استعمال مخلفات صناعة نشأ الذرة لتحضير اوساط غذائية لتنمية بعض انواع الفطريات

زهرة محمود الخفاجي*
ثريا خليل إبراهيم** مها طارق القاضي*** ريم فالح عبد الحميد**
*معهد الهندسة الوراثية والتقنية الحيوية للدراسات العليا/جامعة بغداد / العراق
العنوان الحالي : قسم علوم الاغذية / كلية الزراعة جامعة الموصل /العراق
**مركز الربيع للبحوث الزراعية والغذائية/الهيئة العامة للبحث والتطوير الصناعي/وزارة الصناعة والمعادن / العراق

الخلاصة

استعملت مخلفات صناعة النشأ من الذرة لتحضير اوساط غذائية لتنمية الفطريات ، وهي ماء نقع الذرة (Steep water) وقد عومل ليكون ملائما لتحضير الوسط الغذائي (S) والكلوتين (Gluten) بعد استخلاص الأجزاء الذائبة منه (G) ، وحضر وسط خليط منهما (GS) . احتوت المخلفات المعدة لتحضير الاوساط على اغلب مستلزمات نمو الفطريات بمستويات مختلفة . تم تنمية *Aspergillus niger* و *Asp. flavus* و *Penicillium* spp وخميرة *Saccharomyces boulardii* . قيس النمو بقياس قطر المستعمرات على الاوساط الصلبة وقياس الكتلة الحيوية في الاوساط السائلة . اما الخميرة فقد قيس العد العيوشي في الأوساط السائلة . وتمت مقارنة النمو باستعمال وسط تجاري قياسي وهو وسط السابرويد الصلب او السائل من شركة Oxoid . اشارت نتائج النمو على الاوساط الصلبة الى تفوق وسط (GS الصلب لتنمية الاعفان تلا وسط ماء النقع (S) ثم الوسط القياسي ثم وسط خلاصة الكلوتين (G) وبفروق معنوية على مستوى احتمال ($P<0.05$) بالنسبة للاعفان الثلاث . اما النمو في الاوساط السائلة فقد تفوق وسط ماء النقع (S) في إعطاء اكبر كتلة حيوية بالنسبة للاعفان الثلاث ، وكانت المزارع المهزوزة أفضل من المزارع الراكدة . اما تنمية الخميرة في الاوساط السائلة فكانت المزارع المهزوزة أفضل من المزارع الراكدة وبفرق معنوي على مستوى احتمال ($P<0.05$) ولمختلف الاوساط .

المقدمة

للفطريات أهمية كبيرة سواء من النواحي السلبية او الايجابية ، فالعديد منها يسبب الامراض (Talaro و Talaro ، ١٩٩٦) ، وتختلف الجوانب السلبية في أسبابها فبعض الفطريات تنتج السموم الفطرية Mycotoxins التي تصل الى الانسان عن طرق مختلفة مثل تلويثها للمحاصيل الغذائية قبل الحصاد او اثناء الخزن (Yu واخرون ، ٢٠٠٤) ، كما انها تسبب العديد من الامراض النباتية (Bruce و Palfryman ، ١٩٩٨) . وتسبب الفطريات العديد من الأمراض للانسان ومن أهمها امراض الحساسية (Hedayati واخرون ، ٢٠٠٥ و Saravanan واخرون ، ٢٠٠٦) وكذلك اصابات الجلد الخارجية فضلا عن إصابة أجهزة اخرى من الجسم مثل الجهاز البولي والعصبي وغيرها ومجملها هذ الامراض يطلق عليها Aspergillosis اذا كانت ناتجة عن الاصابة بأنواع من جنس *Aspergillus* (Osguthorpe و Nielsen ، ٢٠٠٦ و Martin واخرون ، ٢٠٠٥) . وقد أصبحت مشكلة جنس *Aspergillus* والانواع التابعة له من المشاكل المستعصية في العالم لما تولد من اصابات في المستشفيات Nosocomial وما تحدثه من تلوث بعد العمليات الجراحية (Pasqualottoو Denning ، ٢٠٠٦ و Vonberg و Gastmeier ، ٢٠٠٦) ، ومن الجوانب السلبية الاخرى إفسادها للأغذية بمختلف انواعها (Pitt و Hocking ، ١٩٩٧) .

ومن اهم الفطريات المشاركة في الجوانب السلبية هو جنس *Aspergillus* والانواع التابعة له كما ذكر اعلا ومن الانواع المهمة *Asp . flavus* (الذي استعملت احد سلالاته في الدراسة الحالية) ، ويعد الفطر المسبب الثاني بعد فطر *Asp . fumigatus* في احداث Aspergillosis ، كما انه يعد الاول في احداث الاصابات الجلدية ، فضلا عن كونه الاول في اصابة الحشرات ، وتنمو بعض سلالات الفطر في درجة حرارة ٣٧مْ وهذ الصفة تساهم في كونها احد الممرضات للإنسان (Hedayati واخرون ، ٢٠٠٧) ، ويعد الفطر من المنتجات الرئيسة للسموم الفطرية وأهمها Aflatoxins (Yu واخرون ، ٢٠٠٤ و Yoon و Baek ، ١٩٩٩ و Haskard واخرون ، ١٩٩٩) ، ويسبب الفطر *Asp . flavus* العديد من الاصابات في الانسان مثل الحساسية واصابة صمامات القلب واصابة وتعود أمراضية

تاريخ تسلم البحث ٢٣ / ١٠ / ٢٠٠٧ وقبوله ١٤ / ١٢/ ٢٠٠٨

الفطر *Asp . flavus* و *Asp . niger* وغيرها من افراد الجنس *Aspergillus* الى قدرة العديد منها على إنتاج الانزيمات مثل Elastase ويعد إنتاج الانزيم الأخير من اهم عوامل الضراوة في الامراض التي يولدها الجنس (Aspergillosis) ، ولكن على الجانب الثاني فان بعض سلالات الفطر *Asp . flavus* و *Asp . niger* تنتج مثبطات انزيم Elastase ولذلك يمكن ان تستعمل لإنتاج علاج لحالات Aspergillosis (Okumura واخرون ، ٢٠٠٤) .

