------- مجلة علوم الرافدين، المجلد 17، العدد 11، خاص بعلوم الحياة، ص149-160، 2006 -------

التشخيص الجزئي للسكر المتعدد خارج الخلوي من الفطر *Alternaria alternata* المعزول محليا من ثمار الطماطة

محمد بشير اسماعيل عصام داود الراوجي

قسم علوم الحياة

كلية التربية

جامعة الموصل

(تاريخ الاستلام 2006/5/9 ، تاريخ القبول 2006/10/9)

الملخص

تم الحصول على سكر متعدد خارج الخلوي غير متجانس من العزلة المحلية للفطر *Alternaria alternata* المعزول من ثمار الطماطة باستخدام وسط تركيبي وظروف زرعية معينة امكن الحصول على (4.99 غم) من السكر المتعدد و (5.87 غم) من الكتلة الحيوية للفطر لكل لتر من الوسط الغذائي بعد (8 ايام) من التحضين في الحاضن الهزاز. واجريت دراسة الصفات الفيزيائية والكيميائية والتركيب السكري والكيميائي للسكر المتعدد المنتج بواسطة عملية الاكسدة بالبيرايويدت وتكسير سميث الكامل وباستخدام تقنية كروموتوغرافيا الورق النازل وتبين ان الوحدات الاساسية للمنتوج هي الكلوكوز والمانوز والكالاكتوز، فضلا عن وجود الاواصر الكلايكوسيدية نوع β (1-3) و β (1-6).

Partial Characterization of Extracelullar Polysaccharide of *Alternaria alternata* Isolated Locally from Tomato Fruits

Mohammed B. Ismail **Esam D. Al-Rawachi**

Department of Biology

College of Education

Mosul University

ABSTRACT

An extracellular hetropolysaccharide was obtained from the fungus *Alternaria alternata* isolated locally from tomato fruits using a synthetic medium and certain cultural conditions. The fungus produced (4.99 gm) polysaccharide and (5,87 gm) biomass per liter of the medium after (8 days) of incubation in shaken cultures. Studying of the physical, chemical properties and chemical composition of the polysaccharide was achieved using periodate oxidation and complete Smith degradation with application of

descending paper chromatography technique. The results showed that the fundimental units were glucose, galactose and mannose, also the presence of β(1-3) and β (1-6) glycosidic linkages.

المقدمة

تعد الفطريات من الكائنات الحية التي تتميز بمدى واسع من نواتج التأيض الثانوي Secondary Metabolites، وهي مركبات متباينة جدا في تركيبها ووظائفها وليست معروفة دائما. ان معظم نواتج التأيض الثانوي تعرف ايضا بالنواتج الطبيعية Natural Products تنتج عادة بعد ان يكمل الفطر طور نموه الأولي وهذه النواتج هي مواد كيمائية متأيضة ليس لها ضرورة للنمو الطبيعي او للتطور او لتكاثر الكائن الحي ولهذا فهي تعد ثانوية، وان الوظيفة او الاهمية المعروفة لبعض هذه المركبات هي عادة ذات طبيعة بيئية حيث يمكن ان تعتبر كوسيلة دفاعية للكائن (Calvo et al., 2002).

تعد السكريات متعددة الميكروبية خارج الخلوية إحدى اهم النتاجات الطبيعية لخلايا الاحياء المجهرية ويصل عدد هذه السكريات الى (200) نوع مختلف بحسب نوع وجنس الكائن الذي يقوم بانتاجه، ويتاثر انتاج السكريات المتعددة لدى الاحياء المجهرية بعوامل مختلفة اهمها تركيب الوسط الغذائي والظروف الزرعية التي لها اهمية كبيرة على نمو الاحياء المجهرية وتحفيز انتاجها من السكر المتعدد وتزويدها بالطاقة الضرورية لعمليات البناء الحيوي (Dunn, 1985). واجريت دراسات عديدة لغرض الحصول على السكريات المتعددة خارج الخلوية حيث تمكن (Goatley, 1968) من الحصول على انتاج كلي من السكريات المتعددة خارج الخلوية (1.66 غم / لتر) و(18.82 غم / لتر) من الكتلة الحيوية للفطر *Alternaria solani* عند تنميته لمدة (10 ايام) في احد الاوساط الغذائية. وتم عزل (0.38غم/ لتر) من سكر متعدد خارج خلوي من الفطر *Aspergillus nidulans* و (3.130 غم / لتر) من الكتلة الحيوية للفطر عند تنميته على وسط غذائي حاوي على الفركتوز كمصدر كاربوني. وافادت النتائج التي حصل عليها Leal و Ruperez عام (1978) ان اعلى انتاج من السكريات المتعددة خارج الخلوية (0.89 غم / لتر) و(8.70غم / لتر) من الكتلة الحيوية تحققت بتنمية الفطر *A. nidulans* على وسط غذائي يحتوي على الاحماض الامينية كمصادر نيتروجينية.

