



جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة ميسان / كلية العلوم
قسم علوم الحياة

تقييم الفعالية ضد ميكروبية لنواتج الايض الثانوي للفطريات الصائفة للديدان الثعبانية

رسالة مقدمة الى

مجلس كلية العلوم / جامعة ميسان

وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة

من قبل

نور علي رحيم

بكالوريوس علوم الحياة / جامعة ميسان

(2015)

بإشراف

أ. د. علي عبد الواحد قاسم

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

﴿ نَرْفَعُ دَرَجَاتٍ مِّنْ نَّشَاءٍ ۖ وَفَوْقَ

كُلِّ ذِي عِلْمٍ عَلِيمٌ ﴾

صراط الله العلي العظيم

(يوسف: 76)

الاهراء

الوطنى الحبيب... العراق

القدونى الاول، ونبراسى النزى بنير و ربي.. أبى العزيز

المن انقلت الجفوة سهرات وتغلت البال فكر اورفعت اللادى وحاء... امى الغالية

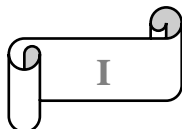
المن ناس طوبلا وطم بسنفظ.. المن رحل بلا موحد.. اخمى كرار

المن سنرى فى الحياه... اخمونى و اخوانى

المن كل من تعلمت على ايدىهم فى مدرسة الحياه... اخلاصاً ووداً

اهدى جهدى المتواضع هذا

نور الاسكندرية



الشكر والتقدير

الحمد لله والصلاة والسلام على أشرف الخلق أجمعين الحبيب المصطفى محمد وآل بيته الطيبين الطاهرين واصحابه المنتجبين.

لا يسعني وأنا اضع اللمسات الأخيرة في رسالتي وقد وفقني الله لإنجاز هذا العمل المتواضع الا ان أتقدم بخالص الشكر والعرفان لأستاذي الفاضل الدكتور علي عبد الواحد قاسم الذي وجدته أباً واستاذاً لاقتراحه موضوع الدراسة ولما بذله معي من جهد ووقت في متابعة البحث ولتوجيهاته السديدة وملاحظاته العلمية القيمة لإظهار الرسالة بالشكل المطلوب.

كما أقدم الشكر والامتنان الى عمادة كلية العلوم / جامعة ميسان لتعاونها وتقديمها كافة التسهيلات لطلبة الدراسات العليا، ويطيب لي ان أتقدم بوافر الشكر والامتنان الى رئيس قسم علوم الحياة والى جميع اساتذتي الكرام لاسيما الدكتورة ابتسام بشير والأستاذ صادق صبيح والاستاذة شيماء ربيع لما قدموه لي من مساعدة خلال دراستي.

وخالص الشكر والتقدير الى قسم علوم الكيمياء ولاسيما الأستاذ علي عبد الكريم لما قدمه لي من مساعده خلال فترة البحث كما أقدم الشكر والامتنان الى طالب الدكتوراه محمد حمدان غضبان الدراجي لما قدمه لي من مساعدة في الحصول على يرقات النيماتود، كما اعبر عن شكري وامتناني الى الدكتورة سحر غازي رئيس قسم بيولوجيا الغذاء / وزارة العلوم والتكنولوجيا لما قدمته لي من مساعدة في الكشف عن الانزيمات كما أتقدم بالشكر الى الدكتور أسعد يحيى لما ابداه من مساعدة في اجراء التحليل الاحصائي. وان من دواعي الفخر والسرور ان أقدم شكري وتقديري الى من ساندني وآزرنى طيلة فترة دراستي من صديقاتي وزملائي طلبة الدراسات العليا في قسم علوم الحياة لاسيما زميلتي أنفال عبد الرزاق وزميلي مهند مهدي.

وأخيرا وبكل امتنان اشكر كل افراد عائلتي الذين كانوا خير عون لي في إنجاح مسيرة حياتي العلمية بما قدموه لي من نصائح ودعم معنوي ومادي لإتمام هذه الرسالة، وكل من مد يد العون والمساعدة في انجاز هذا البحث.

نور الأسماة

الفصل الأول

المقدمة

Introduction

1- المقدمة

تلعب الفطريات دوراً رئيساً في النظم البيئية (Ecological Systems) وخصوصاً في التربة مع الأحياء المجهرية الأخرى واللافقاريات الصغيرة وجذور النبات، معظم فطريات التربة مترممة (Saprophyte) تكيفت للحصول على غذائها من المواد العضوية الموجودة في التربة أو بقايا النباتات والحيوانات المتحللة حيث تقوم بتحليل المواد العضوية وتساهم في دوره العناصر في الطبيعة وبعضها تكون علاقات تكافلية (Symbiosis) مع بعض الأحياء الأخرى (Pfenning and Abreu, 2006).

تُعتبر الفطريات مصادر غزيرة للمركبات الايضية الثانوية التي تتميز بفعاليتها البيولوجية العالية والانتقائية وبالتالي يمكن أن تكون بمثابة أساس لتطوير مضادات للإحياء المجهرية الممرضة جديدة ومبيدات حيوية ومركبات مفيدة أخرى (Bills and Gloer, 2016).

تعد الفطريات من الكائنات الدقيقة التي لها علاقات متعددة بينها وبين الكائنات الحية الأخرى خصوصاً العلاقة الموجودة بين الفطريات والنيماطود (Lopez-Llorca *et al.*, 2006). حيث ترتبط الفطريات مع النيماطود بعلاقتي الافتراس والتطفل وهذه الفطريات تمتلك القدرة على مهاجمة النيماطود الحية واصطيادها وقتلها وهضم محتوياتها وفي جميع مراحل حياتها (Herrera-Estrella *et al.*, 2016)، يطلق على مثل هذه المجموعة الفطرية بالفطريات المهلكة للنيماطود (Jansson and Lopez-Llorca, 2004).

أشار الباحث Campos (2017) إلى أن هذه الفطريات تعيش مترممة في الظروف الطبيعية، لكنها تلجأ إلى التطفل والافتراس وبالتالي التغذية على النيماطود في ظل ظروف غذائية غير ملائمة.

يوجد حوالي أكثر من 700 نوع من الفطريات المهلكة للنيماطود منتشرة في مختلف أنحاء العالم صنفت إلى أربع مجموعات اعتماداً على طريقة مهاجمة النيماطود، وتعتبر الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية أكبر مجموعة من هذه المجموع (Li *et al.*, 2015).

تعرف الفطريات الصائدة للنيماطود بأنها مجموعة من الفطريات تمتلك قدرة هائلة على اصطياد النيماطود بواسطة أدوات تكونها على خيوطها الفطرية حيث تنتج تراكيب خاصة وهذه التراكيب بعضها مغطاة بمادة لاصقة وبعضها غير مغطاة تستخدمها لاصطياد النيماطود ليتم بعد ذلك اختراقها والنمو داخلها (Swe *et al.*, 2011).

تنتج الفطريات الصائدة للنيماطود العديد من مركبات الايض الثانوي التي أما تساعد على اصطياد النيماطود وقتلها، أو تعمل على تنظيم عملية تكوين المصائد (Khan *et al.*, 2010).

استخدمت الطرق الكيميائية في جميع أنحاء العالم والأكثر فاعلية في القضاء على النيماتود المتطفلة على النبات ولكنها ليست صديقة للبيئة وقد تسبب في الوقت نفسه تهديد خطير للتوازن البيئي، لذلك هناك حاجة إلى البحث عن طرق صديقة للبيئة وتستطيع السيطرة على النيماتود لتجنب السمية الشديدة للمبيدات (Kalele et al., 2010).

هناك دراسات عديدة حول الفطريات الصائدة للنيماتود في العراق، فقد درس قاسم 1997 و 2006 تصنيف هذه الفطريات واستخدامها في السيطرة الحيوية، كما درست الرحيموي 2019 علاقة هذه الفطريات مع الفطر الاحيائي *T.harzianum* ولعدم وجود دراسات حول الفعالية الايضية لهذه الفطريات وما هي اهم مواد الايض الثانوي التي تفرزها وتقييم فعاليتها، لذلك جاءت هذه الدراسة التي تضمنت معرفة المحاور التالية:

1. تحديد النشاط الضد البكتيري لمستخلصات الفطريات الصائدة للنيماتود ضد بعض أنواع البكتيريا.
2. دراسة تأثير الدالة الحامضية (pH) على الكتلة الحية للفطريات الصائدة للنيماتود وعلى إنتاج مركبات الايض الثانوي.
3. دراسة تأثير راسح الفطر *Trichoderma harzianum* وراسح البكتيريا *Pseudomonas aeruginosa* على الكتلة الحية للفطريات المختبرة وعلى إنتاج مركبات الايض الثانوي الفطري.
4. دراسة تأثير الرواشح الفطرية على نمو بذور الباميا *Abelmoschus esculentus* ، واختبار قدرتها على قتل نيماتود ثأليل الحنطة *Anguine tritici*.
5. إجراء الكشوفات النوعية للمركبات الايضية التي تنتجها هذه الفطريات وتحديد المركبات النشطة حيويًا باستخدام تقنية GC- MS
6. اختبار قدرة الفطريات الصائدة للنيماتود على إنتاج أنزيمي Proteinase و Chitinase في المزارع السائلة ، وقدرتها على تكسير النفط الخام.

الفصل الثالث

المواد وطرائق العمل

Materials and Methods

3- المواد وطرائق العمل

1-3: الأجهزة والمواد المستخدمة Instruments and material used

جدول (1-3) الأجهزة والمواد المستخدمة في التجارب.

اسم الشركة (المنشأ)	اسم الجهاز	ت
Hirayama(Japan)	Autoclave	1
Lab Tech(France)	Biosafety Cabinet	2
Hettich (Germany)	Centrifuge	3
GFR®(Germany)	Distiller	4
Shimadzu(Japan)	GC-MS 2010 Ultra	5
Human lab(Korea)	Incubator	6
Heidolph (Germany)	Magnetic stirrers	7
Dragon(China)	Micropipettes	8
Memmert (Germany)	Oven	9
HANNA(Romania)	PH-meter	10
VESTEL(Poland)	Refrigerator	11
Sartorius (Germany)	Sensitive Balance	12
Zenith lab(China)	Shaking Incubator	13
Shimadzu(Japan)	UV- Visible Spectrophotometer	14
Knf laboport(USA)	Vacuum pump	15

جدول (2-3) بعض الأوساط الزرعية والمواد الكيميائية المستخدمة في التجارب

اسم الشركة (المنشأ)	اسم المادة	ت
Himedia(India)	Casein	1
Sigma-Aldrich(UK)	Corn Meal Agar	2
Himedia(India)	Dextrose	3
Scharlau(Spain)	Ethanol	4
CHEMLAB(Belgium)	Ethyl Acetate	5
Whatman No.1(UK)	Filter Paper	6
Whatman No.3(UK)	Filter Paper	7
Himedia(India)	Glucose	8
BDH(USA)	Hydrochloric Acid	9
Whatman(England)	Millipore Filter 0.22	10
Himedia(India)	Mueller Hinton Agar	11
CDH(India)	Na ₂ HPO ₄	12
Himedia(India)	Nutrient Broth	13
Himedia(India)	Potato Dextrose Agar	14
BDH(USA)	Sodium Hydroxide	15
Sehat(Iran)	Sodium Hypochlorite	16
Scharlau(Spain)	Tris-HCl	17

2-3 تحضير الأوساط الزرعية

1-2-3 وسط اكار و خلاصة الذرة (CMA) Corn Meal Agar

استعمل هذا الوسط لتنمية الفطريات الصائفة للديدان الثعبانية وحضر باذابة 17 غم / لتر.

2-2-3 وسط خلاصة الذرة السائل (CMB) Corn Meal Broth

استعمل هذا الوسط للحصول على راسح الفطريات الصائفة للديدان الثعبانية وحضر باذابة 40 غم من مسحوق الذرة الصفراء في 1000 مل من الماء المقطر، سخن الخليط بدرجة حرارة 60 م° لمدة ساعة واحدة، رشح الخليط باستعمال ورق ترشيح Whatman No.1 وأكمل الراشح إلى 1000 مل بالماء المقطر.

3-2-3 وسط اكار البطاطا والدكستروز (PDA) Potato Dextrose Agar

استعمل هذا الوسط لتنمية الفطر *Trichoderma harzianum* وحضر هذا الوسط حسب تعليمات الشركة المجهزة.

4-2-3 وسط مرق البطاطا و الدكستروز (PDB) Potato Dextrose Broth

استعمل هذا الوسط للحصول على راسح الفطر *Trichoderma harzianum* ، حيث قطعت 200 غم من البطاطا إلى قطع صغيرة وأضيف لها 1000 مل من الماء المقطر وبعد ان تم غليها وهرسها تم ترشيحها باستعمال شاش طبي، ثم أكمل الراشح بالماء المقطر إلى 1000 مل وأضيف لها 20 غم من سكر الدكستروز.

5-2-3 وسط المرق المغذي السائل (NB) Nutrient Broth

استعمل هذا الوسط في تنمية العزلات البكتيرية ولعمل راسح لها، وحضر باذابة 13 غم /لتر.

6-2-3 وسط (MHA) Moller Hinton Agar

استعمل هذا الوسط لاختبار حساسية البكتيريا للمستخلص الفطري، وحضر باذابة 38 غم/ لتر.

7-2-3 وسط (G-PB) Glucose-peptone broth

استعمل هذا الوسط لاختبار قدره الفطريات على انتاج انزيم Proteinase، وتم تحضير الوسط

من المواد التالية :

Bacteriological peptone oxide 10غم

Glucose 40غم

D.W. 1لتر

خلطت هذه المواد جميعا مع بعضها ثم أكمل الحجم إلى لتر واحد بالماء المقطر وتم تعديل الـpH إلى

. 5.4

8-2-3 وسط (MSM) Minimal Synthetic Medium

استعمل هذا الوسط لاختبار قدرة الفطريات على انتاج انزيم Chitinase، وتم تحضير الوسط

من المواد التالية:

2.8 غم	(NH ₄) ₂ SO ₄
0.01 غم	FeSO ₄ .7H ₂ O
0.6 غم	CaCl ₂ .2H ₂ O
0.2 غم	MgSO ₄
0.6 غم	Urea
4 غم	KH ₂ PO ₄
0.0032 غم	CoCl ₂ .6H ₂ O
0.0028 غم	ZnSO ₄ .H ₂ O
1 غم	Colloidal chitin
1 لتر	D .W.

خلطت هذه المواد جميعا مع بعضها ثم أكمل الحجم إلى لتر واحد بالماء المقطر (Zeilinger *etal.*,1999).

9-2-3 وسط (MSM) Mineral Salt Media

هذا الوسط يحتوي على أملاح معدنية فقط ولايحتوي مصدر للكربون ، واستعمل لاختبار

قدرة الفطريات على تكسير النفط الخام، وقد حضر هذا الوسط من المواد التالية:

2 غم	(NH ₄) ₂ SO ₄
4 غم	KH ₂ PO ₄
6 غم	Na ₂ HPO ₄
0.2 غم	FeSO ₄ .7H ₂ O
0.001 غم	CaCl ₂
0.00015 غم	H ₃ BO ₃
0.00001 غم	MnSO ₄
0.00007 غم	ZnSO ₄
0.00001 غم	CuSO ₄
1 لتر	D. W.

خلطت هذه المواد جميعا مع بعضها ثم أكمل الحجم إلى لتر واحد بالماء المقطر.

تم تعقيم جميع الأوساط الزرعية أعلاه بجهاز المؤصدة البخاري (Autoclave) بدرجة حرارة 121م وضغط 15 باوند/انج² لمدة 20 دقيقة . و اضيف المضاد الحيوي Chloramphenicol بمقدار 250 ملغم /لتر.

3-3 تحضير الكواشف

1-3-3 كاشف ماير (Mayer's reagent):

استعمل الكاشف للكشف عن القلويدات في المستخلص الفطري الخام، حضر الكاشف باستخدام المحلولين A و B على النحو الآتي:
محلول A حضر بإذابة 1.58 غم من كلوريد الزئبقيك HgCl₂ في 60 مل من الماء المقطر.
محلول B تم تحضيره بإذابة 5 غم من يوديد البوتاسيوم KI في 10 مل من الماء المقطر.
تم مزج المحلولين A و B ثم أكمل الحجم إلى 100 مل بالماء المقطر.

2-3-3 كاشف دراجندروف (Dragendroff reagent)

استعمل الكاشف للكشف عن وجود القلويدات في المستخلص الفطري الخام، وحضر الكاشف من استخدام المحلولين A و B على النحو الآتي:
محلول A حضر بإذابة 0.17 غم من Bismuth nitrate في 2 مل من Acetic acid و 8 مل من الماء المقطر.
محلول B تم تحضيره بإذابة 4 غم من KI Potassium iodide في 10 مل من Acetic acid و 20 مل من الماء المقطر.
ثم مزج المحلولين A و B) ثم أكمل الحجم إلى 100 مل بالماء المقطر.

3-3-3 كاشف وكنر (Wagner's Reagent)

استعمل الكاشف للكشف عن وجود القلويدات في المستخلص الفطري الخام، حضر الكاشف بأذبة 1 غم من Iodide و 5 غم من Potassium iodide في 100 مل من الماء المقطر.

4-3-3 كاشف (DNS) Dinitrosalicylic acid

استعمل الكاشف لإيقاف تفاعل الراشح الفطري مع المادة الاساس عند الكشف عن انزيم Chitinase، حضر الكاشف من استعمال المحلولين A و B على النحو الآتي:
محلول A حضر بإذابة 1 غم من 3,5dinitrosalicylic acid في 20 مل من هيدروكسيد الصوديوم (بتركيز 2M).
محلول B حضر بإذابة 30 غم من Potassium Sodium Tartrate في 50 مل ماء مقطر .
ثم مزج المحلولين A و B ثم أكمل الحجم إلى 100 مل بالماء المقطر.

4-3 تحضير المحاليل

1-4-3 محلول Citrate- Phosphate Buffer (CPB)

استعمل محلول CPB لإذابة Chitin، حضر المحلول بإذابة 18.298 غم من Sodium Citric acid و 9.336 غم من dihydrogen phosphate إلى 800 مل ماء مقطر، تم تعديل pH إلى 5 واكمل الحجم إلى 1 لتر بالماء المقطر.

2-4-3 محلول Tris-HCl Buffer

استعمل المحلول في الكشف عن Proteinase، حضر بإضافة 78.8 غم من Tris-HCl إلى 900 مل ماء مقطر، تم تعديل pH إلى 8 واكمل الحجم إلى 1 لتر.

3-5 أنواع الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية المستخدمة في الدراسة

استخدمت تسعة أنواع من الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية (جدول 3-3) معزولة من تربة محافظة ميسان في إجراء جميع التجارب اللاحقة، وتم الحصول عليها مشخصة ومصنفة من مختبر الفطريات / كلية العلوم / جامعة ميسان محفوظة في انابيب اختبار على شكل مائل وتم تنشيطها وزراعتها على وسط CMA.

جدول (3-3) الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية المستخدمة في التجارب.

اسم الفطر	ت
<i>Arthrotrrys conoides</i> (Ac)	2
<i>A.cookedickinson</i> (Ack)	3
<i>A.eudermata</i> (Ae)	4
<i>A.microscaphoides</i> (Am)	5
<i>A.oligospora</i> (Ao)	1
<i>A.rutgeriens</i> (Ar)	6
<i>A.thaumasia</i> (At)	7
<i>Clonostachys rosea</i> (Cr)	8
<i>Drechlerella brochopaga</i> (Db)	9

3-6 تنمية الفطريات الصائدة للديدان الشعبانية في أوساط التخمر

تم تنمية الفطريات في وسط CMB لغرض الحصول على مركبات الايض الثانوي ، حضرت دوارق زجاجية سعة 250 مل وحاوية على 250 مل من وسط CMB ثم عقم الوسط وكانت قيمة الـ pH 4.8 ، وبردت الدوارق ، ثم اضيفت 5 اقراص (6 ملم) اخذت من حافة المستعمرات الفتية للفطريات الصائدة للديدان الشعبانية المختبرة النامية على وسط CMA بعمر 7 ايام وبمعدل مكررين لكل فطر ، حضنت الدوارق في الحاضنة الهزازة (120دورة / دقيقة) تحت درجة حراره 2 ± 25 ولمدة أسبوعين (Kim et al., 1999).

3-7 استخلاص مركبات الايض الثانوي للفطريات الصائدة للديدان الشعبانية

بعد انتهاء مدة الحضن تم ترشيح المزراع الفطرية باستعمال ورق ترشيح نوع Whatman No.1، ثم اعيد الترشيح باستعمال ورق ترشيح نوع Millipore filter 0.22 μ وباستعمال جهاز Vacuum وذلك لتنقية الراشح الفطري ،الراشح الذي تم الحصول عليه تم مزجه مع حجم مساوي له (v:v) من خلالات الاثيل (Ethyl acetate) باستعمال قمع فصل زجاجي معقم ، وتحت ظروف معقمة ، ثم جمعت الطبقة العضوية وتم تجفيفها من الماء بإضافة سلفات الصوديوم اللامائية (Na₂SO₄)، و وضعت الطبقة العضوية في اطباق بتري معقمة ووضع بالحاضنة بدرجة حرارة 25م وتركت لحين الجفاف ،بعد ذلك تم اذابة 0.1 ملغم من المستخلص الجاف الذي تم تحضيره في 1 مل من الإيثانول (Ethanol) (Kasim, 2016).

3-8 اختبار تأثير رواشح الفطريات الصائدة للديدان الشعبانية في نمو البكتيريا

3-8-1 السلالات البكتيرية المختبرة

تم الحصول على 5 أنواع من البكتيريا (جدول 2-5) مشخصة ومصنفة من مختبر الصحة العام المركزي / محافظة ميسان محفوظة في انابيب اختبار على شكل مائل وتم تنشيطها في وسط .NB

جدول (3-4) البكتيريا المستعملة في التجارب

ت	اسم البكتيريا
1	<i>Escherichia coli</i>
2	<i>Proteus vulagaris</i>
5	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
3	<i>Serratia marcesens</i>
4	<i>Staphylococcus aureus</i>

3-8-2 اختبار تأثير الراشح الفطري في نمو البكتيريا

عُقدت أقراص ورق ترشيح Whatman No.3 بقطر 6 ملم بواسطة جهاز التعقيم (Autoclave) بدرجة حرارة 121 م° وضغط 15 باوند / انج² لمدة 20 دقيقة ، ثم وضعت في محلول المستخلص الذي تم تحضيره حسب الفقرة 3-7 لمدة 5 دقائق، أتبعته طريقة انتشار الأقراص على الوسط الصلب (Disk diffusion method) اذ وضعت الأقراص المشبعة بالمستخلص بعد تجفيفها لكل فطر على أطباق بتري حاوية على وسط MHA وملقحة بـ0.1 مل من العالق البكتيري لكل سلالة من سلالات البكتيريا المختبرة والمنشورة بواسطة ناشر زجاجي ، ثم حضنت الاطباق في الحاضنة تحت درجة حرارة 37م° لمدة 24 ساعة، بعدها فحصت الاطباق وقيست الفعالية التثبيطية بقياس قطر منطقة التثبيط حول كل قرص بالمليمتر (Kim et al., 1999) .

3-9 تأثير الدالة الحامضية (pH) في نمو الفطريات الصائفة للديدان الثعبانية في المزارع السائلة

حضرت دوارق زجاجية سعة 250 مل حاوية على 250 مل من وسط CMB ، تم تعديل قيم الـ pH إلى القيم 4 و 5 و 6 و 7 وذلك باستعمال NaOH بتركيز 0.5N و HCl بتركيز 0.5N ثم عقم الوسط ، وبردت الدوارق ، ثم أضيف قرص واحد (6 ملم) اخذ من حافة المستعمرات الفتية للفطريات الصائفة للديدان الثعبانية المختبرة ، وبمعدل مكررين لكل قيمة من قيم pH ولكل فطر ، حضنت الدوارق في الحاضنة تحت درجة حرارة 25 ± 2م° وبدون حركة ، ولمدة أسبوعين بعدها تم استخراج الغزل الفطري من كل دورق بواسطة ملقط معقم ، ووضع على ورق ترشيح Whatman No.3 (تم تسجيل وزنه) ، ومن ثم غسلها بالماء المقطر لإزالة العوالق والشوائب، ثم وزنت بميزان حساس وتم تسجيل الوزن، ثم جففت بالفرن الكهربائي بدرجة حرارة 70م° ولمدة 24 ساعة ، ثم وزنت مرة أخرى وتم طرح وزن ورقة الترشيح من الناتج اعتمادا على المعادلة التالية:

$$\text{الوزن الجاف} = (\text{وزن ورقة الترشيح} + \text{الغزل الفطري}) - \text{وزن ورقة الترشيح.}$$

(Cochrane, 1958).

3-10 تأثير الدالة الحامضية (pH) في الفعالية ضد بكتيرية لرواشح الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية في المزارع السائلة

حضرت دوارق زجاجية سعة 250 مل وحاوية على 250 مل من وسط CMB ، تم تعديل قيم pH إلى 4 و5 و6 و7 باستعمال NaOH بتركيز 0.5N و HCl بتركيز 0.5N ثم عقم الوسط وبردت الدوارق ، ثم اضيفت 5 اقراص (6 ملم) اخذت من حافة المستعمرات الفتية للفطريات الصائدة للديدان الثعبانية المختبرة النامية على وسط CMA بعمر 7 ايام وبمعدل مكررين لكل قيمة من قيم pH و لكل فطر ، حضنت الدوارق في الحاضنة الهزازة بمعدل 120 دورة / دقيقة تحت درجة حراره 25 ± 2 م و لمدة أسبوعين ، بعد انتهاء مدة الحضانة تم ترشيح المزارع الفطرية حسب الفقرة 3-7، بعد ذلك تم اختبار تأثير الراشح الفطري على نمو البكتيريا حسب الفقرة 3-8 .

3-11 اختبار تأثير إضافة تراكيز مختلفة من راشح الفطر *Trichoderma harzianum* في نمو الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية في المزارع السائلة

3-11-1 تحضير راشح الفطر *T.harzianum*

حضر وسط PDB ووزع في دوارق زجاجية سعة 250 مل بواقع 250 مل ثم عقم الوسط، وبردت الدوارق وأضيف 5 اقراص (6 ملم) من الفطر *T. harzianum* النامي على وسط PDA بعمر سبعة أيام، ثم حضنت الدوارق في الحاضنة الهزازة بمعدل 120 دورة / دقيقة تحت درجة حراره 27 ± 2 م و لمدة أسبوعين. بعد انتهاء مدة الحضانة تم ترشيح المزارع الفطرية باستعمال ورق ترشيح نوع Whatman No.1 ، ثم اعيد الترشيح باستعمال ورق ترشيح نوع Millipore filter 0.22µm وباستعمال جهاز Vacuum (Kim et al., 1999).

3-11-2 اختبار تأثير إضافة راشح الفطر *T.harzianum* في نمو الفطريات الصائدة الديدان الثعبانية

حضرت دوارق زجاجية سعة 250 مل وحاوية على وسط CMB ، تم تعقيم الوسط ، وبردت الدوارق ، حضرت سلسلة تراكيز وهي 10 و20 و30% من راشح الفطر *T.harzianum* (الذي تم تحضيره حسب الفقرة 3-11-1) وأضيفت إلى الوسط CMB المعقم مع مراعات كمية الوسط وكمية الراشح المضاف بالإضافة الى دوارق حاوية على 250 مل من وسط CMB فقط دون إضافة راشح *T.harzianum* كمعاملة سيطرة، أضيف قرص واحد (6 ملم) اخذ من حافة المستعمرات الفتية للفطريات الصائدة للديدان الثعبانية المختبرة النامية على وسط CMA بعمر 7 ايام وبمعدل مكررين

لكل تركيز و لكل فطر والسيطرة، حضنت الدوارق في الحاضنة تحت درجة حرارة 25 ± 2 م° وبدون حركة ولمدة أسبوعين بعدها تم استخراج الغزل الفطري من كل دورق ولكل تركيز وحساب وزنه حسب الفقرة 3-9.

12-3 دراسة تأثير اضافة تراكيز مختلفة من راشح الفطر *T. harzianum* في الفعالية ضد بكتيرية لرواشح الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية

حضرت دوارق زجاجية سعة 250 مل حاوية على وسط CMB، تم تعقيم الوسط، وبردت الدوارق، وقسمت إلى مجاميع، حضرت سلسلة تراكيز وهي 10 و 20 و 30% من راشح الفطر *T.harzianum* (الذي تم تحضيره حسب الفقرة 3-11-1) أضيفت إلى الوسط CMB المعقم مع مراعات كمية الوسط وكمية الراشح المضاف بالإضافة الى دوارق حاوية على 250 مل من وسط CMB فقط دون إضافة راشح *T.harzianum* كعامل سيطرة، أضيفت 5 اقراص (6 ملم) اخذت من حافة المستعمرات الفتية للفطريات الصائدة للديدان الثعبانية المختبرة النامية على وسط CMA بعمر 7 ايام وبمعدل مكررين لكل تركيز و لكل فطر والسيطرة، حضنت الدوارق في الحاضنة الهزازة بمعدل 120 دورة / دقيقة تحت درجة حراره 25 ± 2 م° ولمدة أسبوعين. بعد انتهاء مدة الحضان تم ترشيح المزارع الفطرية حسب الفقرة 3-7، بعد ذلك تم اختبار تأثير الراشح الفطري على نمو البكتيريا حسب الفقرة 3-8.

13-3 تأثير إضافة تراكيز مختلفة من راشح البكتيريا *Pseudomonas aeruginosa* في نمو الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية في المزارع السائلة

1-13-3 تحضير راشح البكتيريا *P. aeruginosa*

وضع العالق البكتيري (الذي حضر من اخذ البكتيريا بعمر 24 ساعة و اضيفت إلى وسط NB وكان عدد المستعمرات 10^6 CFU/ml مستعمرة بعد 48 ساعة من الحضان) النامي على وسط NB في دوارق سعة 250 مل، ورشح بواسطة جهاز الطرد المركزي (Centrifuge) بمعدل 3000 دورة لمدة 15 دقيقة، ثم اعيد الترشيح باستعمال ورق ترشيح Millipore Filter 0.22μ باستعمال جهاز Vacuum.

2-13-3 اختبار تأثير إضافة راشح البكتيريا *P. aeruginosa*

حضرت دوارق زجاجية سعة 250 مل حاوية على وسط CMB، تم تعقيم الوسط، وبردت الدوارق، حضرت سلسلة تراكيز وهي 10 و 20 و 30% من راشح البكتيريا *P.aeruginosa*

(الذي تم تحضيره حسب الفقرة 3-13-1) وأضيفت إلى الوسط CMB المعقم مع مراعات كمية الوسط وكمية الراشح المضاف بالإضافة إلى دوارق حاوية على 250 مل من وسط CMB فقط دون إضافة راشح البكتيريا *P.aeruginosa* كمعاملة سيطرة ، أضيف قرص واحد (6 ملم) اخذ من حافة المستعمرات الفتية للفطريات الصائدة للديدان الثعبانية المختبرة النامية على وسط CMA بعمر 7 ايام وبمعدل مكررين لكل تركيز و لكل فطر والسيطرة، حضنت الدوارق في الحاضنة تحت درجة حرارة 25 ± 2 م° وبدون حركة ولمدة أسبوعين بعدها تم استخراج الغزل الفطري وحساب وزنه حسب الفقرة 3-9 .

14-3 دراسة تأثير اضافة تراكيز مختلفة من راشح البكتيريا *P. aeruginosa* في الفعالية ضد بكتيرية لرواشح الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية

حضرت دوارق زجاجية سعة 250 مل حاوية على وسط CMB ،تم تعقيم الوسط ،وبردت الدوارق ،وقسمت إلى مجاميع ، حضرت سلسلة تراكيز وهي 10 و 20 و 30% من راشح البكتيريا *P.aeruginosa* (الذي تم تحضيره حسب الفقرة 3-13-1) وأضيفت إلى الوسط CMB المعقم مع مراعات كمية الوسط وكمية الراشح المضاف بالإضافة إلى دوارق حاوية على 250 مل من وسط CMB فقط دون إضافة راشح البكتيريا *P.aeruginosa* كمعاملة سيطرة ، أضيفت 5 اقراص (6 ملم) أخذت من حافة المستعمرات الفتية للفطريات الصائدة للديدان الثعبانية المختبرة النامية على وسط CMA بعمر 7 ايام وبمعدل مكررين لكل تركيز ولكل فطر والسيطرة ، حضنت الدوارق في الحاضنة الهزازة بمعدل 120دورة / دقيقة تحت درجة حراره 25 ± 2 م° ولمدة أسبوعين. بعد انتهاء مدة الحضن تم ترشيح المزارع الفطرية حسب الفقرة 3-7 ، وبعد ذلك تم اختبار تأثير الراشح الفطري على نمو البكتيريا حسب الفقرة 3-8.

15-3 اختبار السمية الخلوية للمستخلصات الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية المختبرة

أستعملت كريات الدم الحمر للانسان لتحديد السمية الخلوية لمستخلصات رواشح الفطريات ذات الفعالية المضادة للبكتيريا و حسب طريقة Xian – guo and Ursula (1994) اذ حضرت التراكيز 25 و 50 و 100 و 200 و 400 مايكروغرام / مل من مستخلص كل فطر في محلول الفوسفات المنظم الملحي (Phosphate buffer saline) ، واستعمال معامل سيطرة موجب يحتوي على ماء الحنفية و معامل سيطرة سالب يحتوي على Phosphate buffer saline فقط.

وبعدها وضع 0.8 مل من كل تخفيف في أنبوبة اختبار معقمة ، و أضيف لكل أنبوبة 0.2 مل من الدم ليصبح الحجم النهائي 1 مل لكل أنبوبة وحضنت الانابيب في الحاضنة بدرجة حرارة 37 م° ، لمدة ثلاث ساعات، فحصت الانابيب لملاحظة التحلل الدموي Hemolysis.

16-3 تأثير رواشح الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية على يرقات نيماتود

Anguina tritici

1-16-3 تنشيط يرقات النيماتود

تم الحصول على تآليل الحنطة الحاوية على النيماتود *A. tritici* من طالب الدكتوراه محمد حمدان غضبان (قسم وقاية النبات / كلية الزراعة / جامعة البصرة)، تم تنشيطها وذلك بوضع التآليل في طبق بتري معقم وأضيف إليها ماء مقطر معقم وتركت لمدة 24 ساعة، وبعدها تم كسر التآليل لتحرير يرقات الطور الثاني لنيماتود تآليل الحنطة.

2-16-3 اختبار تأثير الراشح الفطري في يرقات النيماتود

أضيف 1 مل من مزرعة يرقات نيماتود *A. tritici* إلى طبق بتري 5 سم ويحتوي كل مل 20-25 يرقة وأضيف لها 3 مل من أحد الرواشح الخام للفطريات الصائدة للنيماتود، وعملت بثلاث مكررات مع معاملة السيطرة والتي أضيف لها 3 مل ماء مقطر معقم فقط ، وحضنت الاطباق في حرارة 28 م° وحسبت اليرقات الميتة بعد 24، 48، 72 ساعة (الاسدي، 2009).

17-3 الكشف النوعي للمركبات الايضية الفطرية

تم تنمية الفطريات في وسط التخمر CMB حسب الفقرة (2-2-5)، وبعد انتهاء مدة الحضان تم ترشيح المزارع الفطرية باستعمال ورق ترشيح نوع Whatman No.1 ، ثم أعيد الترشيح باستعمال ورق ترشيح نوع Millipore filter 0.22μ باستعمال جهاز (Vacuum) وذلك لتنقية الراشح الفطري، الراشح الذي تم الحصول عليه تم مزجه مع Ethyl acetate (V:V) باستعمال قمع فصل زجاجي معقم وتحت ظروف معقمة ، ثم جمعت الطبقة العضوية ووضعت في اطباق بتري معقمة ، ووضعت بالحاضنة تحت درجة حرارة 25 م° وتركت لحين الجفاف. وتم قشط المادة الجافة ووضعها في انابيب معقمة وجافة عند 25 م° ، أجريت مجموعة من الكشوفات الكيميائية النوعية على مستخلصات الرواشح الفطرية للتعرف على نوعية المركبات الكيميائية التي تحويها هذه المستخلصات باتباع طرائق الكشف الآتية:

1. الكشف عن القلويدات Alkaloids

استعمل المستخلص الفطري الخام للكشف عن القلويدات وذلك بإضافة 1 مل من حامض الهيدروكلوريك (بتركيز 2N) إلى 10 ملغم من المستخلص ، رج الخليط لمدة دقيقتين وشرح باستعمال ورق ترشيح Whatman No.1 ، قسم الراشح لثلاثة اقسام متساوية. اول قسم أضيفت له 4 قطرات من كاشف Mayer's ، وقسم أضيفت له كمية متساوية من كاشف Dragendroff والقسم الأخير أضيفت له كمية متساوية من كاشف Wagner's ، اذا ظهر راسب ذو لون كريمي، راسب ذو لون برتقالي، وراسب ذو لون بني على التوالي ، يشير إلى وجود القلويدات في المستخلص (Devi et al.,2012).

2. الكشف عن الفينولات Phenols

كشف عن المركبات الفينولية باستعمال كاشف كلوريد الحديدك الثلاثي ($FeCl_3$) حيث أضيف 1 مل من الكاشف إلى 1 مل من المستخلص، ظهور لون اخضر يدل على جود المركبات الفينولية في المستخلص (Devi et al.,2012).

3. الكشف عن التانينات Tannins

تم إضافة 2 مل من كاشف Alcoholic $FeCl_3$ إلى 2 مل من المستخلص الخام ، ظهور اللون الأزرق المسود الذي يختفي عند إضافة حامض الكبريتيك المخفف ويليه تكوين راسب بني مصفر إلى وجود التانينات في المستخلص (Devi et al.,2012).

4. الكشف عن الصابونيات Saponins

تم إضافة 1 مل ماء مقطر معقم إلى 1 ملغم من المستخلص الخام ، تم رج المستخلص المائي بشدة. وأشار ظهور رغوة كثيرة تبقى لفترة طويلة إلى وجود الصابونيات في المستخلص (Devi et al.,2012).

5. الكشف عن الفلافونيدات Flavonoids

أضيفت 8 قطرات من حامض الهيدروكلوريك المخفف (HCl) وكمية قليلة من Zinc إلى 1 مل من المستخلص الخام ، وترك المحلول لعدة دقائق . يشير ظهور لون وردي محمر أو بني إلى وجود الفلافينودات في المستخلص (Devi et al.,2012).

6. الكشف عن الستيرويدات Steroids

تم اجراء تفاعلات Liebermann-Burchard للكشف عن وجود الستيرويدات. أضيف 1 مل من الكلوروفورم و 2 مل من انهيدريد الخليك Acetic anhydride ($C_4H_6O_3$) وقطرتين من حامض الكبريتيك المركز (H_2SO_4) إلى 2 مل من المستخلص الفطري الخام ، يشير ظهور حلقة ذات لون أخضر مزرق إلى وجود الستيرويدات في المستخلص (Devi et al.,2012).

3-18 تأثير الراشح الفطري للفطريات الصائدة للديدان الثعبانية في نسبة انبات بذور

الباميا *Abelmoschus esculentus* ومعدل طول أنبوب الانبات

تم الحصول على بذور الباميا *A. esculentus* من السوق المحلية، استعمل راشح مزارع الفطريات المختبرة (تم تحضيره حسب الفقرة 2-2-5) وبوعين غير معقم (مفلتر باستعمال ورق ترشيح What man No.1 فقط) ومعقم (باستعمال ورق ترشيح What man No.1 وورق ترشيح نوع 0.22μ Millipore Filters)، اختبر تأثير كلا الراشحين على معدل انبات البذور، وضعت أوراق ترشيح معقمة (عقمت بجهاز المؤصدة البخاري (Autoclave) بدرجة حرارة 121°C وضغط 15 باوند/انج² لمدة 20 دقيقة) في أطباق بلاستيكية بقطر 9 سم، وضعت 10 بذرات في كل طبق بعد ان تم تعقيمها سطحيا بمحلول هايوكلورات الصوديوم NaClO بتركيز 2% مدة دقيقتين بعدها غسلت بالماء المقطر المعقم ثلاث مرات، بعدها وضعت على أوراق ترشيح معقمة لتجفيفها، أضيف 5 مل من الراشح الفطري للفطريات الصائدة للديدان الثعبانية المختبرة كلا على حده إلى الأطباق الحاوية على البذور، وأضيف 5 مل من الماء المقطر المعقم إلى أطباق أخرى كمعاملة سيطرة. وحضر مكررين لكل راشح ولكل فطر، حضنت الاطباق تحت درجة حرارة $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ لمدة 7 أيام، وبعد 7 أيام تم حساب نسبة الانبات و طول أنبوب الانبات للنبات النامية و ملاحظة التغيرات التي سببها الراشح لأنبوب الانبات ومقارنتها مع اطباق السيطرة والتي أضيف لها ماء مقطر معقم فقط.

3-19 تأثير الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية في نسبة أنبات بذور نبات الباميا

A. esculentus ومعدل طول أنبوب الانبات على وسط CMA

حضرت أطباق بتري حاوية على وسط CMA، لقت بقرص من المستعمرات الفطرية المختبرة وحضنت الاطباق تحت درجة حرارة 25°C و بعد 48 ساعة من الحضن أضيفت لها 3 بذرات من بذور الباميا المعقمة حسب الفقرة 3-18، تم وضع 3 بذرات في طبق يحوي CMA فقط كمعاملة سيطرة، وحضر مكررين لكل فطر من الفطريات المختبرة، حضنت الاطباق تحت درجة حرارة $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ لمدة 7 أيام، وبعد 7 أيام تم حساب نسبة الانبات و طول أنبوب الانبات للنبات النامية ومقارنتها مع اطباق السيطرة.

