الجمهورية العربية السّورية

جامعة البعث – كلية العلوم

قسم علم الحياة

خطّة بحث بعنوان :

الفعاليّة الحيوية لخميرة *Saccharomyces cerevisiae* على بعض الجراثيم الممرضة

The Bio effectiveness of *Saccharomyces cerevisiae* on the some pathogenic bacteria

مقدمة من الطّالبة :

جوانا كامل غطاس

إشراف :

الدكتورة :ندى محفوض

الفعاليّة الحيوية لخميرة *Saccharomyces cerevisiae* على بعض الجراثيم الممرضة

الملخّص:

شملت الدّراسة التّحرّي عن القدرة التّثبيطية لمستخلص خميرة *Saccharomyces cerevisiae* على نمو الجراثيم الممرضة ، إذ أمكن الحصول على جراثيم *Bacillus cereus , Staphylococcus aureus , Escherichia coli , Pseudomonas aeruginosa* , بعد إجراء التّشخيص الأوّلي وذلك بالاعتماد على صفات المستعمرات الشّكليّة و المجهرية عند تنميتها على الأوساط الزّرعية التّفريقية والاختيارية ، فضلاً عن الفحوصات الكيموحيوية التّأكيدية لتشخيص عزلات الجراثيم الاختبارية والتّفريق بينها .

استُعملت خميرة الخبز *S.cerevisiae* الجافّة التّركية المنشأ (باكمايا) المتوافرة في الأسواق المحليّة و الخميرة الطّريّة المأخوذة من معمل الخميرة في مدينة حمص ، وتمّ التّأكّد من جنس و نوع الخميرة اعتماداً على الأسس التّشخيصية الّتي شملت كل من الصّفات المجهرية و المزرعية .

استُعملت طريقة الحفر لمعرفة العزلة الأكفأ في إنتاج البروتينات القاتلة ، ولمعرفة تأثير المواد المنتجة من كلا الخميرتين تجاه الجراثيم الممرضة الاختبارية و بظروف بيئيّة مختلفة ، حيث أعطت كلا الخميرتين أعلى معدّل تثبيطي تجاه الجراثيم :
(*E.coli , Bacillus cereus , P.aeruginosa, Staphylococcus aureus*)
عند pH6 بأقطار بلغت للخميرة الطّريّة: 30 ، 26 ، 33 ، 22 mm على التّوالي، و للخميرة الجافّة : 22 ، 25، 33 ، 18 mm على التّوالي .

كما أعطت أعلى معدّل تثبيطي عند تنميتها بدرجة حرارة $28C^o$ تجاه الجراثيم
(*E.coli , Bacillus cereus , P.aeruginosa, Staphylococcus aureus*)

بأقطار بلغت للخميرة الطّريّة : 33، 29، 35 ، 26 mm على التّوالي ، و للخميرة الجافّة : 31, 25, 35 , 24 mm على التّوالي .

واختلف أيضاً الأثر التّثبيطي لكلا الخميرتين عند تنمية كل منهما لفترات تحضين مختلفة ، حيث أعطت كلاهما أعلى أثر تثبيطي عند مدّة حضن 48hrs ضد كل من (*E.coli , Bacillus cereus , P.aeruginosa , Staphylococcus aureus*) و بأقطار بلغت للخميرة الطّريّة : 34 , 32 , 33 , 24 mm على التّوالي، و للخميرة الجافّة : 27, 32, 31, 24 mm على التّوالي .

وأخيراً تمّ الحصول على أعلى قطر تثبيطي من كلا الخميرتين عند استخدام المواد المنتجة منهما دون تخفيف ، إذ بلغت أقطار التّثبيط للخميرة الطّريّة تجاه جراثيم (*E.coli ,Bacillus cereus , P.aeruginosa, Staphylococcus aureus*) 24, 35, 30, 32 mm على التّوالي ، وللخميرة الجافّة : 25, 29, 32 , 24 mm على التّوالي .

الكلمات المفتاحية : خميرة الخبز، السّموم القاتلة .

The Bio effectiveness of *Saccharomyces cerevisiae* on the some pathogenic bacteria

Abstract:

The study included detecting the inhibitory ability of *Saccharomyces cerevisiae* against growth of Pathogenic bacteria, where it was obtained isolates of bacteria: (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa , Bacillus cereus , Escherichia coli*).

Followed by an initial diagnosis depending on the characteristics of the colonies morphological and microscopic , when grown in differential selective media , as well as biochemical tests to diagnose isolates of bacteria and to differentiate between them.

Dry imported Backery Yeasts of Turkish origin (Packmaya) that are available in locally markets and soft yeast molds that are taken from the yeast factory in Homs, where used the yeast genus and species were diagnosed depending on diagnostic keys , which includes all of morphological and microscopic .

well diffusion method was used to selected more efficient isolate to producing killer protein, and to determine the impact of substances from both isolations of yeasts towards pathogenic bacteria, and with different environmental conditions, both isolates of *Saccharomyces cerevisiae* gave the highest inhibition rates against: (*Staphylococcus aureus, P.aeruginosa , Bacillus cereus, E.coli*) At pH6 , the diameters were for mold yeast : 30, 26, 33

and 22 mm respectively , for Dry yeast : 25, 22,33 and 18 mm respectively . And it also gave the highest inhibition when grown at a temperature of $28C^o$ against: (*Staphylococcus aureus*, *P.aeruginosa* , *Bacillus cereus , E.coli*) the diameters for mold yeast were: 33, 29,35 and 26 mm respectively, for Dry yeast: 31, 25 , 35 and 24 mm respectively.

And also the inhibitory effect of each of them differs when grown for different incubation periods , where they gave both the highest inhibition rates at 48hrs against: (*Staphylococcus aureus*, *P.aeruginosa* , *Bacillus cereus* , *E.coli*) the diameters for mold yeast were: 34 ,32 ,33 and 24 mm respectively , for Dry yeast : 27 , 32 , 31 and 24 mm respectively . obtained the highest inhibition rates from both isolates , when using produced materials without relieving their concentration as it reached the diagonals for molds yeasts against:(*Staphylococcus aureus* , *P . aeruginosa* , *Bacillus cereus , E.coli*) : 32, 30 , 35 and 24 mm respectively , for Dry yeast : 25, 29 , 32 and 24 mm respectively.

Key words: Killer toxins , *Saccharomyces cerevisiae*.

1- المقدّمة :

استخدمت خلايا الخميرة بصورة تقليدية في الحفظ الحيوي للغذاء وفي معالجة العديد من الأمراض الّتي تسببها الجراثيم ، لذلك فإن استخدامها في البحث العلمي يهدف إلى استبدال المضادات الحيوية بمستخلص خميرة الخبز *S.cerevisiae* لفعاليته العالية في مقاومة الممرضات الجرثومية .

