

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي



جامعة أسيوط / كلية العلوم / قسم علم النبات / شعبة النبات العام

بحث مقدم للحصول على درجة البكالوريوس بعنوان

الخواص الفسيولوجية لفطر بيسولتس ميكروكاربس (*Pisolithus microcarpus*)

التكافل مع اشجار الأوكالبتوس (*Eucalyptus* sp.) في تربة وادي عتبة

مقدم من:

فاطمة علي الفيتوري آدم

سالة محمد أرينو محمد

فاطمة منصور محمد التومي

إشراف/ د. صالح حسن محمد

خريف 2015 م

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

﴿عَلَّمَ الْإِنْسَانَ مَا لَمْ يَعْلَمْ﴾

اللَّهُ
صَدَقَ
الْعَظِيمُ

الآية 5 من سورة العلق

إلى رسلنا

ها نحن اليوم والحمد لله نطوي سهر الليالي وتعب السنين وخالصة مشوارنا الذي لا ينبغي فيه إلا أن نهدي ثمرة هذا الجهد إلى النبي الأُمي الذي علم المتعلمين إلى سيد الخلق وإمام المرسلين إلى رسولنا وحبیبنا:

"سيدنا محمد صلى الله عليه وسلم"

إلى من كلله الله بالهبة والوقار، إلى من علمني العطاء بدون انتظار، إلى من أحمل اسمه بكل افتخار، أرجو من الله تعالى أن يُمد في عمره ليرى ثماراً قد حان قطافها بعد طول انتظار، وستبقى كلماتك نجوماً نهتدي بها اليوم وفي الغد وإلى الأبد:

"آبائنا الاعزاء"

إلى ملاكي في الحياة إلى معنى الحب، إلى معنى الحنان والتفاني، إلى بسمه الحياة وسر الوجود، إلى من كان دعاؤها سر نجاحي، وحنانها بلسم جراحي، إلى أعلى الحبايب:

"أمهاتنا الغاليات"

إلى روافد العطاء والخير الذين لا أستطيع أن أعيش لحظة من لحظات حياتي دون مشاركتهم فيها:

"إخوتنا وأخواتنا"

إلى الذين سبقونا بالعلم والمعرفة ونحتو على صخور الظلام معالم المعرفة:

"أساتذتنا الكرام"

أخيراً نترحم و نهدي جهدنا إلى من بنى و علم أجيالاً الغائب الحاضر الاستاذ الراحل

"سالم أبوبكر طويلة"

بسم الله الرحمن الرحيم
الحمد لله رب العالمين
والصلاة والسلام على
سيدنا محمد وآله الطيبين
الطاهرين

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

نشكر الله العلي القدير على ما أفاض به علينا من نعمة التوفيق في انجاز هذا العمل، نتقدم بخالص الشكر والتقدير لكل من ساهم في إظهار هذا البحث في أحسن صورة ونخص بالذكر الاستاذ الفاضل الدكتور **صالح حسن محمد** الذي كان نعم المشرف على هذا العمل بنصائحه وارشاداته من أجل اتمام البحث والذي منحنا وقته وجهده دون تقصير إلى أن وصلنا الى هذه المرحلة فلك منا خالص الشكر و الثناء..

كما لا يفوتنا أن نتقدم بخالص الشكر والتقدير والعرفان إلى الاستاذ **أبوبكر عمران** و الأستاذة الكريمة **مسعودة عمر خليفة** والاستاذ **شمسي عبدالله** لما قدموا لنا من العون والمساعدة فجزاهم الله عنا كل خير ورعاهم وحفظهم الله من كل مكروه.

نتقدم بأسمى آيات الشكر والامتنان والتقدير إلى الذين حملوا أقدس رسالة في الحياة إلى الذين مهدوا لنا طريق العلم والمعرفة إلى جميع أساتذتنا الأفاضل أعضاء **هيئة التدريس بقسم النبات**

أخيراً نتقدم بشكرنا الى كل من حفزنا وشجعنا وساعدنا على انجاح هذا البحث، فلكم منا جميعاً همسة شكر من صميم القلب.

المحتويات

الصفحة

الموضوع

 الآية القرآنية.
 الإهداء.
 كلمة الشكر.
1 1. المقدمة.
2 1.1. الميكروهيذا الخارجية.
2 2.1. الميكروهيذا الداخلية.
2 3.1. ميكروهيذا خارجية داخلية.
3 4.1. العوامل البيئية المؤثرة على نمو وانتشار الميكروهيذا.
 2. المواد و طرق العمل.
5 1.2. فطر الاختبار وطريقة عزله.
6 2.2. الاختبارات الفسيولوجية.
6 1.2.2. اختبار درجة الحرارة.
6 2.2.2. تحمل الحموضة و القلوية.
6 3.2.2. اختبار المقاومة للمعادن الثقيلة.
7 4.2.2. تحمل الملوحة.
8 3. النتائج و المناقشة.
12 4. الخلاصة.
13 5. المراجع العربية.
13 7. المراجع الأجنبية.
15 8. ملحق 1. شجرة الكافور أو الأوكالبتوس.

