

عزل وتشخيص بعض المجاميع الفطرية لثلاثة مواقع من مبالز حقول الرز في محافظة النجف الإشراف

مدرس مساعد/محمد محسن الرفيعي
جامعة الكوفة /كلية العلوم

الخلاصة:-

تم في الدراسة الحالية التحري عن المجاميع الفطرية في مبالز حقول الرز لثلاثة مواقع في محافظة النجف الإشراف وقد عزل (43 نوعاً) كانت تنتمي إلى (24 جنس)، وكانت الفطريات الناقصة هي الأكثر تكراراً إذ بلغ عدداً الأنواع الفطرية الناقصة المعزولة (38 نوعاً) وبنسبة (88.4%) تعود إلى (21 جنس) وتليها الفطريات الكيسية حيث تم عزل (3 أنواع) بنسبة (6.9%) تعود إلى جنس واحد وهو الفطر *Cheatomium spp.*، كما وتبين إن أكثر الاجناس الفطرية المعزولة تكراراً هو الفطر *Aspergillus spp.* اذ ظهر في (27 عزلة) من المجموع الكلي والبالغ (92 عزلة) وبنسبة (29.4%)، ويليها الفطر *Pencillium spp.* ظهر في (13 عزلة) من المجموع الكلي (92 عزله) وبنسبة (14.1%)،

المقدمة:-

تعتبر مبالز حقول الرز من الأماكن الغنية بالعناصر الاساسيه لتواجد الفطريات فهي توفر البيئة الملائمة للنمو والتكاثر فضلاً عن التنوع، فمثلاً يوفر كل من نباتي الرز والقصب مادتي السليلوز واللكنين واللذان يمثلان المصدر الكربوني المهم للفطريات، فضلاً عن إن الترسبات الطينية لهذه الحقول هي الأخرى تمثل البيئة الغنية بالمواد العضوية للفطريات (Al-Edany، 1978). وفي هذا الصدد أجريت دراسات عدة فمثلاً قام كل من Abdul kader و Muhsin (1995) بدراسة مسحية موسعة استهدفت تحديد الأنواع الفطرية المصاحبة لنبات القصب حيث تمكنا من عزل أنواع فطرية مختلفة منها ثلاثة أنواع من الفطريات الكيسية التي عزلت من نبات القصب المغمور في المياه العذبة في محافظة ألبصرة وهذه الفطريات سجلت لأول مرة في العراق. أما الدراسة التي أجريت في الولايات المتحدة الأمريكية وعلى وجه التحديد الأهورار المالحة في شمال ولاية كارولينا وولاية فلوريدا والتي تمكنا فيها Kohlmeier و Volkman Kohlmeier (2003) من عزل (41 نوع) من الفطريات تنتمي إلى عدة أجناس كان من بينها نوعان جديان من الفطريات المكونة للبيكنيديا. ونظراً لقلّة الدراسات المسحية للمجتمع الفطري لمبالز حقول الرز في محافظة النجف الإشراف فقد جاءت هذه الدراسة لتسلط الضوء على ما يلي :-

1-تحديد بعض المجاميع الفطرية المتواجدة في مبالز حقول الرز في المحافظة.

2-عزل وتشخيص هذه الانواع الفطرية من مواقع الدراسة .

3-ايجاد قاعدة بيانات في التنوع الحيائي لهذه الانواع الفطرية بهدف تسهيل مهمة الباحثين الذين يرومون البحث في هذا المجال.

المواد وطرائق العملMaterial and Methods:-

1-جمع العينات:

جمعت العينات (والتي اشتملت على عينات تربه وماء ونبات القصب والرز) من ثلاثة مواقع مختلفة لحقول الرز وهي ((القروينيه، الحرية، الحيرة)) حيث وضعت عينات الماء والتربة في عبوات معقمة ومحكمة الغلق أما عينات النباتات فوضعت في أكياس نايلون .

