تأثير اضافة بعض المواد الكيمياوية على بيئة الاوساط الغذائية المختبرية المستخدمة في نمو الفطريات

نهاد عبد محمد
كلية العلوم/جامعة تكريت

الخلاصـــــة:

تم في هذه الدراسة استخدام اوساط غذائية مختلفة مع بعض المواد الكيمياوية وبتخافيف مختلفة للمقارنة في الحصول على افضل وسط غذائي لنمو الفطريات المنتشرة بالهواء. حيث اظهرت نتـــائج البحث بأن افضل الاوساط لنمو عزلة Aspergillus كانت هي تركيز 0.001 مل لجميع المركبـــات الكيمياوية وفي جميع الاوساط المستخدمة في الدراسة، كما اظهرت النتائج ان اضافة NaOH بتركيز 0.001 مل للوسط الغذائي P.D.A يكون افضل وسط في حفظ الاغذية الصناعية.

المقـدمـــة:

ان جميع الكائنات الحية تحتاج الى طاقة لأجل ادامة انشطتها الحيوية وعلى اساس المصـادر التي يشتق منها الكائن الحي الطاقة منها، فقد شخصت مجموعتين متمايزتين من الكائنات الحية وهما ضوئية التغذية (Phototrophs) والكائنات الحية كيمياوية التغذية والتي تكون غير قادرة على استخدام الطاقة الشمسية (Chemotrophs). غير ان لكلا المجموعتين من الاحياء بعض الاحتياجات الاساسية من المواد الاولية لتغذيتها مثل الكاربون، النتروجين، الصوديوم وبعض الاملاح الاخرى وقد تمت بنجاح اول المزارع للفطريات Mucor, Aspergillus على بعض الاوساط الغذائية الطبيعية او المختبرية (سرحان، شريف ، 1988).

وتعد الفطريات من اكثر الكائنات الحية تاثراً بالاوساط التي تعيشها حيث تتأثر بأي تغيير بسيط في الوسط الغذائي لها مما يؤدي ذلك الى نتائج قد تكون غير مرغوبة كان يزداد او ينخفض في نموها بشكل كبير عن الحد المطلوب (الرجب، القزاز، 1986). ومن هذا المنطلق فقد أجريت كثير من البحوث لمحاولة السيطرة على النمو الميكروبي وذلك للحد من انتشار بعض السموم التي تفرزها هذه الاحياء في المواد الغذائية بعد معرفة هوية هذه الاحياء المجهرية والحد منها تفادياً للمشاكل التي قد تحدثها، ومن هذه البحوث مثلاً حول درجة الحرارة، التعقيم، المبيدات والمضادات الحياتية والتسخين الى آخره (البياتي، 1992). كما انه هناك كثير من الفطريات تفرز بعض انواع السموم في الاغذية، منها قد تكون سامة جداً (البياتي، 2001). وقد ثبت ايضاً ان مخلفات الشاي له تأثير على نمو بعض احياء التربة كالديدان الارضية او الاحياء المجهرية (جي-دبليو- ديكن، 1985).

وعليه ان التغير في الاوساط الغذائية ومكوناتها يؤدي الى التغير في نمو الاحياء المجهرية وبالاخص الفطريات وحسب تلك المواد المتغيرة كأن تكون الحامضية او القاعدية او غيرها من المواد الغذائية، والهدف من هذه الدراسة لإيجاد الحد الامثل لنمو بعض الفطريات من خلال دراسة المتغيرات التي اجريت على الوسط الغذائي بأكمله او التغير في تراكيز المواد الكيمياوية المضافة اليه.

المواد وطرائق العمـــل

أ- الاوساط الغذائية المستخدمة

1- Sabouraud Dextrose Agar

Glucose	40 g
Peptone	10 g
Agar	20 g

ماء مقطر 1 لتر

الاس الهيدروجيني لهذا الوسط هو (5.5 - 5.6 PH)

Malt extract Agar -2

Peptone	1 g
Glucose	20 g
Malt extract	20 g
Agar	20 g

ماء مقطر 1 لتر

3- بطاطا – دكستروز – اكر. (P.D.A)

بطاطا 200 غم

دكستروز 20 غم

اكر 25 غم

1 لتر ماء مقطر

في (1)، (2) اعلاه تذاب المواد جيداً كل وسط على انفراد ثم تعقم بجهاز التعقيم الكهربائي Autoclave لمدة 15 دقيقة على درجة 121 مْ تحت ضغط 15/ جو ثم تترك الاوساط لتبرد قليلاً بعدها تصب في اطباق بتري (9 سم) لاعدادها للزرع اما الوسط (3) فيتم تقشير البطاطا اولاً ثم تقطيعها الى قطع صغيرة وغليها لمدة 30 دقيقة بعد ان يتم اخذ الراشح منها ثم تضاف بقية المكونات. الدكستروز والاكر وتذاب جيداً ثم يعقم الوسط كما ورد في الفقرتين (1) و (2) (Metin and Sami , 2001)، (Bialy and Satts, 1986).

