تأثير جسيمات الفضة النانونية المنتجة من الفطريات ضد بعض الأنواع البكتيرية الممرضة

محمد عبد السميع المقصبي*، سهيلة رمضان الصيد، هناء عمر صافار، مروة الصادق الوش، نجاة حسين الاطرش
قسم الاحياء، كلية العلوم، جامعة مصراتة، مصراتة، ليبيا
*m.almagasbi@sci.misuratau.edu.ly

الملخص:
العديد من الكائنات الحية الدقيقة لها القدرة على إنتاج جسيمات الفضة النانونية المعروفة بإمتلاكها فعالية مضادة لمدى واسع من مسببات الأمراض البكتيرية، هدفت هذه الدراسة إلى عزل الفطريات من تربة المنطقة الصناعية قصر أحمد بمدينة مصراتة لإختبار قدرتها على إنتاج جسيمات الفضة النانونية وتحديد الفعالية التثبيطية لهذه الجسيمات ضد بعض الأنواع البكتيرية المختبرة، تم الحصول على 11 نوع فطري من عينات التربة بإتباع طريقة التخفيف المتسلسل، أظهرت النتائج قدرة 6 أنواع فطرية (*Cladosporium peutiana*، *Cladosporium cladosporioides*، *Penicillium chrysogenum*، *Aspergillus niger*، *Rhizoctonia solani*، *Sclerotinia Sclerotiorum*) على إنتاج جسيمات الفضة النانونية التي تم الكشف عنها من خلال ملاحظة التغير اللوني لراشح الكتلة الحيوية الفطرية إلى اللون البني بعد اضافة نترات الفضة بتركيز 1mM، أيضا من خلال قياس طيف إمتصاص الأشعة فوق البنفسجية والمرئية لمحلول جسيمات الفضة النانونية تبين أنها تقع على مدى طول موجي 406 نانومتر لفطر *R. solani* و432 لفطر *A. niger* مما يدل على كفاءة الفطريات في إنتاج هذه الجسيمات، بينت نتائج الفعالية التثبيطية باستخدام طريقة انتشار حفر الأجار أن محلول جسيمات الفضة النانونية لكل الأنواع الفطرية المنتجة كان ذو فعالية تثبيطية اتجاه جميع أنواع البكتيريا المختبرة الموجبة والسالبة لصبغة جرام المستخدمة في الدراسة.

الكلمات المفتاحية: الفطريات، الجسيمات النانونية، الفعالية التثبيطية.

المقدمة Introduction

تعد تقنية النانو وعلى مدى العقود الثلاثة الماضية من العلوم حديثة النشوء التي تهتم بتصنيع وتطوير بعض المعادن كالفضة، الذهب والبلاتين إلى جسيمات نانونية بأبعاد تتراوح من 10-100 نانومتر [1]؛ لهذه الجسيمات النانونية تطبيقات في العديد من المجالات كالطب، الصناعات الغذائية ومعالجة المياه، أيضا استخدمت في صناعة الأدوية [2].

جسيمات الفضة النانونية من أكثر الأنواع المعروفة بامتلاكها فعالية مضادة لمدى واسع من مسببات الأمراض وتحديداً البكتيريا متعددة المقاومة للمضادات الحيوية [3]، فهي تعتبر من الحلول البديلة ذات الفائدة الصحية[4]، حيث بينت دراسات عديدة فوائد استخدام جسيمات الفضة النانونية للحد من انتشار الأمراض سواء في مجالات الصحة أو الزراعة [5، 6، 7] ونظرا لهذه الأهمية اهتم الباحثون بتصنيعها بالطرق الفيزيائية والكيميائية التي نجحت في إنتاج هذه الجسيمات، إلا أنه بسبب التكاليف العالية لهذه الطرق وأثارها السامة والخطيرة على البيئة [8]، برزت الحاجة إلى استخدام طرق متطورة أقل تكلفة وصديقة للبيئة لا يستخدم فيها مواد كيميائية سامة في خطوات التصنيع وللوصول إلى هذا الهدف تم اللجوء إلى الطرق الحيوية لتصنيع الجسيمات النانونية عن طريق عمليات حيوية إنزيمية [9].