فضلا عن ذلك بين Ruperez و Leal عام (1981) ان الفطر *A. parasiticus* اعطى انتاج من السكر المتعدد خارج الخلوي حوالي (0.41غم/ لتر) وكتلة حيوية تقارب (10غم/لتر) عند تنمية الفطر في المزارع المهزوزة Shaking Cultures واوضح Gomez – Miranda و Leal عام (1981) ان تنمية الفطر *A. alliceus* المعزول من هواء المختبر على وسط تركيبي يحتوي على العديد من المغذيات اللاعضوية وخلاصة الخميرة اعطى السكر المتعدد خارج الخلوي (0.1غم/ لتر) واوضح Miyazaki و Naoi عام (1975) امكانية عزل السكر المتعدد خارج الخلوي ذائب في الماء من الفطر *Cladosporium tricoides* المعروف بكونه مسببا مرضيا للـ (Chromoblostamycosis)، كما تم

عـــزل ســـكر متعـــدد حامـــضي خـــارج خلـــوي مـــن الفطـــر *Penicillium erythromellis* (Ruperez et al., 1983). وامكن ايضا الحصول على مزيج من السكريات المتعددة خارج الخلوية مـــن الفطر *Penicillium vermiculatum* (Kogan et al., 2002). تهدف الدراسة الحالية الى عزل الـــسكر المتعدد خارج الخلوي من العزلة المحلية للفطر *A. alternata* وتحديد وسط غذائي تركيبـــي وظـــروف زرعية مثلى للحصول على انتاجية عالية من السكر المتعدد واجراء تشخيص جزئي فيزيائي وكيميـــائي للسكر المتعدد المنتج.

المواد وطرائق العمل

الكائن المجهري وتحضير اللقاح:

استخدمت عزلة الفطر *A. alternate* التي تم عزلها من ثمار الطماطة الشتوية المصابة بمرض التبقع بعد غسل الثمار تحت تيار الماء الجاري لازالة الأوساخ العالقة بها، واخذت المنطقة المصابة وقطعت الى قطع صغيرة متساوية الابعاد بطول 0.5 سم وغمرت في محلول هايبوكلورات الصوديوم (1%) مدة 3 دقائق. وبعد ذلك غسلت القطع بماء مقطر ومعقم وجففت بين اوراق ترشيح معقمة ثم نقلت بواسطة ملقط معقم الى اطباق بتري معقمة بقطر(9 سم) حاوية على الوسط الغذائي المعقم PSA (Potato Dextrose Agar) المضاف اليه المضاد الحيوي كلورامفينيكول بنسبة (10 ملغم/ لتر) وبمعدل خمس قطع للطبق الواحد موزعة توزيعا منتظما. حضنت الاطباق عند درجة حرارة (27 ± 1 م) لمدة (2-5) ايام، بعدها فحصت ثم عزلت النموات الفطرية من القطع المصابة وشخصت بالاعتماد على المفاتيح التصنيفية (Thomma, 2003).

الوسط الغذائي:

تم تحديد مكونات الوسط الغذائي الامثل الذي تم تركيبه اعتمادا على النتائج السابقة (الراوجي، 2005) وهي (غم / لتر) السكروز (50)، كبريتات الامونيوم (1.5)، مستخلص الخميرة (3.5)، كبريتات المغنيسيوم المائية (0.5) وفوسفات البوتاسيوم ثنائية الهيدروجين (2.0) وعند الاس الهيدروجيني الاولي (PH = 6.0).

الظروف الزرعية :

اجريت التجارب بثلاث مكررات بدوارق زجاجية حجم 250 مل ووزع الوسط بمعدل 50 مل / دورق وبعد تعقيم الدوارق الحاوية على الأوساط الغذائية المختلفة، تركت لتبرد ثم لقحت بقرص قطر (4 ملم) مأخوذ من حافة مستعمرة الفطر *A. alternata* المنمى على وسط PSA بعمر سبعة ايام، وبعدها وضعت الدوارق في الحاضن الهزاز عند درجة حرارة (27±1 م) وبمعدل رج (150 دورة/ دقيقة) لمدة سبعة أيام .

