النشاط الكايتيني لبعض السلالات البكتيرية المعزوله من التربة العراقية

علاء هاني الجراخ - عبد الله كاظم هندي - سعد جابر تاج الدين

الخلاصة

قدرت فعالية انزيم الكايتنيز (CHITINASE ACTIVITY)للعزلات البكترية المختلفة فوجد ان بكتريا (SERRATIA MARCESCENSE HL-165) كانت هي الاكثر كفاءة في تحليل الكايتين فاعطت فعالية (0.891 U/ m1) في اليوم السابع من الحضانه تلتها العزله (BACILLUS LICHENIFORMIS ISRA.75).حيث اعطت اعلى فعالية (0. 486U /M) في اليوم الرابع من الحضانة فيما احتلت العزله Bacillus mycoides (CH-45) المرتبه الثالثه فكانت اقصى فعاليه لها (0.386 U/M1) في اليوم التاسع من الحضانه.

اما بالنسبه الى البكتريا الخيطية-Streptomyces (SPP Act- 14) فكانت اقل العزلات كفاءة حيث بلغت اقصى فعاليه لها (0.240 U/ m1) في اليوم الثاني عشر من الحضانه في وسط الكايتين الغروي السائل.

من جانب اخر وجد ان العزله (Baillus Lichenformis ISRA 75) استطاعت انتاج انزيم الكايتيز عند تنميتها بدرجه حراره (50 م) في وسط الكايتين الغروي السائل. بينما انتجت العزلات البكتيريه الاخرى هذا الانزيم عند تنميتها بدرجه حراره تتراوح بين (30-28 م) في نفس الوسط الغذائي المذكور .

مفتاح الكلمات : Chitin , Chitinase , Serratia, Bacillus , Streptomyces

المقدمه

الكايتين عباره عن بوليمر متشابه Homoplymer لوحدات السكر-N-cety1-d glucosamine (GlcNAc) مرتبطه مع بعضها باواصر بيتا (1-4) في نظام وترتيب خيطي. وبهذا فان الكايتين يشبه السايلوز مع استعاضه احدى مجاميع الهيدروكسيل في السيلوز بمجموعة acetylamine) (- NHCOCH 3)لصيغه التركيبيه للكايتين هي(C6H904 NHCOCH3)وان المركب النقي منه يحتوي نتروجين بنسبة ٦-٧ ٪ (Alexander , 1977).

تتم عملية تحلل الكايتين انزيميا عن طريق مسلكين. الاول بفعل نظام انزيم الكايتيز الثنائي Binary chitinase enzeyme system الجزء الاول من هذا النظام يمثله انزيم الكايتيز Chitinase الذي يعمل على تحليل الكايتين الى وحدات السكر الثنائي N.N-diacetylchitobiose اما الجزء الثاني من النظام الانزيمي الكايتيني فيمثله انزيم B-N-acetyi glucosaminidase الذي يعمل على تحليل وحدة السكر الثنائي محررا سكر N-acetylglucosamine. اما المسلك الثاني فهو عن طريق حذف مجاميع الاستيل Dicaetylation منه وتحويله الى chitosan الذي يتحلل بدوره بفعل انزيم chitosanase ليعطي وحدات السكر الثنائي chitobiose) (Gooday ,1990.

كان الباحث (Benton- 1935) اول من اجرى بحثا كاملاعن تحلل الكايتين بواسطة الاحياء المجهرية وخاصه البكتيريه منها . وقد تمكن الباحثان (Campbell & Williams , 1951) من عزل ووصف ثلاثة انواع من البكتريا المحلله للكايتين والتي شخصت بانها عائدة الى الاجناس Micrococcus ,Pseudomonas بالاضافه الى النوع Beneckea chitinovora .

تمكن الباحث (Berkeley , 1965) من دراسة قابلية انواع مختلفة من الاحياء المجهرية ومنها الجنس Bacillus على تحليل الكايتين ووجد ان النوع Bacillus pumilis منتج لانزيم Chitinuse وجد (Carroad & Tom 1978) من خلال دراستها ان بكتريا serratia spp كانت اكثر الاحياء المجهرية كفاءة في تحليل الفضلات الكايتينية لحيوانات المحار Shellfish .

اما بالنسبه الى قابليه Actinomycetes على تحليل الكايتين في التربه وخاصة انواع العائلة Streptomycetaceae فقد ذكر (Lloyd 1969) ان الانواع التابعة لهذه العائلة تكون اكثر شيوعا وانتشارا في التربة منها في النباتات الاخرى حيث تتواجد بشكل سبورات حاملة dormant spores وان حالة السبات هذه تنشأ حال حصول شحه في المواد الغذائيه في التربة .

اما الباحث (Gooday , 1990) فقد درس اكثر مواصفات الانواع التابعة لمجموعة Streptomycetes في قابليتها على تحليل الكايتين .

المواد والطرق المستخدمة في البحث :

١ – الكشف عن الاحياء المجهرية المحلله للكايتين .خطط المزروع النقي للبكتريا والبكتريا الخيطيه Actinomycetes على سطح اكار الكايتين الفروي . حضنت الاطباق بدرجة (37 م) لمدة 10 ايام وبدرجة (28 م) لمدة 14-21 يوما" بالنسبة للبكتريا الخيطية . ان وجود مناطق شفافة (Glear zones) حول المستعمرات الكتيريه يدل على قابلية هذه الاحياء على انتاج انزيم الكايتيز المحلل للكايتين .