توجد العديد من الكائنات الحية تم استخدامها في التصنيع الحيوي للجسيمات النانونية مثل الكائنات الحية الدقيقة كالبكتيريا والفطريات بالإضافة إلى النباتات [10]؛ الفطريات من الكائنات الدقيقة واسعة الانتشار في الطبيعة، تلعب دورا فعال في إنتاج الجسيمات النانونية المعدنية وتحديدا الفضية فهي تمتلك بعض المزايا التي تجعلها من الكائنات المهمة في التصنيع الحيوي من ناحية سهولة نموها على أي وسط بيئي، كما تفرز العديد من الإنزيمات لذلك تعتبر من الخيارات المناسبة لتصنيع الجسيمات النانونية [11]، حيث أشارت العديد من الدراسات إلى استخدام أنوع مختلفة من الفطريات لإنتاج جسيمات الفضة النانونية والتي منها *Aspergillus* [12، 13، 14]، *Penicillium* [15]، *Tricoderma* [16] و *Cladosporium* [17]. هدفت هذه الدراسة إلى عزل الفطريات من تربة المنطقة الصناعية قصر أحمد واختبار قدرتها على إنتاج جسيمات الفضة النانونية ودراسة تأثير هذه الجسيمات على بعض الأنواع البكتيرية الممرضة.

الجزء العملي Eexperimental Part

المواد وطرق البحث:

- جمع عينات التربة :

جمعت عينات الدراسة بطريقة عشوائية من تربة المنطقة الصناعية بقصر أحمد بمدينة مصراتة حيث جمعت بعمق 10-15سم من سطح التربة ونقلت لمعمل الأحياء الدقيقة بكلية العلوم بأكياس النايلون وعوملت بالغربلة للتخلص من الشوائب والحصى وحفظت في درجة حرارة الغرفة لحين استعمالها [18].

-عزل الفطريات بالتخفيف المتسلسل :

وزن 1جم من كل عينة تربة واضـــيف اليها 9 مل من الماء المقطر في انابيب اختبار معقمة، حضرت منها التخافيف العشرية حتى^{4} – 10، مع مراعاة التكرارات لكل تخفيف ومن تم نقل 1 مل من كل تخفيف لأطباق حاوية على وسط أجار دكستروز البطاطا Potato dextrose Agar (PDA)، وزعت العينة بساق زجاجية على شكل حرف L، حضنت الاطباق عند درجة 28م ° لمدة 7 أيام [18]، بعد ذلك تم تنقية الفطريات المعزولة وتشخيصها حسب المراجع العلمية المتخصصة [19، 20، 21].

-تحضير الكتلة الحيوية من عزلات الفطريات وتكوين الجسيمات النانونية :

حضرت الكتلة الحيوية عن طريق أخذ قرص من الفطريات النامية على وسط أجار دكستروز البطاطا PDA باستخدام ثاقب فليني ذو قياس 7ملم ووضعها في دورق يحتوي على 100 مل من وسط دكستروز البطاطا السائل Potato dextrose broth وحضنت عند درجة 28م ° لمدة 7 أيام، رشحت الكتلة الحيوية باستخدام ورق ترشيح معقمة وغسلت عدة مرات بالماء المقطر المعقم للتخلص من بقايا الوسط العالقة، تم وزن 10جم من الكتلة الحيوية المتحصل عليها من كل نوع فطري ووضعت في 100 مل ماء مقطر معقم ثم حضنت لمدة 72 ساعة [22]، اعيد ترشيح الكتـــلة الحيـــوية بورق الترشيح وخلطت بـ 50 مل من محلول نترات الفضة ($AgNO_3$) المحضر بتركيز 1Mm مع 50 مل من الراشح في دورق زجاجي معقم وحضنت لفترة 72 ساعة في ظروف مظلمة مع وضع الشاهد(دوارق تحتوي احداها الراشح الفطري وأخرى بها محلول نترات الفضة)، حدوث تغير لوني في الراشح الفطري المضاف إليه نترات الفضة إلى اللون البني يدل ذلك على إنتاج جسيمات الفضة النانونية، تم نقل الراشح بعد إتمام فترة التحضين إلى معمل كلية الصيدلة بجامعة مصراتة لقياس طيف الإمتصاص بواسطة جهاز قياس طيف الأشعة فوق البنفسجية والمرئية V-530 UV/VIS Spectrophotometer [22].