طرائق التحليل

تقدير الكتلة الحيوية:

بعد انتهاء فترة التحضين اللازمة، سحبت الدوارق من الحاضنة وفحص الأس الهيدروجيني لكل دورق ورشحت محتويات الدوارق باستخدام طبقتين من الموسيلين الناعم وترك الراشح جانبا لتقدير السكر المتبقي (Residual Sugar) وكمية السكر المتعدد. تم جمع خلايا الفطر في أطباق زجاجية مجففة معلومة الوزن وجففت الأطباق في الفرن عند درجة حرارة (80 م) لمدة (48 ساعة) وبعد ذلك تم تقدير الكتلة الحيوية من خلال الفرق مابين الكتلتين باستخدام ميزان حساس.

عزل وتقدير السكر المتعدد:

اخذ (10 مل) من الراشح الخالي من خلايا الفطر وتم ترسيب السكر المتعدد بإضافة حجمين (20 مل) من الايثانول أو الأسيتون (Leathers et al., 1988 ; Cerning et al., 1994 ; Kassim and Sultan, 1997) واجريت عملية الطرد المركزي (Centerfugation) وبمعدل (9000 دورة / دقيقة) لمدة 15 دقيقة لفصل السكر المتعدد. ترك الراشح جانبا لتقدير السكر المتبقي وجمع السكر المتعدد في أطباق زجاجية جافة معلومة الوزن وتم تجفيفها في الفرن عند درجة (60 م) لمدة 24 ساعة وبعد ذلك تم تقدير السكر المتعدد بفارق الوزنين باستعمال ميزان حساس.

تقدير السكر المتبقي:

تم تقدير السكر المتبقي في السائل الرائق بعد عملية الطرد المركزي باستخدام محلول الفينول (5 %) وحامض الكبريتيك المركز (Dubois et al., 1956) وتم حساب السكر في العينات بالاعتماد على المنحني القياسي للكلوكوز بوصفه سكر قياسي.

واستخدمت نفس الطريقة لتقدير المحتوى الكاربوهيدراتي الكلي بعد تنقية السكر المتعدد باذابته في الماء المقطر ثم اعادة ترسيبه بالمذيبات العضوية باستخدام الايثانول والاسيتون.

تقديرالمحتوى البروتيني في السكر المتعدد المنتج:

استخدمت طريقة (Lowrey et al., 1951) في تقدير المحتوى البروتيني في السكر المتعدد المنتج وتم تعيين الكثافة الضوئية (Optical Density) عند الطول الموجي (650 نانوميتر) باستخدام جهاز المطياف الضوئي Centurion 6i، وقدرالتركيز الكلي للبروتين بالاعتماد على المنحنى القياسي باستخدام البومين مصل الأبقار Bovin Serum Albumin.

تقدير المحتوى الدهني في السكر المتعدد:

اخذ وزن معين (0.5 غم) من السكر المتعدد النقي الجاف ووضع في انبوبة اختبار خاصة باستخلاص الدهون (Thimble Tube) وتم استخلاص الدهون باستخدام جهاز استخلاص الدهون Sohxlet Apparatus وباستخدام المذيب العضوي بترواليوم ايثر واجريت عملية الاستخلاص لمدة (16 ساعة) (Anon, 1964).

تقدير نسبة الرماد في السكر المتعدد:

اخذ وزن معلوم من السكر المتعدد النقي الجاف واحرق في جهاز الترميد طراز BTC 9090 (Thermo Line Austracia) عند درجة حرارة (600 م) لمدة (6 ساعات) وبعد ذلك تم قياس نسبة الرماد (Christian, 2004).

كشف اليود:

اضيفت بضعة قطرات من محلول اليود (20 %) الى محلول السكر المتعدد المنتج بهدف تحديد تفاعل السكر المتعدد مع اليود اذا كان موجبا ام سالبا.

تقدير الدوران البصري للسكر المتعدد:

اجري قياس الدوران البصري للسكر المتعدد المنتج حسب طريقة (Santamaria et al., 1978) باستخدام جهاز المقطاب (Polarimeter) من طراز 47283 وباستخدام محلول من السكر المتعددالمنتج في الماء المقطر بتركيز(1.0 %).

قياس اللزوجة المحددة للسكر المتعدد المنتج:

تم تقديراللزوجة المحددة (Intrinsic Viscosity) لمحلول السكر المتعدد المنتج باستخدام جهاز قياس اللزوجة Viscometer من طراز Ostwald – Fenske.

