فعالية أنزيم اللايبيز لبعض الفطريات المعزولة من مياه شط العرب

وتأثير تراكيز مختلفة من كلوريد الصوديوم عليها

فاضل جبار فرحان
مركز علوم البحار / جامعة البصرة
البصرة-العراق

الخلاصة:

أجريت الدراسة الحالية لمعرفة الأنواع الفطرية التي تعيش في مياه شط العرب وفعالية البعض منها في إنتاج أنزيم اللايبيز وتأثير الملوحة في هذه الفعالية.حيث عزلت عدة أنواع من الفطريات من مناطق الفاو وميناء أبو فلوس والعشار للفترة من ٣/٣–٢٠٠٥/٩/٢٩ ، تم عزل فطريات ماء حقيقية تعود إلى عائلة Saprolegniaceae من موقع ميناء أبو فلوس والعشار خلال شهري آذار ونيسان ولم يظهر أي من أنواعها في موقع الفاو، وعزلت العديد من الأنواع الفطرية التي تعود إلى مجموعة الفطريات الناقصة Deuteromycetes والقليل من الفطريات الكيسيةAscomycetes والقليل جداً من الفطريات اللاقحية Zygomycetes. أختبرت فعالية عشرة أنواع منها على إنتاج أنزيم اللايبيز Lipase وتبين أن لسبعة منها القدرة على إنتاج هذا الأنزيم وكان أكثرها فعالية هو الفطر *Alternaria chlamydospora*، يليه الفطرين *Aspergillus candidus* و*Fusarium* sp. ،وأقلها فعالية كان الفطر *Stachybotrys* sp. فالفطر *Scytalidium lignicola* . أختبرتأثيرالملوحة Salinity في فعالية سبعة أنواع من الفطريات المنتجة لأنزيم اللايبيز عند التراكيز الملحية ١٥-٢٠-٢٥-٣٠-٣٥-٤٠ جزء بالألف (ppt) وكان لها تأثير معنوي في أختزال النمو الشعاعي والفعالية الأنزيمية للفطريات المختبرة.

Key words: Fungi, Lipase, Salinity

المقدمة :

تعد بيئة شط العرب من البيئات المالحة وترتفع نسبة الملوحة فيها كلما أقتربنا بأتجاه المصب في الخليج العربي أي بأتجاه الفاو التي تكون ذات مياه مالحة نسبيا (١٧)، فضلاً عن ذلك فأنها تمتاز بكثرة الملوثات العضوية المتأتية من مناطق اليابسة المحيطة بها وما يصب فيها من جداول فرعية محملة بالبقايا النباتية والحيوانية والفضلات ومياه المجاري والصرف الصحي خاصة في المناطق التي تمر بالمدن مثل العشار والبراضعية وأبي الخصيب وغيرها.

تعتبر الكائنات الحية المجهرية من المكونات الحية الأساسية في كل نظام بيئي وتمثل طبقة المحللات decomposer فيه، وهي قادرة على استغلال مكونات الجدران الخلوية للنباتات الوعائية

والمواد العضوية الحيوانية كمصدر للطاقة ، وهذه القدرة متأتية من خلال إفرازها للعديد من الأنزيمات التي تعمل على تحليل العديد من المواد العضوية المعقدة التركيب إلى مواد بسيطة التراكيب تستغلها في تغذيتها ونموها وتكاثرها ، والفطريات مجموعة مهمة من الكائنات الحية المجهرية التي تقوم بهذا العمل في النظم البيئية المختلفة (١٦)، فالفطريات كائنات حية حقيقية النواة ذات تغذية مختلفة Heterotrophic (٢٥،٢٣). تعيش الفطريات بصورة طبيعية في بيئة اليابسة، والقليل من أنواعها تعيش في المياه العذبة والمياه البحرية المالحة. أن العديد من الفطريات تسبب الكثير من الأمراض للنباتات لكن حوالي ٥٠- ٧٥ نوع فقط من بين ٥٠٠٠٠ ألف نوع من الفطريات تكون مرضية للإنسان والحيوانات، تشمل مجموعة الفطريات الجلدية Dermatophytes وبعض الخمائر مثل النوع *Candida albicans* ،والبعض منها يكون علاقات تكافلية (تعايشية) مع كائنات حية أخرى ، أما الأنواع الأخرى فهي تعيش معيشة رمية Saprophytic في البيئات الطبيعية خاصة في البيئات الغنية بالمواد النايتروجينية، والبعض من أنواعها يمكن أن يعيش رمياً ويتطفل على الإنسان والحيوانات المختلفة (٢٢).