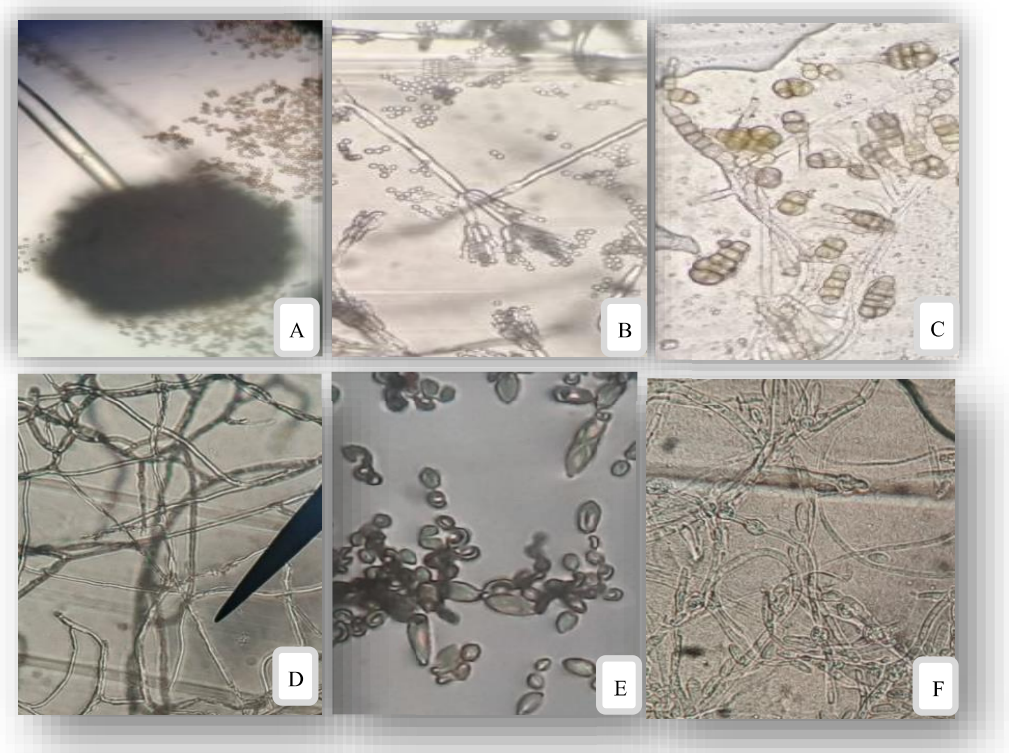
-الكشف عن الفعالية التثبيطية لجسيمات الفضة النانونية ضد بعض الأنواع البكتيرية الممرضة :

عقم محلول جسيمات الفضة النانونية بمرشح ذو قياس 0.2 ملم وحضر منه سلسلة تركيزات هي: 100، 50، 35 و25% لتحديد كفاءتها على بعض الأنواع البكتيرية الممرضة، جلبت عينات البكتيريا من مختبر مصراتة المركزي و مختبر المحجوب بعد تشخيصها بالأسلوب العلمي المتبع وكانت بين السالبة والموجبة لصبغة جرام وتمثلت الأنواع في : *Staphylococcus aureus, Klebsiella* sp. و*Escherichia coli* استخدمت طريقة انتشار الحفر حسب ما استخدم في [23]، حيث تم تعديل تركيزات المعلقات البكتيرية إلى 0.5 مكفرلاند القياسي ونشرت على وسط مولر هنتون بواسطة الماسحة القطنية وتم عمل خمسة حفر بقطر 6 ملم على السطح بعد مضي عشرة دقائق من المسح، وزعت فيها التراكيز المختلفة لمحلول جسيمات الفضة النانونية المحضرة بواقع 50 مايكروليتر، الشاهد كان عبارة عن الماء المقطر المعقم وحضنت الأطباق في درجة 37م ° لمدة 24 ساعة وبعد ذلك تم قياس منطقة التثبيط حول الحفر[22، 23].

النتائج والمناقشة Results and Discussion

عزل 11 نوعا من الفطريات بطريقة التخفيف المتسلسل من تربة المنطقة الصناعية بمدينة مصراتة، شخصت طبقا للمواصفات والتراكيب الظاهرة حسب المراجع العلمية [19، 20، 21] وهي تنتمي للأنواع التالية:

Cladosporium cladosporioides, Cladosporium peutiana, Aspergillus niger, Aspergillus terreus, Penecillium notatium, Penicillium chrysogenum, Fusarium solani, Fusarium oxysporum, Rhizoctonia solani, Sclerotinia Sclerotiorum, Alternaria alternata، شكل (1).