ومن جهة ثانية يلاحظ ان العديد من الفطريات تساهم في انتاج المواد المفيدة للانسان كما في انتاج القلويدات والمضادات الحيوية بالاضافة الى امكانية استعمال بعضها للاكل مباشرة مثل العرهون وهي بذلك تشكل احد الجوانب الأساسية في عمليات التقنية الحيوية (Anke ، ١٩٩٧) .

وشملت الدراسة تنمية احد سلالات الخميرة *Saccharomyces cerevisiae* وهي *S. boulardii* التي تستعمل في العلاج الحيوي (Castagiolo وآخرون ، ١٩٩٩) وتعد خميرة *S. cerevisiae* النموذج الدراسي لدراسة فسلجة ووراثة الخلايا حقيقة النواة ، وقد درست فيها أنظمة نقل الاشارات في الخلايا الحية مثل الاشارات التي يولدها الكلوكوز والتي تنقل بواسطة بروتينات غشائية وكذلك تشارك فيها بروتينات داخل الخلايا التي تتحسس او تستجيب للـ G- proteins ، وقد ساهمت وتساهم بشكل فاعل في دراسة النواحي الوراثية للانسان ووضع الخارطة الكروموسومية له (Toone و Jones ، ١٩٩٨ و Hohmann ، ٢٠٠٢) .

والفطريات تنتمي الى المجموعة الفسلجية كيمياوية – عضوية التغذية Chemo-heterotroph لعدم إمكانيتها على القيام بالتخليق الضوئي او تثبيت الكاربون باعتماد الطاقة الكيمائية لخلوها من الأنظمة الانزيمية والصبغات اللازمة لذلك فهي تستهلك الكاربون بشكله المختزل (العضوي) وعليه تكون معظم احتياجاتها من الكاربوهيدرات البسيطة ، اما احتياجاتها من النتروجين فتكون هي الأخرى من المصادر المختزلة سواء كانت عضوية او اللاعضوية مثل أملاح الامونيوم او النتروجين العضوي (Pitt و Hocking ، ١٩٩٧و Gurbatl ، ١٩٩٧) .

وتعد الفطريات والخمائر من الأحياء العامة والمنافسة التي يمكن ان تنتشر في مدى واسع من البيئات (Walker ، ١٩٩٩) . وهناك أوساط عامة وأخرى خاصة تستعمل لعزل وتنقية الفطريات والتي تميل اغلبها الى تفاعلها ألحامضي (Pitt و Hocking ، ١٩٩٧) . ولذلك تحضر الأوساط الخاصة بها باستعمال Mycological peptone ذات التفاعل ألحامضي حيث تصل الأرقام الهيدروجينية لمحاليله الى حوالي٥ ٥- ٥ (Harrigan و McCance ١٩٧٦ و Bridson ، ١٩٩٥) .

ومن جهة ثانية توجد العديد من المنتجات العرضية للصناعات التي يمكن ان تستعمل كأوساط غذائية لتنمية الفطريات منها المنتجات العرضية لصناعة النشأ من الذرة . وتتضمن الدراسة الحالية استعمال المنتجات العرضية لصناعة النشأ لتحضير أوساط غذائية لتنمية الأعفان والخمائر والمتمثلة بماء نقع الذرة حيث تنقع البذور في محلول مخفف من حامض الكبريتوز لفصل النشأ عن بروتين الكلوتين ، والناتج العرضي الأخير وهو الكلوتين الذي يجفف ويستعمل كعلف حيواني .

مواد البحث وطرائقه

السلالات المستعملة :

١- الاعفان: استعملت عزلات من *Asp. niger* و *Asp . flavus* و *Penicillium* spp (من مديرية وقاية المزروعات / ابو غريب وهي عزلات محلية معزولة من نباتات مصابة)

٢ – خميرة *Saccharomyces boulardii* من مختبرات Biocodex / فرنسا .

الاوساط الغذائية :

١. وسط السابروود Sabouraud Dextrose Broth , Sabouraud Dextrose Agar(شركة Oxoid) .
٢. وسط Malt Extract Agar (شركة Merck) استعمل في إدامة مزارع الأحياء .
٣. وسط خلاصة الكلوتين (G)تم تحضير بنقع ٦ غم من الكلوتين الخام (شركة الفرات العامة للصناعات الكيميائية) في ١٠٠ مللتر ماء مقطر لمدة ١٥ دقيقة بدرجة حرارة الغرفة مع التحريك والرقم الهيدروجيني للنموذج كان يتراوح بين ٣-٥ ٣ ، عدل الرقم الهيدروجيني الى ٦ ± ٠

باستعمال محلول هيدروكسيد الكالسيوم ورشح المستحضر باستعمال ورق ترشيح Whatman #42.

٤ - وسط ماء نقع الذرة Steep water (S) : تم الحصول على ماء نقع الذرة من شركة الفرات العامة للصناعات الكيمائية ، وحضر الوسط الغذائي منه بإزالة الكبريت ومركباته بمعادلة ماء النقع الذي يبلغ اسه الهيدروجيني ٣ ـ ٣ بمحلول هيدروكسيد الكالسيوم لحين التعادل ثم رشح باستعمال ورق ترشيح Whatman #42 ثم غلي الراشح لمدة ٣- ٥ دقائق ثم رشح ثانية.

٥. وسط خليط من خلاصة الكلوتين وماء النقع (GS) تم تحضير من خلط نسب متساوية من مستخلص الكلوتين (G الوسط رقم ٣) ، وماء النقع (S الوسط رقم ٤) .

٦. وسط ٢% GS : حضر باستعمال الوسط رقم (٥) وإضافة الكلوكوز بنسبة ٢% (وزن/حجم) .

٧. وسط ٤% GS : حضر باستعمال الوسط رقم (٥) وإضافة الكلوكوز بنسبة ٤% (وزن/حجم) .

تم تصليب الأوساط بإضافة ١% أكر Agar عند الحاجة وعقمت الأوساط بالمؤصدة لمدة ١٥ دقيقة بدرجة حرارة ١٢١°م وضغط ١ جو اما الأوساط الحاوية على الكلوكوز فعقمت لمدة ٧-١٠ دقائق .

الطرائق :

١. تم تحديد بعض العناصر والمعادن في النواتج العرضية المعاملة والمعدة للاستعمال كأوساط غذائية (شركة المجد/ وزارة الصناعة – هيئة التصنيع العسكري سابقا) .

