تأثير بعض عوامل النمو في إنتاج حامض الجبرليك بوساطة عزلة محلية للعفن *Fusarium moniliforme*

يونس علي يونس المشهداني نهان بهاء الدين جعفر البياتي
قسم علوم الأغذية والتقانات الإحيائية / كلية الزراعة والغابات / جامعة الموصل

الخلاصة

تم دراسة تأثير بعض عوامل النمو في إنتاج حامض الجبرليك بوساطة عزلة محلية للعفن *Fusarium moniliforme* حيث أظهرت الدراسة أن إضافة بعض المواد وبشكل انفرادي وبتراكيز مختلفة إلى الوسط الغذائي كان لها تأثيراً ايجابياً في تعزيز إنتاج حامض الجبرليك حيث أعطى منقوع شراب الذرة عند تركيز ٠.٢٥ غم/لتر كمية حامض بلغت ٩٢.٣١ ملغم/لتر بينما أعطت كبريات البوتاسيوم عند تركيز ٠.٢٠ غم/لتر ٩١.٩٥ ملغم/لتر وأعطت فوسفات البوتاسيوم ثنائي الهيدروجين عند تركيز ٠.٥ غم/لتر ٩٣.٤٨ ملغم/لتر وأعطى مستخلص الخميرة عند تركيز ١.٥ غم/لتر كمية حامض قدرها ٩٣.١٥ ملغم/لتر. وبلغ الأس الهيدروجيني الأولي المثالي لإنتاج حامض الجبرليك ٥.٥ وكانت أفضل درجة حرارة تحضين ٣٠° م لإنتاج حامض الجبرليك وقد استخدمت تقنية المطياف الضوئي للتقدير الكمي للحامض في العينات وعند طول موجي ٣٥٤ نانوميتر.

المقدمة

تعد الفطريات من الكائنات الحية التي تتميز بمدى واسع من نواتج الأيض الثانوي وأن العديد من هذه النواتج لها أهمية طبية وغذائية وزراعية ومن هذه المنتجات الجبرلينات (الجادر، ٢٠٠٥). إذ تعد الجبرلينات مجموعة مهمة من هرمونات النمو النباتية تم اكتشافها لأول مرة أثناء دراسة مرض يصيب الرز وتم عزل ٦٦ نوع من الجبرلينات من النبات و ٢٥ نوع من الفطريات (Moore، ١٩٨٩). والجبرلينات إحدى المجاميع الكبيرة من الهرمونات المشجعة على النمو وتؤدي دوراً أساسياً في تنظيم النمو وتحسين النباتات والجبرلينات عبارة عن أحماض كربوكسيلية ثنائية التربين رباعية الحلقة وتتكون الوحدة البنائية للجبرلين من خمسة ذرات كربون تسمى ايزوبرينات (وصفي، ١٩٩٥).

وعرف الكائن المجهري الذي ينتج حامض الجبرليك بالعفن*Fusarium moniliforme* وهذا العفن يكون مصاحباً للأجواء الحارة وشبه الحارة تشجع هذه الظروف على نموه وبشكل جيد في حقول الرز والذرة وفستق الحقل كما له القدرة على العيش في أوساط طبيعية وصناعية مختلفة (Carter وآخرون، ٢٠٠٠ و Desjardins وآخرون، ٢٠٠٠) ويتميز العفن *F. moniliforme* بقدرته على إعطاء أكبر كمية من حامض الجبرليك وعلى أوساط غذائية مختلفة إذ أن للاحتياجات الغذائية تأثير كبير على العفن في إنتاج حامض الجبرليك (Bulock وآخرون، ١٩٧٤).

تحتاج الخلايا الحية لغرض النمو إلى وجود بعض عوامل النمو وهذه توجد عادة في المواد الخام والتي تستخدم بوصفها مصادر للكربون والنتروجين إلا أنه توجد في بعض الأحيان ضرورة لإضافة مصدر خاص لعوامل النمو مثل مستخلص الخميرة (الحيدري والمصلح، ١٩٨٩) وقد استخدم مستخلص الخميرة في الأوساط الغذائية المستخدمة لإنتاج حامض الجبرليك بتركيز ٠.١٪ كما أن إضافته إلى الوسط حدد قيمة الأس الهيدروجيني الأمثل لبناء حامض الجبرليك (Darken وآخرون، ١٩٥٩) واستخدم كل من Maddox و Richert (١٩٧٧) و Qian وآخرون (١٩٩٤) مستخلص الخميرة بتركيز ١.٥ غم/لتر لإنتاج حامض الجبرليك. إن إضافة الفسفور إلى الوسط الغذائي يؤدي إلى زيادة النمو وإن التراكيز العالية من الفسفور تكون مثبطة للعديد من المواد الأيضية (دنحا والخزرجي، ١٩٩٠) واستخدم Gelmi وآخرون (٢٠٠٢) فوسفات البوتاسيوم ثنائية الهيدروجين بتركيز ٠.٢ غم/لتر في إنتاج حامض الجبرليك ويؤدي البوتاسيوم دوراً مهماً في نمو الأحياء المجهرية حيث يدخل مرافقاً لبعض الأنزيمات إذ يعمل على تحفيز النمو وتحتاج الخلية إلى أيون البوتاسيوم في تخليق الكربوهيدرات وفي مراحل النقل (Dunn، ١٩٨٥). ويضاف الكبريت إلى الوسط الغذائي على شكل كبريتات المغنيسيوم اللامائية حيث يدخل في تركيب بعض الأحماض الأمينية (Gelmi وآخرون، ٢٠٠٢).