الجداول

الصفحة	الجدول
9	1. نتائج الاختبارات الفسيولوجية

الأشكال

الصفحة	الشكل
5	1. موقع الدراسة (مكان جمع الفطر)
9	2. تأثير درجات الحرارة المختلفة على فطر <i>Pisolithus microcarpus</i>
10	3. تأثير درجات الاس الهيدروجيني (الحموضة والقلوية) على الفطر المختبر.
10	4. تأثير المعادن الثقيلة على الفطر المختبر.
11	5 تأثير تراكيز من كلوريد الصوديوم على الميكروهيذا المختبر.

المقدمة

Introduction

1. المقدمة

التربة ليست جسم مائتاً بل هي واحدة من اكثر الأماكن في الطبيعة ديناميكية في العلاقات المتبادلة بين الكائنات الحية وبعضها، تحتوي على العديد من الكائنات الدقيقة المختلفة في الشكل و الخواص الفسيولوجية الوراثية مثل الفطريات، البكتريا، الطحالب، والأوليات هذه الكائنات تنشط في التربة و خاصة في منطقة الريزوسفير، حيث تكون متأثرة بجذور النباتات و إفرازاتها التي تختلف باختلاف النبات. هذه الكائنات تعيش مع بعضها ومع النباتات في علاقات ايجابية او سلبية مثل التنافس Competition، الاضرار Amensalism، لافتراس Predatism والتكافل (symbiosis).

تنشأ علاقة التكافل بين كائنين حيين يستفيد كلاً من الآخر، في الطبيعة تلعب هذه العلاقة دوراً بيئياً و اقتصادياً، علاقة الميكروهيذا و النباتات الراقية واحدةً من تلك العلاقات التي تلعب مثل هذا الدور. الميكروهيذا أو الفطريات الجذرية Mycorrhiza مصطلح اشتق من مقطعين هما Myco و تعني فطر و Rhiz بمعنى جذر، و هي اتحاد تكافلي أو تعايشي دائم يحقق النفع المتبادل بين جذور النباتات و هيفات أحد فطريات التربة التي يمكن أن تكون فطريات زقية Ascomycetes أو فطريات بازيدية Basidiomycetes أو زيجوية Zygomycetes، يحدث هذا التكافل على مستوى جذر النبات، حيث تمتد هيفات الفطر إلى داخل جذور النبات المضيف، يعمل الفطر على تحسين التغذية المعدنية و تحسين امتصاصه للماء، وعلى زيادة مقاومته للعوامل الممرضة، و زيادة تحمله لدرجات الملوحة المرتفعة و درجات الحرارة العالية أو المنخفضة، و من الجانب الآخر يمد النبات الفطر بالمواد السكرية، علاقة التكافل بين الميكروهيذا و النباتات شائعة في العديد من العوائل النباتية فيما عدا القليل منها كما هو الحال مع العائلة الصليبية Brassicaceae و الرمرامية Chenopodiaceae (محمود و آخرون، 1988). من الملاحظات الهامة حول هذه الفطريات كثرة تواجدها حول جذور النباتات النامية في الأراضي الفقيرة بعنصري الفوسفور و النتروجين، حيث تزيد فطريات الميكروهيذا من جهازية الفوسفور للنبات بما تفرزه من انزيمات مثل الفوسفاتاز Phosphatase و بتشجيعها لجذور النبات العائل على افراز الاحماض و ثاني أكسيد الكربون فيزيد من ذوبان الفوسفور، إضافةً إلى ذلك تلعب دوراً هاماً في حياة بعض النباتات خاصة اشجار الغابات التي تعتمد على هذه الفطريات في التغذية، حيث لوحظ ضعف تلك الاشجار النامية عند غياب هذه الفطريات، و

هذا شجع البعض على تلقيح التربة بالجذور الفطرية (Allen et al., 1981). يعتبر الشكل المورفولوجي للميكروهيزا أساساً في تقسيمها لمجموعتين رئيسيتين هما الميكروهيزا الخارجية و الداخلية و تقسم هذه الأخيرة إلى عدة أقسام. بعض الفصائل النباتية اختيارية التعايش أو التكافل مع الميكروهيزا الداخلية أو الخارجية أو حتى غير متعايشة معها.

1.1 الميكروهيزا الخارجية *Ectomycorrhizae*

فيها هيفات الفطر تحيط بخلايا الشعيرات الجذرية و تتم عملية تبادل المنفعة دون ان تخترق هيفات الفطر خلايا النبات، و هي موجودة في أكثر من 5 % من جذور النباتات الراقية كـ بعض الأشجار مثل الصنوبر و السنديان و الأوكالبتوس، هنا تدخل خيوط الفطر جذر النبات و تتفرع بين خلايا القشرة دون أن تدخلها (محمود و آخرون، 1988).

1.2 الميكروهيزا الداخلية *Endomycorrhizae*

فيها يمد الفطر هيفاته داخل خلايا الشعيرات الجذرية للنبات الموجود، تتخذ هذه الهيفات في العادة شكل حويصلي او شكل شجيري، توجد في حوالي 95 % من جذور النباتات الراقية، فيها تخترق هيفات الفطر جذر النبات لتصل إلى داخل الخلايا فتحدث فيها تغيرات كبيرة في خصائصها الخلوية (محمود و آخرون، 1988).