20-3 الكشف عن الانزيمات في رواشح الفطريات الصائدة للنيما تود

1-20-3 الكشف عن انزيم Proteinase

حضرت دوارق سعة 250 مل حاوية على 150 مل وسط (G-PB) عقت و بردت و أضيف لها 7 اقراص (6 ملم) اخذت من حافة المستعمرات الفتية للفطريات الصائدة للديدان الثعبانية المختبرة النامية على وسط CMA بعمر 7 ايام وبمعدل مكررين لكل فطر، حضنت الدوارق في الحاضنة تحت درجة حرارة 35 م° وبدون حركة لمدة شهر واحد، بعد انتهاء مدة الحضن تم تبريد الدوارق إلى درجة حرارة 4 م°، رشحت المزارع الفطرية باستعمال ورق ترشيح نوع Whatman No.1 ، ثم اعيد الترشيح باستعمال ورق ترشيح نوع Millipore filter 0.22µم باستعمال جهاز Vacuum (Hanlon and Hodges, 1981).

1-1-20-3 تقدير الفعالية الانزيمية لأنزيم Proteinase

تم تقدير الفعالية الانزيمية لأنزيم Proteinase باستعمال Casein كمادة أساس حسب طريقة Hanlon and Hodges (1981)، أضيف 0.5 مل من Casein إلى 0.5 مل من الراشح الفطري (الذي تم تحضيره حسب الفقرة 1-20-2) وأضيف 0.1 مل من محلول التنظيم-Tris HCl بتركيز 0.5M، pH8، وضع الخليط في الحاضنة تحت درجة حرارة 40 م° لمدة 30 دقيقة، تم إيقاف التفاعل بإضافة 2 مل من TCA (بتركيز 0.67M) ثم ترك لمدة ساعة واحدة. وضع المحلول بجهاز الطرد المركزي بدرجة 3000 دورة لمدة 15 دقيقة. تم قياس الامتصاصية باستعمال جهاز UV- Spectrophotometer (UV-1800) عند طول موجي 280 نانومتر مقابل تفاعل السيطرة الذي تم تحضيره كما ذكر أعلاه، ولكن تمت إضافة محلول TCA قبل إضافة المستخلص الخام، عند قراءة الامتصاصية فكل 0.1 تمثل وحدة انزيمية واحدة، تم قياس الفعالية بوحدات (وحدة / مل) اعتمادا على المعادلة التالية:

$$\text{الفعالية الانزيمية (وحدة/ مل)} = \text{الامتصاصية عند } 280 \text{ نانوميتر} / 0.1 \times 30 \times 0.5$$

0.1: الثابت

30: وقت التفاعل (دقيقة)

0.5: حجم الانزيم (مل)

2-1-20-3 تأثير درجات الحرارة في الفعالية الانزيمية لأنزيم Proteinase

لتحديد درجة الحرارة المثلى لنشاط انزيم Proteinase، تم إجراء التفاعل الانزيمي الذي ذكر في الفقرة اعلاه بدرجات حرارة مختلفة (22 و 25 و 28 و 31 و 34 و 37 و 43) م° ، تم عمل 3 مكررات لكل درجة حرارة، وتم قياس الفعالية الانزيمية لهم.

2-20-3 الكشف عن انزيم Chitinase

حضرت دوارق سعة 250 مل حاوية على 150 مل وسط MSM وعقمت و بردت و اضيف لها 7 اقراص (6 ملم) اخذت من حافة المستعمرات الفتية للفطريات الصائدة للديدان الثعبانية المختبرة النامية على وسط CMA بعمر 7 ايام وبمعدل مكررين لكل فطر، حضنت الدوارق في الحاضنة تحت درجة حرارة 25 م° وبدون حركة لمدة 37 يوم، بعد انتهاء مدة الحضانة، رشحت المزارع الفطرية باستعمال ورق ترشيح نوع Whatman No.1 ، ثم أعيد الترشيح باستعمال ورق ترشيح نوع Millipore filter 0.22µ باستعمال جهاز Vacuum (Veda and Arai, 1992) غير موجود بالمصادر.

1-2-20-3 تقدير الفعالية الانزيمية لأنزيم Chitinase

تم قياس الفعالية الانزيمية لأنزيم Chitinase باستعمال الكايتين الغروي (Colloidal) chitin. كمادة أساس حيث تم إضافة 1 مل من الكايتين الغروي (0.3%) إلى 1 مل من الراشح الفطري، وحضن بدرجة حرارة 37 م° لمدة ساعة، تم إيقاف التفاعل بإضافة 2 مل من كاشف DNS. تفاعل السيطرة تم تحضيره كما ذكر أعلاه باستثناء إضافة DNS قبل إضافة الراشح الفطري، تم قياس عكوره المحلول باستعمال جهاز UV-Spectrophotometer (UV-1800) عند طول موجي 660 نانوميتر. عند قراءة الامتصاصية فكل 0.001 تمثل وحدة انزيمية واحدة (Veda and Arai, 1992). تم قياس الفعالية بوحدات (وحدة/مل) اعتمادا على المعادلة التالية:

الفعالية الانزيمية (وحدة/مل) = الامتصاصية عند 660 نانوميتر / $0.001 \times 60 \times 1$

الثابت: 0.001

60: وقت التفاعل (دقيقة)

1: حجم الانزيم (مل)

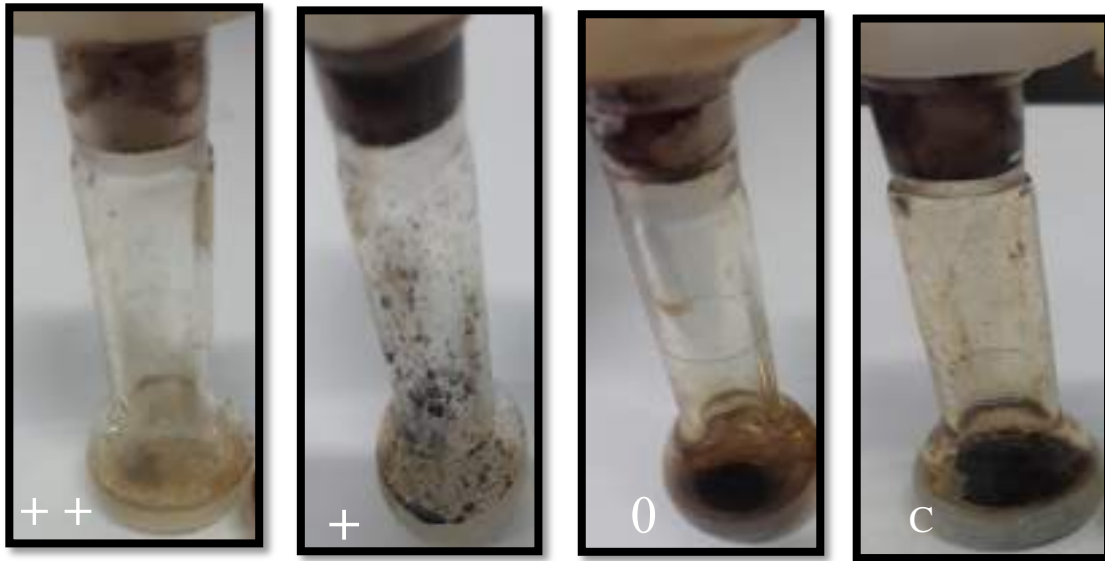
3-2-20-2 تأثير درجات الحرارة على الفعالية الانزيمية لأنزيم Chitinase

لتحديد درجة الحرارة المثلى لنشاط انزيم Chitinase ، تم إجراء التفاعل الانزيمي الذي ذكر في الفقرة أعلاه بدرجات حرارة مختلفة (25 و 28 و 31 و 34 و 40 و 43) م ، تم عمل 3 مكررات لكل درجة حرارة ، و تم قياس الفعالية الانزيمية لهم.

3-21 اختبار قابلية الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية على تكسير النفط الخام

حضرت دوارق حجميه سعة 10 مل تحتوي 2 مل من وسط الأملاح المعدنية MSM ثم عقت الدوارق بجهاز التعقيم ، قسمت إلى 9 مجاميع بواقع دورقين لكل مجموعة ، إضافة إلى دورقين تمثل السيطرة ، أضيف 10 مايكرو ليتر من النفط الخام لكل دورق ، وأضيف قرص واحد (6 ملم) اخذ من حافة المستعمرات الفتية للفطريات الصائدة للديدان الثعبانية المختبرة النامية على وسط CMA بعمر 7 ايام لكل دورق عدا دورقي السيطرة تمت إضافة النفط الخام فقط وبمعدل مكررين لكل فطر ، حضنت الدوارق تحت درجة حرارة 25م° لمدة 7 أيام، تم الفحص بعد 7 ايام ، تم تحديد قابلية الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية على تكسير النفط الخام بالاعتماد على كمية النفط المتحللة وكالاتي:

+ تشير إلى قابلية تكسير حيوي قليلة تتراوح ما بين 25-30% من الكمية الكلية للنفط الخام
++ تشير إلى قابلية تكسير حيوي عالية تتراوح ما بين 70-75 % من الكمية الكلية للنفط الخام
0 تشير إلى بقاء النفط الخام على حاله دون تغير وهذا يعني ان الفطريات لم تتمكن من تكسير النفط الخام (Lemos et al., 2002).



شكل 3-1: دليل التكسير الحيوي Biodegradation للنفط الخام crude oil : C السيطرة الوسط الزراعي مضاف اليه النفط الخام بدون فطر، 0 عدم وجود التكسير الحيوي، + نسبة التكسير الحيوي ما بين 25 - 30 % ، ++ نسبة التكسير الحيوي ما بين 70 - 75 %.

22-3 اختبار قابلية الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية على النمو بعد تكسير النفط الخام بعد مرور 30 يوم

حضرت دوارق حجميه سعة 250 مل تحتوي 100 مل من وسط الأملاح المعدنية MSM ثم عقت الدوارق بجهاز التعقيم ، قسمت إلى تسع مجاميع بواقع دورقين لكل مجموعة ، إضافة إلى دورقين تمثل السيطرة ،أضيف 0.1 مل من النفط الخام لكل دورق ،وأضيفت 3 اقراص (6 ملم) اخذت من حافة المستعمرات الفتية للفطريات الصائدة للديدان الثعبانية المختبرة النامية على وسط CMA بعمر 7 ايام لكل دورق عدا دورقي السيطرة تمت إضافة النفط الخام فقط وبمعدل مكررين لكل فطر، حضنت الدوارق تحت درجة حرارة 25م° لمدة 30 يوم ،تم ملاحظة النمو بعد انتهاء مدة الحضانة ، وتم تحديد قابلية الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية على تكسير النفط الخام كما في الفقرة أعلاه (Lemos et al., 2002). تم استخراج الغزل الفطري من كل دورق وحساب وزنه حسب الفقرة 2-9.

23-3 الكشف عن المركبات الموجودة في الراشح الفطري بتقنية GC-MS

بعد تنمية الفطريات في وسط التخمر CMB حسب الفقرة (3-6)، بعد انتهاء مدة الحضانة تم ترشيح المزارع الفطرية باستعمال ورق ترشيح نوع Whatman No.1 ، ثم أعيد الترشيح باستعمال ورق ترشيح نوع Millipore filter 0.22μ باستعمال جهاز (Vacuum) وذلك لتنقية الراشح الفطري ،الراشح الذي تم الحصول عليه تم مزجه بحجم مساوي له (v:v) من خلات الايثيل (Ethyl acetate) باستعمال قمع فصل زجاجي معقم وتحت ظروف معقمة ، ثم جمعت الطبقة العضوية وتم تجفيفها من الماء بإضافة سلفات الصوديوم اللامائية (Na₂SO₄) و وضعت الطبقة العضوية في اطباق بتري معقمة ووضع بالحاضنة بدرجة حرارة 25م° وتركت لحين الجفاف تم قشط المادة الجافة ووضعها في انابيب معقمة وتم الكشف عن المركبات الفعالة باستعمال تقنية GC-MS نوع GC-MS2010 Ultra (تم اجراء الكشف في كلية الزراعة / قسم الإنتاج الحيواني / جامعة البصرة).

24-3 التحليل الاحصائي Statistical Analysis

نفذت جميع التجارب المختبرية باستخدام التصميم العشوائي الكامل Complete Randomized Design (CRD) وتمت مقارنة الفروق المعنوية بين المتوسطات باختبار اقل فرق معنوي Least Significant Difference (LSD) تحت مستوى ثقة (p<0.01) (الراوي، 1980)، واجري التحليل الاحصائي من قبل الدكتور اسعد يحيى عايد جامعة البصرة / كلية الزراعة / قسم الإنتاج الحيواني.

الفصل الرابع

النتائج والمناقشة

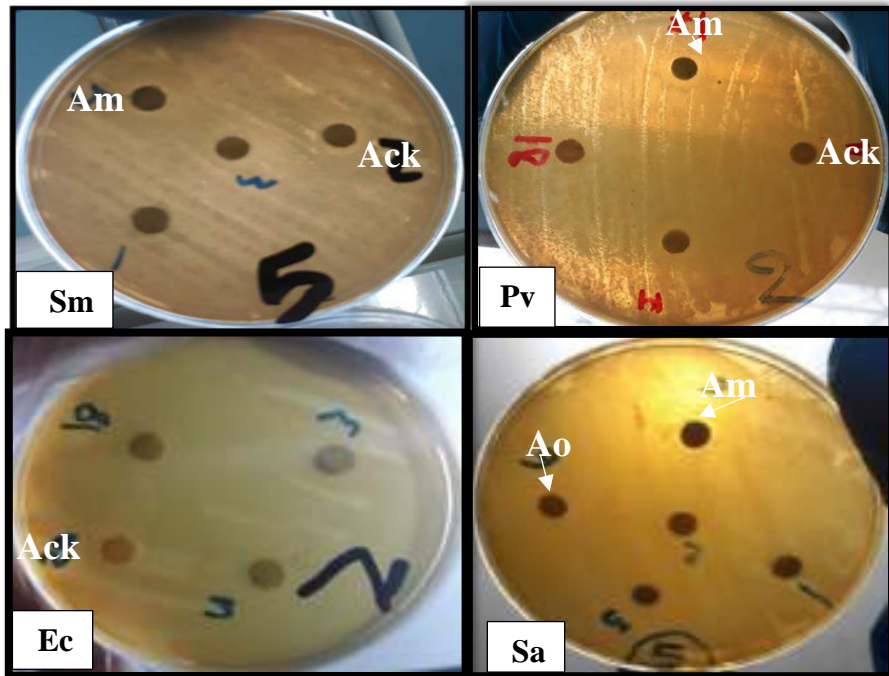
Results and Discussion

4- النتائج والمناقشة

4-1 تأثير روائح الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية في نمو البكتيريا

أوضحت نتائج الدراسة ان لروائح الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية المختبرة القدرة على تثبيط البكتيريا المختبرة بأقطار تثبيط متفاوتة اختلفت باختلاف أنواع الفطريات وباختلاف أنواع البكتيريا.

لوحظ من خلال النتائج ان المستخلص الخام للفطريات *A. oligospora* و *A. cookedickinson* و *A. microscaphoides* أظهرت فعالية تثبيطية تجاه البكتيريا *P. vulgaris* بأقطار تثبيط بلغت 12.1 و 12.5 و 12.2 ملم لكل منهما على التوالي، وتجاه البكتيريا *S. marcesens* بأقطار تثبيط بلغت 12.3 و 12.3 و 12.4 ملم لكل منهما على التوالي. بينما أظهر الفطران *A. oligospora* و *A. microscaphoides* فعالية تثبيطية تجاه البكتيريا *S. aureus* بلغت 12.1 و 2 ملم لكل منهما على التوالي، أما الفطر *A. cookedickinson* فقد أظهر فعالية تثبيطية تجاه البكتيريا *E. coli* بلغت 12.4 ملم. في حين لم تظهر الفطريات *A. conoides* و *A. eudermata* و *A. rutgeriense* و *A. thaumasia* و *C. rosea* و *D. brochopaga* أي فعالية تثبيطية تجاه العزلات البكتيرية المختبرة (شكل 4-1).



شكل 4-1: الفعالية ضد بكتيرية لمستخلص الايض الثانوي للفطريات الصائدة للديدان الثعبانية ضد عدد من البكتريا المرضية،

Serratia :Sm ، *Staphylococcus aureus* :Sa ، *Escherichia coli* :Ec ، *Proteus vulgaris* :Pv

A. microscaphoides: Am ، *A. cookedichinson* :Ack ، *A. oligospora* :Ao ، *marcesens*

أوضح الكشف الأولي لأنواع الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية المدروسة احتوائها على مركبات ايض ثانوي لها فعالية تثبيطية واطئة تجاه البكتريا المرضية المختبرة بأقطار تثبيط متباينة عند تنميتها في وسط CMB.

تتفق نتائج الدراسة مع العديد من الدراسات التي أشارت إلى قدرة الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية ومن ضمنها *A. oligospora* على تثبيط نمو البكتيريا المرضية لما تنتجه من مركبات الايض الثانوي (Kasim, 2016 ; Pendse et al., 2013 ; Stadler et al., 1993a, b) حيث أظهرت هذه الفطريات فعالية تثبيطية لكن كانت منخفضة تجاه البكتيريا المختبرة ، في حين بعض الأنواع الفطرية لم تظهر أي فعالية تثبيطية تجاه البكتيريا المختبرة، ويعود ذلك لعدة أسباب منها أن العزلات البكتيرية المختبرة كانت مقاومة لذلك لم تتأثر بمركبات الايض الثانوي المنتجة من قبل الفطر، أو عدم قدرة الفطريات على انتاج مضادات حيائية بكميات كافية لقتل أو تثبيط نمو البكتيريا و يعزى ذلك إلى اختلاف عزلات النوع الواحد في انتاج مركبات الايض الثانوي التي تمكنها من قتل أو تثبيط نمو البكتيريا بسبب وجود بعض الاختلافات الجينية بين تلك العزلات (Morton, 2003 ; قاسم، 2006).

2-4 تأثير الدالة الحامضية (pH) في نمو الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية في المزارع السائلة

أشارت نتائج الدراسة إلى أن تغيير الدالة الحامضية من 4.8 (قيمة الـ pH في الوسط) إلى 4 و 5 و 6 و 7 في المزارع السائلة المستخدمة لتنمية الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية المختبرة أدى إلى ظهور اختلافات واضحة في الكتلة الحية (Biomass) للفطريات وأن وزن الكتلة الحية اختلف باختلاف أنواع الفطريات وباختلاف قيمة الـ pH لكل فطر، حيث أظهر الفطر *A. rutgeriense* أعلى معدل للكتلة الحية الطرية بلغ 10.77 غم ، في حين كان أقل معدل للكتلة الحية الطرية هي للفطر *A. microscephoides* بمعدل 3.36 غم . وأظهرت الدراسة أن قيمة الـ pH المثلى للفطريات المختبرة هي 5 حيث بلغ معدل الوزن الطري 10.21 غم ، في حين أظهرت قيمة الـ pH 7 أقل معدل بلغ 3.64 غم عند الوزن الطري (جدول 1-4).

لوحظ من خلال جدول 1-4 أن الفطر *A. rutgeriense* قد تفوق معنويا على بقية الفطريات حيث أظهر أعلى كتلة حية طرية بلغت 16.84 غم عند قيمة pH 5 ، بينما أظهر الفطر *A. conoides* أقل كتلة حية طرية بلغت 4.21 غم عند نفس القيمة. أما عند قيمة الـ pH 6 فقد أظهر الفطر *A. thaumasia* أعلى كتلة حية طرية

بلغت 10.75 غم بينما أظهر الفطر *A.microscaphoides* أقل كتلة حية طرية بلغت 3.85 غم عند نفس القيمة.

أظهرت نتائج الوزن الجاف (Dry weight) أن الفطر *A.rutgeriense* أظهر أعلى معدل بالوزن الجاف للكتلة الحية بلغت 0.68 غم، في حين كان أقل معدل للوزن الجاف 0.21 و 0.22 غم للفطرين *A.microscaphoides* و *D.brochopaga* على التوالي لعدم وجود فرق معنوي بينهما (جدول 4-2).
أظهر الجدول 4-2 أن الفطر *A.rutgeriense* أعطى أعلى كتلة حية جافة بلغت 1.34 غم عند قيمة 5 pH ، في حين أظهر الفطر *A.conoides* أقل كتلة حية جافة (0.27 غم) عند نفس القيمة. أما عند قيمة الـ 6 pH فقد أظهر الفطر *C.rosea* أعلى كتلة حية جافة بلغت 0.58 غم ، في حين أظهر الفطر *A.microscaphoides* أقل كتلة حية بلغت 0.24 غم.

جدول 4-1: تأثير قيم مختلفة من الدالة الحامضية (pH) في الوزن الطري (غم) للكتلة الحية للفطريات الصائدة للديدان الشعبانية المختبرة

المعدل	الوزن الطري للكتلة الحية (غم)				قيم الـ pH الفطريات الصائدة للديدان الشعبانية
	7	6	5	4	
5.2	8.5	5.57	4.21	2.51*	<i>A.conoides</i>
7.3	8.29	10.28	8.64	1.98	<i>A.cookedickinson</i>
4.62	0	4.33	10.56	3.62	<i>A.eudermata</i>
3.36	0	3.85	5.82	3.78	<i>A.microscaphoides</i>
7.64	0	8.82	10.95	10.78	<i>A.oligospora</i>
10.77	10.63	10.73	16.84	4.87	<i>A.rutgeriense</i>
7.79	0	10.75	11.75	8.67	<i>A.thaumasia</i>
8.81	5.41	10.61	12.26	6.95	<i>C. rosea</i>
4.19	0	4.61	10.85	1.32	<i>D. brochopaga</i>
	3.64	7.73	10.21	4.94	المعدل
0.1513	1.2967				قيمة LSD (0.01)

*كل رقم يمثل معدل مكررين

جدول 4-2: تأثير قيم مختلفة من الدالة الحامضية (pH) في الوزن الجاف (غم) للكتلة الحية للفطريات الصائفة للديدان الثعبانية المختبرة

المعدل	الوزن الجاف للكتلة الحية (غم)				الفطريات قيم الـpH الصائفة للديدان الثعبانية
	7	6	5	4	
0.29	0.41	0.34	0.27	0.12*	<i>A.conoides</i>
0.37	0.44	0.52	0.43	0.11	<i>A.cookedichinson</i>
0.28	0	0.34	0.58	0.22	<i>A.eudermata</i>
0.21	0	0.24	0.38	0.23	<i>A.microscaphoides</i>
0.4	0	0.48	0.62	0.52	<i>A.oligospora</i>
0.68	0.5	0.52	1.34	0.38	<i>A.rutgeriense</i>
0.42	0	0.5	0.73	0.44	<i>A.thaumasia</i>
0.47	0.39	0.58	0.61	0.3	<i>C. rosea</i>
0.22	0	0.27	0.56	0.07	<i>D. brochopaga</i>
	0.19	0.42	0.61	0.26	المعدل
0.01425	0.07357				قيمة LSD(0.01)

*كل رقم يمثل معدل مكررين

أشار Gray (1988) إلى أن انتشار وتوزيع الفطريات الصائفة للديدان الثعبانية يتأثر بقيم الـpH و الرطوبة أكثر من عوامل التربة الأخرى. أن هذه الفطريات بإمكانها النمو بدرجات حموضة تتراوح من 4-7 ولكن قيمة الـpH المثلى لنموها تتراوح بين 5-6 وهذه النتيجة تتفق مع نتائج دراسة Olthof and Estey (1965) التي أشارت إلى أن بعض أنواع الجنس *Arthrobotrys* مثل *A.conoides* و *A.oligospora* تكون قيمة الـpH المثلى للنمو هي 5-6 ، كما أشارت العديد من الدراسات إلى أن بعض أنواع الفطريات الصائفة للديدان الثعبانية ومنها *A.oligospora* و *A.musiformis* بإمكانها النمو بقيم pH تتراوح من 5-8 لكنها تنمو بشكل أفضل في الظروف الحامضية الضعيفة التي تكون قيمة الـpH فيها من 5-6 (Yu et al., 2003 ; Wang et al., 2015 ; Wang et al., 2017 ; Xue et al., 2018). لأن قيمة الـpH تؤثر في عملية نفاذية الايونات عبر الغشاء الخلوي للكائنات الحية ومنها الفطريات حيث أشارت العديد من الدراسات إلى أن أفضل حالة لنفاذية الايونات الموجبة والسالبة عبر الغشاء البلازمي للفطريات يحدث عند قيمة الـpH 5-6 (خالد وآخرون، 2018).

أما إذا زادت قيمة الـ pH عن هذا المستوى تحدث زيادة في نفاذية الايونات الموجبة على حساب كمية الايونات السالبة والعكس صحيح ، مما يخلق حالة من عدم التوازن في كمية الايونات النافذة عبر الغشاء الخلوي وبالتالي ضعف نمو الفطر (Kavangh,2005).

كما تؤثر قيمة الـ pH على تجهيز العناصر المعدنية التي يحتاجها الفطر حيث تستغل الفطريات العناصر المعدنية بصورتها الايونية، وهذه الصورة تتوفر عندما تكون قيمة الـ pH أقل من 7 أما اذا كانت قيمة الـ pH أعلى من ذلك، تشكل العناصر المعدنية معقدات مع مركبات أخرى وبالتالي لا تكون جاهزة للفطر كعناصر المغنسيوم والكارصين (خالد وآخرون، 2018).

3-4 تأثير الدالة الحامضية (pH) في الفعالية ضد بكتيرية لرواشح الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية في المزارع السائلة

أظهرت نتائج الدراسة أن درجات الحموضة 4 و5 و6 و7 المختبرة ليس لها تأثير واضح في زيادة الفعالية التثبيطية لرواشح الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية على عزلات البكتيريا المختبرة. لم تظهر المستخلصات الخام للفطريات المختبرة أية فعالية تثبيطية تجاه البكتيريا عند قيمتي pH 4 و7 .

لوحظ من خلال النتائج أن المستخلصات الخام للفطريات *A.cookedickinson* و *A.microscaphoides* و *A.oligospora* و *A.thaumasia* أظهرت فعالية تثبيطية تجاه البكتيريا *P.vulgaris* بلغت 13.1 و 12.4 و 13.5 و 13.4 ملم على التوالي و تجاه *S.marcesens* بأقطار تثبيط بلغت 13.3 و 12.6 و 13.3 و 13.2 ملم على التوالي ، بينما أظهرت هذه الفطريات فعالية تثبيطية تجاه البكتيريا *S.aureus* بأقطار تثبيطية بلغت 13.4 و 12.3 و 12.6 و 12.4 ملم على التوالي. كذلك أظهر الفطران *A.cookedickinson* و *A.thaumasia* فعالية تثبيطية تجاه *E.coli* بقطر تثبيط بلغ 13.2 و 13.3 ملم لكل منهما على التوالي عند قيمة الـ pH 5.

في حين أظهرت هذه الأنواع عدا الفطر *A.microscaphoides* فعالية تثبيطية تجاه البكتيريا *P.vulgaris* بلغت 12.5 و 12.7 و 12.3 ملم على التوالي و تجاه *S.marcesens* بأقطار تثبيط بلغت 12.7 و 12.4 و 12.2 ملم على التوالي ، بينما أظهرت هذه الفطريات فعالية تثبيطية تجاه البكتيريا *S.aureus* بأقطار تثبيطية بلغت 12.3 و 12.6 و 12.4 ملم على التوالي عند قيمة الـ pH 6 .

لوحظ من خلال نتائج الدراسة أن بعض المستخلصات الخام لأنواع الفطريات المختبرة أظهرت فعالية تثبيطية تجاه البكتيريا في حين بعضها لم تظهر أي فعالية تثبيطية تجاه البكتيريا المختبرة وهذا ربما يعود إلى عدم قدرتها على إنتاج المضادات الحياتية أو إنتاجها بكميات قليلة لا تكفي لقتل أو تثبيط البكتيريا بسبب وجود الاختلافات الجينية بين تلك العزلات ، ووجد عند إجراء تغيير لدرجة الحموضة فأن ذلك أدى إلى زيادة في الفعالية التثبيطية حيث ازدادت أقطار التثبيط عند قيمة pH 5 و 6 وكانت أعلى عند 5 ، قد يعود سبب ذلك إلى توفير الظروف الملائمة لنمو الفطر مما أدى ذلك إلى تحسن قدرتها على إنتاج المضادات الحياتية لأن الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية تفضل النمو في البيئة الحامضية الضعيفة حيث تكون قيم الـ pH المثلى لنموها بين 5 و 6 (Wang et al., 2015 ; Yu et al., 2003).

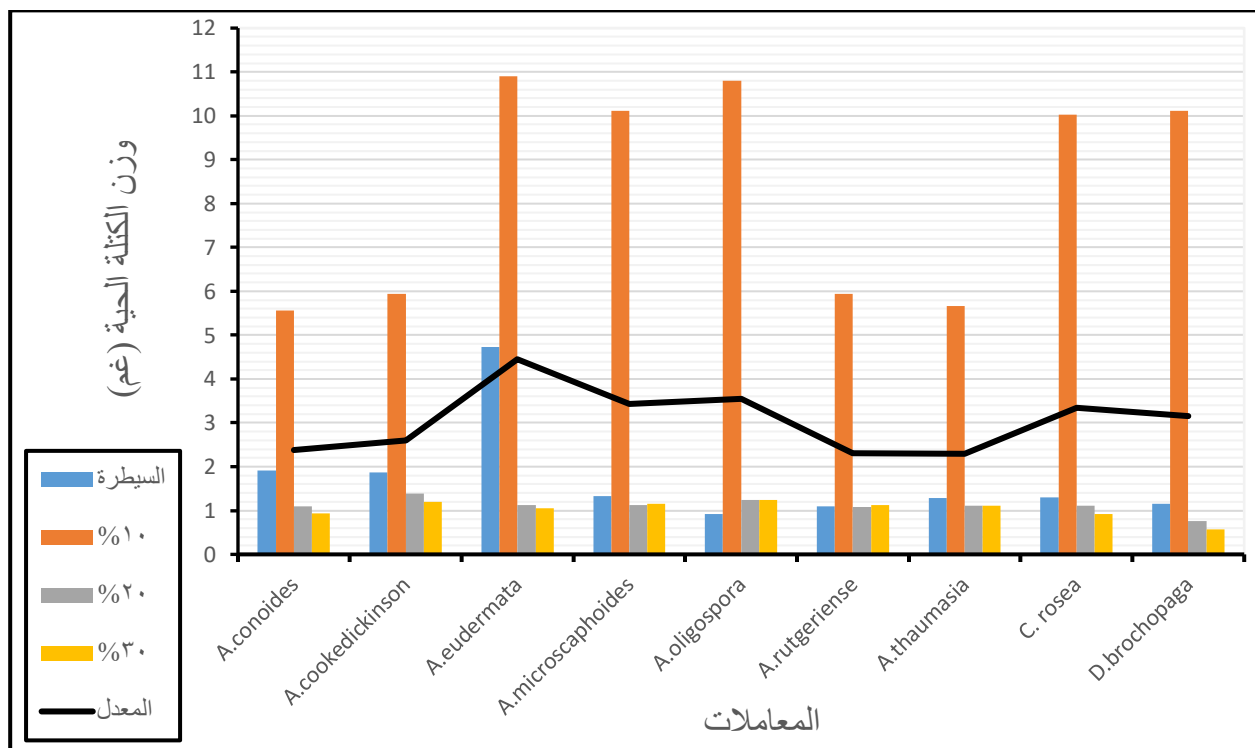
4-4 تأثير إضافة تراكيز مختلفة من راشح الفطر *Trichoderma harzianum* في نمو الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية في المزارع السائلة

بينت نتائج الدراسة أن استعمال تراكيز مختلفة من راشح الفطر *T.harzianum* أدى إلى ظهور اختلافات واضحة في وزن الكتلة الحية الطرية والجافة للفطريات المختبرة، ولوحظ أن وزن الكتلة الحية اختلف باختلاف التركيز وباختلاف نوع الفطر، حيث أظهر الفطر *A. eudermata* أعلى معدل للوزن الطري بلغ 4.45 غم ، في حين أظهر الفطر *A.thaumasia* أقل معدل للوزن الطري بلغ 2.29 غم. ، أظهرت النتائج أن نمو الفطريات بتركيز 10% من راشح الفطر *T.harzianum* هو الأكثر تأثيراً على زيادة الوزن الطري للكتلة الحية والذي بلغ 8.34 غم وبفارق معنوي مع معاملة السيطرة التي بلغ فيها معدل الوزن الطري 1.73 غم (شكل 2-4).

اتضح من خلال الشكل 2-4 أن الفطر *A.eudermata* تفوق معنوياً على الفطريات المختبرة وبجميع التراكيز إذ أظهر أعلى كتلة حية طرية بلغت 10.9 غم بتركيز 10% ، أما الفطر *A.conoides* فقد أظهر أقل كتلة حية طرية بلغت 5.56 غم عند نفس التركيز. أما عند التركيزين 20% و 30% فقد تباينت الكتلة الحية الطرية للفطريات المختبرة ، ولكن كانت أقل من السيطرة عدا الفطر *A.oligospora* فقد تفوق معنوياً على معاملة السيطرة عند التركيزين 20 و 30% إذ بلغت الكتلة الحية الطرية 1.24 غم عند التركيزين مقارنة بالسيطرة (0.92 غم).

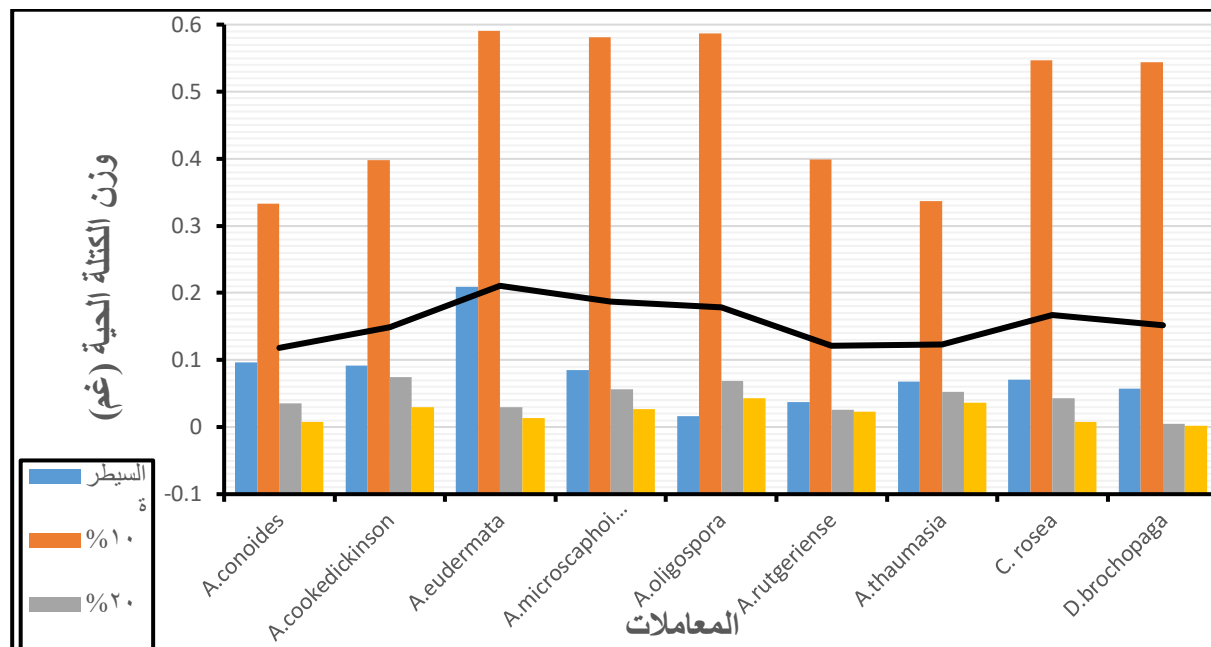
أشارت نتائج الوزن الجاف للكتلة الحية إلى تفوق الفطر *A.eudermata* معنويا على بقية الفطريات المختبرة، إذ أظهر أعلى معدل للوزن الجاف بلغ 0.21 غم ، في حين أظهر الفطر *A.conoides* أقل معدل للوزن الجاف بلغ 0.12 غم (شكل 4-3).

لوحظ من الشكل نفسه عدم وجود فارق معنوي بين الفطرين *A.oligospora* و *A.eudermata* حيث أظهرتا أعلى وزن جاف بلغ 0.59 و 0.58 غم لكل منهما على التوالي عند التركيز 10%، في حين أظهر الفطر *A.conoides* أقل كتلة حية جافة بلغت 0.33 غم عند نفس التركيز. أما عند التركيزين 20% و 30% فقد لوحظ تباين الوزن الجاف للفطريات المختبرة ولكن كانت أقل من السيطرة عدا الفطر *A.oligospora* فقد تفوق معنويا على معاملة السيطرة ، إذ بلغت الكتلة الحية الجافة 0.07 و 0.04 غم عند التركيزين 20 و 30% على التوالي مقارنة بالسيطرة حيث بلغت الكتلة الحية الجافة 0.02 غم.



قيمة LSD (0.01) : للفطريات=0.024 ، للتركيز=0.016 ، للتداخل=0.048 .

شكل 4-2 تأثير إضافة تراكيز مختلفة من رشح الفطر *T. harzianum* في الوزن الطري (غم) للكتلة الحية للفطريات الصائدة للديدان الثعبانية المختبرة.



قيمة LSD(0.01) : للفطريات=0.01 ، للتراكيز=0.0067 ، للتداخل=0.020 .

شكل 3-4: تأثير إضافة تراكيز مختلفة من راشح الفطر *T. harzianum* في الوزن الجاف (غم) للكتلة الحية للفطريات الصائدة للديدان الثعبانية المختبرة

أشارت العديد من الدراسات إلى أن أنواع الجنس *Trichoderma spp.* ومن ضمنها *T.harzianum* تؤدي إلى تثبيط نمو الفطريات وخصوصا الفطريات الممرضة ؛ وذلك لامتلاكها اليات مختلفة تستخدمها للحد من نمو تلك الفطريات (Al-Hazmi et al., 2016) .

هذه الدراسة أظهرت نتائج لا تتفق مع اغلب المصادر حيث لوحظ أن التراكيز المختلفة من راشح الفطر *T.harzianum* أدى إلى زيادة الكتلة الحية الطرية للفطريات الصائدة للديدان الثعبانية المختبرة ، وخصوصا عند نمو الفطريات بتركيز 10 % من راشح الفطر *T.harzianum* ، وقد يعود سبب ذلك إلى العمل التآزري بين المواد الايضية المنتجة من قبل الفطر *T.harzianum* والمواد المنتجة من الفطريات المختبرة ، وهذا يتفق مع دراسة أجرتها الرحيموي (2019) حيث أشارت إلى قدرة راشح الفطر *T.harzianum* (بتركيز 10%) على زيادة النمو الشعاعي للفطريات الصائدة للديدان الثعبانية على الأوساط الصلبة.

تستخدم أنواع الفطر *Trichoderma* كعوامل سيطرة بيولوجية ضد الفطريات الممرضة بطريقة التطفل الفطري (Mycoparasitism) أو إفراز مواد مثبطة ضد الديدان الثعبانية أيضا ومن ضمنها ديدان العقد الجذرية .

وبما أن الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية تستخدم كعوامل سيطرة بيولوجية أيضا ضد ديدان العقد الجذرية وكما أشارت الدراسات أن مزج أكثر من عامل سيطرة احيائية يؤدي إلى زيادة فعالية هذه السيطرة (الرحيماوي، 2019) ، ولمعرفه هل يؤدي ذلك إلى زيادة فعالية السيطرة البيولوجية ضد ديدان تعقد الجذور لابد من معرفة تأثير إضافة راشح الفطر *Trichoderma* إلى المستعمرات السائلة للفطريات الصائدة للديدان الثعبانية لملاحظة إذا كان هناك تأثير مثبت أو محفز لنموها وإنتاج المركبات الايضية.

من خلال مراجعة المصادر والدراسات المنشورة لم يلاحظ اية دراسة تشير إلى أن رواشح أنواع الفطر *Trichoderma* تحفز نمو الفطريات ومن ضمنها الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية فوجد بعد دراسة النتائج أنها لا تتفق مع ما ذكر أعلاه من أن الفطر *Trichoderma* يثبط نمو الفطريات الأخرى وخصوصا المرضية منها عن طريق إفراز مواد تثبط نموها ، أو تحلل جدرانها لذلك يعتقد أن بعض المواد التي يفرزها الفطر *Trichoderma spp.* والتي ذكر بأنها تتجاوز 100 مركب (Druzhinina et al., 2011) ربما تؤدي إلى زيادة الكتلة الحية للفطريات المختبرة.

أن المواد التي ينتجها الفطر *Trichoderma spp.* تكون أما مواد ذائبة بالماء مثل الاحماض العضوية أو مضادات حيوية وبعض المواد تكون قليلة الببتيد (Oligopeptide) تضم 2- 22 حامض اميني، يعتقد أن هذه القطع قليلة الببتيد (Vinale et al., 2009) بما تحتويه من احماض امينية قد تكون هي السبب في زيادة نمو الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية.

