تاثير الشد الملحي باستعمال مياه بزل مالحة ومياه النهر بمستويات ملحية مختلفة على معدل النمو الفطري لبعض الفطريات المعزولة من علف الدواجن .

محمد عبد الحسن العذاري **صفا مهدي عبد الكاظم الجبوري**

تقنيات احيائية/ كلية الزراعة **علوم تربة / كلية الزراعة**

جامعة القاسم الخضراء

المستخلص

اجريت التجربة بتاريخ 2015/2014 في مختبرات كلية الزراعة جامعة القاسم الخضراء لمعرفة تاثير الشد الملحي على نمو بعض الفطريات المعزوله من عليقة علف الدواجن ، واستعمل في التجربة الوسط الزرعي PDA مع نوعين من المياه الاولى مياه بزل وبدرجات متفاوتة من الايصالية الكهربائية والنوع الثاني من المياه مياه نهر جاري اضيفت له كميات من ملح كلوريد الصوديوم بحيث كانت الايصالية الكهربائيه لكل نوع من المياه ds/m (12 ,7 , 3 , 1.7) بينت النتائج وجود ثلاثة انواع فطرية عزلت من العليقة تم تنميتها على الاوساط الزرعية المالحة وتعريضها للشد الملحي ومعرفة اي الفطريات اكثر مقاومة للشد الملحي بعد حساب معدل التكرار ومعدل النمو الفطري ونسب التثبيط لكل نوع من الفطريات .

The effect of salinity tension using salty drainage water and River water at different levels of sodium chloride on growth rate of some fungi isolated from poultry feeds.

Lec.Dr.Mohammed A.H. **Assist Lec. Safa M. Abdulkhadum**

College of agriculture /AlQasim Green university

Abstract

Experiment was carried out in 2014/2015 in Labs of agriculture college of Al-Qasim green University to study the effects of salt tension in growth of some fungi which isolated from poultry feeds .PDA medium used with two types of water with Ec 1.7 ,3,7,12 for each type .Results showed that there are three species of fungi which exposed to salt tension and calculated percent of replication and average of growth rate and inhibition of fungi growth.

المقدمة

ان الملوحة في مياه الري تعتبر من اهم المشاكل التي تواجة ترب المناطق الجافة وشبه الجافة (Rao واخرون ، 2006). ونظرا للاحتياج المائي في كل مجالات الحياة وتاثيره المباشر وغير المباشر على جميع الكائنات الحية ، لذا فان المواصفات الخاصة بالمياه من ملوحة و غيرها تلعب دورا هاما في حياة الكائنات الحية ومن ضمنها الفطريات التي تختلف في احتياجاتها المائية والغذائية من جنس الى اخر ومن نوع الى اخر وكذلك تختلف في درجة تحملها للملوحة. ان شحة المياه المستخدمة لارواء الاراضي الزراعية تعتبر من التحديات الخطيره ومن المتوقع ان تزداد سوءا في السنوات القادمة (FAO,2011) . هناك الكثير من انواع الفطريات تنمو في بيئات حاوية على تراكيز عالية من الاملاح بينما تنمو الاخرى في بيئات منخفضة الملوحة وهناك اليات مختلفة تستعملها الفطريات في تحملها للملوحة فمنها تعمل على تراكم املاح معينه ككلوريد البوتاسيوم من جهة بينما تتصل من الجهة الاخرى عن طريق البروتينات الخلوية ب NaCl و المحيط الخارجي لها وبذلك تقوم بنوع من الموازنة او التوازن الايوني او الاوزموزي لكي تحدث التوازن المطلوب مع الملوحة في الخارج (Marrs and Madigan , 1997) .

ان الفطريات المتحملة للملوحة يطلق عليها Halophilic fungi وهي قليلة في الترب غير الملحية. ان اغلب الفطريات تفضل العيش في المناطق المعتدلة الملوحة والقليل منها تفضل البيئات المتطرفة او الصعبة extreme environment ولهذا اصبح مصطلح المتطرفة ينطبق على هذه الفطريات وسميت الفطريات المتطرفة (Krulwich and Guffanti , 1989).

