دور بعض المعادن الثقيلة في تأثير كل من بكتريا *Rhizobium leguminosarum* و *Bacillus subtilis* في نمو بعض الفطريات

محمد إبراهيم الطائي

كلية علوم البيئة وتقاناتها

جامعة الموصل

الاستلام	القبول
٢٩ / ٠٤ / ٢٠٠٨	١٥ / ٠٨ / ٢٠٠٨

Abstract

The effect of growth of two bacterial species *Rhizobium leguminosarum* biovar *vicia* and *Bacillus subtilis* upon growth of five soil species, *Fusarium solani*, *Aspergillus fumigatus*, *Alternaria alternata*, *Stemphylum sp.*, *Rhizoctonia solani*, was investigated here in rather than the influence of growth of either bacterial species on the other.

Both *B. subtilis* and *R. leguminosarum* have inhibited growth of total five fungal species with high percentages, on the other hand *B. subtilis* inhibited *R. leguminosarum* growth and dominated it.

We've obtained different results than those above after adding heavy metals represented with compounds $FeCl_3$, $ZnCl_2$ and $CuSO_4$ with two concentrations each, though some fungi have grown better with the presence of $CuSO_4$, whereas $ZnCl_2$ has inhibited growth of all microorganism species included within this study.

Presence of heavy metal in culture medium is not toxic in small quantities, rather it may induce growth and rate of some bioactivities.

الخلاصة

أجري دراسة تأثير كلاً من بكتريا *Rhizobium leguminosarum* biovar *vicia* و *Bacillus subtilis* على نمو خمسة انواع من الفطريات المعزولة من التربة وهي *Fusarium solani* و *Aspergillus fumigatus* و *Alternaria alternata* و *Stemphylum sp.* و *Rhizoctonia solani* كذلك تأثير احداهما على الاخرى. ادت كلاً

من بكتريا *R. leguminosarum* و *B. subtilis* الى تثبيط نمو معظم الفطريات قيد الدراسة كما أدت *R. leguminosarum* إلى تثبيط نمو بكتريا *B. subtilis* والسيادة عليها. وقد تغيرت هذه النتائج بعد اضافة المعادن الثقيلة المتمثلة بالمركبات FeCl3 و ZnCl2 و CuSO4بتركيزين لكل منهما إذ تمكنت بعض الفطريات من النمو بصورة جيدة عند اضافة CuSO4 في حين ادى المركب ZnCl2 إلى تثبيط نمو جميع الأحياء الدقيقة قيد الدراسة. إن إضافة المعادن الثقيلة لايكون ساما اذا اضيفت بتراكيز قليلة بل قد يحفز على النمو وزيادة نشاط بعض الفعاليات الايضية.

المقدمة

يعد وجود المعادن الثقيلة في التربة بكميات كبيرة دليل على تلوث هذه التربة اذ إن من خصائص التربة الطبيعية احتواءها على المعادن الثقيلة بكميات قليلة جداً وحاجة الأحياء المجهرية لها تكون ضئيلة (1). لاينتج تلوث التربة عن طريق المصادر الصناعية فقط وانما يحدث أيضا عن طريق ألعمليات الزراعية التي تتضمن استخدام المبيدات والمخصبات الكيمياوية فضلا عن الري بواسطة مياه الفضلات ومخلفات الحيوانات التي بمجموعها تزيد من تراكيز المعادن الثقيلة في التربة (٢). تضم التربة فضلا عن المكونات غير الحية مكونات حية وهي الاحياء المجهرية وعندما يعيش اكثر من جنسين في علاقة مغلقة في نظام بيئي قد يحدث بعض التداخلات فيما بينها، حيث أنه اذا كانت هناك ظروف بيئية مختلفة وملائمة لكل نوع من الاحياء المجهرية فإنه لاتوجد فرصة لاي نوع من انواع التداخل فيما بينها وهذا قد يعود الى قلة كثافة الخلية وانخفاض الفعالية الايضية وحدوث الحيادية بين الأنواع، على حين إن هناك احياء مجهرية تكون ذات طبيعة تضادية ضد احياء اخرى بوجود عدة عوامل تتحكم بهذه الطبيعة منها درجة الحرارة وتوفر المياه والعناصر الغذائية. وهناك عدة بحوث تشير الى ان العناصر الكيميائية التي تدخل ضمن الوسط الذي تعيش فيه الكائنات المجهرية من الممكن ان تؤثر في طبيعة التداخل بينها بما في ذلك من تشجيع انتخابي يؤثر على تركيب المجتمع الميكروبي وسيادة بعض الانواع فيها. إن تلوث التربة ببعض المعادن الثقيلة من الممكن ان يعزز زيادة بعض الانواع على حساب انواع اخرى في نفس البيئة (3). شخصت الأحياء المجهرية على انها مختلفة الحساسية لوجود المعادن الثقيلة في التربة، إن اخذ وتجميع المعادن الثقيلة في الخلية يعتمد على نوع المعدن ودرجة الامتصاص ونوع المركب الذي يوجد فيه المعدن الثقيل وعلى العوامل البيئية. يرتبط اخذ الاحياء المجهرية للمعادن الثقيلة مع الانتقال المتخصص لايونات المعدن المتضمن للبروتينات ومواقع الحوامل في الغشاء وطرح المركبات الجيلاتينية والتي ترتبط وتنتقل ذائبة في البيئة واذا كان تجمع المعادن الثقيلة غير متخصص فانها تتجمع على شكل معقدات في بوليمرات غشاء الخلية، هناك معلومات قليلة عن طبيعة العلاقة التي توجد بين