أن التراكيز العالية من راشح الفطر *T.harzianum* قد تكون سامة أو مثبطة لنمو الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية المختبرة، ومع ذلك فأن نمو بعض الفطريات في هذه التراكيز أفضل من نموها في معاملة السيطرة.

4-5 دراسة تأثير إضافة تراكيز مختلفة من راشح الفطر *T.harzianum* في الفعالية ضد بكتيرية لرواشح الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية

أشارت نتائج الاختبار إلى أن استعمال راشح الفطر *T. harzianum* وبتراكيز مختلفة أدى إلى زيادة في الفعالية التثبيطية تجاه نمو البكتيريا المختبرة بالمقارنة مع عدم وجوده ، ولوحظ اختلاف الفعالية باختلاف أنواع الفطريات وباختلاف التركيز، حيث كان التركيز 10% هو الأكثر تأثيرا في زيادة الفعالية التثبيطية من قبل الفطريات المختبرة (جدول 3-4).

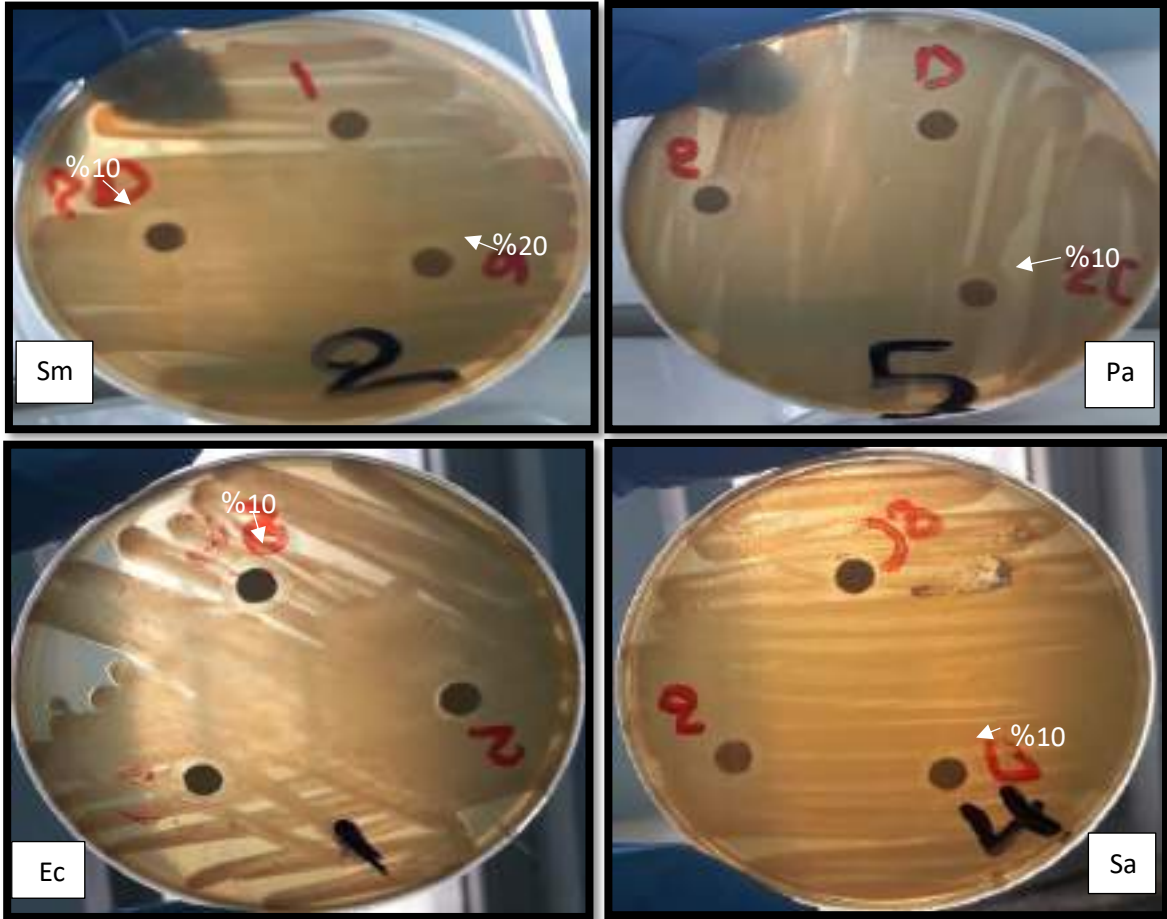
لوحظ من خلال النتائج أن المستخلص الخام للفطر *A. microscaphoides* أظهر أعلى فعالية تثبيطية تجاه البكتيريا *E.coli* وبقطر تثبيط بلغ 16.3 ملم تليها البكتيريا *P.aeruginosa* 14.9 ملم ، *S.aureus* 14.2 ملم ، *S.marcesens* 13.1 ملم عند تركيز 10%، في حين أظهر هذا الفطر فعالية تثبيطية تجاه *S.marcesens* بقطر تثبيط بلغ 12.6 و 12.0 ملم عند التركيزين 20 و 30% على التوالي (شكل 3-7). كما أظهرت النتائج (جدول 3-4 وشكل 4-4) ان المستخلص الخام للفطر *A.oligospora* أظهر فعالية تثبيطية تجاه البكتيريا *P. vulgaris* بقطر تثبيط بلغ 20 ملم ، عند إضافة 10% من الراشح و 17 ملم عند إضافة 20% من الراشح و 12.8 عند إضافة 30% من راشح الفطر *T.harzianum* (شكل 4-5).

بينما أظهرت المستخلصات الخام للفطريات *A.cookedickinson* ، *A.thaumasia* ، *A.rutgeriense* فعالية تثبيطية واطئة لم تتجاوز 13 ملم تجاه البكتيريا المختبرة عند التركيزين 10 و 20% ، ولم تظهر أية فعالية تثبيطية عند التركيز 30%. كما لوحظ من خلال النتائج ان الفطريات *A.conoides* و *A.eudermata* و *C. rosea* و *D.brochopaga*

جدول 3-4: تأثير إضافة تراكيز مختلفة من راشح الفطر *T.harzianum* في الفعالية ضد بكتيرية لرواشح الفطريات الصاندة للديدان الثعبانية

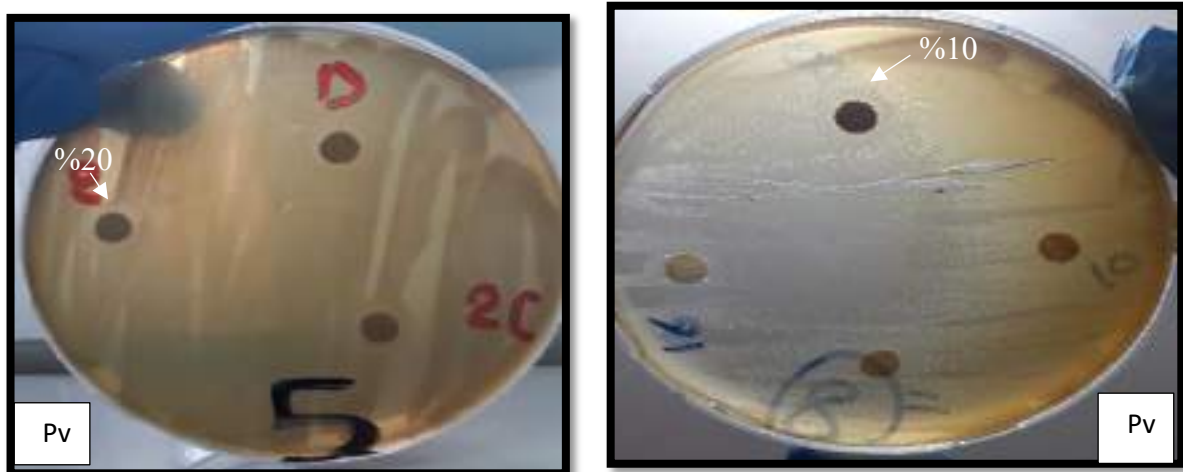
فطر منطقة التثبيط (ملم) / تركيز															البكتيريا المختبرة الفطريات الصاندة للديدان الثعبانية
<i>S. aureus</i>			<i>S. marcesens</i>			<i>P.aeruginosa</i>			<i>P.vulagaris</i>			<i>E. coli</i>			
%30	%20	%10	%30	%20	%10	%30	%20	%10	%30	%20	%10	%30	%20	%10	
0	12.4	12.7	0	12.3	12.6	0	12	12.1	0	12.3	12.4	0	12.2	*12.5	<i>A.cookedichinson</i>
0	0	14.2	12	12.6	13.1	0	0	14.9	0	0	0	0	0	16.3	<i>A.microscaphoides</i>
0	0	0	0	0	0	0	0	0	12.8	17	20	0	0	0	<i>A.oligospora</i>
0	12.3	12.6	0	12.3	12.7	0	12.3	12.8	0	12.3	12.7	0	12.1	12.5	<i>A.rutgeriens</i>
0	12.1	12.5	0	12.3	12.6	0	12.2	12.5	0	12.1	12.3	0	12	12.4	<i>A.thaumasia</i>

*كل رقم يمثل معدل مكررين



شكل 4-4: تأثير إضافة تراكيز مختلفة من راسح الفطر *T. harzianum* لراسح الفطر *A. microscaphoides* على الفعالية التثبيطية ضد عدد من البكتريا المرضية، Pv، *Proteus vulgaris* ; Sa ; *Staphylococcus aureus* ;

. *Escherichia coli* :Ec ; *Serratia marcescens* :Sm ;



شكل 4-5: تأثير إضافة تراكيز مختلفة من راسح الفطر *T. harzianum* لراسح الفطر *A. oligospora* على الفعالية التثبيطية ضد البكتريا المرضية *Proteus vulgaris* .

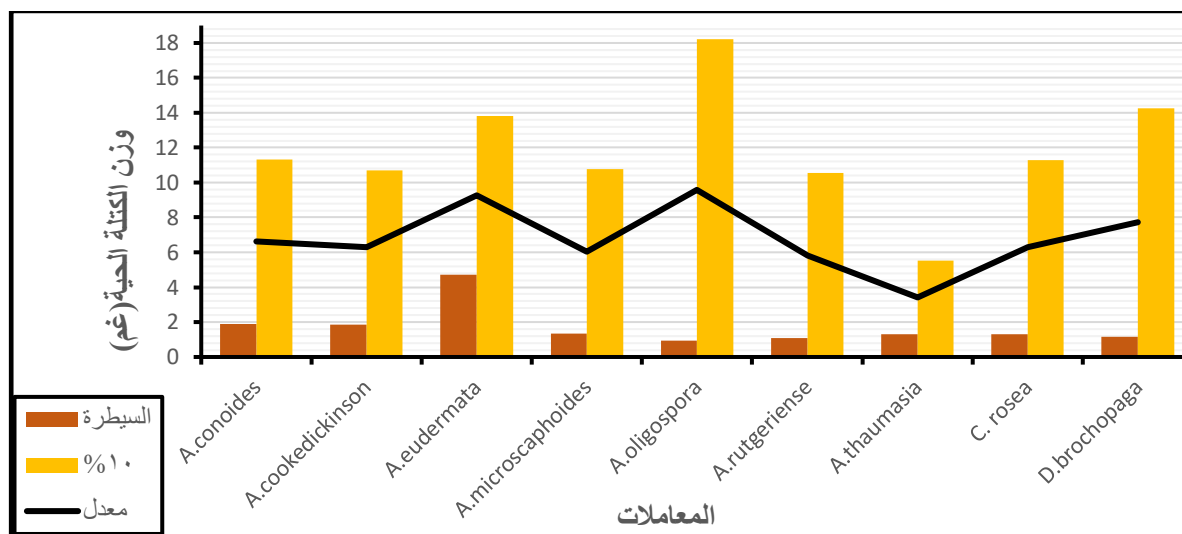
أدى إضافة تراكيز راسح الفطر *T.harzianum* إلى زيادة الفعالية التثبيطية للفطر *A.oligospora* بصورة ملحوظة وقد يعود سبب ذلك إلى أن هذا الفطر استغل مركبات الايض الثانوي للفطر *T.harzianum* وحولها إلى مركبات ضد بكتيرية، أو وجود مركبات الايض الثانوي للفطر *T.harzianum* وفرت ظروف ملائمة لإنتاج مركبات ايضية ذات فعالية تثبيطية فمن المعروف أن الفطر *A.oligospora* ينتج العديد من مركبات الايض الثانوي ذات الفعالية التثبيطية منها Oligosporon، Oligosporol، 4',5'، Oligosporol B، dihydrooligosporon و linoleic acid (Li et al, 2007). والتي أظهرت قدرتها كمضادات ضد البكتيرية (Degenkolb and Vilcinskis, 2016).

تفاوتت اقطار التثبيط للمستخلص الفطري تجاه البكتيريا المختبرة ربما يعود إلى الاختلاف في تركيب الجدار الخلوي للبكتيريا السالبة والموجبة لصبغة كرام حيث تمتاز جدران البكتيريا السالبة لصبغة كرام باحتوائها على مركبات Lipoprotein و Lipopolysaccharides و protein lipid (Chandrashekhara,) (2010).

4-6 تأثير إضافة تراكيز مختلفة من راسح البكتيريا *Pseudomonas aeruginosa* في نمو الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية في المزارع السائلة

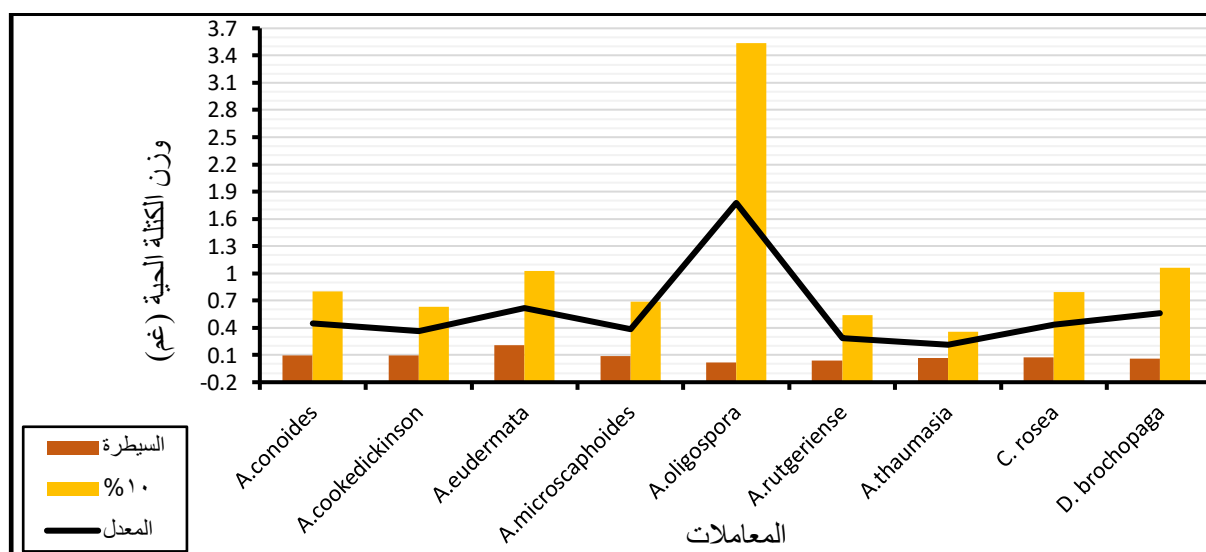
أوضحت نتائج الاختبار أن إضافة راسح البكتيريا *P.aeruginosa* بتركيز 10% له تأثير واضح جدا على زيادة الكتلة الحية للفطريات الصائدة للديدان الثعبانية المختبرة، وأن هذا التأثير اختلف باختلاف أنواع الفطريات، حيث تفوق الفطر *A.oligospora* معنويا عن بقية الفطريات المختبرة حيث بلغ وزنه 9.58 غم، في حين أظهر الفطر *A.thaumasia* أقل معدل للوزن الطري بلغ 3.41 غم، أظهرت النتائج أن التركيز 10% قد تفوق معنويا على معاملة السيطرة حيث بلغ 11.83 غم مقارنة بالسيطرة التي بلغ معدل الوزن الطري فيها 1.73 غم. في حين أدى إضافة التركيزين 20% و 30% إلى عدم نمو الفطريات المختبرة في الراشح. لوحظ من الشكل 4-6 أن الفطر *A.oligospora* قد تفوق معنويا على بقية الفطريات المختبرة وعلى معاملة السيطرة حيث بلغ وزنه 18.23 غم عند التركيز 10% في حين أظهر الفطر *A.thaumasia* أقل كتلة حية طرية بلغت 5.54 غم عند نفس التركيز. بينما أظهرت نتائج الوزن الجاف أن الفطر *A. oligospora* قد تفوق معنويا على بقية الفطريات المختبرة حيث بلغ 1.78 غم، في حين أظهر الفطر *A. thaumasia* أقل معدل للوزن الجاف بلغ 0.21 غم.

تبين من الشكل 4-7 أن الفطر *A. oligospora* أظهر أعلى كتلة حية بلغت 3.53 غم وبفارق معنوي عن بقية الفطريات المختبرة وعن معاملة السيطرة ، في حين أظهر الفطر *A. thaumasia* أقل كتلة حية بلغت 0.35 غم.



قيمة LSD(0.01): للفطريات=0.0346، للتراكيز=0.0163، للتداخل=0.049

شكل 4-6: تأثير إضافة تركيز 10% من راسح البكتيريا *P. aeruginosa* في الوزن الطري (غم) للكتلة الحية للفطريات الصائدة للديدان الثعبانية المختبرة.



قيمة LSD(0.01): للفطريات=0.02، للتراكيز=0.009، للتداخل=0.029

شكل 4-7: تأثير إضافة تركيز 10% من راسح البكتيريا *P. aeruginosa* في الوزن الجاف (غم) للكتلة الحية للفطريات الصائدة للديدان الثعبانية المختبرة.

تشير الدراسات إلى أن بعض أنواع *Pseudomonas spp* بإمكانها كبح مسببات الأمراض النباتية (Haas and Defago, 2005)، وأشارت بعض الدراسات إلى قدرة البكتيريا *P. aeruginosa* على التحكم في نمو الفطريات حيث أشار Kousser *et al.* (2019) إلى قدرة هذه البكتيريا على خفض نمو الفطر الممرض *Rhizopus spp* عن طريق إفراز خالبات الحديد (Siderophores) التي تقوم بالاتحاد مع ايونات الحديد الحر المتوفرة وبالتالي تمنع نمو الابواع في الفطر الممرض (Ballou ; Ibrahim *et al.*, 2008). ولكن من خلال مراجعة الدراسات والبحوث السابقة لا توجد أي دراسة تشير إلى أن هذه البكتيريا تحفز نمو الفطريات.

تنتج هذه البكتيريا العديد من مركبات الايض منها، glycolipids ، lipids ، peptides التي تساعد على النمو وزيادة الكتلة الحية للفطريات (Gross and Loper, 2009). أشار Bano and Musarrat (2003) إلى استعمال هذه البكتيريا في زيادة نمو النباتات وتحسين استجابتها الدفاعية فقد ذكر أن بكتيريا *P. aeruginosa* تفرز Indole acetic acid (IAA) وهو من الهرمونات النباتية (Phytohormones) التي لها دور مهم في تطوير النبات والاستجابة الدفاعية. قد تؤدي هذه المواد إلى زيادة نمو الفطريات المختبرة.

كما أشارت العديد من الدراسات إلى أن البكتيريا *P. aeruginosa* تنتج العديد من المركبات العضوية المتطايرة منها dimethyl sulfide (DMS) (Briard *et al.*, 2016) ، واكد الباحث أن إضافة المركب dimethyl sulfide (DMS) الذي تنتجه البكتيريا اثناء نموها بتركيز قليلة (1 ppm) إلى الوسط يؤدي إلى زيادة نمو الفطر *Aspergillus fumigatus*، وأشار إلى أن هذا المركب يحتوي الكبريت الذي يعمل كمصدر غذائي للفطر عند اضافته لوسط خالي من الكبريت (Sulfur-depleted medium) لذلك فالفطر يحلل هذا المركب للحصول على الكبريت. لذلك يُعتقد أن هذه المركبات ساهمت في زيادة الكتلة الحية للفطريات الصائدة للديدان الثعبانية المختبرة ولكن تحتاج إلى المزيد من الدراسات.

لوحظ من خلال النتائج عدم تمكن الفطريات المختبرة من النمو عند إضافة التراكيز 20 و 30%، ربما يعود ذلك إلى منتجات الايض الثانوي التي افرزتها هذه البكتيريا بالراشح والمعروفة بسميتها العالية منها organocopper antibiotic compound (OAC) and ، pyocyanin•Phenazines وانزيمات alkaline protease ،Elastases والتي حالت دون نمو الفطريات المختبرة (Engel and Qaisar *et al.*, 2016 ;Balachandran, 2009).

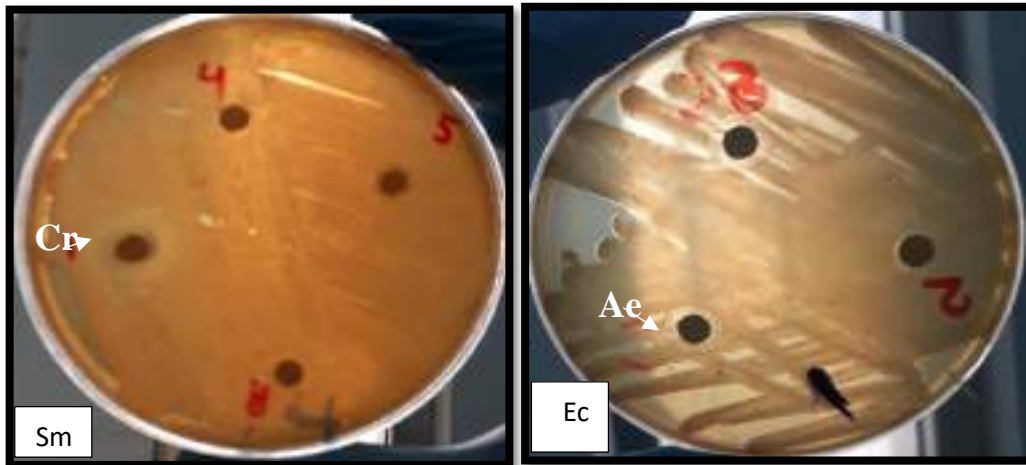
7-4 اختبار إضافة تراكيز مختلفة من راسح البكتيريا *P. aeruginosa* في الفعالية ضد بكتيرية لرواشح الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية

أوضحت نتائج الدراسة (جدول 4-4) أن رشح البكتيريا بتركيز 10% أدى إلى زيادة الفعالية التضادية تجاه البكتيريا المختبرة أعلى من تأثير راسح الفطر *T.harzianum*، وكانت الفعالية التضادية تختلف باختلاف أنواع الفطريات، فوجد أن أعلى تأثير للراسح كان على الفطر *C. rosea* أدى إلى اظهار أعلى فعالية تثبيطية تجاه العزلة *S.marcesens* بقطر تثبيط بلغ 23.12 ملم. كذلك أظهر الفطرين *A.eudermata* و *A.conoides* فعالية تثبيطية تجاه البكتيريا *S.marcesens* بقطر تثبيط بلغ 14.52 و 15.33 ملم والبكتيريا *E.coli* 15.15 و 13.15 ملم لكل منهما على التوالي، بينما لم يظهر الفطر *A.cookedickinson* أي فعالية تثبيطية تجاه البكتيريا المختبرة (شكل 4-8).

جدول 4-4: تأثير إضافة راسح البكتيريا *P. aeruginosa* بتركيز 10% في الفعالية ضد بكتيرية لرواشح الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية

قطر منطقة التثبيط (ملم)					البكتيريا المختبرة الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية
<i>S.aureus</i>	<i>S.marcesens</i>	<i>P.aeruginosa</i>	<i>P.vulgaris</i>	<i>E.coli</i>	
12.5	15.33	12.3	12.1	13.15*	<i>A.conoides</i>
.12	14.52	12.4	12.3	15.5	<i>A.eudermata</i>
12.3	0	12.1	0	12.4	<i>A.microscaphoides</i>
12.5	12.2	12.3	12.3	12.2	<i>A.oligospora</i>
12.2	12.3	12.2	12.4	12.3	<i>A.rutgeriens</i>
0	12.5	0	12.3	0	<i>A.thaumasia</i>
12.6	23.12	12.3	12.4	12.5	<i>C. rosea</i>
12	0	12.1	12.3	12.4	<i>D.brochopaga</i>

*كل رقم يمثل معدل مكررين



شكل 4-8: تأثير إضافة راشح البكتيريا *P. aeruginosa* بتركيز 10% إلى رواشح الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية المختبرة على الفعالية ضد بكتيرية، *Escherichia coli*: Ec , *Serratia marcescens*: Sm , *Clonostachys rosea*: Cr , *A. eudermata*: Ae

أوضحت نتائج الاختبار أن استعمال راشح البكتيريا *P. aeruginosa* بتركيز 10% له تأثير واضح على زيادة إنتاج مركبات الايض الثانوي وبالتالي زيادة الفعالية التثبيطية لرواشح الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية حيث أدى إضافة راشح البكتيريا *P. aeruginosa* إلى زيادة الفعالية التثبيطية لبعض الفطريات بصورة ملحوظة ، يعتقد أن سبب ذلك يعود إلى تنافس الفطر بإنتاج مركبات ايضية تقاوم منتجات الايض المنتجة من قبل البكتيريا من اجل البقاء والنمو وهذا أدى إلى زيادة الفعالية التثبيطية.

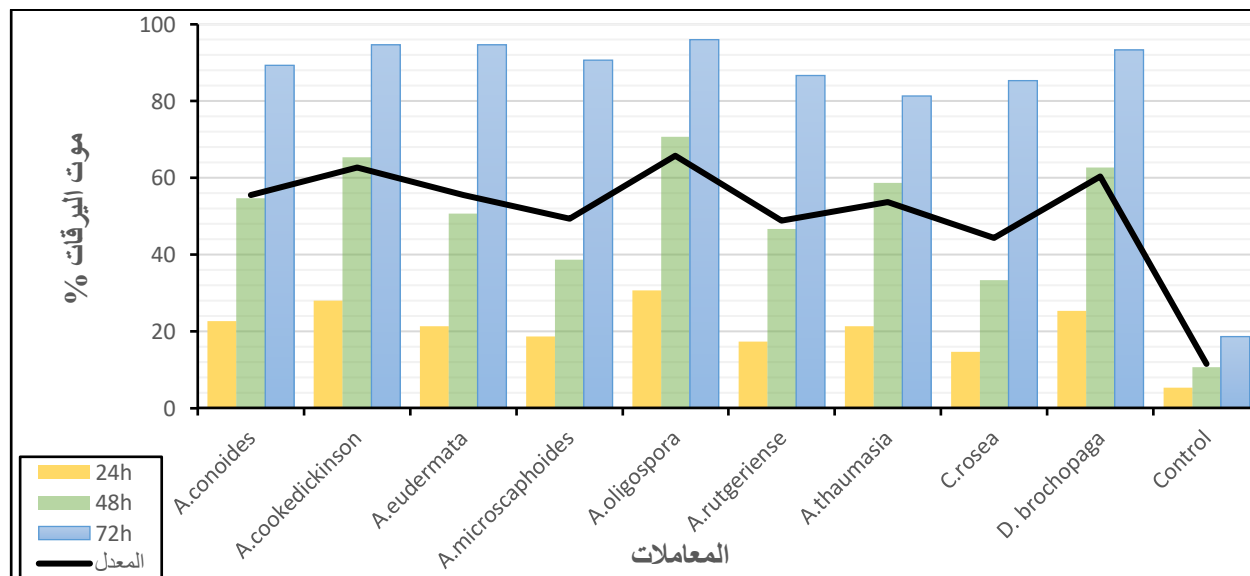
قد يعود هذا التباين في اقطار التثبيط إلى اختلاف المكونات الكيميائية التي يحتويها المستخلص كالقلويدات والفينولات وغيرها وكذلك امتلاك البكتيريا لعدد من آليات المقاومة للمضادات الحيوية مثل قدرة بعض أنواع البكتيريا على تغيير التركيب الكيميائي للمضاد الحيوي ، بينما تمتلك أنواع أخرى القدرة على إعادة اخراج المضاد الحيوي من جسمها أو تغيير في تركيب مادتها الوراثية من خلال الطفرات (Jain and Pundir, 2011 ; حتيت، 2017).

4-8 اختبار السمية الخلوية لمستخلصات الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية المختبرة

بينت نتائج اختبار السمية تجاه كريات الدم الحمراء أن جميع المستخلصات الخام للفطريات الصائدة للديدان الثعبانية ومستخلصاتها تحت قيم pH مختلفة ، وكذلك عند إضافة تراكيز مختلفة من راشح الفطر *T. harzianum* والبكتيريا *P. aeruginosa* لم تظهر أية قدرة على تحليل كريات الدم الحمراء. وبهذا يمكن الاستفادة من هذه الأنواع الفطرية واستعمالها في أي تطبيقات تخص الكائنات الحية.

9-4 تأثير روائح الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية على يرقات الديدان الثعبانية (*Anguina tritici*)

أظهرت روائح الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية المختبرة تأثير واضح على موت يرقات ديدان ثأليل الحنطة مقارنة بمعاملة السيطرة حيث بينت نتائج الدراسة أن راسح الفطر *A. oligospora* تفوق معنويًا على بقية الفطريات المختبرة، وعلى معاملة السيطرة حيث بلغ معدل موت اليرقات 65.78 %، تلاه الفطرين *A. cookedichinson* و *D. brochopaga* بمعدل 62.67 و 60.44 % على التوالي لعدم وجود فرق معنوي بينهما، في حين أظهر الفطر *C. rosea* أقل تأثير على موت اليرقات بمعدل 44.44 % وان جميع المعاملات قد اختلفت معنويًا عن معاملة السيطرة التي بلغ معدل موت اليرقات فيها 11.56% (شكل 9-4). كما وأظهرت النتائج أن أعلى معدل لموت اليرقات عند 72 ساعة حيث بلغ 82.67 %، في حين كان أقل معدل لموت اليرقات عند 24 ساعة بلغ 20.53% كما لوحظ من خلال الشكل 9-4 عدم وجود فرق معنوي بين الفطريات *A. oligospora* و *A. eudermata* و *A. cookedichinson* في تأثيرهم على موت اليرقات حيث كانت نسبة القتل 94.67 و 94.67 و 96% على التوالي خلال 72 ساعة، بينما كان أقل تأثير للفطر *A. thaumasia* بلغ 81.33% خلال 72 ساعة.



قيمة LSD (0.01): للفطريات = 2.3184، للوقت = 1.2696، للتداخل = 4.0152

شكل 9-4 تأثير روائح الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية في موت يرقات ديدان ثأليل الحنطة (*Anguina tritici*).

أظهرت النتائج أن الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية المختبرة لها القابلية على كبح يرقات الطور الثاني لديدان ثأليل الحنطة (*A. tritici*) المتطفلة على الحنطة ، وهذا يتفق مع العديد من الدراسات التي أشارت إلى قابلية هذه الفطريات على كبح أعداد الديدان الثعبانية المتطفلة على النباتات (Anamika and Singh, 2011) ; Zhang and Hyde, 2014 ; Askary, 2015 ; Lafta and Kasim, 2019). حيث بينت النتائج أن الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية تمتلك قدرة تثبيط عالية بسبب الاليات التي تستخدمها هذه الفطريات منها التطفل، وإنتاج المضادات الحياتية والمركبات القاتلة للديدان الثعبانية (Nematicidal) والانزيمات المحللة للجدار الخلوي ، والتي تعمل ضمن اليات التطفل والتضاد مثل انزيم Proteases، Chitinase و Collagenase كذلك التنافس على موقع الغذاء أو على المغذيات.

من خلال مراجعة المصادر والدراسات المنشورة لم نجد أي دراسة تشير إلى قدرة رواشح الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية على قتل يرقات الطور الثاني لديدان ثأليل الحنطة، لكن أشارت العديد من الدراسات إلى قدرة هذه الفطريات على قتل يرقات الطور الثاني لديدان العقد الجذرية منها (Kumar and Singh, 2010 ; Hussain et al., 2017 ; الرحيماوي، 2019).

لوحظ وجود نشاط مثبط كبير من قبل الفطر *A. oligospora* ضد يرقات الديدان الثعبانية، وجاءت هذه الدراسة متفقة مع (Nourani et al., 2015 ; الرحيماوي، 2019) الذين ذكروا أن القدرة العالية للفطر في التطفل على يرقات الديدان الثعبانية يعود إلى للفعالية العالية لأنزيمي Chitinase و Protease. وكذلك أشارت العديد من الدراسات إلى أن أنواع الجنس *Arthrotrrys* و *C. rosea* تفرز ايوض سامة Toxic Metabolites المسؤولة عن الموت السريع للديدان الثعبانية النباتية (Migunova et al., 2018).

كذلك لوحظ من خلال النتائج أن الفطر *D. brochopaga* له قدرة عالية على قتل يرقات الديدان الثعبانية بلغت (60.44%) وهذه النتيجة تتفق مع Khan et al. (2001) الذين أشاروا إلى أن هذا الفطر ينتج العديد من المركبات الفعالة منها Phomalactone, Pochonin و Bromomonocillin والتي أظهرت تأثير مثبط على يرقات الطور الثاني لديدان العقد الجذرية.

تُرجح قدرة الفطر *C. rosea* على قتل يرقات ديدان ثأليل الحنطة إلى انتاجه أعداد كبيرة من Conidia في وقت قصير جداً و التي تلتصق بالديدان الثعبانية وتتكاثر في الجسم، كذلك انتاجه الأنزيمات المحللة مثل Chitinase ، Proteases و Collagenase التي تشارك في اختراق بشرة الديدان الثعبانية وتعمل على تدهور خلية المضيف (Hussain et al., 2017). و أكد ذلك Dababat et al. (2006) حيث اشاروا إلى أن الية

التطفل المباشر على الديدان الثعبانية ناتجة عن إفراز انزيمات مختلفة مثل Chitinase و Proteases و Collagenase التي تحلل كآيتين قشرة يرقات الديدان الثعبانية ودخول هايفات الفطر ليتغذى ويتكاثر داخلها.

10-4 الكشف النوعي للمركبات الايضية الفطرية

أوضح التحليل الكيميائي للأبوض الثانوية للفطريات الصائدة للديدان الثعبانية المختبرة أن جميعها قادرة على إنتاج القلويدات، في حين كانت الفينولات متواجدة فقط في رواشح الفطريات *A.conoides* و *A.eudermata* و *C.rosea* و *D.brochopaga* ، أما الصابونيات فقد كانت متواجدة في راشح الفطرين *A.conoides* و *C.rosea*. بينما لوحظ أن جميع الفطريات المختبرة ليس لها القابلية على إنتاج التانينات و الفلافونيدات و الستيريديتات (جدول 4-5). كما لوحظ من خلال الجدول نفسه قابلية الفطريات *A.conoides* و *C.rosea* على إنتاج القلويدات و الفينولات و الصابونيات ، و عدم قدرتهم على إنتاج التانينات ، الفلافونيدات و الستيريديتات ، بينما احتوى الفطران *D.brochopaga* و *A.eudermata* على القلويدات و الفينولات فقط . أما الفطريات *A.microscaphoides* و *A.oligospora* و *A.rutgeriense* و *A.thaumasia* فقد انتجت القلويدات فقط .

جدول 4-5 : المركبات الكيميائية التي تم الكشف عنها في رواشح الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية

الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية	القلويدات	الفينولات	الصابونيات	التانينات	الفلافونيدات	الستيريديتات
<i>A.conoides</i>	+	+	+	-	-	-
<i>A.cookedichinson</i>	+	-	-	-	-	-
<i>A.eudermata</i>	+	+	-	-	-	-
<i>A.microscaphoides</i>	+	-	-	-	-	-
<i>A.oligospora</i>	+	-	-	-	-	-
<i>A.rutgeriense</i>	+	-	-	-	-	-
<i>A.thaumasia</i>	+	-	-	-	-	-
<i>C.rosea</i>	+	+	+	-	-	-
<i>D. brochopaga</i>	+	+	-	-	-	-

* (+) احتواء الفطريات المختبرة على المركبات الكيميائية،

(-) عدم قدرة الفطريات المختبرة على إنتاج المركبات الكيميائية

لوحظ أن وجود هذه الفطريات في التربة وداخل النبات كيفها لإنتاج بعض المركبات الكيميائية الفعالة منها القلويدات و الصابونيات و الفينولات، وهذا يتفق مع بعض الدراسات التي أشارت إلى امتلاك الفطريات الداخلية مركبات كيميائية فعالة (Hateet, 2014). أظهر التحليل الكيميائي للمستخلص الخام أن الفطريات *A.conoides* و *A.eudermata* و *C.rosea* و *D.brochopaga* لها القابلية على إنتاج مركبات الفينول ، ويرجع التأثير المثبط لمركبات الايض الثانوي للفطريات الصائدة للديدان الثعبانية على نمو البكتيريا المرضية إلى الفعالية الحيوية لهذه المركبات وهذا يتفق مع Kamba and Hassan (2010) اللذان ذكرا أن العديد من المركبات الفينولية بما في ذلك الفينول (Phenols) هي مثبطات قوية للأنزيمات التي تفرزها الاحياء المجهرية الضارة.

تعرف القلويدات (Alkaloids) بأنها مركبات نيتروجينية عضوية قاعدية ذات تراكيب متباينة، تنتج كمركبات ايض ثانوي من قبل بعض الفطريات (دحماني ومصباح، 2015). وقد اثبتت العديد من الدراسات دور القلويدات في تثبيط نمو كل من البكتيريا السالبة والموجبة لصبغة كرام. ومع ذلك، فقد تم ربط الآلية المثبطة لتخليق الحمض النووي DNA بواسطة مركبات قلويدية محددة (Sawer et al., 2005).

لوحظ من خلال نتائج GC_MS التي أجريت في هذه الدراسة لبعض الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية أن بالرغم من وجود مركبات الستيرويدات في راسح الفطر *A.rutgeriense* إلا أن لم يظهر نتيجة إيجابية عند الكشف وربما يعود ذلك إلى أن الفطر ينتج هذه المركبات بكميات قليلة.

11-4 تأثير الراشح الفطري للفطريات الصائدة للديدان الثعبانية في نسبة إنبات بذور الباميا

Abelmoschus esculentus ومعدل طول أنبوب الإنبات

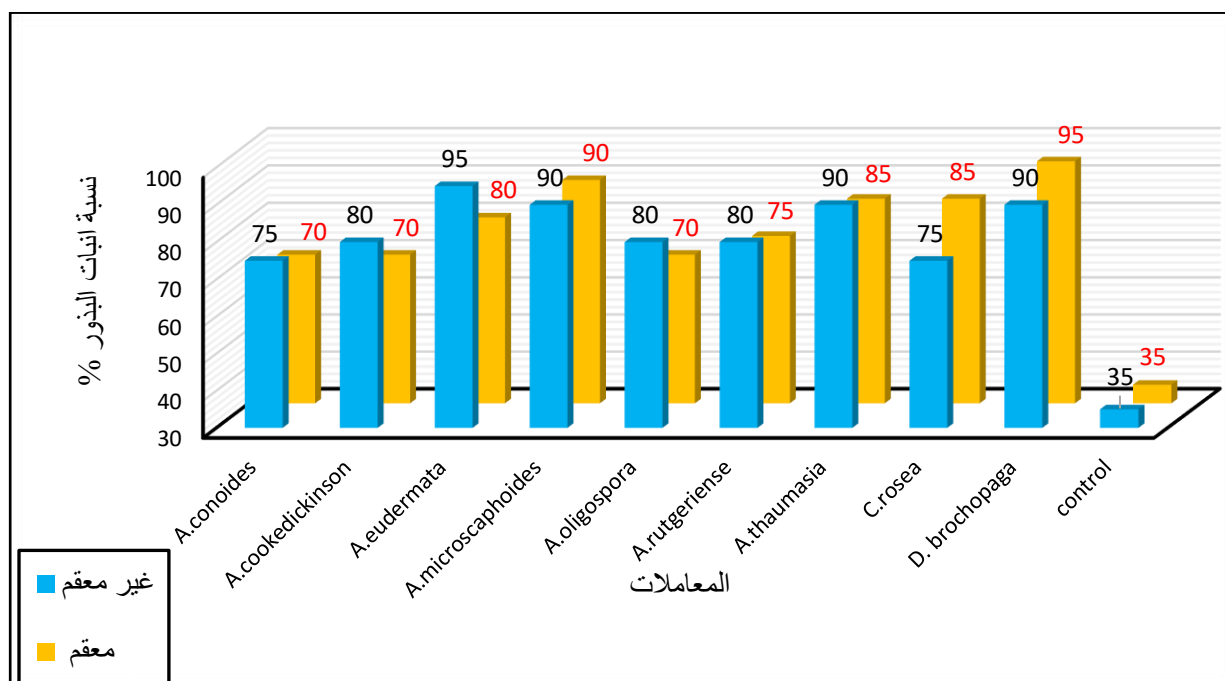
أظهرت نتائج الدراسة أن لراشح الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية المختبرة تأثير واضح على نسبة انبا بذور الباميا وعلى طول أنبوب الإنبات مقارنة بمعاملة السيطرة، فقد لوحظ أن إضافة الراشح الفطري أدى إلى زيادة نسبة الإنبات بشكل ملحوظ، أذ تفوق الراشح غير المعقم معنويا على الراشح المعقم ، وعلى معاملة السيطرة فبلغ معدل نسبة إنبات البذور 84 % مقارنة بـ 80 % في حال كان الراشح معقم، في حين بلغ معدل نسبة الإنبات في معاملة السيطرة 35% خلال 7 أيام.