2-الايوساط الزرعيه المستعملة:

استخدم الوسط أزرعي (البطاطا دكستروز اكار Potato Dextrose Agar P.D.A) والمحضر بعبوة جاهزة من شركة ديفكو بواقع (39 غم/لتر) وتم تعقيم الوسط أزرعي في المؤصده Autoclave (تحت درجة حرارة 121م° وضغط 15 باوند/انج² لمدة 15 دقيقه)، وأضيف المضاد الحيائي Chloramphenicol لتثبيط النمو البكتيري بواقع (25ملغم/لتر)

3-طرائق عزل الفطريات:-

أ-طريقة الغرفة الرطبة Moist Chamber / تم جلب العينات وغسلها بماء الاساله لإزالة الاتربه والأوساخ العالقة بها بعد ذلك قطعت إلى أجزاء صغيره وهذه الأجزاء قسمت إلى مجموعتين الأولى عقت بالماء المقطر والثانية بالماء المقطر المضاف إليه مادة (هايبوكلورات الصوديوم تركيز 0.1)، لمدة تتراوح ما بين 1-3 دقيقه بعدها أخرجت ووضعت على أوراق ترشيج لغرض تجفيفها بعدها نقلت إلى أطباق بلاستيكيه حاويه على أوراق

ترشيح معقمه ومبلة بماء مقطر معقم وحضنت الأطباق تحت درجة حرارة 27 درجة مئوية ولمدة تراوحت ما بين 14-4 يوم حسب اختلاف الانواع المعزولة (وقد تصل الفترة الزمنية لنمو بعض الأنواع الفطرية باستخدام هذه الطريقة إلى 30 يوماً).

ب-طريقة العزل المباشر / Direct Plate Method

اتبعت نفس الاجراءات المتبعة في الطريقة السالفة الذكر الا ان العينات هنا تزرع على سطح اطباق بلاستيكية حاوية على الوسط الزراعي (P.D.A.) المضاف اليه المضاد الحيوي Chloramphenicol لمنع نمو البكتريا بعد ذلك حضنت الاطباق المزروعة في الحاضنة تحت درجة حرارة 27 درجة مئوية ولمدة تراوحت ما بين 7-4 ايام (Warcup,1950).

ج-طريقة التخفيف /Dilution Method

أجريت عملية التخفيف لعينات التربة حيث أجريت سلسلة تخفيف عليها وفي النهاية أخذت كمية (1 مللتر) من التخفيف 10000/1 و التخفيف 100000/1 ونشرت على سطح طبق بلاستيكي حاوي على الوسط الزراعي P.D.A. ونقلت إلى الحاضنة تحت درجة حرارة 27 درجة مئوية لمدة 7-4 أيام تقريباً وحسب ما ورد في Baldani واخرون (1986).

4-فحص وتشخيص الفطريات المعزولة

تم تنقية العزلات الفطرية باستخدام طريقة طرف الخيط الفطري Hyphal Tip (وذلك باستخدام الثاقب الفليني والـ Needle) وشخصت بالاعتماد على مجموعة من مراجع التصنيف المعتمده وهي :

Ellis,(1971);Booth,1971;Domasch,*et.al.*,(1980); Hoog & Guarro, (1995); Sivanesan , (1987) ; Barnett, &Barry , (1972) ; Tsuneo,(2002) ;Christian&Gary,(2002) ; John&Breet(2006) .John I.Pitt(1988).

النتائج:-

تم في الدراسة الحالية عزل وتشخيص (43 نوعاً) من الأنواع الفطرية والتي كانت تعود إلى (24 جنساً) من ثلاثة مواقع لمبازل حقول الرز في محافظة النجف الاشرف وهي موضحة في الجدول رقم (1) جدول (1) يمثل النسبة المئوية وعدد العزلات للأنواع الفطرية المعزولة من حقول الرز في محافظة النجف الاشرف ومنه يتضح ان الفطر *Aspergillus fumigatus* كان الأكثر تكراراً من حيث عدد العزلات إذ ظهر في (8 عزلات وبنسبة 8.69% من المجموع الكلي للعزلات والبالغ 92 عزله) ويليه الفطر *Penicillium sp* إذ ظهر في (7 عزلات وبنسبة 7.60% من المجموع الكلي للعزلات)

