دراسة مظهرية وحياتية الفطر *Emericella nidulans* (Eidam) Vuill.

على ستة من الأوساط الزرعية

كوثر محمد علي حسن
كلية العلوم للبنات – جامعة بابل
kawtherali1972@yahoo.com

الخلاصة

لتقويم بعض معايير نمو الفطر *Emericella nidulans* على مجموعة من الأوساط الزرعية جرى تقدير معدلات أقطار مستعمرات الفطر وإنتاج الابواغ وتأثير درجات الحرارة المختلفة في معدلات أقطار مستعمرات الفطر النامية في ست أوساط صلبة وقياس الوزن الجاف في ست أوساط سائلة, وتبين أن أفضل نمو للفطر كان على وسطي أكار مستخلص الخميرة والزابك مع 20% سكروز CY20SA ووسط أكار السابروید والسكروز SSA ، وأعطت الأوساط السائلة أعلى نسبة للوزن الجاف على وسطي CY20SB و SSB بينما تفوق وسطي أكار البطاطا والدكستروز PSA واكار مستخلص الشعير MEA في أنتاج الابواغ على باقي الأوساط . وأتضح أن درجة الحرارة 35°م كانت المثلى لنمو الفطر ، كما تضمن البحث أيضا دراسة مديات التغاير التي تؤثر بها الأوساط الزرعية في الصفات المظهرية المتمثلة بأقطار المستعمرات وصبغاتها الأمامية والخلفية وصفات التحزز ، إضافة إلى دراسة الصفات المجهرية المتمثلة من خلال قياس الحامل الكونيدي والرؤوس الكونيدية والابواغ الجنسية واللاجنسية والأجسام الثمرية وخلايا Hüll cells .

الكلمات مفتاحية : *Emericella nidulans*، الصفات المظهرية، قياس نمو الفطر.

Abstract

This study aimed to evaluated many growth parameters of *E. nidulans* such as colony characters, spores production, dry weight, pigments and microscopic characters for conidia, conidiophores, sexual carps, asexual spores and Hüll cells. The colony dimeter and spores production were measured on six sold media while the dry weight of mycelia mats were performed on broth culture.

The results showed that the best growth of *E. nidulans* was on CY20SA and SSA and the high dry weight was observed on CY20SB and SSB. The best media for high spore production was showed on PSA and MEA. The favorable temperature gave optimumfungal growth was 35˚C.

Key words :- *Emericella nidulans*, Phenotypic characters, Growth parameters.

المقدمة

يعد الجنس *Emericella* Berk. احد الأطوار الجنسية Telomorph للفطر *Aspergillus* Fr.:Fr.. العائد إلى صنف الفطريات الكيسية Ascomycetes (Pitt & Hocking ,2009) ويضم الجنس *Emericella* 27 نوعا وفقا لتصنيف Pitt & Samson ، 1993 ويعد الفطر *E. nidulans* احد هذه الأنواع والذي كان مسجل سابقا بأسم Eidam *Sterigmatocystis nidulans* (Samson & Pitt, 2000) ، أما الطور اللاجنسي Anamorph لهذا الفطر هو *Aspergillus nidulans* (Eidam) G.Winter وهو الأكثر شيوعا في التسمية من *E.nidulans* (Wei, 2003) .

ينتشر الفطر *E. nidulans* بشكل شائع في الهواء ومعظم الترب (Moustafa, 1982) و في الأغذية وخصوصا الحبوب كالحنطة والشعير والرز والذرة ومنتوجاتها وقي الفول السوداني والبندق واللحم وفول الصويا والفاصولياء الجافة والفلفل والشوكولاتة وبعض أنواع التوابل (Pitt & Hocking, 2009) .

وقد تمكن الباحث Arya وجماعته 2001 من عزل ثمانية أنواع من فطر *Aspergillus* من هواء وغبار إحدى المتاحف الهندية الخاصة بالمومياء المصرية والبابلية وكان من بينها الفطر *A.nidulans* . ويعد هذا الفطر احد الفطريات التي تصيب الحيوانات ومنها الحصان حيث تسبب إصابات فطرية في الكيس الحلقي (Mycosis of the guttural pouch) للأحصنة (Guillot & *et al.,* 1997) لكنها نادرا ما تصيب الإنسان (Summerbell, 1998) .

وقد استخدمت عدة عزلات من الفطر *A. nidulans* في مجال التضاد الحيوي ضد الفطريات الممرضة للنبات ومنها الفطر *Fusarium xysporumo* f.sp*. lycopersici* المسبب لمرض ذبول الطماطة (Sibounnavong & *et al.*,2008 , 2009a & b) كما استخدم ضد الفطر *Clletotrichum gloeosporiodes* المسبب لمرض الانثراكنوز (Talubnak & Soytong , 2010) .

ولندرة الدراسات المظهرية والحياتية على انواع الجنس *Aspergillus* في العراق لذلك اسهدفت الدراسة الحالية أجراء دراسة مقارنة للصفات المظهرية والمجهرية للفطر *E. nidulans* على ست اوساط زرعية صلبة وتقدير إنتاجه للأبواغ الكونيدية على الأوساط الصلبة وحساب الوزن الجاف لمزارع الفطر في ست أوساط سائلة.

المواد وطرائق العمل

1- عزل الفطر *E. nidulans*

اعتمدت طريقة التخافيف لعينة تربة زراعية من محافظة كربلاء في عزل الفطر على الوسط الصلب (Potato Sucrose Agar) وبعد تشخيص الفطر حفظ في مائل الوسط PSA slant المحضر في أنابيب سعة 15 مل وحفظت هذه المزارع بدرجة حرارة 4°م لغرض إجراء الدراسات اللاحقة عليها.

