Saudi Journal of Biological Sciences 13 (1) 32-41: 2006
ISSN 1319-562X
The Official Journal of the Saudi Biological Society
htt:www.saudibiosoc.com

تأثير مستخلص التربة على نمو بعض الفطريات و تأثير رواشحها على إنبات بذور نبات البامية وإصفرار أوراقها

رقية محمد قشقري و نوال عيسى الحازمي
كلية التربية للبنات بجدة وكلية التربية للبنات بالقنفذه قسم النبات والأحياء الدقيقة
ص.ب 45057 جدة 21512 المملكة العربية السعودية
dr_rogaia@yahoo.com

الملخص: تم دراسة إضافة التربة غير المزروعة أو التربة المزروعة أخذت من حول جذور نبات بري ينمو في الشواطىء الملحية وهو نبات المليح (*Halopepilis perfoliata*) بمحافظة القنفذه بنسبة 10٪ إلى المنبت الغذائي تشابكس دوكس لتقدير النمو وبعض الأنشطة الأيضية لبعض الفطريات المعزولة من هذه التربة وهي: *Aspergillus terreus, Aspergillus flavus, Curvularia ovoidea* and *Fusarium oxysporum* حيث وجد التأثير الأيجابي لمستخلص التربة المزروعة الذي أدى الي زيادة كل من النمو الفطري و كمية الأحماض الأمينية المقدرة داخل خلايا الفطريات وكمية الببتيدات المقدرة داخل وخارج الخلية. بينما أدى اضافة مستخلص التربة غير المزروعة إلي زيادة كل من كمية الأحماض الأمينية المقدرة خارج الخلية والمواد عديدة التسكر المفرزة بواسطة بعض الفطريات، مما يعني أن كل من مستخلصي التربة المزروعة أو غير المزروعة يعملان على تنشيط بعض الأنشطة الأيضية لفطريات التربة.

كما تم دراسة أثر راشح العزلات الفطرية السابقة على انتاج مواد بيولوجية نشطة مؤثرة على إنبات بذور البامية وبعض الأنشطة الفسيولوجية (مثل التمثيل الضوئي). وجد أن بعض رواشح هذه الأنواع الفطرية عند إضافة مستخلصات التربة سواء المزروعة أو غير المزروعة لاتؤثر على نسبة الإنبات وتقلل نسبة إصفرار الأوراق الفلقية إلى حد ما، ولكن زيادة فترة النقع في راشح الفطريات المنماه على مستخلص التربة المزروعة وغير المزروعة أدى إلى انخفاض النسبة المئوية للإنبات وزيادة نسبة اصفرار الأوراق الفلقية بزيادة فترة النقع إلى 48 ساعة.

الكلمات المفتاحية: الفطريات، البامية ، *C. ovoidea, F. oxysporum, A. flavus, A. terreus*

المقدمة

تختلف التربة حسب صفاتها الطبيعية وتوفر الماء والمواد الغذائية والعناصر المعدنية بها، ويزداد هذا الاختلاف في منطقة الجذورحسب نوع النبات النامي بها ونشاط الكائنات الحية الدقيقة، توجد الفطريات ساكنات التربة حول جذور النباتات في حالة ميسليوم نشط وتشجع النباتات انبات الجراثيم الفطرية ونمو الميسليوم الخضري، بل إن جراثيم بعض الفطريات لا تنبت إلا في وجود نباتات معينة، وقد يؤدي تأثير الجذور إلى تغير في الأجناس السائدة حول الجذور مقارنة بالتربة البعيدة (محمود وآخرون،1997).

تم عزل فطريات التربة والأكثر تكرارا حول جذور النباتات السليمة والمصابة في أبحاث(Cooley-Smith and Cook, 1971; Hung, 1978) وغيرها وكان معظمها أجناس الفطريات الآتية *Aspergillus, Penicillium, Mucor, Trichoderma, Alternaria, Fusarium* التي كلن لها السيادة في معظم أنواع التربة.

عادة ما يحدث للنبات فقد مستمر للإفرازات وخاصة النواتج الأيضية المفرزة من الجذور كالأحماض الأمينية والببتيدات و منظمات النمو النباتية وغيرها والتي يتم استهلاكها بواسطة الكائنات الحية الدقيقة المتواجدة في التربة (Whipps and Lynch,1989; Ibraheem *et al.*,1987; Umechuruba and Nwachukwu,1997; Chung *et al.*,2005).

البامية (*Abelmoschus esculentus*) نبات عشبي يتبع العائلة الخبازية *Malvaceae* وهو غني بالبروتينات ويحتوي على فيتامينات A,B,C وغني بعناصر الكالسيوم والفوسفور.(العودات و الشيخ، 1984م).

تفرز الفطريات في وسط النمو (الراشح) بعض المواد الأيضية المفرزة المؤثرة لنمو غيرها.(Osman,2004) وقد درس تأثير رواشح عزلات فطر *Aspergillus* المعزولة من نبات العنب على نمو نبات البامية ووجدت انخفاض في نمو البادرات وإصفرار الاوراق الفلقية في كل العزلات (الحميضي، 2003)، أما El-Shenawy *et al.*(1987) فقد درس تأثير عزلات فطر *Fusarium* ورواشحه على معدل التنفس والتحاليل الكيميائية لنبات القرع، وأوضح أن عزلات فطر *F. oxysporum* أكثر قدرة على التثبيط من عزلات فطر *F. solani*.

