# دراسة الظروف المثالية وتأثير الاشعة فوق البنفسجية في انتاج السكر المتعدد الخارج خلوي المنتج من العزلة المحلية *Bacillus subtilis*

**ولاء حمدون شكر[١] ، شمال يونس[٢] ، زينة وجيه الجادر[٣]**

[١] *قسم علوم الحياة ، كلية المعلمين ، جامعة الموصل ، الموصل ، العراق*

[٢] *قسم علوم الحياة ، كلية التربية ، جامعة الموصل ، الموصل ، العراق*

[٣] *قسم علوم الحياة ، كلية التربية ، جامعة الموصل ، الموصل ، العراق*

( تاريخ الاستلام: ٧ / ١٢ /٢٠٠٨ ، تاريخ القبول: ٨ / ٦ / ٢٠٠٩ )

**الملخص:**

تضمن البحث استخدام الاشعة فوق البنفسجية Ultra violet(UV) ودراسة تاثير انواع مختلفة من المصادر الكاربونية والنتروجينية وتراكيز مختلفة من مستخلص الخميرة.Yeast extract وتاثير مستويات متعددة من الرقم الهيدروجيني الأولي في قابلية العزلة *Bacillus subtilis* على انتاج السكر المتعدد الخارج خلوي.تبين ان اعلى انتاجية للسكر المتعدد كانت (٥,١٥ غم/لتر) بعد ٧ ايام من التحضين عند تعريض الجرثومة لمدة ٦٠ ثانية للاشعة فوق البنفسجية واختيرت كافضل عزلة لانتاج السكر المتعدد. بينما تحققت اعلى انتاجية للسكر المتعدد عند استخدام السكروز ونترات الصوديوم (٥,٦٣ و٥,١٠ غم/لتر) واقل انتاجية من السكر المتعدد عند استخدام اللاكتوز ونتريت الصوديوم (١,٧٠ و١,٩٩ غم/لتر) بوصفهما مصدرا للكاربون والنتروجين على التوالي.اما عند اضافة مستخلص الخميرة بتركيز ٢ غم/لتر الى الوسط الزرعي فانه اعطى انتاجية عالية من السكر بلغت(٥,٤١ غم/لتر). واقصى انتاجية للسكر المتعدد تم الحصول عليها عند الرقم الهيدروجيني الاولي (٥,٥).

**المقدمة:**

ان السكريات المتعددة الجرثومية احدى اهم النتاجات المستكشفة حديثا التي تنتجها خلايا الجراثيم باستخدام المخمرات Fermenters الصناعية. قد تكون احدى المكونات التركيبية الاساسية المكونة لخلايا الجراثيم او قد تكون داخل الخلايا او تفرز الى خارج الخلايا. ومومالاشك فيه ان الاحياء المجهرية المنتجة للسكريات المتعددة خارج خلاياها هي افضل تلك الانواع وذلك لسهولة عزلها بتكاليف قليلة(١) فضلا عن تطبيقاتها الواسعة في مجال الصناعات الغذائية بوصفها مثخنات ومواد للنكهة (٢) وكذلك في الصناعات الدوائية كمستحضرات التجميل ومراهم ومعاجين الاسنان (٣). وايضا في التطبيقات الصناعية كمافي صناعة الاصباغ وصناعة الورق والاحبار (٤).ان الاشعة فوق البنفسجية قصيرة الموجات تمتاز بقدرتها التطفيرية العالية (٥) اذ تمتص هذه الاشعة من قبل البيورينات والبريميدينات المكونة للقواعد النتروجينية للحامض النووي DNA عند الطول الموجي ٢٥٤ نانوميتر وتؤدي الى حدوث تغيرات في ترتيب وتعاقب القواعد النتروجينية الذي ينعكس على تركيب المادة الوراثية ممايؤدي الى حدوث الطفرة او التغيير الذي يعبر عنه في تحضير جينات معينة لانتاج مركبات خاصة (٦).

لذلك فان هدف الدراسة كان في استخدام الاشعة فوق البنفسجية لزيادة الانتاجية للسلالة المحلية لجرثومة *Bacillus subtilis* واختبار قابلية العزلة على انتاج السكر المتعدد وتحديد الظروف المثلى للانتاجية من خلال دراسة تاثير عدد من المصادر الكاربونية والنتروجينية وتراكيز مختلفة من مستخلص الخميرة وتاثير الرقم الهيدروجيني الاولي في الانتاجية من قبل هذه الجرثومة.