وللفطريات اليات عديده تتمكن من خلالها بتحمل الملوحة في وسط معيشتها فبعضها يقوم باحتجاز الاملاح داخل خلايا خاصة تستبعد فيها هذه الاملاح عن المسارات الايضية

المختلفة (Dixon , 1988) ، ومنها ما يحدث توازنا اوزموزيا مع الملوحة في وسطها او خارج جسمها(Marrs and Madigen) .

وبعض منها يقوم بامتصاص بعض العناصرذات التراكيز الواطئة والعمل على زيادة الايض عن طريق زيادة تركيز الكلوكوز داخل خلاياها والذي يؤدي بالتالي الى خفض الجهد التناضحي (Al-Karaki) . ان التغيرات في الاملاح كما ونوعا يعتبر من العوامل المهمة المؤثرة في نمو الفطريات (Rilling ,2004). وفي تجربة اجراها Peat (2003) اكد ان زيادة الملوحة اثرت في نمو الغزل الفطري وكذلك في اعداد الوحدات التكاثرية الفطرية وذلك بسبب التاثيرات الضارة للاملاح وقلة جاهزية المواد الغذائية خاصة الكربوهيدرات الضرورية لنمو الفطريات .

وتختلف الفطريات فيما بينها في قابلية تحملها للملوحة اذ يلعب الفطر دورا مهما في ذلك اذ وجد Asghari و اخرون (2008) بان نمو الفطريات قد تأثر تأثرا كبيرا بزياده نسبه الاملاح .واوضح Juniper و Abbott (2006) بأن الملوحه تثبط نمو الغزل الفطري وفي تجربه اجراها Dixon وآخرون (1993) اذ وجد ان الفطريات Pisolithus , Laccaria , Suillusكانت متحمله للملوحه وبفروقات معنويه عن الفطريات Thelephora وهناك تراكيز مفضله يمكن ان يكون فيها نمو الفطر سريعا ومثاليا . وقد وجد ان الفطر *Aspergillus niger* ينمو جيدا عندما يكون تركيز 20 ملغم / لترمن املاح كلوريد الصوديوم بينما احسن نمو لغزل الفطري عند 9 ملغم باللتر ووجد ان التركيز 200 ملغم باللتر كان ساما للفطر .وقد وجدت قشقري والحازمي (2006) بأن هناك انواع فطريه يزداد نموها مع زياده الملوحه وتركيز كلوريد الصوديوم وصولا الى تراكيز معينه يتدهور فيها النمو مثل الفطريات *Aspergillus niger* و الفطر *A. flavus* وانواع اخرى مقاومه للملوحه مثل A. terreus والفطر *Pencillium* بينما تأثرت كثيرا فطريات *Fusarium* sp بالملوحه .

ومن الدراسات السابقه تبين ان هناك اختلاف في قدرة الفطريات على تحمل الملوحه وقد هدف البحث الى معرفه تحمّل بعض انواع الفطريات التي عُزِلت من اعلاف الدواجن من احد محطات بيع الاعلاف في مدينه الحلة – نادر للملوحه وتأثيرها في نمو الفطريات .

المواد وطرائق العمل

جمع العينات

جمعت عينات من المياه المالحه من بزل يقع في منطقه النبي ابراهيم (عليه السلام) التابعة لمديه الحله خلف جامعة القاسم الخضراء وتم قياس Ec ds/mلها حيث علمت تخافيف ملحيه للحصول على Ec3 , Ec7 , Ec12 ثم اخذت عينات من النهر الجاري في نفس المنطقه وتم قياس الملوحه له ثم اضيفت له كميات من ملح NaCl للحصول على تراكيز ملحيه مختلفه مساويه للتراكيز السابقه ووضعت جميع العينات من المياه في فلاسكات سعة 250 ml وتركت في الثلاجه لحين اجراء التجربه .

