

فعالية عزلات من الفطر *Trichoderma spp.* في زيادة جاهزية الفسفور وبعض العناصر الصغرى المغذية للنبات

فالح حسن سعيد ، هادي مهدي عبود ، أسامه عبد الله علوان و حامد شلاكة مغير
وزارة العلوم والتكنولوجيا/ دائرة البحوث الزراعية

الخلاصة

نفذت الدراسة لتقييم كفاءة ثلاث عزلات محلية من الفطر *Trichoderma spp.* (T.9,T.26,T.28) في زيادة جاهزية الفسفور وبعض العناصر الصغرى المغذية للنبات (Cu,Fe,Zn,Mn) كإحدى الآليات المفترضة لتفسير كفاءتها التحفيزية لنمو النبات .

أظهرت النتائج قابلية العزلات T.28,T.26,T.9 على اذابة صخرالفوسات وزيادة جاهزية عنصر P في مزارعها السائلة اذ بلغ تركيزه (0.53,1.34,1.57) ملغم/لترعلى التوالي مقارنة (0.02) ملغم/لتر في معاملة المقارنة.

كما أظهرت النتائج قابلية العزلات المختبره (T.28,T.26,T.9) على اذابة مركبا MnO_2 في الوسط الزراعي السائل اذ بلغ تركيز Mn الذائب (3.46,3.03,3.03) ملغم/ لتر و مركب Zn الذائب (37.63,31.63,36.62) ملغم/ لتر للعزلات المختبره وعلى التوالي قياسا ب (28.7, 2.3) ملغم/لتر في معاملة المقارنة, فيما لم تسجل زياده في جاهزية عنصري Fe و Cu بل لوحظ انخفاض في تركيز كل منهما في المزارع السائلة للعزلات المختبره .

Effectivity of three isolaty of *Trechoderma spp.* In increaning phosphor and some micronutrients avaliability

Faleh H. Saeed , Haddy M. Abood , Usana A. Alwan & Hamed S. Magir
Ministry of Science and Technology

Abstract

This study was conducted to evaluate the efficiency of three local isolates of the fungi *Trichoderma spp.*(T.9,T.26,T.28) in increasing availability phosphor and some micronutrients (Mn, Zn, Fe and Cu) as one of the supposed mechanism of growth enhance.

The results revealed the ability of the three tested isolates in increasing the solubility of Rock phosphate and increasing the (P) availability which recorded (0.53,1.34 and 1.57) mg/ L respectively compared to 0.02 mg/L at in control treatment.

Results also showed that isolates T.9,T.26 and T.28 soluble of MnO_2 in broth culture (3.46 ,3.03 and 3.03)mg/L and ZnO (37.63, 31.63 and 36.62) mg /L as compared to (28.7and 2.3) mg/L for two element in control treatment.

No increment in Cu and Fe solubility was recorded .

المقدمة

يعد الفطر *Trichoderma spp.* من الفطريات الناقصة واسعة الانتشار رمية التغذية برزت أهميته مطلع القرن الماضي عندما سجل (1) فعاليته كعامل مكافحه أحيائيه ضد مسببات أمراض النبات الفطريه ومما زاد من أهميته التأثير الايجابي لبعض أنواعه في زيادة نمو النباتات الملحقه بها (2) و(3) . وأعتادا على فعاليته الاحيائيه في وسط الزراعه فقد أقترح عدد آليات مختلفه وقد تعمل بشكل متداخل لتحفيز نمو النباتات(4) و(5) وهي :-