1-1- الوصف العام لخميرة *Saccharomyces cerevisiae* :

تعد خميرة *Saccharomyces cerevisiae* من الكائنات الحية الدّقيقة حقيقية النّواة من مملكة الفطريات *Fungi*، تنتمي إلى صنف الفطريات الزّقيّة *Ascomycetes* رتبة *Endomycetales* عائلة *Saccharomycetaceae* ، جنس *Saccharomyces* نوع *cerevisiae*. [1] , [2]

يختلف شكل و حجم خلية الخميرة بشكل كبير ، فقد تكون دائرية أو بيضويّة أو مخروطية أو متطاولة مفردة أو بشكل أزواج أو قد تترتب بشكل مجاميع صغيرة ، مكوّنة مستعمرات ذات لون أبيض أو كريمي بشكل دائري صغير الحجم ذات حواف منتظمة وسطح محدّب وقوام لزج [3] . يتراوح طولها بين Mm (2-3) ، يتراوح قطر الخلايا الكبيرة بين Mm (5-10) ، بينما يبلغ قطر الخلايا الصغيرة Mm(1-3) ،

و يعود الاختلاف في أبعاد الخلايا إلى عمر الخلية [4] . تعرف خميرة الخبز *Saccharomyces cerevisiae* بكونها محبّة للحرارة المتوسّطة و أفضل درجات الحرارة لنموّها $30C^o$ ، و للخميرة مدى معين من الأس الهيدروجيني يتراوح بين (3.5-6) ، فيما يعد (4-4.5) الأمثل لها وتحتاج إلى فعاليّة مائيّة عالية تقدر ب (0.9) و لها القدرة على النّمو في الظّروف الهوائية واللّاهوائية [5] استعملت خميرة *S.cerevisiae* في العديد من الأبحاث لسهولة التّعامل معها وبسبب انتشارها الواسع في الطّبيعة، حيث أصبحت مشغلاً للأبحاث الجزيئية و الوراثية الحديثة بسبب الآليات الأساسية في الدّورة الخلوية لحقيقيّة النّواة مثل : انقسام الخلية ، والعمليات الأيضيّة الّتي تتشابه بالعموم مع خلايا كائنات حقيقية النّواة الرّاقية [5] .

2- أهمية البحث :

استخدام منتجات خميرة الخبز *S .cerevisiae* في العلاج أو الوقاية من العديد من الأمراض الجرثومية ، وذلك من خلال إنتاجها لمواد مثبّطة للنّمو الجرثومي ، وتأتي أهمية هذا البحث في الحد من استخدام المضادّات الحيويّة خصوصاً بعد تفاقم ظاهرة المقاومة الجرثومية للعديد من المضادات الحيوية .

3-أهداف البحث :

تحديد أفضل العوامل البيئيّة من درجة حرارة T وأس هيدروجيني pH ، ومدّة تحضين t و تركيز C ، للحصول على تأثير تثبيطي منتج من خميرة الخبز *S.cerevisiae* على بعض الجراثيم الممرضة .

4- مواد وطرائق البحث :

4-1- الأجهزة والمعدّات المستعملة : مجهر ضوئي ، حاضنة، مثقّلة ،حاضنة هزّازة، محرّك مغناطيسي ، موصد ، فرن كهربائي ، جهاز تقطير ماء ، ميزان حسّاس ، مقياس الأس الهيدروجيني.

4-2- المواد المستعملة : كبريتات الأمونيوم ، أنابيب ديلزة ، شرائح زجاجيّة ، كحول إيتيلي مطلق ، أطباق بلاستيكية معقّمة ، قطن ، إبرة الزّرع (لوب) ، أوساط زرعيّة للخميرة ، أوساط زرعيّة للجراثيم ، صبغة غرام، محلول موقي Buffer .

4-3- طرائق العمل :

تمّ إجراء البحث في مخابر قسم علم الحياة بكليّة العلوم جامعة البعث .

4-3-1- عزلات الأحياء الدّقيقة :

أ- العزلات الجرثومية :

استعملت في هذه الدّراسة 4 أنواع من الجراثيم الاختبارية بعضها سالبة لصبغة الغرام وبعضها موجبة لصبغة الغرام وكانت مصادر هذه العزلات من مديرية الصّحة في مدينة حمص.

- الأوساط الزّرعية المستعملة في تشخيص العزلات الجرثومية الاختباريّة :

الأوساط الزّراعية التّشخيصية المستخدمة	الجراثيم السّالبة لصبغة الغرام
وسط ماكونكي آغار–وسط EMB	*Escherichia coli*
وسط الآغار المغذّي– وسط EMB	*Pseudomoas aeruginosa*

الأوساط الزّراعية التّشخيصية المستخدمة	الجراثيم الموجبة لصبغة الغرام
الآغار المغذّي– وسط الآغار الدّموي	*Bacillus cereus*
الآغار المغذّي – وسط شابمان	*Staphylococcus aureus*

-الاختبارات الكيموحيويّة لعزلات الجراثيم الاختبارية :

نلجأ إلى العديد من الاختبارات الكيميوحيوية لدراسة الفعاليّات الوظيفيّة الّتي يمكن أن تختلف من جرثوم إلى آخر .

1- الجراثيم الموجبة لصبغة الغرام :

أ- **جراثيم *Staphylococcus aureus* (العنقودية الذّهبية)** : تمّ التّأكّد من سلالات هذه الجراثيم من خلال العديد من الاختبارات الكيموحيوية منها :اختبار الأوكسيداز والكاتالاز واختبار المخثراز كما تمّت تنمية هذه الجراثيم على وسط السّترات سيمون ووسط كليجلر .

ب- جراثيم *Bacillus cereus* : خضعت هذه الجراثيم لعدّة اختبارات كيموحيويّة منها اختباري الكاتالاز والأوكسيداز واختبار إسالة الجيلاتين واختبار الحركة (Motility test) لإثبات قدرة الجراثيم على الحركة كما تمّت تنميتها على وسط السّترات سيمون ووسط آغار صفار البيض (**LecithenaseTest**).

2- الجراثيم السّالبة لصبغة الغرام :

أ- **جراثيم *Pseudomonas aeruginosa* (الزائفة الزّنجاريّة):** تمّ إجراء بعض الاختبارات الكيموحيويّة للتّأكد من سلالات هذه الجراثيم و هي اختباري الأوكسيداز والكاتالاز بالإضافة لتنميتها على كل من وسطي السّترات سيمون وكليجلر .

ب- **جراثيم *E.coli* (الإشريكية القولونيّة)** : خضعت هذه الجراثيم للاختبارات الكيموحيويّة (IMVC) وهي: اختبار حلقة الإندول وأحمر الميتيل و السّترات سيمون و اختبار الفوكس بروسكار (Voges-Proskaur) المستخدمة لتشخيص جراثيم الإشريكية القولونية بالإضافة لاختباري الكاتالاز والأوكسيداز كما تمّت تنمية الجراثيم على وسط كليجلر .

ب- مصادر سلالات خميرة *Saccharomyces cereviciae* المستعملة في هذه الدّراسة :

تمّ استعمال مصدرين من خميرة الخبز *S.cerevisiae* في هذه الدّراسة، خميرة (Packmaya) الجافة المستوردة التّركية المنشأ، والخميرة الطّرية المعتمدة في صناعة الخبز في سوريا والّتي تم الحصول عليها من معمل الخميرة في مدينة حمص .

- الاختبارات التّشخيصية لعزلات خميرة: *Saccharomyces cerevisiae*:

يتم تشخيص مستعمرات خميرة الخبز باستعمال الفحوصات المجهرية والصّفات المزرعية .

أ- **الصّفات المزرعيّة :** درست الصّفات المزرعية لعزلات الخميرة وذلك بتنميتها على وسط Saboroud dextrose الصّلب وحضنها بدرجة $30C^o$ لمدة 48hrs ، ولوحظ شكل المستعمرات ولونها وقوامها وقطرها وارتفاعها ورائحتها وغيرها من الصّفات الأخرى للتّأكد من تشخيصها [6].