عزل الفطريات من العلف وحساب النسبة المئوية لتكرار العزل

عزلت بعض الفطريات من عينات علف الدواجن اخذت من محطة بيع اعلاف الدواجن في مدينة الحلة – حي نادر بطريقه التخافيف المتسلسله وحسب (Johnson *et al* , 1969) بأستعمال وسط Potato Dextrose Agar PDA ثم نقيت وشخصت حسب المفاتيح التشخيصية الخاصة بكل فطر من الدكتور مؤيد سلمان في مختبر الاحياء المجهريه قسم علوم التربه والموارد المائية في كلية الزراعة جامعة القاسم الخضراء وتم حساب النسبة المئوية لتكرار وفقا لما يلي وحسب ديوان (1990)

النسبة المئوية لتكرار العزل لكل فطر من الفطريات = عدد المرات التي ظهر فيها الفطر / عدد الاطباق الكلية *100

اذ اخذ 39 غرام من PDAالوسط الزرعي الفطري الجاهز واكمل بالماء بنوعيه ماء البزل المالح و ماء النهر المضاف له املاح ال NaCl وبتراكيز مختلفة و كما ذكر في الفقره السابقه ثم عقمت الفلاسكات الحاويه على الوسط الغذائي والتراكيز الملحيه المذكوره في المؤصده على درجه حرارة 105 مْ و ضغط جو 1.05 باوند/ انج اضيف لها المضاد البكتيري كلورومفينيكول بعد التعقيم وقبل الصب في الاطباق لمنع نمو البكتريا بعد ذلك صبت في اطباق بتري هيئات لهذا الغرض ثم تركت لتبرد .

تنمية الفطريات على الاوساط الزرعية المالحة

بعد تنقية الفطريات التي تم عزلها من العلف والحصول على الاجناس والانواع المدروسة في اطباق بتري اخذ قرص من كل طبق بعمر سبعة ايام من حافة الطبق الخارجية ووضع على سطح الاطباق الحاوية على الوسط المالح بنوعيه ماء البزل وماء النهر الحاوي على املاح كلوريد الصوديوم وبتوصيلية كهربائية كما ذكرت سابقا ووضع قرص واحد في مركز كل طبق مع مراعاة العمل تحت ظروف التعقيم و حضنت الاطباق في الحاضنه لمدة سبعة ايام على درجة حرارة 25 درجة مئوية ثم اخرجت الاطباق من الحاضنة وتم قياس معدل النمو الفطري بقياس معدل قطرين متعامدين لكل نمو فطري وتم حساب النسبة المئوية للتثبيط وحسب (Tomlin ,1998) .

النسبة المئوية للتثبيط = معدل النمو للمقارنة- للمعامله/ معدل النمو للمقارنة * 100

التحليل الاحصائي

كان التحليل الاحصائي وفق البرنامج العالمي SPSS Ver.20 بتجارب عاملية وفق CRD تحت مستوى معنوية 0.05 وحساب اقل فرق معنوي بين المعاملات LSD وبمكررات ثلاثة لكل معاملة من المعاملات.

النتائج والمناقشة

اوضحت النتائج جدول رقم (1) تواجد الفطر *Aspergillus niger* ، *Aspergillus flavus* ، *Pencillium sp* وقد تفوق الفطر *Aspergillus niger* في النسبة المئوية للتكرار حيث اعطى نسبة 60% تلاه الفطر*Pencillium sp* بنسبة تكرار مئوية 10% ثم الفطر*Aspergillus flavus* بنسبة تكرار 10% .

وهذا يدل على تلوث العينات الماخوذه من تلك المحطة بهذه الفطريات التي ممكن ان تسبب في بعض الحالات التسمم الفطري لافرازها سموم الافلاتوكسينات خصوصا الفطر *Aspergillus flavus* .

