مجلة كلية التربية
مجلة علمية فصلية

experimental group using internet after traditional lecture to get more information about material . nAfter that the final achievement test was applied on all students in three groups in same time and repeated the applied of motivation to learning and repeated the applied of the final achievement test to be retention test after three weeks .there are some suitable statistical methods using to reach to the different .

The teaching continue to eight weeks .The control group using only traditional method in teaching in lecture and first experimental group findings and analysis them . The findings are supremacy the second experimental group students in achievement and retention of information and motivation to learning adfirst experimental group and control group series.

الفعالية الانزيمية لبعض الفطريات المعزولة من جذر نبات اللهانة (*Brassicaa oleracea var-capitata*)

عباس فارس عباس
قسم علوم الحياة/ كلية التربية/ جامعة البصرة/ العراق

الخلاصة

... ٤٠ نوعاً وسلالة فطرية معزولة من جذور نبات اللهانة حول قابلية افرازها لانزيمات السيليوليز ... اوكسديز واللايبيز والبروتييز والاميليز على الاوساط الصلبة . وقد اظهرت جميع الفطريات اختباراً ... السيليوليز والاميليز والبروتيز ، في حين لم يظهر بعضها الاخر نشاطاً انزيمياً لانزيمي الفينول ... واللايبيز . اظهر الفطر *Aspergillus flavus* نشاطاً انزيمياً عالياً لانزيمي السيليوليز والاميليز ... (٤٠ و٤٧) ملم على التوالي ، في حين اظهر الفطرين *Scytalidium* sp٢ و *Cladosporium cldosporioides* نشاطاً انزيمياً عالياً لانزيم البروتييز وبلغ قطر منطقة التفاعل (٢٠) ... وكان للفطر *Ulocladium botrytis* نشاطاً انزيمياً عالياً لانزيم الفينول اوكسيديز وبلغت (٢٢) ملم ، في حين لوحظ نشاطاً انزيمياً عالياً لانزيم اللايبيز من الفطر *Emericella* sp. (٤٠) ملم

Introduction المقدمة

... الاحياء المجهرية في السنوات الاخيرة كمصادر للصناعة والتقانات الحياتية الوثيقة الصلة ... فقد حفزت اهمية اكتشاف الانزيمات الخارج خلوية في العديد من الاحياء المجهرية [١] . تعد ... الكائنات الحية الواسعة الانتشار في البيئات المختلفة لما تمتاز به من قدرة على افرازها لانزيمات ... في تحليل الوسط الذي تنمو عليه وغالباً ما يمتلك الفطر اكثر من انزيم ليمكنه من العيش على ... [٢].

... الاقتصادية للانزيمات التي تنتجها الفطريات فقد درست العديد من الفطريات في قابلية انتاجها ... السيليوليز والفينول اوكسديز والبروتيزواللايبيز والاميليز [٣، ٤] ...

كلية التربية ... المكتبة

(Cellulase) احد الانزيمات التي تفرزها الفطريات وهو انزيم معقد يعمل على تحطيم مادة السليلوز الى وحدات كلوكوز، وينتج هذا الانزيم من العديد من الفطريات مثل الانواع التابعة للاجناس *Aspergillus* *Penicillium* ، *Trichoderma* و *Fusarium* [٥] . يعد انتاج هذا الانزيم خطوة مهمة في القطاع الاقتصادي وهو مهم لانتاج الايثانولات وبروتينات الخلايا المفردة والمواد الكيميائية الاخرى [٦ و٧] .

اما انزيم الفينول اوكسديز (Phenol Oxidase) الذي يحلل اللكنين والذي هو عبارة عن بوليمرات مختلفة من Phenylpropanoid والذي يتواجد في انسجة النباتات الخشبية ويكسبها الصلابة والمقاومة للعوامل البايلوجية [٨] ، ونظرا لكونه وسط معقد التركيب ويصعب على الاحياء المجهرية تحليله لذا الفطريات الوحيدة القادرة على تحليله لافرازها انزيم اللكنيز [٩] .

ولانزيم اللايبيز (Lipase) المحلل للدهون غير الذائبة في الماء اهمية كبيرة لاستعمالاته الواسعة في المجالات الصناعية والطبية فضلاً عن استعماله في انتاج المركبات العضوية فتلك الانزيمات وجدت تطبيقاتها في صناعة الاطعمة والادوية لسهولة استخلاصها وقلة تكلفته ، ويعد انزيم اللايبيز المستخلص من الاحياء المجهرية اداة مهمة في الصناعة لاستعماله المتنوع في طرائق التقانات الحياتية ، ويكون الانزيم فعالا في الوسط الذي يفصل بين المنطقة المحبة للماء والكارهة له ، اذ يجزء الكلسريدات غير الذائبة في الماء الى جزيئات يتم اخذها بسهولة من قبل الخلايا [١٠].

كما يمتلك انزيم البروتييز (Protease) جانب كبير من التطبيقات الاحيائية بسبب فائدته الكبيرة [١١] ، فقد اجريت العديد من الدراسات لاكتشافه ومعرفة صفاته [١٢] .