التحليل الطيفي للسكر المتعدد المنتج بالأشعة تحت الحمراء:

تم اجراء التحليل الطيفي لطيف الأشعة تحت الحمراء للسكر المتعدد المنتج بتحضير اقراص للمنتوج مع KBr وباستخدام جهاز IR – Tensor 27 صنع شركة Bruker 2001 .

تحديد التركيب السكري (الوحدات السكرية) للسكر المتعدد:

تم تحديد التركيب السكري للمنتوج بواسطة تكسيره باستخدام حامض الكبريتيك (1 ع) في انبوبة اختبار حرارية عند درجة حرارة (100 م) لمدة (10 ساعات) وبعدها اجريت معادلة الحامض باستخدام كاربونات الباريوم BaCO3 وتم تحليل نواتج التحلل الحامضي باستخدام تقنية كروماتوغرافيا الورق النازل Descnding Paper Chromatography (DPC) وباستعمال محلول التشرب ع-بيوتانول: اسيتون: ماء(1: 5 : 5) بينما استخدم محلول التشرب الذي يتكون من خلات الاثيل: حامض

لخ ل يلك: حامض الفورميك: الماء (36 : 6 : 2 : 8) لتحديد تواجد حامض الكلوكورونيك بحسب (Ruperez and Leal, 1978) وتم اظهار البقعة بواسطة نترات الفضة (Trevelyan et al., 1950). ولغرض اظهار بقعة الكلوكوز امين فقد استخدم محلول التشرب الذي يتكون من ع- بيوتانول: بايريدين: HCl (0.1 ع)(5 :3 :2) واظهرت بواسطة محلول اسيتيل الاسيتون: P – ثنائي مثيل الامينوبنزلدهايد.

اكسدة السكر المتعدد بالبيرايوديت:

اجريت عملية الاكسدة للمنتوج باستخدام محلول بيرايوديت الصوديوم (0.03 مولار) وتم متابعة نواتج الاكسدة بحسب (Hay et al., 1965).

تكسير سميث الكامل للسكر المتعدد المؤكسد بالبيرايوديت:

اجريت عملية تكسير سميث الكامل (Complete Smith Degradation) لنواتج الاكسدة للسكر المتعدد بحسب (Abdel Akher et al., 1952) و (Jennings and Fraser, 1970) وتم التعرف على النواتج باستخدام تقنية كروماتوغرافيا الورق النازل وقد استخدم محلول التشرب بايريدين: خلات الاثيل: ماء (23:20:70) واظهرت البقع على الورق بحسب (Trevelyan et al., 1950).

النتائج والمناقشة

انتاج السكر المتعدد:

ان الوسط الغذائي والظروف الزرعية المذكورة في فقرة المواد وطرائق العمل اختيرت بوصفها الظروف المثلى من خلال تجارب عديدة اجريت على العزلة المحلية للفطر *A. alternata* لغرض تحقيق انتاجية عالية من السكر المتعدد المنتج (الراوجي، 2005).

اظهرت النتائج في الجدول (1) ان هنالك ارتفاعا واضحا في انتاج السكر المتعدد اذ بلغ (4.99 غم / لتر) بعد التحضين لمدة (8 ايام) على حساب الكتلة الحيوية التي انخفض انتاجها بشكل كبير وبلغ (5.87غم / لتر) وقد بلغت النسبة المئوية للتحول الى السكر المتعدد على اساس السكر المستهلك (24.48 %) بينما بلغت النسبة المئوية لانتاج السكر المتعدد (16.60)، واجريت حسابات النسبة المئوية المبينة في الجدول (1) كالاتي:

$$\text{التحول\%} = \frac{\text{السكر المتعدد المنتج (غم / لتر)}}{\text{السكر المتعدد المنتج (غم / لتر)}} \times 100$$

$$\text{النوعي\%} = \frac{\text{السكر المتعدد المنتج (غم / لتر)}}{\text{الكتلة الحيوية المنتجة (غم / لتر)}} \times 100$$

$$\text{الانتاج\%} = \frac{\text{السكر المتعدد المنتج (غم / لتر)}}{\text{تركيز السكر المستخدم (غم / لتر)}} \times 100 \quad \text{الانتاج}$$