الكائنات المجهرية في التربة الملوثة بالمعادن الثقيلة (٤).
تهدف هذه الدراسة هو اختبار تاثير بعض المعادن الثقيلة على التداخل والنمو بين الاحياء المجهرية المعزولة من التربة، فضلاً عن تأثير الوسط الذي يحوي المعدن على امتدادات الهايفات الفطرية والقدرة على السيطرة على الممرضات النباتية.

مواد وطرق العمل

العزلات البكتيرية:

استخدم عزلتين من بكتريا التربة وهما *Rhizobium leguminosarum* biovar *vicia* وبكتريا *Bacillus subtilis* حيث عزلت الاولى من العقد الجذرية لنبات الباقلاء على وسط اكار المانيتول ومستخلص الخميرة Manitol Yeast Extract Agar (MYA) (5) إذ تكون هذه البكتريا متخصصة على نبات الباقلاء.

أما عزلة *Bacillus subtilis* فقد تم عزلها من بذور البزاليا المصابة حيث تم زراعة بعض اجزاء الثمرة المصابة على وسط الاكار المغذي Nutrient Agar (NA) عند درجة حرارة (٣٥) □م بعد التعقيم السطحي والغسل بالماء المقطر والمعقم باستخدام الكحول الاثيلي (٧٠%) بعد انتهاء فترة التحضين تم نقل العزلة الى طبق اخر لغرض التنقية ومن ثم تم التاكد من تشخيصها بعمل مسحة من صبغة كرام وبعض الفحصوات الكيمياوية (6).

العزلات الفطرية:

تم الحصول على العزلات الفطرية المعزولة من التربة من مختبر الفطريات في قسم علوم الحياة كلية العلوم وهي *Fusarium solani* و *Aspergillus fumigatus* و *Alternaria alternata* و *Stemphylum sp.* و *Rhizoctonia solani* أما فطر *Rhizoctonia solani* فقد تم عزله من بذور البزاليا المصابة على وسط اكار مستخلص البطاطا والسكروز Potato Extract Sucrose Agar (PSA) بعد تعقيمها سطحيا بالكحول الاثيلي بتركيز ٧٠% وتم التحضين عند درجة حرارة ٢٨ □م لمدة ٥-٧ أيام. بعد انتهاء فترة التحضين تم نقل العزلة الفطرية الى طبق بتري يحوي على نفس الوسط لغرض التنقية. تم التشخيص بالاستعانة بالمفاتيح التصنيفية (7) و (8).

دراسة العلاقة بين البكتريا والفطريات:

تأثير زراعة البكتريا مع الفطريات:

لدراسة تأثير البكتريا على نمو الفطريات تم استخدام وسط (PSA) حيث فرشت بالتخطيط كل من بكتريا *Bacillus subtilis* و بكتريا *R. leguminosarum* في

اطباق بتري بواسطة حامل Loop بعد ذلك تم اضافة القرص الفطري لخمسة انواع من الفطريات باستخدام ثاقبة فلين قطرها ٠.٥ سم في منتصف الطبق وبمعدل ثلاث مكررات لكل فطر بالاضافة الى معاملة السيطرة التي شملت القرص الفطري دون البكتريا (٩)، تركت الاطباق لمدة ١٥ يوماً عند درجة حرارة ٢٨ ± ٢ □ م ومن ثم سجلت النتائج بقياس قطر المستعمرات الفطرية النامية.