2- الأوساط الزرعية المستخدمة في الدراسة

حضرت الأوساط التالية وفقا لطرائق كل من (Pitt & Hocking, 2009) و (Sibounnavong & *et al.*, 2009 b)

1- (PSA) Potato Sucrose Agar
2- (MEA) Malt Extract Agar
3- (SSA) Sabouraud Sucrose Agar
4- (CZA) Czapek Dox Agar
5- (CYA) Czapek Yeast Extract Agar
6- (CYA20S) Czapek Yeast Extract Agar with 20% Sucrose

أضيف المضاد الحيوي Chloramphenicol الى جميع الأوساط السابقة بنسبة 250 ملغم لكل لتر ثم عقمت هذه الأوساط في جهاز المؤصدة Autoclave بدرجة 121°م وضغط 15 باوند لمدة 20 دقيقة ,بعدها صبت في أطباق بتري بلاستيكية معقمة بقطر 9 سم.

3- دراسة الصفات المظهرية للفطر *E. nidulans* على الأوساط الصلبة

لقحت الأطباق الحاوية على الأوساط الزرعية السابقة الذكر بقرص لقاحة قطره 0.5 سم اخذ بواسطة ثاقب فليني معقم من حافة مزرعة الفطر *E. nidulans* وبمعدل ثلاث مكررات لكل وسط ,بعدها حضنت الأطباق بدرجة 28-30°م لمدة 14 يوم وتم قياس قطر المستعمرات عند مرحلة العمر 7 و14 يوم ,كما درست هذه المستعمرات من حيث ألونها ونسجتها وصبغاتها الخلفية والذائبة والتحزز Sulcate الامامي والخلفي لها على كل وسط زرعي وتم توثيق مديات التغاير في صفات المستعمرات على الاوساط الزرعية قيد الدراسة من خلال تصويرها بالكاميرا الرقمية من نوع Genx .

4- دراسة الصفات المجهرية للفطر *E. nidulans* على الأوساط الصلبة

حضرت شرائح زجاجية من لقاحه مأخوذة من حافة مستعمرة الفطر *E. nidulans* بواسطة لوب معقم وفحصت تحت المجهر المركب من نوع Novel حيث تم فحص وقياس أشكال وأطوال 20-25 لكل من الحامل الكونيدي والحوصلة والأبواغ الكونيدية والأجسام الثمرية وخلايا Hüll cell المحيطة بها والابواغ الكيسية على كل وسط زرعي وتم تصويرها بالكاميرا المحمولة على المجهر من نوع DC .

5- دراسة تأثير درجات الحرارة المختلفة على نمو الفطر *E. nidulans*

لتحديد درجات الحرارة المثلى لنمو الفطر على الوسط الصلب تم تلقيح مركز الاطباق الحاوية على الوسط الزرعي الصلب PSA بقرص قطرة 0.5 سم اخذ بواسطة ثاقب فليني معقم من حافة مزرعة الفطر *E.nidulans* وحضنت الأطباق بدرجات حرارة (15 و25 و35 و45)°م وبمعدل ثلاث مكررات لكل درجة حرارة لمدة 7 أيام بعدها تم قياس قطر المستعمرات لكل درجة حرارة .

6- حساب عدد الابواغ للفطر *E. nidulans*

جرى حساب عدد الأبواغ الكونيدية للفطر *E. nidulans* من خلال اعتماد طريقة Sibounnavung وجماعته (2009b) إذ تم حساب الابواغ بمعدل قراءتين / مكرر وبواقع ثلاث مكررات / وسط واستخدمت لهذا الغرض شريحة عد كريات الدم Haemocytometer حسب المعادلة التالية :-

معدل عدد الابواغ /مل =معدل عدد الابواغ في خمسة مربعات احدها مركزي ×25 × 10^4

7- قياس الوزن الجاف للفطر *E. nidulans* على الأوساط السائلة

حضرت الأوساط المذكورة سابقا في الفقرة 2 لكن بدون إضافة الاكار وقد حضر 150 مل من كل وسط ووضع في دورق زجاجي سعة 250 مل وعقم بجهاز المؤصدة Autoclave بدرجة 121°م وضغط 15 باوند لمدة 20 دقيقة , وبعدها تم تلقيح كل دورق بقرص لقاحة قطره 1 سم اخذ بواسطة ثاقب فليني معقم من حافة مزرعة الفطر *E . nidulans* ثم وضعت الدوارق الملقحة على هزاز كهربائي وحضنت بدرجة 28-30°م لمدة 14 يوم بعدها تم حساب الوزن الجاف بعد ترشيح كل مزرعة سائلة خلال ورقة ترشيح معروفة الوزن بعد ذلك جففت ورقة الترشيح مع الغزل الفطري من خلال وضعها في الفرن بدرجة حرارة 40°م لمدة 24 ساعة بعدها تم حساب الوزن الجاف للغزل الفطري لكل وسط من الاوساط السائلة .