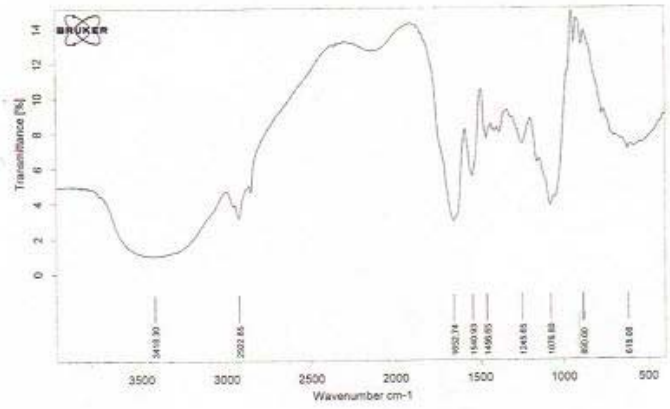
الجدول 1 : انتاج السكر المتعدد والكتلة الحيوية للفطر *A . alternata* بعد (8) ايام من التحضين.

السكر المتعدد (غم / لتر)	الكتلة الحيوية (غم / لتر)	% للتحول	% للانتاج	% الانتاج النوعي	السكر المتبقي (غم / لتر)	الاس الهيدروجيني النهائي
4.99	5.87	24.48	16.60	84.84	9.66	3.82

لوحظ ان السكر المستخدم (50 غم / لتر) اظهر ارتفاعا كبيرا في النسبة المئوية للانتاج النوعي على اساس الكتلة الحيوية المنتجة وبلغت (84.84 %) مما يدل على ان استهلاك السكر من وسط الانتاج كان كبيرا، وانخفض الاس الهيدروجيني النهائي بشكل كبير من (6.0) الى (3.82) بسبب تراكم الحوامض العضوية خلال فترة التخمر.

الصفات الفيزيائية والكيميائية للسكر المتعدد المنتج:

اعطت نتائج قياس الدوران البصري النوعي لمحلول السكر المتعدد المنتج لدى الفطر *Alternaria alternata* قيمة47 − =[α]20L عند درجة حرارة (25 ْم) وتركيز (1.0 %). بينت نتائج التحليل الطيفي بالاشعة تحت الحمراء Infra-red Spectrum (IR) للسكر المتعدد المنتج لدى الفطر *A. alternata* وجود امتصاص عند (890 سم-1) وعدم وجود امتصاص عند (850 سم-1) (الشكل1). ان ظهور ذروة امتصاص عند (890 سم-1) في طيف الاشعة تحت الحمراء وقيمة الدوران البصري السالبة للسكر المتعدد يعطي دلالة قطعية على ان السكر المتعدد المنتج من قبل عزلة الفطر *A . alternata* هو من النوع β وليس α (Cadmus et al., 1978 ; Barker et al., 1956). كما كانت اللزوجة المحددة لمحلول السكر المتعدد المنتج (1.9).



الشكل 1 : طيف امتصاص الاشعة تحت الحمراء للسكر المتعدد المنتج.

وبينت نتائج التحليل الكيمياوي احتواء السكر المتعدد المنتج على (97.5 %) كاربوهيدرات بينما بلغت نسبة البروتين (1.5%) والدهون (0.31%) والرماد (0.41%) فقط، وقد افاد كشف اليود نتيجة سالبة تؤكد عدم احتوائه على اية اثار من النشا مما يعكس النقاوة العالية للمنتوج.

تحديد التركيب السكري (الوحدات السكرية) للسكر المتعدد المنتج:

افادت نتائج تعيين الوحدات السكرية للسكر المتعدد المنتج باستخدام تقنية كروموتوغرافيا الورق النازل (DPC) في ضوء التحلل الحامضي لعينة السكر المتعدد المنتج ان الوحدات السكرية المكونة للسكر المتعدد كانت الكلوكوز والكالاكتوز والمانوز حيث ظهرت ثلاث بقع لهذه السكريات في العينات على شرائط ورق الكروموتوغرافيا والتي تطابق مع بقع عينات السكريات القياسية (الشكل 2). وبينت النتائج كذلك عدم وجود السكريات زايلوز ورامنوز في عينة السكر المتعدد المنتج.