**المواد وطرائق البحث**

**الاوساط والظروف الزرعية.**

استخدم الوسط القياسي الذي يتكون من: ٢٠ غم كلوكوز، ٥ غم فوسفات البوتاسيوم احادية الهيدروجين، ٠,١ غم كبريتات المغنيسيوم المائية، ٠,٥ غم مستخلص الخميرة، ٠,٤ غم اليوريا في لتر من الماء المقطر، وضبط الرقم الهيدروجيني عند ٧,٠ (٧) وذلك لمتابعة نمو الجرثومة وتأثير المصادر الكاربونية والنايتروجينية المختلفة المضافة إلى الوسط القياسي وتأثيرها على انتاجها من السكر المتعدد وتغيرات الرقم الهيدروجيني خلال مدة التحضين في الوسط.

حضر اللقاح بنقل الجرثومة *Bacillus subtilis* التي تم عزلها مسبقا (٨) والمنماةعلى وسط الاكار المغذي (Nutrient Agar )إلى دورق مخروطي سعة ٢٥٠ مل يحتوي على ٤٥ مل من الوسط القياسي المعقم ووضع الدورق في الحاضنة الهزازة في درجة حرارة ٢٨±١°م عند سرعة (١٥٠ دورة/دقيقة) ولمدة ٤٨ ساعة. ولغرض انتاج السكر المتعدد لقح الوسط القياسي الموزع في دوارق سعتها ٢٥٠ مل بمعدل (٤٥ مل/دورق) وبـ ٥ مل من المعلق الجرثومي حضنت بعدها في الحاضنة الهزازة بدرجة حرارة ٢٨±١°م وبمعدل (١٥٠ دورة/دقيقة) ولمدة ٧ ايام حسب طريقة الصميدعي(٩).

**طرائق التحليل**

بعد انهاء مدة الحضانة سحبت الدوارق من الحاضنة الهزازة ثم أجريت عليها البسترة Pesteurization بالحمام المائي في درجة حرارة ٦٠ °م ومدة ٥ دقائق وذلك لغرض قتل خلايا الجرثومة والحفاظ على البيئة المحلية من التلوث بهذه الجرثومة. تركت الدوارق بعد ذلك تبرد وضبط الرقم الهيدروجيني النهائي لكل دورق وأجريت عملية النبذ المركزي عند (٩٠٠٠ دورة/دقيقة) لمحتوى كل دورق ولمدة ٣٠ دقيقة لغرض حساب الكتلة الحيوية للخلايا المترسبة التي جمعت بعد ذلك في اطباق زجاجية صغيرة موزونة مسبقاً وجففت في فرن كهربائي بدرجة حرارة ٦٠ °م ولمدة ٢٤ ساعة. ولغرض تقدير السكر المتعدد في طبق الراشح الجرثومي فقد اخذ ١٠ مل منه واضيف اليه ٣٠ مل من الاسيتون (١٠) ثم طرد مركزيا عند سرعة (٩٠٠٠ دورة/ دقيقة) ولمدة ٣٠ دقيقة ونقل السكر المتعدد المترسب في اطباق زجاجية معلومة الوزن وجففت محتوياتها في الفرن

الكهربائي عند ٦٠°م ولمدة ٢٤ ساعة وتم احتساب وزن الكتلة الحيوية والسكر المتعدد بفارق الوزنين باستخدام ميزان حساس.

**التشعيع:**

اعتمدت الطريقة المستخدمة من قبل الباحثين (١١) حيث حضرت تخافيف متسلسلة (١٠^-١، ١٠^-٢..... ١٠^-٦) وأخذت بعد ذلك ٠,١ مليلتر من التخفيف الأخير من المعلق الجرثومي لـ *Bacillus subtilis* ونشرت على إطباق الاكار المغذي الصلب المعقم (Nutrient Agar) وبعد اكتمال نموهاعرضت للأشعة فوق البنفسجية عند طول موجي (٢٥٤) نانوميتر لفترات زمنية (١٠ ، ٢٠ ، ٤٠ ، ٦٠)دقيقة مع اعداد طبق سيطرة لكل تخفيف. غلقت الأطباق مباشرة بعد تعريضها للاشعة فوق البنفسجية بورق المنيوم وذلك لتجنب حدوث اعادة تنشيط ضوئي Photoreactivation (١٢) بعدها حضنت النموات بدرجة ٢٨±١°م لمدة ١٨ ساعة. ثم زرعت السلالة المطفرة لكل معاملة في انابيب اختبار تحوي الوسط المغذي الصلب المعقم المائل وحضنت عند درجة (٢٨±١°م ) لمدة اسبوع وحفظت في الثلاجة لحين الاستخدام.