اما بالنسبة الى البكتريا الخيطية فوجود منطقة شفافة مساحتها اكثر من 4.5 ملم على وسط الكايتين الصلب يدل على ان الاختبار موجب (Locci , 1989) .

٢ – دراسة المواصفات الفسلجية للبكتريا المحلله للكايتين .

اتبعت طريقة (Lowry et al , 1951) . في تقدير كمية البروتين للخلايا البكتيريه وكذلك لتقدير البروتين الخارج خلوي extracellular protein

٣ – قياس السكريات N-acetylglnosamine في المحلول .

اتبعت طريقة (Reissig et al 1955) في تحديد وقياس السكريات (Glc NAc) في غالق النمو البكتيري .

٤ – قياس السكريات المختزلة .

اتبعت طريقة (Somogyi , 1952) في قياس السكريات المختزله Reducing Sugars. المتحررة من تحلل الكايتين في المحلول الورقي البكتيري.

٥- التقدير الكمي لانزيم Chitinase .

اتبعت طريقه (Boller & Mauch , 1988) في تقدير كميه انزيم الكايتينيز في الوسط الزراعي.

ملاحظة :

تم قياس الفعالية المحللة للكايتين بالوحدات الانزيمية /مل اذ تم تعريف الوحدة الانزيمية Enzyme unit على انها كمية الانزيم اللازمة لتحفيز تحرر (١) مايكروومول من الناتج الذائب (من سكر GLcNAc أو السكر المختزل) خلال دقيقة واحدة وبدرجة 37 م.

النتائج والمناقشة : Results and Discusion

دراسة المواصفات الفسلجية للعزلات البكتيرية المحللة للكايتين .

أ . تحديد درجة الحرارة المثلى للنمو

يتضح من (شكل -١-) ان العزله Serratia marcescens HL-165 تنمو في مدى حراري يتراوح بين 10مْ الى40 مْ وبدرجة حرارية مثلى مقدارها 30 م على وسط المرق المغذي أما العزلةBacillus mycodes CH-45 فتنمو في مدى حراري من 10مْ الى45 مْ وبدرجة حرارية مثلى مقدارها 30 مْ أيضا بينما العزلةBacillus Licheniformis ISRA-75 على مديات واسعة من درجات الحرارة من 15 الى60مْ وبدرجة حرارية مثلى مقدارها 45 مْ الى انها محبة لدرجات الحرارة العالية Themophilic .

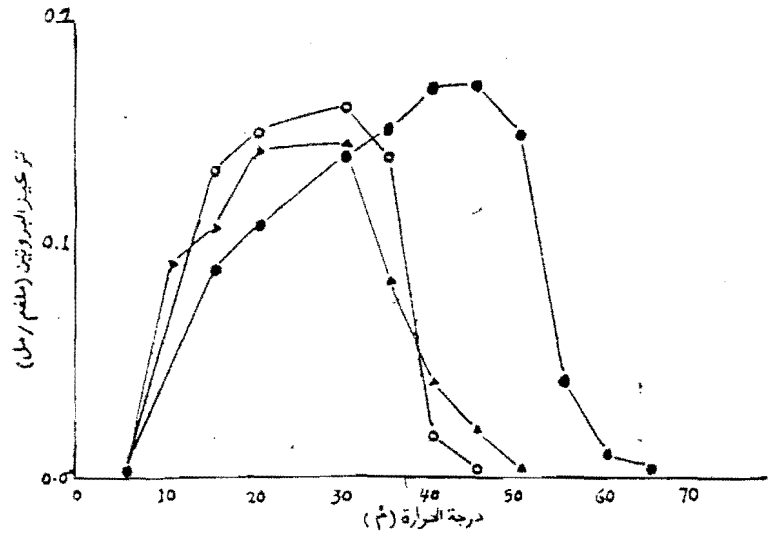
ب - تحديد الكتلة الحية Biomass والبروتين الخارج الخلوي

تم تحديد الكتلة الحية والبروتين الخارج الخلوي للعزلة Serratia marcescens HL-165 (شكل -٢-أ) والعزله Bacillus mycoides CH-45 شكل-٣-ب) .

يتضح من شكل (٢-أ) أن النمو (الكتلة الحية) ممثلة بقياس تركيز البروتين مع الزمن (فترة الحضانة) قد ازدادت زيادة لوغارتمية خلال يوم واحد حيث كانت 0.58 ملغم/مل لتصبح 0.332 ملغم/مل خلال 4 أيام من النمو, وهي نتيجة متوقعة ذلك أن الارتفاع والانخفاض الفجائي لخط النمو يأتي من كون أن هذه البكتريا تعود لمجموعة البكتريا المعوية التي تمتاز بقصر زمن الجيل Generation Time بحيث أن اطوار النمو المختلفة يمكن تحديدها فقط عندما يكون الزمن بالساعات ، ولهذا نلاحظ من الشكل انه من الصعب تحديد دور الثبات stationary phase ، اما طور الانحدار Decline phase فقد كانت في نهاية اليوم الثاني للنمو .