النتائج والمناقشة

1- الصفات المظهرية للفطر *E. nidulans* على الأوساط الصلبة

اعطى الفطر *E.nidulans* نموا جيدا على جميع الأوساط الزرعية الصلبة المستخدمة في الدراسة اذ تراوحت معدلات اقطار المستعمرات في الاوساط الزرعية قيد الدراسة من 3.9-6.1 كما هو مبين في الجدول (1) , ومن الجدير بالذكر إن اغلب الأوساط المحضرة استخدم فيها السكروز بدلا من الدكستروز وذلك لأن الفطر *E.nidulans* يحتاج إلى السكروز كمصدر للكاربون أكثر من اى سكر آخر حيث يستطيع النمو بشكل جيد خلال 5 أيام عند إضافة على الأقل 5% من السكروز في الوسط الزرعي المنمى عليه الفطر (Delgado-Virgen & Guzman-de-Pena, 2009) وهذا يتفق مع الدراسة التي أجراها الباحث Bucio-Villalobos وجماعته (2005) في مقارنة متطلبات النمو بين الفطرين *A.parasiticus* و*A.nidulans* حيث وجدوا أن ظروف النمو الملائمة في الوسط الزرعي هي بإضافة سكر الكلوكوز كمصدر للكاربون الى الوسط الخاص بالنوع الأول بينما إضافة السكروز إلى الوسط الخاص بالنوع الثاني, واتضح من النتائج إن أفضل نمو للفطر مقدر بقطر المستعمرات كان على وسط CYA20S الذي يحوي على أعلى نسبة من السكروز مقارنة مع بقية الأوساط حيث بلغ معدل أقطار مستعمرات الفطر على هذا الوسط 6.1 سم حيث إن وسط CYA20S يعد وسط ملائم لنمو وتشخيص اغلب أنواع جنس *Aspergillus* (Pitt & Hocking, 2009).

كما أعطت الأوساط SSA و PSA و MEA كفاءة جيدة في نمو مستعمرة الفطر *E.nidulans* مع وجود تفوق معنوي للوسط SSA الذي بلغ معدل قطر مستعمرة الفطر فيه 6 سم مقارنة مع الوسطين PSA و MEA حيث بلغ معدل قطر مستعمرة الفطر في كليهما 5.6 سم وقد يعود سبب كفاءة الوسط SSA إلى انه وسط ملائم لنمو اغلب الفطريات المرضية المتحملة لدرجات الحرارة العالية ومنها أنواع الفطر *Aspergillus* وهذا يتفق مع ما توصل إليه الباحث El-Ani (1975) فقد زرع إحدى العزلات المرضية للفطر *A.fumigatus* على ثلاثة أوساط زرعية كان أفضلها وسط أكار السابرويد والدكستروز SDA , كما ان بعض الفطريات تستطيع النمو جيدا على وسط PDA لان هذا الوسط يشجع على نمو الغزل الفطري وانتاج الابواغ لاغلب الفطريات (Smith & Onions, 1994) , كما ان نتيجة هذه الدراسة تتفق مع ما اشار اليه الباحث Knudsen وجماعته (1991) إن الوسطين أكار البطاطا والدكستروز PDA ووسط السابرويد والدكستروز SDA تعزز نمو وتجرثم الفطريات المستخدمة في المكافحة الحيوية Biocontrol agent مثل الفطر *Trichoderma harizanium* والفطر *Beauveria bassiana* , كما وجد الباحثان Broderick & Greenshields (1981) إن أفضل وسط للنمو الخضري للفطرين *Aspergillus niger* و *A.ochraceus* هو وسط MEA .

ويبين الجدول (1) أن وسط CYA أعطا أيضا نموا جيدا للفطر *A.nidulans* مقارنة مع باقي الأوساط وهذا يتفق مع ما ذكره الباحث Losada وجماعته (2009) من أن وسط أكار مستخلص الخميرة والدكستروز YDA هو الوسط المناسب لنمو اغلب أنواع الجنس *Aspergillus* ومنها النوع *A.nidulans* على درجة حرارة 37°م.

وقد تميز الوسط CZA عن باقي الوساط قيد الدراسة من خلال اعطاءه اقل نمو خضري للفطر *A.nidulans* حيث بلغ معدل قطر مستعمرة الفطر 3.9 سم وقد يفسر ذلك الى كون هذا الوسط يحتوي على

العديد من الايونات والمواد الكيمياوية التي قد تكون لها تأثيرات آزموزية اضافة الى افتقاره الى الكاربوهيدرات والبروتينات التي تحتاجها اغلب الفطريات في نموها بشكل جيد (Khattab, 2006).

وعكست نتائج هذه الدراسة على ان تباين مصادر الغذاء في الاوساط الزرعية من خلال الاختلاف في مكوناتها الأساسية يستطيع التأثير في نمو الغزل الفطري للفطر *E.nidulans* وبشكل معنوي .

جدول (1) معدل أقطار مستعمرة الفطر *E.nidulans* بالـ (سم) على ست من الأوساط الصلبة بين فترتي حضن 7 و 14 يوم بدرجة حرارة 28-30°م .

نوع الوسط الزرعي	معدل قطر المستعمرة (سم) / فترتي الحضن	
	7 أيام	14 يوم
1- أكار البطاطا والسكروز PSA	3.5	5.6
2- أكار مستخلص الشعير MEA	3	5.6
3- أكار السانرويد والسكروز SSA	3.1	6
4- أكار زابك دوكس CZA	1.9	3.9
5- أكار مستخلص الخميرة والزابك CYA	2.4	5.3
6- أكار مستخلص الخميرة والزابك مع 20% سكروز CYA20S	2.6	6.1