لوحظ من خلال شكل 4-10 أن الراشح غير المعقم أدى إلى زيادة نسبة الإنبات أكثر من الراشح المعقم عدا الفطرين *D. brochopaga* و *C. rosea* حيث كانت نسبة الإنبات في الراشح المعقم (95 و 85 % لكل

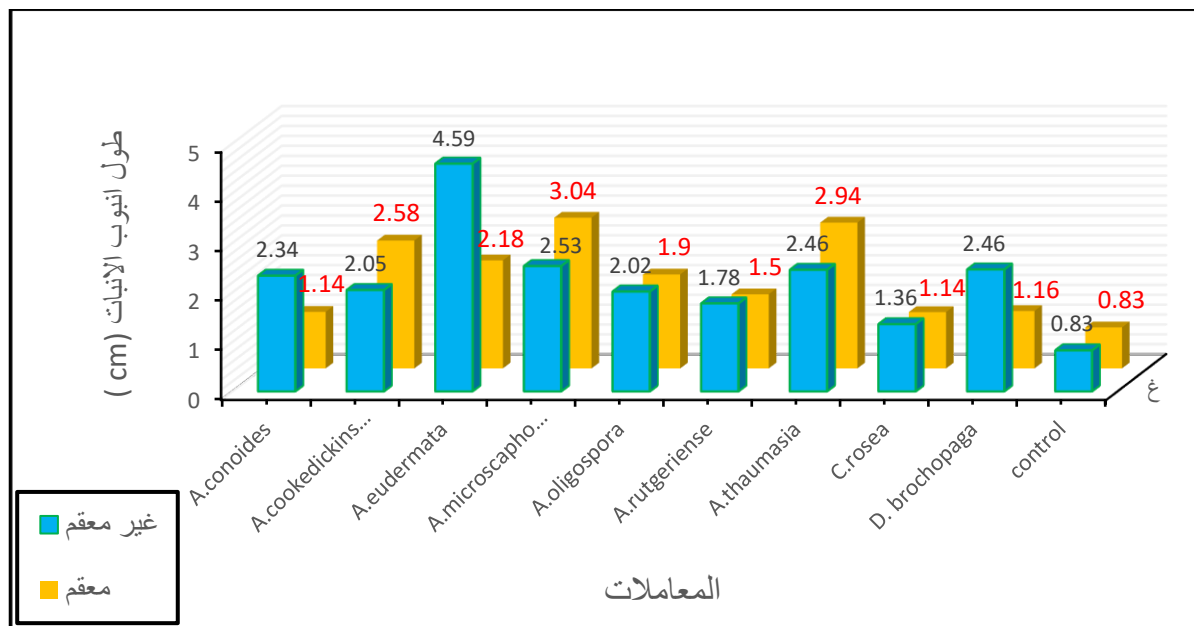
منهما على التوالي) أعلى من الراشح غير المعقم (والبالغة 90 و75 % لكل منهما على التوالي). أظهر راشح الفطر *A. eudermata* غير المعقم أعلى نسبة إنبات بلغت 95 % مقارنة بـ 80% عند إضافة راشح معقم، في حين أظهر راشح الفطرين *A.conoides* و *C.rosea* غير المعقم أقل نسبة إنبات بلغت 75% لكل منهما. أما عند إضافة الراشح المعقم فقد أظهر الفطر *D.brochopaga* أعلى نسبة إنبات بلغت 95 % ، أما الفطريات *A.conoides* و *A.cookedichinson* و *A.oligospora* فقد أظهرت أقل نسبة إنبات بلغت 70% لكل منهم.

وأشارت نتائج الدراسة إلى أن الراشح غير المعقم أدى إلى زيادة في النمو عدا الفطريات *A.microscaphoides* و *A.thaumasias* و *A.cookedichinson* إذ بلغ معدل طول أنبوب الإنبات 3.045 و 2.94 و 2.58 سم لكل منهم على التوالي مقارنة بطول أنبوب الإنبات الذي بلغ 2.53 و 2.05 و 2.46 سم عند إضافة الراشح المعقم (شكل 4-11 و 4-12 و 4-13).

يبين الشكل 4-11 أن أعلى معدل لطول أنبوب الانبات كان عند إضافة راشح الفطر *A.eudermata* غير المعقم وبمعدل نمو بلغ 4.59 سم مقارنة بـ 2.18 سم عند إضافة الراشح المعقم. في حين كان أقل معدل نمو لطول أنبوب الإنبات في الفطر *C.rosea* بمعدل 1.36 سم مقارنة بـ 1.14 سم عند إضافة راشح معقم.

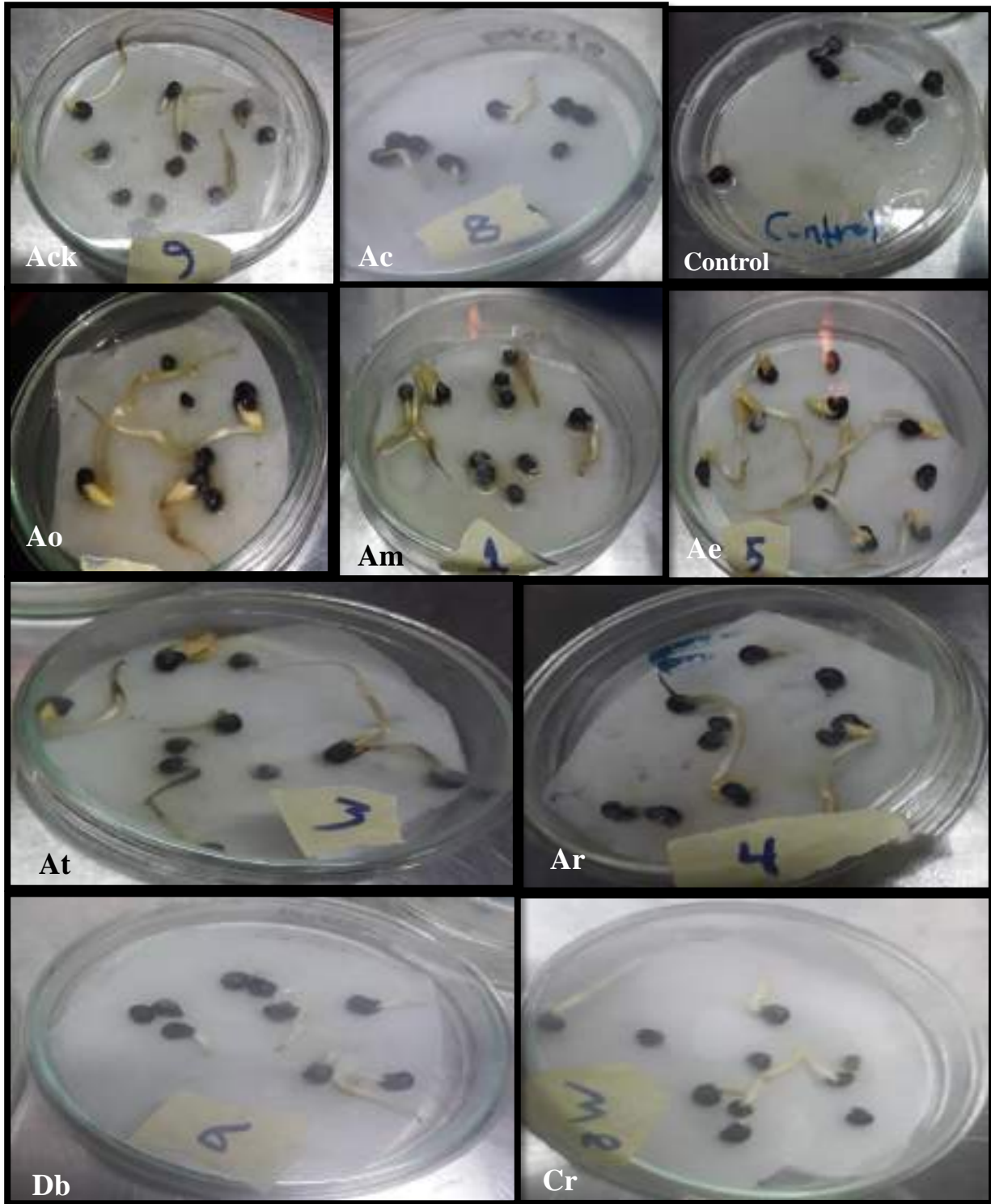


شكل 4-10 تأثير رواشح الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية المختبرة على نسبة إنبات بذور الباميا



شكل 4-11: تأثير رواشح الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية المختبرة في طول انبواب إنبات بذور الباميا

أظهرت نتائج الدراسة أن الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية لها القابلية على زيادة نسبة الإنبات ونمو بذور الباميا وهذا يتفق مع العديد من الدراسات التي أشارت إلى أن الكثير من الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية تعد فطريات داخلية (Endophyte) لها القدرة على استعمار جذور النباتات والنمو داخلها وأكدت العديد من الدراسات أن النباتات المستعمرة من قبل الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية تظهر تحسن في الاستجابات الدفاعية والكتلة الحية (Macia -Vicente *et al.*, 2009 a ; b ; Bordallo *et al.* 2002). وأن تواجد هذه الفطريات داخل النبات يوفر فوائد عديدة للنبات منها تعزيز نمو النبات وتحسين عملية امتصاصه للمعادن كذلك الحد من حالات الإصابة بالأمراض من خلال تحفيز الانظمة الدفاعية في النبات (Ray *et al.*, 2016).

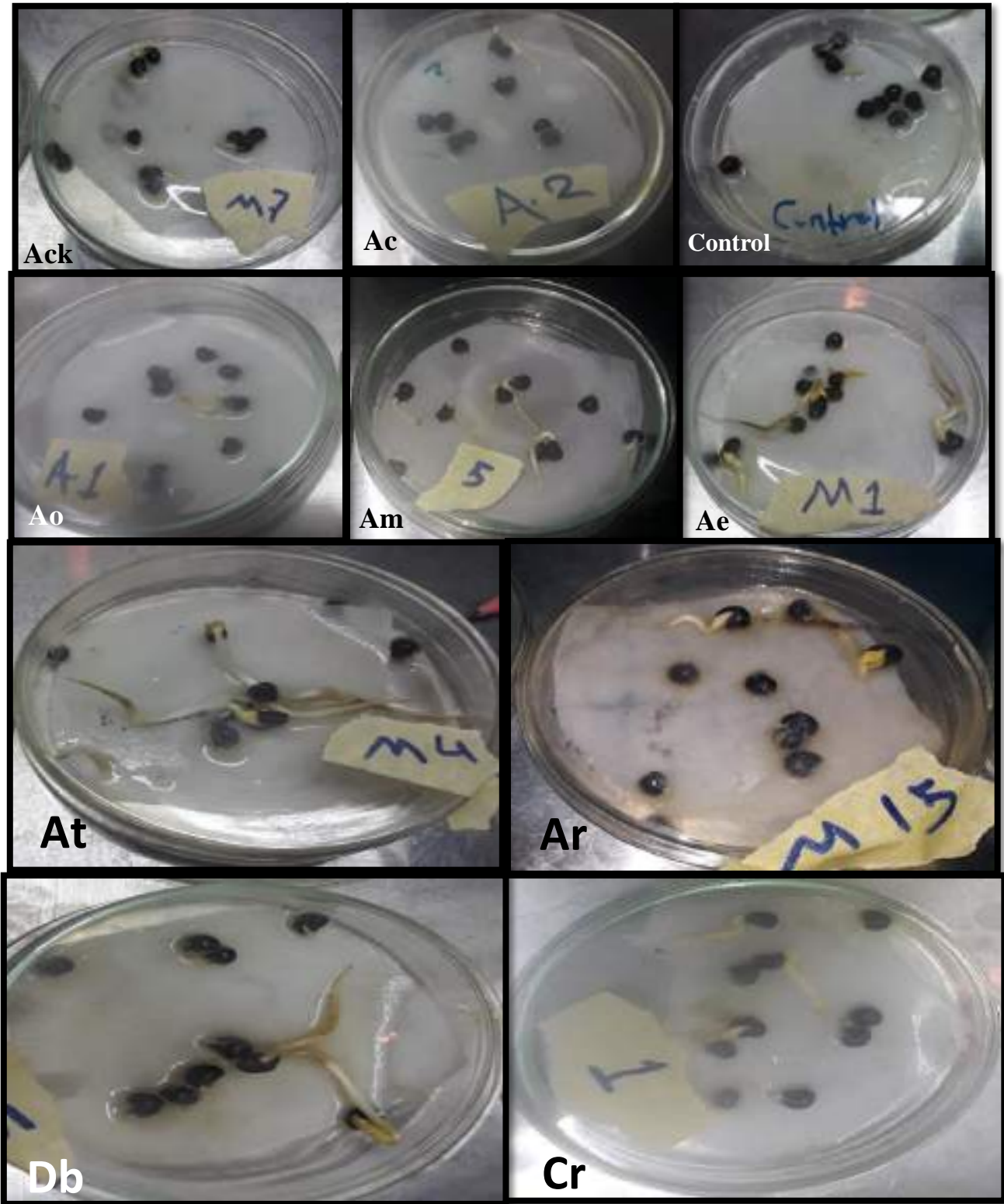


شكل 4-12: تأثير راشح الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية غير المعقم في إنبات بذور الباميا، السيطرة: معاملة السيطرة،

، *A. conoides* :Ac ، *A. cookedichinson* :Ack ، *A. eudermata* :Ae ، *A. microsaphoides* :Am ،

A. oligospora :Ao ، *A. thaumasia* : At ، *A. rutgeriense* :Ar ، *Clonostachys rosea*:Cr

، *D. brochopaga* :Db



شكل 4-13: تأثير راشح الفطريات الصائدة الديدان الثعبانية المعقم على إنبات بذور الباميا، السيطرة: معاملة السيطرة،

‘A.microscaphoides : Am ‘ A .eudermata :Ae ‘ A .cookedickinson :Ack ‘ A.conoides :Ac

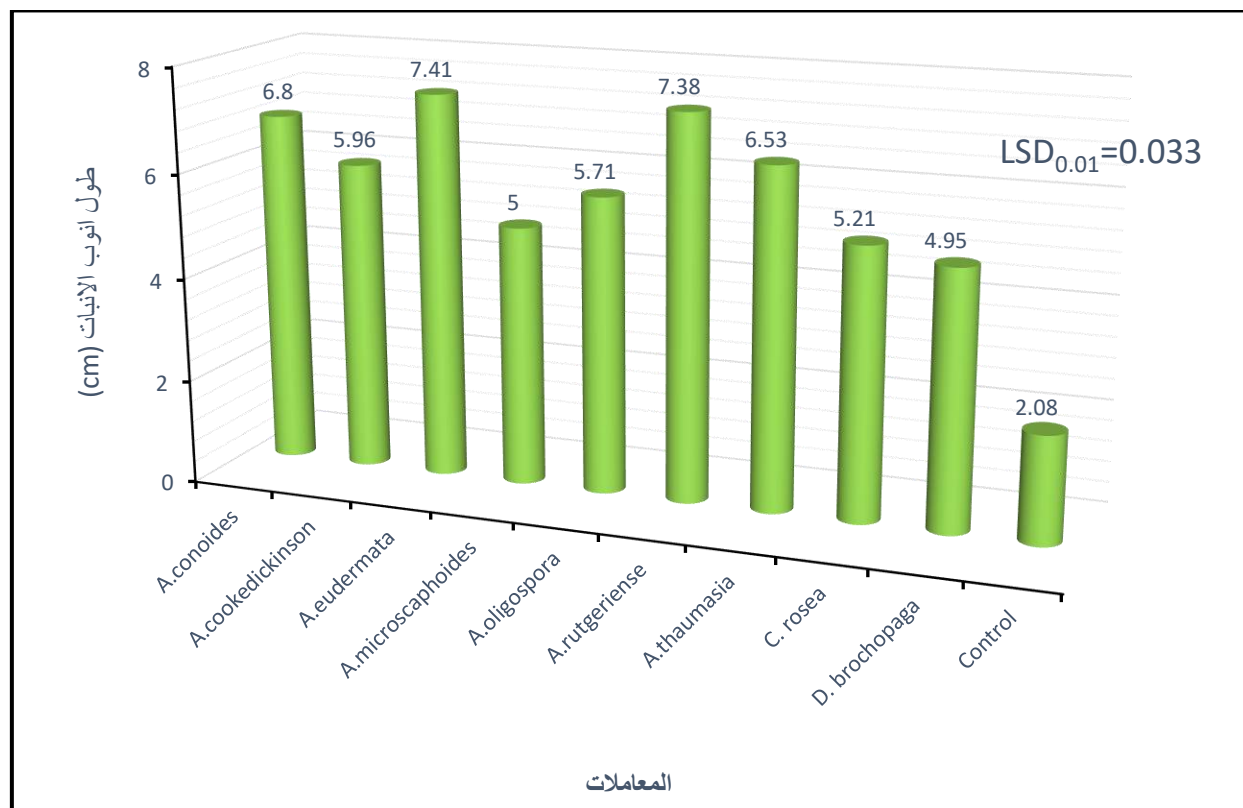
.D.brochopaga : Db ‘ C.rosea : Cr ‘ A .thaumasia : At ‘ A .rutgeriense : Ar ‘ A.oligospora : Ao

12-4 تأثير الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية في نسبة إنبات بذور نبات الباميا

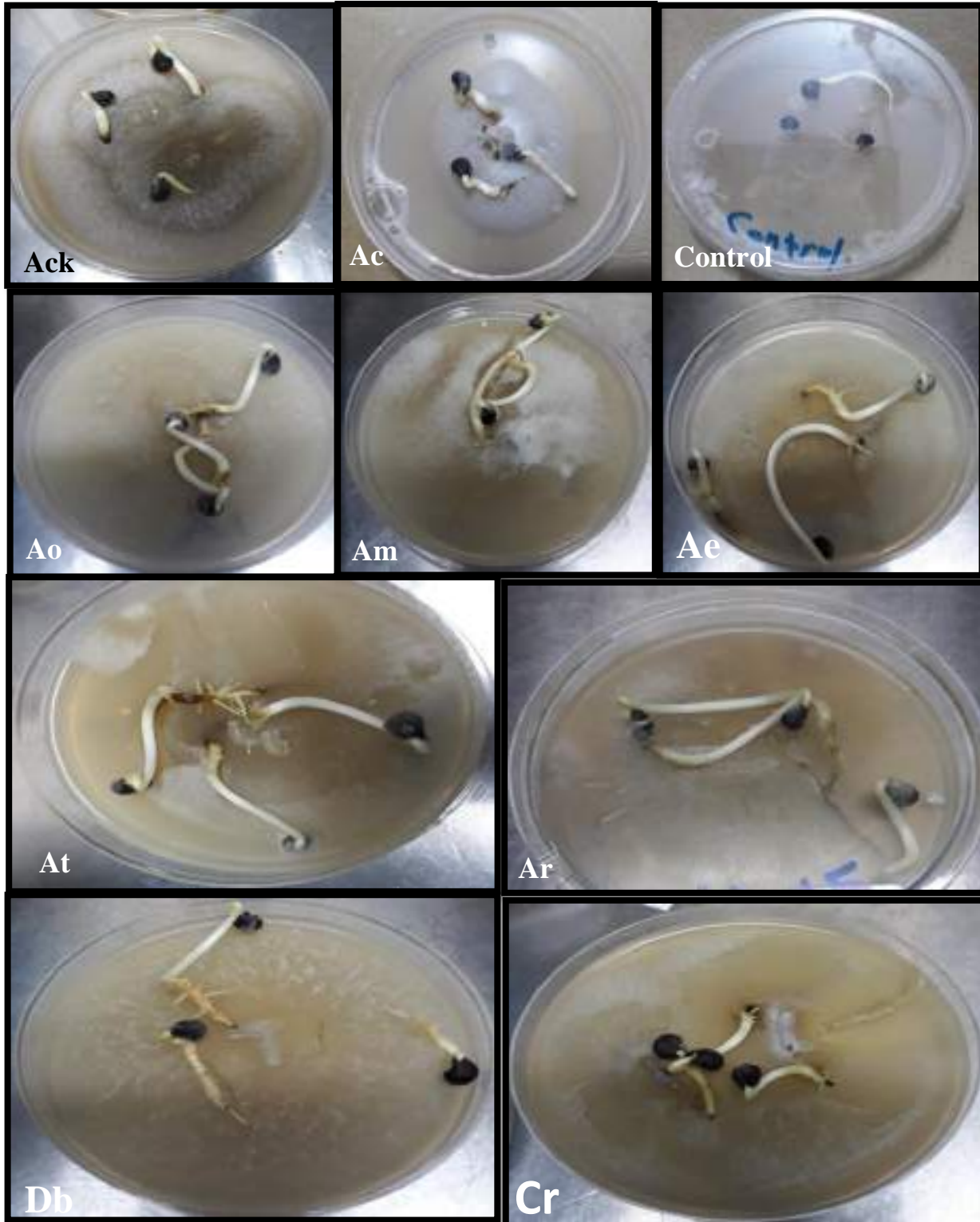
A.esculentus ومعدل طول أنبوب الإنبات على وسط CMA

أظهرت نتائج الدراسة أن للفطريات الصائدة للديدان الثعبانية تأثير على نسبة إنبات بذور الباميا وطول أنبوب الإنبات على وسط CMA حيث أوضحت النتائج أن للفطريات المختبرة القدرة على تقليل الفترة الزمنية للإنبات وزيادة معدل طول أنبوب الإنبات مقارنة بمعاملة السيطرة، حيث بلغت نسبة الإنبات 100% مقارنة بمعاملة السيطرة التي بلغت نسبة الإنبات فيها 66.66% (شكل 14-4).

لوحظ من خلال الشكل 14-4 أن الفطرين *A.eudermata* و *A.rutgeriense* أظهرتا أعلى تأثير على بذور الباميا إذ بلغ معدل طول أنبوب الإنبات 7.41 و 7.38 سم لكلا منهما على التوالي وبفارق معنوي عن معاملة السيطرة التي بلغ معدل الطول فيها 2.08 سم، تلاهما الفطر *A.conoides* بمعدل 6.8 سم، في حين أظهر الفطر *D.brochopaga* أقل معدل نمو بلغ 4.95 سم (شكل 15-4).



شكل 14-4: تأثير الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية في نمو وزيادة أنبوب الإنبات لبذور الباميا على وسط CMA



شكل 4-15: تأثير الفطريات الصائفة للديدان الثعبانية في نمو بذور الباميا على وسط CMA، السيطرة: معاملة السيطرة،

، *A. microscaphoides* :Am ، *A. eudermata* :Ae ، *A. cookedickinson* :Ack ، *A. conoides* :Ac

D. brochopaga :Db ، *C. rosea* :Cr ، *A. thaumasia* :At ، *A. rutgeriense* :Ar ، *A. oligospora* :Ao

لوحظ من خلال النتائج أن المستعمرات الفطرية النامية على الأوساط الصلبة ساعدت على النمو بصورة أفضل من الراشح الفطري ربما يعود ذلك إلى الانزيمات التي فرزتها الفطريات في الطبق وهذا يتفق مع Lopez-Llorca *et al.* (2010) الذين اشاروا إلى أن الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية تفرز انزيم بروتيز السيرين (Serine protease) في جذور النباتات، وبما أن هذه الفطريات تنتج انزيم proteases على مضيف الديدان الثعبانية، وبالتالي، فإن التعبير عن هذه البروتينات في غياب مضيفها يعني أن النباتات التي استعمرتها هذه الفطريات يمكن حمايتها من هجوم الديدان الثعبانية قبل الاتصال.

كذلك وُجد أن الراشح غير المعقم والحاوي على الخيوط الفطرية كان أفضل مقارنة بالراشح المعقم والحاوي على المركبات الايضية فقط وهذا يؤكد دور الخيوط الفطرية في نمو البذور؛ بسبب اختراقها للجذر والنمو بحالة تعايش داخلي لكون أغلب هذه الفطريات هي فطريات داخلية (Endophyte) تخترق بشرة النبات وتنمو داخله دون اختراق الانسجة الوعائية لذلك يعتقد أنها تفرز مواد تساعد على نمو النبات (Bordallo *et al.* 2002 ; Zhang and Hyde, 2014 ; Herrera-Estrella *et al.*, 2016).

4-13 الكشف عن الانزيمات في رواشح الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية

4-13-1 تقدير الفعالية الانزيمية لأنزيم proteinase

تم اختبار قابلية الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية المستخدمة في الدراسة على انتاج انزيم proteinase وتم قياس فعاليتها الانزيمية خارج خلوية (Extracellular enzymes) في المزارع السائلة . أظهرت النتائج أن الفطريات المختبرة لها القدرة على انتاج الانزيم وتم قياس فعاليته الانزيمية عند درجة حرارة 40 م° قد اختلفت قيم الفعالية الأنزيمية باختلاف أنواع الفطريات .

أظهر الجدول 4-6 الفعالية الانزيمية لأنزيم Proteinase المنتج من قبل الفطريات المختبرة ووجد أن الفطرين *A.rutgeriense* و *C.rosea* اظهرا أعلى فعالية انزيمية بلغت 1.59 وحدة / مل لكل منهما تلاهما الفطر *A.oligospora* (1.53 وحدة / مل) في حين أظهر الفطر *A.thaumasia* أقل قيمة للفعالية الانزيمية بلغت 1.28 وحدة / مل .

2-13-4 تقدير الفعالية الانزيمية لأنزيم Chitinase

أختبرت قدرة الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية المختبرة على إنتاج أنزيم Chitinase وقيست فعاليتها الانزيمية خارج خلوية (Extracellular enzymes) في المزارع السائلة. أظهرت النتائج قدرة هذه الفطريات على إنتاج الانزيم ولوحظ اختلاف قيم الفعالية الانزيمية باختلاف أنواع الفطريات عند درجة حرارة 37 م°

بين الجدول 4-6 الفعالية الانزيمية لأنزيم Chitinase المنتج من قبل الفطريات المختبرة ، ويلاحظ من خلال النتائج أن الفطر *C.rosea* أظهر أعلى فعالية انزيمية بلغت 34.66 وحدة / مل تلاء الفطر *A.conoides* (33.66 وحدة / مل) ، في حين أظهر الفطر *A.thaumasia* أقل قيمة للفعالية الانزيمية بلغت 27.51 وحدة / مل. وبلغ معدل الفعالية الانزيمية لجميع الفطريات 31.64 وحدة / مل.

جدول 4-6: الفعالية الانزيمية لأنزيمي Chitinase و proteinase في رواشح

الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية المختبرة

الفعالية الانزيمية (وحدة / مل)		الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية
Chitinase (37 C)	Proteinase (40 C)	
33.66	1.36*	<i>A.conoides</i>
31.41	1.46	<i>A.cookedichinson</i>
30.82	1.46	<i>A.eudermata</i>
33.17	1.38	<i>A.microscaphoides</i>
31.83	1.53	<i>A.oligospora</i>
28.67	1.59	<i>A.rutgeriense</i>
27.51	1.28	<i>A.thaumasia</i>
34.66	1.59	<i>C. rosea</i>
33.06	1.39	<i>D. brochopaga</i>
31.64	1.45	المعدل
0.1224	0.0146	قيمة LSD(0.01)

*كل رقم يمثل معدل ثلاثة مكررات

3-13-4 تأثير درجات الحرارة في الفعالية الانزيمية لأنزيم proteinase

أظهرت نتائج الدراسة أن لدرجة الحرارة تأثير واضح في الفعالية الانزيمية للفطريات الصائفة للديدان الثعبانية المختبرة لأنزيم proteinase، ولوحظ أن الفطر *A. oligospora* اظهر أعلى معدل للفعالية الانزيمية بجميع قيم درجات الحرارة بلغت 1.38 وحدة / مل ، في حين كان أقل معدل للفعالية الانزيمية في الفطر *A. microscaphoides* بلغ 1.08 وحداً ، بينما اختلفت معدلات الفعالية الانزيمية لبقية الفطريات بصورة واضحة، وأظهرت النتائج أن أعلى معدل للفعالية الانزيمية ظهرت عند درجتى حرارة 40 و 37 م° حيث بلغت 1.46 و 1.45 وحدة / مل لكل منهما على التوالي وبدون فارق معنوي بينهما ، في حين أن أقل فعالية انزيمية لهذه الفطريات ظهرت في درجة الحرارة 22 م° بلغت 1.03 وحدة / مل (جدول 4-7) .

لوحظ من خلال الجدول 4-7 أن الفطريات المختبرة أظهرت فعالية انزيمية مختلفة باختلاف درجات الحرارة ولوحظ أن الفطريات *A. oligospora* و *D. brochopaga* و *A. conoides* و *A. thaumasia* كانت فعاليتهم الانزيمية بدرجة الحرارة 37 م° افضل من درجة الحرارة 40 م° ، إذ لوحظ أن الفطر *A. oligospora* بلغت فعاليته الانزيمية 1.67 وحدة / مل بالمقارنة مع 1.53 وحدة / مل عند درجة حرارة 37 م° ، بينما كانت الفعالية الانزيمية للفطر *D. brochopaga* عالية جدا في 37 م°، مقارنة مع 40 م° حيث بلغت 1.64 وحدة/ مل عند 37 م° مقارنة بـ 1.39 وحدة / مل عند 40 م° ، في حين ارتفعت الفعالية الانزيمية للفطر *A. conoides* من 1.36 وحدة/مل إلى 1.53 وحدة / مل عند 37 م°. أما الفعالية الانزيمية للفطر *A. thaumasia* فقد بلغت 1.39 بالمقارنة مع 1.28 وحدة /مل عند 40 م°.

بينما أظهرت الفطريات *A. rutgeriense* و *C. rosea* و *A. cookedichinson* و *A. eudermata* و *A. microscaphoides* فعالية انزيمية أفضل عند درجة الحرارة 40 م° بالمقارنة مع 37 م° ، حيث كان الفعالية الانزيمية للفطرين *A. rutgeriense* و *C. rosea* 1.59 وحدة / مل عند 40 م° بالمقارنة مع 1.46 و 1.56 وحدة / مل لكل منهما على التوالي عند 37 م° ، في حين ارتفعت الفعالية الانزيمية للفطرين *A. cookedichinson* و *A. eudermata* من 1.33 و 1.32 وحدة / مل عند 37 م° إلى 1.46 وحدة / مل لكل منهما عند 40 م°، بينما بلغت الفعالية الانزيمية للفطر 1.38 وحدة/ مل عند 40 م° مقارنة بـ 1.26 وحدة / مل عند 37 م°.

جدول 4-7 : تأثير درجات الحرارة في الفعالية الانزيمية لأنزيم Proteinase المنتج من قبل الفطريات الصائفة للديدان الثعبانية

المعدل	الفعالية الانزيمية (وحدة / مل)							درجات الحرارة (م) الفطريات الصائفة للديدان الثعبانية
	43	37	34	31	28	25	22	
1.36	1.31	1.53	1.41	1.36	1.34	1.33	1.25*	<i>A.conoides</i>
1.31	1.39	1.33	1.32	1.28	1.26	1.24	1.22	<i>A.cookedichinson</i>
1.22	1.26	1.32	1.31	1.26	1.18	1.12	0.88	<i>A.eudermata</i>
1.084	1.32	1.26	1.07	1.05	1.01	0.83	0.74	<i>A.microscaphoides</i>
1.38	1.29	1.67	1.53	1.47	1.36	1.16	1.06	<i>A.oligospora</i>
1.26	1.14	1.46	1.39	1.24	1.24	1.12	0.94	<i>A.rutgeriense</i>
1.25	1.15	1.39	1.33	1.3	1.26	1.24	1.03	<i>A.thaumasia</i>
1.34	1.25	1.56	1.48	1.24	1.24	1.2	1.16	<i>C. rosea</i>
1.29	1.3	1.64	1.52	1.31	1.18	1.07	0.98	<i>D. brochopaga</i>
	1.27	1.46	1.37	1.27	1.23	1.14	1.03	المعدل
0.0146	0.078							(0.01)LSD

*كل رقم يمثل معدل ثلاثة مكررات

4-13-4 تأثير درجات الحرارة في الفعالية الانزيمية لأنزيم Chitinase

بينت النتائج أن هناك تأثير واضح لدرجة الحرارة في الفعالية الانزيمية للفطريات الصائفة للديدان الثعبانية المختبرة لأنزيم Chitinase ، اذ لوحظ اختلاف الفعالية الانزيمية لكل فطر باختلاف درجة الحرارة، فقد أظهر الفطر *A.conoides* أعلى معدل للفعالية الانزيمية في جميع قيم درجات الحرارة بلغت 31.21 وحدة / مل في حين كان أقل معدل للفعالية الانزيمية في الفطر *A.microscaphoides* بلغ 27.32 وحدة / مل بينما اختلفت معدلات الفعالية الانزيمية لبقية الفطريات بصورة واضحة. أما عند المقارنة مع درجات الحرارة فوجد أن درجة الحرارة 37 م° هي الدرجة المثلى والتي ظهرت عندها أعلى فعالية انزيمية لجميع الفطريات المختبرة حيث بلغت الفعالية الانزيمية للكابتينيز 31.64 وحدة / مل في حين أن أقل فعالية انزيمية لهذه الفطريات ظهرت في درجة الحرارة 43 م° حيث بلغت 25.78 وحدة / مل (جدول 4-8).

أُتضح من خلال الجدول 4-8 أن الفطرين *A.eudermata* و *A.rutgeriense* أظهرتا أعلى فعالية انزيمية لهما عند 28 م° بلغت 34.16 و 33.83 وحدة / مل بالمقارنة مع 31.51 و 29.16 وحدة / مل عند 37 م° لكل منهما على التوالي، في حين بلغت الفعالية الانزيمية للفطر *A.thaumasia* 35.1 وحدة / مل عند 31 م° بالمقارنة مع 27.51 وحدة / مل عند 37 م° ، بينما لوحظ عدم وجود فرق معنوي بين درجة حرارة 40 و 37 م° بالنسبة للفطر *D.brochopaga* .

جدول 4-8: تأثير درجات الحرارة على الفعالية الانزيمية لأنزيم Chitinase المنتج من قبل الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية

المعدل	الفعالية الانزيمية (وحدة / مل)						درجات الحرارة (م°) الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية
	43	40	34	31	28	25	
31.21	28.3	31.83	32.5	31.5	30.5	30.16*	<i>A.conoides</i>
28.32	27.86	30.82	30.5	28.68	25.34	23.66	<i>A.cookedichinson</i>
30.73	25.6	27.52	31.51	33.66	34.16	31.83	<i>A.eudermata</i>
27.32	18.3	24.16	31.66	29.66	28.16	26.16	<i>A.microscaphoides</i>
30.25	28.55	30.63	31.33	30.13	29.83	29.5	<i>A.oligospora</i>
28.97	22.62	25.66	29.16	31.35	33.83	31.52	<i>A.rutgeriense</i>
29.53	21.03	23.1	31.82	35.1	34.51	33.65	<i>A.thaumasia</i>
30.07	29.68	32.1	31.52	28.82	28.66	25.07	<i>C. rosea</i>
31.09	30.12	33.16	32.16	32.13	30.32	26.66	<i>D. brochopaga</i>
	25.78	28.77	31.35	31.22	30.59	28.69	المعدل
0.1224	0.0897						(0.01)LSD

*كل رقم يمثل معدل ثلاثة مكررات

استخدمت الأوساط السائلة من أجل الكشف عن النشاط الأنزيمي للفطريات المختبرة ، إذ تعد إحدى الطرائق المستخدمة للكشف عن الفعالية الانزيمية خارج خلوية (Extracellular enzymes) ، فلوحظ أن جميع الفطريات المختبرة لها القابلية على إفراز انزيمي Proteinase و Chitinase وهذه النتيجة تتفق مع العديد من الدراسات التي أشارت إلى أن الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية تفرز البروتيز والكاييتينيز حيث اكد *Zhao et al.* (2004) قدرة الفطر *A. oligospora* على إنتاج انزيم البروتيز ، وأشار *Wang et al.* (2006) إلى قابلية الفطر *A. microscaphoides* على إفراز البروتيز، كما ذكر *Liang et al.* (2011) أن الفطر *C. rosea* له القابلية على إفراز الانزيم. كما أشارت عدة دراسات إلى قدرة الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية على إنتاج انزيمي البروتينيز والكاييتينيز من الانزيمات التي تعمل على اختراق جدار الديدان الثعبانية (*Li et al., 2006* ; قاسم وآخرون، 2009 a ; *Hussain; et al., 2017*).

أشار *Hussain et al* (2017) إلى أن قدرة الفطر *C. rosea* على قتل يرقات الديدان الثعبانية تعود إلى إنتاجه الانزيمات المحللة مثل *Proteases* ، *Chitinase* و *Collagenase* التي تشارك في اختراق بشرة الديدان الثعبانية وتعمل على تدهور خلية المضيف بالإضافة إلى إنتاجه أعداد كبيرة من *Conidia* في وقت قصير جدا و التي تلتصق بالديدان الثعبانية وتتكاثر فيها.

أن لدرجة الحرارة تأثير واضح على الفعالية الأنزيمية للفطريات وأن أي اختلاف أو تغير في درجات الحرارة سيؤثر على استقراره أو تثبيط للإنتاج الانزيمي، أشارت العديد من الدراسات إلى أن فعالية انزيم البروتيز تكون عالية تحت درجة حرارة محصورة ما بين 35-37 م° منها (قاسم، 2006 ; *Acevedo-Ramirez et al., 2015*) وهذا يتفق مع ما أشارت اليه الدراسة الحالية، إذ لوحظ أن افضل فعالية انزيمية لأنزيمي *Chitinase* و *Proteinase* ظهرت بدرجة حرارة 37 م°، ويعتقد أن مصدر الانزيم وطريقة فصله ونوع المحلول المنظم لها تأثير كبير في درجة الحرارة المثلى (*Sharon et al., 2000* ; قاسم وآخرون، 2009a).

أختلفت قابلية الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية في كمية الانزيم المنتج عند تقدير فعاليتها بدرجات حرارة مختلفة فبعضها أظهرت فعالية انزيمية جيدة في درجة حرارة 37 م° وبعضها بدرجة حرارة 40 م° بالنسبة لإنزيم البروتينيز ، في حين أظهر الفطرين *A. eudermata* و *A. rutgeriense* فعالية انزيمية عالية بالنسبة لأنزيم الكاييتينيز عند 28 م° والفطر *A. thaumasia* عند 31 م° ، وهذه النتيجة تتفق مع ما أشار إليه بعض الباحثين الذين أكدوا على اختلاف كمية الانزيمات التي تفرزها تلك الفطريات فلوحظ أن عزلات النوع الواحد تختلف في قابليتها الافتراضية وفعاليتها الانزيمية، ويعزي الباحثين سبب هذا الاختلاف إلى وجود بعض الاختلافات

الجينية بين تلك العزلات الناتجة من اختلاف مواقع جمعها (Morton *et al.*, 2003 ; قاسم وآخرون، 2009). (a).

14-4 قابلية الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية على تكسير النفط الخام

تم اختبار قابلية الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية المختبرة على تكسير النفط الخام ، حيث تعد هذه الدراسة هي الأولى من نوعها لاختبار هذه الفطريات على تكسير النفط الخام (Crude oil)، وظهرت النتائج أن أغلب الفطريات المختبرة كانت لها قابلية متفاوتة على تكسير المركبات النفطية ، حيث أظهرت الفطريات *A.cookedichinson* و *A.microscaphoides* و *A.thaumasia* و *C.rosea* قابلية عالية على التكسير الحيوي بلغت من 70-75% ، في حين أظهرت الفطريات *A.eudermata* و *A.oligospora* و *A.rutgeriense* و *D.brochopaga* قابلية متوسطة على التكسير الحيوي بلغت من 25-30% ، بينما لم يظهر الفطر *A.conoides* أي قابلية واضحة على تكسير المركبات النفطية (جدول 4-9 وشكل 4-16).

15-4 قابلية الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية على النمو بعد تكسير النفط الخام بعد مرور 30

يوم

بعد التأكد من قدرة الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية على تكسير النفط الخام بعد 7 أيام أختبرت قدرتها على النمو وتكوين الكتلة الحية بعد مرور 30 يوم، بينت نتائج التكسير الحيوي في الاوساط السائلة عدم وجود اختلاف في قابلية الفطريات المدروسة على تكسير النفط الخام بين 7 أيام و30 يوم عدا الفطر *A.eudermata* استطاع تكسير النفط بصورة تامه بعد مرور ثلاثين يوماً بعد أن كان قد كسر النفط جزئياً خلال فترة حضن 7 ايام (جدول 4-9 و شكل 4-17).

أظهرت الفطريات المختبرة نموا متميزا للخيوط الفطرية أسفل الدورق لتصبح بعض الأنواع بشكل كتل متشابكة في الوسط السائل بعد تكسير النفط الخام ، بينما أنواع أخرى شكلت شبكة من الخيوط الفطرية وحولت شكل النفط الخام من طبقة لماعة سائلة إلى طبقة غير لماعة شبه صلبة (شكل 4-18)، وكانت الكتلة الحية للخيوط الفطرية تزداد بمرور الوقت وبصورة متفاوتة بين الفطريات المختبرة (جدول 4-10).