تم إضافة مستخلص التربة إلى البيئة الغذائية لتنمية عديد من الأحياء الدقيقة كالبكتريا والطحالب وغيرها من الكائنات الحية الدقيقة، ففي ميكروب *Bacillus thuringiensis* إزداد نمو الميكروب والجراثيم الميكروبية وانتاج السموم مقارنة بالبيئة الصناعية وأرجع ذلك إلى المكونات النشطة والعناصر المعدنية الدقيقة في مستخلص التربة .(Dregval *et al.*, 1999)

تختلف الصفات الطبيعية للتربة التي تعتبر غنية بالمواد الغذائية والعناصر المعدنية ونشاط الكائنات الحية الدقيقة، لذا هدفت هذه الدراسة إلى توضيح دور التربة غير المزروعة أو المزروعة ومقارنتها بالبيئة الصناعية على النمو و بعض الانشطة الايضية للفطريات المختبرة، وذلك بتنمية أربع أنواع فطرية معزولة من الدراسة في بيئة تشابكس- دوكس مضاف اليها مستخلص التربة سواء كانت تربة مزروعة من حول جذور نبات المليح (*Halopepilis perfoliata*) أو تربة غير مزروعة وملاحظة تأثيرها على الانشطة الأيضية للفطريات المختبرة، ثم مقارنة تأثير رواشح هذه الفطريات على نمو بادرات أحد النباتات الاقتصادية (البامية) ومدى تأثيرها على إصفرار الأوراق الفلقية بها.

المواد والطرق البحثية

1 - جمع عينتي التربة Collection of soil samples

تم جمع عينتي التربة من منتزه القنع بمحافظة القنفذة أحدهما مزروعة من حول نبات المليح (*Halopepilis perfoliata*) والأخرى غير المزروعة تبعا لطريقة (Johnson *et al.*, 1959).وقد تم الجمع نهاية شهر أكتوبر 2002م.

2- تحديد نوع التربة Determination of soil type

تم تحديد نوعي التربة بطريقة (Piper, 1955) في كلية علوم الأرض بجامعة الملك عبد العزيز بجدة بالمملكة العربية السعودية.

3- التحاليل الكيميائية لعينات التربة Chemical analysis of the soil samples

• **تقدير محتوى المادة العضوية Organic matter content**

تم تقدير المادة العضوية تبعا لطريقة Walkey and Black (1934) حيث هضمت التربة بواسطة حمض الكروميك (لأكسدة المادة العضوية إلى ثاني أكسيد الكربون) وتم معايرة المتبقى من حمض الكروميك بواسطة كبريتات الحديدوز بواسطة كاشف الداي فينيل أمين، ثم تم حساب المادة العضوية باستخدام المعادلة الآتية:

المادة العضوية ٪ = 10 - [1- (قيمه المعايره للتربه / قيمه للمعايره للبلاتك)] X 1.3

• **تقدير الأملاح الذائبة الكلية Total soluble salts**

تم تقدير الأملاح الذائبة لمستخلص التربة في الماء المقطر بنسبة 1 : 5 (وزن : حجم)، وبعد الرج رشح المستخلص، وتم تقدير الأملاح الذائبة باستخدام جهاز (EC-meter,Matter Toledo- AG).

• **تقدير محتوى التربة المائي Determination of water content**

تم تقدير محتوي التربة المائي في 100جم من التربة ثم تم تجفيفها عند 80-100 ^{0}م لمدة 24 ساعة ووزنت مره أخرى وحسب النقص في المحتوى المائي.

• **تعيين درجة أيون الهيدروجين Determination of pH**

تم تعيين ال pH في التربة بواسطة جهاز (pH meter Model HI 98107) في مستخلص التربة المخففة بالماء بنسبة 1 : 5 بطريقة (Jackson 1958).

• **تقدير بعض العناصر بالتربة Estimation of some soil elements**

تم تقدير بعض العناصر في التربة وهي: Ca^{+2} Na^{+}, K^{+}, Mg^{+2}, Cl^{-}, CO_3^{-}, HCO_3^{-}, SO_4^{-} في كلية علوم الأرض بجامعة الملك عبدالعزيز بجدة، باستخدام جهاز الإمتصاص الذري للعناصر الموجبة (Atomic absorption flamemssion spectrometer Perkin Elemer, Model 5000) ، وباستخدام جهازالتحليل الحجمي (Volumetric analysis) للعناصر السالبة.

4- مستخلص التربة Soil extracts

تم تحضير مستخلص التربة بأخذ 10 جم من التربة وخلطه في 100 مل من الماء المقطر وتعقيمها في الاوتوكلاف ثم أضيف المستخلص إلى المنبت الغذائي بنسبة 10٪ .

5- المنبت الغذائي Culture medium

استخدمت منبت جلوكوز تشابكس دوكس (Glucose- Cazpek's-Dox) المعدلة بواسطة (Naguib, 1968) وتتركب من (جم / لتر) جلوكوز 20، نترات البوتاسيوم 4، فوسفات البوتاسيوم ثنائية الهيدروجين2،كبريتات مغنسيوم1، كلوريد بوتاسيوم0.5 ، كبريتات حديدوز0.01 ، ماء مقطرلتر. وأضيف الروزبنجال بنسبة 1/ 15000 لكل لتر كمانع لنمو البكتريا (Smith and Dawson, 1944)

6- عزل وتعريف فطريات التربة Isolation and identification of soil fungi

تم عزل فطريات التربة باستخدام طريقة التخفيفات (Johnson *et al.*, 1959) بإستخدام 6 مكررات على منبت جلوكوز تشابكس دوكس (Glucose-Cazpek's-Doxe) ثم حضنت الأطباق عند 28 ± 2 ^{0}م لمدة 8 أيام، ثم أحصيت المستعمرات النامية ونقلت تمهيدا لتعريفها تبعا (Gilman,1957;Raper and Thom, 1949; Raper and Fennel, 1965; Ellis ,1971, 1976) ثم تم تأكيد التعريف في جامعة أسيوط بجمهورية مصر العربية، واختيرت للدراسة الفطريات الأكثر انتشارا في نوعي التربة وهي *C. ovoidea, F. oxysporum, A. flavus, A. terreus*

7- زراعة الفطريات في البيئة الغذائية Cultivation of Fungi in medium

تم اضافة مستخلص التربة المعقم بعد أن استقرت حبيبات التربة إلى المنبت الغذائي جلوكوز تشابكس دوكس (Glucose -Cazpek's-Dox)، ثم لقحت ب 1 مل من المعلق الجرثومي للفطريات المختبرة ثم حضنت عند (28

± 2 °م) لمدة ثمانية أيام، و تم حصاد الفطر بالترشيح، وتعيين الوزن الجاف للخلايا، أما الراشح فقد حفظ في درجة حرارة 10°م حتى الاستعمال.

