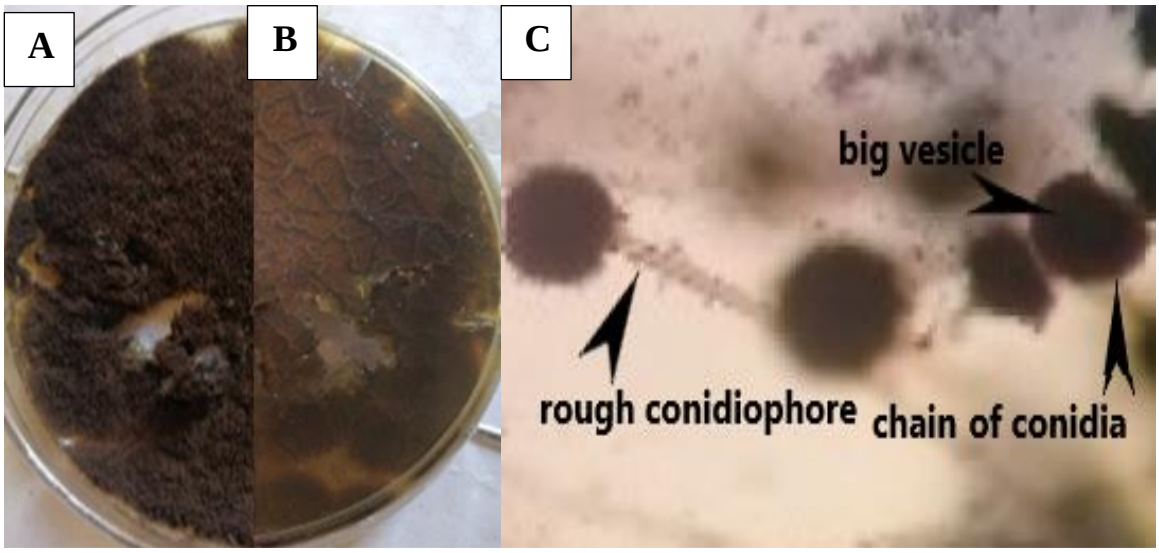


الشكل(4-7): فطر *Aspergillus oryzaer* على وسط SDA، بدرجة حرارة 28 ^{0} م ، لمدة خمسة أيام. A : وجه المستعمرة B: ظهر المستعمرة C: الشكل المجهري 40X .

٨.الفطر *Aspergillus piperis*

الشكل (٤-٨) **الوصف المظهري** : لون المستعمرة الفتية بني غامق اللون على وسط SDA ثم تحولت إلى سوداء حبيبية الشكل وبعد مرور ٧أيام تحت درجة حرارة ٢٨ ° م ظهر المستعمرة بني غامق مع وجود عروق واضحة .

ويبين **الفحص المجهري** : الحوامل الكونيدية طويلة وخشنة ، الحويصلة كبيرة ، والرأس الكونيدي كروي الشكل ومتجانس التوزيع على الرأس الكونيدي ، الأبواغ سوداء وتظهر بشكل سلسلة متجانسة من الأبواغ Samson وأخرون (٢٠٠٤) و Frisvad وأخرون(٢٠٠٧)

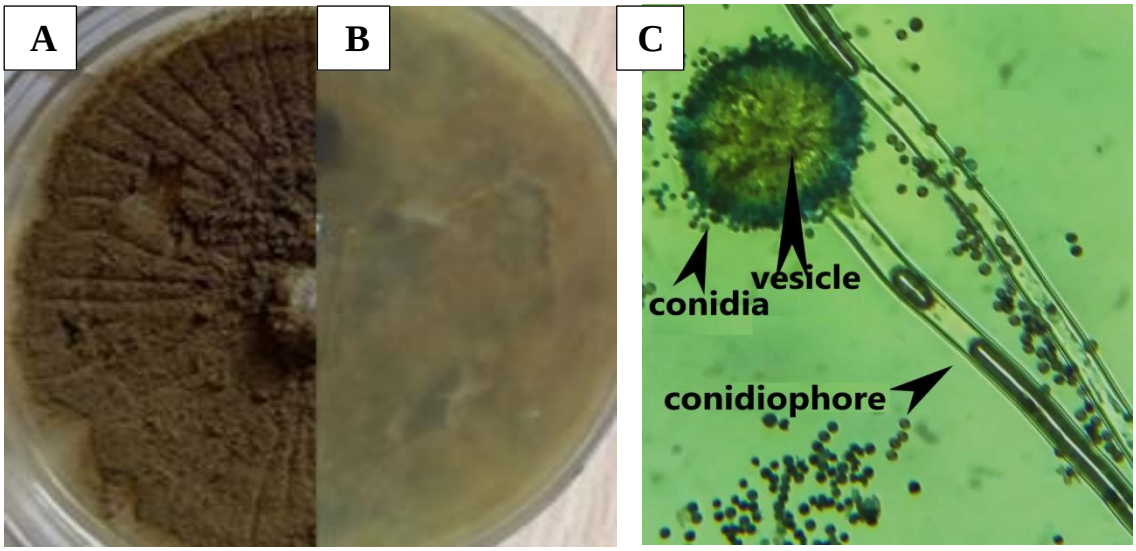


الشكل(4-8): فطر *Aspergillus piperisr* على وسط SDA، بدرجة حرارة 28 ^{0} م ، لمدة خمسة ايام.
A : وجه المستعمرة B: ظهر المستعمرة C: الشكل المجهري 40X .

٩.الفطر *Aspergillus tubingensis*

الشكل (٤-٩) **الوصف المظهري** : أظهرت المستعمرة الفطرية على وسط SDA لون بني غامق عند درجة حرارة ٢٨ درجة مئوية وتشبه *A.niger* ، كونت نموا أسودا تاخذ شكل الفلفل المطحون ومحاطا بهالة من النمو الأبيض ، ظهر المستعمرة بني فاتح وذات شكل أملس .

أما **الفحص المجهري**: فظهرت الروؤس الكونيدية محاطة بالفياليدات ، والكونيديا السوداء اللون ملساء الشكل وكروية ، الحويصلات كبيرة ويبلغ متوسط قطر الحويصلات ٨-٢١ مايكروميتر (Li وأخرون ،٢٠٢١) .

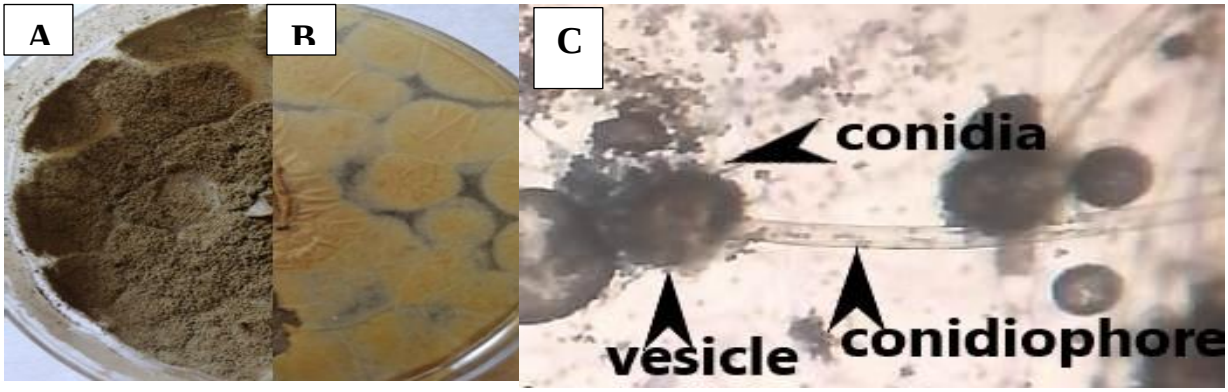


الشكل(4-9) : الفطر *Aspergillus tubingensis* على وسط SDA، بدرجة حرارة 28 ^{0} م ، لمدة خمسة ايام. A : وجه المستعمرة B: ظهر المستعمرة C: الشكل المجهري 40X .

١٠.الفطر *Aspergillus welwitschiae*

الشكل (٤-١٠) **الوصف المظهري :** تكون المستعمرات على وسط SDA مظهرا قطنيا ذات لون بني غامق مائل الى السواد في هذا الفطر مشابهة شكليا لفطر *A.niger* من ناحية الملمس القطني واللون الذي يكون بني غامق إلى مائل للسواد والجهة الظهرية من المستعمرة ذات لون بني غامق مع وجود العروق المتوازية الممتدة من المركز بإتجاه الحافة .

أما **الفحص المجهري**: يوضح خيوط متفرعة وحوامل كونيدية شفافة وطويلة في نهايتها رؤوس كونيدية كبيرة الحجم وذات حويصلة كبيرة وواضحة من نوع biseriate مع كونيدات كروية خشنة (Liu وأخرون، ٢٠١٩) .

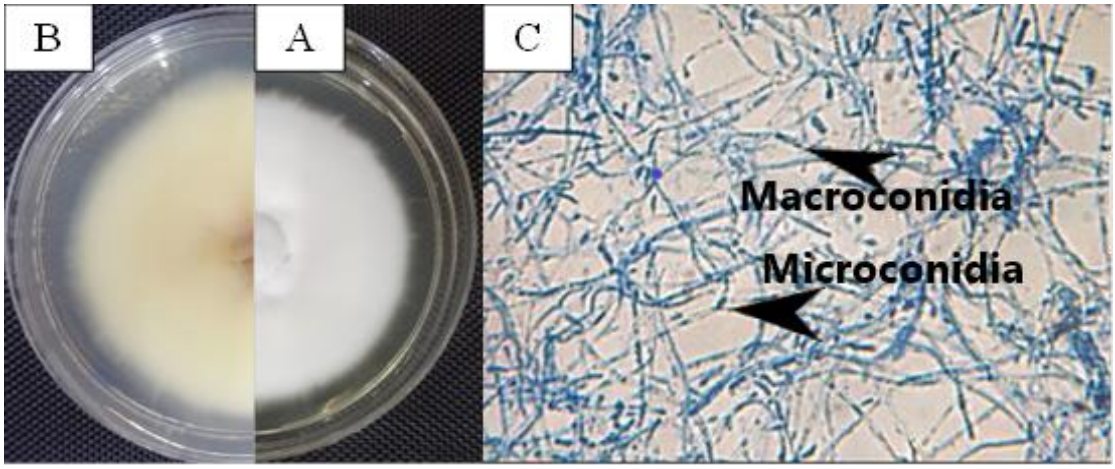


الشكل(4-10) : الفطر *Aspergillus welwitschiae* على وسط SDA، بدرجة حرارة 28 ^{0} م ، لمدة خمسة ايام. A :وجه المستعمرة B: ظهر المستعمرة C: الشكل المجهري 40X

٣.١.٤ صفات الفطريات الجلدية

١. الفطر *Trichophyton rubrum*

ظهرت المستعمرات بلون أبيض مسطحة ترتفع قليلا فوق مستوى الوسط الزرعي ذات أنسجة قطنية ناعمة مفككة أما الجهة الخلفية من المستمرة ذات لون بني مصفر إلى بني محمر وبلغ معدل النمو الفطري للمزرعة ٥سم بعد مرور ٧أيام من الحضن بدرجة حرارة ٣٠ درجة مئوية أما الفحص المجهري أوضح الأبواغ الصغيرة والكبيرة وبنفس المواصفات التي ذكرت في Al-Masaoodi وأخرون (٢٠٢٠) ملاحظة الشكل في أدناه لمدة ٢٨ يوما بدرجة حرارة ٣٠درجة مئوية .

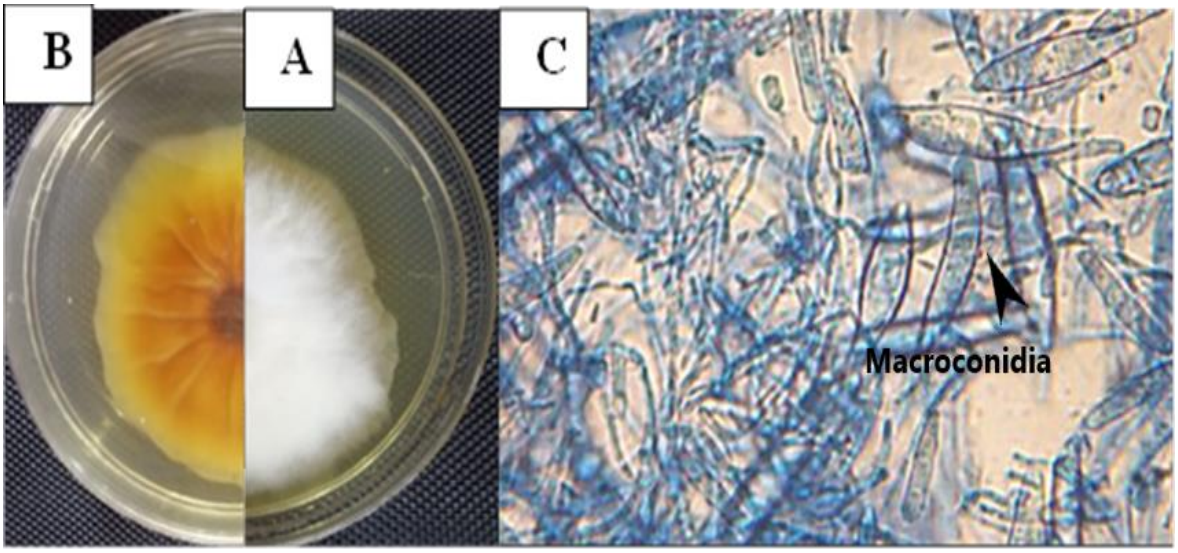


الشكل(4-11): فطر *Trichophyton rubrum* على وسط SDA، بدرجة حرارة 30 ^{0} م ، لمدة 28يوما

A : وجه المستعمرة B: ظهر المستعمرة C: الشكل المجهري 40X

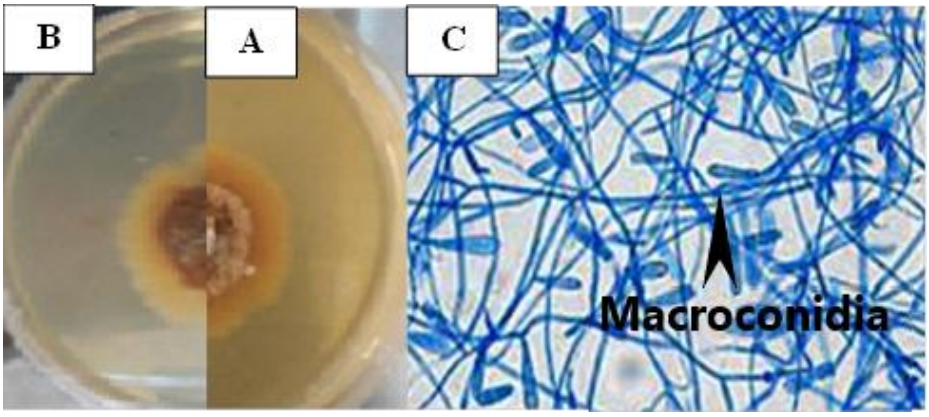
٢.الفطر *Microsprum canis*

أظهرت المستعمرة لونا كريميا تحول إلى الأصفر البرتقالي أما الجهة الخلفية من المستعمرة لون ذهبي مصفر ومع تقدم العمر تحول إلى اللون البني وبلغ معدل قطر المستعمرة ٤سم بعد مرور ٧أيام من الحضن بدرجة حرارة ٣٠ْم على الوسط الزرعي SDA أما الفحص المجهري أظهر الكونيدات الكبيرة ذات الشكل المغزلي ومغطاة بأشواك وبنفس المواصفات الذي ذكرها .



الشكل(4-12): فطر *Microsprum canis* على وسط SDA، بدرجة حرارة 30 ^{0} م ، لمدة ٢٨يوما .A : وجه المستعمرة B: ظهر المستعمرة C: الشكل المجهري 40X

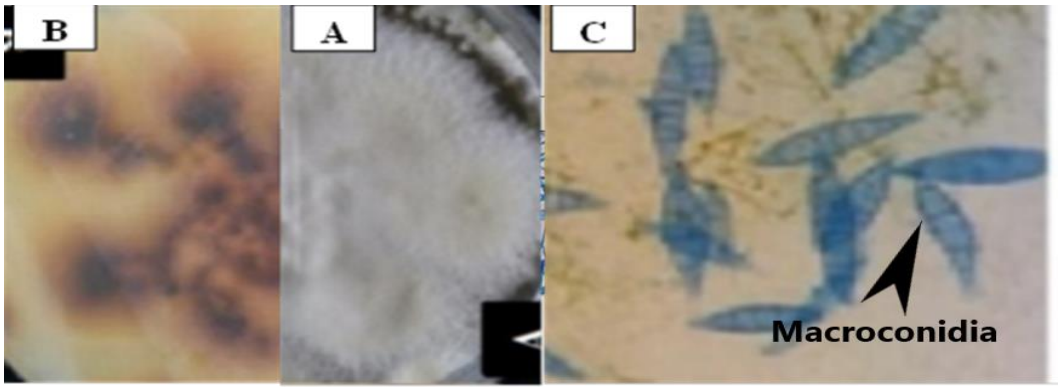
٣. ***Epidermophyton floccosum*** الفطر يكون بطيء النمو على وسط PDA وتظهر المستعمرات بلون أصفر كبريتي مسحوقي powdery والجهة المعاكسة ذات لون برتقالي بني وحواف صفراء أما الفحص المجهري أوضح كونيدات كبيرة مغزلية الشكل ذات نهاية متسعة كما في الشكل (٤-١٣)



الشكل(4- 13) : فطر *Epidermophyton floccosum* على وسط SDA، بدرجة حرارة 30 ^{0} م ، لمدة 28يوما .A : وجه المستعمرة B: ظهر المستعمرة C: الشكل المجهري 40X

٤.الفطر *Microsprum gypseum*

الفطر سريع النمو على PDA تظهر المستعمرات بلون أبيض كريمي إلى بني غامق وقد يصبح حبيبي ويكون الوجه الخلفي للمستعمرة بلون أصفر شاحب إلى بني محمر أما الفحص المجهري يوضح الكونيدات الكبيرة الشكل البيضاوي إلى مغزلي تحوي حواجز عرضية واضحة .

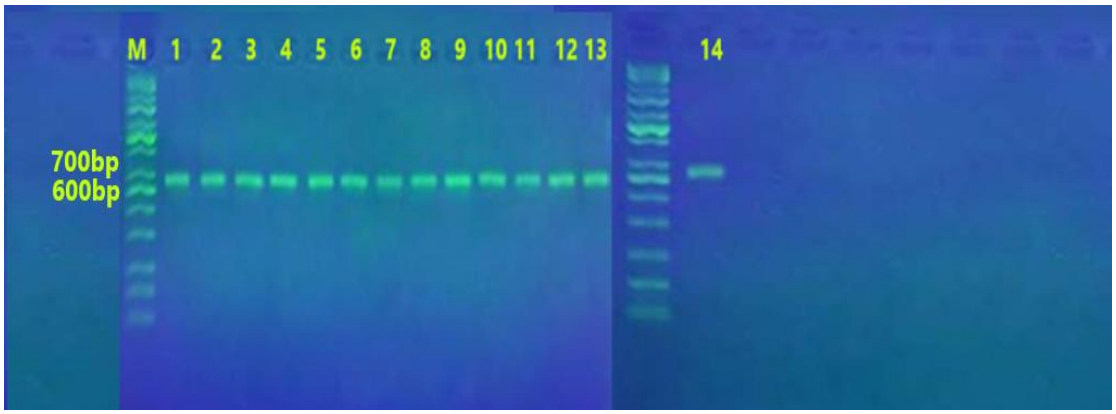


الشكل(4-14): فطر *Microsprum gypseum* على وسط SDA، بدرجة حرارة 30 ^{0} م ، لمدة 28يوما.A : وجه المستعمرة B: ظهر المستعمرة C: الشكل المجهري 40X

٤.١.٤ الدراسة الجزيئية للعزلات الفطرية

١. التشخيص الجزيئي للعزلات الفطرية

تبين التشخيص الجزيئي للفطريات المعزولة أنها تعود الى جنس *Aspergillus , Rhizopus* وأحتوت جميع العزلات الفطرية على حزمة مفردة من الحامض النووي المستخلص وقد قيست نقاوته بواسطة إستخدام جهاز الطيف المرئي Spectrophometer تحت أطوال موجية ٨٨٠ و ٨٩٠ نانومتر ،وبينت نتائج التحليل للجين ١٨S ribosomal RNA لمنطقة SSU موجبة لجميع الفطريات وهي بين ٥٠٠-٦٠٠bp. (الشكل ٤-١٥)



الشكل (4-15) : الترحيل الكهربائي على هلام الاكاروز 1.5% وفولتية 100 لمدة ساعة . ايجابي الفحص بين bp 600-500

٢. التشخيص الجزيئي للأنواع الفطرية وتسجيلها بالبنك الجيني العالمي و تحديد تسلسل القواعد النتروجينة وتحليل المعلوماتية الحيوية والشجرة الوراثية Phylogeny

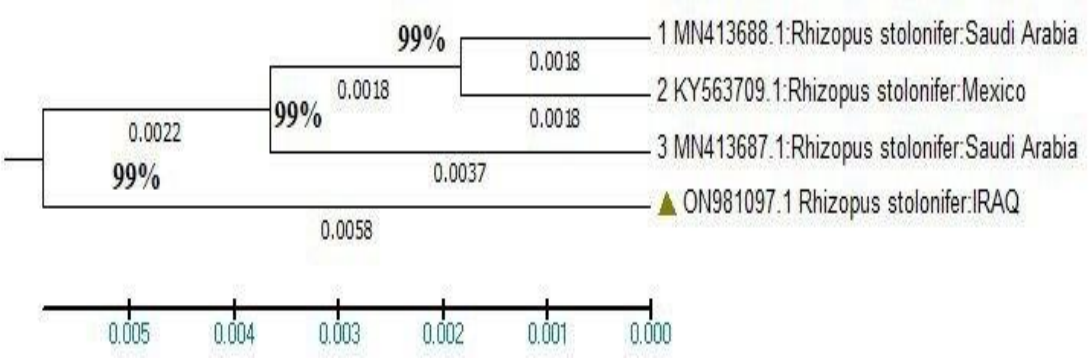
أوضحت النتائج أن جميع الفطريات تم تسجيلها كعزلات عراقية محلية لأول مرة في البنك الجيني العالمي وتفاعلت جينوماتها مع الباديء وتطابقت مع نظيراتها بنسبة ٩٩-١٠٠% بحسب ماموضح في معلومات التسجيل ودراسة التقارب والتشابه بين الفطريات المسجلة وقد حدد العزلة الأولى *Rhizopus stoloifer* الرمزالتسلسلي ON٩٨١٠٩٧ و والعزلة الثانية *Aspergillus niger* الرمز التسلسلي ON٩٨١٠٩٨ والعزلة الثالثة *Aspergillus welwitschiae* الرمز التسلسلي ON٩٨١٠٩٩ والعزلة الرابعة *Aspergillus miniscierotigenes*الرمز التسلسلي ON٩٨١١٠٠ والعزلة الخامسة *Aspergillus tubingensis* الرمز التسلسلي ON٩٨١١٠١ والعزلة السادسة *Aspergillus costaricensis* الرمز التسلسلي ON٩٨١١٠٢ والعزلة السابعة *Aspergillus* oryzae الرمز التسلسلي ON٩٨١٢٩٥ والعزلة الثامنة *Aspergillus piperis* الرمز التسلسلي ON٩٨١١٠٣ والعزلة التاسعة *Aspergillus brasiliensis*الرمز التسلسلي ON٩٨١١٠٤ والعزلة العاشرة *Aspergillus niger* الرمز التسلسلي ON٩٨١١٠٥ والعزلة الحادية عشر *Aspergillus tubigensis* الرمز التسلسلي ON٩٨١٢٩٦ والعزلة الثانية عشر *Aspergillus fiavus*الرمز التسلسلي ON٩٨١٢٩٧ والعزلة الثالثة عشر *Rhizopus americanus*الرمز التسلسلي ON٩٨١١٠٦ والعزلة الرابعة عشر *Aspergillus niger*الرمز التسلسلي.ON٩٨١١٠٧ (الجدول ٤-٣) .

الجدول (٤-٢) الأرقام التسلسلية للعزلات الفطرية في البنك الجيني GinBank

ت	العزلة	اسم الفطر	الرقم التسلسلي في البنك الجيني	رقم الملحق
١	العزلة الأولى	*Rhizopus stolonifer*	ON٩٨١٠٩٧	ملحق ٢
٢	العزلة الثانية	*Apergillus niger*	ON٩٨١٠٩٨	ملحق ٣
٣	العزلة الثالثة	*Aspergillus welwitschiae*	ON٩٨١٠٩٩	ملحق ٤
٤	العزلة الرابعة	*Aspergillus minisclerotigensis*	ON٩٨١١٠١	ملحق ٥
٥	العزلة الخامسة	*Aspergillus tubingensis*	ON٩٨١١٠١	ملحق ٦
٦	العزلة السادسة	*Aspergillus costaricensi*	ON٩٨١١٠٢	ملحق ٧
٧	العزلة السابعة	*Aspergillus oryzae*	ON٩٨١٢٩٥	ملحق ٨
٨	العزلة الثامنة	*Aspergillus piperis*	ON٩٨١١٠٣	ملحق ٩

٩	العزلة التاسعة	*Aspergillus brasiliensis*	ON٩٨١١٠٤	ملحق ١٠
١٠	العزلة العاشرة	*Aspergillus niger*	ON٩٨١١٠٥	ملحق ١١
١١	العزلة الحادية عشر	*Aspergillus tubingensis*	ON٩٨١٢٩٦	ملحق ١٢
١٢	العزلة الثانية عشر	*Aspergillus flavus*	ON٩٨١٢٩٧	ملحق ١٣
١٣	العزلة الثالثة عشر	*Rhizopus americanus*	ON٩٨١١٠٦	ملحق ١٤
١٤	العزلة الرابعة عشر	*Aspergillus niger*	ON٩٨١١٠٧	ملحق ١٥

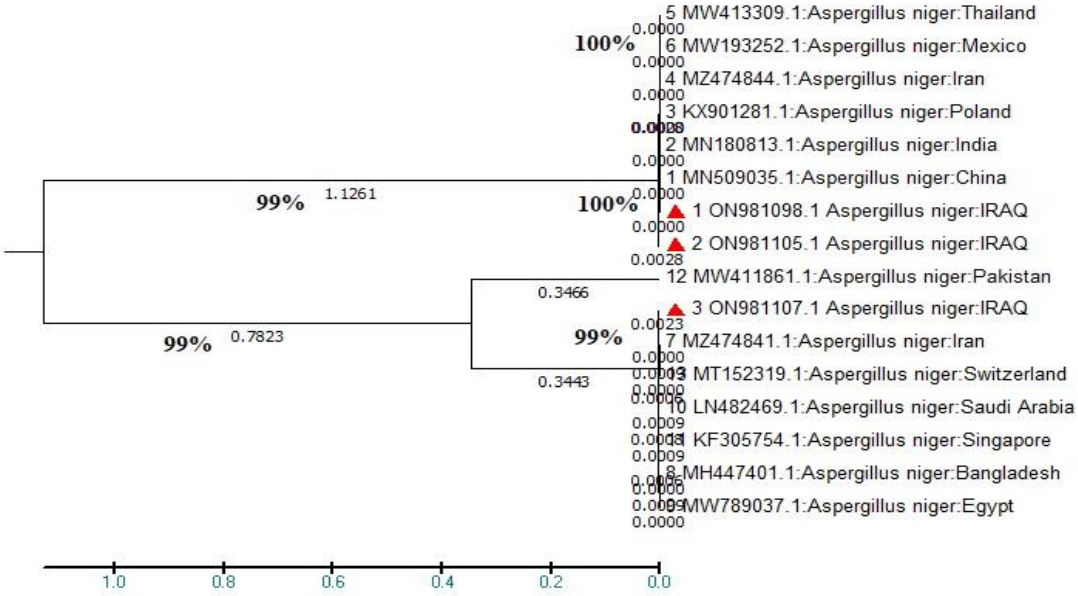
بينت نتائج تحليل تسلسل القواعد النايتروجينية (Nucleotide sequence) لحزم الحامض النووي المضاعفة وبإستعمال برنامج Mega/٦ and N. S. B. I وبمقارنتها مع البيانات المتوفرة في المركز العالمي لمعلومات التقانات الحياتية (NCBI) والعائدة للفطر *R. stolonifer* المشخصة والمسجلة في البنك الجيني والتي تحمل الرقم التسلسلي ON٩٨١٠٩٧ مطابقة مع العزلة *R. stolonifer* المعزولة في المملكة العربية السعودية والتي تحمل الرقم التسلسلي MN٤١٣٦٨٨ والمكسيك التي تحمل الرقم التسلسلي KY٥٦٣٧٠٩ والمملكة العربية السعودية التي تحمل الرقم التسلسلي MN٤١٣٦٨٧ بنسبة ٩٩% (الشكل ٤-١٦) .



الشكل (٤-١٦) يمثل الشجرة الوراثية للعزلة الفطرية الاولى للفطر *Rhizopus stolonifer*
(مؤشر بمثلث) مع أنواع وسلالات أخرى معروفة تعود للجنس نفسه .

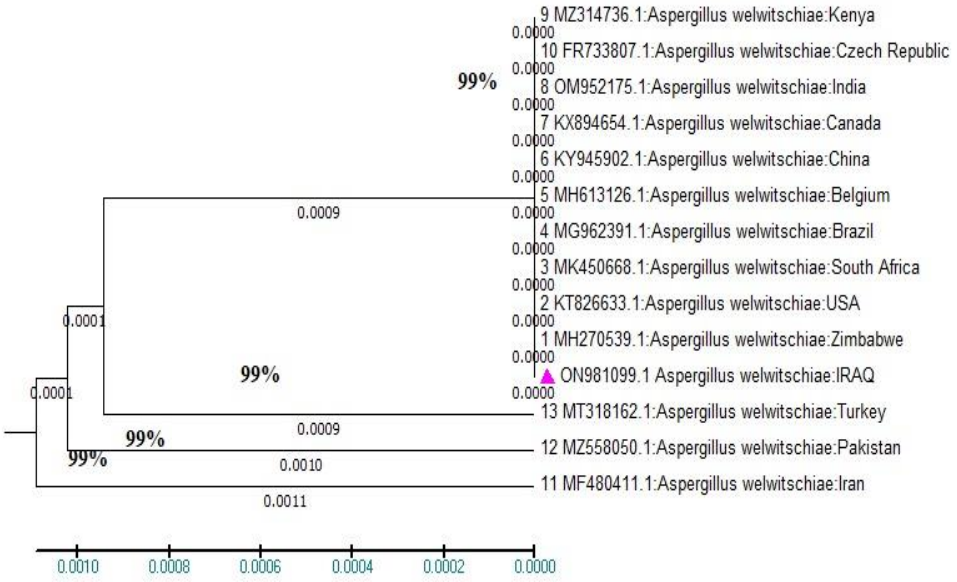
يبين الشكل (٤-١٧) تحليل الشجرة الوراثية للفطر *Aspergillus niger* المشخصة والمسجلة في البنك الجيني المتمثلة بثلاث عزلات ذات الرقم التسلسلي ON٩٨١١٠٥ , ON٩٨١٠٩٨ ON٩٨١١٠٧ مطابقة مع العزلة المعزولة من الصين ذات الرقم التسلسلي MN٥٠٩٠٣٥ والعزلة المعزولة من الهند ذات الرقم التسلسلي MN١٨٠٨٣ والعزلة المعزولة من بولندا ذات الرقم التسلسلي KX٩٠١٢٨١ بنسبة ١٠٠% فضلا عن تطابقها مع عزلات أخرى من إيران وفيلندا و المكسيك وإيران وبنكلادش ومصر والسعودية بنسبة ٩٩ %.

معزولة من الهند ذات الرقم التسلسلي MN١٨٠٨٣ والعزلة المعزولة من بولندا ذات الرقم التسلسلي



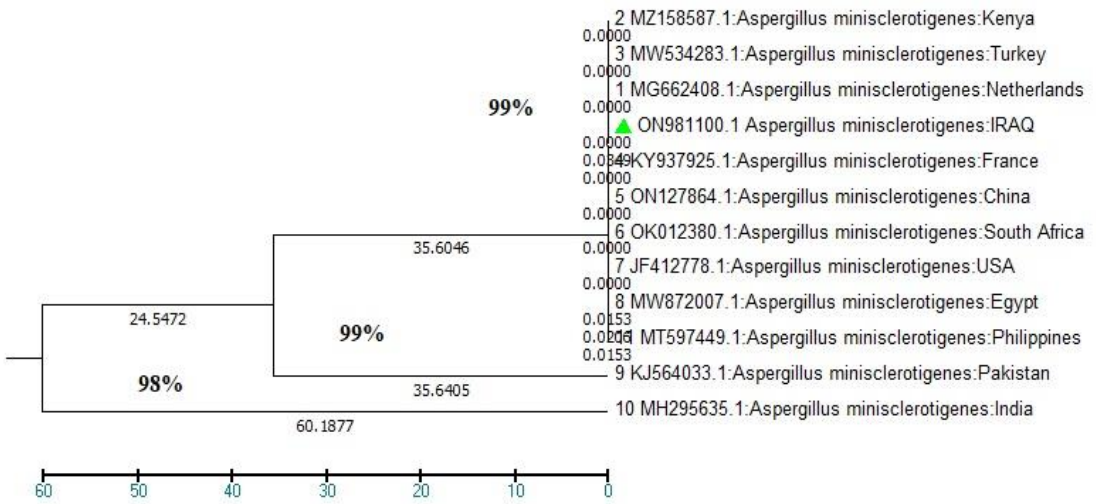
الشكل (٤-١٧) يمثل الشجرة الوراثية للعزلة الفطرية الثانية للفطر*Aspergillus niger*
(مؤشر بمثلث) مع أنواع وسلالات أخرى معروفة تعود للجنس نفسه .

يوضح الشكل (٤-١٨) تحليل الشجرة الوراثية للفطر*Aspergillus welwitschiae* المشخصة والمسجلة في البنك الجيني ذات الرقم التسلسلي ON٩٨١٠٩٩ مطابقة مع العزلة المعزولة من زمبابوي ذات الرقم التسلسلي MH٢٧٠٥٣٩ والعزلة المعزولة من أمريكا ذات الرقم التسلسلي KT٨٢٦٦٣٣ والعزلة المعزولة من جنوب أفريقيا ذات الرقم التسلسلي MK٤٥٠٦٦٨ بنسبة ٩٩% فضلا عن تطابقها مع عزلات أخرى من البرازيل بلجيكا والصين كندا الهند و التشيك بنسبة ٩٩ %.



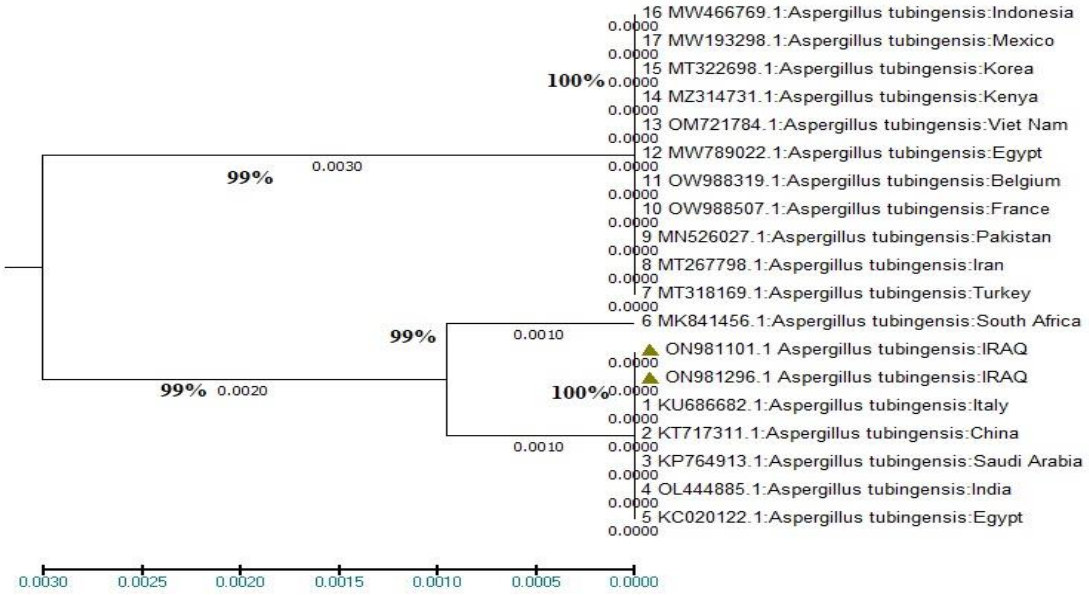
الشكل (٤-١٨) يمثل الشجرة الوراثية للعزلة الفطرية االثالثة للفطر *Aspergillus welwitschiae*(مؤشر بمثلث)
مع أنواع وسلالات أخرى معروفة تعود للجنس نفسه .

يوضح الشكل (٤-١٩) تحليل الشجرة الوراثية للفطر *Aspergillus minisclerotigenes* المشخصة والمسجلة في البنك الجيني ذات الرقم التسلسلي ON٩٨١١٠٠ مطابقة مع العزلة المعزولة من هولندا ذات الرقم التسلسلي MG٦٦٢٤٠٨ والعزلة المعزولة من تركيا ذات الرقم التسلسلي MW٥٣٤٢٨٣ والعزلة المعزولة من كينيا ذات الرقم التسلسلي MZ١٥٨٥٨٧ بنسبة ٩٩% فضلا عن تطابقها مع عزلات أخرى من فرنسا ، الصين ، جنوب أفريقيا ، أمريكا ، مصر ، باكستان والهند بنسبة ٩٩% .



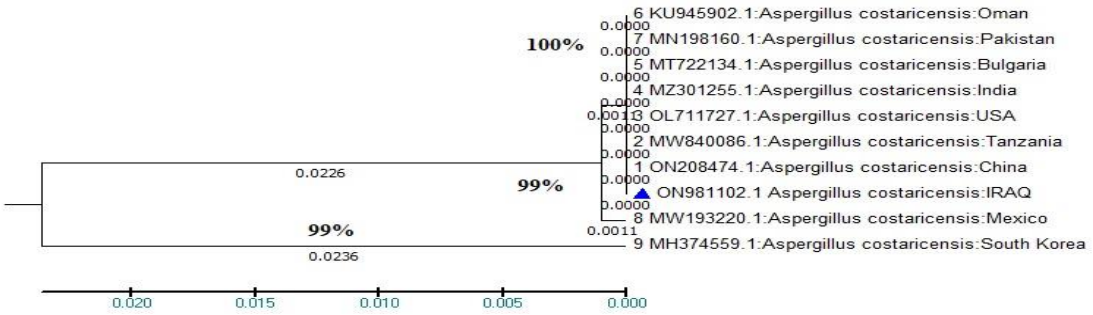
الشكل (٤-١٩) يمثل الشجرة الوراثية للعزلة الفطرية الثالثة للفطر*Aspergillus minisclerotigenes* (مؤشر بمثلث) مع أنواع وسلالات أخرى معروفة تعود للجنس نفسه

يوضح الشكل (٤-٢٠) تحليل الشجرة الوراثية للفطر *Aspergillus tubingensis* المشخصة والمسجلة في البنك الجيني والمتمثلة بعزلتين ذات الرقم التسلسلي ON٩٨١١٠١, ON٩٨١٢٩٦ مطابقة مع العزلة المعزولة من إيطاليا ذات الرقم التسلسلي KU٦٨٦٦٨٢ والعزلة المعزولة من الصين ذات الرقم التسلسلي KT٧١٧٣١١ والعزلة المعزولة من المملكة العربية السعودية ذات الرقم التسلسلي KP٧٦٤٩١٣ بنسبة ١٠٠% فضلا عن تطابقها مع عزلات أخرى من الهند ، مصر ، جنوب أفريقيا ، تركيا ، إيران ، باكستان ، فرنسا ، بلجيكا ، مصر ، فيتنام ، كينيا ، كوريا ، المكسيك وإندونيسيا بنسبة ٩٩% .



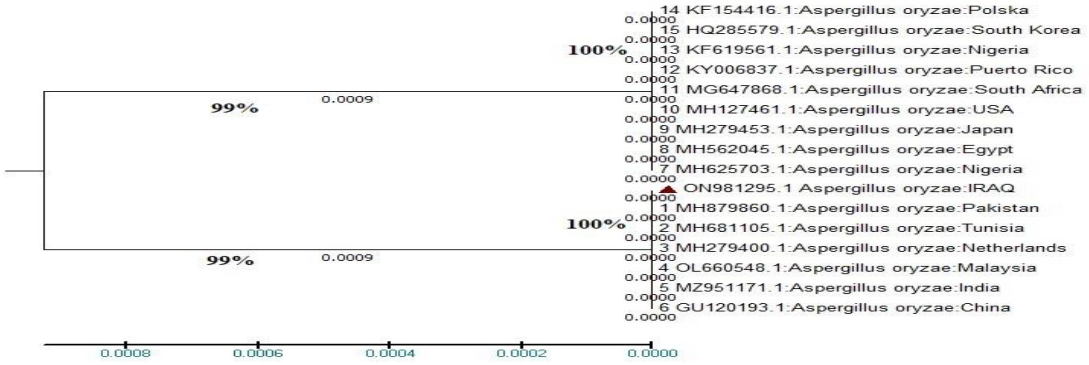
الشكل (٤-٢٠) يمثل الشجرة الوراثية للعزلة الفطرية االخامسة للفطر *Aspergillus tubingensis* (مؤشر بمثلث) مع أنواع وسلالات أخرى معروفة تعود للجنس نفسه

يوضح الشكل (٤-٢١) تحليل الشجرة الوراثية للفطر *Aspergillus costaricensis* المشخصة والمسجلة في البنك الجيني ذات الرقم التسلسلي ON٩٨١١٠٢ مطابقة مع العزلة المعزولة من الصين ذات الرقم التسلسلي ON٢٠٨٤٧٤ والعزلة المعزولة من تنزانيا ذات الرقم التسلسلي MW٨٤٠٠٨٦ والعزلة المعزولة من الولايات المتحدة الأمريكية ذات الرقم التسلسلي OL٧١١٧٢٧ بنسبة ١٠٠% فضلا عن تطابقها مع عزلات أخرى من الهند ، بلغاريا ، عمان ، باكستان ، المكسيك ، وكوريا الجنوبية بنسبة ٩٩% .



الشكل (٤-٢١) يمثل الشجرة الوراثية للعزلة الفطرية السادسة للفطر *Aspergillus costaricensis* (مؤشر بمثلث) مع أنواع وسلالات أخرى معروفة تعود للجنس نفسه

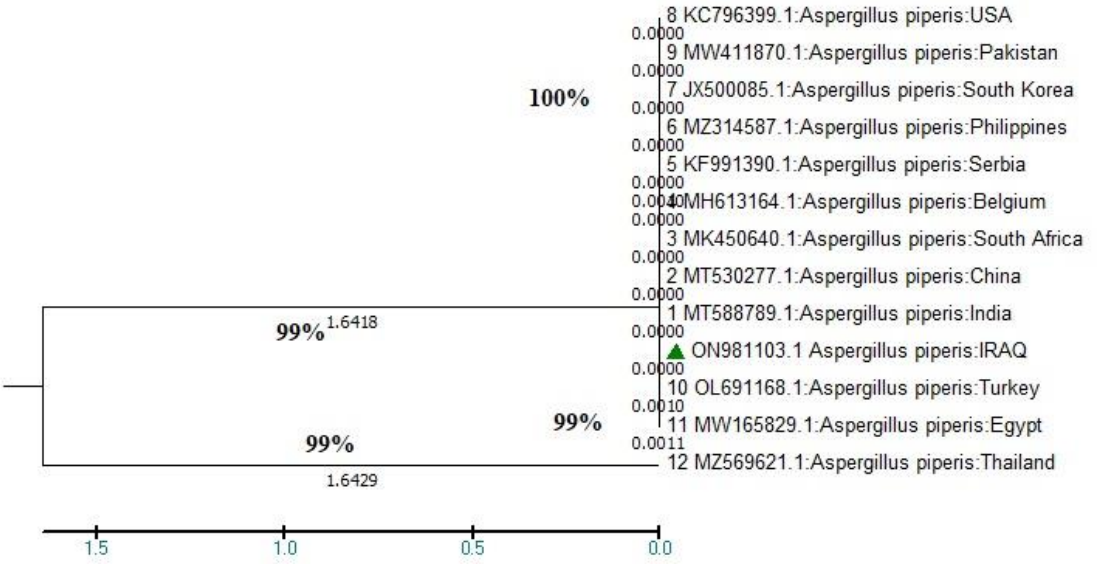
يوضح الشكل (٤-٢٢) تحليل الشجرة الوراثية للفطر *Aspergillus oryzae* المشخصة والمسجلة في البنك الجيني ذات الرقم التسلسلي ON٩٨١٢٩٥ مطابقة مع العزلة المعزولة من باكستان ذات الرقم التسلسلي MH٨٧٩٨٦٠ والعزلة المعزولة من تونس ذات الرقم التسلسلي MH٦٨١١٠٥ والعزلة المعزولة من هولندا ذات الرقم التسلسلي MH٢٧٩٤٠٠ بنسبة ١٠٠% فضلا عن تطابقها مع عزلات أخرى من ماليزيا ، الهند، الصين ، نيجيريا ، مصر ، اليابان ، أمريكا ، جنوب أفريقيا بنسبة ١٠٠% .



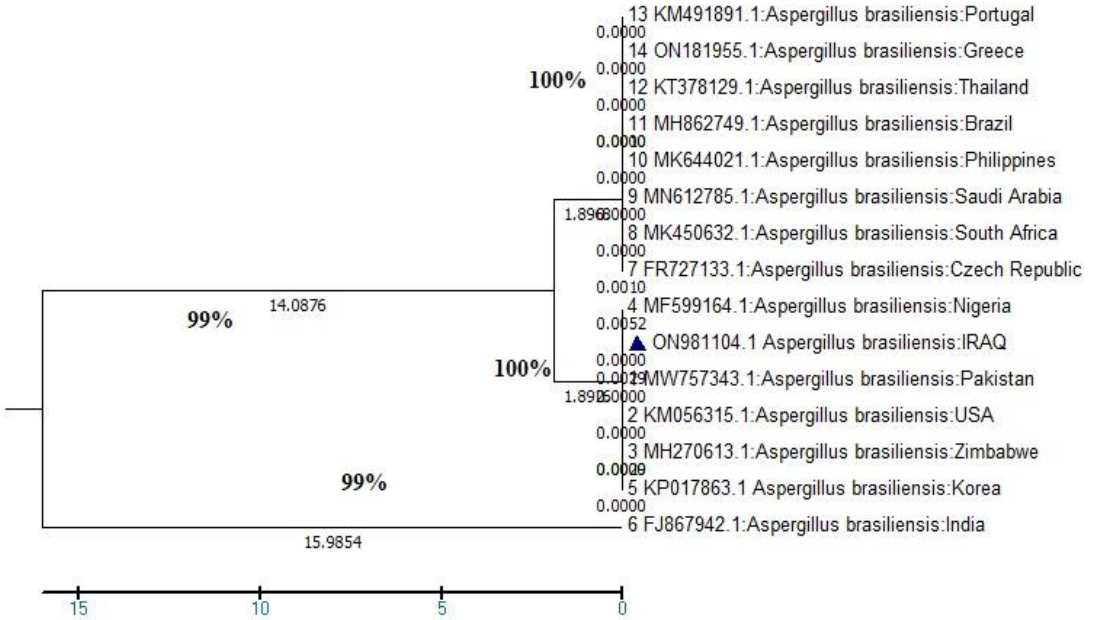
الشكل (٤-٢٢) يمثل الشجرة الوراثية للعزلة الفطرية السابعة للفطر *Aspergillus oryzae* (مؤشر بمثلث) مع أنواع وسلالات أخرى معروفة تعود للجنس نفسه

يوضح الشكل (٤-٢٣) تحليل الشجرة الوراثية للفطر *Aspergillus piperis* المشخصة والمسجلة في البنك الجيني ذات الرقم التسلسلي ON٩٨١١٠٣ مطابقة مع العزلة المعزولة من الهند ذات الرقم التسلسلي MT٥٨٨٧٨٩ والعزلة المعزولة من الصين ذات الرقم التسلسلي MT٥٣٠٢٧٧ والعزلة المعزولة من جنوب أفريقيا ذات الرقم التسلسلي MK٤٥٠٦٤٠ بنسبة ١٠٠% فضلا عن تطابقها مع عزلات أخرى من بلجيكا ، صربيا ، فلبين ، كوريا الجنوبية ، أمريكا ، باكستان ،تركيا ، مصر و تايلند بنسبة ٩٩ % .

يوضح الشكل (٤-٢٤) تحليل الشجرة الوراثية *Aspergillus brasiliensis* المشخصة والمسجلة في البنك الجيني ذات الرقم التسلسلي ON٩٨١١٠٤ مطابقة مع العزلة المعزولة من باكستان ذات الرقم التسلسلي MW٧٥٧٣٤٣ والعزلة المعزولة من الولايات المتحدة الأمريكية ذات الرقم التسلسلي KM٠٥٦٣١٥ والعزلة المعزولة من زمباوي ذات الرقم التسلسلي MH٢٧٠٦١٣ بنسبة ١٠٠% فضلا عن تطابقها مع عزلات أخرى من نيجيريا ،كوريا ، الهند ، تشيكيا ، جنوب أفريقيا ، السعودية ، الفلبين ،البرازيل ، تايلند ، البرتغال ، والإغريق بنسبة ١٠٠ %.



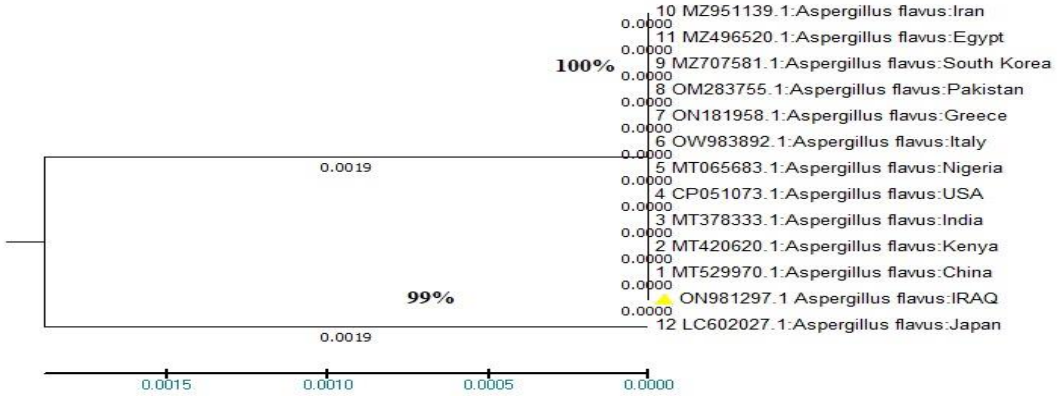
الشكل (٤-٢٣) يمثل الشجرة الوراثية للعزلة الفطرية الثامنة للفطر *Aspergillus piperis* (مؤشر بمثلث) مع أنواع وسلالات أخرى معروفة تعود للجنس نفسه



الشكل (٤-٢٤) يمثل الشجرة الوراثية للعزلة الفطرية التاسعة للفطر *Aspergillus brasiliensis*(مؤشر بمثلث) مع أنواع وسلالات أخرى معروفة تعود للجنس نفسه .

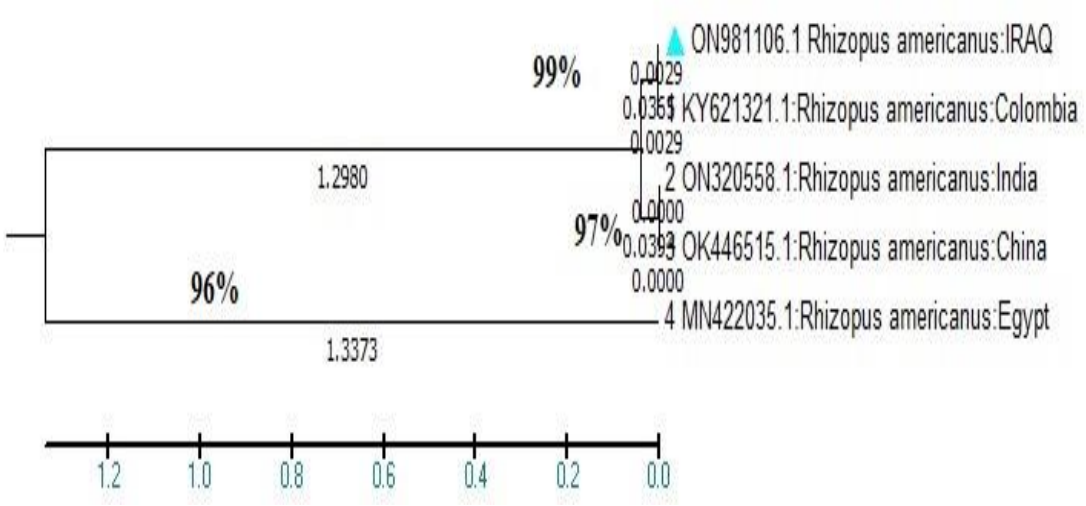
يوضح الشكل (٤- ٢٥) تحليل الشجرة الوراثية *Aspergillus flavus* المشخصة والمسجلة في البنك الجيني ذات الرقم التسلسلي ON٩٨١٢٩٧ مطابقة مع العزلة المعزولة من الصين ذات الرقم التسلسلي MT٥٢٩٩٧٠ والعزلة المعزولة من كينيا ذات الرقم التسلسلي MT٤٢٠٦٢٠ والعزلة المعزولة من الهند ذات الرقم التسلسلي MT٣٧٨٣٣٣ بنسبة ١٠٠% فضلا عن تطابقها مع عزلات

أخرى من أمريكا ، نيجيريا ، إيطاليا ، الإغريق ، باكستان ، كوريا الجنوبية ، مصر و إيران بنسبة ٩٩ %.



الشكل (٤-٢٥) يمثل الشجرة الوراثية للعزلة الفطرية العاشرة للفطر *Aspergillus flavus* (مؤشر بمثلث) مع أنواع وسلالات أخرى معروفة تعود للجنس نفسه .

يوضح الشكل (٤-٢٦) تحليل الشجرة الوراثية *Rhizopus americanus* المشخصة والمسجلة في البنك الجيني ذات الرقم التسلسلي ON٩٨١١٠٦ مطابقة مع العزلة المعزولة من كولومبيا ذات الرقم التسلسلي KY٦٢١٣٢١ والعزلة المعزولة من الهند ذات الرقم التسلسلي ON٣٢٠٥٥٨ والعزلة المعزولة من الصين ذات الرقم التسلسلي OK٤٤٦٥١٥ بنسبة ٩٩% فضلا عن تطابقها مع العزلة المعزولة من مصر ذات الرقم التسلسلي MN٤٢٢٠٣٥ بنسبة ٩٧ % .



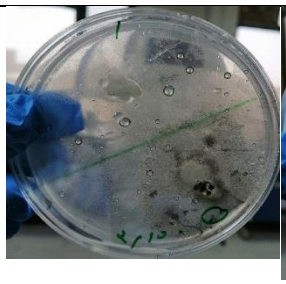
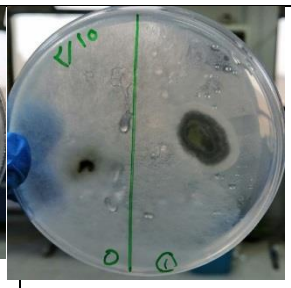
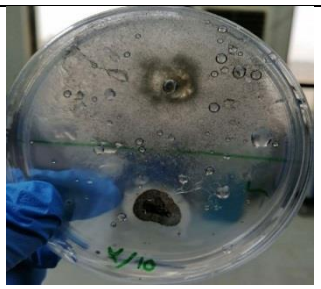
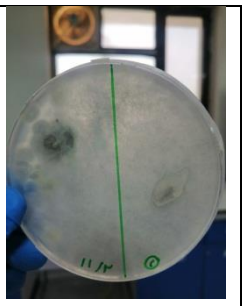
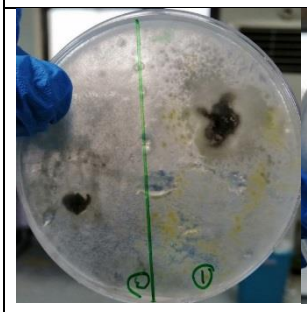
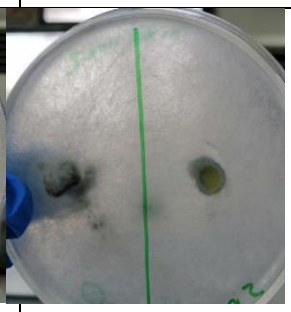
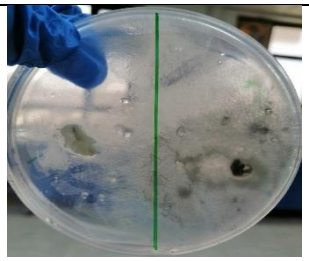
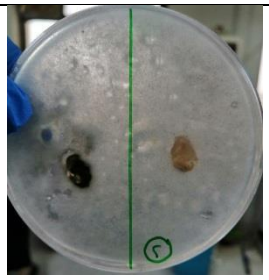
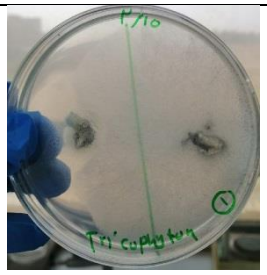
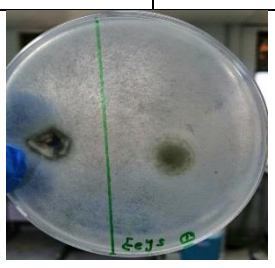
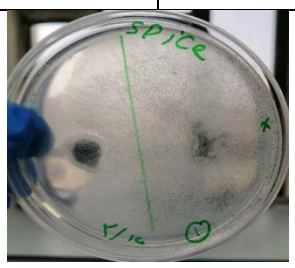
الشكل (٤-٢٦) يمثل الشجرة الوراثية للعزلة الفطرية الحادية عشر للفطر *Rhizopus americanus* (مؤشر بمثلث) مع أنواع وسلالات أخرى معروفة تعود للجنس نفسه .

٣ .أختبار الكفاءة التضادية للفطريات ضد الفطر *Rhizopus stolonifer*

أظهرت النتائج في الجدول (٤-٣) والشكل (٤-٢٧) القدرة التضادية للفطريات المختبرة ضد *R. stolonifer* وتم تضمين الأختبار الفطريات الجلدية المعزولة سابقا والمسجلة بالبنك الجيني من دراسات سابقة Al-Masaodi وأخرون(٢٠٢٠) وALmasoodi (٢٠٢١) وأظهرت النتائج بإن درجة التضاد ٣ حسب مقياس Bell للفطريات *A.minisclerotigenes* و *A.costaricensis* و *A.oryzae* و *A.piperis* و *A.flavus* و ٤ للفطريات *T. rubrum* و *M. canis* و *M. gypseum* ، و ٥ وهي سيطرة الفطر الممرض على الطبق بأكمله مع الفطريات *A.niger* و *A.welestichia* و *A.tubigensis* و *A.brasiliensis* و الفطر الجلدي الممرض *Epidermophyton floccosum* .

الجدول(٤ – ٣) : الكفاءة التضادية للفطريات المعزولة والفطريات الجلدية ضد الفطر *Rhizopus stolonifer* على وسط SDA، بدرجة حرارة ٢٨ ° م ، لمدة خمسة أيام .

الأنواع الفطرية	درجة التضاد	الأنواع الفطرية	درجة التضاد
R.americanus	٤	*A.piperis*	٣
A.brasiliensis	٥	*A.tubigensis*	٥
A.costaricensis	٣	*A.welestichia*	٥
A.flavus	٣	*Trichophyton rubrum*	٤
A.minisclerotigenes	٣	*Microsprum canis*	٤
A.niger	٥	*Epidermophyton floccosum*	٥
A.oryzae	٣	*Microsprum gypseum*	٤

			
Rhizopus americanus	*Aspergillus brasiliensis*	*Aspergillus costaricensis*	*Aspergillus flavus*
			
Aspergillus minisclerotigenes	*Aspergillus niger*	*Aspergillus oryzae*	*Aspergillus piperis*
			
Aspergillus tubingensis	*Aspergillus welwitschia*	*Trichophyton rubrum*	*Microsporum canis*
			
Epidermophyton floccosum	*Microsporum gypsum*		

الشكل (٤-٢٧) : الكفاءة التضادية للفطريات المعزولة ضد الفطر *Rhizopus stolonifer* على وسط SDA، بدرجة حرارة ٢٨ ° م ، لمدة خمسة أيام .

٤ .تأثير تراكيز مختلفة من الرواشح الفطرية المعزولة في معدل قطر (سم) الفطر *Rhizopus stolonifer*

أوضحت النتائج في الجدول (٤-٤) والشكل (٤-٢٨) وجود فروقات معنوية عند مستوى أحتمالية ٠.٠٥ لنوع راشح الفطر وتركيزه أذ لوحظ تذبذب تأثير الرواشح الفطرية لكن بصورة عامة جميع الرواشح الفطرية قد ثبطت نمو الفطر *R. stolonifer* مقارنة بمعاملة السيطرة التي أعطت معدل نمو قطري للفطر ٨.٠٠٠ سم وأظهر الراشح الفطري بالتركيز٧٥% تفوقا على التراكيز ١٠٠% ،٥٠% ،٢٥ % في تأثيره التثبيطي على نمو *Rhizopus* وبفروقات معنوية عند مستوى أحتمالية ٠.٠٥ إذ أعطى معدل نمو الفطر ٢.٥٧١ سم وبنسبة تثبيطية ٦٨% مقارنة ببقية التراكيز٢٥,٥٠,١٠٠% التي أعطت معدل نمو للفطر على التوالي ٣.١١٩، ٦.١٤٣، ٣.٦١٩ سم وبنسب تثبيطية ٦١%،٢٣%،٥٥%. تفوق راشح الفطر *A.piperis* تفوقا على بقية الرواشح في تأثيره على نمو الفطر *Rhizopus* ،فقد أعطى أقل معدل نمو للفطر وهو ٢.٩٣٣ سم وبنسبة تثبيط ٦٣% إذ بلغ معدل نمو المستعمرة صفر عند التركيزين ٢٥% و٧٥% في حين التركيزين ٥٠% و ١٠٠% أعطيا معدل نمو ٦ و٠.٦٦٧ سم على التوالي ،يأتي بالمرتبة الثانية راشح الفطر *A.minisclerotigenes* وراشح الفطر *Epidermophyton floccosum* وراشح الفطر *A.tubigensis* بين الرواشح في تأثيراتها التثبيطية

إذ أعطت معدل نمو ٣ و٣.١٣٣ و٣.٩٣٣ سم على التوالي وبنسبة تثبيط ،٦٣% ،٦١% ،٢٠% ، فقد بلغ معدل نمو مستعمرة الفطر *A.minisclerotigenes* بلغ صفر عند التركيز ١٠٠% و٧٥% و٢٥% في حين التركيز٥٠% أعطى معدل نمو للفطر ٧ سم ،أما الفطر *Epidermophyton floccosum* فقد بلغ معدل قطر المستعمرة للفطر عند التركيز ٢٥% و٧٥% صفر في حين أن التراكيز ٥٠% و ١٠٠% أعطت معدل نمو للفطر ٧ و٠.٦٦٧ سم على التوالي أما الفطر *A.tubigensis* فقد بلغ معدل قطر المستعمرة صفر عند التركيز ٥٠% في حين أن التراكيز ٢٥% و٧٥% و ١٠٠% أعطت معدل نمو للمستعمرة ١.٦٦٧ و٨ و٢ سم على التوالي .

أما في المرتبة الثالثة يأتي راشح الفطر *A.flavus* الذي أعطى معدل نمو ٤ سم وبنسبة تثبيطية ٥٠% ،إذ يبلغ معدل قطر المستعمرة صفر عند التركيز ٧٥% و ١٠٠% في حين يبلغ معدل قطر المستعمرة عند التراكيز ٢٥% و٥٠% ٥ و٧سم على التوالي ، وراشح الفطر *Microsprum canis* إذ أعطى معدل نمو ٤.٢٦٧ سم وبنسبة تثبيط ٤٧% بلغ معدل قطر المستعمرة للفطر صفر عند التركيز ٥٠% في حين بلغ معدل قطر المستعمرة عند التراكيز ٢٥% و ٧٥% و ١٠٠% ٦ و ١ و٦.٣٣٣ على التوالي ، أما راشح الفطر *A.niger* أعطى معدل نمو ٤.٣٣٣ سم وبنسبة تثبيطية

٤٦% بلغ معدل قطر المستعمرة صفر عند التركيزين ٢٥% و٧٥% أما التراكيز ٥٠% و١٠٠% بلغ معدل قطر المستعمرة ٦ و.٦٦٧ .٧ سم على التوالي .

أما راشح الفطر *R.americanus* أعطى معدل نمو٤.٧٣٣ سم وبنسبة تثبيطية ٥١% فقد بلغ معدل نمو المستعمرة الفطرية صفر عند التركيز ٧٥% أما التراكيز ٢٥% و ٥٠% و ١٠٠% فقد بلغ معدل نمو الفطر ١ و٧ و ٧.٦٦٧ سم على التوالي .أما المرتبة الرابعة يأتي راشح الفطر *Microsprum gypseum* أعطى معدل نمو ٥.٤٠٠ سم وبنسبة تثبيطية ٣٣% أذ بلغ معدل قطر المستعمرة صفر عند التركيز١٠٠% أما التراكيز ٢٥% و ٥٠% و٧٥% بلغ قطر المستعمرة ٨ ،٨، ٣سم على التوالي . وكذلك راشح الفطر *A.welestichia* أعطى معدل نمو ٥.٥٣٣ سم وبنسبة تثبيطية ٣١% بلغ قطر المستعمرة صفر عند التركيز ٢٥% أما التراكيز ٥٠% و ٧٥% و١٠٠% بلغ قطر المستعمرة ٨ ،٨ ،٣.٦٦٧ سم على التوالي .

في حين راشح الفطر *A.oryzae* أعطى معدل نمو ٥.٨٦٧ سم وبنسبة تثبيطية ٤١% بلغ معدل قطر المستعمرة للفطر صفر عند التركيز ٧٥% أما التراكيز ٢٥% و ٥٠% و ١٠٠% قد بلغ معدل قطر المستعمرة ٧ ،٨ ، ٦.٣٣٣ سم على التوالي . في حين أحتل المرتبة الخامسة راشح الفطر *A.costaricensis* أعطى معدل نمو ٦.٤٠٠ سم وبنسبة تثبيطية ٨% إذ بلغ معدل قطر المستعمرة صفر عند التركيز ٢٥% أما التراكيز ٥٠% و ٧٥% و ١٠٠% ،كان معدل قطر المستعمرة للفطر ٨ ، ٨ ، ٨ سم على التوالي .

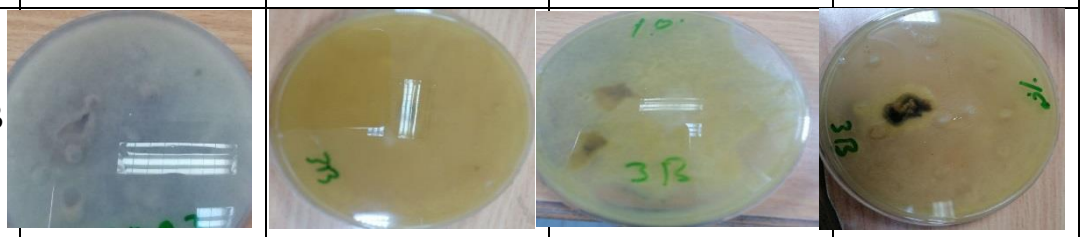
و جاء في المرتبة السادسة راشح الفطر *T. rubrum* أعطى معدل نمو ٤.٨٠٠ سم وبنسبة تثبيطية ٤٠% إذ بلغ معدل قطر المستعمرة للفطر صفر عند التركيز ٧٥% و١٠٠% أما التراكيز ٢٥% و ٥٠% كان معدل قطر المستعمرة ٨ ،٨ سم على التوالي أما في المرتبة الأخيرة راشح الفطر *A.brasiliensis* أعطى أعلى معدل نمو للمستعمرة بلغ ٧.٣٣٣ سم وبنسبة تثبيطية ٤١% وكان معدل قطر المستعمرة عند التراكيز٢٥% و٥٠% و ٧٥% و١٠٠% ،٧ ، ٦ ، ٨ ، ٧.٦٦٧ سم على التوالي

الجدول(٤ –٤) : تأثير تراكيز مختلفة من الرواشح الفطرية المعزولة والفطريات الجلدية في معدل قطر (سم) والنسبة المئوية لتثبيط الفطر *Rhizopus stolonifer* على وسط SDA بدرجة حرارة ٢٨ ٠ م لمدةخمسة أيام.