و بينت النتائج جدول (2) تاثير مستويات الاملاح المختلفة لمياه البزل على معدل النمو الفطري لعزلات الفطريات المختلفة التي عزلت من اعلاف الدواجن بان مياه البزل المالحة قد اثرت تاثيرا سلبيا على نمو الفطريات وقد اعطى الفطر A. niger اقل معدل نمو فطري عند ال12 Ec 18.66 ملم واعطى الفطر *A. flavus* اعلى معدل نمو فطري عند ال 12 Ec 28.00ملم واعطى الفطر *P.* sp 33.25 ملم و بفروقات معنوية عن معاملة السيطره، وهي نمو الفطريات على وسط زرعي خالي من الاملاح او باستعمال الماء المقطر المعقم والتي اعطت معدل نمو فطري 90 ملم .

ويتضح من الجدول (2) ايضا انه بزيادة الاملاح تقل قابلية الفطر على النمو اذ ان النسبة العالية من الاملاح تجعل الماء غير ميسر للفطر الامر الذي يجعل فرق التراكيز بين خلايا الفطر ومحيطه الخارجي عال جدا مما يسبب صعوبة دخول الماء وبالتالي العناصر الغذائية وهذا يؤثر بصوره مباشره على استمرار النمو بصوره طبيعية . واشارت النتائج في جدول (3) معدل النمو الفطري /ملم لعزلات الفطريات بعد استعمال مياه النهر واضافة املاح كلوريد الصوديوم في الاوساط الغذائية وبقيم Ec / ديسمنز/م مختلفة الى ان استعمال ملح كلوريد الصوديوم في الاوساط الغذائية الفطرية قد اثر سلبيا على معدل النمو القطري للفطريات وقد اعطى الفطر *A. niger* اقل معدل نمو قطري عند ال 12 Ec 11.00 ملم واعطى ا لفطر *A. flavus* اعلى معدل نمو فطري عند ال 12 Ec 23.00 ملم واعطى الفطر *P.* sp 20.00 ملم و بفروقات معنوية عن معاملة السيطره وهي نمو الفطريات على وسط زرعي خالي من الاملاح او باستعمال الماء المقطر المعقم والتي اعطت معدل نمو قطري 90 ملم .

وبمقارنة نتائج الجدول (2) مع الجدول (3) نجد ان تاثير اضافة كلوريد الصوديوم الى ماء النهر والاوساط الزرعية اكبر من تاثير مياه البزل ربما يرجع السبب الى نوعية الاملاح المتواجده في مياه البزل التي تختلف عن ملح كلوريد الصوديوم الذي تكون تاثيراته اشد بسبب الشد الملحي المتولد على جدار الخلية الفطرية . واوضحت النتائج في جدول (4) وجود حساسية للنمو الفطري في العزلات نتيجة المعاملات الملحية المختلفة وبينت ايضا مقدار النسبة المئوية لتثبيط العزلات الفطرية باستعمال اوساط غذائية ملحية لمياه البزل اذ كانت الاوساط الملحية قد اثرت في النسبة المئوية للتثبيط وكانت اعلى نسبة تثبيط لفطر ال *A. niger* 70.66 %تلتها العزلة الفطرية *P.* sp 64.50 %اما عزلة الفطر *A. flavus* فقد كانت 59.91 %.

وقد يرجع السبب في اختلاف النسب المئوية للتثبيط بين العزلات الى العوامل الوراثية الخاصة بكل فطر . اضافة للتغيرات المختلفة في نسب الاملاح في الاوساط الغذائية التي سببت اختلافا في مقدار الشد الملحي على خلايا الفطريات مما انعكس على قابلتها في امتصاص المواد الغذائية من خلال جدرانها Rao *et al* (2006) .