**النتائج والمناقشة:**

١. تاثير الاشعة فوق البنفسجية في انتاج السكر المتعدد خارج خلوي ونمو الجرثومة.

يبين الجدول (١) تاثير الاشعة فوق البنفسجية على انتاج السكر والكتلة الحيوية للعزلة المحلية *Bacillus subtilis* . ان للاشعة فوق البنفسجية تأثير واضح على انتاج السكر المتعدد الخارج خلوي. اذ تم الحصول على اقصى انتاجية للسكر (٥,١٥ غم/لتر) عند تعريض الجرثومة لمدة ٦٠ دقيقة للاشعة فوق البنفسجية فيما تراجعت انتاجية السكر عند تعريض الجرثومة لفترات زمنية واطئة من التشعيع. اذ تم الحصول على اقل انتاجية (٣,٠٨ غم/لتر) عند تعريض البكتريا لفترة ٣٠ دقيقة للاشعة فوق البنفسجية. وقد كان تاثير التعريض للاشعة فوق البنفسجية واضحاً جداً فيمايتعلق بانتاج الكتلة الحيوية ايضا اذ ان التعريض لفترات واطئة مختلفة ادى بشكل كبير الى تثبيط انتاج الكتلة الحيوية اذ تم الحصول على اقل انتاج للكتلة الحيوية (١,٩٨ غم/لتر) فيما كان اقصى انتاج للكتلة الحيوية (٤,٣٣ غم/لتر) عند التعريض لمدة (٦٠)دقيقة للاشعة فوق البنفسجية.

وعلى هذا الاساس تم اختيار الجرثومة المعرضة لمدة (٦٠) دقيقة والتي اعطت اعلى انتاجية من السكر المتعدد الخارج خلوي والكتلة الحيوية في التجارب اللاحقة.اما الاس الهيدروجيني النهائي للمزارع فقد انخفض عن الاس الهيدروجيني الاولي ويعزى سبب هذا الانخفاض الى الفعاليات الايضية المختلفة وتراكم الحوامض العضوية التي تنتجها الجرثومة خلال مدة الحضانة. ان طريقة استخدام الاشعة فوق البنفسجية في دراسات التقنية الحيوية الميكروبية لتحفيز انتاج الاحياء المجهرية لمختلف المركبات كحامض الستريك (١٣) والسكريات المتعددة الميكروبية للزانثان والبوليولان (١٢،١٤).

٢. تأثير المصادر الكاربونية على نمو الجرثومة وانتاج السكر المتعدد وتغيرات الرقم الهيدروجيني النهائي للوسط القياسي.

لغرض دراسة هذا التأثير زرعت جرثومة *Bacillus subtilis* في الوسط القياسي المضاف اليه المصادر الكاربونية المختلفة بتركيز ٢% (وزن/حجم) وهي السكريات التالية (كلوكوز، سكروز، فركتوز، لاكتوز، ارابينوز) (مع مراعاة خلو الوسط القياسي من سكر الكلوكوز عند اضافة السكريات) حددت انتاجية السكر المتعدد والكتلة الحيوية والرقم الهيدروجيني بعد ٧ايام من التحضين.