تنتج الفطريات العديد من الأنزيمات التي لها القدرة على تحليل التراكيب النباتية والحيوانية والمركبات المخزونة فيها وتستغلها كمصدر للطاقة (٢٤)، وهذه الأنزيمات كما هو معروف مركبات بروتينية تنتج في الفطريات بشكل أنزيمات خارج خلوية Extracellular enzymes وبذلك تكون عرضةً لمؤثرات العوامل البيئية المختلفة من حرارة وملوحة واس هيدروجيني وغيرها من العوامل المحيطة بالفطر المنتج لها وهذا التأثير قد يكون سلبياً أو إيجابياً في الإنتاجية الإنزيمية. يعد أنزيم اللايبيز من الأنزيمات المهمة للفطريات وخاصة التي تعيش في بيئة مثل شط العرب، حيث كثرة الملوثات من المواد الدهنية الآتية من عدة مصادر منها فضلات المنازل ومياه المجاري والصرف الصحي وفضلات معامل الألبان في مدينة البصرة والتي ترمى في شط العرب وفروعه، وكذلك الملوثات من المواد الكيراتينية كالشعر والصوف والريش ومن المعروف أن تحليل هذه الأوساط يحتاج إلى أنزيم الكيراتينيز فضلاً عن أنزيم اللايبيز حيث أن الأوساط الكيراتينية غالباً ما تغطيها الدهون(٦)، وقد ذكر(16) في دراسة أجراها على الفطريات الخيطية التي تعيش في الأهوار المالحة أن لها القدرة على تحليل النشأ والدهون من خلال إنتاجها لأنزيمي اللايبيز Lipase والامايليز Amylase بصورة عامة وللبعض منها القدرة على تحليل مواد أخرى دون غيرها مثل اللكنين والسيليلوز والبروتين والمركبات الكيراتينية وان خمسة من بين إحدى وعشرون عزلة أنتجت أنزيم β-glycosidase عند أس هيدروجيني 7.5 ، بينما أنتجت ستة عشر عزلة هذا الأنزيم عند أس هيدروجيني 5، وذكر (٨) انه عند أس هيدروجيني 5 فان الفطريات تنتج نواتج أيضية أنزيمية خارج خلوية ذات طبيعة حمضية.

المواد وطرائق العمل:

جمعت عينات الماء من ثلاث مواقع في شط العرب هي الفاو وميناء أبو فلوس والعشار للفترة من ٣/٣–٢٠٠٥/٩/٢٩ وبمعدل شهري،جمعت عينات الماء في قناني بلاستيكية معقمة من عمق10-20 سم تحت سطح الماء،وجلبت إلى المختبر لغرض عزل الفطريات منها وحسب طرائق العمل الآتية:

أولاً / عزل الفطريات:

١- عزل فطريات المياه الحقيقية Isolation of true aquatic fungi: أتبعت طريقة الطعم Baiting method الموصوفة من قبل (٧) لغرض عزل فطريات الماء الحقيقية، حيث رجت القناني الحاوية على عينات الماء جيداً ثم صبت في أطباق بتري (قطره ٩ سم) معقمة ووضعت عليها القليل من بذور السمسم المعقمة في الموصدة Autoclave بدرجة حرارة ١٢١°م وضغط ١٥باوند / أنج^{٢} ولمدة ١٥ دقيقة،ثم حضنت الأطباق في الحاضنة بدرجة حرارة ١٨°م وفحصت البذور يومياً لمدة ٥-٦ أيام لحين ظهور النمو الفطري عليها، بعدها غسلت المستعمرات النامية على الطعوم بالماء المقطر المعقم ثم نقلت إلى أطباق بتري أخرى تحتوي على ماء مقطر معقم مضافاً أليه المضاد الحيوي

Chloramphenicol بواقع ٢٥٠ ملغم / لتر وحضنت مجدداً في الحاضنة إلى حين نمو المستعمرات الفطرية الجديدة.

٢- عزل الفطريات الأخرى من عينات المياه Isolation of fungi other than the true aquatic fungi: أخذ١ مل من كل عينة من عينات الماء ومزج مع ٢٥ مل من الوسط الزرعي بطاطا دكستروز آكار Potato Dextrose Agar (PDA) و بعد تعقيمه بالموصدة أضيف أليه المضاد الحيوي Chloramphenicol (بواقع ٢٥٠ ملغم / لتر) في قناني صغيرة vials (سعة ٣٠ مل) معقمة ورجت جيداً ثم صبت في أطباق بتري (قطره ٩ سم) معقمة وتركت لتتصلب ثم حضنت في الحاضنة بدرجة حرارة ٢٥°م إلى حين ظهور النمو الفطري، وبالوقت نفسه أخذ ٠.١ مل من كل عينة من عينات الماء ونشر على سطح الوسط الزرعي (PDA) المتصلب والمضاف أليه المضاد الحيوي Chloramphenicol في أطباق بتري بواسطة الناشر الزجاجي L-shaped glass rod spreader ثم حضنت في الحاضنة بدرجة حرارة ٢٥°م إلى حين ظهور النمو الفطري، عزلت الفطريات النامية ونقيت بعد ٥-٦ أيام من الحضن. تم تشخيص الفطريات المعزولة جميعها بالأعتماد على المصادر التصنيفية: (١٣، ٩، ١٤، ١٥، ١٠، ٢٩، ٢٠).