اظهرت الصفات المظهرية لمستعمرات الفطر *E. nidulans* تباين على الأوساط الزرعية الصلبة وكما هو مبين في الجدول (2) حيث ظهر التباين في أشكال وألوان المستعمرات والعديد من الصفات المظهرية التي تختلف في عدد من الأوساط الزرعية عن غيرها حيث أن كل وسط يختلف في مكوناته الأساسية عن غيره من الأوساط وهذه النتيجة تتفق مع كل من (Klich & Pitt, 1988) و (Raper & Fennell, 1965) حيث درسوا الصفات المظهرية والمجهرية لـ 45 نوع تابع للجنس *Aspergillus* على ثلاث أوساط زرعيه وهي CYA و MEA و CY20SA ووجدوا أن هناك تباين كبير لكل نوع من هذه الأنواع على الأوساط الثلاثة يتضمن أقطار المستعمرات وأشكالها وألوانها وصبغاتها العكسية والذائبة والمفرزات والتحزز الخلفي والأمامي وغيرها من الصفات . وكانت الصفات المظهرية الرئيسية للفطر بأن يكون مستعمرات الفطر 4-6 سم , مستوية ذات نسجة متراصة كثيفة مخملية , خضراء إلى صفراء غامقة اللون أو كريمي مصفر اللون ,الصبغات العكسية غالبا ما تكون شاحبة أرجوانية او برتقالية او بنية غامقة او بنية الى برتقالية أو بنية ألى بنفسجية اللون , قد تنتج أحيانا مفرزات حمراء إلى بنية اللون , وأحيانا تنتج صبغات ذائبة بنفسجية اللون , كما تنتج المستعمرات تحزز امامي او خلفي على بعض الاوساط الزرعية (Pitt & Hocking, 2009) و (Samson & Pitt, 2000) و (Moustafa, 1982) . وتوضح

اللوحة (1) الوجه الأمامي والخلفي لمستعمرة الفطر *E. nidulans* على ست أوساط زرعيه موضح من خلالها بعض الاختلافات في الصفات المظهرية للمستعمرة على هذه الأوساط .

جدول (2) الصفات المظهرية لمستعمرة الفطر *E.nidulans* على الأوساط الصلبة

الصفات المظهرية	الأوساط الزرعية					
	PSA	MEA	SSA	CZA	CYA	CYA20S
شكل المستعمرة	مخملية مستوية	مخملية كثيفة	مخملية كثيفة	مخملية قليلا	مخملية كثيفة	مخملية مرتفعة
لون المستعمرة	خضراء باهت	خضراء غامق	صفراء بنية	صفراء باهت	صفراء باهت	صفراء باهت
الصبغات العكسية	بنفسجية غامقة	بنية غامقة محمرة	بنية غامقة محمرة	بنفسجية غامقة	بنية باهتة محمرة	بنية غامقة – ارجوانية
الصبغات الذائبة	بنفسجية باهتة	–	–	–	–	–
المفرزات	–	بنية باهتة	بنية باهتة	بنية باهتة	بنية باهتة	–
التحزز الأمامي	_	+++	+	_	++	+++
التحزز الخلفي	_	+++	+	_	++	+++

– = عدم ظهور الصفة , + = ظهور الصفة بشكل قليل , ++ = ظهور الصفة بشكل وسط , +++ = ظهور الصفة بشكل كبير .

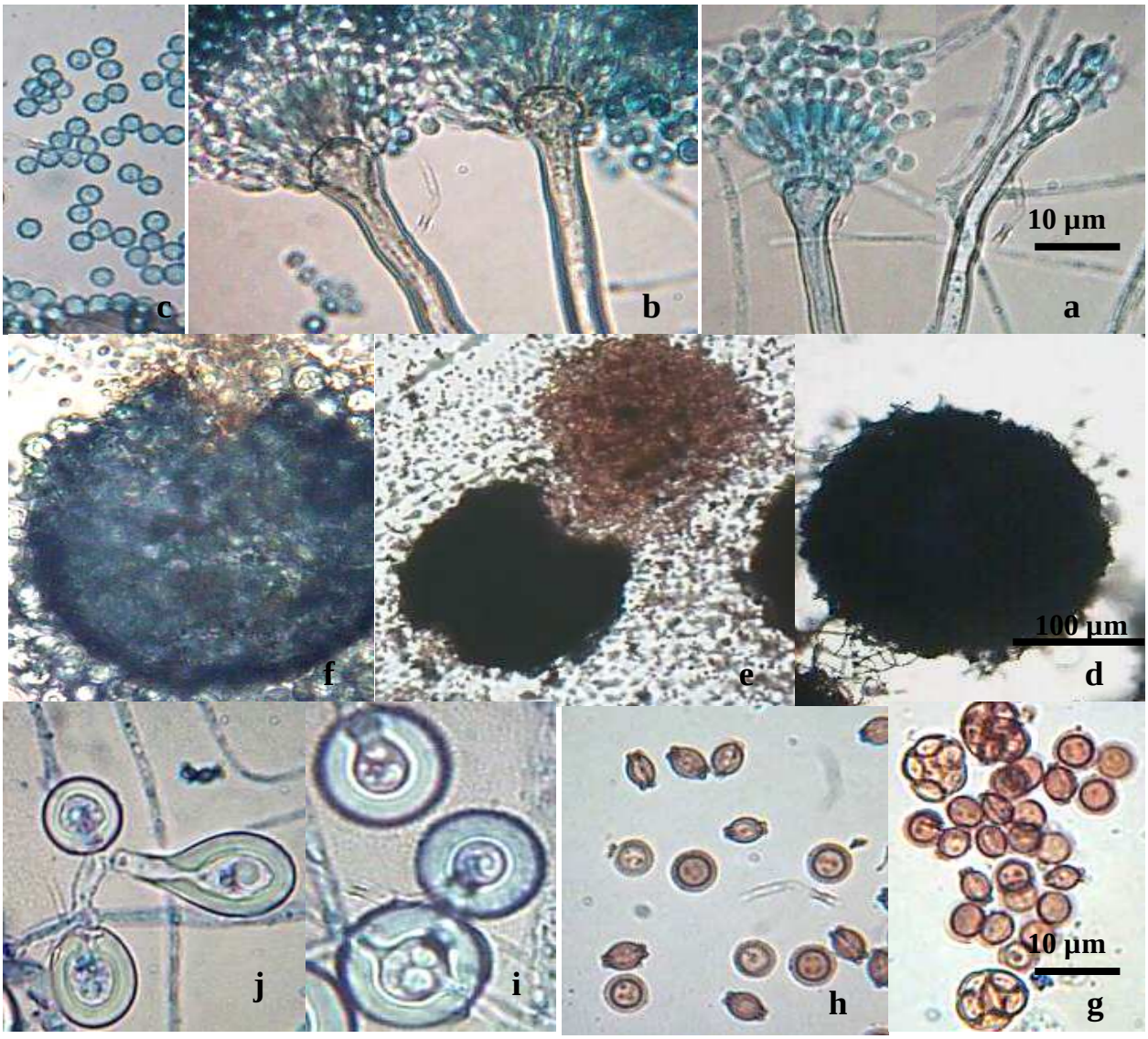
2- الصفات المجهرية للفطر *E.nidulans* على الأوساط الصلبة