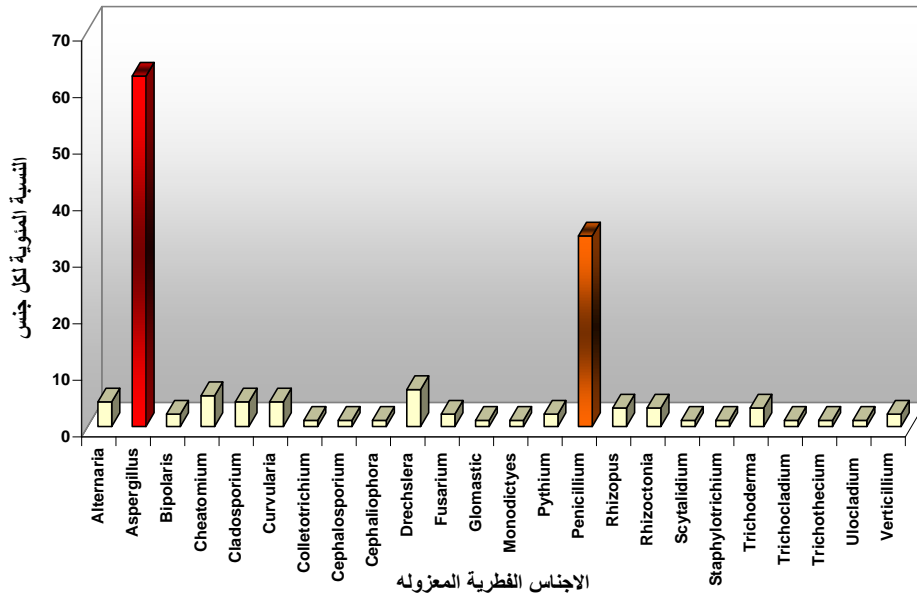
No.	Fungal species	Isolates No.	Isolates Ratio	No.	Fungal species	Isolates No.	Isolates Ratio
1	<i>Alternaria alternata</i>	3	%3.26	23	<i>Curvularia senegalensis</i>	2	%2.17
2	<i>Alternaria chlamydospora</i>	1	%1.08	24	<i>Colletotrichium dematium</i>	2	%2.17
3	<i>Alternaria dennsii</i>	1	%1.08	25	<i>Cephalosporium acremonium</i>	1	%1.08
4	<i>Alternaria diandicola</i>	1	%1.08	26	<i>Cephaliophora sp</i>	1	%1.08
5	<i>Aspergillus niger</i>	5	%5.43	27	<i>Drechslera papendorffii</i>	4	%4.34
6	<i>Aspergillus terreus,</i>	3	%3.26	28	<i>Drechslera halods</i>	2	%2.17
7	<i>Aspergillus flavus</i>	6	%6.52	29	<i>Fusarium oxysporium</i>	2	%2.17
8	<i>Aspergillus japonicus</i>	1	%1.08	30	<i>Gliomastic sp</i>	1	%1.08
9	<i>Aspergillus parasiticus,</i>	2	%2.17	31	<i>Monodictyes sp</i>	1	%1.08
10	<i>Aspergillus candidus</i>	1	%1.08	32	<i>Pythium sp</i>	1	%1.08
11	<i>Aspergillus fumigatus</i>	8	%8.69	33	<i>Penicillium chrysogenum</i>	6	%6.52
12	<i>Aspergillus nidulans</i>	1	%1.08	34	<i>Penicillium sp</i>	7	%7.60
13	<i>Bipolaris spicifera</i>	2	%2.17	35	<i>Rhizopus stolonifer</i>	2	%2.17
14	<i>Cheatomium</i>	1	%1.08	36	<i>Rhizoctonia sp</i>	1	%1.08