٢. تم حساب تركيز البروتينات بتقدير النتروجين الكلي باستعمال Micro Kjeldahl (منظمة الطاقة الذرية سابقا) .

٣. تم تحديد Amino-nitrogen بطريقة التسحيح مع الفورمالين Formal titration (Meloan و Pomeranz ، ١٩٧٣) .

٤. تم تقدير السكريات الكلية والسكريات المختزلة وفق الطرق المتبعة في تحليل الاغذية (Meloan و Pomeranz ، ١٩٧٣) .

٥. تقدير قطر المستعمرات الفطرية على الاوساط الصلبة : تم نقل ١٠ مايكرولتر من عالق ابواغ الفطر الى نقطة وسط الطبق ، وحضنت الأطباق بدرجة حرارة ٢٨ ± ٢ °م وتم قياس عدة أقطار للمستعمرات باستعمال المسطرة يوميا لمدة ٤ ايام متتالية واستخرج المعدل (Reeslve و Kioller ، ١٩٩٥ ، Suhr واخرون ، ٢٠٠٢) ، وتم ملاحظة الصفات المظهرية للمستعمرات مثل اللون ونوعية النمو وتكوين الابواغ .

٦. تقدير الكتلة الحيوية للاعفان في الاوساط السائلة : تم وفق الطريقة المتبعة من قبل Reeslve و Kioller (١٩٩٥) مع بعض التحوير اذ تم تلقيح الاوساط تحت الاختبار بعالق ابواغ الاعفان النامية على مائلات (Slants) من وسط Malt Extract Agar بعد اضافة ٥ مللتر من محلول الملح الفسلجي (٨٥, ٠ % كلوريد الصوديوم) الحاوي على ١, ٠ % توين ٨٠ (Suhr واخرون ، ٢٠٠٢) ورجها لمدة دقيقة ، ثم استعمل (١) مللتر من العالق لتلقيح ١٠٠ مللتر من الوسط (تحت الاختبار) الموضوع في دوارق سعة (٢٥٠) مللتر . حضنت الدوارق بدرجة حرارة ٢٨ ± ٢ °م اما راكدة (Static) او باستعمال الحاضنة المهزوزة بسرعة (١٢٠ دورة / دقيقة) وبعد انتهاء مدة الحضن (٤٨ ساعة وفقا لتجارب اولية) ، فصلت كتلة الاعفان وغسلت بالماء المقطر وجففت بدرجة حرارة ٨٠°م لمدة ٢٤ ساعة .

٧. زراعة الخمائر : لقحت الاوساط السائلة بالخميرة النامية في مزارع سائلة لمدة ٤٨ ساعة وأضيف اللقاح بنسبة ٥, ٠ مللتر /١٠٠ مللتر من الوسط الغذائي وحضنت في حاضنات مهزوزة او راكدة لمدة ٤٨ ساعة بدرجة حرارة ملائمة ، وتم تقدير العد العيوشي Viable count وفق الطرق المتبعة من قبل Harrigan و McCance (١٩٧٦) .

تم اجراء التجارب لثلاث مرات وبواقع ثلاث مكررات للمعاملة الواحدة .

التحليل الإحصائي : تم التحليل باستخدام التصميم العشوائي الكامل CRD لتجربة عاملية ذات عاملين ، واستخدام تحليل التباين باستخدام الحاسوب عن طريق برنامج التحليل الاحصائي SAS (SAS 1996) ، كما تم اختبار معنوية الفروق بين المتوسطات وعلى مستوى ٠٥, ٠) باستخدام اختبار دانكن متعدد الحدود (Duncan ، ١٩٥٥) .

النتائج والمناقشة

أوضحت نتائج تحليل خلاصة الكلوتين وماء النقع المعاملة لاستعمالها في الأوساط الغذائية الى احتوائها على كميات متفاوتة من النتروجين والكاربوهيدرات والعناصر. والجدول (١) يوضح محتوى كل من خلاصة الكلوتين G ، وماء النقع S من البروتين ونتروجين الحوامض الامينية ومختلف العناصر مقارنة بالببتون الفطري Mycological peptone لشركة Oxoid .

الجدول (١) : تحليل مكونات خلاصة الكلوتين G المعامل ، وماء نقع الذرة S مقارنة بـ Oxoid Mycological Peptone

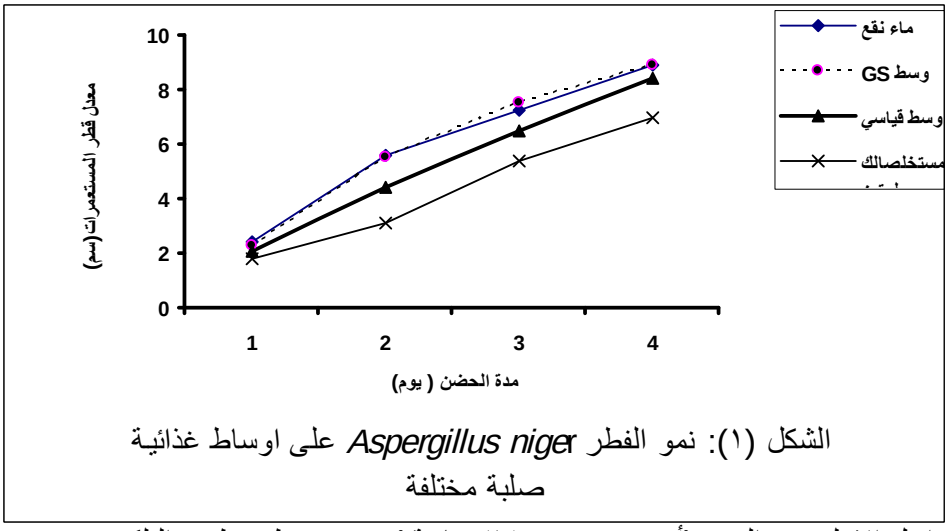
المحتويات(%)	ببتون * Oxiod	خلاصة الكلوتين (G)	ماء النقع S
البروتين	٨٥	٤٢	٨ ٧٥
نتروجين الحوامض الامينية	٤ ٣	٠ ٦٧	٩ ١٨
كاربوهيدرات كلية	صفر	صفر	٨ ٧٥
سكريات مختزلة	صفر	صفر	٠ ٦٤
العناصر (ppm)			
Fe	٢١٠	٠ ٢٤	١ ٩٣
Mn	٠ ٢	٠ ٤٩	٠ ١٢
Na	٥٨٠٠	٣١ ٦٥	٣٥ ٦٦
K	١١٧٠٠	١١ ١٢	٧ ٧٠٠
Mg	١٢٣٠	٣ ٣١	٨ ٣٩٣
Ca	٢٣٠٠	٥ ١٢٢	١ ٢٢٢
Cu	١٣	٠ ٤٤	٠ ٢٦
Zn	٧٠	٠ ١	٠ ٢٨
Cl^-	-	١١٩	١٥٥
$SO_4^=$	-	١١٠	٢٩٠

