

فعالية بعض العزلات من الفطر *Aspergillus* والفطر *Trichoderma hamatum*
والمعزولة من المخلفات النباتية المتحللة في ذوبان الفسفور بالاعتماد على الصلابة
والسائلة

صباح لطيف علوان
قسم وقاية النبات - كلية الزراعة
جامعة الكوفة - العراق

*أزهر حميد فرج
مديرية زراعة واسط
وزارة الزراعة - العراق
azherarti@yahoo.com

المستخلص

نفذت هذه الدراسة لتقويم فعالية ست عزلات فطرية تم عزلها من المخلفات النباتية بوصفها اوساطا زرعية بديلة ومن المنطقة الجذرية وجذور نباتات الخيار المتميزة بالنمو في ذوبان عنصر الفسفور في كل من الاوساط الغذائية الصلبة والسائلة كإحدى الآليات المفترضة لتفسير كفاءتها التحفيزية والتشجيعية لنمو النبات ، أذ اظهرت النتائج تميّز عزلة A-D-1 (*A. niger*) في تكوينها للهالة الشفافة حول مستعمرتها النامية في جميع الأوساط الغذائية الصلبة PVK و NBRIP و NBRIY في حين كونت عزلة (A. *fumigatus*) A-7 هالة شفافة حول مستعمرتها النامية في الوسط الغذائي الصلب NBRIP فقط. و اظهرت النتائج تميّز كل من العزلتين الفطريتين A-D-1 و A-7 في خفض دالة الحموضة pH في الاوساط الغذائية PVK و NBRIP و NBRIY وفي ظروف الحضانة المتحرك (120 دورة/ دقيقة) والسكن ، حيث أظهرت العزلة A-D-1 انخفاضا في متوسطات دالة الحموضة بلغت 3.94 و 2.47 و 2.59 على التوالي فضلا عن العزلة A-7 حيث بلغت متوسطات دالة الحموضة 4.23 و 3.37 و 4.32 على التوالي مقارنة مع معاملة المقارنة التي بلغت 6.10 و 6.11 و 6.10 خلال جميع فترات الحضانة المتحرك 5 و 10 و 15 يوما على التوالي. أما في ظروف الحضانة الساكن فقد سجلت متوسطات دالة الحموضة انخفاضا للعزلة A-D-1 بلغت 3.77 و 2.39 و 2.25 ، و بلغت متوسطات العزلة A-7 4.08 و 3.83 و 3.52 مقارنة مع معاملة المقارنة التي بلغت 6.10 و 6.11 و 6.10 خلال فترات الحضانة الساكن 5 و 10 و 15 يوما على التوالي على درجة 28 م. الكلمات المفتاحية :

Trichoderma hamatum ، *Aspergillus* ، الفطريات المذيبة للفسفور ، PVK و
(NBRIY و NBRIP)

(*) البحث جزء من اطروحة دكتوراه للباحث الاول

Effectiveness of some isolate of *Aspergillus* and *Trichoderma hamatum* that isolated from Compost plant waste in solubilization of phosphate in solid and broth media

Azher H. Altaie*

Sabah L. Alwan

Directorate of Wasit.

Department of Plant Protection.

Ministry of Agriculture - Iraq

**Faculty of Agriculture -University
of Kufa – Iraq**

azherarti@yahoo.com

Abstract

The study was conducted to evaluate the effectiveness of six isolates of fungi which isolated from compost plant waste as soilless culture media and from root and Rhizosphere of cucumber plants into solubilization of phosphorus in both solid and broth media as one of mechanisms supposed to improve plant growth. The results showed that fungal isolate of *A. niger* (A-D-1) shown a clear halo zone around their colony in all solid media PVK , NBRIP and NBRIY, while the fungal isolate *A. fumigatus* (A-7) shown a clear halo zone around colony only in NBRIP solid media . Also, the results showed that fungal isolates A-D-1 and A-7 reduced acidity (pH) in all broth media PVK , NBRIP and NBRIY in both shaking (120 r / min) and static incubation conditions, where isolate A-D-1 showed decrease in acidity average 3.94 , 2.47 and 2.59 as well as the fungal isolate A-7, 4.23 , 3.37 and 4.32 , compared with the control treatment which has 6.10 , 6.11 and 6.10 during shaking incubation periods 5, 10 and 15 days respectively. In the static incubation condition, the results recorded that fungal isolate A-J - 1 decrease the acidity to 3.77 , 2.39 and 2.25 , as well as the fungal isolate A-7 to 4.08 , 3.83 and 3.52 , compared with the control treatment to 6.10 , 6.11 and 6.10 during static incubation periods 5, 10 and 15 days , respectively, at 28 C .

Keywords:

(*Aspergillus* , *Trichoderma hamatum* , phosphate soluble fungi , PVK , NBRIP , NBRIY)

(*) Part of Ph.D dissertation of the first author

المقدمة

الحوامض مثل Citric و gluconic و glucolic و oxalic و succinic (8).

إن إذابة الأشكال المختلفة من فوسفات الكالسيوم في الأطباق الحاوية على الوسط الغذائي الصلب (Agar) قد استعملت بشكل واسع ومنذ وقت طويل كمعيار أولي لعزل الأحياء الدقيقة المذبية للفسفور (19)، حيث تنمو الأحياء الدقيقة على وسط فوسفات الكالسيوم الصلب مكونة منطقة شفافة (clear halo Zone) حول مستعمراتها في حالة قدرتها على إذابة عناصر فوسفات الكالسيوم. وأشارت Whitelaw (27) إلى أن بعض العزلات التي تكون منطقة شفافة قليلة أو معدومة على الوسط الغذائي الصلب قد أظهرت فعالية عالية في إذابة الفسفور في الوسط الغذائي السائل، وبذلك تكون تقنية الأطباق محدودة الفعالية في الكشف عن كل الكائنات الدقيقة المذبية للفسفور، وبالمقابل فإن بعض العزلات قد أظهرت منطقة شفافة كبيرة على الوسط الغذائي الصلب، ولكنها كانت أقل إذابة للفسفور في الوسط الغذائي السائل (27).