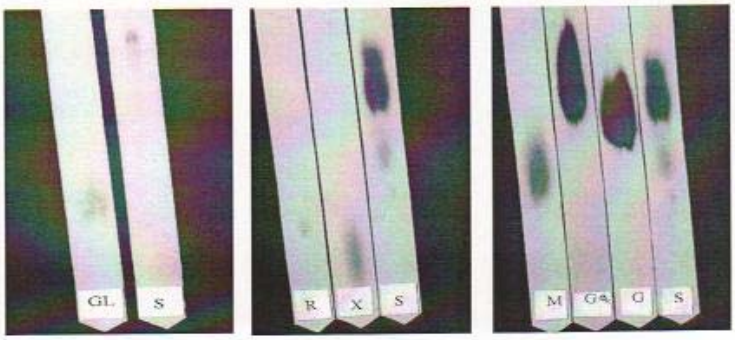
كما اكدت النتائج عدم وجود حامض الكلوكورونيك والكلوكوز امين في عينة السكر المتعدد المنتج وذلك لغياب البقع التي تعود الى حامض الكلوكورونيك والكلوكوز امين القياسيين وتختلف هذه النتيجة مع تلك التي حصل عليها (Goatley, 1968) عند دراسته للسكر المتعدد الذي ينتجه النوع *Alt. solani* واستخدم فيها طرائق الفصل الكروموتوغرافي لتحديد الوحدات السكرية التي يتكون منها مستخدما ذلك السكر ووجد انه سكر متعدد غير متجانس يتكون من جزئين الاول يحتوي على الكلوكوز والكالاكتوز والكلوكوز امين بينما يحتوي الجزء الثاني على الكلوكوز والكالاكتوز والمانوز.اما التركيب السكري

للسكر المتعدد خارج الخلوي المعزول من الفطر *Phomopsis foenuculi* وباستخدام الطرق الكيمياوية فانه يتكون من سكر الكالاكتوز والمانوز (Corsaro et al., 1998).

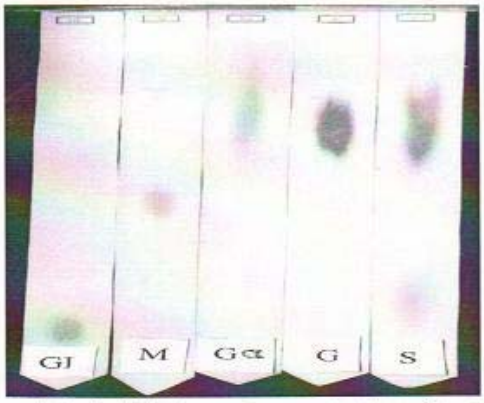
تحديد نوعية الاواصر الكلايكوسيدية في السكر المتعدد المنتج بوساطة الاكسدة بالبيرايوديت وتكسير سميث الكامل:

احتسبت نواتج الاكسدة للسكر المتعدد بعد الاكسدة بالبيرايوديت على اساس حساب التركيز المولاري للكلوكوز في السكر المتعدد المنتج اذ تم اختزال (0.116 مايكرومول) من البيرايوديت لكل مايكرومول من الكلوكوز الحلقي كلوكوبايرانوز Glucopyranose (كلوكوز ــ جزيئة ماء) في جزيئة السكر المتعدد. وظهر تكوين (0.555 مايكرومول) من حامض الفورميك لكل مايكرومول من الكلوكوز الحلقي، وتبين من النتائج ان النسبة المئوية للاواصر الكلايكوسيدية في السكر المتعدد المنتج (1–3) و (1–4) و (1–6) هي (44.5 و 0.0 و 55.5 %) (Jeans and Rankin, 1954).

ان اجراء تكسير سميث الكامل على نواتج الاكسدة للسكر المتعدد بعد اكسدته بالبيرايوديت اظهر وجود سكريات الكلوكوز والكالكتوز والمانوز والكليسرول في هذه النواتج (الشكل 3) مما يؤكد وجود الاواصر الكلايكوسيدية (1-3) و (1-6) حيث ان غياب بقعة سكر الارثيريتول في نواتج تكسير سميث الكامل يدل على عدم وجود الاصرة الكلايكوسيدية (1-4). وفضلا عن ذلك ظهرت كمية كبيرة من حامض الفورميك نتيجة لاكسدة وحدات الكلوكوز في السكر المتعدد المرتبطة بالاصرة الكلايكوسيدية (1-6) وبنسبة كبيرة (55.5 %) تمثلت بظهور بقعة الكلسيرول في نواتج تكسيرسميث الكامل (Mayers and Kabat, 1965).



الشكل 2 : شرائط كروماتوكرافيا الورق النازل (DPC) يبين مواقع الوحدات السكرية المكونة للسكر المتعدد المنتج (S) والوحدات السكريةالقيا سية GL. حامض الكلوكورونيك.



الشكل 3 : نواتج الاكسدة بالبيرايوديت وتكسيرسميث الكامل للسكرالمتعدد المنتج علـــى شـــرائط كروماتوكرافيا الورق النازل (DPC).