هدفت هذه الدراسة إلى معرفة تأثير بعض المركبات وبعض العوامل الفيزيائية على إنتاج حامض الجبرليك بوساطة العفن *F. moniliforme* .

مستل من رسالة ماجستير للباحث الثاني
تاريخ تسلم البحث ٢٣ / ١٠ / ٢٠٠٧ وقبوله ٢٠٠٧/١٢/١٤

مواد البحث وطرائقه

الكائن المجهري: استخدم العفن *F. moniliforme* المعزول من أوراق نبات الذرة وجذوره، حفظت عزلة العفن بعد تنميتها على وسط آكار البطاطا والدكستروز، كما ورد في Harrigan و MacCance (١٩٧٦).

تم الحصول على السلالة المحلية للعفن من نبات الذرة إذ جمعت أوراق وجذور ذرة مصابة ثم قطع كل منها إلى قطع صغيرة ١/٢ سم ووضعت القطع داخل شاش طبي نظيف داخل بيكر يحتوي على ماء معقم لمدة ١/٢ ساعة ثم غمست القطع المغسولة في محلول قاصر ٢:١ ولمدة دقيقتين وزرعت في أطباق بتري معقمة حاوية على وسط PDA ووضع في كل طبق أربعة قطع وحضنت الأطباق على درجة ٢٨±١° م لمدة ٥–٧ أيام حيث ظهرت مستعمرات العفن *F. moniliforme* بلون وردي مائل إلى البنفسجي ثم تم تنقيتها بإعادة زراعتها ثانية لحين الحصول على مستعمرات نقية من العفن. وتم تشخيص العفن حسب ما ذكر في Barnett و Hunter (١٩٧٢).

وسط إنتاج حامض الجبرليك: استخدم هذا الوسط في تحضير اللقاح وإنتاج حامض الجبرليك حسب ما ورد في Sanchez-Marroquin (١٩٦٣).

منقوع شراب الذرة: حضر هذا الشراب حسب ما ورد في Casida (١٩٦٨).

عزل وتنقية حامض الجبرليك: تم استخلاص حامض الجبرليك وتقديره حسب ما ورد في Rachev (١٩٩٣) إذ أخذ ١٠ مل من رائق المزرعة الخالي من خلايا العفن بعد ترشيحه بوساطة ورق ترشيح واتمان رقم (١) وتم تحميض الراشح إلى أس هيدروجيني ٣.٠–٣.٥ بوساطة حامض الهيدروكلوريك ١٨٪ (وزن/حجم) واستخلص مرتين مع كميات متساوية من خلات الاثيل وركزت الطبقات العضوية المندمجة إلى ١/٣ من الحجم الأصلي بوساطة تفريغ تحت ضغط مخلخل وعلى درجة ٣٥° م وأعيد الاستخلاص بـ ١ ع من محلول هيدروكسيد الأمونيوم كما أعيد التحميض بـ HCl (pH = ٢–٢.٥) واستخلص ثانية بخلات الاثيل بإضافة الكمية نفسها ثم جفف الطور العضوي باستخدام كبريتات الصوديوم اللامائية وركز إلى ١/٤ من الحجم البدائي وتم التقدير الكمي لحامض الجبرليك باستخدام جهاز المطياف الضوئي طراز Shimadzu–UV–160A U.V وعلى طول موجي ٢٥٤ نانوميتر وتم حساب تراكيز حامض الجبرليك في العينات الاعتماد على المنحنى القياسي باستخدام حامض الجبرليك النقي. إذ تم تحضير المنحنى القياسي بعمل تراكيز مختلفة من حامض الجبرليك (١٠–١٠٠ ملغم/مل) وتم تطبيق الطريقة هذه للحصول على قيم الكثافة الضوئية للتراكيز المختلفة من حامض الجبرليك (Unyayar وآخرون، ١٩٩٦).

تقدير السكر المتبقي: قدر السكر المتبقي حسب ما ورد في Dubios وآخرون (١٩٥٦).

الكتلة الحيوية: تم تقدير الكتلة الحيوية حسب ما ورد في AOAC (١٩٨٠).

التحليل الإحصائي: تم تحليل البيانات وفق نظام التجارب العاملية والبسيطة باستخدام التصميم العشوائي الكامل (CRD) وتمت المقارنة بين المتوسطات وفق اختبار دنكن المتعدد المدى (١٩٥٥) وتم تحليل البيانات باستخدام نظام SAS (٢٠٠١) حيث ميزت المعاملات المختلفة فيما بينها بأحرف مختلفة.

