دراسة الظروف المثالية وتأثير الأشعة فوق البنفسجية في إنتاج السكر المتعددة الخارج خلوي المنتج من العزلة المحلية للفطر *Alternaria alternate*

أ.م. ولاء حمدون شكر /جامعة الموصل/كلية التربية الأساسية
قسم العلوم العامة

الملخص:

تم عزل ست عزلات محلية للفطر (*Alternaria alternate*) من فواكه مصابة واختبرت قابلية هذه العزلات على إنتاج السكر المتعدد البوليولان باستعمال وسط الإنتاج. بينت النتائج إن أفضل نمو وإنتاجية قد تم الحصول عليه من العزلة (A3) حيث بلغت (15.88)غم/ لتر وتلتها العزلة (A1) فقد منحت (13.12)غم/ لتر من البوليولان. وعوملت السلالتان (A1,A3) بالأشعة فوق البنفسجية. أظهرت النتائج إن السلالتين (A1,A3) المعرضة للأشعة قد أعطت إنتاجية أعلى من الحالة الأولى (غير المعرضة للأشعة) فقد وصلت إلى (17.81,19.81) غم/لتر على التوالي، درس تأثير أنواع مختلفة من المصادر الكاربونية والنتروجينية للسلالة التي منحت اعلى إنتاجية (A3) من السكر المتعدد فقد أشارت النتائج إلى إن المصدر الكاربوني السكروز والمصدر النتروجيني فوسفات الامونيوم قد منحا اعلى إنتاجية للبوليولان حيث بلغت (20.43,20.06) غم/لتر. على التوالي وعند اليوم السادس للحضانة.

المقدمة:

"تعد الفطريات من الكائنات الحية التي تتميز بمدى واسع من نواتج الايض الثانوي (Secondary metabolites) وهي مركبات متباينة جدا في تركيبها ووظائفها وليست معروفة دائما. إن معظم نتائج الايض الثانوي تعرف أيضا بالنواتج الطبيعية تنتج عادة بعد إن يكمل الفطر طور نموه الأولي وهذه النواتج هي مواد كيمائية مقايضة ليس لها ضرورة للنمو الطبيعي أو لتكاثر الكائن الحي ولهذه تعد ثانوية ولكن قد تكون لها أهمية دفاعية للكائن"[1].

"تعد السكريات المتعددة الميكروبية خارج الخلوية إحدى أهم النتاجات الطبيعية لخلايا الأحياء المجهرية ويصل عدد هذه السكريات إلى أكثر من (200) نوع مختلف بحسب نوع وجنس الكائن الذي يقوم بإنتاجه"[2].

"يتميز فطر *Alternaria alternata* بقابليته على إنتاج الأنزيمات الصناعية مثل إنزيم (Pectinase و Laccase) وغيرها فضلا عن إنتاج بروتين الخلية الأحادية وإنتاج السكريات المتعددة" [3].

"يتكون السكر المتعدد الخارج خلوي البوليولان من وحدات الكلوكوز المرتبطة مع بعضها بالآصرة (α-1,4Glycosidic linkages) وكل ثلاث وحدات من الكلوكوز مرتبطة مع بعضها بالآصرة (a-1,6 Linkages)"[4].

"إن للبوليولان تطبيقات عديدة تصل إلى أكثر من (250) تطبيقا في مجال التصنيع (الحيوي، الادوية، الزراعة، وصناعة مستحضرات التجميل، إنتاج بعض المركبات الطبية وفي المنتجات الغذائية)، كما وتستخدم كطلاء للمنتجات الغذائية بحيث تكون طبقة رقيقة جدا تمنع نمو الكائنات الحية المجهرية وان استخدام البوليولان في جانب الادوية بدأت تزداد وبشكل كبير وذلك ولانه غير سام للانسان

ومنخفض السعرات الحرارية وطبيعته الخاملة ويدخل في علاج الامراض السرطانية المختلفة. كما ويستخدم في استخراج النفط" [6,5].

"إن الأشعة فوق البنفسجية قصيرة الموجات تمتاز بقدرتها التطفيرية العالية إذ تمتص هذه الأشعة من قبل البيورينات والبريميدينات المكونة للقواعد النتروجينية للحامض النووي DNA عند الطول ألموجي (254) نانوميتر وتؤدي إلى حدوث تغيرات في ترتيب وتعاقب القواعد النتروجينية الذي ينعكس على تركيب المادة الوراثية مما يؤدي إلى حدوث الطفرة"[7].