S. نموذج السكر المتعدد G. الكلوكوز Ga. الكالكتوز M. المانوزGl. الكليسيرول

واشارت قسم من الدراسات على ان السكر المتعدد خارج الخلوي المعزول من الفطر *Epicoccum nigrum* يتكون من α- كلوكان يحتوي على الاواصر الكلايكوسيدية (1-3) و(1-6) (Schmid et al., 2001). ووجد كذلك ان السكليروكلوكان المنتج من احد عزلات الفطر *S. rolfsii* يتكون من وحدات الكلوكوزمرتبطة بالاصرة الكلايكوسيدية (1-3) مع وجود ضئيل جدا للاصرة الكلايكوسيدية (1-6) (قاسم والنعيمي، 2004).

واظهرت دراسات اخرى تم فيها عزل بوليمر خارج الخلوي متجانس من الفطر *Phoma herbarum* يتكون من α - كلوكان ويحتوي على الاواصرالكلايكوسيدية (1-3) و (1-6) فقط (Selbmann et al., 2002).

ان النتائج المذكورة في اعلاه تدل على ان السكر المتعدد المنتج من الفطر *A. alternata* هو سكر متعدد خارج الخلوي غير متجانس (Heteropolysaccharide) يتكون من سكريات الكلوكوز والكالكتوز والمانوز مرتبطة بالاصرة الكلايكوسيدية β - (1-6) بصورة رئيسة مع وجود اقل للاصرة الكلايكوسيدية β (1-3) وهو يذوب بالماء بسهولة .لان الكلوكونات التي تتميز بوجود الاصرة β (1-6) تمتاز بقابلية ذوبانها العالية في الماء (Mc Neil and Wang, 1996).

المصادر العربية

الراوجي، عصام داود سليمان، 2005. انتاج وفعالية السكر المتعدد والسم لفطر *Alternaria alternata* المعزول محليا. اطروحة دكتوراه، كلية التربية، جامعة الموصل، 151 صفحة.

قاسم، محمد بشير اسماعيل وعبد الكريم سليمان النعيمي، 2004. انتاج وتوصيف السكر المتعدد (السكليروكلوكان) بواسطة عزلة مصرية من الفطر *Sclerotium rolfsii*. المجلة العراقية للعلوم الزراعية، المجلد 5، العدد 1.

المصادر الاجنبية

Anonymous, 1964. Official and Tentative Methods of American Oil Chemistry Soc. Vol. 2 nd ed. Puplished by the Am. C.S.USA.

Abdel-Akher, M., Hamilaton J.K., Momtogornery, R. and Smith, F., 1952. A New Procedure for Determination of the Fine Structure of Polysaccharides. J. Amer. Chem.Soc. Vol. 74, 4970p.

Barker, S.A., Bourne, E.J. and Whiffen, D.H., 1956. Use of Infrared Analysis in Determination of Carbohydrate Structure. Methods of Biochem. Analysis. Vol. 3, pp.213 - 216.

Cadmus, M.C., Knutson, C.A., Lagoda, A.A, Pitsley, J.E. and Burton, K.A., 1978. Synthetic Media for Production of Quality Xanthan Gum in 20 Liter Fermentors. Biotechnol. Bioeng. Vol. 20, pp.1003-1014.

Calvo, A.M., Wilson, R.A., Bok, J.W. and Keller, N.P., 2002. Relationship Between Secondary Metabolism and Fungal Development. Microbiol. and Mol. Biol. Rev. Vol. 66, pp.447-459.

Cerning, J.C.M.G., Zeaud, M. and Topisirovic, L. 1994. Carbon Source Requirement for Expolysacchride Production by *Lactobacillus casei* and Partial Structure Analysis of the Polymer. Appl. Environ. Microbiol. Vol. 60, pp.3914 - 3919.

Christian, G.D., 2004. Analytical Chemistry. 6th ed. John Wilew and Sons, Inc. USA. 320p.

Corsaro, M.M., Decastro, C. and Surico, G., 1998. Chemical Structure of Two Phytotoxic Expolysacchrides Produced by *Phomopsis foeniculi* Carbohyd. Res. Vol. 308, pp.349 - 357.

Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Robers, P.A. and Smith, F., 1956. Colorimetric Method for Determination of Sugars. Anal .Chem. Vol. 28, 350-356.

Dunn, G.M., 1985. Nutritional Requirements of Microorganisms. In: Comprehensine Biotechnology 1:113-125.Moo-Young M., Ed.USA.