* مصدر Bridson و Breker (١٩٧٣) و Bridson (١٩٩٥) .
لم يتم تقدير

ويتضح ان اغلب العناصر الضرورية لنمو الفطريات موجودة في مستخلص النواتج العرضية (Pitt و Hocking ، ١٩٩٧ و Gurbatl ، ١٩٩٧) . الا ان خلاصة الكلوتين تتصف بقلة النتروجين وذلك لان الكلوتين بروتين غير ذائب وان الخلاصة الناتجة تحوي على ٠ غم من البروتين الذائب لكل ٦ غم من الكلوتين الخام . ولم تفلح العديد من المحاولات لإذابته مثل استعمال المحاليل الكيمائية او المعاملات الحرارية وقد ادى بعضها الى زيادة النسب الذائبة الا ان النماذج كانت بشكل غروي ومعتم ولا يصلح لتحضير الأوساط الغذائية للأحياء المجهرية التي تحتاج الى الشفافية خاصة الأوساط السائلة ، كما ان الكلوتين اتصف بانخفاض محتوياته من الكاربوهيدرات وقلة العناصر مقارنة بالببتون الفطري لشركة Oxoid وكذلك مقارنة بماء النقع .

وتوضح الاشكال (١ و ٢ و ٣) نمو الفطؤيات *Asp . niger* و *Asp . flavus* و *Penicillium* spp على الاوساط الصلبة (بقياس اقطار المستعمرات) على التوالي . وتشير نتائج التحليل الإحصائي الى اختلاف الاوساط ، فبالنسبة للفطر *Asp . niger* (الشكل ١)

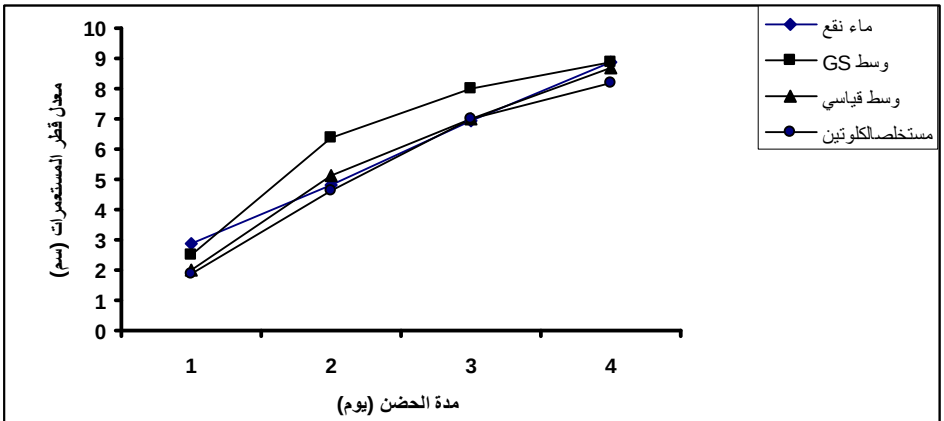
كان وسط GS هو الافضل واختلف معنويا عن باقي الاوساط على مستوى احتمال ($P<0.05$) تلا وسط ماء النقع S ثم الوسط القياسي (وسط السابرويد Oxoid) ، وسجل اقل نمو على وسط خلاصة الكلوتين G وباختلاف معنوي عن باقي الاوساط في المراحل النهائية وبعد اكتمال النمو بعد ٤ ايام) . اما



الشكل (١): نمو الفطر *Aspergillus niger* على اوساط غذائية صلبة مختلفة

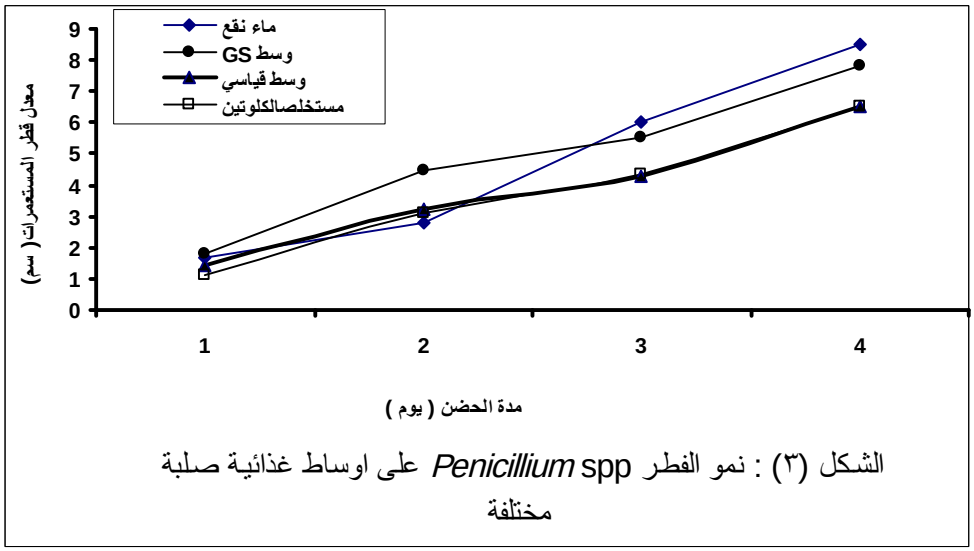
المراحل الاولى من النمو (أي بعد مرور ٢٤ ساعة) وبعد تخطي طور التلكؤ Lag phase والذي يستمر الى ان يزداد قطر المستعمرات عن ٢ ملمتر (Suhr واخرون ، ٢٠٠٢) ، فقد اظهر كل من وسط النقع والوسط الخليط GS تفوقا على الوسط القياسي ووسط الكلوتين ايضا .