حيث تميّزت جميعها بتكوينها مستعمرات اتّسمت بشكلها الدّائري ذات اللّون الأبيض أو المائل إلى الكريمي الباهت عند نموّها على الأوساط الصّلبة وتكون ذات حواف منتظمة وملساء ومرتفعة فوق سطح الآغار [6] .

ب- الصّفات المجهريّة : أجري الفحص المجهري لملاحظة أشكال الخلايا وتجمعاتها بعد صبغها بصبغة أزرق الميثيل المحضّرة حديثاً وفحصت بالمجهر بقوّة تكبير (40X) [6].

تظهر خلايا الخميرة كروية إلى بيضوية الشّكل متجمّعة بشكل يشبه خلايا النّحل ، كما لوحظ وجود نواة واضحة وفجوة واحدة كبيرة تشغل معظم أجزاء الخليّة ولوحظ أيضاً وجود البراعم في أكثر من طرف من الخلية وعدم وجود الغزل الفطري الحقيقي .[7]

4-3-2- التّحرّي عن الفعاليّة التّثبيطية لراشح خميرة *Saccharomyces cerevisiae* ضد العزلات الجرثومية الاختبارية :

4-3-2-1- تحضير واستخلاص راشح خلايا الخميرة:

من أجل استخلاص راشح خلايا الخميرة يتم تلقيح 0.5 g من الخميرة في 100ml من وسط Yeast Extract Glucose Peptone Broth (YEGPB) السّائل بعد ضبط الأس الهيدروجيني في الوسط إلى 5.5 ، ثم حضنت بدرجة حرارة $30C^o$ لمدّة 24hrs، بعدها وضع 100ml من الوسط نفسه في دوارق سعة 250ml ولقّح ب 3ml من الخميرة وبعد أن ضبط الأس الهيدروجيني إلى5.5 يتم حضنها بحاضنة هزّازة بدرجة حرارة $30C^o$ وبسرعة 125 دورة /دقيقة ولمدّة24hrs ، ثم نفصل الخلايا بالنّبذ المركزي المبرّد بسرعة 5000 دورة /دقيقة لمدّة 20 minutes بدرجة حرارة $4C^o$ ،(يعقّم الرّاشح بمرشّحات دقيقة Millipore ذات قطر 0.22 مايكرومتر للتّأكد من خلو الرّاشح من الخلايا يتم زراعة نموذج من الرّاشح على وسط السّابروّد الصّلب)، تتم تنقية المواد البروتينية المثبّطة باستعمال طريقة التّرسيب بفعل الأملاح وهي كبريتات الأمونيوم الصّلبة [8] .

4-3-2-2-التّرسيب بكبريتات الأمونيوم :

استعمل التّرسيب بكبريتات الأمونيوم للحصول على تنقية جزئية للرّاشح، كما يأتي: أخذ الرّاشح وأضيف له كبريتات الأمونيوم بشكل متدرِّج في حمام ثّلجي مع التّحريك المستمر للحصول على نسبة إشباع(% 70- 30) ، وبعدها ترك المحلول بدرجة حرارة التّبريد حتى اليوم التّالي [8] .

نبذ المحلول بعد ذلك بسرعة 5000 دورة / دقيقة لمدة 30 minutes بدرجة حرارة $4C^o$ ، و أهمل الرّائق فيما أذيب الرّاسب في 10 ml من محلول موقي Tris–HCL معقّم بتركيز 0.1 مولار وأس هيدروجيني (7.4).

4–3–2–3– التّنافذ الغشائي :

تمّت إزالة كبريتات الأمونيوم المستعملة في تركيز المحلول البروتيني باستعمال أكياس التّنافذ الغشائي، الّتي تمّ إجراءها ضد المحلول الموقيTris–HCl بتركيز 0.1 مولار وأس هيدروجيني 7.4 لمدة 24hrs في ظروف مبرّدة ، مع مراعاة تبديل المحلول الموقي لمرّات عدّة لزيادة كفاءة عملية التّنافذ الغشائي.

4–3–2–4– تقدير الفعاليّة التّثبيطيّة :

تمّ استخدام طريقة الانتشار بالحفر well diffusion method لتقدير الفعاليّة التّثبيطية للخميرة الّتي وصفها [9] كما يأتي :

1– نقل 100 µL من العالق الجرثومي المحضّر إلى وسط مولر هنتون أو وسط الآغار المغذّي الصّلب بطريقة النّشر بوساطة ناشر زجاجي أو ماسحة قطنية.

2– تُركت الأطباق لتجف في درجة حرارة الغرفة لمدّة ربع ساعة .

3– استعمل الثّاقب الفليني Crok Borer المعقّم لعمل ثقوب قطرها 5 ml ثم مُلأت ب 100 µL من مستخلص *S.cerevisiae* .

4– ترك الأطباق لمدّة ساعة واحدة في درجة حرارة الغرفة لتحضن بعد ذلك لمدّة 24hrs وبدرجة حرارة $37C^o$.

5– بعد انتهاء فترات التّحضين تمّ تقدير أقطار مناطق التّثبيط حول الحفر بالمسطرة ، إذ قدّرت بالmm وقورنت مع معامل السّيطرة .

تمّ اختبار أفضل الظّروف البيئيّة من درجة حرارة ، وأس هيدروجيني، ومدّة تحضين و تركيز، للحصول على أعلى تثبيط جرثومي .

أ- تأثير الرّقم الهيدروجيني PH:

لتعيين الأس الهيدروجيني الأمثل لفعل خميرة *Saccharomyces cerevisiae* في إحداث الأثر التّثبيطي ضد العزلات الجرثومية الاختبارية، تمّ تنمية الخميرة في وسط Yeast Extract Glucose Peptone Broth (YEGPB) السّائل ، ولكن عند قيم مختلفة من الأس الهيدروجيني (4 - 4.5- 5 -5.5- 6- 6.5 -7) ثم حضنها عند الدّرجة $30C^o$ لمدّة 24hrs ، بعدها وضع 100 ml من كل وسط في دوارق سعة 250ml و لقّح ب 3ml من الخميرة المنمّاة وذلك بعد ضبط الرّقم الهيدروجيني في كل دورق حسب الوسط المأخوذة منه الخميرة المنمّاة ثم حضنها بحاضنة هزّازة بدرجة حرارة $30C^o$ وبسرعة 125 دورة /دقيقة ولمدّة 24 hrs ، ثم تتابع خطوات العمل كما سبق .

ب- تأثير درجات الحرارة :

تمّ تنمية الخميرة في وسط YEGPB السّائل ، ولكن بعد ضبط الرّقم الهيدروجيني في الوسط إلى pH6، ثم حضنهاعند درجات حرارة مختلفة C^o (20-24 -28-30 -34) لمدّة 24 hrs ، بعدها وضع 100ml من كل وسط في دوارق سعة 250ml ولقّحت ب 3ml من الخميرة المنمّاة وذلك بعد ضبط الرّقم الهيدروجيني في الوسط إلى pH6 و حضنها في حاضنة هزّازة في درجات حرارة مختلفة تختلف بحسب الحرارة الّتي نمت عندها الخميرة المأخوذة و بسرعة 125 دورة / دقيقة و لمدّة 24 hrs ثم تتابع بقية خطوات العمل.