بينت النتائج الواردة في الجدول (٢) أن أقصى انتاجية من السكر المتعدد (٥,٦٣ غم/لتر) كانت عند استخدام السكروز وابدت السلالة عند استخدام الكلوكوز انتاجية مقاربة للمصدر الكاربوني السكروز وان هذه النتيجة جاءت مقاربة لما حصل عليه الجادر (١٥)وقريبة لنتائج كثير من البحوث لسلالات من الفطر *Aureobasidium pullulans* حيث اكد كل من (١٦،١٧) ان كل من الكلوكوز والسكروز يدعمان الانتاج بصورة جيدة لسهولة تمثيله من قبل الاحياء الدقيقية. في الجانب الاخر لم يدعم اللاكتوز كمصدر كاربوني أي انتاج من السكر المتعدد حيث اعطى انتاجية قليلة من السكر المتعدد (١,٧٠ غم/لتر) واقل انتاجية من الكتلة الحيوية (١,٥٥غم/لتر) مقارنة مع السكريات الاخرى. وكانت هذه النتيجة قريبة جدا لنتائج (١٨) وتتفق مع ما اشار اليه الباحث من ان اللاكتوز لا يدعم انتاج السكريات المتعددة في حين اعلى انتاجية للكتلة الحيوية (٤,٧٨ غم/لتر). عند استخدام السكروزكمصدر كاربوني. وانخفاض الرقم الهيدروجيني النهائي للمزارع المختلفة عن الرقم الهيدروجيني الاولي (٧,٠) تقريبا عند استخدام انواع السكريات جميعاً. ان هذا الانخفاض يتماشى مع النتائج التي اوردها الباحثين الذين اكدو انخفاض الرقم الهيدروجيني النهائي عن الرقم الهيدروجيني الاولي عند استخدام الاوساط القياسية لانتاج انواع مختلفة من السكريات المتعدد (١٩،٢٠،٢١).

٣. تاثير المصدر النايتروجيني في نمو الجرثومة وانتاج السكر المتعدد وتغييرات الرقم الهيدروجيني في الوسط القياسي.

لغرض دراسة تاثير المصادر النتروجينية المختلفة في انتاج السكر المتعدد من الجرثومة *Bacillus subtilis* تم استخدام عدد من المصادر النايتروجينية وهي (يوريا، نترات الصوديوم، نتريت الصوديوم، كبريتات الامونيوم ونترات الامونيوم) بوصفها مصدراً نايتروجينياً اضيفت الى الوسط القياسي بتركيز (٠,٠١٨ %) اعتماداً على تركيز النايتروجين في اليوريا المستخدم في الوسط القياسي. بينت النتائج في (الجدول ٣) ان اعلى انتاجية للسكر المتعدد البالغة (٥,١٠ غم/لتر) حصلت عند استخدام نترات الصوديوم بوصفها مصدرا نايتروجينيا في حين تم الحصول على اقل انتاجية منه(١,٩٩ غم/لتر) عند استخدام نتريت الصوديوم. ان هذا التاثير التحفيزي من قبل نترات الصوديوم جاء مقارباً لنتائج Souw وDemain (٢٢). واعطت نترات الصوديوم انتاجية عالية من الزانثان عند استخدامهاكمصدر نايتروجيني لتنمية الجرثومة *Xanthomonas campestris* NRRLB-143 ، كما كانت انتاجية الزانثان ضعيفة جداً عند استخدام نترايت الصوديوم ويعزى ذلك الى كون مادة النترايت ذات تاثير سمي على العديد من الاحياء المجهرية (٢٣)، اما فيما يتعلق بنمو جرثومة *Bacillus subtilis* فقد تحقق اعلى انتاجية للكتلة الحيوية (٣,٤٧ غم/ لتر) عند استخدام كبريتات الامونيوم وتم الحصول على اوطئ انتاجية لها (١,٦٣ غم/لتر) عند استخدام نترايت الصوديوم. كما ان الرقم

الهيدروجيني النهائي انخفض عن الرقم الهيدروجيني الاولي (٧,٠) كما حدث في السابقة.

٤. اضافة تراكيز مختلفة من مستخلص الخميرة في انتاج السكر المتعدد ونمو الجرثومة.

في هذه التجربة تم اضافة تراكيز مختلفة من مستخلص الخميرة الى الوسط الغذائي بوصفه مصدرا للفيتامينات وعوامل النمو. بين (جدول٤) ان اضافة مستخلص الخميرة ادى الى زيادة طفيفة في انتاجية السكر المتعدد الخارج خلوي حيث تم الحصول على (٥,٤١ غم/لتر) عند اضافة (٢,٠ غم/ لتر) من مستخلص الخميرة في الوسط القياسي (مع مراعاة خلو الوسط القياسي من مستخلص الخميرة اثناء اجراء التجربة). فيما كانت انتاجية السكر المتعدد (٤,٩٨ غم/لتر) عند عدم اضافة مستخلص الخميرة الى الوسط القياسي (٠غم/لتر).لكن التاثير كان واضحا بالنسبة لمستخلص الخميرة على انتاج الكتلة الحيوية اذ تم التوصل الى اقصى كتلة حيوية (٤,٨٣ غم/لتر) عند التركيز (٢,٥ غم/لتر) من مستخلص الخميرة. بينما كان انتاج الكتلة الحيوية (٣,٨٧ غم/لتر) من دون اضافة مستخلص الخميرة الى الوسط الغذائي بينما كانت التراكيز العالية من مستخلص الخميرة الى حد تركيز (٤,٠ غم/لتر) مثبطة للكتلة الحيوية. وقد يكون سبب تحفيز نمو جرثومة *Bacillus subtilis* عند اضافة مستخلص الخميرة وعند تركيز معين هو احتواء مستخلص الخميرة على عوامل النمو والفيتامينات ومنظمات النمو الضرورية للنمو.