ثانياً / أختبار فعالية الفطريات المختارة على أنتاج أنزيم اللايبيز:

ثم أختيار عشرة أنواع مختلفة من الفطريات هي: *Acremonium alabamensis* ، *Fusarium* sp. ،*A.terreus*، *Aspergillus candidus*، *Alternaria chlamydospora* ، *Scopulariopsis brevicaulis*، *Scytalidium lignicola* ، *Phoma cava* ، *Penicillium* sp. و *Stachybotrys* sp. ، أتبعت طريقة (١٨) المتضمنة زرع الأنواع الفطرية في وسط زرعي يحتوي على مادة دهنية كمصدر أولي للكاربون وقياس قدرتها على تحليل هذه المادة والدالة على إنتاجها لأنزيم اللايبيز ، حضر الوسط الزرعي المتكون من : Peptone (١ غم)، Yeast extract (٠.١ غم)، Agar Agar – (١٥ غم)، Chloramphenicol (٢٥٠ ملغم) في لتر من الماء المقطر،حيث مزجت هذه المكونات وعقمت في الموصدة Autoclave بدرجة حرارة 121°م وضغط 15 باوند / أنج٢ ولمدة 15 دقيقة ، وأستخدمت المادة الدهنية Tween 20 كمصدر أولي للكاربون والتي عقمت بالظروف أعلاه نفسها وبمعزل عن باقي المكونات، ثم أضيفت إلى مكونات الوسط الزرعي بعد عملية التعقيم بواقع 10 مل / 1000 مل ورجت جيداً ثم صبت في أطباق بتري معقمة وتركت لتتصلب. أخذ قرص قطره 5 ملم من كل مستعمرة من المستعمرات الفطرية قيد الدراسة بواسطة ثاقب الفلين وزرع على وسط أختبار الفعالية الأنزيمية بواقع ثلاث مكررات لكل نوع ثم حضنت الأطباق في الحاضنة بدرجة حرارة ٢٥°م لمدة 5-7 أيام، تم تقدير الفعالية الأنزيمية لأنزيم اللايبيز من خلال قياس قطر الترسبات للأحماض الدهنية fatty acids أو الهالة الشفافة clear zone المتكونة حول المستمرات الفطرية النامية الناتجة من تحلل الأحماض الدهنية في مادة Tween 20 في وسط الأختبار والدالة على إفراز أنزيم اللايبيز.

ثالثاً / أختبار تأثير عامل الملوحة في فعالية الفطريات المختبرة على أنتاج أنزيم اللايبيز:

حضر وسط أختبار فعالية أنزيم اللايبيز بالطريقة الموصوفة في الفقرة (ثانياً) وبعد عملية التعقيم وإضافة مادة Tween 20 أليه وزع الوسط الزرعي في سبع دوارق مخروطية conical flasks (سعة 750 مل) بواقع 500 مل في كل دورق . أستخدم ملح كلوريد الصوديوم NaCl لغرض تحضير التراكيز الملحية ، حيث أضيف هذا الملح إلى ستة دوارق منها بمقدار 7.5 و 10 و 12.5 و 15 و 17.5 و 20 غم/ 500 مل وسط زرعي ورجت الدوارق جيداً لغرض إذابة الملح والحصول على التراكيز الملحية التالية : 15 – 20 – 25 – 30 – 35 – 40 جزء بالألف (ppt) على التوالي ، وترك الدورق السابع دون إضافة الملح أليه كمعاملة سيطرة ، ثم صبت الأوساط الزرعية المعاملة وغير المعاملة في

أطباق بتري معقمة وتركت لتتصلب. أخذ قرص قطره 5 ملم من كل مستعمرة من المستعمرات الفطرية (فقط التي أنتجت أنزيم اللايبيز في الفقرة (ثانياً)) بواسطة ثاقب الفلين وزرع على هذه الأطباق وبواقع ثلاث مكررات لكل نوع ثم حضنت الأطباق في الحاضنة بدرجة حرارة 25 ْم ولمدة 5-7 أيام، تم تقدير الفعالية الأنزيمية لأنزيم اللايبيز من خلال قياس قطر الترسبات للأحماض الدهنية أو الهالة الشفافة المتكونة حول المستمرات الفطرية النامية والدالة على إفراز أنزيم اللايبيز.