التركيز / نوع الفطر	٠		٢٥		٥٠		٧٥		١٠٠		المعدل	
	معدل القطر (سم)	النسبةالمئوية للتثبيط	معدل القطر (سم)	النسبةالمئوية للتثبيط	معدل القطر (سم)	النسبةالمئوية للتثبيط	معدل القطر (سم)	النسبةالمئوية للتثبيط	معدل القطر (سم)	النسبةالمئوية للتثبيط	معدل القطر (سم)	النسبةالمئوية للتثبيط
Rhizopus americanus	٨.٠	٠.٠	١.٠٠٠	٨٨	٧.٠	١٢.٥	٠.٠	١٠٠	٧.٦٦٧	٤.٢	٤.٧٣٣	٥١
A.brasiliensis	٨.٠	٠.٠	٧.٠٠٠	٦١	٦.٠	٢٣	٨.٠	٦٨	٧.٦٦٧	٥٥	٧.٣٣٣	٤١
Aspergillus costaricensis	٨.٠	٠.٠	٠.٠٠٠	١٠٠	٨.٠	٠.٠	٨.٠	٠.٠	٨.٠٠	٠.٠	٦.٤٠٠	٨
Aspergillus flavus	٨.٠	٠.٠	٥.٠٠٠	٣٨	٧.٠	١٢.٥	٠.٠	١٠٠	٠.٠	١٠٠	٤.٠٠٠	٥٠
Aspergillus minisclerotigenes	٨.٠	٠.٠	٠.٠٠٠	١٠٠.٠	٧.٠	١٢,٥	٠.٠	١٠٠	٠.٠	١٠٠	٣.٠٠٠	٦٣
Aspergillus niger	٨.٠	٠.٠	٠.٠٠٠	١٠٠	٦.٠٠٠	٢٥	٠.٠	١٠٠	٧.٦٦٧	٤.٢	٤.٣٣٣	٤٦
Aspergillus oryzae	٨.٠	٠.٠	٧.٠٠٠	١٢.٥	٨.٠	٠.٠	٠.٠	١٠٠	٦.٣٣٣	٢١	٥.٨٦٧	٤١
Aspergillus piperis	٨.٠	٠.٠	٠.٠٠٠	١٠٠	٦.٠٠٠	٢٥.٠	٠.٠	١٠٠	٠.٦٦٧	٩٢	٢.٩٣٣	٦٣
Aspergillus tubigensis	٨.٠	٠.٠	١.٦٦٧	٧٩	٠.٠	١٠٠	٨.٠	٠.٠	٢.٠٠٠	٧٥	٣.٩٣٣	٢٠
Aspergillus welwitschiae	٨.٠	٠.٠	٠.٠٠٠	١٠٠	٨.٠	٠.٠	٨.٠	٠.٠	٣.٦٦٧	٥٤	٥.٥٣٣	٣١
Trichophyton rubrum	٨.٠	٠.٠	٨.٠٠٠	٠.٠	٨.٠	٠.٠	٠.٠	١٠٠	٠.٠	١٠٠	٤.٨٠٠	٤٠
Microsporum canis	٨.٠	٠.٠	٦.٠٠٠	٢٥	٠.٠	١٠٠	١.٠	٨٨	٦.٣٣٣	٢١	٤.٢٦٧	٤٧
Epidermophyton floccosum	٨.٠	٠.٠	٠.٠	١٠٠	٧.٠	١٢.٥	٠.٠	١٠٠	٠.٦٦٧	٩٢	٣.١٣٣	٦١
Microsprum gypseum	٨.٠	٠.٠	٨.٠	٠.٠	٨.٠	٠.٠	٣.٠	٦٢.٥	٠.٠	١٠٠	٥.٤٠٠	٣٣
معدل تاثير التركيز	٨.٠		٣.١١٩		٦.١٤٣		٢.٥٧١		٣.٦١٩			
L.S.D ٠.٠٥	للفطر : ٠.٣٧٦١			للتركيز :٠.٢٢٤٨		التداخل الثنائي : ٠.٨٤١٠						

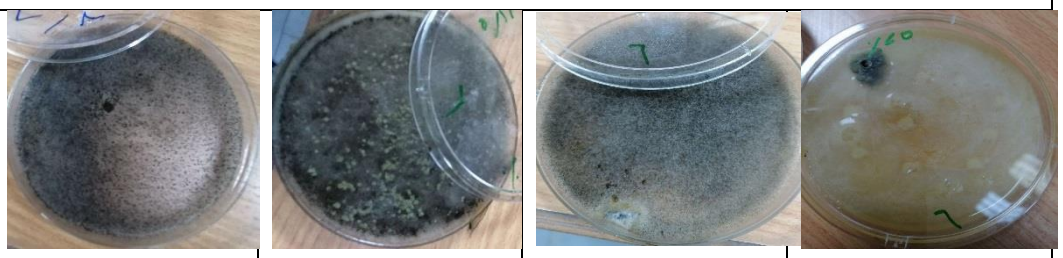
A

B

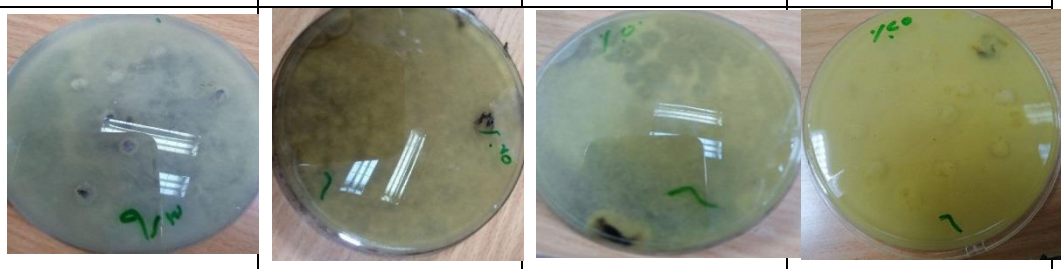


Rhizopus americanus

A

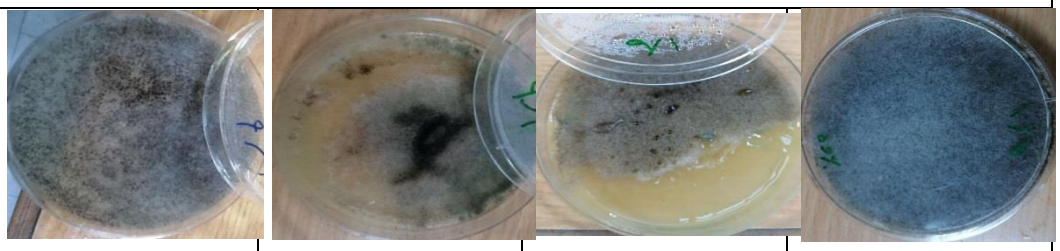


B

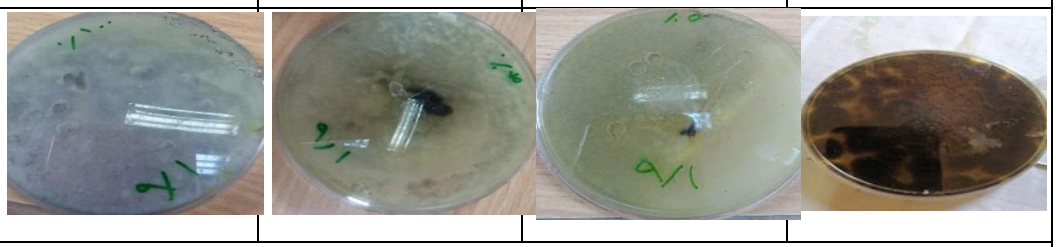


Aspergillus costaricensis

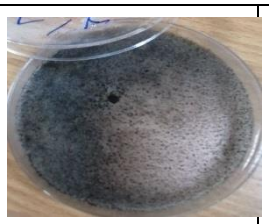
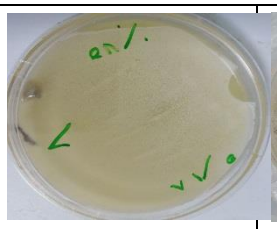
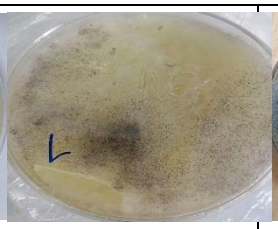
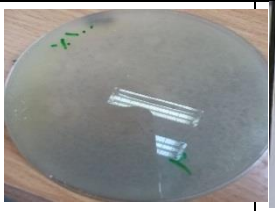
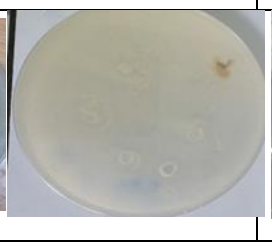
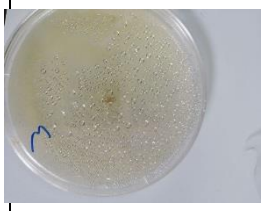
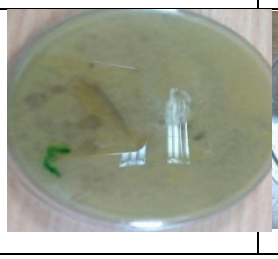
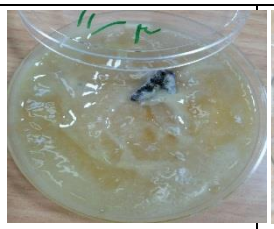
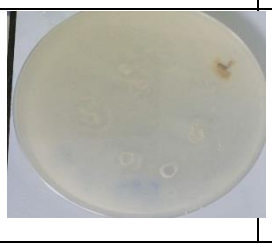
A

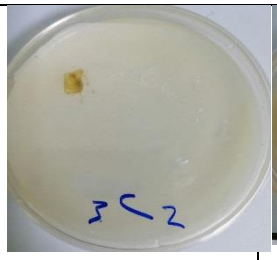
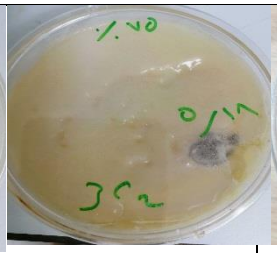
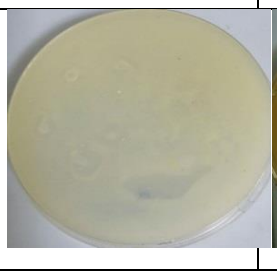
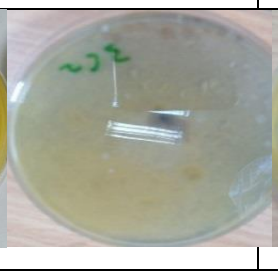
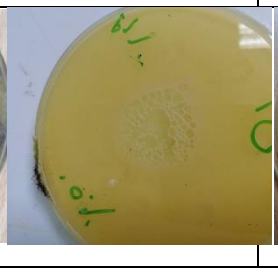
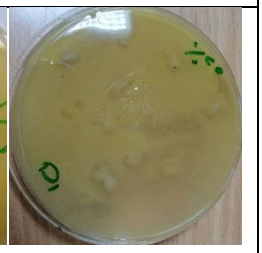
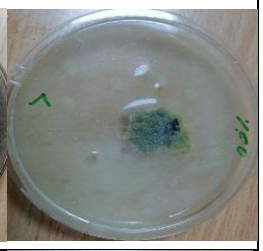
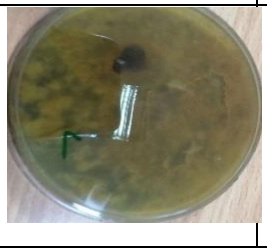


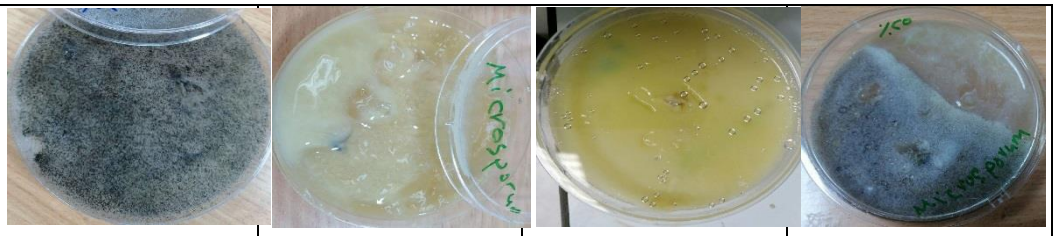
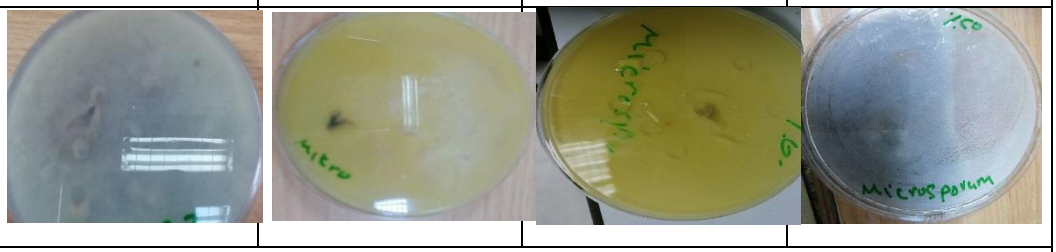
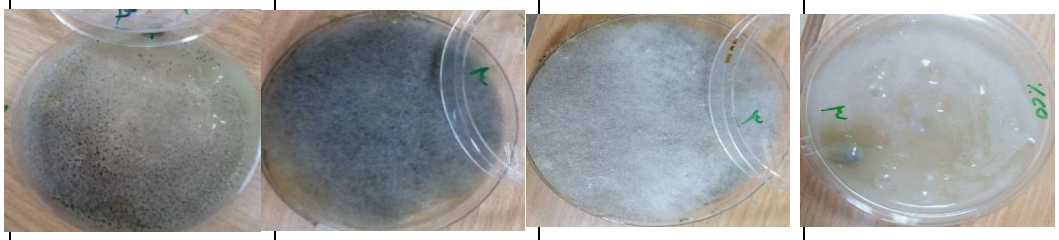
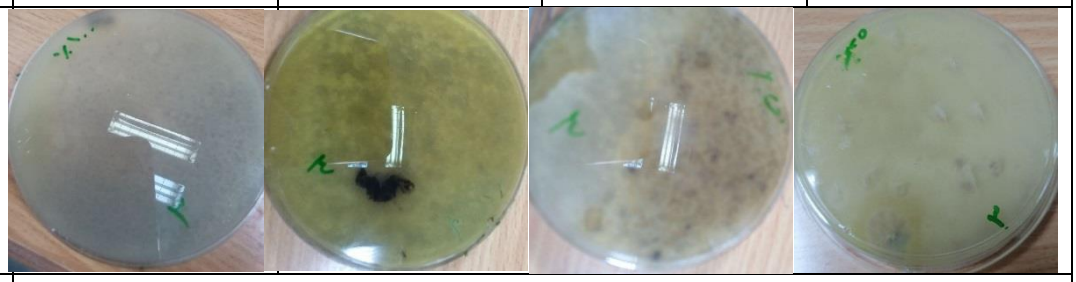
B

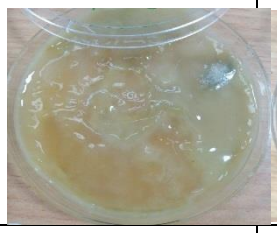


Aspergillus brasiliensis

A				
B				
	Aspergillus oryzae			
	١٠٠٪	٧٥٪	٥٠٪	٢٥٪
A				
B				
	Aspergillus minisclerotigenes			
A				
B				
	Aspergillus flavus			
A	١٠٠٪	٧٥٪	٥٠٪	٢٥٪

				
B				
	Aspergillus piperis			
A				
B				
	Aspergillus tubingensis			
A	١٠٠٪	٧٥٪	٥٠٪	٢٥٪ 
B				
	Aspergillus niger			

A				
B				
	Microsporum canis			
A				
B				
	Aspergillus welwitschi			
A	١٠٠٪	٧٥٪	٥٠٪	٢٥٪
B				
	Epidermophyton floccosum			

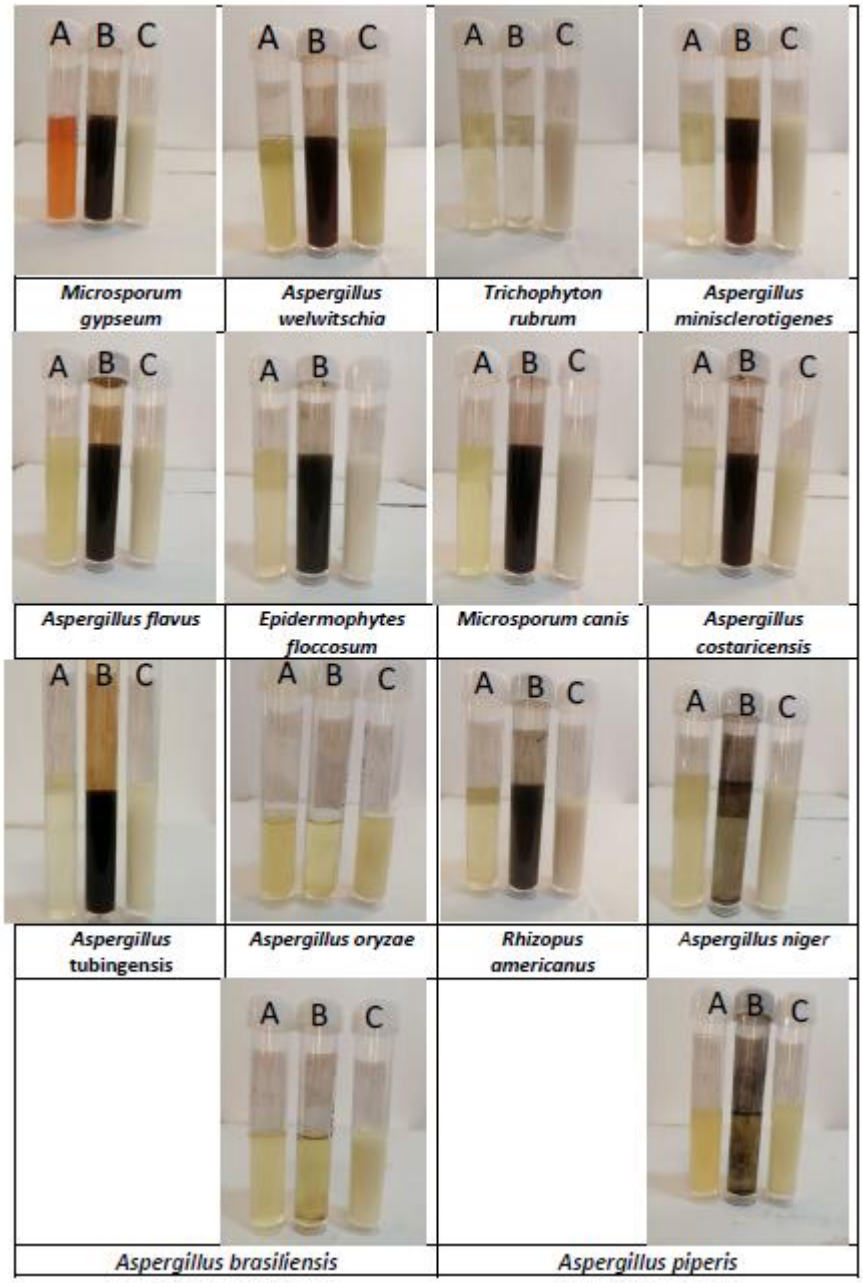
	١٠٠٪	٧٥٪	٥٠٪	٢٥٪
A				
B				
	Microsporum gypseum			

الشكل (٤ –٢٨) : تأثير تراكيز مختلفة من الرواشح الفطرية المعزولة والفطريات الجلدية في معدل قطر (سم) والنسبة المئوية لتثبيط الفطر *Rhizopus stolonifer* على وسط SDA بدرجة حرارة ٢٨ درجة مئوية لمدة خمسة أيام A= الجهة الأمامية للطبق ، B= الجهة الخلفية للطبق.

٢.٤ خصائص الرواشح الفطرية المحضرة

١.٢.٤ الوصف المظهري للرواشح الفطرية والنانوية المعاملة بالزنك والفضة

أظهرت جميع الرواشح الفطرية ألوانا بين الأبيض الشفاف إلى الأصفر الشفاف وأظهرت تحولها إلى الراشح النانوي المعامل بالزنك من خلال قدرة أوكسيد الزنك المعدني من تحويل الرواشح االفطرية إلى راشح الزنك النانوي عن طريق تغيرفي لون الراشح إلى اللون الأبيض الحليبي كذلك أظهرت نترات الفضة المعدنية قدرتها في تحويل الرواشح الفطرية إلى رواشح فضة نانوية عن طريق تغير اللون إلى البني الغامق (الشكل٤-٢٩) .



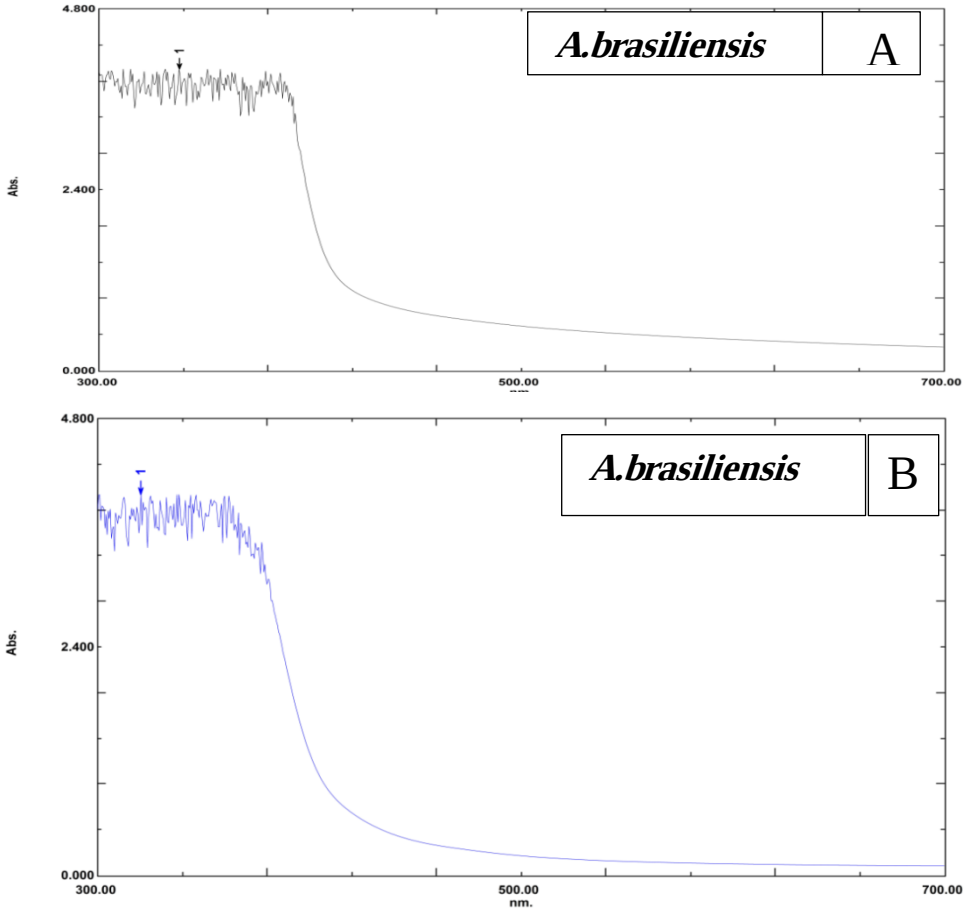
الشكل (4- 29) : الخواص المظهرية للرواشح الفطرية:A :راشح الفطر. B: راشح الفطر المعامل بالفضة النانوية. C: راشح الفطر المعامل بالزنك النانوي عند درجة حرارة ٣٨ درجة مئوية لمدة ٢٤ساعة

٢.٢.٤ خصائص المركب النانوي لجسيمات نترات الفضة *AgNpS* الناتجة من الرواشح الفطرية مع نترات الفضة بواسطة *UVL* (جهاز مقياس الأشعة فوق البنفسجية)

تمت دراسة جزيئات نترات الفضة النانوية في المحلول الغروي بواسطة جهاز مطياف الأشعة فوق البنفسجية Spectrophotometer UV-Vis .

١- من الشكل (٤-٣٠ -A) يوضح منحني الراشح الفطري للفطر ***A.brasiliensis*** قبل إضافة نترات الفضة وكان أعلى طول موجي ٣١٥ نانومتر وأعلى أمتصاصية ٣.٨٢٨ ونفس الشكل

B منحني الراشح الفطري للفطر *A.brasiliensis* بعد إضافة نترات الفضة وكان أعلى طول موجي ٣٢٠نانومتر وأعلى امتصاصية ٤ وهذا يتوافق مع zomorodian وأخرون (٢٠١٦) حيث وصل أعلى طول موجي ٤٣٠ نانومتر. الفضة وكان أعلى طول موجي ٣٢٠ نانومتر وأعلى أمتصاصية ٤.٨٠٠

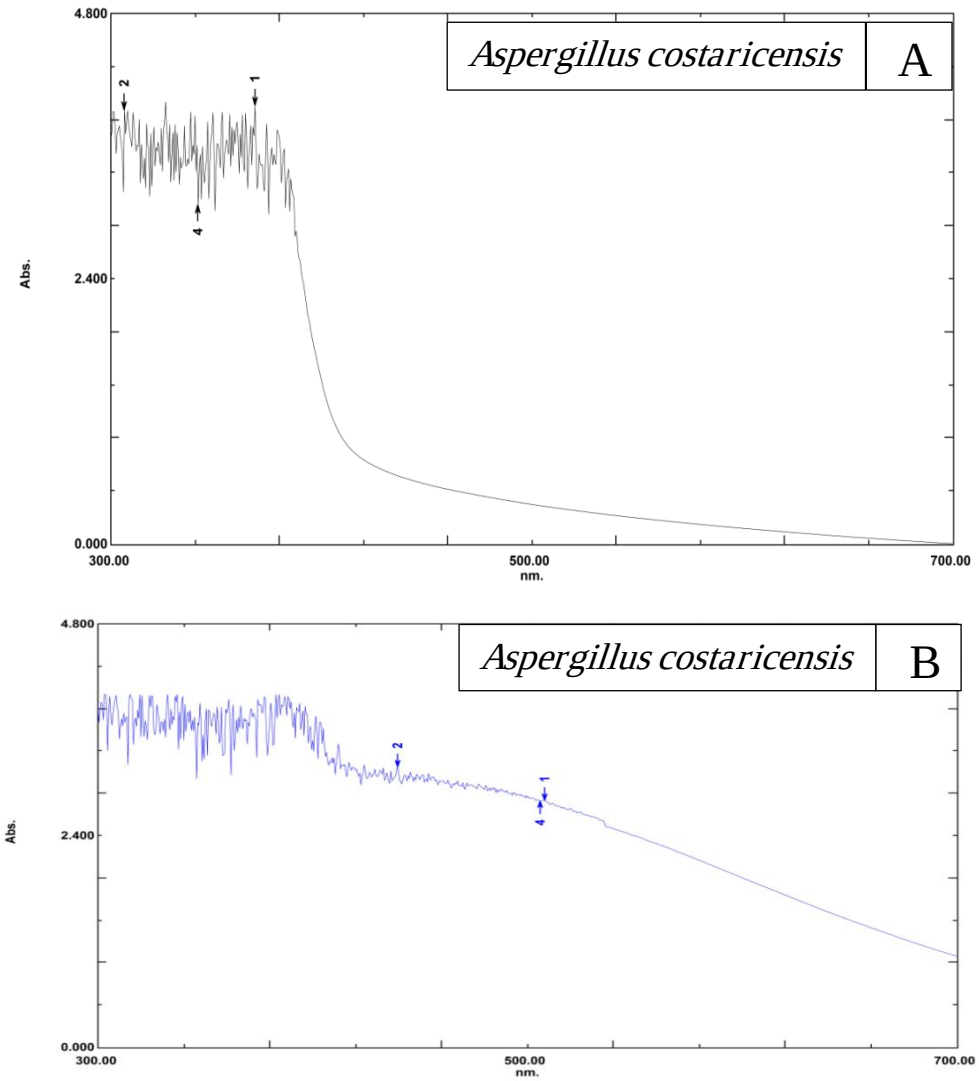


الشكل (4-30) الراشح الفطري لفطر *A.brasiliensis*

A: قبل معاملته بنترات الفضة بجهاز UV وان أعلى طول موجي يو3نانومتر و الامتصاصية يو يا3

B: بعد معاملته بنترات الفضة بجهاز UV وان أعلى طول موجي 320 نانومتر والامتصاصية هه يا4

٢. من الشكل (٤-٣١ A,B) منحني يوضح الراشح الفطري للفطر ***Aspergillus costaricensis*** قبل إضافة نترات الفضة وكان أعلى طول موجي ٣١٥ نانومتر وأعلى أمتصاصية ٣.٣٠٥ ومنحني يوضح الراشح الفطري للفطر *Aspergillus costaricensis* بعد إضافة نترات الفضة وكان أعلى طول موجي ٥٠٨ نانومتر وأعلى أمتصاصية ٢.وهذا لا يتوافق مع Dinesh وآخرون (٢٠٢١)وصل أعلى طول موجي ٤٠٠نانومتر.

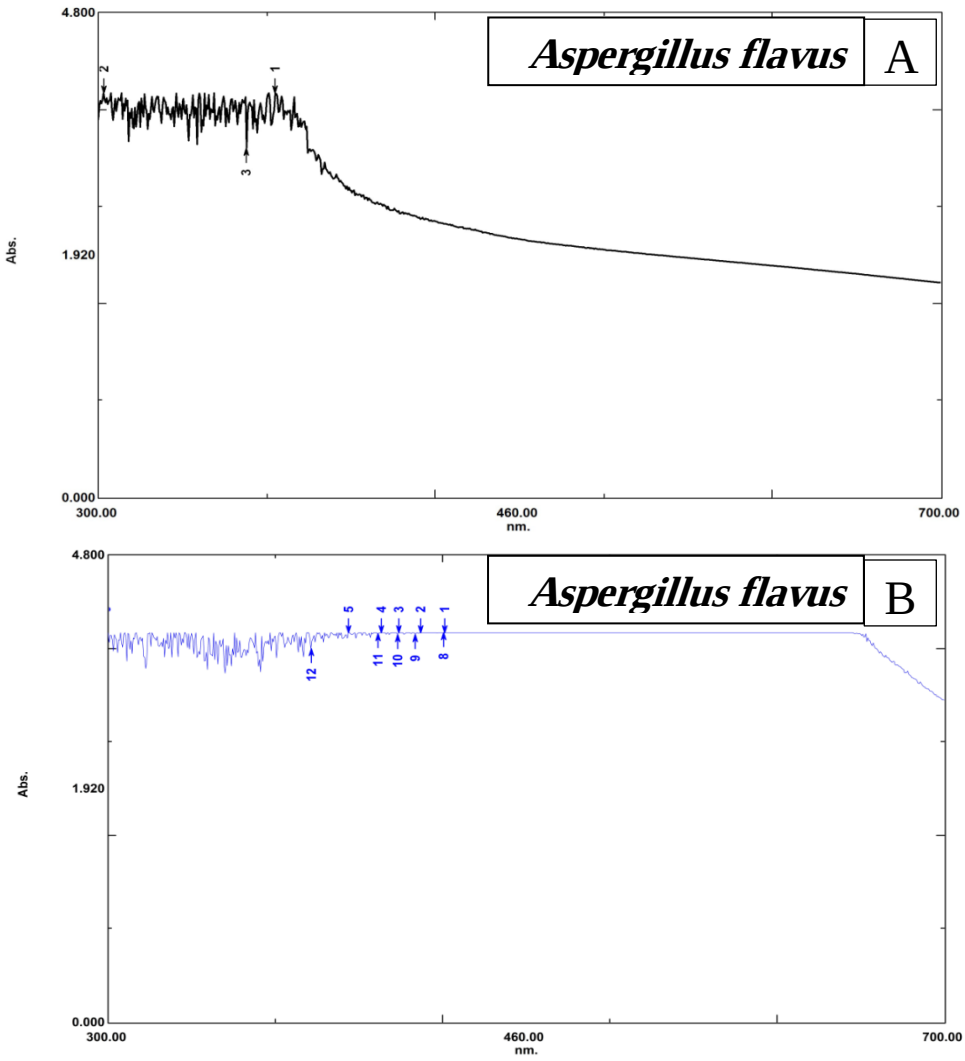


الشكل (4- 31) الراشح الفطري لفطر *Aspergillus costaricensis*

A. قبل معاملته بنترات الفضة بجهاز UV وان أعلى طول موجي ٣١٥نانومتر و الامتصاصية ٣.٣٠٥

B. بعد معاملته بنترات الفضة بجهاز UV وان أعلى طول موجي ٥٠٨ نانومتر والامتصاصية ٢.٨٠٠

٣. من الشكل (٤-٣٢ A,B) يلاحظ منحني يوضح الراشح الفطري للفطر ***Aspergillus flavus*** قبل إضافة نترات الفضة وكان أعلى طول موجي ٣١٥ نانومتر وأعلى أمتصاصية ٣.٧٥٣ ومنحني يوضح الراشح الفطري للفطر *Aspergillus flavus* بعد إضافة نترات الفضة وكان أعلى طول موجي ٤٦١ نانومتر وأعلى أمتصاصية٤ وهذا لايتوافق مع Jain وأخرون (٢٠١١) حيث بلغ أعلى طول موجي ٤٢٠ نانومتر .



الشكل (4-32) الراشح الفطري لفطر *Aspergillus flavus*

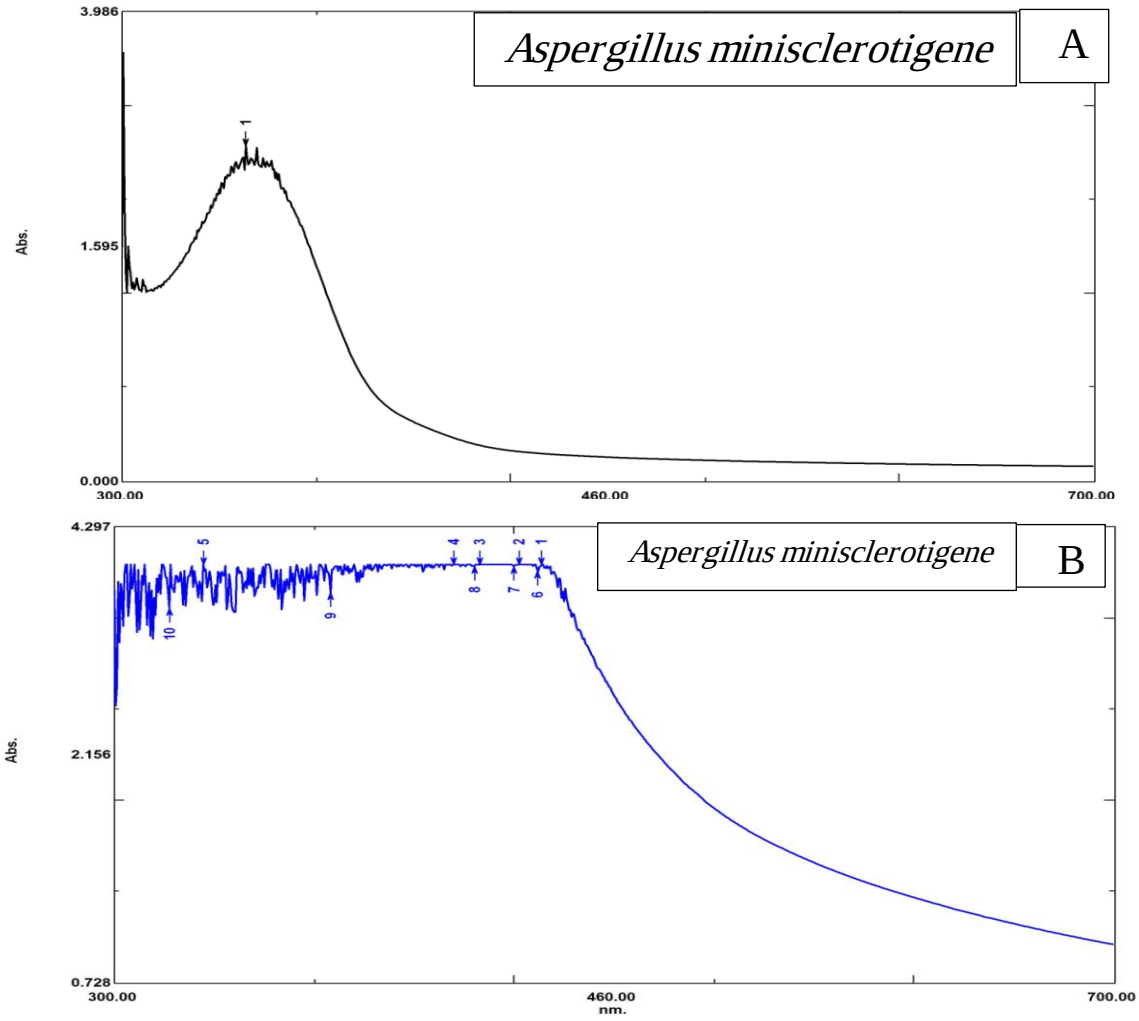
A: قبل معاملته بنترات الفضة بجهاز UV وان أعلى طول موجي 315 نانومتر وأعلى أمتصاصية3.753

B : بعد معاملته بنترات الفضة بجهاز UV وان أعلى طول موجي 461 نانومتر والامتصاصية 4

٤. منحني الراشح الفطري لفطر ***Aspergillus minisclerotigenes***

قبل إضافة نترات الفضة وكان أعلى طول موجي ٣١٥ نانومتر وأمتصاصية ١.٦٥٧

منحني الراشح الفطري لفطر *Aspergillus minisclerotigenes* بعد إضافة نترات الفضة وكان أعلى طول موجي ٤٧١ نانومتر وأعلى أمتصاصية ٤ وهذا يتوافق مع Kamiar وأخرون(٢٠١٦) ، كان يتراوح الطول الموجي ٣٠٠-٥٠٠ نانومتر(الشكل٣٣-٤) (A,B).

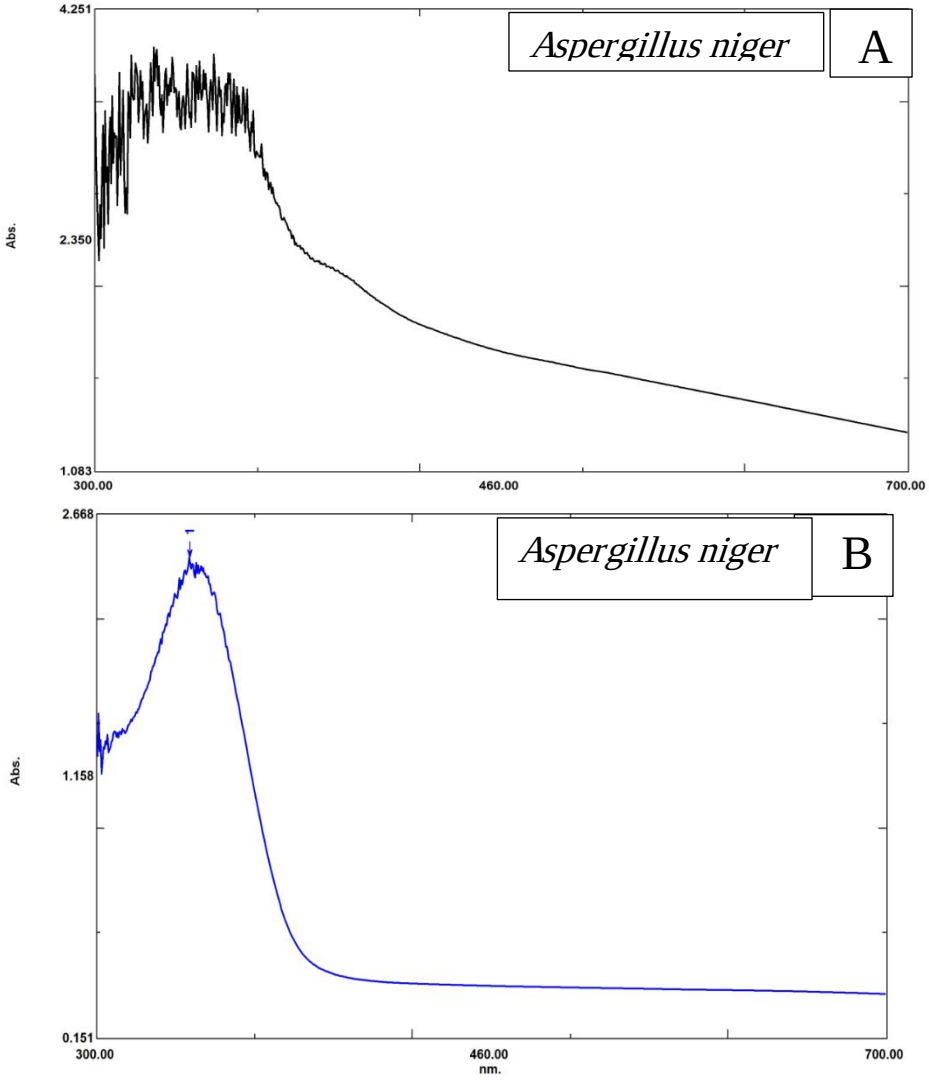


الشكل (4-33) الراشح الفطري لفطر *Aspergillus minisclerotigene*

A: قبل معاملته بنترات الفضة بجهاز UV وان أعلى طول موجي 353نانومتر و الامتصاصية 2.322

B: بعد معاملته بنترات الفضة بجهاز UV وان أعلى طول موجي 471 نانومتر وأعلى أمتصاصية 4

٥. من الشكل (٤-٣٤ A,B) منحني يمثل الراشح فطر *Aspergillus niger* قبل إضافة نترات الفضة وكان أعلى طول موجي ٣١٥ نانومتر وكان أعلى أمتصاصية ٣.٠٢٢ منحني يمثل الراشح الفطري للفطر *Aspergillus niger* بعد إضافة نترات الفضة وكان أعلى طول موجي ٣٤٧ نانومتر وأعلى أمتصاصية ٢.٤٥٨ وهذا يتطابق مع AL-Zubaidi وأخرون (٢٠١٩) كان أعلى طول موجي ٤٣٠ نانومتر .

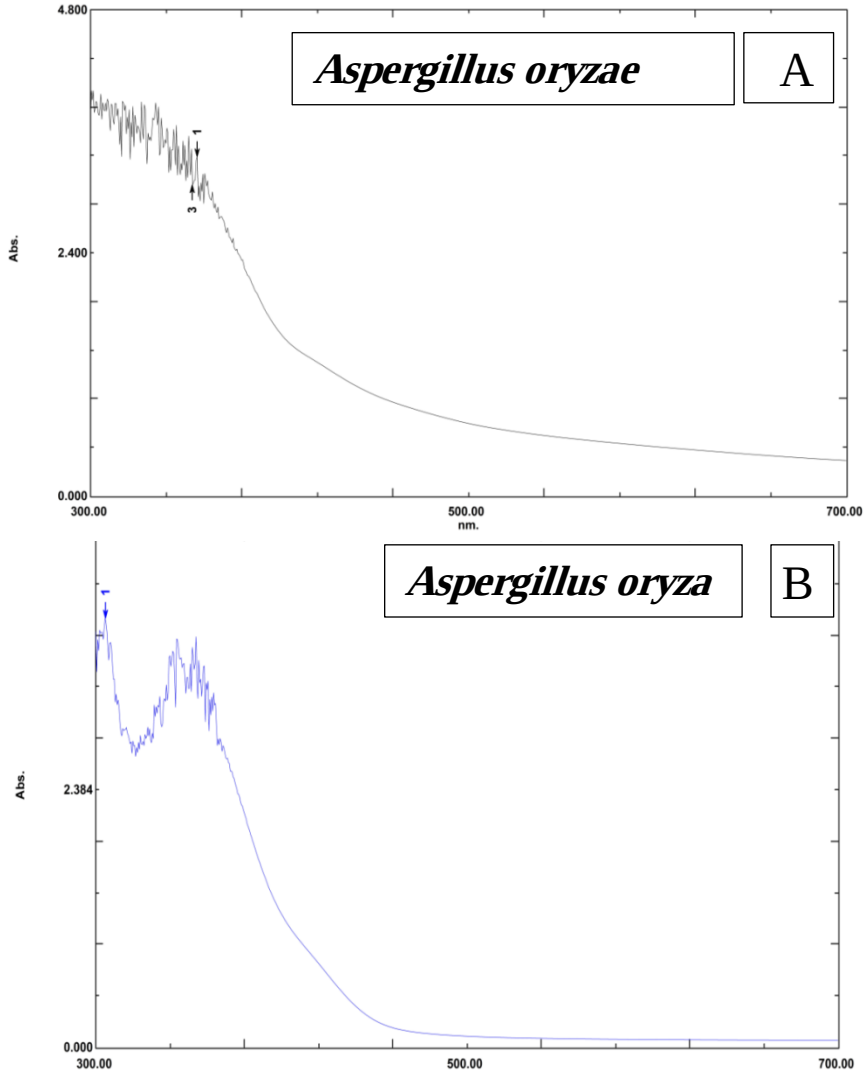


الشكل (4- 34) الراشح الفطري لفطر *Aspergillus niger*

A: قبل معاملته بنترات الفضة بجهاز UV وان أعلى طول موجي يى3نانومتر و الامتصاصية يى2

B: بعد معاملته بنترات الفضة بجهاز UV وان أعلى طول موجي 315 نانومتر والامتصاصية ووه3

٦. منحني الراشح الفطري للفطر ***Aspergillus oryzae*** قبل إضافة نترات الفضة وكان أعلى طول موجي ٣١٥ نانومتر وأعلى أمتصاصية ٣.٤٧١ منحني الراشح الفطري للفطر *Aspergillus oryzae* بعد إضافة نترات الفضة وكان أعلى طول موجي ٣٠٥نانومتر وكان أعلى أمتصاصية ٣.٩٧١ وهذا يتوافق مع Eishafei وأخرون (٢٠٢١) كان أعلى طول موجي ٤١٠ نانومتر .

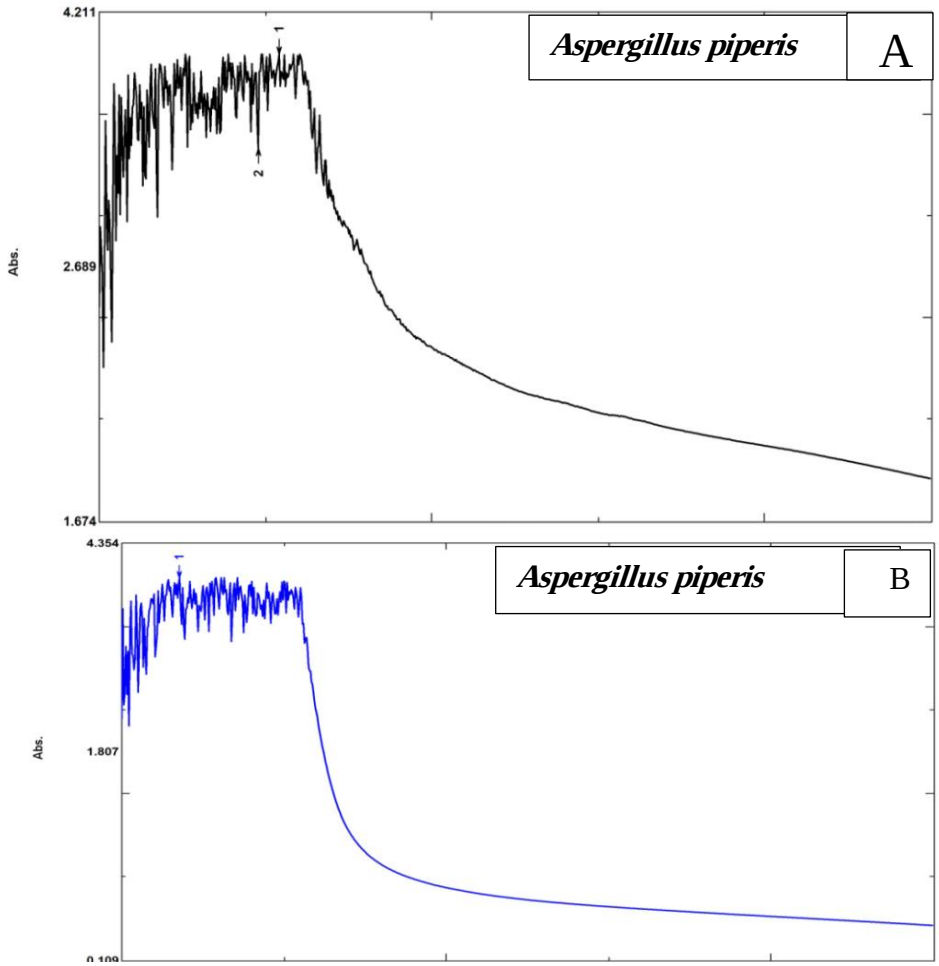


الشكل (4-35) الراشح الفطري لفطر *Aspergillus oryzae*

A: قبل معاملته بنترات الفضة بجهاز UV وان أعلى طول موجي ي و3نانومتر و الامتصاصية و يى‍3

B: بعد معاملته بنترات الفضة بجهاز UV وان أعلى طول موجي 305 نانومتر والامتصاصية و يلآ‍3

٧. منحني الراشح الفطري للفطر ***Aspergillus piperis*** قبل إضافة نترات الفضة وكان أعلى طول موجي ٣١٥ نانومتر وأعلى أمتصاصية ٣.٥٤٧ منحني الراشح الفطري للفطر *Aspergillus piperis* بعد إضافة نترات الفضة وكان أعلى طول موجي ٣٢٨.٥٠نانومتر وأعلى أمتصاصية ٤ وهذا يتوافق مع Foudaa وآخرون (٢٠١٧) وصل أعلى طول موجي ٤٠٠نانومتر

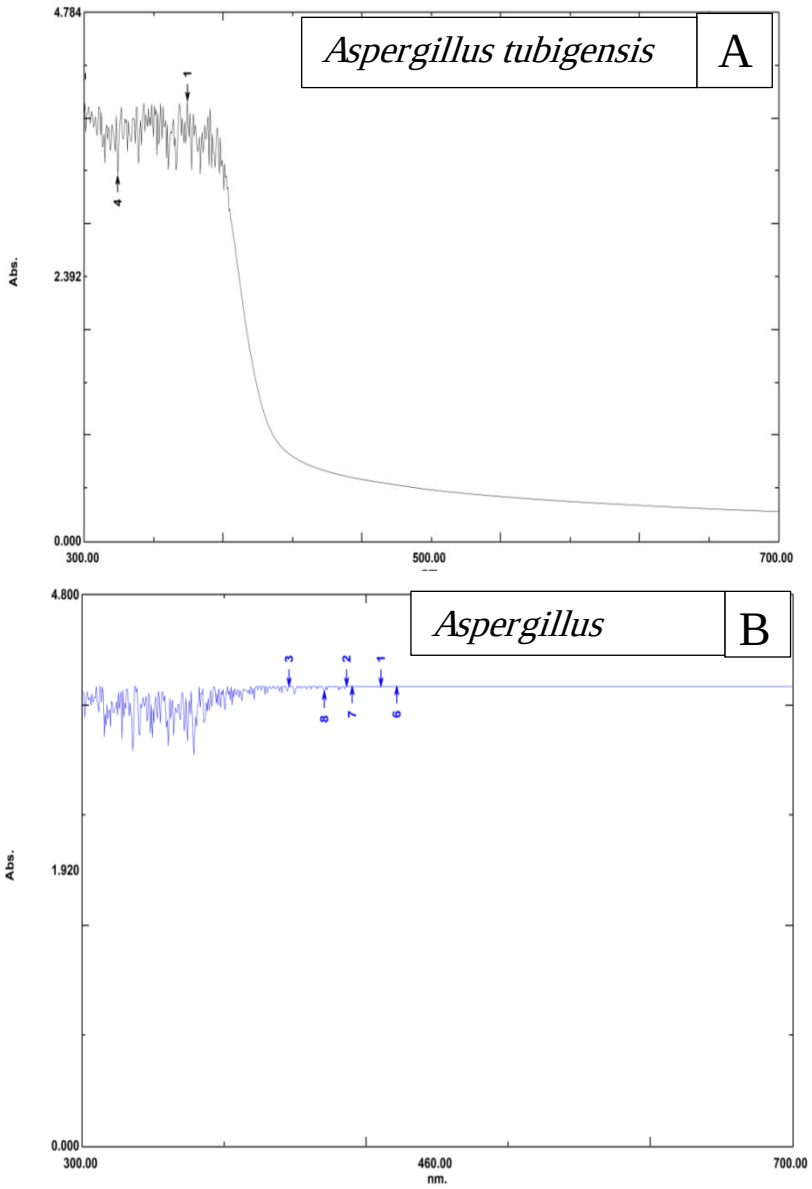


الشكل (4- 36) الراشح الفطري لفطر *Aspergillus piperis*

A: قبل معاملته بنترات الفضة بجهاز UV وان أعلى طول موجي 315 نانومتر وأعلى أمتصاصية 3.547

B: بعد معاملته بنترات الفضة بجهاز UV وان أعلى طول موجي 328.50نانومتر وأعلى أمتصاصية 4

٨. منحني يوضح الراشح الفطري *للفطر* ***Aspergillus tubigensis*** قبل إضافة نترات الفضة وكان أعلى طول موجي ٣١٥ نانومتر وكان أعلى أمتصاصية ٣.٥٧١. منحني يوضح الراشح الفطري للفطر *Aspergillus tubigensis* بعد إضافة نترات الفضة وكان أعلى طول موجي ٤٦٨ نانومتر وأعلى أمتصاصية ٤ وهذا لايتوافق مع Gond وآخرون (٢٠٢٠)وكان أعلى طول موجي ٤٢٢ نانومتر.

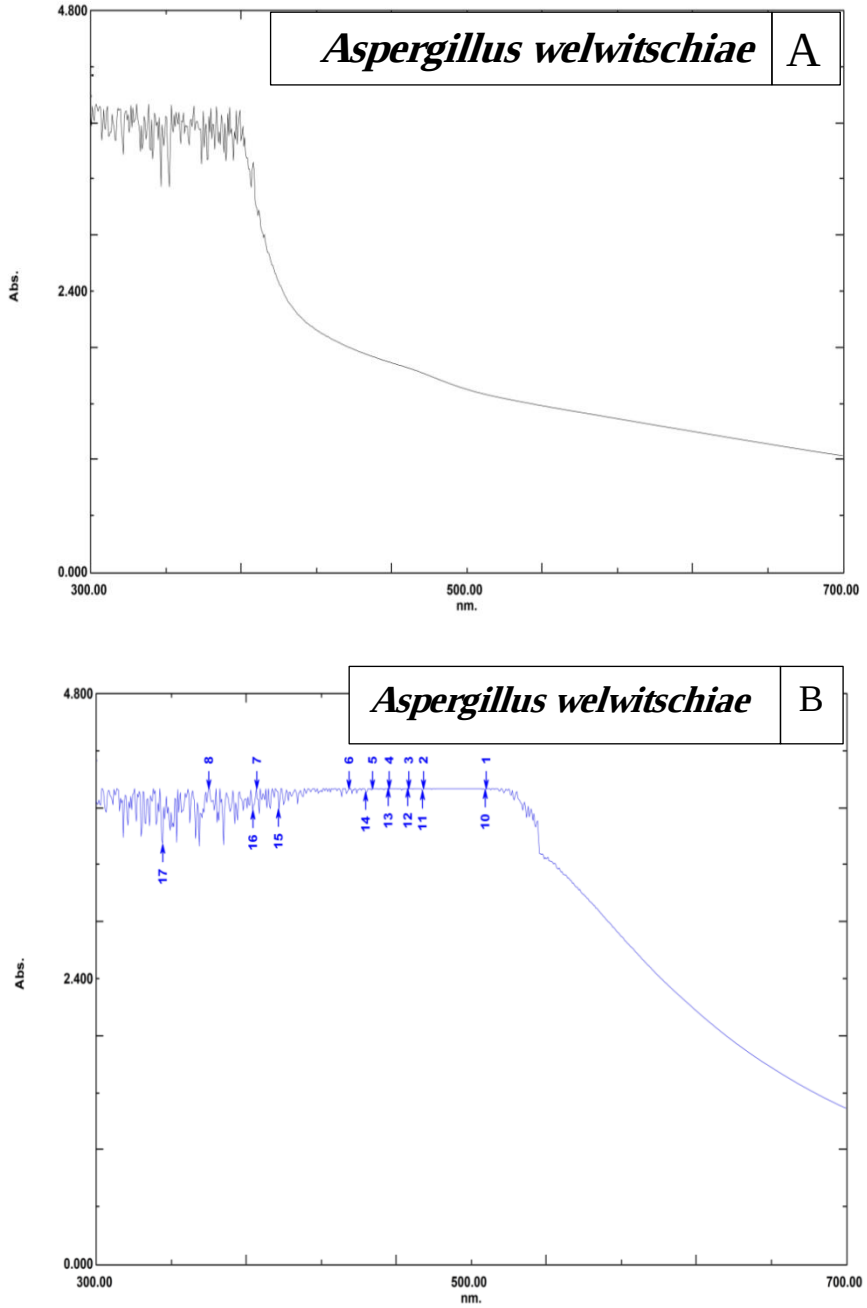


الشكل (4-37)الراشح الفطري لفطر *Aspergillus tubigensis*

A : قبل معاملته بنترات الفضة بجهاز UV وان أعلى طول موجي ي3و3نانومتر و الامتصاصية و يي 3

B: بعد معاملته بنترات الفضة بجهاز UV وان أعلى طول موجي يي4 نانومتر والامتصاصية 4

٩. منحني يوضح الراشح الفطري للفطر ***Aspergillus welwitschiae*** قبل إضافة نترات الفضة وكان أعلى طول موجي ٣١٥ نانومتر وأعلى أمتصاصية ٣.٩٥٨ . منحني الراشح الفطري للفطر *Aspergillus welwitschiae* بعد إضافة نترات الفضة وأعلى طول موجي ٥٠٨ نانومتر وأعلى امتصاصية ٤ وهذا لايتوافق مع Sain (٢٠٢٢)وكان أعلى طول موجي ٤٢٠ نانومتر .

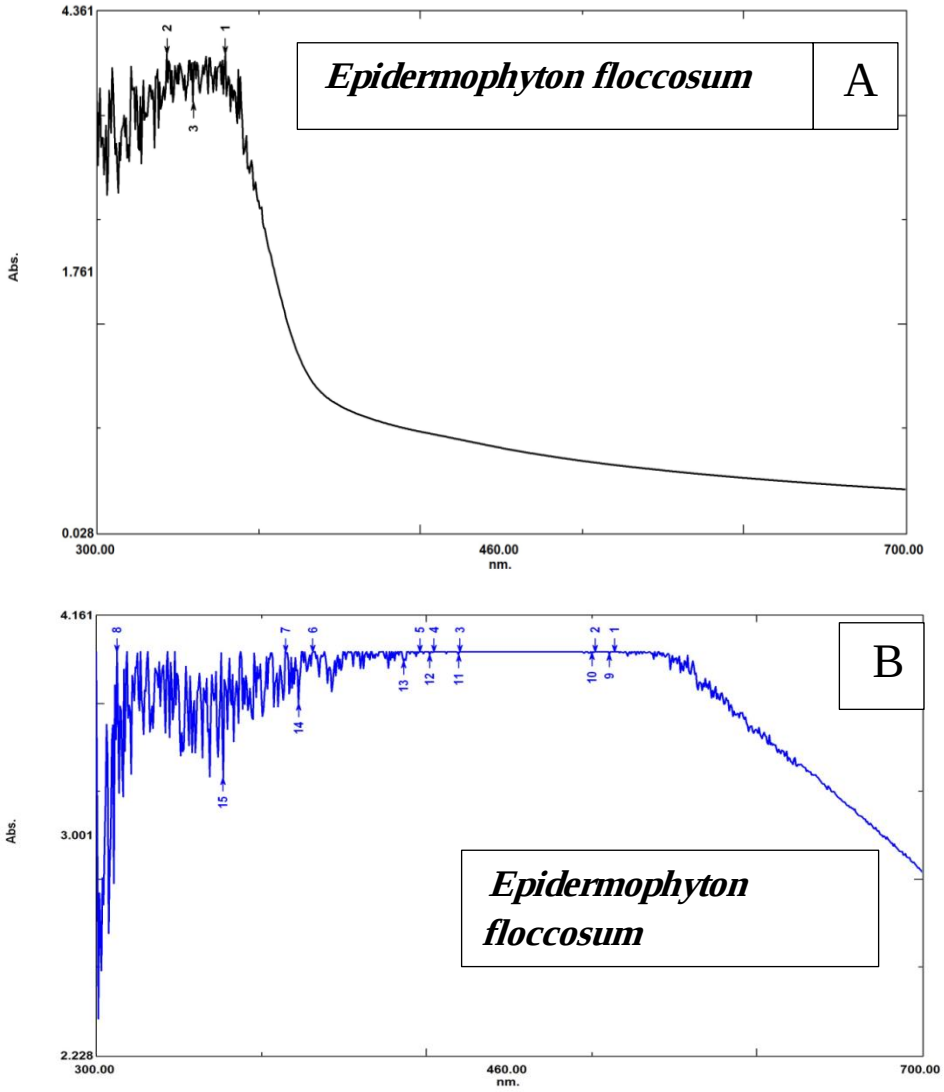


الشكل (4-38)الراشح الفطري لفطر ***Aspergillus welwitschiae***

A: قبل معاملته بنترات الفضة بجهاز UV وان أعلى طول موجي يو3نانومتر و الامتصاصية ييلآ 3|

B: بعد معاملته بنترات الفضة بجهاز UV وان أعلى طول موجي 508 نانومتر والامتصاصية ٤ .

١٠. منحني الراشح الفطري للفطر ***Epidermophyton floccosum*** قبل إضافة نترات الفضة وكان أعلى طول موجي بين ٢٨٨-٤٠٠نانومتروأعلى أمتصاصية ٣.٢٤٨،منحني الراشح الفطري للفطر *Epidermophyton floccosum* بعد معاملته بنترات الفضة أعلى طول موجي ٥٥١ نانومتر وأعلى أمتصاصية٤ وهذا يتطابق مع Moazeni وآخرون(٢٠١٢)

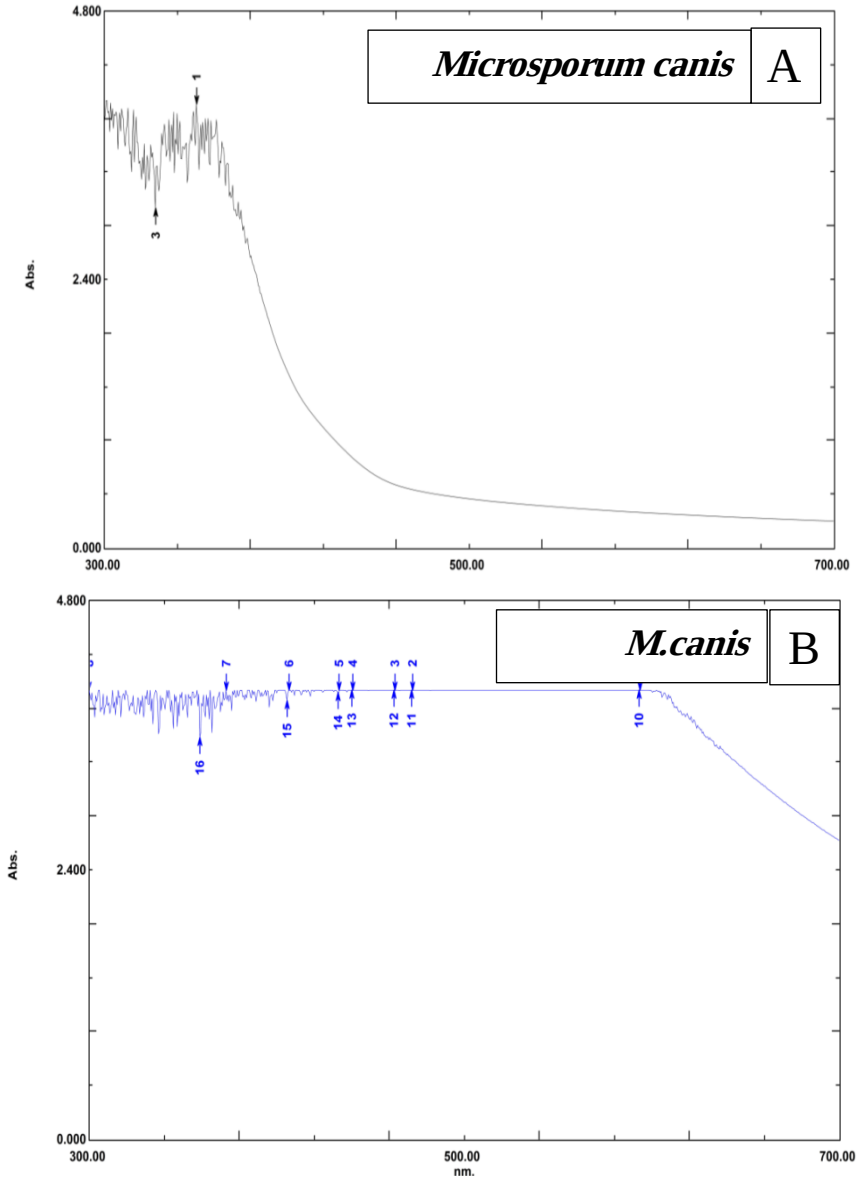


الشكل (4-39) الراشح الفطري لفطر ***Epidermophyton floccosum***

A: قبل معاملته بنترات الفضة بجهاز UV وان أعلى طول موجي بين 288-400نانومتر وأعلى أمتصاصية 3.248

B: بعد معاملته بنترات الفضة بجهاز UV وان أعلى طول موجي 551 نانومتر وأعلى أمتصاصية لآىو إ4ها

١١. منحني الراشح الفطري للفطر ***Microsporum canis*** قبل إضافة نترات الفضة وكان أعلى طول موجي بين ٣٠٠- ٥٠٠نانومتر وأعلى أمتصاصية ٣.٧٢١منحني الراشح الفطري للفطر *Microsporum canis* بعد إضافة نترات الفضة وكان أعلى طول موجي ٥٩٤ نانومتر وأعلى أمتصاصية ٤ وهذا يتوافق مع Moazeni وآخرون (٢٠١٢) كان الطول الموجي ٢٠٠-٨٠٠نانومتر

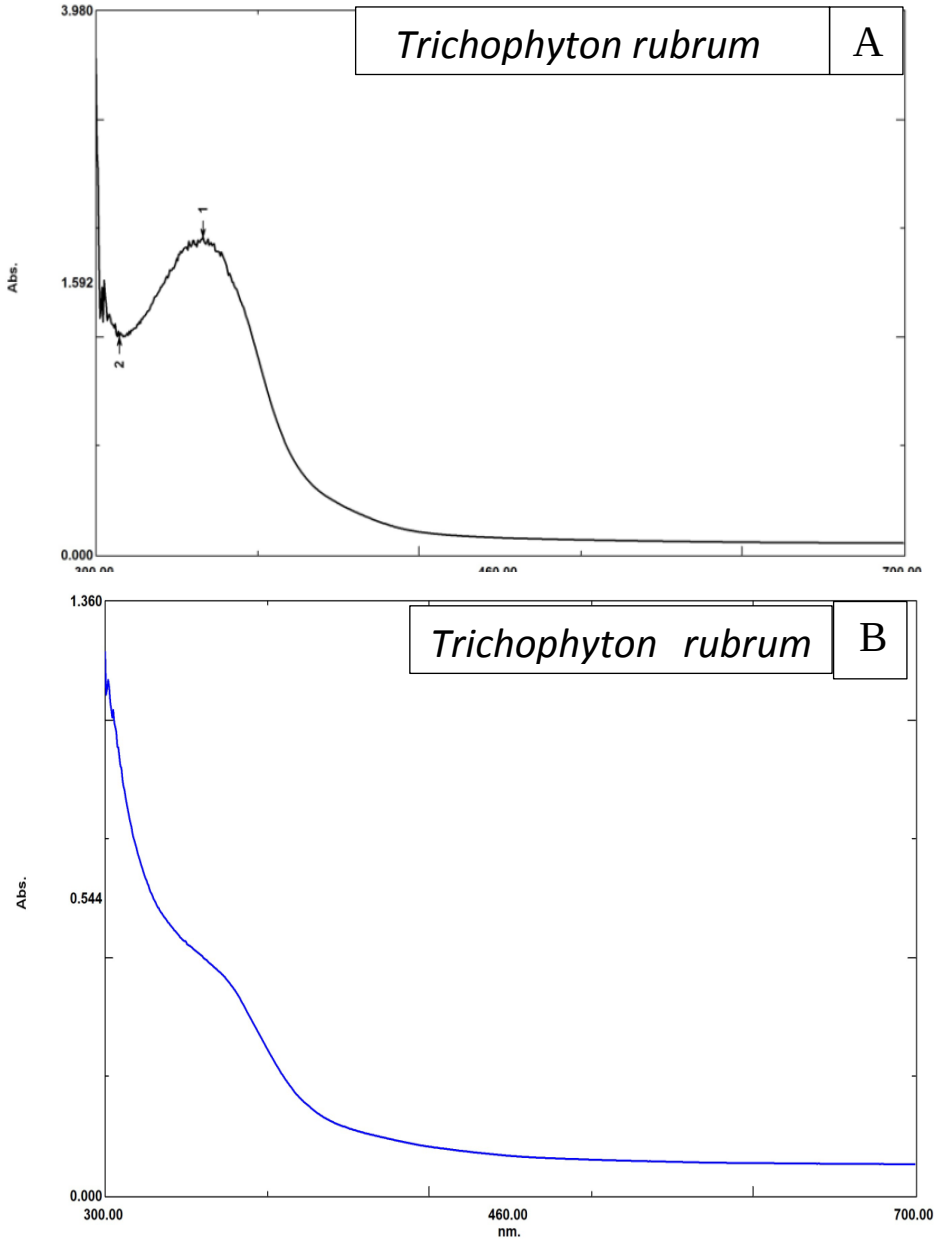


الشكل (4-40)الراشح الفطري لفطر *Microsporum canis*

A: قبل معاملته بنترات الفضة بجهاز UV وان أعلى طول موجي بين 300-500نانومتر وأعلى أمتصاصية 3.721

B: بعد معاملته بنترات الفضة بجهاز UV وان أعلى طول موجي 594 نانومتر وأعلى أمتصاصية 4

١٢. منحني الراشح الفطري للفطر ***Microsporum gypseum*** قبل إضافة نترات الفضة وكان أعلى طول موجي ٤٦٠ نانومتر وأعلى أمتصاصية ٢.٧٨٨. االراشح الفطري لفطر *Microsporum gypseum* بعد إضافة نترات الفضة وكان أعلى طول موجي ٦١٠نانومتر وأعلى أمتصاصية ٣.٩٩٧ وهذا يتطابق مع Mussin وآخرون (٢٠٢١) كان الطول الموجي ٣٠٠-٧٠٠ نانومتر.