تأثير إضافة المعادن الثقيلة الى وسط النمو:

تأثير إضافة المعادن الثقيلة الى الوسط على قيمة الاس الهيدروجيني:

حضر وسط (PSA) مع اضافة ثلاثة معادن ثقيلة منفردة وبتركيزين إلى الوسط الغذائي وهذه المعادن هي كبريتات النحاس بتركيز ٢ و٣ ملمولر وكلوريد الحديديك١ و٢ ملمولر وكلوريد الزنك ٤ و٧ ملمولر (٣)، مع قياس الاس الهيدروجحيني قبل وبعد اضافة المعادن الثقيلة باستخدام جهاز قياس الاس الهيدروجيني نوع Orion ثم استخدمت هذه الاوساط لغرض دراسة العلاقات بين الاحياء المجهرية (٣).

تأثير إضافة المعادن الثقيلة الى الوسط على العلاقة بين البكتريا والفطريات:

لدراسة تأثير بعض المعادن الثقيلة على فعالية الاحياء المجهرية ومدى تاثيرها على العلاقات بينها تم زراعة البكتريا والفطريات في وسط (PSA) بعد اضافة المعادن الثقيلة بالتراكيز المذكورة أعلاه، علاوة على ذلك تم دراسة العلاقة بين بكتريا *Rhizobium leguminosarum* وبكتريا *Bacillus subtilis* من حيث تأثير إحداهما على الأخرى بوجود وعدم وجود المعادن الثقيلة حيث زرع كلا النوعين من البكتريا في نفس الطبق الحاوي على وسط الاكار المغذي لكل نوع في نصف طبق مع وضع خط وهمي اسفل الطبق من الخارج لغرض تحديد حدود كل نوع وبمعدل ثلاث مكررات لكل معاملة بالاضافة الى معاملة السيطرة التي تكون غير حاوية على المعادن الثقيلة، تركت مدة خمسة ايام في الحاضنة عند درجة ٣٠ □ م ± ٢ بعدها اخذت النتائج (٣).

النتائج والمناقشة

تأثير بكتريا *Rhizobium leguminosarum* على نمو بعض الفطريات:

تعد بكتريا *R.leguminosarum* من احياء التربة المجهرية والتي تعيش ضمن منطقة الرايزوسفير بصورة تعايشية مع جذور النباتات البقولية بصورة تخصصية. تم دراسة تاثير هذه البكتريا على نمو مجموعة من الفطريات وكانت النتائج كما هي موضحة في الجدول (١).

الجدول (١): تأثير بكتريا *R.leguminosarum* على نمو بعض الفطريات

اسم الفطر	معدل نمو الفطر مع البكتريا سم	معدل نمو الفطر في معاملة السيطرة سم
Fusarium solani	٠.٢	٧.٦
Aspergillus fumigatus	٠	٧.٣
Alternaria alternata	٠	٥.٨
Stemphylum sp.	٠	٢.٢
Rhizoctonia solani	٠	٧.١

- **الارقام تمثل قطر المستعمرة مطروحا منه قطر قرص الفطر والذي يمثل قطر ثاقبة الفلين ٠.٥ سم**

جاءت هذه النتائج التي توضح تثبيط نمو معظم الفطريات بواسطة البكتريا مشابهة لبحث سابق تم فيه دراسة تأثير هذه البكتريا على مجموعة من الفطريات شكل (١)، حيث اعيدت التجربة هنا لغرض المقارنة عند اضافة المعادن الثقيلة مع تغيير لبعض انواع الفطريات (١٠). حيث عملت البكتريا على تثبيط نمو معظم الفطريات قيد الدراسة وهذا قد يعود الى قدرة هذه البكتريا على افراز انزيمات البيتا–لاكتاميز (١١)، إذ أظهرت بكتريا *R. leguminosarum bv.viciae* مقاومة لغالبية مضادات البيتا – لاكتام (١٢)، كما إن كونها احد البكتريا المكونة لمايكروفلورا الرايزوسفير على وجه التحديد قد يفسر هذه المقاومة إذ ربما تكيفت هذه البكتريا وتأقلمت مع وجود العديد من المواد الضارة لها في التربة والتي تنتجها الأحياء المجهرية الأخرى المتواجدة في التربة كالفطريات والاكتينومايسيتات التي تنتج المضادات الحيوية ومنها مضادات البيتا – لاكتام (١٣،١٤)، لذا فان هذه البكتريا ولغرض بقائها واستمرارها بالقيام بدورها في تثبيت النتروجين الجوي وتكوين العقد الجذرية قد طورت آليات معينة تمكنها من مقاومة هذه المضادات، وقد تكون أهم هذه الآليات إنتاجها لأنزيمات البيتا – لاكتا ميز β-lactamases التي تعمل على تحطيم مضادات البيتا–لاكتام وتحويلها إلى شكل غير مؤثر على الخلية، وان هذه الأنزيمات غالبا ما تشفر لها جينات محمولة على الكروموسوم البكتيري وفي بعض الأحيان قد تحمل على البلازميدات أيضاً وتصبح قابلة للانتقال مابين السلالات المختلفة مكسبةً إياها صفة المقاومة (١٢).