رابعاً / التحليل الإحصائي :

صممت تجربة فعالية أنتاج أنزيم اللايبيز وتأثير الملوحة فيها عشوائياً بأسلوب التجارب أحادية العامل والعاملية تامة التعشية (١)، ثم حللت النتائج إحصائياً بأستخدام برنامج المعالج الإحصائي spss عند مستوى أحتمالي $P<0.05$، وأعتبرت الفروق معنوية في حالة تساوي أو زيادة قيمة T وF المحسوبة عن قيمها الجدولية.

النتائج والمناقشة:

تم عزل وتشخيص أنواع مختلفة من الفطريات من عينات الماء التي جلبت من مناطق الفاو وميناء أبو فلوس والعشار (جدول (1))، البعض منها يعود لمجموعة فطريات المياه الحقيقية true aquatic fungi ، والعديد منها من الفطريات المنجرفة إلى المياه من الأفرع التي تصب في شط العرب ومياه المجاري والبعض من هذه الأنواع كانت فطريات مرضية أنتهازية للإنسان والحيوانات والنباتات المختلفة وكما موضح في جدول رقم (١). فطريات الماء الحقيقية true aquatic fungi يمكن تعريفها بأنها الفطريات التي تعيش بصورة طبيعية في المياه الراكدة والجارية كالأنهار والبرك والمستنقعات،ومعظم أفراد الصنف Phycomycetes هي فطريات ماء حقيقية بينما القليل من مجموعة الفطريات الكيسية Ascomycotina والقليل جداً من مجموعة الفطريات البازيدية Basidomycotina سجلت كفطريات تعيش في البيئة المائية (٢٨).

وفي الدراسة الحالية تم عزل بعض الأنواع التي تعود إلى عائلة Saprolegniaceae من موقع ميناء أبو فلوس والعشار بسبب قلة الملوحة فيهما وفي شهري آذار ونيسان خاصة حيث أعتدال درجات الحرارة ونسبة ملوحة مناسبة كانت تتراوح ما بين ٠.٥٩- ٢.١٢ جزء بالألف بأستخدام جهاز قياس التوصيلية الكهربائية نوع Hanna HI 9812 ، وهذه النتيجة تتفق مع ما توصل أليه (٢٦) الذي عزل فطريات مياه حقيقية من مياه شط العرب، وعزل (٢١) خمسة أنواع من جنس *Saprolegnia* في دراسة تصنيفية للعائلة Saprolegniaceae في مياه شط العرب، وكما تمكن (٢٧) من عزل ١١ نوعاً يعود للجنس *Achlya* من شط العرب أيضاً. ولم تلاحظ أفراد هذه العائلة في موقع الفاو ويعزى السبب في ذلك إلى أرتفاع نسبة الملوحة فيه مقارنة بالموقعين السابقين، حيث كانت نسبة الملوحة في هذه المواقع تتراوح ما بين ٧.٣٥-٢٠.٥١ جزء بالألف عند أخذ العينات، وقد ذكر (٣٠) أنه عند تركيز ملحي ٤.٢ جزء بالألف يثبط التكاثر الجنسي واللاجنسي في معظم الفطريات المائية، وبما أن نسبة الملوحة في موقع الفاو كانت أعلى بكثير وخاصة في ظروف المد حيث تأثر المياه بملوحة مياه الخليج العربي، فضلاً عن التلوث الحاصل في مياه شط العرب وزيادته كلما أقتربنا من المصب نتيجة للغسل المستمر للتربة ولإلقاء مياه المجاري وفضلات المنازل والأسمدة الكيمياوية ومبيدات الحشرات وتلوث المياه بأستمرار بالهايدروكاربونات النفطية نتيجة لحركة الزوارق والسفن (١١)، كل ذلك كان سبباً لعدم أنتشار هذه المجموعة من الفطريات هناك حيث أنها تنمو في المياه قليلة التلوث والملوحة كما أشار (١٩).

أن عزل العديد من الفطريات التي تعود إلى مجموعة الفطريات الناقصة Deuteromycetes، وأقل منها يعود إلى مجموعة الفطريات الكيسية Ascomycetes، والقليل جداً من الفطريات اللاقحية Zygomycetes من هذه المواقع خلال فترة الدراسة يشير إلى تلوث مياه شط العرب بمياه المجاري

وزيادة تلوث مدينة البصرة بالمخلفات العضوية، حيث أن أغلب هذه الأنواع هي فطريات منجرفة من التربة ومياه المجاري إلى شط العرب عن طريق الأفرع التي تصب فيه، وهذه النتيجة تتفق مع ما توصل أليه (٢، ٣). أن سيادة الفطريات الناقصة في المياه يعود إلى أن جدران وحداتها التكاثرية شفافة فيقيها الماء من شدة الإشعاع والحرارة العالية في البيئة الأرضية (١٢)، وأن سيادة بعض الأجناس مثل *Aspergillus* و *Penicillium* يعزى إلى أمتلاك أنواعها قابليات أنزيمية عالية تمكنها من أستغلال مختلف أنواع المواد الغذائية وتحملها لمختلف الظروف البيئية وتجعلها سائدة في التربة والهواء التي تمد البيئة المائية بالكثير من ابواغ هذه الفطريات (٢) .