تعد acidification (أي خفض درجة الحموضة pH) في أغلب الحالات من أهم آليات ذوبان عنصر الفسفور، حيث أن ارتفاع قابلية ذوبان الفسفور عادة ما يرتبط بانخفاض درجة الحموضة pH في المحلول النهائي للوسط الغذائي (culture media)، إذ إن قيمة درجة الحموضة (pH) الأولية للوسط الغذائي السائل ربما تتأثر بكمية الفسفور المذابة في ذلك الوسط، إذ وجد Narsian و Patel (16) أن كمية الفسفور المذابة كانت عالية عند قيمة الـ pH الأولية ضمن مدى pH مثالي ومناسب لنمو العزلات الفطرية، وقد ذكرت Whitelaw (27) أنه في حالة انخفاض درجة الحموضة درجة أكثر فإنها تزيد من قابلية

يعد عنصر الفسفور Phosphorus - P من العناصر المغذية المهمة للنبات حيث تعاني معظم الترب الزراعية من نقصه، وعادة ما يكون بصيغة عضوية غير ذائبة (9). وبسبب إضافة كميات كبيرة من عنصر الفسفور القابل للذوبان أو التحلل في التربة كسماد فإنه يثبت بوساطة جزيئات التربة بحيث يكون أقل جاهزية للنباتات، ولذلك فإن إضافة السماد الفوسفاتي على المدى الطويل ينتج عنه تراكم كمي للفسفور في التربة الذي غالبا ما يكون قليل الذوبان (27).

وذكر Alan (4) أن الأحياء الدقيقة تؤثر بشكل مباشر على قدرة النباتات في الحصول على الفسفور من التربة خلال الكثير من الآليات، تتضمن: زيادة المساحة السطحية للجنور أو زيادة حركة صيغ الفسفور العضوي فضلا عن تحفيز عمليات الأيض التي تكون مؤثرة بشكل مباشر في الذوبانية ومعدنة الفسفور من صيغ الفسفور العضوي وغير العضوي الجاهز.

وقد وجد Mittal وآخرون (15) أن أكثر الفطريات المذبية للفسفور في المنطقة الجذرية أو في دقائق التربة الكبيرة كان بالدرجة الأولى الجنس *Aspergillus* spp و *Penicillium* spp. وأشار Vassilev وآخرون (25) إلى أن الفطريات الخيطية تستخدم بشكل واسع كمنتجات للأحماض العضوية ولاسيما الفطر *A. niger* وبعض أنواع الجنس *Penicillium* التي اختبرت في انظمة التخمر أو التلقيح المباشر للتربة لإذابة الفسفور الصخري. إن الكثير من الانواع التابعة للجنس *Aspergillus* تتميز بقابليتها على إذابة الفسفور غير العضوي مثل *A. flavus* و *A. niger* و *A. terreus* (3)، وذلك من خلال انتاج

الصفراء وسعف النخيل ومخلفات جذور عرق السوس بعد الاستخلاص بوصفها أوساطاً زرعية بديلة ومن المنطقة الجذرية لنباتات الخيار المتميزة بالنمو ، حيث اثبتت كفاءة عالية في تحفيز نمو النباتات الملقة بها في دراسة سابقة (2) ، لغرض التحري مختبرياً عن فعالية تلك العزلات الفطرية في اذابة عنصر الفسفور في الأوساط الغذائية الصلبة والسائلة ، إذ تم زراعة العزلات الفطرية الست في أطباق حاوية على أوساط غذائية صلبة وهي الوسط الغذائي PVK المكون لتر منه من (سكر الكلوكوز 10 غم ، $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.5 غم ، 0.5 Yeast extract ، 0.1 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ غم ، 0.2 KCl غم ، 0.2 NaCl غم ، $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0.002 غم ، $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.002 غم ، $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_5$ 5 غم ، Agar 15 غم) (Pikovskaya ، 1948). فضلاً عن الوسطين الغذائيين NBRIY^* المكون لتر منه من (سكر الكلوكوز 10 غم ، $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.5 غم ، 0.1 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ غم ، 0.2 KCl غم ، 0.2 NaCl غم ، $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.002 غم ، $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0.002 غم ، $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_5$ 5 غم ، Agar 15 غم) و NBRIP^\dagger المكون لتر منه من (سكر الكلوكوز 10 غم ، $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.1 غم ، $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.25 غم ، 0.2 KCl غم ، $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 5 غم ، $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_5$ 5 غم ، Agar 15 غم)

(*)

National Botanical Research Institute's phosphate growth medium devoid of yeast extract

(†) National Botanical Research Institute's Phosphate growth medium

ذوبان تلك المركبات. و أن أغلب فوسفات الكالسيوم لها قابلية واطئة للذوبان في الماء عند درجة حموضة أكثر من 8 ، وتلك القابلية تزيد عند انخفاض درجة الحموضة عن 8 . كما ان ذوبان الفسفور ايضا يتاثر بالظروف البيئية وفي ما إذا كان الوسط الغذائي يتحرك بانتظام. وذكر Cunningham و Kuiack (10) أن ذوبان الفسفور بواسطة عزلات الجنس *Penicillium* كان الأكثر عند اهتزاز المزارع الفطرية. وهذا بدوره يمكن ان يشير الى دور الفطريات المذيبة للفسفور في تحفيز النمو وزيادة امتصاص الفسفور بواسطة النباتات الملقة بها.

ونظراً لأهمية هذا الموضوع وعدم وجود دراسات تفصيلية حوله في العراق ، فقد هدفت الدراسة إلى التحري مختبرياً عن فعالية الفطريات المعزولة من المخلفات النباتية المتحللة بوصفها أوساطاً زرعية بديلة ومن المنطقة الجذرية لنباتات الخيار المتميزة بالنمو في اذابة عنصر الفسفور (Phosphate-Solubilizing Fungi). كإحدى الآليات المفترضة لتفسير كفاءتها التحفيزية والتشجيعية لنمو النبات.

