

Preparation of Locally Culture Media for Cultivation of Fungi

2nd Conference on Environment and Sustainable Development 28-29-Oct-2015**Dr. Hamzia Ali Ajah**

Department of Biology, Mustansiriya University, Baghdad

Email:hamzeah2004@yahoo.com

Dr. Shatha Ali Shafeeq 

Department of Biology, Mustansiriya University, Baghdad

Abstract

In this study, test the ability of some of the fungus *Aspergillus flavus*, *Penicillium spp.*, *Trichoderma harzianum* growth on soild media Prepared locally from the husks of each of apple *Malus domestica*, the seeds of sunflower *Helinthus sp.*, banana *Musa sapientum* and eggplant *Solanum melongena*. The results of the study showed that all fungi that surveyed her the ability to grow typical and uninterrupted all media prepared locally. Moreover the study showed the following fungi isolated from some refrigerators of laboratories of department of Biology – College of Science–Mustansiriya University, *Aspergillus*, *Mucor*, *Penicillium*, *Candida*, *Saccharomyces*, *Rhodotorula* in addition to *Trichoderma harziaum* isolated from soil.

Key words: Fungi, locally culture media

تحضير اوساط زراعية محلية لتنمية الفطريات

الخلاصة

تم في هذه الدراسة اختبار قدرة بعض الفطريات مثل بنسليم (*Penicillium spp.*)، اسبرجلس فلافس (*Aspergillus flavus*) وترايكوديرما هرزانيم (*Trichoderma harzianum*) على النمو في اوساط زراعية صلبة محضره محليا من قشور التفاح (*Malus domestica*) وقشور زهرة الشمس (*Helianthus sp.*) وقشور الموز (*Musa sapientum*) وقشور الباذنجان (*Solanum melongena*) واطهرت نتائج الدراسة ان جميع الفطريات التي شملتها الدراسة لها القدرة على النمو وبمواصفاتها النموذجية علي جميع الاوساط المحضرة محليا. كما اظهرت نتائج الدراسة عزل الفطريات الاتية من بعض ثلاجات مختبرات قسم علوم الحياة كلية العلوم الجامعة المستنصرية اسبرجلس (*Aspergillus*)، ميوكر (*Mucor*)، بنسليم (*Penicillium*) كانديدا (*Candida*) رودوتورولا (*Rhodotorula*) سكارومايسيز (*Saccharomyces*) والفطر ترايكوديرما هرزانيم (*Trichoderma harziaum*) المعزول من التربة.

الكلمات المرشدة: فطريات، اوساط زرعيه محلية.

المقدمة

الوسط الغذائي (Medium) تعرف البيئة الغذائية بأنها المادة أو مجموعة المواد التي يمكن أن تنمو عليها الكائنات الحية الدقيقة ومنها الفطريات بما فيها الاعفان والخمائر، أو هي عبارة عن البيئة التي تستعمل لزراعة وإنماء الكائنات الحية الدقيقة المختلفة في المختبر وتحتوي عادة على جميع المكونات الضرورية للنمو حيث تعتمد غالبية الدراسات والبحوث الميكروبية على استعمال بيئات غذائية مختلفة، وهذه البيئات إن لم تكن متماثلة تماما مع البيئات التي تعيش فيها أو عليها هذه الكائنات في الطبيعة فيجب أن تكون قريبة الشبه منها من حيث توفير الاحتياجات والمتطلبات الغذائية اللازمة لتنميتها [1]. يعد وسط بطاطا دكستروز اكار (Potato dextrose agar PDA) احد الاوساط الزراعي الشائعة والمعروفة مكوناته والمستعملة في نمو وعزل وتشخيص الفطريات في المختبرات وانواع عديده من الاوساط الزراعيه استعملت لعزل مجاميع مختلفة من الفطريات لما لها من تأثير على النمو الخضري والشكل المورفولوجي للمستعمرات وانواع الصبغات المنتجة وتكوين الابواغ بالاعتماد على مكونات الوسط الزراعي والاس الهيدروجيني ودرجات الحرارة والضوء وغيرها من العوامل البيئية المؤثرة على نمو الفطريات [2] وفي السنوات الأخيرة ركزت الدراسات حول استخدام بدائل في تحضير الاوساط الزراعيه الخاصة بتنمية الفطريات في المختبر ذات مكونات طبيعية كمستخلصات الثمار والخضروات كوسط مستخلص الذرة البيضاء والذرايا ووسط مستخلص الفاصوليا وثمار الموز والتفاح والبادنجان [3,4] وقشور البرتقال وقشور التفاح وقشور الموز [5]. وعليه جاءت هذه الدراسة لغرض البحث عن بدائل في المواد المحلية المتوفرة التي يمكن أن تستخدم كأوساط زراعيه في نمو الفطريات.