- 1- السيطرة على المسببات الممرضه الثانويه (2) .
- 2- انتاج الهرمونات النباتيه المحفزه للنمو (6) و(7) .
- 3- زيادة امتصاص ونقل المعادن المغذيه للنبات (4) و(8).
- 4- تحويل المواد العضويه المعقده الى مكوناتها البسيطه المفيده للنبات (9).
- 5- زيادة تحمل النبات لظروف الاجهاد البيئي (2) .
- 6- زيادة جاهزية العناصرالمغذيه للنبات (10) و(11) , أذ تتعرض العناصر المعدنيه في الترب الى عدة تحولات وانتقالات كيميائيه وصور معقده من الاشكال غير الذائبه الى الذائبه التي تؤثر في قابلية وصولها وامتصاصها بواسطة الجذور وتؤدي الاحياء المجهرية ومنها الفطر *Trichoderma spp.* دورا مهما في اذابة وزيادة جاهزية العديد من مغذيات النبات وبالتالي فهي تؤثر في الحاله التغذويه للنبات ومقاومته للامراض(4) و(11). وقد أجمعت العديد من البحوث على ثلاثة آليات قد تتداخل فيما بينها لاجل زيادة جاهزية العديد من العناصر المغذيه للنبات , الاليه الاولى هي تحميض الوسط Acidification من خلال خفض الداله الهيدروجينيه (pH) له حيث وجد (12) ان للفطر *Trichoderma spp.* المقدرة على اذابة الفسفور وزيادة جاهزيته من مركب ثلاثي فوسفات الكالسيوم نتيجة افرازه للاحماض العضويه, فيما وجد (4) ان زيادة حموضة الوسط الزراعي ليست الاليه الرئيسيه لاذابة الفسفور وبعض العناصر الاخرى وانما هنالك آليات اخرى تشترك في ذلك . أما الاليه الثانيه فهي تكوين الحاله المخلبيه لبعض العناصر نتيجة الايض الحيوي للفطريات (12) , فقد وجد(10) ان لاحدى عزلات الفطر *Trichoderma harzianum* المقدرة على زيادة جاهزية الحديد من خلال تحويله الى حالته المخلبيه وأختزاله من Fe^{+3} الى Fe^{+2} الجاهز للامتصاص , أما الاليه الثالثه لزياده جاهزية العناصر المعدنيه فهي آلية الاكسده ولاختزال فقد أشار (13) الى ان لبعض الفطريات المقدرة على افادة النبات من خلال جهد الاكسده والاختزال oxidation redaction potential في محيط الجذور أذ يؤدي الانخفاض فيه الناتج عن نمو الفطريات وخاصه *Trichoderma spp.* الى أختزال أيونات Zn^{+2} , Cu^{+2} , Mn^{+3} وتحويلها الى Zn^{+1} Mn^{+2} , Cu^{+1} , الجاهزه للامتصاص من قبل جذور النبات بلاضافه الى ان فعالية أنزيمات الاختزال تزداد في ظروف نقص الحديد والنحاس في المحيط الجذري (5).

لذا هدفت الدراسه الى التحري مختبريا عن فعالية ثلاث عزلات من الفطر *Trichoderma spp.* هي (T.28 , T.26 , T.9) في اذابة وزيادة جاهزية عنصر الفسفور وبعض العناصر الصغرى المغذيه للنبات (Cu ,Fe ,Zn ,Mn) .