اما انزيم الاميليز (Amylase) فيفرز من العديد من الاحياء المجهرية ومن ضمنها الفطريات ، اذ يعمل على تحويل السكريات المتعددة الى سكريات بسيطة [١٣و١٤]. ويستفاد منه في الصناعات الدوائية والكيميائية وكذلك في مجالات الطب والصناعات الغذائية [١٥] . وهناك عدد من الدراسات حول انتاج انزيم الاميليز من قبل العديد من الانواع الفطرية [١٦و١٧ و١٨] .

ونظراً لاهمية الانزيمات المفرزة من الفطريات من الناحية المرضية والتي تعد الوسيلة المهمة في مهاجمة الكائنات المختلفة لذا هدفت الدراسة الى التعرف على الفعالية الانزيمية التي تمتلكها الفطريات المعزولة والممرضة للجذور النباتية ذات الاهمية الاقتصادية .

مواد العمل وطرائقه Materials and Methods

عزل الفطريات

استخدمت طريقة Agrios[١٩] مع بعض التحويرات لغرض الحصول على الفطريات الممرضة للجذور النباتية فقط وكما يلي :جمعت ٦٠ عينة من جذور نبات اللهانة المزروعة في منطقة الهارثة/البصرة خلال شهري شباط واذار ووضعت العينات النباتية في اكياس نايلون معقمة وطمت وجلبت للمختبر .غسلت الجذور بماء الحنفية الجاري وبصورة جيدة لازالة جميع الاتربة العالقة ثم غسلت بالماء المقطر ثلاث مرات وقطعت الى قطع صغيرة (٠,٥-١) سم ثم عقمت القطع الجذرية بمحلول (٥ %) هايبوكلورات الصوديوم (NaOCl) لمدة ٥ دقائق .وفي ظروف معقمة غسلت قطع الجذور بالماء المقطر المعقم ثلاث مرات ثم جففت على اوراق ترشيح معقمة ، ثم نقلت (٣-٤) قطع من الجذور لكل طبق حاو على الوسط Potato Dexstrose Agar (PDA) المحضر مسبقاً . ثم حضنت الاطباق بدرجة حرارة (٢٥ ± ٢) °م ولمدة ٧ ايام . ثم شخصت الفطريات النامية لغرض دراسة فعاليتها الانزيمية بالاعتماد على المراجع ١٩٩٤،١٩٧٦،١٩٧١ Ellis .

دراسة النشاط الانزيمي

اختبرت قابلية (٤٠) نوعا وسلالة من الفطريات المعزولة على افرازها للانزيمات التالية :

السليوليز Cellulase

اتبعت طريقة Mandels واخرون [٢٠] لفحص قابلية الفطريات على انتاج انزيم السليوليز على الوسط الصلب المحضر من المواد: (NH_4SO_4) ١,٤ gm ، (KH_2PO_4) ٢ mg ، ($MgSO_4.7H_2O$) ٠,٣ gm ، ٠,٣ gm ($CaCl_2$) ، ٤ mg ($FeSO_4.7H_2O$) ، ١,٦ mg ($MnSO_4.H_2O$) ١,٤ mg ($ZnSO_4.7H_2O$) ، ٢mg ($CoCl_2$) ، ٠,٨ gm (Peptone) ، ٢ ml (Tween ٢٠) ١٠٠٠ ml (D.W) ، ٠,٣gm (Urea) ، ١٠ gm Carboxy Methyl Cellulose(CMC)

[illegible] انتاج الانزيم بطريقة Yeoh واخرون [٢١] باستعمال كاشف اليود- حامض الهيدروكلوريك . عند [illegible] اضافة حول المستعمرة دلالة على افراز الانزيم .

[illegible] Phenol Oxidase

[illegible] عن قابلية الفطريات المدروسة على انتاج الانزيم باستعمال وسط الزرع الموصوف من قبل Davidson واخرون[٢٢] والمحور من قبل Gessner[٢٣] والمتكون من :
[illegible] (Malt extract) ، ٠,٨gm (Tannic acid) و ٢٠gm (Agar) و١٠٠٠ml (D.W.)
[illegible] بنية حول المستعمرة بعد فترة الحضن دلالة على الاختبار الموجب للانزيم .

Lipase [illegible]

[illegible] الوسط الموصوف من قبل Sierra[٢٤] والمكون من :
[illegible] (Peptone)، ٥gm (Nacl) ، ٠,١gm (CaCl٢) ، ٢٠gm (Agar) ، ١٠ml (Tween٢٠)
[illegible] (D.W) . وظهور راسب ابيض تحت المستعمرة او بلورات بيضاء تحيط بالمستعمرة دلالة على [illegible] للانزيم .

Protease [illegible]

[illegible] Hanking and Anagnostakis[٢٥] لفحص قابلية الفطريات في انتاج انزيم البروتييز [illegible]
[illegible] (Nutrient agar) ، ٠,٤٪ (Gelatin) . تم الاختبار باضافة كاشف فرازير Fraziers (reagent) المكون من٥gm (HgCl٢) ، ٢٠ml (Con. HCl) و ١٠٠ml (D.W.)
[illegible] شفافة حول المستعمرة الفطرية دلالة على الاختبار الموجب للانزيم .