طرائق العمل

عزل الفطريات وتشخيصها

أخذت عده اطباق حاويه على الوسط الزراعي اكار مستخلص البطاطا والدكستروز (PDA Potato Dextrose Agar) وعزلت الفطريات من ثلجات مختبرات قسم علوم الحياة عشوائيا وحضنت الاطباق على درجة حرارة 25 ± 2 °م لمدة خمسة ايام، نقيت الفطريات بالعزل من طرف الغزل الفطري على الوسط الغذائي نفسه وشخصت الاجناس اعتمادا على الابواغ والتراكيب اللاجنسية التي تكونها الفطريات باستعمال المفاتيح التصنيفية [6] و [7].

تحضير الاوساط الطبيعية

حضرت الاوساط الزراعيه الطبيعية وفق ما جا عليه [8] اذ تم وزن 50 غرام من قشور التفاح (*Malus domestica*) وقشور زهرة الشمس (*Helianthus sp.*) وقشور الموز (*Musa sapientum*) وقشور البادنجان (*Solanum melongena*) كلا على حده بعد ان قطعت الى قطع صغيرة، اضيفت اليها كمية من الماء المقطر وغليت لمدة نصف ساعه وبردت ووضعت بجهاز الخلاط الكهربائي (Mixer blender) لعدة دقائق و رشحت باستخدام الشاش الطبي واكمل حجم الراشح بالماء المقطر الى لتر واحد ، اضيف الاكار الى الراشح وضبط الاس الهيدروجيني (pH) الى 6 وعقمت الاوساط باستخدام جهاز الموصده بدرجه حرارة 121 °م وضغط 15 باوند / انج2 لمدة ربع ساعه ،عقمت الاوساط بردت و اضيف المضاد الحيائي الكلورمفينيكول بتركيز 10000 ملغم لكل مل [9] ثم وزعت الاوساط في اطباق بتري معقمه وتركت لتتصلب .

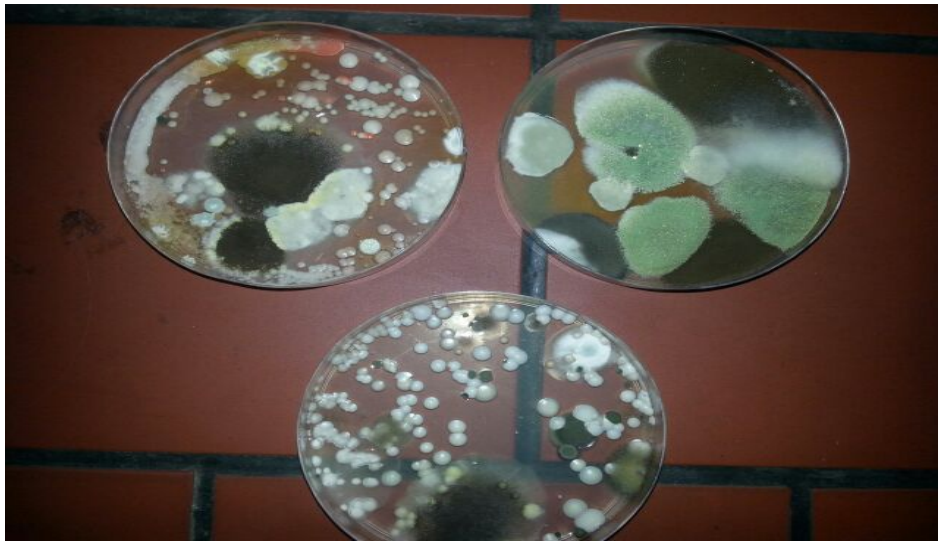
اختبار تنمية الفطريات على الاوساط الطبيعية

تم اختبار تنمية الفطريات المعزولة بتنميتها على الاطباق الحاويه على الاوساط الطبيعيه كلا على حده قشور التفاح وقشور زهرة الشمس وقشور الموز وقشور البادنجان بالعزلات الفطرية النقية بواقع طبقين لكل عزلة وكانت قطعة اللقاح بقطر 1 سم من طرف العزلة النقية ويعمر اسبوع واحد باستعمال ثاقبة الفلين (Cork Borer) . حضنت الاطباق على درجة حرارة 25 ± 2 °م لمدة اسبوعين.