الشكل(١): تثبيط نمو فطر *Alternaria alternata* بواسطة بكتري*R.leguminosarum*

تأثير بكتريا *Bacillus subtilis* على نمو بعض الفطريات:

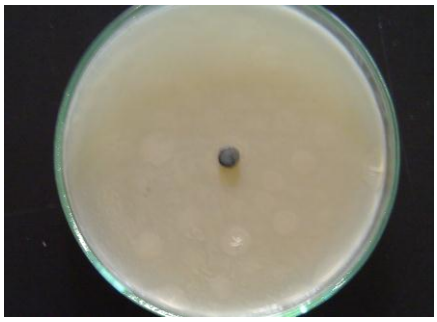
تعد *Bacillus subtilis* من الاحياء المجهرية واسعة الانتشار في الطبيعة حيث توجد في اغلب البيئات وتكون مقاومة للظروف غير الطبيعية ويوضح جدول (٢) وكانت نتائج زراعة الفطريات في وسط نمو هذه البكتريا.

الجدول (٢): تأثير بكتريا *Bacillus subtilis* على نمو بعض انواع الفطريات

اسم الفطر	معدل نمو الفطر مع البكتريا سم	معدل نمو الفطر في معاملة السيطرة سم
Fusarium solani	٠.٤	٧.٦
Aspergillus fumigatus	٠	٧.٣
Alternaria alternata	٠	٥.٨
Stemphylum sp.	٠	٢.٢
Rhizoctonia solani	٠	٧.١

*** الأرقام تمثل قطر المستعمرة مطروحا منه قطر قرص الفطر والذي يمثل قطر ثاقبة الفلين ٠.٥ سم**

إذ ثبتت قابلية البكتريا على تثبيط نمو جميع الفطريات قيد الدراسة بنسبة كبيرة جدا مع نمو قليل للفطر *Fusarium sp.* ٠.٤ سم. ان هذه النتائج تشير الى قدرة هذه البكتريا على تثبيط نمو الفطريات شكل (٢) وذلك قد يعود الى احتوائها مواد ايضية مضادة للفطريات يتم طرحها الى وسط النمو تعمل على تثبيط نموها مثل Subtiline، Bacitacin، Bacillin و Bacillomycin من جهة أخرى هناك تغير في لون المستعمرة الفطرية ناتج عن غلق نهايات الهايفات الفطرية يجعلها داكنة اكثر من لون وسط المستعمرة واوضح الفحص المجهري إن هناك تسرباً لسايتوبلازم الهايفات مما يؤدي الى تضاؤل حجم الهايفات بنسبة ١٠:١ من حجمها الاصلي (٦).



الشكل (٢): تثبيط نمو فطر *Stemphylum sp.* بواسطة بكتريا *Bacillus subtilis*

تأثير إضافة المعادن الثقيلة الى وسط النمو على قيمة الاس الهيدروجيني :

يعد الاس الهيدروجيني pH احد المؤثرات على نمو ونشاط الاحياء المجهرية الذي يعتمد على الايونات الموجبة والسالبة في الوسط والذي تتحكم به المعادن الثقيلة بصورة اساسية (١٥). يختلف تاثير الحموضة او تركيز الهيدروجين على نمو الفطر حسب طبيعة الفطر بحيث تكون العوامل الاخرى طبيعية، حيث تؤثر درجة الحموضة للوسط الغذائي على النشاط الانزيمي

للفطـر وكـذلك علـى قابليـة ذوبـان الامـلاح المعدنيـة (١٦). كانـت نتـائج قيـاس قيمـة الاس الهيدروجيني للوسط الغذائي (PSA) قبل اضافة أملاح المعادن الثقيلة وبعد اضافتها بتركيزين لكل معدن موضحة في الجدول (٣):

الجدول (٣): تأثير إضافة المعادن الثقيلة على قيمة الاس الهيدروجيني للوسط (PSA)

المعدن	التركيز ملمولر	قيمة الاس الهيدروجيني
PSA	٠	٦.٩٠
FeCl3	١	٦.٥١
	٢	٦.٤٩
ZnCl2	٤	٢.٨٨
	٧	٢.٥٩
CuSO4	٢	٦.١٧
	٣	٥.٨٨

يوضح الجدول ان جميع المعادن كانت ذات طبيعة حامضية حيث عملت على خفض قيمة الاس الهيدروجيني للوسط الذي ظهر بوضوح عند اضافة كلوريد الزنك حيث عمل على تقليل الاس الهيدروجيني بصورة كبيرة (٣).