	<i>atrobrunneum</i>						
15	<i>Cheatomium fumicola</i>	2	%2.17	37	<i>Scytalidium lignicola</i>	1	%1.08
16	<i>Cheatomium globosum</i>	2	%2.17	38	<i>Staphylotrichium sp</i>	1	%1.08
17	<i>Cladosporium oxysporium</i>	2	%2.17	39	<i>Trichoderma sp</i>	2	%2.17
18	<i>Cladosporium herbarium</i>	2	%2.17	40	<i>Trichocladium asperum</i>	1	%1.08
19	<i>Cladosporium spongiosum</i>	1	%1.08	41	<i>Trichothecium sp</i>	1	%1.08
20	<i>Curvularia lanta</i>	2	%2.17	42	<i>Ulocladium chartarum</i>	2	%2.17
21	<i>Curvularia tuberculata</i>	1	%1.08	43	<i>Verticillium sp</i>	1	%1.08
22	<i>Curvularia verruculosa.</i>	2	%2.17				

أما الجدول (2) فيوضح النسب المئوية وعدد العزلات لأنواع الفطرية التابعة للجنس *Aspergillus spp* ومنه يظهر ان النوع *Aspergillus fumigatus* كان أكثرها تكراراً إذ ظهر في (8 عزلات) و نسبته (29.6 %) من المجموع الكلي للعزلات والبالغ (27 عزله) .

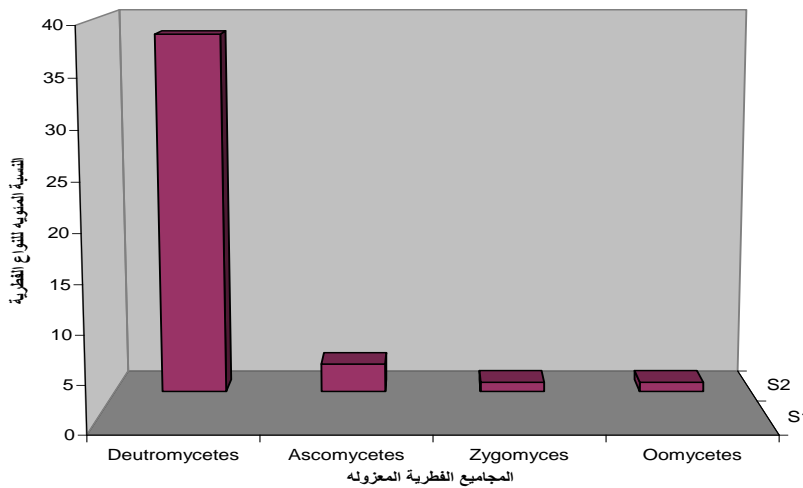
No.	<i>Aspergillus species</i>	No. of Isolate	Rate of Isolate
1	<i>Aspergillus niger</i>	5	%18.5
2	<i>Aspergillus terreus,</i>	3	%11.1
3	<i>Aspergillus flavus</i>	6	%22.2
4	<i>Aspergillus japonicus</i>	1	%3.7
5	<i>Aspergillus parasiticus,</i>	2	%7.4
6	<i>Aspergillus candidus</i>	1	%3.7
7	<i>Aspergillus fumigatus</i>	8	%29.6
8	<i>Aspergillus nidulans</i>	1	%3.7

أما الشكل رقم (1) فيمثل النسبة المئوية لعدد الأجناس الفطرية المعزولة ومنه يظهر إن الفطر *Aspergillus spp.* هو الأكثر تكراراً من بين الأجناس الفطرية الأخرى إذ بلغ نسبة تواجده حوالي (29.4%) تقريباً من المجموع الكلي والبالغ (92 عزله فطرية) ويليه الفطر *Penicillium spp.* بنسبة (14.1%) تقريباً من المجموع الكلي للعزلات الفطرية والبالغ (92 عزله).



شكل رقم (1) يمثل النسبة المئوية للاجناس الفطرية

أما الشكل رقم (2) فانه يمثل النسبة المئوية للمجاميع الفطرية المعزولة في الدراسة الحالية ومنه يتبين إن مجموعة الفطريات الناقصة هي أكثر المجاميع الفطرية تكراراً في جميع المواقع قيد الدراسة إذ شكلت نسبة (88.4%) تقريباً من المجموع الكلي للأنواع الفطرية والبالغ (43 نوعاً) ويليها مجموعة الفطريات الكيسية إذ شكلت ما يقارب (6.9%) من المجموع الكلي للأنواع الفطرية .