ج- تأثير مدّة الحضن :

تمّ تنمية الخميرة في وسط YEGPB السّائل و لكن بعد ضبط الرّقم الهيدروجيني في الوسط إلى pH6 ، ثمّ حضنها عند الدّرجة $28C^o$ و لمدّة زمنية مختلفة hrs (18-24-36-48-72) ، وذلك لتعيين المدّة الزّمنية المثلى لعمل الخميرة المدروسة في إحداث الأثر التّثبيطي ضدّ الجراثيم الاختبارية .

د- تأثير اختلاف التّركيز :

لمعرفة التّركيز الأمثل لعزلات الخميرة المدروسة في إحداث الأثر التّثبيطي ضد الجراثيم الاختبارية، يتم اتّباع طريقة التّخفيفات وذلك بتنمية الخميرة في وسط YEGPB

السّائل ولكن بعد ضبط الرّقم الهيدروجيني في الوسط إلىpH6، ثم حضنها عند الدّرجة $28C^o$ ولمدّة 48hrs، و بعد الحصول على الرّاسب يتمّ قياس وزنه ثمّ حساب تركيز المواد المثبّطة النّاتجة من القانون $\frac{\text{وزن الرّاسب}}{\text{حجم المذيب}}$ ، نكمل بقيّة الخطوات ونستخدم هذه المواد ضدّ الجراثيم الاختبارية ثم تخفّف تراكيز المواد المثبّطة المنتجة من الخميرة إلى النّصف وإلى الرّبع وإلى الثّمن وتُستَخدم ضّد الجراثيم الاختباريّة لمعرفة مدى اختلاف تأثيرها التّثبيطي.

5- النّتائج والمناقشة :

5-1- الكشف عن العزلات الجرثومية والاختبارات الكيموحيوية :

تمّ استعمال عدد من الأوساط التّفريقية والفحوصات الكيموحيوية التّأكيدية لتشخيص عزلات الجراثيم المستخدمة في هذا البحث والتّفريق فيما بينها .

أ- التّأكد من جنس جراثيم *Escherichia coli* :

الإختبارات	catalase	oxidase	Indol Test	Voges-proskaur	Kliegler	Methyl Red	Coagulase	Citrate
E.coli	+	_	+	_	+	+	+	_

ب- التّأكد من جنس جراثيم *Pseudomonas aeruginosa*:

الإختبارات	catalase	oxidase	Indol Test	Voges-proskaur	Kliegler	Methyl Red	Citrate
p.aeruginosa	+	+	+	_	_	_	+

ج- التّأكد من جنس جراثيم *Staphylococcus aureus*:

الإختبارات	Catalase	Oxidase	Citrate	Coagulase	Kliegler
S.aureus	+	_	_	+	+

د- التّأكد من جنس جراثيم *Bacillus cereus*:

الإختبارات	Catalase	Oxidase	Citrate	Geletinase	Kliegler	Motility	Lecithenase
B.cereus	+	_	+	+	+	+	+

5-2- التّحري عن الفعاليّة التّثبيطية لمستخلص خميرة *Saccharomyces cerevisiae* ضد الجراثيم الممرضة الاختباريّة :

5-2-1- تأثير الأس الهيدروجيني:

أ- الخميرة الطّرية :

أظهرت النّتائج في الجدول (1) اختلاف أقطار التّثبيط لعزلات الخميرة الطّرية *Saccharomyces cerevisiae* المنمّاة في وسط YEGPB السّائل، عند درجة حرارة $30\ C^o$ ، ومدّة حضن 24 hrs، و درجات PH مختلفة :

(4- 4,5- 5- 5,5- 6- 6,6- 7)، ضدّ الجراثيم الاختبارية حيث بيّنت النّتائج تأثير الأس الهيدروجيني في تحفيز عزلات الخميرة المنتجة للمواد المثبّطة ضد الجراثيم الممرضة الاختبارية ، و أنّ الأس الهيدروجيني الأمثل لإنتاج أعلى تركيز من المواد المثبّطة والّذي أثّر بشكل واضح وفعّال تجاه الجراثيم الإختبارية هو pH6 ،حيث وصل قطر منطقة تثبيط جراثيم *Staphylococcus aureus* ، *Pseudomonas aeruginosa*، *Bacillus cereus*، *E.coli* 30، 26، 33،22 mm على التّوالي .

بينما أدّى الأس الهيدروجيني 4 و 7 إلى إنتاج كميات قليلة جداً من المواد المثبّطة ضد جراثيم *Staphylococcus aureus* وجراثيم *Pseudomonas aeruginosa* وجراثيم *E.coli*، أما ضد جراثيم *Bacillus cereus* لم تظهر أية منطقة تثبيط عند pH4 و pH7 .

جدول (1) المتوسّط الحسابي والانحراف المعياري لمكرّرات أقطار التّثبيط (mm) الّتي أحدثتها خميرة *Saccharomyces cerevisiae* (الطّرية) ضد الجراثيم الاختبارية المستخدمة

pH	*Staphy-coccus aureus* $\overline{\times}$	الانحراف المعياري	*Pseudo aerugin-osa* $\overline{\times}$	الانحراف المعياري	*Bacillus cereus* $\overline{\times}$	الانحراف المعياري	*E.coli* $\overline{\times}$	الانحراف المعياري
7	10	2	9	2	0	0	2	2
6.5	19	1	12	1	21	1	11	1,73
6	30	2	26	2	33	1	22	2
5.5	24	1	20	1	31	1	14	2
5	21	1	13	1	12	1,73	10	0
4,5	17	1	10	1	10	1,73	7	1,73
4	0	0	0,66	1.15	0	0	1	1

ب-الخميرة الجافّة :

جاءت النّتائج مشابهة للخميرة الطّرية وأنّ الأس الهيدروجيني الأمثل لإنتاج أعلى تركيز من المواد المثبّطة و الّذي أثّر بشكل واضح وفعّال تجاه الجراثيم الاختبارية هو (pH6) ، حيث وصل قطر منطقة تثبيط ضد جراثيم *Staphylococcus aureus*، *Pseudomonas aeruginosa* ، *Bacillus cereus*، *E.coli* : 25، 22، 33، 18 mm على التّوالي (حسب الجدول2).