المواد وطرائق العمل

نفذت دراسته مختبريه في وزارة العلوم والتكنولوجيا في عامي 2002 - 2003 و استخدمت فيها ثلاث عزلات محليه من الفطر *Trichoderma spp.* (T.28,T.26,T.9) تم الحصول عليها من قسم المبيدات الاحيائية - دائرة البحوث الزراعيه حيث أثبتت كفاءه عاليه في تحفيز نمو النباتات الملحقه بها في دراسته سابقه (14) ولدراسة قابلية هذه العزلات في اذابة المركبات غير الذائبه من (صخر الفوسفات , ZnO , CuO Fe₂O₃ , MnO₂) اتبعت طريقة (10) والتي تتلخص بأخذ 50 ملغم من كل من الصور السابقه واضافته الى 100 مل من الوسط الزراعي السائل (Sucrose Yeast extract) (30غم/لتر سكرورز ، 1غم / لتر مستخلص الخميره) في دوارق حجم 250 مل ، عقمت بجهاز الموصده على درجة حراره 121م° وضغط 1.5 كغم /سم³ لمدة 15 دقيقه ، وتم بعد ذلك قياس الداله الهيدروجينيه (pH) للوسط الزراعي الحاوي على المعادن بأستخدام pH meter ، لقحت الدوارق بواقع قرص واحد قطر 5 ملم من كل من العزلات المختبره مع ترك دوارق أخرى بدون تلقيح للمقارنه وكررت كل معاملته ثلاث مرات، ثم حضنت بجهاز حضن هزاز (shaker incubater) على درجة حراره 25م° لمدة 2، 4 و 6 أيام ثم رشحت محتويات كل دورق بورق ترشيح حجم (5) Whatman ومن ثم بمرشح دقيق حجم 0.22 ملي مول وقيست درجة حموضته (pH) ، ثم حمض راشح المزراع الصافي بأضافة 3 قطرات من حامض Hcl لمنع ضياع الايونات الحره وكذلك لايقاف النمو الفطري لحين قياس تركيز العناصر الذائبه فيه حيث قدر الفسفور بأستخدام جهاز تحليل الطيف الضوئي Spectrophotometer أما العناصر الصغرى (Mn,Zn,Fe,Cu) فقد تم قياس تركيزها بأستخدام جهاز المطياف الذري Atomic Absorption spectrophotometer .

النتائج والمناقشة

دراسة قابلية عزلات الفطر *Trichoderma spp.* في إذابة الصخر الفوسفاتي

أظهرت نتائج تقييم قابلية عزلات *Trichoderma spp.* (T.28 ,T.26 ,T.9) في إذابة الصخر الفوسفاتي في الوسط الزراعي السائل (SY) Sucrose Yeast extract إن هذه العزلات تباينت في مقدرتها على إذابة الصخر الفوسفاتي ومن ثم زيادة جاهزية p الا انها جميعا تفوقت معنويا (P=0.05) على معاملة المقارنه (بدون تلقيح) إذ بلغ معدل تركيزه (1.34 ,1.57,0.53) ملغم/ لتر على التوالي قياسا بالتركيز (0.02) ملغم/لتر في معاملة المقارنه (جدول 1) .

أما فيما يخص عنصر Ca فقد بينت النتائج ان العزلات أحدثت زياده معنويه بتركيزه في الوسط الزراعي قياسا مع معاملة المقارنه رغم تباين تأثيرها إذ بلغ معدل تركيزه (34.6 , 17.9 , 28.0) ملغم / لتر للعزلات الثلاث أعلاه وعلى التوالي مقارنه بتركيزه في معاملة المقارنه (12.5) ، أن هذه النتائج التي تؤكد مقدرة العزلات الثلاث المختبره على اذابة صخر الفوسفات وبالتالي زيادة جاهزية الفسفور والكالسيوم في الوسط الزراعي السائل تتفق بنتائج (2) و (4) و (11) لكن التباين التي أظهرته بين العزلات على إذابة P من جهة و Ca في الوسط الزراعي السائل من جهة أخرى ربما يعود الى طبيعة كل عزله وقابليتها على مسك P في كتلتها الحيويه Biomass وهو ماأكده (10) حيث وجد أن زيادة تركيز Ca في الوسط الزراعي يرافقه انخفاض في تركيز P فيه وهذا ينطبق على سلوك العزله T.9 وقد علل ذلك بأن الكتله الحيويه للفطر عملت على سحب عنصر P من الوسط الزراعي للمساهمه في بناء كتلتها الحويه حيث يعد الفسفور من العناصر الحيويه المهمه لمختلف الكائنات الحيه ومنها الفطريات (12) .