جدول (1) انواع الفطريات المعزولة من العلف ونسب تكرارها

ت	الفطر	النسبة المئوية لتكرار العزل
1	***Aspergillus niger***	**80**
2	***Pencillium* sp**	**10**
3	***Aspergillus flavus***	**10**

جدول (2) معدل النمو الفطري /ملم لعزلات الفطريات بعد استعمال مياه البزل في الاوساط الغذائية وبقيم Ec / ديسمنز/م مختلفة

/ Ec Ds/m	*A. niger*	*A. flavus*	*P.* sp	المعدل/ملم
1.7	34.33	47.66	42.66	41.55
3	30.00	40.00	36.33	35.44
7	20.66	30.00	28.00	26.22
12	18.66	28.00	26.00	24.22
المعدل/ملم	25.91	36.41	33.25	
المقارنة	90.00	90.00	90.00	

LSD بين العزلات الفطرية 1.16 وبين التراكيز الملحية 1.34 وللتداخل 6.98 وكل رقم من الارقام يمثل معدل ثلاثة مكررات .

جدول (3) معدل النمو الفطري / ملم لعزلات الفطريات بعد استعمال مياه النهر في الاوساط الغذائية وبقيم Ec / ديسمنز/م مختلفة بعد اضافة ملح كلوريد الصوديوم

Ec ds/m	*A. niger*	*A. flavus*	*P.* sp	المعدل / ملم
1.7	23.33	32.33	28.66	28.11
3	20.00	27.66	24.66	24.11
7	13.00	24.66	22.00	19.88
12	11.00	23.00	20.00	18.00
المعدل	16.83	26.91	23.83	
المقارنة	90.00	90.00	90.00	

LSD بين العزلات 1.20 وبين مستويات الملوحة 1.65 وللتداخل 6.75 و كل رقم من لارقام يمثل معدل ثلاثة مكررات

جدول (4) النسبة المئوية لمعدل تثبيط العزلات الفطرية باستعمال مياه البزل المالحة وحساسية نمو الفطريات .

Ec ds/m	*A. niger*	*A. flavus*	*P.* sp	المعدل / ملم
1.7	61.33	50.33	56.00	55.88
3	66.00	55.00	63.00	61.33
7	76.33	66.00	68.33	70.22
12	79.00	68.33	70.66	72.66
المعدل	70.66	59.91	64.50	
المقارنة	0.00	0.00	0.00	

LSD بين العزلات 1.95 وبين التراكيز الملحية 2.25 وللتداخل 7.46 كل رقم منالارقام يمثل معدل ثلاثة مكررات.

واكدت النتائج ايضا جدول (5) النسبة المئوية لمعدل تثبيط العزلات الفطرية باستعمال مياه النهر المالحة بعد اضافة كلويد الصوديوم وبتوصيلية كهربائية مختلفة بان اضافة ملح كلوريد الصوديوم الى الاوساط الغذائية باستعمال ماء النهر قد سببت تناقصا في النمو وزيادة في النسبة المئوية للتثبيط وكانت اعلى نسبة مئوية للتثبيط عندا لفطر *A. niger* 80.96 % تلتها العزلة الفطرية *P.* sp 73.27 %اما عزلة الفطر *A. flavus* فقد كانت 69.83% . وبفروقات معنوية **عن معاملة** المقارنة .

واوضحت النتائج ايضا في الجداول (2، 3، 4، 5) بان الفطر *A. flavus* هو من الفطريات التي تمتلك مقاومة للشد الملحي تلاه الفطر *P.* ps ثم الفطر *A. niger* .

وبينت النتائج ايضا انه كلما زاد التركيز الملحي في مياه البزل او النهر كلما اثر ذلك على معدل النمو القطري للفطر وازدادت نسبة التثبيط مع وجود فوارق في نسبة التاثير بين مياه البزل والنهراذ كانت النتائج في حالة اضافة ملح كلوريد الصوديوم اعلى من التاثير في حالة مياه البزل دلالة على تاثير كلوريد الصوديوم بنسبة اعلى من الاملاح الموجوده في مياه البزل وهذا يتفق مع ما توصل اليه Abdel-Hafez *et al* (1989,) من ان التراكيز الملحية تؤثر سلبيا في نمو الفطريات مختبريا .