Amylase [illegible]

[illegible] الوسط حسب طريقة Gessner[٢٣] من المواد ٢gm (Soluble starch) ، (Peptone) [illegible] (Yeast extract) ، ١٨gm (Agar) و ١٠٠٠ml (D.W.). حضر الكاشف من محلول [illegible] (KI) حسب طريقة Hanking and Anagnostakis[٢٥] وظهور هالة صفراء حول [illegible] دلالة على الاختبار الموجب للانزيم .

Results [illegible]

[illegible] الدراسة الحالية بان جميع الانواع الفطرية المدروسة لها القابلية على افراز انزيم السيليوليز [illegible] والاميليز ، اذ بينت اختلافا في قيم فعالية هذه الانزيمات عن طريق قياس قطر منطقة النشاط الانزيمي [illegible] جدول (١). وفيما يخص انزيم السيليوليز فقد اظهر الفطر A.flavus نشاطا انزيميا عاليا [illegible] ملم يليه الفطر M.levis والقطر Scytalidium sp٢ بقيم (٢٥ و ٢٤) ملم جدول(١) صور [illegible] على التوالي. وتدرجت بقية الانواع الفطرية في نشاطها الانزيمي وكان ادناها للفطر R. [illegible] (٤) ملم جدول(١) .

[illegible] الانواع الفطرية في قابليتها على افراز انزيمي الفينول اوكسديز واللايبيز، اذ لم تبدي [illegible] (١ و ٢ ، ٣) A.niger ، A.flavus ، A. terreus ، A.nidulans ، ١ Rh.solani [illegible] و R. stolonifer نشاطا انزيميا لانزيم الفينول اوكسديز ، كما لم تبدي الانواع Chry[illegible] ، ٢ ، ١ Rh.solani و Rhizopus sp. و R. stolonifer [illegible] اللايبيز جدول(١). بينما سجل اعلى نشاط لانزيم الفينول اوكسديز للفطريات [illegible] C.spongiosum و Ulocladium atrum بمقدار (٢٢ و٢١ و١٩) ملم جدول [illegible] على التوالي ، واظهر الفطر Emericella sp. نشاطا انزيميا عاليا لانزيم اللايبيز اذ [illegible] يليه الفطرين U.botrytes و M.levis وكانت قيمتهما (٢٩ و٢٨) ملم صور [illegible] في حين كان للفطرين (A.alternata ١) و (Acremonium sp٢) ادنى فعالية [illegible] (٥) ملم لكل منهما جدول(١) .

[illegible] انزيم البروتييز فقد كان للفطرين (Scytalidium sp٢) و (C. [illegible]) اعلى نشاط انزيمي بلغ (٢٠) ملم صور (١٠و١١) على التوالي ويليهما الفطرين [illegible] (Scytalidium sp١) بقيمة (١٧) ملم صور (١٢و١٣) على التوالي ، بينما كان

للفطرين (L.vuscoetra) و (Acremonium sp١) ادنى نشاط انزيمي بلغ (٤) ملم لكل منهما جدول (١)

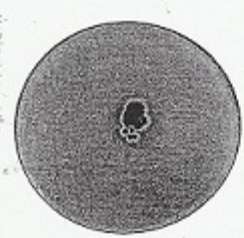
اما بالنسبة لانزيم الاميليز فقد اظهر الفطر A.flavus نشاطا انزيميا عاليا يليه الفطر stolonifer بقيم (٤٧ و ٣٥) ملم صور (١٤ و ١٥) على التوالي ويليه الفطر (١ Scytalidium lignicola) و(Emericella sp.) بقيم (٢٥) ملم صور (١٦و١٧) على التوالي واظهر الفطرين (A.phragmospora ٢) و (A.niger ٢) نشاطا انزيميا واطئا بلغ (٣) ملم لكل منهما