اما بالنسبة للفطر *Asp . flavus* (الشكل ٢) فكانت المراحل الاولى للنمو متساوية بالنسبة للاوساط المستعملة ودون فروق معنوية ($P<0.05$) ، اما بعد اكتمال النمو (أي بعد ٤ ايام) فكانت الاوساط GS وماء النقع S هي الأفضل وبدون فروق معنوية واختلفت عن الوسط القياسي ووسط الكلوتين بفروق معنوية .



الشكل (٢) : نمو الفطر *Aspergillus flavus* على اوساط غذائية صلبة مختلفة

اما نمو الفطر *Penicilium* spp الذي يعد أبطؤها من الفطرين اعلا فموضح في الشكل (٣)



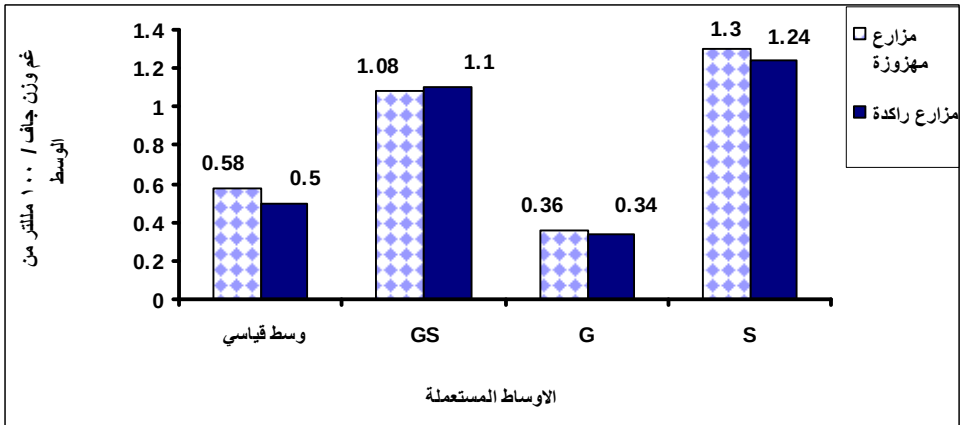
الشكل (٣) : نمو الفطر *Penicillium* spp على اوساط غذائية صلبة مختلفة

وتشير النتائج الى تفوق الوسط GS يليه وسط النقيع S وبدون فروق معنوية ، اما النمو على الوسط القياسي ووسط خلاصة الكلوتين فكانت اقل من الاوساط GS و S ولكنها لم تختلف في المعنوية فيما بينها على مستوى احتمال ($P<0.05$) . وبصورة عامة فان السلالات المستعملة في الدراسة هي سلالات سريعة النمو اذ امتلاء الطبق لبعضها في مدة ٤ ايام في حين ان بعض انواع *Penicillium* مثل *Pen . caseifulvum* تصل اقطار مستعمراته الى ٤ ـ٣ ٤ سم بعد مرور ١٤ يوم (Suhr واخرون ، ٢٠٠٢) .

ومن ملاحظة الصفات المظهرية للنمو الفطري فقد كانت الفطريات النامية على وسط الكلوتين مكونة لكميات كبيرة من الكونيديا او الابواغ الملونة ، وهذا متوقع اذ ان خلاصة الكلوتين فقيرة بالمواد الغذائية (جدول ١) وهذ تحث تكوين الابواغ سواء في الاعفان او الابواغ الجنسية في الخمائر ، اذ يؤدي إجهاد المجاعة Starvation stress الى حث الجينات المبكرة التي تكون ضرورية لدخول الخلايا للانقسام الاختزالي (Neiman ، ٢٠٠٥) . وتتأثر عمليات تخليق الكونيديا في الفطريات بعوامل تختلف عن تلك المؤثرة في النمو ، لذلك يتأثر تكوين الابواغ وكذلك الصبغات كمواد ايض ثانوي عندما تصبح الأوساط غير مدعمة للنمو الخضري كما هو الحال في قلة المواد الغذائية او زيادة الاملاح او عدم ملائمة الأس الهيدروجيني (Suhr واخرون ، ٢٠٠٢) .

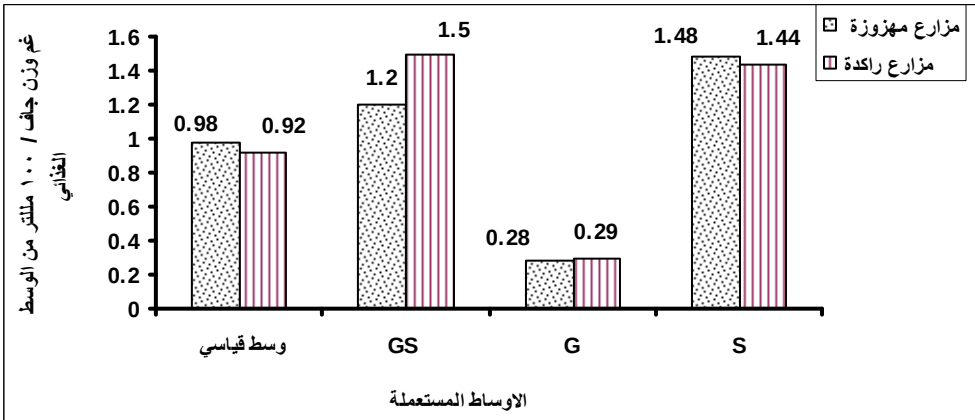
ويوضح الشكل (٤) نتائج تخليق الكتلة الحيوية للفطر *Asp . niger* النامي في اوساط سائلة تحت ظروف المزارع الراكدة والمهزوزة

ولم تختلف ظروف الحضن الساكنة عن المهزوزة بشكل معنوي ، وتفوق وسط ماء النقع على باقي الاوساط تلا وسط GS ثم الوسط القياسي ثم وسط الكلوتين وبفروق معنوية .