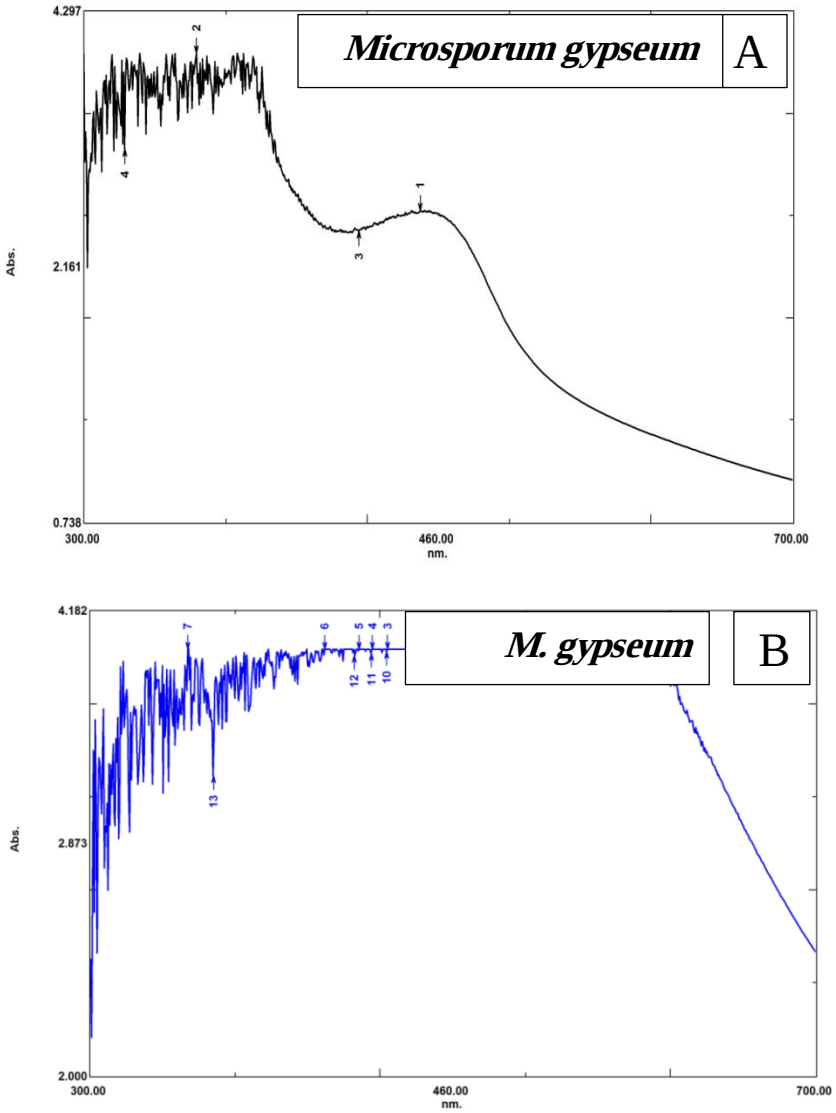


الشكل (4-42) الراشح الفطري لفطر *Trichophyton rubrum*

A: قبل معاملته بنترات الفضة بجهاز UV وان أعلى طول موجي 353نانومتر و الامتصاصية 2.322

B: بعد معاملته بنترات الفضة بجهاز UV وان أعلى طول موجي 432 نانومتر والامتصاصية 0.139

١٣. الراشح الفطري لفطر ***Trichophyton rubrum*** كان أعلى طول موجي ٣٥٣نانومتر و كانت الأمتصاصية ٢.٣٢٢ قبل معاملته بنترات الفضة ، والراشح الفطري *لفطر Trichophyton rubrum* معامل بنترات الفضة وكان أعلى طول موجي ٤٣٢ نانو،تر والأمتصاصية ٠.١٣٩ وهذا يتطابق مع Pereire وآخرون (٢٠١٤) كان الطول الموجي يتراوح ٢٠٠-٨٠٠ نانومتر .

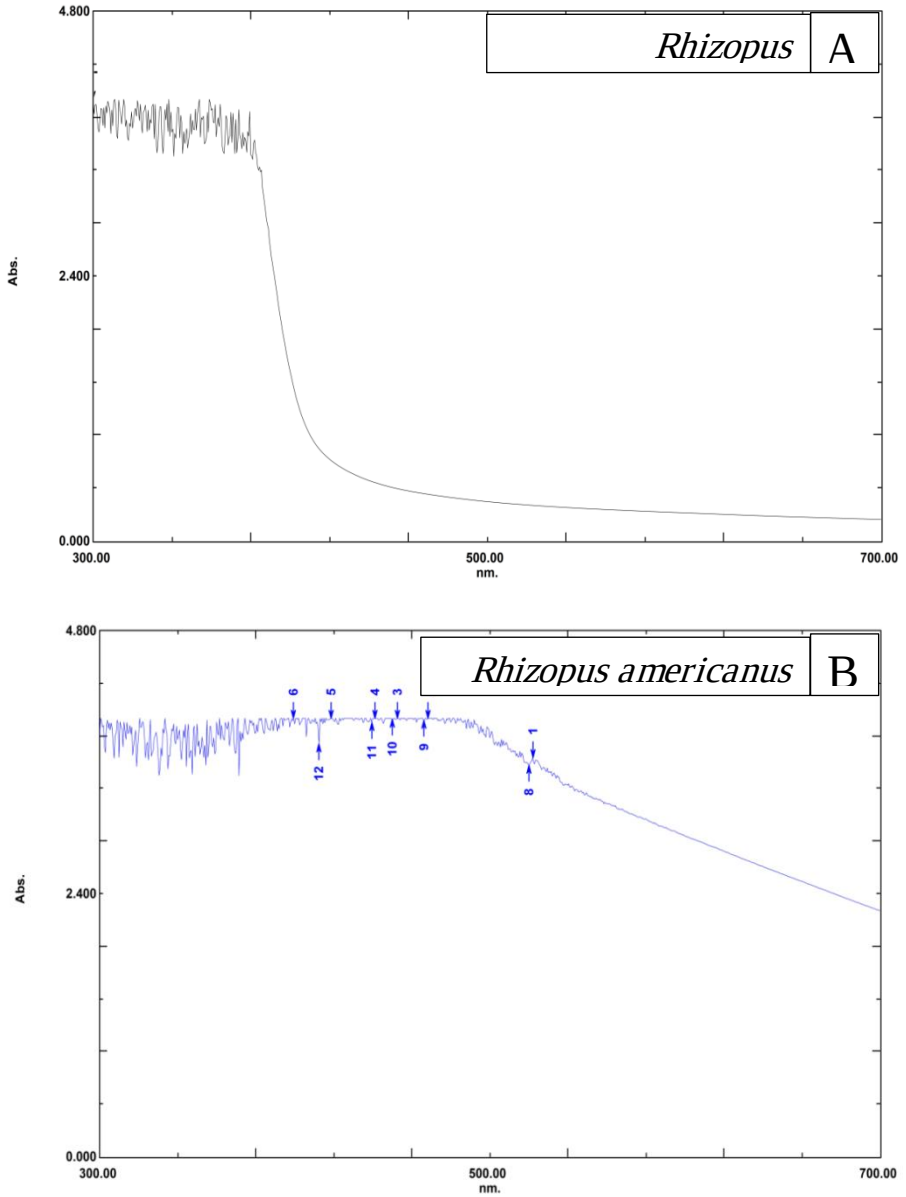


الشكل (4-41)الراشح الفطري لفطر *Microsporum gypseum*

A: قبل معاملته بنترات الفضة بجهاز UV وان أعلى طول موجي 460 نانومتر وأعلى أمتصاصية 2.788

B: بعد معاملته بنترات الفضة بجهاز UV وان أعلى طول موجي 610نانومتر وأعلى أمتصاصية 3.997

١٤. منحني يوضح الراشح الفطري للفطر ***Rhizopus americanus*** قبل إضافة نترات الفضة وكان أعلى طول موجي ٣١٥ نانومتر وأعلى أمتصاصية ٤ ، منحني يوضح الراشح الفطري للفطر *Rhizopus americanus* بعد إضافة نترات الفضة وكان أعلى طول موجي ٥٢٢ نانومتر وأعلى أمتصاصية ٣.٦٣٨ وهذا يتوافق مع AbdelRahim وآخرون(٢٠١٧) بلغ أعلى طول موجي ٢٠٠-٦٠٠نانومتر .



الشكل (4-43) الراشح الفطري لفطر *Rhizopus americanus*

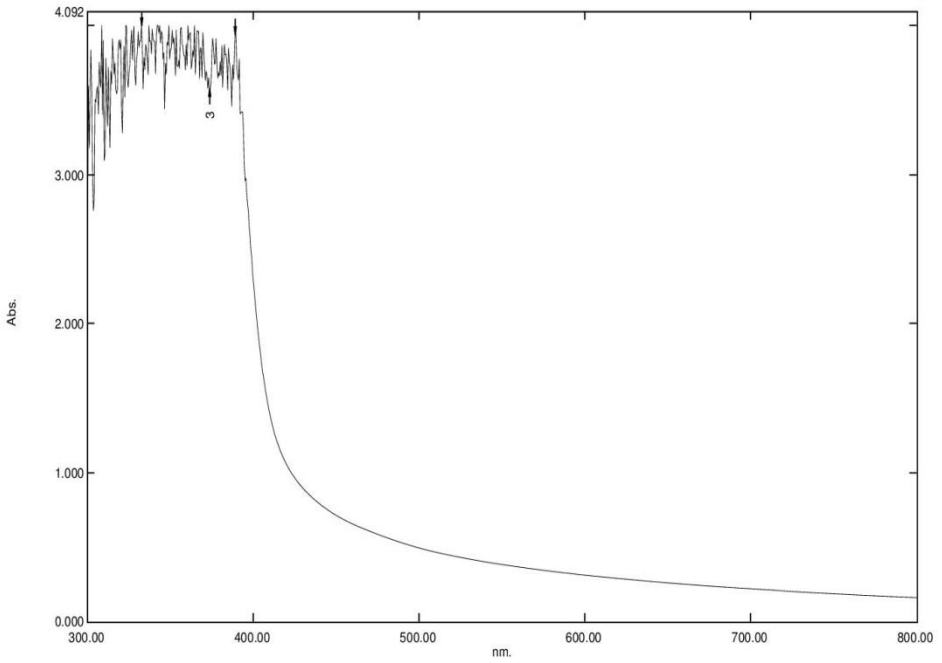
A: قبل معاملته بنترات الفضة بجهاز UV وان أعلى طول موجي 315 نانومتر وأعلى أمتصاصية 4

B: بعد معاملته بنترات الفضة بجهاز UV وان أعلى طول موجي 522نانومتر وأعلى أمتصاصية 3.638

٣.٢.٤ :خصائص جسيمات أوكسيد الزنك النانوية Characterization *of ZnO* Nanoparticles الناتجة من المستخلصات الفطرية

تمت دراسة أستقرار جزيئات أوكسيد الزنك النانوية في المحلول الغروي بواسطة جهاز المطياف الأشعة فوق البنفسجية UV-VIS الأشكال التالية توضح رسم الطيف المرئي للأشعة فوق البنفسجية لجسيمات أوكسيد الزنك النانوية المخلقة بواسطة الرواشح الفطرية.

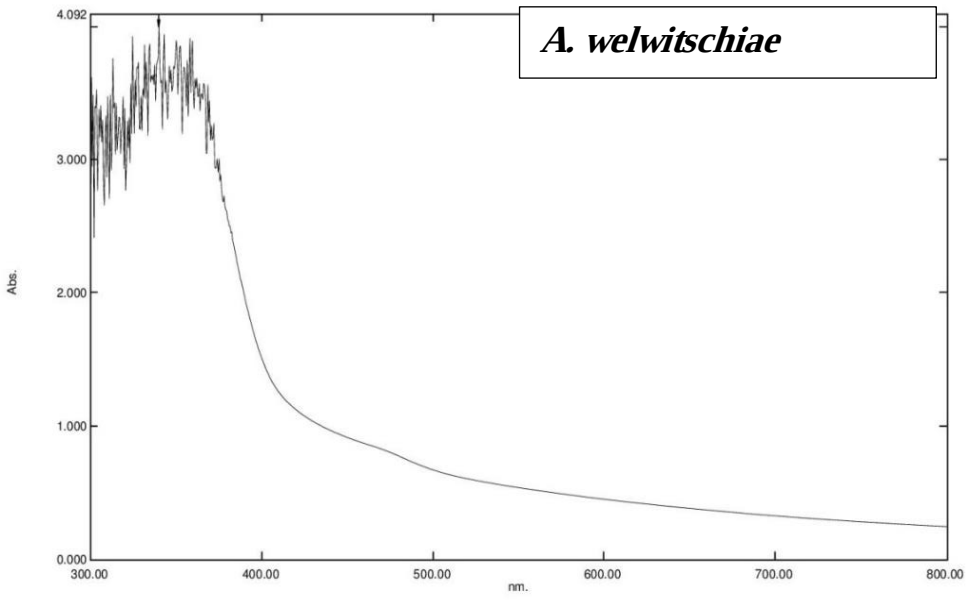
١. أوضح المطياف أعلى طول موجي لأوكسيد الزنك النانوي لراشح فطر ***A.brasiliensis*** بلغ ٣٨٩ نانومتر وأعلى أمتصاصية ٣.٩٤٢ وهذا يتوافق مع Mekky وآخرون(٢٠٢١) وصل أعلى طول موجي بين ٢٦٥-٤٠٠ نانومتر.



No.	P/V	Wavelength	Abs.	Description
1	↑	389.00	3.942	
2	↑	332.50	4.000	
3	↓	373.50	3.570	

الشكل (4-44) المطياف أعلى طول موجي لأوكسيد الزنك النانوي لراشح فطر *A.brasiliensis*

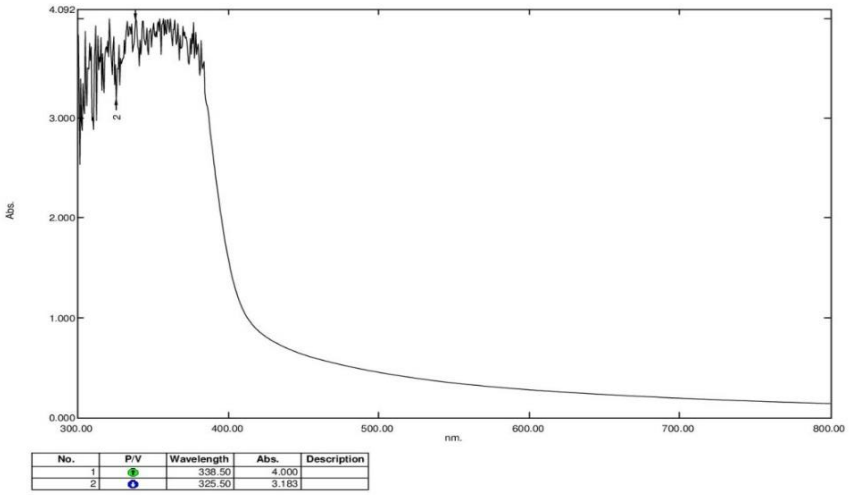
٢-ثبت المطياف أن ذروة الأمتصاص عند مدى ٣٤٠ نانومتر وأعلى أمتصاصية ٤ للراشح الفطري ***Aspergillus welwitschiae*** وهذا يتوافق مع Sain (٢٠٢٢)تم تخليق الزنك النانوي من راشح هذا الفطر ووصل أعلى طول موجي ٤٠٠ نانومتر .



No.	P/V	Wavelength	Abs.	Description
1		340.00	4.000	

الشكل (4-45) المطياف أعلى طول موجي لأوكسيد الزنك النانوي لراشح فطر *Aspergillus welwitschiae*

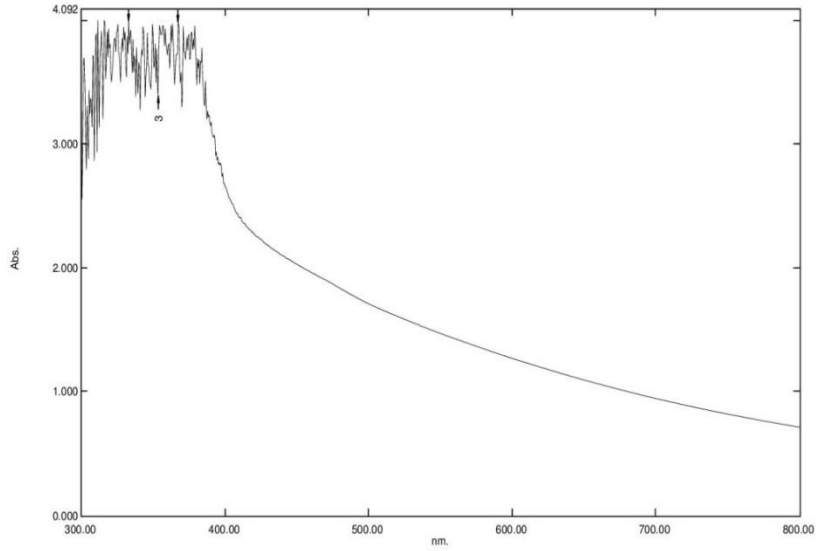
٣-يوضح المنحني الطول الموجي للراشح الفطري ***Aspergillus costaricensis*** وأعلى طول موجي ٣٣٨ نانومتر وأعلى أمتصاصية ٤ وهذا يتوافق مع Abdelkader وأخرون (٢٠٢٢) يتراوح الطول الموجي٣٣٠ -٣٩٠ نانومتر .



No.	P/V	Wavelength	Abs.	Description
1	P	338.50	4.000	
2	V	325.50	3.183	

الشكل (4-46) المطياف أعلى طول موجي لأوكسيد الزنك النانوي لراشح فطر *A.costaricensis*

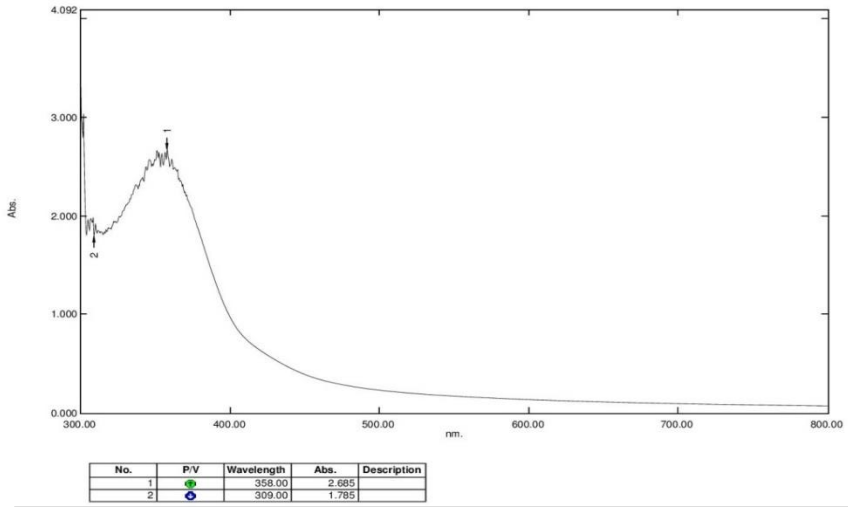
٤-منحني يوضح ذروة الامتصاص للزنك النانوي للراشح الفطري ***Aspergillus flavus*** الطول الموجي ٣٦٧نانومتر أمتصاصية ٣.٩٨٩ وهذه يتوافق مع AL-Dhabi وValan (٢٠١٨)كان أعلى قدرة أمتصاص ٢٧٤ نانومتر .



No.	P/V	Wavelength	Abs.	Description
1	P	367.50	3.989	
2	P	333.00	4.000	
3	V	353.50	3.388	

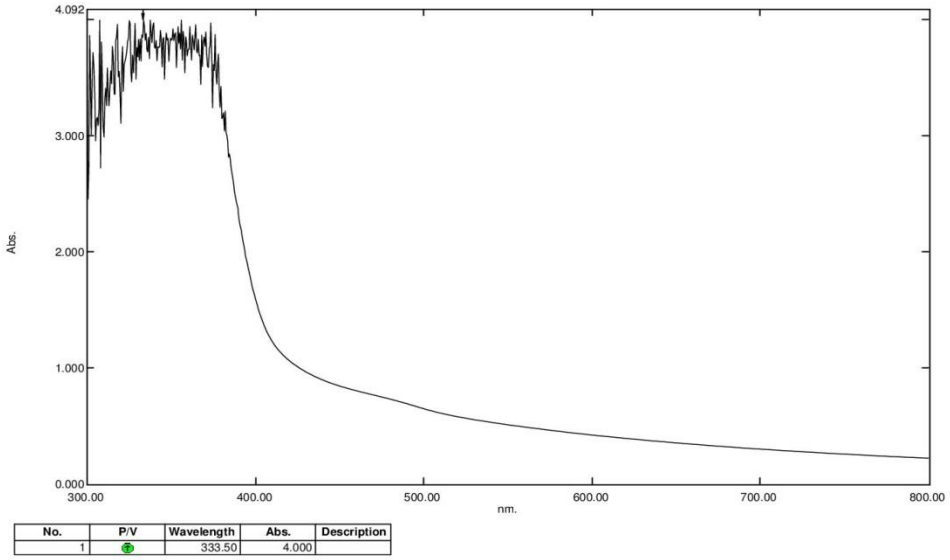
الشكل (4-47) المطياف أعلى طول موجي لأوكسيد الزنك النانوي لراشح فطر *Aspergillus fiavus*

٥-يوضح منحني الطيف لراشح فطر ***Aspergillus minisclerotigenes*** أن أعلى طول موجي ٣٥٨ نانومتر وأعلى أمتصاصية ٢.٦٩٥ وهذا يتوافق مع Issa (٢٠٢٢) وصل أعلى طول موجي ٣٧٩ نانومتر .



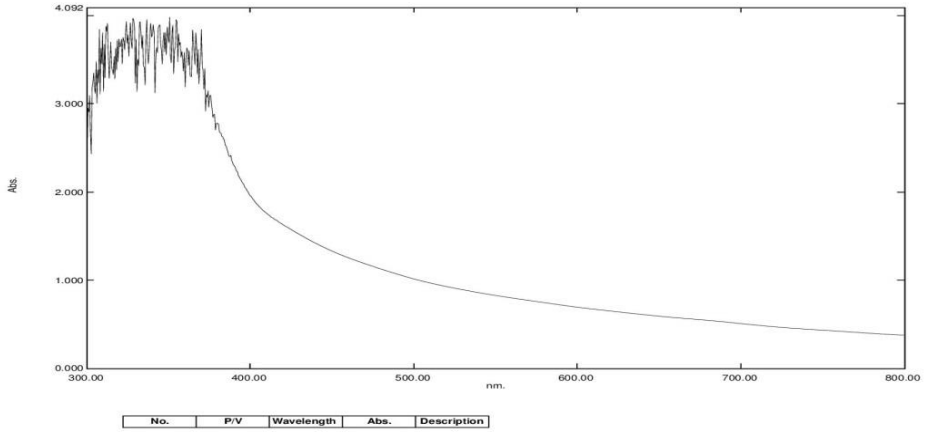
الشكل (4-48) المطياف أعلى طول موجي لأوكسيد الزنك النانوي لراشح فطر *Aspergillus minisclerotigenes*

٦-يوضح المطياف أن ذروة الأمتصاص للطول الموجي لأوكسيد الزنك النانوي تصل إلى ٣٣٣نانومتر وأعلى أمتصاصية ٤ للراشح الفطري ***Aspergillus niger*** وهذا يتوافق مع Abdelkader وآخرون (٢٠٢٢) وصلت ذروة الإمتصاص ٣٨٠ نانومتر .



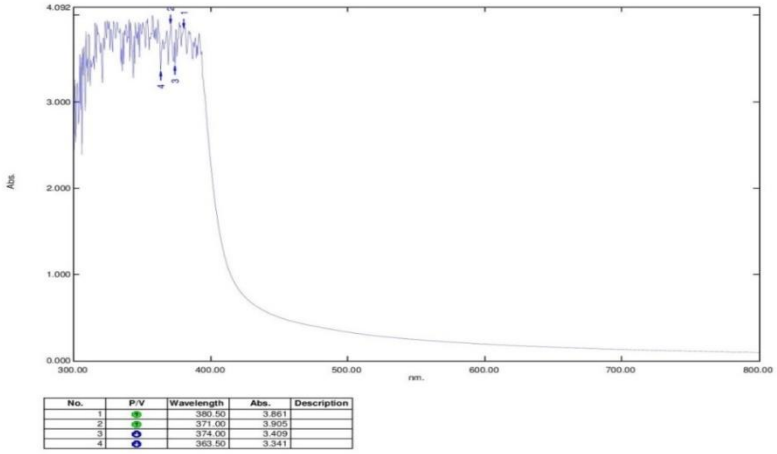
الشكل (4-49) مطياف أعلى طول موجي لأوكسيد الزنك النانوي لراشح فطر *Aspergillus niger*

٧-يوضح المنحني للراشح الفطري للفطر ***Aspergillus oryza*** أعلى طول موجي ٣٠٠ نانومتر وأعلى أمتصاصية ٣.وهذا يتوافق مع EL-kahky وآخرون(٢٠١٩) يتراوح الطول الموجي بين ٢٠٠-٨٠٠ نانومتر .



الشكل (4-50) المطياف أعلى طول موجي لأوكسيد الزنك النانوي لراشح فطر *Aspergillus oryza*

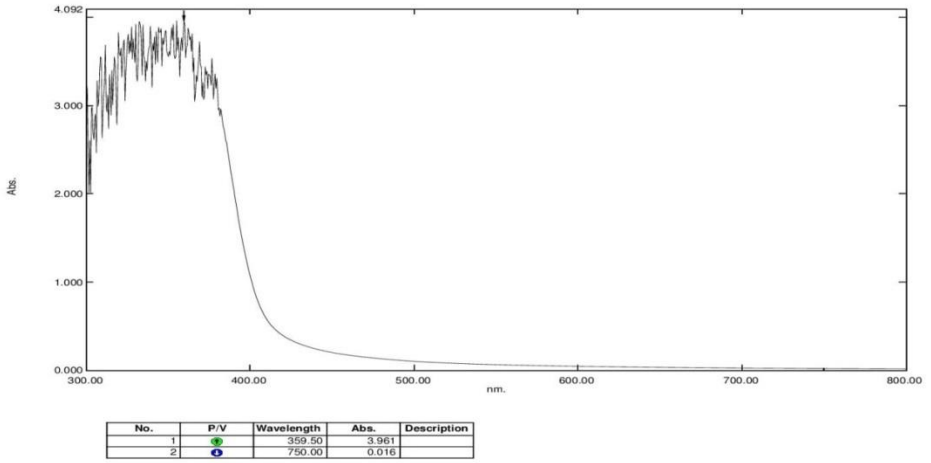
٨-يوضح المطياف أن ذروة الأمتصاص لمنحني الطيف لراشح الفطر ***Aspergillus piperis*** وصل أعلى طول موجي ٣٨٠ نانومتر وأعلى أمتصاصية ٣.٨٦١.وهذا يتوافق مع Kalia وآخرون (٢٠٢١) تراوح الطول الموجي بين١٩٠-٨٠٠ نانومتر .



No.	P/V	Wavelength	Abs.	Description
1		380.50	3.861	
2		371.00	3.905	
3		374.00	3.409	
4		363.50	3.341	

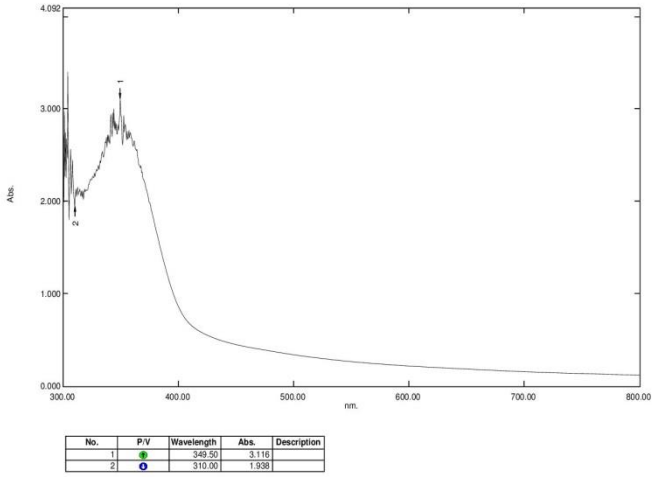
الشكل (4-51) المطياف أعلى طول موجي لأوكسيد الزنك النانوي لراشح فطر *Aspergillus piperis*

٩-يوضح منحني الطيف أعلى طول موجي للراشح الفطري ***Aspergillus tubigensis*** بلغت ٣٥٩ نانومتر وأعلى أمتصاصية ٣.٩٦١ وهذا يتوافق مع Hefny وآخرون (٢٠١٩) تراوح الطول الموجي بين ٢٠٠-٨٠٠ نانومتر .



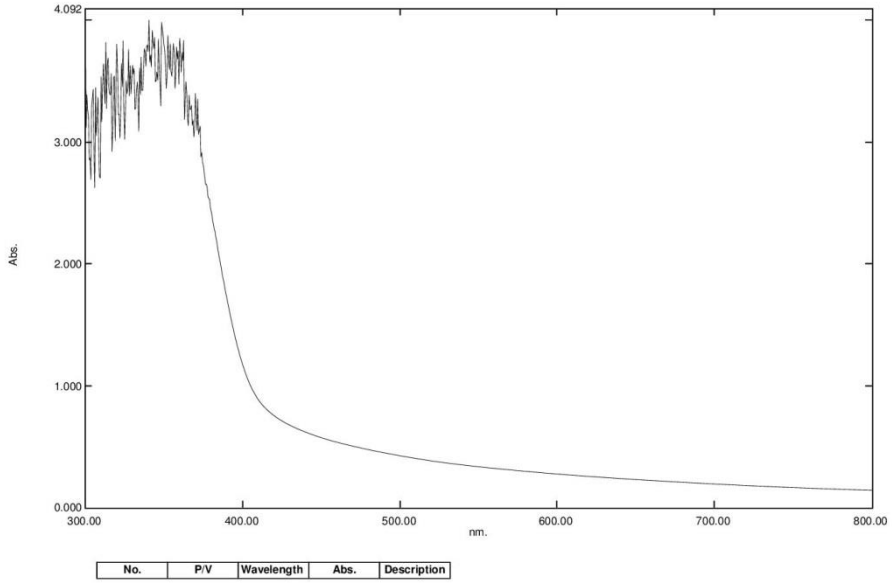
الشكل (4-52) المطياف أعلى طول موجي لأوكسيد الزنك النانوي لراشح فطر *Aspergillus tubigensis*

١٠-يوضح المنحني الطول الموجي للراشح الفطري ***Epidermophyton floccosum*** أعلى طول موجي ٣٤٩ نانومتر وأعلى أمتصاصية ٣.١١٦ نانومتر وهذا يتوافق مع Moazeni وآخرون (٢٠١٢) وصل أعلى طول موجي ٤٤٢ نانومتر .



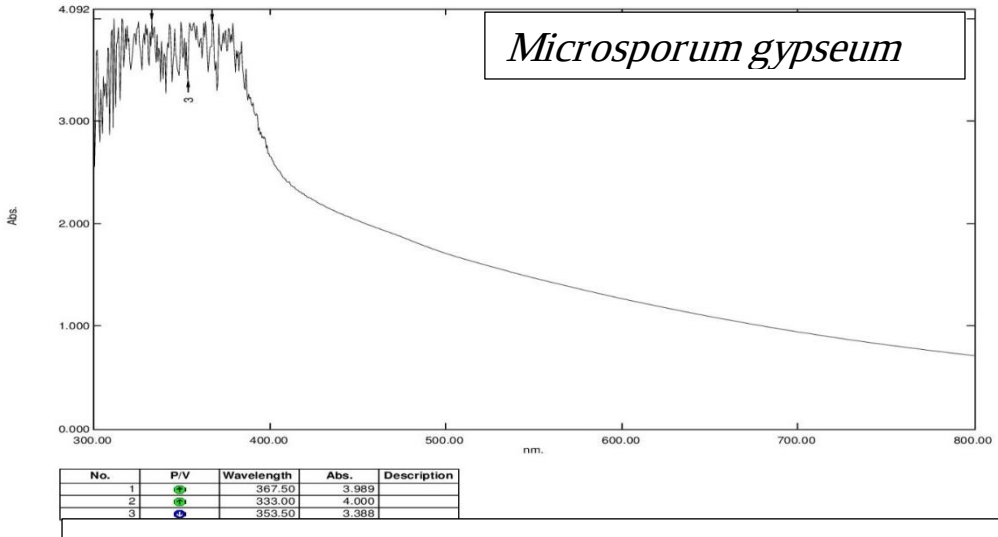
الشكل (4-53) المطياف أعلى طول موجي لأوكسيد الزنك النانوي لراشح فطر ***Epidermophyton floccosum***

١١- يوضح المنحني للراشح الفطري أعلى طول موجي للراشح الفطري ***Microsporum canis*** يتراوح بين ٣٠٠-٤٠٠ نانومتر وأعلى أمتصاصية ٣.٢٣١ وهذا يتوافق مع Moazeni وآخرون (٢٠١٢) وصل أعلى طول موجي ٤٤٢ نانومتر .



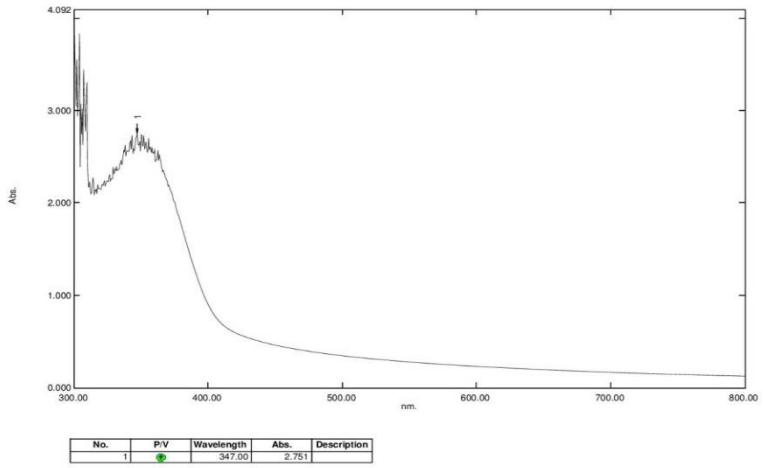
الشكل (4-54) المطياف أعلى طول موجي لأوكسيد الزنك النانوي لراشح فطر *Microsporum canis*

١٢-أثبت المطياف أن ذروة الأمتصاص عند ٣٢٩ نانومتر للراشح الفطري ***Microsporum gypseum*** وأعلى أمتصاصية ٤ وهذا يتوافق مع Lutfana و Soudhari (٢٠١٩)كان الطول الموجي ٢٠٠-٨٠٠ نانومتر .



الشكل (4-55) المطياف أعلى طول موجي لأوكسيد الزنك النانوي لراشح فطر *Microsporum gypseum*

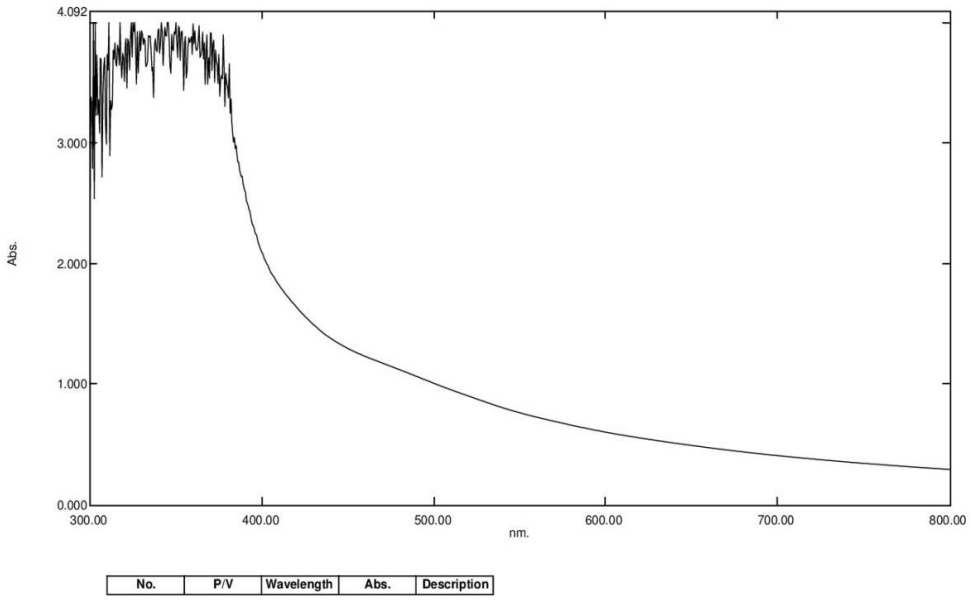
١٣-منحني يوضح ذروة الأمتصاص لأوكسيد الزنك النانوي من راشح الفطر ***Trichophyton rubrum*** وصل أعلى طول موجي ٣٤٧ نانومتر وأعلى أمتصاصية ٢.٧٥١ وهذا يتوافق مع Moazeni وآخرون (٢٠١٢) وصل أعلى طول موجي ٤٤٢ نانومتر .



الشكل (4-56)المطياف أعلى طول موجي لأوكسيد الزنك النانوي لراشح فطر

Trichophyton rubrum

١٤-يوضح منحني الطيف أعلى طول موجي للراشح الفطري ***Rhizopus americanus*** بلغ ٤٠٢ نانومتر وأعلى أمتصاصية ٢ وهذا يتوافق مع Siddiqi وHusen (٢٠١٦) وصل أعلى طول موجي ٤٢٠ نانومتر .

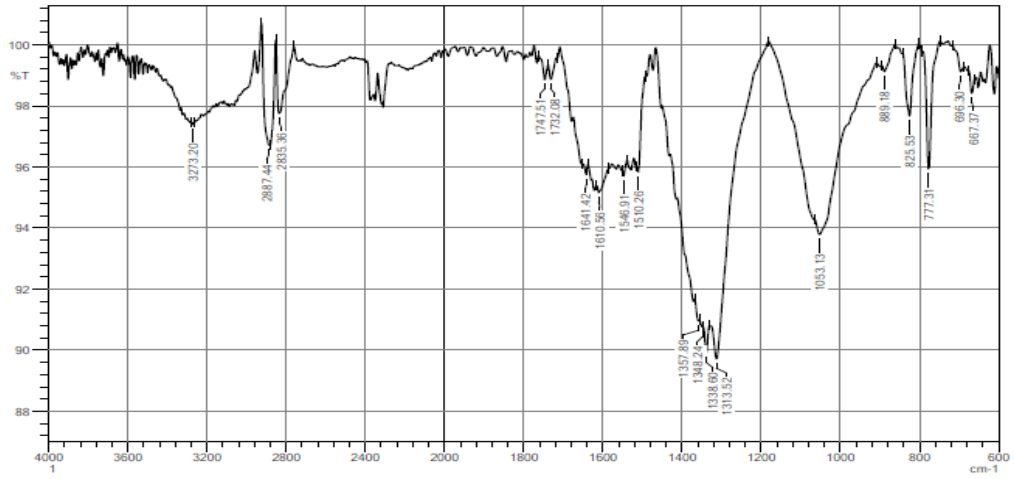


الشكل (4-57) المطياف أعلى طول موجي لأوكسيد الزنك النانوي لراشح فطر *Rhizopus americanus*

٤-٢-٤ مطياف الأشعة تحت الحمراء Fourier transform infrared (FTIR)

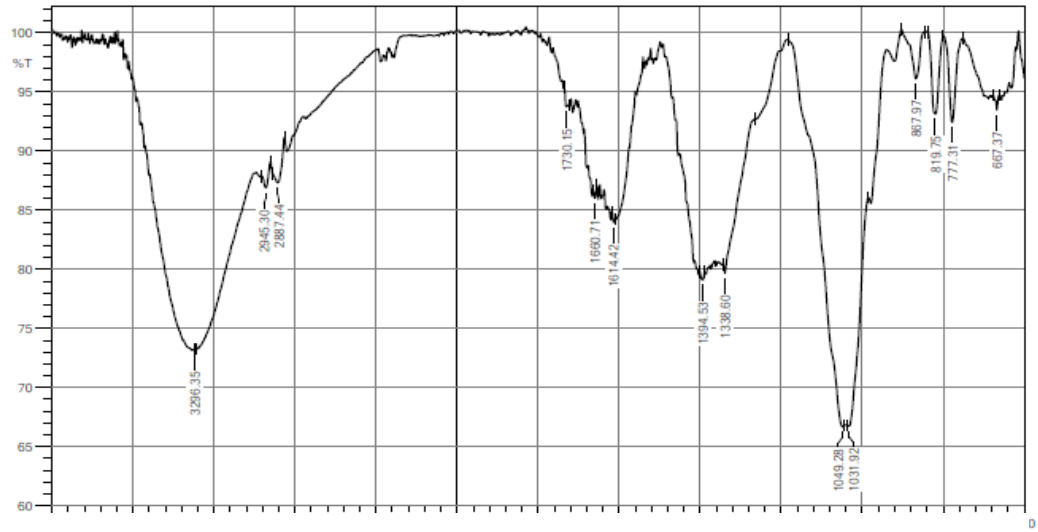
١-الفضة النانوية :-

a. **كشف طيف الأشعة الحمراء لراشح فطر *Microsporum gypsym*** عن وجود عشرة قمم ٦٩٦.٣٠، ٧٧٧.٣١ ، ٨٨٩.١٨ ، ١٠٥٣.١٣ ، ١٣٥٧.٨٩ ، ١٥٤٦.٩١، ١٦٤١.٤٢، ١٧٤٧.٥١، ٢٨٨٧.٤٤ ، ٣٢٧٣.٢٠ كما موضح في الشكل (٤- ٥٨) إلى وجود مجموعة C-H أما القمة ٣٢٧٣.٢٠ تدل على وجود آصرة O-H



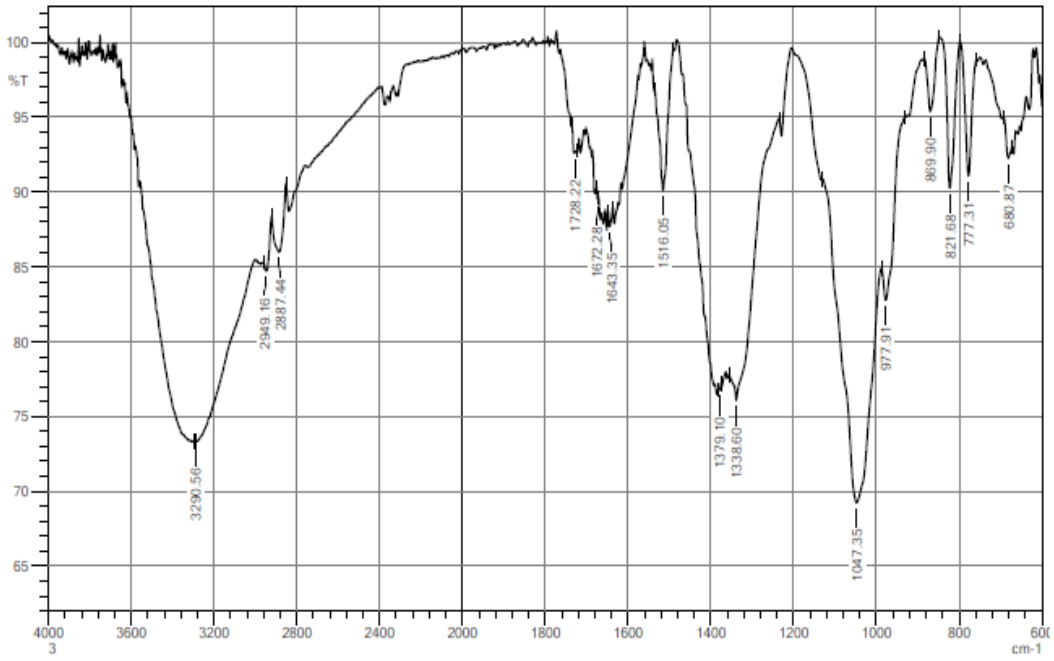
الشكل (4-58) طيف الاشعة تحت الحمراء لجسيمات الفضة النانوية للفطر *Microsporum gypsum*

b. راشح الفطر ***Aspergillus flavus*** كشف طيف الأشعة الحمراء عن وجود تسعة قمم ٣٢٩٦.٣٥، ٢٩٤٥.٣٠، ١٧٣٠.١٥، ١٦٦٠.٧١، ١٣٩٤.٥٣، ١٠٤٩.٢٨، ٨٨٧.٩٧، ٧٧٧.٣١، ٦٦٧.٣٧ سم -١ كما موضح في الشكل (٤-٥٩) ، القمة ٦٦٧.٣٧ تشير إلى آصرة أروماتية C-H أما القمة ٧٧٧.٣١ تشير إلى الآصرة C-H أما القمة ٨٨٧.٩٧ تشير إلى ألكين C=C أما القمة ١٠٤٩.٢٨ تشير إلى آصرة C-N تمثل أحماض أمينية أروماتية ألفاتية أما القمة ١٣٩٤.٥٣ تشير إلى مجموعة الكاربونيل C-٠- أما القمة ١٦٦٠.٧١ تشير إلى أميدات أحادية وثنائية N-H أما القمة ١٧٣٠.١٥ تشير إلى الآصرة C=O (الديهايد) أما القمة ٢٩٤٥.٣٠ تشير إلى مجموعة C-H والقمة ٣٢٩٦.٣٥ تشير إلى آصرة O-H.



الشكل(4-59) يوضح طيف الاشعة الحمراء لراشح الفطر *Aspergillus flavus*

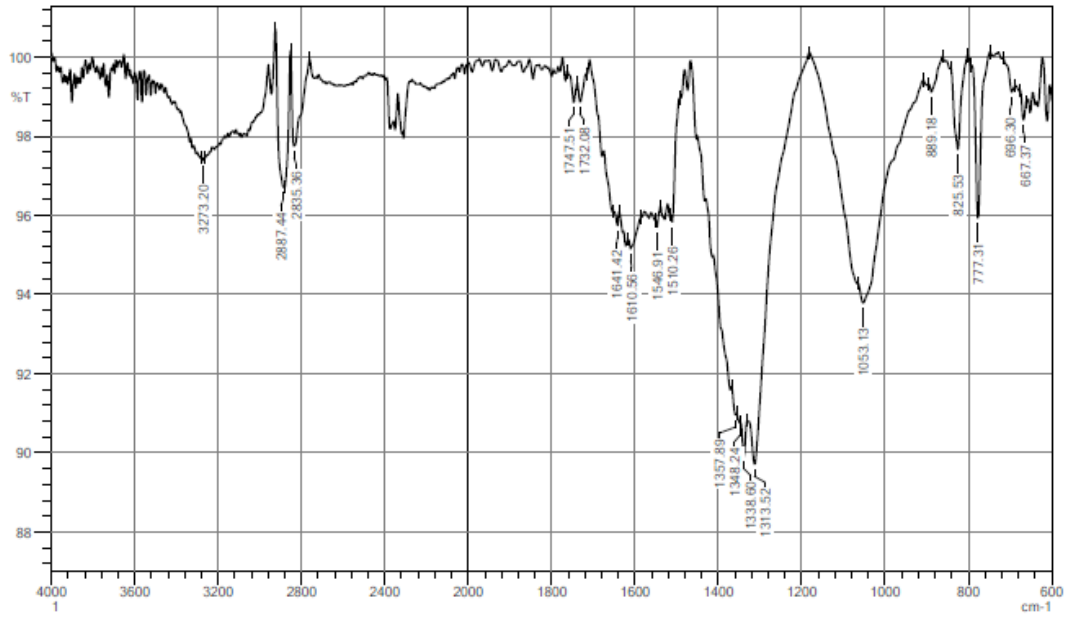
c. راشح الفطر ***Aspergillus welwitschiae*** :كشف طيف الأشعة الحمراء أن راشح الفطر يحتوي على أحد عشر قمة ٦٨٠.٨٧، ٧٧٧.٣١ ، ٨٦٩.٩٠ ، ٩٧٧.٩١ ، ١٠٤٧.٣٥ ، ١٣٧٩.١٠، ١٥١٦.٠٥، ١٦٧٢.٢٨ ، ١٧٢٨.٢٢ ، ٢٩٤٩.١٦ ، ٣٢٩٠.٥٦ كما موضح في الشكل (٤ - ٦٠) أن القمم التي تظهر بحدود ٦٠٠-١٤٠٠ تشير إلى مجاميع الكاربوكسيل C-O- أو مجموعة C-N وهي إمتداد للآواصر الأمايدية في البروتينات Sampaio و Viana(٢٠١٨) القمة ١٥١٦.٠٥ تشير إلى مجاميع Nitriies group وهي أحماض عضوية التي تحتوي على الآصرة C=N- التي تشير إلى رابطة ثلاثية بين الكاربون والنتروجين ،القمة ١٦٧٢.٢٨ تشير إلى الآصرة C-O– و C=C– وهي أمين أولي وثانوي أما القمة ١٧٢٨.٢٢ تشير إلى الآصرة C=O (الديهايد) أما القمة ٢٩٤٩.١٦ تشير إلى مجموعة الكالين C-H بينما القمة ٣٢٩٠.٥٦ تشير إلى وجود الآصرة O-H.



الشكل (4-60) طيف الاشعة الحمراء لراشح الفطر *Aspergillus welwitschiae*

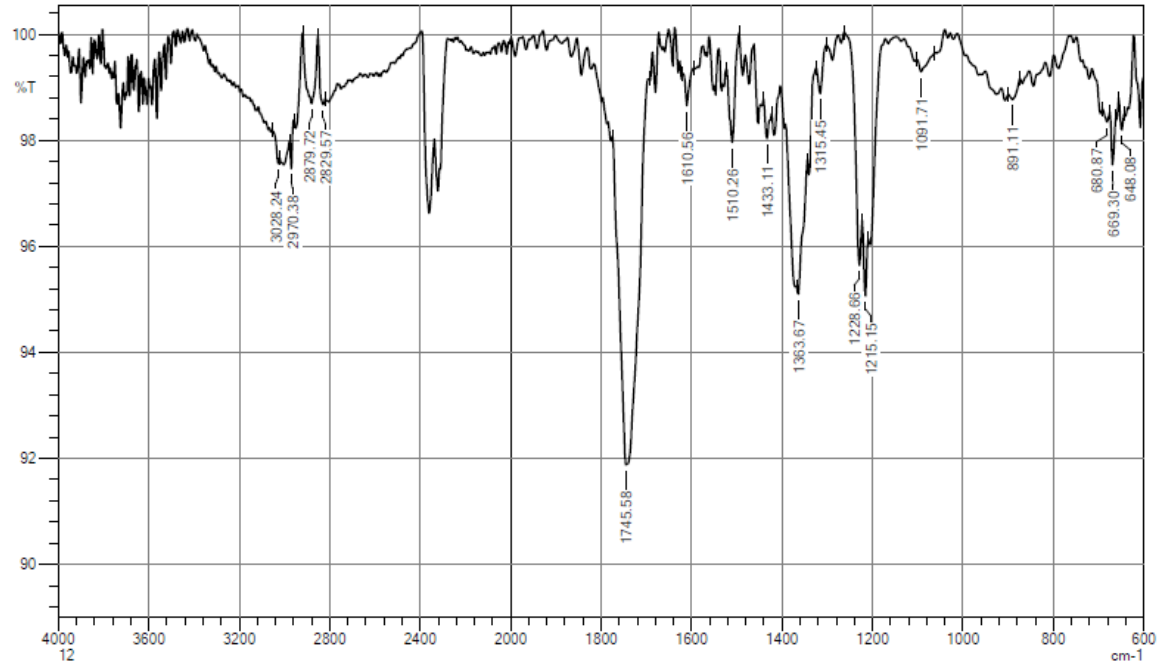
d. راشح الفطر ***Trichophyton rubrum*** كشف مطياف الأشعة الحمراء أن راشح الفطر يحتوي على عشرة قمم ٦٩٦.٣٠، ٧٧٧.٣١ ، ٨٨٩.١٨ ، ١٠٥٣.١٣ ، ١٣٥٧.٨٩ ، ١٥٤٦.٩١، ١٦٤١.٤٢، ١٧٤٧.٥١، ٢٨٨٧.٤٤، ٣٢٧٣.٢٠ كما موضح في الشكل ٦١).

(٤- القمة ٦٩٦.٣٠سم -١ تشير إلى آصرة أروماتية C-H (آصرة قوية) أما القمة ٧٧٧.٣١ تشير إلى الآصرة C –H(آصرة قوية) أما القمة ٨٨٩.١٨ تشير إلى ألكين C=C (آصرة قوية) ،القمة ١٠٥٣.١٣ تشير إلى وجود آصرة C-N تمثل أحماض أمينية أروماتية وألفاتية أما القمة ١٣٥٧.٨٩ تشير إلى مجموعة الكاربونيل C-O- أو مجموعة C-N وتعد إمتداد للأواصر الأمايدية في البروتينات ،أما القمتان ١٥٤٦.٩١، ١٦٤١.٤٢ تدل على وجود أميدات أحادية وأميدات ثنائية N-H ،أما القمة ١٧٤٧.٥١ تشير إلى الآصرة C=O(الديهايد) أما القمة ٢٨٨٧.٤٤ تشير إلى وجود مجموعة C-H أما القمة ٣٢٧٣.٢٠ تدل على وجود آصرة O-H.



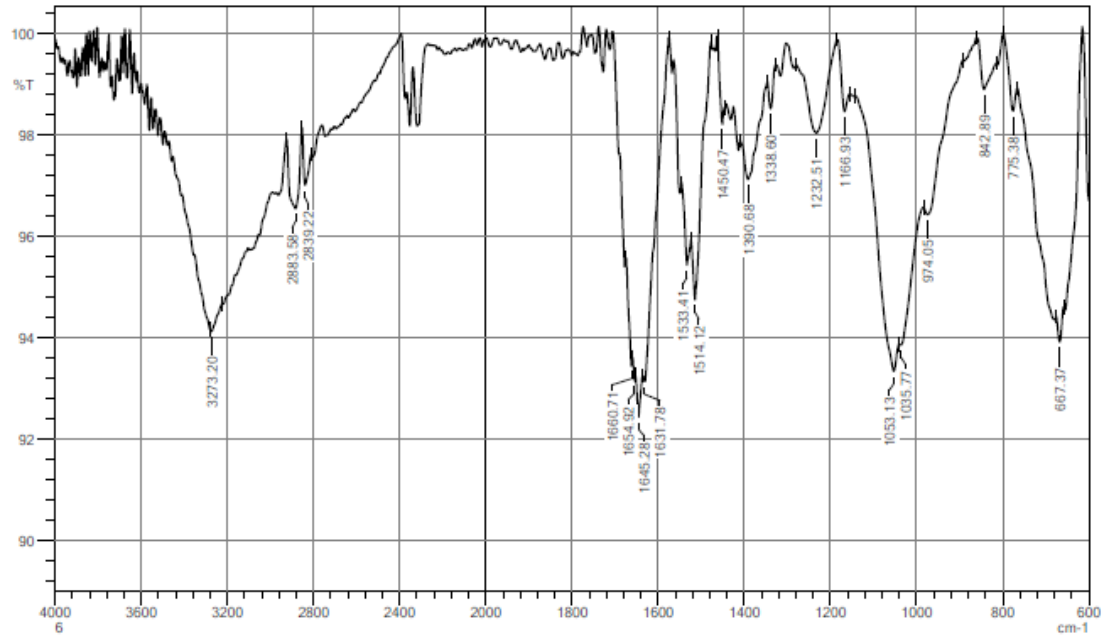
الشكل (4- 61) طيف الاشعة الحمراء لراشح الفطر *Trichophyton rubrum*

e. راشح الفطر ***Aspergillus niger*** كشف طيف الأشعة الحمراء عن وجود أحد عشر قمة ٦٨٠.٨٧ ، ٨٩١.١١ ، ١٠٩١.٧١ ، ١٢٢٨.٦٧ ، ١٣٦٣.٦٧ ، ١٤٣٣.١١ ، ١٥١٠.٢٦ ، ١٦١٠.٥٦ ، ١٧٤٥.٥٨ ، ٢٩٧٠.٣٨ ، ٣٠٢٨.٢٤ كما موضح في الشكل (٤-٦٢) ، أن القمم التي تظهر بحدود ٦٠٠-١٤٠٠ تشير إلى مجاميع الكاربوكسيل C-O- أو مجموعة C-N وهي إمتداد للأواصر الأمايدية في البروتينات Sampaio وViana (٢٠١٨) القمة ١٥١٠.٢٦ تشير إلى مجاميع Nitriies group وهي أحماض عضوية التي تحتوي على الآصرة C=N- التي تشير إلى رابطة ثلاثية بين الكاربون والنتروجين ،القمة ١٦١٠.٥٦ تشير إلى الآصرة C-O– و C=C– وهي أمين أولي وثانوي أما القمة ١٧٤٥.٥٨تشير إلى الآصرة C=O (الديهايد) أما القمة ٢٩٧٠.٣٨ تشير إلى مجموعة الكالين C-H بينما القمة ٣٠٢٨.٢٤تشير إلى وجود الآصرة O-H.



الشكل (4-62) يوضح طيف الاشعة الحمراء للفطر *Aspergillus niger*

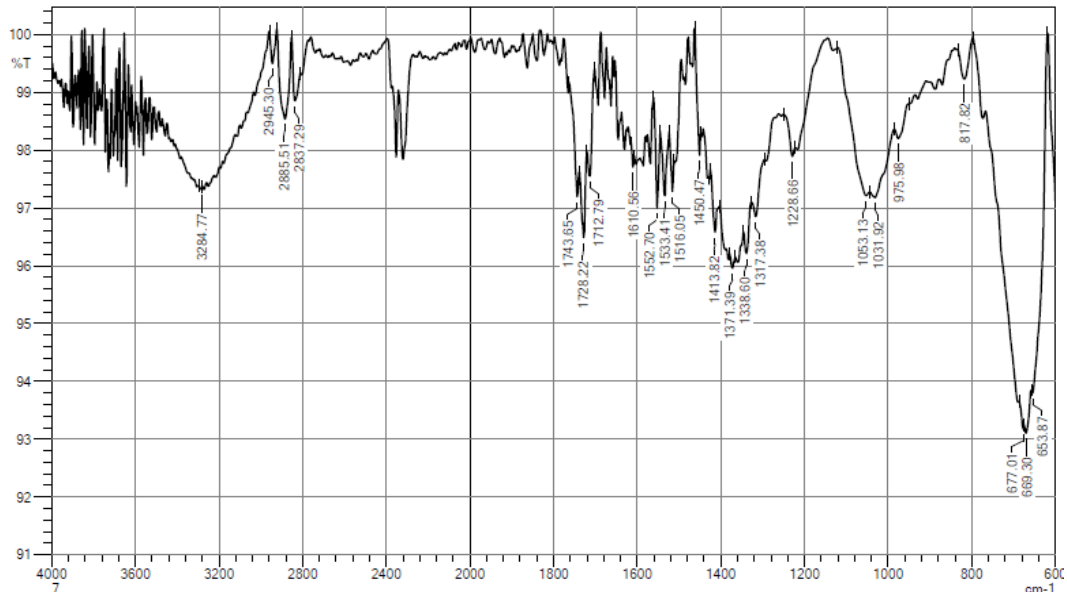
f. راشح الفطر ***Aspergillus piperis*** كشف طيف الأشعة الحمراء عن وجود ثلاثة عشر قمة ٦٦٧.٣٧ ، ٧٧٥.٣٨ ، ٨٤٢.٨٩ ، ٩٧٤.٠٥ ، ١١٦٦.٩٣ ، ١٢٣٢.٥١ ، ١٣٩٠.٦٨ ، ١٤٥٠.٤٧ ، ١٥٣٣.٤١ ، ١٦٦٠.٧١، ٢٨٨٣.٥٨، ٣٢٧٣.٢٠ كما موضح في الشكل (٤-٦٣) .أن القمم التي تظهر بحدود ٦٠٠-١٤٠٠ تشير إلى مجاميع الكاربوكسيل C-O- أو مجموعة C-N وهي إمتداد للأواصر الأمايدية في البروتينات Sampaio و Viana (٢٠١٨) القمة ١٥٣٣.٤١ تشير إلى مجاميع Nitriies group وهي أحماض عضوية التي تحتوي على الآصرة C=N- التي تشير إلى رابطة ثلاثية بين الكاربون والنتروجين ،القمة ١٦٦٠.٧١ تشير إلى الآصرة C-O– و C=C– وهي أمين أولي وثانوي أما القمة ٢٨٨٣.٥٨تشير إلى مجموعة الكالين C-H بينما القمة ٣٢٧٣.٢٠ تشير إلى وجود الآصرة O-H.



الشكل (4-63) يوضح طيف الاشعة الحمراء لراشح الفطر *Aspergillus piperis*

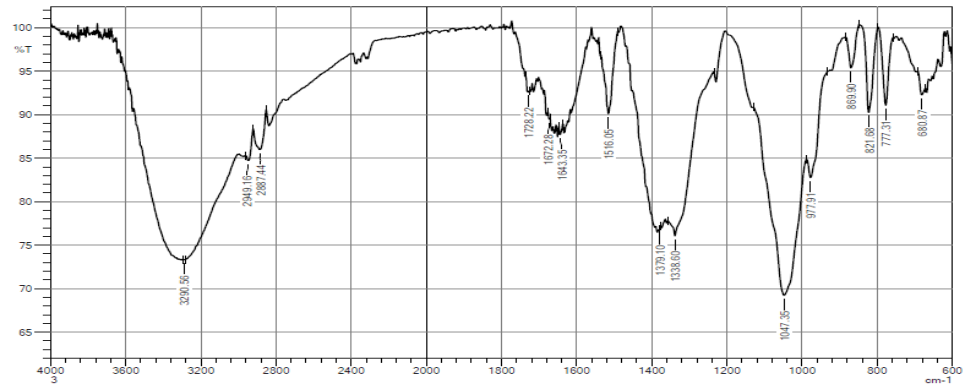
g. راشح فطر ***Aspergillus brasiliensis*** :- كشف طيف الأشعة الحمراء عن وجود أثنا عشر قمة ٦٧٧.٠١ ، ٨١٧.٨٢ ، ٩٧٥.٩٨ ، ١٠٥٣.١٣ ، ١٢٢٨.٦٦ ، ١٣٧١.٣٩ ، ١٤٥٠.٤٧ ، ١٥٥٢.٧٠ ، ١٦١٠.٥٦، ١٧٤٣.٦٥ ، ٢٩٤٥.٣٠ ، ٣٢٨٤.٧٧ كما موضح في الشكل(٤-٦٤). أن القمم التي تظهر بحدود ٦٠٠-١٤٠٠ تشير إلى مجاميع الكاربوكسيل C-O- أو مجموعة C-N وهي إمتداد للأواصر الأمايدية في البروتينات Sampaio و Viana

(٢٠١٨) ،القمة ١٥٥٢.٧٠ تشير إلى مجاميع Nitriies group وهي أحماض عضوية التي تحتوي على الآصرة C=N- التي تشير إلى رابطة ثلاثية بين الكاربون والنتروجين ،القمة ١٦١٠.٥٦ تشير إلى الآصرة –C-O و –C=C وهي أمين أولي وثانوي أما القمة ١٧٤٣.٦٥ تشير إلى الآصرة C=O (الديهايد) ،أما القمة ٢٩٤٥.٣٠ تشير إلى مجموعة الكالين C-H بينما القمة ٣٢٧٣.٢٠ تشير إلى وجود الآصرة O-H .



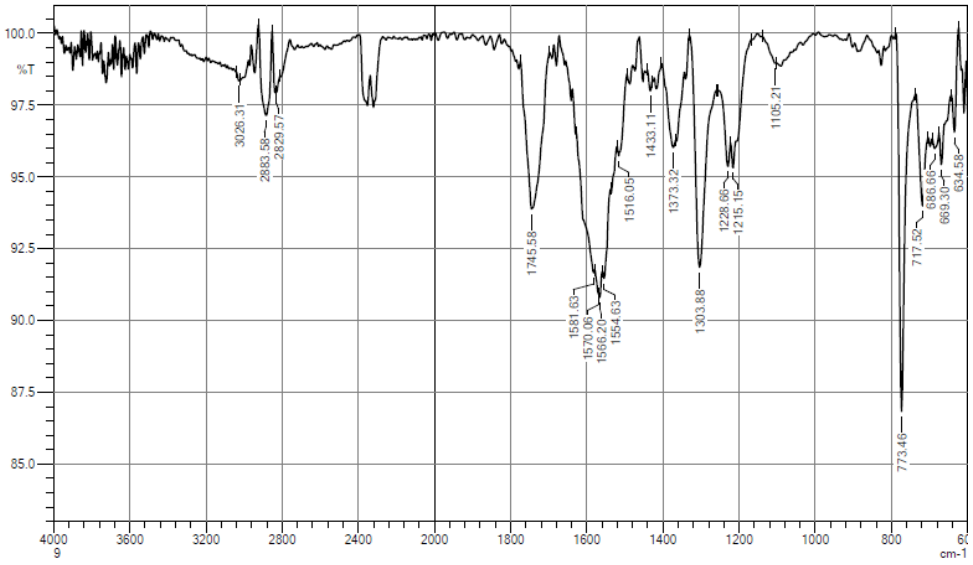
الشكل (4-64) يوضح طيف الاشعة الحمراء لراشح الفطر *A.brasiliensis*

h. راشح الفطر ***Aspergillus minisclerotigenes*** :- ***:***كشف طيف الأشعة الحمراء أن راشح الفطر يحتوي على أحد عشر قمة ٦٨٠.٨٧، ٧٧٧.٣١ ، ٨٦٩.٩٠ ، ٩٧٧.٩١ ، ١٠٤٧.٣٥، ١٣٧٩.١٠ ، ١٥١٦.٠٥ ،١٦٧٢.٢٨ ، ١٧٢٨.٢٢ ، ٢٩٤٩.١٦ ، ٣٢٩٠.٥٦ كما موضح في الشكل (٤-٦٥).أن القمم التي تظهر بحدود ٦٠٠-١٤٠٠ تشير إلى مجاميع الكاربوكسيل C-O- أو مجموعة C-N وهي إمتداد للأواصر الأمايدية في البروتينات Sampaio و Viana (٢٠١٨) القمة ١٥١٦.٠٥ تشير إلى مجاميع Nitriies group وهي أحماض عضوية التي تحتوي على الآصرة C=N- التي تشير إلى رابطة ثلاثية بين الكاربون والنتروجين ،القمة ١٦٧٢.٢٨ تشير إلى الآصرة C-O– و C=C– وهي أمين أولي وثانوي أما القمة ١٧٢٨.٢٢ تشير إلى الآصرة C=O (الديهايد) أما القمة ٢٩٤٩.١٦ تشير إلى مجموعة الكالين C-H بينما القمة ٣٢٩٠.٥٦ تشير إلى وجود الآصرةO-H.