النتائج والمناقشة

العزل والتشخيص

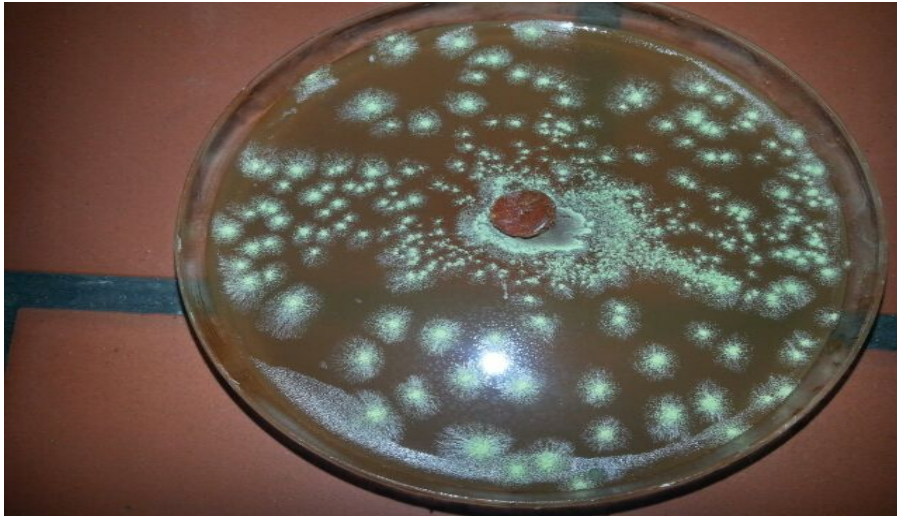
اظهرت نتائج عزل وتشخيص الفطريات من التلجالات مختبرات قسم علوم الحياة كلية العلوم الجامعة المستنصرية وضمت الفطريات الاعفان والخمائر: اسبرجلس (*Aspergillus*)، ميوكر (*Mucor*)، بنسليم (*Penicillium*) ، كانديدا (*Candida*) رودوتوتولا (*Rhodotorula*) سكارومايسيز (*Saccharomyces*) الفطر ترايكوديرما هرزنيوم (*Trichoderma harziaum*) لوحظ من خلال هذه الدراسة ان اعلى تكرار للأجناس المرافقة كان الجنس اسبرجلس (*Aspergillus*) اذ تصدر باقي الاجناس بنسبة 40% (*A. niger* و *A. flavus*) يليه الفطر بنسليم (*Penicillium*) 31% و الفطر ميوكر (*Mucor*) مسجلا تكرار بنسبة 23% . اما الاجناس المتبقية والتي هي خمائر لأجناس مختلفة كانديدا (*Candida*) رودوتوتولا (*Rhodotorula*) سكارومايسيز (*Saccharomyces*) فقد كانت نسبة تكرارها 6% . وقد يعود سبب ذلك الى ان جنس *Aspergillus* ينمو وينشط في درجات الحرارة المختلفة اذ له القدرة على العيش في مديات حرارية مختلفة اضافة الى قدرته الانزيمية العالية [10] .



شكل (1). اجناس الفطريات المعزولة من تلجالات مختبرات قسم علوم الحياة كلية العلوم الجامعة المستنصرية

تنمية الفطريات على الاوساط الطبيعية

اظهرت نتائج اختبار الاوساط الطبيعية المحضرة من قشور التفاح وقشور زهرة الشمس وقشور الموز وقشور الباذنجان كاوساط بديله عن الاوساط الزرعيه الجاهزه والخاصه بالفطريات واختبرت بعض الفطريات بنسليم (*Penicillium spp*)، اسبرجلس فلافس (*Aspergillus flavus*) وترايكوديرما هرزانيوم (*Trichoderma harzianum*) المعزول من التربة على النمو على هذه الاوساط كلا على حده وقد اثبتت النتائج قدرة الفطريات على النمو في الاوساط الطبيعية المحضره كما موضح بالاشكال الاتية:-