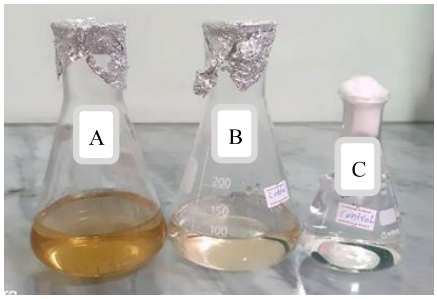


شكل (1): الشكل المظهري لفطر *A. niger* (A)، *P. chrysogenum* (B)، *A. alternata* (C)، *R. solani* (D)، *C. peutiana* (E) *F. oxysporium* (F) باستخدام المجهر الضوئي تحت قوة تكبير X40.

تكوين جسيمات الفضة النانونية:

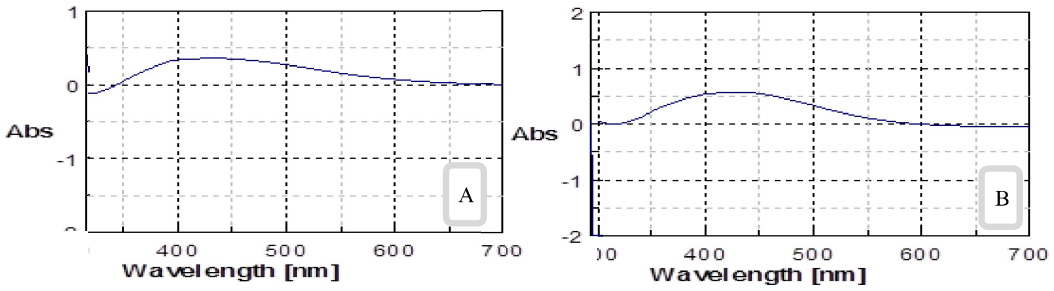
لوحظ تكوين جسيمات الفضه النانونية من خلال:

-التغير اللوني: أظهرت النتائج المتحصل عليها تكوين جسيمات الفضه النانونية لـ 6 أنواع من الفطريات المعزولة وهي *C. peutiana*، *C. cladosporioides*، *P. chrysogenum*، *A. niger*، *R. solani*، *S. sclerotiorum* وذلك من خلال تغير لون راشح الكتلة الحيوية للفطريات بعد إضافة نترات الفضة من اللون الأصفر الشاحب إلى اللون البني الناتج عن اختزال أيونات الفضة بواسطة الإنزيمات التي تفرزها الفطريات (Nitrate reductase وα-NADPH) (شكل 2)، حيث أن ظهور اللون البني في الراشح الفطري بعد التفاعل مع أيونات الفضة هو مؤشر واضح على انخفاض الأيونات المعدنية (الفضة) وإثارة سطح البلازمون الناتجة اساسا من اهتزاز مجاميع توصيل الالكترون في جسيمات الفضة النانونية [24, 25].



شكل (2): التغير اللوني لراشح الكتلة الحيوية للفطريات المضاف إليها محلول نترات الفضة (A)، شاهد راشح الكتلة الحيوية للفطريات بدون اضافة نترات الفضة (B)، شاهد نترات الفضة (C).

-طيف الامتصاصية للأشعة فوق البنفسجية و المرئية: أظهرت نتائج الدراسة قدرة الفطريات على إنتاج جسيمات الفضة النانونية من خلال قياس طيف الامتصاص للأشعة فوق البنفسجية والمرئية ضمن مدى 200-750 نانومترلمحلول جسيمات الفضة النانونية ولوحظ أن قمة الامتصاص ظهرت عند مدى طول موجي 406-432 نانومتر، التي تمثل أعلى قمة امتصاص للجسيمات النانونية وكفاءة الفطريات في إنتاجها (الشكل 3)، فقد كان أقلها *R. solani* 406 نانومتر، يليها *Cladosporium* 429 نانومتر، بينما كان أعلاها *P. chrysogenum* و *A. niger* (431 و432 نانومتر) على التوالي، تقاربت هذه النتائج مع ما أشار اليه [26]، إذ بين أن الطول الموجي لجسيمات الفضة النانونية من *Penicillium* قد بلغ 422 نانومتر وايضا تقاربت مع ما أشارت إليه [22 و27] حيث أن قمة الامتصاص لمحلول جسيمات الفضة النانونية لفطر *A. niger* كانت 430 و427 نانومترعلى التوالي.