8- تقدير الوزن الجاف Determination of growth or biomass

تم حصاد الفطر وتعيين النمو الفطري بطريق الوزن الجاف كما وصفها (Ko & Yu ,1970) حيث أخذ الميسليوم بعد ترشيحه مع الجراثيم (الغبيرات) ووضع في كأس زجاجي نظيف معلوم الوزن وجـففت في الفرن عند درجة حرارة 85°م حتى ثبـت وزنها.

9- الاختبارات البيولوجية على راشح مزارع بعض الفطريات المستخدمة في الدراسة باستخدام بذور البامية:

نقعت بذور البامية في راشح العزلات الفطرية السابقة كل على حدة وذلك لثلاث فترات مختلفة وهي : 6، 24، 48 ساعة، وللمقارنة تم نقع البذورفي بيئة غير ملقحة. ثم سجلت بعد ذلك النسبة المئوية لإنبات البذور، كما سجلت درجة إصفرار الأوراق الفلقية للبادرات بعد تسعة أيام، و تم حساب النسبة المئوية للإصفرار كالآتي:

$$\text{النسبة المئوية للإصفرار} = \frac{\text{س} \times \text{ص}}{\text{ع} \times \text{ك}} \times 100$$ حيث:

س = عدد النباتات في كل درجة إصفرار رقمية. ص= رقم درجة الإصفرار. ك = العدد الكلي للنباتات. ع = أعلى درجة رقمية للإصفرار (Khalil, 1978).

10- التحاليل الكيميائية Chemical analyses

أ- تقدير المواد عديدة التسكر Determination of polysaccharides

تم تقدير افراز المواد عديدة التسكر في الراشح بعد اجراء عملية تحول (Inversion) إلى جلوكوز طبقا (William,1975) وتم تقدير الجلوكوز باستخدام المحلول الكاشف (Kits) من شركة التعامل للكواشف الطبية بجدة بطريقة (Teuscher &. Richterich, 1971)

ب- تقديرالبروتينات الكلية Determination of total protein

أتبعت طريقة (Gornal *et al.*, 1949) بطحن الخلايا الجافة في كلوريد الصوديوم عند pH 10 وتم التقدير بطريقة بيريت (Biuret method) باستخدام المحلول الكاشف (Kits) من شركة التعامل للكواشف الطبية بجدة.

جـ- تقدير الببتيدات Determination of peptides

تم التقدير في الخلايا والراشح باستخدام كاشف الفولن فينول بطريقة (Lowery *et al.*,1951)

د- تقدير الأحماض الأمينية Determination of amino acids

تم التقدير في الخلايا والراشح باستخدام طريقة (Russel, 1944).

11- التحليل الإحصائي Statistical analysis

تم تحليل النتائج إحصائيا باستخدام T.test لإظهار مدى معنوية الفروق المتحصل عليها بين المعاملات والعينة الضابطة عند مستوى معنوية 0.05 و 0.001.

النتائج و المناقشة

أشارت النتائج المتحصل عليها في جدول (1) أن نوعي التربة رملية غرينية، فقيرة في المادة العضوية والأملاح الذائبة الكلية والرطوبة النسبية ومتعادلة الرقم الهيدروجيني (7.1) حيث جمعت كلاهما من منتزه القنع القريب من البحر بمدينة القنفذه، رغم تقارب بقية العناصر السالبة والموجبة (الانيونات والكاتيونات) فقد كانت كمية الكلوريدات والكبريتات والصوديوم والبوتاسيوم أعلى في التربة المزروعة عن غير المزروعة وقد يعود ذلك إلى نبات المليح وهو من النباتات البرية المنتشرة في المستنقعات الملحية القريبة من البحر والذي

جدول 1. تحليل عينتي التربة المزروعة وغير المزروعة والتي جمعت من متزه القنع بمحافظة القنفذة بالمملكة العربية السعودية.

نوع التربة	غير المزروعة	المزروعة
نوع النبات	--------	المليح
قوام التربة	رملية غرينية	رملية غرينية
O.M%	0.85	0.33
T.S.S. %	0.91	1.04
W.C%	17.48	11.61
pH	7.1	7.1
HCO_3^- (ppm)	475.4	313.8
Cl^- (ppm)	6585.5	9786.5
$SO4^{2+}$ (ppm)	1858.4	3117.9
$Mg4^{+2}$ (ppm)	675.0	684.5
Na^+ (ppm)	2947.5	4815.5
Ca^{+2} (ppm)	254.2	372.0
K^+ (ppm)	192.6	332.8

جدول 2 . تأثير مستخلص التربة المزروعة أو غير المزروعة المضافة الي بيئة تشابكس دوكس على متوسطات (3 مكررات / معاملة) الوزن الجاف وكمية البروتين المكونة في اخلايا وافراز المواد عديدة السكريات في الفطريات المختبرة النامية لمدة 8 أيام عند 28 °م (متوسط المكررات± الخطأ القياسي).

الفطر	الوزن الجاف (مجم)					البروتين المكون في خلايا الفطريات (مجم)			المواد عديدة التسكر المفرزة خارج الخلايا (مجم)				
	بيئة تشابكس دوكس (العينة الضابطة)	بيئة تشابكس دوكس+ مستخلص تربة غير مزروعة	نسبة الزيادة ٪	بيئة تشابكس دوكس + مستخلص تربة مزروعة	نسبة الزيادة ٪	بيئة تشابكس دوكس (العينة الضابطة)	بيئة تشابكس دوكس + مستخلص تربة مزروعة	بيئة تشابكس دوكس (العينة الضابطة)	بيئة تشابكس دوكس (العينة الضابطة)	بيئة تشابكس دوكس + مستخلص تربة مزروعة غير	نسبة الزيادة ٪	بيئة تشابكس دوكس + مستخلص تربة مزروعة	نسبة الزيادة ٪
A. flavus	106 ±3.73	150** ±8.5	41.5	126** ±6.01	18.8	273.05 ±0.92	152.01** ±0.08	168.89** ±0.28	66.32 ±3.08	185.55 ±6.47	179.8	119.55 ±2.78	80.3
A. terreus	126 ±3.73	266 ±7.45	111.1	300 ±9.13	138.1	278.68 ±0.21	211.12 ±0.22	84.45 ±0.08	115.36 ±3.82	157.61* ±1.07	36.6	164.78** ±1.38	42.8
C. ovoidea	144 ±7.45	270 ±7.27	87.5	206** ±6.87	43.05	140.75 ±0.15	36.59** ±0.11	129.45 ±0.22	79.42 ±1.22	222.65** ±2.14	180.3	111.81* ±1.14	128.9
F. oxysporum	70 ±5.77	130 ±4.33	85.7	170 ±7.45	142.8	182.97 ±0.38	149.19* ±0.29	121.04* ±0.23	71.09 ±1.01	101.36* ±2.21	42.9	151.09* ±7.39	112.5