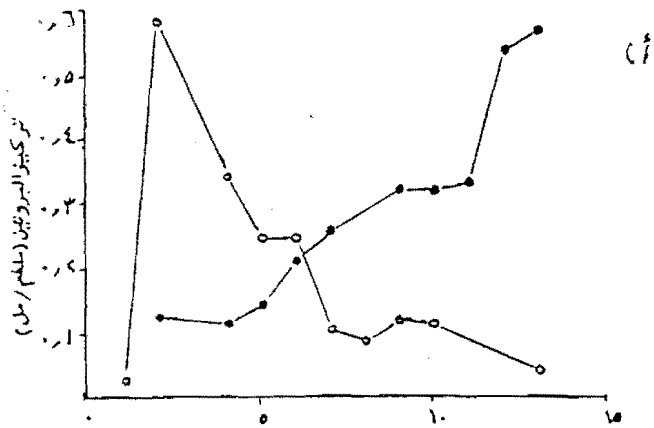
بعد ذلك بدأت الكتلة الحية بالتناقص التدريجي حتى وصلت الى أدنى مستوياتها في نهاية فترة الحضانة حيث كانت (0.034 ملغم/مل) في حين كانت مستويات البروتين الخارج خلوي تزداد مع زيادة تحلل وانحدار الكتلة الحية للخلايا البكتيرية حتى وصلت الى أعلى مستوياتها في اليوم الثالث عشرفبلغت ما مقداره (0.468 ملغم/مل)في حين كانت الكتلة الحية في أدنى مستوياتها (شكل ٢-أ)

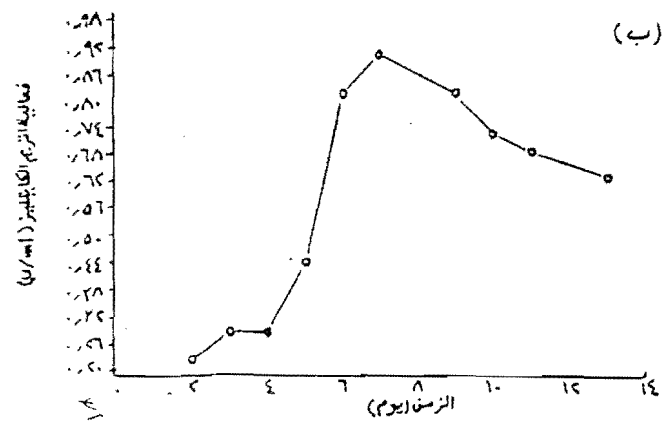
نلاحظ ايضا أن أقصى نمو (كتلة حية) للعزلة B.mycoides CH-45 كان في اليوم الثالث من الحضن حيث كان (0.31 ملغم/مل) ونظرا لسرعة نمو هذه البكتريا فانه يصعب تحديد طور الثبات في حين يلاحظ ان طور الانحدار بدأ في نهاية اليوم الثالث ، وفي نفس الوقت نلاحظ ان البروتين الخارج خلوي كان يرتفع بأضطراد خاصة مع بداية تحلل الخلايا البكتيرية حتى وصل الى أقصاه فبلغ



شكل (١) منحني نمو العزلات البكتيرية المحللة للكايتين *Serratia marcescens* HL-165 (ο—ο) ، *Bacillus licheniformis* ISRA-75 (●—●) ، *Bacillus mycoides* CH-45 (▲—▲) على درجات حرارية مختلفة في وسط المرق المغذي لمدة 24 ساعة

شكل (٢) أ - المسار الزمني للنمو (ο—ο) وافراز البروتين الخارجي (●—●)
ب - وفعالية انزيم الكايتنيز للعزلة *Serratia marcescens* HL-165
في وسط الكايتين الغروي السائل بدرجة ٣٠°م .





(0.245 e ملغم/مل) عندما كانت الكتلة الحية للخلايا في أدنى مستوياتها (شكل ٢-ب) .

ج . تحديد الرقم الهيدروجيني للنمو

يتضح من(شكل٣-ج) أن الرقم الهيدروجيني للعزلة B.mycoides CH-45 كان يميل نحو القاعدية على الرغم من أن الزيادة في الـ PH النمو كانت طفيفة في أول أيام الحضن حتى وصلت الى أقصاها في اليوم التاسع للحضن.

نلاحظ ايضا ان PH النمو العزلة B. Licheniformis ISRA-75 قد بدأ بالارتفاع في اليوم الاول للحضن ثم أخذ بالازدياد الطردي نحو القاعدية حتى وصل الى اقصاه (PH 8) في اليوم الخامس من الحضن (شكل٤-ب).

تشير هذه النتائج الى ان نمو العزلتين أعلاه في وسط الكايتين السائل قد ادى الى ارتفاع قيمة PH للوسط، وقد يعزى سبب هذا النوع النواتج الثانوية نتيجة لتحلل الكايتين بفعل أنزيمات chitinasea المنتجة من قبل هذه العزلات البكتيرية، فقد ذكر (Williams & Robinon 1981). أن تحلل الكايتين بفعل عزلات البكتريا الخيطية العائدة لمجموعة Streptomycetes كان مصحوب بأرتفاع قاعدية التربة (الحاوية على الكايتين)، وبالتالي حصول أستعاضة كلية للانواع المحبة لقيم الـPH المتعادلة محل الانواع المحبة للحموضة، كما أشار (Streichsbier , 1983). الى أن تحلل الكايتين بفعل بكتريا Chromobacterium violaceum ينتج عنه تحلل سكر GLcNAc والخلات بالاضافة الى تراكم كميات من الامونيا أدت الى أرتفاع في PH الوسط نحو القاعدية.