النتائج والمناقشة

تأثير تراكيز مختلفة من منقوع شراب الذرة في إنتاج حامض الجبرليك: درس تأثير تراكيز مختلفة من منقوع شراب الذرة (٢.٥ و ٥.٠ و ١٠.٠ و ١٥.٠ و ٢٠.٠ و ٢٥.٠ و ٣٠.٠ غم/لتر) في نمو العفن *F.moniliforme* حيث أضيفت إلى وسط الإنتاج يبين الجدول (١) حدوث زيادة في إنتاج حامض الجبرليك والكتلة الحيوية بزيادة التركيز إذ أعطى تركيز ٢٥ غم/لتر أعلى كمية من الحامض والكتلة الحيوية إذ بلغتا ٩٢.٣١ ملغم/لتر و ٣.٣١ غم/لتر على التوالي. وعند زيادة التركيز عن ٢٠ غم/لتر حصل ارتفاع غير معنوي في كمية الحامض أما فيما يتعلق بالكتلة الحيوية فكانت الزيادة غير معنوية في تلك القيم والسبب يعود إلى ان منقوع شراب الذرة يعد مصدراً للكربون ومصدر للنتروجين وكذلك بعض العناصر الأخرى وهذه النتيجة مطابقة لما حصل عليه كل من Darken وآخرون (١٩٥٩) و Sanchez-Marroquin (١٩٦٣) أما معدل استهلاك السكر فكان انعكاساً لإنتاج الحامض ونمو العفن إذ بلغت كمية السكر المتبقي عند نفس التركيز السابق ١.٨٠ غم/لتر. ويلاحظ أيضاً من الجدول ان هناك انخفاضاً في الأس الهيدروجيني لجميع التراكيز المستخدمة إذ بلغ ٤.٧٩ عند تركيز ٢٥ غم/لتر.

الجدول (١): تأثير تركيز منقوع شراب الذرة في إنتاج الكتلة الحيوية وحامض الجبرليك بعد (٩) أيام من التحضين ودرجة حرارة تحضين ٢٨° م.

تركيز منقوع شراب الذرة غم/لتر	الكتلة الحيوية غم/لتر	حامض الجبرليك GA_3 ملغم/لتر	السكر المتبقي غم/لتر	الأس الهيدروجيني النهائي
٢.٥	٢.٥٢ ± ٠.٠٤٩ و	٦٤.٧٨ ± ١.٧٦٧ هـ	٢.٩٢ ± ٠.٠٤٢ أ	٥.٢١ ± ٠.٠١٤ أ
٥.٠	٢.٧٢ ± ٠.٠٢٨ هـ	٧٨.٨٠ ± ١.٨٣٨ د	٢.٣٧ ± ٠.٠٤٢ ب	٥.١٧ ± ٠.٠٢٨ أ
١٠.٠	٢.٨٨ ± ٠.٠٢٨ د	٨١.٤٥ ± ٢.٤٠٤ ج د	٢.١٢ ± ٠.٠٤٢ ج	٥.١٠ ± ٠.٠٢٨ ب
١٥.٠	٢.٩٨ ± ٠.٠٤٢ ج	٨٦.٥٦ ± ٢.١٩٩ ب ج	٢.٠١ ± ٠.٠٣٥ د	٤.٨١ ± ٠.٠٢١ د
٢٠.٠	٣.١٢ ± ٠.٠٤٢ ب	٩١.٣٣ ± ٢.٥١٠ أ ب	١.٩٥ ± ٠.٠٤٢ د	٤.٨٤ ± ٠.٠٢١ د
٢٥.٠	٣.٣١ ± ٠.٠١٤ أ	٩٢.٣١ ± ٣.١٠٤ أ	١.٨٠ ± ٠.٠٢٨ هـ	٤.٧٩ ± ٠.٠٢١ د
٣٠.٠	٣.٣٢ ± ٠.٠٤٩ أ	٨٨.٩٨ ± ١.٧٣٢ أ ب	١.٧٤ ± ٠.٠٤٢ هـ	٤.٩٢ ± ٠.٠١٤ ج

الأرقام تمثل معدل مكررين ± الخطأ القياسي

الأحرف المتشابهة في العمود الواحد لاتختلف معنويا حسب اختبار دنكن متعدد المدى عند مستوى احتمال ٠.٠٥ .

تأثير تراكيز مختلفة من كبريتات البوتاسيوم في إنتاج حامض الجبرليك: درس تأثير إضافة تراكيز مختلفة من كبريتات البوتاسيوم (٠.٠٥ و ٠.١ و ٠.١٥ و ٠.٢ و ٠.٢٥ و ٠.٣٠ و ٠.٣٥ غم/لتر) إلى وسط الإنتاج و أظهرت نتائج الجدول (٢) زيادة تدريجية في إنتاج الحامض والكتلة الحيوية مع زيادة التركيز كبريتات البوتاسيوم المضافة وقد بلغت أقصى كمية للحامض والكتلة الحيوية ٩١.٩٥ ملغم/لتر و ٣.٠١ غم/لتر على التوالي عند تركيز ٠.٢٠ غم/لتر وعند زيادة التركيز لوحظ انخفاض معنوي في إنتاجية الحامض والكتلة الحيوية والسبب في ذلك يعود إلى ان البوتاسيوم يدخل مرافقاً لبعض الأنزيمات التي تعمل على تحفيز النمو وهذا ما ذكره كل من Sanchez-Marroquin (١٩٦٣) و Dunn (١٩٨٥) في حين استخدم كل من Qian وآخرون (١٩٩٤) و Gelmi وPerez (٢٠٠٠) و Gelmi وآخرون (٢٠٠٢) كبريتات المغنيسيوم اللامائية للحصول على اكبر كمية من الحامض. أما معدل السكر المتبقي والأس الهيدروجيني عند التركيز السابق فكان ٢.٦٣ غم/لتر و ٤.٧٦ على التوالي.