تأثير إضافة المعادن الثقيلة على نوعية العلاقة بين بكتريا *R.leguminosarum* والفطريات :

أدت زراعة البكتريا دون أي إضافة للمعادن الثقيلة الى تثبيط نمو معظم الفطريات المدرورسة غير أن إضافة المعادن الثقيلة الى الوسط الغذائي وكما هو موضح في الجدول (٤) يظهر الجدول تغيراً واضحاً في سلوك بعض الفطريات تجاه التثبيط البكتيري لبكتريا *R.leguminosarum* على نموها (جدول٤). إذ تمكنت بعض الفطريات من النمو والتغلب على التأثير البكتيري بل في بعض الاحياء بلغت بعض الفطريات مستوى النمو الفطري في الظروف المثلى معاملة السيطرة الجدول (١) كما في مستوى نمو الفطر *Aspergillus fumigatus* الذي بلغ ٨.٠ سم مع تركيز ٣ ملمولر للمعدن كبريتات النحاس وكذلك فطر *Fusarium solani* الذي بلغ معدل قطر مستعمرته ٧.٠ سم عند نفس التركيز من نفس المعدن إذ إن هذين الفطرين اعطيا اعلى معدل للنمو عند هذا التركيز للمعدن، شكل (٣) وهذا يعود الى وجود بعض المعادن الثقيلة في التربة ممكن ان يعزز نمو بعض انواع الفطريات في التربة إما عن طريق تغيير pH او عن طريق تغيير بعض الفعاليات الايضية لها (٣).

الشكل (٣): نمو الفطر *Aspergillus fumigatus* مع البكتريا *R.leguminosarum* بوجود المعدن CuSO4 بتركيز ٣ ملمولر حيث يلاحظ ان نموالفطر يملأ الطبق تقريباً.

الجدول (٤): تأثير إضافة ثلاثة أنواع من المعادن الثقيلة بتركيزين على تأثير بكتريا *R.leguminosarum* على نمو الفطريات

الفطر	المعدن	التركيز	قطرالفطر النامي مع لبكتريا سم	معاملة المقارنة سم
Fusarium solani	FeCl3	١	٠.٥	٠.٢
		٢	٠.٣	
	ZnCl2	٤	٠.٠	
		٧	٠.٠	
	CuSO4	٢	٢.٠	
		٣	٧.٠	
Aspergillus fumigatus	FeCl3	١	٠.١	٠
		٢	٠.١	
	ZnCl2	٤	٠.٠	
		٧	٠.٠	
	CuSO4	٢	١.٠	
		٣	٨.٠	
Alternaria alternata	FeCl3	١	١.٠	٠
		٢	٠.٣	
	ZnCl2	٤	٠.٠	
		٧	٠.٠	
	CuSO4	٢	٢.٥	
		٣	١.٠	
Stemphylum sp.	FeCl3	١	٠.٣	٠
		٢	٠.١	
	ZnCl2	٤	٠.٠	
		٧	٠.٠	
	CuSO4	٢	٣.٥	
		٣	١.٥	
Rhizoctonia solani	FeCl3	١	٠.١	٠
		٢	٠.٢	
	ZnCl2	٤	٠.٠	
		٧	٠.٠	
	CuSO4	٢	٠.٣	
		٣	٠	

- **الأرقام تمثل قطر المستعمرة مطروحا منه قطر قرص الفطر والذي يمثل قطر ثاقبة الفلين ٠.٥ سم**
- * **معاملة المقارنة تشمل نمو الفطر مع البكتريا بدون معدن**

تأثير إضافة المعادن الثقيلة على نوعية العلاقة بين بكتريا *Bacillus subtilis* والفطريات :

ان زراعة البكتريا مع الفطريات من دون أي إضافة للمعادن الثقيلة أدت إلى تثبيط نمو معظم الفطريات المدروسة لكن الأمر اختلف مع إضافة المعادن الثقيلة إلى الوسط الغذائي وكما هو موضح في الجدول (٥) إذ ان بعض الفطريات كما هو الحال مع بكتريا *R.leguminosarum* قد استعادت قدرتها على النمو بكفاءة عالية كما في الفطر *Fusarium solani* إذ بلغ قطر مستعمرة الفطر ٧.٣ و ٨.٠ سم عند تركيزي ٢ و٣ ملمولر على التوالي عند النمو بوجود المعدن CuSO4 كذلك الفطر *Aspergillus fumigatus* بلغ معدل قطر المستعمرة ٧.٢ سم عند تركيز ٢ ملمولر عند إضافة نفس المعدن إلى وسط النمو على حين قل نمو الفطر بعد زيادة التركيز حيث بلغ عند التركيز ٣ ملمولر ١.٦ سم الشكل (٤) وذلك لان إضافة بعض المعادن الثقيلة بكميات قليلة يحفز الكتلة الحيوية لأحياء مجهرية التربة والفعالية

الايضية (١٧).