1.3 ميكروهيزا خارجية داخلية *Ectoendomycorrhizas*

توجد على جذور بعض النباتات الراقية، و تملك خصائص الميكروهيزا الداخلية و الخارجية في نفس الوقت، و هي شائعة بين الشجيرات، حيث تتفرع الخيوط بين و داخل خلايا الجذر (محمود و آخرون، 1988).

كما ذكر اعلاه للميكروهيزا فوائد اقتصادية وبيئية، حيث تزود النباتات بالعناصر غير العضوية مثل الفوسفور والحديد وتحميها "النباتات" من الاحياء الممرضة وتساعد النباتات المتكافلة معها من مقاومة الجفاف.

الأوكالبتوس *Eucalyptus rostratus* أو الكافور شجرة دائمة الخضرة يصل ارتفاعها في موطنها الأصلي إلى 46 م أوراقها الموجودة على الفروع الفتية متقابلة تتحول بالتدريج إلى متبادلة، و الأوراق جلدية. ومحاليقها قصير (ملحق 1)، موطن الأوكالبتوس هو استراليا والجزر القريبة منها. الأوكالبتوس (*Eucalyptus*) شجرة سريعة النمو تمتص كميات كبيرة من

الماء؛ بسبب نتحها المرتفع ولهذا تعتبر زراعته في مناطق البرك والمستنقعات من العوامل التي تساعد على تجفيف المستنقعات التي يكثر فيها البعوض.

اغلب الأشجار المستخدمة في اعادة التشجير والغابات تعتمد على فطريات الجذور لتوطنها ونموها لاستخدام مثل هذه الاشجار في مثل هذا الغرض يتطلب الأمر تطوير وتلقيح هذه الأشجار بهذه الفطريات، و لتطوير ذلك اللقاح يجب اختيار احسن الأوساط لنموها؛ لهذا أجريت بعض الدراسات لانتقاء أفضل الأوساط لنمو الميكروهيذا الخارجية (Ectomycorrhizal fungi)، وسط Pridham- Gottlieb medium اكثر الأوساط كفاءةً في انتاج كتلة أو غزل فطري (Rossi and Oliveira, 2011). اشجار الأوكاليبتوس تتكافل مع فطريات الميكروهيذا التابعة لجنس *Pisolithus*. الميكروهيذا التابعة لهذا الجنس حظيت باهتمام الباحثين وذلك من حيث نموها وتأثيرها على النباتات، هذه الفطريات تنمو بسهولة في المختبر وتتكيف مع الترب والظروف البيئية المختلفة ولهذا عادةً ما تستخدم في تلقيح البادرات في برامج التشجير وانشاء الغابات (Marx et al., 1977; Marx et al., 1982). قدرة هذه الفطريات على الارتباط مع النباتات تحت الظروف الطبيعية قد يعطى دلالة على قدرة هذه الفطريات على استخدام مواد كربونية من النبات العائل (Smith & Read, 2008). في الأوساط الزراعية تحتاج هذه الفطريات الى فيتامينات و سكريات كعوامل نمو، و كثير من هذه الفطريات تستطيع استخدام مصادر كربونية متعددة مثل السليلوز والسكروروز، ترهالوز، لكن الجلوكوز يعتبر السكر المفضل لفطر *Pisolithus tintorius* (Smith, 1982). اغلب فطريات الميكروهيذا الخارجية تستخدم العناصر غير العضوية مثل الأمونيوم والنترات كمصادر للنيتروجين لكن الأمونيوم تعد المصدر الرئيسي لذلك وذلك لأن هذه الفطريات تمتلك الأنزيمات اللازمة لاستخدام هذا العنصر (Cairney, 1999).

1.4. العوامل البيئية المؤثرة على نمو وانتشار الميكروهيذا

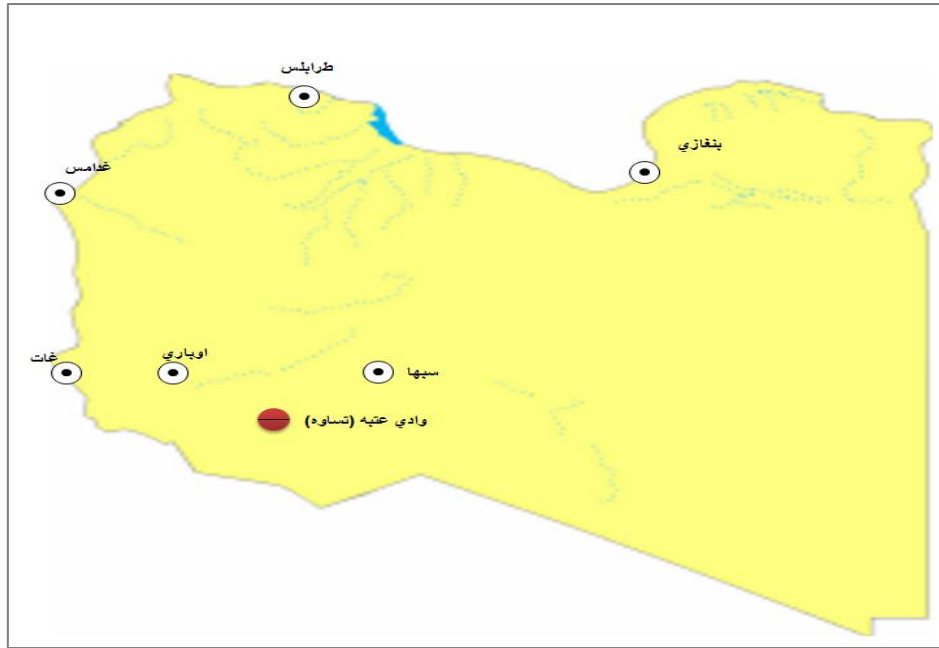
مثل اغلب الكائنات الحية الدقيقة الأخرى، تتأثر فطريات الميكروهيذا بالعوامل البيئية والمواد الكيميائية السامة مثل: درجة الحرارة، الحموضة والقلوية العاليتين، الملوحة والمعادن الثقيلة. معظم الفطريات هي وسطية الحرارة، حيث تنمو داخل مدى حراري من 10 - 35° م على الرغم من اختلاف درجات تحملها للحرارة داخل هذا المدى، وبدرجة مثلى بين 20 - 30° م. المعادن الثقيلة ذات تأثير سام على الميكروبات خاصة في الاراضي التي تحتوي على مستوى عالي منها من أمثلة المعادن الضارة بالميكروبات و التي منها الفطريات الزنك، النحاس، الكاديوم، النيكل و الالومنيوم و غيرها الكثير، يكمن تأثيرها على الميكروبات في أنها تؤثر في عمليات الايض،