الجدول (٢): تأثير تركيز كبريتات البوتاسيوم في إنتاج الكتلة الحيوية وحامض الجبرليك بعد (٩) أيام من التحضين ودرجة حرارة تحضين ٢٨° م.

تركيز كبريتات البوتاسيوم غم/لتر	الكتلة الحيوية غم/لتر	حامض الجبرليك GA_3 ملغم/لتر	السكر المتبقي غم/لتر	الأس الهيدروجيني النهائي
٠.٠٥	٢.٧٣ ± ٠.٠٣٥ ج	٧٨.٦٣ ± ٢.٠٨٥ ج د	٣.١٧ ± ٠.٠٤٢ أ	٥.٢١ ± ٠.٠١٤ أ
٠.١٠	٢.٨٥ ± ٠.٠٤٢ ب	٨٣.٧٣ ± ١.٩٥١ ب ج	٢.٨٦ ± ٠.٠٣٥ ب	٥.٠٦ ± ٠.٠١٤ ب
٠.١٥	٢.٩٤ ± ٠.٠٣٥ أ ب	٨٨.٨٨ ± ١.٨٧٣ أ ب	٢.٥٢ ± ٠.٠٤٩ هـ	٤.٨٥ ± ٠.٠١٤ هـ
٠.٢٠	٣.٠١ ± ٠.٠٥٦ أ	٩١.٩٥ ± ٣.٣٩٤ أ	٢.٦٣ ± ٠.٠٥٦ د	٤.٧٦ ± ٠.٠٠٧ و
٠.٢٥	٢.٩٢ ± ٠.٠٤٢ أ ب	٨٢.٠٦ ± ٢.٤٦٠ ج د	٢.٧٥ ± ٠.٠٢٨ ج	٤.٩٢ ± ٠.٠٢١ د
٠.٣٠	٢.٧٢ ± ٠.٠٤٢ ج	٧٦.٨٠ ± ٣.٣٢٣ د	٢.٨٨ ± ٠.٠٢٨ ب	٤.٠٨ ± ٠.٠٢١ ز
٠.٣٥	٢.١٠ ± ٠.٠٢٨ د	٦٤.٩٥ ± ٢.٧٥٧ هـ	٣.١٢ ± ٠.٠٤٢ أ	٥.٠١ ± ٠.٠١٤ ج

الأرقام تمثل معدل مكررين ± الخطأ القياسي
الأحرف المتشابهة في العمود الواحد لاتختلف معنويا حسب اختبار دنكن متعدد المدى عند مستوى احتمال ٠.٠٥ .

تأثير تراكيز مختلفة من فوسفات البوتاسيوم ثنائية الهيدروجين في إنتاج حامض الجبرليك: يعد عنصر الفسفور من العناصر المهمة لنمو الفطريات وتزداد الحاجة إليه عندما تكون الخلية في حالة نمو عالية (الخفاجي، ١٩٩٠). في هذه التجربة تمت إضافة تراكيز مختلفة من فوسفات البوتاسيوم ثنائية الهيدروجين (٠.١ و ٠.٢ و ٠.٣ و ٠.٤ و ٠.٥ و ٠.٦ و ٠.٧ غم/لتر) إلى وسط الإنتاج وقد أظهرت النتائج المدونة في الجدول (٣) ان إضافة هذه المادة كان لها تأثيراً واضحاً في نمو العفن وإنتاج الحامض إذ بلغت أعلى كمية من الحامض والكتلة الحيوية ٩٣.٤٨ ملغم/لتر و ٣.٢٢ غم/لتر على التوالي عند تركيز ملح ٠.٥ غم/لتر وعند زيادة التركيز عن هذا الحد ثبط نمو العفن وجاء هذا ليتفق مع كل من Sanchez-Marroquin (١٩٦٣) و Qian وآخرون (١٩٩٤) في حين لم تتفق هذه النتيجة مع ما أشار إليه كل من Maddox و Richert (١٩٧٧) و Gelmi وآخرون (٢٠٠٢) إذ استخدموا تركيز ٢ غم/لتر للحصول على أعلى كمية من الحامض. أما كمية السكر المتبقي والأس الهيدروجيني عند التركيز ٠.٥ غم/لتر فكانتا ٢.١٦ غم/لتر و ٤.٧٣ على التوالي.

الجدول (٣): تأثير تركيز فوسفات البوتاسيوم ثنائية الهيدروجين في إنتاج الكتلة الحيوية وحامض الجبرليك بعد (٩) أيام من التحضين ودرجة حرارة تحضين ٢٨° م.