الشكل (٤): نمو الفطر *Fusarium solani* مع البكتريا *Bacillus subtilis* بوجود المعدن CuSO4 بتركيز ٣ ملمولر حيث يلاحظ ان نمو الفطر يملأ الطبق.

الجدول (٥): تأثير إضافة ثلاثة أنواع من المعادن الثقيلة بتركيزين على تأثير بكتريا *Bacillus subtilis* على نمو الفطريات

الفطر	المعدن	التركيز	قطر الفطر النامي مع البكتريا سم	معاملة السيطرة سم
Fusarium solani	FeCl3	١	٠.٢	٠.٢
		٢	٠.٣	
	ZnCl2	٤	٠.٠	
		٧	٠.٠	
	CuSO4	٢	٧.٣	
		٣	٨.٠	
Aspergillus fumigatus	FeCl3	١	٠.٠	٠
		٢	٠.١	
	ZnCl2	٤	٠.٠	
		٧	٠.٠	
	CuSO4	٢	٧.٢	
		٣	١.٦	
Alternaria alternata	FeCl3	١	٠.١	٠

		٢		٠.٢	
	ZnCl2	٤		٠.٠	
		٧		٠.٠	
	CuSO4	٢		١.١	
		٣		١.١	
Stemphylum sp.	FeCl3	١		٠.٠	٠
		٢		٠.٠	
	ZnCl2	٤		٠.٠	
		٧		٠.٠	
	CuSO4	٢		٠.٧	
		٣		١.١	
Rhizoctonia solani	FeCl3	١		٠.٠	٠
		٢		٠.١	
	ZnCl2	٤		٠.٠	
		٧		٠.٠	
	CuSO4	٢		١.٥	
		٣		١.٣	

*** الأرقام تمثل قطر المستعمرة مطروحا منه قطر قرص الفطر والذي يمثل قطر ثاقبة الفلين ٠.٥ سم**

*** معاملة المقارنة تشمل نمو الفطر مع البكتريا بدون معدن.**

يلاحظ من الجدولين أعلاه إن لإضافة بعض المعادن الثقيلة في وسط نمو الفطريات تأثيراً ايجابياً على نمو الفطريات مع البكتريا حيث أعطى المركب CuSO4 أعلى نسبة من التأثير الايجابي على نمو الفطريات، يليه المركب FeCl3 الذي كان له تأثير متوسط الايجابية على نمو الفطريات في حين لم يحفز المركب ZnCl2 أي تأثير ايجابي في نمو الفطريات حيث لم يكن هناك أية نمو لجميع الفطريات.

ولغرض معرفة قابلية البكتريا نفسها على النمو بوجود المعادن الثقيلة في وسط النمو وهل إن سبب نمو الفطريات يعود إلى تثبيط نمو البكتريا بالمعادن الثقيلة ام انها عملت على تغيير السلوك الفسلجي لكل من الكائنين البكتريا والفطر، زرعت كل من بكتريا *R.leguminosarum* وبكتريا *Bacillus subtilis* كلاهما في نفس طبق النمو على وسط الاكار المغذي بوجود المعادن الثقيلة بتراكيزها المختلفة من دون الفطريات مع معاملة المقارنة بدون إضافة المعادن لغرض معرفة تأثير أحداهما على الأخرى مقارنة مع وجود المعدن وبينت النتائج جدول (٦) إن بكتريا *R.leguminosarum* عملت على تثبيط نمو بكتريا *Bacillus subtilis* وكانت هي السائدة في وسط النمو كما موضح في الشكل (٥) وهذا قد يعود إلى ان بكتريا *R.leguminosarum* تمتلك آليات وفعالية كبيرة حيث إن لها القدرة على مقاومة العديد من المضادات التي تفرزها الكائنات المجهرية ومن ضمنها بكتريا *Bacillus subtilis* (١٨،