أظهرت نتائج أختبار فعالية الأنواع الفطرية العشرة المختارة على إنتاج أنزيم اللايبيز أن سبعة منها أبدت القدرة على إفراز هذا الأنزيم من خلال قياس قطر الترسبات من الأحماض الدهنية Fatty acids المتكونة حول المستعمرات الفطرية النامية في وسط أختبار الفعالية الأنزيمية للفطريات *Aspergillus candidus* و *Fusarium* sp. و *Stachybotrys* sp. ، ومن خلال قياس قطر الهالة الشفافة Clare zone المتكونة حول المستعمرات النامية للفطريات الأخرى (جدول (٢)). أن الفطريات بصورة عامة تعتمد في تغذيتها على تحليل المركبات العضوية كالبروتينات والدهون والسكريات من خلال إفرازها الأنزيمات الحالة لها وهذه القدرة على فرز الأنزيمات ونوع الأنزيمات المفروزة تعتمد على عدة عوامل منها : نوع الفطر والظروف البيئية المحيطة به وطبيعة المواد الغذائية المتوفرة في البيئة التي يتواجد فيها ذلك الفطر، وقد تكيفت العديد من الأنواع الفطرية على إفراز أنزيمات معينة دون غيرها مع أحتفاظها بالقدرة على إفراز أنزيمات أخرى إذا ما تعرضت لظروف بيئية معينة، لذلك نرى أن بعض الفطريات أنفردت في إفراز أنزيم معين دون غيرها من الأنواع الفطرية الأخرى وتعتمد على نوع معين من الغذاء في الظروف الطبيعية وهذا جزء من تكيفها لغرض أستمرارها في العيش وتقليل التنافس على الغذاء فيما بينها، فالبعض منها يعيش على المواد البروتينية ويحللها بواسطة أنزيم البروتييز ، والبعض الأخر يعيش على المواد الدهنية من خلال قدرتها على إفراز أنزيم اللايبيز، وقد ذكرت (٤) في دراستها حول الفطريات المتواجدة في مياه مجاري البصرة أن ١٩ عزلة فطرية من بين ٢١ عزلة أظهرت قدرة على إفراز أنزيم اللايبيز في وسط تفاعل يحتوي على مادة Tween 20، ويمكن القول أن الفطريات التي لم تفرز أنزيم اللايبيز ليس بالضرورة غير منتجة له، إذ يمكن أن يكون الأنزيم الذي يفرزه الفطر غير قادر على تحليل آصرة الأستر الموجودة في مادة التفاعل Tween 20 المستخدمة للكشف عن إفراز هذا الأنزيم من قبل الفطريات، كذلك فأن للعديد من الفطريات القدرة على إفراز مجموعة من الأنزيمات الأخرى التي تساعدها في عملية التغذية.

تختلف نسبة الملوحة في مياه شط العرب من منطقة إلى أخرى بأبتعادها أو أقترابها من منطقة المصب وكذلك في حالة المد والجزر وفصول السنة وغيرها من العوامل التي يمكن أن تؤثر في نسب ملوحة المياه (١٧، ٣)، لذلك يمكن القول أن الفطريات التي في مثل هكذا بيئة تكون بالضرورة متكيفة لمديات واسعة من الملوحة والعوامل البيئية الأخرى كالأس الهيدروجيني ودرجة الحرارة ونفاذية الضوء، وألا فأنها ستكون عرضة للهلاك بين الحين والآخر عند تغير عامل بيئي ما عن مستوى تحملها، ولقد وجدنا في هذه الدراسة أن الفطريات المختبرة بشكل عام لم تختلف في معدلات نموها ألشعاعي بشكل معنوي فيما بينها عند مستوى أحتمال $P<0.05$ ، بأستثناء الفطر *Alternaria chlamydospora* الذي فاق نموه ألشعاعي معنوياً الفطرين *Scytalidium lignicola* و*Stachybotrys* sp. ، وكذلك الفطر *Aspergillus candidus* أختلف نموه ألشعاعي معنوياً عن الفطر*Stachybotrys* sp. . كذلك لم تختلف الفطريات المختبرة في فعاليتها الأنزيمية بصورة معنوية فقط كانت فعالية الفطر *Scytalidium lignicola* أقل معنوياً عن الفطر *Alternaria chlamydospora*، وكانت فعالية الفطر *Stachybotrys* sp. لإفراز أنزيم اللايبيز أقل بشكل معنوي عن فعالية الفطريات *Alternaria chlamydospora* و *Aspergillus candidus* و *Fusarium* sp. وكما موضح في جدول رقم (٣). ووجد في هذه الدراسة أيضاً أن عامل الملوحة كان له تأثيراً معنوياً في أختزال النمو ألشعاعي وقدرة