** : معنوية > 0.05 * : معنوية > 0.001 حسبت الزيادة كنسبة منوية مقارنة بالعينة الضابطة لكل فطر.

جدول 3. تأثير مستخلص التربة غير المزروعة أو المزروعة المضافة الي بيئة تشابكس دوكس على متوسطات (3 مكررات / معاملة) كمية الأحماض الأمينية المقدرة داخل وخارج خلايا الفطريات المختبرة النامية لمدة 8 أيام عند 28 °م (متوسط المكررات± الخطأ القياسي).

الفطر	كمية الأحماض الأمينية المقدرة داخل خلايا الفطريات (مجم)					كمية الأحماض الأمينية المقدرة داخل خلايا الفطريات (مجم)				
	بيئة تشابكس دوكس (العينة الضابطة)	بيئة تشابكس دوكس+ مستخلص تربة غير المزروعة	نسبة الزيادة ٪	بيئة تشابكس دوكس+ مستخلص تربة مزروعة	نسبة الزيادة ٪	بيئة تشابكس دوكس (العينة الضابطة)	بيئة تشابكس دوكس+ مستخلص تربة غير المزروعة	نسبة الزيادة ٪	بيئة تشابكس دوكس+ مستخلص تربة مزروعة	نسبة الزيادة ٪
A. flavus	748 ±0.03	9.07* ±3.73	21.2	7.85** ±0.04	4.9	4.77 ±0.08	6.21** ±0.07	30.1	5.69 ±0.05	19.28
A. terreus	11.15 ±0.35	14.80 ±0.13	33.63	17.36** ±0.28	25.7	3.87 ±0.05	4.54** ±0.12	27.3	5.46** ±0.05	41.08
C. ovoidea	5.08 ±0.19	7.77** ±0.22	52.9	5.95* ±0.11	17.1	3.46 ±0.04	3.83** ±0.03	10.6	3.62* ±0.02	4.62
F. oxysporum	12.27 ±0.34	13.03* ±0.48	6.19	15.94 ±0.88	29.9	4.78 ±0.02	5.36** ±0.06	12.1	5.96** ±0.06	24.68

** : معنوية > 0.05 * : معنوية > 0.001 حسبت الزيادة كنسبة منوية مقارنة بالعينة الضابطة لكل فطر.

يتحمل الظروف البيئية القاسية كالجفاف ولاتعيش معه نباتات أخرى في هذا الموطن وهو من النباتات العصيرية المعمرة ذات الفلقتين (الجدعاني،2003)، وقد يكون للكائنات الدقيقة دور فيمكن أن تساعد في عملية تحويل بعض العناصر غير القابلة للامتصاص إلى عناصر ذائبة متاحة للامتصاص, **Line *et al.*** (1983)

كما توضح النتائج في جدول (2) التأثير الإيجابي عند اضافة مستخلصات التربة فقد زاد النمو الفطري عند اضافة مستخلص التربة المزروعة الي بيئة تشابكس دوكس بنسبة 142.8٪ و 138.1٪ في فطري ***F. oxysporum*** و ***A. terreus*** بالترتيب مقارنة بالعينة الضابطة في كل منهما، بينما زاد النمو الفطري عند اضافة مستخلص التربة غيرالمزروعة الي بيئة تشابكس بنسبة111٪ و 85.7٪ مقارنة بالعينة الضابطة في كل منهما في نفس الفطرين، وهذا يبين أن مستخلص التربة يمكن أن يحتوي على مواد تحدث تأثيراً مشجعاً لنمو الفطريات فتساعد على نمو الأغزال الفطرية وزيادة الكتلة الحيوية، فالنمو هو أكثر الإختبارات حساسية لتأثير أي مادة على الكائن الحي لأنه يتضمن كثيراً من العمليات الأيضية تنعكس في صورة زيادة أو نقص للكتلة الحيوية، وهو ماأوضحه **Harris *et al*.** (2003) من أن تركيب التربة هو العامل الفعال لإنتشار الفطريات فيها، وهذا التأثير المشجع ليس متساويا كما ذكر **Al-Garni** (2000) من وجود تأثيرات ايجابية أحيانا وسلبية أحيانا أخرى أو عدم وجود تأثير لنبات ***Calotropis procera*** النامي في المنطقة الغربية بالمملكة العربية السعودية على المجتمع الميكروبي في التربة.

وعلى الجانب الآخر كان التأثير سلبيا أي أن هناك تثبيط في كمية البروتين المقدرة داخل خلايا الفطريات و بينت النتائج المسجلة في جدول (2) انخفاض البروتين في كل العينات سواء عند إضافة مستخلص التربة المزروعة أو غير المزروعة مما يعني أن بناء البروتين حساسا جدا لأي مؤثرات في وسط النمو، وربما كان هناك تنافس على مصادر التغذية لوجود أكثر من مصدر من البيئة الصناعية ومستخلص التربة وبالتالي اضطراب في عملية البناء الحيوي فكان هناك اتجاه لتكوين المواد غير النيتروجينية أي غير البروتينية وبناء الخلايا والإ تجاه الآخر لتكوين البروتين.