٣، ١٢) ، كذلك احتواؤها على انزيمات البيتا – لاكتاميز المحللة للمضادات التي تفرزها بعض الكائنات المجهرية (١١،١٩). هذه النتيجة لم تبق على حالها عند إضافة المعادن الثقيلة حيث عمل المركب FeCl3 نوعاً من الحيادية في وسط النمو بحيث ان كل نوع من البكتريا استطاع النمو في نفس الطبق من دون أي تداخل بينهما كما موضح في الشكل (٦) وهذا ربما يعود إلى وجود ظروف ملائمة لكل نوع يخلق نوعاً من الاستقرار لكل كائن مجهري وأيضاً ربما يعود إلى قلة كثافة الخلية المجهرية وانخفاض مستوى الفعالية الايضية بين الأنواع يؤدي إلى هذه الحيادية (17)، على حين عمل مركب ZnCl2 على تثبيط نمو كلا نوعي البكتريا بتركيزيه ماعدا نمو ضعيف لبكتريا *Bacillus subtilis* عند تركيز ٤ ملمولر كذلك احدث المركب CuSO4 تثبيطاً لنمو كلا النوعين من البكتريا عدا نمو ضعيف لبكتريا *R.leguminosarum* عن تركيز ٢ ملمولر.

من خلال ما ذكر من نتائج نلاحظ ان هناك ارتباطاً وثيقاً بين إضافة المركب الحاوي على المعدن الثقيل وتغييره لقيمة الاس الهيدروجيني الذي بدوره يؤثر على نمو البكتريا في الطبق التي ينعكس نشاط نموها على نمو الفطر وانتشار هايفاته في وسط النمو، حيث لم يظهر نمو عند إضافة المركب ZnCl2 بتركيزيه ٤ و ٧ ملمولر لانه أدى إلى خفض قيمة الاس الهيدروجيني بصورة كبيرة ٢.٨٨ و ٢.٥٩ على التوالي وهي نسبة عالية من الحموضة أدت إلى تثبيط نمو البكتريا والفطريات شكل (٧)، وهذا ما يفسر النتائج المذكورة في الجدولين حيث كان نمو المستعمرات ٠ سم. يليه مركب CuSO4 الذي كان في المرتبة الثانية من حيث خفضه لقيمة الاس الهيدروجيني بتركيزيه 2 و ٣ ملمولر بلغت ٦.١٧ و ٥.٨٨ على التوالي مما جعل الوسط حامضياً ومناسباً لنمو الفطريات بنسبة كبيرة ولم يكن الوسط مناسباً لنمو البكتريا الجدول (٦) على حين كان لإضافة المركب FeCl3 أثر في خفض قليل لقيمة الاس الهيدروجيني حيث بلغت قيمته ٦.٥١ و ٦.٤٩ عند تركيزي ١ و٢ ملمولر على التوالي مما سمح لبعض الفطريات من النمو ولو بنسبة قليلة في الوسط على حساب البكتريا.

الجدول (٦): تأثير إضافة المعادن الثقيلة بتركيزين على نوعية العلاقة بين بكتريا *R.leguminosarum* وبكتريا *Bacillus subtilis*

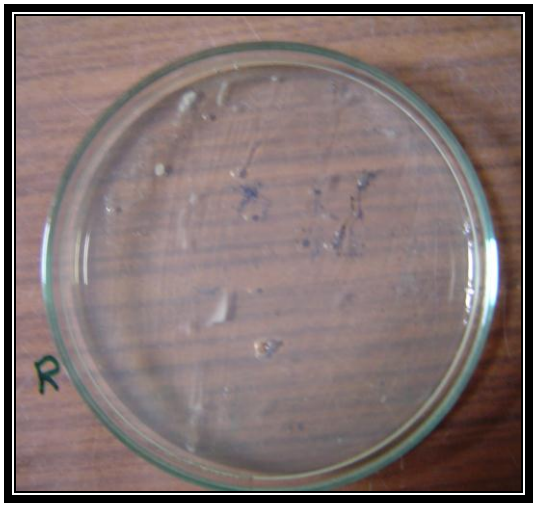
المركب	التركيز	بكتريا *R.leguminosarum*	بكتريا *Bacillus subtilis*
control	٠	++++	٠
FeCl3	١	+++	+++
	٢	++	++
ZnCl2	٤	٠	+
	٧	٠	٠

CuSO4	٢	+	٠
	٣	٠	٠

+ نمو ضعيف ، ++ نمو متوسط ، +++ نمو جيد ، ++++ نمو كثيف جدا

الشـــكل (٥): ســـيادة بكتريـــا (R) *R.leguminosarum* على بكتريا (B) *Bacillus subtlus*

الشـكل (٦): الحياديـة بـين بكتريـا (R) *R.leguminosarum* و بكتريـــا (B) *Bacillus subtlus*