جدول (1) قابلية بعض عزلات الفطر *Trichoderma spp.* على إذابة الصخر الفوسفاتي

العناصر المذابه (ملغم / لتر)		pH	موعد القياس بعد (يوم)	المعاملات
Ca	P			
7.60	0.02	7.00	2	Control
18.20	0.03	5.50	4	
11.70	0.01	6.80	6	
12.50	0.02	6.43		المتوسط
43.10	0.70	8.30	2	T.9
41.50	0.60	8.00	4	
19.40	0.30	6.90	6	
34.66	0.53	7.73		المتوسط
17.71	1.40	8.40	2	T.26
17.92	1.52	8.30	4	
18.21	1.81	8.00	6	
17.94	1.57	8.23		المتوسط
19.29	0.73	7.20	2	T.28
33.00	1.71	5.90	4	
31.90	1.61	6.00	6	
28.06	1.34	6.63		المتوسط
21.92	0.71	7.72	2	متوسط موعد القياس
27.65	0.96	6.92	4	
20.30	0.93	6.92	6	
0.04	0.02	0.13	L.S.D. 0.05 للمعاملات	
0.04	0.02	0.11	L.S.D. 0.05 للأيام	
0.08	0.04	0.23	L.S.D. 0.05 للمعاملات والأيام	

أما بالنسبة لتحديد أفضل مده زمنيه لازمه لأحداث أكبر جاهزيه لهذين العنصرين فقد بينت النتائج ان مدة 4 أيام هي المثلى لأذابة صخر الفوسفات وتحرير عنصري P و Ca وهذه النتيجة تكاد تتفق مع ما توصل اليه (10) الذي وجد ان أفضل اذابه لصخر الفوسفات حدثت بعد 3 أيام من أضافته للوسط الزراعي السائل الملحق بأحدى عزلات الفطر *Trichoderma harzianum*.

أما بالنسبة للتداخل بين نوع العزله وأفضل مده لازمه لأحداث أكبر جاهزيه من عنصري p و Ca فقد بينت النتائج ان لكل عزله مده زمنيه مثلى لأحداث تلك الجاهزيه أذ تطلب تأثير العزلات T.28, T.9, T.26 مده قدرها (2, 6, 4) يوما على التوالي لأحداث أكبر جاهزيه من كلا العنصرين وهذا قد يعود الى اختلاف أنواع العزلات وبالتالي اختلاف افرازاتها الايضية والتي قد تكون المسببه لهذه الجاهزيه وهو ما أشار اليه (4) و (10). وفيما يخص قابلية العزلات المختبره في خفض الداله الحامضيه للوسط الزراعي كما هو مفترض لزيادة ذوبان صخر الفوسفات فلم يسجل تأثيرا معنويا لأي من العزلات الثلاث في زيادة حموضة الوسط بل العكس فقد بينت النتائج ان العزلتين T.26 و T.9 أحدثتا زياده معنويه في قيمة معدل (pH) للوسط الزراعي اذ بلغ 7.74 (8.24,) على التوالي قياسا بمعامله المقارنه والعزله T.28 التي لم تختلف معنويا عن معامله المقارنه في قيمة (pH) اذ بلغ (6.4, 6.3) على التوالي, أن هذه النتيجة تدل على عدم وجود علاقه بين اذابة صخر الفوسفات

من قبل العزلات المختبره وقيمة تفاعل الوسط الزراعي وهي تتفق مع نتائج (4) و (10) وذلك ربما يعود الى ان كمية الحامض الناتجة لا تكفي لاذابة الصخر الفوسفاتي.

دراسة قابلية عزلات الفطر *Trichoderma spp.* في إذابة بعض العناصر الصغرى المغذية للنبات
أظهرت نتائج إختبار قابلية العزلات T.9, T.26 و T.28 في إذابة الصيغ الكيميائية غير الذائبة الأتية CuO , Fe_2O_3 , ZnO , MnO_2 في الوسط الزراعي السائل SY وعلاقة ذلك بقابليتها المفترضة لخفض الداله الحامضيه للوسط الزراعي ,أن العزلات الثلاث تفوقت معنويا في مقدرتها على زيادة جاهزية عنصري Mn و Zn قياسا مع معاملة المقارنه لكنها تباينت في هذه المقدره فقد أظهرت العزله T.28 تفوقا معنويا ($P=0.05$) على العزلتين T.9 و T.26 إذ بلغ معدل تركيز عنصري Mn و Zn الجاهز (3.03, 3.03, 3.46) (31.6, 36.6 (28.7) ملغم/ لتر (37.6 ملغم/ لتر على التتابع قياسا بتركيز كل منهما في مزارع المقارنه الذي بلغ (2.3)(28.7) ملغم/ لتر وعلى التوالي (جدول 2)

جدول (2) قابلية بعض عزلات الفطر *Tichoderma spp.* على إذابة بعض العناصر المعدنية الصغرى.