جدول (١) الفعالية الانزيمية وقطر مستعمرة الفطريات المعزولة

Amylase		Protase		Enzyme Lipase		Phenol oxidase		Cellulase		Fungi	No.
AZ	CD	AZ	CD	AZ	CD	AZ	CD	AZ	CD		
١	٤٧	١٦	٥٠	٥	٣٧	٥	٤٢	١٦	*٣٤	*Alternaria alternate* ١	١
٦	٤٥	١٢	٥٤	١٥	٧٠	٢	٤٣	٩	٤٠	*Alternaria alternate* ٢	٢
٨	٢٧	١٦	٣٤	١٨	٥٥	٩	٣٤	٩	٤٥	*Alternaria alternate* ٣	٣
٩	٣٠	١٢	٤٥	١٧	٤٣	٦	٣٢	١٢	٥١	*Alternaria citri*	٤
٥	٤٣	١٢	٦٠	١١	٣٨	٩	٤١	١٢	٤٢	*Alternaria denissii*	٥
٤	٤٨	١٣	٥٢	٦	٣٥	٥	٤٩	٩	٤٦	*Alternaria phragmospora* ١	٦
٣	٤٧	١٠	٦٣	٧	٢٩	٤	٤٠	١٠	٤٥	*Alternaria phragmospora* ٢	٧
٥	١٥	٦	١٥	١٦	٢٠	٠	٤٠	٩	١٨	*Aspergilus niger* ١	٨
٣	١٥	٩	١٦	١٠	١٩	٠	٥٠	٧	١٧	*Aspergilus niger* ٢	٩
٥	١٧	٦	٢٠	١١	٢١	٠	٤٥	١٢	٢١	*Aspergilus niger* ٣	١٠
٤	١٨	١٣	١٠	٧	٥٧	٠	٤٥	١٣	٢٠	*Aspergilus terreus*	١١
٤٧	٣٠	١٠	٣٤	٢٠	٦٠	٠	٣٩	٤٠	٣٠	*Aspergilus flavus*	١٢
١٠	١٠	١٥	١٤	٢٠	٢٣	٤	٤٧	١٢	١٠	*Aspergilus fumigatus*	١٣
١٤	٦	١٣	٨	١٠	٤٠	-	١٥	١٨	١٠	*Aspergilus nidulans*	١٤
٢٥	٤٠	١٥	٢٧	٤٠	٤٠	١٠	١٠	٧	٢٢	*Emericella sp.*	١٥
١٠	٥٠	١٢	٣٩	١٠	٤٠	١٥	٦٥	١٠	٣٠	*Aspergellus sp.*	١٦
٤	٥١	٤	٦٦	١١	٥٨	٢	٤٠	٥	٧٠	*Acremonium sp*١	١٧
١٠	٣٠	٦	٤٠	٥	١٨	٨	٥٧	١٦	٤٤	*Acremonium sp*٢	١٨
٣٢	١٨	٥	١٨	٨	٢٧	٧	٢٢	٥	٢٥	*Acremonium sp*٣	١٩
٨	١٦	٢٠	٩	١٧	٢٤	١٠	٣٦	١٥	١٠	*Cladosporium cldosporioides*١	٢٠
٢٠	١٠	١٥	١٠	١٤	١٥	١٥	١٢	١٤	٢٣	*Cladosporium cldosporioides*٢	٢١
٧	١١	١٩	٨	٢٣	١٢	١٨	٢٢	٢٢	١٠	*Cladosporium spongiosum* ١	٢٢
٦	١٤	١٦	٩	٢٠	١٩	٢١	٢١	١٢	١٠	*Cladosporium spongiosum* ٢	٢٣
٦	٥٠	٢	٥٠	٠	٧٤	٣	٥٠	٦	٤٦	*Chrysosporium sp.*	٢٤
٣٠	٤٥	٤	٤٠	١٥	٥٥	٨	٧٣	١١	٥٥	*Lignicola vuscoetra*	٢٥
٢٢	٤٧	١٥	٤٥	٢٨	٥٢	١٢	٢٥	٢٥	٢٦	*Monodictus levis*	٢٦
٩	٦٠	٩	٦٠	١٠	٦٥	١٠	٤٤	٨	١٨	*Monodictus sp*١	٢٧
١٨	٣١	١٠	٥٠	١٦	٤٩	١٠	٤٥	١١	٣٠	*Monodictus sp*٢	٢٨
٥	٦٠	٥	٦٢	٠	٧٠	-	٦٥	١٢	١٣	*Rhizoctonia solani* ١	٢٩
٦	٥٥	٩	٣٦	٠	٣٥	١١	٢٣	٢٢	١٥	*Rhizoctonia solani* ٢	٣٠

١٣	٢٦	١٠	٢٥	٠	٦٠	٠	٤٥	٦	٥٦	*Rhizopus* sp.
٣٥	٢٥	٦	٢٦	٠	٨٠	٠	٧٥	٤	٣٦	*Rhizopus stolonifer*
٢٥	٤٣	١٢	١٨	١٥	٧٠	١١	٥٥	١٨	٥٠	*Scytalidium lignicola* ١
١٨	٥٢	١٧	١١	٢٢	٢١	٧	٣٠	١٠	٤٧	*Scytalidium lignicola* ٢
١٨	١٥	١٧	١٣	١٨	٢٢	١٢	١٢	١٧	٢٥	*Scytalidium* sp١
١١	١١	٢٠	١٢	١٨	٩	١٧	٩	٢٤	١١	*Scytalidium* sp٢
١٥	٦٠	٦	٢٣	٢٩	٥٠	٢٢	٣٥	٢٠	٤٠	*Ulocladium botrytes*
١١	٣٨	٨	٢٥	٢٠	٣٨	١٩	٢٥	١٥	٥٠	*Ulocladium atrum*
١٤	٥٥	٦	٥٠	١٩	٦٦	١٠	٣٦	١٢	٥٣	*Ulocladium* sp١
١٤	٥٣	٨	٥٧	١٦	٦٩	٩	٣٥	١٧	٥٥	*Ulocladium* sp٢