ب- المواد الكيمياوية المضافة الى الاوساط في الفقرة (أ) مع تخافيفها ثم اضافة بعض المواد الكيمياوية على الاوساط الغذائية المحضرة في الفقرة (أ) وعلى تخافيف مختلفة لملاحظة تأثير هذه المواد على نمو الفطريات المنتشرة في الهواء او في اماكن اخرى.

1- Ascorbic acid %10

التراكيز $0.1ml$ ، $0.01ml$ ، $0.001ml$

2- NaOH %10

$0.1ml$ ، $0.01ml$ ، $0.001ml$

3- NaCl %10

$0.1\ ml$ ، $0.01ml$ ، $0.001ml$

بعد تحضير الاوساط الغذائية تم صبها في اطباق بتري (9 سم) ثم اضيف لها المواد الكيمياوية الواردة في الفقرة (ب) وبالتراكيز المبينة اعلاه. ثم بعد ذلك فتحت اغطية الاطباق وتركت للتلوث بالهواء الطلق لمدة 15 دقيقة ثم بعد ذلك حضنت لمدة اسبوع على درجة حرارة 27 – 28 مْ في حاضنة كهربائية ليتم فحصها بعد ذلك.

علماً بأنه اجريت 3 مكررات لكل معاملة وتركت نفس الاوساط الزرعية ايضاً دون معاملتها بالمواد الكيمياوية لغرض المقارنة.

النتائج والمناقشة

يتضح من الجداول رقم (1)،(2)،(3) بأن هناك تأثير واضح للمواد الكيمياوية المضافة للاوساط الغذائية الزرعية على نمو الفطريات وعلى انواعها او عدد المستعمرات وكالآتي:-

المختصرات التي وردت في الجداول :-

Malt Extract Agar = M. E. A

Potato Dextrose Agar = P. D. A

Sabouraud Dextrose Agar = Sab. D. A

اما المعاملات التي تركت دون اضافة المواد الكيمياوية فأنها جاءت متشابه من حيث النتائج في احتوائها على الفطريات مثل Aspergillus و Rhizopu وبدرجات تلوث عالية من الفطريات الاخرى وهي ذات محتوى عالي جداً من هذه الفطريات مقارنتاً مع الاوساط المعاملة بالمواد الكيمياوية.

وعليه من نتائج الجداول اعلاه نلاحظ ان هناك فرق كبير في نمو الفطريات على الاوساط الغذائية المختبرية والتي ظهرت بشكل واضح في عدد من المعاملات حيث لوحظ ان التركيز 0.001 للمواد الكيمياوية في جميع الاوساط المستخدمة في التجربة هو الافضل لنمو عزلات من فطر Aspergillus وهذا قد يفسر بأن هذا الفطر يفضل الاوساط الحامضية الحفيفة التركيز (Baily and Sactts, 1986) أستثناء الوسط P. D. A المضافة اليه 0.001 مل من NaOH كما لوحظ ان العزلة الزرقاء من فطر Aspergillus قد نمت بشكل جيد في الوسط (M. E. A) بأستخدام NaOH في حين لم يظهر نمو هذا النمو في الوسط اعلاه المضاف اليه Ascorbic Acid.

من الملاحظات التي ظهرت في نتائج الجدول (1) هي ان افضل وسط غذائي لنمو الفطر Aspergillus هي Sab. D. A بأضافة مادة Ascorbic Acid وبكمية 0.001 مل.

ومن الظواهر الاخرى لوحظ عدم تصلب الوسط الغذائي (Sab. D. A) عند اضافة 0.001 مل من NaCl وقد يفسر هذا بأن اي اختلاف في الاس الهيدروجيني للوسط قد يؤدي الى هذه الظاهرة (Pelczar, et_al, 1989).