ان هذه النتائج مقاربة الى ما توصل اليه (١٥) من انتاج السكر المتعدد الزانثان والكتلة الحيوية عند اضافة مستخلص الخميرة الى وسط انتاج الزانثان بواسطة البكتريا *Xanthomonas campestris* . انخفض الاس الهيدروجيني النهائي مقارنة بالاس الهيدروجيني الاولي.

٥. تاثير الاس الهيدروجيني في انتاج السكر ونمو الجرثومة.

اشار Rose (٢٤) ان لكل نوع من الاحياء المجهرية لها مدى معين من درجات الحموضة ، وان أي تغيير بسيط في الحموضة فانها تؤثر على نفاذية الخلايا وكذلك يؤدي الى التغيير في طبيعة الفعاليات الحيوية التي تحدث في الخلية . لذا فمن الضروري جداً السيطرة على حموضة الوسط الغذائي. وذلك من خلال اضافة محاليل منظمة او السيطرة على الاس الهيدروجيني ذاتياً من خلال الضخ الاوتوماتيكي كحامض او قاعدة للسيطرة على تركيز معين لايونات الهيدروجين (٢٥).تم في هذه التجربة دراسة تأثير الرقم الهيدروجيني الاولي على نمو الجرثومة وانتاج السكر المتعدد. اظهر الجدول(٥) ان جرثومة *Bacillus subtilis* لها مدى واسع من الرقم الهيدروجيني (٣,٠-٩,٠).ظهر اقصى انتاج من السكر المتعدد (٥,٨١ غم/لتر) عندما كان الرقم الهيدروجيني الاول(٥,٥) في حين انخفض انتاج السكر المتعدد بزيادة الرقم الهيدروجيني الاولي. اما نمو الجرثومة فقد كان أقصاه (٤,٩٠ غم/لتر) عند الرقم الهيدروجيني الاولي (٦,٥) ثم انخفضت الكتلة الحيوية مع زيادة قيمة الرقم الهيدروجيني الاولي حتى وصوله إلى (٠,٥٨ غم/لتر) عند الرقم الهيدروجيني الاولي (٩,٠). اما الرقم الهيدروجيني النهائي فعموما انخفض عن الرقم الهيدروجيني الاولي.

النتائج في هذه التجربة كانت مشابهة تقريباً لنتائج (٢٥) حيث يبدو ان الرقم الهيدروجيني الامثل لانتاج السكر المتعدد كان (٥,٥) في حين بينت الجادر(١٥) ان الرقم الهيدروجيني الامثل لانتاج السكر المتعدد كان (٧,٥).

**جدول (١) تاثير التعرض للاشعة فوق البنفسجية عند الطول الموجي ٢٥٤ نانوميتر في نمو الجرثومة وانتاج السكر المتعدد الخارج خلوي .**

| زمن التعرض (ثانية) | السكر المتعدد (غم/لتر) (Mean ± S.D.) | الكتلة الحيوية (غم/لتر) (Mean ± S.D.) | pH النهائي |
|---|---|---|---|
| 10 min | ٣,٢٣±٠,٠٣ | ١,٩٨±٠,٤٢ | ٥,١±٠,٨٧ |
| 20 min | ٣,٢٥±٠,٠١ | ٢,٦٥±٠,١٧ | ٤,٩±٠,٠٢ |
| 30 min | ٣,٠٨±٠,٠٥ | ٢,٧٢±٠,١٠ | ٤,٧±٠,٧٠ |
| 60 min | ٥,١٥±٠,٢٠ | ٤,٣٣±٠,٠٢ | ٥,٦±٠,١٩ |
| contrrol | ٣,٤٨±٠,٠١ | ٢,١٠±٠,٠٤ | ٦,٩±٠,٠٢ |