أما المواد عديدة التسكر المفرزة بواسطة الفطريات فهي متفاوتة بالفطريات وقد سجلت أعلى نسبة 180.3٪ و 128.9٪ عند اضافة مستخلص التربة غير المزروعة أو التربة المزروعة بالترتيب مقارنة بالعينة الضابطة في حالة فطر ***C. ovoidea*** وكانت معنوية. أما أدنى نسبة فهي 36.6٪ و 42.8٪ في نوعي التربة غير المزروعة والمزروعة بالترتيب في فطر ***A. terreus*** وهذا يعني أن االخلايا الفطرية اتجهت إلى الزيادة في بناء الخلايا وبالتالي نقصت المواد عديدة التسكر في الراشح كما في فطر ***A. terreus***، وعندما قل الوزن الجاف وبناء الخلايا ازداد افرازالمواد عديدة التسكر في الراشح كما في ***C. ovoidea***.

توضح النتائج في جدول (3) أن أعلى كمية أحماض أمينية والمقدرة داخل خلايا الفطريات كانت في بيئة تشابكس دوكس+مستخلص التربة المزروعة أو بيئة تشابكس دوكس+مستخلص التربة غير المزروعة في فطر ***A.terreus*** حيث سجلت بنسبة 33.63 ٪ و 55.7٪ على التوالي مقارنة بالعينة الضابطة وبمعنوية عالية بينما كانت أدنى كمية أحماض أمينية في العينة الضابطة بنسبة 6.19٪ مقارنة بالعينة الضابطة في حالة فطر ***F. oxysporum*** عند إضافة مستخلص التربة غير المزروعة، و سجل فطر ***A. flavus*** نسبة 4.9٪ عند إضافة مستخلص التربة المزروعة. أماالأحماض الأمينية المقدرة خارج الخلية فقد سجلت أعلى نسبة في فطر ***A. flavus***30.18٪ عند إضافة مستخلص التربة غير المزروعة و 41.08 ٪ في فطر ***A. terreus*** عند إضافة مستخلص التربة المزروعة، أما أدنى كمية فقد سجلت في فطر ***C. ovoidea*** في نوعي التربة غير المزروعة والتربة المزروعة بنسبة 10.69٪ و 4.62 ٪ على التوالي . وربما تبين هذه النتيجة تحرر الأحماض الأمينية في الوسط الغذائي في بعض الفطريات وذلك لأن الأحماض الأمينية لا يستفاد منها إلا إذا وجدت جميعها في وقت واحد أو تفقد وتخرج خارج الخلايا.

كما أشارت النتائج في جدول (4) عند تقدير الببتيدات المتكونة داخل الخلايا والمفرزة في الراشح أن أعلى نسبة كانت 25.5٪ و 69.85 ٪ عند اضافة مستخلص التربة غير المزروعة في حالة فطر ***F. oxysporum*** وبمعنوية عالية. أما عند اضافة مستخلص التربة المزروعة فوجدت بنسبة 31.3٪ في فطر ***C. ovoidea*** و بنسبة 69.85٪ في فطر ***F. oxysporum***.

وعلى مستوى الفطريات، وعند اضافة مستخلص التربة المزروعة كان فطري ***F. oxysporum*** و ***A. terreus*** أكثر الفطريات المختبرة تأثراً عند تقدير النمو الفطري وعند تقدير كمية الأحماض الأمينية داخل خلايا الفطريات وخارجها، بينما كان فطر ***C. ovoidea*** أعلى الفطريات إستجابة لإضافة مستخلص التربة المزروعة عند تقدير الببتيدات داخل الخلية بينما كان فطر ***F. oxysporum*** عند تقدير الببتيدات خارج الخلايا. وهذا يبين أن التأثير المشجع لجذور النباتات على الميكروبات ليس متساوياً لمختلف الأجناس الميكروبية وهذا يتفق مع ماذكره محمود وآخرون (1997م)، كما لم تتأثر بقية الأنواع كثيرا بإضافة مستخلص التربة المزروعة حيث أن بعض مستخلصات التربة قد يكون بها مواد مثبطة لنمو ونشاط الفطريات وهذا يماثل كل من **Cruikshank and Perrin**, 1971 ; **Kapustka and Rice**,1976 ; **Hutson and Smith** 1980 ; **Marley and Hillocks**, 1993 and **Hillocks *et al.***, 1997)

كما تحتاج هذه الدراسة إلى تفسير أكثر لدراسة مكونات مستخلصات التربة وتأثيرها على ميكروبات التربة وأنشطتها الأيضية بوضوح كما ذكر **Gianinazzi *et al.***,1989 and **Steinberg *et al.***, 1999) أنه بالرغم من أهمية افرازات الجذور فلم يجد التحليل الكمي الدقيق لمكونات هذه الإفرازات وتأثيرها على ميكروبات التربة وأنشطتها الأيضية صدى كبير بين الباحثين.

جدول 4.تأثير مستخلص التربة غير المزروعة أو المزروعة المضافة الي بيئة تشابكس دوكس على متوسطات (3 مكررات / معاملة) كمية الببتيدات المقدرة داخل وخارج خلايا الفطريات المختبرة النامية لمدة 8 أيام عند 28°م (متوسط المكررات ± الخطأ القياسي).

الفطر	كمية الببتيدات المقدرة داخل خلايا الفطريات (مجم)					كمية الببتيدات المقدرة خارج خلايا الفطريات (مجم)				
	بيئة تشابكس دوكس (العينة الضابطة)	بيئة تشابكس دوكس+ مستخلص تربة غير المزروعة	نسبة الزيادة ٪	بيئة تشابكس دوكس+ مستخلص تربة مزروعة	نسبة الزيادة ٪	بيئة تشابكس دوكس (العينة الضابطة)	بيئة تشابكس دوكس+ مستخلص تربة غير المزروعة	نسبة الزيادة ٪	بيئة تشابكس دوكس+ مستخلص تربة مزروعة	نسبة الزيادة ٪
A. flavus	7.8 ±0.37	8.91* ±0.15	14.2	9.34 ±0.14	19.7	19.94 ±0.19	22.73* ±0.37	13.9	29.10* ±1.70	45.93
A. terreus	9.31 ±0.05	11.39** ±0.23	22.3	10.22 ±0.41	9.7	30.66 ±0.19	35.60** ±0.37	16.11	34.14 ±1.55	11.35
C. ovoidea	5.36 ±0.08	6.42* ±0.29	19.7	7.04* ±0.42	31.3	19.18 ±0.11	20.99* ±0.74	9.43	21.69** ±0.59	13.08
F. oxysporum	6.5 ±0.08	8.16** ±0.17	25.5	7.31 ±0.17	12.46	13.47 ±0.95	22.88** ±1.80	69.85	22.88** ±1.80	69.85

** : معنوية > 0.05 * : معنوية > 0.001 حسبت الزيادة كنسبة منوية مقارنة بالعينة الضابطة لكل فطر.

جدول 5. تأثير نقع بذور نبات البامية في راشح بعض الفطريات النامية على بيئة تشابكس دوكس السائلة والمضاف إاليها مستخلص تربة مزروعة وغير مزروعة وذلك بحساب ٪ لإنبات البادرات الناتجة من البذور المعاملة وغير المعاملة بمعدل (100 بذرة / معاملة) (متوسط المكررات ± الخطأ القياسي).