فتؤدي إلى الحاق الضرر بالخلية الميكروبية و موتها، الميكروهيذا الخارجية حساسة لتراكم المعادن الثقيلة، حيث تتأثر فيها عمليات الأيض و بالتالي النمو و التمايز، كذلك تؤثر على الانزيمات و تعمل أيضاً على تمزق و تلف الغشاء الخلوي (Gadd, 1993). التلوث البيئي بالمعادن الثقيلة في زيادة مستمرة كثير من الكائنات الحية مثل النباتات والفطريات تتأثر سلباً بمثل هذه المواد (Colpaert, 2008). خاصةً تلك الناتجة من المناجم ومصانع الحديد للإقلال من التلوث بالمعادن الثقيلة في التربة يمكن استخدام الكائنات الحية المجهرية للإزالة أو تخفيض الملوثات في البيئة الى المستوى المقبول (Gadd, 2007). كثير من الميكروهيذا الخارجية (ectomycorrhizal fungi) تقاوم المعادن الثقيلة ولهذا استخدام مثل تلك الفطريات مع الأشجار يمكنها ان تقلل من المخاطر الناتجة عن التلوث في الأماكن المتأثرة (Perotto & Martino, 2001). هذه الكائنات الحية المجهرية يمكن ان تستثني او تطرد المعادن من تراكيبها الموجودة في الأنظمة الجذرية للنباتات بتكوين صلات او ارتباطات بالبيبتيدات، الأحماض العضوية ومكونات الجدر الخلوية مثل الكيتينين (Zheng et al., 2009). انتاج صبغة الميلانين تعد الألية الرئيسية لتحمل المعادن الثقيلة (Gadd, 1993)، حيث تعمل على تكثيفها (تكون ترسبات) خارج الخلية مما يمنع تأثيرها على الفطر (Gadd, 2007).

كما ذكر اعلاه، ان أشجار الكافور من الأشجار ذات الاحتياجات المائية العالية، رغم ذلك فإنها ذات شعبية عالية بين المزارعين في منطقة فزان ربما لسرعة نموها واستخدامها كأشجار ظل. فطر البسولوتس (*Pisolithus*) غير شائع في منطقة فزان الا انه لوحظ نموه في مشروع تساوه لإنتاج البذور المحسنة وبعض المزارع المجاورة له. كغيرها من الأحياء الدقيقة، الظروف البيئية السائدة تؤثر في نمو هذه الفطريات وقد تخلق تبايناً في فسيولوجيتها وصفاتها الوراثية، لهذا كانت هذه الدراسة تهدف الى: دراسة الخواص الأيضية والفسولوجية لفطر بيسولتس ميكروكاربس (*Pisolithus microcarpus*) الذي لوحظ نموه في اشجار الأوكالبتوس (*Eucalyptus sp.*) المزروعة في احد مزارع تساوه وذلك من اجل استخدامه لتلقيح بادرات الأوكالبتوس (*Eucalyptu*) عند استعمالها في تشجير الغابات والحدائق او استخدامها كأشجار ظل.

2.1. فطر الاختبار وطريقة عزله

فطر (*Pisolithus microcarpus*) لوحظ نموه منذ عدة سنوات في عدة اماكن، خاصة مشروع تساوو لإنتاج البذور المحسنة وقد تم تعريفه من قبل الدكتور مارك دوكوسو (مختبر الأبحاث والتنمية، مونبلييه، فرنسا) اثناء زيارته للمشروع في سنة 2010. فطر الاختبار تم عزله من اشجار الأوكالبتوس (*Eucalyptus sp*) المزروعة في احد المزارع في منطقة تساوو (بلدية وادي عتبة) الواقعة إلى الجنوب من مدينة سبها (شكل 1).



شكل 1. موقع الدراسة (مكان جمع الفطر).