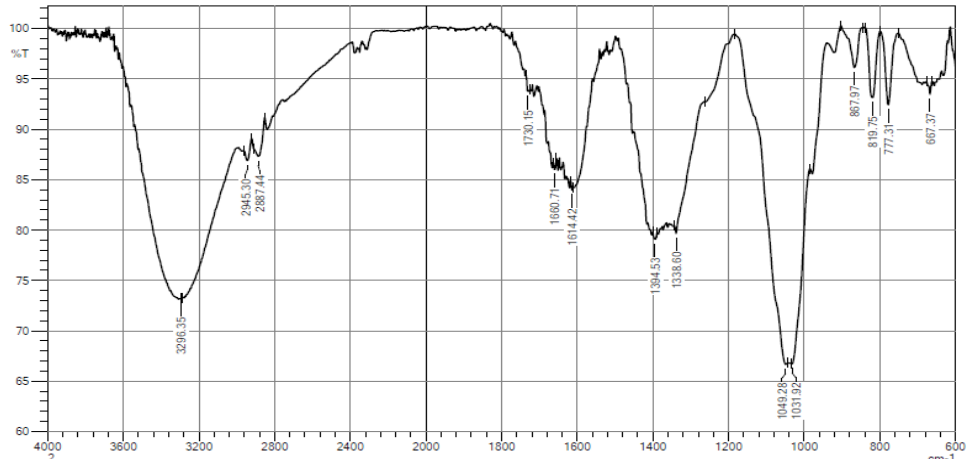
الشكل (4-ي6) يوضح طيف الاشعة الحمراء لراشح الفطر *A. minisclerotigenes*

i. راشح فطر ***Aspergillus oryza*** كشف طيف الأشعة الحمراء أن وجود عشرة قمم ٦٨٦.٦٠ ، ٧٧٣.٤٦ ، ١١٠٥.٢١ ، ١٢٢٨.٦٦ ، ١٣٧٣.٣٢ ، ١٤٣٣.١١ ، ١٥٨١.٦٣ ، ١٧٤٥.٥٨، ٢٨٨٣.٥٨، ٣٠٢٦.٣١ كما موضح في الشكل (٤-٦٦) ،أن القمم التي تظهر بحدود (١٤٠٠-٦٠٠) تشير إلى مجاميع الكاربوكسيل C-O- أو مجموعة C-N وهي إمتداد للأواصر الأمايدية في البروتينات Sampaio و Viana (٢٠١٨) القمة ١٥٨١.٦٣ تشير إلى مجاميع Nitriies group وهي أحماض عضوية التي تحتوي على الآصرة C=N- التي تشير إلى رابطة ثلاثية بين الكاربون والنتروجين ، أما القمة ١٧٤٥.٥٨ تشير إلى الآصرة C=O (الديهايد) أما القمة ٢٨٨٣.٥٨ تشير إلى مجموعة الكالين C-H بينما القمة ٣٠٢٦.٣١ تشير إلى وجود الآصرة O-H.



الشكل (4-ي6) يوضح طيف الاشعة الحمراء لراشح الفطر *A. oryza*

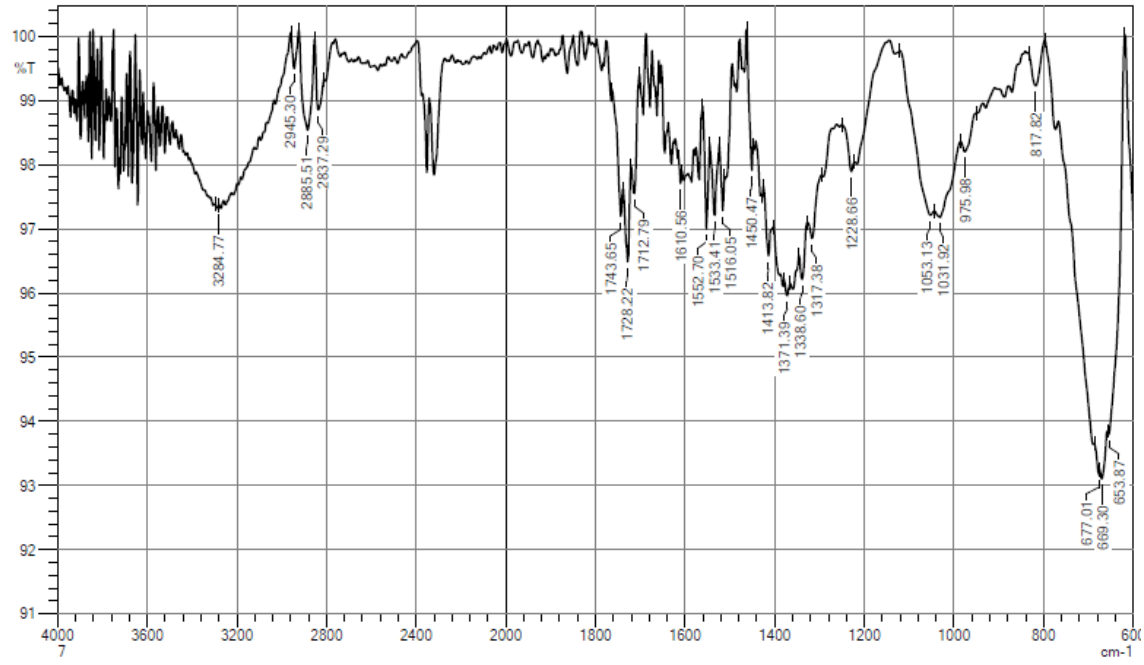
j. راشح فطر ***Rhizopus americanus*** :- كشف طيف الأشعة الحمراء عن وجود تسعة قمم ٦٦٧.٣٧ ،٧٧٧.٣١ ،٨٨٧.٩٧ ،١٠٤٩.٢٨ ،١٣٩٤.٥٣ ،١٦٦٠.٧١ ،١٧٣٠.١٥ ،٢٩٤٥.٣٠ ،٣٢٩٦.٣٥ سم -١ كما موضح في الشكل (٤-٦٧).القمة ٦٦٧.٣٧ تشير إلى آصرة أروماتية C-H أما القمة ٧٧٧.٣١ تشير إلى الآصرة C-H أما القمة ٨٨٧.٩٧ تشير إلى ألكين C=C أما القمة ١٠٤٩.٢٨ تشير إلى آصرة C-N تمثل أحماض أمينية أروماتية ألفاتية أما القمة ١٣٩٤.٥٣ تشير إلى مجموعة الكاربونيل -C-٠ أما القمة ١٦٦٠.٧١ تشير إلى أميدات أحادية وثنائية N-H أما القمة ١٧٣٠.١٥ تشير إلى الآصرة C=O (الديهايد) أما القمة ٢٩٤٥.٣٠ تشير إلى مجموعة C-H والقمة ٣٢٩٦.٣٥ تشير إلى آصرة O-H.



الشكل (4- ي6) يوضح طيف الاشعة الحمراء لراشح الفطر *A. americanus*

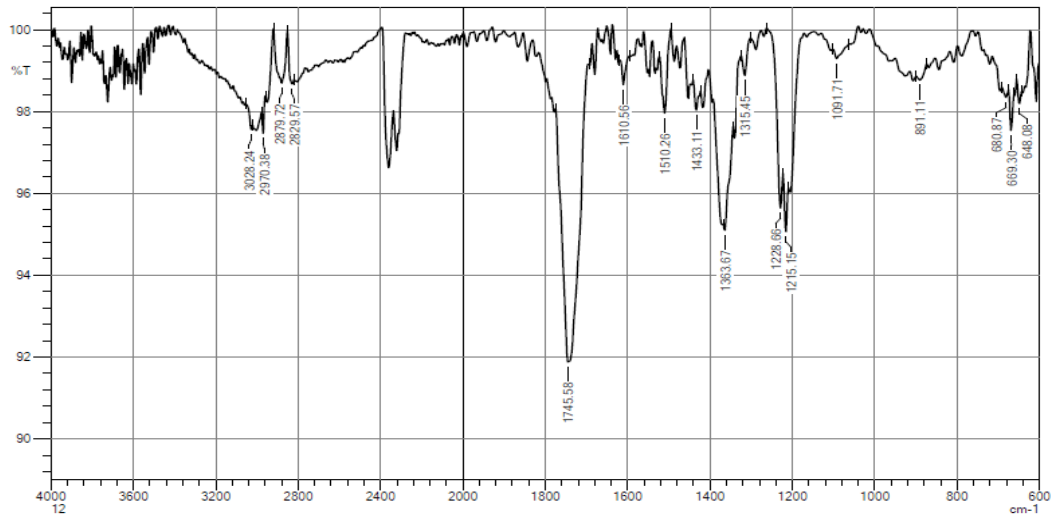
k. راشح الفطر ***Aspergillus costaricensis*** كشف طيف الأشعة الحمراء عن وجود أثنا عشر قمة ٦٧٧.٠١ ، ٨١٧.٨٢ ، ٩٧٥.٩٨ ، ١٠٥٣.١٣ ، ١٢٢٨.٦٦ ، ١٣٧١.٣٩ ، ١٤٥٠.٤٧ ، ١٥٥٢.٧٠ ، ١٦١٠.٥٦، ١٧٤٣.٦٥ ، ٢٩٤٥.٣٠ ، ٣٢٨٤.٧٧ كما موضح في الشكل (٤ -٦٨) ،أن القمم التي تظهر بحدود ١٤٠٠-٦٠٠ تشير إلى مجاميع الكاربوكسيل C-O- أو مجموعة C-N وهي إمتداد للأواصر الأمايدية في البروتينات Sampaio و Viana (٢٠١٨) القمة ١٥٥٢.٧٠ تشير إلى مجاميع Nitriies group وهي أحماض عضوية التي تحتوي على الآصرة C=N- التي تشير إلى رابطة ثلاثية بين الكاربون والنتروجين ،القمة ١٦١٠.٥٦ تشير إلى الآصرة –C-O و –C=C وهي أمين أولي وثانوي

أما القمة ١٧٤٣.٦٥ تشير إلى الآصرة C=O (الديهايد) أما القمة ٢٩٤٥.٣٠ تشير إلى مجموعة الكالين C-H بينما القمة ٣٢٧٣.٢٠ تشير إلى وجود الآصرة O-H.



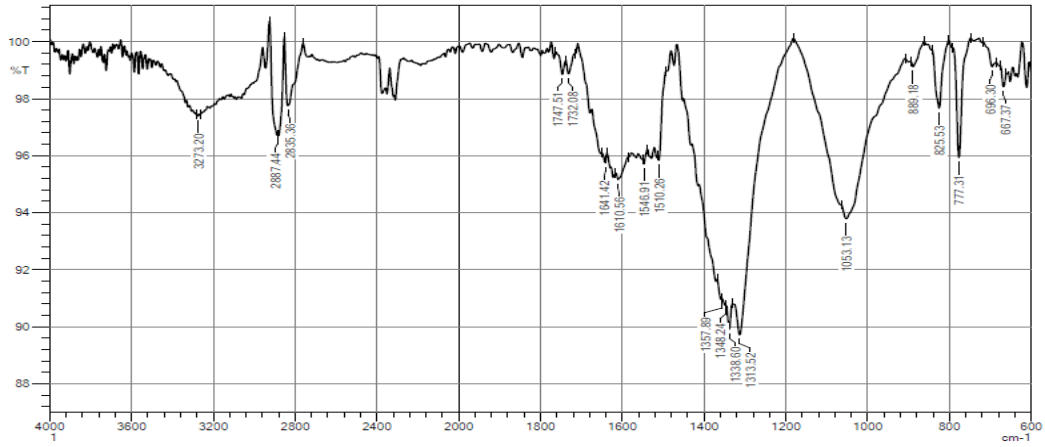
الشكل (4-68) يوضح طيف الاشعة الحمراء لراشح الفطر *Aspergillus costaricensis*

l. راشح فطر ***Aspergillus tubigensis*** كشف طيف الأشعة الحمراء عن وجود أحد عشر قمة ٦٨٠.٨٧ ، ٨٩١.١١ ، ١٠٩١.٧١ ، ١٢٢٨.٦٧ ، ١٣٦٣.٦٧ ، ١٤٣٣.١١ ، ١٥١٠.٢٦ ، ١٦١٠.٥٦ ، ١٧٤٥.٥٨ ، ٢٩٧٠.٣٨ ، ٣٠٢٨.٢٤ كما موضح في الشكل (٤-٦٩), أن القمم التي تظهر بحدود ٦٠٠-١٤٠٠ تشير إلى مجاميع الكاربوكسيل C-O- أو مجموعة C-N وهي إمتداد للآواصر الأمايدية في البروتينات Sampaio و Viana (٢٠١٨) ،القمة ١٥١٠.٢٦ تشير إلى مجاميع Nitriies group وهي أحماض عضوية التي تحتوي على الآصرة C=N- التي تشير إلى رابطة ثلاثية بين الكاربون والنتروجين ،القمة ١٦١٠.٥٦ تشير إلى الآصرة –C-O و –C=C وهي أمين أولي وثانوي أما القمة ١٧٤٥.٥٨تشير إلى الآصرة C=O (الديهايد) أما القمة ٢٩٧٠.٣٨ تشير إلى مجموعة الكالين C-H بينما القمة ٣٠٢٨.٢٤تشير إلى وجود الآصرة O-H.



الشكل (4-69) يوضح طيف الاشعة الحمراء لراشح الفطر*Aspergillus tubigensis*

m. راشح فطر ***Microsprum canis*** كشف مطياف الأشعة الحمراء أن راشح الفطر يحتوي على عشرة قمم ٦٩٦.٣٠، ٧٧٧.٣١ ، ٨٨٩.١٨ ، ١٠٥٣.١٣ ، ١٣٥٧.٨٩ ، ١٥٤٦.٩١، ١٦٤١.٤٢، ١٧٤٧.٥١، ٢٨٨٧.٤٤، ٣٢٧٣.٢٠ كما موضح في الشكل (٤-٧٠) ،القمة ٦٩٦.٣٠سم -١ تشير إلى آصرة أروماتية C-H (أصرة قوية) أما القمة ٧٧٧.٣١ تشير إلى الآصرة C –H (آصرة قوية) أما القمة ٨٨٩.١٨ تشير إلى ألكينC=C (آصرة قوية) ،القمة ١٠٥٣.١٣ تشير إلى وجود آصرة C-N تمثل أحماض أمينية أروماتية وألفاتية أما القمة ١٣٥٧.٨٩ تشير إلى مجموعة الكاربونيل C-O- أو مجموعة C-N وتعد إمتداد للآواصر الأمايدية في البروتينات ،أما القمتان ١٥٤٦.٩١، ١٦٤١.٤٢ تدل على وجود أميدات أحادية وأميدات ثنائية N-H ،أما القمة ١٧٤٧.٥١ تشير إلى الآصرة C=O(الديهايد) أما القمة ٢٨٨٧.٤٤ تشير إلى وجود مجموعة C-H أما القمة ٣٢٧٣.٢٠ تدل على وجود آصرة O-H.

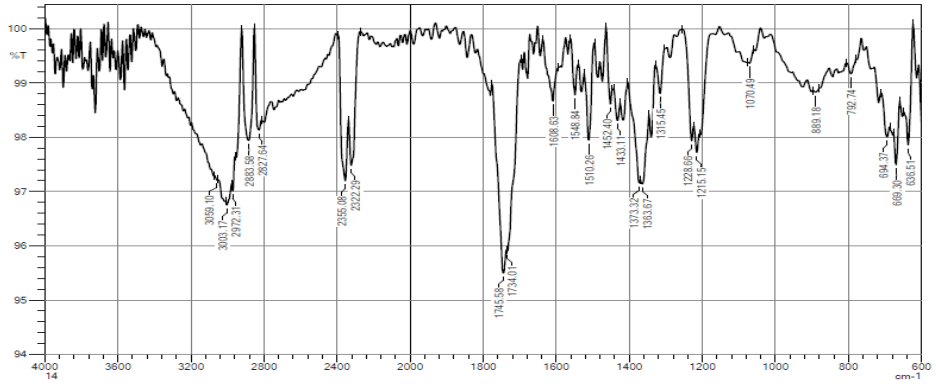


الشكل (4-70) يوضح طيف الاشعة الحمراء لراشح الفطر*Microsprum canis*

n. راشح الفطر ***Epidermophyton floccosum*** كشف المطياف عن وجود أثنا عشر قمة ٦٩٤.٣٧ ، ٧٩٢.٧٤ ، ٨٨٩.١٨ ، ١٠٧٠.٤٩ ، ١٢٢٨.٦٦ ، ١٣٧٣.٣٢ ، ١٤٥٢.٤٠، ١٥٤٨.٨٤ ، ١٦٠٨.٦٣ ، ١٧٤٥.٥٨، ٢٩٧٢.٣١ ، ٣٠٥٩.١٠ كما موضح في الشكل(٤-٧١)

أن القمم التي تظهر بحدود ٦٠٠-١٤٠٠ تشير إلى مجاميع الكاربوكسيل C-O- أو مجموعة C-N وهي إمتداد للآواصر الأمايدية في البروتينات Sampaio و Viana (٢٠١٨) القمة ١٥٤٨.٨٤ تشير إلى مجاميع Nitriies group وهي أحماض عضوية التي تحتوي على الآصرة C=N- التي تشير إلى رابطة ثلاثية بين الكاربون والنتروجين ،القمة ١٦٠٨.٦٣ تشير إلى الآصرة –C-O و –C=C وهي أمين أولي وثانوي أما القمة ١٧٤٥.٥٨تشير إلى الآصرة C=O (الديهايد) أما القمة ٢٩٧٢.٣١ تشير إلى مجموعة الكالين C-H بينما القمة ٣٠٥٩.١٠ تشير إلى وجود الآصرة O-H.يمكننا القول أن هذه الأميدات والمجاميع الفعالة والأحماض الأمينية كالكحولات والفينولات تعد دليل على أن الفطريات تفرز مجموعة من البروتينات والإنزيمات التي تلعب دورا مهما في عمليات الإختزال وعامل أستقرار لجسيمات الفضة النانوية وذلك من خلال أرتباطها بمجاميع الأمينات أو ببقايا السستين (حامض أميني) أو من خلال التفاعلات الألكتروستاتيكية بين الشحنات السالبة لمجموعة الكاربوكسيل والشحنات الموجبة لجسيمات الفضة النانوية وهذا ماأشار اليه Singh وأخرون (٢٠١٤) و Ammar El-Desouky (٢٠١٦) و Gudikandula وأخرون (٢٠١٧) أذ أن وجود هذه البروتينات في وسط التفاعل يعد عامل إختزال وطبقة واقية لجسيمات الفضة وهذه البروتينات بدورها تمنع من تكتل جسيمات الفضة في وسط التفاعل وتكون مسوؤلة عن

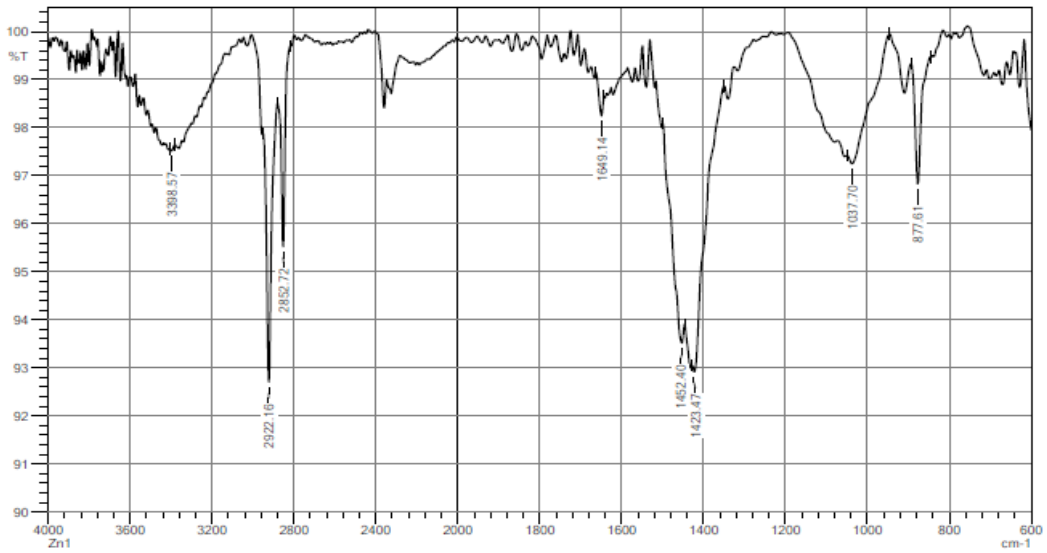
الأستقرارية العالية لجسيمات الفضة وتمتلك ميزة في تحضير الجسيمات الفضية النانوية إذ تكون فعالة وآمنة وغير سامة (AbedlRahim وأخرون ،٢٠١٧)



الشكل(4-71) يوضح طيف الاشعة الحمراء لراشح فطر *Epidermophyton floccosum*

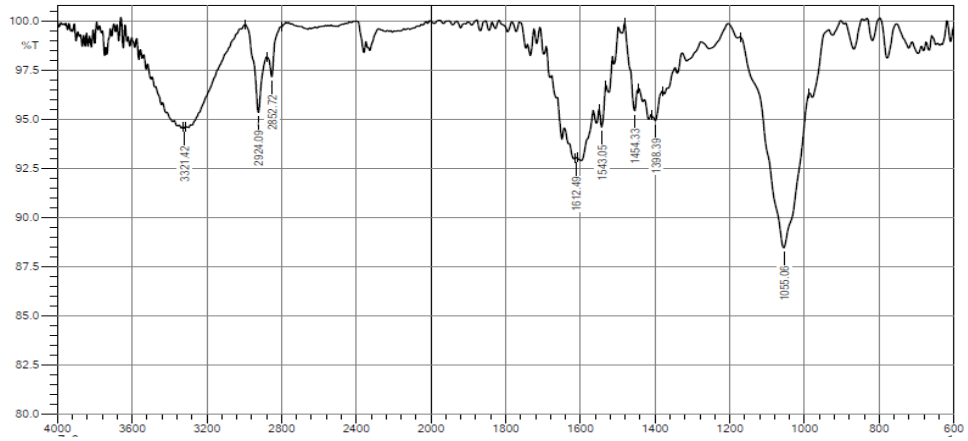
٢:- الزنك

a. راشح الفطر ***Microsporum gypsym*** كشف طيف الأشعة الحمراء عن وجود ستة قمم ٨٧٧.٦١ ، ١٠٣٧.٧٠ ، ١٤٥٢.٤٠ ، ١٦٤٩.١٤ ، ٢٩٢٢.١٦ ، ٣٣٩٨.٥٧ كما موضح في الشكل (٤-٧٢) تشير القمة ٨٧٧.٦١ إلى وجود الآصرة C=C (الكين) أما القمة ١٠٣٧.٧٠ تشير إلى الآصرة C=O أمايد أولي أما القمة ١٤٥٢.٤٠ تشير إلى الآصرة C-F fluroro compound أما القمة ١٦٤٩.١٤ تشير إلى الآصرة C=N مجموعة أمين oxime أما القمة ٢٩٢٢.١٦ تشير إلى الآصرة C-N aromatic amin) أما القمة ٣٣٩٨.٥٧ تشير إلى الآصرة O-H (كحولات).



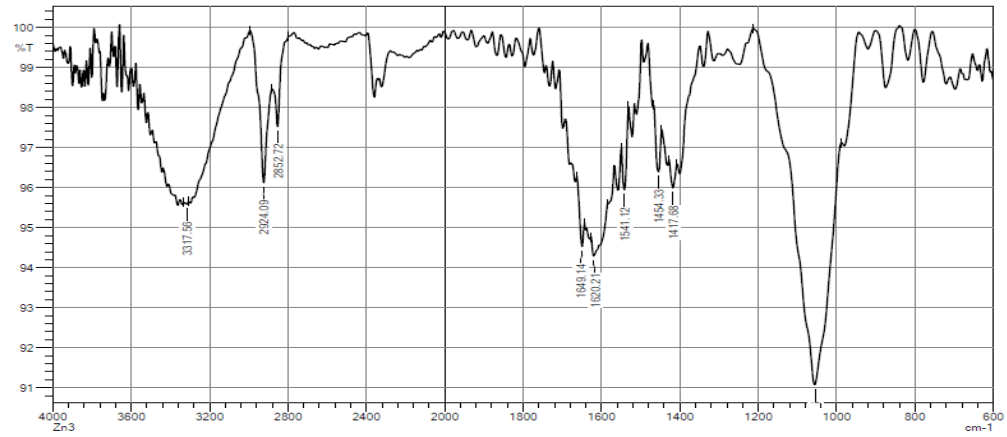
الشكل (4-72) يوضح طيف الاشعة الحمراء لراشح الفطر *Microsporum gypsym*

b. راشح الفطر ***Aspergillus flavus*** كشف طيف الأشعة الحمراء عن وجود سبعة قمم ١٠٥٥.٠٦ ، ١٣٩٨.٣٩ ، ١٤٥٤.٣٣ ، ١٥٤٣.٠٥ ، ١٦١٢.٤٩ ، ٢٩٢٤.٠٩ ، ٣٣٢١.٤٢ كما موضح في الشكل (٤-٧٣). تشير القمة ١٠٥٥.٠٦ إلى الآصرة S=O (sulfonic acid) أما القمة ١٣٩٨.٣٩ تشير إلى الآصرة S=O مركب sulfate ، أما القمة ١٤٥٤.٣٣ تشير إلى الآصرة C-H(مجموعة المثيل) ، أما القمة ١٥٤٣.٠٥ تشير إلى الآصرة C=C (cyclic alkene) ، أما القمة ١٦١٢.٤٩ تشير إلى الآصرة C=C (a,B-unsaturated ketone) ، أما القمة ٢٩٢٤.٠٩ تشير إلى الآصرة N-H (amine salt) ،أما القمة ٣٣٢١.٤٢ تشير إلى الآصرة O-H (كحول) (أرتباط بين الجزيئات).



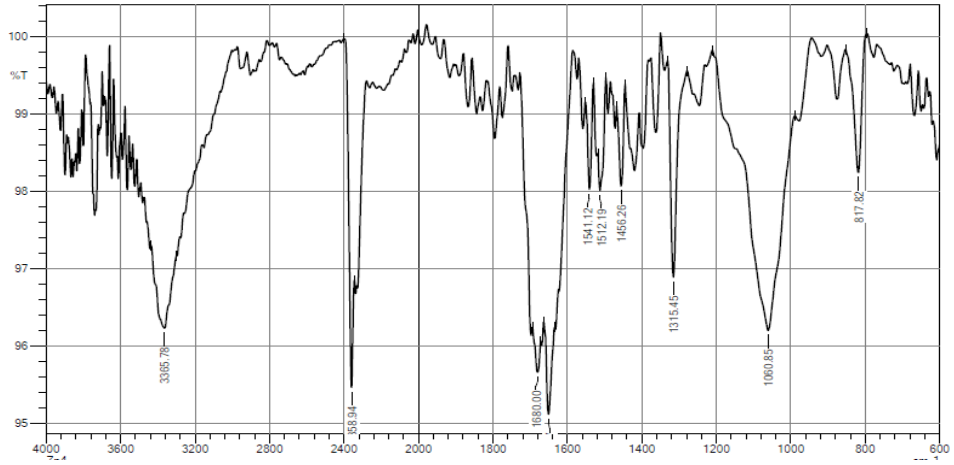
الشكل (4-73) يوضح طيف الاشعة الحمراء للفطر *Aspergillus flavus*

c. راشح الفطر***Aspergillus welwitschiae*** كشف طيف الأشعة الحمراء عن وجود خمسة قمم ١٤٥٤.٣٣ ، ١٥٤١.١٢ ، ١٦٤٩.١٤ ، ٢٩٢٤.٠٩ ، ٣٣١٧.٥٦ كما موضح في الشكل (٤-٧٤) ،تشير القمة ١٤٥٤.٣٣ إلى وجود الآصرة C-H (مجموعة المثيل) ، أما القمم الممتدة مابين ١٥٠٠-١٧٠٠ سم -١ تمثل مجموعات وظيفية لآصرة C=C (cyclic alkene) وكذلك Ketone، أما القمة ٢٩٢٤.٠٩ تشير إلى الآصرة N-H (amine salt) ،أما القمة ٣٣١٧.٥٦ تشير إلى الآصرة O-H(كحول) (أرتباط بين الجزيئات)



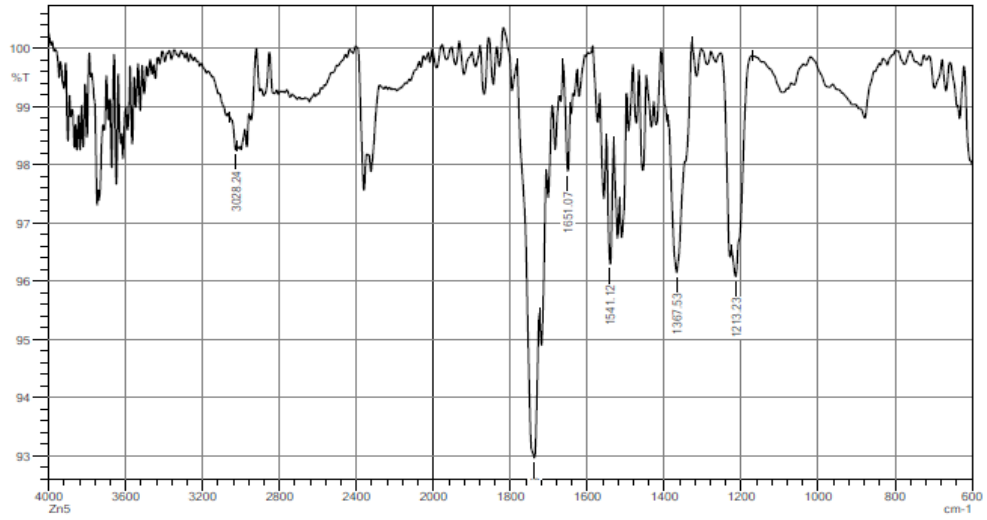
الشكل (4-74) يوضح طيف الاشعة الحمراء لراشح الفطر *Aspergillus welwitschiae*

d. راشح الفطر ***Trichophyton rubrum*** كشف طيف الأشعة الحمراء عن وجود سبعة قمم ٨١٧.٨٢ ، ١٠٦٠.٨٥ ، ١٣١٥.٤٥ ، ١٤٦٥.٢٦ ، ١٥٤١.١٢ ، ١٦٨٠.٠٠ ، ٣٣٦٥.٧٨ كما موضح في الشكل (٤-٧٥). تشير القمة ٨١٧.٨٢ إلى الآصرة C=C (ألكين) ،أما القمة ١٠٦٠.٨٥ تشير إلى الآصرة S=O (sulfoxide) ،أما القمم بين ١٣٠٠-١٤٠٠ تشير إلى الآصرة الكاربوكسيلية H-O (أحماض كاربوكسيلية) ، أما القمة ١٥٤١.١٢ تشير إلى الآصرة N-O ، أما القمة ١٦٨٠.٠٠ تشير إلى الآصرة C=C (ألكين) ،أما القمة ٣٣٦٥.٧٨ تشير إلى الآصرة O-H (كحول).



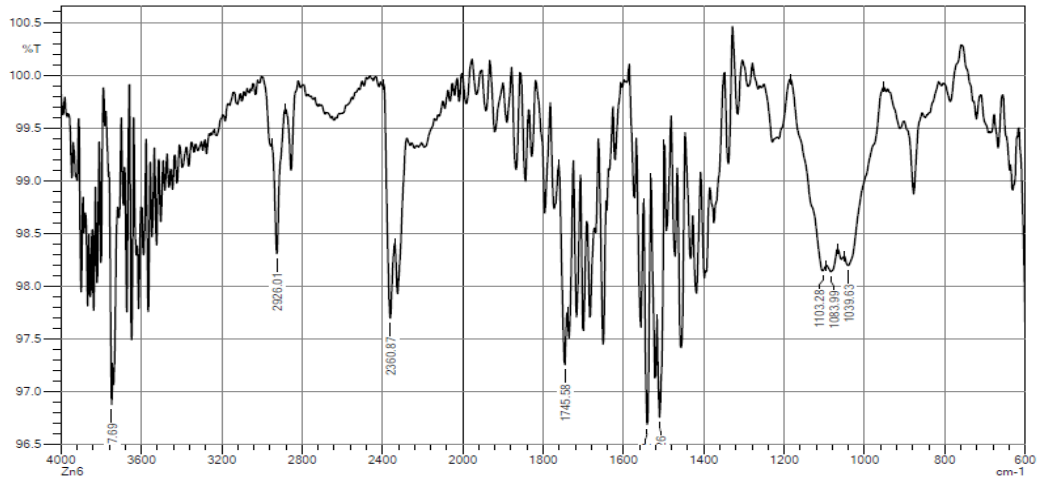
الشكل (4-75) يوضح طيف الاشعة الحمراء لراشح الفطر *Trichophyton rubrum*

e. راشح الفطر ***Aspergillus niger*** كشف طيف الأشعة الحمراء عن وجود ستة قمم ١٢١٣.٢٣ ، ١٣٦٧.٥٣ ، ١٥٤١.١٢ ، ١٥٥١.٧٦ ، ٣٠٢٨.٢٤ كما موضح في الشكل(٤-٧٦) تشير القمة ١٢١٣.٢٣ إلى الآصرة O-H (أحماض كاربوكسيلية) ، أما القمة ١٣٦٧.٥٣ تشير إلى الآصرة S=O (sulfate) ، أما القمة ١٥٤١.١٢ تشير إلى الآصرة N-O (مركب نايتروجيني) ، أما الآصرة ١٦٥١.٧٦ تشير إلى الآصرة C=C (alkene) ، أما القمة ٣٠٢٨.٢٤ تشير إلى الآصرة C-H (ألكين متوسط القوة).



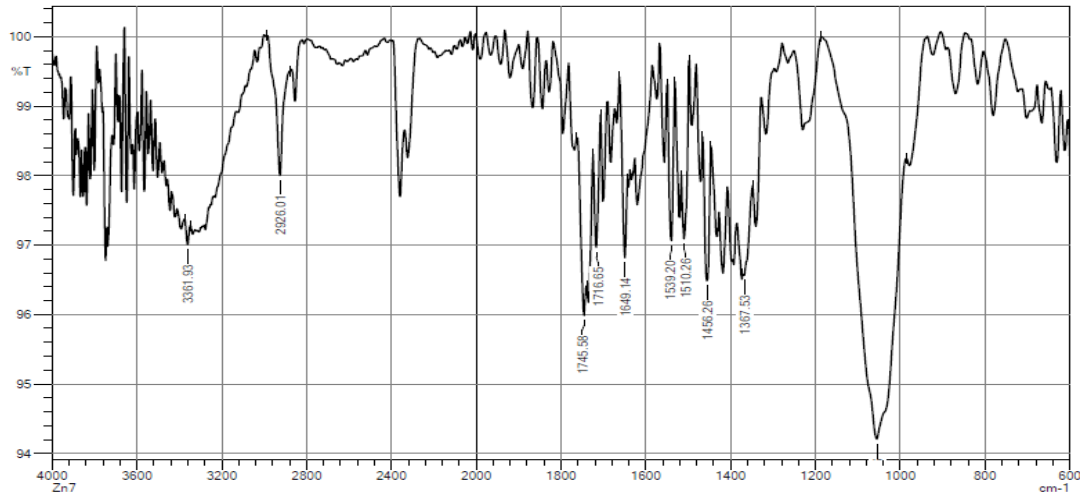
الشكل (4-76) يوضح طيف الاشعة الحمراء لراشح الفطر *A.* niger

f. راشح الفطر ***Aspergillus piperis*** كشف طيف الأشعة الحمراء عن وجود أربعة قمم ١١٠٣.٢٨ ، ١٧٤٥.٥٨ ، ٢٩٢٦.٠١ كما موضح في الشكل (٤-٧٧). تشير القمة ١١٠٣.٢٨ إلى الآصرة O-H (أحماض كاربوكسيلية) ، أما القمة ١٧٤٥.٥٨ تشير إلى الآصرة C=O (cyclopentanone) ، أما القمة ٢٩٢٦.٠١ تشير إلى الآصرة C-H(ألكان)



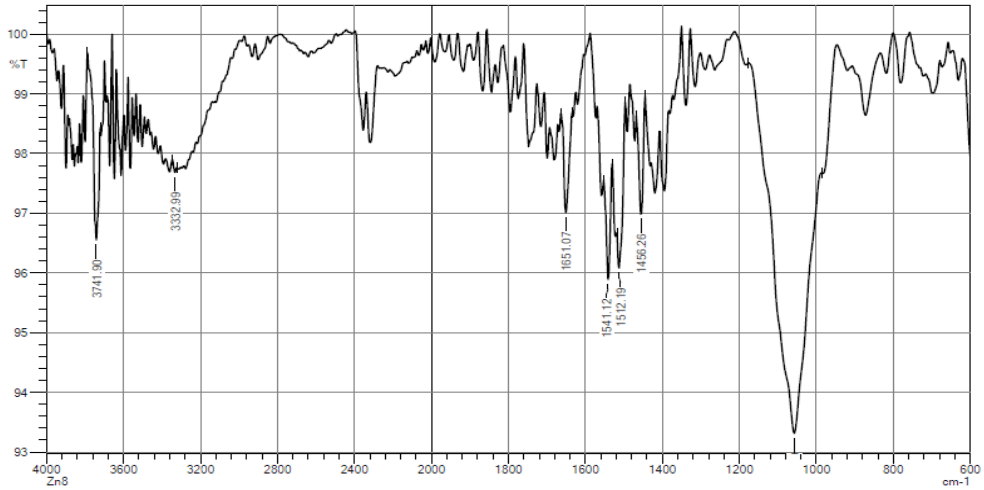
الشكل (4-77) يوضح طيف الاشعة الحمراء لراشح الفطر*Aspergillus piperis*

g. راشح الفطر ***Aspergillus brasiliensis*** كشف طيف الأشعة الحمراء عن وجود سبعة قمم ١٣٦٧.٥٣ ، ١٤٥٦.٢٦ ، ١٥٣٩.٢٠ ، ١٦٤٩.١٤ ، ١٧٤٥.٥٨ ، ٢٩٢٦.٠١ ، ٣٣٦١.٩٣ سم -١ كما موضح في الشكل (٤-٧٨) ،تشير القمة ١٣٦٧.٥٣ إلى الآصرة S=O (sulfonate) ، أما القمة ١٤٥٦.٢٦ تشير إلى الآصرة C-H (الكان) ، أما القمة ١٥٣٩.٢٠ تشير إلى الآصرة N-O (مركبات نايتروجينية) ، أما القمة ١٦٤٩.١٤ تشير إلى الآصرة C=C (ألكين) ، أما القمة ١٧٤٥.٥٨ تشير إلى الآصرة (C=O (cyclopentonane ، أما القمة ٢٩٢٦.٠١ تشير إلى الآصرة C-H (ألكان) ، أما القمة ٣٣٦١.٩٣ تشير إلى الآصرة O-H (حامض كاربوكسيلي).



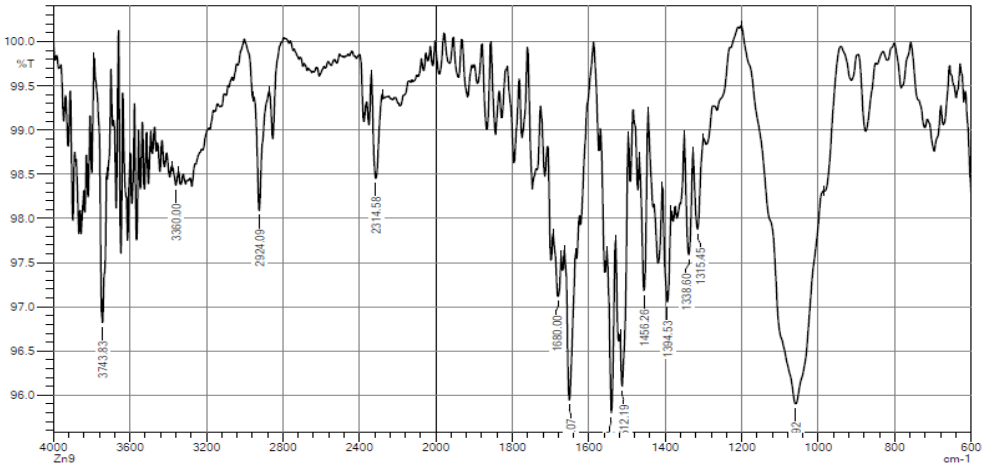
الشكل (4-78) يوضح طيف الاشعة الحمراء لراشح الفطر *A.brasiliensis*

h. راشح الفطر ***Aspergillus minisclerotigenes*** كشف طيف الأشعة الحمراء عن وجود أربعة قمم ١٤٥٦.٢٦ ، ١٥٤١.١٢ ، ١٦٥١.٠٧ ، ٣٧٤١.٩٠ سم -١ كما موضح في الشكل (٤-٧٩). تشير القمة ١٤٥٦.٢٦ إلى الآصرة C-H (ألكان) ، أما القمة ١٥٤١.١٢ تشير إلى الآصرة N-O (مركبات نايتروجينية) ، أما القمة ١٦٥١.٠٧ تشير إلى الآصرة C=C (cyclic alkene) ، أما الآصرة ٣٧٤١.٩٠ تشير إلى الآصرة O-H (كحول).



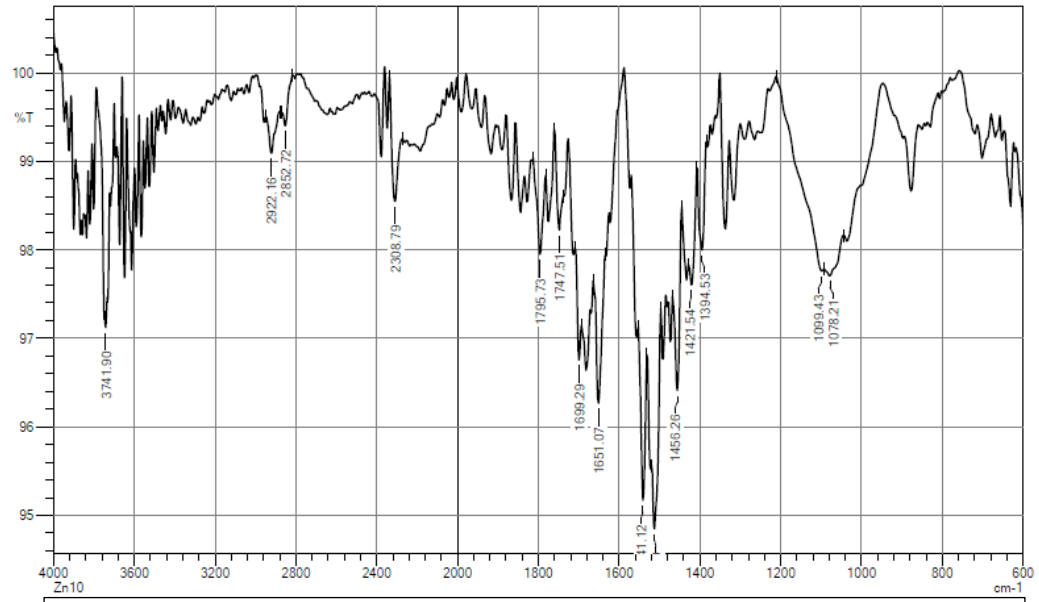
الشكل (4-79) يوضح طيف الاشعة الحمراء لراشح الفطر *Aspergillus minisclerotigenes*

i. راشح الفطر ***Aspergillus oryza*** كشف طيف الأشعة الحمراء عن وجود خمسة قمم رئيسية ١٣٩٤.٥٣، ١٤٥٦.٢٦ ، ١٦٨٠.٠٠ ، ٢٢٢٤.٠٩ ، ٣٧٤٣.٨٣ سم -١ كما موضح في الشكل (٤-٨٠). تشير القمة ١٣٩٤.٥٣ إلى الآصرة O-H (فينول) ، أما القمة ١٤٥٦.٢٦ تشير إلى الآصرة C-H (ألكان) أما القمة ١٦٨٠.٠٠ تشير إلى الآصرة C=O (&-lactam) ، أما القمة ٢٢٢٤.٠٩ تشير إلى الآصرة –C=N- (آصرة ضعيفة) nitrile ،أما القمة ٣٧٤٣.٨٣ تشير إلى الآصرة O-H (كحول).



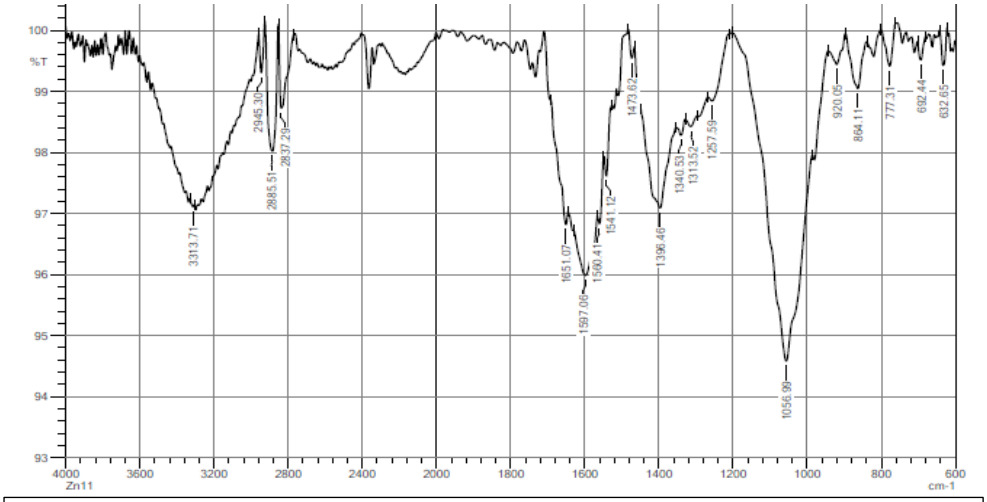
الشكل (4-80) يوضح طيف الاشعة الحمراء لراشح الفطر *Aspergillus oryza*

j. راشح الفطر ***Rhizopus americanus*** كشف طيف الأشعة الحمراء عن وجود سبعة قمم ١٠٩٩.٤٣ ، ١٣٩٤.٥٣ ، ١٤٥٦.٢٦ ، ١٦٩٩.٢٩ ، ١٧٩٥.٧٣ ، ٢٩٢٢.١٦ ، ٣٧٤١.٩٠ سم -١ كما موضح في الشكل (٤-٨١). تشير القمة ١٠٩٩.٤٣ إلى الآصرة C-O (كحول ثانوي) ،القمة ١٣٩٤.٥٣ تشير إلى الآصرة ٠-H (فينول) القمة ١٤٥٦.٢٦ تشير إلى الآصرة C-H (ألكان) أما القمة ١٦٨٠.٠٠ تشير إلى الآصرة C=O (الديهايد) ، أما القمة ١٧٩٥.٧٣ تشير إلى الآصرة C=O (هاليد) ،أما القمة ٢٩٢٢.١٦ تشير إلى الآصرة C-H (ألكان) ، أما القمة ٣٧٤١.٩٠ تشير إلى الآصرة O-H (كحول).



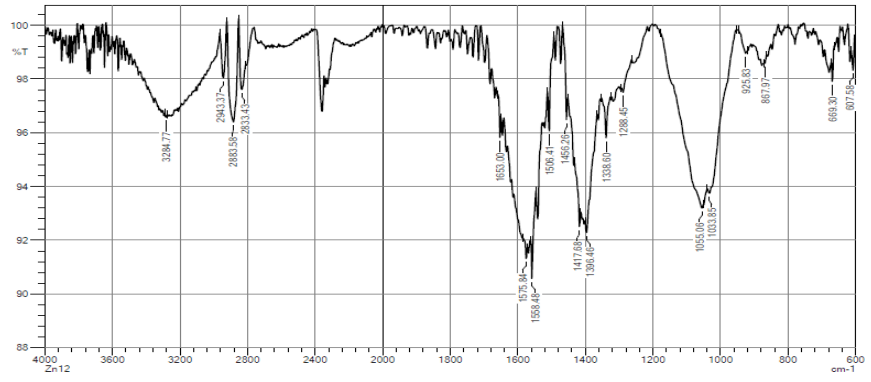
الشكل (4-81) يوضح طيف الاشعة الحمراء لراشح فطر *Rhizopus americanus*

k. راشح الفطر ***Aspergillus costaricensis*** كشف طيف الأشعة الحمراء عن وجود أحد عشر قمة ٦٩٢.٤٤ ، ٧٧٧.٣١ ، ٨٦٤.١١ ، ٩٢٠.٠٥ ، ١٠٥٦.٩٩ ، ١٢٥٧.٥٩ ، ١٣٩٦.٤٦ ، ١٤٧٣.٦٢ ، ١٥٩٧.٠٦ ، ١٦٥١.٠٧ ، ٢٩٤٥.٣٠ ، ٣٣١٣.٧١ سم -١ كما موضح في الشكل (٤-٨٢). تشير الحزم من ٦٩٢.٤٤ إلى ٩٢٠.٠٥ إلى الآصرة C=C (ألكان) ، أما القمة ١٠٥٦.٩٩ تشير إلى الآصرة C-N (أمين) ، أما القمة ١٢٥٧.٥٩ تشير إلى الآصرة C-O (أستر أروماتي) ، أما القمة ١٣٩٦.٤٦ تشير إلى الآصرة H-٠ (كحول) ، أما القمم بين ١٤٠٠ و١٥٩٧.٠٦ تشير إلى الآصرة N-O (مركب نايتروجيني) أما القمة ١٦٥١.٠٧ تشير إلى الآصرة C=C (ألكين) ، أما القمة ٢٩٤٥.٣٠ تشير إلى الآصرة N-H (ملح أميني) ، أما القمة ٣٣١٣.٧١ تشير إلى الآصرة N-H (أمين ألفاتي أولي).



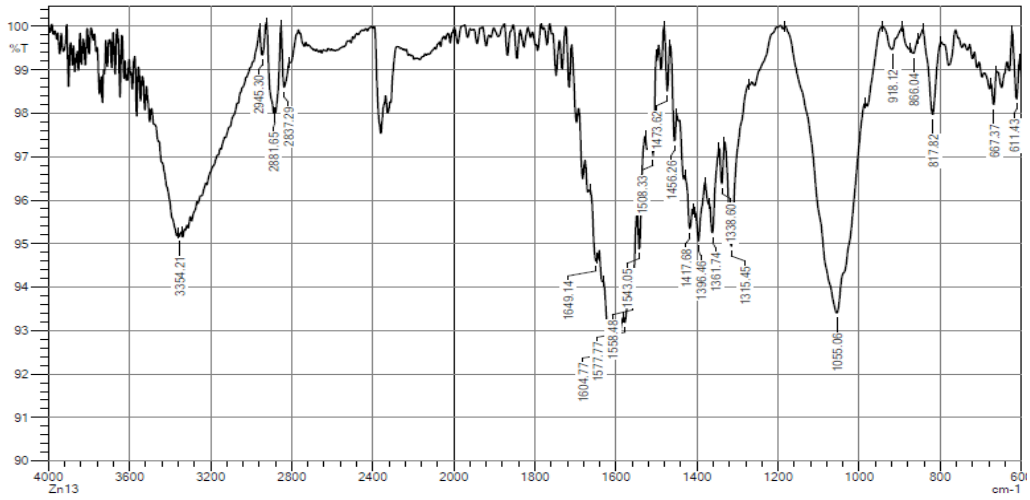
الشكل (4-82) يوضح طيف الاشعة الحمراء لراشح فطر *Aspergillus costaricensis*

l. راشح الفطر ***Aspergillus tubingensis*** كشف طيف الأشعة الحمراء عن وجود أحد عشر قمة ٦٦٩.٣٠ ، ٨٦٧.٩٧ ، ٩٢٥.٨٣ ، ١٠٥٥.٠٠ ، ١٢٨٨.٤٥ ، ١٣٩٦.٤٦ ، ١٤٥٦.٢٦ ، ١٥٧٥.٨٤ ، ١٦٥٣.٠٠ ، ٢٩٤٣.٣٧، ٣٢٨٤.٧٧ سم ـ١ كما موضح في الشكل (٤-٨٣). القمم بين ٦٠٠ إلى ١٠٥٥.٠٠ تمثل آصرة C=C (ألكانات) ، أما القمة ١٢٨٨.٤٥ تمثل الآصرة C-O (أستر) ، أما القمة ١٣٩٦.٤٦ تشير إلى الآصرة C-F (فلورايد) ، أما القمة ١٤٥٦.٢٦ تشير إلى الآصرة C=O (الديهايد) ، أما القمة ١٥٧٥.٨٤ تشير إلى الآصرة C=O (هاليد) ، أما القمة ١٦٥٣.٠٠ تشير إلى الآصرة C-H (مركب أروماتي ضعيف) ، أما القمة ٢٩٤٣.٣٧ تشير إلى الآصرة C-H (الديهايد) ، أما القمة ٣٢٨٤.٧٧ تشير إلى الآصرة O-H (كحول).



الشكل (4-83) يوضح طيف الاشعة الحمراء لراشح فطر *Aspergillus tubingensis*

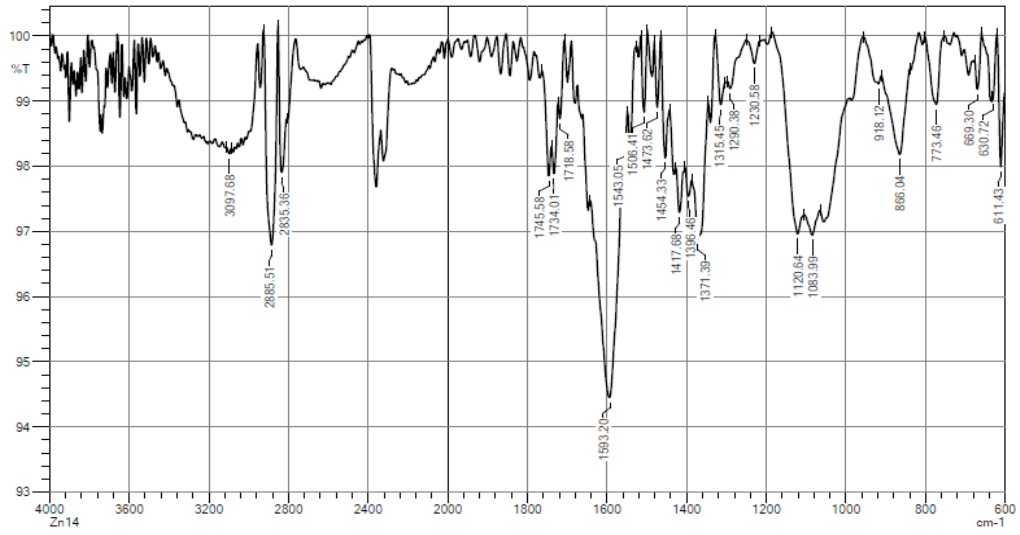
m. راشح الفطر ***Microsporum canis*** - كشف طيف الأشعة الحمراء عن وجود عشرة قمم ٦٦٧.٣٧ ، ٨٦٦.٠٤ ، ٩١٨.١٢ ، ١٠٥٥.٠٦ ، ١٣٩٦.٦٢ ، ١٤٧٣.٦٢ ، ١٥٧٧.٧٧ ، ١٦٤٩.١٤ ، ٢٩٤٥.٣٠ ، ٣٣٥٤.٢١ سم -١ كما موضح في الشكل (٤-٨٤) القمم بين ٦٠٠ إلى ١٠٥٥.٠٠ تمثل آصرة C=C (ألكانات) ، أما القمة ١٣٩٦.٤٦ تشير إلى الآصرة C-F (فلورايد) ، أما القمة ١٤٧٣.٦٢ تشير إلى الآصرة C-O (أستر) ، أما القمة ١٥٧٧.٧٧ تشير إلى الآصرة (C=C (cyclic alkyne ، أما القمة ١٦٤٩.١٤ تشير إلى الآصرة C=C (ألكين) ، أما القمة ٢٩٤٥.٣٠ تشير إلى الآصرة C-H (ألكان) ، أما القمة ٣٣٥٤.٢١ تشير إلى الآصرة O-H (كحول).



الشكل (4-84) يوضح طيف الاشعة الحمراء لراشح فطر *Microsporum canis*

n. راشح الفطر ***Epidermophyton floccosum*** - كشف طيف الأشعة الحمراء عن وجود ثلاثة عشر قمة ٦٦٩.٣٠ ، ٧٧٣.٤٦ ، ٨٦٨.٠٤ ، ٩١٨.١٢ ، ١١٢٠.٦٤ ، ١٢٩٠.٣٨ ، ١٣١٥.٤٥ ، ١٤٧٣.٦٢ ، ١٥٤٣.٠٥ ، ١٧٤٥.٥٨ ، ٢٨٨٥.٥١ ، ٣٠٩٧.٦٨ سم -١ كما موضح في الشكل (٤-٨٥). القمم بين ٦٠٠ إلى ١٠٥٥.٠٠ تمثل آصرة C=C (ألكانات) ، أما القمة ١١٢٠.٦٤ تشير إلى الآصرة C-O (أستر) ، أما القمة ١٢٩٠.٣٨ تشير إلى الآصرة N-O (مركب نايتروجيني) ، أما القمة ١٣١٥.٤٥ تشير إلى الآصرة C-N (أستر أروماتي) ، أما القمة ١٤٧٣.٦٢ تشير إلى الآصرة C-O (إيثر ألفاتي) ، أما القمة ١٥٤٣.٠٥ تشير إلى الآصرة C-H (ألكان) أما القمة ١٧٤٥.٥٨ تشير إلى

الآصرة C=O (كيتون ألفاتي) أما القمة ٢٨٨٥.٥١ تشير إلى الآصرة C-H (الديهايد) ، أما القمة ٣٠٩٧.٦٨ تشير إلى الآصرة H-٠ (كحول ضعيف).



الشكل (4-85) يوضح طيف الاشعة الحمراء لراشح فطر *Epidermophyton floccosum*-

٣.٤ :تأثير تراكيز مختلفة من رواشح الفطريات بالزنك النانوي في معدل قطر (سم) *Rhizopus stolonifer*

أوضحت النتائج في الجدول (٤-٥) والشكل (٤- ٨٦) بوجود فروقات معنوية عند مستوى أحتمالية ٠.٠٥ لنوع مستخلص الفطر وتركيزه والتداخلات الثنائية في معدل قطر مستعمرة الفطر *Rhizopus stolonifer*. إذ أظهرت النتائج تذبذب في تاثير الرواشح ولكن بصورة عامة جميع الرواشح الفطرية ثبطت نمو الفطر *Rhizopus* أما تركيزالراشح الفطري فقد أظهر التركيز ٢٥% تفوقا على التراكيز ٥٠% ، ٧٥% ، ١٠٠% في تاثيره التثبيطي في نمو الفطر *Rhizopus* وبفروقات معنوية عند مستوى ٠.٠٥ إذ أعطى معدل نمو الفطر ٠.٧ سم وبنسبة تثبيطية ٩١% مقارنة ببقية التراكيز٥٠% ،٧٥% ، ١٠٠ % التي أعطت معدل نمو للفطر ١.٣١٠، ١.٨٥٧ ، ١.٨٣٣سم على التوالي وبنسب تثبيطية مقدارها ٨٤% ، ٧٧%، ٧٧% .أما معاملة السيطرة فقد أعطت معدل نمو قطري للفطر ٨.٠ سم .

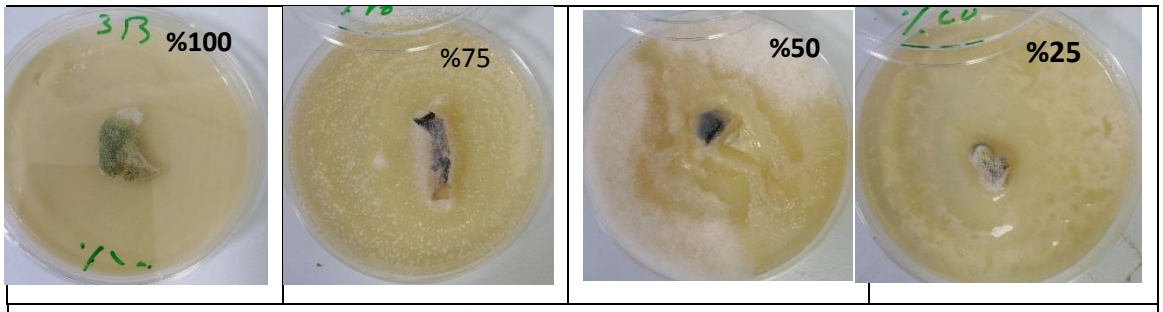
أما فيما يخص نوع الراشح الفطري وتركيزه أظهر *A.flavus*تفوقا على بقية الرواشح في تأثيره على نمو الفطر *Rhizopus* فقد أعطى اقل معدل نمو للفطر وهو ١.٦٠٠ سم وبنسبة تثبيط ٨٠ % إذ بلغ معدل نمو المستعمرة للفطر ٠ سم عند التراكيز ٢٥ % و ٥٠ % ٧٥ % و ١٠٠%،وراشح الفطر *A.oryzya* أعطى معدل نمو ١.٨٠٠سم وبنسبة تثبيطية ٧٨% إذ بلغ معدل نمو المستعمرة للفطر ٠

سم عند التراكيز ٢٥% و ٥٠ % و ١٠٠ %في حين التركيز ٧٥ % أعطى معدل نمو ١ سم يأتي بالمرتبة الثالثة راشح الفطر *T.rubrum* بين الرواشح في تاثيراته التثبيطية إذ أعطت معدل نمو ٢ سم وبنسبة تثبيطية ٧٥ % إذ بلغ معدل نمو المستعمرة للفطر ٠ سم عند التراكيز ٢٥ %، ٥٠% ، ١٠٠ %أما التركيز ٧٥% فقد بلغ معدل النمو ٢. سم . أما راشح الفطر *welwitschiae Aspergillus* أعطى معدل نمو ٢.٠٦٧ سم وبنسبة تثبيط ٧٤% فقد بلغ معدل نمو مستعمرة الفطر ٠ سم عند التركيز ٥٠% ،و ١٠٠ % في حين التركيز٢٥% و ٧٥ % أعطى معدل نمو للفطر ١ سم و ١.٣٣٣ سم على التوالي، أما الفطر *M.canis* فقد أعطى معدل نمو ٢.٢٠٠سم وبنسبة تثبيطية ٨٤ % فقد بلغ معدل قطر المستعمرة للفطر ٠ سم عند التركيز ٥٠ % و ١٠٠ % في حين أن التراكيز ٢٥ % و ٧٥ % أعطت معدل نمو للفطر ٢ سم و ١ سم على التوالي ،وكذلك راشح الفطر *A.niger* أعطى معدل نمو ٢.٥٣٣ سم وبنسبة تثبيطية ٦٨% إذ بلغ معدل نمو المستعمرة للفطر ٠ سم عند التركيز ١٠٠% أما التراكيز ٢٥% ، ٥٠% ، ٧٥ % فقد بلغ معدل النمو ١ ، ٢.٦٦٧ ، ١ سم على التوالي. وراشح الفطر *Epidermophyton floccosum* فأن معدل قطر المستعمرة للفطر ٢.٦٠٠ سم وبنسبة تثبيط ٦٨ % إذ بلغ معدل قطر المستعمرة ٠ سم عند التركيز ٢٥ % في حين أن التراكيز ٥٠ % و ٧٥ % و ١٠٠ % أعطت معدل معدل نمو للمستعمرة ١ و ٢.٣٣٣ و١.سم على التوالي . أما راشح الفطر *A.minisclerotigene* الذي أعطى معدل نمو ٢.٧٣٣ سم وبنسبة تثبيطية ٦٦% إذ بلغ معدل قطر المستعمرة ٠ سم عند التركيز ٢٥% في حين يبلغ معدل قطر المستعمرة عند التراكيز ٥٠ % و٥٠ % و ١٠٠ % بلغ ٠.٣٣٣ و ٢.٣٣٣ سم و ٣ سم على التوالي، وراشح الفطر *A.tubigensis* إذ أعطى معدل نمو ٢.٨٠٠ سم وبنسبة تثبيط ٦٥% بلغ معدل قطر المستعمرة للفطر ٠ سم عند التركيز ٢٥ % في حين بلغ معدل قطر المستعمرة عند التراكيز ٥٠% و ٧٥% و ١٠٠% ٢.٦٦٧ سم و ١ سم و٢.٣٣٣ سم على التوالي ، وراشح الفطر *R.americanus* أعطى معدل نمو ٢.٨٠٠ سم وبنسبة تثبيطية ٦٥% فبلغ معدل قطر مستعمرة الفطر ٠ سم عند التركيز ١٠٠ % أما التراكيز٢٥ % ٥٠ % و ٧٥ % فبلغ معدل قطر المستعمرة ٢.٣٣٣ سم و ٢.٣٣٣ سم و ١.٣٣٣سم على التوالي . أما راشح الفطر *A.costaricensis* أعطى معدل نمو ٣.٤٠٠ سم وبنسبة تثبيطية ٥٨% فقد بلغ معدل نمو المستعمرة للفطر ٠ سم عند التركيز٥٠ % أما التراكيز٢٥ % ٧٥% و ١٠٠ % فقد بلغ معدل نمو الفطر١.٣٣٣ سم و ١ سم و ٦.٦٦٧ سم على التوالي . أما راشح الفطر *M.gypseum* أعطى معدل نمو ٣.٧٣٣ سم وبنسبة تثبيطية ٥٣% إذ بلغ معدل قطر المستعمرة ٠ سم عند التركيز ٢٥% ٥٠ % أما التراكيز ٧٥% ، ١٠٠ % ،بلغ قطر المستعمرة ٥.٦٦٧ ، ٥ سم على التوالي . أما راشح الفطر*A.brasiliensis* أعطى معدل نمو ٣.٨٠٠سم وبنسبة تثبيطية ٥٣% إذ بلغ معدل قطر المستعمرة ٤,١,٥,١ سم عند التراكيز

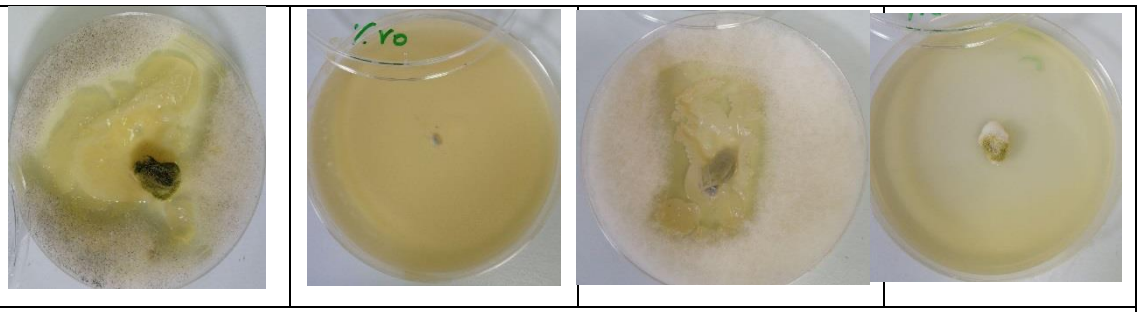
٢٥%،٥٠%،٧٥%،١٠٠% على التوالي .أما راشح الفطر*A.piperis* أعطى معدل نمو ٤.٤٠٠ سم وبنسبة تثبيطية ٤٥% فبلغ أقل معدل نمو للفطر ١ سم عند التركيز ٢٥ % أما التراكيز ٥٠ % و ٧٥ % ١٠٠ % فبلغ قطرالمستعمرة ٤.٣٣٣، ٥ ، ٣.٦٦٧ سم على التوالي .