تقدير فعالية تحلل الكايتين للعزلات البكتيرية

أ . العزلة S.marcescens HL 165:-

يلاحظ من (شكل٢-ب) أن أعلى فعالية لانزيم الكايتيز المنتج من قبل هذه العزلة كانت في اليوم السابع من الحضن (0.894 U / m1) بعدها أخذت الفعالية بالهبوط الى (0.611 U/m1) في نهاية فترة الحضانة.وتتفق هذه النتيجة مع ماتوصل اليه (Cabib , 1988) حيث ذكر أن أعلى فعالية لهذا الانزيم والمنتج من قبل أحدى سلالات S.marcesans كانت مابين اليوم السادس والتاسع بينما وجد (Monreal & Reese , 1969) أن أعلى فعالية للانزيم المنتج من أحدى سلالات هذا النوع كانت في اليوم السادس من الحضن في وسط الكايتين الغروي السائل.

أن راشح النمو الذي يمثل الانزيم الخام Crude enzyme قد لايؤدي فقط الى تحرر وحدات السكر الاحادي (GLcNAc)وانما قد تحرر وحدات ثنائية 2 (GLcNAc) وثلاثية أو أكثر والتي تعرف بمركبات الكايتين قليلة الوحدات chitooligosaccharides ولغرض الكشف عنها بواسطة الكاشف اللوني Di-methyaminobenzyladehyde لابد أن تتكسر الى وحدات السكر الاحادي GLcNAc وليتم تحديدها بأتباع طريقة (Reissig et al , 1955)، ولهذا فقد قام الباحثان(Boller &Mauch , 1988) بأضافة خطوة جديدة لعملية التقدير اللوني للكايتيز عن طريق تحلل مركبات chitooligosaccharides الناتجة بأستعمال أنزيم (تجاري) مستخلص من أمعاء القواقع Snail gut enzyme للحصول على وحدات السكر الاحادي GLcNAc.

(Horikoshi & Lide , 1959)B. circulans) (Berkeley, 1965) B. pumilis) (Mithell &Alexander, 1963) B. licheniformis (Smirnoff & Valero, 1977) B. thuringensis) (Takiguchi & Shimahara, 1989 b)

ومن نتائجنا في هذه الدراسة نجد أن معظم الناتج النهائي من تحلل الكايتين بفعل هذه العزلة كان سكر الاحادي GLcNAc دلالة على أن انزيم هذه البكيريا ليس شيا فقط بالكايتينز وانما أيضا بانزيمات الكايتوبيز chitobiase التي تعمل على تحلل مركبات (chitooligosaccharides) الذائبة في المحلول .

وتتفق هذه النتائج مع ماذكره كل من Cabib,1988)

, Monreal &Reese ,1969). الذين كشفو عن وجود مستويات من أنزيم الكايتوبايزN-acetylglucosainidase من الراشح الانزيمي لبكتريا S. marcescens .

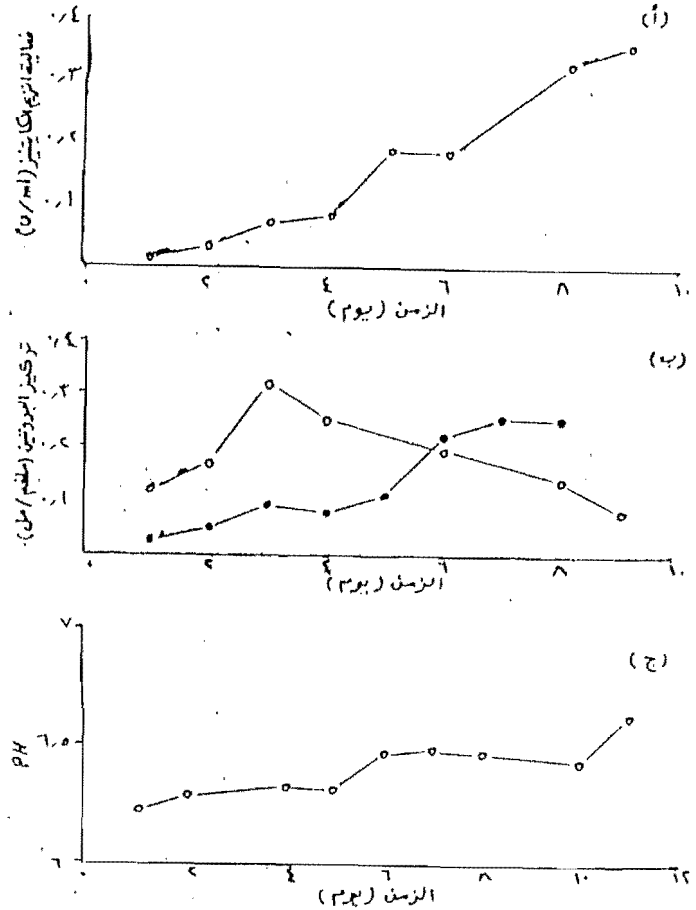
ويتضح أن الناتج النهائي من تحلل الكايتين بفعل هذه العزلة هو السكر (GLcNAc) لذا فمن المتوقع أن يكون النظام الانزيمي لهذه العزلة مكونا من أنزيم الكايتينز الداخلي endo-chitinase وأنزيم الكايتوبايز N-acetylglucosaminidase.