القيم الواردة في أعلاه تمثل معدل مكررين

**جدول (٢) تاثير اضافة المصادر الكاربونية المختلفة في نمو الجرثومة وانتاج السكر المتعدد والرقم الهيدروجيني في الوسط القياسي بعد ٧ ايام من التحضين.**

| المصادر الكاربونية(٢%) | السكر المتعدد (غم/لتر) (Mean ± S.D.) | الكتلة الحيوية (غم/لتر) (Mean ± S.D.) | pH النهائي |
|---|---|---|---|
| كلوكوز | ٥,٤٢ ± ٠,٠١ | ٣,٥١± ٠,٠٢ | ٤,٠٤± ٠,١٧ |
| سكروز | ٥,٦٣ ± ٠,٨١ | ٤,٧٨ ± ٠,٤٣ | ٤,٢٩±٠,٠٣ |
| فركتوز | ٣,٨٢ ± ١,٧٧ | ٣,٨٥ ± ٠,٠٥ | ٥,٤٤±٠,٨١ |
| لاكتوز | ١,٧٠ ± ٠,١٥ | ١,٥٥ ± ٠,٧٢ | ٦,٢٨±١,٠٩ |
| ارابينوز | ١,٩٩ ± ٠,٠٠ | ٢,١٧ ± ٠,٧٩ | ٥,١١±٠,٧٦ |

القيم الواردة في أعلاه تمثل معدل مكررين

**جدول (٣) تاثير اضافة مصادر نايتروجينية مختلفة في نمو الجرثومة وانتاج السكر المتعدد والرقم الهيدروجيني في الوسط القياسي بعد ٧ ايام من التحضين.**

| المصدر النايتروجيني (٠,٠١٨غم/لتر) | السكر المتعدد (غم/لتر) (Mean ± S.D.) | الكتلة الحيوية (غم/لتر) (Mean ± S.D.) | pH النهائي |
|---|---|---|---|
| يوريا | ٤,٩١ ± ٠,٣٠ | ٢,٨٣ ± ٠,٠١ | ٥,٧٨ ± ٠,٠١ |
| نترات الصوديوم | ٥,١٠ ± ٠,٠٥ | ٢,٩٨ ± ٠,٦٠ | ٥,٢٥ ± ٠,٠٤ |
| نترايت الصوديوم | ١,٩٩ ± ٠,٠١ | ١,٦٣ ± ٠,٧٨ | ٥,٩٩ ± ٠,٢٠ |
| كبريتات الامونيوم | ٢,٧٨ ± ٠,٦٨ | ٣,٤٧ ± ٠,٠٢ | ٥,٢١ ± ٠,٠٣ |
| نترات الامونيوم | ٢,٩٤ ± ٠,٠٤ | ٢,٥١ ± ٠,٠٠ | ٦,٣٢ ± ٠,٤٢ |

القيم الواردة في أعلاه تمثل معدل مكررين

**جدول (٤) تاثير اضافة تراكيز مختلفة من مستخلص الخميرة على نمو الجرثومة وانتاج السكر المتعدد والرقم الهيدروجيني النهائي للوسط القياسي بعد ٧ ايام من التحضين .**

| **تركيز مستخلص الخميرة (غم/لتر)** | **السكر المتعدد (غم/لتر) (Mean ± S.D.)** | **الكتلة الحيوية (غم/لتر) (Mean ± S.D.)** | **pH النهائي** |
|---|---|---|---|
| ٠,٠ | ٤,٩٨ ±٠,٠٢ | ٣,٨٧ ± ٠,٦٩ | ٤,٠١ ± ١,٢٠ |
| ٠,٥ | ٥,١٣ ±٠,٠٤ | ٤,٢٩ ± ٠,٢٠ | ٤,١٩ ± ٠,٩١ |
| ١,٠ | ٥,٢٢ ±٠,٤٢ | ٤,٥٣ ± ٠,٠١ | ٤,٢٦ ± ٠,٠١ |
| ١,٥ | ٥,٢٠ ±٠,٥٦ | ٤,٧٢ ± ٠,٠١ | ٤,٣٣ ± ٠,٠٠ |
| 2.0 | ٥,٤١ ±٠,٠١ | ٤,٧٦ ± ٠,٠٠ | ٥,٢٢ ± ٠,٠٥ |
| 2.5 | ٥,٣٣ ±٠,٠٥ | ٤,٨٣ ± ٠,٧٩ | ٥,٢٥ ± ٠,٠٤ |
| 3.0 | ٥,٠١ ±٠,٧٢ | ٣,٩٦ ±٠,٠٢ | ٥,١٩ ±٠,٢٦ |
| 3.5 | ٤,٦٧ ±٠,٠٥ | ٢,٨٠ ±٠,١٧ | ٥,٩٣ ±٠,٠١ |
| 4.0 | ٤,٣٠ ±٠,٠١ | ٢,١٠ ±٠,٠٩ | ٦,٠١ ±٠,٨١ |