الجدول (٤-٥) : تاثير تراكيز مختلفة من رواشح الفطريات بالزنك النانوي في معدل قطر (سم) والنسبة المئوية لتثبيط الفطر *Rhizopus stolonifer* بدرجة حرارة حرارة ٢٨ ْ م لمدة خمسة أيام .

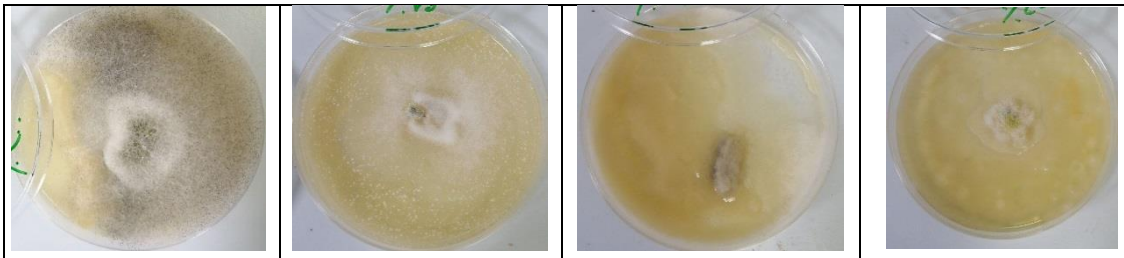
التركيز / نوع الفطر	٠		٢٥		٥٠		٧٥		١٠٠		المعدل	
	قطر المستعمرة (سم)	النسبة المئوية للتثبيط	قطر المستعمرة (سم)	النسبة المئوية للتثبيط	قطر المستعمرة (سم)	النسبة المئوية للتثبيط	قطر المستعمرة (سم)	النسبة المئوية للتثبيط	قطر المستعمرة (سم)	النسبة المئوية للتثبيط	قطر المستعمرة (سم)	النسبة المئوية للتثبيط
Rhizopus americanus	٨.٠٠٠	٠.٠	٢.٣٣٣	٧١	٢.٣٣٣	٧١	١.٣٣٣	٨٣	٠.٠٠٠	١٠٠	٢.٨٠٠	٦٥
A.brasiliensis	٨.٠٠٠	٠.٠	١.٠٠٠	٨٨	٥.٠٠٠	٣٨	١.٠٠٠	٨٨	٤.٠٠٠	٥٠	٣.٨٠٠	٥٣
A.costaricensis	٨.٠٠٠	٠.٠	١.٣٣٣	٨٣	٠.٠٠٠	١٠٠	١.٠٠٠	٨٨	٦.٦٦٧	١٧	٣.٤٠٠	٥٨
Aspergillus flavus	٨.٠٠٠	٠.٠	٠.٠٠٠	١٠٠	٠.٠٠٠	١٠٠	٠.٠٠٠	١٠٠	٠.٠٠٠	١٠٠	١.٦٠٠	٨٠
A. minisclerotigenes	٨.٠٠٠	٠.٠	٠.٠٠٠	١٠٠	٠.٣٣٣	٩٦	٢.٣٣٣	٧١	٣.٠٠٠	٦٣	٢.٧٣٣	٦٦
Aspergillus niger	٨.٠٠٠	٠.٠	١.٠٠٠	٨٨	٢.٦٦٧	٦٧	١.٠٠٠	٨٨	٠.٠٠٠	١٠٠	٢.٥٣٣	٦٨
Aspergillus oryzae	٨.٠٠٠	٠.٠	٠.٠٠٠	١٠٠	٠.٠٠٠	١٠٠	١.٠٠٠	٨٨	٠.٠٠٠	١٠٠	١.٨٠٠	٧٨
Aspergillus piperis	٨.٠٠٠	٠.٠	١.٠٠٠	٨٨	٤.٣٣٣	٤٦	٥.٠٠٠	٣٨	٣.٦٦٧	٥٤	٤.٤٠٠	٤٥
Aspergillus tubigensis	٨.٠٠٠	٠.٠	٠.٠٠٠	١٠٠	٢.٦٦٧	٦٧	١.٠٠٠	٨٨	٢.٣٣٣	٧١	٢.٨٠٠	٦٥
A.welwitschiae	٨.٠٠٠	٠.٠	١.٠٠٠	٨٨	٠.٠٠٠	١٠٠	١.٣٣٣	٨٣	٠.٠٠٠	١٠٠	٢.٠٦٧	٧٤
Trichophyton rubrum	٨.٠٠٠	٠.٠	٠.٠٠٠	١٠٠	٠.٠٠٠	١٠٠	٢.٠٠٠	٧٥	٠.٠٠٠	١٠٠	٢.٠٠٠	٧٥
Microsporum canis	٨.٠٠٠	٠.٠	٢.٠٠٠	٧٥	٠.٠٠٠	١٠٠	١.٠٠٠	٨٨	٠.٠٠٠	١٠٠	٢.٢٠٠	٧٣
Epidermophyton floccosum	٨.٠٠٠	٠.٠	٠.٦٧٧	٩٢	١.٠٠٠	٨٨	٢.٣٣٣	٧١	١.٠٠٠	٨٨	٢.٦٠٠	٦٨
Microsporum gypseum	٨.٠٠٠	٠.٠	٠.٠٠٠	١٠٠	٠.٠٠٠	١٠٠	٥.٦٦٧	٢٩	٥.٠٠٠	٣٨	٣.٧٣٣	٥٣
معدل تاثير التركيز	٨.٠٠٠	٠.٠	٠.٧٣٨	٩١	١.٣١٠	٨٤	١.٨٥٧	٧٧	١.٨٣٣	٧٧		
L.S.D.٠.٠٥	للفطر : ٠.٤٥١١			للتركيز : ٠.٢٦٩٦			التداخل الثنائي : ١.٠٠٨٧					



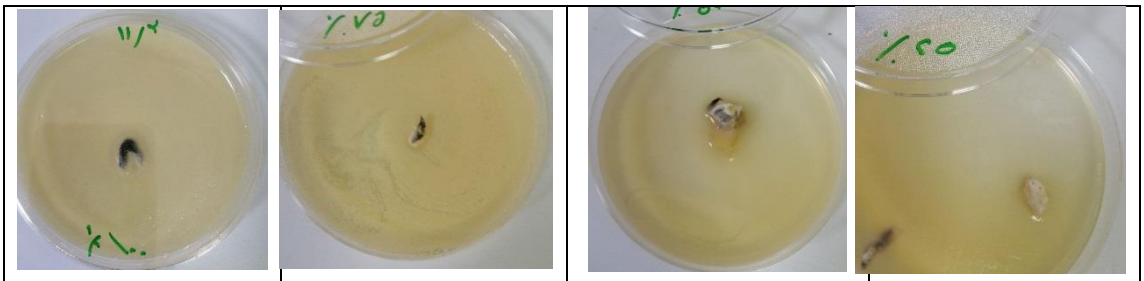
Rhizopus americanus



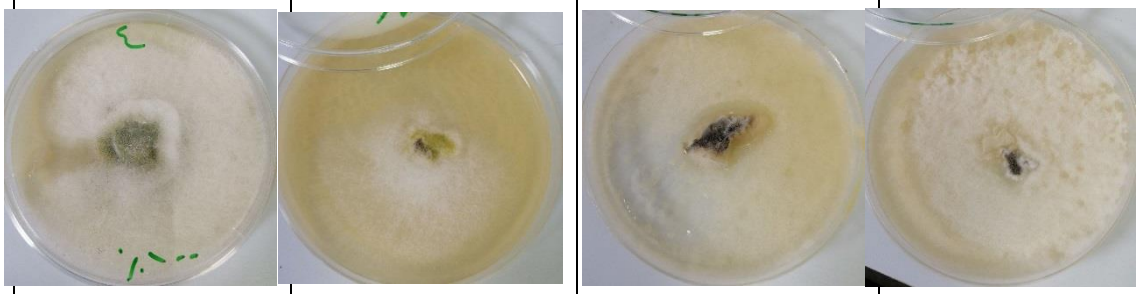
Aspergillus brasiliensis

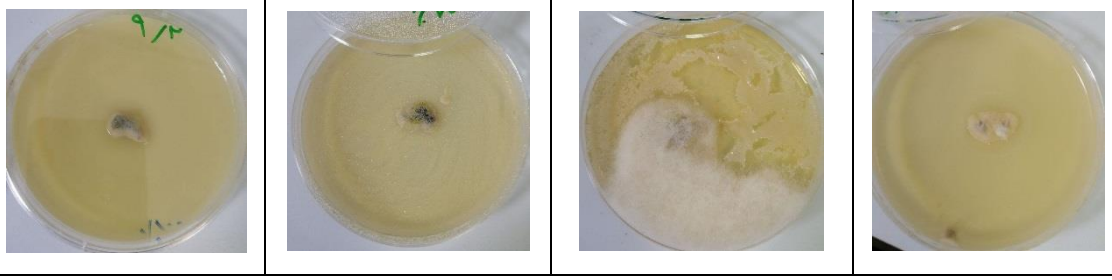


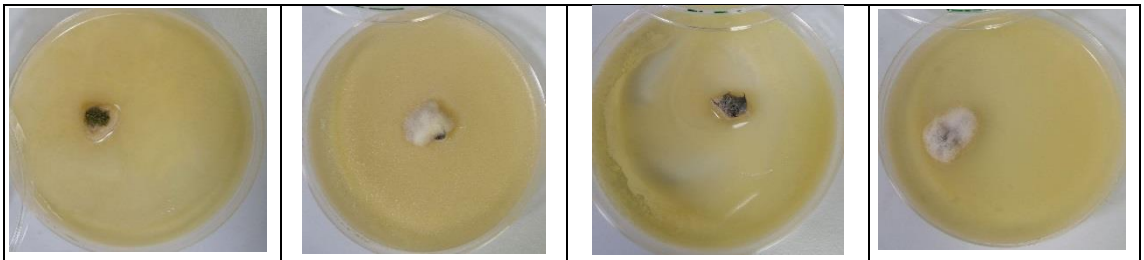
Aspergillus costaricensis

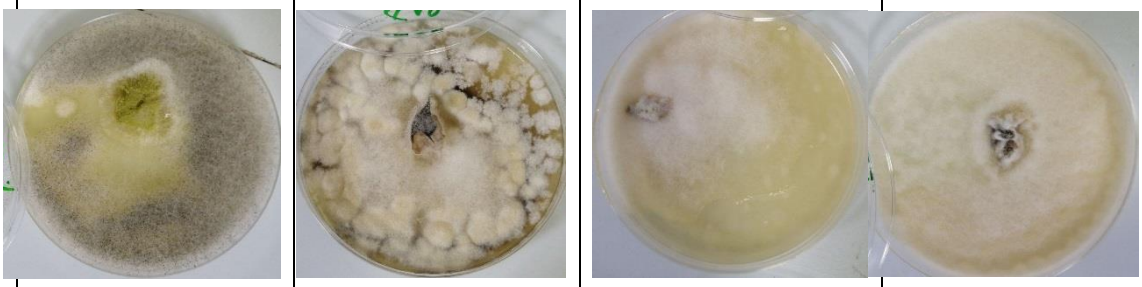


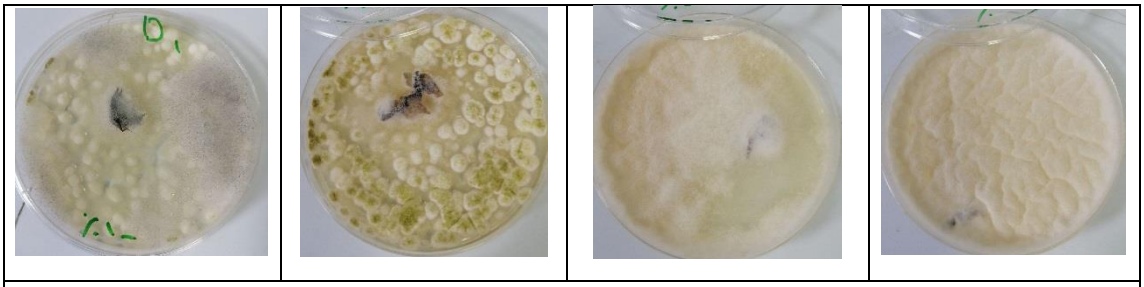
Aspergillus flavus

١٠٠٪	٧٥٪	٥٠٪	٢٥٪
			
Aspergillus minisclerotigenes			

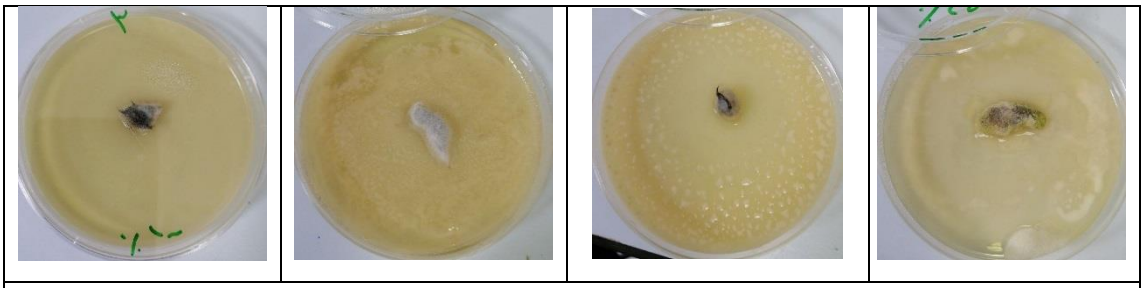
١٠٠٪	٧٥٪	٥٠٪	٢٥٪
			
Aspergillus niger			

			
Aspergillus oryzae			

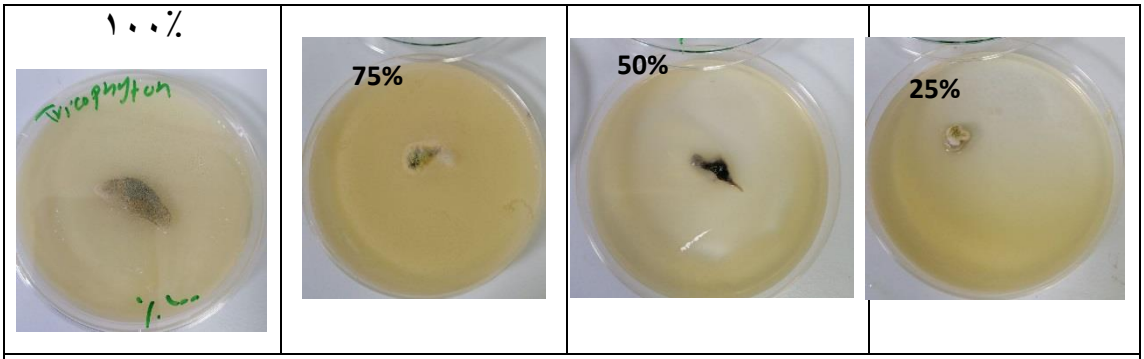
١٠٠٪	٧٥٪	٥٠٪	٢٥٪
			
Aspergillus piperis			



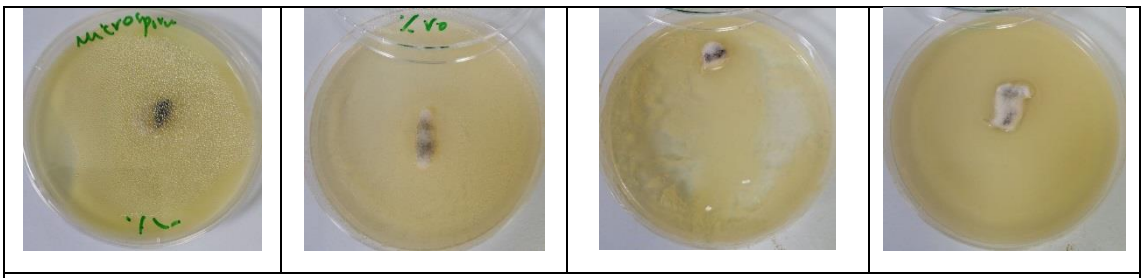
Aspergillus tubingensis



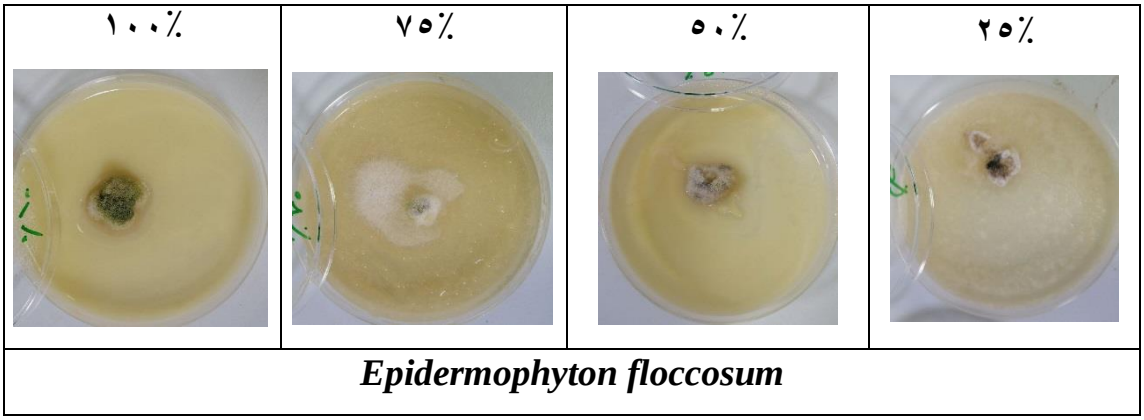
Aspergillus welwitschia



Trichophyton rubrum



Microsporum canis



الشكل (٤-٨٦) تأثير تراكيز مختلفة من رواشح الفطريات بالزنك النانوي في معدل قطر (سم) في نمو *Rhizopus stolonifer* درجة حرارة ٢٨ درجة مئوية لمدة خمسة أيام .

٤-٦ :تأثير تراكيز مختلفة من رواشح الفطريات بالفضة النانوية في معدل قطر (سم) *Rhizopus stolonifer*

أظهرت النتائج في الجدول(٤-٦) المدرج أدناه هناك فروقات معنوية عند مستوى أحتمالية ٠.٠٥ لنوع راشح الفطر وتركيزه ،أظهرت النتائج تذبذب تأثير الرواشح لكن بصورة عامة جميعها ثبطت نمو الفطر *R. stolonifer* إذ أن تركيز الراشح الفطري النانوي أظهر التركيز ٥٠% تفوقا على التراكيز ١٠٠، ٧٥%، ٢٥ % في تأثيره التثبيطي على نمو *Rhizopus* وبفروقات معنوية عند مستوى أحتمالية ٠.٠٥ إذ أعطى معدل نمو الفطر ٢.٤٠٥ سم وبنسبة تثبيطية ٧٠% مقارنة ببقية التراكيز التي أعطت معدل نمو٨ ،٢.٧١٤، ٥ سم على التوالي وبنسب تثبيط صفر ،٦٦ ،٣٨% على التوالي مقارنة بمعاملة السيطرة فقد أعطت معدل نمو قطري ٨.٠ سم

وأظهر نوع الراشح الفطري للفطر *Microsporum gypsum* تفوقا على بقية الرواشح في تأثيره على نمو الفطر *Rhizopus* فقد أعطى أقل معدل نمو للفطر وهو ٣.٧٣٣سم وبنسبة تثبيط ٥٣% إذ بلغ معدل نمو المستعمرة صفر عند التركيز ٧٥% وبنسبة تثبيط ١٠٠% و٠.٦٦٧ سم عند التركيز

١٠٠ % و ٨ سم عند التركيز ٢٥% وبنسب تثبيطية ٩٢% و صفر على التوالي و يليه بالمرتبة الثانية راشح الفطر النانوي *Epidermophyton floccosum* إذ أعطى معدل نمو ٤.٤٠٠ سم وبنسبة تثبيط٤٥ % بلغ معدل قطر المستعمرة صفر عند التركيز ١٠٠% وبنسبة ١٠٠% ،وكانت معدلات النمو لباقي التراكيز٤ ،٢ ،٨ سم عند التراكيز ٧٥% ،٥٠% ،٢٥% على التوالي وبنسب تثبيط ٥٠% ،٧٥%، صفر على التوالي ، يليه بالمرتبة الثالثة راشح الفطر *Trichophyton rubrum* إذ أعطى معدل نمو ٤.٦٠٠سم وبنسبة تثبيط ٤٣% وكان معدلات نمو المستعمرات ١، ٥، ١، ٨ سم عند التراكيز ١٠٠% ،٧٥% ،٥٠% ،٢٥% على التوالي وبنسب تثبيط ٨٨% ،٣٨% ، ٨٨ %،صفر على التوالي ، يليه بالمرتبة الرابعة راشح الفطر *Aspergillus piperis* إذ أعطى معدل نمو ٤.٨٠٠ سم وبنسبة تثبيط ٤٠% وكان معدلات نمو المستعمرات ٨، ٣ ،٢ ،٣ سم للتراكيز ٢٥% ،٥٠% ،٧٥% ،١٠٠% على التوالي وبنسب تثبيط صفر ،٦٣% ،٧٥% ،٦٣% على التوالي ،يلي ذلك الراشح الفطري *Aspergillus minisclerotigenes* إذ أعطى معدل نمو ٤.٩٣٣ سم وبنسبة تثبيط ٣٨% وكان معدل نمو المستعمرات ٨ ،٣ ،٤ ،١.٦٦٧ سم للتراكيز ٢٥% ،٥٠% ،٧٥% ،١٠٠ % على التوالي وبنسب تثبيط صفر ٦٣ % ،٥٠% ،٧٩% على التوالي .

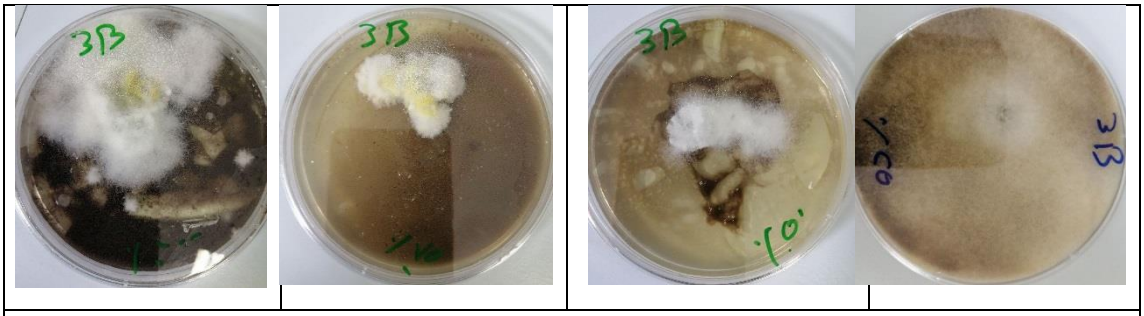
وأعطى الراشح الفطري *Rhizopus americanus* معدل نمو ٥.٠٦٧سم وبنسبة تثبيط ٣٧% وكان معدلات نمو المستعمرات ٨ ،٢ ،٣ ،٤.٣٣٣ سم للتراكيز ٢٥% ،٥٠% ،٧٥% ،١٠٠ %على التوالي وبنسب تثبيط بلغت صفر ،٧٥ % ،٦٣ % ،٤٦ % على التوالي ، الراشح الفطري *Microsporum canis* أعطى معدل نمو ٥.٤٠٠ سم وبنسبة تثبيط ٣٣% وكان معدل نمو المستعمرات ٨ ،٢ ،١ ،٨ سم للتراكيز ٢٥% ،٥٠% ،٧٥% ،١٠٠% على التوالي وبنسب تثبيط صفر ،٧٥% ،٨٨% ،صفر على التوالي ،والراشح الفطري *Aspergillus welwitschiae* أعطى معدل نمو ٥.٦٠٠ سم وبنسبة تثبيط ٣٠% وكان معدل نمو المستعمرات ٨ ،٢ ،٢ ،٨ سم للتراكيز ٢٥% ،٥٠% ،٧٥% ،١٠٠% على التوالي وبنسب تثبيط صفر ،٧٥% ،٧٥% ،صفر على التوالي ،وأن الراشح الفطري *Aspergillus niger* كانت النتيجة مشابهة للفطر *Aspergillus welwitschiae* إذ بلغ معدل النمو ٥.٦٠٠ سم وكانت نسبة التثبيط ٣٠ % وكان معدل نمو المستعمرات ٨ ،٣ ،١ ،٨ سم للتراكيز ٢٥% ،٥٠% ،٧٥% ،١٠٠% على التوالي وبنسب تثبيط صفر ٦٣% ،٨٨% ،صفر والراشح الفطري *Aspergillus flavus* كان معدل النمو للمستعمرة ٥.٦٦٧ سم وبنسبة تثبيط ٢٩% وكان معدل نمو المستعمرات ٨ ،٢ ،٢ ،٨ سم للتراكيز ٢٥% ،٥٠%،٧٥% ،١٠٠% على التوالي وبنسب تثبيط صفر ،٧٥% ،٧١% ،صفر ،كانت نتيجة الراشح الفطري *Aspergillus costaricensis* معدل نمو المستعمرة ٥.٧٣٣ سم وبنسبة تثبيط ٢٨% وكان معدل نمو المستعمرات ٨ ،٢.٦٦٧ ،٢ ،٨ سم للتراكيز ٢٥% ،٥٠% ،٧٥% ،١٠٠% على التوالي

وبنسب تثبيط صفر ،٦٧% ،٧٥% ،صفر ونتيجة الراشح الفطري *Aspergillus oryzae* مشابهة للفطر *Aspergillus costaricensis* أذ كان معدل النمو ٥.٧٣٣ سم وبنسبة تثبيط ٢٨% وكان معدل نمو المستعمرات٨ ،٥ ،٤.٣٣٣ ، ٣.٣٣٣ سم للتراكيز ٢٥% ،٥٠% ،٧٥% ،١٠٠% على التوالي وبنسب تثبيط صفر ، ٣٨% ،٤٦% ،٥٨%، والراشح الفطري *A.brasiliensis* أعطى معدل نمو ٥.٨٦٧ سم وبنسبة تثبيط ٢٧% وكان معدل نمو المستعمرات ٨ ،١ ،٤.٣٣٣ ،٨ سم للتراكيز ٢٥% ،٥٠% ،٧٥% ،١٠٠% على التوالي وبنسب تثبيط صفر ،٨٨% ،٤٦% ،صفر ،والراشح الفطري *Aspergillus tubigensis* كان معدل النمو ٦.٠٠٠ سم وبنسبة تثبيط ٢٥% وكان معدل نمو المستعمرات ٨ ،٣ ،٣ ،٨ سم للتراكيز ٢٥% ،٥٠% ،٧٥% ،١٠٠% على التوالي وبنسب تثبيط صفر ،٦٣% ،٦٣% ،صفر .

الجدول (٤-٦) : تأثير تراكيز مختلفة من رواشح الفطريات بالفضة النانوية في معدل قطر (سم) والنسبة المئوية لتثبيط الفطر *Rhizopus stolonifer* بدرجة حرارة ٢٨ ° م لمدة خمسة أيام .

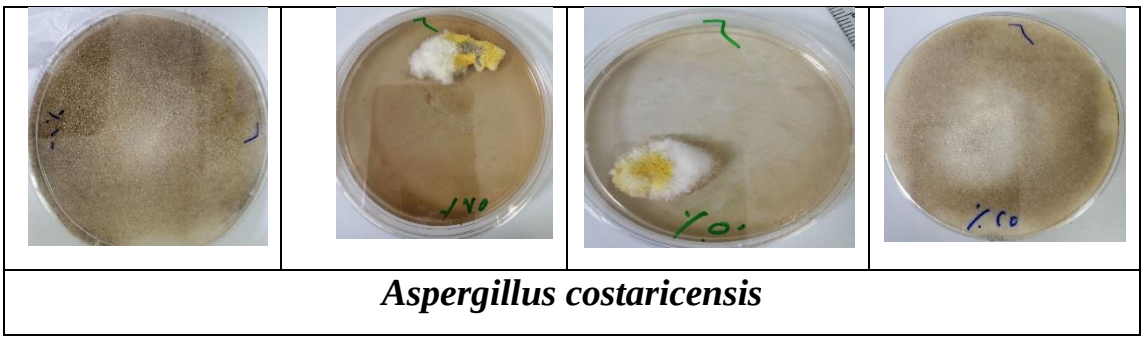
التركيز / نوع الفطر	٠		٢٥		٥٠		٧٥		١٠٠		المعدل	
	قطر المستعمرة (سم)	النسبة المئوية للتثبيط	قطر المستعمرة (سم)	النسبة المئوية للتثبيط	قطر المستعمرة (سم)	النسبة المئوية للتثبيط	قطر المستعمرة (سم)	النسبة المئوية للتثبيط	قطر المستعمرة (سم)	النسبة المئوية للتثبيط	قطر المستعمرة (سم)	النسبة المئوية للتثبيط
Rhizopus americanus	٨.٠٠٠	٠.٠	٨.٠٠٠	٠.٠	٢.٠٠٠	٧٥	٣.٠٠٠	٦٣	٤.٣٣٣	٤٦	٥.٠٦٧	٣٧
A.brasiliensis	٨.٠٠٠	٠.٠	٨.٠٠٠	٠.٠	١.٠٠٠	٨٨	٤.٣٣٣	٤٦	٨.٠٠٠	٠	٥.٨٦٧	٢٧
A.costaricensis	٨.٠٠٠	٠.٠	٨.٠٠٠	٠.٠	٢.٦٦٧	٦٧	٢.٠٠٠	٧٥	٨.٠٠٠	٠	٥.٧٣٣	٢٨
Aspergillus flavus	٨.٠٠٠	٠.٠	٨.٠٠٠	٠.٠	٢.٠٠٠	٧٥	٢.٣٣٣	٧١	٨.٠٠٠	٠	٥.٦٦٧	٢٩
A. minisclerotigenes	٨.٠٠٠	٠.٠	٨.٠٠٠	٠.٠	٣.٠٠٠	٦٣	٤.٠٠٠	٥٠	١.٦٦٧	٧٩	٤.٩٣٣	٣٨
Aspergillus niger	٨.٠٠٠	٠.٠	٨.٠٠٠	٠.٠	٣.٠٠٠	٦٣	١.٠٠٠	٨٨	٨.٠٠٠	٠	٥.٦٠٠	٣٠
Aspergillus oryzae	٨.٠٠٠	٠.٠	٨.٠٠٠	٠.٠	٥.٠٠٠	٣٨	٤.٣٣٣	٤٦	٣.٣٣٣	٥٨	٥.٧٣٣	٢٨
Aspergillus piperis	٨.٠٠٠	٠.٠	٨.٠٠٠	٠.٠	٣.٠٠٠	٦٣	٢.٠٠٠	٧٥	٣.٠٠٠	٦٣	٤.٨٠٠	٤٠
Aspergillus tubigensis	٨.٠٠٠	٠.٠	٨.٠٠٠	٠.٠	٣.٠٠٠	٦٣	٣.٠٠٠	٦٣	٨.٠٠٠	٠	٦.٠٠٠	٢٥
A.welwitschiae	٨.٠٠٠	٠.٠	٨.٠٠٠	٠.٠	٢.٠٠٠	٧٥	٢.٠٠٠	٧٥	٨.٠٠٠	٠	٥.٦٠٠	٣٠
Trichophyton rubrum	٨.٠٠٠	٠.٠	٨.٠٠٠	٠.٠	١.٠٠٠	٨٨	٥.٠٠٠	٣٨	١.٠٠٠	٨٨	٤.٦٠٠	٤٣
Microsporum	٨.٠٠٠	٠.٠	٨.٠٠٠	٠.٠	٢.٠٠٠	٧٥	١.٠٠٠	٨٨	٨.٠٠٠	٠	٥.٤٠٠	٣٣

canis												
Epidermophyton floccosum	٨.٠٠٠	٠.٠	٨.٠٠٠	٠.٠	٢.٠٠٠	٧٥	٤.٠٠٠	٥٠	٠.٠٠٠	١٠٠	٤.٤٠٠	٤٥
Microsporum gypseum	٨.٠٠٠	٠.٠	٨.٠٠٠	٠.٠	٢.٠٠٠	٧٥	٠.٠٠٠	١٠٠	٠.٦٦٧	٩٢	٣.٧٣٣	٥٣
معدل تاثير التركيز	٨.٠٠٠	٠.٠	٨.٠٠٠	٠.٠	٢.٤٠٥	٧٠	٢.٧١٤	٦٦	٥.٠٠٠	٣٨		٤٣
L.S.D.٠.٠٥ للفطر : ٠.٣٤١٥ للتركيز : ٠.٢٠٤١ التداخل الثنائي : ٠.٧٦٣٧												

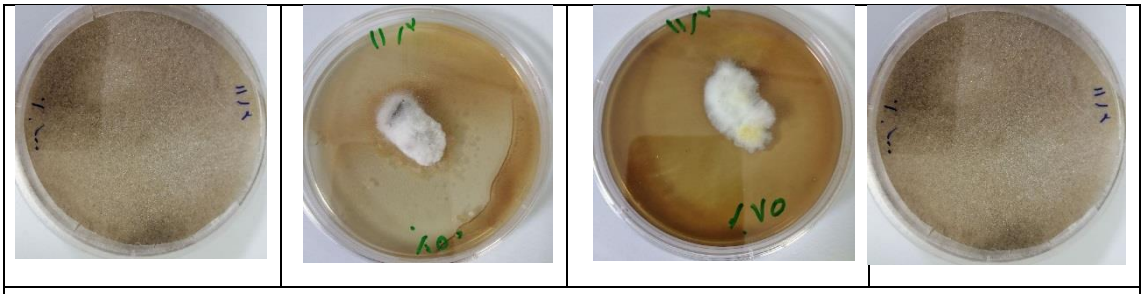


Rhizopus americanus

Aspergillus brasiliensis

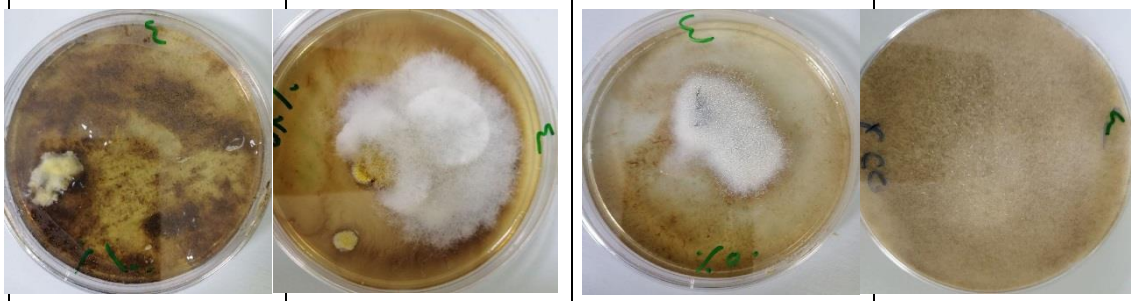


Aspergillus costaricensis



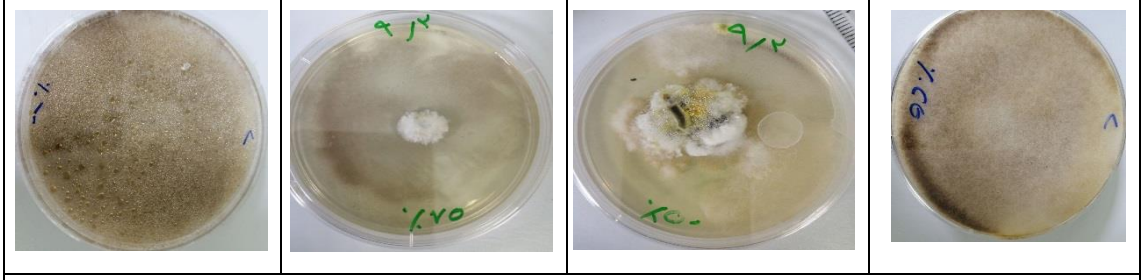
Aspergillus flavus

١٠٠٪	٧٥٪	٥٠٪	٢٥٪

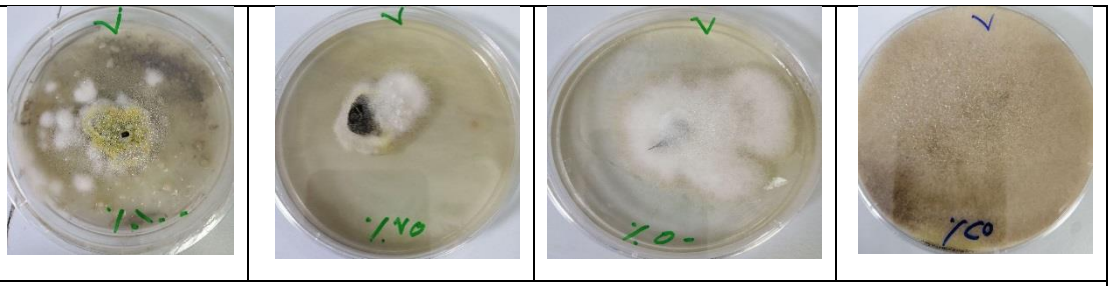


Aspergillus minisclerotigenes

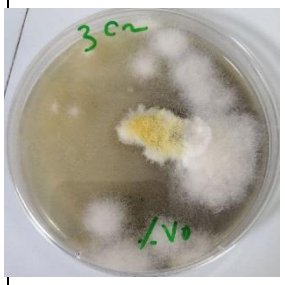
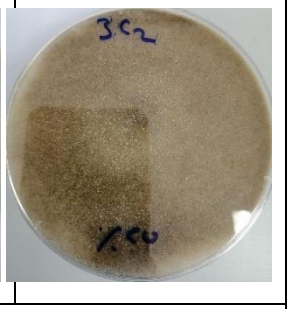
١٠٠٪	٧٥٪	٥٠٪	٢٥٪

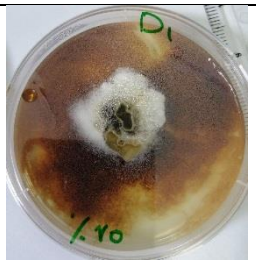
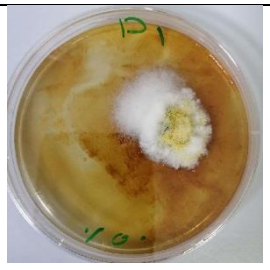
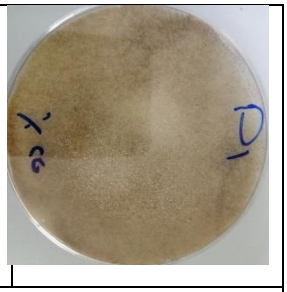


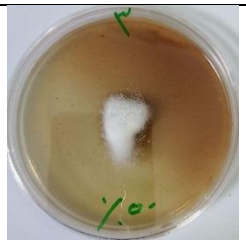
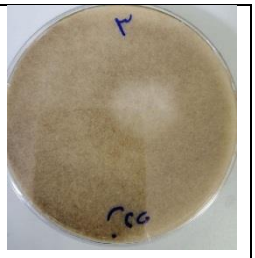
Aspergillus niger

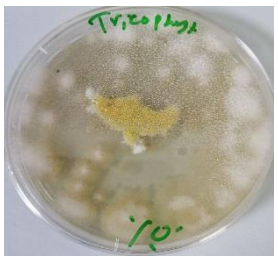


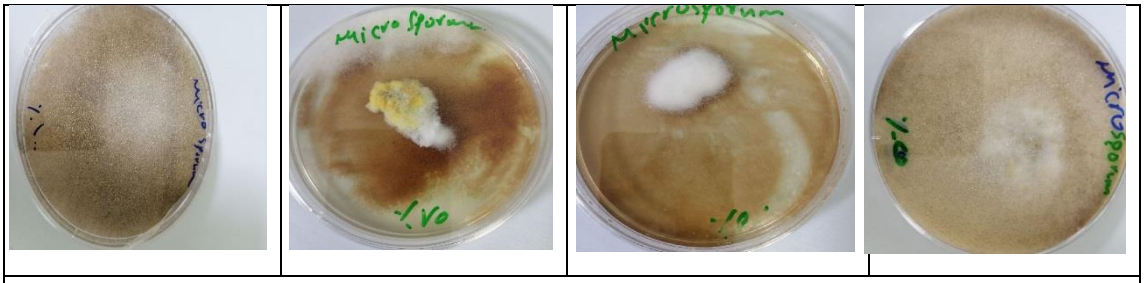
Aspergillus oryzae

١٠٠٪	٧٥٪	٥٠٪	٢٥٪
			
Aspergillus piperis			

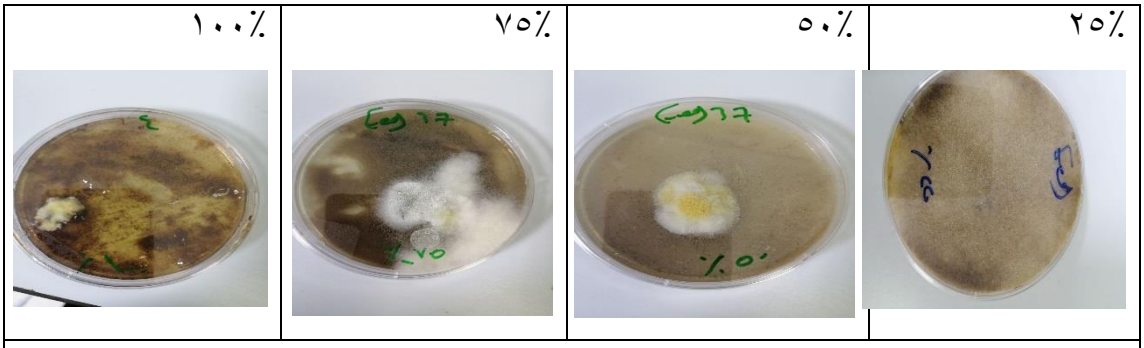
			
Aspergillus tubingensis			

			
Aspergillus welwitschia			

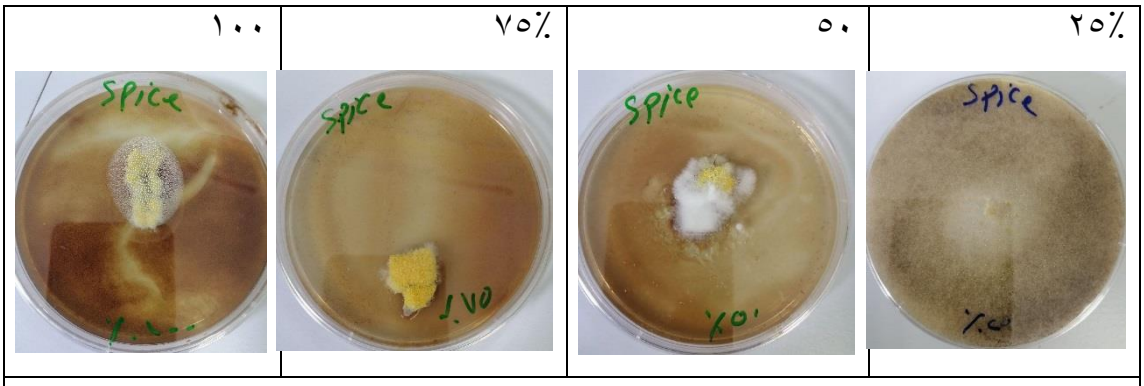
١٠٠٪	٧٥٪	٥٠٪	٢٥٪
			
Trichophyton rubrum			



Microsporum canis



Epidermophyton floccosum

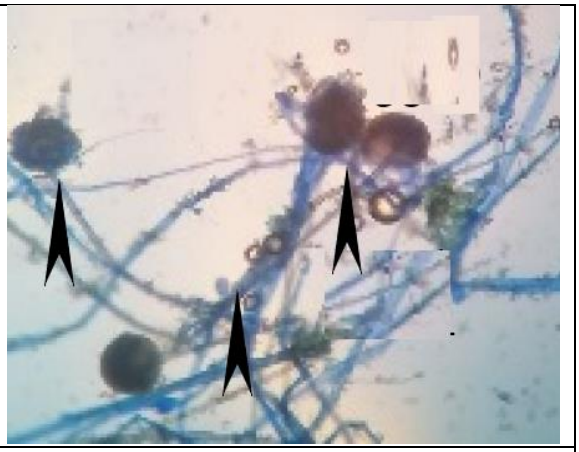


Microsporum gypseum

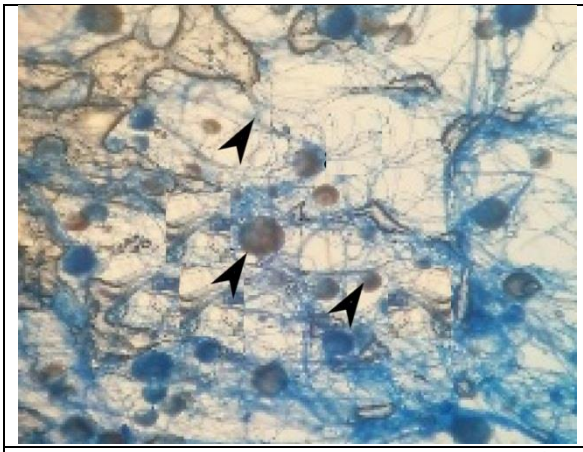
الشكل (٤-٨٧) تأثير تراكيز مختلفة من الرواشح الفطرية المعاملة بالفضة النانوية على معدل قطر (سم) على نمو **الفطر *Rhizopus stolonifer*** بدرجة حرارة ٢٨ درجة مئوية لمدة خمسة أيام

٢.٤ تأثير تراكيز مختلفة من الرواشح الفطرية المختلفة في الفطر *Rhizopus stolonifer* مجهريا

1.تأثير الراشح الفطري المعامل بالزنك النانوي



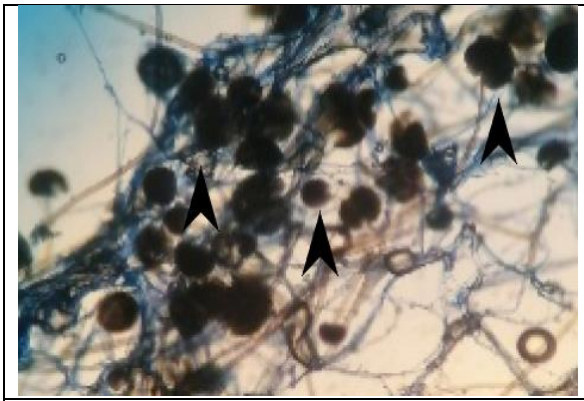
Aspergillus brasiliensis **nano Zn ١٠٠%**



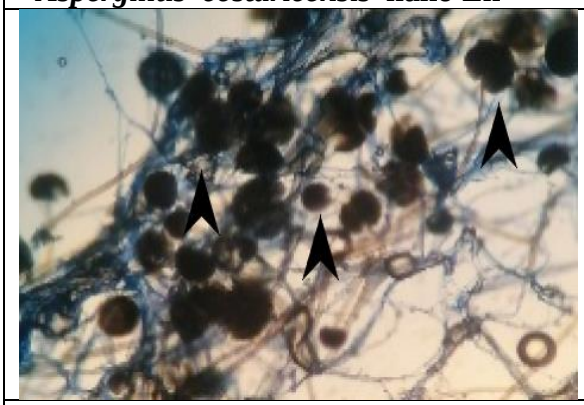
Aspergillus brasiliensis **nano Zn ٥٠٪**

أختلاف معدلات النضج والحجم للأبواغ الغزول الفطرية نحيلة ومتقطعة واختلاف الحجم

Aspergillus costaricensis **nano Zn ٧٥٪**

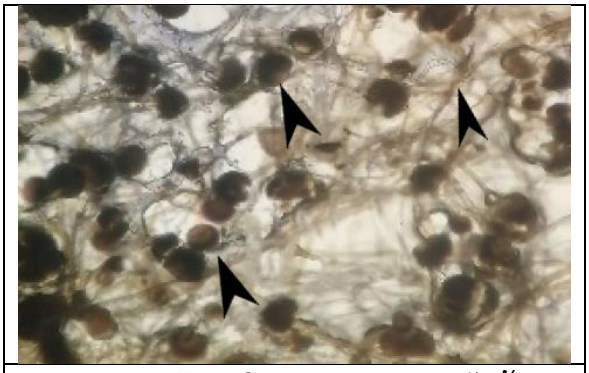


Aspergillus costaricensis **nano Zn ٢٥٪**



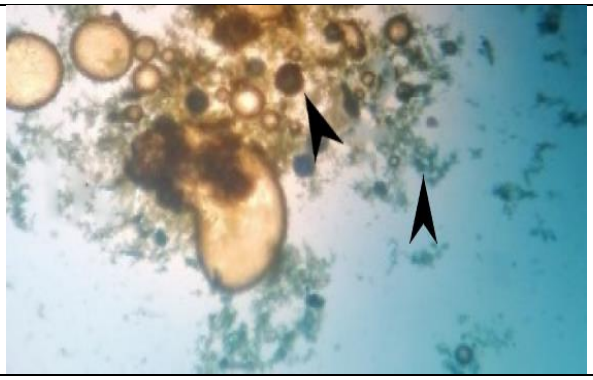
Aspergillus ***costaricensis*** **nano Zn ١٠٠%**

الفحص المجهري يوضح تجمع الاجسام الحافظية هربا من المادة السامة وأختلاف احجامها أيضا

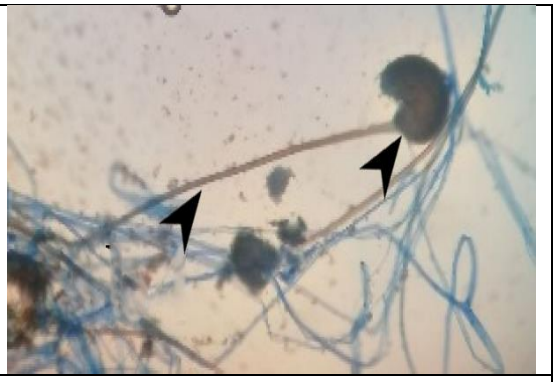


Aspergillus fluvus **nano Zn ٢٥٪**

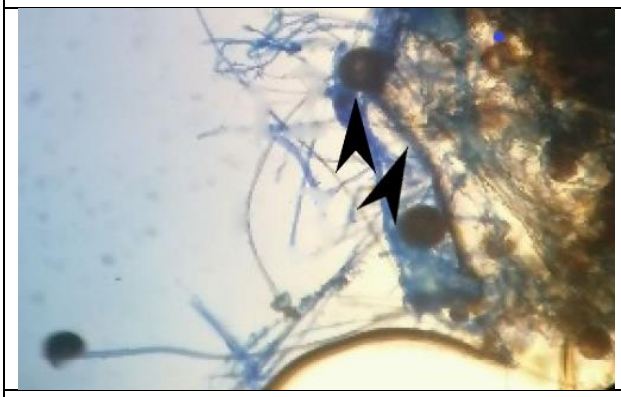
الفحص المجهري أعلاه يوضح تكتل الاجسام الحافظية والغزول الفطرية نحيلة ومتقطعة عند التراكيز الواطئة من أوكسيد الزنك النانوي



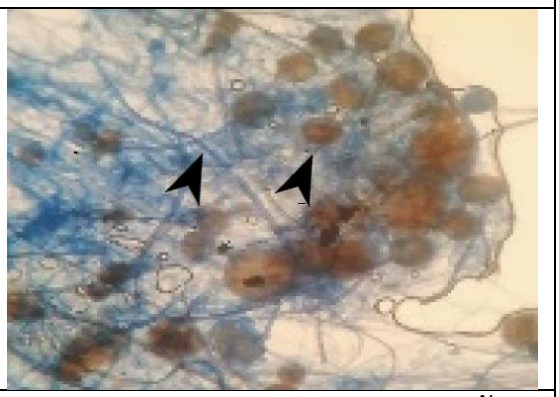
Aspergillus fluvus **nano Zn ٥٠%**



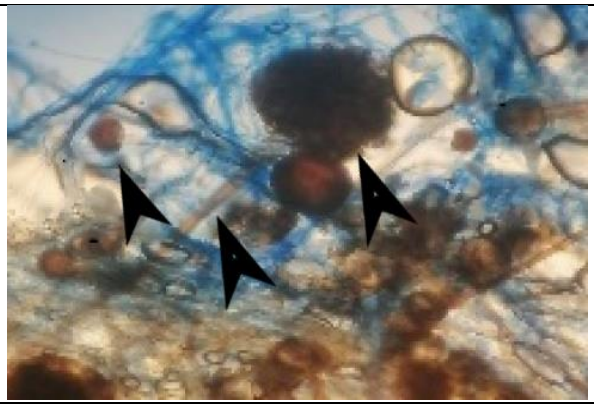
Aspergillus minisclerotigenes **nano Zn ٧٥%**



Aspergillus minisclerotigenes **nano Zn ١٠٠%**



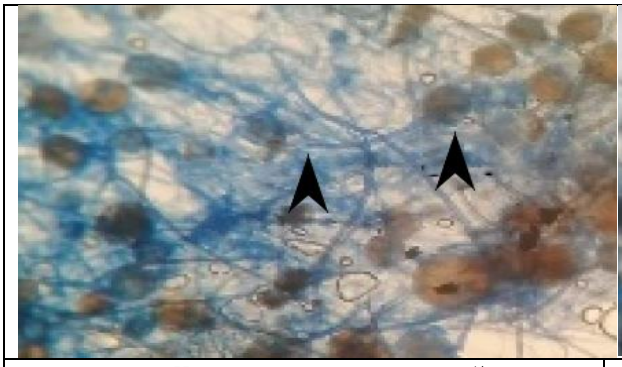
Aspergillus niger **nano Zn ٢٥٪**



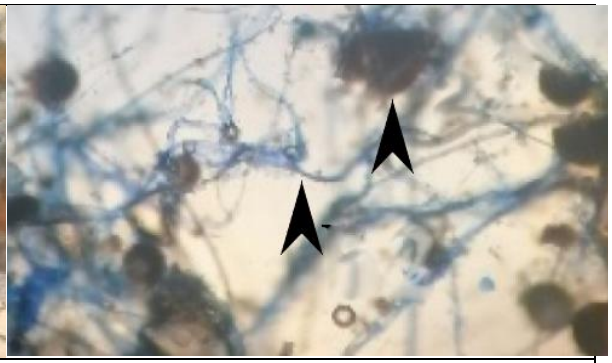
Aspergillus niger **nano Zn ٥٠%**

Aspergillus oryzae **nano Zn ١٠٠%**

الفحص المجهري أعلاه يوضح الحوافظ البوغية مشوهة ومختلفة الأحجام والغزل الفطري متقطع

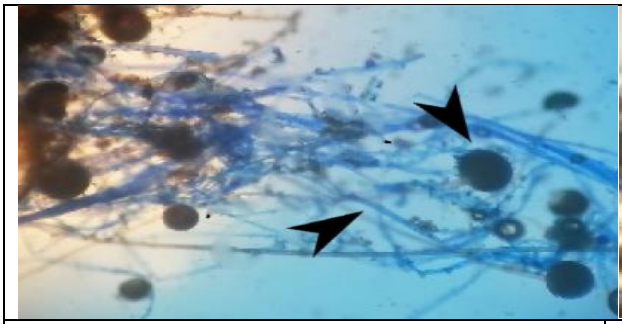


Aspergillus piperis **nano Zn ٢٥%**

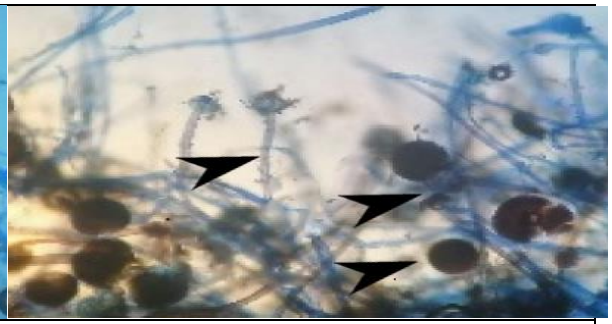


Aspergillus piperis **nano Zn ٥٠%**

الفحص المجهري أعلاه يوضح تكتل الغزل الفطري وتشوه الحوافظ البوغية عند التراكيز الواطئة من أوكسيد الزنك النانوي

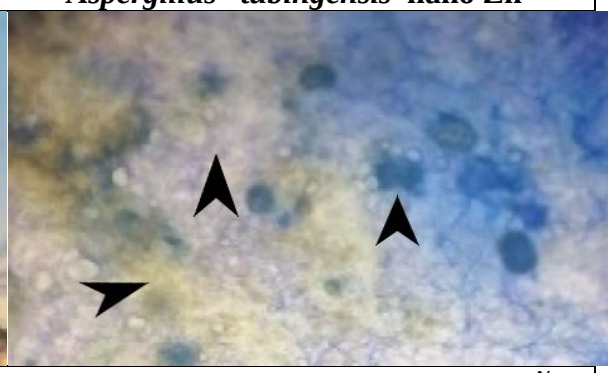


Aspergillus piperis **nano Zn ١٠٠%**



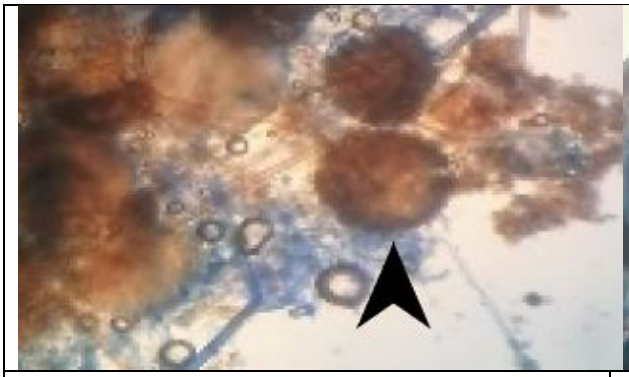
Aspergillus tubingensis **nano Zn**

Aspergillus tubingensis **nano Zn ٥٠%**

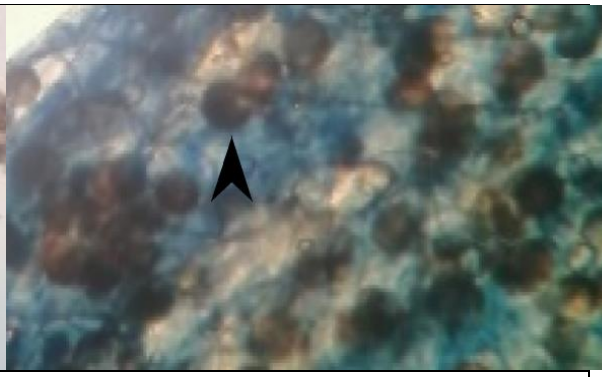


Aspergillus tubingensis **nano Zn ٧٥٪**

الفحص المجهري أعلاه يوضح الاحجام المختلفة للحوافظ البوغية وتقطع الغزل الفطري

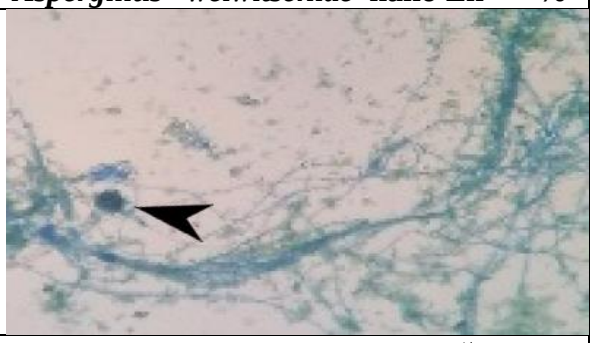


Aspergillus tubingensis **nano Zn ١٠٠%**



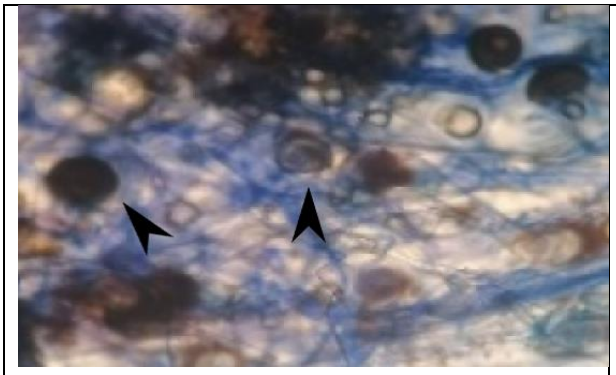
Aspergillus welwitschiae **nano Zn ٢٥ %**

Epidermophyton floccosum **nano Zn ١٠٠%**

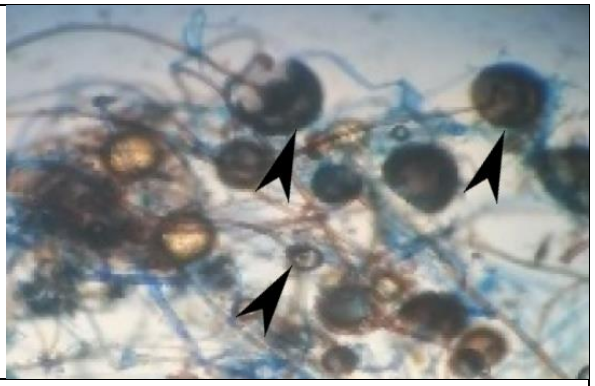


Microsporum canis **nano Zn ٢٥%**

الفحص المجهري أعلاه يوضح تشوه الحوافظ البوغية وقلة تكونها عند التراكيز الواطئة لأوكسيد الزنك النانوي

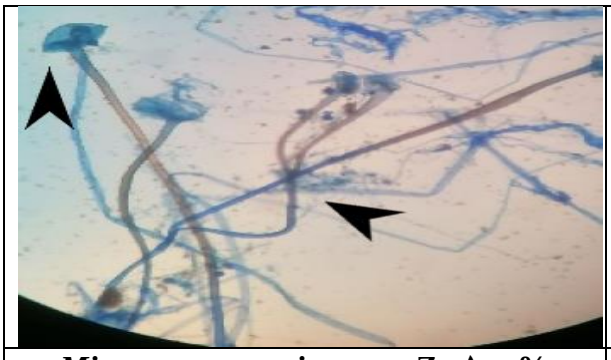


Microsporum canis **nano Zn ٥٠%**

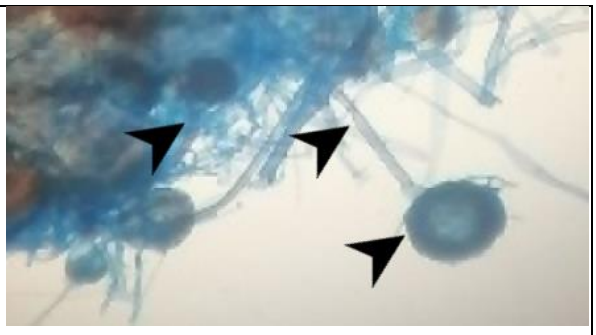


Microsporum canis **nano Zn ٧٥%**

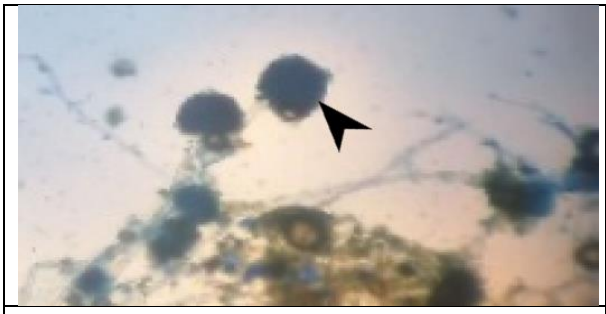
الفحص المجهري أعلاه يوضح تكتل الحوافظ البوغية وأختلاف معدل النضج



Microsporum canis **nano Zn ١٠٠%**



Trichophyton rubrum **nano Zn ٢٥٪**



Trichophyton rubrum **nano Zn ١٠٠%**

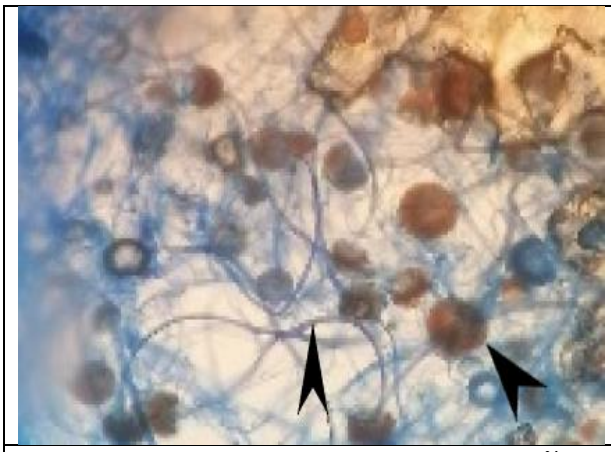
Rhizopus americanus **nano Zn ١٠٠%**

الفحص المجهري أعلاه يوضح الغزل الفطري المشوه وكذلك وأختلاف معدلات النمو للحوامل البوغية

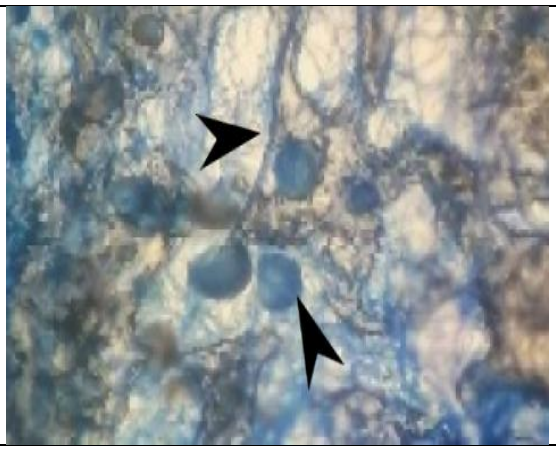
(الشكل ٤-٨٨) : **تأثير تراكيز مختلفة من الرواشح الفطرية المختلفة المعاملة بأوكسيد الزنك النانوي بمختلف التراكيز المؤثرة في نمو الفطر *Rhizopus stolonifer* مجهريا**

يتضح من الشكل (٤-٨٨) أن الفطر *Rhizopus stolonifer* قد تاثر مجهريا ، وكان هذا التأثر بين ضرر كلي وخاصة في التراكيز الواطئة من الرواشح الفطرية المختلفة المعاملة بالزنك النانوي ، فتظهر الغزول الفطرية متقطعة ونحيلة وأحيانا تظهر الأنوية متجمعة في مكان هربا من المادة السامة، وتأثرت إنتاج الأجسام الحافظية من خلال أختلاف في معدل النضج والحجم ، فضلا عن أعداد الأبواغ السبورانجية .