إن الهدف الأساسي من إجراء الدراسة الحالية هو الحصول على عزلات فطرية محلية للفطر *Alternria alternate* واختبار قابليتها على إنتاج السكريات المتعددة الخارج خلوية والتعرف على مدى تأثير الأشعة فوق البنفسجية وبعض الظروف الزراعية على النمو والإنتاج.

المواد وطرائق العمل:

عزل وتشخيص الفطر:-

1- جمع العينات وتشخيصها: تم جمع ثمار مصابة من نباتات مختلفة (البرتقال، الخيار، التفاح، الطماطة). وتم تنمية الجزء المصاب بعد غسله تحت تيار الماء الجاري لإزالة الأوساخ العالقة بها وأخذت المنطقة المصابة وقطعت إلى قطع صغيرة متساوية الإبعاد بطول (0.5) سم تقريبا وغمرت في محلول هايبوكلورات الصوديوم (1%) لمدة ثلاث دقائق وبعدها غسلت القطع بماء مقطر ومعقم وجففت بين أوراق ترشيح معقمة ثم نقلت بوساطة ملقط معقم إلى أطباق بتري حاوية على الوسط الغذائي المعقم (PDA Potato Dextrose agar) والمضاف إليه المضاد الحيوي كلورامفينيكول وبمعدل أربع قطع لكل طبق موزعا توزيعا منتظما وحضنت بدرجة (30)م ولمدة ستة أيام. بعدها فحصت ثم عزلت النموات الفطرية من القطع

المصابة بالاعتماد على المفاتيح التصنيفية [8]. ونشطت العينات على وسط (PDA) المائلة وحفظت بالثلاجة إلى حين الاستعمال.

2- قابلية العينات الفطرية المعزولة على إنتاج السكر المتعدد البوليولان: تم اختبار قابلية العزلات المحلية على إنتاج الكتلة الحيوية والسكر المتعدد البوليولان باستخدام وسط الإنتاج والمتكون من غم/لتر:-(50) كلوكوز، (5) $K_2H.PO_4$، $NaCl$(1)،(0.2) $MgSO_4.7H_2O$،(0.6) $(NH_4)_2SO_4$)، (2.5) مستخلص الخميرة وضبط الرقم الهيدروجيني عند(6.0)[9].

3- تحضير اللقاح الفطري:

"وزع وسط الإنتاج في دوارق مخروطية سعة (250) مل وبمقدار (47) مل لكل دورق وبمعدل ثلاثة مكررات لكل معاملة وغلقت الدوارق بشكل محكم بسدادات قطنية وغلفت السدادات برقائق المنيوم ووضعت في جهاز التعقيم (Autoclve) وبعدها تركت الدوارق لتبرد ثم لقحت في ظروف معقمة بخلايا الفطر من اللقاح (حضر هذه اللقاح بنقل جزء من مستعمرة الفطر المنماة على وسط (PDA) وبعمر أسبوع تقريبا إلى دوارق مخروطية حجم (250) مل تحتوي على (50) مل من وسط إنتاج السكر المتعدد ووضعت الدوارق في الحاضنة الهزازة عند (30) م وسرعة تدوير (150) دورة/دقيقة ولمدة أربعة أيام" [10].

4- طريقة إجراء التشعيع:-

اعتمدت الطريقة المستعملة من قبل الباحثين [11]. اذ حضرت تخافيف متسلسلة كالأتي (10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4}, 10^{-5}, 10^{-6}) وأخذت بعد ذلك (0.1) مليلتر من التخفيف الأخير من المعلق الفطري للعزلات الفطرية المحلية التي منحت اعلى إنتاج خلوي وأفضل كمية من السكر المتعدد الخارج خلوي (للعينات قبل التشعيع) ونشرت على إطباق الوسط المغذي الصلب المعقم وحضنت بدرجة (30) م

ولمدة ستة أيام، تم تعريضها من قبل مصدر ضوئي للأشعة فوق البنفسجية من نوع (فلورنسنز) عند طول موجي (254) نانوميتر في داخل (الكابينة هود) مغطى بقطعة قماش سوداء ولفترات زمنية (10, 20, 30, 40, 50, 60) دقيقة مع إعداد طبق سيطرة لكل تخفيف، غلفت الأطباق مباشرة بعد تعرضها للأشعة فوق البنفسجية بورق المنيوم وذلك لتجنب إعادة تنشيط ضوئي [12]. بعدها حضنت النموات بدرجة (30) م ولمدة (20) ساعة ووزعت السلالات المشعة لكل معاملة في أنابيب اختبار تحوي الوسط المغذي الصلب المعقم المائل وحضنت لمدة أسبوع وحفظت بالثلاجة لحين الاستعمال.