لوحظ من خلال الجدول (4-10) أن الفطر *A. cookedickinson* أظهر نمواً سريعاً وكثيفاً للخيوط الفطرية حيث بلغ معدل الوزن الطري للكتلة الحية 8.82 غم والجاف 0.52 غم، في حين أظهر الفطر *A. oligospora* أقل معدل للوزن الطري بلغ 3.22 غم وللجاف بلغ 0.185 غم. ولم يظهر الفطر *A. conoides* أي نمو في الوسط لعدم قدرته على تكسير النفط الخام ،

كما لوحظ انخفاض قيمة الـpH في الوسط السائل إلى حوالي 6.4 في نهاية فترة الحضانة بالمقارنة مع بدايتها حيث كانت قيمة pH 7.1 بالنسبة للفطريات التي كان تحطيم النفط فيها 25-30% وهي *A. oligospora* و *A. rutgeriense* ، عدا الفطر *D. brochopaga* بلغت قيمة الـpH 6.2. في حين انخفضت قيمة الـpH إلى 6.2 في الفطريات التي كان تحطيم النفط فيها 70-75% وهي *A. cookedickinson* و *C. rosea* و *A. microscaphoides* و *A. eudermata* عدا الفطر *A. thaumasia* حيث بلغت قيمة الـpH 6.4 (جدول 4-10).

جدول 4-9 : قابلية الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية على تكسير النفط الخام

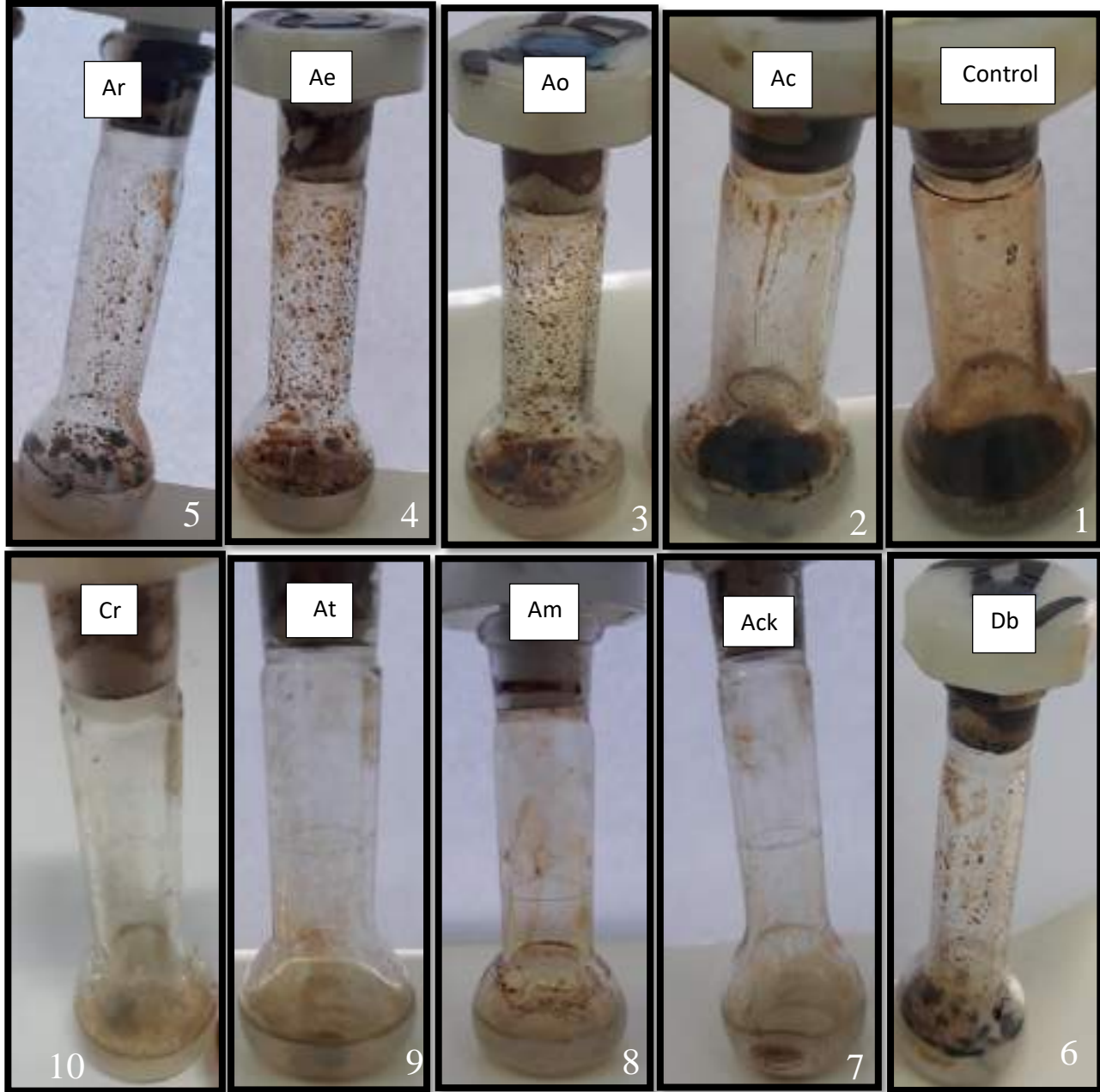
ت	معدل التكسير الحيوي		الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية
	بعد 7 ايام	بعد 30 يوم	
1	0	0	<i>A. conoides</i>
2	++	++	<i>A. cookedichinson</i>
3	+	++	<i>A. eudermata</i>
4	++	++	<i>A. microscaphoides</i>
5	+	+	<i>A. oligospora</i>
6	+	+	<i>A. rutgeriense</i>
7	++	++	<i>A. thaumasia</i>
8	++	++	<i>C. rosea</i>
9	+	+	<i>D. brochopaga</i>

* 0 لا يوجد تكسير حيوي واضح ، + قابلية تكسير قليلة 25-30 % ، ++ قابلية تكسير عالية 70-75%

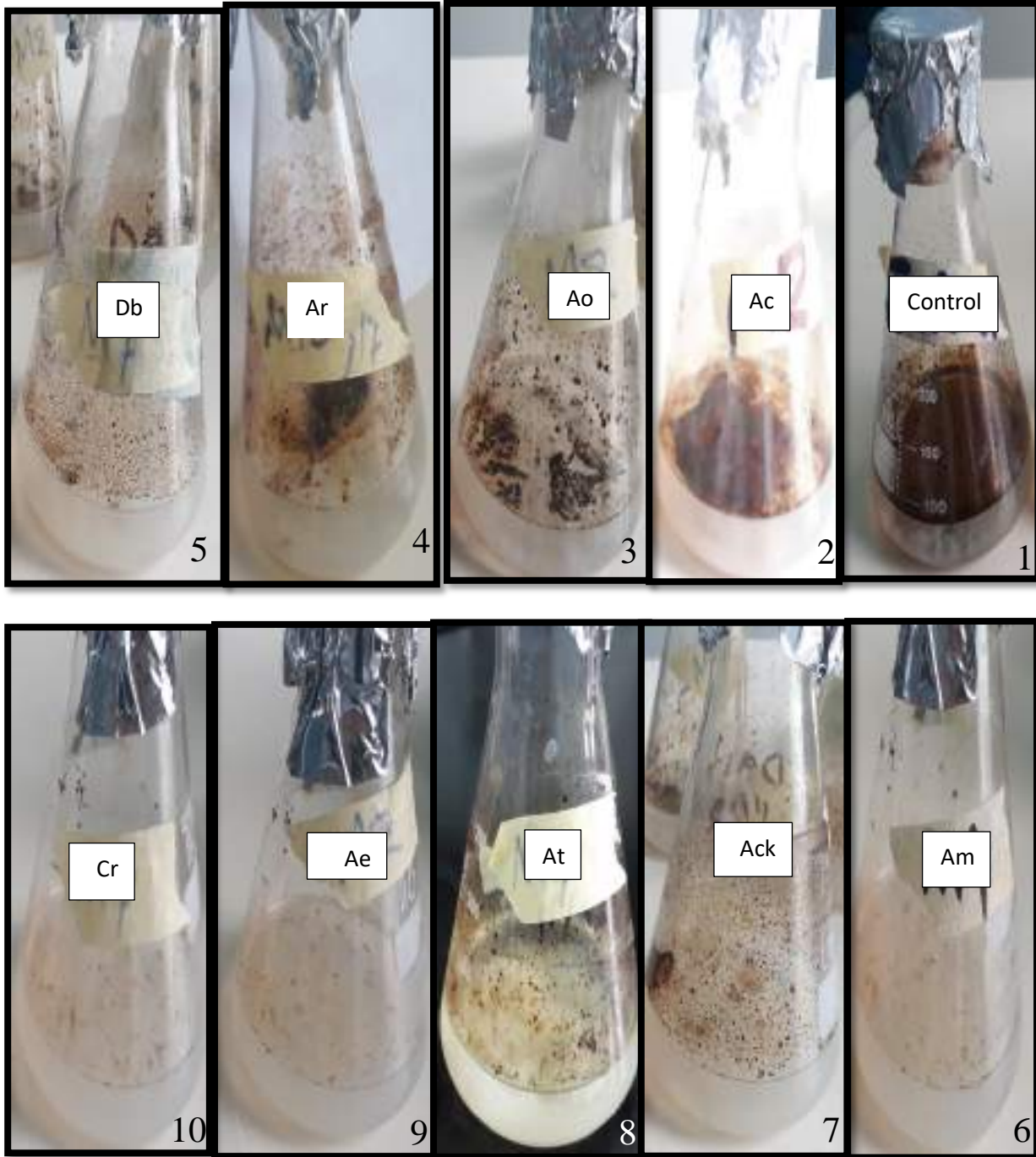
جدول 4-10: الوزن الطري والجاف للكتلة الحية (غم) وقيم الـ pH لمستعمرات الفطريات الصائفة للديدان الثعبانية المختبرة بعد مرور 30 يوم من تكسير النفط الخام

قيمة الـ pH	معدل التكسير الحيوي		الفطريات الصائفة للديدان الثعبانية
	الوزن الجاف(غم)	الوزن الطري(غم)	
7.1	0	0	<i>A.conoides</i>
6.2	0.52	8.83*	<i>A.cookedichinson</i>
6.2	0.37	5.51	<i>A.eudermata</i>
6.2	0.35	5.28	<i>A.microscaphoides</i>
6.4	0.185	3.23	<i>A.oligospora</i>
6.4	0.26	3.54	<i>A.rutgeriense</i>
6.4	0.44	7.57	<i>A.thaumasia</i>
6.2	0.41	7.23	<i>C. rosea</i>
6.2	0.22	3.43	<i>D. brochopaga</i>

* كل رقم يمثل معدل مكررين



شكل 4-16: قابلية الفطريات الصائفة للديدان الثعبانية على تكسير النفط الخام بعد 7 أيام بالمقارنة مع معاملة السيطرة: 1: معاملة السيطرة، 2: عدم تحلل النفط الخام (0)، 3-6: تحلل 25-30% من النفط الخام، 7-10: تحلل 70-75% من النفط الخام. Control: معاملة السيطرة، Am: *A. microscaphoides*، Ao: *A. oligospora*، Ar: *A. rutgeriense*، At: *A. thaumasia*، Cr: *C. rosea*، Db: *D. brochopaga*، Ac: *A. conoides*، Ack: *A. cookedickinson*، Ae: *A. eudermata*.



شكل 4-17 تحطيم النفط الخام وطبيعة النمو بعد 30 يوماً بالمقارنة مع معاملة السيطرة: 1: معاملة السيطرة، 2: عدم تحلل النفط الخام (0)، 3-5: تحلل 25-30% من النفط الخام، 6-10: تحلل 70-75% من النفط الخام. Control: معاملة السيطرة،
 ، *A.thaumasia* : At ، *A.rutgeriense* : Ar ، *A.oligospora* : Ao ، *A.microscaphoides* : Am
 ، *A.cookedickinson* :Ack ، *A.conoides*: Ac ، *D.brochopaga* : Db ، *C.rosea* : Cr

A.eudermata :Ae



شكل 4-18: الخيوط الفطرية النامية في وسط MSM بعد تكسير النفط الخام بعد 30 يوم: Ack: *A. cookedickinsonii* ،

A. eudermata :Ae

لقد اظهرت النتائج أن قابلية التكسير الحيوي للنفط الخام كانت متباينة ما بين الأنواع الفطرية وقد يعود سبب ذلك إلى طبيعة النشاط الانزيمي لكل نوع أو سلالة وكذلك إلى طبيعة البيئة التي عزل منها الفطر أو اوسط النامي فيه أو كمية وطبيعة الملوث الذي تعرض له (Oudot *et al.*, 1993).

أظهر الفطر *A. eudermata* قابلية أكبر على تكسير النفط بعد مرور ثلاثين يوماً ، وذلك لأن بعض الفطريات تحتاج إلى البقاء فترة أطول بالنفط الخام وهذا يتيح لها تحلل الهيدروكربونات إلى مركبات أبسط واستعمالها كمصدر للكربون والطاقة (Chigu *et al.*, 2010 ; Nyer *et al.*, 2002).

أوضحت النتائج أن غالبية الانواع الفطرية المستخدمة اظهرت نموا متميزا للخيوط الفطرية في الوسط السائل بعد مرور ثلاثين يوماً وتباين هذا النمو في طبيعته وكثافته بين الانواع المختلفة، وعلى الرغم من هذا النمو الكثيف فإنه قد لا يعطي فكرة واضحة عن مدى التكسير الحيوي للعزلة الفطرية فالنمو الكثيف لفطر معين في الوسط السائل مقارنة بالنمو الضعيف لفطر آخر لا يعني أن الاول هو الافضل من حيث التكسير الحيوي للنفط الخام ولكن كانت استجابته لظروف النمو سريعة، إضافة إلى أنه قد يكون من الانواع التي تظهر نمواً سريعاً وكثيفاً للخيوط الفطرية مما يؤدي إلى تكاثره بسرعة ولكنه يظهر قابلية تكسير واطنة في نهاية التجربة، عموماً فالنمو الكثيف يعطي صورة مهمة على الترابط الايجابي بين زيادة الكتلة الحية والتكسير الحيوي للنفط الخام، خاصة وأن هذه الزيادة في النمو يرافقها زيادة في إفراز الانزيمات المكسرة وزيادة في التلامس بين الخلايا والنفط الخام مما يرفع من معدلات التكسير الحيوي (Bennett *et al.*, 2002 ; Johnsen *et al.*, 2005). وتجدر الإشارة إلى أن النمو السريع للخيوط الفطرية والاستهلاك العالي لمركبات النفط الخام يشير إلى أن هذه العزلات تمتلك قابلية كبيرة على تحليل المركبات النفطية وبإمكانها تكسير مدى واسع منها وهذا

يعزز امكانية عزل الفطريات المكسرة للنفط الخام من بيئات تعدّ غير ملوثة نسبيا فليس من الضروري أن تعزل الفطريات المكسرة للملوثات من البيئات الملوثة فقط (Atagana, 2006; Bennett *et al.*, 2002). لوحظ انخفاض في قيمة الـpH للوسط السائل حيث انخفضت إلى حوالي 6.2 في نهاية التجارب ويرجع السبب في ذلك إلى تحلل المركبات المشبعة (الالكانات) للنفط الخام حيث ينتج عن هذا التحلل كحولات تتحول بعد ذلك إلى أحماض دهنية ، وتراكم هذه الاحماض يؤدي إلى خفض الأس الهيدروجيني للوسط الزرعي (Oboh *et al.*, 2006 ; Okerentugba and Ezeronye, 2003).

إن القابلية العالية التي أظهرتها الفطريات في تكسير النفط الخام قد يعزى سببه إلى طبيعة النظام الانزيمي الذي تعتمد هذه الفطريات في تكسير النفط الخام، فقد تستعمل أكثر من نظام أنزيمي واحد لذا تزداد قابليتها في تكسير المركبات النفطية فمن الثابت حاليا أن العديد من الفطريات الكيسية تستطيع إفراز أنزيمات خارج خلوية لاستعمالها في تكسير المواد العضوية ومنها مركبات النفط الخام (Giardina *et al.*, 2007). كذلك لوحظ من خلال استعمال تقنية GC_MS للكشف عن المركبات الفعالة قابلية الفطريات المختبرة على إنتاج العديد من المركبات التي تستخدم في المنظفات منها، phthalic acid ، Oleyl alcohol, heptafluorobutyrate ، Docosanoic acid ، Piperazine, 1-(1-methyl-4-piperidyl)- ، Dodecanoic acid ، Undecanoic acid, 10-bromo-1,2- Eicosanoic acid ، 9-hexadecenyl ester, (z) . والتي قد تكون جميعها أو بعضها السبب في تحطيم مركبات النفط الخام.

16-4 الكشف عن المركبات الموجودة في الراشح الفطري بتقنية GC-MS

تم تشخيص المركبات الفعالة الموجودة في مستخلصات الرواشح الفطرية باستعمال تقنية GC-MS. حيث تم تشخيص العديد من المركبات الفعالة التي تنتجها الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية المختبرة، اجري الكشف لستة أنواع من الفطريات هي *A. conoides* ، *A. rutgeriense* ، *A. eudermata* ، *C. rosea* ، *A. oligospora* ، *A. microscaphoides* (ملحق 1) ولوحظ من خلال الكشف على بعض الفطريات المختبرة أنها قد تنتج نفس المركبات الكيميائية (جدول 4-11). أشار الجدول 4-11 إلى أن الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية الستة المختبرة أظهرت مجموعة من المركبات المشتركة بينها، فقد لوحظ أن هنالك ثلاث مركبات 9-Hexadecenoic acid, eicosyl ester, (Z)- ، Phthalic acid, ethyl isopropyl ester ، Diethyl phthalate ، في حين أن المركب Decanoic acid, octadecyl ester ظهر في جميع الفطريات المختبرة عدا

A.eudermata هي ثلاث فطريات هي Dodecanoic acid فقد ظهر في ثلاث فطريات هي *A.microscaphoides* ، *A.microscaphoides* ، *A.oligospora* ،

جدول 4-11: المركبات الكيميائية المشتركة بين الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية المختبرة والمشخصة بتقنية GC-MS

الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية						المركبات الكيميائية
Cr	Ar	Ao	Am	Ae	Ac	
-	-	+	+	-	-	6-Octadecenoic acid(1.6)
+	+	+	+	+	+	9-Hexadecenoic acid, eicosyl ester, (Z)-
+	+	+	-	+	+	Decanoic acid, octadecyl ester
+	+	+	+	+	+	Diethyl phthalate
+	-	-	+	-	-	Docosanoic acid nonyl ester
-	-	+	+	+	-	Dodecanoic acid
-	-	+	+	-	-	n-Nonadecanol-1
-	+	-	+	-	+	Octadecanoic acid
+	-	-	+	-	-	Pentadecanoic acid
-	+	-	-	+	-	Pentatriacontane
-	-	-	+	+	-	Phthalic acid, butyl dodecyl ester
-	+	-	+	-	-	Phthalic acid, dodecyl ethyl ester
+	+	+	+	+	+	Phthalic acid, ethyl isopropyl ester
-	+	-	-	+	-	Tetradecanoic acid, eicosyl ester
+	+	-	-	-	-	Tetradecanoic acid, tetradecyl ester
-	-	+	-	-	+	Thiocolchicine

* (+) قابلية الفطريات المختبرة على انتاج المركب الكيميائي

* (-) عدم قابلية الفطريات المختبرة على انتاج المركب الكيميائي

لوحظ من خلال نتائج GC-MS أن الفطر *A.eudermata* ينتج المركب Milbemycin b, 5-o-demethyl الذي يعمل على فتح قنوات كلوريد حساسة للجلوتامات في الخلايا العصبية في اللاقريات مما يؤدي إلى فرط تحلل هذه الخلايا ومنع نقل الإشارات بالإضافة إلى Hexadecanamide,N,N'-methylenebis و Hydromorphone,heptafluorobutyrate ، والتي تعمل كمسكن حيث تعد من المواد المخدرة .

كذلك وجد أن الفطر *A.conoides* ينتج مركب Cholestan-3-ol,(3.alpha.) كأبيض ثانوي يعمل على تثبيط الكولسترول الذي يشكل 30% من غشاء المحيط بالكائن والمسؤول عن صلابة الغشاء والسيولة والنقل داخل الخلايا وتوصيل الاعصاب بين الخلايا. كذلك ينتج المركب Thiocolchicine الذي يسبب تشنج للعضلات ويعمل كمادة مخدرة (Soonawalla and Joshi,2008). بينما وجد أن من بين المركبات التي ينتجها الفطر *A.rutgeriense* مركب Heptafluorobutyric acid,n- octadecyl ester الذي يعمل على اذابة الببتيدات والبروتينات ، و Deserpidine الذي يستخدم كعلاج مخفض للضغط.

وجد أيضا أن الفطريات المختبرة لها القابلية على انتاج احماض دهنية تستخدم في المنظفات وكمنتجات صيدلانية منها Dodecanoic acid ،phthalic acid ،Oleyl alcohol,heptafluorobutyrate ، Undecanoic acid,10-bromo- ،Docosanoic acid ،Piperazine,1-(1-methyl-4-piperidyl)- ، Eicosanoic acid,9-hexadecenyl ester,(z) ، ويعتقد أن هذه المركبات هي من مكنت الفطريات المختبرة على تكسير النفط الخام.

لوحظ من خلال النتائج ان الفطريات المختبرة تنتج العديد من المركبات الكيميائية، التي تساعدها في اصطياد وقتل الديدان الثعبانية منها مركب Diethyl phthalate الذي يعتبر من السموم العصبية، والتي اثبتت قدرتها على زيادة معدل قتل يرقات الطور الثاني لديدان العقد الجذرية عند إضافته بتركيز 2 ملي مول / لتر (Yang et al.,2016).

الاستنتاجات والتوصيات

Conclusion

And

Recommendations

الاستنتاجات:

1. تمتلك الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية المعزولة من تربة محافظة ميسان فعالية تثبيطية تجاه البكتيريا المرضية المختبرة.
2. إن قيم الـ pH لها تأثير واضح في الوزن الطري والجاف للكتلة الحية في الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية في المزارع السائلة ، وأن أفضل وزن للكتلة الحية عند الـ pH 5.
3. إن راشح الفطر *Trichoderma harzianum* و راشح البكتيريا *Pseudomonas aeruginosa* له تأثير واضح في زيادة الكتلة الحية للفطريات الصائدة للديدان الثعبانية .
4. رواشح الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية لها القابلية على قتل يرقات نيماتود تآليل الحنطة *Anguina tritici*.
5. أن للفطريات الصائدة للديدان الثعبانية القدرة على إنتاج القلويدات والفينولات والصابونيات.
6. رواشح الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية غير المعقمة والمعقمة لها تأثير ايجابي على نسبة إنبات بذور الباميا *Abelmoschus esculentus* وطول أنبوب الإنبات.
7. أن أفضل درجة حرارة لإنتاج انزيمي Proteinase و Chitinase من قبل الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية هي 37 م°.
8. الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية المختبرة لها القابلية على تكسير النفط الخام والنمو بعد تكسيره.
9. أظهر فحص GC-MS وجود العديد من المركبات الكيميائية الفعالة التي تنتجها الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية المختبرة.

التوصيات:

1. استخدام قيمة الـ pH 5 في المزارع السائلة لزيادة نمو الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية .
2. استخدام تراكيز قليلة من راشح الفطر *Trichoderma harzianum* و راشح البكتيريا *Pseudomonas aeruginosa* لزيادة الكتلة الحية للفطريات الصائدة للديدان الثعبانية.
3. استخدام رواشح الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية لقتل يرقات ديدان ثأليل الحنطة (*A. tritici*).
4. إمكانية استخدام رواشح الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية لتقليل الفترة الزمنية لأنبات بذور نبات الباميا وزيادة نمو البذور.
5. إمكانية استخدام الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية في المعالجة البيولوجية للتخلص من التلوث الهيدروكربوني.
6. تنقيته بعض المركبات الفعالة وتقييم فعاليتها التضادية للبكتيريا المرضية أو ضد النيماتود المرضية.
7. إجراء دراسة حول قابلية الفطريات الصائدة للنيماتود على إنتاج العناصر المعدنية وعلى إنتاج السموم.
8. إجراء دراسة حول قدرة رواشح الفطريات على زيادة نمو بذور الحنطة بعد قتل ديدان ثأليل الحنطة (*A. tritici*) مختبرياً وحقلياً.

توصية الأستاذ المشرف

أقر أن اعداد هذه الرسالة المقدمة من قبل الطالبة نور علي رحيم والموسومة بتقييم الفعالية الضد ميكروبية لنواتج الايض الثانوي للفطريات الصائفة للديدان الثعبانية جرى تحت إشرافي في قسم علوم الحياة / كلية العلوم / جامعة ميسان كجزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة.

التوقيع:

أسم المشرف: أ. د. علي عبد الواحد قاسم.

اللقب العلمي: أستاذ.

التاريخ: 2019 / 9 / 12

توصية رئيس قسم علوم الحياة

بناء على التوصية المقدمة من قبل الأستاذ المشرف أحيل هذه الرسالة إلى لجنة المناقشة لدراساتها وبيان الرأي فيها.

التوقيع:

الاسم: أ.م. د. زاهد سعدون عزيز.

اللقب العلمي: أستاذ مساعد.

التاريخ 2019 / 9 / 12

الخلاصة Summary

أجريت هذه الدراسة في مختبرات قسم علوم الحياة / كلية العلوم / جامعة ميسان وهدفت الى استخلاص مواد الايض الثانوي لتسعة فطريات صائدة للنيماطود وتقييم فعاليتها وهي *Arthrotrrys conoides* و *A. oligospora* و *A. microscaphoides* و *A. eudermata* و *A. cookedickinson* و *A. rutgeriense* و *A. thaumasia* و *Clonostachys rosea* و *Drechlerella brochopaga* (تم الحصول عليها من مختبر الفطريات / كلية العلوم / جامعة ميسان) وتم تنشيطها على وسط اكار خلاصة الذرة (Corn Meal Agar) ثم نميت في وسط خلاصة الذرة السائل (Corn Meal Broth) لاستخلاص هذه المركبات ، وتم اختبار فعاليتها ضد ميكروبية تجاه خمسة أنواع من البكتيريا المرضية بطريقة انتشار الإقرص على الوسط الصلب (*Escherichia coli* و *Proteus vulagaris* و *Serratia marcesens* و *Staphylococcus aureus* و *Pseudomonas aeruginosa*) ، ووجد ان فعاليتها ضد بكتيرية كانت منخفضة وأظهر الفطر *A. oligospora* اعلى قيمة تثبيطية بلغت 12.5 ملم.

وجد من خلال دراسة تأثير قيم مختلفة من الـpH على نمو الفطريات الصائدة للنيماطود في المزارع السائلة ان افضل قيمة للـpH هي 5 حيث بلغ معدل الكتلة الحية 10.21غم عند الوزن الطري و0.61غم عند الوزن الجاف ، ووجد عند دراسة تأثير هذه القيم على الفعالية ضد بكتيرية ان هناك زيادة معنوية في اقطار التثبيط.

اشارت نتائج الدراسة الى ان اضافة راشح الفطر *Trichoderma harzianum* بتركيز 10% الى المزارع السائلة للفطريات المختبرة أدى الى زيادة في الكتلة الحية لها ، اما اضافة التركيزين 20 و30% فقد أدى الى خفض الوزن الطري والجاف بالمقارنة مع معاملة السيطره عدا الفطر *A. oligospora* ، كما أدى إضافة تركيز 10% من راشح الفطر *T. harzianum* الى تحسن بالفعالية التثبيطية تجاه البكتيريا المختبرة حيث وجد ان مستخلص الفطر *A. microscaphoides* أظهر فعالية تثبيطية تجاه جميع أنواع البكتيريا المختبرة، كذلك أظهر مستخلص الفطريات *A. thaumasia* ، *A. cookedichinson* ، *A. rutgeriense* فعالية تثبيطية تجاه البكتيريا المختبرة عند التركيزين 10 و20% ، ولم تظهر أي فعالية تثبيطية عند التركيز 30% ، كما لوحظ من خلال الاختبار ان مستخلص الفطر *A. oligospora* أظهر فعالية تثبيطية تجاه البكتيريا *P. vulagaris* عند إضافة تركيز 10 و 20 و 30% من راشح الفطر *T. harzianum*.

بينت النتائج أن إضافة راشح البكتيريا *P. aeruginosa* بتركيز 10% أدى الى زيادة ملحوظة في الكتلة الحية للفطريات حيث لوحظ وجود فرق معنوي بين الوزن الطري (11.82غم) و الجاف(1.048غم) ومعاملة السيطرة (1.73غم ، 0.081غم) ، في حين أدى إضافة التركيزين 20 و30% الى تثبيط نمو الفطريات المختبرة

في الراشح. كما لوحظ ان إضافة تركيز 10% أدى الى تحسين الفعالية التثبيطية بصورة ملحوظة حيث كانت الفعالية ضد ميكروبية تختلف باختلاف أنواع الفطريات ، فوجد أنه أعلى فعالية تثبيطية كانت للفطر *C. rosea* تجاه البكتيريا *S. marcesens* بقطر تثبيط بلغ 23.12 ملم. كذلك أظهر الفطرين *A.eudermata* و *A.conoides* فعالية تثبيطيه تجاه البكتيريا *S marcesens* بقطر تثبيط بلغ 14.52 و 15.33 ملم على التوالي والبكتيريا *E.coli* بقطر تثبيط بلغ 15.15 و 13.15 ملم لكل منهما على التوالي.

أظهرت رواشح الفطريات الصائدة للنيما تود المختبرة تأثير واضح على يرقات الطور الثاني للنيما تود ثأليل الحنطة *Anguina tritici* حيث بلغ معدل قتل اليرقات 82.67% خلال 72 ساعة.

أوضح التحليل الكيميائي للأبيض الثانوية للفطريات الصائدة للنيما تود المختبرة أن جميعها قادرة على إنتاج الفلويديات، في حين كانت الفينولات متواجدة فقط في رواشح الفطريات *A. conoides*، *A. eudermata*، *C. rosea*، *D. brochopaga*، اما الصابونيات فقد كانت متواجدة في رواشح الفطرين *A. conoides* و *C. rosea*. بينما لوحظ أن جميع الفطريات المختبرة ليس لها القابلية على انتاج التانينات و الفلافونيدات والستيرويدات.

أظهرت نتائج الدراسة ان لراشح الفطريات الصائدة للنيما تود المختبرة المعقم وغير المعقم تأثير في نسبة انبات بذور الباميا *Abelmoschus esculentus* و على معدل طول أنبوب الانبات فيها ، فقد وجد ان إضافة الراشح الفطري بنوعيه أدى الى زيادة نسبة الانبات بشكل ملحوظ مقارنة بمعاملة السيطرة ، بلغت نسبة الانبات للبدور 80% في الراشحين مقارنة بمعاملة السيطرة التي بلغت 35% خلال 7 أيام ، علما ان رواشح الفطريات غير المعقم أظهر زيادة في معدل طول أنبوب الانبات افضل من الراشح المعقم عدا الفطريات *A.microscaphoides* و *A.thaumasia* و *A.cookedichinson* اظهرت معدل نمو افضل عند استخدام الراشح المعقم ، كما اشارت نتائج الدراسة إلى ان للفطريات الصائدة للنيما تود تأثير على نسبة انبات بذور الباميا وطول أنبوب الانبات فيها على وسط *Corn Meal Agar* حيث أظهرت القدرة على تقليل الفترة الزمنية للإنبات وزيادة معدل طول أنبوب الانبات مقارنة بمعاملة السيطرة، حيث بلغت نسبة الانبات 100% مقارنة بمعاملة السيطرة التي بلغت نسبة الانبات فيها 66.66%، وبلغ معدل طول أنبوب الانبات 6.1 سم مقارنة بمعاملة السيطرة التي بلغ معدل طول أنبوب الانبات فيها 2.08 سم.

وجد ان الفطريات الصائدة للنيما تود لها القدرة على انتاج انزيمي *Proteinase* و *Chitinase* في المزارع السائلة، كما لوحظ اختلاف قيم الفعالية الأنزيمية باختلاف أنواع الفطريات. من خلال دراسة تأثير درجات الحرارة على الفعالية الأنزيمية لهذين الانزيمين لوحظ عدم وجود فرق معنوي بين درجتي حرارة 40

و37 م لتقييم الفعالية الانزيمية لإنزيم البروتينيز في حين كانت درجة الحرارة المثلى للفعالية الانزيمية لإنزيم الكايتينيز هي 37 م.

أشارت النتائج إلى أن الفطريات *A.thaumasia* و *A.microscaphoides* و *A.cookedichinson* و *C.rosea* لها قابلية عالية على تكسير النفط الخام بلغت من 70-75% ، في حين أظهرت الفطريات *A.eudermata* و *A.oligospora* و *A.rutgeriense* و *D.brochopaga* قابلية متوسطة على التكسير الحيوي بلغت من 25-30%، بينما لم يظهر الفطر *A.conoides* أي قابلية واضحة على تكسير المركبات النفطية بعد سبعة أيام . كما أختبرت قدرتها على النمو وتكوين الكتلة الحية بعد مرور 30 يوم وبينت النتائج ان الفطريات المختبرة أظهرت نموا متميزا للخيوط الفطرية في الوسط السائل الحاوي على النفط الخام وكانت الكتلة الحيوية للخيوط الفطرية تزداد بمرور الوقت وبصورة متفاوتة بين الأنواع، كما لوحظ انخفاض قيمة الـpH في الوسط السائل ما بين 6.4-6.2 في نهاية فترة الحضانة بالمقارنة مع بدايتها حيث كانت قيمة الـpH 7.1

أستخدم جهاز GC-MS لتشخيص المركبات الفعالة الموجودة في مستخلصات الرواشح الفطرية و لوحظ أن للفطريات المختبرة قابلية على إنتاج العديد من المركبات الكيميائية، وكانت أغلب المركبات المنتجة كأبيض ثانوي هي احماض دهنية بعضها مشبعة وبعضها غير مشبعة، كما وجد ان جميع الفطريات المختبرة تشترك في انتاج المركبات (Z)-، eicosyl ester, 9-Hexadecenoic acid, و Diethyl phthalate و Phthalic acid, ethyl isopropyl ester.

الفصل الثاني

استعراض المراجع

Literature Review

2- استعراض المراجع

1-2 الفطريات المهلكة للديدان الثعبانية *Nematophagous fungi*

بسبب تنوع الكائنات الحية الدقيقة المتواجدة في التربة وارتباطها مع بعضها البعض بعلاقات احيائية مختلفة مثل التطفل (Parasitism) والافتراس (Predation) والتكافل (Symbiosis)، لذلك تعيش الاحياء الدقيقة بما فيها الفطريات وغيرها في مجموعات متداخلة كثيرة الاعداد في التربة، تعد الفطريات من الكائنات الدقيقة التي لها علاقات متعددة بينها وبين الكائنات الحية الأخرى خصوصا العلاقة الموجودة بين الفطريات والديدان الثعبانية (Campos *et al.*, ; Lopez-Llorca *et al.*, 2006). (2017).

تعرف الفطريات المهلكة للديدان الثعبانية (*Nematophagous fungi*) بانها كائنات حية دقيقة أغلبها اختيارية التطفل (Facultative Parasites) ترتبط مع الديدان الثعبانية بعلاقتي الافتراس والتطفل وهذه الفطريات تمتلك القدرة على مهاجمة الديدان الثعبانية الحية واصطيادها وقتلها وهضم محتوياتها وفي جميع مراحل حياتها (Herrera-Estrella *et al.*, 2016)، يمكن أن توجد بطور رمي (Saprophytic phase) وطور متطفل أو مفترس (Parasitic or Predaceous phase) يحفز بعوامل حياتية ولا حياتية (Jansson and Lopez-Llorca, 2004).

تعيش هذه الفطريات مترمة في الظروف الطبيعية، لكنها تلجأ إلى التطفل والافتراس وبالتالي التغذية على الديدان الثعبانية في ظل ظروف غذائية غير ملائمة (Campos, 2017). تعد هذه الفطريات أعداء طبيعية للديدان الثعبانية طورت استراتيجيات معقدة للغاية لغرض اصطياد أو إصابة الديدان الثعبانية (Degenkolb and Vilcinskas, 2016 ; Braga and Araujo, 2014).

تعد الفطريات المهلكة للديدان الثعبانية من الكائنات المستوطنة في التربة وقد عزلت من مختلف بيئات التربة، عزلت أنواع منها من التربة الصحراوية الجافة والرمال الساحلية، ووجد أنها تتواجد في المناطق الاستوائية وحتى في المناطق القطبية، الا أن غالبية الدراسات تؤكد على أن هذه الفطريات شائعة الانتشار في المناطق الزراعية كالحقول والبساتين وعلى المواد العضوية المتحللة وفي تربة الغابات (Liu *et al.*, 2009).

بصورة عامة يزداد أنتشار هذه الفطريات في التربة الغنية بالمواد العضوية، وتعد المنطقة المحيطة بالجذور (Rhizosphere) موطناً لفعاليات الكثير من الاحياء الجهرية والكائنات الصغيرة ومنها الفطريات المهلكة للديدان الثعبانية بسبب وجود المغذيات والمواد الموجودة فيها، وتمتلك هذه الفطريات

وسائل وأساليب تمكنها من البقاء والاستمرار أطول فترة ممكنة، من ضمنها أدوات الاصطياد
(Moosavi and Askary , 2015)

تمت دراسة تأثير رطوبة التربة، والمواد العضوية، ودرجة الحموضة وكثافة الديدان الثعبانية على توزيع الفطريات المهلكة للديدان الثعبانية وتوزيعها اعتمادا على طرق معيشتها في التربة في 206 عينة من التربة، لوحظ أن الفطريات الصائدة هي المسيطرة في المادة العضوية وأن وجود الفطريات المتطفلة اجباريا يرتبط بالكثافة العالية للديدان الثعبانية في التربة بينما كانت الفطريات اختيارية التطفل مستقلة عن كثافة الديدان الثعبانية (Askary, 2015).

في دراسة أجريت في كوريا الجنوبية في أربعة مواقع مختلفة هي الجبال، المرتفعات، حقول الأرز والبيوت الزجاجية، وتم العثور على أعلى نسبة (95%) من الفطريات المهلكة للديدان الثعبانية في البيوت الزجاجية والمرتفعات. وكان النوع الأكثر شيوعا *A. oligospora* (Kim et al., 2001).

يوجد حوالي أكثر من 700 نوع من الفطريات المهلكة للديدان الثعبانية منتشرة في مختلف أنحاء العالم، وهذه الأنواع تصنف ضمن المجاميع الفطرية الرئيسية (Li et al., 2015).

قُسمت الفطريات المهلكة للديدان الثعبانية إلى أربع مجموعات اعتمادا على طريقة مهاجمة الديدان الثعبانية، هي:

1. الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية Nematode-Trapping Fungi
2. الفطريات المتطفلة داخليا Endoparasitic Fungi
3. الفطريات المتطفلة على بيوض واناث الديدان الثعبانية Egg- and Female-Parasitic
4. الفطريات المنتجة للسموم Toxin Producing Fungi

ووجد أنه في جميع المجموعات الأربع من هذه الفطريات ناتج التطفل على الديدان الثعبانية هو هضمها بالكامل وتزويد الفطريات بالمواد المغذية والطاقة للنمو المستمر (Lopez-Llorca et al., 2007).

2-2 الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية Nematode-trapping fungi

مجموعة من الفطريات تمتلك قدرة على اصطياد الديدان الثعبانية بواسطة أدوات تكونها على خيوطها الفطرية حيث تنتج تراكيب خاصة وهذه التراكيب بعضها مغطاة بمادة لاصقة وبعضها غير مغطاة تستخدمها لاصطياد الديدان الثعبانية ليتم بعد ذلك اختراقها والنمو داخلها (Swe et al., 2011).

تنمو هذه الفطريات بصوره مترممة في التربة مستخدمة المواد العضوية كمادة أساس، تدخل مرحلة التطفل بتكوين تراكيب خاصة تدعى المصائد (traps) مثل الشباك اللاصقة والعقد اللاصقة عن طريقها تستطيع اصطياد الديدان الثعبانية، تعد هذه الديدان مصدراً غذائياً إضافياً غنياً بالنيروجين (Tholander, 2007).

أن قابلية الاصياد لدى الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية تعطيها ميزة تنافسية على العديد من الفطريات المترممة الأخرى التي تنمو في بيئات تتميز بانخفاض مستويات النيتروجين (Barron, 1992). اعتبر Tholander (2007) الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية هي أفضل مجموعة معروفة بين الفطريات المهلكة للديدان الثعبانية بسبب تكيفاتها الشكلية الرائعة وطريقة اصطيادها الفعالة للديدان الثعبانية. وقد قام Dijksterhuis *et al.* (1994) بدراسة مفصلة لميكانيكية الاصياد في هذه الفطريات.

أثبتت الفطريات أنها أكثر فاعلية ضد الديدان الثعبانية وربما كانت تؤثر على يرقات مجموعات الديدان الخيطية من خلال تكوين المصائد التي تصطاد بها اليرقات وتحلل جدارها وتستهلك المحتوى الداخلي لها (Lafta and Kasim, 2019). ووجد أن الفطريات التي تتطفل وتستهلك الديدان الثعبانية في التربة تلعب دوراً رئيسياً في إعادة تدوير الكربون والنيتروجين والعناصر المهمة الأخرى (Askary, 2015).

الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية لها إمكانيات كبيرة في المكافحة البيولوجية للديدان الثعبانية لكونها تعد مفترسات طبيعية لها، وأجريت الكثير من الدراسات المكثفة حول تشخيصها وتصنيفها وتطورها، واستخدامها في السيطرة الحيوية وقابليتها على إنتاج الكثير من الايوض الثانوية مثل المضادات الحياتية ومثبطات الديدان الثعبانية منها (Juan *et al.*, 2008 ; Schroers *et al.*, 1999 ; Yu *et al.*, 2014 ; الرحيموي، 2019).

هناك العديد من العوامل التي تؤثر على النمو الشعاعي والنشاط الافتراضي للفطريات الصائدة للديدان الثعبانية منها درجة الحرارة ودرجة الحموضة (pH)، بسبب اهمية الدالة الحامضية للوسط حيث تؤثر على توافر المعادن ونشاط الأنزيم ووظيفة الغشاء لذلك تُغير الفطريات بصورة عامة ومن ضمنها الصائدة للديدان الثعبانية درجة الحموضة لبيئتها أثناء نموها، تنمو الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية في الأوساط ذات درجات حموضة تتراوح بين 5-11 لكنها تفضل درجات حموضة تتراوح بين 5.5-7 (Fernandez *et al.*, 1999 ; قاسم، 1997).

يمكن للفطريات أن تتلائم بشكل طبيعي مع درجة حرارة البيئة التي تؤخذ منها. غير أن استجاباتها لدرجات الحرارة متنوعة تماماً، وعادة ما يرتبط النمو الفعال بنطاق محدود من درجات الحرارة، وتبقى العديد من الفطريات على قيد الحياة لفترات طويلة في درجات حرارة غير مناسبة للنمو، كما تؤثر درجة الحرارة على وقت التأقلم ومعدل النمو المحدد. تنمو الفطريات الصائفة للديدان الثعبانية بدرجات حرارة تتراوح بين 10-30 م°، أشارت العديد من الدراسات إلى أن الغالبية العظمى من الفطريات الصائفة للديدان الثعبانية تظهر أفضل نمو تحت درجة حرارة 25 م° (Fernandez *et al.*, 1999). وفي دراسة اجراها قاسم (1997) لاحظ أن أفضل درجة لنمو الفطريات الصائفة للديدان الثعبانية وتكوين كونيدياتها هي 25 م° وأشار إلى عدم حدوث نمو عند درجة حرارة 40 م° ولاحظ أن الفطريات الصائفة للديدان الثعبانية لا تكون كونيديات عند حضانها بدرجتي حرارة 15 و 30 م° على الرغم من وجود نمو فطري لها.

يرتبط توزيع وانتشار أنواع الفطريات الصائفة الديدان الثعبانية بعوامل التربة ولا سيما درجة الحموضة والرطوبة والمغذيات كالنيتروجين والفسفور والبوتاسيوم والمعادن الثقيلة وكثافة الديدان الثعبانية (Mo *et al.*, 2008). ذكر Gray (1988) أن العناصر الغذائية المتواجدة في التربة مثل N و P و K كانت مرتبطة بشكل إيجابي بكثافة الديدان الثعبانية إذ تم عزل *Drechlerella* و *Dactylellina* بسهولة أكبر من التربة الغنية بالديدان الثعبانية. كذلك وجد Mo *et al.* (2008) أن تنوع الفطريات الصائفة الديدان الثعبانية كان مرتبطاً مع الرصاص بتركيز معينة. تم تسجيل نسبة عالية من الفطريات الصائفة للديدان الثعبانية ضمن منطقة الرايزوسفير (Rhizosphere) (قاسم، 1997؛ McSorley *et al.*, 2006).

3-2 منتجات الايض في الفطريات الصائفة للديدان الثعبانية (Metabolites) (Produced by Nematophagous Fungi)

لا تزال منتجات الايض الثانوي للفطريات الصائفة للديدان الثعبانية قيد الاكتشاف إذ لم يتم إجراء الكثير من الدراسات للكشف عن هذه المركبات الايضية في الفطريات الصائفة للديدان الثعبانية أو مركبات الايض القاتلة أو المثبطة للديدان الثعبانية (Nematicidal) في الفطريات الأخرى.

تنتج بعض اجناس الفطريات الصائفة للديدان الثعبانية وخصوصاً أنواع الجنس *Arthrobotrys* العديد من المضادات الحياتية التي تم تشخيصها منها Oligosporon ، Oligosporol ، 4',5'

المضادات الحيوية قدرتها كمضادات ضد البكتيرية (Degenkolb and Vilcinskas, 2016). وأظهرت هذه (Li et al, 2007) linoleic acid و Oligosporol B، dihydrooligosporon المضادات الحيوية قدرتها كمضادات ضد البكتيرية (Degenkolb and Vilcinskas, 2016).

تحتوي الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية على العديد من الاستراتيجيات للبقاء واصطياد الديدان الثعبانية ، تمتلك هذه الفطريات القدرة على إفراز العديد من المواد بما في ذلك مثبطات الديدان الثعبانية مثل السموم والتي لديها القدرة كمضادات ضد البكتيريا (Liu et al. 2009). اشار الباحث Stadler et al (1993b) إلى قدرة الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية على إنتاج مضادات لها القدرة على تثبيط نمو البكتيريا ، كذلك بين Kasim (2016) ان الفطريات *A. oligospora* و *A. dactyloides* و *D. brochopaga* لها القدرة على إفراز المواد التي حالت دون نمو البكتيريا. واكد Degenkolb and Vilcinskas (2016) أن الفطر *A. oligospora* ينتج العديد من المركبات الايضية ، بما في ذلك ثلاث زيوت عديمة اللون هي: Oligosporon ، Oligosporol A و Oligosporol B ، وذكر Niu and Zhang (2011) أن هذه المركبات تكون غير متطايرة وتُظهر العديد من الأنشطة البيولوجية بما في ذلك خصائص مضادة للبكتيريا ، ولها دور في التنظيم الذاتي لتكوين Conidiophores واندماج الخيوط الفطرية في *A. oligospora* وأشار إلى أن هذا الفطر (*A. oligospora*) ينتج مجموعات عديدة و متنوعة من مركبات الايض الثانوي هي: Polyketides و Benzenoids و Terpenoids. كذلك وجد Anke et al. (1995) أن الفطريات *A. conoides* و *A. dactyloides* و *D. brochopaga* ايضا لديها القدرة على إنتاج المركبات نفسها. استعرض Degenkolb and Vilcinskas (2016) 179 مركب بالتفصيل من عدة مجموعات كيميائية مختلفة والتي كانت معزولة اساسا من الفطريات الكيسية والبازيدية.

مركبات الايض الثانوي المنتجة من الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية، أما تساعد على اصطياد الديدان الثعبانية وقتلها، أو تعمل على تنظيم عملية تكوين المصائد (han et al., 2010). يُعد Linoleic acid المركب الأساسي للنشاط حيويًا في العديد من الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية ، وتم الحصول عليه من المزارع السائلة للفطر *A. conoides* ، وأشار (Stadler et al., 1993a) إلى أن عدد المصائد الثلاثية الأبعاد التي تشكلها الفطريات كان مرتبطاً بشكل إيجابي بكمية حامض Linoleic المنتج.

تنتج العديد من الاحياء الدقيقة ومن ضمنها الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية أنواع عديدة من الأنزيمات أثناء النمو، حيث تستطيع إفراز عدة أنزيمات خارج الخلية تساعدها في مهاجمة مضائفها، أن التركيب الكيميائي لسطح المضيف له أهمية بالنسبة للأنزيمات المحللة التي تشارك في الإصابة (Zhang and Hyde, 2014 ; Tunlid and Jansson, 1991).

استعملت الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية كعوامل مكافحة إحيائية ضد الديدان الثعبانية، (Yuen *et al.*, 2018). فهي تكون أدوات خاصة (Traps) تستطيع بواسطتها اصطياد الديدان الثعبانية وهضمها عن طريق إفراز أنزيمات محللة (Barron, 2003) . عملية إفراز الانزيمات المحللة التي تقوم بها الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية لها دور في إصابة الديدان الثعبانية حيث تعمل على اختراق جدار الديدان الثعبانية الذي يكون عبارة عن هيكل مرن متكون من مادة الكيوتكل، التي تتألف بصورة رئيسية من البروتينات بما في ذلك الكولاجين (Collagen) مع كميات قليلة من الدهون والكاربوهيدرات (Maizels *et al.*, 1993) ، حيث أشار Huang *et al* (2004) إلى أن أولى خطوات اصطياد وقتل الديدان الثعبانية هو اختراق جدارها بفعل العمل المشترك بين النشاط الميكانيكي والانزيمات المحللة لذلك إفراز انزيمي بروتين السيرين والكابتينيز بالإضافة إلى انزيمات أخرى يمكن أن تحطم جدار الديدان الثعبانية و تساعد في عملية الاختراق (Liang *et al.*, 2011).

اشارت الدراسات إلى قدره الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية على إنتاج أنزيمات محللة خارج خلوية منها:

1. أنزيم البروتيز (Protease Enzyme)

هو أنزيم مسؤول عن تكسير أو تحطيم البروتين ويتم ذلك بكسر الأواصر الببتيدية. كشفت عدة دراسات عن قدرة الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية على إنتاج أنزيم بروتين السيرين (Zhang and Hyde, 2014). تمت الإشارة الى انتاج هذا الأنزيم لأول مرة من قبل الفطر *Pochonia rubescens* (Lopez-Llorca, 1990).

أشار Tunlid and Jansson (1991) إلى قدره الفطر *A. oligospora* على إنتاج أنزيم بروتين السيرين خارج الخلية عند تنميته في المزرعة السائلة، وأشار إلى أن هذا الأنزيم يشارك في تحطيم طبقة الكيوتكل للديدان الثعبانية، في حين كشف Liang *et al.* (2011) عن قدرة الفطر *Clonostachys rosea* على إنتاج هذا الأنزيم، كما اشار Wang *et al.* (2006) إلى قدرة الفطر *A. microscaphoides* على إنتاج بروتين السيرين. كما أن العديد من الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية تنتج أنزيم Serine protease في المزارع السائلة منها *A. oligospora* و *A. microscaphoides* و *A. conoides* و *C. rosea* و *A. thaumasia* (Zhang and Hyde, 2014).

2. أنزيم الكايتينيز (Chitinase Enzyme)

يعرف الكايتين (Chitin) بأنه: عبارة عن مركب متعدد السكريات موجود في جدران خلايا الفطريات وفي الهياكل الخارجية لللافقاريات. وهو مركب مهم في الطبقة الوسطى من قشر البيض في الديدان الثعبانية (Bird and Self, 1995). أن أنزيمات الكايتينيز الفطرية هي أنزيمات مهمة ضرورية لنمو الخيوط الفطرية، كما يتم إنتاجها من قبل الفطريات كمضادات تجاه الفطريات المتطفلة (Zhang and Hyde, 2014 ; Tikhonov *et al.*, 2002). كما يتم إنتاج هذا الأنزيم من قبل الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية وقد ثبت أنها تشارك في إصابة الديدان الثعبانية (قاسم وآخرون، 2009a ; Zhang and Hyde, 2014).

3. أنزيم الكولاجينيز (Collagenase Enzyme)

عبارة عن أنزيم يحفز تحلل الكولاجين والجيلاتين (Yang *et al.*, 2007). تتكون طبقة البشرة في الديدان الثعبانية من مادة الكيوتكل، والتي تتكون من بروتين وكولاجين بصورة رئيسية، يعتبر الكولاجين من بين أكثر البروتينات تعقيداً ويتحلل ببطء في التربة (Herrera-Estrella *et al.*, 2016)، لذلك يلعب هذا الأنزيم الذي تنتجه الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية دوراً مهماً في اصطياد الديدان الثعبانية لأنه يسهل عملية اختراق طبقة الكيوتكل المحيطة بالديدان الثعبانية (Tunlid *et al.*, 1994 ; Dackman *et al.*, 1992).

أشار Tosi *et al.* (2001) إلى قدرة أنواع الفطر *Arthrobotrys spp.* على إنتاج أنزيم الكولاجينيز ولاحظ أن جميع أنواع *Arthrobotrys* التي تم فحصها تنتج هذا الأنزيم. ومع ذلك، فإن الدراسات على إنتاج هذا الأنزيم من قبل الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية نادرة نسبياً (Tosi *et al.*, 2001 ; Schenck *et al.*, 1980).

تُشير دراسات عديدة إلى أن هناك أنزيمات محللة أخرى تتدخل في اصطياد وهضم الفطريات للديدان الثعبانية. فقد لاحظ قاسم (2006) قدرة الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية على إنتاج أنزيم Lipase و Amylase بالإضافة إلى Protease، وهذه الأنزيمات جميعها شخّصت بأنها خارج خلوية (Yang *et al.*, 2007 ; قاسم وآخرون، 2009a). وأشار Barron (2003) أن بعض أنواع هذه المجموعة لها القابلية على إفراز السليوليز (Cellulase) واللكنيز (Lignase)، ولوحظ أيضاً أن بعض

هذه الفطريات لها القابلية على افراز أنزيمات أخرى منها انزيم Acid phosphatase وانزيم phospholipase (Cruz et al., 2009 ; قاسم وآخرون، 2009a).

أن انتاج هذه الانزيمات تعد عوامل ضراوة للفطريات المهلكة ومن ضمنها الصائدة للديدان الثعبانية (Lopez-Llorca and Carbonell, 1999) تستطيع من خلالها اختراق طبقة الكيوتكل للديدان الثعبانية لاستهلاك محتوياتها الداخلية. فقد لوحظ أن سمك الكايتين الأساسي يتأثر بفعل العمل المشترك بين الكايتينيز والبروتيز ويؤدي ذلك إلى انهيار قشرة البيوض وينتج عن ذلك تثبيط فقس البيوض ، وكذلك موت يرقات الطور الثاني لديدان العقد الجذرية (Tikhonov et al., 2002) ، كما اكد Dababat et al. (2006) أن آلية التطفل المباشر على الديدان الثعبانية ناتجة عن إفراز انزيمات مختلفة مثل البروتيز والكايتينيز التي تحلل كآيتين قشرة بيوض الديدان الثعبانية ويرقات الطور الثاني لدخول هايفات الفطر ليتغذى ويتكاثر داخلها، كذلك لوحظ من خلال المجهر الالكتروني Scanning Electron Microscope (SEM) حدوث تغيرات شديدة في البيوض عند تعرضه لراشح الفطرين *A. conoides* و *A. oligospora* فقد أظهر انتفاخ وانهيار الخلية بسبب تشققات في طبقات الكايتين، ولوحظ أن الانزيمات المحللة (Hydrolytic enzyme) مسؤولة عن تثبيط البيوض وموت يرقات الطور الثاني للديدان الثعبانية العقد الجذرية (Hajer et al., 2010 ; Lopez-Llorca et al., 2002).

4-2 ديدان تآليل الحنطة *Anguine tritici*

تعد الديدان الثعبانية *A. tritici* من الديدان الثعبانية المتطفلة على النبات (Plant Parasite) Nematode التي تصيب المجموع الخضري لمحصول الحنطة، والتي تكون اجبارية التطفل و عادةً ما تكون تآليل (Galls) على السيقان والأوراق، تسمى هذه الديدان الثعبانية أحيانا بديدان تآليل البذور والأوراق (Seed and gall nematode) أو ديدان تعقد الأوراق والازهار (Leaf and flower nematode) أو اختصارا بديدان تآليل الحنطة (Wheat gall nematode) (الزرري وطرابية، 1981; الدراجي، 2018) . ويتميز الطور الثاني لديدان تآليل الحنطة بقدرته على البقاء في حالة سكون لعشرات السنين تحت الظروف غير الملائمة في محفظة محكمة الاغلاق تدعى التالولة أو العقد البنزيرية (شريف، 2012).

أن أهمية مرض تآليل الحنطة وخطورته تكمن في سرعة أنتشاره من خلال الحبوب المصابة من منطقة إلى أخرى واختلاطها مع السليمة وزراعتها في الموسم التالي إضافة إلى إمكانية بقائها في مرحلة سكون داخل التالولة لمدة طويلة قد تصل إلى ثلاثين عاماً (الحازمي، 2009 ; الدراجي، 2018) .

تصيب هذه الديدان الثعبانية (*A. tritici*) نبات الحنطة وتسبب أضرار سلبية على النمو مما يؤدي إلى ضعف النباتات نتيجة لتغذيتها المباشرة عليها، كما تحدث تقزماً للنبات وزيادة التفرع وتشوه السنبل (Evans *et al.*, 1993). بلغت نسبة الإصابة بمرض ثآليل الحنطة في جنوب العراق وفي محافظة ميسان تحديداً خلال المواسم 2015 و2016 و2017 حوالي 0.48 و 32.74 و 26.73% على التوالي وحسب إحصائية الشركة العراقية لإنتاج البذور (الدراجي، 2018).

استخدمت الطرق الكيميائية والأكثر فاعلية في القضاء على الديدان الثعبانية المتطفلة على النبات ولكنها ليست صديقة للبيئة وقد تسبب في الوقت نفسه تهديد خطير للتوازن البيئي، لذلك هناك حاجة ماسة إلى البحث عن طرق صديقة للبيئة وتستطيع السيطرة على الديدان الثعبانية لتجنب السمية الشديدة للمبيدات، لذلك تجذب عوامل المكافحة البيولوجية الفطرية اهتماماً كبيراً كبديل مناسب للتحكم الكيميائي في الديدان الثعبانية النباتية (Kalele *et al.*, 2010). هناك عدد كبير من الفطريات التي تصيد الديدان الثعبانية أو تفترسها، تلعب الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية دوراً مهماً في السيطرة على الكثافة السكانية للديدان الخيطية في البيئات الطبيعية المختلفة (Li *et al.*, 2015).

أشارت العديد من الدراسات إلى أن المحاصيل الزراعية يمكن أن تصاب بالديدان الثعبانية مما يؤدي إلى حدوث أضرار كبيرة وهذه الأضرار تختلف من حقل إلى آخر، ويعتقد أن سبب هذا الاختلاف يعود إلى وجود الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية التي تعد عدواً طبيعياً للديدان الثعبانية في تربة تلك الحقول التي تعمل على كبح أعداد تلك الديدان (Yuen *et al.*, 2018). وأكد ذلك الباحث Chandrawathani *et al.* (2004) حيث أشار إلى أن وجود هذه الفطريات في التربة أدى إلى انخفاض واضح في أعداد الديدان الثعبانية المتطفلة على النباتات.

تعد الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية من عوامل المكافحة البيولوجية فهي تمتلك تكيفات متخصصة لاصطياد الديدان الثعبانية بوسائل الاصطياد لأنها تعتبر الديدان الثعبانية مصدر غذائي غني بالنيتروجين (Tholander, 2007).

5-2 الفطر *Trichoderma harzianum*

يعد الفطر *Trichoderma* من الفطريات المتواجدة في جميع أنواع التربة، وهو من الفطريات واسعة الانتشار (Intana and Chamswarng, 2007)، اكتشف الجنس *Trichoderma* لأول مرة من قبل الباحث Person عام 1749 معتمداً في ذلك على الطور اللاجنسي الذي عزله من التربة والمواد العضوية (Grondona *et al.*, 1997).

يعود الفطر *Trichoderma spp.* إلى قسم الفطريات الناقصة Deuteromycota وصف
 Hyphomycetes ورتبة Moniliales وعائلة Moniliaceae ،اما طوره الجنسي فيعود إلى قسم
 الفطريات الكيسية Ascomycota ورتبة Hypocreales وعائلة Hypocreaceae وجنس
Hypocrea spp. (Agrios, 1997).

يعد الفطر *Trichoderma spp.* من الفطريات غير الممرضة التي تستوطن منطقة المحيط
 الجذري (Rhizosphere) وتساهم في كبح العديد من مسببات المرضية في تلك المنطقة، ويعد هذا
 الفطر من الفطريات المهمة التي تتصف بعضها بالنمو السريع وسيادته على فطريات التربة إذ يمتلك
 فعالية عالية ضد الفطريات الأخرى ويستطيع تحليل جدران الخلايا والمكونات الأخرى لمرضات
 الجذور بواسطة افراز أنزيمات محللة خارج خلوية مثل Chitinase و Lipase و Cellulase و
Laccase (Zhang and Xia, 2017 ;Burch et al.,2002).

يستعمل الفطر *Trichoderma* على نطاق واسع وله القابلية على إنتاج الانزيمات المرتبطة في
 مكافحة الحيوية (Singh et al., 2015)، كذلك تنتج بعض عزلات الفطر *Trichoderma* الكثير
 من المواد الايضية التي تساعد على النمو منها الاحماض العضوية مثل Citric acid , Fumaric
 acid (Brotman et al., 2010) ، وقد أشار Muhammed et al. (2003) إلى إمكانية استخدام
 المواد الايضية الثانوية المستخلصة من الفطر *Trichoderma spp.* بوصفها عوامل سيطرة حيوية
 لحماية البذور من الإصابة بالفطريات المختلفة في مجال مكافحة الحيوية (Biocontrol).

هناك الكثير من الدراسات التي تشير إلى كفاءة الفطر الاحيائي *T.harzianum* في تثبيط نشاط
 الكثير من مسببات الممرضة من خلال العديد من الآليات ، كذلك دوره في تحفيز المقاومة الجهازية
 في النباتات ضد مسببات الممرضة ويعمل على تحسين نمو النبات وزيادة المحاصيل. يمتلك الفطر
Trichoderma العديد من الآليات منها التنافس (Competition) (Harman,2006) حيث ينافس
 الاحياء المجهرية الموجودة في التربة على الغذاء والمكان بسبب سرعة نموه وامتلاكه كثافة لقاحية كافية
 (Elad and Kapat1999)، ويتنافس مع الكائنات الدقيقة الأخرى على الافرازات الرئيسية
 للجذور (Howell et al.,2000)، كما ينتج العديد من المضادات الحياتية مثل Trichodermine و
 Demadine و Viridene و Gliotoxine و Acetaldehyde (Harman, 2000). ويتصف الفطر
Trichoderma بمقدرته على إنتاج العديد من الأنزيمات منها Chitinase و Xylanase (Harman,)
 (2006).

6-2 بكتيريا *Pseudomonas aeruginosa*

تعد بعض أنواع *Pseudomonas spp.* من مقومات برامج مكافحة الحياتية المهمة في الوقت الراهن نظرا للتفوق الذي أظهرته في مكافحة نشاط العديد من الممرضات (الاسدي، 2009) ومن البكتيريا الممرضة هي بكتيريا *P. aeruginosa* وتعرف بأنها انتهازية، هوائية، سالبة لصبغة كرام، قادرة على إحداث المرض في الأشخاص الذين تكون مناعتهم منخفضة والذين يصابون بأمراض معينة مثل التليف الكيسي (Cystic Fibrosis) والحروق الشديدة والالتهاب الرئوي (Pneumonia). على الرغم من وجود بكتيريا *P. aeruginosa* في الفلورا الطبيعية لدى الإنسان (Lister et al., 2009) إلا أن ضعف الجهاز المناعي للمريض قد يؤدي إلى الإصابة بالأمراض وفي النهاية تهدد الحياة.

تتميز *P. aeruginosa* باستخدام ميكانيكيات فعالة للمقاومة بما في ذلك إمكانية البقاء على الحد الأدنى من البيئة الغذائية (Lister et al., 2009)، ونفاذية جدارها الخلوي تكون منخفضة، وكذلك قدرتها على اكتساب آليات مقاومة جديدة بسرعة من خلال الطفرات أو من البكتيريا الأخرى. لذلك، أصبح هذا الوضع الدقيق مشكلة لصحة الإنسان (Kalmoni, 2017)

تنتج بكتيريا *P. aeruginosa* العديد من عوامل الضراوة بما في ذلك الاهداب (Type 4) والسكريات الدهنية Lipopolysaccharides، بالإضافة الى عوامل ضراوة أخرى مثل أنتاج أنزيمات البروتيز (Proteases) القادرة على تعطيل تركيب البروتين في الخلية المضيفة وأنزيمات اللايباز (Lipases) التي تستهدف أغشية الخلايا (Gellatly and Hancock, 2013).

استعملت هذه البكتيريا مؤخرا في تثبيط نمو الفطريات الممرضة حيث أشار Kousser et al. (2019) إلى قدرة هذه البكتيريا على تقليل نمو ابواغ الفطر الممرض *Rhizopus spp* عن طريق عزل ايونات الحديد الحرة ومنع ايصالها للفطر بواسطة أنتاج جزيئات تسمى خالبات الحديد (Siderophores) (Ballou and Wilson, 2016 ; Ibrahim et al., 2008).

7-2 نبات الباميا (*Abelmoschus esculentus*)

تُعد الباميا (*A. esculentus*) من اهم محاصيل الخضر الصيفية في العراق والتي تتميز عن بقية المحاصيل الأخرى بأن ثمارها مرغوبة بدرجة كبيرة لدى سكان العراق، تتميز ثمار الباميا بأنها غنية ببعض العناصر الغذائية كالكالسيوم والمغنسيوم والفسفور كما أنها تحتوي على بعض الفيتامينات بنسب

متوسطة مثل فيتامين B₁ و B₂ وفيتامين C و A وتحتوي بذورها الناضجة على 20% زيت قابل للأكل (مطلوب وآخرون ، 1989) .

لكون الباميا تحتاج إلى درجات حرارة مرتفعة ورطوبة لتمكنو مما يجعلها عرضة للآفات ومسببات الأمراض (Randhawa et al., 2007) حيث تصاب الباميا بآفات عديدة منها الحُلم والحشرات ومنها مرض تعقد الجذور الذي تسببه الديدان الثعبانية *Meloidogyne*. لقد استعملت المبيدات الكيماوية كثيرا في مكافحة الديدان الثعبانية المسببة لمرض تعقد الجذور، ونظرا لظهور حالات التلوث البيئي باستخدام المبيدات الكيماوية فقد استعملت مبيدات اقل سمية على الصحة العامة و اقل تلوث للبيئة بالإضافة إلى الاستفادة من العوامل الاحيائية الموجودة كأفراد ضمن النظام البيئي باستخدامها كبدائل عن المبيدات الكيماوية، فأدخلت المكافحة الاحيائية باستخدام الفطريات المهلكة للديدان الثعبانية وخصوصا *A.irregularis* و *Paecilomyces lilacinus* والتي تعد من اقدم واكثر الفطريات المستخدمة في مكافحة هذه الآفة (Whitehead, 1998).

تتواجد العديد من الفطريات الصائفة للديدان الثعبانية في التربة كفطريات داخلية مع الجذر (Plant Endophyte) تكون في حالة تعايش داخلي (Endosymbiont) مع النبات، بحيث يقضي الفطر جزء من دورة حياته في النبات بدون أن يحدث تأثير سلبي على المضيف، وأن وجود الفطريات الداخلية (Endophytes) يؤدي في كثير من الأحيان إلى آثار إيجابية في نمو النبات وتطوره (Zhang and Hyde, 2014).

أن الفطريات المتواجدة في جذور النبات تعمل على إنتاج أنزيم بروتيز السيرين، وبما أن هذا الأنزيم ينتج من قبل الفطريات الصائفة للديدان الثعبانية عند تطفلها عليها. وبالتالي، فإن التعبير عن هذه البروتينات في غياب مضيفها يعني أن النباتات التي استعمرتها هذه الفطريات يمكن حمايتها من هجوم الديدان الثعبانية قبل الاتصال، لذلك فإن النباتات المستعمرة من قبل الفطريات الصائفة للديدان الثعبانية تظهر استجابات دفاعية وكتلة حية محسنة (Lopez-Llorca et al., 2010).

توفر الفطريات الداخلية مجموعة من الفوائد إلى مضيفيها، منها تعزيز نمو النبات، وتحسين عملية امتصاص المعادن من قبل النبات والحد من حالات الإصابة بالأمراض من خلال تحفيز الأنظمة الدفاعية في النبات وتخليق المنتجات المضادة للحيوانات العاشبة (Ray et al., 2016). أشار قاسم (2006) إلى أن العديد من الفطريات الصائفة للديدان الثعبانية منها *A.dactyloides* و *A.oligospora* و *A.superba* لها القابلية على كبح ديدان العقد الجذرية *Meloidogyne sp* المتطفلة على جذور الباميا. ازداد الاهتمام بالفطريات الصائفة للديدان الثعبانية بوصفها عوامل سيطرة حيوية بدلا من الفطريات المتطفلة داخليا، ويعتقد أن سبب ذلك هو معرفة الكثير عن بايولوجيتها وسهولة طرق أنمائها

وأضافتها إلى التربة (قاسم، 2006). ان قدرة الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية على النمو باتجاه جذور النباتات واستعمارها خلايا الجذور وزيادة تواجدها في التربة المحيطة بالجذور يزيد من فعالية هذه الفطريات في استعمالها كعوامل سيطرة حيوية ضد الديدان الثعبانية لكون ديدان العقد الجذرية تهاجم الجذور (Bordallo *et al.*, 2002 ; قاسم وآخرون، 2009 b).

2-8 قابلية الفطريات على تكسير النفط الخام

يُعد النفط الخام أحد أهم مصادر الطاقة في العالم. يتم استعماله كمادة خام في العديد من الصناعات، بما في ذلك صناعة التكرير والبتروكيماويات، كما تستخدم المنتجات المشتقة من النفط بشكل شائع في العديد من العمليات الكيميائية الأخرى (Marchand *et al.*, 2017).

عرف Santos *et al.* (2014) النفط الخام بأنه: عبارة عن خليط معقد من المركبات العضوية أساساً من الهيدروكربونات العطرية متعددة البرافين والأوليفين والحلقات. هذه المواد الهيدروكربونية تشكل خطراً على الكائنات الحية حيث تعد الهيدروكربونات النفطية لاسيما الأروماتية المتعددة الحلقات من الملوثات البيئية الخطيرة وبسبب طبيعتها الذائبة في الدهون لها من دور في التكبير الحيوي (Biomagnification) من خلال انتقالها في السلسلة الغذائية فضلاً عن سميتها للأحياء وانها تمتلك خصائص مطفرة (Mutagenic) ومسرطنة (carcinogenic) وصفاتها الكيماوية والفيزيائية المعقدة التي تجعل منها مواد صعبة التحليل بفعل الاحياء المجهرية (Kanaly and Harayama, 2000).

غالباً ما تؤدي مشكلات تلوث التربة بالهيدروكربونات البترولية إلى انخفاض كبير في جودتها وتصبح هذه التربة غير مفيدة (Azaizeh *et al.*, 2011). أصبحت إزالتها ضرورية وتتوفر طرق عديدة منها الفيزيائية والكيميائية والاحيائية لإزالة هذه الملوثات. (Thapa and Ghimire, 2012)

يعرف التحلل الأحيائي بأنه: عملية يتم بموجبها تقسيم المركبات إلى مكونات أصغر أو تحويلها بالكامل إلى ثاني أكسيد الكربون ومعادن من خلال عمليات أنزيمية (Ormetabolic, Dahan *et al.*, 2017). يعد تحلل التربة الملوثة بالنفط باستعمال قدرة الكائنات الحية الدقيقة على تحطيم و/ أو إزالة السموم واحدة من اهم الطرق الفعالة والاقتصادية والأمنة للبيئة (Clarkson and Abubakar, 2015).

لقد برزت أهمية المعالجة الحيوية Bioremediation خصوصاً نوعها المعروف بالمعالجة الفطرية Mycoremediation حيث حظيت باهتمام المؤسسات العلمية والفنية المعنية بهذا الشأن بوصفها طريقة صديقة للبيئة وعواملها (الفطريات) هي جزء من النظام البيئي وغير مكلفة اقتصادياً فضلاً عن كونها

تزيل الملوثات دون أن تخلف بقايا منها وتفككها إلى نواتجها النهائية الطبيعية في البيئة (Thapa and Ghimire, 2012)، حيث تعمل هذه الفطريات بمختلف أنواعها على تكسير معظم التراكيب النباتية السليلوزية واللكتين وكذلك مدى واسع من المواد العضوية الملوثة للبيئات المائية والأرضية ومن ضمنها النفط الخام ومشتقاته وتحويلها إلى مواد أولية بسيطة من خلال عملية التكسير الحيوي ولذا فهي تلعب دوراً مهماً في عملية تنقية البيئة من الملوثات (Bennett et al., 2002).

تعد الفطريات واحدة من أفضل الكائنات المحطمة للنفط؛ حددت العديد من الدراسات العديد من الأنواع الفطرية القادرة على استعمال النفط الخام كمصدر وحيد للكربون والطاقة (Shraddha et al., 2011)، ومع ذلك يتأثر معدل التحلل الحيوي بعدة عوامل فيزيائية وبيئية مثل المغذيات ونوع التربة ودرجة الحموضة ودرجة الحرارة والرطوبة ونوع الكائنات الحية الدقيقة (Avishai et al., 2017).

استخدمت الفطريات في المعالجة الإحيائية لبعض المركبات الكيميائية الملوثة للبيئة ومن ضمنها النفط الخام ومشتقاته لأنها تمتلك نظاماً أنزيمياً معقداً يزيد من قابليتها على تكسير أو تحويل عدد كبير من الملوثات الخطرة على الإنسان والبيئة، وأهم ما يميز الفطريات لاستعمالها ككائنات فعالة في المعالجة الإحيائية للملوثات هو نموها الخيطي والذي يمكنها من اختراق المادة الأساس بصورة واسعة لتكون بتلامس أكبر مع الملوثات وزيادة تحللها، أن الفطريات بإمكانها العيش على المادة الأساس غير الذاتية فتعمل على تحليلها عن طريق إفراز الإنزيمات خارج الخلية بدلاً من إدخالها إلى داخل خلاياها، إفرازها للإنزيمات خارج خلاياها يمكنها من تحمّل التراكيز العالية من الملوثات السامة وتكسريها أكثر مما لو أدخلت هذه الملوثات إلى داخل الخلايا، كما أن إفراز هذه الإنزيمات لا يعتمد على تركيز المادة الملوثة، وأن عملها يكون غير محدد بنوع واحد من الملوثات وإنما تحلل مدى واسع منها (Stahl and Paszcznski and Crawford, 2000 ; Aust, 1997).

هناك سلسلة من الكائنات الحية تقوم بتحطيم المركبات النفطية فبعض الأحياء المجهرية ومن ضمنها الفطريات لها القدرة على تكسير الألكانات والبعض الآخر يكسر المركبات الحلقية أو الأروماتية، أي لا يوجد كائن مجهري واحد يستطيع تكسير كل الهيدروكربونات النفطية، وإنما التكسير الكامل للمركب العضوي الواحد أو المركبات المختلفة يتم من قبل مجموعة مختلفة من الأحياء، فالفطريات قد تكسر بعض الهيدروكربونات النفطية مباشرة أو أنها تحفز تحليل هذه المركبات بصورة غير مباشرة عن طريق تحويل بعض هذه المركبات إلى شكل آخر تستطيع أحياء أخرى في البيئة مثل البكتيريا والفطريات الأخرى استكمال عملية تحللها (Cerniglia, 1997).

لقد تزايدت الدراسات حول استغلال الاحياء المجهرية التي لها القدرة على استهلاك المركبات الهيدروكاربونية كمصدر وحيد للكربون وللطاقة وتخليص البيئة من هذه الملوثات النفطية ومشتقاتها واستغلال الهيدروكاربونات كوسط زرعى لإنتاج العديد من المواد النافعة كأنتاج البروتين والدهون والفيتامينات والمستحلبات الاحيائية وغيرها.

2-9 الطرق التحليلية في الأيض الفطري

تنتج الفطريات العديد من المركبات الايضية الأولية والثانوية، لذلك يعتبر ابيض اي فطر شديد التعقيد ولا يمكن تحليل هذه المركبات من خلال طريقة تحليلية واحدة، حيث يتم تطبيق طرق متكاملة بهدف تغطية أكبر عدد ممكن من المركبات الكيميائية الحيوية. تعد الجزيئات الصغيرة (الببتيدات والأحماض الأمينية والأحماض النووية والكربوهيدرات والأحماض العضوية والفيتامينات ومتعدد الفينولات ، والقلويات والأنواع غير العضوية) مؤشرات جزيئية حيوية تمثل النمط الظاهري الوظيفي في خلية أو نسيج اي كائن حي ، أصبح الفصل بين هذه الجزيئات الصغيرة وتحديدتها ممكناً بفضل التقدم التكنولوجي في مجال التمثيل الغذائي، لذلك تستخدم تحليلات عالية الدقة للكشف عن مركبات الايض في الفطريات، هناك العديد من التقنيات الحديثة منها High performance liquid chromatography و Nuclear Magnetic Resonance وغيرها والتي بإمكانها أنجاز اكتشاف مركبات الايض في غضون بضعة دقائق (Zhang et al., 2012). ان قياس مثل هذه المركبات منخفضة الوزن الجزيئي يمكن أن توفر رؤى أعمق في آليات عمل هذه الكائنات الحية وقدرتها على البقاء والنمو.

أن لكل تقنية مزايا وعيوب مرتبطة بها. بوضوح، ولا توجد منهجية تحليلية واحدة مثالية لجميع مركبات الايض في النظام البيولوجي، بدلاً من ذلك، هناك حاجة إلى مجموعة من التقنيات لتحليل غالبية هذه المركبات في نطاقات مختلفة. وبالتالي، يمكن استخدام مزيج من التقنيات التحليلية المختلفة لاكتساب منظور واسع للأبيض. ومن التقنيات المستخدمة للكشف عن مركبات الايض في الفطريات:

2-9-1 كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة (TLC) Thin-Layer Chromatography

تعد أول تقنية استعملت في فصل المركبات الكيميائية في عام 1958 بشكل نقي ومنها السموم الفطرية ، ولا يزال يستخدم في المختبرات كتحليل روتيني ، يتم فصل المركبات على شرائح الالمنيوم أو الزجاج المطلية بطبقة رقيقة من هلام السليكا أو أكسيد الالمنيوم ، ويعد تحليل TLC من الاختبارات التي تعتمد على المعايير اللونية التي تشاهد بالعين المجردة لتحديد المركب نوعياً ، تستخدم هذه الطريقة للتقدير النوعي للمركب من خلال حساب معامل الجريان للمركب ، وتتميز هذه التقنية بأنها تقنية سهلة

وسريعة بحيث تعطي معلومات سريعة ووافية حول قطبيه المادة المذابة، تأخذ وقت قصيراً جداً للفصل بحيث لا تحتاج لأكثر من نصف ساعة، لكن من عيوبها أنها لا يمكنها التحسس والكشف عن الكميات القليلة (أقل من 1 ملغم / كغم) (الرحيمي، 2017).

2-9-2 تقنية (HPLC) High performance liquid chromatography

تستعمل هذه التقنية لفصل المركبات وتشخيصها نوعاً وتقديرها كما، وتستعمل لفصل المركبات صعبة التطاير والتي تتأثر بالحرارة حيث تعد الحرارة من المتغيرات التي يمكن التحكم فيها للحصول على كفاءه أكثر للفصل، تتميز هذه التقنية بأنها دقيقة النتائج وتحسس التراكيز الضئيلة جداً وتتم بسرعة عالية، وتعد من الطرق المستخدمة للكشف عن السموم الفطرية (دحماني ومصباح، 2015).
تستخدم هذه التقنية الأشعة فوق البنفسجية، وتعمل على تحليل المركبات غير المتطايرة، من عيوب هذه التقنية أنها مكلفة نسبياً ومعقدة وتحتاج العينة إلى تحضيرات خاصة من تنظيف لكي تكون جاهزة للحقن في عمود الفصل.

3-9-2 Gas Chromatography–Mass Spectrometry Techniques (GC-MS)

تمتلك كروماتوغرافيا الغاز مجال واسع جداً من التطبيقات. ولكن مجال استخدامه الأول والرئيسي هو فصل وتحليل المركبات المتعددة المكونات مثل الزيوت الأساسية والهيدروكربونات والمذيبات، كروماتوغرافيا الغاز يمكن أن يحدد كمي المواد الموجودة بتركيزات منخفضة جداً. وبسبب بساطته وحساسيته وفعاليتها في فصل مكونات المركبات، تعد كروماتوغرافيا الغاز واحدة من أهم التقنيات في الكيمياء. يستخدم على نطاق واسع للتحليل الكمي والنوعي للمركبات، لتتقنية المركبات، ولتحديد العناصر الفعالة في المركبات (Al-Rubaye et al., 2017).

استعملت هذه التقنية للتعرف على المركبات الفعالة وتعد الأكثر استخداماً لدراسة الايض الأولي والثانوي (Hateet, 2017) عادة، تتشارك مركبات الايض في وقت واحد ببعض الخصائص الفيزيائية / الكيميائية أو تنتمي إلى مسارات التمثيل الغذائي ذات الصلة. قد وصفت الفطريات الخيطية لأنتاج مجموعة كبيرة ومتنوعة من مركبات الأيض المتطايرة التي تنتمي إلى الهيدروكربونات المشبعة والكحول والألدهيدات والكيثونات واللاكتونات والاسترات والتيربينويدات. وبالتالي، يمكن تغطية جزء كبير من عمليات التمثيل الغذائي الخاصة بها عن طريق تحليل GC-MS للمركبات العضوية المتطايرة في مستخلصات الزرع السائلة. إلى جانب المركبات العضوية المتطايرة، وأيضاً القطبية، يمكن تحديد مركبات الايض غير المتطاير بواسطة GC-MS بعد الاستخلاص الكيميائي. في مجال علم الأيض، ولا تزال تعد هذه التقنية هي المعيار الذهبي لقياس مركبات الأيض الأولية (Martín et al., 2014).