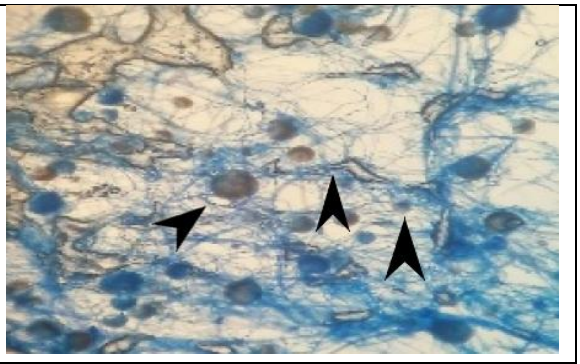
٢. الفضة النانوية



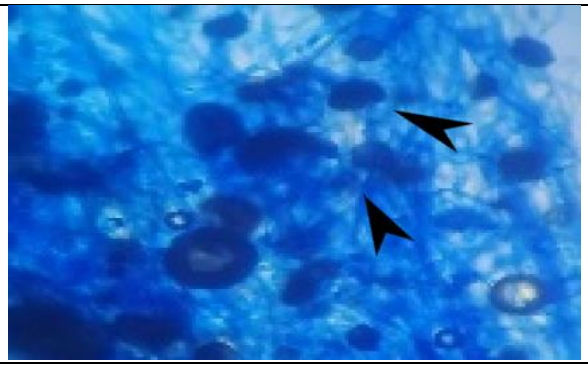
Aspergillus brasiliensis **nano Ag ٢٥٪**



Aspergillus brasiliensis **nano Ag ٥٠%**

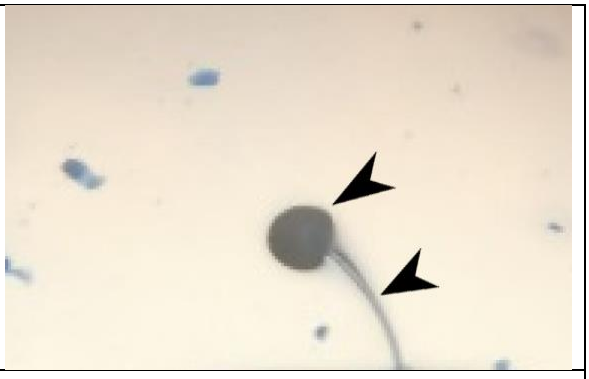


Aspergillus brasiliensis nano Ag ١٠٠٪

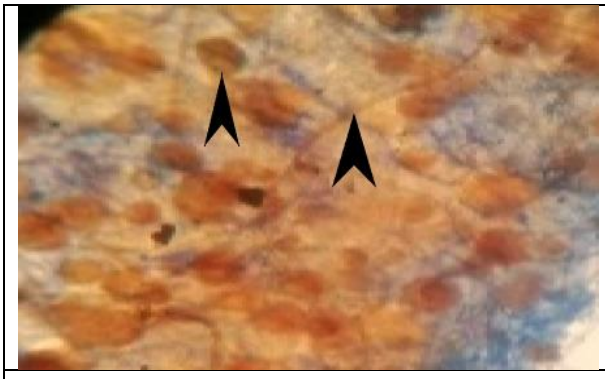


Aspergillus brasiliensis nano Ag ٧٥٪

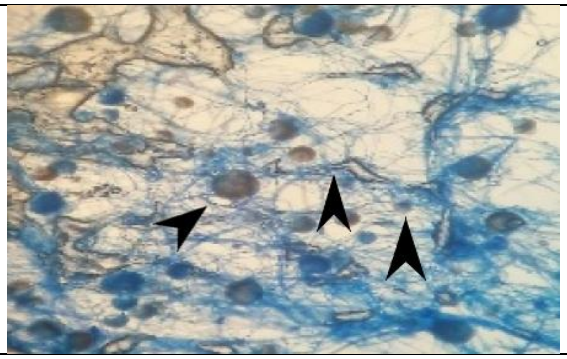
يظهر الفحص المجهري أعلاه أختلاف نمو الحوافظ البوغية في مختلف التراكيز وتجمع الحوافظ البوغية عند التراكيز العالية وقلة تكونها أما عند التراكيز الواطئة تميزت الحوافظ البوغية بالحجم الكبير وتقطع الغزل الفطري



Aspergillus costaricensis nano Ag ٥٠%

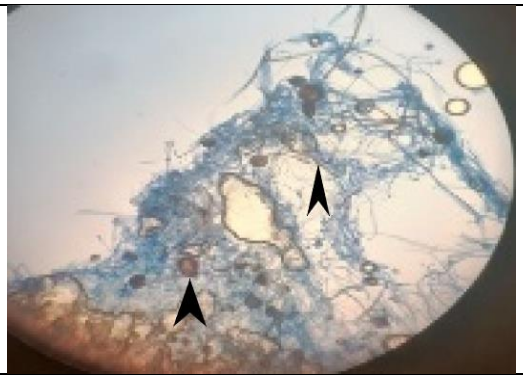
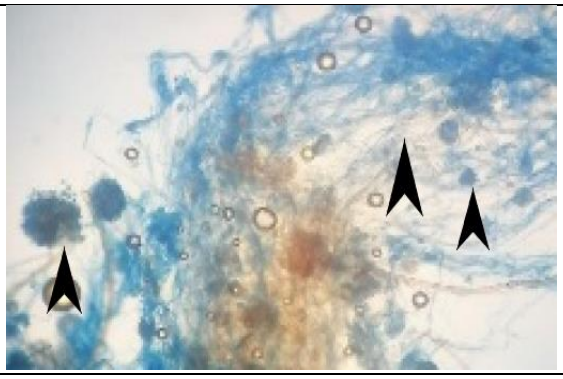


Aspergillus costaricensis nano Ag ٢٥٪

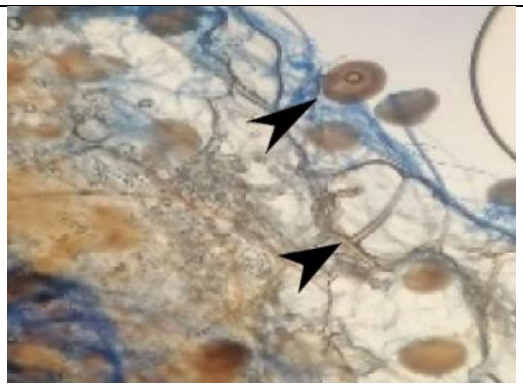
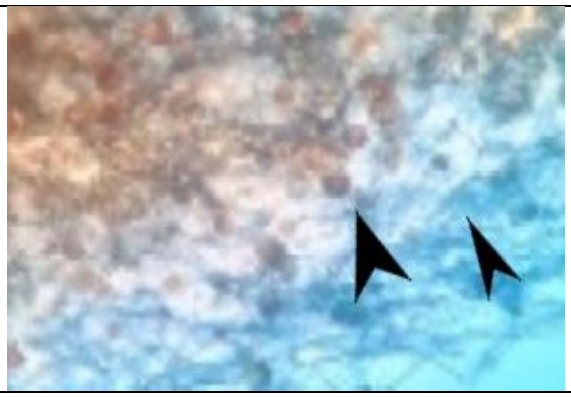
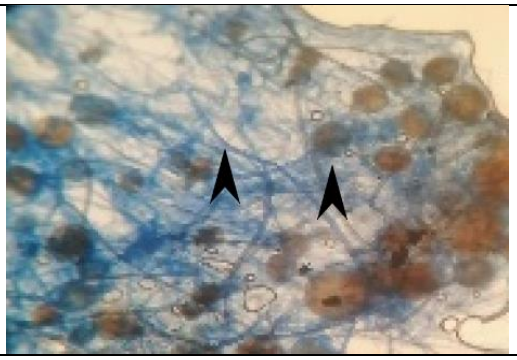
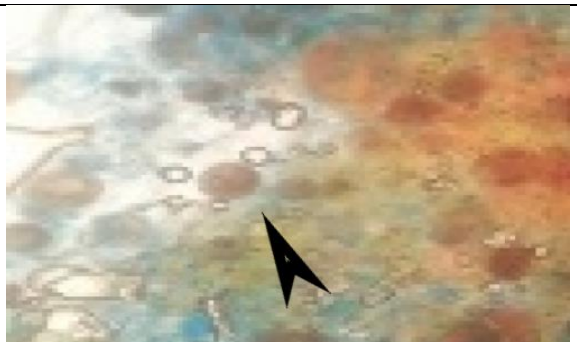


Aspergillus costaricensis nano Ag ٢٥٪

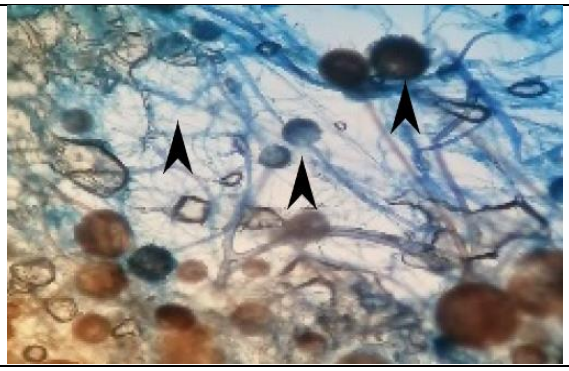
الفحص المجهري أعلاه يوضح الغزول الفطرية النحيلة وأختلاف معدلات النمو للحوافظ البوغية

	
***Aspergillus fluvus* nano Ag ٢٥٪**	***Aspergillus costaricensis nano Ag ٧٥٪***

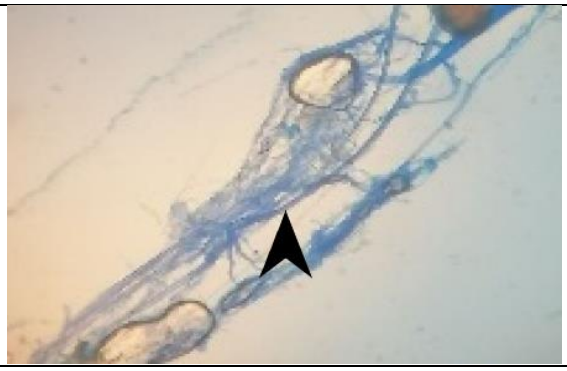
الفحص المجهري أعلاه يوضح تكتل الخيوط الفطرية وتشوهات الحوافظ البوغية عند التراكيز العالية لنترات الفضة النانوية

	
Aspergillus minisclerotigenes nano Ag ٥٠%	***Aspergillus minisclerotigenes nano Ag ٢٥٪***
	
Aspergillus niger nano Ag ٢٥ %	***Aspergillus minisclerotigenes nano Ag ٧٥ %***

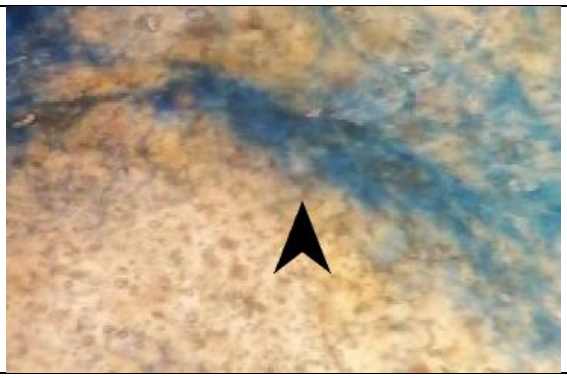
الفحص المجهري أعلاه يوضح أختلاف معدلات النمو للحوافظ البوغية وتكتل الغزل الفطري بشكل مادة هلامية بطيئة النمو



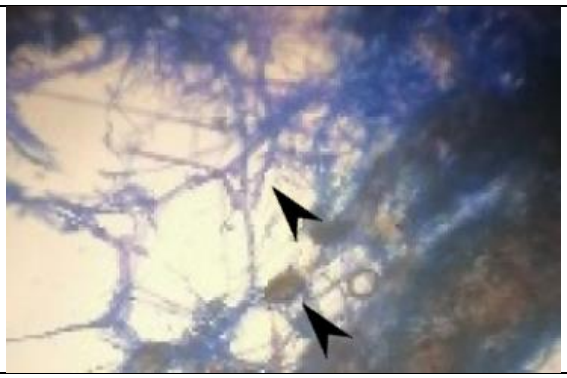
Aspergillus niger nano Ag ٥٠ %



Aspergillus oryzae nano Ag ٢٥ %

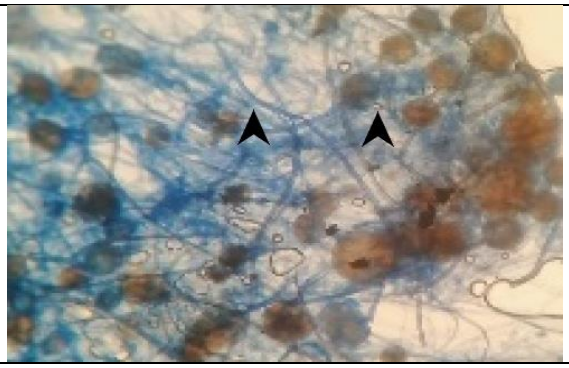


Aspergillus oryza enano Ag ٥٠٪

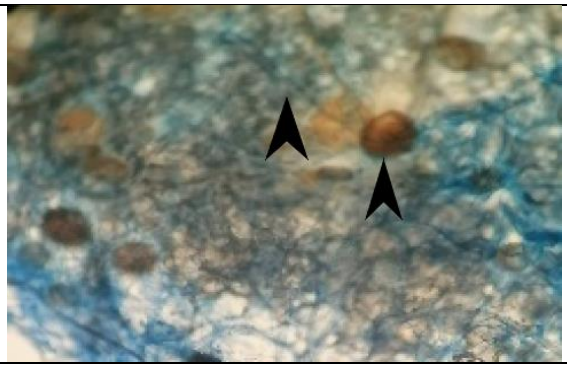


Aspergillus oryzae nano Ag ١٠٠٪

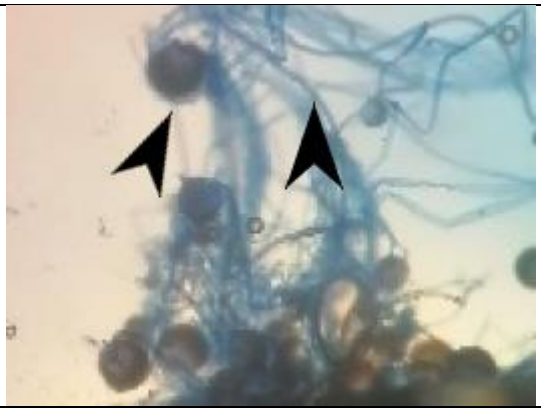
الفحص المجهري أعلاه يوضح الأحجام المختلفة من الحوافظ البوغية عند التراكيزالمتوسطة وقلة تكونها عند التراكيز العالية وتشوه الغزل الفطري وتكسر الخيوط الفطرية

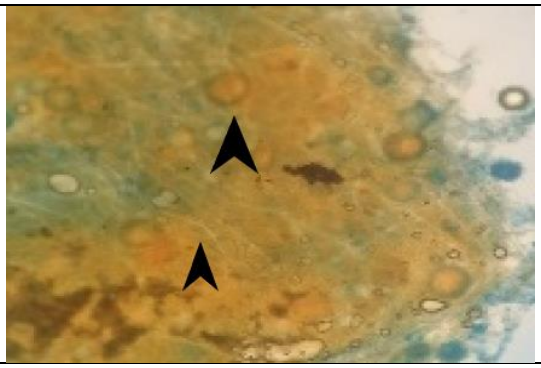


Aspergillus piperis nano Ag ٢٥٪

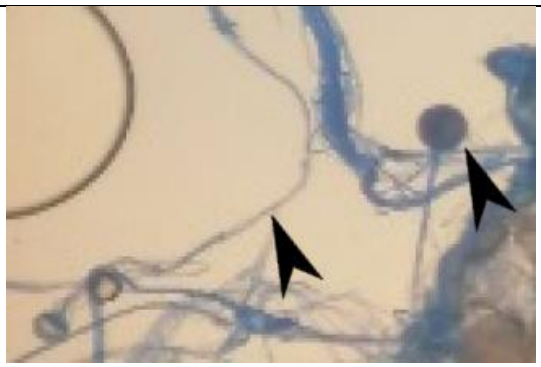
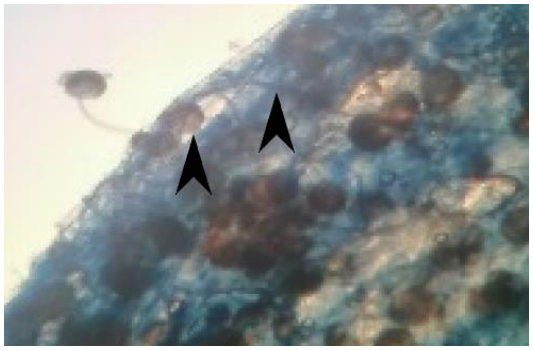


Aspergillus piperis nano Ag ٥٠%

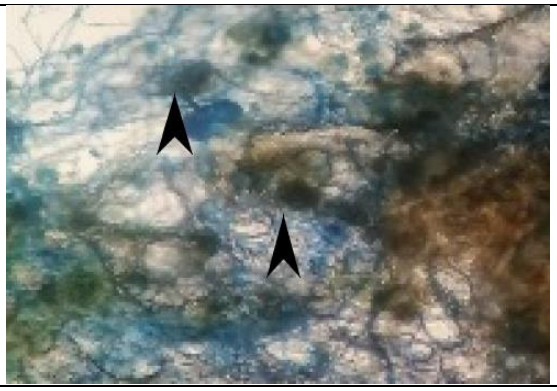
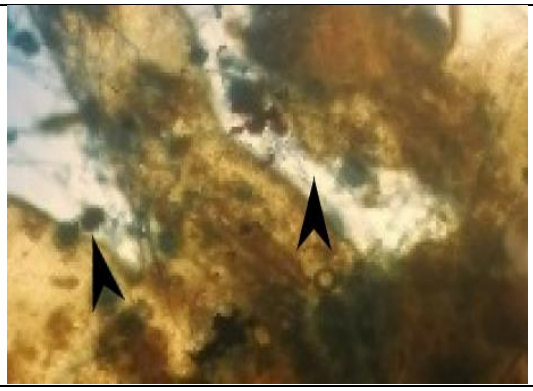


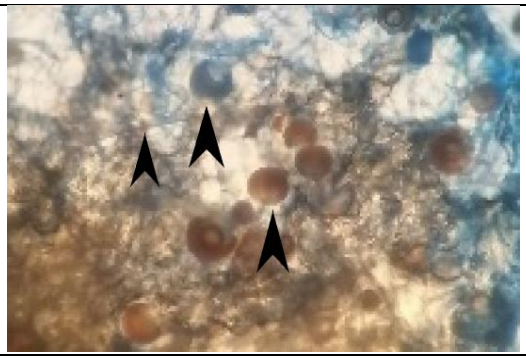
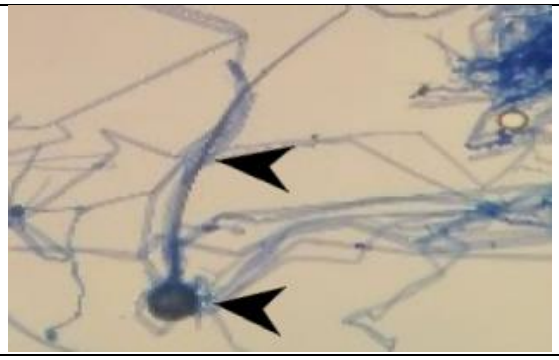
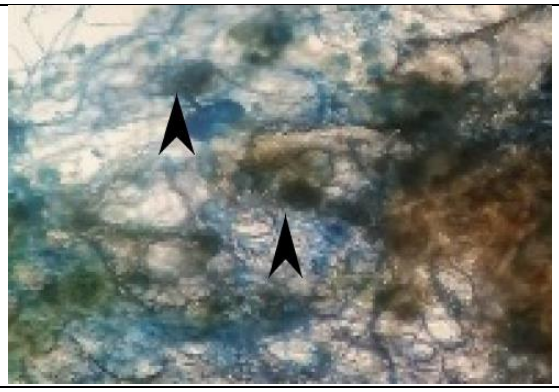
Aspergillus piperis nano Ag ٧٥%	*Aspergillus tubingensis nano Ag ٢٥%*
	
Aspergillus tubingensis nano Ag ٥٠%	*Aspergillus tubingensis nano Ag ٧٥%*

الفحص المجهري أعلاه يوضح تكتل الغزل الفطري واختلاف أطوال الحوامل البوغية وأختلاف سمكها فضلا عن تكتل الحوافظ

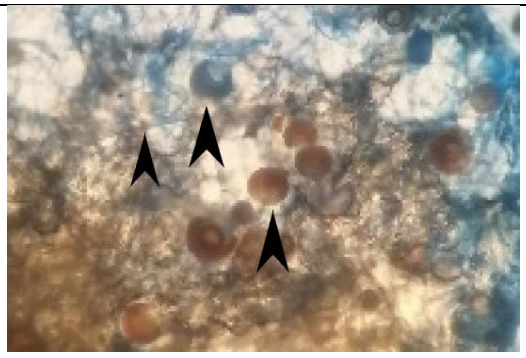
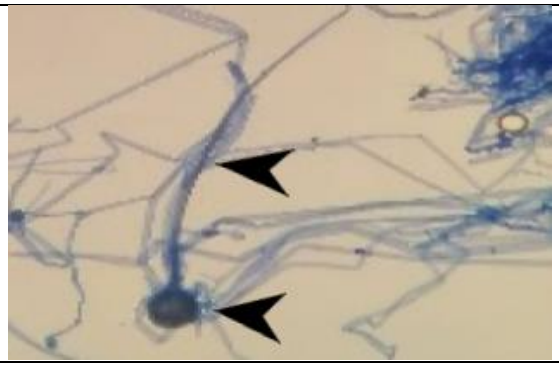
	
Aspergillus tubingensis nano Ag ١٠٠%	*Aspergillus welwitschiae nano Ag ٢٥%*

تظهر الغزول الفطرية متجمعة ويختلف سمكها وأطوالها

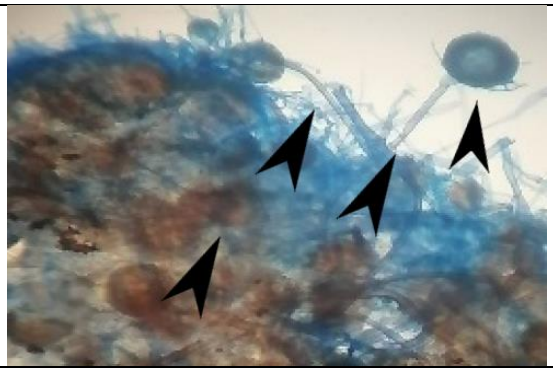
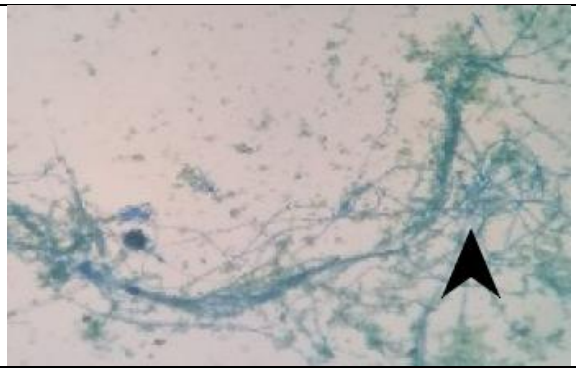
	
Aspergillus tubingensis nano Ag ٢٥%	*Aspergillus tubingensis nano Ag ٢٥%*

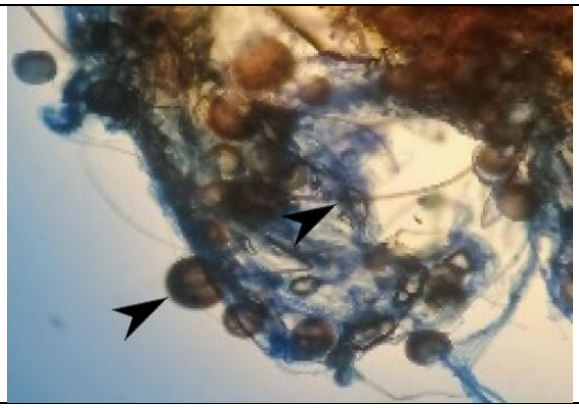
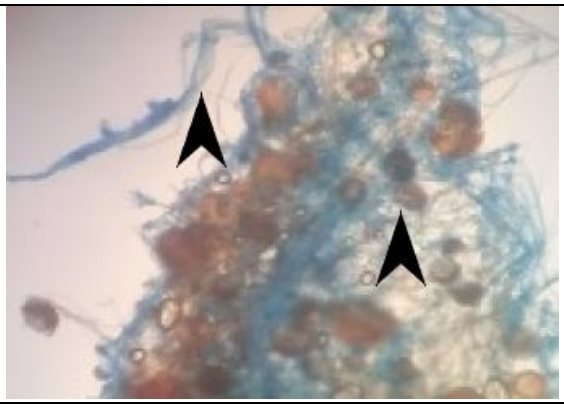
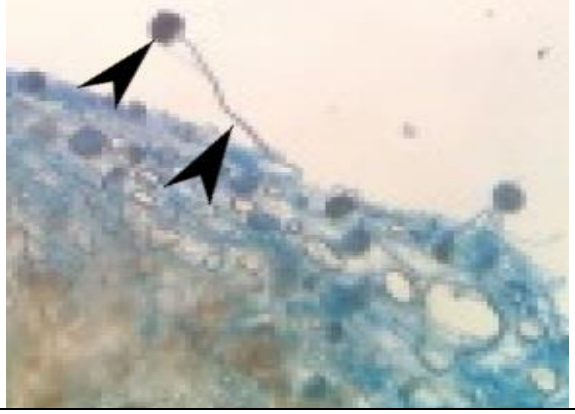
	
Aspergillus tubingensis nano Ag ٢٥%	***Aspergillus welwitschiae nano Ag ٥٠٪***
	
Aspergillus welwitschiae nano Ag ٧٥%	***Aspergillus welwitschiae nano Ag ٥٠٪***

الفحص المجهري أعلاه يوضح قلة أعداد الحوافظ البوغية وتكسر الغزل الفطري

	
Epidermophytes floccosum nano Ag ٧٥%	***Epidermophytes floccosum nano Ag ٢٥%***

الفحص المجهري أعلاه يوضح أختلاف حجم الحوافظ البوغية وتكسر خيوط الغزل الفطري عند التراكيز الواطئة لنترات الفضة النانوية

Microsprum canis nano Ag ١٠٠%	*Trichophyton rubrum nano Ag ٢٥%*
	
Trichophyton rubrum nano Ag ٥٠٪	*Trichophyton rubrum nano Ag ٧٥%*
	

الشكل (٤-٨٩): **تأثير تراكيز مختلفة من الرواشح الفطرية المختلفة المعاملة بأوكسيد الفضة النانوي بمختلف التراكيز المؤثرة في نمو الفطر *Rhizopus stolonifer* مجهريا**

الفحص المجهري أعلاه يوضح تباين أحجام الحوافظ البوغية وتكتلها فضلا عن تشوهها في التراكيز العالية فضلا عن الحوامل البوغية التي اتصفت بالتشوه في اغلب المعاملات وضعف قطرها وانحنائها بدلا من انتصابها ، وقد وصل الحال في بعض المعاملات الى تشوه وتكتل وانفجار الخلايا نتيجة لعدم مقاومة الضغط الانتفاخي العالي الذي حصل نتيجة لتسمم الوسط

الفصل الخامس

المناقشة

Discussion

الفصل الخامس: المناقشة

١.٥ عزل وتشخيص الفطريات Isolation and Identification of Fungi

نجحت عملية عزل الفطريات من البلغم sputum للأشخاص المعنيين بالعزل بعد موافقتهم بذلك وفق القواعد المتعلقة بالأخلاق المهنية،أهم الفطريات التي ظهرت في عينات البلغم *Aspergillus*الذي شكل نسبة ظهور عالية مقارنة بالفطريات الأخرى وهذه النتيجة مشابهة لما ذكره Agbetile وأخرون (٢٠١٢) عندما عزل البلغم من أشخاص يعانون من حساسية وغير المصابين بها و إن ظهور الـ *Aspergillus* في جميع العزلات يدل على أستنشاقه بإستمرار مما يعطي فرصة أكبر للإصابة به في حالات نقص المناعة Thristy وSirega (٢٠١٣) كما وإن ظهور نوعين *Rhizopus* وهما من ال *R.stolonifer* و *Rhizopus americanus* في عينة البلغم لبعض الأشخاص قد يكون مؤشرا لحالة من حالات نقص المناعة سواء أكان شفاء من مرض الكوفيد أو لديه سكري وغيرها من الأمراض التي تشير إلى أنخفاض في الأداء المناعي للجسم (Gerena Montano وVilaro، ٢٠١٨)

إن مايسمى بفلورا الجسم أو النبت الطبيعي للأحياء المجهرية وبالتحديد في اللعاب والبلغم قد تكون مؤشرا صحيا لمعادلة الكائنات المجهرية في الجسم ، ولذلك فإن وجود بعض الفطريات قد يثبط شراسة فطريات خطرة ومن هذا المنطلق تم إجراء تجارب التضاد بين الفطريات المعزولة وفطر *R. stolonifer* كونه الفطر الأكثر ظهورا في العينات مع الأخذ بنظر الإعتبار إن الفطر *Rhizopus* من مسببات العفن الأسود وخاصة لمرضى فايروس كورونا والذين لديهم أمراض أخرى (Kumari وأخرون ،٢٠٢٢)

وتم التركيز على تضاد الفطريات المعزولة من البلغم وأيضا بعض الفطريات الجلدية التي تم الحصول عليها من تجارب سابقة وذلك نتيجة للعلاقة الطردية مع تلك الفطريات و فطر*Rhizopus*

وتعد هذه الدراسة الأولى من نوعها في العراق يتم فيها إلقاء النظر على الفطريات المعزولة من الأشخاص ضمن الفلورا الطبيعية في البلغم ، وتضمنت هذه الفطريات في أغلبها أنواع الفطر *Aspergillus* وهو من الفطريات المنتشرة في البيئة ويكاد لايخلو مكان منها .

تعد طريقة تشخيص الفطريات بالطريقة التقليدية أساسا لفهم الفطريات لكن دقة التشخيص الجزيئي أتاح فرصة لتسجيل الفطريات الأربعة عشر بالبنك الجيني العالمي ومقارنة الأختلافات والتشابهات مع العزلات العالمية ورسم الشجرة الوراثية لها .

تضمنت الدراسة تشخيص أربعة عشر فطرا معزولا من قشع أشخاص تعافوا من الإصابة بكوفيد ١٩ وقد تم تسجيلها في البنك الجيني العالمي إذ إن أستخدام الأساليب التقليدية لاتعطي نتائج كافية في أغلب

الحالات وذلك بسبب تغير النمط الظاهري وتعدد الأشكال فضلا عن إختلاف الظروف البيئية ، شخصت العزلات جزيئيا بأستخدام تقنية سلسلة البلمرة (PCR) بالإعتماد على بواديء (Primers) خاصة بالتشخيص الجزيئي.أظهرت نتائج التشخيص الجزيئي عن التقارب والتشابه بين الفطريات المسجلة وقد تم إستخدام الشجرة الوراثية لمعرفة مدى ترابط الأنواع الخاصة لكل جنس مع النوع المطلوب تحديده فضلا عن الخصائص المظهرية كوسيلة للتوصل إلى التشخيص الدقيق فضلا عن التشخيص بالطريقة التقليدية و يعد تحديد النمط الجيني مهم جدا في تصنيف الفطريات وقد أستعملت منطقة SSU في التشخيص الجزيئي والتصنيف وذلك لأنها سهلة التضخيم وذات مدى كبير من التباين حتى في الأنواع ذات الصلة العالية وقد أستخدمت تضخيم منطقة SSU الخاصة ب rRNA لغرض تحديد الأنواع حيث تم فحص تسلسل الحمض النووي وذلك للتأكد من تسلسل النيوكليدات ثم بعد ذلك مقارنتها بالسلالات العالمية الأخرى وتم إستخدام برنامج NCBI - BLAST- Query nucleotide- online وقد أعطى نتائج دقيقة بمقارنتها مع السلالات العالمية كما أستخدم برنامج التحليل الوراثي التطوري الجزيئي (BLAST) الذي يعد من التطبيقات التي تم تصميمها بصورة خاصة للتحليل المقارن لتسلسل الجينات المتماثلة والعلاقات التطورية والنمط الذي يحدث في تطور الحمض النووي والبروتين وكذلك يعطي برنامج MEGA الكثير من التسهيلات عبر بيانات تسلسلية من مستويات بيانات شبكة الإنترنت التي يمكن عرضها على شكل اشجار(Kumar وأخرون ٢٠٠٨،).

٢.٥ الكفاءة التضادية للفطريات المعزولة ضد الفطر *Rhizopus stolonifer*

أشارت نتائج التضاد الفطري في الجدول (٤- ٣) حصول تباين في القدرة التضادية للفطريات المستخدمة في الدراسة إذ بلغت٣ حسب مقياس Bell لتضاد الفطريات *A.minisclerotigenes* و *A.costaricensis* و *A.oryzae* و*A.piperis* و *A.flavus* وتفوق نموها على الفطر *R. stolonifer* في الطبق ، إذ أن تجارب التضاد من التجارب التي يعتمد عليها في تقييم كفاءة المقاومة الأحيائية لفطر *Trichoderma* ضد عدد من الممرضات النباتية نتيجة لإنتاجه للإنزيمات المحللة Rajani وأخرون (٢٠٢١)كما وإن الفطريات *A.minisclerotigenes* و*A.flavus* تتميز بإنتاج سم الأفلاتوكسين Shoaib وأخرون(٢٠١٩) أما الفطريات *A.costaricensis* و *A.piperis* تتميز بإفراز سموم الأوكراتوكسين Thanushree وأخرون(٢٠١٩) ،بالنسبة للفطر *A.oryzae* يتميز بإمتلاكه نظام إفرازي عالي للبروتينات المحللة Daba وأخرون(٢٠٢١) ، والفطريات التي وصلت للدرجة ٤ من التضاد *R.americanus* و *Trichophyton rubrum* و *Microsprum canis* و *Microsprum gypseum* معنى أقل درجة للتضاد الفطري مع *Rhizopus* ، ومن هذه

النتيجة نستنتج تكيف وملائمة وجودها في نفس الكائن الذي يعاني من إصابات معقدة وخاصة في حالات نقص المناعة وتعد هذه النتيجة مخالفة لما توصلت إليه Al-Masaoodi (٢٠٢٠) عند إستخدامها فطر *Marasmius palmivorus* في الزرع المزدوج لتثبيط فعالية ونمو االفطريات الممرضة *T. rubrum* و *M.canis* و *M.gypsum* . أما الفطر *R.americanus* الذي يعد من نفس الجنس يوجد تضاد بين الفطرين أما درجة التضاد الاخيرة التي تم الحصول عليها هي ٥ التي توضح سيطرة الفطر الممرض على الطبق بأكمله مع الفطريات *A.niger* و*A.welestichia* و *A.tubigensis*و*A.brasiliensis* و الفطر الجلدي الممرض *Epidermophyton floccosum* . ،أما الفطر . *A .welestichia* الذي يتميز بإفراز سموم fumonisins الذي لم يثبط نمو فطر *Rhizopus* ، وأيضا فطر s *A.tubigensi* الذي يتميزبإفراز أسبرازين وفونالينون، وفطر*A.brasiliensis* الذي يتميز بإفراز A بيروفين وديهادروأفلافينين ونتيجة لتركيبة فطر *Rhizopus* الذي يتميز بإفراز مستويات عالية من الكلوكوز-أوكسيديز ومستوى عال من الأميليز والفوسفاتيز القلوي والحمضي والبكتيناز (Guimarães وأخرون ،٢٠٠٦) .

٣.٥ تأثير تراكيز مختلفة من الرواشح الفطرية في نمو أقطار (سم) فطر *Rhizopus stolonifer*.

تتفق نتائج تأثير راشح الفطر *Trichophyton rubrum* مع Muhsin وSalih (٢٠٠١) أذ أن الفطريات الجلدية تنتج العديد من الأنزيمات التي تحلل بروتين الكيراتين الموجود في الأنسان والحيوان ومن هذه الأنزيمات البروتيز Protease والكيراتينيز Keratinase والاميليزAmylase واللايبيزLipase والايلاستيز Elastase والفوسفولايبيز Phospholipase ،أما الفطر الذي كان اكثر تأثيرا على نمو مستعمرة *Rhizopus* فطر *A.piperis* يمكن تفسير الفعالية الكبيرة لراشح هذا الفطرلامتلاكه مستقلبات نشطة بيولوجيا عبارة عن بروتينات وأحماض عضوية مثل الغلوكونيك والستريك ويتميز بنشاطه المضاد للميكروبات و هذا يتفق مع Lopes وأخرون (٢٠١٣) ،أما الفطر *A.minisclerotigenes* الذي كان يمتلك أقل معدل نمو أيضا وهذا قد يعود الى تعدد السموم الفطرية التي يمتلكها A.korhogoensis و A.aflatoxiformans و A.texensis و A.arachidicola Singh وCotty (٢٠١٩) فضلا عن هذه الافلاتوكسينات الاربعة ايضا يكون هذا الفطر مواد اخرى مثل الافلاتوكسيكول فيرسيكولورين و ستيرجماتوسيستين وحمض السيكلوبيازونيك وحمض الكوجيك Yu (٢٠١٢) ،أما الفطر الممرض الجلدي *Epidermophyton floccosum* الذي أمتاز بتثبيطه لفطر*Rhizopus* فضلا عن الانزيمات المحللة التي يفرزها ويعد هذا الفطر من أشهر الفطريات الجلدية التي تحلل الأيثانول وتستخدمه مصدر للكاربون وهذا يتفق مع ماذكره AL-janabi(٢٠٠٩) وبما أن فطر *Rhizopus* يحتوي نسبة عالية من السكريات ويقوم بتخميرها ويحولهه من البايروفيت

الى الايثانول بعملية التخمر الكحولي لذلك بعد سلسلة عمليات هدم تحدث له يثبط نموه ، أما الفطر *A.tubigensis* من السلالات التي تتميز بأمتلاكها البكتيناز(خليط من عدة أنزيمات)تحلل السكريات المعقدة والبكتينات والسكاريد والسليلوز وبكفاءة عالية بالاضافة يقوم بتحليل المواد البلاستيكية Huang وأخرون(٢٠١٩) أما في مايخص نتيجة راشح الفطر *A.flavus* الذي يتميز بأفرازه لسموم مسرطنة (الافلاتوكسين) وانتاج البكتيناز المحللة للسكريات المعقدة Mellon وCotty (٢٠٠٤) ،أما الفطر الجلدي *Microsprum canis* ومن خلال دراسة وجدت أن هذا الفطر يفرز أنزيمات محللة للبروتين Exoantigens وتتألف من الكيراتينيزKeratinase والايلاستازElastase والكتالازCatalase والامينوبيبتيدازAminopeptidase ، Achterman وWhite (٢٠١٢) ،أما نتيجة راشح الفطر*A.niger* لاتتفق مع ماوصل اليه راضي وأخرون (٢٠٠٩) من أضافة راشح الفطر *A.niger* أدى الى زيادة أنبات بذور الطماطة وأمتلاكه خاصية التطفل الفطري بألتفافه حول الغزل الفطري للفطر الممرض *R.solonia* والقضاء عليه وأيضا لاتتفق هذه النتيجة من عدم التثبيط لفطر *Rhizopus* مع الزبيدي وأخرون (٢٠١٠) عند أستخدامهم راشح الفطر*A.niger* في هلاك حوريات وبالغات الذبابة البيضاء *Bemesia tabaci* ،أما الفطر *R.americanus* أذ لوحظت نسبة تثبيط قليلة كونهما من نفس الجنس فضلا عن الأرتباط الكبير بنمطي نشاط الانزيمات التأكسدية والانزيمات المتحللة لكلا الفطرين Mali وأخرون(٢٠١٩) وكفاءة الوسط الزرعي وايضا لوحظ أعتماد مماثل لتوليفة الانواع الفطرية وكذلك عمليات الاختزال ممكن أن تثبط نمو أحدهما حسب كيمياء فنتون (أختزال الحديديك الى الحديدوز) وهذا يتوافق مع Orton وأخرون(٢٠١٦) أما الفطر *Microsprum gypsum*أظهر نسبة تثبيطية ضد *Rhizopus* وهذا يتفق مع ما توصل اليه Guo وأخرون(٢٠١٢) عند أستخدامهم سلالات من بكتريا العصيات اللبنية Lactobacillus في تثبيط هذا الفطر وقلة أفرازه لانزيمات الكيراتيناز المحللة ، أما نتيجة راشح الفطر*A.welestichia* أعطى نتيجة مقاربة ل Liuوأخرون(٢٠١٩) واستخدام هذا الفطر كعامل مقاومة بايلوجي ثبط من نمو الديدان الخيطية المرافقة للجذور *Meloidogyne graminicola* ،أما راشح الفطر *A.oryzae* الذي أعطى معدل نمو للمستعمرة وهذا يعود للتوافق الجزيئي بين الفطر *Rhizopus* و*A.oryzae* لوجود جينومات مسؤلة عن التخمر في كلا الفطريين حسب ماذكره Machida واخرون (٢٠٠٨) أما الراشح الفطري*A.costaricensis* الذي لوحظ أن نسبة تثبيطه قليلة ل*Rhizopus* وهذا خلاف ماتوصل اليه 林睿 (٢٠٢١) أذ ان هذا الفطر يمتلك مركبات عالية الكفاءة ثبطت من نمو بكتريا المكورات العنقودية وهذه المركبات terretonine A و asperlideB و ٤-١-benzyl-٢-methyl-٢-hydroxyphenyl و butyrolactone و versicolactone B و ٣-indole-١H-carboxaldehyde ،أما الفطر الأخير الذي أعطى اكبر معدل نموهو الفطر *A.brasiliensis* و هذا

يتفق مع ماذكره Chimbekujwo واخرون (٢٠٢٠) أذ يتميز هذا الفطر بأنزيمات تخمر مثل البروتيناز والتي تكون مشابهة لأنزيمات التخمر الموجودة في ل*Rhizopus* وقد لوحظ أختلاف تأثير التثبيط بمختلف التراكيز وهذا يعود الى أمتلاك رواشح بعض أنواع *Aspergillus* كفاءة تثبيطية عالية ضد الفطر *Rhizopus* أذ أنها تنتج مواد تضادية مع تأثير مثبط على الفطر المستخدم في الدراسة ويفسر هذا السبب الى انتاج موا د تضادية تفرز خارج الخلايا والتي تعمل بشكل مباشر على غشاء الخلية الفطرية وتغير من نفاذيته او قد يكون هذا التأثير بسبب أنتاج الابواغ أو مراحل نمو الغزل الفطري للفطر الممرض أو نتيجة أنتشار المضادات الحيوية في وسط الغذاء Jalanta وأخرون(٢٠٠٤) وهذا يتفق مع نتائج الباحث الطائي (٢٠١٤) الذي درس تأثير رواشح بعض أنواع *Aspergillus* spp في تثبيط الفطرين الممرضين *Rhizoctonia solani* و *Fusarium oxysprum*أظهرت النتائج أن كل العزلات الفطرية تمتلك كفاءة عالية في تثبيط الفطريين الممرضين وأيضا وجد من خلال الدراسة زيادة أعداد الابواغ الكلاميدية للفطر الممرض عند التراكيز الواطئة للرواشح مثلا عند ٢٠% لوحظ نمو الفطر وعدم نموه عند التراكيز العالية للرواشح يعود السبب الى محاولة الفطر تكوين وحدات تكاثرية مقاومة (تكوين الابواغ الكلاميدية) Loffler وأخرون (٢٠٠٨) وكما متعارف عليه ان الفطريات تحتاج النتروجين كمصدر لتكوين نموها الخضري ربما يحتوي الراشح الفطري على العديد من الاحماض الامينية والسكرية والبايرونات حفزت على تكوين مثل هذه التراكيب السهيلي واخرون(١٩٨٠) وGhisalberti واخرون (١٩٩٠)أو قد يعود السبب الى محاولة الفطر أجتياز الظرف الذي يمر به من وجود السموم في الوسط الغذائي الذي ينمو عليه بزيادة أعداد الابواغ الكلاميدية وهذايتفق مع ماذكرته الجبوري (٢٠٠٣)زيادة أعداد هذه الابواغ عند معاملة الوسط الغذائي برواشح فطرية .

٤.٥: خصائص الرواشح الفطرية بالمواصفات النانوية

خضعت جميع الرواشح الفطرية التي تم تحويلها إلى رواشح نانوية من زنك نانوي وفضة نانوية إلى الأختبارات التي أفادت بالحصول على المواصفات النانوية وكان أول نقطة تحول الى راشح نانوي هو الدالة اللونية وأختلاف في لون الراشح النانوي عن الراشح العادي قبل المعاملة بأوكسيد الزنك أو نترات الفضة ومن ثم أجريت الفحوصات الأخرى المتعلقة بتأكيد الحصول على المادة النانوية (Selvan و Rahiman ،٢٠١٨) و (Reeda و Mohammed ،٢٠٢١) .

تتفق نتائج الراشح النانوي بالزنك لفطر*A.flavus* في تثبيطه لفطر الـ *Rhizopus* مع ما تم التوصل اليه Hameedd (٢٠٢١) عند تحويل المستخلصات المائية والكحولية لفطر المشروم *Agaricus bisporus* إلى مستخلصات نانوية والتي أطلق عليها بالمستخلصات الخضراء و

أظهرت تفوقا في تثبيط نمو الفطرين *Trichophyton rubrum* و *Microsporum Canis* وكان مشابها لتاثير المضاد الفطري Clotrimazole ويأتي التفسير في أنه كلما كان حجم الجسيمات النانوية أصغر كلما كانت أكثر سمية و أعلى نشاط فضلا عن أن ZnO الذي يطلق الـ Zn^{+2} ليخترق غشاء الخلية ذات الشحنة السالبة وتتفاعل مع مجموعة سلفهيدريل داخل غشاء الخلية ونتيجة لذلك يحدث ضرر في جدار الخلية وتفقد قدرتها على النمو وتموت الخلية ، كما تتفق نتائج راشح الفطر *A.oryzea* مع Wani وأخرون (٢٠١٢) عند إستخدامهم الجسيمات النانوية للسيطرة على الأمراض الفطرية المسببة للآفات النباتية ، أما الفطريات الجلدية و *Asergillus niger* التي أظهرت تثبيطا واضحا في نمو*Rhizopus* وتتفق نتائج البحث مع ماتوصل إليه Ali وأخرون(٢٠١٧) ، أذ تم تصنيع بيروكسيد الزنك النانوي وأختباره على مجموعة من البكتريا والفطريات الممرضة منها الجلدية ولوحظ تسجيل أنخفاض معنوي في أنشطة الإيلاستاز والكيراتيناز مع زيادة تركيز ZNO وتمسخ الألبومين وتثبيط البروتين.

أما نتائج الراشح النانوي للفطر*A.minisclerotigenes* تتفق مع Hassan و أخرون (٢٠١٣) أذ كان لتحضير الجسيمات النانوية تأثيرا كبير في إنخفاض مستويات السموم الفطرية وإعاقة النمو الفطري وتثبيط السموم كما وإن الراشح النانوي للفطر *A.tubigensis* أظهر تفاعلا أيجابيا بأتجاه تثبيط نمو الفطر*Rhizopus* في قدرة تحمل الزنك وأمكانية تخليقه خارج الخلية وأظهرت الفحوصات أن الجسيمات النانوية المخلقة من هذا الفطرتمتلك نشاط مضاد للبكتريا أفضل ضد المكورات العنقودية تتفق مع Hefny وأخرون (٢٠١٩) ،أما نتائج الراشح الفطري النانوي *R.americanus* تتفق مع Sumanth وأخرون(٢٠٢٠) والذي يشير إلى تخليق مركب الزنك النانوي من رواشح الفطريات وأظهر فعالية عالية في تثبيط الفطريات الممرضة وتعتمد على الجرعة مع نسبة عالية وكذلك نشاطا كبيرا مضادا للسرطان ضد الخلايا السرطانية عند تراكيز قليلة فضلا عن ذلك فأن المركب الفطري النانوي يتميز بالنقاوة وأيضا تتوافق هذه الدراسة مع Gupta و Chundawat (٢٠٢٠) إذ أن جزيئات أوكسيد الزنك النانوية حفزت إنتاج الإيثانول كعامل مساعد الذي يساعد بالتخمر الكحولي والذي يزيد من فرصة نمو فطر*Rhizopus* ، ويظهر أن الراشح الفطري النانوي للفطر *A.costaricensis* يعزز أهميته الأقتصادية في صناعة وتخمير وإنتاج إنزيمات التحلل المائي مثل الأميليز وإنتاج الأحماض العضوية مثل الستريك ويعد الإنزيم alpha-glucuronidase من الإنزيمات الفعالة ويمكن إعتباره عامل ضراوة تستخدمه الفطريات في تحلل جدران الخلايا النباتية Tamayo-Ordóñez وأخرون(٢٠٢١) وعند إضافة أوكسيد الزنك النانوي تتعزز عمليات التخمر والتحلل المائي وهذا يتوافق مع Jin وأخرون (٢٠٢٠) إذ أثبتوا أن البروتينات والسكريات والأحماض الدهنية قصيرة السلسلة تم تعزيزها بواسطة ZnO NPS أي بمعنى تكون فعالية التثبيط

قليلة لفطر *Rhizopus* لتشابه تفاعلات التخمرالكحولي و يظهر راشح الفطر*A.brasiliensis* الذي يتميز بإفرازه إنزيم البروتياز والذي تم تنقيته يحتوي خصائص إزالة التخثر وبقع الدم ولم تكن حالة التثبيط مرتفعة وهذا يتوافق مع ماتوصل إليه Chimbekujwo وأخرون(٢٠٢٠) عند أختبارهم نشاطات إنزيمية تعود للأميليز والليباز والبروتياز المستخرج من عزلة فطر *Aspergillus* عند معالجة هذه الإنزيمات بأوكسيد الزنك النانوي لم يلاحظ أي تغيير في نشاطه بأستثناء الأميليز الذي تم تثبيطه تماما ،أما نتائج راشح الفطر*A.piperis* الذي يتميز بنشاط إنزيمي متعدد خارج الخلية مثل الكيتيناز والفوسفوليباز والبروتياز وكذلك يتميز بنشاطه العدائي والمثبط للفطر الممرض *Fusarium oxysporum* El-Debaiky وEl-Badry (٢٠٢١) وعند إضافة أوكسيد الزنك إلى الراشح تنخفض فعالية ونشاط هذه الإنزيمات وهذا يتوافق مع Jalal وأخرون(٢٠١٨)كما تتفق نتائج تثبيط الراشح الفطري *Microsporum gypsum* مع نتائج Anasane وأخرون(٢٠١٦) أذ لوحظ التثبيط التام للفطر الجلدي *M.gypsum* عند معاملتها بجسيمات الفضة النانوية AgNPs وأعتبارها عامل مضاد لنموها وكذلك عند تحضيرها من خلال الإختزال الكيميائي لأيونات الفضة بوجود الإيثانول (أحد مكونات الفطر) تظهر الفضة النانوية بدورها عامل مضاد ضد المكورات العنقودية والمكورات العنقودية الذهبية والزائفة Das وNath (٢٠١١) وأيضا تتفق هذه الدراسة مع Lateef وأخرون(٢٠١٥) عند إستخدامهم إنزيم الكيراتينيز من سلالة بكتريا *Bacillus safensis* في تخليق جزيئات الفضة النانوية .

أما نتيجة الراشح الفطري *Epidermophyton floccosum* تتفق مع Moazeni وأخرون (٢٠١٢) إذ يمكن تخليق جسيمات الفضة النانوية خارج الخلايا الفطرية للفطريات الجلدية بكفاءة عالية فضلا عن عملية التخليق تكون أبسط وأسهل في الرواشح الفطرية ، تتفق نتيجة الراشح الفطري *Trichophyton rubrum* نفس الباحث أعلاه مع Moazeniوأخرون(٢٠١٢)وكذلك الأنواع التي تنتمي إلى جنس واحد من الفطريات لها قدرة متغيرة على تخليق جزيئات الفضة النانوية ،وأيضا تتفق هذه الدراسة مع Pereira وأخرون(٢٠١٤) إذ تم تصنيع المركب AgNPs بطريقة الإختزال الكيميائي بإستخدام الجلوكوز في مرشح خالي من الخلايا وأعطى نشاط مضاد للفطريات أعلى من فلوكانوزول (عقار طبي لعلاج الفطريات الجلدية) ،وأشارت نتائج الراشح الفطري *Aspergillus piperis* . والتي تتفق مع Mishra وأخرون(٢٠١٥) أذ أوضحوا أن التخليق الحيوي للجسيمات النانوية بعمليات الأكسدة والإختزال يعد تفاعل رئيسي أذ تلتقط الإنزيمات الأيونات المستهدفة وتقييدها على سطح الخلايا وتقليل الأيونات في وجود أنزيمات مثل الهيدروجيناز وأيضا تتفق هذه الدراسة مع Namasivayamوأخرون(٢٠١٦) إذ تم تثبيط نشاط إنزيمات خارج خلوية كأميليز وبروتياز والليباز والسليلوز الذي يعد إنزيم نشط في فطر*Aspergillus pipper* كذلك يعد هذا الفطر من

المضادات الجديدة ضد الفطريات المسببة للأمراض النباتية لإمتلاكه قدرة مكافحة حيوية El-Debaiky(٢٠١٧) ، أما نتيجة الراشح الفطري *Aspergillus minisclerotigenes* تتوافق مع Mousavi و Pourtalebi (٢٠١٥) إذ إن الافلاتوكسينات نواتج فطرية خطيرة عند معاملتها بجسيمات الفضة أظهرت النتائج تثبيط الأفلاتوكسينات و تعتمد نسبة التثبيط على تركيز جسيمات الفضة النانوية إذ تكون مثبطة للسموم عند التراكيز العالية وهذا يتوافق مع ماتوصل إليه El-Desouky وAmmar (٢٠١٦) ، ويتخذ الراشح الفطري *Rhizopus am ericanus* بنفس ماذهب إليه Singh (٢٠١٤) إذ أثبت إن الكيتين يرفع من قدرة الفطر في القضاء على الميكروبات عند إضافة جسيمات الفضة النانوية إليه وبما إن الكيتين يعد جزء أساسي من الفطريات لذلك يلعب دورا هاما في القدرة التضادية و تم إختباره على بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* بعد تعرضها لمدة ساعة ونصف لمضادات الميكروبات المحتوية على الكيتين معامل بجسيمات الفضة النانوية ، وفيما يتعلق بالراشح الفطري *Microsporum canis* تتوافق مع Al-Jobory وأخرون(٢٠٢٠) إذ أظهرت نتائجهم التأثير التثبيطي ل *M.canis* بشكل كبير فضلا عن راشح الفطر يزيد من سمية الفضة وبالتالي يعمل على تثبيط *Rhizopus* Moazeni وأخرون(٢٠١٢) نتيجة الراشح الفطري *Aspergillus welwitschiae* تتفق مع Sain(٢٠٢٢) إذ أستخدم هذا الفطر في تصنيع علاج نانوي صديق للبيئة مصنع يستهدف المكورات العنقودية الذهبية التي تعد أكثر مسببات الأمراض البشرية شيوعا وظهور سلالات مقاومة للمضادات الحيوية .أما نتيجة الراشح الفطري *Aspergillus niger* تتفق مع Gade وأخرون(٢٠٠٨) إذ تم إستخدام الراشح الفطري المضاف إليه جسيمات الفضة النانوية وأظهر المحلول نشاطا مضادا للبكتريا موجبة الغرام *Staphylococcus aureus* وسالبة الغرام *Escherichia coli* وأظهر الفحص الطيفي وجود بروتين فطري حول جسيمات الفضة النانوية وبالتالي زيادة ثباتها في المعلق فضلا عن حجم الجسيمات النانوية يتراوح بين ٣٠-٣ نانومتر وهذا يساعد على إعطاء فعالية أكثر للراشح الفطري النانوي وسرعة التخليق الحيوي Jaidev و Narasimha (٢٠١٠). أما نتيجة الراشح الفطري *Aspergillus flavus* تتفق مع Jain وأخرون(٢٠١١) إذ تم تصنيع راشح فطري من هذا الفطر مضاف إليه جسيمات الفضة النانوية وأوضحت الفحوصات وجود نوعين من البروتينات خارج الخلية المسوؤلة عن تخليق وأستقرار الجسيمات النانوية فضلا عن ذلك أظهرت الجسيمات النانوية المصنعة من راشح هذا الفطر نشاطا قويا مضادا للأكسدة والسمية الخلوية حسب ماذكره Sulaiman وأخرون(٢٠١٥) ، إن ما تم ذكره من تجارب حول الفطر *Aspergillus costar censis* بأنه من الفطريات الخيطية المقاومة للمعادن الثقيلة ويتميز بإمتصاصه العناصر الثقيلة مثل الرصاص والزئبق والنحاس والزنك Văcar وأخرون(٢٠٢١) وهذا يعطيه صفة تقليل سمية جسيمات الفضة

النانوية وبالتالي ينعكس على تقليل نسبة التثبيط عند تعرضها لنترات الفضة . و تلعب الإنزيمات والمستقلبات إلى تقليل أيونات +Ag السامة الى AgNPs المعدنية غير السامة من خلال التأثير التحفيزي للإنزيمات وكذلك يمكن الأستفادة من هذا النوع من الفطريات في ترشيح ممتاز لإنتاج جسيمات الفضة النانوية على نطاق صناعي Vahabi وأخرون (٢٠١١) ، أما نتيجة الراشح الفطري *Aspergillus oryza* تتوافق مع Pereira وأخرون(٢٠١٤) إذ تم تخليق محلول نانوي من راشح الفطر وإستخدامه كعوامل مضادة للفطريات الجلدية وبالتحديد *Trichophyton rubrum* وأيضا التركيز المتوسط يعطي فعالية تثبيطية وهذا يتفق مع Elamawi وأخرون(٢٠١٨) وكذلك أوضحت الفحوصات أنتاجية عالية للجسيمات النانوية الفضية من راشح الفطر وتجانسها بالمحلول (Binupriya وأخرون ،٢٠١٠)

أما نتيجة الراشح الفطري *A.brasiliensis* تتوافق مع Omran وأخرون(٢٠١٨) أثبتت دراستهم أن هذا الفطر لديه أمكانات جيدة للتخليق الفطري لAgNPs والتي أظهرت تأثيرا جيدا للميكروبات المسببة للأمراض المختلفة منها *Bacillus subtilis* و *Staphylococcus aureus* و *Pseudomonas aeruginosa* فضلا عن ذلك يتميز هذا الفطر بإنتاجه إنزيم الزيلاناز وبيتا زيلوزيداز المقاوم للحرارة والتي تم تحديدها حديثا غير المنتجة للأوكراتوكسين Pedersen وأخرون(٢٠٠٧) التي لم يحدث لها أي تثبيط من قبل جسيمات الفضة النانوية Namasivayam وأخرون (٢٠١٦) ويعد هذا الإنزيم فعال وذو تأثير على تحسين عملية الأستزراع لفطر *Rhizopus stolonifer* والذي يعد أحد إنزيماته الفعالة Zhang وأخرون(٢٠١٣) أما الراشح الفطري الأخير الذي أعطى أعلى معدل نمو *Aspergillus tubigensis* تتفق النتيجة مع ماتوصل إليه Rodrigues وأخرون (٢٠٢١) إذ تم تصنيع الجسيمات النانوية بإستخدام راشح هذا الفطر وإستخدامه بتثبيط تكوين *Bacillus subtilis biofilm* بتركيزات منخفضة ،أما الإنزيم الرئيسي الذي ينتجه هذا الفطر exoinulinase والفركتوز كمنتج نهائي للتحلل المائي للأنولين Trivedi وDivecha (٢٠١٢) فضلا عن عملية تخليق جسيمات الفضة النانوية رفعت من مستوى نشاط هذا الإنزيم لقدرته على أمتصاصها Kilimci وأخرون(٢٠٢١). بصورة عامة يمكن للجسيمات النانوية إن تثبط من نمو فطر *Rhizopus stolonifer* مهما كان نوع المحلول الذي تم توليفها عن طريقه (ZnO) و(MgO)، لوحظ من الدراسة إن جميع الجسيمات النانوية بتركيزات مختلفة أدت إلى تثبيط كبير في إنبات جراثيم فطريات مختلفة من ضمنها الفطر *Rhizopus stolonifer* (Wani وShah ،٢٠١٢) .وقد لوحظ أن التركيزات المنخفضة لجسيمات الزنك النانوية ذات سمية وفعالية أكثر وهذا يتوافق مع Dutta

وأخرون (٢٠١٣) عندما قاموا بأستزراع E.coli وأظهر التعرض لجسيمات الزنك النانوية ذات التركيزات المنخفضة تثبيط أعلى للنمو وقد تم رصد تشوه جدار الخلية وزيادة سمية الزنك .

٥.٥ الصفات المجهرية لفطر *Rhizopus stolonifer* المعامل بالرواشح المختلفة

أجريت العديد من الفحوصات المجهرية على الفطريات المدروسة وأوضحت تأثير المعاملات المختلفة على الغزول الفطرية وشكل الحوافظ البوغية وأعدادها والتشوهات الحاصلة فيها ، فضلا عن أعدادها وسمك الحافظة ، وتباين نضجها ، فضلا عن الحوامل البوغيةالتي أتصفت بالتشوه في أغلب المعاملات وضعف قطرها وأنحنائها بدلا من أنتصابها ، وقد وصل الحال في بعض المعاملات إلى تشوه وتكتل وأنفجار الخلايا نتيجة لعدم مقاومة الضغط الأنتفاخي العالي الذي حصل نتيجة لتسمم الوسط .

الفصل السادس

الأستنتاجات والتوصيات

Conclusions and Recommendations

الفصل السادس: الإستنتاجات والتوصيات

١.٦ الإستنتاجات

١) أن أغلبية المتعافين من مرض كوفيد -١٩ والأشخاص الأصحاء أوضحت عزلات من القشع لديهم فطر *Aspergillus*بنسبة أكثر من *Rhizopus*يشير إلى مدى خطورة هذا الفطر وتكيفه مع مختلف أنواع البيئات وقد يتحول إلى ممرض عند ضعف المناعة .

٢) . اظهرت نتائج التشخيص الجزيئي عن التقارب والتشابه بين الفطريات المسجلة مع العزلات العالمية .

٣) اظهرت نتائج التضاد الفطري حصول تباين في القدرة التضادية للفطريات المستخدمة في الدراسة حيث بلغت ٣ حسب مقياس Bell.

٤) تحويل الفطريات إلى رواشح فطرية أظهر تباين في نمو فطر *Rhizopus*حسب التراكيز المستخدمة ووجود فروقات معنوية عند مستوى أحتمالية ٠.٠٥ لنوع راشح الفطر وتركيزه أذ لوحظ تذبذب تأثير الرواشح الفطرية لكن بصورة عامة جميعها قد ثبطت نمو الفطر *Rhizopus* أظهر الراشح الفطري العادي بالتركيز٧٥% تفوقا على التراكيز ١٠٠،%٥٠،%٢٥% في تأثيره التثبيطي على نمو *Rhizopus* وأظهر الراشح الفطري *Asergillus pipers* تفوقا على باقي الانواع الفطرية في تثبيط

٥) أثبتت الرواشح الفطرية بالزنك النانوي قدرتها على تثبيط فطر *Rhizopus* اما تركيز الراشح الفطري النانوي فقد اظهر التركيز ٢٥% تفوقا على التراكيز ٥٠% ، ٧٥ %، ١٠٠% في تاثيره التثبيطي في نمو الفطر *Rhizopus* وبفروقات معنوية عند مستوى ٠.٠٥ وأظهر الراشح الفطري النانوي للفطر *Aspergillus flavus* تفوقا على باقي الانواع الفطرية

٦) أثبتت الرواشح الفطرية بالفضة النانوية قدرتها على تثبيط فطر*Rhizopus* وان هناك فروقات معنوية عند مستوى أحتمالية ٠.٠٥ لنوع راشح الفطرالنانوي المعامل بالفضة وتركيزه أذ أن تركيز الراشح الفطري النانوي٥٠% أظهر تفوقا على التراكيز ٢٥% ،٧٥% ،١٠٠% في تأثيره التثبيطي على نمو *Rhizopus* وأظهر الراشح الفطري النانوي للفطر الممرض الجلدي *Microsporum gypsum* تفوقا على باقي الانواع الفطرية

٧) أثبتت المحاليل النانوية قدرتها في تثبيط نمو *Rhizopus* بإستخدام الرواشح الفطرية وتحويلها إلى رواشح معاملة بالفضة والزنك النانوي .

٢.٦ التوصيات

١) دراسة وتحديد المركبات الكيميائية للرواشح الفطرية التي أظهرت تثبيطا لنمو *Rhizopus*

٢) التوجه إلى تحويل الرواشح الفطرية إلى رواشح نانوية لما تمتلكه هذه الرواشح من مميزات في المقاومة الأحيائية والمرضية فضلا عن أنها صديقة للبيئة .

٣) تطبيق هذه التجارب المختبرية على بعض الحيوانات المختبرية .

٤) من الممكن إستخدام الفطريات التي ثبطت من نمو*Rhizopus* في المجال الطبي للحد من أنتشار الغزل الفطري في مناطق الإصابة.

المصادر

المصادرالعربية

الجبوري ،سعدية ياسر عوفي .(٢٠٠٣) . حياتية و أمراضية بعض أنواع الفطر *Fusarium* spp. في حقول الرز . رسالة ماجستير .كلية العلوم – جامعة بابل .

الزبيدي،عايد نعمة عويد ، وجيه مظهرالسلامي ،هادي عبد الجليل نعاس .(٢٠١٠). تأثير تراكيز مختلفة من الراشح الفطري *Aspergillus niger* **في** حوريات وبالغات حشرة الذبابة البيضاء ، الكلية التقنية/ المسيب -جامعة بابل.مجلة الفرات للعلوم الزراعية-٢(٣):١٧٦-١٨٢.

السهيلي ، أبراهيم عزيز خالد ، قيصر نجيب صالح وعبداللطيف سالم أسماعيل . (١٩٨٠). الفطريات . مؤسسة دار الكتب للطباعة والنشر- جامعة الموصل . صفحة ٣٢٠.

الطائي ، أزهر حميد فرج .(٢٠١٤) .تأثير بعض أنواع *Aspergillus* spp. والفطر *Trichoderma hamatum* في نمو نبات الخيار *Cucumis sativus* المزروع في أوساط زرعية بديلة .أطروحة دكتوراة .كلية الزراعة –جامعة الكوفة .

راضي ، وسام عدنان ،شوكت عبد الكريم ، دينا حسين هاتف .(٢٠٠٩) .دور الفطر *Asprrgillus niger* في حماية محصول الطماطة من الأصابة ببعض الفطريات المرافقة له والفطر *Rhizoctonia solani* المسببة لمرض تعفن البذور وموت بادرات الطماطة .

قاسم ،علي عبد الواحد ،أنفال عبد الرزاق الرحيماوي .(٢٠٢٠). اختبار التضاد الفطري بين الفطرين الاحيائيين *Trichoderma harzianum* و *T.viride* وبعض الفطريات الصائدة للنيماتود على الاوساط الصلبة ،كلية العلوم-جامعة ميسان/مجلة أبحاث ميسان –المجلد ١٥ ،العدد ٣١ ،السنة ٢٠٢٠.

المصادر الأجنبية

Abdel-Aziz, Shadia M., Ram Prasad, Ahmed A. Hamed, and Mohamed Abdelraof.(٢٠١٨). "Fungal Nanoparticles: A Novel Tool for a Green Biotechnology?" Fungal Nanobionics: Principles and Applications ٦١–٨٧.

AbdelRahim, K., Mahmoud, S. Y., Ali, A. M., Almaary, K. S., Mustafa, A. E. Z. M., & Husseiny, S. M. (٢٠١٧). Extracellular biosynthesis of silver nanoparticles using *Rhizopus stolonifer*. Saudi journal of biological sciences, ٢٤(١), ٢٠٨-٢١٦.

Abdelkader, D. H., Negm, W. A., Elekhnawy, E., Eliwa, D., Aldosari, B. N., & Almurshedi, A. S. (٢٠٢٢). Zinc Oxide Nanoparticles as Potential Delivery Carrier: Green Synthesis by *Aspergillus niger* Endophytic Fungus, Characterization, and In Vitro/In Vivo Antibacterial Activity. Pharmaceuticals, ١٥(٩), ١٠٥٧.

Achterman, R. R., & White, T. C. (٢٠١٢). Dermatophyte virulence factors: identifying and analyzing genes that may contribute to chronic or acute skin infections. International Journal of Microbiology, ٢٠١٢.

Afzal, Hina, Saleem Shazad, and Syeda Qamar Un Nisa. (٢٠١٣.) "Morphological Identification of Aspergillus Species from the Soil of Larkana District (Sindh, Pakistan)." Asian Journal of Agriculture and Biology ١(٣):١٠٥–١٧.

Agbetile, J., Fairs, A., Desai, D., Hargadon, B., Bourne, M., Mutalithas, K., … Kulkarni, N. S. (٢٠١٢). Isolation of filamentous fungi from sputum in asthma is associated with reduced post-bronchodilator FEV١. Clinical & Experimental Allergy, ٤٢(٥), ٧٨٢–٧٩١.

Ahmed, A., Rauf, A., Hemeg, H. A., Qureshi, M. N., Sharma, R., Aljohani, A. S., ... & Rahman, M. M. (٢٠٢٢). Green synthesis of gold and silver nanoparticles using Opuntia dillenii aqueous extracts: characterization and their antimicrobial assessment. Journal of Nanomaterials, ٢٠٢٢, ١-١٧.

Ali, S. S., Morsy, R., El-Zawawy, N. A., Fareed, M. F., & Bedaiwy, M. Y. (٢٠١٧). Synthesized zinc peroxide nanoparticles (ZnO٢-NPs): A novel antimicrobial, anti-elastase, anti-keratinase, and anti-inflammatory approach toward polymicrobial burn wounds. International Journal of Nanomedicine, ١٢, ٦٠٥٩–٦٠٧٣.