	6			42			48		
	راشع البيئة بدون مستخلص تربة (العينة الضابطة)	راشع البيئة + مستخلص تربة غير مزروعة	راشع البيئة + مستخلص تربة مزروعة	راشع البيئة بدون مستخلص تربة (العينة الضابطة)	راشع البيئة + مستخلص تربة غير مزروعة	راشع البيئه + مستخلص تربة مزروعة	راشع البيئة بدون مستخلص تربة (العينة الضابطة)	راشع البيئة + مستخلص تربة غير مزروعة	راشع البيئة + مستخلص تربة مزروعة
A. flavus	83.3 ±0.07	90 ±0.57	86.7* ±0.3	76.7 ±0.7	86.7** ±0.3	83.3* ±0.19	66.7 ±0.7	76.7 ±0.3	73.3* ±0.3
A. terreus	83.3* ±0.3	86.7* ±0.3	93.3 ±0.3	76.7* ±0.3	80 ±0.58	86.7* ±0.3	30** ±0.6	33.3* ±0.9	56.7* ±0.9
C. ovoidea	86.7* ±0.3	93.3 ±0.7	90 ±0.58	83.3* ±0.3	90* ±0.3	86.7 ±0.7	70* ±0.6	80* ±0.0	76.7 ±0.7
F. oxysporum	86.7* ±0.3	93.3 ±0.6	96.7 ±0.3	76.7* ±0.3	83.3* ±0.3	90 ±0.6	73.3 ±0.7	76.7 ±0.7	86.7 ±1.7

** : معنوية > 0.05 * : معنوية > 0.001

جدول 6: تأثير نقع بذور نبات البامية في راشح بعض الفطريات النامية على بيئة تشابكس دوكس السائلة والمضاف إليها مستخلص تربة مزروعة وغير مزروعة وذلك بحساب ٪ لإصفرار الأوراق الفلقية الناتجة من البذور المعاملة وغير المعاملة (متوسط المكررات ± الخطأ القياسي).

الفطر	مدة نقع البذور في الراشع (ساعة)								
	6			24			48		
	راشع البيئة بدون مستخلص تربة (العينة الضابطة)	راشح البيئة + مستخلص تربة غير المزروعة	راشح البيئة + مستخلص تربة مزروعة	راشح البيئة بدون مستخلص تربة (العينة الضابطة)	راشح البيئة + مستخلص تربة غير المزروعة	راشح البيئة + مستخلص تربة المزروعة	راشح البيئة بدون مستخلص تربة غير المزروعة	راشع البيئة + مستخلص تربة غير المزروعة	راشع البيئة + مستخلص تربة مزروعة
A. flavus	8 ±0.7	3.3 ±0.6	4.7 ±0.3	13.3 ±0.7	6.7** ±0.3	7.3* ±0.3	20 ±0.7	13.3 ±0.3	15* ±0.3
A. terreus	10* ±0.3	8* ±0.3	6.7 ±0.3	15* ±0.3	10 ±0.6	8* ±0.3	20** ±0.6	13.3* ±0.9	10* ±0.9
C. ovoidea	4 ±0.3	2.7 ±0.7	3.3 ±0.6	7.3* ±0.3	3.3* ±0.3	6.7 ±0.7	13.3* ±0.88	6.7* ±0.0	12 ±0.88
F. oxysporum	6.7* ±0.3	3.3 ±0.6	2 ±0.3	8 ±0.3	6.7* ±0.3	4 ±0.6	13.3 ±0.3	12 ±0.7	10 ±0.7

** : معنوية > 0.05 * معنوية > 0.001

وعند نقع بذور نبات البامية لفترات مختلفة في راشح المزارع الفطرية المستخدمة في الدراسة وهي *A. terreus*، *C. ovoidea*، و*A. flavus F. oxysporum*، حيث أخذ الراشح وما يحتويه من مواد وتم اختبار تأثيرها على النسبة المئوية لإنبات بذور البامية وكذلك درجة تثبيطها لبناء الكلوروفيل في الأوراق الفلقية لبادرات البامية، أوضحت النتائج في جدولي (5 و6) أنه بزيادة فترة النقع حتى 48 ساعة انخفضت النسبة المئوية للإنبات كما ازداد معدل الإصفرار (٪) خاصة عند عدم إضافة مستخلص التربة، وكان أكثر رواشح الفطريات تأثيراً على إنبات بذور البامية هو راشح عزلة فطر *A. terreus* حيث بلغت نسبة الإنبات 30٪ بعد 48 ساعة من نقع البذور، وكانت النتائج عالية المعنوية، تلاها راشح عزلة فطر *A. flavus* بنسبة إنبات 66.7٪ ثم راشح عزلة فطر *C. ovoidea* بنسبة إنبات 70٪، واخيراً راشح عزلة فطر *F. oxysporum* بنسبة إنبات بلغت 73.3٪. اما النقع في راشح مستخلص التربة غير المزروعة والنامي عليها فطري *A. terreus* و *F. oxysporum* لمدة 48 ساعة كان اكثر تأثيراً على نسبة إنبات بذور البامية عنه في حالة راشح التربة المزروعة لنفس الفطريات، فقد إنخفضت نسبة إنبات بذور البامية حتي وصلت إلى 33.3 و 76.7٪ & 56.7 و 86.7٪ على التوالي. وعلى الجانب الآخر فإن نسبة إنبات بذور البامية المنقوعة في راشح فطري *A. flavus* و *C. ovoidea* قد انخفضت بزيادة فترة النقع إلى 48 ساعة، ووصلت إلى 76.7 و 80 ٪ على التوالي عند تنمية الفطريات في مستخلص التربة غير المزروعة بينما انخفضت إلى 73.3 و 76.7 ٪ عند إضافة مستخلص التربة المزروعة للبيئة. وكانت عزلة الفطر *A. terreus* أكثر العزلات مقدرة على خفض نسبة الإنبات لبذور البامية وكذلك على نسبة اصفرار الأوراق الفلقية، وهذه النتائج تتشابه مع الحميضي (2003) التي أوضحت أن عزلة فطر *A. flavus* المعزولة من ثمار العنب كانت لها مقدرة على خفض نسبة الإنبات لبذور البامية وكذلك على نسبة اصفرار الأوراق الفلقية. كما تتفق مع (Schafer and Kotanen, 2003) حيث أوضحا أن السبب الرئيسي لموت البذور المدفونة في التربة قد تكون الفطريات الموجودة في التربة.