Activity Zone (mm) = AZ Colony Diameter (mm) = CD



صورة (١١) فعالية انزيم
Protease للفطر
Cladosporium cldosporodies ١

صورة (١٠) فعالية انزيم
Protease للفطر
Scytalidium sp٢

صورة (١٣) فعالية انزيم
Protease للفطر
Scytalidium sp١

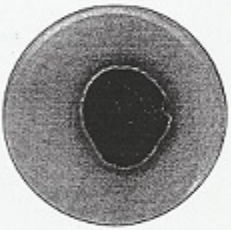
صورة (١٢) فعالية انزيم
Protease للفطر
Scytalidium lignicola ٢

* قيمة كل قراءة تمثل معدل ثلاث قراءات

صورة (١) فعالية انزيم
Cellulase للفطر
Aspergilus flavus

صورة (٢) فعالية انزيم
Cellulase للفطر
Monodictus levis

صورة (٣) فعالية انزيم
Cellulase للفطر
*Scytalidium sp*٢



صورة (٤) فعالية انزيم
Phenol oxidase للفطر
Ulocladium botrytes

صورة (٥) فعالية انزيم
Phenol oxidase للفطر
Cladosporium spongiosum ٢

صورة (٦) فعالية انزيم
Phenol oxidase للفطر
Ulocladium atrum

صورة (٧) فعالية انزيم
Lipase للفطر
Emericella sp.

صورة (٨) فعالية انزيم
Lipase للفطر
Ulocladium botrytes

صورة (٩) فعالية انزيم
Lipase للفطر
Monodictus levis

صورة (١٤) فعالية انزيم Amylase للفطر *Aspergillus flavus*

صورة (١٥) فعالية انزيم Amylase للفطر *Rhizopus stolonifer*

صورة (١٦) فعالية انزيم Amylase للفطر *Scytalidium lignicola*

صورة (١٧) فعالية انزيم Amylase للفطر *Emericella sp.*

المناقشة Discussion

حظيت الانزيمات التي تنتجها الفطريات باهمية كبيرة في مجال الزراعة والصناعة وصحة الانسان كونها [illegible] بديلة من الانزيمات المشتقة من النباتات والحيوانات [٢٦] . وتعد الفطريات مفرزات انزيمية مهمة [illegible] انزيمات خارج خلوية [٢٧] . فقد اظهرت جميع الانواع الفطرية المدروسة القدرة على انتاج انزيم الامايليز ، وكان لبعض الانواع الفطرية نشاطاً عالياً في انتاج هذا الانزيم على الاوساط الصلبة باستعمال (CW) كمادة تفاعل وتتفق النتائج مع [٢٣و٢٨و٢٩] .

ان لفعالية الفطريات القدرة على افراز انزيم السيليوليز ربما لكونه مكون رئيسي في النباتات وبالتالي [illegible] تحلله من قبل الاحياء المجهرية [٣٠] اذ قد يعود السبب في ذلك الى افراز الفطريات له والذي هو عبارة [illegible] نظام انزيمي مكون من ثلاث انزيمات وهي (Cellobiase و Exoglucanase و Endoglucanase) وتعمل هذه الانزيمات بصورة تعاونية واحياناً تتناوب في تحلل المادة السليلوزية [٣] . [illegible] اظهر الفطر *A. flavus* نشاطاً مميزاً بلغت قيمته (٤٠) ملم ولم تتفق النتائج مع [٣١] اذ سجل نشاطه [illegible] (٢) ملم .

وفي اختبار الانواع الفطرية المدروسة في افرازها لانزيم الفينول اوكسيديز فقد بينت النتائج ان بعض الانواع الفطرية ليس لها نشاطاً انزيمياً وهذا يتفق مع [٢٦] ، وربما تكون هذا الانزيم مسؤول عن تحلل مادة اللكنين وهذه المادة معقدة يصعب على الاحياء المجهرية تحللها ويقتصر تحللها على بعض الانواع الفطرية [illegible] تفرز انزيم اللكنيز الذي يعمل على تحللها ، اذ يشارك في عمله ثلاث انزيمات خارج خلوية هي [illegible] البيروكسيديز (Peroxidase) واللاكيز (Laccase) والتايروسينيز (Tyrosinase) [٣٢] ، [illegible] انزيم البيروكسيديز في مراحل النمو الاولى اي مرحلة تكوين المستعمرات على الوسط الصلب بينما يفرز [illegible] اللاكيز بعد ثلاثة اسابيع من مراحل النمو [٣٣] . وتتاثر هذه الانزيمات بصورة كبيرة بطبيعة وكمية المغذيات الموجودة في الوسط وخصوصاً النتروجين والعناصر النادرة [٢٠و٣٣و٣٦] . كما ان تحلل اللكنين يتم

باليتين في الاولى يحدث تحلل جزئي الى وحدات تركيبية ابسط بينما في الثانية يتم كسر السلاسل الجانبية والروابط المزدوجة في موضعها الاصلي [٣٧] .