العناصر المذابة ملغم / لتر				pH	موعد القياس بعد (يوم)	المعاملات
Cu	Fe	Zn	Mn			
14.00	0.50	28.50	1.50	6.20	2	Control
14.50	1.00	28.70	3.60	7.20	4	
16.30	1.90	28.90	1.80	6.60	6	
14.90	1.13	28.70	2.30	6.66		المتوسط
14.00	0.40	36.80	2.50	6.40	2	T.9
13.80	0.20	32.20	3.80	7.60	4	
13.70	0.30	40.90	2.80	7.20	6	
13.90	0.30	36.62	3.03	7.06		المتوسط
13.90	0.90	27.50	1.90	6.60	2	T.26
13.20	0.30	30.70	4.60	7.70	4	
13.60	0.30	36.70	2.60	7.20	6	
13.20	0.50	31.63	3.03	7.16		المتوسط
14.00	0.20	36.70	3.50	6.40	2	T. 28
12.20	0.10	31.10	3.60	7.60	4	
11.50	0.30	45.10	3.30	7.20	6	
12.50	0.20	37.63	3.46	7.06		المتوسط
14.00	0.50	32.37	2.35	6.40	2	متوسط موعد القياس
13.40	0.40	30.67	3.90	7.52	4	
13.50	0.70	37.89	2.61	7.05	6	
0.25	0.11	0.16	0.10	0.10		L.S.D. 0.05 للمعاملات
0.10	0.06	0.08	0.08	0.08		L.S.D. 0.05 للأيام
0.35	0.17	0.24	0.18	0.18		L.S.D. 0.05 للمعاملات والأيام

أن هذه النتائج التي تؤكد مقدرة العزلات المختبره على زيادة جاهزية عنصري Mn و Zn في المزارع السائله تتفق مع ما وجدته (2) الذي أكد أن للسلاسله T.22 من الفطر *Trichoderma harzianum* مقدره على زيادة جاهزية عنصري Mn و Zn في مزارعها السائله .

أما بالنسبة لتأثير العزلات الثلاث المختبرة على جاهزية عنصري Cu و Fe في مزارعها السائل فلم تظهر زيادة في جاهزيتها بل العكس لوحظ إنخفاض معنوي في تركيز كل منهما مقارنة بتركيزها في مزارع المقارنة وقد يعزى هذا الانخفاض إلى إمتصاصهما في الكتلة الحيوية لعزلات الفطر *Trichoderma* spp. (10) إضافة إلى احتمال عدم مقدرة هذه العزلات على زيادة جاهزيتها لكن ذلك يتناقض مع نتائج دراسته استخدمت هذه العزلات كلقاح لتحفيز إنبات بذور ونمو شتلات النارج حيث أكدت حدوث زيادة معنوية في جاهزية هذان العنصران في ترب الزراعة وفي المحتوى الكلي لكل منهما في المجموع الخضري للنباتات (14) وذلك يتماشى مع نتائج (10) الذي لم يجد لأحدى سلالات الفطر *T. harzianum* قابلية زيادة جاهزيتها في المزارع السائلة لكنه وجد أن لراشح مزرعة تلك السلالة المقدره على زيادة جاهزيتها من خلال مسك (خلب) الحديد وتحويله إلى الصورة المخلبية الذي يعد إحدى الصور الجاهزة للامتصاص من قبل جذور النبات وهي بالوقت نفسه غير جاهزة للمسببات المرضية للنبات وكذلك وجد نفس الباحث أن عنصر النحاس قد ازداد تركيزه نتيجة الدور الذي تلعبه أنزيمات الأكسدة والاختزال حيث تختزل Cu^{+2} إلى Cu^{+1} الجاهز للنبات ذو الدور الايجابي في عملية بناء الانزيمات ومنظمات النمو التي تحفز نمو النبات .