وتتفق النتائج مع ماتوصل اليه Moubasher *et al* (1977,1989,1990) و ايضا مع Moustafa , 1996 .

الاستنتاجات

1- تلوث عينات العلف الماخوذه من محطة بيع الاعلاف بثلاثة انواع من الفطريات وهي *A. niger* و *A. flavus* و *P.* sp .

2- ارتفاع نسبة تكرار الفطر A. niger عن باقي الفطريات .

3- تاثير مستويات الملوحة في معدل نمو الفطريات مختبريا وكذلك في نسبة التثبيط

4- اختلفت استجابات الفطريات حسب نوعية مياه الوسط الزرعي وكانت تاثيرات اضافة ملح كلوريد الصوديوم اشد مما هو عليه في مياه البزل.

جدول (5) النسبة المئوية لمعدل تثبيط العزلات الفطرية باستعمال مياه النهر المالحة بعد اضافة املاح كلوريد الصوديوم وبتوصيلية كهربائية مختلفة

المعدل / ملم	*P.* sp	*A. flavus*	*A. niger*	Ec ds/m
55.88	68.15	64.07	74.07	1.7
61.33	72.60	69.26	77.77	3
70.22	75.00	72.00	85.00	7
72.66	77.33	74.00	87.00	12
	73.27	69.83	80.96	المعدل
	0.00	0.00	0.00	المقارنة

LSD بين العزلات 1.98 وبين التراكيز الملحية 2.30 وللتداخل 7.40وكل رقم من الارقام يمثل معدل ثلاثة مكررات .

المصادر

Al-Karaki,G.N. 2000. Growth and mineral acquisition by mycorrhizal tomato grown under salt stress .Mycorrhiza . 10 : 51-54.

Asghari,H.R. Amerian,M. and gorbani, H. 2008. Soil salinity effects of halophytes . Pakistan Journal of biological Science. 11; 1909-1915.

Deewan. M. M. (1980).Application of fungi technique. Agriculture collage of Baghdad university.

Dixon,R. K. Rao M. V. and Garg, V. K. 1993. Salt stress affects in vitro growth . 3 : 63-68.

FAO.2011. Food and agriculture organization of the United Nations htpp; www. FAO org./crop/statistics.

Johnson, L. F. Curl E.A ; Bond , J.K. (1989). Methods for studying soil fungi and disease of plants Burgess Publishing Co.

Juniper, S.and Abbot, L.K. 2006. Soil salinity delays germination and limits growth of hyphae from propagules of mycorrhiza fungi . 16; 371- 379.

Kashkari , R. M. and Al- Hazimy N.E. 2006. Effects of salinity on fungi growth . Ass university ,Biology Gournal Vol 9 No 1 March 2006.

Krulwich, T.A. and Guffanti, A.A. 1989.Alkalophilic bacteria. Annu Rev Amicrobial. 43: 435-463.

Madigan, M.T. and Marrs, B.L. 1997. Extermophiles scientific American . 276 (4) : 66-71

Moubasher, A.H. Abdelhafez, S. I. (1987, 1989 , 1990). Seasonal variation of halophilic fungi in variety salinity soil.Bull Fac Sci 7 (1-D): 27-44.

Peat,M.2003. The distribution of arbuscular mycorrhiza in British flora .New physiologist . 125; 845-854.

Rao, K. V. M. ; Raghavendra, A.S. and Reddy 2006. Physiology and molecular biology of stress tolerance , by Springer.

Rilling, M. C. 2004.Arabascular Mycorrhizae terrestrial ecosystem processes. Ecol. Letters . 7(8): 740-763.

Tomlin, M.J. (1989). Equantity and equality of fungi diseases in Lab. Meshig. Univer.