ب. العزلة B.mycoides CH 45 :-

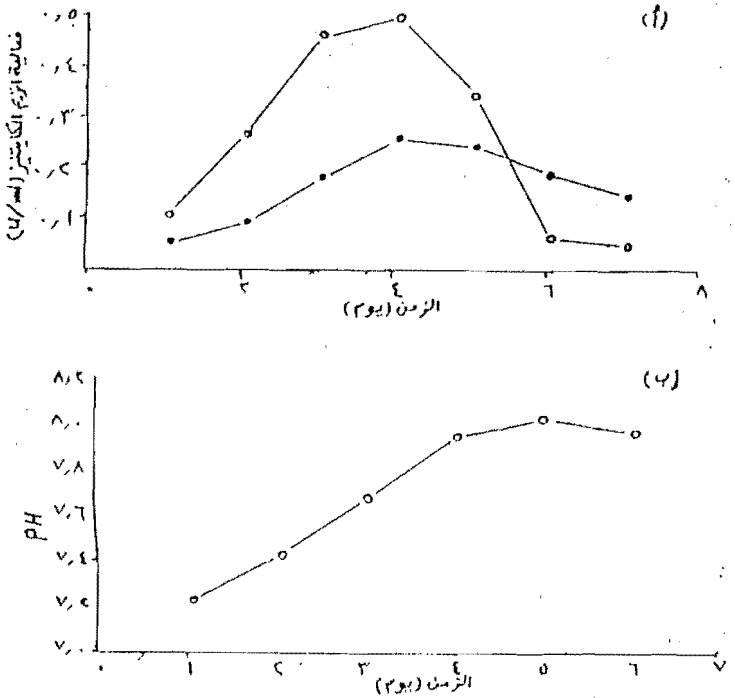
ويوضح (شكل٣-أ) تحلل الكايتين في وسط الكايتين الغروي السائل بفعل هذه العزلة . نلاحظ أيضا أن أعلى فعالية لانزيم chitinase كانت في اليوم التاسع من الحضن حيث بلغت 0.346 (وحدة أنزيمية/مل) على الرغم من أن البكتريا بدأت بانتاج الانزيم من اليوم الاول لنموها في وسط الكايتين الغروي السائل.

بما أن الناتج النهائي من تحلل الكايتين الغروي لم يكن السكر الاحادي (GLcNAc) لذا فمن المتوقع أن يكون الناتج عبارة عن خليط من مركبات(chitooligosaccharides) والسكر الثنائي (GLcNAc)2 (Smucker & Dawson ., 1986) ولهذا فانه من المحتمل أن لايكون أنزيم N- acetylglucosaminidase فعالا في هذه العزلة البكتيرية والاتراكمت كميات من سكر (GLcNAc) الاحادي نتيجة لتحلل السكر الثنائي (GLcNAc)2) بفعل هذا الانزيم ولأمكن الكشف عنها بأستخدام طريقة Reissig الخاصة بتقدير هذا النوع من السكريات Reissig et al . , 1955 ؛ كما نتوقع أن يكون النظام الانزيمي هنا مكونا من أنزيم الكايتينز الخارجي exo-chitinase حيث يعمل بصورة متعاقبة على تحليل الروابط الكلايكوسيدية (Glycosidic Linkages) للكايتين محولا أياه الى وحدات السكر الثنائي (GLcNAc)2 والتي يتم الكشف عنها بطريقة(Somogyi,1952) بأعتبارها من السكريات المختزلة . ولهذا فان النظام الانزيمي الكايتيني لهذه العزلة يختلف عن النظام الانزيمي للعزلة S. marcescen HL-165 المذكور سابقا(شكل٢-ب).

أن الكشف عن فعالية واطئة لتحلل الكايتين أو حتى أنعدامها خلال فترة الحضن في الاوساط السائلة مقارنة بأوساط الصلبة قد يعزى الى سببين : أما أن يكون هناك أستهلاك سريع لنواتج تحلل الكايتين (مثلGLcNAc) بفعل البكتريا أو نتيجة لتحرر الوحدات الثنائية (GLcNA)2 أو الثلاثية (GLcNAc)3) والتي تعطي تفاعلا ضعيفا أو سالبا في عملية التقدير الكمي لسكريات GLcNAc (Donderski, 1984) .



شكل (٣) أ- فعالية انزيم الكايتينيز . ب- والمسار الزمني للنمو (○—) والبروتين الخارجي (●—) . ج- والتغير في pH النمو للعزلة CH-45 Bacillus mycoides في وسط الكايتين الغروي السائل بدرجة ٣٠ °م .



شكل (٤) أ- فعالية انزيم الكايتينيز ممثلة بتحرر سكر N-acetylglucosamine (○—) والسكريات المختزلة (●—) . ب- والتغير في pH النمو للعزلة Bacillus licheniformis ISRA-75 في وسط الكايتين الغروي السائل بدرجة ٥٠ °م .