طريقة العزل تمت من الجسم الثمري الطري (fresh fruit body)، حيث تم تنظيفه من التربة العالقة به وتم تطهيره سطحياً بالكحول و هيبكلوريت الصوديوم (3% sodium hypochlorite) لمدة دقائق، ثم اخذ جزء من النسيج الداخلي (الأبواغ) بواسطة مشروط ووضع على اوساط عضوية مثل: وسط مستخلص الشعير (Malt Extract Agar)، ووسط الذرة (Corn Meal agar)، ووسط البطاطس والدكستروز (Potato dextrose agar)، بالإضافة الى وسط Pridham- Gottlieb Agar، حُضِنَت الاطباق على درجة حرارة 28° م لمدة اربعة اسابيع. بعد مرور فترة التحضين فُحصت الأطباق وسجل النمو الفطري من عدمه على اوساط الاختبار المختلفة.

2.2. الاختبارات الفسيولوجية

اختبار درجة الحرارة، تحمل الحموضة و القلوية، تحمل الملحوة و اختبار المقاومة للمعادن الثقيلة اجريت على الوسط المعدل من قبل Kuek و المعروف باسم (PGKA) Pridham- Gottlieb Kuek Agar (1996) (kuek)، الذي يحتوي على المركبات التالية في اللتر: سكر الجلوكوز (Glucose 10 g)، ببتون (Peptone 3.33 g)، نترات الامونيوم (NH₄NO₃ 1 g)، فوسفات البوتاسيوم اللأمائية (KH₂PO₄ 0.264 g)، فوسفات البوتاسيوم الاحادية اللأمائية (K₂HPO₄ 0.628 g)، كبريتات الماغنيسيوم المائية (MgSO₄. 7H₂O 0.33 g)، كبريتات النحاس المائية (CuSO₄. 5H₂O 0.0021 g)، كلوريد المنجنيز المائي (MnCl₂. H₂O 0.0006 g)، كبريتات الخارصين المائية (ZnSO₄. 7H₂O 0.0005 g)، كبريتات الحديد المائية (FeSO₄. 7H₂O 0.0004 g)، آجار (Agar 15 g)، حيث ضبط قيمة الاس الهيدروجيني عند (pH 5.8) قبل اضافة الآجار و تعقيم الوسط.

2.2.1. اختبار درجة الحرارة

أجري هذا الاختبار في أطباق بتري تحتوي على الوسط المغذي (PGKA)، بحيث وضع في منتصف كل طبق قرص دائري قطره 4 مم من الغزل الفطري النامي في الطور النشط باستخدام ثاقب معدني معقم بالكحول و حُضنت الأطباق المحتوية على الفطر في درجات حرارة: 40° م، 42° م و 44° م لمدة 4 اسابيع.

2.2.2. تحمل الحموضة و القلوية

أجري هذا الاختبار على نفس الوسط الذي استخدم لاختبار درجة الحرارة بعد أن عُدلت حموضته إلى الدرجات pH 4.5 و pH 5.5 و pH 9 بواسطة حمض الهيدروكلوريك (HCl) بالنسبة للوسط الحمضي و هيدروكسيد الصوديوم (NaOH) بالنسبة للوسط القلوي. طريقة التلقيح و مدة التحضين كانت مشابهة لاختبار الحرارة، إلا أن درجة التحضين كانت 28° م.

2.2.3. اختبار المقاومة للمعادن الثقيلة

استخدمت ثلاثة املاح لاختبار مقاومة الفطر للمعادن، هذه الأملاح وتراكيزها كانت بـ (µg/ml)، حيث اضيفت هذه الاملاح الى الوسط قبل التعقيم و هي: (500) $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ، (100) ZnCl_2 و (8) HgCl_2 . طريقة التلقيح و درجة الحرارة و فترة التحضين كانت مشابهة لاختبار الحموضة و القلوية.

2.2.4. تحمل الملوحة

اختبرت العزلات على ثلاثة مستويات من ملح كلوريد الصوديوم 1- 3 % NaCl ، أيضاً طريقة التلقيح و مدة التحضين كانت مشابهة للاختبارات الفسيولوجية الأخرى.

الملاحظة الحقلية تبين ظهور الأجسام الثمرية (fruit bodies) في فصل الخريف وتستمر حتى شهر ديسمبر، هذه الاجسام ذات أحجام مختلفة، تعتمد على درجة الرطوبة.