المواد وطرائق البحث

استخدمت في هذه الدراسة ست عزلات فطرية خمس منها تعود للجنس *Aspergillus* وعزلة تعود للفطر *Trichoderma hamatum* وهي : A-12 (*A. flavus*) و A-5 (*A. niger*) فضلاً عن العزلة T-13 (*Trichoderma hamatum*) تم الحصول عليها من مجمل المجتمع الاحيائي للمخلفات النباتية المتحللة لمحاصيل الحنطة والشلب وكوالح الذرة

قيست قيمة دالة الحموضة pH للوسط الغذائي ابتداءً ثم التغير في قيمة دالة الحموضة pH للوسط الغذائي بعد 5 ، 10 ، 15 يوماً من التلقيح باستخدام جهاز pH meter الرقمي (18) بعد معايرة الجهاز بوساطة محلول بفر ذي pH = 4 و 7 فضلاً عن تقدير نمو المستعمرة الفطرية من خلال وزن الكتلة الفطرية الجاف والنامية في الأوساط الغذائية السائلة ، حيث رشح الوسط الغذائي في ورق الترشيح (Whatman Filter Paper No.1) وأخذت الكتلة الحية للعزلة الفطرية ووضعت على ورق نشاف للتخلص من الماء الحر بعدها جففت في الحاضنة على درجة حرارة 70 م° لمدة 24 ساعة ووزنت في ميزان رقمي حساس.

ولأجل معرفة تأثير الحضان المتحرك على نمو المستعمرة والتغير في قيمة دالة الحموضة pH ، فقد جرى تنفيذ التجربة أعلاه بدون حركة الوسط الغذائي وكانت التجريبتان متوازيتان وفي الوقت والظروف نفسها .

حللت نتائج الدراسة بإستخدام التصميم تام التعشبية CRD وإختبار أقل فرق معنوي LSD على مستوى 1% لمقارنة النتائج (1). واستعمل البرنامج الاحصائي Genstat في تحليل البيانات.

النتائج والمناقشة

أظهرت نتائج الدراسة قدرة بعض العزلات الفطرية على تكوين هالة حول مستعمراتها والناجمة من قدرتها على اذابة عنصر الفسفور- P في الأوساط الغذائية الصلبة المختلفة بعد 5 أيام من الحضان على درجة حرارة 28 م° (الشكل - 1) ، حيث تظهر النتائج (الجدول - 1) وجود اختلافات معنوية بين متوسطات قطر مستعمرات العزلات الفطرية الست الفعالة مع الهالة المتكونة على حافات مستعمراتها وكذلك في قطر

Nautiyal و Mehta ، 2001) وعدل الـ pH للأوساط الغذائية الى 7 ± 0.2 باضافة NaOH 1N HCl .

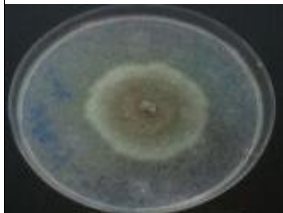
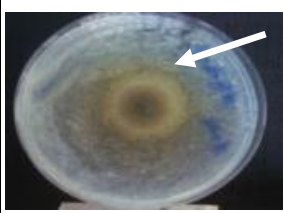

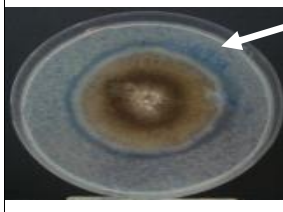

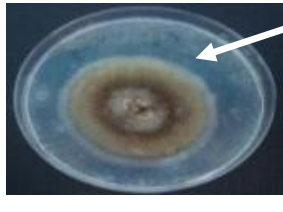
حضنت الأطباق في درجة حرارة 28 ± 2 م° إذ تم مراقبة قطر المستعمرات وقطر منطقة الذوبان الشفافة halozone بانتظام وخلال الخمسة أيام (قبل أن يملأ الفطر طبق البتري) . نفذت التجربة بثلاثة مكررات لكل عزلة فطرية. قيم مؤشر الذوبان Solubilization index استنادا الى نسبة القطر الكلي للمستعمرة (المستعمرة + منطقة الهالة halozone) الى قطر المستعمرة (11).

أما في الأوساط الغذائية السائلة (Broth) ، فقد أخذ قرص بحجم 5 ملم من عزلات الفطريات الست المزروعة على الوسط الغذائي P.D.A بعمر 5 أيام وزرعت في دوارق سعة 250 مل حاوية على الأوساط الغذائية المعقمة المذكورة آنفاً بدون اضافة Agar بحجم 100 مل . حضنت الدوارق على درجة حرارة 28 ± 2 م° في حاضنة هزازة 120 دورة / دقيقة وبثلاثة مكررات لكل عزلة فطرية ، اما معاملة المقارنة فكانت حاوية على الوسط الغذائي المعقم فقط .

أما في الأوساط الغذائية السائلة (Broth) ، فقد أخذ قرص بحجم 5 ملم من عزلات الفطريات الست المزروعة على الوسط الغذائي P.D.A بعمر 5 أيام وزرعت في دوارق سعة 250 مل حاوية على الأوساط الغذائية المعقمة المذكورة آنفاً بدون اضافة Agar بحجم 100 مل . حضنت الدوارق على درجة حرارة 28 ± 2 م° في حاضنة هزازة 120 دورة / دقيقة وبثلاثة مكررات لكل عزلة فطرية ، اما معاملة المقارنة فكانت حاوية على الوسط الغذائي المعقم فقط .

الصلبة PVK وNBRIY و NBRIY على التوالي. في حين لم تظهر بقية العزلات الفطرية اي هالة حول مستعمراتها وعلى جميع الأوساط الغذائية المختلفة بعد 5 أيام من الحضانة على درجة حرارة 28 م. و يتضح أيضاً وجود تأثير معنوي للتداخل بين الأوساط الغذائية المختلفة وبين العزلات الفطرية الست الفعالة في كل من قطر مستعمرات العزلات الفطرية مع الهالة المتكونة على حافاتها وبدونها ومؤشر الذوبان ، اذ تفوقت معاملة التداخل باستعمال العزلة الفطرية A-D-1 مع الوسط الغذائي PVK على بقية التداخلات بالصفات السابقة الذكر مقارنة مع بقية المعاملات .