جدول (2) المتوسّط الحسابي والانحراف المعياري لمكرّرات أقطار التّثبيط (mm) الّتي أحدثتها خميرة *Saccharomyces cerevisiae* (الجافّة) ضد الجراثيم الاختبارية المستخدمة

pH	*Staphylo-coccus aureus* $\bar{X}$	الانحراف المعياري	*Pseudo aerugin-osa* $\bar{X}$	الانحراف المعياري	*Bacillus Cereus* $\bar{X}$	الانحراف المعياري	***E.coli*** $\bar{X}$	الانحراف المعياري
7	0	0	0,33	0,58	0	0	0	0
6.5	19	0.58	10	1	20	1	6	2
6	25	1	22	1	33	1	18	2
5.5	22	2	12	1	31	1	13	1
5	15	1,73	8	1	9	1	9	2
4,5	13	1	6	1	7	1	6	1
4	0,666	0	0	0	0	0	0	0

يلاحظ من خلال النّتائج السّابقة أنّ الفعاليّة النّوعية للمواد المثبّطة أو كميّة المواد المثبّطة أخذت بالارتفاع تدريجيّاً ، حتّى وصلت إلى أعلى قيمة لها عند الأس الهيدروجيني (pH6) ، ثمّ بدأت بالانخفاض تدريجيّاً حيث بلغت أدنى قيمة لها عند كل من الأس الهيدروجيني (4) و (7) وأحياناً لم تعطِ أيّ أثر ، و قد كان الأس الهيدروجيني (6) هو الأمثل لإنتاج المواد المثبّطة بالنّسبة لكلا النّوعين المستخدمين من الخمائر الطّرية و الجافّة ، توافقت النّتائج مع ما توصّل إليه [8] في دراسته حيث كان الأس الهيدروجيني الأمثل لنمو عزلات خميرة *S.cerevisiae* المنتجة

للبروتينات المثبّطة هو6 ، اختلفت نتائجنا مع [10] الّذي أشار في دراسته أنّ الأس الهيدروجيني الأفضل لإنتاج أكبر كميّة من السّموم من خميرة *S.cerevisiae* هو5، ولم يلحظ أي إنتاج عند قيم الأس الهيدروجيني (3.5- 5.5- 6) ، بينما لوحظ انخفاض كبير في إنتاج السّموم عند قيم الأس الهيدروجيني (4-4.5) .

كما فسّر [11] سبب تناقص كميّة المواد المثبّطة عند تنمية خلايا الخميرة في درجات حموضة مرتفعة، أنّ دورة الخلية تتوقّف نتيجة للتّعديلات الّتي تحتاجها الخلايا للتّغلب على التّغييرات الحاصلة كاستجابتها للتّوتر الحاصل، و صرفها كميّات كبيرة من الطّاقة في محاولتها للموازنة بين الرّقم الهيدروجيني الدّاخلي والخارجي، وهذا سينعكس بصورة غير مباشرة على معدّل النّمو وإنتاج المواد المثبّطة .

5-2-2- تأثير درجة الحرارة :

أ- الخميرة الطّرية :

أظهرت النّتائج عند دراسة تأثير درجة الحرارة في تحفيز إنتاج المواد المثبّطة من عزلات الخمائر (الخميرة الطّرية) ضد الجراثيم الاختبارية، أنّ درجة الحرارة المثلى هي $28C^o$ إذ سجّلت أعلى قطر منطقة تثبيط ضد جراثيم *Staphylococcus aureus*، جراثيم *Pseudomonas aeruginosa* وجراثيم *Bacillus cereus* وجراثيم *E.coli* : 33 ، 29، 35 ،26mmعلى التّوالي. بينما تمّ تسجيل أقل تأثير عند الدّرجة C^o 35 ضد جراثيم *Staphylococcus aureus* و ضد جراثيم *Pseudomonas aeruginosa* أمّا ضد كل من جراثيم *Bacillus cereus* و *E.coli* لم تظهر لها أي منطقة تثبيط عند هذه الدّرجة من الحرارة .

جدول(3) المتوسّط الحسابي والانحراف المعياري لمكرّرات أقطار التّثبيط (mm) التي أحدثتها خميرة *Saccharomyces cerevisiae* (الطّرية) ضد الجراثيم الاختبارية المستخدمة

درجة الحرارة	*Staphylo-coccus aureus* $\overline{\times}$	الانحراف المعياري	*Pseudo aerugin-osa* $\overline{\times}$	الانحراف المعياري	*Bacillus Cereus* $\overline{\times}$	الانحراف المعياري	*E.coli* $\overline{\times}$	الانحراف المعياري
$20C^o$	28	2	18	2	21	1	13	1
$24C^o$	30	2	27	1	33	1,55	24	2
$28C^o$	33	1	29	1	35	1	26	2
$30C^o$	29	1	24	2	31	1,73	14	1
$35C^o$	3	1	2	1	0	0	0	0

ب-الخميرة الجافّة :

أظهرت النّتائج عند دراسة تأثير درجة الحرارة في تحفيز إنتاج المواد المثبّطة من عزلات الخمائر (الخميرة الجافّة) ضد الجراثيم الاختبارية، أنّ الدّرجة الحرارية المثلى هي $28\ C^o$ و ذلك عندما سجّلت أعلى قطر منطقة تثبيط ضد جراثيم *Bacillus cereus*، *Staphylococcua aureus*، *Pseudomonas aeruginosa* و ضد جراثيم *E.coli* : 35 ، 31، 25 ، 24 mm على التّوالي .

بينما تمّ تسجيل أقل تأثير عند الدّرجة $35\ C^o$ ضد جراثيم *Staphylococcus aureus* وجراثيم *Pseudomonas aeruginosa* ، أمّا ضد كل من جراثيم *Bacillus cereus* و *E.coli* لم تظهر أي منطقة تثبيط عند هذه الدّرجة من الحرارة .

جدول(4) المتوسّط الحسابي والانحراف المعياري لمكرّرات أقطار التّثبيط (mm) التي أحدثتها خميرة *Saccharomyces cerevisiae* (الجافّة) ضد الجراثيم الاختبارية المستخدمة

درجة الحرارة	*Staphylo-coccus aureus* $\overline{\times}$	الانحراف المعياري	*Pseudo aerugin-osa* $\overline{\times}$	الانحراف المعياري	*Bacillus Cereus* $\overline{\times}$	الانحراف المعياري	*E.coli* $\overline{\times}$	الانحراف المعياري
$20C^o$	20	2	6	1	21	1,73	12	1
$24C^o$	28	2	21	1	33	0,58	22	1
$28C^o$	31	1	25	1	35	1	24	1
$30C^o$	23	1	18	2	30	2	14	2
$35C^o$	1	1	1	1	0	0	0	0

يظهر من النّتائج السّابقة أنّ أعلى إنتاج من المواد المثبّطة تحقّق عند استخدام درجة حرارة $28C^o$، و بالرّجوع إلى الجداول السّابقة نلاحظ انخفاض الفعاليّة الحيويّة للنّوعين من الخميرة بازدياد درجة الحرارة إلى $35C^o$ و أحياناً انعدامها ، ويمكن تفسير ذلك بأنّ درجات الحرارة العالية تؤدّي إلى انخفاض نمو الخمائر وإلى تحلّل الخلايا كما تؤدّي إلى زيادة طاقة الجزيئات بشكل أكبر، وبالتّالي تكسّر بعض الرّوابط الضّعيفة الّتي تحدّد الشّكل الثّلاثي الأبعاد للبروتينات ممّا يؤدّي إلى تمسّخ حراري للبروتينات المثبّطة المنتجة وبالتّالي تعطيلها [12] ، تتّفق نتائجنا مع ماتوصّل إليه [8] في دراسته أنّ أفضل درجة حرارة لتنمية عزلات الخميرة المنتجة للبروتينات المثبّطة هي $28\ C^o$ ، كما وجد أنّ $28C^o$ هي الدّرجة المثلى لإعطاء أقصى نشاط مضاد للميكروبات عن طريق إنتاج مناطق تثبيط ، في حين وجد [13] في دراسة أخرى اختلفت مع

نتائجنا أنّ أفضل إنتاج للسّم القاتل من خميرة *S.cerevisiae* كان عند درجة الحرارة $25C^o$ بينما قلّ الإنتاج عند $37C^o$ ، ولم يلاحظ أي إنتاج عند $40C^o$.