فيما لم تظهر النتائج أي مقدره للعزلات المختبرة على زيادة حموضة الوسط الزراعي بل العكس لوحظ إنخفاض حموضة الوسط لمزارع العزلات مقارنة بالمزارع غير الملقحة (معاملة المقارنة) وهذا يتفق مع ما أشار اليه (4) و (10) اللذين لم يجدوا أهميه لتحريض وسط الزراعة كآلية تفسر زيادة جاهزية بعض العناصر المهمة لنمو النبات ويعود ذلك إلى قلة كمية الحامض المنتجة مما يعني أن آليه أخرى أو أكثر ممكن أن تشترك في ذلك وهو ما أكدته (13) .

المصادر

- 1-Weindling, R. 1934. Studies on alethal principle effective in the parasitic action of *Trichoderma harzianum* on *Rhizoctonia solani* and other soil fungi. *Phytopathology*. 24: 1153-1179.
- 2-Windham, M. T.; Elad and Barker, R. 1986. Amechism for increased plant growth induced by *Trichoderma* spp. *Paytopathology*. 76: 518-521.
- 3-Irum Mukhtar 2008 influence of *Trichoderma* spp on seed germination in okra. *Mycopath* 6 (1&2): 47-50.
- 4-Harman G. E. 2000. Myths and dogmas of biocontrol change in parceptiions derived from research on *Trichoderma harzianum* T22. *Plant Dis Rep*. 84 (4): 377-393.
- 5-Mackenzie A. S., Bonnie, H. O., Terri, W. S. and Mark, T. W. 2000. Effect of delivery method and population size of *Trichodrma harzianum* on growth response. *Can. J. Microbiol*. 46: 730-735.
- 6-Bjorkman T.; L. M. Blanchard and G. E. Harman. 1998. Growth enhancement of shrunken -2 (sh2) sweet corn by *Trichoderma harzianum* 1292-22: effects of Environmental strees. *J. Am. Hortic. Sci*. 123: 35-40.
- 7-Hexon A. C., Lourdes M., Carlos C. and J. L. Bucio. 2009. *Trichoderma virens*, a Plant Beneficial Fungus, Enhances Biomass Production and Promotes Lateral Root Growth through an Auxin-Dependent Mechanism in *Arabidopsis*¹. *Plant Physiology* 149: 1579-1592.
- 8-Singh, V., Singh, P. N., Yadav, R. L., Awasthi, S. K. and K. Duttamajumder, K. S. 2010. Increasing the efficacy of *Trichoderma harzianum* for nutrient uptake

- and control of red rot in sugarcane. Journal of Horticulture and Forestry. 2 (4): 66-71.
- 9 - الحديثي , بهاء . 2002 . النشاط الانزيمي للفطر *Trichoderma harzianum* وتأثيره في نمو وحاصل نبات الطماطة. اطروحة دكتوراه.كلية الزراعة - جامعة بغداد.
- 10-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 & Microbiol. 65 (7): 2926-2933.
- 11- Rudresh, D. L.; M. K. and R. D. Prasad. 2005. Tricalcium phosphate solubilizing abilities *Tichoderma harzianum* in relation to P up take and growth and yield parameters of chickpea. Can. j. Microbiol. 51 (3): 217-222.
- 12-Anusuya, D. and Jayaraja, R. 1998. Solubilization of phosphorus by *Trichoderma viride*. current Science. 74 (5): 464-466.
- 13-Barker, R., Y. Elad and B. Sneh. 1986. Physical, biological and host factors in iron competition in Soil P. 77-84. In T. R. swinburne (ed). Iron siderophores and plant disesases. Plenum Publishing crop. New York, N. Y.
- 14- السامرائي، فالح حسن سعيد. 2002. تأثير عزلات الفطر *Trichoderma spp.* في إنبات بذور ونمو شتلات النارنج (*Citrus aurantium*). رسالة ماجستير. كلية الزراعة. جامعة بغداد.