مستعمراتها بدون الهالة وفي مختلف الأوساط الغذائية الصلبة. حيث تميّزت العزلة A-D-1 في تكوينها للهالة حول مستعمرتها في جميع الأوساط الغذائية الصلبة PVK و NBRIY وNBRIY حيث بلغت متوسطات قطر مستعمراتها 6.42 و 3.2 و 5.03 سم على التوالي ، في حين تميّزت العزلة A-7 في تكوين الهالة حول مستعمرتها في الوسط الغذائي الصلب NBRIY حيث بلغ متوسط قطر المستعمرة 4.27 سم، وهذا ينعكس بدوره على مؤشر الذوبان (SI) الذي تميّزت به العزلتان A-7 على الوسط NBRIY بمتوسط بلغ 1.36 وكذلك العزلة A-J1 بمتوسط بلغ 1.26 و 1.04 و 1.12 سم على الأوساط الغذائية

NBRIY	NBRIY	PVK	الوسط الغذائي العزلة الفطرية
			A-7 <i>A. fumigatus</i>
			A-D-1 <i>A. niger</i>

(الشكل -1) تكوّن المنطقة الشفافة (الهالة) حول مستعمرات العزلات الفطرية الفعالة

في اذابة الفسفور على الأوساط الغذائية الصلبة بعد 5 أيام من الحضانة في درجة حرارة 28±2 م.

بيّنت النتائج ان للعزلتين الفطريتين A-7 و A-D-1 القدرة على إذابة الفسفور وجعله جاهزاً للنبات أكثر من العزلات الفطرية الأخرى ، و على الرغم من ان هذه الطريقة هي أحد المعايير الأولية لعزل الفطريات المذيبة للفسفور والمحفزة لنمو النبات ، إلا ان العزلات الفطرية المختلفة تختلف في قدرتها على إذابة الفسفور في الأوساط الغذائية السائلة (5) ، و اشارت Whitelaw (27) الى أن تقنية ترسيب الفسفور في الوسط الغذائي الصلب مفيدة في عزل الأحياء الدقيقة واختبارها لكن لها حساسية محدودة ، إلا ان نتائجها تتفق مع دراسة اجراها Saber وآخرون (23) التي أظهرت قدرة عزلة من الفطر *Aspergillus niger* على تكوين منطقة شفافة حول مستعمراتها وعلى الوسط الغذائي NBRIP الصلب ، وهذا يؤشر مقدرتها على إذابة الفسفور. وقد ذكر Illmer وآخرون (13) ان الفطر *Aspergillus niger* عرف بافرازه المتميز للأحماض العضوية وكذلك تكوينه لهالة شفافة غير متغيرة اللون.

و بيّنت النتائج ان هناك اختلافات احصائية معنوية في فعالية العزلات الفطرية الست المتميزة الفعالة في إذابة عنصر الفسفور وفي الأوساط الغذائية السائلة المختلفة بعد فترات 5 و 10 و 15 يوماً من الحضان المتحرك (120 دورة / دقيقة) والساكن في درجة حرارة 28 م. حيث أظهرت النتائج (الجدول-2). وجود إختلافات احصائية معنوية بين متوسطات وزن الكتلة الحيوية الجاف للعزلات الفطرية الست الفعالة في ظروف كل من الحضان المتحرك لجميع فترات الحضان من 5 و 10 و 15 يوماً على التوالي ، حيث تميّزت كل من العزلات الفطرية A-D-1 بمتوسط وزن الكتلة الحيوية الجاف بلغ 0.138 و 0.165 و 0.223 غم

/ 100 مل ، يليها العزلة A-7 بمتوسط بلغ 0.113 و 0.159 و 0.177 غم/100 مل، ثم العزلة T-13 بمتوسط بلغ 0.103 و 0.162 و 0.118 غم /100 مل خلال ظروف الحضان المتحرك (120 دورة / دقيقة) لمدة 5 و 10 و 15 يوماً على التوالي .

أما تأثير الأوساط الغذائية السائلة المختلفة في وزن الكتلة الحيوية الجاف للعزلات الفطرية الست النامية فيها ، فقد أظهرت النتائج وجود اختلافات معنوية بين الأوساط الغذائية السائلة في ظروف الحضان المتحرك وخلال فترات الحضان المختلفة 5 و 10 و 15 يوماً ، فقد أظهرت النتائج (جدول - 2). حيث تميّز الوسط الغذائي السائل PVK بمتوسط وزن الكتلة الحيوية الجاف للعزلات الفطرية النامية فيه بلغ 0.114 و 0.134 و 0.147 غم / 100 مل ، ثم الوسط الغذائي السائل NBRIY بمتوسط بلغ 0.1 و 0.131 و 0.116 غم / 100 مل فالوسط الغذائي السائل NBRIP بمتوسط بلغ 0.084 و 0.117 و 0.126 غم / 100 مل في فترات الحضان المتحرك لمدة 5 و 10 و 15 يوماً على التوالي ، و يتضح من النتائج وجود تأثير معنوي للتداخل بين الأوساط الغذائية المختلفة وبين العزلات الفطرية الست الفعالة في وزن الكتلة الحيوية في ظروف الحضان المتحرك ، اذ تفوقت معاملة التداخل باستعمال العزلتين الفطرية A-12 و A-S-7 مع الوسط الغذائي PVK بعد 5 أيام من الحضان والعزلتين الفطرية T-13 و A-D-1 مع الوسط الغذائي NBRIY بعد 10 أيام من الحضان والعزلة الفطرية A-D-1 مع الوسط الغذائي PVK بعد 15 يوماً من الحضان على بقية التداخلات مقارنة مع بقية المعاملات .

أما في ظروف الحضان الساكن (الجدول-3) فقد أظهرت النتائج تميزت العزلات الفطرية A-D-1 بمتوسط وزن للكتلة الحيوية الجاف بلغ 0.091 و 0.143 و 0.241 غم /100مل يليها العزلة A-7 بمتوسط بلغ 0.062 و 0.129 و 0.144 غم /100مل ثم العزلة A-S-7 بمتوسط بلغ 0.053 و 0.109 و 0.069 غم / 100 مل خلال فترات الحضان الساكن 5 و 10 و 15 يوما على التوالي . وذكر Sagoe وآخرون (24) إن فعالية اذابة الفسفور يتحدد بقدرتها على افراز المواد الأيضية مثل الأحماض العضوية والتي من خلال مجاميعها الهيدروكسيلية والكاربوكسيلية تأكلب الأيونات المرتبطة بالفسفور والذي بالنتيجة يحول الفسفور الى الصيغة الذائبة .