تركيز KH_2PO_4 غم/لتر	الكتلة الحيوية غم/لتر	حامض الجبرليك GA_3 ملغم/لتر	السكر المتبقي غم/لتر	الأس الهيدروجيني النهائي
٠.١٠	٢.٤١ ± ٠.٠٤٢ هـ	٧٨.٨٣ ± ١.٨٠٣ ج د	٢.٣٩ ± ٠.٠٤٩ هـ	٤.٣٩ ± ٠.٠١٤ هـ
٠.٢٠	٢.٥٢ ± ٠.٠٤٢ د	٨٢.٤٠ ± ٣.٨٨٩ ب ج د	٣.٢٦ ± ٠.٠٥٦ أ	٥.٣٢ ± ٠.٠١٤ أ
٠.٣٠	٢.٧٧ ± ٠.٠٤٢ ج	٨٦.٤٣ ± ٣.٧٩٠ أ ب ج	٣.٠٩ ± ٠.٠٤٢ ب	٥.٢١ ± ٠.٠٢١ ب
٠.٤٠	٣.١١ ± ٠.٠٤٢ ب	٨٨.٠٥ ± ٤.١٧٩ أ ب	٢.٧٣ ± ٠.٠٥٦ ج	٤.٩٣ ± ٠.٠٢٨ ج
٠.٥٠	٣.٢٢ ± ٠.٠٤٢ أ	٩٣.٤٨ ± ٢.٩٣٤ أ	٢.١٦٥ ± ٠.٠٤٢ و	٤.٧٣ ± ٠.٠٢٨ د
٠.٦٠	٢.٨٠ ± ٠.٠٢٨ ج	٩١.١٥ ± ٢.٣٣٣ أ	٢.٦١ ± ٠.٠٣٥ د	٤.٩٢ ± ٠.٠٢٨ ج
٠.٧٠	٢.٣٦ ± ٠.٠٤٢ هـ	٧٦.٨٥ ± ٣.٢٥٢ د	٣.٣٥ ± ٠.٠٤٩ أ	٥.٢٣ ± ٠.٠٢٨ ب

الأرقام تمثل معدل مكررين ± الخطأ القياسي
الأحرف المتشابهة في العمود الواحد لاتختلف معنويا حسب اختبار دنكن متعدد المدى عند مستوى احتمال ٠.٠٥ .

تأثير تراكيز مختلفة من مستخلص الخميرة في إنتاج حامض الجبرليك: يعد مستخلص الخميرة من مدعمات النمو إذ يحتوي على عوامل نمو متعددة مثل الفيتامينات والأحماض الأمينية فضلاً عن النتروجين العضوي. وقد أضيفت تراكيز مختلفة من مستخلص الخميرة (صفر و ٠.٥ و ١.٠ و ١.٥ و ٢.٠ و ٢.٥ غم/لتر) إلى وسط الإنتاج ويلاحظ من الجدول (٤) ان إضافة مستخلص الخميرة عند تركيز ١.٥ غم/لتر أدت إلى زيادة في كمية الحامض المنتج ولكن الزيادة كانت غير معنوية إذ بلغت أعلى قيمة ٩٣.١٥ ملغم/لتر أما فيما يتعلق بالكتلة الحيوية فقد حصلت فيها زيادة معنوية إذ بلغت أعلى قيمة ٣.١٧ غم/لتر عند نفس التركيز السابق وعند زيادة التركيز حصل انخفاض معنوي في تلك القيمة وهذا يتفق مع ما ذكره Maddox و Richert (١٩٧٧) و Qian وآخرون (١٩٩٤).

في حين لايتفق مع ما حصل عليه Borrow وآخرون (١٩٥٥) و Darken وآخرون (١٩٥٩) إذ استخدموا تركيز ١ غم/لتر للحصول على أعلى كمية من حامض الجبرليك. أما كمية السكر المتبقي والأس الهيدروجيني فكانتا ١.٨٦ غم/لتر و ٤.٤١ على التوالي عند التركيز ١.٥ غم/لتر.

تأثير درجات حرارة التحضين المختلفة في إنتاج حامض الجبرليك: ان لدرجة حرارة التحضين أهمية كبيرة في رفع نشاط أي كائن مجهري إلى أقصاه. وتمت دراسة تأثير درجات حرارة مختلفة (٢٠و

٢٥و ٣٠ و ٣٥ سليليزية) في نمو العفن وإنتاج حامض الجبرليك. يلاحظ من الجدول (٥) ان درجة حرارة (٣٠ سيليزية) تفوقت في إنتاجها للحامض والكتلة الحيوية واستهلاكها للسكر إذ بلغت القيم ٩٢.٥٣ ملغم/لتر، ٢.٧٤ غم/لتر و٢.٢٥ غم/لتر على التوالي. أما الأس الهيدروجيني فقد وصل عند نفس درجة الحرارة إلى ٤.٤٣ وجاءت هذه النتائج مطابقة لكل من Jeffery (١٩٧٠) و Qian وآخرون (١٩٩٤) و Gelmi و Perez (٢٠٠٠) و Safak و Nilufer (٢٠٠٦).

الجدول (٤): تأثير تركيز مستخلص الخميرة Yeast extract في إنتاج الكتلة الحيوية وحامض الجبرليك بعد (٩) أيام من التحضين ودرجة حرارة تحضين ٢٨° م.