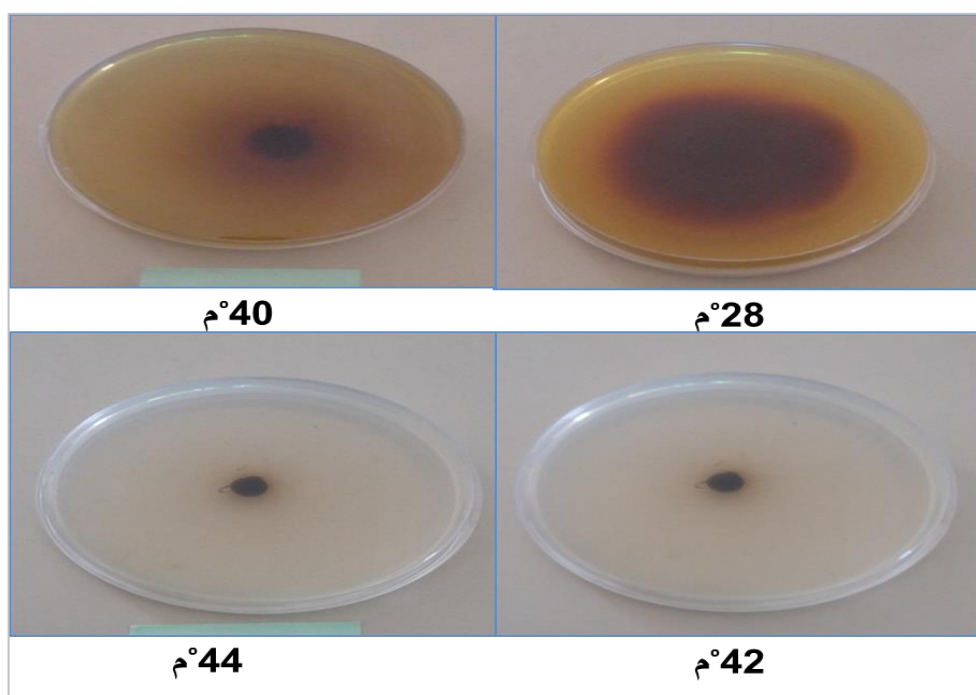
فطر بيسولتس ميكروكاربس (*Pisolithus microcarpus*) من فطريات الميكروهيذا الخارجية الغير شائعة في منطقة فزان، ربما يرجع ذلك الى ان أشجار الأوكالبتوس المعروفة بالكافور (*Eucalyptus sp*) غير متوطنة في هذه المنطقة و لكنها سائدة في المنطقة شبه الجافة من ليبيا (طرابلس) وبالتالي الفطريات المتكافلة معها غير متوفرة في التراب أو يرجع السبب في ذلك الى الظروف البيئية السائدة في المنطقة. وجود هذ الفطريات في مشروع تساوه وبعض المزارع المجاورة لها قد يعزى الى جلبها مع الشتلات من منطقة طرابلس.

نتائج نمو فطر بيسولتس ميكروكاربس (*Pisolithus microcarpus*) على أوساط الأجار المختبرة، بينت ان هذا الفطر لا ينمو على وسط الذرة (Corn meal agar) ووسط البطاطس والدكستروز (Potato dextrose agar) وقليل النمو على وسط مستخلص الشعير Malt (extract agar) ولكنه ينمو جيداً على وسط Pridham- Gottlieb medium لهذا فانه لا يختلف عن السلالات الأخرى المعزولة في اماكن جغرافية اخرى (Rossi & Oliveira, 2011). عدم او ضعف نمو الفطر على الأوساط العضوية الأخرى قد يرجع الى الاختلاف في محتويات هذه الأوساط من الكربون والنيتروجين.

نتائج اختبار درجة الحرارة بينت أن فطر الاختبار يستطيع النمو في درجة حرارة 40° م ولكن درجة النمو ليست مثالية، حيث قل قطر مستعمرة الفطر في هذه الدرجة عن الشاهد المحض عند درجة 28° م و التي اعطت أكبر قطر لمستعمرة الفطر، ولكنه لا يستطيع النمو في درجة حرارة أعلى من ذلك (جدول 1 و شكل 2). لذلك يعتبر الفطر متكيف مع درجة الحرارة التي غالباً ما تكون سائدة في منطقة العزل وفي المنطقة الجافة من ليبيا (فزان) بصفة عامة.

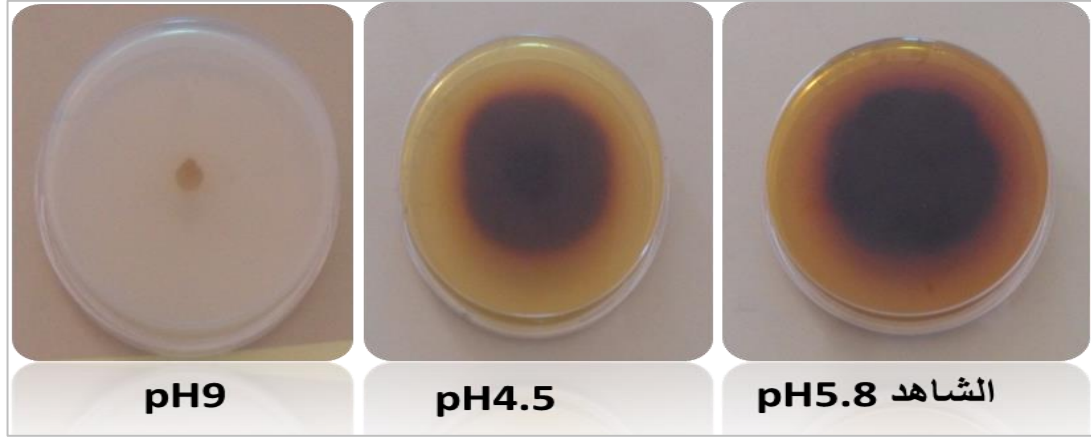
جدول 1. نتائج الاختبارات الفسيولوجية.