شكل رقم (3) النسبة المئوية للمجاميع الفطرية المعزولة في الدراسة

المناقشة:-

نلاحظ من خلال النتائج التي توصلنا إليها أن الأنواع الفطرية المعزولة كانت تنتمي إلى صفوف مختلفة، حيث سجلت الفطريات الناقصة النسبة الأكبر منها إذ بلغ عددها (38 نوعاً) أما الفطريات الكيسية فقد بلغ عددها (3 أنواع) وهذه النتائج تتفق مع ما توصل إليه Muhsin و Abdulkader (1995) حيث تمكنا من عزل مجموعة من الفطريات المصاحبة لنبات القصب وكان من بينها قرابة (14 نوع) من الفطريات الناقصة من

المجموع الكلي والبالغ (20 نوع) وتتفق أيضاً مع ما توصل إليه Van Ryckegem وآخرون (2005) فقد عزلوا (114) نوع من الفطريات كان من بينها (56 نوعاً) من الفطريات الكيسية و (52 نوعاً) من الفطريات الناقصة، وكذلك عزل العديد من الباحثين أنواعاً من الفطريات من نبات القصب والرز ومنهم (Abdulkader Apinis ; 1995، وآخرون، 1972؛ Schmidt، 1974) حيث جاءت نتائج الدراسات المذكورة أنفاً متفقة مع ما توصلنا إليه في الدراسة الحالية والتي أكدت وجود العديد من الأجناس الفطرية الشائعة التي تستوطن مختلف أجزاء نباتي القصب والرز المتواجدة في مبالز حقول الرز مثل *Aspergillus* و *Penicillium* و *Alternaria* و *Cladosporium* و *Drechslera* و *Cheatomium*. كما جاءت نتائج هذه الدراسة مطابقة أيضاً لما وجدته Abdulkader و Muhsin (1995) حيث كشفت عن الفطريات *Aspergillus* و *Penicillium* و *Alternaria* و *Cladosporium* و *Drechslera* و *Cheatomium* و *Stachybotrys* والتي كانت نامية على أوراق وسيقان وجذور نبات القصب.

إن العدد الأكبر من الأنواع الفطرية المعزولة في الدراسة كانت تعود بالدرجة الأولى إلى الفطريات الناقصة وسبب ذلك قد يكون قدرتها على النمو في مختلف الأوساط الزرعية سواء كانت طبيعية أم اصطناعية وهذا عائد إلى الاحتياجات الغذائية المحدودة والقليلة والقابلة العالية على إنتاج الوحدات التكاثرية بإعداد كبيرة كما إن إمكانية التكيف للبيئة المائية مكنها من التواجد في مثل هذه البيئات، كما وإن لكونيدياتها القدرة على الانتشار لمسافات بعيدة جداً، وكذلك إمكانية بعض الأنواع لمقاومة الظروف البيئية القاسية من خلال امتلاكها لصبغة الميلانين الغامقة (Domasch وآخرون، 1980). إن من أهم الفطريات الناقصة التي تكرر ظهورها في الدراسة الحالية هي الفطريات الغامقة *Dematiaceous fungi* وأهمها الجنسين *Aspergillus spp.* و *Penicillium spp.* وتأتي الفطريات الكيسية في الدرجة الثانية من حيث الأهمية في الدراسة الحالية فقد تم عزل وتشخيص ثلاثة أنواع جميعها تعود للفطر *Cheatomium spp.* والذي هو من الفطريات الكيسية المكونة للأجسام الثمرية القارورية *Pyrenomycetes* وهذا يتفق مع النتائج التي توصل إليها Abdulkader و Muhsin (1995)