شكل (3): طيف امتصاص الأشعة فوق البنفسجية والمرئية: راشح *P. chrysogenum* ظهرت عند طول موجي 431 نانومتر(A)، راشح *A. niger* ظهرت عند طول موجي 432 نانومتر (B).

الفعالية التثبيطية لجسيمات الفضة النانونية ضد بعض الأنواع البكتيرية الممرضة :

تبين من خلال النتائج أن لجسيمات الفضة النانونية المنتجة من فطر *A. niger* فعالية تثبيطية اتجاه العزلات البكتيرية المختبرة (جدول 1)، حيث أنه عند تركيز100% بلغ قطر منطقة التثبيط (13، 12 و10 ملم) ضد *Klebsiella* sp., *E.coli, Staph. aureus* على التوالي وعند التخفيف 50% بلغ قطر التثبيط (11 و9 ملم) لكل من *Staph. aureus* و *Klebsiella* sp. بينما *E.coli* لم تظهر تأثير، في حين عند تخفيف 35 و25% أعطى قطر تثبيط 10 ملم لبكتيريا *Staph. aureus* و9 ملم *Klebsiella* sp بينما لم تعطي تأثير لبكتيريا *E.coli*، حيث تقاربت النتائج مع ما أشار إليه [22] الذي بلغ قطر منطقة التثبيط لجسيمات الفضه النانونية ضد بكتيريا *E.coli* 8 ملم عند تخفيف 35% في حين لم يعطي تأثير عند تخفيف 25%.

جدول (1): تأثير جسيمات الفضة النانونية المنتجة بواسطة *A. niger* بتراكيز مختلفة على البكتيريا المختبرة.

العزلات البكتيرية			تركيز الجسيمات النانونية المنتجة من *A. niger*%
E. coli	***Staph. aureus***	***Klebsiella* sp.**	
12	13	10	**100**
-	11	9	**50**
-	10	9	**35**
-	10	-	**25**

كما أظهرت نتائج الدراسة أن جسيمات الفضة النانونية المنتجة بواسطة عزلتين من فطر *Cladosporium* لها تأثير فعال ضد بكتيريا *E.coli* تليها *Staph. aureus* بينما أقل تأثيرا على بكتيريا *Klebsiella* sp. بجميع التراكيز (جدول 2، 3).

جدول (2): تأثير اجسيمات الفضة النانونية المنتجة بواسطة *C. cladosporioides* بتراكيز مختلفة على البكتيريا المختبرة.

تركيز الجسيمات النانونية المنتجة من *% C. cladosporioides*	العزلات البكتيرية		
	E. coli	***Staph. aureus***	***Klebsiella* sp.**
100	14	11	10
50	11	10	10
35	11	10	8
25	10	9	-

جدول (3): تأثير جسيمات الفضة النانونية المنتجة بواسطة الفطر *C. peutiana* بتراكيز مختلفة على البكتيريا المختبرة.

تركيز الجسيمات النانونية المنتجة من *% C. peutiana*	العزلات البكتيرية		
	E. coli	***Staph. aureus***	***Klebsiella* sp.**
100	14	12	10
50	12	11	8
35	10	10	8
25	9	10	-

كما تبين من النتائج أن جسيمات الفضة النانونية المنتجة بواسطة *P. chrysogenum* تأثير فعال ضد البكتيريا المختبرة بقطر تثبيط (12، 11، 10 ملم) اتجاه *Staph. aureus*، *E.coli* و*Klebsiella* sp. على التوالي عند تركيز 100% (جدول 4) حيث اتفقت النتائج مع ما توصل إليه [26].

جدول (4): تأثير جسيمات الفضة النانونية المنتجة بواسطة الفطر *P. chrysogenum* بتراكيز مختلفة على البكتيريا المختبرة.