Fraser, G.G. and Jennings, H., 1970. A Glucan from *Tremella mesenterica* NRRL-Y 615, Can. J. Chemistry. Vol. 49, pp.1804 - 1808.

Goatley, J.L., 1968. Production of Exocellular Polysaccharides by *Alternaria solani.* Can. J. Microbiol. Vol. 14, pp.1063 – 1068.

Gomez - Miranda, B. and Leal, J.A., 1981. Extracellular and Cell Wall Polysaccarides of *Aspergillus alliaceus* Trans. Br. Mycol. Soc. Vol. 76, pp.249-253.

Hay, G.W., Lewis, B.A. and Smith, F., 1965. Periodate Oxidation of Polysaccharides: General Procedure. Methods in Carbohydrate Chemistry. Vol. 5, 357p.

Kabat, E.A. and Mayers, M.M., 1961. Experimental Immunochemistry. Charles, C. Thomas Publishers 2nd Ed. Springfield-Illinois USA.

Kassim, M.B.I. and Sultan, R.H., 1997. Pullulan Production from Sugar Beet Molasses. Qatar Univ. Sci. J. Vol. 17, pp.313-320.

Kogan, G., Matulova, M. and Michalkova, E., 2002. Extracellular Polysaccharid of *Penicillimu vermiculatum* Z. Naturfor- Sch. Vol. 57, pp.452 - 458.

Leal, J.A. and Ruperez, P., 1978. Extracellular Polysacchrides Production by *Aspergillus nidulans*. Trans. Br. Mycol. Soc. Vol. 70, pp.115-120.

Leal, J.A., Ruperez, P. and Gomez-Miranda, B., 1979. Extracellular Glucan Production by *Botrytis cinerea*. Trans.Br.Mycol .Soc. Vol. 72, pp.172-176.

Leathers, T.D., Nofsinger, G.W., Kutezman, C.P. and Bothast, R.J., 1988. Pullulan Production by Color Variant Strains of *Aureobasidium pullulans* J. Ind. Microbiol. Vol. 3, pp.231-234 .

Lowrey, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.S., 1951. Protein Mesurments with the Folin Reagent. J. Biol. Chem. Vol. 193, pp.265 - 275.

Miyazaki, T. and Naoi, Y., 1975. Extracellular Heteroglycan of *Cladosporium tricoides*. Studies on Fungal Polysaccharide Chem. Bull. Vol. 23, pp.157-162.

Rankin, J.C. and Jenas, A., 1954. Evaluation of the Periodate Oxidation Method for Structural Analysis of Dextrans. J. Am. Chem. Soc. Vol. 76, pp.4435-4441.

Ruperez, P. and Leal, J.A., 1981. Extracellular Galactomannan from *Aspergillus parasiticus* .Trans. Br. Mycol. Soc. Vol. 77, pp.62- 625.

Ruperez, P., Gomez-Miranda, B. and Leal, J.A., 1983. Extracellular α-Malonoglucan from *Penicillium erythrmellis* Trans. Br. Mycol. Soc. Vol. 80, pp.313-318.

Santamaria, Reyes, F. and Lahoz, R., 1978. Extracellular Glucan Containing β- (1-3) and β- (1-6) Lankages Isolated from *Monilinla fructigena* J. Gen. Microbiol. Vol. 109, pp.287-293.

Schmid, F., Stone, B.A. and Seviour, R.J., 2001. Structure of Epiglucan, A Highly Sid B. M. e-Chain Branched (1−3:1−6) â-Glucan from the Microfungus *Epicoccum nigrum* Ehrenb.ex Schlecht. Carbohyd. Res. Vol. 331, pp.163-171.

Selbmann, L.M., Onofri, S., Fenice, M., Fedrici, F. and Petruccioli, M., 2002. Production and Structural Characterization of the Exopolysaccharide of the Antarctic Fungus *Phoma herbarum* CCFEE 5080. Res . In Microbiol. Vol. 153, pp.585-592.

Thomma, B.P.H.J., 2003. *Alternaria* spp: from General Saprophyte to Specific Parasite. Mol. Pl. Pathol. Vol. 4, pp.225-236.

Trevelyan, W.E., Procte, D.P. and Harrison, J.S., 1950. Detection of Sugar on Paper Chromatograms. Nature. London. Vol. 166, pp.444-448.

Wang, Y. and McNeil, B., 1996. Scleroglucan. Critic. Rev. Biotechnol. Vol. 16, pp.185-215.