في حين لم تظهر اية اختلافات معنوية بين الأوساط الغذائية السائلة المختلفة على متوسط وزن الكتلة الحيوية الجاف للعزلات الفطرية النامية فيها في ظروف الحضان الساكن (جدول - 3) . ولكن ظهر وجود تأثير معنوي للتداخل بين الأوساط الغذائية المختلفة وبين العزلات الفطرية الست الفعالة في وزن الكتلة الحيوية في ظروف الحضان الساكن ، اذ تفوقت معاملة التداخل باستعمال العزلة الفطرية A-D-1 مع الوسط الغذائي PVK بعد 5 أيام من الحضان والعزلة الفطرية A-D-1 مع الوسط الغذائي NBRIP بعد 10 و 15 يوماً من الحضان على بقية التداخلات مقارنة مع بقية المعاملات .

وفي هذا السياق أظهرت النتائج وجود اختلافات احصائية معنوية بين متوسطات دالة الحموضة (pH) لعزلات الفطريات الست الفعالة في ظروف الحضان المتحرك في جميع فترات الحضان 5 و 10 و 15 يوماً على التوالي . حيث

أظهرت النتائج (جدول - 4) تميز كل من العزلتين الفطرية A-D-1 و A-7 في خفض دالة الحموضة ، حيث أظهرت العزلة A-D-1 انخفاضاً في متوسطات دالة الحموضة بلغت 3.94 و 2.47 و 2.59 فضلاً عن العزلة A-7 حيث بلغت متوسطات دالة الحموضة 4.23 و 3.37 و 4.32 مقارنة بمعاملة المقارنة التي بلغت 6.10 و 6.11 و 6.10 خلال مدة الحضان المتحرك 5 و 10 و 15 يوماً على التوالي على درجة حرارة 28 م°. أما العزلات الفطرية الأخرى فكان انخفاض متوسطاتها لدالة الحموضة عن معاملة المقارنة متفاوتاً ، لكنها كانت جميعاً أقل من معاملة المقارنة حتى بعد فترات الحضان الممتدة لمدة 15 يوماً.

أما فيما يخص تأثير الأوساط الغذائية السائلة المختلفة في قدرة العزلات الفطرية الست الفعالة على خفض دالة الحموضة pH فقد أظهرت النتائج وجود اختلافات احصائية معنوية بين الأوساط الغذائية السائلة وفي ظروف الحضان المتحرك خلال فترات الحضان المختلفة 5 و 10 و 15 يوم على التوالي. حيث بينت النتائج (الجدول - 4) ان الوسط الغذائي السائل PVK في ظروف الحضان المتحرك (120 دورة/ دقيقة) خفض دالة الحموضة للعزلات الفطرية الست الفعالة بلغ 4.45 و 4.11 و 4.48 ثم الوسط الغذائي السائل NBRIP بـ 4.55 و 3.89 و 4.19 فالوسط NBRIP بـ 4.76 و 4.1 و 4.5 خلال فترات الحضان 5 و 10 و 15 يوماً على التوالي . و يتضح أيضاً وجود تأثير معنوي للتداخل بين الأوساط الغذائية المختلفة وبين العزلات الفطرية الست الفعالة في خفض دالة الحموضة pH في ظروف الحضان المتحرك ، اذ تفوقت معاملة التداخل باستعمال العزلة الفطرية A-D-1 مع

وبين العزلات الفطرية الست الفعالة في خفض دالة الحموضة pH في ظروف الحضان الساكن ، اذ تفوقت معاملة التداخل باستعمال العزلة الفطرية A-D-1 مع الوسط الغذائي NBRIP بعد 5 و 15 يوما من الحضان ومع الوسط الغذائي PVK بعد 10 أيام من الحضان على بقية التداخلات مقارنة مع بقية المعاملات (الجدول - 5).

الوسط الغذائي NBRIP بعد 5 أيام من الحضان ومع الوسط الغذائي PVK بعد 10 ايام ومع الوسط الغذائي NBRIP بعد 15 يوماً من الحضان على بقية التداخلات مقارنة مع بقية المعاملات .

و أظهرت النتائج وجود اختلافات احصائية معنوية بين متوسطات دالة الحموضة (pH) لعزلات الفطريات الست الفعالة في ظروف الحضان الساكن في جميع فترات الحضان 5 و 10 و 15 يوماً على التوالي . فقد بيّنت النتائج (جدول - 5) تميّز العزلتان الفطرية A-D-1 و A-7 في خفض دالة الحموضة pH خلال فترات الحضان عن معاملة المقارنة ، حيث بلغت متوسطات دالة الحموضة 3.77 و 2.39 و 2.25 للعزلة A-D-1 ، كما بلغت متوسطات العزلة A-7 4.08 و 3.83 و 3.52 مقارنة مع معاملة المقارنة التي بلغت 6.10 و 6.11 و 6.10 خلال فترات الحضان الساكن 5 و 10 و 15 يوماً على التوالي على درجة 28 م. أما العزلات الأخرى فكان انخفاض متوسطاتها لدالة الحموضة عن معاملة المقارنة متفاوتا ولكنه كان أقل من معاملة المقارنة حتى بعد فترات الحضان المستمرة حتى 15 يوماً.