Al-Khikani, F. H. O. (٢٠٢١). Mucormycosis “Black Fungus” new challenge associated with COVID ١٩. Biomedical and Biotechnology Research Journal (BBRJ), ٥(٣), ٢٦٧.

Al-Masoodi, N.(٢٠٢١). Morphological and Molecular characteristics of some dermatophyte fungi in Karbala Province and evaluation of the *Marasmius palmivorus* filtrate and leaf extract of *Moringa oleifera* on the growth and on gene expression of *Trichophyton rubrum* A. Kerbala.

Al-Masaoodi, N. N. H., Abood Al-Janabi, J. K. and Mohammed, B. T. (٢٠٢٠) “Molecular characterization and gene expression profiling of *Trichophyton rubrum* treated with a *Marasmius palmivorus* filtrate,” Drug Invention Today, ١٤(٦), pp. ٨٧٧–٨٨٨.

Al-Jobory, H. S., Hasan, K. M. A., & Alkaim, A. F. (٢٠٢٠). Antifungal effect of silver nanoparticles on dermatophytes isolated from clinicalspecimens. *Plant Arch*, ٢٠, ٢٨٩٧–٢٩٠٣.

Al-Zubaidi, S., Al-Ayafi, A., & Abdelkader, H. (٢٠١٩). Biosynthesis, characterization and antifungal activity of silver nanoparticles by *Aspergillus niger* isolate. Journal of Nanotechnology Research, ١(١), ٢٣-٣٦.

Al-Dhabi, N. A., & Valan Arasu, M. (٢٠١٨). Environmentally-friendly green approach for the production of zinc oxide nanoparticles and their anti-fungal, ovicidal, and larvicidal properties. Nanomaterials, ٨(٧), ٥٠٠.

Al-janabi, A. A. H. S. (٢٠٠٩). Degradation of Ethanol by Two Species of Dermatophytes : *Trichophyton mentagrophytes* and *Epidermophyton floccosum.* Global Journal of Biotechnology & Biochemistry, ٤(٢), ١٤٨–١٥١.

Ammar, H. A. M., & El-Desouky, T. A. (٢٠١٦). Green synthesis of nanosilver particles by *Aspergillus terreus* HA ١N and *Penicillium expansum* HA ٢N and its antifungal activity against mycotoxigenic fungi . Journal of applied microbiology, ١٢١(١), ٨٩-١٠٠.

Anasane, N., Golińska, P., Wypij, M., Rathod, D., Dahm, H., & Rai, M. (٢٠١٦). Acidophilic actinobacteria synthesised silver nanoparticles showed remarkable activity against fungi-causing superficial mycoses in humans. *Mycoses*, ٥٩(٣), ١٥٧–١٦٦.

Bashi, A. M., Hussein, M. Z., Zainal, Z., & Tichit, D. (٢٠١٣). Synthesis and controlled release properties of ٢, ٤-dichlorophenoxy acetate–zinc layered

hydroxide nanohybrid. Journal of Solid State Chemistry, ٢٠٣, ١٩-٢٤.

Bell, D. K., Wells, H. D. and Markham, C. R. (١٩٨٢) "In vitro antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens.," Phytopathology, ٧٢(٤), pp. ٣٧٩–٣٨٢.

Bhadra, Abhishek, Md Sharfuddin Ahmed, Mohammed Atiqur Rahman, and Samprity Islam.(٢٠٢١). "Mucormycosis or Black Fungus: An Emerging Threat in COVID-١٩." Bangabandhu Sheikh Mujib Medical University Journal ٥١–٥٦.

Binupriya, A. R., Sathishkumar, M., & Yun, S.-I. (٢٠١٠). Myco-crystallization of silver ions to nanosized particles by live and dead cell filtrates of *Aspergillus oryzae* var. viridis and its bactericidal activity toward *Staphylococcus aureus* KCCM ١٢٢٥٦. Industrial & Engineering Chemistry Research, ٤٩(٢), ٨٥٢–٨٥٣.

Birla, S. S., V. V Tiwari, A. K. Gade, A. P. Ingle, A. P. Yadav, and M. K. Rai.(٢٠٠٩). "Fabrication of Silver Nanoparticles by Phoma Glomerata and Its Combined Effect against *Escherichia Coli*, *Pseudomonas Aeruginosa* and *Staphylococcus Aureus."* Letters in Applied Microbiology ٤٨(٢):١٧٣–٧٩.

Burdová, Petra.(٢٠١٤). "Monitoring Přenosu Mykotického Infekčního Agens z Domácího Zvířete Na Člověka*."* Univerzita Hradec Králové.

Carmen V. Sciortino, Jr. (٢٠١٧). Atlas of Clinically Important Fungi. Canada: John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey Published.

Castro-Longoria, E., Alfredo R. Vilchis-Nestor, and M. Avalos-Borja.(٢٠١١). "Biosynthesis of Silver, Gold and Bimetallic Nanoparticles Using the Filamentous Fungus *Neurospora Crassa*." Colloids and Surfaces B: Biointerfaces ٨٣(١):٤٢–٤٨.

Choudhary, Naveen Kumar, Amit K. Jain, Rupesh Soni, and Neha Gahlot. (٢٠٢١). "Mucormycosis: A Deadly Black Fungus Infection among COVID-١٩ Patients in India." Clinical Epidemiology and Global Health ١٢:١٠٠٩٠٠.

Challa, Sundaram.(٢٠١٩). "Mucormycosis: Pathogenesis and Pathology." Current Fungal Infection Reports ١٣:١١–٢٠.

Chimbekujwo, K. I., Ja'afaru, M. I., & Adeyemo, O. M. (٢٠٢٠). Purification, characterization and optimization conditions of protease produced by *Aspergillus brasiliensis* strain BCW٢. *Scientific African*, ٨, e٠٠٣٩٨.

Cornely, Oliver A., Ana Alastruey-Izquierdo, Dorothee Arenz, Sharon C. A. Chen, Eric Dannaoui, Bruno Hochhegger, Martin Hoenigl, Henrik E. Jensen, Katrien Lagrou, and Russell E. Lewis.(٢٠١٩). "Global Guideline for the Diagnosis and Management of Mucormycosis: An Initiative of the European Confederation of Medical Mycology in Cooperation with the Mycoses Study Group Education and Research Consortium." *The Lancet Infectious Diseases* ١٩(١٢):e٤٠٥–٢١.

Cook, R. James and Kenneth Frank Baker.(١٩٨٣). The Nature and Practice of Biological Control of Plant Pathogens. American Phytopathological Society.

Damann Jr, K. E.(٢٠١٥). "Atoxigenic *Aspergillus Flavus* Biological Control of Aflatoxin Contamination: What Is the Mechanism?" World Mycotoxin Journal ٨(٢):٢٣٥–٤٤.

Das, R., Gang, S., & Nath, S. S. (٢٠١١). Preparation and antibacterial activity of silver nanoparticles. J Biomater Nanobiotechnol, ٢(٤), ٤٧٢.

Daba, G. M., Mostafa, F. A., & Elkhateeb, W. A. (٢٠٢١). The ancient koji mold (*Aspergillus oryzae)* as a modern biotechnological tool. Bioresources and Bioprocessing.

Dinesh, B., Chethan, M. U., Pratap, G. K., Poyya, J., Shantaram, M., Hampapura, J. S., ... & Joshi, C. G. (٢٠٢١). Biogenic Synthesis of Silver Nanoparticles using *Aspergillus* Aureoles (Endophyte) and Demonstration of their Anti-microbial Activity. Analytical Chemistry Letters, ١١(٦), ٨٩٩-٩١٠.

Dutta, R. K., Nenavathu, B. P., Gangishetty, M. K., & Reddy, A. V. R. (٢٠١٣). Antibacterial effect of chronic exposure of low concentration ZnO nanoparticles on *E. coli*. Journal of Environmental Science and Health, Part A, ٤٨(٨), ٨٧١-٨٧٨.

Erwig, Lars P. and Neil A. R. Gow.(٢٠١٦). "Interactions of Fungal Pathogens with Phagocytes." Nature Reviews Microbiology ١٤(٣):١٦٣–٧٦.

Elshafei, A. M., Othman, A. M., Elsayed, M. A., Al-Balakocy, N. G., & Hassan, M. M. (٢٠٢١). Green synthesis of silver nanoparticles using *Aspergillus oryzae* NRRL٤٤٧ exogenous proteins: optimization via central composite design, characterization and biological applications. Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management, ١٦, ١٠٠٥٥٣.

El-Kahky, D., Attia, M., Easa, S. M., Awad, N. M., & Helmy, E. A. (٢٠١٩). Biosynthesized of zinc oxide nanoparticles using *Aspergillus terreus* and their application as antitumor and antimicrobial activity. Glob. Adv. Res. J. Agric. Sci, ٨, ٩٠-١٠٠.

El-Debaiky, S. A. (٢٠١٧). Antagonistic studies and hyphal interactions of the new antagonist *Aspergillus piperis* against some phytopathogenic fungi in vitro in comparison with *Trichoderma harzianum.* Microbial Pathogenesis, ١١٣, ١٣٥–١٤٣.

El-Debaiky, S. A. E.-K., & El-Badry, S. M. A. (٢٠٢١). Lytic Enzymes of *Aspergillus piperis* as a Tool for Attacking Some Phytopathogenic Fungi In vitro with Special Reference to its Cytotoxicity. Journal of Pure and Applied Microbiology, ١٥(٤), ١٩٤٧–١٩٥٧.

El-Desouky, T. A., & Ammar, H. A. M. (٢٠١٦). Honey mediated silver nanoparticles and their inhibitory effect on aflatoxins and ochratoxin A. Journal of Applied Pharmaceutical Science, ٦(٦), ٨٣–٩٠.

Elamawi, R. M., Al-Harbi, R. E., & Hendi, A. A. (٢٠١٨). Biosynthesis and characterization of silver nanoparticles using *Trichoderma longibrachiatum* and their effect on phytopathogenic fungi. Egyptian Journal of Biological Pest Control, ٢٨(١), ١–١١.

Farooq, M., M. Hassan, and F. Gull. ٢٠١٥. "Is Correct (٢٠١٥) Mycobial Deterioration of Stone Monuments of Dharmarajika, Taxila." J Microbiol Exp ٢(١):٣٦.

Ferguson, Berrylin J.(٢٠٠٠). "Mucormycosis of the Nose and Paranasal Sinuses." Otolaryngologic Clinics of North America ٣٣(٢):٣٤٩–٦٥.

Foudaa, A., Saad, E. L., Elgamala, M. S., Mohmedb, A. A., & Salema, S. S. (٢٠١٧). Optimal factors for biosynthesis of silver nanoparticles by *Aspergillus* sp. Azhar bulletin of science, confe

Frisvad, Jens C., Giancarlo Perrone, Antonia Susca, Martin Meijer, and Robert A. Samson.(٢٠٠٧). "*Aspergillus Brasiliensis* Sp . Nov ., a Biseriate Black *Aspergillus* Species with World-Wide Distribution Printed in Great Britain." ١٩٢٥–٣٢.

Gandra, Sumanth, Sanjay Ram, and Stuart M. Levitz.(٢٠٢١). "The 'Black Fungus' in India: The Emerging Syndemic of COVID-١٩–Associated Mucormycosis." Annals of Internal Medicine ١٧٤(٩):١٣٠١–٢.

Gade, A. K., Bonde, P. P., Ingle, A. P., Marcato, P. D., Duran, N., & Rai, M. K. (٢٠٠٨). Exploitation of *Aspergillus niger* for synthesis of silver nanoparticles. Journal of Biobased Materials and Bioenergy, ٢(٣), ٢٤٣–٢٤٧.

Gerena Montano, L. O., & Vilaro, F. (٢٠١٨). Unusual opportunistic co-infections in aids patient. Journal of investigative medicine, ٦٦(٢), ٤٥٩. Bmj publishing group british med assoc house, tavistock square, london. wc١h .

Ghisalberti, E. L., Narbey, M. J., Dewan, M. M., & Sivasithamparam, K. (١٩٩٠). Variability among strains of *Trichoderma harzianum* in their ability to reduce take-all and to produce pyrones. *Plant and Soil*, ١٢١, ٢٨٧–٢٩١.

Ghosh, Deganta, Sagardeep Dey, Himanko Chakraborty, Sneha Mukherjee, Ankita Halder, Akash Sarkar, Pallab Chakraborty,Rajdeep Ghosh, and Joy Sarkar.(٢٠٢٢). "Mucormycosis: A New Threat to Coronavirus Disease ٢٠١٩ with Special Emphasis on India." Clinical Epidemiology and Global Health ١٠١٠١٣.

Goncalves, David M., Rafael de Liz, and Denis Girard.(٢٠١١). "Activation of Neutrophils by Nanoparticles." The scientific world journal ١١:١٨٧٧–٨٥.

Gond, S. K., Mishra, A., Verma, S. K., Sharma, V. K., & Kharwar, R. N. (٢٠٢٠). Synthesis and characterization of antimicrobial silver nanoparticles by an endophytic fungus isolated from Nyctanthes arbor-

tristis. Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences, ٩٠(٣), ٦٤١-٦٤٥.

Grossman, M. E., L. P. Fox, C. Kovarik, and M. Rosenbach.(٢٠١٢). "Subcutaneous and Deep Mycoses: Zygomucosis/Mucormycosis. Cutaneous Manifestations of Infection in the Immunocompromised Host."

Gunalan, S., Sivaraj, R. and Rajendran, V. (٢٠١٢) "Green synthesized ZnO nanoparticles against bacterial and fungal pathogens," Progress in Natural Science: Materials International. Elsevier, ٢٢(٦), pp. ٦٩٣–٧٠٠. doi: ١٠.١٠١٦/j.pnsc.٢٠١٢.١١.٠١٥.

Gupta, K., & Chundawat, T. S. (٢٠٢٠). Zinc oxide nanoparticles synthesized using *Fusarium oxysporum* to enhance bioethanol production from rice-straw. Biomass and Bioenergy, ١٤٣, ١٠٥٨٤٠.

Gudikandula, K., Vadapally, P., &Charya, M. S. (٢٠١٧). Biogenic synthesis of silver nanoparticles from white rot fungi: Their characterization and antibacterial studies. OpenNano, ٢, ٦٤-٧٨.

Guimarães, L. H. S., Peixoto-Nogueira, S. C., Michelin, M., Rizzatti, A. C. S., Sandrim, V. C., Zanoelo, F. F., … Polizeli, M. D. L. T. M. (٢٠٠٦). Screening of filamentous fungi for production of enzymes of biotechnological interest. Brazilian Journal of Microbiology, ٣٧(٤).

Guo, J., Brosnan, B., Furey, A., Arendt, E., Murphy, P., & Coffey, A. (٢٠١٢). Antifungal activity of Lactobacillus against *Microsporum canis*, *Microsporum gypseum* and *Epidermophyton floccosum*. Bioengineered, ٣(٢), ١٠٤–١١٣.

Hameedd, N. W. (٢٠٢١). Effect of nanocarriers prepared from *Agaricus bisporus mushrooms* on the two *mushrooms Trichophyton rubrum* and *Microsporum canis* A. ١٧٦.

Hariprasath, P. and C. Arunaloke.(٢٠١٩). "Epidemiologia Global Da Mucormicose." Journal of. Fungi ٥(١):٢٦.

Hage, C. A., M. Goldman, and L. J. Wheat.(٢٠٠٢). "Mucosal and Invasive Fungal Infections in HIV/AIDS." European Journal of Medical Research ٧(٥):٢٣٦–٤١.

Hartung, Thomas.(٢٠١٠). "Food for Thought... on Alternative Methods for Nanoparticle Safety Testing." *Alternatives to Animal Experimentation: ALTEX* ٢٧(٢):٨٧–٩٥.

Hassan, A. A., Howayda, M. E., & Mahmoud, H. H. (٢٠١٣). Effect of zinc oxide nanoparticles on the growth of some mycotoxigenicmould. Stud Chem Process Technol, ١(٤), ٦٦–٧٤.

Hamodi, S. J. and F. M. Hussein.(٢٠١١). "Effect of supplementing different levels sources of phytase enzyme to the japanese quail diets on productivity.".

Hefny, M. E., El-Zamek, F. I., El-Fattah, A., & Mahgoub, S. A. M. (٢٠١٩). Biosynthesis of zinc nanoparticles using culture filtrates of *Aspergillus*, *Fusarium* and *Penicillium* fungal species and their antibacterial properties against gram-positive and gram-negative bacteria. Zagazig Journal of Agricultural Research, ٤٦(٦), ٢٠٠٩–٢٠٢١.

Holmes, Timothy R., Jenny L. Hepschke, Ian Jacobson, and Anthony Maloof. (٢٠٢١). "Mucormycosis: Early Treatment Is the Key to Survival." Med J Aust ٢١٥(٩):٤٠١–٣.

Homei, A. (٢٠٠٦). Medical mycology development and epidemiology in the USA, UK and Japan. Medical Mycology, ٤٤(Supplement_١), S٣٩–S٥٤.

Huang, D., Song, Y., Liu, Y., & Qin, Y. (٢٠١٩). A new strain of *Aspergillus tubingensis* for high-activity pectinase production. Brazilian Journal of Microbiology, ٥٠, ٥٣–٦٥.

Hyde, K. D., Xu, J., Rapior, S., Jeewon, R., Lumyong, S., Niego, A. G. T., Stadler, M. (٢٠١٩). The amazing potential of fungi: ٥٠ ways we can exploit fungi industrially. Fungal Diversity, Vol. ٩٧.

Issa, M. A. (٢٠٢٢). Rapid enzymatically reduction of zincum gluconicum for the biomanufacturing of zinc oxide nanoparticles by mycoextracellular filtrate of *penicillium digitatum* (Pdig-B٣) as a soft green technique. Archives of Razi Institute, ٧٧(١), ١٠١.

Jalal, M., Ansari, M. A., Ali, S. G., Khan, H. M., & Rehman, S. (٢٠١٨). Anticandidal activity of bioinspired ZnO NPs: effect on growth, cell morphology and key virulence attributes of *Candida* species. Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology, ٤٦(sup١), ٩١٢–٩٢٥.

Jain, N., Bhargava, A., Majumdar, S., Tarafdar, J. C., & Panwar, J. (٢٠١١). Extracellular biosynthesis and characterization of silver nanoparticles using *Aspergillus flavus* NJP٠٨: a mechanism perspective. Nanoscale, ٣(٢), ٦٣٥–٦٤١.

Jalanta, j. L.; rikard, h.; christian, t.; berndt, g. And christopher, j. W. .(٢٠٠٤). Broad-spectrum antifungal metabolites produced by the soil bacterium serratia Plymuthica a١٥٣. Soil biol. Biotechnol. ٣٦: ٦٧٧-٦٨٥.

Jaidev, L. R., & Narasimha, G. (٢٠١٠). Fungal mediated biosynthesis of silver nanoparticles, characterization and antimicrobial activity. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, ٨١(٢), ٤٣٠–٤٣٣.

Jasim, A. A., Mohammed, B. T., & Lahuf, A. A. (٢٠١٩). Molecular and enzymatic properties of fungi isolated from historical manuscripts preserved at the Al-Hussein Holy Shrine. Biochemical and Cellular Archives, ١٩(٢), ٤٢٩٥–٤٣٠٥.

Jin, B., Yuan, Y., Zhou, P., Niu, J., Niu, J., Dai, J., … Zhang, J. (٢٠٢٠). Effects of zinc oxide nanoparticles on sludge anaerobic fermentation: phenomenon and mechanism. Journal of Environmental Science and Health, Part A, ٥٥(٩), ١٠٩٤–١١٠٣.

Jones, E. B. G., & Pang, K.-L. (٢٠٢٢). Observation of Danish marine fungi: in memoriam of Dr. Jørgen Koch. Botanica Marina, ٦٥(١), ١٣–٢١.

Karthikeyan, S., Ramkumar, G., Aravindkumar, S., Tamilselvi, M., Ramesh, S., & Ranjith, A. (٢٠٢٢). A Novel Deep Learning-Based Black Fungus Disease Identification Using Modified Hybrid Learning Methodology. Contrast Media and Molecular Imaging, ٢٠٢٢.

Kamiar , Zomorodian Seyedmohammad Pourshahid, Arman Sadatsharifi, Pouyan Mehryar, Keyvan Pakshir, Mohammad Javad Rahimi, Ali Arabi Monfared,(٢٠١٦) "Biosynthesis and Characterization of Silver Nanoparticles by *Aspergillus* Species", BioMed Research International, vol. ٢٠١٦, Article ID ٥٤٣٥٣٩٧, ٦ pages, ٢٠١٦.

Kalia, A., Kaur, J., Tondey, M., Manchanda, P., Bindra, P., Alghuthaymi, M. A., ... & Abd-Elsalam, K. A. (٢٠٢١). Differential Antimycotic and Antioxidant Potentials of Chemically Synthesized Zinc-Based Nanoparticles Derived from Different Reducing/Complexing Agents against Pathogenic Fungi of *Maize Crop*. Journal of Fungi, ٧(٣), ٢٢٣.

Kenneth j. Ryan, m. And c. George ray, m. (٢٠١٩) medical microbiology an introduction to infectious diseases. ٤th editio. Edited by f. John c. Sherris, md. Milan: university of chicago.

Khachatourians, G. G., & Arora, D. K. (٢٠٠١). Applied mycology and biotechnology for agriculture and foods. In Applied Mycology and Biotechnology (Vol. ١, pp. ١–١١). Elsevier.

Kilimci, U., Evli, S., Öndeş, B., Uygun, M., & Uygun, D. A. (٢٠٢١). Inulinase immobilized lectin affinity magnetic nanoparticles for inulin hydrolysis. Applied Biochemistry and Biotechnology, ١٩٣, ١٤١٥–١٤٢٦.

Kuzikova, I. L., & Medvedeva, N. G. (٢٠٢١). Opportunistic fungi as contaminants of human environment and their potential pathogenicity. Ekologiya Cheloveka (Human Ecology), ٢٠٢١(٣).

Kumar, V., Basu, M. S., & Rajendran, T. P. (٢٠٠٨). Mycotoxin research and mycoflora in some commercially important agricultural commodities. Crop Protection, ٢١(٦), ٨٩١–٩٠٥.

Kumari, N., Bamel, K., Pandey, R., & Talwar, S. (٢٠٢٢). Corona Virus and Mucormycosis: Indications and Treatment Methodology of Dark Growth in COVID-١٩ Patients. South Asian Journal of Experimental Biology, ١٢(١), ٦٤–٧٢.

Lateef, A., Adelere, I. A., Gueguim-Kana, E. B., Asafa, T. B., & Beukes, L. S. (٢٠١٥). Green synthesis of silver nanoparticles using keratinase obtained from a strain of Bacillus safensis LAU ١٣. International Nano Letters, ٥, ٢٩–٣٥.

Leatham, G. (٢٠١٢). Frontiers in industrial mycology. Springer Science & Business Media.

Levetin, Estelle & Horner, W. & Scott, James. (٢٠١٥). Taxonomy of Allergenic Fungi. The Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice. ٤. ١٠.١٠١٦/j.jaip.٢٠١٥.١٠.٠١٢

Liberatore, Carmine, Francesca Farina, Raffaella Greco, Fabio Giglio, Daniela Clerici, Chiara Oltolini, Maria Teresa Lupo Stanghellini, Federica Barzaghi, Paolo Vezzulli, and Elena Orsenigo. (٢٠٢١). "Breakthrough Invasive Fungal Infections in Allogeneic Hematopoietic

Stem Cell Transplantation.” Journal of Fungi ٧(٥):٣٤٧.

Lin, Xiuchun, Jingyi Li, Si Ma, Gesheng Liu, Kun Yang, Meiping Tong, and Daohui Lin.(٢٠١٤). “Toxicity of TiO ٢ Nanoparticles to *Escherichia Coli:* Effects of Particle Size, Crystal Phase and Water Chemistry.” PloS One ٩(١٠):e١١٠٢٤٧.

Li, Xuqing, Dingyi Li, Jianli Yan, Ya Zhang, Hong Wang, Jingze Zhang, Temoor Ahmed, and Bin Li.(٢٠٢١). “Effect of Plant-Growth-Promoting Fungi on Eggplant (Solanum Melongena l.) in New Reclamation Land.” *Agriculture* (Switzerland*)* ١١(١١).

Liu, y., ding, z., peng, d. Liang, liu, s. Ming, kong, l. An, peng, h., … huang, w. Kun. (٢٠١٩). Evaluation of the biocontrol potential of *Aspergillus welwitschiae* against the root-knot nematode *Meloidogyne graminicola* in rice (Oryza sativa L.). Journal of Integrative Agriculture, ١٨(١١).

Loeffler, H. J. M., Van Dongen, M., & Schippers, B. (١٩٨٦). Effect of NH٣ on Chlamydospore Formation of *Fusarium oxysporum* f. sp. dianthi in an NH٣-Flow System. Journal of Phytopathology, ١١٧(١), ٤٣–٤٨.

Lopes FC, Tichota DM, Sauter IP, Meira SMM, Segalin J, Rott MB,.(٢٠١٣). Active metabolites produced by *Penicillium*chrysogenum IFL١ growing on agro-.industrial residues. Ann Microbiol;٦٣:٧٧١-٨ .

Lutfana Banu, A., & Soundhari, C. (٢٠١٩). Anti-Dermatophytic Activity of Titanium Dioxide Nanoparticle Synthesized using *Lawsonia Inermis.*

Mahalaxmi, I., Jayaramayya, K., Venkatesan, D., Subramaniam, M. D., Renu, K., Vijayakumar, P., … Vellingiri, B. (٢٠٢١). Mucormycosis: An opportunistic pathogen during COVID-١٩. Environmental Research, ٢٠١.

Marcos, Caroline M., Haroldo C. De Oliveira, Wanessa de Cássia M. Antunes de Melo, Julhiany De FaTima Da Silva, Patricia A. Assato, Liliana Scorzoni, Suelen A. Rossi, Ana C. A. de Paula e Silva, Maria J. S. Mendes-Giannini, and Ana M. Fusco-Almeida.(٢٠١٦**).** “Anti-Immune Strategies of Pathogenic Fungi.” Frontiers in Cellular and Infection Microbiology ٦:١٤٢.

Machida, M., Yamada, O., & Gomi, K. (٢٠٠٨). Genomics of Aspergillus oryzae: learning from the history of Koji mold and exploration of its future. DNA Research, ١٥(٤), ١٧٣–١٨٣.

Mali, T., Mäki, M., Hellén, H., Heinonsalo, J., Bäck, J., & Lundell, T. (٢٠١٩). Decomposition of spruce wood and release of volatile organic compounds depend on decay type, fungal interactions and enzyme production patterns. FEMS Microbiology Ecology, ٩٥(٩).

Maness, L. R., & Zubov, T. (٢٠١٩). The inhibitory effect of essential oils on *Rhizopus stolonifer*, *Trichophyton mentagrophytes*, and *Microsporum gypseum*. Laboratory Medicine, ٥٠(٢), e١٨–e٢٢.

Melo, I., Moretini, A., Cassiolato, A., & Faull, J. (٢٠١١). Development of mutants of Coniothyrium minitans with improved efficiency for control of Sclerotinia sclerotiorum. Journal of Plant Protection Research, ١٧٩-١٨٣.

Mentese, S., Otkun, M. T. and Palaz, E. (٢٠١٧) "Comparison of dichloran rose bengal chloramphenicol and Sabouraud dextrose agar with cycloheximide and chloramphenicol for airborne mold sampling," Aerobiologia. Springer Netherlands, ٣٣(٢), pp. ٢١١–٢١٩. doi: ١٠.١٠٠٧/s١٠٤٥٣-٠١٦-٩٤٦٢-٢.

Mekky, A. E., Farrag, A. A., Hmed, A. A., & Sofy, A. R. (٢٠٢١). Preparation of zinc oxide nanoparticles using *aspergillus niger* as antimicrobial and anticancer agents. J. Pure Appl. Microbiol, ١٥, ١٥٤٧-١٥٦٦.

Mellon, J. E., & Cotty, P. J. (٢٠٠٤). Expression of pectinase activity among *Aspergillus flavus* isolates from southwestern and southeastern United States. Mycopathologia, ١٥٧, ٣٣٣–٣٣٨.

Mishra, S., Dixit, S., & Soni, S. (٢٠١٥). Methods of nanoparticle biosynthesis for medical and commercial applications. Bio-Nanoparticles: Biosynthesis and Sustainable Biotechnological Implications, ١٤١–١٥٤.

Mohammadi, Faezeh, Milad Badri, Shapoor Safari, and Nima Hemmat(٢٠٢١). "A Case Report of Rhino-Facial Mucormycosis in a Non-Diabetic Patient with COVID-١٩: A Systematic Review of Literature and Current Update." BMC Infectious Diseases ٢١(١):١–٧.

Moubasher, A. H.(١٩٩٣). "Soil Fungi in Qatar and Other Arab Countries, the Centre for Scientific and Applied Research." University of Qatar, Doha, Qata.

Moazeni, M., Rashidi, N., Shahverdi, A. R., Noorbakhsh, F., & Rezaie, S. (٢٠١٢). Extracellular production of silver nanoparticles by using three common species of dermatophytes: *Trichophyton rubrum, Trichophyton mentagrophytes and Microsporum canis*. Iranian Biomedical Journal, ١٦(١), ٥٢.

Mousavi, S. A. A., & Pourtalebi, S. (٢٠١٥). Inhibitory effects of silver nanoparticles on growth and aflatoxin B١ production by *Aspergillus* Parasiticus. Iranian Journal of Medical Sciences, ٤٠(٦), ٥٠١.

Mukherjee, Priyabrata, Absar Ahmad, Deendayal Mandal, Satyajyoti Senapati, Sudhakar R. Sainkar, Mohammad I. Khan, Renu Parishcha, P. V Ajaykumar, Mansoor Alam, and Rajiv Kumar.(٢٠٠١). "Fungus-Mediated Synthesis of Silver Nanoparticles and Their Immobilization in the Mycelial Matrix: A Novel Biological Approach to Nanoparticle Synthesis." Nano Letters ١(١٠):٥١٥–١٩.

Mussin, J., Robles-Botero, V., Casañas-Pimentel, R., Rojas, F., Angiolella, L., Martín-Martínez, S., & Giusiano, G. (٢٠٢١). Antimicrobial and cytotoxic activity of green synthesis silver nanoparticles targeting skin and soft tissue infectious agents. Scientific Reports, ١١(١), ١-١٢.

Muhsin, T. M., & Salih, T. H. (٢٠٠١). Exocellular enzyme activity of dermatophytes and other fungi isolated from ruminants in Southern Iraq. Mycopathologia, ١٥٠, ٤٩–٥٢.

Naranjo-Ortiz, M. A. and Gabaldón, T. (٢٠١٩) "Fungal evolution: diversity, taxonomy and phylogeny of the Fungi," Biological Reviews, ٩٤(٦), pp. ٢١٠١–٢١٣٧. doi: ١٠.١١١١/brv.١٢٥٥٠.

Namasivayam, S. K. R., Aroma, R., Manikanta, M., Gopinath, P., & Francis, A. L. (٢٠١٦). Evaluation of enzyme activity inhibition of biogenic silver nanoparticles against microbial extracellular enzymes.

Journal of Pharm Tech Research, ٩(٢), ٤٠–٤٧.

Nogueira, Daniele Rubert, Lorena Tavano, Montserrat Mitjans, Lourdes Pérez, M. Rosa Infante, and M. Pilar Vinardell.(٢٠١٣). "In Vitro Antitumor Activity of Methotrexate via PH-Sensitive Chitosan Nanoparticles." Biomaterials ٣٤(١١):٢٧٥٨–٧٢.

Nyongesa, Beatrice Wabusya, Sheila Okoth, and Vincent Ayugi. (٢٠١٥). "Identification Key for <I>*Aspergillus*</I> Species Isolated from Maize and Soil of Nandi County, Kenya." Advances in Microbiology ٠٥(٠٤):٢٠٥–٢٩.

Odds, F. C. (١٩٩١) "Sabouraud('s) agar," Journal of Medical and Veterinary Mycology, ٢٩(٦), pp. ٣٥٥–٣٥٩. doi: ١٠.١٠٨٠/٠٢٦٨١٢١٩١٨٠٠٠٠٥٨١.

Omero, C., Y. Dror, and A. Freeman.(٢٠٠٤). "*Trichoderma* Spp. Antagonism to the Dermatophyte *Trichophyton Rubrum*: Implications in Treatment of Onychomycosis." Mycopathologia ١٥٨:١٧٣–٨٠.

Omran, B. A., Nassar, H. N., Fatthallah, N. A., Hamdy, A., El-Shatoury, E. H., & El-Gendy, N. S. (٢٠١٨). Characterization and antimicrobial activity of silver nanoparticles mycosynthesized by *Aspergillus brasiliensis*. Journal of Applied Microbiology, ١٢٥(٢), ٣٧٠–٣٨٢.

Orton, E. S., & Brown, J. K. M. (٢٠١٦). Reduction of growth and reproduction of the biotrophic fungus Blumeria graminis in the presence of a necrotrophic pathogen. Frontiers in Plant Science, ٧٤٢.

Petrikkos, George, Anna Skiada, Olivier Lortholary, Emmanuel Roilides, Thomas J. Walsh, and Dimitrios P. Kontoyiannis.(٢٠١٢). "Epidemiology and Clinical Manifestations of Mucormycosis." Clinical Infectious Diseases ٥٤(suppl_١):S٢٣–٣٤.

Pedersen, M., Lauritzen, H. K., Frisvad, J. C., & Meyer, A. S. (٢٠٠٧). Identification of thermostable β-xylosidase activities produced by *Aspergillus brasiliensis* and *Aspergillus niger*. Biotechnology Letters, ٢٩, ٧٤٣–٧٤٨.

Pereira, L., Dias, N., Carvalho, J., Fernandes, S., Santos, C., & Lima, N. (٢٠١٤). Synthesis, characterization and antifungal activity of chemically

and fungal-produced silver nanoparticles against *Trichophyton rubrum*. Journal of Applied Microbiology, ١١٧(٦), ١٦٠١–١٦١٣.

Pitt J. I. & Ailsa D. Hocking. (١٩٨٥). Interfaces Among Genera Related to *Aspergillus* and *Penicillium*, Mycologia, ٧٧:٥, ٨١٠-٨٢٤, DOI: ١٠.١٠٨٠/٠٠٢٧٥٥١٤.١٩٨٥.١٢٠٢٥١٦٧.

Poinern, G. E. J. (٢٠١٤). A laboratory course in nanoscience and nanotechnology. CRC Press.

Prabhu, R. M. and Robin Patel. (٢٠٠٤). "Mucormycosis and Entomophthoramycosis: A Review of the Clinical Manifestations, Diagnosis and Treatment." Clinical Microbiology and Infection ١٠:٣١–٤٧.

Prakash, Hariprasath, Anup Kumar Ghosh, Shivaprakash Mandya Rudramurthy, Raees Ahmad Paul, Sunita Gupta, Vishwanand Negi, and Arunaloke Chakrabarti.(٢٠١٦). "The Environmental Source of Emerging Apophysomyces Variabilis Infection in India." *Sabouraudia* ٥٤(٦):٥٦٧–٧٥.

Qing, Fan and Tian Shiping.(٢٠٠٠**).** "Postharvest Biological Control of *Rhizopus* Rot of Nectarine Fruits by Pichia Membranefaciens." Plant Disease ٨٤(١١):١٢١٢–١٦.

Ramachandran, Sumitra, Krishnan Roopesh, K. Madhavan Nampoothiri, George Szakacs, and Ashok Pandey.(٢٠٠٥**).** "Mixed Substrate Fermentation for the Production of Phytase by *Rhizopus* Spp. Using Oilcakes as Substrates." Process Biochemistry ٤٠(٥):١٧٤٩–٥٤.

Rawlani, Sudhir S., Ambreen Siddiqui, Mohsin Reza, Shubham Chelkar, Tulika Rani, and Harsimran Kaur Bhatia Roy.(٢٠٢١**).** "Black Fungus Mucormycosis, Epidemiology, Etiopathogenesis, Clinical Diagnosis, Histopathology and Its Management—A Review." Int J Med Dent Res ١(٢):١–٨.

Raza, Aiza Fatima, Dilli Raj Paudel, and Prashanth Prabhu.(٢٠٢١**).** "Black Fungus and COVID-١٩: Role of Otorhinolaryngologists and Audiologists." European Archives of Oto-Rhino-Laryngology ٢٧٨:٣١٣٣–٣٤.

Rajan, A., Cherian, E. and Baskar, G. (٢٠١٦) "Biosynthesis of zinc oxide nanoparticles using *Aspergillus fumigatus* JCF and its antibacterial activity," Int J Mod Sci Technol, ١, pp. ٥٢–٥٧.

Rajani, P., Rajasekaran, C., Vasanthakumari, M. M., Olsson, S. B., Ravikanth, G., & Shaanker, R. U. (٢٠٢١). Inhibition of plant pathogenic fungi by endophytic *Trichoderma* spp. through mycoparasitism and volatile organic compounds. Microbiological Research, ٢٤٢, ١٢٦٥٩٥.

Reeda, G., & Mohammed, B. T. (٢٠٢١). Use of Green Nano-Extracts in the Control of *Trichophyton rubrum*. Annals of the Romanian Society for Cell Biology, ٢٥(٦), ٣٩٩٦–٤٠١٠.

Richardson, M.(٢٠٠٩). "The Ecology of the Zygomycetes and Its Impact on Environmental Exposure." Clinical Microbiology and Infection ١٥:٢–٩.

Richardson, Malcolm D. and Riina Rautemaa-Richardson.(٢٠١٩). "Biotic Environments Supporting the Persistence of Clinically Relevant Mucormycetes." Journal of Fungi ٦(١):٤.

Romani, L. (٢٠١١). Immunity to Fungal Infections. Nat. Rev. Immunol. ١١, ٢٧٥–٢٨٨. Doi: ١٠.١٠٣٨/Nri٢٩٣." Nature Reviews Immunology ١١(٤):٢٧٥–٨٨

Rodrigues, A. G., Ruiz, R. de C., Selari, P. J. R. G., Araújo, W. L. de, & Souza, A. O. de. (٢٠٢١). Anti-biofilm action of biological silver nanoparticles produced by *Aspergillus tubingensis* and antimicrobial activity of fabrics carrying it. Biointerface Research in Applied Chemistry.

SastryMurali, Absar Ahmad, M. Islam Khan, and Rajiv Kumar.(٢٠٠٣). "Biosynthesis of Metal Nanoparticles Using Fungi and Actinomycete." Current Science ١٦٢–٧٠.

Sathe, S. J., N. N. Nawani, P. K. Dhakephalkar, and B. P. Kapadnis.(٢٠٠٧). "Antifungal Lactic Acid Bacteria with Potential to Prolong Shelf-life of Fresh Vegetables." Journal of Applied Microbiology ١٠٣(٦):٢٦٢٢–٢٨.

Sambrook, J. (١٩٨٩) "Molecular colning," *A laboratory manual*. Cold

Spring Harbour Lab. Press, pp. ١–٨٢.

Sandven, P. and Lassen, J. (١٩٩٩) "Importance of selective media for recovery of yeasts from clinical specimens," Journal of Clinical Microbiology, ٣٧(١١), pp. ٣٧٣١–٣٧٣٢. doi: ١٠.١١٢٨/jcm.٣٧.١١.٣٧٣١-٣٧٣٢.١٩٩٩.

Samson, Robert A., Jos A. M. P. Houbraken, Angelina F. A. Kuijpers, J. Mick Frank, C. Jens, and Dk-Kgs Lyngby. (٢٠٠٤). "New Ochratoxin A or Sclerotium Producing Species in *Aspergillus* Section Nigri." ٤٥–٦١.

Sain, Z. M. (٢٠٢٢). Nanotherapeutic Drug Synthesized by Way of a Microbial Pathway Targeting *Staphylococcus aureus.* Journal of Pharmaceutical Research International, ٦٣-٩٢.

Sampaio, S. and Viana, J. C.,(٢٠١٨). Production of silver nanoparticales green synthesis using artichoke (Cynara scolymus L.) aqueous extract and measurement of their electrical conductivity. Adv. Nat. Sci.: Na nosci. Nan otechnol., ٩: ١-٩

Selvamurugan, Selvaraj.(٢٠٢١). "Current Scenario and the Way to Protect Us from Black Fungus: A Review." Journal of Pharmaceutical Advanced Research ٤(٦):١٣٠٢–٦.

Senanayake, I. C. *et al.* (٢٠٢٠) "Morphological approaches in studying fungi: Collection, examination, isolation, sporulation and preservation," Mycosphere, ١١(١), pp. ٢٦٧٨–٢٧٥٤.

Selvan, D. A., Mahendiran, D., Kumar, R. S., & Rahiman, A. K. (٢٠١٨). Garlic, green tea and turmeric extracts-mediated green synthesis of silver nanoparticles: Phytochemical, antioxidant and in vitro cytotoxicity studies. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, ١٨٠, ٢٤٣–٢٥٢.

Shankar, S. Shiv, Absar Ahmad, Renu Pasricha, M. Islam Khan, Rajiv Kumar, and Murali Sastry.(٢٠٠٤). "Immobilization of Biogenic Gold Nanoparticles in Thermally Evaporated Fatty Acid and Amine Thin Films." Journal of Colloid and Interface Science ٢٧٤(١):٦٩–٧٥.

Shinde, Yogita B. and Sanket Kore.(٢٠٢١). "A Review on Mucormycosis with Recent Pharmacological Treatment." Journal of Drug Delivery and

Therapeutics ١١(٣-S):١٤٥–٤٩.

Shoaib, A., Awan, Z. A., & Akhtar, N. (٢٠١٩). Taxonomic Divergence of Medically Important and Toxigenic *Aspergillus minisclerotigenes* from *Aspergillus flavus*. Journal of Innovative Sciences, ٥(٢).

Singh, Awadhesh Kumar, Ritu Singh, Shashank R. Joshi, and Anoop Misra. (٢٠٢١). "Mucormycosis in COVID-١٩: A Systematic Review of Cases Reported Worldwide and in India." Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews ١٥(٤):١٠٢١٤٦.

Silva, Daiani M., Luís R. Batista, Elisângela F. Rezende, Maria Helena P. Fungaro, Daniele Sartori, and Eduardo Alves.(٢٠١١). "Identification of Fungi of the Genus *Aspergillus* Section *Nigri* Using Polyphasic Taxonomy." Brazilian Journal of Microbiology ٤٢(٢):٧٦١–٧٣.

Siddiqi, K. S., & Husen, A. (٢٠١٦). Fabrication of metal nanoparticles from fungi and metal salts: scope and application. Nanoscale research letters, ١١(١), ١-١٥.

Singh, D., Rathod, V., Ninganagouda, S., Hiremath, J., Singh, A. K Mathew, J. (٢٠١٤). Optimization and characterization of silver nanoparticle by endophytic fungi *Penicillium* sp. isolated from Curcuma longa (turmeric) and application studies against MDR *E. coli* and S . aureus. Bioinorganic chemistry and applications, ٢٠١٤.

Singh, P., & Cotty, P. J. (٢٠١٩). Characterization of Aspergilli from dried red chilies (Capsicum spp.): Insights into the etiology of aflatoxin contamination. International Journal of Food Microbiology, ٢٨٩, ١٤٥–١٥٣.

Singh, R., & Singh, D. (٢٠١٤). Chitin membranes containing silver nanoparticles for wound dressing application. International Wound Journal, ١١(٣), ٢٦٤–٢٦٨.

Skiada, Anna, Ioannis Pavleas, and Maria Drogari-Apiranthitou.(٢٠٢٠). "Epidemiology and Diagnosis of Mucormycosis: An Update." Journal of Fungi ٦(٤):٢٦٥.

Soni, N. and Prakash, S. (٢٠١٣) "Possible mosquito control by silver nanoparticles synthesized by soil fungus (*Aspergillus niger* ٢٥٨٧)."

Scientific Research Publishing.

Steel, RGD and Torrie J H (١٩٨١). Principles and Procedures of Statistics: A Biometrical Approach.Second Edition,McGraw Hill.

Sultana, Y. (٢٠٠٧) "Sterilization Methods and Principles," in pharmaceutical and Microbiology.

Sulaiman, G. M., Hussien, H. T., & Saleem, M. M. (٢٠١٥). Biosynthesis of silver nanoparticles synthesized by *Aspergillus flavus* and their antioxidant, antimicrobial and cytotoxicity properties. Bulletin of Materials Science, ٣٨(٣), ٦٣٩-٦٤٤. Bulletin of Materials Science, ٣٨, ٦٣٩–٦٤٤.

Sumanth, B., Lakshmeesha, T. R., Ansari, M. A., Alzohairy, M. A., Udayashankar, A. C., Shobha, B., … Almatroudi, A. (٢٠٢٠). Mycogenic synthesis of extracellular zinc oxide nanoparticles from *Xylaria acuta* and its nanoantibiotic potential. International Journal of Nanomedicine, ٨٥١٩–٨٥٣٦.

Tamur AH, Al-Janabi HJ, Al-Janabi JKA, Mohsin LY and Al-Yassiry ZAN Characterization and Antagonistic Activity of New Causal.(٢٠١٩). Agent Wilt Disease in Imperata cylindrica (*Marasmius palmivorus*), J Pure of Appl Microbiol., ١٣(٣): ١٥٢٥-١٥٣٦.

Tamayo-Ordóñez, M. C., Contreras-Esquivel, J. C., Ayil-Gutiérrez, B. A., De la Cruz-Arguijo, E. A., Tamayo-Ordóñez, F. A., Ríos-González, L. J., & Tamayo-Ordóñez, Y. J. (٢٠٢١). Interspecific evolutionary relationships of alpha-glucuronidase in the genus *Aspergillus*. Fungal Biology, ١٢٥(٧), ٥٦٠–٥٧٥.

Thanushree, M. P., Sailendri, D., Yoha, K. S., Moses, J. A., & Anandharamakrishnan, C. (٢٠١٩),). Mycotoxin contamination in food: An exposition on spices. Trends in Food Science and Technology, Vol. ٩٣, pp. ٦٩–٨٠.

Thristy, I., & Siregar, Y. (٢٠١٣). *Aspergillus Fumigatus* pada Sputum Penderita Batuk Kronik Menggunakan Metode PCR dan Kultur.

Trivedi, S., Divecha, J., & Shah, A. (٢٠١٢). Optimization of inulinase production by a newly isolated *Aspergillus tubingensis* CR١٦ using low

cost substrates. Carbohydrate Polymers, ٩٠(١), ٤٨٣–٤٩٠.

Văcar, C. L., Covaci, E., Chakraborty, S., Li, B., Weindorf, D. C., Frențiu, T., … Podar, D. (٢٠٢١). Heavy metal-resistant filamentous fungi as potential mercury bioremediators. Journal of Fungi, ٧(٥), ٣٨٦.

Vahabi, K., Mansoori, G. A., & Karimi, S. (٢٠١١). Biosynthesis of silver nanoparticles by fungus *Trichoderma reesei* (a route for large-scale production of AgNPs). Insciences J., ١(١), ٦٥–٧٩.

Vergidis, P., Moore, C. B., Novak-Frazer, L., Rautemaa-Richardson, R., Walker, A., Denning, D. W., & Richardson, M. D. (٢٠٢٠). High-volume culture and quantitative real-time PCR for the detection of *Aspergillus* in sputum. Clinical Microbiology and Infection, ٢٦(٧), ٩٣٥–٩٤٠.

Wani, A. H., Amin, M., Shahnaz, M., & Shah, M. A. (٢٠١٢). Antimycotic activity of nanoparticles of mgo, feo and zno on some pathogenic fungi. International Journal of Manufacturing, Materials, and Mechanical Engineering, ٢(٤).

Wani, A. H., & Shah, M. A. (٢٠١٢). A unique and profound effect of MgO and ZnO nanoparticles on some plant pathogenic fungi. Journal of Applied Pharmaceutical Science, (Issue), ٤٠–٤٤.

Widyaningrum, T., & Parahadi, M. (٢٠٢٠). Bioethanol levels of dragon fruit (Hylocereus polyrhizus) peel with the addition of blend crude cellulase enzyme from *Trichoderma reesei* and *Aspergillus niger*. Journal of Tropical Biodiversity and Biotechnology, ٥(١), ١–٥.

Woods, Jeffrey A., Noah T. Hutchinson, Scott K. Powers, William O. Roberts, Mari Carmen Gomez-Cabrera, Zsolt Radak, Istvan Berkes, Anita Boros, Istvan Boldogh, and Christiaan Leeuwenburgh.(٢٠٢٠). "The COVID-١٩ Pandemic and Physical Activity." Sports Medicine and Health Science ٢(٢):٥٥–٦٤.

Yassin,Shrook, K., & Mohammed, B. T (٢٠٢٠). "Molecular and Chemical Properties of a Common Medicinal Plants in Iraq." ٧٥٢٦(October ٢٠١٩):٧٥١٥–٢٦.

Yassin,Shrook, K., & Mohammed, B. T. (٢٠٢١). Evaluation of mineral, nano-zinc, and fluconazole interaction on some growth characteristics of *Trichophyton rubrum* and *Microsporum canis.* Biochemical and Cellular Archives, ٢١(١), ١٣٥٩–١٣٦٩

Yu, J. (٢٠١٢). Current understanding on aflatoxin biosynthesis and future perspective in reducing aflatoxin contamination. Toxins, ٤(١١), ١٠٢٤–١٠٥٧.

Zhang, Z., Li, J., Feng, F., Liu, D., Pang, Q., Li, M., & Chen, K. (٢٠١٣). Optimization of Nutrition Constituents for Xylanase Activity by *Rhizopus stolonifer* Under Solid-State Fermentation on Corncob. BioResources, ٨(٢).

Zomorodian, K., Pourshahid, S., Sadatsharifi, A., Mehryar, P., Pakshir, K., Rahimi, M. J., & Arabi Monfared, A. (٢٠١٦). Biosynthesis and characterization of silver nanoparticles by *Aspergillus* species. BioMed research international.

林睿. (٢٠٢١). 三亚红树林根际真菌抗金黄色葡萄球菌化合物研究 (Master's thesis, **中国地**质大学 (**北京**)).

لين روي (٢٠٢١). بحث مركب مضاد للمكورات العنقودية الذهبية على فطر جذر سانيا (أطروحة ماجستير ، جامعة الصين لعلوم الأرض (بكين)).

الملاحق

Appendix

الملاحق

ملحق رقم (1)

١٦S ribosomal RNA gene							
No.	Type of substitution	Location	Nucleotide	Sequence ID with compare	Sequence ID with Submissions	Source	Identities
١	Transition	٧٠	A\G	ID: MN٤١٣٦٨٨.١	ON٩٨١٠٩٧.١	*Rhizopus stolonifer*	٩٩٪
	Transition	١٢٣	T\C				
	Transition	٥٢٨	T\C				
	Transversion	٥٨٧	C\A				
	Transversion	٥٨٩	G\C				
	Transition	٥٩٤	A\G				
٢	--------	------	-----	ID: MN٥٠٩٠٣٥.١	ON٩٨١٠٩٨.١	*Aspergillus niger*	١٠٠٪
٣	Transversion	٥٥٠	C\A	ID: MH٢٧٠٥٣٩.١	ON٩٨١٠٩٩.١	*Aspergillus welwitschiae*	٩٩٪
	Transversion	٥٥١	A\T				
	Transversion	٥٥٦	G\C				
٤	--------	------	-----	ID: MG٦٦٢٤٠٨.١	ON٩٨١١٠٠.١	*Aspergillus minisclerotigenes*	١٠٠٪
٥	Transversion	٥٦٠	T\A	ID: KU٦٨٦٦٨٢.١	ON٩٨١١٠١.١	*Aspergillus tubingensis*	٩٩٪
	Transition	٥٦٢	A\G				
	Transversion	٥٦٤	C\G				
٦	--------	------	-----	ID: ON٢٠٨٤٧٤.١	ON٩٨١١٠٢.١	*Aspergillus costaricensis*	١٠٠٪
٧	--------	------	-----	ID: MH٨٧٩٨٦٠.١	ON٩٨١٢٩٥.١	*Aspergillus oryzae*	١٠٠٪
٨	--------	------	-----	ID: MZ٣١٤٥٨٧.١	ON٩٨١١٠٣.١	*Aspergillus piperis*	١٠٠٪
٩	--------	------	-----	ID: MW٧٥٧٣٤٣.١	ON٩٨١١٠٤.١	*Aspergillus brasiliensis*	١٠٠٪
١٠	--------	------	-----	ID: MT٤٤٦٠٨٧.١	ON٩٨١١٠٥.١	*Aspergillus niger*	١٠٠٪
١١	--------	------	-----	ID: KU٦٨٦٦٨٢.١	ON٩٨١٢٩٦.١	*Aspergillus tubingensis*	١٠٠٪
١٢	--------	------	-----	ID: MT٥٢٩٩٧٠.١	ON٩٨١٢٩٧.١	*Aspergillus flavus*	١٠٠٪
١٣	Transition	٣٨٦	A\G	ID: KY٦٢١٣٢١.١	ON٩٨١١٠٦.١	*Rhizopus americanus*	٩٩٪
	Transition	٤٨٩	C\T				
	Transition	٥١٩	C\T				
١٤	Transversion	٢٣	C\G	ID: MZ٤٧٤٨٤١.١	ON٩٨١١٠٧.١	*Aspergillus niger*	٩٩٪
	Transversion	٣٧١	T\G				
	Transversion	٥٦٠	A\T				
	Transversion	٥٦٦	G\C				

ملحق رقم (2)

***Rhizopus stolonifer* isolate MJU-٥ internal transcribed spacer ١, partial sequence; ٥.٨S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer ٢, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence**

Sequence ID: MN٤١٣٦٨٨.١ Length: ٦٠٠ Number of Matches: ١

Range ١: ٥٠ to ٥٩٩ GenBank Graphics Next Match Previous Match

Rhizopus stolonifer clone NaBa-١-IRAQ internal transcribed spacer ١, partial sequence; ٥.٨S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer ٢, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence

GenBank: ON٩٨١٠٩٧.١

FASTA Graphics

Go to:

LOCUS ON٩٨١٠٩٧ ٥٥٠ bp DNA linear PLN ١٨-JUL-٢٠٢٢

DEFINITION Rhizopus stolonifer clone NaBa-١-IRAQ internal transcribed spacer ١, partial sequence; ٥.٨S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer ٢, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence.

ACCESSION ON٩٨١٠٩٧

VERSION ON٩٨١٠٩٧.١

KEYWORDS .

SOURCE Rhizopus stolonifer

ORGANISM Rhizopus stolonifer
Eukaryota; Fungi; Fungi incertae sedis; Mucoromycota; Mucoromycotina; Mucoromycetes; Mucorales; Mucorineae; Rhizopodaceae; Rhizopus.

REFERENCE ١ (bases ١ to ٥٥٠)

AUTHORS Naba,M.O. and Ban,T.M.

TITLE ١٨S ribosomal RNA gene, partial sequence

JOURNAL Unpublished

REFERENCE ٢ (bases ١ to ٥٥٠)

AUTHORS Naba,M.O. and Ban,T.M.

TITLE Direct Submission

JOURNAL Submitted (١٣-JUL-٢٠٢٢) Babylon Education Directorate, University of Karbala college of Education for pure science Department of Biology, iraq, Karbala ٠٠٩٦٤, Iraq

COMMENT ##Assembly-Data-START##
Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
##Assembly-Data-END##

FEATURES Location/Qualifiers

source ١..٥٥٠
/organism="Rhizopus stolonifer"
/mol_type="genomic DNA"
/isolate="NaBa-١-IRAQ"
/isolation_source="sputum by swab from COVID-١٩"
/host="Homo sapiens"
/db_xref="taxon:٤٨٤٦"
/clone="NaBa-١-IRAQ"
/country="Iraq"
/collected_by="Naba Mohammed Obyeis, Ban Taha Mohammed"

misc_RNA <١..>٥٥٠
/note="contains internal transcribed spacer ١, ٥.٨S ribosomal RNA, internal transcribed spacer ٢, and large subunit ribosomal RNA"

ORIGIN

١ acctcccatc cgtgtctatt gtaccctgtt gcttcggcgg gcccgccgct tgtcggccgc
٦١ cgggggggcg cctctgcccc ccgggcccgt gcccgccgga gaccccaaca cgaacactgt

١٢١ ctgaaagcgt gcagtctgag ttgattgaat gcaatcagtt aaaactttca acaatggatc
١٨١ tcttggttcc ggcatcgatg aagaacgcag cgaaatgcga taactaatgt gaattgcaga
٢٤١ attcagtgaa tcatcgagtc tttgaacgca cattgcgccc cctggtattc cggggggcat
٣٠١ gcctgtccga gcgtcattgc tgccctcaag cccggcttgt gtgttgggtc gccgtccccc
٣٦١ tctccggggg gacgggcccg aaaggcagcg gcggcaccgc gtccgatcct cgagcgtatg
٤٢١ gggctttgtc acatgctctg taggattggc cggcgcctgc cgacgttttc caaccattct
٤٨١ ttccaggttg acctcggatc aggtagggat acccgctgaa cttaagcata tcataaaacc
٥٤١ ggaaggaaaa

//

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
٩٦٦ bits(١٠٧٠)	٠.٠	٥٤٤/٥٥٠(٩٩٪)	٠/٥٥٠(٠٪)	Plus/Plus

```
Query  ١    ACCTCCCATCCGTGTCTATTGTACCCTGTTGCTTCGGCGGGCCCGCCGCTTGTCGGCCGC  ٦٠
Sbjct  ٥٠   ....................A.......................................  ١٠٩

Query  ٦١   CggggggCGCCTCTGCCCCCCGGGCCCGTGCCCGCCGGAGACCCCAACACGAACACTGT  ١٢٠
Sbjct  ١١٠  .............T..............................................  ١٦٩
Query  ١٢١  CTGAAAGCGTGCAGTCTGAGTTGATTGAATGCAATCAGTTAAAACTTTCAACAATGGATC  ١٨٠
Sbjct  ١٧٠  ............................................................  ٢٢٩
Query  ١٨١  TCTTGGTTCCGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAACTAATGTGAATTGCAGA  ٢٤٠
Sbjct  ٢٣٠  ............................................................  ٢٨٩
Query  ٢٤١  ATTCAGTGAATCATCGAGTCTTTGAACGCACATTGCGCCCCCTGGTATTCCGGGGGGCAT  ٣٠٠
Sbjct  ٢٩٠  ............................................................  ٣٤٩
Query  ٣٠١  GCCTGTCCGAGCGTCATTGCTGCCCTCAAGCCCGGCTTGTGTGTTGGGTCGCCGTCCCCC  ٣٦٠
Sbjct  ٣٥٠  ............................................................  ٤٠٩
Query  ٣٦١  TCTCCGGGGGGACGGGCCCGAAAGGCAGCGGCGGCACCGCGTCCGATCCTCGAGCGTATG  ٤٢٠
Sbjct  ٤١٠  ............................................................  ٤٦٩
Query  ٤٢١  GGGCTTTGTCACATGCTCTGTAGGATTGGCCGGCGCCTGCCGACGTTTTCCAACCATTCT  ٤٨٠
Sbjct  ٤٧٠  ..........................................................T.  ٥٢٩
Query  ٤٨١  TTCCAGGTTGACCTCGGATCAGGTAGGGATACCCGCTGAACTTAAGCATATCATAAAACC  ٥٤٠
Sbjct  ٥٣٠  .........................................................C.G  ٥٨٩
Query  ٥٤١  GGAAGGAAAA  ٥٥٠
Sbjct  ٥٩٠  ....A.....  ٥٩٩
```

ملحق رقم (3)

***Aspergillus niger* isolate TF٥ internal transcribed spacer ١, partial sequence; ٥.٨S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer ٢, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence**
Sequence ID: MN٥٠٩٠٣٥.١ Length: ٥٧١ Number of Matches: ١
Range ١: ١٦ to ٥٥٩GenBankGraphicsNext MatchPrevious Match
Aspergillus niger clone NaBa-٢-IRAQ internal transcribed spacer ١, partial sequence; ٥.٨S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer ٢, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence
GenBank: ON٩٨١٠٩٨.١
FASTA Graphics
Go to:

```
LOCUS       ON٩٨١٠٩٨               ٥٤٤ bp    DNA     linear   PLN ١٨-JUL-٢٠٢٢
DEFINITION  Aspergillus niger clone NaBa-٢-IRAQ internal transcribed spacer ١,
            partial sequence; ٥.٨S ribosomal RNA gene and internal transcribed
            spacer ٢, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene,
            partial sequence.
ACCESSION   ON٩٨١٠٩٨
VERSION     ON٩٨١٠٩٨.١
KEYWORDS    .
SOURCE      Aspergillus niger
  ORGANISM  Aspergillus niger
            Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina;
            Eurotiomycetes; Eurotiomycetidae; Eurotiales; Aspergillaceae;
            Aspergillus; Aspergillus subgen. Circumdati.
REFERENCE   ١  (bases ١ to ٥٤٤)
  AUTHORS   Naba,M.O. and Ban,T.M.
  TITLE     ١٨S ribosomal RNA gene, partial sequence
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   ٢  (bases ١ to ٥٤٤)
  AUTHORS   Naba,M.O. and Ban,T.M.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (١٣-JUL-٢٠٢٢) Babylon Education Directorate, University
            of Karbala college of Education for pure science Department of
            Biology, iraq, Karbala ٠٠٩٦٤, Iraq
COMMENT     ##Assembly-Data-START##
            Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
            ##Assembly-Data-END##
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          ١..٥٤٤
                     /organism="Aspergillus niger"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /isolate="NaBa-٢-IRAQ"
                     /isolation_source="sputum by swab from COVID-١٩"
                     /host="Homo sapiens"
                     /db_xref="taxon:٥٠٦١"
                     /clone="NaBa-٢-IRAQ"
                     /country="Iraq"
                     /collected_by="Naba Mohammed Obyeis, Ban Taha Mohammed"
     misc_RNA        <١..>٥٤٤
                     /note="contains internal transcribed spacer ١, ٥.٨S
                     ribosomal RNA, internal transcribed spacer ٢, and large
```

subunit ribosomal RNA"
ORIGIN
١ tctttgggcc acctcccatc cgtgtctatt gtaccctgtt gcttcggcgg gcccgccgct
٦١ tgtcggccgc cgggggggcg cctctgcccc ccgggcccgt gcccgccgga gaccccaaca
١٢١ cgaacactgt ctgaaagcgt gcagtctgag ttgattgaat gcaatcagtt aaaactttca
١٨١ acaatggatc tcttggttcc ggcatcgatg aagaacgcag cgaaatgcga taactaatgt
٢٤١ gaattgcaga attcagtgaa tcatcgagtc tttgaacgca cattgcgccc cctggtattc
٣٠١ cgggggcat gcctgtccga gcgtcattgc tgccctcaag cccggcttgt gtgttgggtc
٣٦١ gccgtccccc tctccggggg gacgggcccg aaaggcagcg gcggcaccgc gtccgatcct
٤٢١ cgagcgtatg gggctttgtc acatgctctg taggattggc cggcgcctgc cgacgttttc
٤٨١ caaccattct ttccaggttg acctcggatc aggtagggat acccgctgaa cttaagcata
٥٤١ tcaa
//

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
١٠٠٥ bits(٥٤٤)	٠.٠	٥٤٤/٥٤٤(١٠٠٪)	٠/٥٤٤(٠٪)	Plus/Plus

```
Query  ١     TCTTTGGGCCACCTCCCATCCGTGTCTATTGTACCCTGTTGCTTCGGCGGGCCCGCCGCT  ٦٠
Sbjct  ١٦    ............................................................  ٧٥
Query  ٦١    TGTCGGCCGCCgggggggCGCCTCTGCCCCCCGGGCCCGTGCCCGCCGGAGACCCCAACA  ١٢٠
Sbjct  ٧٦    ............................................................  ١٣٥
Query  ١٢١   CGAACACTGTCTGAAAGCGTGCAGTCTGAGTTGATTGAATGCAATCAGTTAAAACTTTCA  ١٨٠
Sbjct  ١٣٦   ............................................................  ١٩٥
Query  ١٨١   ACAATGGATCTCTTGGTTCCGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAACTAATGT  ٢٤٠
Sbjct  ١٩٦   ............................................................  ٢٥٥
Query  ٢٤١   GAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAGTCTTTGAACGCACATTGCGCCCCCTGGTATTC  ٣٠٠
Sbjct  ٢٥٦   ............................................................  ٣١٥
Query  ٣٠١   CGGGGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTGCTGCCCTCAAGCCCGGCTTGTGTGTTGGGTC  ٣٦٠
Sbjct  ٣١٦   ............................................................  ٣٧٥
Query  ٣٦١   GCCGTCCCCCTCTCCGGGGGGACGGGCCCGAAAGGCAGCGGCGGCACCGCGTCCGATCCT  ٤٢٠
Sbjct  ٣٧٦   ............................................................  ٤٣٥
Query  ٤٢١   CGAGCGTATGGGGCTTTGTCACATGCTCTGTAGGATTGGCCGGCGCCTGCCGACGTTTTC  ٤٨٠
Sbjct  ٤٣٦   ............................................................  ٤٩٥
Query  ٤٨١   CAACCATTCTTTCCAGGTTGACCTCGGATCAGGTAGGGATACCCGCTGAACTTAAGCATA  ٥٤٠
Sbjct  ٤٩٦   ............................................................  ٥٥٥

Query  ٥٤١   TCAA  ٥٤٤
Sbjct  ٥٥٦   ....  ٥٥٩
```

ملحق رقم (4)

***Aspergillus welwitschiae* strain NR١١ internal transcribed spacer ١, partial sequence; ٥.٨S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer ٢, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence**
Sequence ID: MH٢٧٠٥٣٩.١ Length: ٥٦٦ Number of Matches: ١
Range ١: ١٩ to ٥٦٣GenBankGraphicsNext MatchPrevious Match
Aspergillus welwitschiae clone NaBa-٣-IRAQ internal transcribed spacer ١, partial sequence; ٥.٨S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer ٢, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence
GenBank: ON٩٨١٠٩٩.١
FASTA Graphics
Go to:

```
LOCUS       ON٩٨١٠٩٩               ٥٤٥ bp    DNA     linear   PLN ١٨-JUL-٢٠٢٢
DEFINITION  Aspergillus welwitschiae clone NaBa-٣-IRAQ internal transcribed
            spacer ١, partial sequence; ٥.٨S ribosomal RNA gene and internal
            transcribed spacer ٢, complete sequence; and large subunit
            ribosomal RNA gene, partial sequence.
ACCESSION   ON٩٨١٠٩٩
VERSION     ON٩٨١٠٩٩.١
KEYWORDS    .
SOURCE      Aspergillus welwitschiae
  ORGANISM  Aspergillus welwitschiae
            Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina;
            Eurotiomycetes; Eurotiomycetidae; Eurotiales; Aspergillaceae;
            Aspergillus.
REFERENCE   ١  (bases ١ to ٥٤٥)
  AUTHORS   Naba,M.O. and Ban,T.M.
  TITLE     ١٨S ribosomal RNA gene, partial sequence
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   ٢  (bases ١ to ٥٤٥)
  AUTHORS   Naba,M.O. and Ban,T.M.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (١٣-JUL-٢٠٢٢) Babylon Education Directorate, University
            of Karbala college of Education for pure science Department of
            Biology, iraq, Karbala ٠٠٩٦٤, Iraq
COMMENT     ##Assembly-Data-START##
            Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
            ##Assembly-Data-END##
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          ١..٥٤٥
                     /organism="Aspergillus welwitschiae"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /isolate="NaBa-٣-IRAQ"
                     /isolation_source="sputum by swab from COVID-١٩"
                     /host="Homo sapiens"
                     /db_xref="taxon:١٣٤١١٣٢"
                     /clone="NaBa-٣-IRAQ"
                     /country="Iraq"
                     /collected_by="Naba Mohammed Obyeis, Ban Taha Mohammed"
     misc_RNA        <١..>٥٤٥
                     /note="contains internal transcribed spacer ١, ٥.٨S
                     ribosomal RNA, internal transcribed spacer ٢, and large
                     subunit ribosomal RNA"
```

ORIGIN

```
  ١ acctcccatc cgtgtctatt gtaccctgtt gcttcggcgg gcccgccgct tgtcggccgc
 ٦١ cggggggggcg cctctgcccc ccgggcccgt gcccgccgga gaccccaaca cgaacactgt
١٢١ ctgaaagcgt gcagtctgag ttgattgaat gcaatcagtt aaaactttca acaatggatc
١٨١ tcttggttcc ggcatcgatg aagaacgcag cgaaatgcga taactaatgt gaattgcaga
٢٤١ attcagtgaa tcatcgagtc tttgaacgca cattgcgccc cctggtattc cggggggcat
٣٠١ gcctgtccga gcgtcattgc tgccctcaag cccggcttgt gtgttgggtc gccgtccccc
٣٦١ tctccggggg gacgggcccg aaaggcagcg gcggcaccgc gtccgatcct cgagcgtatg
٤٢١ gggctttgtc acatgctctg taggattggc cggcgcctgc cgacgttttc caaccattct
٤٨١ ttccaggttg acctcggatc aggtagggat acccgctgaa cttaagcata tataaaacgg
٥٤١ ggaag
//
```

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
٧٠ bits(١٠٧٥)	٠.٠	٥٤٢/٥٤٥(٩٩٪)	٠/٥٤٥(٠٪)	Plus/Plus

```
Query  ١    ACCTCCCATCCGTGTCTATTGTACCCTGTTGCTTCGGCGGGCCCGCCGCTTGTCGGCCGC  ٦٠
Sbjct  ١٩   ............................................................  ٧٨
Query  ٦١   CggggggCGCCTCTGCCCCCCGGGCCCGTGCCCGCCGGAGACCCCAACACGAACACTGT  ١٢٠
Sbjct  ٧٩   ............................................................  ١٣٨
Query  ١٢١  CTGAAAGCGTGCAGTCTGAGTTGATTGAATGCAATCAGTTAAAACTTTCAACAATGGATC  ١٨٠
Sbjct  ١٣٩  ............................................................  ١٩٨
Query  ١٨١  TCTTGGTTCCGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAACTAATGTGAATTGCAGA  ٢٤٠
Sbjct  ١٩٩  ............................................................  ٢٥٨
Query  ٢٤١  ATTCAGTGAATCATCGAGTCTTTGAACGCACATTGCGCCCCCTGGTATTCCGGGGGGCAT  ٣٠٠
Sbjct  ٢٥٩  ............................................................  ٣١٨
Query  ٣٠١  GCCTGTCCGAGCGTCATTGCTGCCCTCAAGCCCGGCTTGTGTGTTGGGTCGCCGTCCCCC  ٣٦٠
Sbjct  ٣١٩  ............................................................  ٣٧٨
Query  ٣٦١  TCTCCGGGGGGACGGGCCCGAAAGGCAGCGGCGGCACCGCGTCCGATCCTCGAGCGTATG  ٤٢٠
Sbjct  ٣٧٩  ............................................................  ٤٣٨
Query  ٤٢١  GGGCTTTGTCACATGCTCTGTAGGATTGGCCGGCGCCTGCCGACGTTTTCCAACCATTCT  ٤٨٠
Sbjct  ٤٣٩  ............................................................  ٤٩٨
Query  ٤٨١  TTCCAGGTTGACCTCGGATCAGGTAGGGATACCCGCTGAACTTAAGCATATATAAAACGG  ٥٤٠
Sbjct  ٤٩٩  ...................................................CA....G..  ٥٥٨
Query  ٥٤١  GGAAG  ٥٤٥
Sbjct  ٥٥٩  .....  ٥٦٣
```

ملحق رقم (5)

***Aspergillus minisclerotigenes* isolate DTO ٠٠٩-F٥ small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer ١, ٥.٨S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer ٢, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence**
Sequence ID: MG٦٦٢٤٠٨.١ Length: ٨٨٧ Number of Matches: ١
Range ١: ١٦١ to ٦٩٧GenBankGraphicsNext MatchPrevious Match
Aspergillus minisclerotigenes clone NaBa-٤-IRAQ internal transcribed spacer ١, partial sequence; ٥.٨S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer ٢, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence
GenBank: ON٩٨١١٠٠.١
FASTA Graphics
Go to:
LOCUS ON٩٨١١٠٠ ٥٣٧ bp DNA linear PLN ١٨-JUL-٢٠٢٢
DEFINITION Aspergillus minisclerotigenes clone NaBa-٤-IRAQ internal transcribed spacer ١, partial sequence; ٥.٨S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer ٢, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence.
ACCESSION ON٩٨١١٠٠
VERSION ON٩٨١١٠٠.١
KEYWORDS .
SOURCE Aspergillus minisclerotigenes
ORGANISM Aspergillus minisclerotigenes
Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina; Eurotiomycetes; Eurotiomycetidae; Eurotiales; Aspergillaceae; Aspergillus.
REFERENCE ١ (bases ١ to ٥٣٧)
AUTHORS Naba,M.O. and Ban,T.M.
TITLE ١٨S ribosomal RNA gene, partial sequence
JOURNAL Unpublished
REFERENCE ٢ (bases ١ to ٥٣٧)
AUTHORS Naba,M.O. and Ban,T.M.
TITLE Direct Submission
JOURNAL Submitted (١٣-JUL-٢٠٢٢) Babylon Education Directorate, University of Karbala college of Education for pure science Department of Biology, iraq, Karbala ٠٠٩٦٤, Iraq
COMMENT ##Assembly-Data-START##
Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
##Assembly-Data-END##
FEATURES Location/Qualifiers
source ١..٥٣٧
/organism="Aspergillus minisclerotigenes"
/mol_type="genomic DNA"
/isolate="NaBa-٤-IRAQ"
/isolation_source="sputum by swab from COVID-١٩"
/host="Homo sapiens"
/db_xref="taxon:٦٥٦٩١٧"
/clone="NaBa-٤-IRAQ"
/country="Iraq"
/collected_by="Naba Mohammed Obyeis, Ban Taha Mohammed"
misc_RNA <١..>٥٣٧
/note="contains internal transcribed spacer ١, ٥.٨S ribosomal RNA, internal transcribed spacer ٢, and large subunit ribosomal RNA"
ORIGIN
١ ctagcgagcc caacctccca cccgtgttta ctgtacctta gttgcttcgg cgggcccgcc

٦١ attcgtggcc gccgggggct ctcagccccg ggcccgcgcc cgccggagac accacgaact
١٢١ ctgtctgatc tagtgaagtc tgagttgatt gtatcgcaat cagttaaaac tttcaacaat
١٨١ ggatctcttg gttccggcat cgatgaagaa cgcagcgaaa tgcgataact agtgtgaatt
٢٤١ gcagaattcc gtgaatcatc gagtctttga acgcacattg cgccccctgg tattccgggg
٣٠١ ggcatgcctg tccgagcgtc attgctgccc atcaagcacg gcttgtgtgt tgggtcgtcg
٣٦١ tcccctctcc ggggggacg ggccccaaag gcagcggcgg caccgcgtcc gatcctcgag
٤٢١ cgtatggggc tttgtcaccc gctctgtagg cccggccggc gcttgccgaa cgcaaatcaa
٤٨١ tcttttccag gttgacctcg gatcaggtag ggatacccgc tgaacttaag catatca
//

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
٩٦٩ bits(١٠٧٤)	٠.٠	٥٣٧/٥٣٧(١٠٠٪)	٠/٥٣٧(٠٪)	Plus/Plus

```
Query  ١    CTAGCGAGCCCAACCTCCCACCCGTGTTTACTGTACCTTAGTTGCTTCGGCGGGCCCGCC
٦٠
Sbjct  ١٦١  ............................................................
٢٢٠

Query  ٦١   ATTCGTGGCCGCCGGGGGCTCTCAGCCCCGGGCCCGCGCCCGCCGGAGACACCACGAACT
١٢٠
Sbjct  ٢٢١  ............................................................
٢٨٠

Query  ١٢١  CTGTCTGATCTAGTGAAGTCTGAGTTGATTGTATCGCAATCAGTTAAAACTTTCAACAAT
١٨٠
Sbjct  ٢٨١  ............................................................
٣٤٠
Query  ١٨١  GGATCTCTTGGTTCCGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAACTAGTGTGAATT
٢٤٠
Sbjct  ٣٤١  ............................................................
٤٠٠
Query  ٢٤١  GCAGAATTCCGTGAATCATCGAGTCTTTGAACGCACATTGCGCCCCCTGGTATTCCGGGG
٣٠٠
Sbjct  ٤٠١  ............................................................
٤٦٠
Query  ٣٠١  GGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTGCTGCCCATCAAGCACGGCTTGTGTGTTGGGTCGTCG
٣٦٠
Sbjct  ٤٦١  ............................................................
٥٢٠
Query  ٣٦١  TCCCCTCTCCgggggggACGGGCCCCAAAGGCAGCGGCGGCACCGCGTCCGATCCTCGAG
٤٢٠
Sbjct  ٥٢١  ............................................................
٥٨٠

Query  ٤٢١  CGTATGGGGCTTTGTCACCCGCTCTGTAGGCCCGGCCGGCGCTTGCCGAACGCAAATCAA
٤٨٠

Sbjct  ٥٨١  ............................................................
٦٤٠

Query  ٤٨١  TCTTTTCCAGGTTGACCTCGGATCAGGTAGGGATACCCGCTGAACTTAAGCATATCA
٥٣٧

Sbjct  ٦٤١  .........................................................
٦٩٧
```

ملحق رقم (6)

***Aspergillus tubingensis* internal transcribed spacer ١, partial sequence; ٥.٨S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer ٢, complete sequence; and ٢٨S ribosomal RNA gene, partial sequence**

Sequence ID: KU٦٨٦٦٨٢.١ Length: ١١١٠ Number of Matches: ١

Range ١: ١٦ to ٥٧١ GenBank Graphics Next Match Previous Match

Aspergillus tubingensis clone NaBa-٥-IRAQ internal transcribed spacer ١, partial sequence; ٥.٨S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer ٢, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence

GenBank: ON٩٨١١٠١.١

FASTA Graphics

Go to:

LOCUS ON٩٨١١٠١ ٥٥٦ bp DNA linear PLN ١٨-JUL-٢٠٢٢

DEFINITION Aspergillus tubingensis clone NaBa-٥-IRAQ internal transcribed spacer ١, partial sequence; ٥.٨S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer ٢, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence.