اوضحت نتائج هذه الدراسة بأنه لم يكن هناك تباين كبير على اشكال واطوال كل من الحامل الكونيدي والحوصلة والفياليدات والمتيولا والابواغ الكونيدية والاجسام الثمرية وخلايا Hüll cells والابواغ الكيسية بين الاوساط الزرعية قيد الدراسة مما يؤكد كونها صفات وراثية ثابة لا تتأثر عادة بمكونات نوع الوسط الذي ينمو عليه الفطر, وتبين من النتائج إن الرؤوس الكونيدية عمودية مفككة كما هو مبين في اللوحة (2-a) , الحامل الكونيدي بطول (65-180) مايكرون أملس متعرج أحيانا ذات جدران بنية اللون كما في اللوحة (2-b) ,الحوصلة عرضها (8-10) مايكرون ملعقية إلى كمثرية الشكل أو شبه دائرية تكون خصبة في نصفها العلوي تقريبا تحمل كل من المتيولا والفياليدات المتشابهتين بالطول كلاهما تقريبا (10-12) مايكرون كما في اللوحة (2-a) ,أما الابواغ الكونيدية (2.5-3.5) مايكرون دائرية الشكل ملساء إلى خشنة قليلا خضراء اللون كما في اللوحة (2-c).

ويتميز الفطر بأنه يشرع بتكوين الأجسام الثمرية المغلقة (Clestothecia) بقطر (150-250) مايكرون دائرية الشكل بيضاء اللون في بداية تكوينها وتصبح عند النضج أرجوانية اللون كما في اللوحة (2-

d,e,f) جدرانها محاطة بعدد كبير من خلايا Hüll cells وهي خلايا كبيرة بقطر (10–20) مايكرون دائرة الشكل عديدة الانوية وتسمى أيضا بالخلايا الحاضنة Nurse cells (Wei, 2003) تكون صفراء غامقة اللون أو صفراء برتقالية اللون كما في اللوحة (2–i,j) كما ذكر المصدر السابق إن الجسم الثمري الناضج الذي يصل بحجم 200 مايكرون يحتوي عادة حوالي 80,000 بوغ كيسي ,الابواغ الكيسية عادة بطول (4–5) مايكرون اهليليجية الشكل جدارها أملس مع شقين طوليين وسطيين يحصران بينهما منطقة شفافة كما في اللوحة (2–h) هذه الابواغ أرجوانية إلى حمراء اللون وتنتظم كل ثمانية ابواغ في كيس كما في اللوحة (2–g) وكانت هذه الأشكال والقياسات التي توصلت اليها الدراسة متفقة مع ما ذكره كل من (Moustafa,1982) و (Pitt & Hocking, 2009) و (Gugnani , 2003) .

اللوحة (1) الوجه الامامي (A) والوجه الخلفي (B) لمستعمرات الفطر *E.nidulans* على ست اوساط زرعية هي :- اكار البطاطا والسكروز PSA , اكار مستخلص الشعير MEA , اكار السابروبد والسكروز SSA , اكار زابك دوكس CZA , اكار مستخلص الخميرة والزابك CYA , اكار مستخلص الخميرة والزابك مع 20% سكروز CYA20%S .

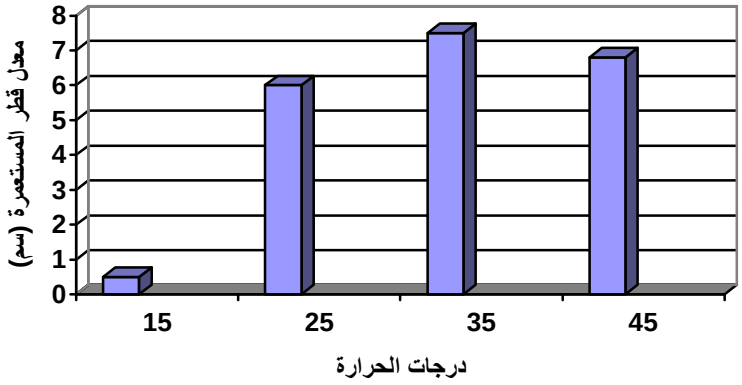


اللوحة (2) الصفات المجهرية للاجزاء التكاثرية اللاجنسية والجنسية للفطر *E.nidulans* .