الفصل الخامس

المصادر

References

1-5 المصادر العربية:

- الأسدي، علي زهير عبد (2009). دراسة تأثير العوامل الحيوية والكيميائية والمستخلصات النباتية على العقد الجذرية في نبات الباميا المتسبب عن *Meloidogyne spp* وإمكانية مكافحتها المتكاملة. كلية الزراعة، جامعة البصرة، 91 صفحة.
- الحازمي، احمد سعد (2009). شرح المصطلحات العلمية في علم النيماتودا النبات: عربي/انجليزي – عربي، النشر العلمي والمطابع، جامعة الملك سعود، الرياض، 440 صفحة.
- حتيت، رشيد رحيم. (2017). تقييم الفعالية الحيوية المضادة لبعض البكتريا المرضية والأكسدة للأبيض الثانوي للفطر *Fusarium solani* المعزول من التربة. مجلة بغداد للعلوم 14(3)، 497-502.
- خالد، ايمن وليد، بكر، صفاء زكريا وعبود، هادي مهدي. (2018). تأثير درجة الحرارة والرقم الهيدروجيني في نمو وتبوغ العزلتين المحليتين لفطري المقاومة الحيوية *Metarhizium anisopliae* و *Beauveria bassiana* وفعاليتهما في انتاج الانزيمات المحللة. *Tikrit J. Pure Sci.* 22(4), 8-14
- دحماني، جويده؛ مصباح، ايمان (2015). نواتج الايض الثانوي. دراسة مرجعية. مذكره لنيل شهادة أستاذ التعليم الثانوي. 66 صفحة.
- الدراجي، محمد حمدان (2018). تقييم كفاءة مستحضري العاملين الاحيائيين للفطر *Trichoderma viride* ولبكتيريا *Pseudomonas fluorescens pf-Ds* في مكافحة مرض ثآليل الحنطة المتسبب عن نيماتود *Anguine tritici*. رسالة ماجستير، كلية الزراعة، جامعة البصرة، 72.
- الراوي، خاشع محمود خلف الله، عبد العزيز محمد. (1980). تصميم وتحليل التجارب الزراعية، جامعة الموصل، مطبعة جامعة الموصل، 350 صفحة.
- الرحيموي، انفال عبد الرزاق (2019). دراسة تصنيفية وجزئية للفطريات الصائفة للنيماتود وعلاقتها التضادية مع الفطر *Trichoderma harzianum* ولبكتيريا *Pseudomonas fluorescens*. رسالة ماجستير كلية العلوم. جامعة ميسان. 140 صفحة.
- الرحيمي، سارة كاظم (2017). تأثير مستخلصات نباتي النعناع *Mentha spicata* L. واليوكالبتوس *Eucalyptus microtheca* F. Muell في بعض جوانب. الأداء الحياتي لبعوض *Culex molestus* Forskal. رسالة ماجستير. كلية التربية للعلوم الصرفة /جامعة كربلاء. 105 صفحة.
- الزرري، عبد الجواد و عبد الحميد طرابية. (1981). الديدان الشعبانية (نيماتود النبات). مطابع مديرية دار الكتب للطباعة والنشر. جامعة الموصل. 238 صفحة.

- شريف، فياض محمد (2012). امراض النبات النيماتودية والحيوانات الابتدائية. الطبعة الأولى. دار
الذاكرة للنشر. 185-181.
- قاسم، علي عبد الواحد (1997). دراسة حول الفطريات المهلكة للنيماتود في تربة جنوب العراق. رسالة
ماجستير، جامعة البصرة. 109 صفحة.
- قاسم، علي عبد الواحد (2006). دراسة تصنيفية وحياتية للفطريات المهلكة للديدان الثعبانية (*Nematophagous fungi*) في وسط وجنوب العراق وإمكانية استخدامها في السيطرة الحيوية.
 أطروحة دكتوراه. جامعة البصرة. كلية التربية. 129 صفحة.
- قاسم، علي عبد الواحد وتوفيق محمد محسن، كاظم جاسم حمادي. (2009a) دراسة الفعالية الأنزيمية
الخارج خلوية (Exocellular Enzymes) للفطريات الصائدة للنيماتود (Trapping Fungi -
Nematodes على الأوساط الزراعية الصلبة. المؤتمر الثاني للعلوم الصرفة والتطبيقية / جامعة
الكوفة. مجلة جامعة الكوفة لعلوم الحياة. (عدد خاص) 108-101 .
- قاسم، علي عبد الواحد وحمادي، كاظم جاسم، محسن، توفيق محمد. (2009b). دراسة التأثير التحفيزي
لبعض المواد في تكوين أدوات الاصطياد في الفطريات الصائدة للنيماتود. المؤتمر العلمي الثاني
مطلوب، عدنان ناصر، عز الدين سلطان محمد وكريم صالح عبدول (1989). انتاج الخضروات، مطبعة
التعليم العالي في الموصل، 337 صفحة.

- Acevedo-Ramirez, P.M., Figueroa-Castillo, J.A., Ulloa-Arvizú, R., Martinez García L.G., Guevara-Flores A., Rendon J.L., Valero-Coss R.O., Mendoza-de Gives, P. and Quiroz-Romero, H. (2015). Proteolytic activity of extracellular products from *Arthrobotrys musiformis* and their effect in vitro against *Haemonchus contortus* infective larvae. *Vet. Rec. Open.* 2(1):1-6.
- Agrios, G.N. (1997). Plant Pathology. 4th. Ed. Academic press. pp.635.
- Ahman, J., Ek, B., Rask, L. and Tunlid, A. (1996). Sequence analysis and regulation of a cuticle degrading serine protease from Nematophagous Fungus *Arthrobotrys oligospora*. *Microbiology.* 142(7): 1605 – 1616.
- Al-Hazmi, A. S., and Tariqjaveed, M.(2016). Effects of Different Inoculum Densities of *Trichoderma Harzianum* and *Trichoderma Viride* against *Meloidogyne Javanica* on Tomato. *Saudi J Biol. Sci.*, 23(2): 288–292.
- Al-Rubaye, A. F., Hameed, I. H., & Kadhim, M. J. (2017). A Review: Uses of Gas Chromatography-Mass Spectrometry Technique for Analysis of Bioactive Natural Compounds of Some Plants. *Int. J. Toxicol. Pharmacol. Res.*, 9(1): 81-85.
- Anamika and Singh, R.K. (2011). Development of *Dactylaria eudermata* Drechsler a predaceous fungi in *Meloidogyne incognita*. *Arch Phytopathology Plant Protect.* , 44(1): 97–100.
- Anke, H., and Sterner, O. (1997). Nematicidal metabolites from higher fungi. *Curr. Org. Chem.*, 1(4):361-374.
- Anke, H., Stadler, M., Mayer, A., & Sterner, O. (1995). Secondary metabolites with nematicidal and antimicrobial activity from nematophagous fungi and Ascomycetes. *Can. J. Botany*, 73(S1), 932-939.

- Askary TH (2015) Nematophagous fungi as biocontrol agents of phytonematodes. In: Askary TH, Martinelli PRP (Eds) Biocontrol Agents of Phytonematodes. CAB International, Wallingford, pp 81–125.
- Atagana, H. I. (2006). Biodegradation of polyacyclic aromatic hydrocarbons in contaminated soil by biostimulation and bioaugmentation in the presence of copper (II) ions. *World J. Microbiol. Biotechnol.*, 22(11), 1145-1153.
- Avishai, L., Siebner, H., Dahan, O., & Ronen, Z. (2017). Using the natural biodegradation potential of shallow soils for in-situ remediation of deep vadose zone and groundwater. *J. Hazard. Mater*, 324:398-405.
- Azaizeh, H., Castro, P. M., and Kidd, P. (2011). Biodegradation of organic xenobiotic pollutants in the rhizosphere. In *Org. Xenobio. Plants.*, 8:191-215.
- Ballou, E. R., & Wilson, D. (2016). The roles of zinc and copper sensing in fungal pathogenesis. *Curr. Opin. Microbiol.*, 32, 128-134.
- Bano, N., & Musarrat, J. (2003). Characterization of a new *Pseudomonas aeruginosa* strain NJ-15 as a potential biocontrol agent. *Curr. Microbiol.*, 46(5), 0324-0328.
- Barron, G.L. (1992). In: Carol, C.G. and Wicklow, D.T (Eds) “The Fungal Community. Its Organization and Role in the Ecosystem”. pp. 311-326. Marcel Dekker, New York.
- Barron, G. L. (2003). Predatory Fungi, Wood Decay, and the Carbon Cycle. *Biodiversity*, 4 (1): 3–9.
- Bennett, J.W., Wunch, K.G. and Faison, B.D. (2002). Use of fungi in biodegradation. In: J. Hurst (ed.) Manual of environmental microbiology 2nd edition, ASM press Washington. pp: 960-971.
- Bills, G. F., and Gloer, J. B. (2016). Biologically active secondary metabolites from the fungi. *Microbiol. Spectr.*, 4(6) 1531–1540.

- Bird, A. F., & Self, P. G. (1995). Chitin in *Meloidogyne javanica*. *Fundament. Appl. Nematol.*, 18(3), 235–239.
- Bisht, R., Katiyar, A., Singh, R. and Mittal, P. (2009). Antibiotic resistance – a global issue of concern. *Asian J. Pharm. Clin. Res.* 2(2):34-39.
- Bordallo, J.J., Lopez-Liorca, L.V., Jansson, H-B. , Salinas, J., Pressmark, L. and Asensio, L. (2002). Colonization of Plant roots by egg-parasitic and nematode-trapping fungi. *New Phytologist.* 154(2), 491-499.
- Braga, F. R., & de Araujo, J. V. (2014). Nematophagous fungi for biological control of gastrointestinal nematodes in domestic animals. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 98(1): 71-82.
- Briard, B., Heddergott, C., & Latge, J. P. (2016). Volatile compounds emitted by *Pseudomonas aeruginosa* stimulate growth of the fungal pathogen *Aspergillus fumigatus*. *mBio*, 7(2):219-216.
- Brotman, Y., Kapuganti, J. G., & Viterbo, A. (2010). Trichoderma. *Curr. Biol.*, 20(9), 390-391.
- Burch, G, and S U Sarathchandra. (2002). Hydrolytic Enzyme Activities in *Trichoderma* spp. *New Zealand Plant Protection* 55, 440.
- Campos, A. K., Valadão, M. C., Carvalho, L. M., de Araújo, J. V., & Guimarães, M. P. (2017). In vitro nematophagous activity of predatory fungi on infective larvae of *Strongyloides papillosus*. *Acta Veterinaria Brasilica*, 11(4), 213-218.
- Cerniglia, C. E. (1997). Fungal metabolism of polycyclic aromatic hydrocarbons. Past, present and future applications in bioremediation. *Indust. Microbiol. Biotechnol.* 19:324-333.
- Chandrashekhara, S., B.K. Nanjwade, P.S. Goudanavar, F.V. Manvi, and M.S. Ali. 2010. Isolation and characterization of antibiotic production from soil isolates by fermentation. *RJPDFT* 2(1): 32-36.

- Chandrawathani, P., Jamnah, O., Adnan, M., Waller, P. J., Larsen, M., & Gillespie, A. T. (2004). Field studies on the biological control of nematode parasites of sheep in the tropics, using the microfungus *Duddingtonia flagrans*. *Vet Parasitol.*, 120(3), 177-187.
- Chigu, L., Hirose, S., Nakamura, C., Teramoto, H., Ichinose, H. and Wariishi, H. (2010) .Cytochrome P450 monooxygenases involved in anthracene metabolism by the white rot basidiomycete *Phanerochaete chrysosporium*. *Appl. Microb. Biotechnol.*, 87(5):1907-1916
- Clarkson, M.A. and Abubakar, S.I. (2015) Bioremediation and biodegradation of hydrocarbon contaminated soils. *IOSR J. Environ Sci Toxicol. Food Technol.*, 9(11):38-45.
- Cochrane, V.W. (1958). Physiology of fungi. Library of congress card. No.:58-13456, U.S.A.
- Cruz, D G, C P Silva, C N B Carneiro, C A Retamal, J T L Thiébaud, R A Damatta, and C P Santos. (2009). Acid Phosphatase Activity during the Interaction of the Nematophagous Fungus *Duddingtonia flagrans* with the Nematode *Panagrellus* sp. *J. Invert. Pathol.* 1102 (3): 238–244.
- Dababat, A.A., RA Sikora, and R. Hauschild. 2006. “Use of *Trichoderma harzianum* and *Trichoderma viride* for the Biological Control of Meloidogyne Incognita on Tomato.” *Commun. Agric. Appl. Biol. Sci.* 71 (3): 953–61.
- Dackman C, Jansson HB, Nordbring-Hertz B (1992) Nematophagous fungi and their activities in soil. *Soil biochemistry.* 7, 95–130.
- Dahan, O.; Katz, I.; Avishai, L. and Ronen, Z. (2017). Transport and degradation of perchlorate in deep vadose zone: implications from direct observations during bioremediation treatment. *Hydrol. Earth Syst. Sci.*, 21(8), 4011– 4020.

- Degenkolb, T., & Vilcinskas, A. (2016). Metabolites from nematophagous fungi and nematocidal natural products from fungi as an alternative for biological control. Part I: metabolites from nematophagous ascomycetes. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 100(9), 3799-3812.
- Devi, N.N., Prabakaran, J.J., and Wahab, F. (2012). Phytochemical analysis and enzyme analysis of endophytic fungi from *Centella asiatica*. *Asian. Pac. J. Trop. Biomed.* 2:S1280–S1284
- Dijksterhuis, J., Veenhuis, M., Harder, W., & Nordbring-Hertz, B. (1994). Nematophagous fungi: physiological aspects and structure–function relationships. In *Adv. Microb. Physiol.* 36, 111-143.
- Druzhinina, I.S., Seidl-Seiboth, V., Herrera-Estrella, A., Horwitz, B.A. , Kenerley, C.M., Monte, E., Mukherjee, P.K., Zeilinger, S., Grigoriev, I.V., and Kubicek. C.P. (2011). Trichoderma: The Genomics of Opportunistic Success. *Nat. Rev. Microbiol.*,9: 749–759.
- Elad, Y. and Kapat, A. (1999). The role of *Trichoderma harzianum* protease in the biocontrol of *Botrytis cinerea*. *Eur.J. Plant Pathology*, 105:177-189.
- Engel, J. and Balachandran, P. (2009). Role of *Pseudomonas aeruginosa* type III effectors in disease. *Curr. Opin. Microbiol.* 12, 61–66.
- Evans K., Trudgil DL, Webster JM, (1993). Extraction, identification and control of plant parasitic nematodes. In: Evans K., Trudgil DL, Webster JM, (Eds.), plant parasitic nematodes in temperate agriculture. CAB International Publishing, Wallingford (UK), p.648-649.
- Fernandez, AS, Larsen, M., Wolstrup, J., Gronvold, J., Nansen, P., and Bjorn, H. (1999). Growth rate and trapping efficacy of nematode - trapping fungi under constant and fluctuating temperatures. *Parasitol. Res.*, 85(9), 661-668.

- Gellatly, S. L., & Hancock, R. E. (2013). *Pseudomonas aeruginosa*: new insights into pathogenesis and host defenses. *Pathogens and disease*, 67(3), 159-173.
- Giardina, P., Autore, F., Faraco, V., Festa, G., Palmieri, G., Piscitelli, A. and Sannia, G. (2007). Structural characterization of heterodimeric Laccases from *Pleurotus ostreatus*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 75: 1293-1300
- Gray, N. F. (1988). Ecology of nematophagous fungi: effect of the soil nutrients N, P and K, and seven major metals on distribution. *Plant and Soil*, 108(2), 286-290.
- Grondona, R Hermosa, M Tejada, M D Gomis, P F Mateos, P D Bridge, E Monte, and I. (1997). Physiological and Biochemical Characterization of *Trichoderma harzianum*, a Biological Control Agent against Soil borne Fungal Plant Pathogens.” *Appl. Environmen. Microbiol.* 63 (8): 3189–98.
- Gross, H., and Loper, J. E. (2009). Genomics of secondary metabolite production by *Pseudomonas* spp. *Nat.Prod.Rep.*26,1408–1446.
- Haas, D., & Défago, G. (2005). Biological control of soil-borne pathogens by fluorescent pseudomonads. *Nat. Rev. Microbiol.*, 3(4), 307-319
- Hajer, R., Aurelio, C., Najet, H. R., Gaetano, G. and Laura, R. (2010). Effects of Culture Filtrates from the Nematophagous Fungus *Verticillium leptobactrum* on Viability of the Root-Knot Nematode *Meloidogyne Incognita*.” *World J. Microbiol. Biotechnol.* 26 (12): 2285–2289.
- Hanlon, G. W. & Hodges, N. A. (1981). Requirement for glucose during production of extracellular serine protease by cultures of *Bacillus lichenformis*. *FEMS Microbiol. Lett* 11:51-54.
- Harman, G. E. (2000). Myths and dogmas of biocontrol changes in perception derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22. *Plant Disease* 84: 377–393

- Harman, G. E. (2006). Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma* spp. *Phytopathology*, 96(2), 190-194.
- Hateet, R. R. (2017). Isolation and Identification of Three Bioactive Compounds from Endophytic Fungus *Trichoderma* sp. *J. Al-Nahrain Univer.Sci.*, 20(2), 108-113.
- Hateet, R. R., Muhsin, T. M., & Humadi, K. J. (2014). Antibacterial activities secondary metabolites from endophytic fungus *Fusarium solani*. *J. Basrah Res. (Sciences)*, 40(1A), 94-101.
- Herrera-Estrella, A., and S. Casas-flores. (2016). Nematophagous Fungi. In *Environmental and Microbial Relationships*, edited by I.S. Druzhinina and C.P. Kubicek, 3rd Editio, 247– 67. Switzerland: Springer International .
- Howell, C.R., Hanson, L.E., Stipanovic, R.D. and Puckhaber, L.S. (2000). Induction of Terpenoid synthesis in cotton roots and control of *Rhizoctonia solani* seed treatment with *Trichoderma virens*. *Phytopathology*. 90:248-252.
- Huang X, Zhao N, Zhang K (2004). Extracellular enzymes serving as virulence factors in nematophagous fungi involved in infection of the host. *Res. Microbiol.*, 155:811–816.
- Hussain, M., M. Zouhar, and Ryšánek. (2017). Effects of Nematophagous Fungi on Viability of Eggs and Juveniles of *Meloidogyne Incognita*. *J. Animal & Plant Sci.* 27 (1): 252–58.
- Ibrahim, A. S., Spellberg, B. & Edwards, J. (2008). Iron acquisition: a novel perspective on mucormycosis pathogenesis and treatment. *Curr. Opin. Infect. Dis.* 21,620-625
- Intana, W., and C. Chamswarnng. (2007). Control of Chinese-Kale Damping-off Caused by *Pythium Aphanidermatum* by Antifungal Metabolites of *Trichoderma virens*. *J. Sci. Technol.* 29 (4): 919–27

- Jain, P. and Pundir, R. K. (2011). Effect of fermentation medium, pH and temperature variations on antibacterial soil fungal metabolite production. *J. Agricultural Technolo.* 7:247-269.
- Jansson, HB, and Lopez, LV. (2004). Control of Nematodes by Fungi. In: Arora DK (Ed) Fungal Biotechnology in Agricultural, Food, and Environmental Applications. New York and Basel, p. 205–215.
- Johnsen, A.R., Wick, L.Y. and Harm, H. (2005). Principles of microbial PAH-degradation in soil. *Env. Pollut.*, 133: 71-84.
- Juan, L., Y. Jinkui, L. Lianming, and Z. Ke-Qin. (2008). Taxonomic Revision of the Nematode-Trapping Fungi *Arthrobotrys multisecondaria*. *J. Microbiol.* 46 (5): 513–18.
- Kalele, D.N., Affokpon, A., Coosemans, J., Kimenju John, W., (2010). Suppression of root Effects of *Arthrobotrys* spp. against *Meloidogyne* spp. Prot. 672 knot nematodes in tomato and cucumber using biological control agents. *AJHS* 3: 72–80.
- Kalmoni, I. (2017). Extraction and determination of chemical and physical properties of antimicrobial compounds from a Swedish mushroom. MSC Thesis .PP20.
- Kamba, A.S., and Hassan, L.G.(2010). Phytochemical screening and antimicrobial activities of Euphrobiabalasamifera leaves, stems and roots against pathogenic microorganisms. *Afr J. Pharmaceutical Sci and Pharmacol.* 15: 57-64.
- Kanally, R. A. and Harayama, S. (2000). Biodegradation of high – Molecular – Weight polycyclic aromatic hydrocarbons by bacteria. American society for microbiology. *J. Bacteriol.* 182(8): 2059 – 2067.
- Kasim, A. A. (2016). Influence of bioactive metabolites extracted from three species of nematode-trapping fungi on the growth of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *World J. Biol. Biologi. Sci.* 4 (1): 09-14.

- Kavanagh, K. (2005). *Fungi: Biology and applications*. New York: Wiley.PP262.
- Khan, H. U., Ahmad, R., Ahmed, W., Khan, S M and Khan, M A. (2001). Evaluation of the Combined Effects of *Paecilomyces Lilacinus* and *Trichoderma harzianum* Against Root-Knot Disease of Tomato. *J. Biologi. Sci.*, 1 (3): 139–42.
- Khan, T. A., Ashraf, M. S. and Dar, R. A. (2010). Pathogenicity and Life Cycle of *Meloidogyne Javanica* on Broccoli. *Arch. Phytopathology Plant Protect.* , 43 (6): 602–608.
- Kim, D.G., Bae, S.G. and Shin, Y.S. (2001). Distribution of nematophagous fungi in different habitats .*Korean J. Mycol.*29: 123–126.
- Kim HJ, Kim BS, Kim HG, Cho KY (1999) . Antibiotic actives of Ophiobolin from *Helminthosporium* species. *plant pathol. J.* 15(1): 14-20.
- Kousser, C., Clark, C., Sherrington, S., Voelz, K., and Hall, R. A. (2019). *Pseudomonas aeruginosa* inhibits *Rhizopus microsporus* germination through sequestration of free environmental iron. *Scientific reports*, 9(1), 1-14.
- Kumar, N., Singh, R. K., Mishra, S. K., Singh, A. K., & Pachouri, U. C. (2010). Isolation and screening of soil Actinomycetes as source of antibiotics active against bacteria. *Int. J. Microbiol. Res.*, 2(2), 12-16.
- Lafta, Anfal A. and Kasim, Ali A. (2019). Effect of nematode- trapping fungi ,*Trichoderma harzianum* and *Pseudomonas aeruginosa* in Controlling *Meloidogyne* spp. *Plant Archives* 19 (1),1163-1168.
- Lemos, J.L.S., Rizzo, A.C., Millioli, V.S., Soriano, A.U., Sarquis, M.I. and Santos, R. (2002). Petroleum degradation by filamentous fungi, 9th Annual International Petroleum Enviromental Conference, October 22-25, Albuquerque, NM.

- Li J, Yang JK, Huang XW, Zhang KQ (2006). Purification and characterization of an extracellular serine protease from *Clonostachys rosea* and its potential as a pathogenic factor. *Process. Biochem.* 41:925–929.
- Li G, Zhang K, Xu J, Dong J, Liu Y (2007). Nematicidal Substances from Fungi. *Recent Pat Biotechnol.* 1: 212– 233.
- Li, J., Zou, C., Xu, J., Ji, X., Niu, X., Yang, J., Huang, X., Zhang, K.Q. (2015). Molecular mechanisms of nematode-nematophagous microbe interactions, basis for biological control of plant-parasitic nematodes. *Ann. Rev. Phytopathol.* 53: 67–95.
- Liang, LM, Yang, JK, Li, J, Mo, YY, Li, L, Zhao, XY, and Zhang, KQ. (2011). Cloning and homology modeling of a serine protease gene (PrC) from the nematophagous fungus *Clonostachys rosea*. *Ann. Microbiol.* 61: 511–516.
- Lister, P. D., Wolter, D. J., & Hanson, N. D. (2009). Antibacterial-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: clinical impact and complex regulation of chromosomally encoded resistance mechanisms. *Clin. Microbiol. Rev.*, 22(4): 582-610.
- Liu XZ, Xiang MC, Che YS (2009). The living strategy of nematophagous fungi. *Mycoscience* 50: 20-25
- Lopez-Llorca, L.V. (1990). Purification and properties of extracellular protease produced by the Nematophagous fungus *Verticillium suchlasporium*. *Can.J.Microbiol*, 36:530-537.
- Lopez-Llorca, L. V., & Carbonell, T. (1999). Characterization of Spanish strains of *Verticillium lecanii*. *Rev Iberoam. Micol.*, 16: 136-142.
- Lopez-Llorca, L.V., Macia-Vicente, J.G., Jansson, H.B., (2007). Nematophagous fungi: mode of action and interactions. In: General concepts in integrated pest and disease management (ed. A. Ciancio and K.G. Mukerji) Springer Publishers, Netherlands, pp. 43- 59.

- Lopez-Llorca, L. V., H. B. Jansson, J. G. M. Vicente, and J. Salinas. (2006). Nematophagous Fungi as Root Endophytes. *Soil Bio.*9: 191– 206.
- Lopez-Llorca, LV, C Olivares-Bernabeu, J Salinas, HB Jansson, and PE Kolattukudy. (2002). Prepenetration Events in Fungal Parasit- Ism of Nematode Eggs. *Mycol. Res.* 106: 499–506.
- Lopez-Llorca, LV, Gomez-Vidal, S, Monfort, E, Larriba, E, Casado-Vela, J, Elortza, F, Jansson, H B, Salinas, J, Martin-Nieto, J. (2010). Expression of serine proteases in egg-parasitic nematophagous fungi during barley root colonization. *Fungal Genet. Biol.* 47: 342– 351.
- Macia -Vicente JG, Jansson H-B, Talbot NJ, LopezLlorca LV (2009a). Real-time PCR quantification and live-cell imaging of endophytic colonization of barley (*Hordeum vulgare*) roots by *Fusarium equiseti* and *Pochonia chlamydosporia*. *New Phytol.* 182:213–228 .
- Macia -Vicente JG, Rosso LC, Ciancio A, Jansson H-B, Lopez-Llorca LV (2009b). Colonisation of barley roots by endophytic *Fusarium equiseti* and *Pochonia chlamydosporia*: effects on plant growth and disease. *Ann. Appl. Biol.* 155:391–401.
- Maizels RM, Blaxter ML, Selkirk ME (1993). Forms and functions of nematode surfaces. *Exp. Parasitol.* 77:380–384.
- Marchand, C.; St-Arnaud, M.; Hogland, W.; Bell, T.H.andHijri, M. (2017). Petroleum biodegradation capacity of bacteria and fungi isolated from petroleum-contaminated soil. *Int .Biodet. Biodeg.* 116:48-57.
- Martin JF, Garcia-Estrada C, Zeilinger S (eds) (2014). Biosynthesis and molecular genetics of fungal secondary metabolites, Vol I .Springer, New York.
- Mcsorley, R., Wang, K. H., Kokalis-Burelle, N., & Church, G. (2006). Effects of soil type and steam on nematode biological control potential of the rhizosphere community. *Nematropica*, 36 (2): 197-214.

- Migunova, V., N. Sasanelli, I. National, and A. Kurakov. (2018). Effect of Microscopic Fungi on Larval Mortality of the Root-Knot Nematodes *Meloidogyne incognita* and *Meloidogyne javanica*. *Biol Integr Control Plant Pathogens.* , 133: 27–31.
- Mo, M. H., Chen, W. M., Yang, H. R., & Zhang, K. Q. (2008). Diversity and metal tolerance of nematode-trapping fungi in Pb-polluted soils. *J. Microbiol.*, 46(1): 1-16.
- Moosavi, M.R., and T.H. Askary. (2015). Nematophagous Fungi: Commercialization. In: Askary, T.H. and Martinelli, P.R.P. (eds) *Biocontrol Agents of Phytonematodes*. CAB International, Wallingford, UK, pp. 187–202.
- Morton, O., Hirsch, P., & Kerry, B. (2004). Infection of plant-parasitic nematodes by nematophagous fungi—a review of the application of molecular biology to understand infection processes and to improve biological control. *Nematology*, 6(2), 161-170.
- Morton, C.O., Hirsch, P.R., Peberdy, J.P. and Kerry, B.R. (2003). Cloning of and Genetic variation in protease VCP1 from the nematophagous fungus *Pochonia chlamydosporia*. *Mycol. Res.*, 107: 38 – 46.
- Muhammed S. and N. A. Amusa. (2003). In-Vitro Inhibition of Growth of Some Seedling Blight Inducing Pathogens by Compost-Inhabiting Microbes. *Biotechnology 2* (6): 161–64
- Niu, X. M., & Zhang, K. Q. (2011). *Arthrobotrys oligospora*: a model organism for understanding the interaction between fungi and nematodes. *Mycology*, 2(2), 59-78.
- Nourani, S. L., E. M. Goltapeh, N. Safaie, and M. J. Javaran.(2015). The Effects of *Arthrobotrys oligospora* and *Arthrobotrys conoides* Culture Filtrates on Second Stage Juvenile Mortality and Egg Hatching of *Meloidogyne incognita* and *Meloidogyne javanica*. *J. Crop Prot.* 4: 667–74.

- Nyer, E.K.; Payne, F. and Suthersan, S. (2002). Environment vs. bacteria or let's play name that bacteria. *Grou. Wat. Monit. Remed.*, 23: 36-45
- Oboh, O.B., Ilori, M.O., Akinyemi, J.O., Adebusoye, S.A. (2006). Hydrocarbon. degrading potential of bacteria isolated from a Nigerian Bitumen (Trasand) deposit. *Nature Sci.*, 4(3): 1 57.
- Okerentugba, P. and Ezeronye, O. (2003). Petroleum degrading potentials of single and mixed microbial cultures isolated from rivers and refinery effluent in Nigeria. *Afri. J. Biotechnol.*, 2: 288-292.
- Olthof H.A., Estey R.H. (1965). Relation of some environmental factors to growth of several nematophagous Hyphomycetes. *Can. J. Microbiol.*, 11: 939-946.
- Oudot, J.; Dupont, J.; Haloui, S. and Roquebert, M. (1993). Biodegradation potential of hydrocarbon assimilating tropical fungi. *Soil. Biol. Bioch.*, 25:1167-1173.
- Paszczynski, A. and Crawford, R.L. (2000). Recent advances in the use of fungi in environmental remediation and biotechnology. *Soil Bioch.*, 10: 579-422.
- Pendse MA, Karwande PP, Limaye MN (2013). Past, present and future of nematophagous fungi as bioagent to control plant parasitic nematodes. *J. Plant Prot.Sci.* 5(1): 1-9.
- Pfenning, L. H., & Abreu, L. M. (2006). Diversity of microfungi in tropical soils. In: Moreira, FMS Siqueira, JO Brussard, L (eds). Soil biodiversity in Amazonian and other Brazilian ecosystems. Wallingford, Oxfordshire, UK, CABI Publishing, 1: 184-205.
- Qaisar, U., Kruczek, C. J., Azeem, M., Javaid, N., Colmer-Hamood, J. A., & Hamood, A. N. (2016). The *Pseudomonas aeruginosa* extracellular

- secondary metabolite, Paerucumarin, chelates iron and is not localized to extracellular membrane vesicles. *J. Microbiol.*, 54(8): 573-581.
- Randhawa MA, Anjum FM, Ahmed A, Randhawa MS (2007). Field incurred chlorpyrifos and 3,5,6-trichloro-2-pyridinol residues in fresh and processed vegetables. *Food Chem.*, 103(3):1016–1023.
- Ray, S., Singh, S., Sarma, B. K., & Singh, H. B. (2016). Endophytic *Alcaligenes* Isolated from Horticultural and Medicinal Crops Promotes Growth in Okra (*Abelmoschus esculentus*). *J. Pl. Gro. Regul.*, 35(2): 401-412.
- Santos, R. G., Loh, W., Bannwart, A. C. and Trevisan, O. V. (2014). An overview of heavy oil properties and its recovery and transportation methods, *Brazil. J. Chem. Engin.*, 31(3): 571-590.
- Sawer, I.K, Berry, M.I., Ford, J.L.(2005). The killing effect on *Staphylococcus aureus*. *Letter Appl. Microbiol.*, 40: 24-29.
- Schenck S, Chase TJ, Rosenzweig WD, Pramer D (1980). Collagenase production by nematode-trapping fungi. *Appl. Environ. Microbiol.* 40:567–570.
- Schroers, H., Samuels, G. J., Seifert, K. A., Gams, W., Samuels, J. and Seifert, K. A.(1999). Classification of the Mycoparasite *Gliocladium Roseum* in *Clonostachys* as *C. rosea* , Its Relationship to *Bionectria Ochroleuca* , and Notes on Other Fungi. *Mycologia* 91 (2): 365–385.
- Sharon, C.A., Chen, C., Wright, C., Golding, C. and Tania, C. (2000). Purification and characterization of secretory phospholipase B, lysophospholipase and lysophospholipase transacylase from a virulent strain of the pathogenic fungus *Cryptococcus neoformans*. *Biochem. J.* 347: 430 - 439.
- Shraddha, R., Shekher, S., Sehgal, M., Kamthania, A. and Kumar, A. (2011). Laccase: microbial sources, production, purification, and potential biotechnological applications, *Enzy. Rese.*2011:1-11.

- Singh, JS, and VC Pandey.(2015). Efficient Soil Microorganisms: A New Dimension for Sustainable Agriculture and Environmental Development. *Agric Ecosyst Environ.* 140: 339–353.
- Soonawalla DF, Joshi N (2008). Efficacy of thiocolchicoside in Indian patients suffering from low back pain associated with muscle spasm. *J Indian Med Assoc.* 106 (5): 331–335.
- Stadler, M., Anke, H., & Sterner, O. (1993a). Linoleic acid - the nematicidal principle of several nematophagous fungi and its production in trap-forming submerged cultures. *Archi. Microbiol.*, 160(5): 401-405.
- Stadler, M., Sterner, O., & Anke, H. (1993b). New biologically active compounds from the nematode-trapping fungus *Arthrobotrys oligospora* fresen. *Z Naturforsch C*, 48(11-12): 843-850.
- Stahl, J.D. and Aust, S.D. (1997). Use of fungi in bioremediation. *Env. Toxicol.*, 1:1-6.
- Swe, A, J Li, KQ Zhang, SB Pointing, R Jeewon, and KD Hyde. (2011). Nematode-Trapping Fungi. *Curr. Res. Environ. Appl. Mycol.* 1 (1): 1–26.
- Thapa, B. and Ghimire, A. (2012). A review on bioremediation of petroleum hydrocarbon contaminants in soil. Asian institute of technology, pathumthani Bangkok, Thailand. *Kathmandu Univ. Sci. Eng. Technol India*, 8:164-170.
- Tholander, M. (2007). Transcriptome analyses of the nematode-trapping fungus *Monacrosporium haptotylum*. Lund University Doctoral thesis, Lund, Pp93.
- Tikhonov, V. E., Lopez-Liorca, L. V., Salinas, J., & Jansson, H. B. (2002). Purification and characterization of Chitinases from the nematophagous fungi *Verticillium chlamydosporium* and *V. suchlasporium*. *Fungal Genet. Biol.*, 35: 67–78.

- Tosi S, Annovazzi L, Tosi I, Iadrola P, Caretta G (2001). Collagenase production in an antarctic strain of *Arthrobotrys tortor* Jarowaja. *Mycopathologia* 153:157–162.
- Tunlid, A., & Jansson, S. (1991). Proteases and their involvement in the infection and immobilization of nematodes by the nematophagous fungus *Arthrobotrys oligospora*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 57: 2868–2872.
- Tunlid A, Rosen S, Ek B, Rask R (1994) Purification and characterisation of an extracellular serine protease from the nematode-trapping fungus *Arthrobotrys oligospora*. *Microbiology* 140:1687–1695.
- Veda, M. and Arai, M.(1992). Purification and Some Properties of Chitinases from *Aeromonas sp.* No.10S-24, Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 56:3, 460-464.
- Vinale, F., Ghisalberti, E.L., Sivasithamparam, K., Marra, R., Ritieni, A., Ferracane, R. and Woo, S. (2009). Factors affecting the production of *Trichoderma harzianum* secondary metabolites during the interaction with different plant pathogens. *Let. Appl. Microbiol.*, 48: 705–711.
- Wang, M., Yang, J. K., & Zhang, K. Q. (2006). Characterization of an extracellular protease and its cDNA from the nematode-trapping fungus *Monacrosporium microscaphoides*. *Can. J. Microbiol.*, 52: 130–139.
- Wang, F. H., Wang, B. B., Xu, C. L., & Cai, K. Z. (2015). Influence of temperature and pH value on the growth of *Arthrobotrys oligospora* and its biological characteristics observation. *J. Gansu Agri. Univ.*, 50: 100–105.
- Wang B.B., Wang F.H., Xu Q., Wang K.Y., Xue Y.J., Ren R., et al. (2017). In vitro and in vivo studies of the native isolates of nematophagous fungi from China against the larvae of *trichostronglides*. *J. Basic Microbiol.*, 57: 265–275.

- Whitehead, A. G. (1998). Plant nematode control. Wallingford, U.K.:CAB International , p384
- Xian-guo H., Ursula M. (1994). Antifungal compound from *Solanum nigrescens*. *J. Ethanopharmacol.* 43: 173-177 .
- Xue, Y. J., Li, E. L., Jing, C. X., Ma, L., & Cai, K. Z. (2018). Isolation, identification and characterization of the nematophagous fungus *Arthrobotrys sinense* from China. *Acta parasitological.* 63(2): 325-332.
- Yang, J. K., Tian, B. Y., Liang, L. M., & Zhang, K. Q. (2007). Extracellular enzymes and the pathogenesis of nematophagous fungi. *Appl.Microbiol. Biotechnol.*, 75: 21–31.
- Yang, G., Zhou, B., Zhang, X., Zhang, Z., Wu, Y., Zhang, Y., & Teng, L. (2016). Effects of tomato root exudates on *Meloidogyne incognita*. *PLOS ONE*, 11(4): 1–16.
- Yu, Z.F., Mo, M.H., Zhang, Y.and Zhang, K.Q. (2014).Taxonomy of nematode-trapping fungi from Orbiliaceae, Ascomycota. In: Zhang , K.Q. and Hyde, K.D. (Eds) Nematode-trapping fungi. Springer, Dordrecht, p41-209.
- Yu,W.S.,Liu, Z. L., Yang, X. Y., Yang, L. R., Wang, Y. S., & Kao, G. L. (2003). Physical chemistry properties of nematode - trapping fungus *Arthrobotrys oligospora*. *Chin. J. Preventive Veterinary Med.*, 25: 463–465.
- Yuen, G. Y., Broderick, K. C., Jochum, C. C., Chen, C. J., & Caswell-Chen, E. P. (2018). Control of cyst nematodes by *Lysobacter enzymogenes* strain C3 and the role of the antibiotic HSAF in the biological control activity. *Biol. Control.*, 117:158-163.
- Zeilinger S., Galhaup C., Payer K., Woo S. L., Mach R. L., Fekete C., Lorito M., Kubicek C. P. 1999. Chitinase gene expression during mycoparasitic interaction of *Trichoderma harzianum* with its host. *Fungal Genetics and Biology*, 26: 131–140.

Zhang, K. Q., and K. D. Hyde. (2014). Nematode-Trapping Fungi. Springer Dordrecht Heidelberg. B.V., Dord. New York: Springer. Pp 392.

Zhang, X, and L Xia. (2017). Expression of Talaromyces Thermophilus Lipase Gene in *Trichoderma reesei* by Homologous Recombination at the Cbh1 Locus. *J Ind Microbiol Biotechnol*. 44: 1–9.

Zhang, A., Sun, H., Wang, P., Han, Y., & Wang, X. (2012). Modern analytical techniques in metabolomics analysis. *Analyst*, 137(2): 293-300.