5-2-3- تأثير مدّة الحضن :

أ-الخميرة الطّريّة :

تمّت دراسة تأثير مدّة الحضن وذلك بحضن مزارع عزلات خميرة *Saccharomyces cerevisiae* في وسط YEGPB السّائل بدرجة $28\ C^o$ و pH6 ، لمدّة زمنية مختلفة تضمّنت (72hrs - 48hrs - 36hrs - 24hrs - 18hrs) حيث أشارت النّتائج الموضّحة في الجدول (5) ، إلى تسجيل أعلى تأثير مثبّط ضد الجراثيم الاختبارية بعد حضن عزلات الخميرة لمدّة 48hrs ،حيث بلغ متوسِّط أعلى قطر منطقة تثبيط ضد جراثيم *Staphylococcus aureus* (34 mm) و ضد جراثيم *Bacillus cereus* (33 mm) ، وضد جراثيم *Pseudomonas aeruginosa* (32 mm) ، وكانت جراثيم *E.coli* الأقل تأثراً بأعلى قطر تثبيط بلغ (24 mm) .

جدول (5) المتوسّط الحسابي والانحراف المعياري لمكرّرات أقطار التّثبيط (mm) الّتي أحدثتها خميرة *Saccharomyces cerevisiae* (الطّرية) ضد الجراثيم الاختبارية المستخدمة

مدّة الحضن	*Staphylo-coccus aureus* $\overline{\times}$	الانحراف المعياري	*Pseudo aerugin-osa* $\overline{\times}$	الانحراف المعياري	*Bacillus Cereus* $\overline{\times}$	الانحراف المعياري	*E.coli* $\overline{\times}$	الانحراف المعياري
18hrs	9	1,73	14	2	3	1	9	1
24hrs	25	1	19	1	23	1	21	1
36hrs	31	1	30	2	30	1	23	2
48hrs	34	1	32	2	33	1	24	1
72hrs	20	2	18	1	18	1	15	2

ب- الخميرة الجافّة :

لوحظ أيضاً بعد حضن عزلات الخميرة لمدّة 48hrs تسجيل أعلى تأثير مثبّط ضد الجراثيم الاختبارية ، حيث بلغ متوسّط أعلى قطر منطقة تثبيط ضد جراثيم *Pseudomonas aeruginosa* (32 mm) ، يليه في الدّرجة الثّانية جراثيم *Bacillus cereus* (31 mm) في الحساسية للمواد المثبّطة ، ثم جراثيم *Staphylococcus aureus* (27 mm) وكانت جراثيم *E.coli* الأقل تأثّراً بأعلى قطر تثبيط بلغ (24 mm) . (حسب الجدول 6)

جدول (6) المتوسّط الحسابي والانحراف المعياري لمكرّرات أقطار التّثبيط (ملم) الّتي أحدثتها خميرة *Saccharomyces cerevisiae* (الجافّة) ضد الجراثيم الاختبارية المستخدمة

مدّة الحضن	*Staphylo-coccus aureus* $\bar{\times}$	الانحراف المعياري	*Pseudo aerugin-osa* $\bar{\times}$	الانحراف المعياري	*Bacillus Cereus* $\bar{\times}$	الانحراف المعياري	*E.coli* $\bar{\times}$	الانحراف المعياري
18hrs	4	1	3	1	2	1,55	6	1
24hrs	22	1	19	1,73	23	2	20	1
36hrs	24	1	25	2	28	2	21	1
48hrs	27	1,73	32	2	31	1,73	24	2
72hrs	15	1	17	1	16	1	14	2

أظهرت النّتائج السّابقة أنّ إنتاج المواد المثبّطة يبدأ بشكل واضح بعد 24hrs من الحضن ليصل أقصاه بعد 48 hrs من الحضن ، وبعد مدّة الحضن المثالية يبدأ إنتاج

المواد المثبّطة بالانخفاض تدريجيّاً ، وإنّ هذا الانخفاض في مدّة الحضن الطّويلة يعود إلى انخفاض في إنتاجية الخمائر بسبب التّحلل الذّاتي للخلايا بعد نفاذ المغذّيات اللّازمة لاستمرار النّمو والفعاليات الحيوية للخميرة ، وهذا قد يفسّر الانخفاض في النّمو و في إنتاج المواد المثبّطة بعد 72 hrs من الحضن [5] ، جاءت هذه النّتائج مشابهة لما أشار إليه [8] في دراسته إلى أنّ مدّة الحضن المثلى لتنمية خميرة *S.cerevisiae* لإنتاج البروتينات المثبّطة تراوحت بين hrs (24–48) ، كما اتّفقت نتائجنا مع دراسة أخرى أجراها [10] ،أنّ إنتاج السّم القاتل من خميرة *S.cerevisiae* بلغ الحد الأقصى عند تنمية خلايا الخميرة لمدّة 48hrs، بينما لوحظ انخفاض إنتاج السّم عند 24hrs من الحضن بينما في 72 hrs لم يلاحظ أي إنتاج ،اختلفت نتائجنا مع[14] حيث دلّت نتائجه على زيادة تركيز الكتلة الحيوية لخلايا الخميرة بشكل كبير مع زيادة مدّة الحضن إذ بلغ الحد الأقصى 24 g/L عند مدّة حضن 96hrs بع د ذلك انخفض إنتاج الكتلة الحيوية و الأنظيمات .

5-2-4- تأثير التّراكيز المختلفة :

أ- الخميرة الطّريّة :

بيّنت النّتائج وجود أثر مثبط عالٍ للخميرة *Saccharomyces cerevisiae* (الطّرية) ،وذلك عند تنميتها في وسط YEGPB السّائل بدرجة حرارة $28C^o$ و pH6 وفترة حضن 48hrs، وباستخدام تراكيز مختلفة من المواد المثبّطة المنتجة من الخميرة أعطت نتائج مختلفة ضد الجراثيم الاختبارية الممرضة ، فقد سجّلت أعلى قطر منطقة تثبيط وذلك عند تركيز المواد المثبّطة المنتجة منها دون تخفيف (5mg/ml) ، حيث وصل قطر منطقة التّثبيط ضد جراثيم *Bacillus cereus* ، *Staphylococcus aureus* ، *Pseudomonas aeruginos* ، *E.coli* : 35 ، 32 ، 30 ، 24 mm على التّوالي .(حسب الجدول 7).

جدول (7) المتوسّط الحسابي والانحراف المعياري لمكرّرات أقطار التّثبيط (mm) الّتي أحدثتها خميرة *Saccharomyces cerevisiae* (الطّريّة) ضد الجراثيم الاختبارية المستخدمة

التّراكيز	*Staphylo-coccus aureus* $\bar{X}$	الانحراف المعياري	*Pseudo aerugin-osa* $\bar{X}$	الانحراف المعياري	*Bacillus Cereus* $\bar{X}$	الانحراف المعياري	*E.coli* $\bar{X}$	الانحراف المعياري
50 mg/ml	32	1	30	2	35	1.73	24	2
25 mg/ml	28	2	24	2	26	2	22	1
12.5 mg/ml	20	2	22	2	21	1	9	1,73
6.25 mg/ml	14	1,55	18	1,53	11	0,58	6	1

ب- الخميرة الجافّة :

بّينت النّتائج عند دراسة تأثير تركيز المواد المثبّطة المنتجة من الخميرة (الجافّة) ضد الجراثيم الاختبارية ، أنّ أعلى منطقة تثبيط كانت عند استخدام التّركيز النّاتج دون تخفيف أي عند التّركيز 5mg/L ، حيث وصل قطر منطقة التّثبيط ضد جراثيم *Bacillus cereus* ، *Staphylococcus aureus* ، *P. aeruginosa* ، *E.coli* : 32، 25 ، 29 ، 24 mm على التّوالي (حسب الجدول8).