طرائق التحليل:-

بعد الانتهاء من مرحلة الحضانة المعينة سحبت الدوارق بصورة عشوائية بعدها أجريت عملية النبذ المركزي لمحتوى كل دورق بمعدل (10000) دورة/دقيقة ولمدة (15) دقيقة، اخذ الرائق وترك جانبا لتقدير السكر المتعدد ثم أضيف (30) مل من الماء المقطر إلى الراسب بسبب اللزوجة العالية للسكر المتعدد ولضمان الحصول على الكتلة الحيوية لوحدها أعيد النبذ المركزي مرة ثانية وبنفس السرعة والمدة وبعدها جمعت خلايا الراسب بإطباق معلومة الوزن ومعقمة ووضع الراسب الذي جمع في فرن كهربائي بدرجة (60) م ولمدة (24) ساعة وبعدها وزنت الأطباق مع الخلايا بميزان حساس وقيست الكتلة الحيوية بفارق الوزنين [13]. ولغرض تقدير السكر المتعدد في عينة الراشح الفطري فقد تم اخذ (10) مل منه وأضيف إليه (30) مل من الأسيتون وحرك المزيج بقوة وذلك لغرض ترسيب السكر المتعدد وبعدها أجريت عملية النبذ المركزي بسرعة (10000) دورة/دقيقة ولمدة (10) دقائق .فصل الرائق جانبا وجمع السكر المتعدد في أطباق زجاجية معلومة

الوزن وجففت بالفرن بدرجة (60) م ولمدة (24) ساعة ثم حسب وزن السكر المتعدد بفارق الوزنين[14].

تأثير أضافة مصادر كاربونية مختلفة على النمو الخلوي وإنتاج السكر المتعدد:

تم دراسة تأثير مصادر كاربونية مختلفة على أنتاج السكر المتعدد والكتلة الحيوية للعزلات وكانت المصادر الكاربونية (كلوكوز ، سكروز ، مالتوز ، لاكتوز ، نشآ) حضر وسط الأنتاج بمكوناته كافة فضلا عن السكريات المذكورة سابقا كلا على حدة و ضبط الرقم الهايدروجيني عند (6.0) وتم توزيع الوسط لكل نوع من السكريات وبواقع ثلاثة دوارق تم التعقيم والتلقيح باللقاح الفطري (3) مل لكل دورق وحضنت جميع العينات في حاضنة هزازة بمعدل (200) دورة/دقيقة وبعد ثلاثة أيام سحبت الدوارق وتم إجراء عملية النبذ المركزي لفصل الخلايا لغرض تقدير الكتلة الحيوية والسكر المتعدد [14].

تأثير إضافة مصادر نيتروجينية مختلفة على النمو الخلوي وإنتاج السكر المتعدد:

أستعملت مصادر نيتروجينية مختلفة لغرض تحديد أفضل مصدر نيتروجيني يمنح أعلى نمو وأعلى أنتاج وهذه المصادر (يوريا، نترات الصوديوم، فوسفات الامونيوم، كبريتات الامونيوم، كلوريد الامونيوم). وتم متابعة التجربة كما في التجربة السابقة.

النتائج والمناقشة:

1- **تشخيص عزلات الفطر *Alternria alternate*:-** شخصت العزلات المحلية وذلك بالاعتماد على الشكل الخارجي للعينات الفطرية معتمدة على الطريقة التي وضعت من قبل [15].

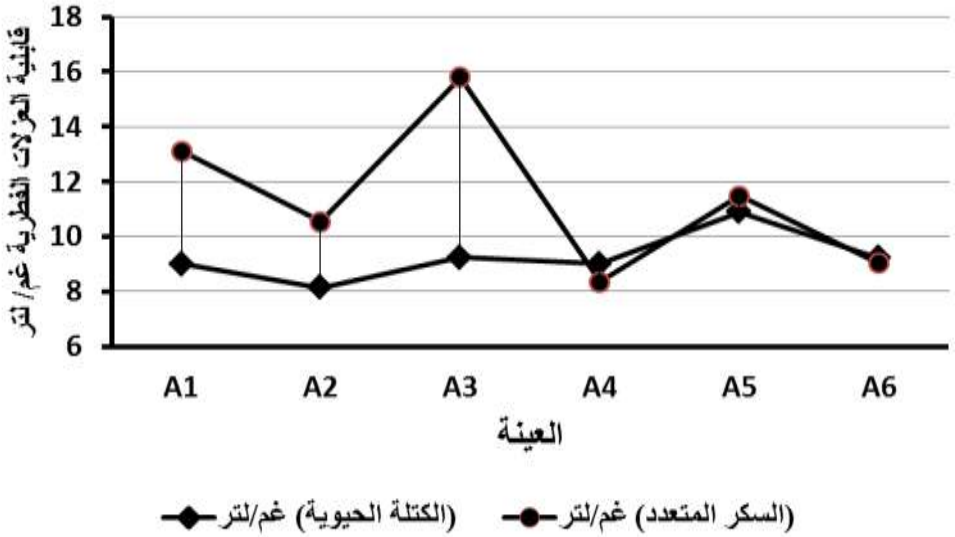
2- **قابلية العزلات الفطرية المحلية على النمو الخلوي وإنتاج السكر المتعدد:**