كتأثير عام انخفضت نسبة اصفرار الأوراق الفلقية بزيادة فترة النقع في راشح الفطريات المنماه في مستخلص التربة المزروعة وغير المزروعة. وزادت نسبة الاصفرار في العينة الضابطة في كل الفترات، فقد أوضحت النتائج في جدول (6) أن نسبة الإصفرار بلغت 20٪ عند نقع بذور البامية لمدة 48ساعة في راشح فطري *A. terreus* و *A. flavus* ، بينما كانت أقل نسبة إصفرار 13.3٪ عند نقع بذور البامية في نفس المعاملة في راشح فطري *F. oxysporum* و *C. ovoidea*.

وعند إضافة راشح فطري *A. flavus* و *C. ovoidea* الناميان على بيئة تشابكس دوكس مع مستخلص التربة غير المزروعة أدى ذلك إلى زيادة نسبة إنبات بذور البامية وقلل من إصفرار الأوراق الفلقية أيضاً مقارنة بالعينة الضابطة بينما لوحظ أن النقع في راشح مستخلص التربة المزروعة والنامي عليها فطري *A. terreus* و *F. oxysporum* لمدة 48 ساعة كان اكثر تأثيرا علي نسبة إنبات بذور البامية عنه في حالة راشح التربة غيرالمزروعة لنفس الفطريات مما يبين أن التربة بها مواد طبيعية تقلل من تأثير الفطريات السيئ (محمود وآخرون، 1988م).

الشكر والتقدير

الشكر والتقدير لمدينة الملك عبدالعزيز للعلوم والتقنية لدعمها طالبة الدراسات العليا نوال الحازمي في البحث رقم (أط-١٣-١١٠) والذي نشر منه هذا البحث.

المراجع

الجدعاني، غالية سليم (2003م): دراسة على التكيف البيئي والبيوكيميائي

Harris, K.; Young, I.M.; Gilligan, C.A.; Otten, W. and Ritz, K. 2003. Effect of bulk density on the spatial organisation of the fungus *Rhizoctonia solani* in soil. *J. FEMS Microbiol. Ecol.,* 44 (1): 45-56.

Hillocks, R.J.; Ekotto-Eboa, E.F. and Jones, M. 1997. Effect of cyanide and root exudates from sorghum on vascular wilt of Fusaria affecting pigeon pea and cotton. *Tropical Sci.,* 37 (1): 1-8.

Hung, H. 1978. *Gliocladium catenulaturn:* hyperasite of *Sclerotinia sclerotiorum* and *Fusarium* species. *Can. J. Bot.,*56, 2243-2246.

Hutson, R.A. and Smith, I.M. 1980. Phytoalexins and tyloses in tomato cultivars infected with *Fusarium oxysporum f.* sp. *Lycopersici* or *Verticillium albo atrum*. *Physiol. Plant Pathol.,* 17: 245-257.

Ibraheem, S.; Okesha, A. and Mhathem, K. 1987. Interrelationships between protein and oil content of soybean seed with some associated fungi. *J.Agricul. water Reso. Res.Plant production*.6 (22) 53-66.

Jackson, M.L. 1958. Soil chemical analysis. Constable and Co., London, U.K.

Johnson, L.F. ; Curl, E.A. ; Bond, J.K. and Fribourg, H.A. 1959. Method for studying soil microflora plant disease relation-ships. Minneapolis. Burgess Publishing Co.

Kapustka, L.A. and Rice, E.L. 1976. Acetylene reduction (N2-Fixation) in soil and old field succession in central Oklahoma. *Soil Biol. Biochem.,* 8: 497-503.

Khalil, F.A. 1978. Biological changes in maize grians due to infection with some fungi. Ph.D. Thesis, *Fac.of Agric., Cairo univ., Egypt.*

Ko, P.C. and Yu, L. 1970. Microbiological production of high protein compositions, useful as protein additives for mammalian consumption. Ching Sung Brit., 1 (201): 638.

Line,W; Yokon, and Hardy, R. 1983. Enhanced mineral uptake by *Zea mays* and *sorghum bicolor* inoculated with *Azospirillum brasilens.Appl.Environ. Microbiol.* 45,1775-1779.

Lowery, O.H. ; Rosenbrough, J. ; Fan, A.C. and Randal, R.J. 1951. Protein measurement with folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.,* 193- 265.

Marley, P.S. and Hillocks, R.J. 1993. The role of phytoalexins in resistance to *Fusarium* wilt in pigeon pea (*Cajanus cajan*). *Plant Pathol.,* 42: 212-218.

Naguib, M.I. 1968. Effect of various nitrogen sources and/or colchicine on the utilization of L-arabinose by *Cunninghamella elegans. Acta Biol. Acad. Sci. Hung.,* 19: 437-444.

Osman, M. 2004. Factors affecting the antifungal properties of *Brevibacterium linens*. International Dairy J. 14 (8)

لبعض النباتات السائدة في مقطع طولي بالمنطقة الغربية للمملكة العربية السعودية. رسالة ماجستير، كلية التربية للبنات، الأقسام العلمية، جدة، المملكة العربية السعودية.