ACCESSION ON٩٨١١٠١

VERSION ON٩٨١١٠١.١

KEYWORDS .

SOURCE Aspergillus tubingensis

ORGANISM Aspergillus tubingensis
Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina; Eurotiomycetes; Eurotiomycetidae; Eurotiales; Aspergillaceae; Aspergillus.

REFERENCE ١ (bases ١ to ٥٥٦)

AUTHORS Naba,M.O. and Ban,T.M.

TITLE ١٨S ribosomal RNA gene, partial sequence

JOURNAL Unpublished

REFERENCE ٢ (bases ١ to ٥٥٦)

AUTHORS Naba,M.O. and Ban,T.M.

TITLE Direct Submission

JOURNAL Submitted (١٣-JUL-٢٠٢٢) Babylon Education Directorate, University of Karbala college of Education for pure science Department of Biology, iraq, Karbala ٠٠٩٦٤, Iraq

COMMENT ##Assembly-Data-START##
Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
##Assembly-Data-END##

FEATURES Location/Qualifiers

source ١..٥٥٦
/organism="Aspergillus tubingensis"
/mol_type="genomic DNA"
/isolate="NaBa-٥-IRAQ"
/isolation_source="sputum by swab from COVID-١٩"
/host="Homo sapiens"
/db_xref="taxon:٥٠٦٨"
/clone="NaBa-٥-IRAQ"
/country="Iraq"
/collected_by="Naba Mohammed Obyeis, Ban Taha Mohammed"

misc_RNA <١..>٥٥٦
/note="contains internal transcribed spacer ١, ٥.٨S ribosomal RNA, internal transcribed spacer ٢, and large subunit ribosomal RNA"

ORIGIN

١ tctttgggcc acctcccatc cgtgtctatt gtaccctgtt gcttcggcgg gcccgccgct
٦١ tgtcggccgc cgggggggcg cctctgcccc ccgggcccgt gcccgccgga gaccccaaca
١٢١ cgaacactgt ctgaaagcgt gcagtctgag ttgattgaat gcaatcagtt aaaactttca
١٨١ acaatggatc tcttggttcc ggcatcgatg aagaacgcag cgaaatgcga taactaatgt
٢٤١ gaattgcaga attcagtgaa tcatcgagtc tttgaacgca cattgcgccc cctggtattc
٣٠١ cgggggcat gcctgtccga gcgtcattgc tgccctcaag cccggcttgt gtgttgggtc
٣٦١ gccgtcccc tctccggggg gacgggcccg aaaggcagcg gcggcaccgc gtccgatcct
٤٢١ cgagcgtatg gggctttgtc acatgctctg taggattggc cggcgcctgc cgacgttttc
٤٨١ caaccattct ttccaggttg acctcggatc aggtagggat acccgctgaa cttaagcata
٥٤١ tcaaaagggg gaagaa
//

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
٩٩٠ bits(١٠٩٧)	٠.٠	٥٥٣/٥٥٦(٩٩٪)	٠/٥٥٦(٠٪)	Plus/Plus

```
Query  ١     TCTTTGGGCCACCTCCCATCCGTGTCTATTGTACCCTGTTGCTTCGGCGGGCCCGCCGCT  ٦٠
Sbjct  ١٦    ............................................................  ٧٥
Query  ٦١    TGTCGGCCGCCggggggggCGCCTCTGCCCCCCGGGCCCGTGCCCGCCGGAGACCCCAACA  ١٢٠
Sbjct  ٧٦    ............................................................  ١٣٥
Query  ١٢١   CGAACACTGTCTGAAAGCGTGCAGTCTGAGTTGATTGAATGCAATCAGTTAAAACTTTCA  ١٨٠
Sbjct  ١٣٦   ............................................................  ١٩٥

Query  ١٨١   ACAATGGATCTCTTGGTTCCGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAACTAATGT  ٢٤٠
Sbjct  ١٩٦   ............................................................  ٢٥٥

Query  ٢٤١   GAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAGTCTTTGAACGCACATTGCGCCCCCTGGTATTC  ٣٠٠
Sbjct  ٢٥٦   ............................................................  ٣١٥

Query  ٣٠١   CGGGGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTGCTGCCCTCAAGCCCGGCTTGTGTGTTGGGTC  ٣٦٠
Sbjct  ٣١٦   ............................................................  ٣٧٥
Query  ٣٦١   GCCGTCCCCCTCTCCGGGGGGACGGGCCCGAAAGGCAGCGGCGGCACCGCGTCCGATCCT  ٤٢٠
Sbjct  ٣٧٦   ............................................................  ٤٣٥
Query  ٤٢١   CGAGCGTATGGGGCTTTGTCACATGCTCTGTAGGATTGGCCGGCGCCTGCCGACGTTTTC  ٤٨٠
Sbjct  ٤٣٦   ............................................................  ٤٩٥
Query  ٤٨١   CAACCATTCTTTCCAGGTTGACCTCGGATCAGGTAGGGATACCCGCTGAACTTAAGCATA  ٥٤٠
Sbjct  ٤٩٦   ............................................................  ٥٥٥
Query  ٥٤١   TCAAAAGGGGGAAGAA  ٥٥٦
Sbjct  ٥٥٦   ....T.A.C.......  ٥٧١
```

ملحق رقم (7)

***Aspergillus costaricensis* isolate ١OCT internal transcribed spacer ١, partial sequence; ٥.٨S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer ٢, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence**
Sequence ID: ON٢٠٨٤٧٤.١ Length: ٥٢٤ Number of Matches: ١
Range ١: ٩ to ٥١١ GenBank Graphics Next Match Previous Match
Aspergillus costaricensis clone NaBa-٦-IRAQ internal transcribed spacer ١, partial sequence; ٥.٨S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer ٢, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence
GenBank: ON٩٨١١٠٢.١
FASTA Graphics
Go to:

```
LOCUS       ON٩٨١١٠٢               ٥٠٣ bp    DNA     linear   PLN ١٨-JUL-٢٠٢٢
DEFINITION  Aspergillus costaricensis clone NaBa-٦-IRAQ internal transcribed
            spacer ١, partial sequence; ٥.٨S ribosomal RNA gene and internal
            transcribed spacer ٢, complete sequence; and large subunit
            ribosomal RNA gene, partial sequence.
ACCESSION   ON٩٨١١٠٢
VERSION     ON٩٨١١٠٢.١
KEYWORDS    .
SOURCE      Aspergillus costaricensis
  ORGANISM  Aspergillus costaricensis
            Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina;
            Eurotiomycetes; Eurotiomycetidae; Eurotiales; Aspergillaceae;
            Aspergillus.
REFERENCE   ١  (bases ١ to ٥٠٣)
  AUTHORS   Naba,M.O. and Ban,T.M.
  TITLE     ١٨S ribosomal RNA gene, partial sequence
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   ٢  (bases ١ to ٥٠٣)
  AUTHORS   Naba,M.O. and Ban,T.M.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (١٣-JUL-٢٠٢٢) Babylon Education Directorate, University
            of Karbala college of Education for pure science Department of
            Biology, iraq, Karbala ٠٠٩٦٤, Iraq
COMMENT     ##Assembly-Data-START##
            Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
            ##Assembly-Data-END##
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          ١..٥٠٣
                     /organism="Aspergillus costaricensis"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /isolate="NaBa-٦-IRAQ"
                     /isolation_source="sputum by swab from COVID-١٩"
                     /host="Homo sapiens"
                     /db_xref="taxon:٣١٩٦٣١"
                     /clone="NaBa-٦-IRAQ"
                     /country="Iraq"
                     /collected_by="Naba Mohammed Obyeis, Ban Taha Mohammed"
     misc_RNA        <١..>٥٠٣
                     /note="contains internal transcribed spacer ١, ٥.٨S
                     ribosomal RNA, internal transcribed spacer ٢, and large
                     subunit ribosomal RNA"
ORIGIN
```

١ tgcttcggcg ggcccgccgc ttgtcggccg ccgggggggc gcctttgccc cccgggcccg
٦١ tgcccgccgg agaccccaac acgaacactg tctgaaagcg tgcagtctga gttgattgaa
١٢١ tgcaatcagt taaaactttc aacaatggat ctcttggttc cggcatcgat gaagaacgca
١٨١ gcgaaatgcg ataactaatg tgaattgcag aattcagtga atcatcgagt ctttgaacgc
٢٤١ acattgcgcc ccctggtatt ccgggggggca tgcctgtccg agcgtcattg ctgccctcaa
٣٠١ gcccggcttg tgtgttgggt cgccgtcccc ctctccgggg ggacgggccc gaaaggcagc
٣٦١ ggcggcaccg cgtccgatcc tcgagcgtat ggggctttgt cacatgctct gtaggattgg
٤٢١ ccggcgcctg ccgacgtttt ccaaccattt tttccaggtt gacctcggat caggtaggga
٤٨١ tacccgctga acttaagcat atc
//

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
٩٠٨ bits(١٠٠٦)	٠.٠	٥٠٣/٥٠٣(١٠٠٪)	٠/٥٠٣(٠٪)	Plus/Plus

```
Query  ١    TGCTTCGGCGGGCCCGCCGCTTGTCGGCCGCCgggggggCGCCTTTGCCCCCCGGGCCCG  ٦٠
Sbjct  ٩    ............................................................  ٦٨

Query  ٦١   TGCCCGCCGGAGACCCCAACACGAACACTGTCTGAAAGCGTGCAGTCTGAGTTGATTGAA  ١٢٠
Sbjct  ٦٩   ............................................................  ١٢٨

Query  ١٢١  TGCAATCAGTTAAAACTTTCAACAATGGATCTCTTGGTTCCGGCATCGATGAAGAACGCA  ١٨٠
Sbjct  ١٢٩  ............................................................  ١٨٨

Query  ١٨١  GCGAAATGCGATAACTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAGTCTTTGAACGC  ٢٤٠
Sbjct  ١٨٩  ............................................................  ٢٤٨

Query  ٢٤١  ACATTGCGCCCCCTGGTATTCCGGGGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTGCTGCCCTCAA  ٣٠٠
Sbjct  ٢٤٩  ............................................................  ٣٠٨

Query  ٣٠١  GCCCGGCTTGTGTGTTGGGTCGCCGTCCCCCTCTCCGGGGGGACGGGCCCGAAAGGCAGC  ٣٦٠
Sbjct  ٣٠٩  ............................................................  ٣٦٨

Query  ٣٦١  GGCGGCACCGCGTCCGATCCTCGAGCGTATGGGGCTTTGTCACATGCTCTGTAGGATTGG  ٤٢٠
Sbjct  ٣٦٩  ............................................................  ٤٢٨

Query  ٤٢١  CCGGCGCCTGCCGACGTTTTCCAACCATTTTTTCCAGGTTGACCTCGGATCAGGTAGGGA  ٤٨٠
Sbjct  ٤٢٩  ............................................................  ٤٨٨

Query  ٤٨١  TACCCGCTGAACTTAAGCATATC  ٥٠٣
Sbjct  ٤٨٩  .......................  ٥١١
```

ملحق رقم (8)

***Aspergillus oryzae* isolate ASP-٣ small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer ١, ٥.٨S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer ٢, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence**
Sequence ID: MH٨٧٩٨٦٠.١Length: ٦٣٨Number of Matches: ١
Range ١: ٩٠ to ٦٣٢GenBankGraphicsNext MatchPrevious Match
Aspergillus oryzae clone NaBa-١٢-IRAQ internal transcribed spacer ١, partial sequence; ٥.٨S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer ٢, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence
GenBank: ON٩٨١٢٩٥.١
FASTA Graphics
Go to:
LOCUS ON٩٨١٢٩٥ ٥٤٣ bp DNA linear PLN ١٨-JUL-٢٠٢٢
DEFINITION Aspergillus oryzae clone NaBa-١٢-IRAQ internal transcribed spacer ١, partial sequence; ٥.٨S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer ٢, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence.
ACCESSION ON٩٨١٢٩٥
VERSION ON٩٨١٢٩٥.١
KEYWORDS .
SOURCE Aspergillus oryzae
ORGANISM Aspergillus oryzae
Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina; Eurotiomycetes; Eurotiomycetidae; Eurotiales; Aspergillaceae; Aspergillus; Aspergillus subgen. Circumdati.
REFERENCE ١ (bases ١ to ٥٤٣)
AUTHORS Naba,M.O. and Ban,T.M.
TITLE ١٨S ribosomal RNA gene, partial sequence
JOURNAL Unpublished
REFERENCE ٢ (bases ١ to ٥٤٣)
AUTHORS Naba,M.O. and Ban,T.M.
TITLE Direct Submission
JOURNAL Submitted (١٣-JUL-٢٠٢٢) Babylon Education Directorate, University of Karbala college of Education for pure science Department of Biology, iraq, Karbala ٠٠٩٦٤, Iraq
COMMENT ##Assembly-Data-START##
Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
##Assembly-Data-END##
FEATURES Location/Qualifiers
source ١..٥٤٣
/organism="Aspergillus oryzae"
/mol_type="genomic DNA"
/isolate="NaBa-١٢-IRAQ"
/isolation_source="sputum by swab from COVID-١٩"
/host="Homo sapiens"
/db_xref="taxon:٥٠٦٢"
/clone="NaBa-١٢-IRAQ"
/country="Iraq"
/collected_by="Naba Mohammed Obyeis, Ban Taha Mohammed"
misc_RNA <١..>٥٤٣
/note="contains internal transcribed spacer ١, ٥.٨S ribosomal RNA, internal transcribed spacer ٢, and large subunit ribosomal RNA"

ORIGIN

١ cgagcccaac ctcccacccg tgtttactgt accttagttg cttcggcggg cccgccattc
٦١ gtggccgccg ggggctctca gccccgggcc cgcgcccgcc ggagacacca cgaactctgt
١٢١ ctgatctagt gaagtctgag ttgattgtat cgcaatcagt taaaactttc aacaatggat
١٨١ ctcttggttc cggcatcgat gaagaacgca gcgaaatgcg ataactagtg tgaattgcag
٢٤١ aattccgtga atcatcgagt ctttgaacgc acattgcgcc ccctggtatt ccgggggca
٣٠١ tgcctgtccg agcgtcattg ctgcccatca agcacggctt gtgtgttggg tcgtcgtccc
٣٦١ ctctccgggg gggacgggcc ccaaaggcag cggcggcacc gcgtccgatc ctcgagcgta
٤٢١ tggggctttg tcacccgctc tgtaggcccg gccggcgctt gccgaacgca aatcaatctt
٤٨١ tttccaggtt gacctcggat caggtaggga tacccgctga acttaagcat atcaataagc
٥٤١ gga
//

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
١٠٤٤ bits(٥٤٣)	٠.٠	٥٤٣/٥٤٣(١٠٠٪)	٠/٥٤٣(٠٪)	Plus/Plus

```
Query  ١    CGAGCCCAACCTCCCACCCGTGTTTACTGTACCTTAGTTGCTTCGGCGGGCCCGCCATTC  ٦٠
Sbjct  ٩٠   ............................................................  ١٤٩

Query  ٦١   GTGGCCGCCGGGGGCTCTCAGCCCCGGGCCCGCGCCCGCCGGAGACACCACGAACTCTGT  ١٢٠
Sbjct  ١٥٠  ............................................................  ٢٠٩

Query  ١٢١  CTGATCTAGTGAAGTCTGAGTTGATTGTATCGCAATCAGTTAAAACTTTCAACAATGGAT  ١٨٠
Sbjct  ٢١٠  ............................................................  ٢٦٩
Query  ١٨١  CTCTTGGTTCCGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAACTAGTGTGAATTGCAG  ٢٤٠
Sbjct  ٢٧٠  ............................................................  ٣٢٩
Query  ٢٤١  AATTCCGTGAATCATCGAGTCTTTGAACGCACATTGCGCCCCCTGGTATTCCGGGGGGCA  ٣٠٠
Sbjct  ٣٣٠  ............................................................  ٣٨٩
Query  ٣٠١  TGCCTGTCCGAGCGTCATTGCTGCCCATCAAGCACGGCTTGTGTGTTGGGTCGTCGTCCC  ٣٦٠
Sbjct  ٣٩٠  ............................................................  ٤٤٩
Query  ٣٦١  CTCTCCgggggggACGGGCCCCAAAGGCAGCGGCGGCACCGCGTCCGATCCTCGAGCGTA  ٤٢٠
Sbjct  ٤٥٠  ............................................................  ٥٠٩
Query  ٤٢١  TGGGGCTTTGTCACCCGCTCTGTAGGCCCGGCCGGCGCTTGCCGAACGCAAATCAATCTT  ٤٨٠
Sbjct  ٥١٠  ............................................................  ٥٦٩
Query  ٤٨١  TTTCCAGGTTGACCTCGGATCAGGTAGGGATACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAAGC  ٥٤٠
Sbjct  ٥٧٠  ............................................................  ٦٢٩
Query  ٥٤١  GGA  ٥٤٣
Sbjct  ٦٣٠  ...  ٦٣٢
```

ملحق رقم (9)

***Aspergillus piperis* isolate ISO٨ small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer ١, ٥.٨S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer ٢, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence**
Sequence ID: MZ٣١٤٥٨٧.١ Length: ٥٩١ Number of Matches: ١
Range ١: ٦١ to ٥٨٩ GenBank Graphics Next Match Previous Match
Aspergillus piperis clone NaBa-٧-IRAQ internal transcribed spacer ١, partial sequence; ٥.٨S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer ٢, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence
GenBank: ON٩٨١١٠٣.١
FASTA Graphics
Go to:

```
LOCUS       ON٩٨١١٠٣              ٥٢٩ bp    DNA     linear   PLN ١٨-JUL-٢٠٢٢
DEFINITION  Aspergillus piperis clone NaBa-٧-IRAQ internal transcribed spacer
            ١, partial sequence; ٥.٨S ribosomal RNA gene and internal
            transcribed spacer ٢, complete sequence; and large subunit
            ribosomal RNA gene, partial sequence.
ACCESSION   ON٩٨١١٠٣
VERSION     ON٩٨١١٠٣.١
KEYWORDS    .
SOURCE      Aspergillus piperis
  ORGANISM  Aspergillus piperis
            Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina;
            Eurotiomycetes; Eurotiomycetidae; Eurotiales; Aspergillaceae;
            Aspergillus.
REFERENCE   ١  (bases ١ to ٥٢٩)
  AUTHORS   Naba,M.O. and Ban,T.M.
  TITLE     ١٨S ribosomal RNA gene, partial sequence
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   ٢  (bases ١ to ٥٢٩)
  AUTHORS   Naba,M.O. and Ban,T.M.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (١٣-JUL-٢٠٢٢) Babylon Education Directorate, University
            of Karbala college of Education for pure science Department of
            Biology, iraq, Karbala ٠٠٩٦٤, Iraq
COMMENT     ##Assembly-Data-START##
            Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
            ##Assembly-Data-END##
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          ١..٥٢٩
                     /organism="Aspergillus piperis"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /isolate="NaBa-٧-IRAQ"
                     /isolation_source="sputum by swab from COVID-١٩"
                     /host="Homo sapiens"
                     /db_xref="taxon:٣١٩٦٣٠"
                     /clone="NaBa-٧-IRAQ"
                     /country="Iraq"
                     /collected_by="Naba Mohammed Obyeis, Ban Taha Mohammed"
     misc_RNA        <١..>٥٢٩
                     /note="contains internal transcribed spacer ١, ٥.٨S
                     ribosomal RNA, internal transcribed spacer ٢, and large
                     subunit ribosomal RNA"
ORIGIN
        ١ acctcccatc cgtgtctatt ataccctgtt gcttcggcgg gcccgccgct tgtcggccgc
```

٦١ cgggggggcg cctttgcccc ccgggcccgt gcccgccgga gaccccaaca cgaacactgt
١٢١ ctgaaagcgt gcagtctgag ttgattgaat gcaatcagtt aaaactttca acaatggatc
١٨١ tcttggttcc ggcatcgatg aagaacgcag cgaaatgcga taactaatgt gaattgcaga
٢٤١ attcagtgaa tcatcgagtc tttgaacgca cattgcgccc cctggtattc cgggggcat
٣٠١ gcctgtccga gcgtcattgc tgccctcaag cccggcttgt gtgttgggtc gccgtccccc
٣٦١ tctccggggg gacgggcccg aaaggcagcg gcggcaccgc gtccgatcct cgagcgtatg
٤٢١ gggctttgtc acatgctctg taggattggc cggcgcctgc cgacgttttc caaccatttt
٤٨١ ttccaggttg acctcggatc aggtagggat acccgctgaa cttaagcat
//

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
٩٥٥ bits(١٠٥٨)	٠.٠	٥٢٩/٥٢٩(١٠٠٪)	٠/٥٢٩(٠٪)	Plus/Plus

```
Query  ١    ACCTCCCATCCGTGTCTATTATACCCTGTTGCTTCGGCGGGCCCGCCGCTTGTCGGCCGC  ٦٠
Sbjct  ٦١   ............................................................  ١٢٠

Query  ٦١   CgggggggCGCCTTTGCCCCCCGGGCCCGTGCCCGCCGGAGACCCCAACACGAACACTGT  ١٢٠
Sbjct  ١٢١  ............................................................  ١٨٠

Query  ١٢١  CTGAAAGCGTGCAGTCTGAGTTGATTGAATGCAATCAGTTAAAACTTTCAACAATGGATC  ١٨٠
Sbjct  ١٨١  ............................................................  ٢٤٠

Query  ١٨١  TCTTGGTTCCGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAACTAATGTGAATTGCAGA  ٢٤٠
Sbjct  ٢٤١  ............................................................  ٣٠٠

Query  ٢٤١  ATTCAGTGAATCATCGAGTCTTTGAACGCACATTGCGCCCCCTGGTATTCCGGGGGGCAT  ٣٠٠
Sbjct  ٣٠١  ............................................................  ٣٦٠

Query  ٣٠١  GCCTGTCCGAGCGTCATTGCTGCCCTCAAGCCCGGCTTGTGTGTTGGGTCGCCGTCCCCC  ٣٦٠
Sbjct  ٣٦١  ............................................................  ٤٢٠

Query  ٣٦١  TCTCCGGGGGGACGGGCCCGAAAGGCAGCGGCGGCACCGCGTCCGATCCTCGAGCGTATG  ٤٢٠
Sbjct  ٤٢١  ............................................................  ٤٨٠

Query  ٤٢١  GGGCTTTGTCACATGCTCTGTAGGATTGGCCGGCGCCTGCCGACGTTTTCCAACCATTTT  ٤٨٠
Sbjct  ٤٨١  ............................................................  ٥٤٠

Query  ٤٨١  TTCCAGGTTGACCTCGGATCAGGTAGGGATACCCGCTGAACTTAAGCAT  ٥٢٩
Sbjct  ٥٤١  ..............................................  ٥٨٩
```

ملحق رقم (10)

***Aspergillus brasiliensis* isolate SMF٢ internal transcribed spacer ١, partial sequence; ٥.٨S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer ٢, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence**

Sequence ID: MW٧٥٧٣٤٣.١ Length: ٧٠٣ Number of Matches: ١

Range ١: ٣٠ to ٥٦٣ GenBank Graphics Next Match Previous Match

Aspergillus brasiliensis clone NaBa-٨-IRAQ internal transcribed spacer ١, partial sequence; ٥.٨S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer ٢, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence

GenBank: ON٩٨١١٠٤.١

FASTA Graphics

Go to:

LOCUS ON٩٨١١٠٤ ٥٣٤ bp DNA linear PLN ١٨-JUL-٢٠٢٢

DEFINITION Aspergillus brasiliensis clone NaBa-٨-IRAQ internal transcribed spacer ١, partial sequence; ٥.٨S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer ٢, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence.

ACCESSION ON٩٨١١٠٤

VERSION ON٩٨١١٠٤.١

KEYWORDS .

SOURCE Aspergillus brasiliensis

ORGANISM Aspergillus brasiliensis

Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina; Eurotiomycetes; Eurotiomycetidae; Eurotiales; Aspergillaceae; Aspergillus.

REFERENCE ١ (bases ١ to ٥٣٤)

AUTHORS Naba,M.O. and Ban,T.M.

TITLE ١٨S ribosomal RNA gene, partial sequence

JOURNAL Unpublished

REFERENCE ٢ (bases ١ to ٥٣٤)

AUTHORS Naba,M.O. and Ban,T.M.

TITLE Direct Submission

JOURNAL Submitted (١٣-JUL-٢٠٢٢) Babylon Education Directorate, University of Karbala college of Education for pure science Department of Biology, iraq, Karbala ٠٠٩٦٤, Iraq

COMMENT ##Assembly-Data-START##

Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing

##Assembly-Data-END##

FEATURES Location/Qualifiers

source ١..٥٣٤

/organism="Aspergillus brasiliensis"

/mol_type="genomic DNA"

/isolate="NaBa-٨-IRAQ"

/isolation_source="sputum by swab from COVID-١٩"

/host="Homo sapiens"

/db_xref="taxon:٣١٩٦٢٩"

/clone="NaBa-٨-IRAQ"

/country="Iraq"

/collected_by="Naba Mohammed Obyeis, Ban Taha Mohammed"

misc_RNA <١..>٥٣٤

/note="contains internal transcribed spacer ١, ٥.٨S ribosomal RNA, internal transcribed spacer ٢, and large subunit ribosomal RNA"

ORIGIN

١ acctcccatc cgtgtctatt ataccctgtt gcttcggcgg gcccgccgct tgtcggccgc
٦١ cgggggggcg cctttgcccc ccgggcccgt gcccgccgga gaccccaaca cgaacactgt
١٢١ ctgaaagcgt gcagtctgag ttgattgaat gcaatcagtt aaaactttca acaatggatc
١٨١ tcttggttcc ggcatcgatg aagaacgcag cgaaatgcga taactaatgt gaattgcaga
٢٤١ attcagtgaa tcatcgagtc tttgaacgca cattgcgccc cctggtattc cgggggcat
٣٠١ gcctgtccga gcgtcattgc tgccctcaag cccggcttgt gtgttgggtc gccgtccccc
٣٦١ tctccggggg gacgggcccg aaaggcagcg gcggcaccgc gtccgatcct cgagcgtatg
٤٢١ gggctttgtc acatgctctg taggattggc cggcgcctgc cgacgttttc caaccatttt
٤٨١ ttccaggttg acctcggatc aggtagggat acccgctgaa cttaagcata tcaa
//

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
٩٦٤ bits(١٠٦٨)	٠.٠	٥٣٤/٥٣٤(١٠٠٪)	٠/٥٣٤(٠٪)	Plus/Plus

```
Query  ١    ACCTCCCATCCGTGTCTATTATACCCTGTTGCTTCGGCGGGCCCGCCGCTTGTCGGCCGC  ٦٠
Sbjct  ٣٠   ............................................................  ٨٩
Query  ٦١   CgggggggCGCCTTTGCCCCCCGGGCCCGTGCCCGCCGGAGACCCCAACACGAACACTGT  ١٢٠
Sbjct  ٩٠   ............................................................  ١٤٩
Query  ١٢١  CTGAAAGCGTGCAGTCTGAGTTGATTGAATGCAATCAGTTAAAACTTTCAACAATGGATC  ١٨٠
Sbjct  ١٥٠  ............................................................  ٢٠٩
Query  ١٨١  TCTTGGTTCCGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAACTAATGTGAATTGCAGA  ٢٤٠
Sbjct  ٢١٠  ............................................................  ٢٦٩
Query  ٢٤١  ATTCAGTGAATCATCGAGTCTTTGAACGCACATTGCGCCCCCTGGTATTCCGGGGGGCAT  ٣٠٠
Sbjct  ٢٧٠  ............................................................  ٣٢٩
Query  ٣٠١  GCCTGTCCGAGCGTCATTGCTGCCCTCAAGCCCGGCTTGTGTGTTGGGTCGCCGTCCCCC  ٣٦٠
Sbjct  ٣٣٠  ............................................................  ٣٨٩
Query  ٣٦١  TCTCCGGGGGGACGGGCCCGAAAGGCAGCGGCGGCACCGCGTCCGATCCTCGAGCGTATG  ٤٢٠
Sbjct  ٣٩٠  ............................................................  ٤٤٩

Query  ٤٢١  GGGCTTTGTCACATGCTCTGTAGGATTGGCCGGCGCCTGCCGACGTTTTCCAACCATTTT  ٤٨٠
Sbjct  ٤٥٠  ............................................................  ٥٠٩

Query  ٤٨١  TTCCAGGTTGACCTCGGATCAGGTAGGGATACCCGCTGAACTTAAGCATATCAA  ٥٣٤
Sbjct  ٥١٠  ......................................................  ٥٦٣
```

ملحق رقم (11)

***Aspergillus niger* strain ZMQR٦ internal transcribed spacer ١, partial sequence; ٥.٨S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer ٢, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence**

Sequence ID: MT٤٤٦٠٨٧.١ Length: ٥٧٢ Number of Matches: ١

Range ١: ١٧ to ٥٥٦ GenBank Graphics Next Match Previous Match

Aspergillus niger clone NaBa-٩-IRAQ internal transcribed spacer ١, partial sequence; ٥.٨S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer ٢, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence

GenBank: ON٩٨١١٠٥.١

FASTA Graphics

Go to:

LOCUS ON٩٨١١٠٥ ٥٤٠ bp DNA linear PLN ١٨-JUL-٢٠٢٢

DEFINITION Aspergillus niger clone NaBa-٩-IRAQ internal transcribed spacer ١, partial sequence; ٥.٨S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer ٢, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence.

ACCESSION ON٩٨١١٠٥

VERSION ON٩٨١١٠٥.١

KEYWORDS .

SOURCE Aspergillus niger

ORGANISM Aspergillus niger

Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina; Eurotiomycetes; Eurotiomycetidae; Eurotiales; Aspergillaceae; Aspergillus; Aspergillus subgen. Circumdati.

REFERENCE ١ (bases ١ to ٥٤٠)

AUTHORS Naba,M.O. and Ban,T.M.

TITLE ١٨S ribosomal RNA gene, partial sequence

JOURNAL Unpublished

REFERENCE ٢ (bases ١ to ٥٤٠)

AUTHORS Naba,M.O. and Ban,T.M.

TITLE Direct Submission

JOURNAL Submitted (١٣-JUL-٢٠٢٢) Babylon Education Directorate, University of Karbala college of Education for pure science Department of Biology, iraq, Karbala ٠٠٩٦٤, Iraq

COMMENT ##Assembly-Data-START##

Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing

##Assembly-Data-END##

FEATURES Location/Qualifiers

source ١..٥٤٠

/organism="Aspergillus niger"

/mol_type="genomic DNA"

/isolate="NaBa-٩-IRAQ"

/isolation_source="sputum by swab from COVID-١٩"

/host="Homo sapiens"

/db_xref="taxon:٥٠٦١"

/clone="NaBa-٩-IRAQ"

/country="Iraq"

/collected_by="Naba Mohammed Obyeis, Ban Taha Mohammed"

misc_RNA <١..>٥٤٠

/note="contains internal transcribed spacer ١, ٥.٨S ribosomal RNA, internal transcribed spacer ٢, and large subunit ribosomal RNA"

ORIGIN

١ tctttgggcc acctcccatc cgtgtctatt ataccctgtt gcttcggcgg gcccgccgct

٦١ tgtcggccgc cgggggggcg cctttgcccc ccgggcccgt gcccgccgga gaccccaaca
١٢١ cgaacactgt ctgaaagcgt gcagtctgag ttgattgaat gcaatcagtt aaaactttca
١٨١ acaatggatc tcttggttcc ggcatcgatg aagaacgcag cgaaatgcga taactaatgt
٢٤١ gaattgcaga attcagtgaa tcatcgagtc tttgaacgca cattgcgccc cctggtattc
٣٠١ cgggggcat gcctgtccga gcgtcattgc tgccctcaag cccggcttgt gtgttgggtc
٣٦١ gccgtccccc tctccggggg gacgggcccg aaaggcagcg gcggcaccgc gtccgatcct
٤٢١ cgagcgtatg gggctttgtc acatgctctg taggattggc cggcgcctgc cgacgttttc
٤٨١ caaccatttt ttccaggttg acctcggatc aggtagggat acccgctgaa cttaagcata
//

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
٩٧٥ bits(١٠٨٠)	٠.٠	٥٤٠/٥٤٠(١٠٠٪)	٠/٥٤٠(٠٪)	Plus/Plus

```
Query  ١    TCTTTGGGCCACCTCCCATCCGTGTCTATTATACCCTGTTGCTTCGGCGGGCCCGCCGCT  ٦٠
Sbjct  ١٧   ............................................................  ٧٦

Query  ٦١   TGTCGGCCGCCgggggggCGCCTTTGCCCCCCGGGCCCGTGCCCGCCGGAGACCCCAACA  ١٢٠
Sbjct  ٧٧   ............................................................  ١٣٦

Query  ١٢١  CGAACACTGTCTGAAAGCGTGCAGTCTGAGTTGATTGAATGCAATCAGTTAAAACTTTCA  ١٨٠
Sbjct  ١٣٧  ............................................................  ١٩٦

Query  ١٨١  ACAATGGATCTCTTGGTTCCGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAACTAATGT  ٢٤٠
Sbjct  ١٩٧  ............................................................  ٢٥٦

Query  ٢٤١  GAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAGTCTTTGAACGCACATTGCGCCCCCTGGTATTC  ٣٠٠
Sbjct  ٢٥٧  ............................................................  ٣١٦

Query  ٣٠١  CGGGGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTGCTGCCCTCAAGCCCGGCTTGTGTGTTGGGTC  ٣٦٠
Sbjct  ٣١٧  ............................................................  ٣٧٦

Query  ٣٦١  GCCGTCCCCCTCTCCGGGGGGACGGGCCCGAAAGGCAGCGGCGGCACCGCGTCCGATCCT  ٤٢٠
Sbjct  ٣٧٧  ............................................................  ٤٣٦

Query  ٤٢١  CGAGCGTATGGGGCTTTGTCACATGCTCTGTAGGATTGGCCGGCGCCTGCCGACGTTTTC  ٤٨٠
Sbjct  ٤٣٧  ............................................................  ٤٩٦

Query  ٤٨١  CAACCATTTTTTCCAGGTTGACCTCGGATCAGGTAGGGATACCCGCTGAACTTAAGCATA  ٥٤٠
Sbjct  ٤٩٧  ............................................................  ٥٥٦
```

ملحق رقم (12)

***Aspergillus tubingensis* internal transcribed spacer ١, partial sequence; ٥.٨S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer ٢, complete sequence; and ٢٨S ribosomal RNA gene, partial sequence**

Sequence ID: KU٦٨٦٦٨٢.١ Length: ١١١٠ Number of Matches: ١

Range ١: ١٦ to ٥٦١ GenBank Graphics Next Match Previous Match

Aspergillus tubingensis clone NaBa-٥-IRAQ internal transcribed spacer ١, partial sequence; ٥.٨S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer ٢, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence

GenBank: ON٩٨١١٠١.١

FASTA Graphics

Go to:

LOCUS ON٩٨١١٠١ ٥٥٦ bp DNA linear PLN ١٨-JUL-٢٠٢٢

DEFINITION Aspergillus tubingensis clone NaBa-٥-IRAQ internal transcribed spacer ١, partial sequence; ٥.٨S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer ٢, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence.

ACCESSION ON٩٨١١٠١

VERSION ON٩٨١١٠١.١

KEYWORDS .

SOURCE Aspergillus tubingensis

ORGANISM Aspergillus tubingensis
Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina; Eurotiomycetes; Eurotiomycetidae; Eurotiales; Aspergillaceae; Aspergillus.

REFERENCE ١ (bases ١ to ٥٥٦)

AUTHORS Naba,M.O. and Ban,T.M.

TITLE ١٨S ribosomal RNA gene, partial sequence

JOURNAL Unpublished

REFERENCE ٢ (bases ١ to ٥٥٦)

AUTHORS Naba,M.O. and Ban,T.M.

TITLE Direct Submission

JOURNAL Submitted (١٣-JUL-٢٠٢٢) Babylon Education Directorate, University of Karbala college of Education for pure science Department of Biology, iraq, Karbala ٠٠٩٦٤, Iraq

COMMENT ##Assembly-Data-START##
Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
##Assembly-Data-END##

FEATURES Location/Qualifiers

source ١..٥٥٦
/organism="Aspergillus tubingensis"
/mol_type="genomic DNA"
/isolate="NaBa-٥-IRAQ"
/isolation_source="sputum by swab from COVID-١٩"
/host="Homo sapiens"
/db_xref="taxon:٥٠٦٨"
/clone="NaBa-٥-IRAQ"
/country="Iraq"
/collected_by="Naba Mohammed Obyeis, Ban Taha Mohammed"

misc_RNA <١..>٥٥٦
/note="contains internal transcribed spacer ١, ٥.٨S ribosomal RNA, internal transcribed spacer ٢, and large subunit ribosomal RNA"

ORIGIN

١ tctttgggcc acctcccatc cgtgtctatt gtaccctgtt gcttcggcgg gcccgccgct

٦١ tgtcggccgc cgggggggcg cctctgcccc ccgggcccgt gcccgccgga gaccccaaca
١٢١ cgaacactgt ctgaaagcgt gcagtctgag ttgattgaat gcaatcagtt aaaactttca
١٨١ acaatggatc tcttggttcc ggcatcgatg aagaacgcag cgaaatgcga taactaatgt
٢٤١ gaattgcaga attcagtgaa tcatcgagtc tttgaacgca cattgcgccc cctggtattc
٣٠١ cgggggcat gcctgtccga gcgtcattgc tgccctcaag cccggcttgt gtgttgggtc
٣٦١ gccgtccccc tctccggggg gacgggcccg aaaggcagcg gcggcaccgc gtccgatcct
٤٢١ cgagcgtatg gggctttgtc acatgctctg taggattggc cggcgcctgc cgacgttttc
٤٨١ caaccattct ttccaggttg acctcggatc aggtagggat acccgctgaa cttaagcata
٥٤١ tcaaaagggg gaagaa
//

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
١٠٥٠ bits(٥٤٦)	٠.٠	٥٤٦/٥٤٦(١٠٠٪)	٠/٥٤٦(٠٪)	Plus/Plus

```
Query  ١     TCTTTGGGCCACCTCCCATCCGTGTCTATTGTACCCTGTTGCTTCGGCGGGCCCGCCGCT  ٦٠
Sbjct  ١٦    ............................................................  ٧٥
Query  ٦١    TGTCGGCCGCCgggggggCGCCTCTGCCCCCCGGGCCCGTGCCCGCCGGAGACCCCAACA  ١٢٠
Sbjct  ٧٦    ............................................................  ١٣٥
Query  ١٢١   CGAACACTGTCTGAAAGCGTGCAGTCTGAGTTGATTGAATGCAATCAGTTAAAACTTTCA  ١٨٠
Sbjct  ١٣٦   ............................................................  ١٩٥
Query  ١٨١   ACAATGGATCTCTTGGTTCCGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAACTAATGT  ٢٤٠
Sbjct  ١٩٦   ............................................................  ٢٥٥
Query  ٢٤١   GAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAGTCTTTGAACGCACATTGCGCCCCCTGGTATTC  ٣٠٠
Sbjct  ٢٥٦   ............................................................  ٣١٥
Query  ٣٠١   CGGGGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTGCTGCCCTCAAGCCCGGCTTGTGTGTTGGGTC  ٣٦٠
Sbjct  ٣١٦   ............................................................  ٣٧٥
Query  ٣٦١   GCCGTCCCCCTCTCCGGGGGGACGGGCCCGAAAGGCAGCGGCGGCACCGCGTCCGATCCT  ٤٢٠
Sbjct  ٣٧٦   ............................................................  ٤٣٥
Query  ٤٢١   CGAGCGTATGGGGCTTTGTCACATGCTCTGTAGGATTGGCCGGCGCCTGCCGACGTTTTC  ٤٨٠
Sbjct  ٤٣٦   ............................................................  ٤٩٥
Query  ٤٨١   CAACCATTCTTTCCAGGTTGACCTCGGATCAGGTAGGGATACCCGCTGAACTTAAGCATA  ٥٤٠
Sbjct  ٤٩٦   ............................................................  ٥٥٥
Query  ٥٤١   TCAATA  ٥٤٦
Sbjct  ٥٥٦   ......  ٥٦١
Query  ٤٢١   GTATGGGGCTTTGTCACCCGCTCTGTAGGCCCGGCCGGCGCTTGCCGAACGCAAATCAAT  ٤٨٠
Sbjct  ٤٣٧   ............................................................  ٤٩٦

Query  ٤٨١   CTTTTCCAGGTTGACCTCGGATCAGGTAGGGATACCCGCTGAACTTAAGCATATCA  ٥٣٦
Sbjct  ٤٩٧   ..................................................  ٥٥٢
```

ملحق رقم (14)

***Rhizopus americanus* isolate C٤٨ internal transcribed spacer ١, partial sequence; ٥.٨S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer ٢, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence**

Sequence ID: KY٦٢١٣٢١.١ Length: ١٥٠٠ Number of Matches: ٢

Range ١: ٢٧ to ٥٧٦ GenBank Graphics Next Match Previous Match

Rhizopus americanus clone NaBa-١٠-IRAQ internal transcribed spacer ١, partial sequence; ٥.٨S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer ٢, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence

GenBank: ON٩٨١١٠٦.١

FASTA Graphics

Go to:

LOCUS ON٩٨١١٠٦ ٥٥٠ bp DNA linear PLN ١٨-JUL-٢٠٢٢

DEFINITION Rhizopus americanus clone NaBa-١٠-IRAQ internal transcribed spacer ١, partial sequence; ٥.٨S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer ٢, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence.

ACCESSION ON٩٨١١٠٦

VERSION ON٩٨١١٠٦.١

KEYWORDS .

SOURCE Rhizopus americanus

ORGANISM Rhizopus americanus

Eukaryota; Fungi; Fungi incertae sedis; Mucoromycota; Mucoromycotina; Mucoromycetes; Mucorales; Mucorineae; Rhizopodaceae; Rhizopus.

REFERENCE ١ (bases ١ to ٥٥٠)

AUTHORS Naba,M.O. and Ban,T.M.

TITLE ١٨S ribosomal RNA gene, partial sequence

JOURNAL Unpublished

REFERENCE ٢ (bases ١ to ٥٥٠)

AUTHORS Naba,M.O. and Ban,T.M.

TITLE Direct Submission

JOURNAL Submitted (١٣-JUL-٢٠٢٢) Babylon Education Directorate, University of Karbala college of Education for pure science Department of Biology, iraq, Karbala ٠٠٩٦٤, Iraq

COMMENT ##Assembly-Data-START##

Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing

##Assembly-Data-END##

FEATURES Location/Qualifiers

source ١..٥٥٠

/organism="Rhizopus americanus"

/mol_type="genomic DNA"

/isolate="NaBa-١٠-IRAQ"

/isolation_source="sputum by swab from COVID-١٩"

/host="Homo sapiens"

/db_xref="taxon:٢٣٥٣٩٢"

/clone="NaBa-١٠-IRAQ"

/country="Iraq"

/collected_by="Naba Mohammed Obyeis, Ban Taha Mohammed"

misc_RNA <١..>٥٥٠

/note="contains internal transcribed spacer ١, ٥.٨S ribosomal RNA, internal transcribed spacer ٢, and large subunit ribosomal RNA"

ORIGIN

١ tagggtttcc tctggggtaa gtgattgctt ctacactgtg aaaatttggc tgagagactc

٦١ agactggtca tgggtagacc tatctggggt ttgatcgatg ccactcctgg tttcaggagc
١٢١ acccttcata ataaacctag aaattcagta ttataaagtt taataaaaaa caacttttaa
١٨١ caatggatct cttggttctc gcatcgatga agaacgtagc aaagtgcgat aactagtgtg
٢٤١ aattgcatat tcagtgaatc atcgagtctt tgaacgcagc ttgcactcta tggttttct
٣٠١ atagagtacg cctgcttcag tatcatcaca aacccacaca taacatttgt ttatgtggtg
٣٦١ atgggtcgca tcgctgtttt attacagtga gcacctaaaa tgtgtgtgat tttctgtctg
٤٢١ gcttgctagg caggaatatt acgctggtct caggatcttt ttttttggtt aaagtacaag
٤٨١ agtataatcc agtaactttc aaactatgat ctgaagtcag gtgggattac ccgctgaact
٥٤١ taagcatatc
//

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
٩٧٩ bits(١٠٨٥)	٠.٠	٥٤٧/٥٥٠(٩٩٪)	٠/٥٥٠(٠٪)	Plus/Plus

```
Query  ١    TAGGGTTTCCTCTGGGGTAAGTGATTGCTTCTACACTGTGAAAATTTGGCTGAGAGACTC  ٦٠
Sbjct  ٢٧   ............................................................  ٨٦

Query  ٦١   AGACTGGTCATGGGTAGACCTATCTGGGGTTTGATCGATGCCACTCCTGGTTTCAGGAGC  ١٢٠
Sbjct  ٨٧   ............................................................  ١٤٦

Query  ١٢١  ACCCTTCATAATAAACCTAGAAATTCAGTATTATAAAGTTTAATAAAAAACAACTTTTAA  ١٨٠
Sbjct  ١٤٧  ............................................................  ٢٠٦

Query  ١٨١  CAATGGATCTCTTGGTTCTCGCATCGATGAAGAACGTAGCAAAGTGCGATAACTAGTGTG  ٢٤٠
Sbjct  ٢٠٧  ............................................................  ٢٦٦

Query  ٢٤١  AATTGCATATTCAGTGAATCATCGAGTCTTTGAACGCAGCTTGCACTCTATGGTTTTTCT  ٣٠٠
Sbjct  ٢٦٧  ............................................................  ٣٢٦

Query  ٣٠١  ATAGAGTACGCCTGCTTCAGTATCATCACAAACCCACACATAACATTTGTTTATGTGGTG  ٣٦٠
Sbjct  ٣٢٧  ............................................................A  ٣٨٦

Query  ٣٦١  ATGGGTCGCATCGCTGTTTTATTACAGTGAGCACCTAAAATGTGTGTGATTTTCTGTCTG  ٤٢٠
Sbjct  ٣٨٧  ............................................................  ٤٤٦
Query  ٤٢١  GCTTGCTAGGCAGGAATATTACGCTGGTCTCAGGATCtttttttttGGTTAAAGTACAAG  ٤٨٠
Sbjct  ٤٤٧  ..........................................C.................  ٥٠٦
Query  ٤٨١  AGTATAATCCAGTAACTTTCAAACTATGATCTGAAGTCAGGTGGGATTACCCGCTGAACT  ٥٤٠
Sbjct  ٥٠٧  ...........C................................................  ٥٦٦
Query  ٥٤١  TAAGCATATC  ٥٥٠
```

ملحق رقم (15)

***Aspergillus niger* isolate DNik١ internal transcribed spacer ١, partial sequence; ٥.٨S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer ٢, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence**
Sequence ID: MZ٤٧٤٨٤١.١ Length: ٥٧٤ Number of Matches: ١
Range ١: ٢١ to ٥٧٣GenBankGraphicsNext MatchPrevious Match
Aspergillus niger clone NaBa-١١-IRAQ internal transcribed spacer ١, partial sequence; ٥.٨S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer ٢, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence
GenBank: ON٩٨١١٠٧.١
FASTA Graphics
Go to:
LOCUS ON٩٨١١٠٧ ٥٥٣ bp DNA linear PLN ١٨-JUL-٢٠٢٢
DEFINITION Aspergillus niger clone NaBa-١١-IRAQ internal transcribed spacer ١, partial sequence; ٥.٨S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer ٢, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence.
ACCESSION ON٩٨١١٠٧
VERSION ON٩٨١١٠٧.١
KEYWORDS .
SOURCE Aspergillus niger
ORGANISM Aspergillus niger
Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina; Eurotiomycetes; Eurotiomycetidae; Eurotiales; Aspergillaceae; Aspergillus; Aspergillus subgen. Circumdati.
REFERENCE ١ (bases ١ to ٥٥٣)
AUTHORS Naba,M.O. and Ban,T.M.
TITLE ١٨S ribosomal RNA gene, partial sequence
JOURNAL Unpublished
REFERENCE ٢ (bases ١ to ٥٥٣)
AUTHORS Naba,M.O. and Ban,T.M.
TITLE Direct Submission
JOURNAL Submitted (١٣-JUL-٢٠٢٢) Babylon Education Directorate, University of Karbala college of Education for pure science Department of Biology, iraq, Karbala ٠٠٩٦٤, Iraq
COMMENT ##Assembly-Data-START##
Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
##Assembly-Data-END##
FEATURES Location/Qualifiers
source ١..٥٥٣
/organism="Aspergillus niger"
/mol_type="genomic DNA"
/isolate="NaBa-١١-IRAQ"
/isolation_source="sputum by swab from COVID-١٩"
/host="Homo sapiens"
/db_xref="taxon:٥٠٦١"
/clone="NaBa-١١-IRAQ"
/country="Iraq"
/collected_by="Naba Mohammed Obyeis, Ban Taha Mohammed"
misc_RNA <١..>٥٥٣
/note="contains internal transcribed spacer ١, ٥.٨S ribosomal RNA, internal transcribed spacer ٢, and large subunit ribosomal RNA"
ORIGIN

١ gggccaacct cccatccgtg tctattgtac cctgttgctt cggcgggccc gccgcttgtc
٦١ ggccgccggg ggggcgcctc tgcccccgg gcccgtgccc gccggagacc ccaacacgaa
١٢١ cactgtctga aagcgtgcag tctgagttga ttgaatgcaa tcagttaaaa ctttcaacaa
١٨١ tggatctctt ggttccggca tcgatgaaga acgcagcgaa atgcgataac taatgtgaat
٢٤١ tgcagaattc agtgaatcat cgagtctttg aacgcacatt gcgcccctg gtattccggg
٣٠١ gggcatgcct gtccgagcgt cattgctgcc ctcaagcccg gcttgtgtgt ggggtcgccg
٣٦١ tccccctctc cgggggacg ggcccgaaag gcagcggcgg caccgcgtcc gatcctcgag
٤٢١ cgtatggggc tttgtcacat gctctgtagg attggccggc gcctgccgac gttttccaac
٤٨١ cattctttcc aggttgacct cggatcaggt agggataccc gctgaactta agcatatcat
٥٤١ aaagccggaa gga

//

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
٩٨٠ bits(١٠٨٦)	٠.٠	٥٤٩/٥٥٣(٩٩٪)	٠/٥٥٣(٠٪)	Plus/Plus

Query ١ GGGCCAACCTCCCATCCGTGTCTATTGTACCCTGTTGCTTCGGCGGGCCCGCCGCTTGTC ٦٠

Sbjct ٢١ ..**C**... ٨٠

Query ٦١ GGCCGCCgggggggCGCCTCTGCCCCCCGGGCCCGTGCCCGCCGGAGACCCCAACACGAA ١٢٠

Sbjct ٨١ .... ١٤٠

Query ١٢١ CACTGTCTGAAAGCGTGCAGTCTGAGTTGATTGAATGCAATCAGTTAAAACTTTCAACAA ١٨٠

Sbjct ١٤١ .... ٢٠٠

Query ١٨١ TGGATCTCTTGGTTCCGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAACTAATGTGAAT ٢٤٠

Sbjct ٢٠١ .... ٢٦٠

Query ٢٤١ TGCAGAATTCAGTGAATCATCGAGTCTTTGAACGCACATTGCGCCCCCTGGTATTCCGGG ٣٠٠

Sbjct ٢٦١ .... ٣٢٠

Query ٣٠١ GGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTGCTGCCCTCAAGCCCGGCTTGTGTGTGGGGTCGCCG ٣٦٠

Sbjct ٣٢١ ....**T**......... ٣٨٠

```
Query  ٣٦١  TCCCCCTCTCCGGGGGGACGGGCCCGAAAGGCAGCGGCGGCACCGCGTCCGATCCTCGAG  ٤٢٠

Sbjct  ٣٨١  ............................................................  ٤٤٠

Query  ٤٢١  CGTATGGGGCTTTGTCACATGCTCTGTAGGATTGGCCGGCGCCTGCCGACGTTTTCCAAC  ٤٨٠

Sbjct  ٤٤١  ............................................................  ٥٠٠

Query  ٤٨١  CATTCTTTCCAGGTTGACCTCGGATCAGGTAGGGATACCCGCTGAACTTAAGCATATCAT  ٥٤٠

Sbjct  ٥٠١  ............................................................A  ٥٦٠

Query  ٥٤١  AAAGCCGGAAGGA  ٥٥٣

Sbjct  ٥٦١  .....G.......  ٥٧٣
```

SUMMARY:

The study was conducted in the Graduate Studies Laboratory of the College of Education for Pure Sciences at the University of Karbala, during the period from ١٥/١١/٢٠٢١ to ١٥/٨/٢٠٢٢. With the aim of controlling the fungus that causes black mold disease by using the phenomenon of fungal antagonism with fungi isolated from the sputum of some people who recovered from infection with Covid ١٩. With the possibility of converting silver and zinc from the metallic state to a nano-state using these fungal filtrates.

The study included the diagnosis of fourteen fungi isolated from the sputum of people who had recovered from infection with Covid ١٩ with a conventional diagnosis, then they were molecularly diagnosed using the polymerase chain reaction (PCR) technique, based on primers for molecular diagnosis.

Fungi have been registered in the global Genbank, and this study is considered the first study concerned with this work at the level of Iraq and the region. These are *Rhizopus americanus* has accession number ON٩٨١١٠٦, *Rhizopus stolonifer* has accession number ON٩٨١٠٩٧, *Aspergillus brasiliensis* has accession number , *Aspergillus costaricensis* has accession number ON٩٨١١٠٢, *Aspergillus flavus* has accession number ON٩٨١٢٩٧ and *Aspergillus minisclerotigene*has accession number ON٩٨١١٠١, *Aspergillus niger* ١ has accession number ON٩٨١٠٩٨, *Aspergillus niger* ٢ has accession number ON٩٨١١٠٧ and fungus Aspergillus niger٣ has accession number , Aspergillus oryzae, has accession number ON٩٨١٢٩٥, Aspergillus piperis, has accession number ON٩٨١١٠٣, Aspergillus tubingensis١has accession number ON٩٨١١٠١, Aspergillus tubingensis٢, has accession number ON٩٨١٢٩٦, Aspergillus welwitschiae has accession number ON٩٨١٠٩٩ .

The results showed the affinity and similarity between the recorded fungi with the global isolates. The focus was on the phenomenon of fungal antagonism of fungi isolated from sputum, as well as some dermatophytes obtained from previous experiments.

The results of fungal antagonism showed that there was a inconsistency in the antagonistic ability of the fungi used in the study

with *R. stolonifer* , as it reached ٣ according to the Bell scale, after growing them on Sabouraud dextrose agar(SDA) at a temperature of ٢٨ ˚ C for five days. And then purified and converted into fungal filtrate.

The results showed that there were significant differences at the level of probability ٠.٠٥ for the type of fungi extract and its concentration, as it was observed that the effect of the fungal fluctuated compared to the control treatment, which gave a diameter growth rate of ٨.٠ cm after five days of incubation at a temperature of ٢٨ ˚ C. The fungal filtrate at a concentration of ٧٥٪ showed superiority in its inhibition effect over other concentrations of ١٠٠٪, ٥٠٪, and ٢٥٪ on the growth of *R. stolonifer*. And with significant differences at a probability level of ٠.٠٥, as it gave a fungus growth rate of ٢.٥٧١ cm, with a rate of ٦٨٪, compared to the rest of the concentrations ١٠٠٪, ٥٠٪, and ٢٥٪, which gave a growth rate for the fungus, respectively, ٣.١١٩, ٦.١٤٣, ٣.٦١٩ cm, with an inhibition ratio of ٦١٪, ٢٣٪, ٥٥ %.

All nanofilters were subjected after the use of fungal filtrate to convert metallic silver and zinc into nanoparticles, and the first point of transformation into a nanofilter was the chromatic function and a difference in the color of the nanofilter from the normal filter before treatment with zinc oxide or silver nitrate, and then other tests related to confirmation of obtaining were conducted. On the nanomaterial, including ultraviolet and infrared rays.

The results showed that there were significant differences at the level of ٠.٠٥ for the type of zinc nanofiltrate, its concentration, and the binary interactions in the average diameter of the *R. stolonifer* colony. The results showed a fluctuation in the effect of the filtrate, but in general all the fungal filtrate inhibited the growth of the *R. stolonifer*. As for the concentration of the fungal filtrate with zinc nanoparticles, the concentration of ٢٥٪ showed superiority over the concentrations of ٥٠٪, ٧٥٪, and ١٠٠٪ in its inhibitory effect on the growth of the *R. stolonifer*, with significant differences at the level of ٠.٠٥, as it gave the fungus growth rate of ٠.٧٣٨ cm, with an inhibition rate of ٩١٪ compared to the rest. Concentrations of ٥٠٪, ٧٥٪, and ١٠٠٪ gave growth rates of ١.٣١٠, ١.٨٥٧, and ١.٨٣٣ cm, respectively, with inhibition rates of ٨٤٪, ٧٧٪, and ٧٧٪. As for the control treatment, it gave a diagonal growth rate of ٨.٠ cm.

The results also showed that there were significant differences at the level of probability ٠.٠٥ for the type of fungus nanofiltration with silver and its

concentration, as the results showed fluctuation in the effect of the filtrates, but in general all of them inhibited the growth of the *R. stolonifer*. In terms of the concentration of the fungal nanofiltrate, the concentration of ٥٠٪ showed superiority over the concentrations of ٢٥٪, ٧٥٪, and ١٠٠٪ in its inhibitory effect on the growth of *R. stolonifer*, with significant differences at a probability level of ٠.٠٥, as it gave the fungus growth rate of ٢.٤٠٥ cm, with an inhibition rate of ٧٠٪ compared to the rest of the concentrations. Which gave a growth rate of ٢.٧١٤, ٨, ٥ cm, respectively, with zero inhibition rates, ٦٦٪, and ٣٨٪, respectively, compared to the control treatment, which gave a diagonal growth rate of ٨.٠ cm.

Several microscopic examinations were carried out on *R. stolonifer* treated with fungal filtrate and nano solutions and explained the effect of different treatments and the variation of this effect between decomposition or distortions in the mycelium and the fragmentation of the protoplasm and its agglomeration in other areas as well as the distortions in the sporangia and their different sizes and maturity.

Ministry Of Higher Education And Scientific Research

University Of Kerbala

College Of Education

For Pure Science - Department Of Biology

Evaluation of Some normal and nano filterates activity Against Black Molds In vitro Conditions

A Thesis

Submitted To The Council Of The College Of Science / Kerbala University In Fulfillment Of The Requirement For The Degree Of Master Of Science In Biology / Fungi

By

Nibaa Mohammed Obyies

Supervised by

Prof. Dr. Ban Taha Mohammad

٢٠٢٣ AD ١٤٤٤ AH