3- تأثير درجات الحرارة المختلفة في معدل اقطار مستعمرات الفطر *E.nidulans*

يبين الشكل (1) تباين تأثير درجات الحرارة المختلفة في معدل أقطار مستعمرات الفطر *E.nidulans* على الوسط الصلب PSA ونلاحظ من الشكل إن الفطر استطاع النمو بنشاط بين درجات الحرارة (25-45)°م إلا إن درجة الحرارة المثلى لنمو الفطر كانت 35°م حيث بلغ معدل قطر المستعمرة فيها 7.5 سم وقد يفسر ذلك كون الفطر *E.nidulans* يعد من الفطريات المتحملة لدرجات الحرارة العالية Thermotolerant fungi ويتفق هذا مع ما اشار اليه كل من (Al-Fassi & *et al.*, 1994) و (Kable, 2007) بأن الفطر *E.nidulans* كان من بين الفطريات المتحملة لدرجات الحرارة العالية وكانت درجة الحرارة المثلى له 35°م عند حضن مجموعة من الفطريات في درجات حرارة مختلفة . كما أشارت عدد من المصادر إلى إن درجة الحرارة المثلى

للفطر *E.nidulans* هي 37°م حيث ينمو بشكل جيد بعد 4-5 أيام في مثل هذه الدرجة (Losada & *et al.*,2009) و (Delgado-Virgen & Guzman-de-Peña, 2009) .



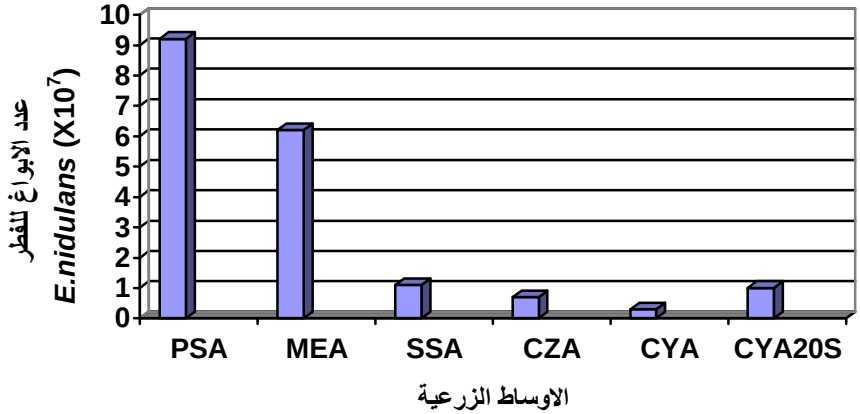
شكل (1) معدل قطر مستعمرة الفطر *E.nidulans* على وسط PSA في درجات حرارة مختلفة .

4- إنتاج الابواغ الكونيدية للفطر *E.nidulans* على الأوساط الزرعية الصلبة

تبين نتائج هذه الدراسة إن وسطي PSA و MEA أعطيا أعلى إنتاج للابواغ الكونيدية 9.2×10 و6.2×10 على التوالي مقارنة بالأوساط الأخرى قيد الدراسة التي كان إنتاجها للابواغ قليل نسبيا كما هو مبين في الجدول (2) , وربما يعود السبب إلى احتواء الوسطين PSA و MEA على الكاربوهيدرات في البطاطا والشعير بكثرة نسبة إلى المواد الأخرى وهذا ساعد كثيرا في تحفيز الفطر على إنتاج الابواغ مقارنة بالأوساط الأخرى التي تحتوي على البروتينات بكثرة وهذا يتفق مع ما ذكره كل من (Smith & Onions, 1994) إن بعض الفطريات تستطيع النمو جيدا على وسط PDA لان هذا الوسط يشجع على نمو الغزل الفطري وإنتاج الابواغ لأغلب الفطريات .كما ذكر Sibounnavong وجماعته 2008 إن نمو الفطر *E.nidulans* على وسط PDA ودرجة حموضة PH تساوي 7 أعطى أعلى إنتاج للابواغ من أي وسط آخر أو أي مستوى من الحموضة . وفي دراسة لإنتاج السبورات في الفطرين *Aspergillus niger* و *A.ochraceus* وجد إن أفضل وسط لنمو وتجرثم هذين الفطرين هو وسط أكار مستخلص الشعير MEA (Broderick & Greenshields, 1981) . وقد أكد الباحث Bucio-Villalobos وجماعته 2005 إن أفضل وسط زرعي لنمو الغزل الفطري وتجرثمه للفطرين *A.nidulans* و *A.parasiticus* هو وسط أكار البطاطا والدكستروز PDA خصوصا عند اختبار إنتاج السبورات للفطرين بإضافة بعض الأحماض والمواد الكيمياوية .

كما إن إضافة بعض المواد الكيمياوية لتعزيز إنتاج الفطر للابواغ قد يؤدي الى تثبيط الطور الجنسي او إنتاج الأجسام الثمرية فعند إضافة تراكيز عالية من ايون البوتاسيوم والصوديوم والمغنيسيوم يثبط الطور الجنسي للفطر لكنه يعزز تكوين الابواغ الكونيدية (Pöggeter & *et al.*, 2006) وكذلك الزيادة الجزئية في ثاني اوكسيد الكاربون في الوسط الزرعي تكون ملائمة لتكوين الأجسام الثمرية بينما زيادة الأوكسجين وبعض

المواد الكيمياوية التي تعمل على اختزال ثاني اوكسيد الكاربون في الوسط تكون ملائمة لتكوين الابواغ الكونيدية على حساب الأجسام الثمرية (Champe & *et al.*, 1994) .