الشكل (٧): تثبيط نمو البكتريا عند إضافة المركب ZnCl2 بتركيز ٧ ملمولر

من النتائج المذكورة في هذا البحث يتضح إن بعض المعادن قد تثبط نمو الأحياء المجهرية كما هو الحال لمعدن ZnCl2 جدول (٤) و (٥) و (٦)، ذلك أن المعادن الثقيلة هي إحدى اخطر المجاميع الملوثة للتربة إذ تسبب مشاكل لابد من الوقوف عليها (٦)، ذلك لان هذه المواد غير قابلة للتحلل طبيعيا كما هو الحال في المواد العضوية حيث تتجمع هذه المعادن في

أجزاء مختلفة من السلسلة الغذائية ومن ناحية أخرى إن التلوث بالمعادن الثقيلة من الممكن ان يؤثر ويغير الفعاليات البايوكيمياوية لأحياء مجهرية التربة، وإن احد التأثيرات المهمة للمعادن الثقيلة هي تأثيرها في تغيير قيمة الاس الهيدروجيني في التربة. من خلال هذه النتائج يكون من الممكن التحكم والسيطرة على بعض الممرضات النباتية من خلال إضافة بعض المعادن الثقيلة التي تغير من سلوك الكائن المجهري مما يؤدي إلى سيادة بعض الأنواع المفيدة على حساب الأنواع الأخرى.

المصادر :

١) الكسندر، مارتن (١٩٨٢). مقدمة في مايكروبايولوجية التربة، جامعة كورنيل، جون وايلي واولاده نيويورك، الولايات المتحد الأمريكية.

2) Huang, P. M. and Iskandar, I. K. (1999). Soils and Ground Water Pllution and Remediation, Lewis publishers, USA.

3) Peciulyte, D. EKOLOGIJA J., Vilms, pp75 -78 (2002).

4) Kuchaeski, J. and Wyszkowska, J. Inter-relationship between number of microorganismsand spring barley yield and degree of soil contamination with copper, Plant Soil Environ. (6):243-249 (2004).

5) Vincent, J. (1981) "The Genus *Rhizobium*". In Starr, M. P.; Stolp, H.; Truper, H. G.; Balows, A and Schilegel, H. G. (eds). "The Prokaryotes" . Vol.1, Springer-Verlang, U.SA, pp.818-837..

6) Montesinos, E.; Bonaterra, A.; Badosa, E. Int. Microbiol. 5: 196-175 (2002).

7) Moubasher, A. H. (1993). Soil fungi in Qatar an other Arab Countries. The scientific and Applied Research Center. University of Qatar.

8) Pitt, J. T. and Hocking, A. D. (1997). Fungi and Food Spoilage. Academic Press london , 405pp. U.K

9) Sharif, N.; Khalil, S. and Ahamad (2003), S., Pakistan J. of Biological Science, 6(18):1597-1899

١٠) الطائي، محمد إبراهيم والمولى، زكريا سامي، نتائج غير منشورة.

11) Kremer, R. and Peterson, H. Appl. Environ. Microbiol. 17(6):636

١٢) الحسو، د. محمود زكي و محمد إبراهيم الطائي (٢٠٠٧). تقدير حساسية بكتريا *Rhizobium leguminosarum biovar vicia* مقبول للنشر، مجلة التربية والعلم

13) Panthier, J.; Diem, H. and Dommergues, Y. (1979). Soil Biol. Vol.11, pp 443-445

14) Laurence, D. and Benett, P. (1990). Clinical Pharmacology 6th ed., churchil livingstone, England .U.K.

١٥) بنود، عبد الحكيم والبنغلي، نوزت (٢٠٠٣). الكيمياء والمايكروبايولوجيا. مديرية الكتب والمطبوعات الجامعية، منشورات جامعة حلب، كلية الهندسة المدنية، سوريا.

١٦) الشكري، مهدي مجيد (١٩٩١). أساسيات الفطريات وأمراضها النباتية، وزارة التعليم العالي والبحث العلمي، جامعة بغداد.

17) Liao, M.; Luo, Y.; Zhao, X. and Huang, C. (2006). J. Zhejiang University Science (5):324-330.

18) Montealegre, J.; Reyes, R.; Perez, L.; Herrera, R.; Silva, P. and Besoain, X. (2003). Electronic J. of Biotechnology Vol.6:116-127 .

١٩) الحسو، محمود زكي والطائي، محمد إبراهيم (٢٠٠٨). التحري عن بعض انزيمات البيتا-لاكتاميز في بكتريا *Rhizobium leguminosarum biovar vicia* بحث مقبول للنشر، مجلة التربية والعلم، كلية التربية، جامعة الموصل.