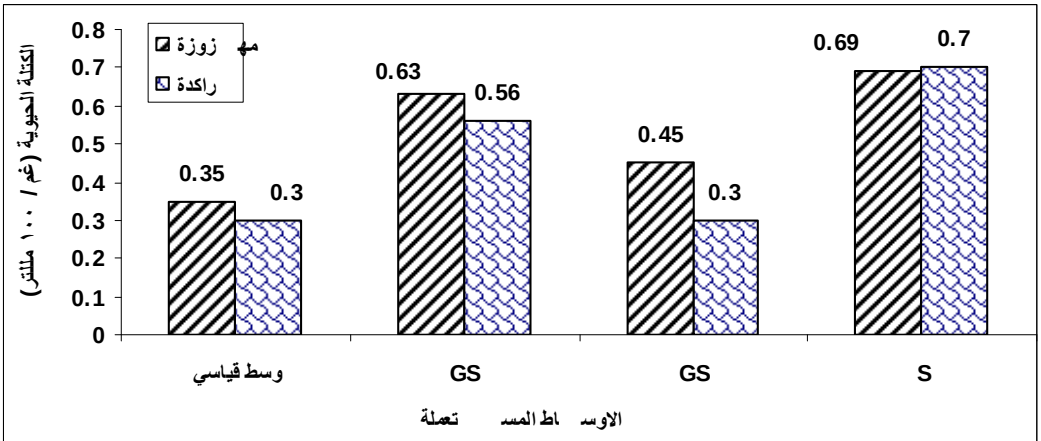


الشكل (٤) : الكتلة الحيوية للفطر *Aspergillus niger* النامي في اوساط غذائية مختلفة تحت ظروف المزارع المهزوزة والمزارع الراكدة

ونمو الفطر *Asp . flavus* وتقدير كتلته الحيوية في الاوساط السائلة موضح في الشكل (٥)
وتوضح النتائج تفوق وسط ماء النقع على باقي الاوساط ويليه الوسط GS ثم الوسط القياسي واخيرا وسط الكلوتين وكانت الفروق معنوية فيما بينها ، اما ظروف التنمية فقد تفوقت المزارع المهزوزة على المزارع الراكدة وبفرق معنوي ($P<0.05$) .
ونمو الفطر *Penicillium* spp موضح في الشكل (٦)
وقد اختلفت ظروف التنمية في المزارع المهزوزة عن المزارع الراكدة بشكل معنوي ($P<0.05$) وكان افضل الاوساط هو وسط ماء النقع ، ثم وسط GS وكانت الفروق معنوية بينهما ، ثم الوسط القياسي ووسط الكلوتين ولم تكن الفروق معنوية بين الاوساط الاخيرة وان كان وسط الكلوتين افضل من الوسط القياسي .
وقد لوحظ ان للمزارع المهزوزة تأثير كبير في نوعية المستعمرات الكروية المتكونة (Pellets) التي أنتجتها الفطريات فقد كانت صغيرة في حالة وسط الكلوتين مقارنة بتلك المتكونة في الاوساط الحاوية على السكريات مثل ماء النقع والوسط القياسي (الحاوي على ٤ % كلوكوز)يمكن ان تؤخذ هذ الملاحظات في عمليات التصنيع الخاصة باستعمال الفطريات (Anke ، ١٩٩٧) ، اذ ان بعض العمليات الإنتاجية تحتاج الى مستعمرات بشكل كرات صغيرة كما في إنتاج حامض ألستريك من بعض سلالات الفطر *Asp . niger*

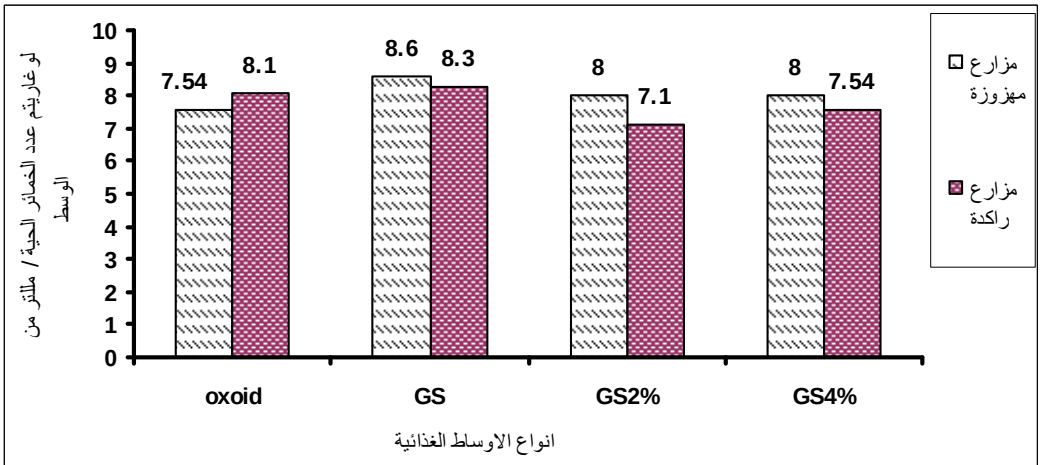


الشكل (٥) : الكتلة الحيوية للفطر ***Aspergillus flavus*** النامي في اوساط غذائية مختلفة تحت ظروف المزارع المهزوزة والراكدة



الشكل (٦) : الكتلة احيوية للفطر *Penicillium* spp النامي في مزارع سائلة مختلفة تحت ظروف المزارع الراكدة والمهزوزة :

ويوضح الشكل (٧) نمو الخميرة *S . boulardii* في الاوساط السائلة وهي وسط GS ووسط GS المضاف اليه ٢ % كلوكوز (GS2%) والاخر المضاف اليه ٤ % (GS4%)