من الاوساط التي بقت دون تلوث هو الوسط P. D. A مضافاً اليه NaOH 0.001 مل وقد يستفاد من هذا الكمية في حفظ الاغذية التي تكون احد مكوناتها السكريات او النشأ يلي ذلك 0.1 لمادة NaCl حيث ظهرت الاطباق اقل تلوثاً بالفطريات من بقية الاطباق، وقد يكون السبب في ذلك ان الوسط اصبح قاعدياً عند اضافة NaOH والذي تسبب في ارتفاع قيمة PH (الاس الهيدروجيني) وهو ما لا تفضله الفطريات (Bailey and Mansfield, 1982) في بيئاتها.

تبين من التحليل الاحصائي ليس هناك فروق معنوية بين التراكيز ولا بين المواد الكيمياوية، في حين ظهرت هناك فروق معنوية بين الوسط P.D.A والوسط M.E.A وايضاً الوسط P.D.A والوسط Sab.D.A.

نستنتج من الدراسة ان اختلاف الاس الهيدروجيني له اهمية كبيرة في اختيار الاوساط الغذائية للفطريات وايضاً تؤثر هذه القيمة في تصلب او عدم تصلب تلك الاوساط الغذائية، وتستحق هذه الظاهرة الى دراسة اكثر للوصول الى افضل النتائج في تحديد قيمة PH لكثير من الفطريات.

جدول رقم (1)

تأثير تخافيف مختلفة من محلول 10% حامض الاسكوربيك اسد على نمو الفطريات

الوسط الزراعي		M. E. A	Sab. D. Agar	P. D. A.
المادة الكيمياوية	درجة التخفيف			
Ascorbic Acid	0.1	مستعمرات كثيفة من فطر Rhizopus واكثر من 20 مستعمرة من فطر Aspergillus.	20 مستعمرة سوداء اللون من Aspergillus مع غطاء كثيف Rhizopus.	مستعمرة واحدة من Rhizopus.
	0.01	مستعمرات اقل من فطر Rhizopus وكذلك الحال للفطر Aspergillus.	15 مستعمرة من الفطر Aspergillus سوداء اللون +غطاء من Rhizopus.	مستعمرتين من Rhizopus. مستعمرتين من Aspergillus.
	0.001	2 -3 مستعمرة من فطر Rhizopus + اكثر من 30 مستعمرة من Aspergillus السوداء اللون.	10 مستعمرات سوداء اللون من Aspergillus و 20 مستعمرة زرقاء اللون من Rhizopus.	فقط مستعمرات صغيرة من Aspergillus.

M.E.A: Malt Extract Agar
P.D.A: Potato Dextrose Agar
Sab.D.A: Sabouraud Dextrose Agar

جدول رقم (2)

تأثير تخافيف مختلفة من محلول 10% هيدروكسيد الصوديوم على نمو الفطريات

الوسط الزراعي		M. E. A	Sab. D. Agar	P. D. A.
المادة الكيمياوية	درجة التخفيف			
NaOH	0.1	ظهور 45 مستعمرة Aspergillus زرقاء اللون مستعمرتين من الفطر اعلاه اخضر اللون. وغطاء كثيف من فطر Rhizopus.	مستعمرتين سوداء اللون من Aspergillus. 20 مستعمرة من Aspergillus بيضاء اللون.	3 مستعمرات سوداء اللون من Aspergillus. 14 مستعمرات سوداء اللون من Aspergillus. مستعمرات بكتيرية.
	0.01	5 مستعمرة صغيرة من فطر Aspergillus زرقاء اللون+غطاء كثيف من فطر Rhizopus.	9 مستعمرات سوداء اللون من Aspergillus. 25 مستعمرة من Aspergillus زرقاء اللون.	مستعمرتين سوداء اللون من Aspergillus+ مزارع بكتيرية
	0.001	6 مستعمرات من Aspergillus زرقاء اللون+ 2 مستعمرة سوداء اللون+غطاء كثيف من فطر Rhizopus.	15 مستعمرة سوداء اللون من فطر Aspergillus. 7 مستعمرات زرقاء اللون من نفس الفطر اعلاه.	لم يظهر اي نمو للفطريات.