تركيز مستخلص الخميرة غم/لتر	الكتلة الحيوية غم/لتر	حامض الجبرليك GA_3 ملغم/لتر	السكر المتبقي غم/لتر	الأس الهيدروجيني النهائي
صفر	٢.٥٢ ± ٠.٠٤٢ د	٩١.٠٣ ± ٣.٢١٧ ا	٣.٠٩ ± ٠.٠٢١ أ	٤.٧١ ± ٠.٠١٤ ب
٠.٥	٢.٧٤ ± ٠.٠٤٢ ج	٩٢.٢٧ ± ٣.٥٠٠ أ	٢.٨٥ ± ٠.٠٤٢ ب	٤.٦٩ ± ٠.٠٢١ ب
١.٠	٢.٩٣ ± ٠.٠٣٥ ب	٩٢.٦٣ ± ١.٣٢٢ أ	٢.٢١ ± ٠.٠٢٨ ج	٤.٤٦ ± ٠.٠٢١ د
١.٥	٣.١٧ ± ٠.٠٤٢ أ	٩٣.١٥ ± ٣.٣٩٤ أ	١.٨٦ ± ٠.٠٤٩ د	٤.٤١ ± ٠.٠١٤ هـ
٢.٠	٢.٩١ ± ٠.٠٣٥ ب	٨٩.٢٢ ± ٢.٢٢٧ أ	٢.٢٦٠ ± ٠.٠٤٢ ج	٤.٥٩٠ ± ٠.٠١٤ ج
٢.٥	٢.٦٥٠ ± ٠.٠٥٧ ج	٨٢.٥٢ ± ٢.٣١٢ ب	٢.٣٠٠ ± ٠.٠٤٢ ج	٤.٩١ ± ٠.٠٢١ أ

الأرقام تمثل معدل مكررين ± الخطأ القياسي
الأحرف المتشابهة في العمود الواحد لاتختلف معنويا حسب اختبار دنكن متعدد المدى عند مستوى احتمال ٠.٠٥ .

الجدول (٥): تأثير درجة حرارة التحضين في إنتاج الكتلة الحيوية وحامض الجبرليك بعد (٩) أيام من التحضين.

درجات حرارة التحضين سيليزية	الكتلة الحيوية غم/لتر	حامض الجبرليك GA_3 ملغم/لتر	السكر المتبقي غم/لتر	الأس الهيدروجيني النهائي
٢٠	٢.٢١ ± ٠.٠٢٨ ج	٦٠.٩٧ ± ٢.٠٧١ ج	٣.٣٦ ± ١٠.٠٣٥ ا	٥.٠٢ ± ٠.٠٢١ أ
٢٥	٣.٠٥ ± ٠.٠٢١ أ	٨٤.٣٠ ± ٣.٢٥٢ ب	٢.١٣ ± ٠.٠٣٥ د	٤.٥٢ ± ٠.٠١٤ ج
٣٠	٢.٧٤ ± ٠.٠٤٩ ب	٩٢.٥٣ ± ١.٢٣٧ أ	٢.٢٥ ± ٠.٠٤٢ ج	٤.٤٣ ± ٠.٠٢١ د
٣٥	٢.١٣ ± ٠.٠٢٨ ج	٨١.١٥ ± ٢.٢٦٢ ب	٢.٩٢ ± ٠.٠٤٢ ب	٤.٨٤ ± ٠.٠٢١ ب

الأرقام تمثل معدل مكررين ± الخطأ القياسي
الأحرف المتشابهة في العمود الواحد لاتختلف معنويا حسب اختبار دنكن متعدد المدى عند مستوى احتمال ٠.٠٥ .

تأثير الأس الهيدروجيني الأولي في إنتاج حامض الجبرليك: يؤدي الأس الهيدروجيني دوراً مهماً في الأنظمة الأنزيمية للأحياء المجهرية ونشاطها وعملها. ويعتمد ضبط الأس الهيدروجيني الأولي على المواد المستعملة في التنمية وعلى ظروف التخمر. وقد تمت دراسة تأثير قيم مختلفة من الأس الهيدروجيني للمراحل الأولى من التخمر إذ استخدمت القيم (٣ و ٣.٥ و ٤ و ٤.٥ و ٥ و ٥.٥ و ٦ و ٦.٥ و ٧) بين الجدول (٦) ان الأس الهيدروجيني ٥.٥ أعطى أعلى كمية من الحامض بلغت ٩٥.٥٦ ملغم/لتر فيما يتعلق بالكتلة الحيوية فقد أعطى الأس الهيدروجيني ٤.٥ أعلى كتلة حيوية إذ بلغت ٣.٠٩ غم/لتر وجاءت هذه النتيجة مطابقة لكل من Vass و Jefferys (١٩٧٩) و Kumar و Lonsone (١٩٨٧) و Gelmi و Perez (٢٠٠٠) و Gelmi وآخرون (٢٠٠٢) في حين أشار Qian وآخرون (١٩٩٤) إلى ان

أفضل أس هيدروجيني كان ٦، إذ أعطى أعلى إنتاجية من حامض الجبرليك ويلاحظ أيضاً من الجدول ان زيادة الأس الهيدروجيني عن ٥.٥ أدى إلى حصول انخفاض في كمية الحامض والكتلة الحيوية. اما فيما يتصل بكمية السكر المتبقي فكانت ٢.٥٢ غم/لتر عند الأس الهيدروجيني ٥.٥. ويلاحظ من الجدول حصول انخفاض واضح في الأس الهيدروجيني النهائي لجميع المعاملات عن الأس الهيدروجيني الأولي.