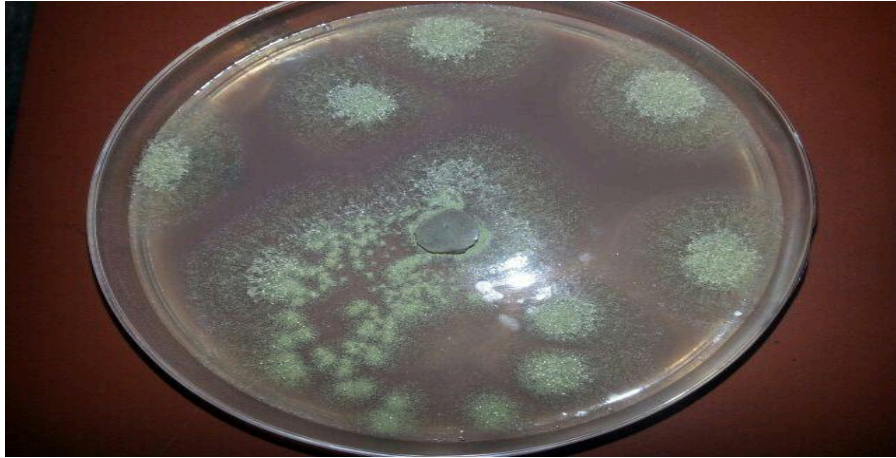
شكل (2). نمو الفطر *Aspergillus flavus* على الوسط الطبيعي قشور التفاح



شكل (3). نمو الفطر *Penicillium spp.* على الوسط الطبيعي قشور التفاح



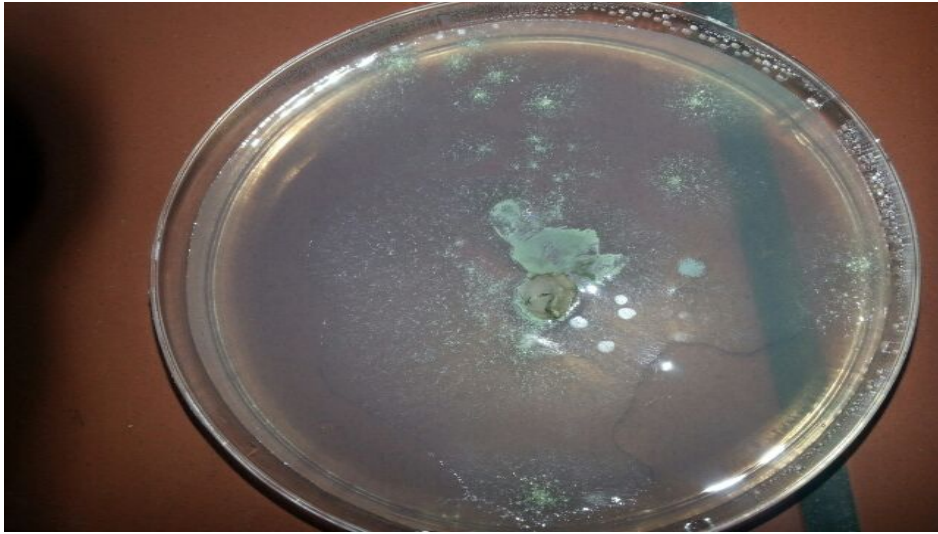
شكل (4). نمو الفطر *Trichoderma harzianum* على الوسط الطبيعي قشور التفاح



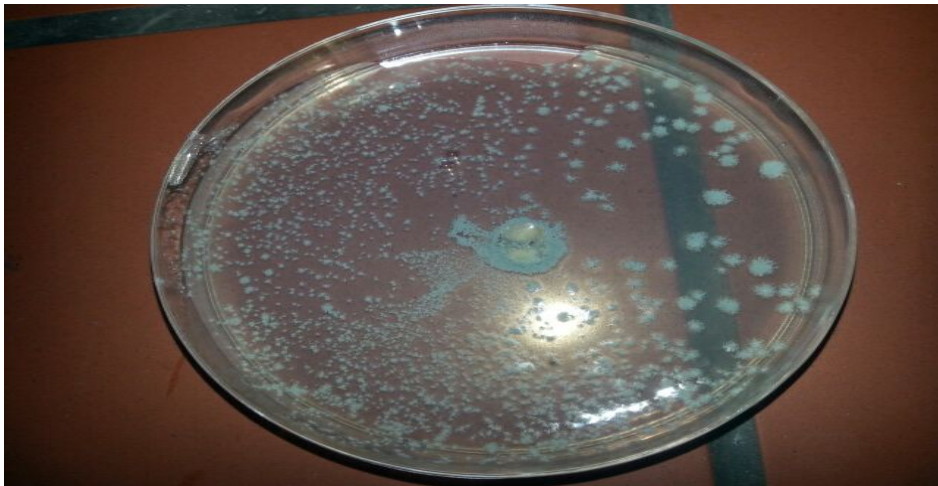
شكل (5). نمو الفطر *Aspergillus flavus* على الوسط الطبيعي زهرة الشمس