جدول رقم (2)

تأثير تخافيف مختلفة من محلول 10% هيدروكسيد الصوديوم على نمو الفطريات

P. D. A.	Sab. D. Agar	M. E. A	الوسط الزراعي	
			درجة التخفيف	المادة الكيمياوية
3 مستعمرات سوداء اللون من Aspergillus. 14 مستعمرات سوداء اللون من Aspergillus. مستعمرات بكتيرية.	مستعمرتين سوداء اللون من Aspergillus. 20 مستعمرة من Aspergillus بيضاء اللون.	ظهور 45 مستعمرة Aspergillus زرقاء اللون مستعمرتين من الفطر اعلاه اخضر اللون. وغطاء كثيف من فطر Rhizopus.	0.1	NaOH
مستعمرتين سوداء اللون من Aspergillus+ مزارع بكتيرية	9 مستعمرات سوداء اللون من Aspergillus. 25 مستعمرة من Aspergillus زرقاء اللون.	5 مستعمرة صغيرة من فطر Aspergillus زرقاء اللون+غطاء كثيف من فطر Rhizopus.	0.01	
لم يظهر اي نمو للفطريات.	15 مستعمرة سوداء اللون من فطر Aspergillus. 7 مستعمرات زرقاء اللون من نفس الفطر اعلاه.	6 مستعمرات من Aspergillus زرقاء اللون+ 2 مستعمرة سوداء اللون+غطاء كثيف من فطر Rhizopus.	0.001	

جدول رقم (3)

تأثير تخافيف مختلفة من محلول 10% كلوريد الصوديوم على نمو الفطريات

الوسط الزراعي		M. E. A	Sab. D. Agar	P. D. A.
المادة الكيمياوية	درجة التخفيف			
NaCl	0.1	10 مستعمرات من فطر Aspergillus سوداء اللون و 6 مستعمرات خضراء مع غطاء كثيف Rhizopus.	30 مستعمرة سوداء اللون من Aspergillus. 15مستعمرة زرقاء اللون من Aspergillus وغطاء من فطر Rhizopus.	5 مستعمرة من Aspergillus زرقاء اللون.
	0.01	8 مستعمرات سوداء اللون من فطر Aspergillus وغطاء كثيف من Rhizopus.	19 مستعمرة سوداء اللون من Aspergillus غطاء كثيف من Rhizopus.	2مستعمرة من Aspergillus سوداء اللون. 8 مستعمرات من Aspergillus بيضاء اللون.
	0.001	10 مستعمرات سوداء اللون من فطر Aspergillus مع غطاء كثيف جداً من فطر Rhizopus.	25 مستعمرة سوداء اللون من Aspergillus. 10 مستعمرة من نفس الفطر اعلاه زرقاء اللون. وغطاء كثيف من فطر Rhizopus .	3 مستعمرات بيضاء اللون من Aspergillus.

المصـــــادر

1- د.عبدالرضا طه سرحان و د.فياض محمد شريف، جامعة صلاح الدين – اربيل (1988). فسلجة الفطريات.

2- الرجب، وفاء جاسم وحسن محمد على القزاز (1986) . علم الاحياء المجهرية/ الجزء الاول.

3- البياتي، عبدالرسول خضر وحسين محمد علي صالح (1992) فصل مكونات مركب الفيتوالكساين المستخلص من اوراق وسيقان الطماطة. مجلة كلية التربية- جامعة صلاح الدين. مجلد 3. العدد 1.

4- البياتي، عبدالرسول خضر وجاسم محمد عزيز الجبوري (2001) تأثير رواسب الشاي على ديدان تأليل الحنطة. مجلة كلية للعلوم الزراعية- جامعة تكريت. كلية الزراعة المجلد 1. العدد 7 السنة 2001.

5- جي- دبليو- ديكن- مدخل الى علم الفطريات الحديثة. ترجمة- عبد حسين علي وعبدالرسـول خضر البياتي (1985) جامعة صلاح الدين- اربيل.

6- Metin, D. and Sami, O. (2001): Determination of some fungal Metabolite as influenced by Temp. Time, PH. and Sugar By Bioassay Method. Turkish Journal of Biology 25: 197-203. 2001.

7- Bialy, A and Scatts, J. (1986). Diagnostic of Microbiology 7 th edition.

8- Pelczar, J.; Micheel, R. and Krieg, J. (1989). Microbiology Fifth edition, McGraw-Hill Book Company.

9- Bialey J.A and Mansfield (1982) Phytoalexins Blackie, Glasgow and London.

Effect Of Addition Chemical Compounds to The Environmental a Laboratory Culture Media On Airborne Fungi

N. A. Mohammed
College of Sciences
University of Tikrit

Abstract

Different culture media were used in this study with different of several chemical compounds for comparison and to find a selective media for certain airborne fungi.

The results obtained that the best media for growth of Aspergillus was 0.001 ml concentration of all chemical compounds with all media used in this study. The results showed that P.D.A media with 0.001 ml NaOH was that best media for storage of foods industrials.