الجدول (8) المتوسّط الحسابي والانحراف المعياري لمكرّرات أقطار التّثبيط (mm) التي أحدثتها الخميرة *Saccharomyces cerevisiae* (الجافّة) ضد الجراثيم الاختبارية المستخدمة

التّراكيز	*Staphylo-coccus aureus* $\bar{X}$	الانحراف المعياري	*Pseudo aerugin-osa* $\bar{X}$	الانحراف المعياري	*Bacillus Cereus* $\bar{X}$	الانحراف المعياري	*E.coli* $\bar{X}$	الانحراف المعياري
50 mg/ml	25	1	29	1	32	2	24	1.53
25 mg/ml	24	1	23	2	25	1	10	0.58
12.5 mg/ml	18	1.53	21	1	20	1,73	6	1
6.25 mg/ml	13	1.15	17	0.58	10	2	1	0.58

اتّضح من خلال النّتائج السّابقة تباين تأثير مستخلص عزلات الخميرتين الطّرية والجافّة (غير المركّز والمخفّف) تجاه عزلات الجراثيم الاختباريّة ، حيث أظهرت مستخلصات كلا الخميرتين أثراً تثبيطيّاً متدرّجاً إذ أعطى المستخلص الخام أثراً تثبيطيّاً أعلى من المستخلص المخفّف إلى النّصف، وهذا بدوره أعطى فعاليّة تثبيطية أفضل من المستخلصين المخفّفين التّاليين المستخدمين ، ويعود سبب زيادة الفعاليّة التّثبيطية لمستخلص الخميرة عند زيادة تركيزه إلى زيادة كميّة المواد البروتينية المثبّطة فيه وبالتّالي زيادة تأثيرها على الجراثيم المدروسة ، و هذا ما أشارت إليه النّتائج الّتي توصّل لها [14]، في حين أشارت نتائج دراسة أخرى أجريت ضدّ الجراثيم المعوية إلى الفعاليّة التّضادية لمستخلص خميرة *Saccharomyces cerevisiae* (الخام والمركّز لمرّة واحدة والمركّز لمرتين) وبأقطار تثبيطية تراوحت ما بين mm(14– 26) ، ولكن كان التّأثير على العزلات الجرثومية أكثر للمستخلص المركّز مرتين ،نلاحظ من خلال ماسبق أنّ أقطار مناطق التّثبيط تتناسب طردياً مع تركيز المستخلص إذ تزداد بازدياد

تركيز المستخلص وهذا يتوافق مع [15] ، اختلفت نتائجنا مع ما توصّل إليه [16] في نتائجه، حيث لم تظهر مستخلصات الخميرة غير المركّزة جميعها أيّة فعاليّة تثبيطيّة ضد عزلات جراثيم *P .aeruginosa* فيما سجّل مستخلص الخميرة المركّز لمرّة واحدة فعالية تثبيطيّة ضد الجراثيم المدروسة ، وأيضاً اختلفت نتائجنا مع دراسة تقول أنّ زيادة تركيز مستخلصات الخميرة تؤدّي إلى الانخفاض في إنتاجية السّم ، و السّبب في ذلك يعود إلى تراكم أو تجمّع تلك المواد المثبّطة كالسّكريات الأحادية الموجودة ضمن المكوّن الكيميائي للجدار الخلوي للخميرة [17] .

5-3- المقارنة بين الخميرة الطّرية والخميرة الجافّة :

بالمقارنة بين كل من الخميرتين (الخميرة الطّرية والخميرة الجافّة) نلاحظ من خلال النّتائج أنّ كلتا الخميرتين أعطت أعلى قطر تثبيطي ضد الجراثيم الاختبارية عند تنمية كل منهما في وسط YEGPB السّائل عند pH6 ، وعند درجة حرارة $28\ C^o$ ، ومدّة حضن 48hrs ، وكلّما ازداد تركيز المواد النّاتجة منهما كلّما ازداد الأثر التّثبيطي لهما إذ أعطت كلتا الخميرتين أعلى أثر مثبّط عند استخدام المستخلص النّاتج من كل منهما دون تخفيف، وبهذا نلاحظ وجود تشابه بين الخميرتين من حيث أفضل الظّروف البيئية لإنتاج المواد المثبّطة منهما، و من حيث الأثر التّثبيطي الّذي تبديه المواد المنتجة من الخميرة الطّريّة والأثر التّثبيطي الّذي تبديه الخميرة الجافّة على الجراثيم الاختبارية، إلاّ أنّ الخميرة الطّرية تفوّقت على الخميرة الجافّة من حيث قدرتها على إنتاج المواد المثبّطة ضد الجراثيم الاختبارية الممرضة ،حيث ظهر ذلك من خلال أقطار مناطق التّثبيط . وإثراءً لما ورد في النّتائج السّابقة تمّ إجراء الدّراسة الإحصائية الآتية :

1- مقارنة الخميرتين في ظل درجة الحموضة:

Paired Samples Test

		Paired Differences						
				Std. Error Mean	99% Confidence Interval of the Difference			
		Mean	Std. Deviation		Lower	Upper	df	Sig. (2-tailed)
Pair 1	الطّرية الجافّة	3.059429	2.804132	.529931	1.591158	4.527700	27	.000

من الجدول أعلاه يتّضح أن sig=0.000<0.01 ومنه نجد أنّه توجد فروق معنوية بين متوسّط درجات الحموضة في الخميرة الطّرية مع متوّسط درجة الحموضة في الخميرة الجافّة وكانت خميرة القوالب أفضل وذلك لأنّه من عامود mean نجد أنّ قيمته موجبة.

2- مقارنة الخميرتين في ظل درجة الحرارة:

الفرضية الإبتدائية: لا توجد فروق معنوية بين الخميرتين في ظل مدة الحضن .

الفرضية البديلة: توجد فروق معنوية بين الخميرتين في ظل مدة الحضن.

Paired Samples Test

		Paired Differences				t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	99% Confidence Interval of the Difference Lower	Upper			
Pair 1	aa - bb	2.90000	3.16061	.87808	4.92192	4.103	19	.001

من الجدول أعلاه يتّضح أنّ sig=0.001<0.01 ومنه نرفض الفرضية الابتدائية ونقبل البديلة أنّه توجد فروق معنوية بين متوسط أقطار التّثبيط في الخميرة الطّرية مع متوسّط أقطار التّثبيط في الخميرة الجافّة وكانت الخميرة الطّرية أفضل وذلك لأنّه من عامود mean نجد أنّ قيمته موجبة.

3- مقارنة الخميرتين في ظل مدّة الحضن:

الفرضية الإبتدائيّة: لا توجد فروق معنوية بين الخميرتين في ظل مدة الحضن .

الفرضية البديلة: توجد فروق معنوية بين الخميرتين في ظل مدة الحضن.