الفطريات المختبرة على إفراز أنزيم اللايبيز وكما موضح في جدول رقم (٣)،وكان أكثر الفطريات مقاومة للتراكيز الملحية هو الفطر *Aspergillus candidus* ، وقد ذكر(١٠) أن معظم الأفراد التابعة للجنس *Aspergillus* تمتاز بتكيفها لمدى واسع من درجات الحرارة والدالة الحامضية وتراكيز عالية من ملح كلوريد الصوديوم ، كما وأن له القدرة على أنتاج الأنزيمات المحللة للسيليلوز تحت الظروف نفسها (٥). أن أختزال نمو وقدرة الفطريات على أنتاج أنزيم اللايبيز نتيجة لتأثير الملوحة فيها مع أحتفاظها بالقدرة على إفراز هذا الأنزيم خلال هذه الدراسة يتطابق مع ما توصل أليه (١٦) حيث كانت الفطريات المعزولة من الأهوار مختلفة الملوحة قادرة على إفراز أنزيم اللايبيز وأنزيمات أخرى ولكن بمستويات مختلفة. كما ووجد (٣) علاقة سلبية قوية بين الملوحة والعدد الكلي للعزلات الفطرية في دراسته، وقد يكون تأثر قدرتها الأنزيمية بالملوحة سبباً وراء عدم أو أختزال أعدادها في البيئات المالحة.

جدول (١) : الأنواع الفطرية المعزولة من مياه مناطق الفاو وميناء أبو فلوس والعشار

ت	أسم الموقع	الأنواع الفطرية المعزولة
1	الفاو	*Aspergillus terreus; A.fumigatus; A. flavus;Aspergillus* sp.; *Achlya* sp.; *Bipolaris* sp.;*Candida* sp.; *Penicillium* sp.; *Saccharomyces* sp.; *Stachybotrys* sp.; *Trichoderma* sp.; Black Sterile Mycelia;Yellow Sterile Mycelia
2	ميناء أبو فلوس	*Absidia* sp.; *Alternaria alternata; Aspergillus terreus; A. flavus; Aspergillus* sp.; *Achlya* sp.; *Acremonium curvulum;Chaetomium perlucidum; Candida albicans;Paecilomyces variotii; Penicillium* sp.*; Rhizopus stolonifer;Saprolegnia parasitica; S. ferax; S. terrestris;Saprolegnia* sp.; *Scytalidium* sp.; *Scytalidium lignicola ;Trichoderma* sp.; Black Sterile Mycelia
3	العشار	*Absidia* sp.; *Alternaria alternata ; A. chlamydospora; A.infectoria; Aspergillus terreus; A. flavus; A.fumigatus; A.nigers; A.candidus; A.nidulans; Achlya* sp.; *Acremonium alabamensis;Acremonium* sp.; *Bipolaris australiensis; Candida* sp.; *Chrysosporium tropicum; Fusarium* sp.; *Phoma cava; Penicillium* sp.*; Rhizopus stolonifer; Saprolegnia parasitica; S. ferax; Saprolegnia* sp.; *Scopulariopsis brevicaulis; Stachybotrys* sp.*; Trichoderma viride;* Yellow Sterile Mycelia

جدول (٢): فعالية الفطريات قيد الدراسة في أنتاج أنزيم اللاييبز

ت	أسم الفطر	قطر المستعمرة الفطرية (سم)	الفعالية الأنزيمية (سم)
1	*Acremonium alabamensis*	8.0	-
2	*Alternaria chlamydospora* **	6.5	7.95
3	*Aspergillus candidus* *	8.6	7.1
4	*A.terreus*	8.8	-
5	*Fusarium* sp. *	8.5	5.6
6	*Penicillium* sp. **	6.8	8.9
7	*Phoma cava***	5.0	5.97
8	*Scopulariopsis brevicaulis*	8.1	-
9	*Scytalidium lignicola* **	8.0	8.9
10	*Stachybotrys* sp.*	8.65	6.85

* : الفعالية الأنزيمية من خلال قياس قطر الترسبات الدهنية
** : الفعالية الأنزيمية من خلال قياس قطر الهالة الشفافة

جدول (3) : تأثير عامل الملوحة Salinity في فعالية الفطريات على أنتاج أنزيم اللاييز