تركيز الجسيمات النانونية المنتجة من *% P. chrysogenum*	العزلات البكتيرية		
	E. coli	***Staph. aureus***	***Klebsiella* sp.**
100	11	12	10
50	10	12	9
35	11	12	8
25	8	11	8

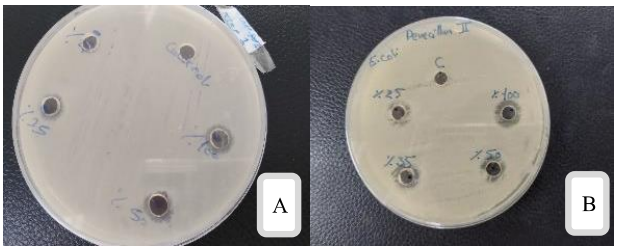
وكذلك أظهرت جسيمات الفضة النانونية المنتجة بواسطة فطر *S. sclerotiorum* و *R. solani* تأثيرا فعال ضد البكتيريا المختبرة (جدول 5، 6).

جدول (5) : تأثير جسيمات الفضة النانونية المنتجة بواسطة الفطر *S. sclerotiorum* بتراكيز مختلفة على البكتيريا المختبرة.

تركيز الجسيمات النانونية المنتجة من *% S. sclerotiorum*	العزلات البكتيرية		
	E. coli	***Staph. aureus***	***Klebsiella* sp.**
100	12	11	10
50	10	11	7
35	9	11	-
25	9	8	-

جدول (6): تأثير جسيمات الفضة النانونية المنتجة بواسطة الفطر *R. solani* بتراكيز مختلفة على البكتيريا المختبرة.

تركيز الجسيمات النانونية المنتجة من *% R. solani*	العزلات البكتيرية		
	E. coli	***Staph. aureus***	***Klebsiella* sp.**
100	11	13	10
50	10	11	10
35	10	10	7
25	8	10	-



شكل(5): الفعالية التثبيطية لجسيمات الفضية النانونية المنتجة باستخدام *Cladosporium* ضد بكتيريا *Klebsiella* sp. (A)، و*Penicillium* ضد بكتيريا *E. coli* (B).

من المعروف منذ زمن طويل أن أيونات الفضة تعتبر مثبطات قوية وذات تأثير قاتل للبكتيريا على مدى واسع [28]، ويرجع هذا التأثير نظرا لصغر حجم الجسيمات النانونية ومساحتها السطحية الكبيرة حيث كلما صغر الحجم تجمعت بأعداد أكبر على سطح الخلايا وبالتالي موت الخلية [29]، أن الألية التي يتم فيها تفاعل الجسيمات النانونية مع الخلايا البكتيرية هي أن الكائنات الدقيقة تحمل شحنات سالبة بينما الأكاسيد المعدنية الناونية تحمل الشحنة الموجبة مما يخلق تجادب كهرومغناطيسي بين البكتيريا وسطح الدقائق وأن جسيمات الفضة النانونية تطلق الأيونات التي تتفاعل مع مجموعة الثايول (SH-) للبروتينات الناقلة للمواد الغذائية التي تبرز من غشاء الخلية ويخفض نفاذية الغشاء وبالتالي موت الخلية [30]، كما أوضح [31] أن المواد النانونية تحدث ثقوب غير منتظمة في الغشاء الخارجي للخلية البكتيرية وتغير من نفاذيتها مما يؤدي إلى فقدان جزيئات مهمة من الخلية وبالنتيجة موتها، أيضا بين [32, 33] أن لجسيمات الفضة النانونية تأثير تثبيطي على البكتيريا من خلال تأثيرها على قواعد البيورين والبريميدين في جزيئة الحامض النووي مما يؤدي الى تكسرها.

الاستنتاجات Conclusions

نستنتج من هذه الدراسة أن الفطريات تعتبر مصدر مهم لإنتاج جسيمات الفضة النانونية التى تمتلك تأثير تثبيطي ضد الأنواع البكتيرية الممرضة المختبرة والتي يمكن استخدامها من الناحية الطبية لعلاج العديد من الأمراض وخصوصا مع ازدياد مقاومة البكتيريا للعديد من المضادات الحيوية المستخدمة.

المراجع References

1)Khan, A., Malik, N., Khan, M. & Hwan-Cho, M. (2017). Fungi-assisted sliver nanoparticle synthesis and their applications. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 41, 1-20.

2)Khandel, P. & Shahi, S. (2018). Mycogenic nanoparticles and their bio-prospective application: current status and future challenges. *Journal of Nanostructure in Chemistry*, 8, 369-391.

3)Zhou, Y., Kong, Y., Kundu, S., Cirillo, J. & Liang, H. (2012). Antibacterial activites of gold and silver nanoparticles against *Esherichia coli* and *Bacillus* Calmette-Guerin. *Journal of Nanobiotechnology*, 10:19, 1-9.