أما فيما يخص تأثير الأوساط الغذائية السائلة المختلفة في قدرة العزلات الفطرية الست الفعالة على خفض دالة الحموضة pH في ظروف الحضان الساكن فقد ظهر الوسط الغذائي السائل PVK بخفض دالة الحموضة للعزلات الفطرية الست الفعالة بمتوسط بلغ 4.48 و 4.29 و 4.32 ثم الوسط الغذائي السائل NBRIP بمتوسط بلغ 4.59 و 3.87 و 3.99 فالوسط NBRIP بمتوسط بلغ 4.66 و 4.43 و 4.39 خلال فترات الحضان 5 و 10 و 15 يوماً على التوالي . و يتضح أيضاً وجود تأثير معنوي للتداخل بين الأوساط الغذائية المختلفة

(جدول 1-1) قابلية العزلات الفطرية الست المختبرة على اذابة عنصر الفسفور في الأوساط الغذائية الصلبة المختلفة بعد 5 أيام من الحضان في درجة حرارة 28±2°م

مؤشر الذوبان (SI)				قطر المستعمرة (سم) مع الهالة				قطر المستعمرة (سم) بدون الهالة				الصفة
المتوسط	NBRIY	NBRIP	PVK	المتوسط	NBRIY	NBRIP	PVK	المتوسط	NBRIY	NBRIP	PVK	الوسط الغذائي الصلب العزلة الفطرية
1.00	1.00	1.00	1.00	4.33	3.83	4.83	4.33	4.33	3.83	4.83	4.33	A- 5
1.12	1.00	1.36	1.00	4.33	4.77	4.27	3.97	3.95	4.77	3.13	3.97	A -7
1.00	1.00	1.00	1.00	5.22	4.58	6.17	4.93	5.22	4.58	6.17	4.93	A- S-7
1.00	1.00	1.00	1.00	5.80	5.5	6.25	5.67	5.80	5.50	6.25	5.67	A – 12
1.14	1.12	1.04	1.26	4.88	5.03	3.20	6.42	4.21	4.50	3.07	5.08	A- J-1

1.00	1.00	1.00	1.00	6.33	8.16	2.80	8.00	6.33	8.16	2.83	8.00	T- 13
	1.01	1.06	1.04		5.31	4.59	5.55		5.22	4.38	5.33	المتوسط

0.014 0.35 0.32 1% L.S.D بين العزلات

0.010 0.24 0.23 1% L.S.D بين الأوساط الغذائية

0.024 0.60 0.56 1% L.S.D للتداخل بين العزلات والأوساط الغذائية

(جدول 2) وزن الكتلة الحيوية الجاف للعزلات الفطرية الست الفعالة في الأوساط الغذائية السائلة المختلفة في ظروف الحضان المتحرك 120

دورة / دقيقة في درجة حرارة 28±2 °م

وزن الكتلة الحيوية الجاف (غم / 100 مل)												الحضان المتحرك
15				10				5				مدة الحضان (يوم)
المتوسط	NBRIY	NBRIP	PVK	المتوسط	NBRIY	NBRIP	PVK	المتوسط	NBRIY	NBRIP	PVK	الوسط الغذائي السائل العزلة الفطرية
0.087	0.091	0.090	0.082	0.087	0.081	0.094	0.086	0.044	0.024	0.065	0.043	A- 5
0.177	0.142	0.186	0.203	0.159	0.166	0.156	0.154	0.113	0.160	0.106	0.073	A -7
0.089	0.064	0.080	0.122	0.099	0.077	0.091	0.130	0.097	0.053	0.066	0.171	A- S-7
0.085	0.076	0.067	0.114	0.094	0.087	0.076	0.121	0.104	0.055	0.067	0.190	A – 12

0.223	0.211	0.204	0.253	0.165	0.182	0.153	0.161	0.138	0.154	0.115	0.146	A- J-1
0.118	0.112	0.131	0.111	0.162	0.196	0.135	0.154	0.103	0.156	0.087	0.065	T- 13
	0.116	0.126	0.147		0.131	0.117	0.134		0.100	0.084	0.114	المتوسط

0.017 0.022 0.004 L.S.D 1% بين العزلات

0.012 0.015 0.003 L.S.D 1% بين الأوساط الغذائية

0.030 0.038 0.008 L.S.D 1% للتداخل بين العزلات والأوساط الغذائية

(جدول 3- وزن الكتلة الحيوية الجاف للعزلات الفطرية الست الفعالة في الأوساط الغذائية السائلة في ظروف الحضان الساكن في درجة حرارة 28±2 م°

وزن الكتلة الحيوية الجاف (غم / 100 مل)												الحضان الساكن
15				10				5				مدة الحضان (يوم)
المتوسط	NBRIY	NBRIP	PVK	المتوسط	NBRIY	NBRIP	PVK	المتوسط	NBRIY	NBRIP	PVK	الوسط الغذائي السائل العزلة الفطرية
0.058	0.050	0.066	0.060	0.074	0.061	0.084	0.078	0.038	0.049	0.045	0.020	A- 5
0.114	0.102	0.110	0.130	0.129	0.146	0.118	0.124	0.062	0.084	0.053	0.050	A -7
0.069	0.075	0.081	0.053	0.109	0.097	0.147	0.083	0.053	0.053	0.044	0.064	A- S-7
0.040	0.061	0.030	0.030	0.060	0.084	0.042	0.054	0.032	0.040	0.027	0.028	A – 12

0.241	0.240	0.244	0.240	0.143	0.126	0.162	0.142	0.091	0.075	0.086	0.111	A- J-1
0.036	0.035	0.031	0.042	0.043	0.040	0.033	0.056	0.023	0.021	0.034	0.016	T- 13
	0.094	0.094	0.092		0.092	0.097	0.083		0.054	0.048	0.048	المتوسط

0.012 0.028 0.033 L.S.D 1% بين العزلات

0.008 0.019 0.023 L.S.D 1% بين الأوساط الغذائية

0.021 0.048 0.057 L.S.D 1% للتداخل بين العزلات والأوساط الغذائية

(جدول 4- التغير في دالة الحموضة pH للعزلات الفطرية الست الفعالة في الأوساط الغذائية السائلة في ظروف الحضان المتحرك 120 دورة / دقيقة في درجة حرارة 28±2 م°)

قيمة pH للوسط الغذائي												الحضان المتحرك
15				10				5				مدة الحضان (يوم)
المتوسط	NBRIY	NBRIP	PVK	المتوسط	NBRIY	NBRIP	PVK	المتوسط	NBRIY	NBRIP	PVK	الوسط الغذائي السائل العزلة الفطرية
4.68	4.30	5.03	4.72	4.17	3.81	4.83	3.89	4.31	4.31	4.71	3.91	A- 5
4.32	4.00	5.05	3.91	3.37	3.06	3.42	3.63	4.23	3.98	4.89	3.82	A -7
4.45	4.10	4.45	4.81	4.03	3.52	4.18	4.41	4.68	4.48	4.63	4.93	A- S-7
3.91	3.11	4.43	4.21	3.56	3.08	3.78	3.83	4.07	3.69	4.61	3.91	A – 12
2. 59	2.55	2.52	2.71	2.47	2.57	2.48	2.38	3.93	3.18	4.85	3.78	A- J-1
4.68	4.34	5.32	4.39	4.50	4.22	5.28	4.01	4.80	5.25	4.93	4.23	T- 13