اما بالنسبة لانزيم اللاييز ، فلم تظهر بعض الانواع الفطرية اختباراً موجباً للانزيم جدول (١) في حين كان للفطر (*Emericella* sp.) فعالية عالية للانزيم بلغت (٤٠) ملم وتتفق هذه النتيجة مع دراسة [٣٨] الذي بين ان اللاييز المفرز من قبل الفطريات ينتج اساساً من بعض الانواع العائدة للجنسين (*Aspergillus* و *Candida*) ، كما اتفقت مع دراسة [٣٩] الذي اختبر ٣٢ نوعاً فطرياً تنتمي الى الاجناس (*Aspergillus* و *Mucor* و *Penicillium*) في انتاج انزيم اللاييز والتي اظهرت نتيجة موجبة لانتاج الانزيم .ان الفعالية العالية التي تمتلكها بعض الفطريات في افرازها لانزيم اللاييز تعود الى قدرتها على استخدام الدهون كمصدر للطاقة [٢٦] .

اما انزيم البروتييز فقد اظهر النوعين (*Scytalidium* sp٢ و *Cladosporium oldosporioides* ١) نشاطاً انزيمياً عالياً وهذا يبين قدرتهما على تحليل البروتين ، ويلعب هذا الانزيم دوراً فعالاً في امراضية الفطر للنبات [٤٠] .

كما اوضحت نتائج الدراسة ان للانواع الفطرية المدروسة فعالية موجبة لانزيم الاميليز باعتماد النشا كمصدر كاربوني وحيد ، اذ تفاوتت الانواع في انتاجها للانزيم عن طريق تكوين الهالة الشفافة حول المستعمرة واتفقت النتائج مع [٤١] الذي اكد ان امكانية تكوين الهالة الشفافة يعتمد على الانواع الفطرية ، وبالرغم من امكانية الحصول على انزيمات الاميليز من مصادر متعددة الا ان الحصول عليه من الاحياء المجهرية يلائم المنتجات الصناعية [٧] . فقد سجل حديثاً انتاج انزيمي(Gluco-amylase) و (Alpha-amylase) من قبل الفطر(*Rhizopus microsporus*) [٤٢] .

كما بينت الدراسة الحالية ان الانواع المدروسة جميعها اعطت اختباراً موجباً لانزيم الاميليز وهذا يتفق مع نتائج دراسة [٢٣] . وكان للفطر *A. flavus* نشاطاً عالياً بلغ (٤٧) ملم بينما بلغ نشاطه (٩) ملم في دراسة [٣١] ، كما اتفقت مع دراسة [١] الذي اختبر قابلية الفطر(*Aspergillus* sp.) لانتاج انزيم الاميليز باستخدام وسط نخالة الرز والحنطة وزيت البندق ، اذ سجل الفطر فعالية مرتفعة لانتاج الانزيم يليه الفطر *Rhizopus stolonifer* اذ بلغ نشاطه (٣٥) ملم في حين لم يكن له نشاطاً في دراسة [٣١] .

المصادر References

١. Alva,S.; Anupama,J.; Savla,J.; Chin,Y.; Purvi,J. and Varalak shim,K.N.(٢٠٠٧). Production and characterization of fungal amylase enzyme isolated from *Aspergillus* sp.JGI ١٢ in solid-state culture.Afr.J.Biotechnol., ٦:٥٧٦-٥٨١ .

٢. Egger,K.N.(١٩٨٦). Substrate hydrolysis patterns of post-five ascomycetes (Pezizales). Mycologia, ٧٨:٧٧١-٧٨٠ .

٣. Gomes,I; Gomes,J.; Steiner,W. and Esterbaner,H. (١٩٩٢). Production of cellulase and xylase by a wild strain of *Trichoderma viride*. App.Microbiol.Biotechnol., ٣٦:٧٠١-٧٠٧ .

٤. Haltrich,D. ;Laussamayer,B. and Steiner,W.(١٩٩٤). Xylanase formation by *Sclerotium rolfsii* : effect of growth substrate and development of aculture medium using statistically designed experiments .Appl.Microbiol.Biotechnol., ٤٢:٥٢٢-٥٣٠ .

٥. Tomme,P. ;Warren,R.A.J. and Gilkes,N.R.(١٩٩٥). Cellulose hydrolysis by bacteria and fungi. Adv.Microbiol.Physiol., ٣٧:١-٨١.

٦. Solomon,B.O ;Amigun,B. ;Bediku,E. ;Ojumn,T.V. and Layokun,S.K.(١٩٩٩). Optimization of cellulase production by *Aspergillus flavus* (Linn) isolate NSPR ١٠١ grow on Bagasse. JNSCHE., ١٦:٦١-٦٨.

٧. Pandey,A. ;Soccol,C.R. and Mitchell,D.(٢٠٠٠). New development in solid stste fermentation :I-bioprocesses and products .Process Biochem., ٣٥:١١٥٣-١١٦٩ .