متوسط قطر المستعمرة (مم)	الصفات
درجة الحرارة	
5.5	28 °م
2.4	40 °م
0	42 °م
0	44 °م
تحمل الحموضة والقلوية (pH)	
5.5	5.8
4.5	4.5
5.5	5.5
0.0	9
المعادن الثقيلة	
6.3	Hg
0.0	AL
0.0	Zn
الملوحة (NaCl)	
6.5	% 2
5.8	% 3



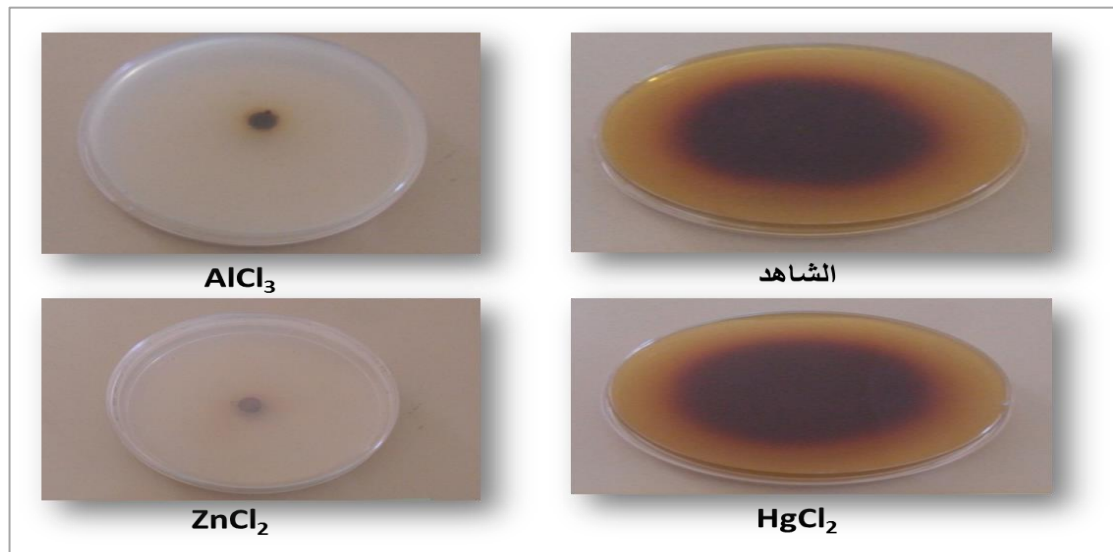
شكل 2. تأثير درجات الحرارة المختلفة على فطر *Pisolithus microcarpus*.

فيما يتعلق بنتائج تحمل الحموضة و القلوية فكما هو الحال مع معظم الفطريات (الكسندر، 1982)، كانت درجات الاس الهيدروجيني في الوسط الحامضي أكثر ملائمة لنمو الفطر من الوسط القلوي، درجة حموضة الشاهد pH 5.8 أعطت افضل نمو لفطر المستعمرة مقارنةً بالدرجة pH 4.5، في حين درجة القلوية pH 9 كانت مؤثرة على نمو الفطر و لم يستطيع النمو على الوسط المعدلة قلويته عند هذه الدرجة (جدول 1 و شكل 3).



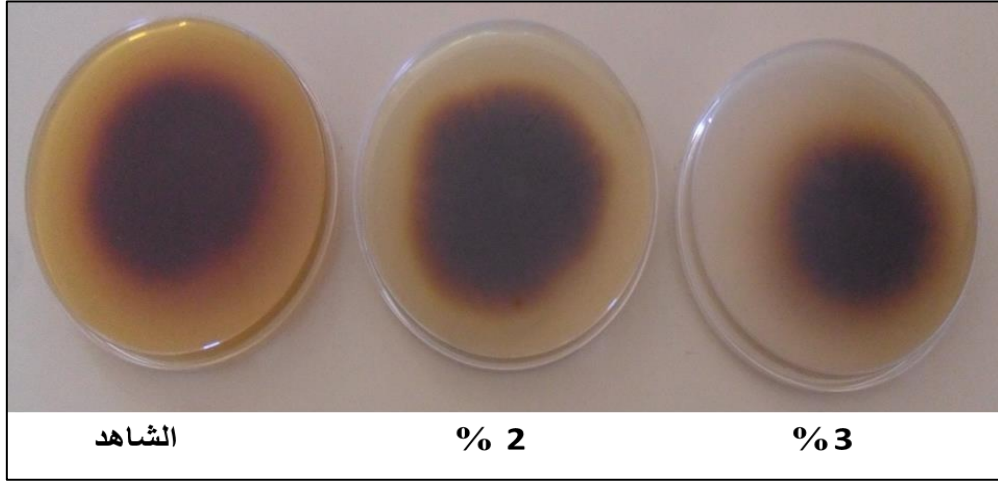
شكل 3. تأثير درجات الاس الهيدروجيني (الحموضة و القلوية) على الفطر المختبر.

بخصوص المعادن الثقيلة بينت النتائج (جدول 1 و شكل 4)، ان الفطر كان حساس لمحي الامونيوم و الخارصين بتركيزي 500 و 100 مايكروجرام / مل على التوالي، إذ لم تتجاوز قطر مستعمرة الفطر 1 سم، في حين لم يكن لكلوريد الزئبق تأثير يذكر على نموه واعطى نمواً مماثلاً تقريباً لنمو الشاهد (وسط لا يحتوي على أي معدن ثقيل).



شكل 4. تأثير المعادن الثقيلة على الفطر المختبر.