6.10	6.96	4.75	6.61	6.11	6.96	4.74	6.62	6.10	6.96	4.74	6.61	المقارنة
	4.19	4.50	4.48		3.89	4.10	4.11		4.55	4.76	4.45	المتوسط

0.12 0.32 0.14 L.S.D 1% بين العزلات

0.19 0.21 0.09 L.S.D 1% بين الأوساط الغذائية

0.33 0.56 0.25 L.S.D 1% للتداخل بين العزلات والأوساط الغذائية

(جدول 5-) التغير في دالة الحموضة pH للعزلات الفطرية الست الفعالة في الأوساط الغذائية السائلة في ظروف الحضان الساكن في درجة حرارة

$28 \pm 2^\circ \text{C}$

قيمة pH للوسط الغذائي												الحضان الساكن
15				10				5				مدة الحضان (يوم)
المتوسط	NBRIY	NBRIP	PVK	المتوسط	NBRIY	NBRIP	PVK	المتوسط	NBRIY	NBRIP	PVK	الوسط الغذائي السائل العزلة الفطرية
4.37	4.43	4.33	4.35	4.13	4.29	3.97	4.15	4.49	4.15	5.04	4.28	A- 5
3.52	3.01	4.34	3.22	3.83	4.03	3.88	3.57	4.08	4.00	4.79	3.46	A -7
4.05	4.07	3.94	4.15	3.88	3.80	3.81	4.04	4.36	4.26	4.87	3.96	A- S-7
4.26	4.46	4.02	4.31	4.10	4.13	3.89	4.30	4.21	4.09	4.40	4.14	A – 12
2.25	2.51	2.11	2.13	2.39	2.59	2.41	2.18	3.37	3.63	3.16	3.33	A- J-1

5.08	5.33	4.44	5.48	4.93	5.20	4.41	5.20	5.41	5.51	5.13	5.61	T- 13
6.10	6.96	4.75	6.61	6.11	6.96	4.74	6.62	6.10	6.96	4.74	6.61	المقارنة
	4.39	3.99	4.32		4.43	3.87	4.29		4.66	4.59	4.48	المتوسط

0.33 0.41 0.23 L.S.D 1% بين العزلات

0.21 0.26 0.15 L.S.D 1% بين الأوساط الغذائية

0.57 0.71 0.40 L.S.D 1% للتداخل بين العزلات والأوساط الغذائية

citric ويساعد على خفض الكبير في دالة الحموضة وبترسيب عالٍ للفسفور مقارنة بالفطر *Penicillium*.

ان انتاج الأحماض العضوية من الأليات المهمة لاذابة عنصر الفسفور لكنها ليست الوحيدة. وقد ذكر Richa (22) ان أنواع من الفطر *Aspergillus* كانت من بين عزلات الفطريات التي عرفت بقابليتها على اذابة الفسفور. ذكر Venkateswarlu وآخرون (26) ان الأحياء الدقيقة ومنها الفطريات تذوب الصيغ غير الذائبة من عنصر الفسفور غير العضوي مثل ثلاثي الكالسيوم والحديد والألمنيوم وصخر الفوسفات الى صيغ ذائبة بوساطة اطلاق أنواع مختلفة من الأحماض العضوية مثل succinic و citric و malic و fumaric و glyoxalic فضلاً عن حامض gluconic.

المصادر

1. الراوي ، خاشع محمود و عبد العزيز محمد خلف الله .1980. تصميم وتحليل التجارب الزراعية ، مؤسسة دار الكتب للطباعة والنشر ، جامعة الموصل ، وزارة التعليم العالي والبحث العلمي . 488 صفحة.
2. الطائي ، أزهر حميد .2014. تأثير إفرازات بعض انواع الفطر *Aspegillus spp.* والفطر *Trichoderma hamatum* في نمو نبات الخيار *Cucumis sativus* المزروع في أوساط زرعية بديلة. اطروحة دكتوراه. كلية الزراعة - جامعة الكوفة. العراق.

3. Akintokun, A.K., Akande, G.A., Akintokun, P.O., Popoola, T.O.S.

ويتضح من النتائج تباين مقدرة العزلات الفطرية في خفض درجة الحموضة (pH) في دراسات الأوساط الغذائية السائلة ، إلا انها جميعها تفوقت معنوياً على معاملة المقارنة ، حيث تعد عملية انخفاض درجة حموضة في الوسط الغذائي السائل من اهم الأليات لذوبان عنصر الفسفور . وذكر Venkateswarlu وآخرون (26) ان انخفاض درجة حموضة (pH) الوسط الغذائي السائل الناتج عن اذابة فوسفات الكالسيوم انما ناتج عن مدى مختلف من الأحياء الدقيقة في التربة . ان التباين الذي أظهرته بعض العزلات ربما يعود الى طبيعة كل عزلة وقابليتها على مسك عنصر الفسفور P في كتلتها الحيوية الفطرية Biomass وهذا ماأكده Altomare وآخرون (6) إذ وجد ان زيادة تركيز الكالسيوم Ca في الوسط الغذائي يرافقه انخفاض في تركيز عنصر الفسفور P فيه ، ويمكن أن يُعَلَّل ذلك بان الكتلة الحيوية للفطر عملت على سحب عنصر الفسفور من الوسط الغذائي للمساهمة في بناء كتلتها الحيوية حيث يعد الفسفور من العناصر الحيوية المهمة لمختلف الكائنات الحية ومنها الفطريات