شكل (2) معدل عددالابواغ للفطر *E.nidulans* (10^7 x) على الأوساط الزرعية الصلبة .

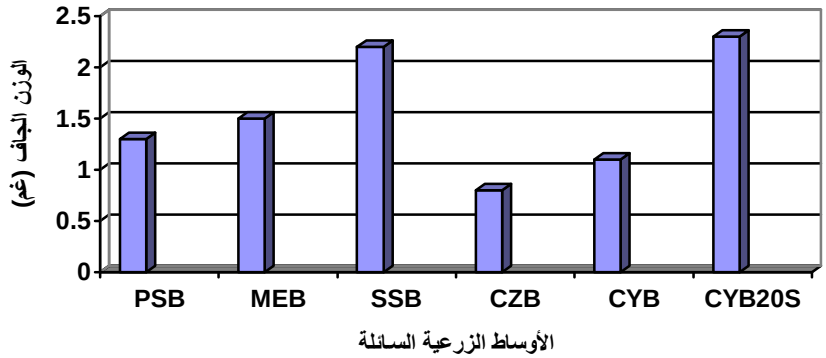
5- الوزن الجاف لمزارع الفطر *E.nidulans* في الأوساط السائلة

يوضح الشكل (3) معدل الأوزان الجافة للغزل الفطري في الأوساط الزرعية السائلة ونستنتج من النتائج المبينة في الشكل إن كل من الوسط CY20SB و SSB قد أعطى أعلى وزن جاف للفطر يليهما الوسطين PSB و MEB وهذه النتائج مشابهة لنتائج نمو الفطر على الأوساط الصلبة نفسها مما يدل على إن هذه الأوساط هي الأكفاء في نمو الغزل الفطري للفطر *E.nidulans* سواء كانت أوساط صلبة أو سائلة .

وتتفق هذه النتيجة مع عدة دراسات أجريت لقياس الوزن الجاف والطري للفطر *E.nidulans* على وسطين هما الوسط السائل للبطاطا والدكستروز PDB والوسط السائل لماء جوز الهند والدكستروز CWDB وكان الوسط الأول PDB قد أعطى أعلى وزن طري وجاف للفطر من الوسط الثاني CWDB (Sibounnavoung & *et al.*, 2008, 2009b) , وفي دراسة مقارنة بين الوسطين أكار السابرويد والدكستروز SDA واكار البطاطا والدكستروز PDA لنمو الغزل الفطري للفطر *Beauveria bassiana* وجد إن الوسط الأول كان أكثر ملائمة من الوسط الثاني للنمو القطري للفطر وقد أعطى أعلى نسبة للوزن الجاف للفطر عند تنميته على الأوساط السائلة مما يدل على إن وسط السابرويد هو وسط ملائم لنمو اغلب الفطريات وخصوصا المستخدمة في المكافحة الحيوية (Senthamizhlselvan & *et al.*, 2010) وكذلك في دراسة لقياس الوزن الجاف للفطر *Lasiodiplodia theobromae* الذي يصيب أوراق الشاي على خمسة أوساط زرعية سائلة وجد إن أفضل وسطين كانا وسط البطاطا والدكستروز PDB ووسط مستخلص الشعير MEB (Saha & *et al.*, 2008) .

أن ما تمخضت نتائج هذه الدراسة على بعض العزلات المحلية للفطر *E.nidulans* وكانت نتائج معتبرة لما اظهرته من تأثير المكونات الاساسية للاوساط الزرعية قيد الدراسة على تباين بعض الصفات وثبوت صفات اخرى فقد اظهرت الصفات المظهرية تباين كبير من ناحية لون المستعمرة وشكلها وابعادها وصبغاتها وتحززها الامامي والخلفي على ستة اوساط زرعية اما الصفات المجهرية المتمثلة بدراسة ابعاد الحوامل الكونيدية

والكونيدات والابواغ الكيسية والاجسام الثمرية للفطر على نفس الاوساط فقد اظهرت درجات عالية من التجانس وتعد هذه الدراسة الاولى في القطر عن الفطر *E.nidulans* جمعت بين دراسة الطور الجنسي واللاجنسي وعلى مجموعة من الاوساط الزرعية , وتوصي الدراسة بأجراء دراسات مماثلة على انواع اخرى من جنس *Aspergillus* من اجل اعطاء صورة واضحة ومتكاملة عن الوضع التصنيفي للانواع المحلية للفطر *Aspergillus* كونه من اكبر الاجناس الفطرية واكثرها اهمية من الناحية الصحية .



شكل (3) معدل الأوزان الجافة (غم) لمزارع الفطر *E.nidulans* في الأوساط الزرعية السائلة عند فترة حضن 14 يوم بدرجة حرارة 28-30°م .

المصادر

Arya, A.; Shah, A.R. & Sadasivan, S. (2001). Indoor aeromycoflora of Boroda museum and deterioration of Egyptian mummy. Current Science 81(7):793-799.

Al-Fassi, F.A.; Malibari, A.A. & Moustafa, M.A.(1994). Physiologyical studies on ten thermophilic and thermotolerant fungi isolated from different locations in the Western Region of Saudi Arabia. Arab Gulf J. Scient. Res., 12(2): 321-340.