القيم الواردة في أعلاه تمثل معدل مكررين

**جدول (٥) تاثير قيمة الاس الهيدروجيني الاولي على نمو الجرثومة وانتاج السكر المتعدد والرقم الهيدروجيني النهائي للوسط القياسي بعد ٧ ايام من التحضين .**

| **الرقم الهيدروجيني الاولي** | **السكر المتعدد (غم/لتر) (Mean ± S.D.)** | **الكتلة الحيوية (غم/لتر) (Mean ± S.D.)** | **pH النهائي** |
|---|---|---|---|
| ٣,٠ | ٠,٩٨ ± ٠,٠١ | ٠,٨٠ ± ٠,٢٠ | ٢,٦٢ ± ٠,١٤ |
| ٣,٥ | ١,٥٠ ± ٠,٠٢ | ١,٨٠ ± ٠,٥١ | ٢,٧٢ ± ٠,١٦ |
| ٤,٠ | ١,٧٣ ± ٠,٠٧ | ١,٢٥ ± ٠,٠٧ | ٢,٩١ ± ٠,١٠ |
| 4.5 | ٢,٣٠ ± ٠,٨٩ | ١,١٩ ± ٠,٤٢ | ٢,٠٣ ± ٠,٠٧ |
| 5.0 | ٤,٦٩ ± ٠,٢٠ | ٢,٠٦ ± ٠,١٩ | ٣,٤٥ ± ٠,٣٠ |
| 5.5 | ٥,٨١ ± ٠,٩٠ | ٣,٦٨ ± ٠,٣٩ | ٤,٩٠ ± ٠,٠٥ |
| 6.0 | ٥,٦٣ ± ٠,٠٢ | ٤,٦٣ ± ٢,٨١ | ٤,٨٧ ± ٠,٢٨ |
| 6.5 | ٤,٩١ ± ٠,٤٢ | ٤,٩٠ ± ٠,٠٣ | ٤,٤١ ± ٠,٤٥ |
| 7.0 | ٤,١١ ± ٠,٠١ | ٤,٨٢ ± ٠,٨١ | ٤,٥٣ ± ٢,١٢ |
| 7.5 | ٢,٦٧ ± ٠,١٩ | ٣,٨٠ ± ٠,٠٠ | ٥,٥٥ ± ٠,٠٦ |
| 8.0 | ١,١٢ ± ٠,٣٩ | ٢,٠٢ ± ٠,٥٦ | ٥,٦٥ ± ٠,٠٧ |
| 8.5 | ١,٠٨ ± ٠,٠٣ | ٠,٦٤ ± ٠,٠١ | ٦,٨٠ ± ٠,٠١ |
| 9.0 | ٠,٦٠ ± ٠,٠١ | ٠,٥٨ ± ٠,٠٦ | ٦,٦٥ ± ٠,٠٣ |

القيم الواردة في أعلاه تمثل معدل مكررين

**المصادر:**


1. azel M. A.,S. G. Wilkinson and T. L. Pitt, J. Clinical. Microbiol. PP. 59-63 (1997).
2. Cottrell. I. W. and K. S. Kang, Develop. Industrial Microbiol. 19:117-131 (1978).
3. Devuyst L. and B. Degeest,. Microbiol. Rev. 23: 153-356 (1999).
4. Sandford P. A., Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry. 36: 266-312 (1979).
5. Cathreine, A., P. H. D. Carson, R. Huch, M. D. Taylor and C. Fra. Modren Medicine of Australia (1994).