وذكر Harman (12) أن اختلاف فعالية العزلات الفطرية يعود الى اختلاف افرازاتها الأيضية والتي تكون السبب لهذا الفعل . ذكر Pradhan و Sukla (20) أن ذوبان الفسفور يعتمد على نوع المركب و حجم الدقائق فضلاً عن كمية الأحماض العضوية المفروزة بوساطة الأحياء الدقيقة ، وأوضح Barroso و Nahas (7) ان الذوبان الحيوي يعتمد على انتاج الحامض ، وأشار Rashid وآخرون (21) و Pradhan و Sukla (20) الى ان الفطر *A. niger* يتميز بانتاج كمية كبيرة من الحوامض العضوية مثل oxalic و

- phosphates. Appl. Soil Ecol., 29: 73-83.
8. Barroso, C.B., Pereira, G.T. and Nahas, E. .2006. Solubilization of CAHPO_4 and ALPO_4 by *Aspergillus niger* in culture media with different carbon and nitrogen sources. Brazillian Journal of Microbiology, 37: 434-438.
9. Chuang, C.C., Y.L. Kuo, C.C. Chao and Chao, W.L.2007. Solubilization of inorganic phosphates and plant growth promotion by *Aspergillus niger*. Biol. Fert. Soils, 43: 575-584.
10. Cunningham, J. E., and C. Kuiack, .1992. Production of citric and oxalic acids and solubilization of calcium phosphate by *Penicillium bilaii*. Appl. Environ. Microbiol., 58: 1451-1458.
11. Edi-Premono, M., A.M. Moawad and Vleck, P.L.G..1996. Effect of phosphate solubilizing *Pseudomonas putida* on the growth of maize and its survival in the rhizosphere. Indonesian J. Crop Sci., 11: 13-23.
12. Harman, G. E. .2000. Myths and dogmas of biocontrol. Changes and Babalola, A.O. .2007. Solubilization on insoluble phosphate by organic acid-producing fungi isolated from Nigerian soil. International Journal of Soil Science, 2: 301-307.
4. Alan, E. Richardson .2007. Making Microorganisms Mobilize Soil Phosphorus First International Meeting on Microbial Phosphate Solubilization Developments in Plant and Soil Sciences, 102: 85-90.
5. Alikhani, H.A , Saleh-Rastin, N. and Autoun, H. .2006. Phosphate solubilization activity of rhizobia native to Iranian soils. Plant and Soil , 287:35-41
6. Altomare, C.; Norvell, W. A.; Bjorkman, T. and Harman, G. E..1999. Solubilization of phosphates and micronutrients by the plant growth promoting and biocontrol *Tichoderma harzianum* Rifai strain 1295-22. Appl. Environ and Microbiol, 65 (7): 2926-2933.
7. Barroso, C.B. and Nahas, E.. 2005. The status of soil phosphate fractions and the ability of fungi to dissolve hardly soluble

17. Nautiyal, C.S. .1999. An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms. FEMS Microbiol. Lett. 170: 65-270.
18. Nenwani, V. , Doshi, P. Saha, T. and Rajkumar, S. .2010. Isolation and characterization of a fungal isolate for phosphate solubilization and plant growth promoting activity. Journal of Yeast and Fungal Research, 1(1) . 9-14
19. Pikovaskya, R.I., .1948 . Mobilization of phosphorus in soil in connection with vital activity of some microbial species. Mikrobiologiya, 17: 362-370.
20. Pradhan, N. and L.B. Sukla, .2005. Solubilization of inorganic phosphates by fungi isolated from agriculture soil. Afr. J. Biotechnol.. 5: 850-854.
21. Rashid, M ., Sarnina, K., Najma, A., Sadia, A. and Farooq, L..2004. Organic acids production and phosphate solubilization by phosphate solubilizing microorganisms in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22. Plant Dis., 84:377-393.
13. Illmer, P., Barbato, A. and Schinner, F. .1995. Solubilization of hardly-soluble AIPO 4 with P-solubilizing microorganisms. Soil Biology and Biochemistry, 27:265-270.
14. Mehta, S. and Nautiyal, C.S. .2001. An efficient method for qualitative screening of phosphate solubilizing bacteria. Current Microbiology, 43: 51-56.
15. Mittal, V., O. Singh, H. Nayyar, J. Kaur and Tewari, R. .2008..Stimulatory effect of phosphate-solubilizing fungal strains (*Aspergillus awamori* and *Penicillium citrinum*) on the yield of chickpea (*Cicer arietinum* L. cv. GPF2). Soil Biology and Biochemistry, 40: 718-727.
16. Narsian, V. and Patel, H.H.2000. *Aspergillus aculeatus* as a rock phosphate solubilizers. Soil Biology and Biochemistry, 32 :559-565.

- wastes and effect of the resulting products on plant growth and P uptake. In: E. Velazquez, C Rodríguez-Barrueco (eds). First International Meeting on Microbial Phosphate Solubilization. Series: Developments in Plant and Soil Sciences. Springer, Dordrecht, The Netherlands, pp: 77-84.
26. Venkateswarlu, B., Balloli, S.S. and Ramakrishna, Y.S., .2007. Organic farming in rainfall Agriculture. Central research institute for dry land agriculture, Hyderabad, India, .p:88.
 27. Whitelaw, M. A. .2000. Growth promotion of plants inoculated with phosphate solubilizing fungi. Advance of Agronomy, 69:99-151.
 - (PSM) under *in vitro* conditions. Pak. J. Biolog. Sci . 7: 187-196.
 22. Richa, G..2003. Rock Phosphate and Phosphate Solubilizing Microbes as a source of Nutrients for Crops. Dissertation submitted to department of biotechnology and environment sciences. Thapar institute of engineering and technology- Italy .
 23. Saber, W.I.A., Ghanem, K.M. and El-Hersh, M.S..2009. Rock Phosphate Solubilization by Two Isolates of *Aspergillus niger* and *Penicillium* sp. and their Promotion to Mung Bean Plants. Res. J. Micrabial, 4 (7): 235-250.
 24. Sagoe, C. I., Ando, T., Kouno, K. and Nagaoka, T..1998. Relative importance of protons and solution calcium concentration in phosphate rock dissolution by organic acids. Soil Sci. Plant Nutr., 44:617-625.
 25. Vassilev, N., A. Medina, R. Azcon and Vasslev, M.2006. Microbial solubilization of rock phosphate media containing agro-industrial