وخلال مراجعتنا للمصادرالعملية لم نشاهد دراسة مسبقة تشير الى قابلية النوع البكتيري B.mycoides على تحلل الكايتين وافراز أنزيم chitinas وكذلك نوع النظام الانزيمي على الرغم من القابلية المعروفة لكثير من الانواع التابعة لجنس Bacillus على تحلل الكايتين في التربة ومنها ،

B.cereus (Horikoshi & lida, 1959) B.circulans) (Berkeley, 1965) B.pumilis) (Mitchell & Alexander, 1963)
B. licheniformis (Smirnoff & Valero, 1977) B. thuringensis) (Takiguchi & Shimahara, 1989 b)

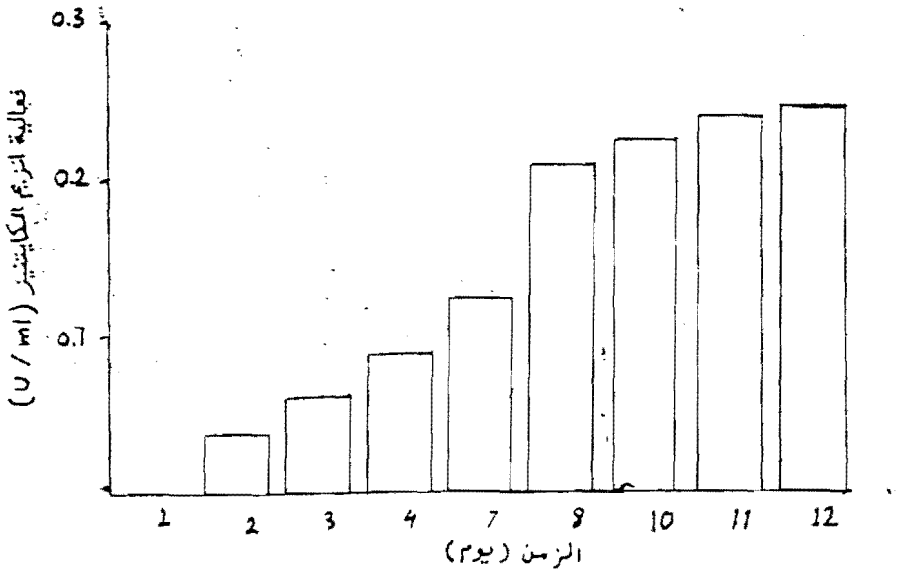
ج. العزلة B.Licheniformis IRSA-75

يوضح (شكل٤-أ) فعالية أنزيم chitinase ممثلة بتحرر GLcNAc أو السكريات المختزلة بفعل هذه العزلة عند تنميتها في وسط الكايتين الغروي السائل بدرجة 50 e م كما نلاحظ ايضا أن فعالية أنزيم chitinase قد أخذ بالارتفاع من اليوم الاول للحضن حتى وصلت الى أقصاها فبلغت 0.486 وحدة أنزيمية /مل (ممثلة بتحرر GLcNAc) و0.248 e وحدة أنزيمية/مل (ممثلة بتحرر السكريات المختزلة) في اليوم الرابع من الحضن ، وأن فعالية أنزيم chitinase الممثلة بتحرر GLcNAc كانت تقريبا ضعف الفعاليات الممثلة بتحرر السكريات المختزلة (شكل٤-أ).

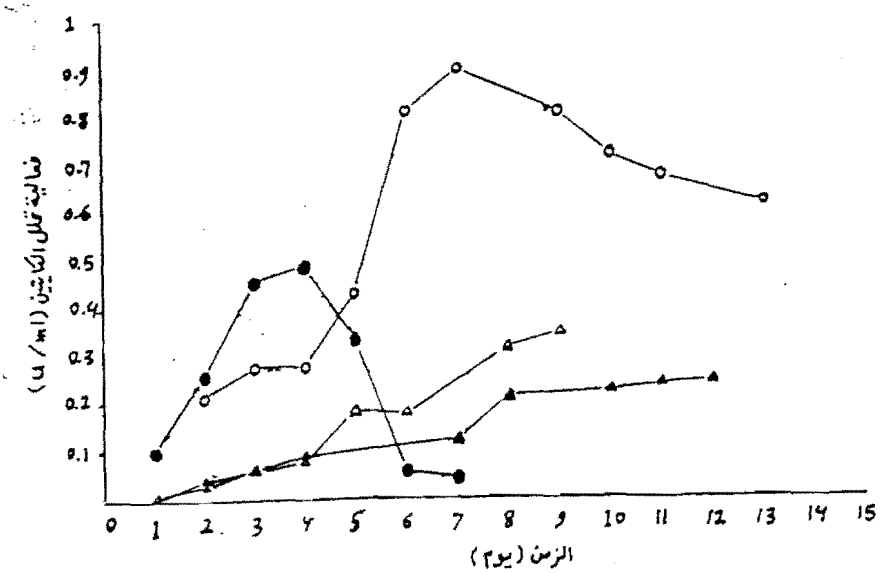
يتضح من النتائج اعلاه أن الوقت اللازم للوصول الى أقصى فعالية لانزيم الكايتيز (الحصول على أعلى تركيز من الناتج النهائي من تحلل الكايتين) قد انخفض بشكل كبير بفعل هذه العزلة الى أربعة أيام مقارنة مع 7 e أيام للعزلة S.marcescens HL-165 (شكل٢-ب) وتسعة أيام للعزلة B.mycoides CH-45 (شكل٣-أ) على الرغم من أن فعاليتها الانزيمية كانت منخفضة مقارنة بهذه العزلات ، حيث أعطت فعالية مقدارها 0.248وحدة أنزيمية/مل (ممثلة بتحرر السكريات المختزلة) مقارنة بـ(0.346 وحدة أنزيمية/مل) بفعل العزلةB.mycoides CH-45 وأعطت فعالية مقدارها 0.486 وحدة أنزيمية /مل (ممثلة بتحرر GLcNAc) مقارنة بـ (0.894 e وحدة أنزيمية/مل) بفعل العزلة S.marcescens HL-165 . كما ان انتاج انزيم chitinase بفعل هذه العزلة كان عند درجة 50 e م دلالة على قابلية هذا الانزيم على مقاومة درجات الحرارة العالية اي انه من النوع Themostable مقارنة بأنزيمات chitinases المنتجة من قبل العزلات المذكورة.ان انتاج السكريات المختزلة وسكريات GLcNAc بفعل هذه العزلة يشير الى ان نظامها الانزيمي ليس غنيا فقط بأنزيمات chitinase وانما ايضا بأنزيمات N_acetylgucosaminidase .