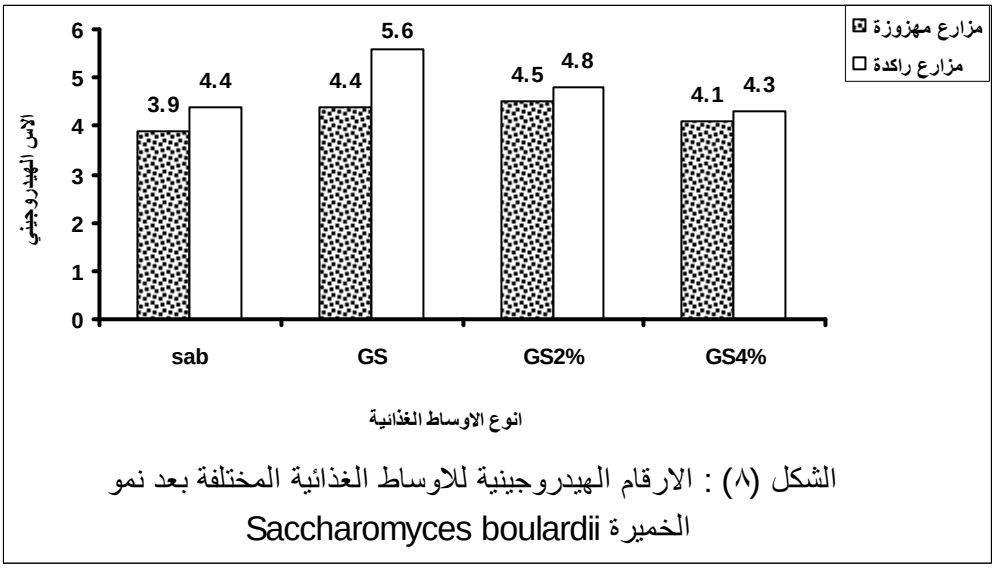


الشكل (٧) : نمو الخميرة *Sacchromyces boulardii* في اوساط غذائية مختلفة تحت ظروف المزارع المهزوزة والمزارع الراكدة .

وتشير نتائج التحليل الإحصائي الى أفضلية المزارع المهزوزة على المزارع الراكدة وبفروق معنوية ($P<0.05$) ، اما فيما يخص الاوساط فكان أفضلها وسط GS بدون اضافات ، والأوساط الباقية لم تفرق عن بعضها بشكل معنوي . والشكل (٨) يوضح قيم الاس الهيدروجيني بعد النمو لمدة ٤٨ ساعة .

وكانت قيم الاس الهيدروجيني الأعلى في وسط GS وأكثرها انخفاضا في الوسط القياسي الذي يكون عند التحضير ٥ وينخفض في المزارع المهزوزة الى ٣ وفي الراكدة الى ٤ ، في حين تكون القيم في وسط GS عند البداية (٦ ± ٠) وتنخفض الى ٤ في المزارع المهزوزة و ٥ في المزارع الراكدة .

والملاحظ ان النمو قد انحسر وسجل افل القيم عند زيادة السكر ، اذ انخفض لوغاريتم الأعداد عن الوسط القياسي (٨) ووسط GS بدون اضافات (٨) الى ٧ في وسط (GS2%) و ٧ في وسط GS4% في المزارع الراكدة ، ومثل هذا النقصان يمثل دورة لوغارتمية او اكثر ويعد مؤشرا واضحا للتأثير السلبي ، وهذا يعود الى ان اضافة السكر اكثر من الحد الطبيعي يؤدي الى زيادة الضغط التنافذي وتعريض الخلايا الى إجهاد التنافذ Osmotic stress (Grervais واخرون ، ١٩٨٨و Walker ، ١٩٩٩) يؤدي بدور الى الجفاف او تقويض تدرج الايونات عبر الاغشية الخلوية وبالتالي التأثير على عيوشية الخلايا (Viability) ، ومن الواضح ان حصيلة التاثير (أي التاثير على عيوشية الخلايا) يكون ناتجا من عدة تأثيرات منها اضطراب السيطرة على نقل المواد عبر الاغشية الخلوية ، وكذلك اضطراب السيطرة على تنظيم الفعاليات الحيوية والتأثير على دورة الخلية (Cell cycle) لان الخمائر من الأحياء حقيقية النواة وكذلك التاثير على الهيكل الخلوي (Cytoskeleton) (Hohmann ، ٢٠٠٢) . وتستطيع خلايا الخميرة التحسس بزيادة الضغط التنافذي بواسطة عدد من البروتينات الموجودة على سطح الخلايا وهي المتحسسات التنافذية Osmosensors (Toone و Jones ، ١٩٩٨) وتعالجه بتخليق الكليسرول وتفعيل دور الفجوات الخلوية للتطبع لزيادة الضغط التنافذي وكذلك تفعيل مسار سلامة الخلية Cell integrity pathway ومسارات اخرى مساعدة لذلك يقل نموها (Walker ، ١٩٩٩ و Hohmann ، ٢٠٠٢) .



الشكل (٨) : الارقام الهيدروجينية للاوساط الغذائية المختلفة بعد نمو الخميرة Saccharomyces boulardii

اما الاختلافات بين المزارع الراكدة والمهزوزة فذلك يعود الى طبيعية النمو ، اذ تزداد التهوية في حالة المزارع المهزوزة وانعدام البيئات الموضعية مما يساعد الخلايا في مواجهة ارتفاع الضغط التنافذي .

وتؤثر مكونات الوسط الغذائي في نوعية المتأيضات الناتجة وفسلجة الكائنات ، فمثلا قلة المواد الغذائية او زيادة الاملاح تؤدي الى خفض معدلات نمو الفطريات وإطالة طور التلكؤ (Suhr ، ٢٠٠٢).

كما ان الاوساط الغذائية تؤثر في نوعية وانتاج مواد الايض الثانوي التي تعد الحجر الأساس في عمليات الإنتاج الحيوي للعديد من المواد المفيدة (Anke ، ١٩٩٧) ، ولذلك يمكن التلاعب بالاوساط الغذائية وتغيرها وفق العملية الإنتاجية .

وتشير عموم النتائج التي تم الحصول عليها من الدراسة الحالية الى صلاحية النواتج العرضية خاصة ماء النقع لتنمية الفطريات بعد تهيئتها لمثل هذ الاستعمالات .