شكل (6). نمو الفطر *Trichoderma harzianum* على الوسط الطبيعي قشور زهرة الشمس



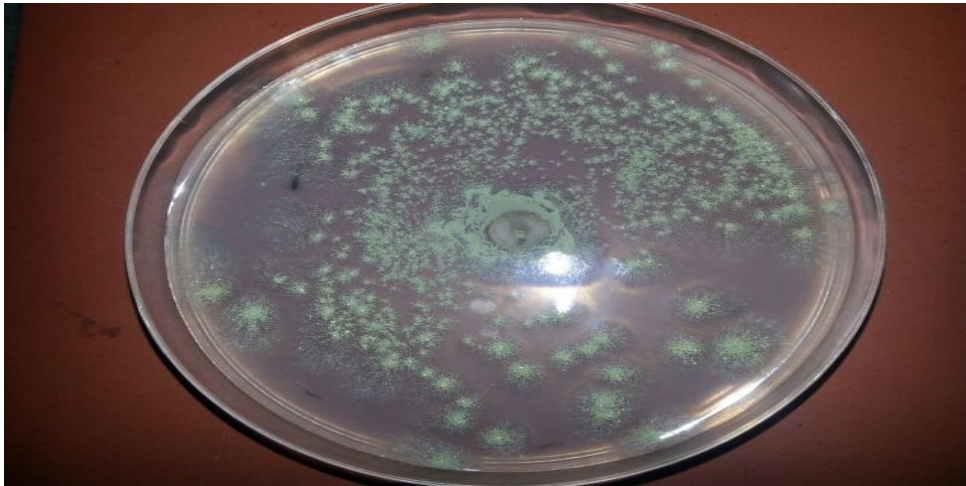
شكل (7). نمو الفطر *Aspergillus flavus* على الوسط الطبيعي قشور الموز



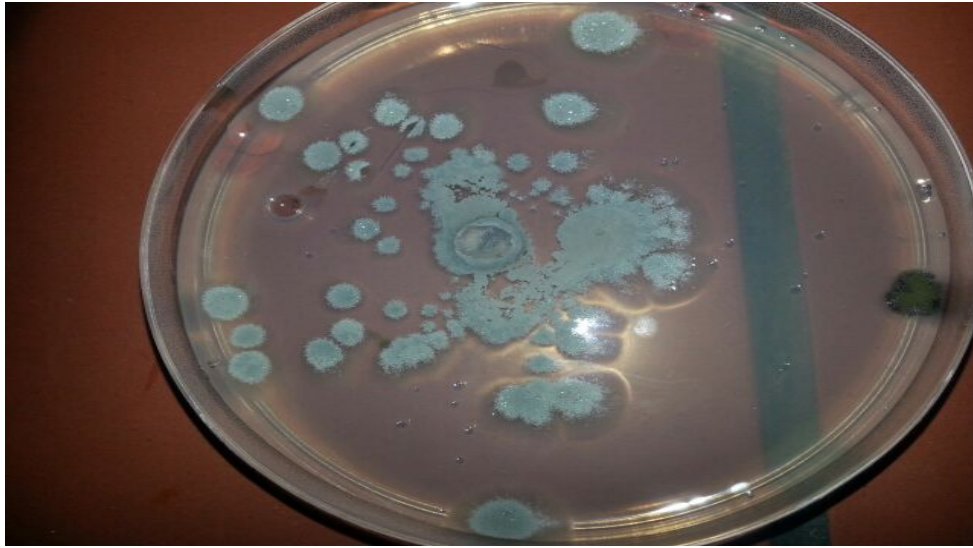
شكل (8). نمو الفطر *Penicillium spp.* على الوسط الطبيعي قشور الموز