المعدل		40		35		30		25		20		15		السيطرة		أسم الفطر	ت
E.A.	C.D.	E.A.	C.D.	E.A.	C.D.	E.A.	C.D.	E.A.	C.D.	E.A.	C.D.	E.A.	C.D.	E.A.	C.D.		
7.22 [a]	7.16[a]	2.16	1.26	3.6	2.16	3.6	2.34	4.86	3.78	6.84	5.04	7.02	5.4	7.92	6.3	*Alternaria chlamydospora***	1
6.81 [ab]	6.79[ab]	7.2	8.64	7.5	8.8	7.5	8.9	7.06	8.82	7.05	8.46	7.5	8.1	7.02	8.46	*Aspergillus candidus**	2
6.37 [ab]	6.51[abc]	1.0	5.94	1.8	5.94	3.42	6.3	4.14	7.02	5.04	7.2	3.78	7.56	5.4	8.1	*Fusarium* sp.*	3
5.49 [abc]	5.86 [abc]	6.8	3.78	7.0	3.96	8.1	5.4	8.7	6.84	8.9	7.2	9.0	7.2	8.9	7.0	*Penicillium* sp.**	4
5.11 [abc]	5.05 [abc]	4.14	3.6	3.78	2.7	3.6	1.8	3.96	2.88	4.68	3.6	5.4	4.14	5.58	4.5	*Phoma cava* **	5
4.66 [bc]	4.91[bc]	5.4	3.78	6.48	5.04	7.02	4.68	7.56	5.4	8.1	6.48	8.64	6.84	8.9	7.1	*Scytalidium lignicola***	6
3.94 [c]	4.55[c]	0.9	4.86	2.52	5.76	2.52	5.94	2.16	6.3	3.96	7.56	6.3	8.28	6.84	8.64	*Stachybotrys* sp.*	7

C.D. : قطر المستعمرة الفطرية Colony Diameter (سم)، E.A. : الفعالية الأنزيمية Enzymic Activity (سم).
* : الفعالية الأنزيمية من خلال قياس قطر الترسبات الدهنية، ** : الفعالية الأنزيمية من خلال قياس قطر الهالة الشفافة.
قيمة F المحسوبة للنمو ألشعاعي للمستعمرة الفطرية = ١.٨٥٣
قيمة F المحسوبة لفعالية أنزيم اللاييز للفطريات = ٢.١٧٩

رقم الفطر	قيمة T المحسوبة للنمو ألشعاعي للمستعمرة الفطرية	قيمة T المحسوبة لفعالية أنزيم اللاييز للفطريات
١	١٣.٠٦٣	١٣.٣٣٥
٢	١١.٩٠٦	٩.٨٣٩
٣	١٠.٣٨٤	٩.١١١
٤	٧.٦٤٨	٦.٢٢٣
٥	٥.٥٠٧	٥.٨١٤
٦	٥.٧٨١	٥.٣٩٠
٧	٥.٢٤٢	٣.٩٤١

المصادر :

١-الراوي، خاشع محمود وعبد العزيز محمود خلف الله (١٩٨٠) تصميم وتحليل التجارب الزراعية، مؤسسة دار الكتب للطباعة والنشر- جامعة الموصل- العراق ٤٨٧ صفحة.

٢-عباس، باسل عبد الزهرة (١٩٩٣) عزل وتصنيف الفطريات من مياه ورسوبيات شط العرب وتفرعاته، رسالة ماجستير- كلية العلوم- جامعة البصرة- العراق، ١٤٤صفحة.

٣-الصالحي، محمد حسين مشهد (٢٠٠٢) دراسة حول الفطريات الخيطية الدقيقة المستوطنة لساحل قناة خور الزبير، رسالة ماجستير- كلية العلوم- جامعة البصرة- العراق، ٩٠ صفحة.

٤-الهادي، رواء بدر هادي (٢٠٠٠) دراسة حول الفطريات في بيئة مجاري البصرة، رسالة ماجستير- كلية التربية- جامعة البصرة- العراق، ٧٥صفحة.

5-Abdulkadir, M.A. and E. Al-Habeeb. (1995) Cellulytic activity of fungi associated with *Phragmites australis.* Abhath Al-Yarmouk, 4:51-57.

6-Baxter, M. and M.D. Trotter. (1969) The effect of fatty materials extracted from keratin on the growth of fungi with particular reference to fatty acid content. Sabouraudia, 7:199-206.

7-Booth, C. (1971) Methods in microbiology. Vol. 4, Academic Press- London and New York, pp.859. Cited in: Isolation and taxonomy of fungi from water and sediments of Shatt Al-Arab estuary and its creeks, Abbas, B.A. (1993) M.Sc. Thesis-College of Science- University of Basrah-Iraq,144 p.

8-Cochrane, V. W. (1958) Physiology of fungi, John Wiley and Sons, Inc., New York- USA 524 p.

9-Dick, M. W. (1973) Saprolegniales. In the fungi (eds. G. W. Ainsworth *et al.*), Academic Press- New York- USA, Vol. 4 :113-144.

10-Domasch, K. H., W. Games. and T. Anderson. (1980) Compendium of soil fungi, Vol. 1, Academic Press- London- UK 854 p.