References:-

- Abdullah, S.K.(1983).New and noteworthy Ascomycetes from Iraq.*Trans.Brit.Mycol Soc.*81.393-386.
- Al-Edany, T. Y.(1978).On the ecology of common reed *Phragmites australis* Trin. In shatt al-Arab .*M.ScThesis.*(inarabic).Univ. of Basrah,Iraq.
- Apinis, A.E.,Chester,C.G.C.and Tailigoola,H.K.(1972).Microfungi colonizing submerged culms of *Phragmites communis* Trin.*Nova Hedwigia.*23:473-480.(Cited by Muhsin andAbdulkader,1995).
- Booth,C.(1971).The genus *Fusarium* .Commonwealth MycologicalInstitute. Kew, Surrey,England.
- Barnett,H.L. &Barry,B.(1972),Illustrated Genera of Imperfecte Fungi .printed in the U.S.A.
- Baldani, V.L.D.,Alvarez,M.A.,DEB,Baldani,J.I.andDobereiner,J.(1986) Establishment of inoculated *Azospirillum spp.* In the Rhizosphere and in Root of field grown Wheat and Sorghum Plant and Soil.90:35-46
- Christian,P.Kubicek&Gary,E.Harman. (2002),Trichoderma &Gliocladium .Volum1. published in the taylor&francis e.library,2002.
- Domsch, K.H,Gams,W.and Enderson,T.(1980).Compendium of soil fungi.1,pp.859. Academic press ,London.
- Ellis,M.B.(1971),Dematiaceous Hyphomycetes.1st published,common wealth Mycological institute ,sEngland
- Hoog, G.S., and Guarro,J.(1995).Atlas of clinical fungi.GentraalbureauVoor Schimmel cultures.Universitat Rovera in Virgili,Spain,pp.720.
- John F.Leslie&Brett A.Summerell,(2006).The *Fusarium* Laboratory Manual. Blackwell Publishing Professional

- .Pitt,(1988).A Laboratory Guide to Common *Penicillium* Species.copyright,commonwealth scientific and industrial research orgnaziation.
- Kohlmeyer,J.,Volkman-Kohlmeyer,B.(2003).*Octopodotus tupendous* gen.and sp. nov.and *Phyllachora paludicola* sp.nov.,two marine fungi from *Spartina alterniflora* .*Mycologia*,95:117-123.
- Muhsin,T and Abdulkader,M.(1995).Ecology of fungi associated with *Phragmites australis* in Iraq.*Abhath Al-Yarmouk*..4:31-50.
- Schmidt, I.(1974).Hoherer meerespilze der Ostsee.*Biologische Rundschau*. 12:96-112.(Cited by Shearer, 1978).
- Sivanesan,A.(1987),Graminicolous Species of *Bipolaris*,*Curvularia Drechslera*, *Exserohilum* and their teleomorphs.C.A.B.International,Wallingford,oxon
- Tsuneo,W.(2002),Pictorial Atlas of Soil &Seed Fungi(Morphologies of cultured fungi and key to species)2nd.ed. printed in the United States America.
- Van Ryckegem,G. and Verbeken ,A.(2005).Fungal diversity and community structure on *Phragmites australis* along a salinity gradient in the Scheldt estuary (Belgium).*Nova Hedwigia*,80:173-197(Abstract)
- Warcup,J.H.(1950).The Soil Plate method for Isolation of Fungi from Soil .*Natur*.London.66:118-

Isolation and Identification of some Fungal groups in three sites drainage of Rice fields in Al-najaf Province

**Mohammed Muhsien Al-Rufae
Kufa University/College of Science**

Abstract:-

Isolation and Identification of Fungal Species from three sites of Rice fields drainage in Al-najaf Province has been studied, the number of Isolated Species were (43) belonging to(24 Genera) ,the number of Anamorphic Fungi was appeared in high frequency with total number(38 Species) belonging to (21 Genera)with ratio (88.4%)from total number of Isolated Species, next group was Ascomycetes (3 species)of one genus *Cheatomium spp.* (6.9%),the predominant Fungal Genus was *Aspergillus spp.* Which is found in (27 Isolated) (29.4%) and followed by genus *Pencillium spp.*(13 Isolated)(14.1%)