شكل (9). نمو الفطر *Trichoderma harzianum* على الوسط الطبيعي قشور الموز



شكل (10). نمو الفطر *Aspergillus flavus* على الوسط الطبيعي قشور الباذنجان



شكل (11). نمو الفطر *Penicillium spp.* على الوسط الطبيعي قشور الباذنجان



شكل (12). نمو الفطر *Trichoderma harzianum* على الوسط الطبيعي قشور الباذنجان

لقد اتجهت بعض الدراسات الى استخدام بعض النباتات الحاوية في تركيبها على بعض المركبات الفينولية كثمار الباذنجان، ثمار الموز وثمار التفاح لتحضير اوساط زرعية تستخدم لعزل وتشخيص خميرة كريتوكوكس نيوفورمنز (*Cryptococcus neoformans*) [4]. وفي دراسة الشمري وكاظم [5] اكدت على استخدام قشور البرتقال والموز والتفاح في تنمية الفطريات وانتاج الانزيمات كالبكتينيز.

الاستنتاجات

لأول مرة تم دراسة امكانية استخدام قشور ثمار كلا من قشور التفاح، قشور حبوب زهرة الشمس، قشور الموز وقشور الباذنجان في تحضير اوساط لعزل الاعفان (mold)، اذا ما علمنا ان هذه الاوساط تتكون من مستخلص هذه القشور فقط دون اضافة أي مادة كيميائية اخرى فيما عدا الاكار (Agar- agar) لتصليب الاوساط. وان لعدم توفر الاوساط الخاصة بعزل الفطريات محليا فضلا عن غلاء

اسعارها لكلفة استيرادها ونظرا لقدرة هذه الفطريات على النمو وبنفس المواصفات والكفاءة على الاوساط المستعملة في تحضيرها قشور التفاح و قشور حبوب زهرة الشمس وقشور الموز وقشور الباذنجان فان ذلك يشجع على امكانية استعمال هذه القشور لتحضير اوساط زرعية بسيطة ولكن ذات كفاءة عالية في عزل الفطريات دون اللجوء الي استعمال اوساط تركيبية ذات كلفة عالية فقد حضرت اوساط زرعية محلية لها نفس مواصفات الاوساط الغذائية التركيبية المستوردة وتضاهيها بالفعالية والكفاءة ولكن بكلفة قليلة جداً لاستعمالها مواد بسيطة ومتوفرة بالاسواق المحلية وبشكل خاص عند استخدام قشور الثمار سابقة الذكر.

المصادر

- [1] Northolt, M.D., Bulleman, L.B., "Prevention of mold growth and toxin production through control of enviromental condition". *Food Prot.* 5:519-526, 1982.
- [2] Kumara, K.L.W., Rawal, R.D., "Influence of Carbon Nitrogen, temp. and pH on the growth and sporulation of some Indian isolates of *Colletrichum gloeosporioides* causing anthraconosse disease of papaye (*Carrica papaye* L.)". *Trop. Agric. Res. Ext.*, 11:7-12. 2008.
- [3] Famurewa, O., David, O.M., "Formulation and evaluation of dehydrated microbiological media from Avocado pea (please American)". *Research Journal of microbiology*, 3(5):326-330, 2008.
- [4] عجة، حمزيه علي و شفيق، شذى علي، "استخدام بعض النباتات لتحضير اوساط زرعيه لعزل وتشخيص خميرة *Cryptococcus neoformans*" مجلة تربية مستنصرية، المجلد 1، العدد 3، 2011.
- [5] الشمري، الهام اسماعيل وكاظم، بيداء حاتم، "انتاج انزيم البكتينيز من الفطريات المعزولة محليا باستخدام قشور بعض الفواكة" مجلة ديالى للعلوم الزراعية. المجلد 1، العدد 4، 2012.
- [6] Simin, H., "Sonicated date syrup media preparation for microbial culture", *Afr. Journal. Biotech.* 10(3):424-432, 2001.
- [7] Scazzocchio, C. *Aspergillus: "A multifaceted Encyclopedia of Microbiology"* (Amsterdam: Elsevier), in press, 2009.
- [8] Simin, H., "Sonicated date syrup media preparation for microbial culture", *Afr. Journal. Biotech.* 10(3):424-432, 2001.
- [9] Webster, J. and Weber, R.W.S. "Introduction to Fungi", Cambridge University Press, New York. USA. 2007.
- [10] Domsch, K. H. and Gams, W., "Compendium of soil fungi" Vol. 1, ed. London, Academic Press. 1988.