الجدول (٦): تأثير الأس الهيروجيني الأولي في إنتاج الكتلة الحيوية وحامض الجبرليك بعد (٩) أيام من التحضين.

الأس الهيدروجيني الأولي	الكتلة الحيوية غم/لتر	حامض الجبرليك GA_3 ملغم/لتر	السكر المتبقي غم/لتر	الأس الهيدروجيني النهائي
٣.٠	١.٥٢ ± ٠.٠٤٢ ز	٢.٠٣ ± ٠.١٠٦ ز	١٣.٥٤ ± ٠.٠٥٦ أ	٣.١١ ± ٠.٠٢١ ط
٣.٥	١.٩٣ ± ٠.٠٤٢ هـ	١٦.٣٥ ± ٠.٩١٩ و	١٢.٠ ± ٠.٠٧٠ ب	٣.٥٦ ± ٠.٠١٤ ج
٤.٠	٢.٧٨ ± ٠.٠٣٥ ب	٥٣.٧١ ± ١.٩٨٦ هـ	٣.٢٦ ± ٠.٠٦٣ د	٣.٩٢ ± ٠.٠٢١ ز
٤.٥	٣.٠٩ ± ٠.٠٢١ أ	٧٧.٥٠ ± ٢.٨٩٩ ب ج	١.٩٧ ± ٠.٠٤٢ ط	٤.٢٣ ± ٠.٠٢٨ و
٥.٠	٢.٨٦ ± ٠.٠٤٩ ب	٨٢.٦٩ ± ٣.٣٣٧ ب	٢.٢١ ± ٠.٠٢١ ح	٤.٧٦ ± ٠.٠٢١ د
٥.٥	٢.٤٦ ± ٠.٠٥٦ ج	٩٥.٥٦ ± ٢.٠٥٠ أ	٢.٥٢ ± ٠.٠٤٢ ز	٤.٥١ ± ٠.٠٢١ هـ
٦.٠	٢.١٢ ± ٠.٠٤٢ د	٨٠.٤٨ ± ٢.٧٢٢ ب	٢.٧٢ ± ٠.٠٤٩ و	٥.٨١ ± ٠.٠١٤ ج
٦.٥	١.٩٢ ± ٠.٠٤٩ هـ	٧٢.٠٣ ± ٤.٤١٩ ج	٣.١٢ ± ٠.٠٤٢ هـ	٦.٣٤ ± ٠.٠١٤ ب
٧.٠	١.٨٠ ± ٠.٠٤٢ و	٦٤.٠٥ ± ٣.٠٤٠ د	٣.٧٤ ± ٠.٠٤٢ ج	٦.٨١ ± ٠.٠٢١ أ

الأرقام تمثل معدل مكررين ± الخطأ القياسي

الأحرف المتشابهة في العمود الواحد لاتختلف معنويا حسب اختبار دنكن متعدد المدى عند مستوى احتمال ٠.٠٥ .

EFFECT OF SOME GROWTH FACTORS ON GIBBERELLIC ACID PRODUCTION FROM WILD STRAIN OF *Fusarium moniliforme*

Younis A. Y. Al–Mashhadany Nehan B. J. Al–Bayati
Food Sci. and Biotech. Dept. / College of Agric. & Forestry / Mosul Univ. / Iraq

ABSTRACT

This study showed that the addition of certain compounds separately such as KH_2PO_4 , K_2SO_4 , corn steep liquor or yeast extract had affected gibberellic acid production from wild strain of *Fusarium moniliforme*. Corn steep liquor at the concentration 0.25 gm/L gave 92.31 mg/L of gibberellic acid, while potassium sulphate at the concentration 0.20 gm/L gave 91.95 mg/L of gibberellic acid, potassium dihydrogen phosphate gave the highest production where reached 93.48 mg/L especially at the concentration 0.5 gm/L, at the concentration 1.5 gm/L yeast extract gave 93.15 mg/L of gibberellic acid. The initial pH for highest production of gibberellic acid was 5.5 . The optimal incubation temperature to produce highest yield of acid was 30° C.

المصادر

الجادر، زينة وجيه حمدي (٢٠٠٥). دراسة تأثير المتطلبات الغذائية للبكتريا *Xanthomonas cantestris* ATCC13951 في إنتاج السكر المتعدد الزانثان. رسالة ماجستير، كلية التربية-جامعة الموصل. العراق. ٨٨ص.

الحيدري، نظام كاظم عبد الامير و المصلح، رشيد محجوب (١٩٨٩). الأحياء المجهرية الصناعية، مطابع التعليم العالي في الموصل–العراق.

الخفاجي، زهرة محمود (١٩٩٠). التقنية الحيوية. مطبعة دار الحكمة للطباعة والنشر، الموصل – العراق.

دنحا، رياض فرنسيس والخزرجي، طالب عويد (١٩٩٠). تغذية وعلم وظائف الفطريات، مطابع التعليم العالي في الموصل–العراق.