٦. . كاظم، خالد خورشيد (١٩٩١)، الاشعاع الحياتي، دار الحكمة للطباعة والنشر، جامعة الموصل، العراق.

7. Hayens W. C.; L. J. Wickerham and C. W. Hesseltine, Appl. Microbiol. 3: 361-368 (1955).

٨. شكر،ولاء حمدون (٢٠٠٧). عزل وتشخيص جرثومة *Bacillus* sp. ودراسة الظروف الملائمة لانتاج السكر المتعدد الخارج خلوي على وسط مولاس البنجر السكري.

٩. الصميدعي،طه عبد الوهاب خميس جمعة (٢٠٠١). انتاج الزانثان بوساطة البكتريا *Xanthomonas campestris* من الشرش، رسالة ماجستير، كلية التربية، جامعة الموصل، العراق.

10. Tait M. I., I. W. Stherland and A. J. Clarke-Stuman, J. Gen. Microbiol. 132: 1483-1492 (1986).
11. Movitz, J., S. Masuda and J. Sjoquist. Microbiol. Immun. 23:51-60 (1979).

١٢. الراوجي، عصام داؤد سليمان (٢٠٠٥). انتاج وفعالية السكر المتعدد والسم لفطر *Alternaria alternate* المعزول محليا. اطروحة دكتوراه،كلية التربية، جامعة الموصل، العراق.

13. UL- Haq, I., S. Ali, M. A. Qadeer and J. Iqbal. Biotechnol., 5: 1-6. (2002)

١٤. الشاهري، يوسف جبار(١٩٩٩).تحسين انتاجية العزلة المحلية من الفطر (Ap1) *Aureobasidium pullulans*1 من السكر المتعدد (البوليولان) باستخدام الاشعة فوق البنفسجية ،رسالة ماجستير، كلية التربية، جامعة الموصل،العراق.

١٥.الجادر،زينة وجيه (٢٠٠٥). تاثير المتطلبات الغذائية لبكتريا *Xanthomonas campestris* ATCC 13951 في انتاج السكر المتعدد الزانثان. رسالة ماجستير/كلية التربية/ جامعة الموصل/ العراق.

16. West,T. P. and B. Reed. Hamer. Microbiol. Lett., 113: 345-348 (1993).
17. Shin, Y.C., H. K. Han and S. M. Byun. Korean J. Food Sci. Technol., 22: 533-538 (1990).
18. Catley, B. J. Appl, Microbiol., 22: 641-646 (1971)

١٩. النعيمي، عبد الكريم سليمان حسن (٢٠٠١). ظروف انتاج وتوصيف السكر المتعدد (السكليروكلوكان) من احدى عزلات الفطر *Sclerotium rolfsii*. اطروحة دكتوراه، كلية التربية، جامعة الموصل، العراق.

20. Devuyst L. and A. Vermere, Apple Microbiol. Bitoechnol. 42: 187-191 (1994).
21. Lella L.K. and G. Sharma. Bioprocess Engin. 23: 687-689 (2000).
22. Souw P. and A. L. Demain, Appl. Engin. Microbiol. 37: 1186-1192 (1979).

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

24. Rose, A. H. Chemical Microbiology, an introduction to microbial physiology. Butter worths, London. U.K.
25. Lacroix, C., A. LeDuy, G. Noel and Choplin. Biotechnol. Bioeng. 207: 202-205. (1985).


# Study the optical condition and effect of Ultraviolet ray on extracellular polysaccharide production from local isolation of *Bacillus subtilis* bacteria


(Received 7 / 12 / 2008 , Accepted 8 / 6 / 2009)



## Abstract

The effect of Ultra violet (UV) different concentration of carbon and nitrogen sources, yeast extract and pH values on the ability of extracellular polysaccharide production in *Bacillus subtilis* were studied. The higher value of polysaccharide production is 5.15 g/l after 7 days from incubation when the bacteria were exposed to UV for 60min. Different carbon and nitrogen sources were added to the media. higher production of polysaccharide were found after adding sucrose and sodium nitrate to the media (5.63 , 5.10 g/L),

respectively. Also, adding lactose and sodium nitrate showed decreasing in polysaccharide production (1.70 and 1.99 g/l), respectively. Supplementing the media with yeast extract at 2 g/l revealed increasing in polysaccharide production (5.41 g/l). Also, adjusting the pH value of the media to (5.5) showed increasing in polysaccharide production