أما عن نتائج تأثير الملوحة "ملح كلوريد الصوديوم" فبينت أن الفطر المختبر كان متحملاً للملوحة، نمت في تركيز 3 % من ملح كلوريد الصوديوم، وربما يستطيع النمو حتى تركيز أعلى من 3 % من كلوريد الصوديوم؛ إلا أن قطر المستعمرة بدأ في الانخفاض كلما زاد تركيز الملح (جدول 1 و شكل 5).



شكل 5. تأثير تراكيز من كلوريد الصوديوم على الميكروهيذا المختبر.

الخلاصة Conclusion

فطر *Pisolithus microcarpus* من الفطريات الخارجية (Ectomycorrhizae) يمكن ان ينمو ويتكافل مع اشجار الأوكالبتوس (*Eucalyptus spp.*) في ترب فزان.

في هذه الدراسة تم عزل هذا الفطر من اشجار الأوكالبتوس المزروعة في احد مزارع تساوه (بلدية وادي عتبة). اختبار نموه على الاوساط العضوية تُظهر انه لا ينمو على وسط الذرة (Corn Meal agar) والبطاطس و الدكستروز (Potato dextrose agar) وينمو بدرجة ضعيفة على وسط مستخلص الشعير (Malt Extract Agar)، في حين يكون نموه جيداً على وسط (Pridham- Gottlieb medium).

نتائج الاختبارات الفسيولوجية بينت انه متكيف مع درجة الحرارة و الملوحة السائدة في البيئة التي عُزل منها، حيث ينمو في درجة حرارة 40°م، و ملوحة عالية تقدر بـ 3 % من كلوريد الصوديوم، ناهيك عن ذلك كان متحمل أيضاً للحموضة العالية و التي بلغت pH 4.5، املاح الالومنيوم و الخارصين كانتا مؤثرة على نمو الفطر، في حين كان ملح كلوريد الزئبق اقل تأثيراً و اظهر مقاومة له. تحمل الفطر للحرارة و الملوحة العاليتين يمكن ان تعطى ميزة لاستخدام في تلقيح شتلات اشجار الأوكالبتوس في ترب منطقة فزان.

المراجع References

1. المراجع العربية

- الكسندر، مارتن الكسندر (1982). مقدمة في ميكروبيولوجيا التربة، دار جون وايلي و أولاده نيويورك/أمريكا.
- محمود، سعد علي زكي و عبد الوهاب محمد عبد الحافظ و محمد الصاوي محمد مبارك (1988). ميكروبيولوجيا الأراضي، دار الكتب- القاهرة/مصر.

2. المراجع الاجنبية

- Allen, M. F., Sexton, J. C., Moore, T. S., Jr., and Christensen, M. (1981).** Influence of phosphorus on vesicular-arbuscular my-corrhizae of *Bouteloua gracilis*. *New phytol* 87: 687- 694.
- Cairney, J. W. G. (1999).** Intra-specific physiological variation: implications for understanding functional diversity in ectomycorrhizal fungi. *Mycorrhiza* 9 (3): 125- 135.
- Colpaert, J. V. (2008).** Heavy metal pollution and genetic adaptations in ectomycorrhizal fungi: Stress in yeast and filamentous fungi. *Br Mycol Sy* 27: 157- 173.
- Gadd, G. M. (1993).** "Interaction of fungi with toxic metals". *New Phytol* 124: 25- 60.
- Gadd, G. M. (2007).** Geomycology: Biogeochemical transformations of rocks, minerals, metals and radionuclides by fungi, bioweathering and bioremediation. *Mycol Res* 111: 3- 49.
- Kuek, C. (1996).** Shake-flask culture of *Laccaria laccata*, an ectomycorrhizal basidiomycete. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 45(3): 319- 326.

Marx, D. H., Hatch, A. B. and Mendicino, J. F. (1977). High soil fertility decreases sucrose content and susceptibility of loblolly pine roots to ectomycorrhizal infection by *Pisolithus tinctorius*. *Can J Bot* 55 (12): 1569- 1574.

Marx, D. H., Ruehle, J. L., Kenney, D. S., Cordell, C. E., Riffle, J. W., Molina, R. J., Pawuk, W. H., Navratil, S., Tinus, R. W. and Goodwin, O. C. (1982). Commercial vegetative inoculum of *Pisolithus tinctorius*: inoculation techniques of development of ectomycorrhizae on container-grow tree seedlings. *For Sci* 28 (2): 273- 400.

Perotto, R. and Martino, E. (2001). Molecular and cellular mechanisms of heavy metal tolerance in mycorrhizal fungi: What perspectives for bioremediation? *Minerva Biotechnol* 13: 55- 63.

Rossi, M. J. and Oliveira, V. L. (2011). Growth of the Ectomycorrhizal Fungus *Pisolithus microcarpus* in different nutritional conditions.

Smith, R. A. (1982). Nutritional study of *Pisolithus tinctorius*. *Mycologia* 74 (1): 54- 58.

Smith, S. E. and Read, D.J. (2008). *Mycorrhizal symbiosis*. Academic Press, London, New York.

Zheng, W., Fei, Y. and Huang, Y. (2009). Soluble protein and acid phosphatase exuded by ectomycorrhizal fungi and seedlings in response to excessive Cu and Cd. *J Environ Sci* 21: 1667- 1672

ملحق 1. شجرة الكافور أو الأوكالبتوس *Eucalyptus sp.* (موسوعة ويكيبيديا).