د . تقدير فعالية تحلل الكايتين لعزلات البكتريا الخيطية .

يلاحظ من (شكل-٥) انه لم يتم تحديد اية فعالية لانزيم chitinase في اليوم الاول من الحضن وان تحرير سكريات GLcNAc من الكايتين بدأ في اليوم الثاني حيث كانت الفعالية الانزيمية(0.039) وحدة انزيمية /مل ثم اخذت بالازدياد الطردي حتى وصلت الى اقصاها في اليوم الثاني عشر من الحضن حيث كانت (e0.240) وحدة انزيمية /مل، وتدل هذه النتيجة على ان تحلل الكايتين بفعل عزلات البكتريا الخيطية يحتاج الى وقت اطول مقارنة بالعزلات البكتيرية (Gray & Boxby , 1968)



شكل (٥) فعالية انزيم الكايتينيز للعزلة *Streptomyces* sp. ACT-14 في وسط الكايتين الغروي السائل بدرجة 28°م .



شكل (٦) فعالية تحلل الكايتين بفعل العزلات البكتيرية *Serratia marcescens* Ht-165 (o—o) *Bacillus mycoides* CH-45 (△—△) *Bacillus licheniformis* ISRA-75 (▲—▲) *Streptomyces* sp. ACT-14 (●—●) المعزولة من التربة .

ذكر(Reynolds , 1954) انه قام بدراسة النظام الانزيمي المحلل للكايتين لاحدى سلالات البكتريا الخيطية e . steptomyces spp على الرغم من انه قام بقياس تحلل الكايتين وتقدير انزيم chitinase من خلال قياس تحرر السكريات المختزلة الناتجة من تحلل الكايتين بطريقة Dinitrosalicylic acid (DNS) .

الاستنتاج Conclusion

تم في هذه الدراسة مقارنة لفعالية تحلل الكايتين chitionlytic activity للعزلات البكتيرية

-S.marcescens HL-165, B.mycoides CH 45, ISRA-75, B.licheniformis

اضافة الى عزلة البكتريا الخيطية streptomyces spp. ACT-14 (شكل-٦).

يتبين لنا من (شكل-٦) ان اعلى فعالية لانزيم chitinase كانت من العزلة S . marcescen HL-165 حيث اعطت فعالية انزيمية قدرها U\M1 (0.984) ثم تلتها العزلة B. licheniformis ISRA-75 حيث اعطت فعالية (0.486 U\M1) فيما احتلت العزلة B. mycoidase CH-45 المرتبة الثالثة فكانت اقصى فعالية لها (0.346 U\M1) في حين كانت عزلة البكتريا الخيطية streptomyces spp. ACT - 14 اقل العزلات المدروسة كفاءة في انتاج انزيم chitinase فكانت اقصى فعالية لها (0.240 u\m1) .

يتضح لنا ايضاً من (شكل-٦) ان العزلة B.Licheniformis ISRA-75 اختزلت بشكل كبير الوقت اللازم للوصول الى اقصى تركيز للناتج النهائي المتحرر من تحلل الكايتين (GLcNAc) [illegible] تكون حيث تطلب الحصول على اقصى فعالية لانزيم chitinase بفعل هذه العزلة فترة اربعة ايام مقارنة بسبعة ايام (للعزلة B. marcescens HL-165) واثني عشر يوماً (للعزلة streptomyces spp. ACT-14) كما تطلب نفس الفترة للحصول على اقصى تركيز من السكريات المختزلة مقارنة بتسعة ايام (للعزلة B. mycoides CH-45) بالاضافة الى ذلك فان استخدام هذه العزلة في تحليل الكايتين عند درجة 50ºم سوف يقلل من احتمالية حصول تلوث للمزروع البكتيري بالاحياء المجهرية الاخرى حيث ان درجة 50ºم تعتبر غير ملائمة لنمو كثير من الاحياء المجهرية الاخرى.

References :

1- Alexander, M. (1977). Introduction to soil Microbiology, 2nd ed., John wiley and sons ins. U.S.A. 196-202 .