بعد إن تم الحصول على العزلات الفطرية المحلية وتشخيصها اختبرت قابليتها لإنتاج السكر المتعدد الخارج خلوي وأظهرت النتائج المدونة في جدول (1)

إن العزلات قد تباينت في إنتاجيتها حيث بلغت على التوالي (9.02,11.47,8.35,15.88,10.55,13.12)غم/لتر للعزلات (A4,A3,A2,A1,) على التوالي، فقد أعطت العزلة الفطرية (A3) اعلي إنتاجية للسكر خارج الخلوي إذ بلغت (15.88) غم/لتر واقل إنتاجية (8.35) غم/لتر للعزلة (A4) أما بالنسبة للكتلة الحيوية فقد كان متفاوتا أيضا اذ بلغ (9.22,10.89,9.00,9.24,8.13,9.01) غم/لتر إذأ عطت العزلة (A5) اعلى كتلة حيوية فقد بلغت (10.89) غم/لتر ويعود الاختلاف في إنتاجية السكر المتعدد والكتلة الحيوية إلى اختلاف السلالات الفطرية وطبيعتها. وهذه النتائج تتفق مع ما توصل إليه [16]. من حيث تباين العزلات المحلية لإنتاجها للسكر والنمو وتشابه إلى ما توصل إليه [17]. فقد وجد اختلاف في إنتاجية العزلات المحلية للفطر *Aureobasidium pullulans* للسكر المتعدد البوليولان والكتلة الحيوية.

جدول (1): قابلية العزلات الفطرية المحلية على النمو الخلوي وإنتاج السكر المتعدد

العينة	(الكتلة الحيوية) غم/لتر	(السكر المتعدد) غم/لتر
A1	9.01	13.12
A2	8.13	10.55
A3	9.24	15.80
A4	9.00	8.35
A5	10.89	11.47
A6	9.22	9.02



شكل (1): قابلية العزلات الفطرية المحلية على النمو الخلوي وإنتاج السكر المتعدد.

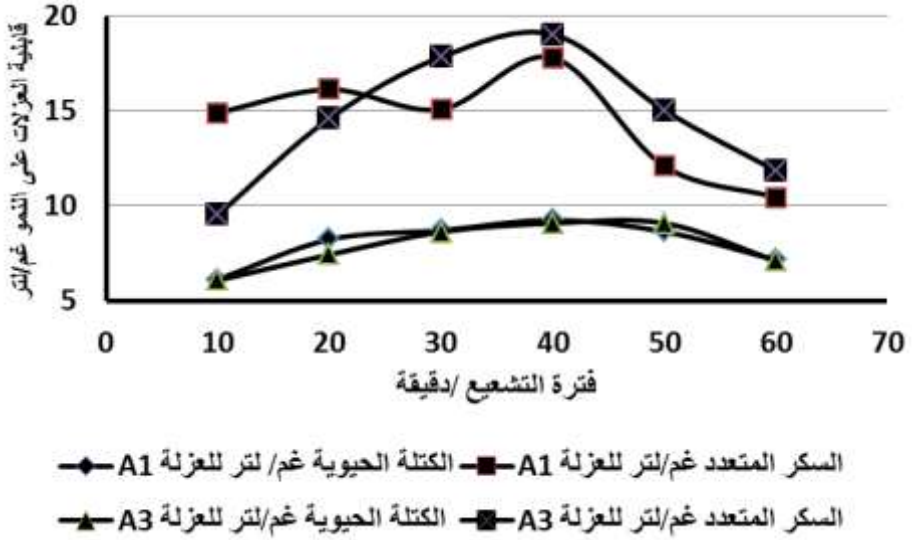
3 – تأثير الأشعة فوق البنفسجية على النمو الخلوي وإنتاج السكر المتعدد:

يبين الجدول (2) تأثير الأشعة فوق البنفسجية على إنتاج السكر والكتلة الحيوية للعزلتين (A1,A3) اللتين أعطتا اعلى نمو وإنتاج فقد تم تعريض السلالتين للأشعة فوق البنفسجية وحسب الخطوات المثبتة بفقرة التشعيع فقد اتضح إن لهذه الأشعة تأثيرا واضحا على إنتاج السكر المتعدد البوليولان إذ تم الحصول على أقصى إنتاجية للسكر من السلالة (A1) فقد بلغت(17.81) غم/لتر عند تعرضها لمدة (40) دقيقة من التشعيع بينما إنتاجها للكتلة الحيوية إذ كان التعرض لفترات واطئة أدى إلى تثبيط النمو الخلوي فقد كان اقل كتلة حيوية تم الحصول عليها (6.88) غم/لتر فيما كان أقصى إنتاج للكتلة (9.25) غم/لتر عند مدة تشعيع (40) دقيقة بينما أعطت العزلة (A3) اعلى نمو خلوي واعلى إنتاجية للسكر المتعدد اذ بلغت (19.03,9.80)غم/لتر على التوالي ولهذا فقد تم اختيار العزلة

المحلية (A3) وخلال مدة التشعيع (40) دقيقة اعتمادها في التجارب اللاحقة. إن طريقة استعمال الأشعة فوق البنفسجية في دراسات التقنية الحيوية الميكروبية لتحفيز إنتاج الأحياء المجهرية لمختلف المركبات كالفيتامينات والسكريات المتعددة الميكروبية للزنثان والبوليولان [18]. وتبدو هذه النتائج متطابقة مع ما توصل إليه [19]عند استعمال بكتريا إلـ*Bacillus sp.* وبعد تعريضها للأشعة فوق البنفسجية فقد زادت قابليتها على إنتاج السكر المتعدد مقارنة مع غير المعرضة للأشعة. وتبدو النتيجة متشابهة أيضا مع ما توصل إليه[20]. عند تعرض خميرة إلـ *Saccharomyces cervisiae* لاحظ وجود زيادة في كمية فيتامين D_2 من الخميرة التي عرضت للأشعة فوق البنفسجية مقارنة مع غير المعرضة لها.

جدول (2):قابلية العزلة المحلية A1,A3 على النمو وانتاج السكر بعد تعرضها للاشعة فوق البنفسجية بفترات زمنية مختلفة

فترة التشعيع/ دقيقة	الكتلة الحيوية غم/لتر. للعزلة A1	السكر المتعدد للعزلة A1 غم/لتر	الكتلة الحيوية غم/لتر للعزلة A3	السكر المتعدد غم/لتر للعزلةA3
10	6.13	14.91	6.08	9.53
20	8.23	16.13	7.43	14.61
30	8.71	15.09	8.63	17.84
40	9.25	17.81	9.08	19.03
50	8.64	12.10	9.09	15.03
60	7.15	10.45	7.11	11.85



شكل (2): تأثير التعرض للأشعة الفوق البنفسجية عند الطول الموجي 254 (nm)
على نمو (A1, A3) وإنتاج سكر المتعدد.

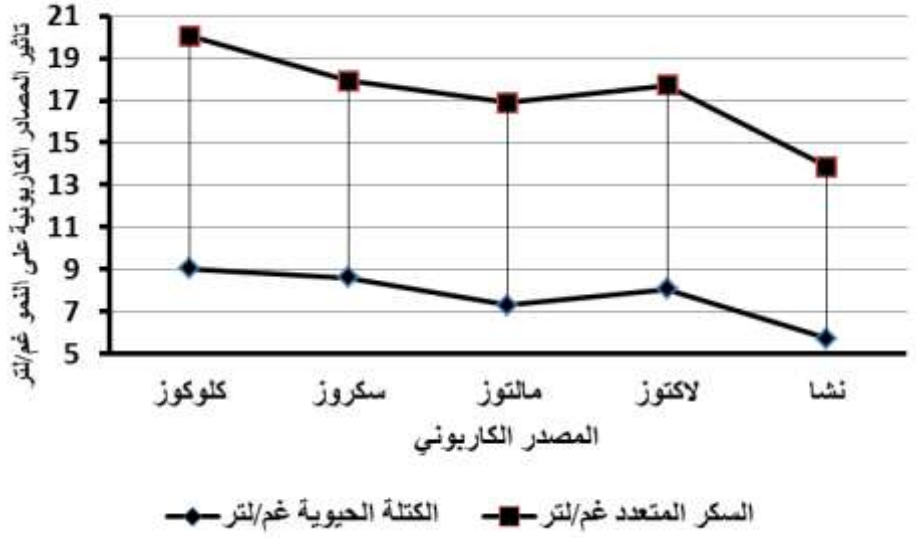
4ـ تأثير المصادر الكاربونية المختلفة على النمو الخلوي وإنتاج السكر المتعدد:

ولغرض دراسة هذا التأثير زرعت العزلة الفطرية (A3) في الوسط القياسي المضاف إليه المصادر الكاربونية المختلفة. بينت النتائج المثبتة في الجدول (3) إن أقصى إنتاجية للسكر المتعدد كانت (20.06)غم/ لتر عند استعمال الكلوكوز في حين إن النشا قد فشل في إنتاج السكر المتعدد. وربما يعود السبب في ذلك إلى عدم قدرة الفطر على إفراز إنزيم يقوم بتكسير النشا وتحويله إلى وحدات اصغر وابسط،أما بالنسبة إلى الكتلة الحيوية فقد بلغت أقصاها في الوسط المدعوم بسكر السكروز فقد بلغت (11.01) غم/لتر. أما بقية السكريات المستعملة الأخرى بوصفها مصادر كاربونية فقد دعمت إنتاجية السكر المتعدد والنمو الخلوي إلى حد معين

وبنسب متفاوتة هذه النتائج متشابهة مع الدراسات [21,22] فقد أشاروا إلى قدرة سكر الكلوكوز على دعم إنتاج السكر المتعدد البوليولان من عزلة محلية لفطر *Aureobasidium pullulans*

جدول(3): تأثير مصادر كاربونية مختلفة على النمو الخلوي وانتاج السكر المتعدد للعزلة A3 عند اليوم السادس من الحضانة

المصدر الكاربوني	الكتلة الحيوية غم/لتر	السكر المتعدد غم/لتر
كلوكوز	9.02	20.06
سكروز	8.61	17.94
مالتوز	7.30	16.91
لاكتوز	8.07	17.72
نشا	5.72	13.87



شكل (3):تأثير مصادر كاربونية مختلفة على نمو وإنتاج السكر المتعدد من السلالة A3.

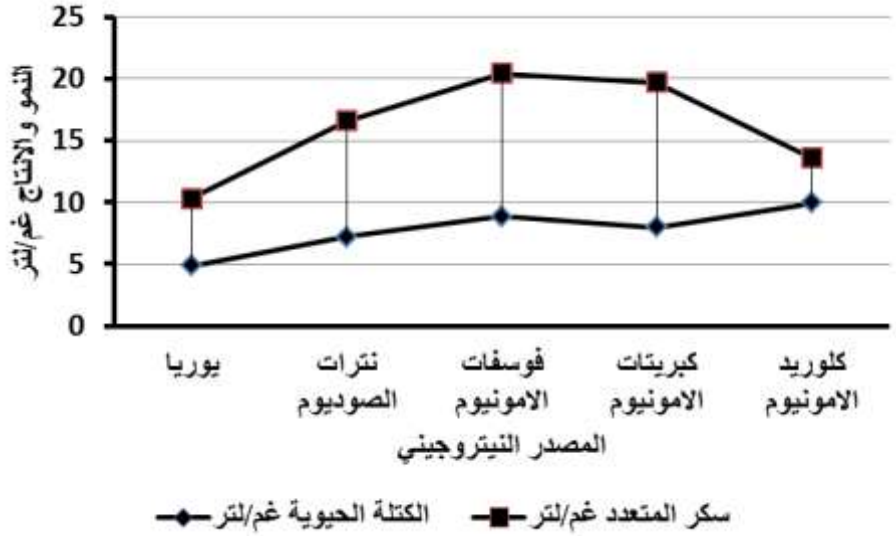
عند اليوم السادس من الحضانة.

5 ـ تأثير إضافة مصادر نترو جينية مختلفة على النمو الخلوي وإنتاج السكر المتعدد البوليولان:

بينت النتائج في جدول (4) إن اعلى إنتاجية للسكر المتعدد بلغت (20.43)غم/لتر عند استعمال فوسفات الامونيوم كمصدر نتروجيني، بينما تم الحصول على أقل إنتاجية للسكر المتعدد التي بلغت (10.30) غم / لتر كان عند استعمال اليوريا كمصدر نيتروجيني وبشكل عام كانت الإنتاجية جيدة باستخدام المصادر النيتروجينية الأخرى. ويعد أضافته إلى الوسط الغذائي ضرورية جدا لتنمية الأحياء المجهرية عليه لدوره المهم اذ يدخل في تركيب الأحماض الأمينية وتخليق البروتين للخلية وهذه النتائج تبدو مقاربة إلى ما توصل إليه [23,24] اذ أعطت فوسفات الأمونيوم إنتاجية عالية من السكر المتعدد البوليولان عند استعماله كمصدر نيتروجيني لتنمية فطر *A.Pullulans* كما كانت الإنتاجية ضعيفة جدا للسكر المتعدد عند استخدامهم لليوريا كمصدر نيتروجين . أما فيما يتعلق بنمو الفطر فقد تم الحصول على أعلى كتلة حيوية عند استخدام كلوريد الأمونيوم وقد بلغت (9.93) غم/لتر بينما كان أدنى نمو خلوي عند استعمال اليوريا وقد وصل إلى (4.86) غم/لتر . إن الإنتاج العالي من السكر المتعدد ليس من الضروري أن يقابله إنتاجية عالة للنمو الخلوي والعكس صحيح ، فقد يكون المصدر النيتروجيني المعين محفزا لانقسام الخلايا الفطرية وبالتالي الحصول على كتلة حيوية عالية ولكن قد تفتقر هذه الخلايا لإنتاج جيد من السكر المتعدد تبدو هذه النتائج مطابقة لما توصل إليه [25] عند أنتاجها للسكر المتعدد من البكتيرية المعرضة للأشعة فوق البنفسجية ولمدة (50) دقيقة.

جدول(4): تاثير مصادر نتروجينية مختلفة على النمو الخلوي وانتاج السكر المتعدد للعزله A3 عند اليوم السادس من الحضانة

المصدر النيتروجيني	الكتلة الحيوية غم/لتر	سكر المتعدد غم/لتر
يوريا	4.86	10.30
نترات الصوديوم	7.17	16.58
فوسفات الامونيوم	8.83	20.43
كبريتات الامونيوم	7.98	19.71
كلوريد الامونيوم	9.93	13.56



شكل (4):تأثير مصادر نيتروجينية مختلفة على نمو وإنتاج السكر المتعدد من العزلة (A3) عند اليوم السادس من الحضانة.

References:

1. Leathers, T.D., (2006). "Biotechnological production and application of pullulans". Appl. Microbial. and biotechno. 32. P. 32-39.

2. Leal, J.A. and Ruperez, P., (2002). "Pullulans Production of *Penicillium vermiculatum*" .Z. Naturfor-Sch. Vol. 54. P. 24-32.

3. Goatley, J.L., (2010). "Extracellular and cell wall polysaccharides of*Alternaria solani*". Can. J. Microbiol. Vol. 13. P. 85-97.

4. Eisenstark, A. (2011). "Mutagenic and lethal effects ofvisible and near-ultraviolet light on bacterial cell", caspari. Advances in genetics, Vol. 1. P. 21-2

5. الصوفي، محمد عبد الرزاق. (2015). اطالة مدة حفظ بعض الفواكه باستعمال سكر البوليولان pullulan المنتج من عزلة محلية للفطر Aureobasidium pullulans . المجلة العراقية لبحوث السوق وحماية المستهلك. المجلد 7، العدد 1 ، 181-198 .

6. Alsoufi, Mohammed, A. (2017). Extending shelf life of fruits by using some microorganisms biological products. International J. of Molecular biology. vol 2, p. 141-144.

7. Tait, M.B. Suther land, A.J. (2011). "Effect of growth condition on the roduction composition and viscosity of *Aureobasidium pullulans* exopolysaccharide". J. Gen. Microbiol. Vol. 78. P. 34-42.
8. West T.P.G, Chen. (20016). "Pullulans production from synthetic medium by a new mutant of *Alternaria alternate*". Biochem, Biotechnol. Vol. 43. P. 67-80.
9. Xiaoliu Y,u. Wei, G.k. (2012). "Pullulans production and physiological characteristics of *Aueobasidium pullulans* under acid stress". Appl. Microbio. and Biotecg. Vol. 14. P. 98-104.
10. Sreenivas Rao,R.; P.J. Hobbs. (2011). "Extracellular polysaccharide by a novel strain of yeast–like fungus *Aureobasidium pullulans*". Elsevier Ltd. Vol. 39. P. 65-77.
11. R.J. Seviour, S.J. Auer. (2008). "Construction of lactose, utilizing, *Xanthmonas campestris*and production of xanthan gum from whey", Appl. microbil. Vol. 27. P. 32-43.
12. H.K. Abbas, G. Hegley. (2001). "Effect of conidia production temperature on germination and infectivity of *Alternaria helianthi*". Biol J.N. Am. Vol. 45. P. 65-77.
13. Pollock, T.J.; Thorn, L. (2005). "Isolation of new *Aternaria alternate* strain that produce polysaccharide pullulans with reduced pigmentation". Appl. Envirochemical., Vol. 76. P. 57-70.
14. Kawahara, H., and A.L.Obata. (2008). "production of Xathan gum and ice-nucleating material from *Xanthmonas campestris*". Appl. microbial. Vol. 85.
15. العبيدي، صفاء إسماعيل رشيد (1998). "ظروف إنتاج وطبيعة إنتاج وطبيعة السكر المتعدد البوليولان المنتج بوساطة إحدى العزلات المحلية للفطر *Aureobasidium pullulans*" .رسالة ماجستير. كلية التربية، جامعة الموصل، العراق.