USAGE OF CORN STARCH INDUSTRY BY – PRODUCTS FOR PREPARATION OF MEDIA FOR PROPAGATION OF SOME FUNGI

Zahra M.Al-Khafaji[*]
Thuria K.Ibrahim[**] Maha T.Al-Qadi[**] Reem F.Abdul-Hameed[**]
* Institute of Genetic Engineering & Biotechnology For Postgraduate Studies/ Univ. of Baghdad
Present address : Dept . of Food Science , Cllege of Agriculture , Univ. of Mosul , IRAQ
** Al-Rabee Center For Agricultural and Food Research /Ministry of Industry

ABSTRACT

The by – products of corn starch industry were used for preparation of media to propagate some fungi , and these were corn steep water (S) and gluten after extraction of soluble fraction (G) . These by – products were used after suitable treatments , and used to prepare mixed medium (GS) . The by – products contain most of the essential requirements for fungal growth . They have been used to cultivate *Aspergillus niger* , *Asp. flavus* , *Penicillium* spp and the yeast *Saccharomyces boulardii* . The growth was recorded by measuring the colony diameter for moulds grown on solid media and biomass for liquid media . For yeast the viable count was determined , all these measurements were run in comparison to Sabouraud media (Oxoid) as a standard medium .The results indicated that the GS solid medium was superior to support the fungal growth , followed by (S) medium . then the standard medium , and

finally the gluten medium with significant statistical differences (P<0.05) for the three moulds . Growth in liquid media (Biomass) showed that steep water medium (S) was the best to support the growth. Shaked cultures gave higher biomass and differ from static cultures significantly (P<0.05) . Growth of *S . boulardii* in liquid media was better in shaked cultures than static cultures with significant differences (P<0.05) for different media .

المصادر

Anke ,T.(1997) . Fungal Biotechnology. Chapman and Hall: London , Glassgow.

Bridson , E.X. (1995) . Oxoid Manual . 7th ed. Unipath Ltd. UK.

Bridson , E .X. and A. Breker (1973) . Design and formulation of microbial culture media . Methods in Microbiology. *3A:* 229-295.

Bruce , A . and J.W . Palfreyman (1998) . Forest Products Biotechnology .Taylor and Francis : London.

Castagliolo , I . ; M . Riegler ; L . Valenick ; J . LaMont and C . Pothoulaskis (1999) . Saccharomyces boulardii protease inhibits the effect of *Clostridium difficile* toxin A and B in human colonic mucosa . Infect . Immun . 67 : 302 – 307 .

Duncan , D. (1955) . Multiple range and multiple F- test . Biometric 11 : 1- 42 .

Gervais , P . ; P . Molin ; W . Grajek and M . Bensoussan (1988) . Influence of the water activity of a solid substrate on the growth rate and sporogenesis of filamentous fungi . Biotechnol . Bioeng . 31 : 457 – 463 .

Gurbatl, J. (1997) . Essentials of Food Microbiology. 1sted. Arnold: London, Sydney.

Harrigan ,W.F . and M.E. McCance (1976). Laboratory Methods in Microbiology. Academic Press: London, New York.

Haskard, C.A., C. Binnion ; J.T. Aholxas (1999) . Factors affecting the sequestration of a common food carcinogen (aflatoxin B1) by probiotic bacteria. 6th Symposium on Lactic Acid Bacteria. J16.

Hedayati , M ; S . Mayahi ; R . Aghil and K . Goharimoghadam (2005) . Airborne fungi indoor and outdoor of asthmatic patient's home , living in the city of Sari . J . Allergy Asthma Immunol . 4 : 189 – 191 .

Hedayati , M ; A. Pasqualotto ; P . Warm ; P . Bowyer and D . Denning (2007) . *Aspergillus flavus* : human pathogen and mycotoxin producer . Microbiology . 153 : 1677 – 1692 .

Hohmann , S . (2002) . Osmotic stress signaling and osmoadaptation in yeasts . Microbiol . Mol . Biol. Rev . 66 : 300 – 372 .

Martin , T . ; J . Kerschner , ; V . Flanary (2005) . Fungal causes of otitis externa and tympanostomy tube otorrhea . Int . J . Pediatr . Oterhinolaryngol . 69 : 11503 - 11508 .

Meloan, C. and Y. Pomeranz (1973) .Food Analysis Laboratory Experiments. The AVI Publishing Inc.: Westport, Connecticut. USA.

Neiman , A . (2005) . Ascospore formation in the yeast *Saccharomyces cerevisiae* . Microbiol . Mol . Biol. Rev . 69 : 565 - 584 .

Okumura , Y . ; Y .Ogawa and T . Nikai (2004) . Elastase and elastase inhibitor from *Aspergillus fumigatus* , *Aspergillus flavus* and *Aspergillus niger* . J . Med . Microbiol . 53 : 351 – 354 .

Osguthorpe , J and D . Nielsen (2006) . Otitis externa : Review and clinical update . Am . Fam . Physician 74 : 1510 – 1516 .

Pasqualotto , A . and D . Denning (20060 . Post – operative aspergillosis . Clin . Microbiol . Infect . 12 : 1060 – 1076 .

Pitt , J.I. and A.D. Hocking (1997) .Fungi and Food Spoilage. 2nded . Blackie Academic and Professional: London, Weinheim.

Reeslev , M . and A . Kioller (1995) . Comparison of biomass dry weights and radial growth rates of fungal colonies on media solidified with different gelling compounds . Appl . Environ . Microbiol . 61 : 4236 – 4239 .

Saravanan , K . ; N . Panda ; A . Chakrabarti ; A . Das and R . Bapuraj (2006) . Allergic fungal rhinosinusitis an attempt to resolve the diagnostic dilemma . Arch . Otolarynol . Head Neck Surg . 132 : 173 – 178 .

Suhr , K . ; I . Haasum ; L . Steenstrup and T . Larsen (2002) . Factors affecting growth and pigmentation of *Penicillium caseifulvum* . J . Dairy Sci . 85 : 2789 – 2794 .

Talaro , K . and A. Talaro (1996) . Microbiology. 2nded wmc. Brown Publishers: Bogota, Boston.

Toone , W . and N . Jones (1998) . Stress –activated signaling pathway in yeasts . Genes Cells . 3 : 485 – 498 .

Vonberg , R . and P . Gastmeier (2006) . Nosocomial aspergillosis in outbreak settings . J . Hosp . Infect . 63 : 246 – 254 .

Walker, G. M .(1999) .Yeast Physiology and Biotechnology. John Wiley and Sons. Chichester, New York.

Yoon,Y.H. and Y.J. Baek (1999) . Alfatoxin B_2 binding activity and antimutagenicity of *Bifidobcterium bifidum* HY strain of human origin. 5th Symposium on Lactic Acid Bacteria. J 52 .

Yu , J . ; T . Cheveland ;W . Nierman and Bennet (2005) . *Aspergillus flavus* genomics : gateway to human and animal health , food safety and crop resistance to diseases . Rev . Iberoam Micol . 22 : 194 – 202 .