Paired Samples Test

		Paired Differences				t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	99% Confidence Interval of the Difference Lower	Upper			
Pair1	الطّرية-الجافّة	3.000000	2.846974	1.178721	4.821279	4.713	19	.000

من الجدول أعلاه يتّضح أن sig=0.000<0.01 ومنه نرفض الفرضية الإبتدائية ونقبل البديلة أنّه توجد فروق معنوية بين متوسّط أقطار التّثبيط في الخميرة الطّرية مع متوسّط أقطار التّثبيط في الخميرة الجافّة و كانت الخميرة الطّرية أفضل وذلك لأنه من عامود mean نجد ان قيمته موجبة .

3-مقارنة الخميرتين في ظل التّراكيز:

Paired Samples Test

	Paired Differences				t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	99% Confidence Interval of the Difference Lower	Upper			
Pair1 الطرية الجافّة	2.87500	3.00832	.65883	5.09117	3.823	15	.002

من الجدول أعلاه يتّضح أنّ sig=0.002<0.01 ومنه توجد فروق معنوية بين متوسّط أقطار التّثبيط في الخميرة الطّرية مع متوسّط أقطار التّثبيط في الخميرة الجافّة و كانت الخميرة الطّرية أفضل وذلك لأنّه من عامود mean نجد أنّ قيمته موجب .

6- الاستنتاجات

1- أظهرت النّتائج اختلاف تأثير عزلات خميرة الخبز *Saccharomyces cerevisiae* المنمَاة في وسط YEGPB السَائل في نمو عزلات الجراثيم الاختبارية المرضيّة (*Staphylococcus aureus* ، *Pseudomonas aeruginosa* ، *Bacillus cereus* ، *E.coli*) وذلك عند تنمية الخميرة في ظروف بيئيّة مختلفة من أس هيدروجيني و درجة حرارة و فترة حضن ، كما لوحظ أنّ هنالك اختلاف في مدى استجابة وحساسيَة الجراثيم المرضيّة للمواد المثبَطة المنتجة من عزلات الخميرة تبعاً لدرجة تركيز هذه المواد وتبعاً لنوع عزلة خميرة الخبز المستخدمة (الخميرة الطَريّة أو الخميرة الجافة التّركية المنشأ باكمايا) .

2-للحصول على أكبر فعل تثبيطي لخميرة الخبز يجب تنميتها عند درجة حرارة $28\ C^o$ و pH6 و زيادة تركيز المواد المنتجة منها ومدّة حضن 48 hrs.

7- التّوصيات :

1- إيجاد حلول لمقاومة الجراثيم للصّادات الحيوية وذلك باستخدام أحياء مجهرية مثل *S.cerevisiae*.

2- الانتقال في الإنتاج من المستوى المختبري إلى المستوى التّجاري .

3- إجراء الدّراسات المختلفة عن فعاليّة خميرة *S.cerevisiae* داخل الجسم الحي .

References :

1- ATLAS , R.M , BROWN , A.E and PARKES , L.C , 1984- Laboratory Manual Expirmental Microbiology . Mosby-Year BooK.Ink, 1st ed, USA , 565p.

2-ALEXOPOULOS, C.J and MIMS , C.W, 1995- Introductory Mycology. John Wiley and Sons, Fourth edition,New York,386p.

3- BROWN, M.L, 1970 -Development of chains of cscus of *Saccharomyces cerevisiae* during fermentation, J. Inst. Brewing, **76**: 61-65.

4 -HOUGH , J.S, BRIGGS , D.E, STEVENS ,R & YOUNG,T.W, 1982 – Malting and Brewing Science , Hoppes Wort Beer, Campman & Hall , Vol II, 22-35.

5 - AL-EQABI , H , 2004 - Extraction of mannan from yeast *Saccharomyces cerevisiae* and study of its agglutination activity. Submitted to the college of science-University of Baghdad , in Partial Fulfillment of the requirement for the degree of Master in Science in Biology-Microbiology,P 8-9. (In Arabic).

6-ELLIS,D.H, 1994- Clinical Mycology :The Human Opportunistic Mycosis. Pfizer Inc,Third edition, USA, 166p.

7-BARNETT , J. A , PAYNE , R. w and YARROW , D. 1990- Yeasts: Characteristics and Identification. Cambridge University Press, 2nd ed, Cambridge. 476p.

8- ZHU , H , BUSSEY, H , THOMAS , D. Y, GAGNON , J and BELL, A. W, 1987- Determination of the carboxyl termini of the α and β subunits of yeast KI killer toxin, J. Bio. Chem , volume 262, pages 10728-10732.

9-GUPTA , S, 2016- The Short Text Book of Pediatrics. Jaypee Brothers Medical Publishers (P) Ltd, 12th ed, India , 970p.

10-ALI ,W, 2013 - Determination of some optimum conditions for production of a killer toxin AY from the yeast *Saccharomyces cerevisiae* , Folder 19 number 80 , p 705-706 , Department of Biology / College of Science Al- Mustansiriya University.

11-PENA, A,SANCHEZ, N, ALVAREZ, H, CALAHORRA , M, and RAMIREZ , J , 2015 - Effects of high medium PH on growth, metabolism and transport in *Saccharomyces cerevisiae*. FEMS Yeast Research , Reaserch Articl e, doi:10. 1093/femsyr/fou005, Mexico.

12- DE MARANON , L.M., CHANDANSON , N., JOLY , N . and GERVAIS, P, 1999 – Slow Heat Rate Increase Yeast Thermo tolerance be Maintaining Plasma Membrane Integrity , Biotechnol. Bioemg., 65: 176-181.

13-RODRIGUEZ-COUSIN~O,N.;MAQUEDA, M.; AMBRONA, J.; ZAMORA, E.,ESTEBAN, R, and RAMIREZ, M, 2011-Anew wine *Saccharomyces cerevisiae* killer toxin (Klus), encoded by a double-stranded RNA virus, with broad antifungal activity is evolutionarily related to a chromosomal host gene, Appl. Environ.Microbiol.,77(5): 1822-1832.

14- ABBAS, L, WALED, R, HAYDER, N., 2013 - Optimum conditions for Biomass and lytic enzyme production by *Saccharomyces cerevisiae* and removal of total solids from waste water of dairy processing, Journal of Biotechnology Research Center, Vol.7 No.3, Iraq, p 66- 67.

15- TIAGO, F.C.P., MARTINS, F.S., SOUZA, E.L.S., and JACQUES, R. NICOL I, 2012 – Adhesion to the yeast cell surface as a mechanism for trapping pathogenic bacteria by *Saccharomyces cerevisiae* probiotics, Journal of Medical Microbiology, 61: 1194-1207.

16 – MAHMOUD, N, RAHEM, I., 2016 - The effect of *Sacchromyces cerevisiae* to inhibit the growth and formation of the biofilm of *Pseudomonas aeruginosa*, Journal homepage: www.mjs-mu.com, Vol.27. No.1,p 15, Department of Biology/ College of Science / Al-Mustansiryia University.(In Arabic).

17- SHAFIQ, S.A., AJAA , H.A., KASIM, S.A., 2011-Reduction of toxic effects for Aflatoxin B1 by filtrates baker yeast *Saccharomyces cerevisiae*,Journal of Faculty of Basic Education, Number 72 , P 840.