Broderick, A.J. & Greenshields, R.N.(1981).Sporulation of *Aspergillus niger* and *Aspergillus ochraceus* in countinuous submerged liquid culture.Journal of General Microbiology. 126:193-202

Bucio-Villalobos, C.M.; Luna-Olvera, H.A.;Anguiano-Ruvalcaba, G.L. & Guzman-de-Peña, D.A.(2005).Effect of plant growth regulators on mycotoxigenic *Aspergillus* spp. in vitro.Revista Mexicana de Fitopatologia 23(1):68-73.

Champe, S.P.;Nagle, D.L. & Yager, L.N.(1994). Sexual sporulation. In:Martinelli SD, Kinghorn JR(eds). Aspergillus:50 years on. Elsevier, Amsterdam, pp 429-454.

Delgado-Virgen, F. & Guzman-de-Peña, D.(2009).Mechanism of sterigmatocystin biosynthesis regulation by pH in *Aspergillus nidulans*. Brazilian Journal of Microbiology 40:933-942.

El-Ani, A.S.(1975). Variation in vivo and isolation of *Aspergillus fumigatus* from a case of human Aspergillosis. Mycologia 67:1114-1118.

Gugnani, H.C.(2003). Ecology and taxonomy of pathogenic Aspergilli. Forntiers in Bioscience 8:346-357.

Guillot, J.; Collobert, C.; Gueho, E.; Mialut, M. & Lagarde, E.(1997).*Emericella nidulans* as an agent of guttural pouch mycosis in a horse.J. Med. Vet. Mycol. 35:433-435.

Kabli, S.A.(2007). Studies on fungal communities associated with litter of plant cover at Al-Taif Province, Saudi Arabia. JKAU: Met.,Env. & Arid Land Agric. Sci., 18(2):87-98.

Khanzada, M.A.; Rajput, A.Q. & Shahzad, S.(2006). Effect of medium,temperature, light and inorganic fertilizers on in vitro growth and sporulation of *Lasiodiplodia theobromae* isolated from mango.Pak. J. Bot., 38(3):885-889.

Khattab, O.H. (2006).Factors affecting growth and pycnidial production of aquatic fungi .J. of Agriculture & Social Sciences 2(4): 234-237.

Klich, M.A. & Pitt, J.I.(1988). A laboratory guide to common *Aspergillus* species and their telomorphs. CSIRO Division of food Processing North Ryde N.S.W. 116 pp.

Knudsen, G.R.; Eschen, D.J.; Danduraind, L.M. & Wang, Z.G.(1991).Method to enchance growth and sporulation of palletized biocontrol fungi. Applied and Environmental Microbiology 57(10):2864-2867.

Losada, L.; Ajayi, O.; Frisvad, J.C.: Yu, J. & Nierman, W.C.(2009). Effect of competition on the production and activity of secondary metabolites in *Aspergillus* species. Medical Mycology :1-9.

Moustafa, A.F. (1982). Taxonomic studies on the fungi of Kuwait, II. *Aspergillus*. J.Univ. Kuwait (sci) 9:245-260.

Pitt, J.I. & Hocking, A.D.(2009). Fungi and food spoilage Third ed. Springscience Business Media, LLC,New York USA. 519pp.

Pitt, J.I. & Samson, R.A.(1993). Species names in current use in the Trichocomaceae (Fungi, Eurotiales). In «Names in current use in the families Trichocomaceae, Cladoniaceae, Pinaceae and Lemnaceae. W. Greuter, ed. Regnum Vegetabile 128:13-57.

Pöggeler, S.; Nowrousian, M. & Kück, U.(2006). Fruiting body development in Ascomycetes. The Mycota 1:325-355.

Raper, K.B. & Fennell,D.I.(1965). The genus *Aspergillus*.Williams & Wilkins, Baltimore. 686 pp.

Saha, A.; Manda, P.; Dasgupta, S. & Saha, D.(2008).Influence of culture media and environmental growth and sporulation of Lasiodiplodia theobromae (pat.) Griffon and Maubl. Journal of Environmental Biology 29(3): 407-410.

Samson, R.A. & Pitt, J.I.(2000).Integration of modern taxonomic methods for *Penicillium* and *Aspergillus* classification.Harwood Academic Publishers. 510 pp.

Senthamizhlselvan, P.; Alice, J.; Sujeetha, R.P. & Jeyalakshmi, C.(2010). Growth, sporulation and biomass production of native entomopathogenic fungal isolation on asuitable medium. Journal of Biopesticides 3(2): 466-469.

Sibounnavong, P.; Cynthia, D.C.; Kanokmedhakul, S. & Soytong, K.(2008). The new antagonistic fungus, *Emericella nidulans* strain EN against Fusarium Wilt of Tomato. Journal of Agriculture Technology 4(1): 89-99.

Sibounnavong, P.; Soytong, K.; Divina, C.C. & Kalaw, S.P.(2009a). In vitro biological activities of *Emericella nidulans*, a new fungal antagonist, against *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Journal of Agriculture Technology 5(1): 75-84.

Sibounnavong, P.; Kalaw, S.P.; Divina, C.C. & Soytong, K.(2009b). Mycelial growth and sporulation of *Emericella nidulans*, a new fungal antagonist on two culture media. Journal of Agriculture Technology 5(2): 317-324.

Summerbell, R.C.(1998). Taxonomy and ecology of *Aspergillus* species associated with colonizing infections of the respiratory tract. Immunol Aller Clin North Amer 38:549- 573.

Talubnak, C. & Soytong, K.(2010). Biological control of Vanilla anthracnose using *Emericella nidulans* .Journal of Agricultural Technology6(1): 47-55.

Wei, H.(2003). Molecular analysis of sexual sporulation in *Aspergillus nidulans.* Ph D thesis . The philipps University in Marbury, Germany. 95 pp.