2- Benton, A.G. (1935). Chitinorvorous bacteria, apreliminary study. J. Bacteriol., 29 : 449-456.

3- Berkeley, R.C.W. (1965). Microbial decomposition of chitin (Abstract). Ph.D. thesis, Univ. Notingham, U.K.

4- Boller, T. and Mauch F. (1988). Colorimetric assay for chitinase. Meth. Enzymol., Vol. 161(B). pp. 430-435. Wood, W.A. and Kellogg S.T. (eds.) Academic press.

5- Cabib, E.(1988). chitinase from serration marcescens. In:"Methods in Ezymology". vol. 161(B). pp. 460-462. Wood, W.A. and Kellogg S.T(eds.). Academic press.

6- Campbell, L.L and Williams, O.B(1951). A study of chitin decomposing microorganisms of marine origin J. Gen. microbiol., 5: 895-905.

7- Carroad, P. A., and Tom R.A. (1978). Bio conversion of shellfish chitin wastes: process conception and selection of microorganissms. J. Food. Sci., 43: 1158-1161.

8- Donderski, W. (1984). Chitionlytic bacteria in water bottom sediment of tow Lakes of different trophy. Acta Microbiol. Polonica. 33(2):163-170.

9- Gooday, G.W.(1990b). The Ecology of chitin degradation. In:"Advances in Microbial Ecology". vol. 11. pp. 387-430. Marshall, K.C (ed.) Penum press, New York.

10- Gray, T.R.G. and Baxby p.(1968). Chitin decomposition in soil 11. The Ecology of chitinoclastic microorganisms in forest soil. Trans. Br.mycol. Soc., 51(2): 293-309.

11- Horikoshi, K. and lida S. (1959). Effect of lytic enzyme from Bacillus circulans and chitinase from streptomyces spp. on Aspergillus oryzas. Nature, 183: 186-187.

12- Lloyd, B. (1969). Behaviour of streptomycetes in soil. J. Gen. Microbiol., 56: 165-170.

13- Locci, R.(1989). Streptomycetes and related genera. In:"Bergey's manual of systematic bacteriology". vol. IV. pp. 2451-2508. Williams, S.T., Sharpe M.E., Holt J.G. (eds.) Williams and Willkins co., Baltimore.

14- Lowry, O.H. Roseberouogh N.J., Farr A.L. and Randall R.J.(1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. J. Biol. chem., 193:265-272.

15- Mitchell, R. and Alxander M. (1963). Lysis of soil fungi by bacteria. Can. J. Microbiol., 9:169-177.

16- Monreal, J.and Reese E.T (1969) the chitinase of serratia marcescens. Can. J. Microbiol., 15:689-696.

17- Reissig, J.L., strominger J.L. and Leloir L.F. (1955). A modefid colorimetric method for the estimation of N-acetylamino sugars.J. Boil. chem., 217:959-966.

18- Reynolds, D.M. (1954). extracellular chitinase from a streptomyces spp. J. Gen., microbiol., 11:150-159.

19- Smirnoff, W.A. and valero J. (1977). Determination of chitinolytic activity of nine subspmices of Bacillus thuringiensis J. Invertebr. Pathol., 30: 265-266.

20- Smucker, R.A. and Dawson R. (1986). Products of photosynthesis by marine phytoplankton: chiti in TCA "Protein" Precipitates. J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 104: 143-152.

21- Somogyi, M. (1952). Notes on sugar determination. J. Biol. chem., 195: 19-23.

22- Streichsbier, F. (1983)Utilization of chitin as asole carbon and nitrogen source by chromobacterium violaceum FEMS Microbiol. Letts., 19: 129-132.

23- Takiguchi, Y., and shimahara K. (1989b). Isolation and identification of a thermophilic becterium producing N,Ndiecetylchitobiose from chitin. Agric. Biol. chem., 53(6): 1537-1541.

24- Williams S.T. and Robbinson C.S.(1981). the role the streptomycetes in decomposition of chitin in acidic soils. J. Gen. Microbiol., 127: 55-63.

Chitinase activity of some bacterial strains isolated from Iraqi soil.

Alaa H.Al-Charrakh* S. J. Taj-Aldeem
A. Kadum- Hindi

Abastract :

The chitinase activity of thebacterial isolates were determined, and it was found that the isolae S. marcescens HL-165 has the highest activity in degradation of chitin giving maximumactivity of chitinase (0.894 U m1)-1 in the seventh day of inocubation, then the isolate B. Licheniformis ISRA-75 which gave maximum activity (0.486 u m1)-1 in the fourth day of inocubation, the isolate B. mycodides CH-45 occpied the third degree giving maximum activity (o.346 U m1)-1 in the ninth day of inocubation, whereas the isolate. Streptomyces spp. Act-14 has the lowest activity giving maximum activity (0.240 U m1)-1 in the twelfth day of inocubation, in colloidal chitin medium.

It was found the isolate B. Licheniformis ISRA-75 produced chitinase when grown at 50 C in chitin broth medium whereas the other Bacterial isolates produced this enzyme when they grown at (28-30) C in the same medium.

Key words: chitin, chitinase, serratia, Bacillus, streptomy

---

* Results of this paper are part of the author's M.Sc. thesis.