الحميضي، إيمان عبدالله (2003م): دراسات على أعفان ثمار العنب أثناء التسويق بالمنطقة الشرقية من المملكة العربية السعودية. رسالة ماجستير/كلية العلوم للبنات، الدمام، المملكة العربية السعودية.

العودات، محمد عبدو والشيخ، عبدالله محمد (1984): المحاصيل الزراعية في المملكة العربية السعودية. دار المريخ، الرياض-المملكة العربية السعودية، ص. 119.

محمود، سعد علي زكي وعبد الحافظ، عبد الوهاب محمد ومبارك، محمد الصاوي (1997م): ميكروبيولوجيا الأراضي. الطبعة: الثانية- مكتبة الأنجلو المصرية-القاهرة ، جمهورية مصر العربية.

Al-Garni, S.M. 2000. A microbiological study on the wild plant *Calotropis procera* (AIT) grown in Saudi Arabia *Bull. of Pure and Appli. Sci.,* 19 (1): 33-40.

Chung,W.; Huang, J. and Huang, H. 2005. Formulation of soil biofungicide for control of chinese cabbage (*Barssica chinensis*) caused by *Rhizoctonia solani.* Biological control, 22 (2) 287-294.

Cooley-Smith, J. and Cook, R. 1971. Survival and germenation of fungal sclerotia. *Ann. Rev. Phytol.*, 9, 65-92.

Cruikshank, I.A. and Perrin, D.R. 1971. Studies on Phytoalexins. XI: The induction, antimicrobial spectrum and chemical assay of phaseollin. *Phytopath.* Zeitschrifi, 70: 209-229.

Dregval, O.; Cherevach,N.; Andrienko, O. and Vinnikov, A. 1999. The effect of a soil extract on the development of Bacillus thuringiensis and on its synthesis of an insecticidal endotoxin.*Mikrobiol Z.* 61(4): 40-44.

Ellis, M.B. 1971. Dematiaceous Hyphomycetes. Common-Wealth Mycol. Institute, Kew, Surrey, England.

Ellis, M.B. 1976. More Dematiaceous Hyphomycetes. Common-Wealth *Mycol.* Institute, Kew, Surrey, England.

El-Shenawy, Z.; Mansour, M.A. and Behrawi, S. 1987. Effect of *Fusarium* isolates and their filtrates on respiratory rate and chemical analysis of *squash* plants. Zentralbl Bakteriol Naturwiss, 133 (2): 163-8.

Gianinazzi, P.V.; Branzanti, B. and Gianinazzi, S. 1989. In vitro enhancement of spore germination and early hyphal growth of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus by host root exudates and plant flavonoids. Symbiosis-Rehovot., 7 (3): 243-255.

Gilman, J.C. 1957. A manual of soil fungi. Iowa, State Univ. Press. Ames. Iowa, U. S. A.

Gornal, A.G.; Bandawill, C.I and David, M.M. 1949. Biuret emthod *J. Biol. Chem.,* 177, 571.

Fusarium oxysporum in the vicinity of tomato root. *Mycol. Res.,* 103 (6): 769-778.

Teuscher, A. and Richterich, P. 1971. Schweiz med wochensohr. 101: 345.

Umechuruba, C. and Nwachukwu, E. 1997. The effect of filterates of seed-bornr fungi of african yam bean on seed germination and seedling development. *Global. J.Pure and Appl. Sci.,*3 (2) 165-176.

Walkly, A. and Black, T.A. 1934. An examination of the Degtareff method for determining soil organic matter, and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Sci.,* 37: 29 – 38.

Whipps, J.M. and Lynch, J.M. 1989. The influence of the rhizosphere in crop productivity. Advances in *Microbial. Ecol.,* 9: 187-244.

William Horwitz 1975. A.O.A.C. (Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 12th edition, Washington D. C. : 578.

713-722.

Piper, C.S. 1955. Soil and plant analysis. A laboratory manual of methods for the examination of soil and determination of the inorganic substituents of plants. Inter. Pub. Inc., New York.

Raper, K.B. and Fennell, D.I. 1965. The genus *Aspergillus.* Williams & Wolkins, Blatimore, U. S. A.

Raper, K.B. and Thom, C. 1949. A manual of the *penicillium.* Williams & Wolkins, Baltimore, U. S. A.

Russel, J.A. 1944. Note on the colorimetric determination of amino nitrogen. *J. Biol. Chem.* 156:467

Schafer, M. and Kotanen, P.M. 2003. The influence of soil moisture on losses of buried seeds to fungi. *Acta Oecol.,* 24 (5-6): 255-263.

Smith,N.R and Dawson,V.T. 1944. The bacteriostatic action of rose-bengal in media used for the plate count of soil fungi. *Soil Sci.*58:467-471.

Steinberg, C.; Whipps, J.M.; Wood, D.; Fenlon, J. and Alabouvette, C. 1999. Mycelial development of

The Effect of Soil Extracts on The Fungi Growth and The Effect of it's Filteration on The Seed's Germination and Yallowing leavies of Okra

Rukaia Gashgari and Nawal Al- Hazmi
Girl's collage Jeddah and Al Qunfidah, P.O.Box.45057 Jeddah 21512 E-mail: dr_rogaia@yahoo.com

Abstract

The effect of extract of planted with *Halopepilis perfoliata* or non planted soils added to liquid Czapek's–Dox-agar medium had been studied on growth and some metabolic activities of four species isolated from this investigation namely: *A. terreus, A. flavus, C. ovoidea* and *F. oxysporum*. The fungal biomass and the metabolic activities, protein production, peptides, amino acids and polysuccharides increase fluctuated in both types of soil extracts.

The ability of the four species filteration to gave biological active material (B.A.M.), the data showed that, these filtration didn't effect germenation rate and decreses yellowing leavies to some extend, by increasing of soaking period to 48 hr. of the different fungi species affected Okra seeds germination and caused yellowing Okra leavies

Key words: Fungi, Okra, *A. terreus, A. flavus, C. ovoidea, F. oxysporum.*