٨. Saparrat,M.C.N.;Guillen,F.Arambarri,A.M.;Martinez,A.J. and Martinez,M.J. (٢٠٠٢).Induction, Isolation and Characterization of two laccase from the white rot basidiomycetes *coriolopsis rigida*.Appl.Envron.Microbiol., ١٥٣٤-١٥٤٠.

٩-Kirk,T.K.;Cannors,W.J. and Zeiku,J.G.(١٩٧٧).Advances in understanding the microbiological degradation of lignin.In:Loewus,F.A. and Runeckies,V.C. (eds.) Recent advance in phytochemistry.Vol.II.Plenum press. New York. PP, ٣٦٩-٣٩١.

١٠-Gulati,R.; Jasmine,I.S.; Vineet,K.; Paresad,A. and Saxena,K. (٢٠٠٥). Production of a novel alkaline lipase by *Fusarium globulosum* using neem oil and its application. pure.Appl.Chem., ٧٧:٢٥١-٢٦٢.

١١-Rao,M.B.; Tanksale,A,M; Ghatage,M.S. and Deshpande,V.V.(١٩٩٨). Molecular and biotechnological aspects of microbial protease.Microbiol.Mol.Bol.Rev., ٦٢:٥٩٧-٦٣٥.

١٢-Vandeputte,R.L. and Gros,R.(٢٠٠٢).Novel proteases:common themes and surprising features cun.opin. struct. Biol. ١٢:٧٠٤-٧٠٨.

١٣-Fadel,M.(٢٠٠٠). Production of thermostable amylolytic enzymes by *Aspergillus [illegible]* F.٩٠٩ under solid state fermentation . Egypt. J.Microbiol., ٣٥:٤٨٧-٥٠٥ .

١٤-Wang,B.D. ;Chen,D.C. and Kuo,T.T.(٢٠٠١). Characterization of a *Saccharomyces cerevisiae* mutant with oversecretion phenotype.Appl.Microbiol.Biotechnol., [illegible]-٧٢٠.

١٥-Crabb,W.D. and Mitchinson.C.(١٩٩٧).Enzymes involved in the processing of starch to sugars,Trends.Biotechnol., ١٥:٣٤٩-٣٥٢.

١٦-Frolova,G.M.; Silchenko,A.S.; Pivkin,M.V. and Mikhailov,V.V. (٢٠٠٢). Amylase of the fungus *Aspergillus flavus* associated with focus evanescens.Appl.Biochem.Microbiol., ٣٨:١٣٤-١٣٨.

١٧-Knsuda,M. ;Nagai,M. ;Hur,T.C. ;Veda,M. and Terashita,T.(٢٠٠٣). Purification and some properties of amylase from an Ectomycorrhizal fungus *Tricholoma matsutake*.Mycoscience ., ٤٤:٣١١-٣١٧.

١٨-El-Safey,E.M. and Ammer,M.S.(٢٠٠٤).Purification and characterization of amylase isolated from *Aspergillus flavus var.columnaris*.Ass.Univ.Bull., ٧:٩٣-١٠٠.

١٩-Agrios,G.N.(١٩٩٧).Plant pathology .(٤th ed.). Academic press. New York . PP,٢٥٥-٢٠٨

٢٠-Mandels,M.;Sternberg,D. and Andreotti,R.(١٩٧٥).Symposium on enzymatic hydrolysis of cellulose Aulanko,Finland.(eds.Baily,M.;Enari,T.M. and Linke,M.). Denver Book binding Co. ,Denver.

٢١-Yeoh,H.H.;Khew,E. and Lim,G.(١٩٨٥).A simple method for screening cellulolytic fungi Mycologyia., ٧٧:١٦١-١٦٢.

٢٢-Davidson,R.W;Campbell,W.A. and Blaissdell,D.J.(١٩٣٨).Differentiation of wood-decaying fungi by their reactions on gallic or tannic acid medium.J.Agric.Res., ٥٧:٦٨٣-٦٩٥.

٢٣-Gessner,R.V.(١٩٨٠).Degradative enzyme production by salt-marsh fungi. Bot. Marina, ٢٣:١٣٣-١٣٩.

٢٤-Sierra,G.(١٩٥٧).A simple method for the detection of lipolytic activity of microorganisms and some observations on the influence of the component between cells and fatty substrates,Ned.J.Hyg., ٢٣:١٥-٢٢.

٢٥-Hanking,L. and Anagnostakis,S.L.(١٩٧٥).The use of solid media for detection enzyme production by fungi .Mycologia, ٦٧:٥٩٧-٦٠٧.

٢٦-Maria,G.L.;Sridhar,K.R. and Raviraja,N.S.(٢٠٠٥).Antimicrobial and enzyme activity of mangrove endophytic fungi of southwest coast of India.J.of Agricult.Technol., ١:٦٧-٨٠.

٢٧-Ferreira,G.M.A. and Peralta,R.M.(١٩٩٩).Production of lipase by soil fungi and partial characterization of lipase from a selected strain (*Penicillium wortmanii*).J.Basic.Microbiol., ٣٩:١١-١٥.