11-Douabul, A.Z., H.T. Al-Saad and S.A. Darmoian. (1984) Distribution of petroleum residues in surfacial sediments from Shatt Al-Arab River and the North-West region of Arabian Gulf. Mar. Poll. Bull., 15:198-200.

12-El-Dohlob, S.M. and B.Z. Ali. (1981) Fungal population inhabiting polluted water of the River Shatt Al-Arab and its creeks at Basrah, Iraq. J. Univ. Kuwait (Sci), 8:235-241.

13-Ellis, M. B. (1971) Dematiaceous hyphomycetes- Commonwealth Mycological Institute- Kew- Surrey- England 608 p.

14-Ellis, M. B. (1976) More dematiaceous hyphomycetes- Commonwealth Mycological Institute- Kew- Surrey- England 507 p.

15-Frey, D., R. J. Oldfield and R. C. Bridger. (1979) A color atlas of pathogenic fungi-Wolfe Medical Publications Ltd.-London-UK 68 p.

16-Gessner, R. V. (1980) Degradative enzyme production by Salt – Marsh fungi, Botanica Marina 23 : 133 – 139.

17-Ghani, A. A. (1988) Seasonal variations of nutrients an other related parameters in Khor Al- Zubair and Shatt Al- Basrah Canal. Marina Mesopotamica 3 (1): 103- 114.

18-Hankin , L. and S. L. Anagnostakis. (1975) The use of solid media for detection of enzyme production by fungi- Mycologia 67:597 – 607.
19-Harvey, J.V. (1952) Relationship of aquatic fungi to water pollution. Sew. and Indust. Wast. 24:1159-1164.
20-Hoog de, G. S. and J. Guarro. (1995) Atlas of clinical fungi- Center albureau voor shimmel- cultures and Universitat Rovirari Virgili- Spain 720 p.
21-Ismail, A.L.S., S.S. Rattan and T.M. Mohsin. (1979) Aquatic fungi of Iraq: species of *Saprolegnia*. Hydrobiology, 65:83-93.
22-Jawetz, E., J. L. Melnick. and E. A. Adelberg. (1987) Review of medical microbiology- 17th. Ed. Prentice- Hall International Inc.
23-Lynch, J. M. and N.J. Poole.(eds.)(1979) Microbial ecology a conceptual approach-John Wiley and Sons- New York-USA 266 p.
24-Mc Ginnis, M. R. (1980) Laboratory hand book of medical mycology, Academic Press- New York- USA 661p.
25-Midgley, G., Y. M. Clayton. and R. G. Hay. (1997) Medical Mycology, Mosby- Wolfes, London, England, 155 p.
26-Muhsin , T. M. (1977) Studies on the Saprolegniaceae of Shatt Al- Arab near Basrah / Iraq, M.Sc. thesis, Basrah University, Iraq, 120 p.
27-Muhsin , T. M., S.S. Rattan and A.L.S. Ismail. (1984) Aquatic fungi of Iraq: Species of *Achlya*. Sydowia, Ann. Myco., 37:224-237.
28-Park, D. (1976) Review on recent advances in aquatic mycology, Trans. Brit. Myco. Soc.,67:184-185.
29-Von Arx, J.A. (1981) The genera of fungi sporulating in pure culture. 3 rd. Ed. Gentner Verlag- Germany, 315 p.
30-Zia, C.T.(1985) Taxonomic and biological study of some aquatic fungi from Shatt Al-Arab, M.Sc. thesis, College of Science, University of Basrah, Iraq.

Enzyme activity of lipase of some fungi isolated from Shatt Al–Arab River and study the effect of different NaCl concentration of its enzyme activity

Fadhil J. Farhan

Marine Science Centre / Basrah University

Basrah-Iraq

Abstract:

The present study has been investigate the fungal species which lived in Shatt Al –Arab River, and the ability of some of them to produce lipase, as well as the effect of salinity on the activity of lipase production. Different species of fungi were isolated from water at the sites: Al-Faw , Abu - Floos Port and Ashar during the period 3/3 -29/9/2005.True aquatic fungi belong to Saprolegniaceae were isolated from Abu- Floos Port and Ashar during March and April, with no sign of their occurrence in Al- Faw. A lot of different fungal species which belong to Deuteromycetes, few of Ascomycetes, and very few belong to Zygomycetes were isolated. The activity of ten species were investigated for production of lipase . It is appeared that seven species have the ability to produce this enzyme. The most active fungi was *Alternaria chlamydospora* followed by *Aspergillus candidus* and *Fusarium* sp. and the lowest activity was the fungi *Stachybotrys* sp. and *Scytalidium lignicola*. The effect of salinity on the lipase activity of seven fungal species was examined at salty concentration 15 , 20 , 25 , 30 , 35 and 40 ppt, they have show significant effect in the reduce of redial growth and the lipase production by these fungi.