وصفي،عماد الدين (١٩٩٥). منظمات النمو والأزهار واستخدامها في الزراعة، مكتب الأكاديمية في القاهرة.

AOAC (Association of Official Analytical Chemist) (1980) Official Methods of Analysis 12th ed-Washington, DS, U.S.A.

Barnett, H. L. and B. B. Hunter (1972)\ Illustrated genera of imperfect fungi. Burgess Publishing Company.

Borrow, A.; P. W. Brian; V. E. Chester and M. Radley (1955) Gibberellic acid ametabolic product of the fungus *Gibberella fujikuroi* some observation on its production and isolated. J. Sci. Food Agric. 6: 340–348.

Bulock, J. D.; R. W. Detroy; Z. Hostalek and A. Al-Shakarchi (1974) Regulation of secondary biosynthesis in *Gibberella fujikuroi*. Trans. Br. Mycol. Soc. 2: 373-389.

Carter, J.; H. N. Rezanoor; A. E. Desjardins and P. Nicholson (2000) Variation in *Fusarium graminearum* isolates from Nepal associated with their host of origin. PL-Path. 49: 452-461.

Casida, J. R. (1968) Industrial Microbiology, Pennsylvania state University, Jonwiley and Sons. Inc, pp. 258-261.

Darken, M.; A. L. Jensen and P. Shu (1959) Production of Gibberellic acid fermentation. Appl. Microbiol. 7:301-303.

Desjardins, A. E.; H. K. Manadhar; R. D. Plattner; G. F. Manadhar; S. M. poling and C. M. margos (2000) Fusarium species from Nepalese Rice and production of mycotoxin and Gibberellic acid by selected species. Appl. Environ. Microbiol. 66 (3): 1020-1025.

Dubios, M.; K. A. Gilles; J. K. Hamitton; P. A. Robers and F. Smith (1956) Colorimetric method for determination of sugars. Ana. Chem. 28: 350-356.

Dunn, M. (1985) Nutritional requirements of micro organisms. Comprehensive biotechnology. 1: 113-125.

Fuska, J.; I. Khur; M. Podojil and V. Sevcik (1961) The influence of the nitrogen source of the production of the Gibberellic acid in submerse cultivation of *Gibberella fujikuroi*. Folia Microbial. 6: 18-21.

Gelmi, C. and R. Perez-Correa (2000) Solid-substrate cultivation of *Gibberella fujikuroi* on an inert support. Process Biochemistry. 35: 1227-1233.

Gelmi, C.; R. Perez-correa and E. Agosin (2002) Molding *Gibberella fujikuroi* growth and GA_3 production in solid state fermentation. Process Biochemistry. 37: 1033-1040.

Harrigan, W. F and M.E. McCance (1976) Laboratory methods in food and dairy microbiology. Academic press London-NewYork. San Francisco.

Jeffery, S. (1970) The Gibberellin fermentation. Adv. Appl. Microbiol. 13: 283-323.

Kumar, P. K. and B. K. Lonsone (1987) Gibberellic acid by solid state fermentation. Consistant and improved yields. Biotechnol. Bioeng. XXX. 30: 267-271.

Maddox, I. S. and S. H. Richert (1977) Production of gibberellic acid using a dairy waste as the basal medium. Appl. Environ. Microbial. 33: 201-202.

Moore (1989) Biotechnology and physiology of plant hormones. New York: springer-verlag. 1:44-46.

Qian, X. M. J. C. Duperez and S. G. Killain (1994) Factors affecting gibberellic acid production by *Fusarium moniliforme* in solid-state cultivation on starch. World J. Microbiol Biotechnol. 10: 59-62.

Rachev, R. Ch.; R. Pavlova-Rouseva; S. V. Bojkova and V. K. Gancheva (1993) Isolation of gibberellic acid produced by *Fusarium moniliforme*. J. Nat. Prod. 56: 1168-1170.

Raimbau, T. (1998) General and microbiological aspects of solid substrate fermentation. Electronic J. Biotechnol. EJB. 1(3): 1120-1123.

Safak, K. and A. Nilufer (2006) Some optimal cultural parameters for gibberllic acid biosythesis by *pseudomonas sp.* Turk. J. Boil. 30: 81-85.

Sanchez-Marroquin (1963) Microbiological production of gibberellic acid in glucose media. Appl. Microbial. 11:523-526.

Sandford, R. (1979). Exocellular Micobial poly saccharide. Adv. Carbo. Chem.-Biochem. 63: 265-312.

SAS (2001) SAS Users-Guide. SAS Institute Inc. Cary NC. USA.

Vass, R. C. and Jafferys (1979) Gibberellic acid in economic microbiology. Secondary products of metabolism. A. Rose Academic press, London, 3: 421–434.

Unyayar, S.; F. Topcuglu and A. Unyayar (1996) A modified method for extraction and identification of indol-3- acetic acid (IAA), gibberellic acid (GA3), abscisic acid (ABA) and zetain production by *phanerochaete chrysosporium* ME 446. Bulg. J. plant. Physiol. 22: 105-110.

Urrutia, O.; P. Hedden and M. Rojas (2001) Monooxygenases involved in GA12 and GA14 synthesis in *Gibberella fujikuroi*. Phytochem. 56: 505-511.