٢٨- الـ كوثر طعمة(١٩٩٩).الفطريات المعزولة من البقايا النباتية المغمورة في البيئة المائية في البصرة ودراسة القدرة التحللية والفعالية الانزيمية لبعض انواعها.رسالة ماجستير ،كلية التربية،جامعة البصرة . العراق .

٢٩- [illegible] زينب خلف(٢٠٠٥).دراسة لبعض انواع الجنس *Alternaria* وقابليتها المثبطة لبعض الفطريات.رسالة ماجستير ،كلية التربية،جامعة البصرة. العراق.

٣٠-Highley,T.L. and Illman,B.L.(١٩٩١).Progress in understanding brown-rot fungi degrade cellulose.Biodeterioration Abstracts.Vol.٥(٣):٢٣١-٢٤٤.

٣١-عدلان،منيرة منصور(٢٠٠٩).عزل وتشخيص الفطريات المحمولة في الهواء الخارجي والداخلي في البصرة ودراسة قابليتها لافراز الانزيمات والسموم .رسالة ماجستير،كلية التربية،جامعة البصرة.العراق.

Camarero,S.;Galletti,G.C. and Martinez,A.T.(١٩٩٤).Preferential degradation of phenolic lignin units by two white-rot fungi.Appl.Envir.Microbiol., ٦٠:٤٥٠٩-٤٥١٦.

Gomes,E.; Aguiar,A.P.; Bonfa,M.R.; Silva,R. and Boscolo,M. (٢٠٠٩). Ligninase production by basidiomycetes strains on lignocellulosic agricultural residues and their application in the decolorization of synthetic dyes-Brazilian J. Microbiol., ٤٠:٣١-٣٩.

Buswell,J.K.;Cai,Y.J. and Chang,S.T.(١٩٩٥).Effect of nutrient nitrogen on manganese peroxidase and laccase production by lentinula(Lentinus). FEMS Microbiol.Lett., ١٢٨:٨١-٨٨.

Chawachart,N.;Khanongnuch,C.;Watanabe,T. and Lumyong,S.(٢٠٠٤).Rice bran as an efficient substrate for laccase production from thermotolerant basidiomycetes *coriolus versicolor* strain Rc٣ fungal divers., ١٥:٢٣-٣٢.

Couto,R.S.andSanroman,M.A.(٢٠٠٥).Application of solid-state fermentation to ligninolytic enzyme production .Rev.Biochem.Eng.J., ٢٢:٢١١-٢١٩.

Higuchi,T.(١٩٨٥).Degradative Pathways of lignin compounds in:Higuchi,T. (ed.).Biosynthesis and biodegradation of wood components.Academic press,PP,٥٥٧-٥٧٨.

Gavith,J. and Ratledge,C.(١٩٩٢).An inducible,intracellular,alkalophilic lipase in triglycerols. World J.Microbiol.Biotechnol., ٨(٢):١٢٤-١٣١.

Kavitha,J.; Srividya,S.; Jagat,R.; Payal,P.; Priyanki,S.; Rashmi,G.W. and Bhantala,Y.M.(٢٠٠٧). Identification of Potential fungal strain(s) for the production of inducible ,extracellular and alkalophilic lipase.African.J.Biotech., ٦(٥):٥٦٤-٥٦٨.

Valueva,T.A. and Mosolov,V.V.(٢٠٠٤).Role of inhibitor of proteolytic enzymes in plant defense against phytopathogenic microorganism.Bio.Chem., ٦٩:١٣٠٥-١٣٠٩.

Goud,J.P.;Suryam,A.;Lakshmipathi,V. and Charya,S.A.(٢٠٠٩).Extracellular enzyme profiles of certain south Indian basidiomycetes.African.J. Biotech., ٨(٣):٣٥٤-٣٦٠.

Peixoto,S.C.;Jorge,T.A.;Terenzi,H.F. and Polizeli,M.L.T.(٢٠٠٣).*Rhizopus microsporus var.rhizopodiformis* a thermotolerans fungus with potential for production of thermostable amylases.١nt. Microbiol., ٦:٢٦٩-٢٧٣.

Enzymatic activity of some fungi isolated from cabbage Root (*Brassicaa olearacea var-capitata*)

Abbas Faris Abbas
Biology Department-Education College-Basrah University-Iraq

Abstract

Forty fungal species and strains isolated from Cabbage root were tested for their ability to produced some enzymes (Cellulase, Phenol oxidase , Lipase ,Protease and amylase) on solid media . All the tested fungal species showed activities enzymes cellulase , amylase and protease , while the enzymes Phenol oxidase and Lipase were showed by some fungal species .

The fungus *Aspergillus flavus* showed the highest enzymes activity for Cellulase and amylase reached to (٤٠ and ٤٧) mm respectively , while *Scytalidium* sp٣ and *Cladosporium cldosporioides* ١ showed highest enzyme activity for protease (٢٠) mm for each one .The *Ulocladium botrytis* showed the highest enzyme activity for Phenol oxidase ... While the highest enzyme activity for Lipase was showed by the *Emericella sp.* ...