16. إسماعيل، محمد بشير، خالد دحام احمد وزينة وجيه. (2016). "تأثير إضافة مصادر كاربونية ونتروجينية مختلفة عل ى إنتاج السكر المتعدد البوليولان من الفطر *Aureobasidium pullulans*". مجلة التربية والعلم العدد (11).

17. الحيالي، ولاء حمدون شكر، شمال يونس وزينة وجيه (2009). "دراسة الظروف المثالية وتأثير الأشعة فوق البنفسجية على إنتاج السكر المتعدد الخارج خلوي المنتج من العزلة المحلية *Bacillus subtilis*". مجلة تكريت للعلوم الصرفة. العدد (17).

18. الشاهري، يوسف جبار. (1999). "تحسين إنتاجية العزلة المحلية من الفطر *Aureobasidium pullulans* من السكر المتعدد (البوليولان) باستخدام الأشعة فوق البنفسجية" . رسالة ماجستير، كلية التربية، جامعة الموصل، العراق.

19. الراوجي، عصام داؤود سليمان. (2006). "إنتاج وفعالية السكر المتعدد والسم لفطر *Alternaria alternate* المعزول محليا". أطروحة دكتوراه، كلية التربية، جامعة الموصل، العراق.

20. كاظم، خالد خورشيد. (2003). "الإشعاع الحياتي". دار الحكمة للطباعة والنشر، جامعة الموصل، العراق.

21. إسماعيل، محمد بشير وعصام داؤود سليمان. (2006). "التشخيص الرافدين، المتعدد خارج الخلوي من الفطر *Alternaria alternate* المعزول محليا من ثمار الطماطة" . مجلة علوم الرافدين، المجلد 17، العراق.

22. الحيالي، ولاء حمدون شكر ومصطفى محمد حيدر. (1999). "تأثيرالأشعة فوق البنفسجية على النمو وإنتاج دهن أحادي الخلية للمادة الأولية لفيتامين D2 من خميرة MUBEy-W1*Saccharomy cescerevisia*" . مجلة التربية والعلم، العدد مجلة التربية والعلم، العدد (35)، العراق.

23. محسن، عذراء حرجان (2008). "تأثير الأشعة فوق البنفسجية في نمو الفطرين *Aspergillus flavus* و *Aspergillus niger* وإنتاج الافلوتوكسينات" .مجلة جامعة بابل، العدد (21)، العراق.

24. إسماعيل، محمد بشير وزينة وجيه (2012). "دراسة تأثير مصادر كاربونية ونتروجينية مختلفة في إنتاج السكر المتعدد الزنثان بواسطة البكتريا *Xanthomonas campestris* ATCC13951" .مجلة التربية والعلم، المجلد (25)، العدد (2)، العراق.

25. الجرجري، ندوة محمد خضر (2003). "إنتاج وتوصيف الزانثان بواسطة البكتريا *Xanthomonascampestris* باستخدام مولاس البنجر السكري". رسالة ماجستير، كلية التربية، جامعة الموصل. العراق.

Study the optical condition and effect of Ultraviolet ray on extracellular polysaccharide pullulans production from local isolation of *Alternaria alternate*

Walla H. Shuker
Basic Education College/ University of Mosul

Abstract

Six local isolates of *Alternaria alternate* were isolated from different infection plant.The ability of these isolates for pullulans production using production medium was investigated.The highest production of biomass and pullulans were achieved from isolates [A3] with (15.88) g/L and then isolates [A1] gave (13.12) g/L from pullulans.Experiment has affected the exposure time of ultraviolet light on isolates strains [A1,A3].The results are showed isolates [A1,A3] gave highest of production from the first case (not exposure to ultraviolet light) with [17.81,19.81] g/L respectively,studied effect different carbon,nitrogen sources to strain [A3] it gave highest production the pullulans,the result showed to sucrose as a carbon sources and ammonium phosphate as a nitrogen sucrose wereyielded the best production of pullulans (20.43,20.06)g/L at six day of incubate.