4)Arvizo, R. (2012). Intrinsic therapeutic application of noble metal nanoparticles: past, present and future. *Chemical Society Reviews*, 41(7): 2942-2970.
5)Burdusel, A., Gherasim, O., Grumezescu, M., Mogoantal, L., Fica, A. & Andronescu, E. (2018). Biomedical application of silver nanoparticles: an up-to date overview. *Nanomaterials (Basal),* 8(9): 681.
6)Mishra, S. & Singh, B. (2015). Biosynthesized silver nanoparticles as nanoweapon against phytopathogens: exploring there scope and potential in agriculture. *Applied Microbiology Biotechnology*, 99(3): 1097-107.
7)Kim, W., Jung H., Lamsal, K., Kim, S., Min, S. & Lee, S. (2012) Antifungal effects silver nanoparticles (AgNPs) against various plant pathogenic fungi. *Mycobiology*, 40(1): 53-58.
8)Chandrappa1, P., Govindappa1, M., Chandrasekar, N., Sarkar1, S., Ooha1, S. & Channabasava1, R. (2016) Endophytic synthesis of silver chloride nanoparticles from *Penicillium* sp. of Calophyllum apetalum. *Vietnam Academy of Science and Technology*, 7(2): 1-6.
9)Durran, N., Marcato, D., Alves, L., Souza, I. & Esposito, E. (2005). Mechanistic aspects of biosynthesis of silver nanoparticles by several *Fusarium oxysporum* strains. *Journal of Nanobiotechnology*, 3(8): 1-7.
10)Durran, N., Marcato, D., Durran, M., Yadav, A., Gade, A. & Ria, M. (2011). Mechanistic aspects in biogenic synthesis of extracellular metal nanoparticles by peptides, bacteria, fungi and plants. *Applied Microbiology Biotechnology*, 90: 1609-1924.
11)Ahmad, A., Mukherjee, P., Senapati S., Mandal, D., Khan, M., Kumar, R. & Sastry, M. (2003). Extracellular biosynthesis of silver nanoparticles using the fungus *Fusarium oxysporum. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 28(4): 313-318.
12)Verma, C., Kharwar, N. & Gange, C. (2010). Biosynthesis of antimicrobial silver nanoparticles by the endophytic fungus *Aspergillus clavatus. Nanomedicine*, 5(1): 33-40.
13)Vigneshwaran, N., Ashtaputre, M., Varadarajan, V., Nachane, P., Paralikar, M. & Balasubramanya, H. (2007). Biological synthesis of silver nanoparticles using the fungus *Aspergillus flavus. Materials Letters*, 61(6): 1413-1418.
14)Bhainsa, C. & D'Souza, F. (2006). Extracellular biosynthesis of silver nanoparticles using the fungus *Aspergillus fumigatus. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 47(2): 160-164.
15)Hemath-Naveen, S., Kumar, G., Karthik, L. & Bhaskara-Rao, V. (2010). Extracellular biosynthesis of silver nanoparticles using the filamentous fungus *Penicillium* sp. *Archives of Applied Science Research*, 2(6): 161-167.
16)Vahabi, K., Mansoori, A. & Karimi, S. (2011). Biosynthesis of silver nanoparticles by fungus *Trichoderma reesei* (a route for large-scale production of AgNPs). *Insciences Journal*, 1(1): 65-79.
17)Balaji, S., Basavaraja, S., Deshpande, R., Mahesh, B., Prabhakar, K. & Venkataraman, A. (2009). Extracellular biosynthesis of functionalized silver nanoparticles by strains of *Cladosporium cladosporioides* fungus. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 68(1): 88-92.
18)Moubasher, N. (1993). Soil fungi in Qatar and other Arab countries. *Doha-Qatar*, 1-9.
19) Samson, A., Houbraken, J., Thrane, U., Frisvad,j, C. &Andersen, B. (2004). Food and Indoor fungi. 2nd edition. *Royal Netherlands academy of art and sciences*, 214-316.
20)Kidd, S., Halliday, C., Alexiou, H. & Ellis, D. (2016). Descriptions of medical fungi. 3th edition, *Pfizer. Australia*, 1-278.
21) Pitt, I. & Hocking, D. (2008). Fungi and food spoilage. 3th edition, *springer*, 1-519.
22) عبود، عبدالرازق حسين، بندر، ابراهيم خليل ، زين العابدين سلمان صلاح (2017). تأثير دقائق الفضة النانونية المحضرة باستخدام *Aspergillus niger* في بعض البكتيريا المرضية. مجلة جامعة كركوك للدراسات العلمية، 12(1):1-16.
23)Benson's microbiology applications: laboratory Manual in general. 9th edition, *New York*, 1-416.
24)Afshar, P. & Sedaghat, S. (2016). Bio-synthesis of Silver nanoparticles using water extracts of *Satureja hortensis* L and evaluation of the antibacterial properties. *Current Nanoscience*, 12(1): 90-93.

25)Alghuthaymi, A., Almoammar, H., Rai, M., Said-Galiy, E. & Abd- Elsalam, A. (2015). Myconanoparticles synthesis and their role in phytopathogens management. *Biotechnol, Biotechnological Equipment*, 29(2): 221-236.
26)Singh, D., Rathod, V., ; Ninganagouda, S., Hiremath, J., Singh, K. & Mathew, J. (2014). 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. Hindawi Publishing Corporation Bioinorganic Chemistry and Applications*, 1-8.
27) Nithya, R. & Ragunathan, R. (2014). In vitro synthesis, characterization and medical application of silver nanoparticles by using a low fungi. *OpenNano*, 21(6): 922-928
28)Soo-Hwan, K., Lee, S., Ryu, S., Choi, J. & Lee, S. (2011). Antibacterial activity of silver-nanoparticles against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli. Korean Journal of Microbiology and Biotechnology*, 39(1): 77-85.
29)Sondi, L. & Salopek–Sondi, B. (2004). Silver Nanoparticles as Antimicrobial agent: a case on *E.coli* as a model for Gram-negative bacteria, *Journal of Colloid and Interface Science*, 275: 177-182.
30)Sharma, K., Yngard, A. &.Lin, Y. (2009). Silver: Green Synthesis and their antimicrobial activities. *Advances in Colloid and interface Science*, 145: 83-96.
31)Amro, A., Kotra, P. Wadu-Mesthrige, K., Bulychev, A., Mobashery, S. & Liu, Y. (2000). High resolution atomic force microscopy studies of the Escherichia coli outer membrane: structural basis for permeability. *Langmuir*, 16(6):2789-2796.
32)Ghosh, S., Upadhay, A., Singh, A. & Kumar, A. (2010). Investigation of antimicrobial activity of silver nanoparticle loaded cotton fabrics, which may promote wound healing. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 1(3):1-10.
33)Ranganath, E., Rathod, V. & Banu, A. (2012). Screening of *Lactobacillus* sp. for mediating the biosynthesis of silver nanoparticles from silver nitrate. *Journal of Pharmacy*, 2(2): 237-241.

The effect of sliver nanoparticles produced by fungi against some pathogenic bacterial species

Mohamed A. Almiqasbi*, Suhila R. El-Said, Hanna O. Safar, Marwa E. Elwash, Najat H. Alatresh
Biology Department, Faculty of Sciences, Misurata University, Misurata, Libya
*m.almagasbi@sci.misuratau.edu.ly

Abstract: Many microorganisms have the ability to produce nanoparticles, which are known to have antibacterial activity against wide range of pathogenic bacteria. This study aimed to isolate fungi from the soil of the industrial zone of Qasr Ahmed in the city of Misurata to test their ability to produce nanoparticles and determine the inhibitory efficacy of these particles against Some bacterial species tested, 11 fungal species were obtained from soil samples using a series dilution method, the results showed the ability of 6 fungal species (*Cladosporium peutiana*, *Cladosporium cladosporioides*, *Penicillium chrysogenum*, *Aspergillus niger*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia Sclerotiorum*) to produce silver particles, it was detected by observing the color change of the fungal biomass filter to brown after adding 1mM silver nitrate, also by measuring the UV and visible absorption spectrum of the nanoparticle silver solution showing that it is located along a wavelength of 406 nm for *R. solani* and 432 for *A. niger*, which indicates the efficacy of fungi in production of these particles Inhibiting by using the agar-diffusion method, the solution of nanoparticles for all produced fungi species was inhibiting in the direction of all positive and negative tested bacteria of gram stain used in the study.

Keywords: Fungi, Nanoparticles, Inhibitory efficacy.