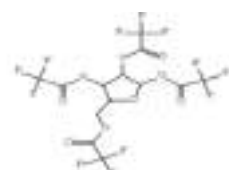


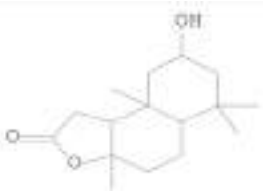
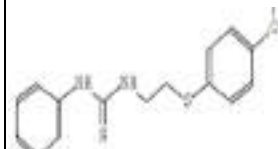
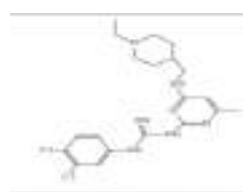
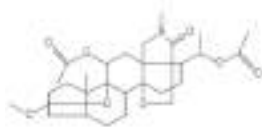


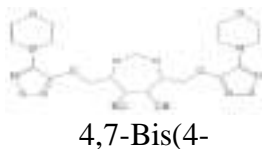
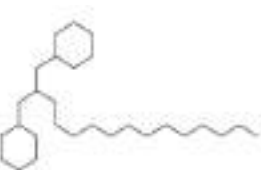
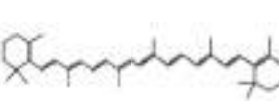



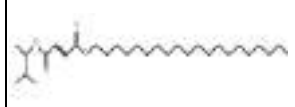
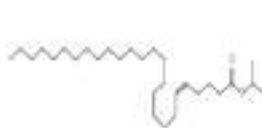

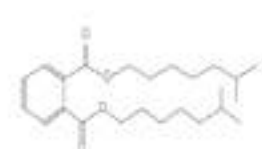
Zhao ML, Mo MH, Zhang KQ (2004). Characterization of a neutral serine protease and its full-length cDNA from the nematode trapping fungus *Arthrobotrys oligospora*. *Mycologia* 96:16–22

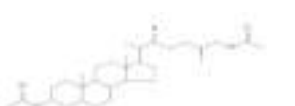


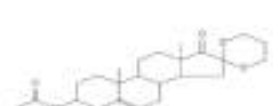
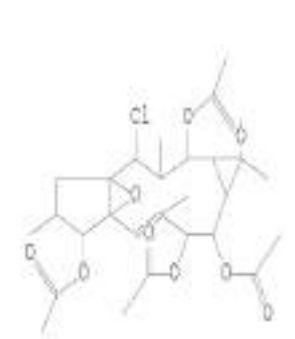

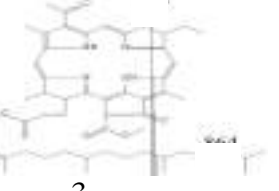
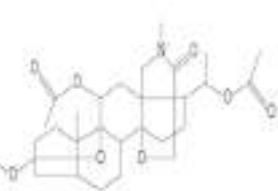

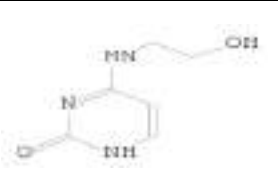


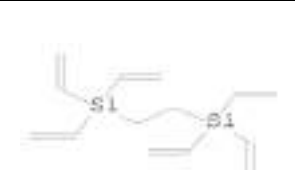
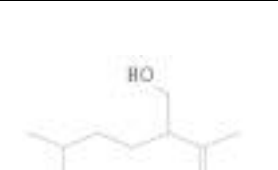

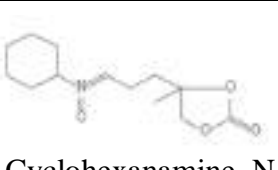


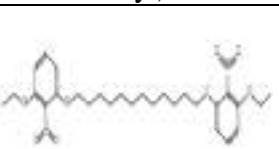

الملاحق



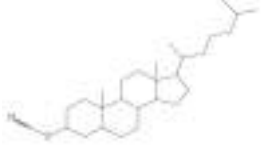


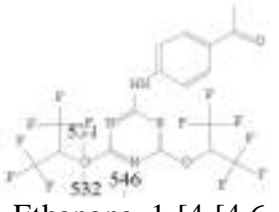
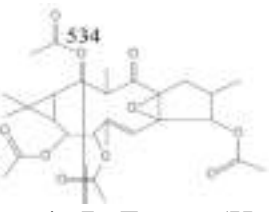

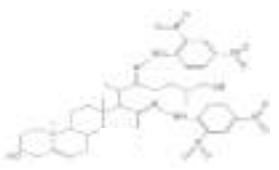
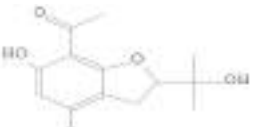
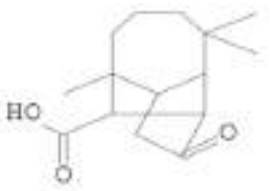



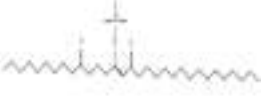


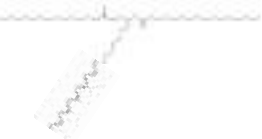
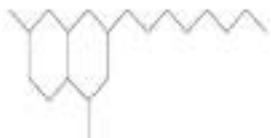
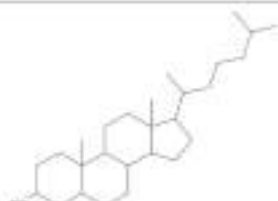
Appendixes



GC-MS نتائج

1- *A. conoides*

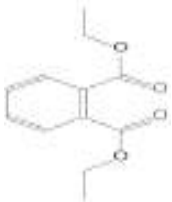
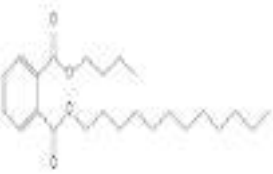
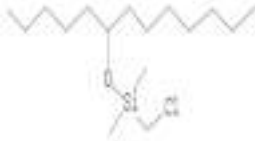
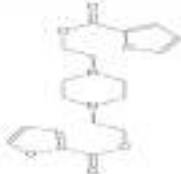
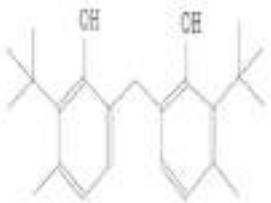
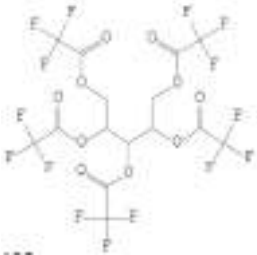

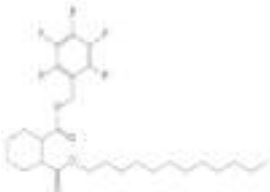




 <p>Diethyl Phthalate</p>	 <p>d-Ribofuranose, tetrakis(trifluoroacetate)</p>	 <p>Di(1-decynyl)mercury</p>	 <p>Oxalic acid, 2-isopropoxyphenyl octadecyl ester</p>
 <p>Naphtho[2,1-b]furan-2(1H)-one, decahydro-8-hydroxy-3a,6,6,9a-tetramethyl-, (3aR,5aS,8R,9aS,9bR)-</p>	 <p>1-(2-(p-Methoxyphenylthio)ethyl)-3-phenylthiourea</p>	 <p>1-[3,4-Dichlorophenyl]-3-[4-[1-ethyl-4-piperidyl]methyl]amino]-6-methyl-2-pyrimidinyl]guanine</p>	 <p>7H-9,11b-Epoxy-5a,13a-propanophenanthro[2,1-f][1,4]oxazepin-3(4H)-one, 12-(acetyloxy)-14-[1-(acetyloxy)ethyl]dodecahydro-9-meth</p>
 <p>4-(3-Chloro-4-fluoro-phenyl)-8-ethyl-1-thia-4-azaspiro[4.5]decan-3-one</p>	 <p>Octadecane, 2,2,4,15,17,17-hexamethyl-7,12-bis(3,5,5-trimethylhexyl)-</p>	 <p>4,7-Bis(4-morpholino-1,2,5-thiadiazol-3-yl)oxymethyl)-1,3-dioxepane-5,6-diol</p>	 <p>Cyclohexane, 1,1'-(2-tridecyl-1,3-propanediyl)bis-</p>
 <p>.beta.,.beta.-Carotene, neo B</p>	 <p>Cyclopropaneoctanoic acid, 2-octyl-, methyl ester, cis-</p>	 <p>Undecanoic acid, 10-bromo-1,2-</p>	 <p>Dodecane, 1,12-di(2-nitro-3-ethoxyphenoxy)-</p>
 <p>Fumaric acid, eicosyl 3-methylbut-2-yl ester</p>	 <p>i-Propyl 5,9-hexacosadienoate</p>	 <p>.beta.-Alanine, N-(2-furoyl)-, heptadecyl ester</p>	 <p>Benzenedicarboxylic acid, diisooctyl ester</p>

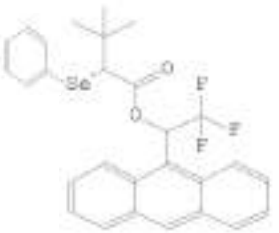
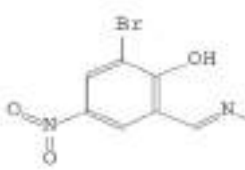
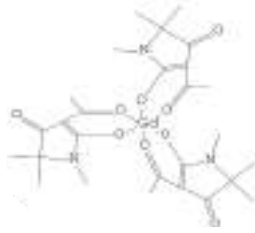
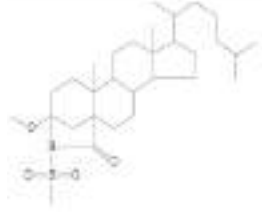





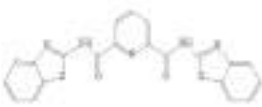


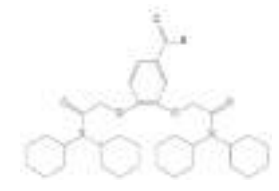







 16-Deoxy-5,6-dihydrokryptogenin diacetate	 30-Methyl-hentriacontanoic acid, DMOX derivative	 1H-Azepine, 2,3,4,5,6,7-hexahydro-2-octylimino-	 3-Acetoxyandrost-5-en-17-one, 16,16-propylenedithio-
 9-Desoxy-9x-chloroingol 3,7,8,12-tetraacetate	 Naphthalene, decahydro-1,4a-dimethyl-7-(1-methylethyl)-, [1S-(1.alpha.,4a.alpha.,7.alpha.,8a.beta.)]-	 3-Phorbinepropanoic acid, 9-acetyl-14-ethyl-13,14-dihydro-21-(methoxycarbonyl)-4,8,13,18-tetramethyl-20-oxo-, 3,7,11,15-tetrame	 7H-9,11b-Epoxy-5a,13a-propanophenanthro[2,1-f][1,4]oxazepin-3(4H)-one, 12-(acetyloxy)-14-[1-(acetyloxy)ethyl]dodecahydro-9-meth
 Octadecanoic acid, octadecyl ester	 4N-(2-Hydroxyethyl)cytosine	 Hexadecanoic acid, eicosyl ester	 9-Hexadecenoic acid, 9-octadecenyl ester, (Z,Z)-
 Silane, 1,2-ethanediylbis[triethenyl-	 2-Isopropenyl-5-methyl-6-hepten-1-ol	 1,3,5-Triazine, 2-amino-4,6-bis(nonafluoro-tert-butyl)-	 Cyclohexanamine, N-[3-(4-methyl-1,3-dioxolan-2-on-4-yl)prop-1-ylidene)-, N-oxide
 4-Methyl-Z-4-docosene	 Octadecanoic acid, 9,10,18-tris(trimethylsiloxy)-, methyl ester, threo-	 Dodecane, 1,12-di(2-nitro-3-ethoxyphenoxy)-	 9-Hexadecenoic acid, eicosyl ester, (Z)-




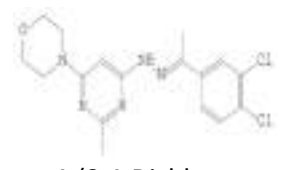


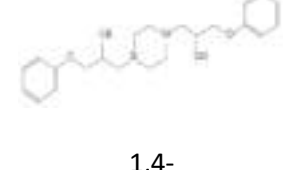
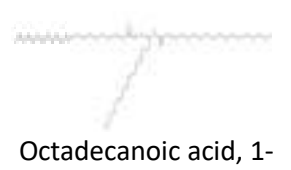
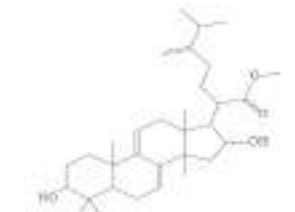

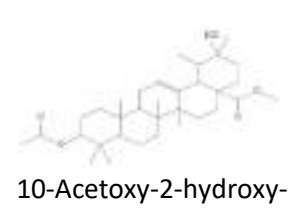
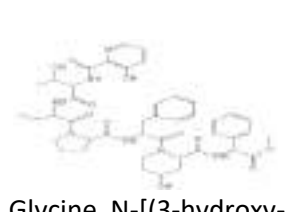

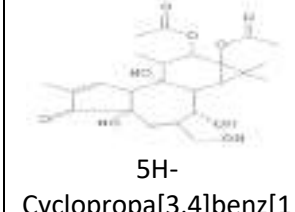
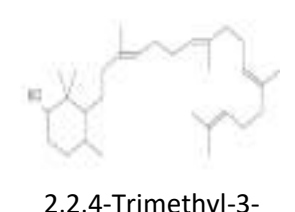
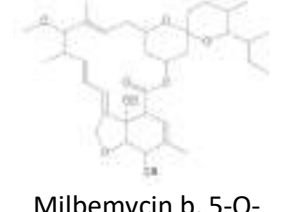
 cis-1-Chloro-9-octadecene	 Dodecane, 1,12-di(2-nitro-3-ethoxyphenoxy)-	 Thiocyanic acid, 5.alpha.-cholestan-3.beta.-yl ester	 Thiocolchicine
 Octadecane, 1,1'-[1,3-propanediylbis(oxy)]bis-	 Ethanone, 1-[4-[4,6-bis(2,2,2-trifluoro-1-trifluoromethylethoxy)-1,3,5-triazin-2-yl]amino]phenyl-	 4a,7a-Epoxy-5H-cyclopenta[a]cyclopropa[f]cycloundecen-4(1H)-one, 2,7,10,11-tetrakis(acetyloxy)-1a,2,3,6,7,10,11,11a-octahydro-1	 N-(4,6-Dipiperidino-1,3,5-triazin-2-yl)-N-{4,6-bis[2,2,2-trifluoro-1,1-bis(trifluoromethyl)ethyl]-1,3,5-triazin-2-yl}amine
 Kryptogenin 2,4-dinitrophenylhydrazone	 Ethanone, 1-[2,3-dihydro-6-hydroxy-2-(1-hydroxy-1-methylethyl)-4-methoxy-7-benzofuranyl]-, (+)-	 Tricyclo[5.3.1.0(6,11)]undecane-11-carboxylic acid, 1,5,5-trimethyl-8-oxo	 N-[4,6-Bis(diethylamino)-1,3,5-triazin-2-yl]-N-{4,6-bis[2,2,2-trifluoro-1,1-bis(trifluoromethyl)ethyl]-1,3,5-triazin-2-yl}amine
 Sclalar (sclareolide lactol)	 Fumaric acid, 4-heptyl tridecyl ester	 Hentriacontane-10,14,16-trione, mono-TMS	 6-Dimethyl(chloromethyl)silyloxy-pentadecane
 Octadecanoic acid, 11-methoxy-, methyl ester, (+/-)-	 Hexadecanoic acid, 1-[(hexadecyloxy)methyl]-1,2-ethanediyl ester	 Naphthalene, decahydro-1,6-dimethyl-3-octyl-	 Cholestan-3-ol, (3.alpha.)-

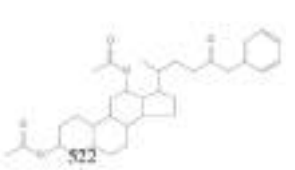
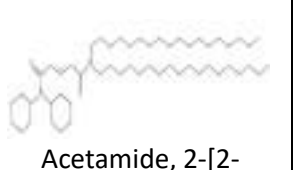

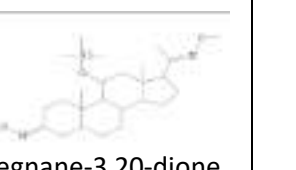
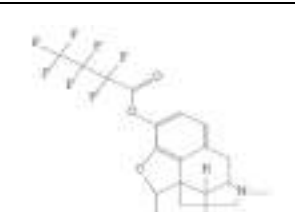
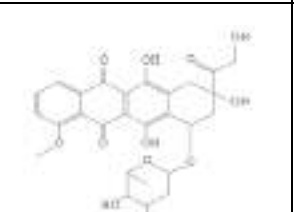

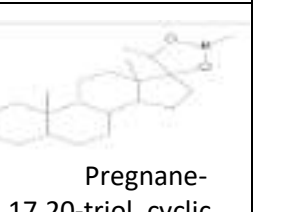
 <p>Pregnen-20-ol, (5.alpha.,20S)-</p>	 <p>1,2-Cyclohexanedicarboxylic acid, didecyl ester</p>
---	---

2- *A.eudermata*

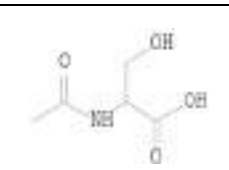
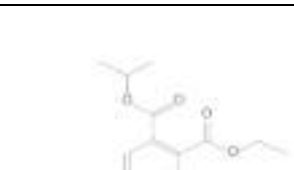
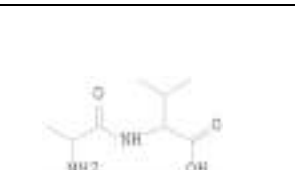
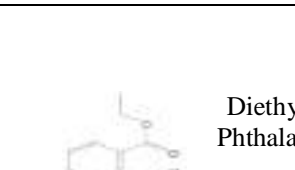
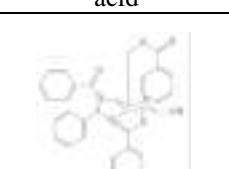
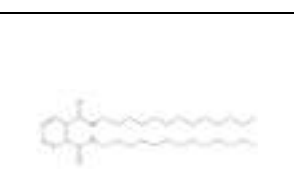
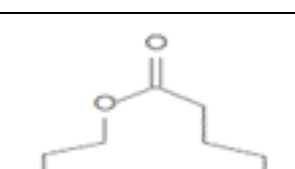
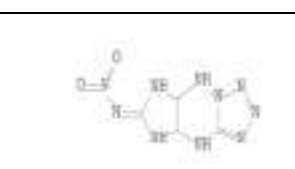
 <p>Diethyl Phthalate</p>	 <p>Phthalic acid, butyl dodecyl ester</p>	 <p>6-Dimethyl(chloromethyl)silyloxytridecane</p>	 <p>Piperazine, 1,4-bis[2-(2-furoyloxy)ethyl]-</p>
 <p>Phenol, 2,2'-methylenebis[6-(1,1-dimethylethyl)-4-methyl-]</p>	 <p>Pentitol, pentakis(trifluoroacetate)</p>	 <p>Disiloxane, 1,1,3,3-tetramethyl-1,3-bis(pentafluorophenyl)-</p>	 <p>1,2-Cyclohexanedicarboxylic acid, dodecyl pentafluorobenzyl ester</p>
 <p>Dodecanoic acid</p>	 <p>Pentatriacontane, 1-bromo-</p>	 <p>Piperazine, 1-(1-methyl-4-piperidyl)-</p>	 <p>Glycine, N-(4-ethylbenzoyl)-, hexadecyl ester</p>



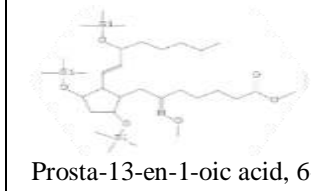
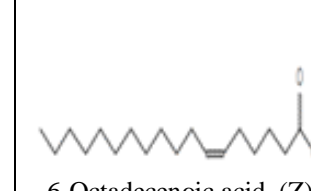

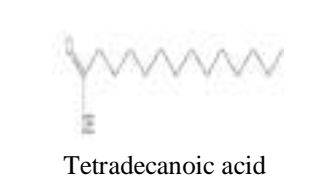
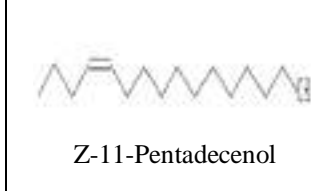
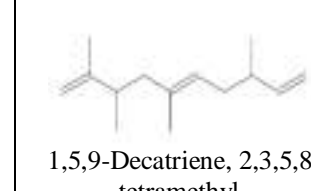

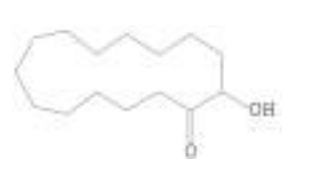

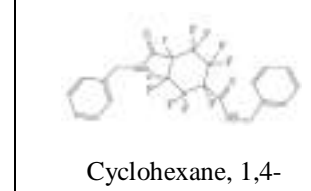
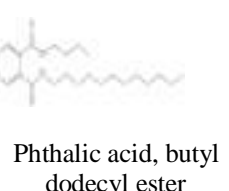
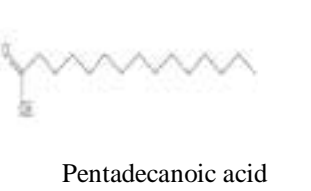
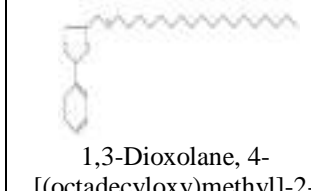
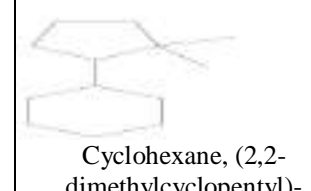
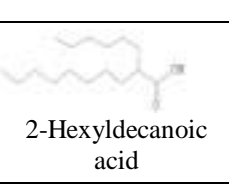
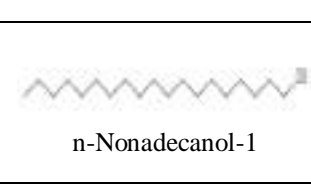
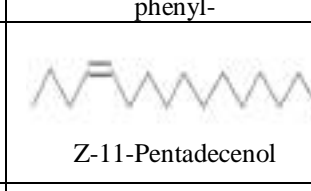
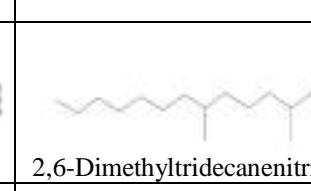
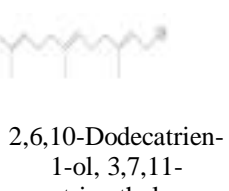
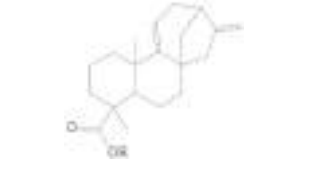
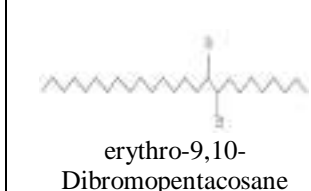
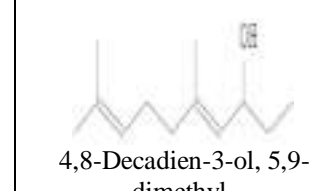
 <p>Butanoic acid, 3,3-dimethyl-2-(phenylselenyl)-, 2,2,2-trifluoro-1-(9-anthracenyl)ethyl ester</p>	 <p>5-[(3-Bromo-5-nitrosalicylidene)amino]-2-(5-bromo-3-pyridyl)benzoxazole</p>	 <p>Tris(3-acetyltetraammine)gadolinium(III)</p>	 <p>3Alpha-methoxy-3beta-(methanesulfonamido)cholestane-5beta-carboxylic lactam</p>
 <p>2-Bromopropionic acid, octadecyl ester</p>	 <p>Tetradeconoic acid, eicosyl ester</p>	 <p>9-Octadecene, 1-[2-(octadecyloxy)ethoxy]-, (Z)-</p>	 <p>Hexadecandioic acid, bis(trimethylsilyl) ester</p>
 <p>9-Octadecenoic acid (Z)-, tetradecyl ester</p>	 <p>Pyridine-2,6-dicarboxylic acid, bis-benzothiazol-2-ylamide</p>	 <p>Nonadecyl pentafluoropropionate</p>	 <p>3H-Furan-2-one, 3-cyclohexylidene-5-(3-octadecanoyloxyphenyl)-</p>
 <p>Acetamide, 2,2'-[(4-formyl-1,2-phenylene)bis(oxy)]bis[N,N-dicyclohexyl</p>	 <p>Hexadecanamide, N,N'-methylenebis-</p>	 <p>4-[(3,5-Dimethylpyrazol-1-ylmethyl)-amino]-furan-3-carboxylic acid amide</p>	 <p>E-10,13,13-Trimethyl-11-tetradecen-1-ol acetate</p>
 <p>Hexadecanoic acid, octadecyl ester</p>	 <p>i-Propyl 9-hexadecenoate</p>	 <p>1,37-Octatriacontadiene</p>	 <p>Perfluorodecyl iodide</p>

 <p>Butanedioic acid, 2,3-bis[(tert-butylidimethylsilyl)oxy]-, bis(tert-butylidimethylsilyl) ester</p>	 <p>Cholest-8-ene-3,6-diol, 14-methyl-, (3.beta.,5.alpha.,6.alpha.)-</p>	 <p>Bis(heptafluorobutyryl)-N(.eps.)-cyclohexyllsine propyl ester</p>	 <p>4-(3,4-Dichloro.alpha/-methylbenzylidenehydrazino)-2-methyl-6-morpholinopyrimidine</p>
 <p>trans-4-Methylthio-4'-(octadecyloxy)chalcone</p>	 <p>6-Heneicosen-11-one, (Z)-</p>	 <p>1,4-Piperazinediethanol, .alpha.,.alpha.'-bis(phenoxyethyl)-</p>	 <p>Octadecanoic acid, 1-[(dodecyloxy)methyl]-1,2-ethanediyl ester</p>
 <p>Lanosta-7,9(11)-dien-21-oic acid, 3,16-dihydroxy-24-methylene-, methyl ester, (3.beta.,16.alpha.)-</p>	 <p>.beta.-D-Mannofuranose, 2,3:5,6-di-O-ethylboranediyl-1-O-(1H,1H-pentadecafluorooctyl)-</p>	 <p>10-Acetoxy-2-hydroxy-1,2,6a,6b,9,9,12a-heptamethyl-1,3,4,5,6,6a,6b,7,8,8a,9,10,11,12,12a,12b,13,14b-octadecahydro-2H-picene-4a-</p>	 <p>Glycine, N-[(3-hydroxy-2-pyridinyl)carbonyl]-L-threonyl-D.alpha.-aminobutyryl-L-prolyl-L-phenylalanyl-cis-4-hydroxy-L-pipecolo</p>
 <p>3-Heptafluorobutyryloxypropena-3,5,16-trien-20-one</p>	 <p>5H-Cyclopropa[3,4]benz[1,2-e]azulen-5-one, 9,9a-bis(acetyloxy)-1,1a,1b,2,4a,7a,7b,8,9,9a-decahydro-2,4a,7b-trihydroxy-3-(hydrox</p>	 <p>2,2,4-Trimethyl-3-(3,8,12,16-tetramethylheptadeca-3,7,11,15-tetraenyl)-cyclohexanol</p>	 <p>Milbemycin b, 5-O-demethyl-28-deoxy-6,28-epoxy-13-methoxy-25-(1-methylpropyl)-, [6R,13S,25R(S)]-</p>





 <p>Bisnорandrostane, 3,12-diacetoxy-17-(1-methyl-4-oxo-5-phenylpentyl)-</p>	 <p>Acetamide, 2-[2-(dicyclohexylamino)-2-oxoethoxy]-N,N-dioctadecyl-</p>	 <p>Pentacosanoic acid, 2-[(trimethylsilyl)oxy]-, methyl ester</p>	 <p>Pregnane-3,20-dione, 11-(trimethylsilyl)oxy]-, bis(O-methyloxime), (5.beta.,11.beta.)-</p>
 <p>Hydromorphone, heptafluorobutyrate</p>	 <p>Doxorubicin Hydrochloride</p>	 <p>Octadecanoic acid, 2-[(1-oxododecyl)oxy]-, 1,3-propanediyl ester</p>	 <p>Pregnane-3,17,20-triol, cyclic 17,20-(methylboronate), (3.alpha.,5.beta.,20S</p>

3-A.microscaphoides

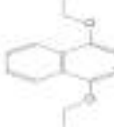

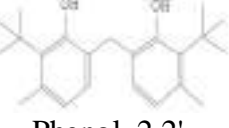
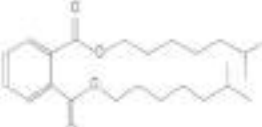
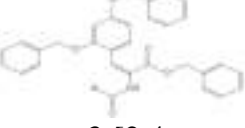
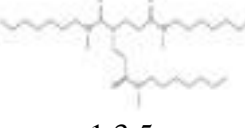
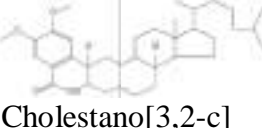
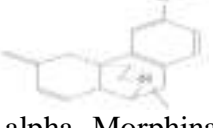


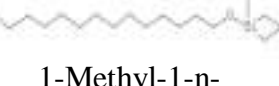



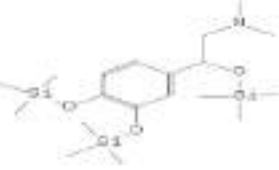

 <p>2-Acetyl amino-3-hydroxy- propionic acid</p>	 <p>Phthalic acid, ethyl isopropyl ester</p>	 <p>dl-Alanyl-dl-valine</p>	 <p>Diethyl Phthalate</p>
 <p>2,3,4,6-Tetrabenzoyl-.beta.-d-glucopyranose</p>	 <p>1,2-Benzenedicarboxylic acid, ditridecyl ester</p>	 <p>Oxacyclotridecan-2-one</p>	 <p>Imidazolo[4,5-E]tetrazolo[1,5-b]1,2,4-triazine, 4,5,5a,6,7,8,8a,9-octahydro-7-nitroimino</p>



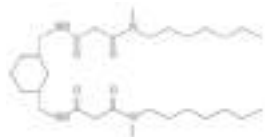
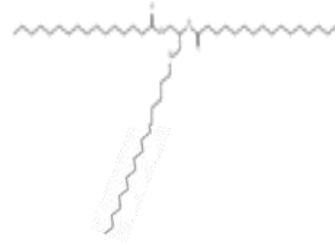
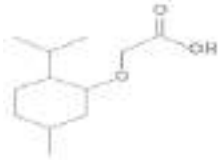


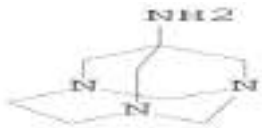
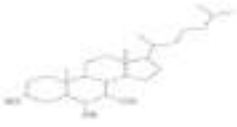
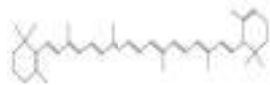
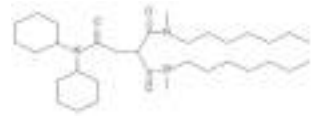



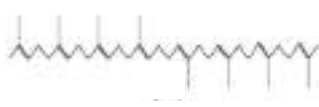



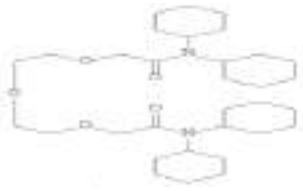
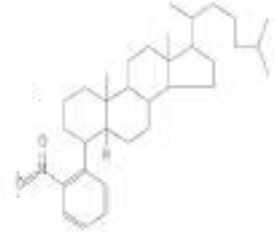
			
Phthalic acid, dodecyl ethyl ester	1,E-11,Z-13-Hexadecatriene	Prosta-13-en-1-oic acid, 6- methoxyamino-9,11,15- tris(trimethylsilyloxy)-, methyl ester	6-Octadecenoic acid, (Z)-
			
Octatriacontyl trifluoroacetate	Tetradecanoic acid	Z-11-Pentadecenol	1,5,9-Decatriene, 2,3,5,8- tetramethyl-
			
Pentadecanoic acid	Cyclopentadecanone, 2- hydroxy	Octadecanoic acid	Cyclohexane, 1,4- bis(benzylaminocarbonyl)- 1,2,2,3,3,4,5,5,6,6- decafluoro
			
Phthalic acid, butyl dodecyl ester	Pentadecanoic acid	1,3-Dioxolane, 4- [(octadecyloxy)methyl]-2- phenyl-	Cyclohexane, (2,2- dimethylcyclopentyl)-
			
2-Hexyldecanoic acid	n-Nonadecanol-1	Z-11-Pentadecenol	2,6-Dimethyltridecanenitrile
			
2,6,10-Dodecatrien- 1-ol, 3,7,11- trimethyl-	Kaura-9(11),16-dien-18-oic acid, (4.alpha.)-	erythro-9,10- Dibromopentacosane	4,8-Decadien-3-ol, 5,9- dimethyl-

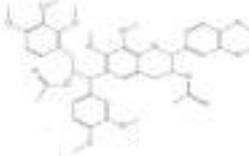


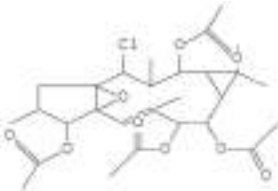

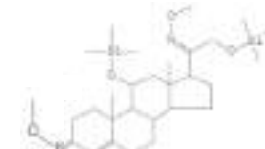

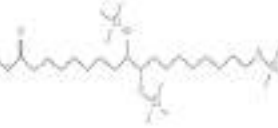
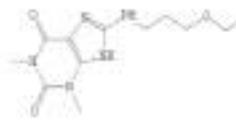
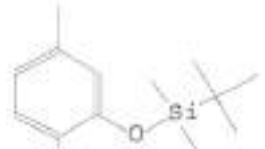
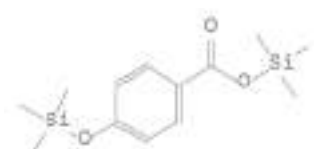
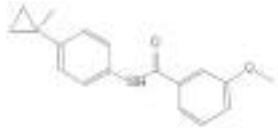
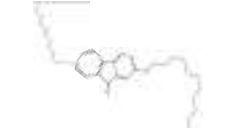
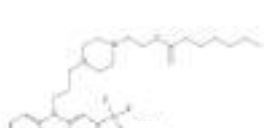
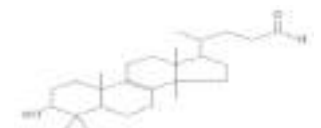

<p>1-Naphthalenepentano 1, decahydro-5-(hydroxymethyl)-5,8a-dimethyl-.gamma.,2-bis(methylene)-, (1.alpha.,4a.beta.,5.alpha.,8a.alpha.)-</p>	<p>Methyl 7.alpha.-methoxy-3-oxo-5.beta.-cholanoate</p>	<p>1-Naphthalenepentanol, decahydro-5-(hydroxymethyl)-5,8a-dimethyl-.gamma.,2-bis(methylene)-, (1.alpha.,4a.beta.,5.alpha.,8a.alpha.)-</p>	<p>Cholesterol</p>
<p>11-Octadecadienoic acid, pyrrolidide</p>	<p>Tetradecanoic acid, tetradecyl ester</p>	<p>6,10,14,18,22-Tetracosapentaen-2-ol, 3-bromo-2,6,10,15,19,23-hexamethyl-, (all-E)-</p>	<p>Cyclohexane, 1,4-didecyl-</p>
<p>Hexadecanoic acid, 1-(hydroxymethyl)-1,2-ethanediyl ester</p>	<p>Behenic acid, cyanomethyl ester</p>	<p>Tetratetracontane</p>	<p>1,2-Benzenedicarboxylic acid, diisooctyl ester</p>
<p>Diethyl Phthalate</p>	<p>Tetradecane, 1-(methylsulfinyl)-</p>	<p>7-Oxo-5-cholesten-3beta-yl benzoate</p>	<p>Cholesta-3,5-diene</p>
<p>17-Pentatriacontene</p>	<p>2,6,10,14,18,22-Tetracosahexaene, 2,6,10,15,19,23-hexamethyl-, (all-E)-</p>	<p>Tetradecanoic acid, tetradecyl ester</p>	<p>9-Hexadecenoic acid, eicosyl ester, (Z)-</p>
<p>Cholesteryl formate</p>	<p>Tetradecanoic acid, tetradecyl ester</p>	<p>Z-9-Pentadecenol</p>	<p>i-Propyl heptadecanoate</p>


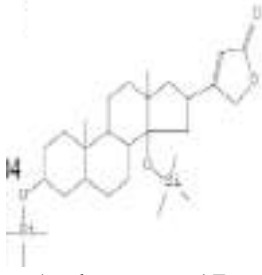
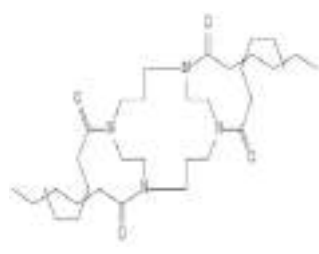
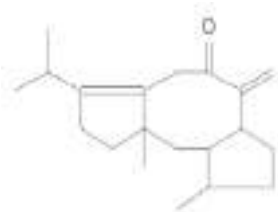
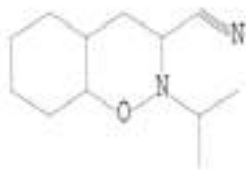
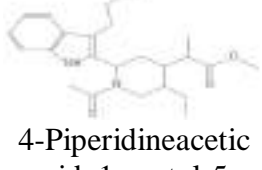
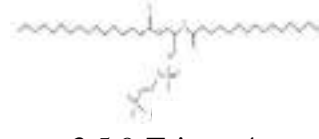
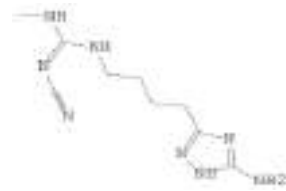

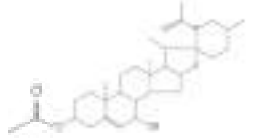

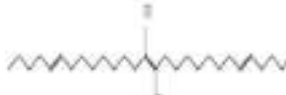


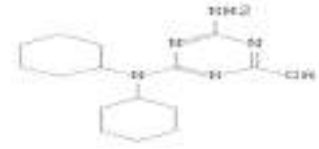
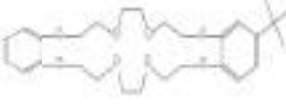
 <p>2,6,10,14,18,22-Tetracosahexaene, 2,6,10,15,19,23-hexamethyl-, (all-E)-</p>	 <p>4,4'-Diacetoxy-3-bromo-7,7'-dimethyl-1,1'-binaphthyl-5,5',8,8'-tetrone</p>	 <p>Dodecanoic acid, (4-Dodecanoylaminobutyl) amide</p>	 <p>Docosanoic acid nonyl ester</p>
--	---	---	--

4- *A. oligospora*









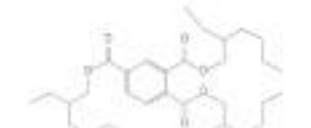

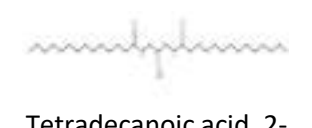
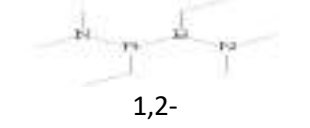
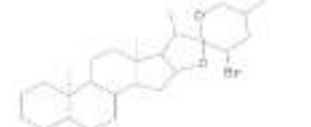


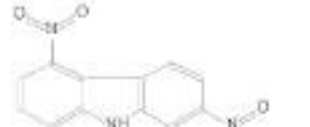
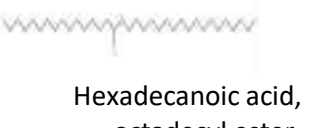
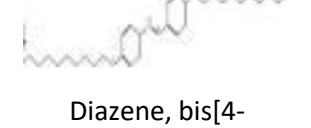

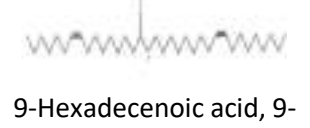
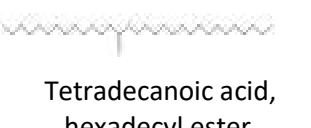
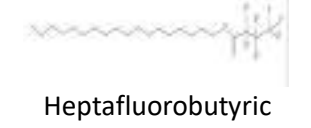


 <p>Diethyl Phthalate</p>	 <p>Methyl dioctadecyl amine</p>	 <p>Phenol, 2,2'-methylenebis[6-(1,1-dimethylethyl)-4-methyl-]</p>	 <p>1,2-Benzenedicarboxylic acid, diisooctyl ester</p>
 <p>3-[2,4-Bis(benzyloxy)phenyl]-2-formylaminoacrylic acid, benzyl ester</p>	 <p>1,3,5-Pentanetricarboxamide, N,N',N''-triheptyl-N,N',N''-trimethyl-</p>	 <p>Cholestano[3,2-c]isoquinolin-1'(2'H)-one, 3',4'-dihydro-6',7'-dimethoxy-</p>	 <p>14.alpha.-Morphinan, 7,8-didehydro-3-methoxy-17-methyl-6-methylene-</p>
 <p>Boroxin, tridecyl-</p>	 <p>Triacontane, 1-bromo</p>	 <p>1-Methyl-1-n-tetradecyloxy-1-silacyclobutane</p>	 <p>L-Proline, N-octanoyl-, hexadecyl ester</p>
 <p>Di-O-benzoyl methyl 4,6-benzylidene-.alpha.-d-galactoside</p>	 <p>Silane, [(3.alpha.,5.alpha.,11.beta.,20S)-pregnane-3,11,20,21-tetrayl]tetrakis(oxy) tetrakis(trimethyl-)</p>	 <p>N-Methyladrenaline, tri-TMS</p>	 <p>D-Glucitol, cyclic 3,4-(phenylboronate) 1,2,5,6-tetrabenzoate</p>

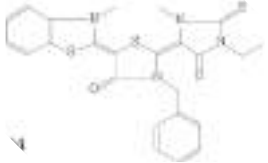
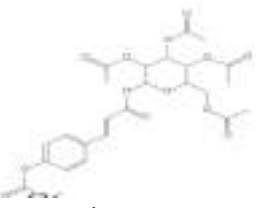
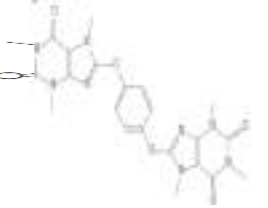
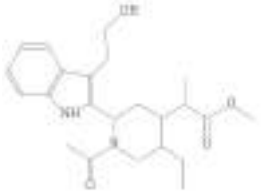
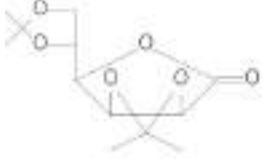






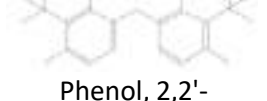

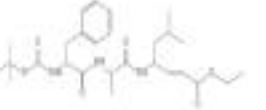
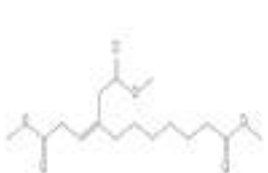





 <p>2,3,20,21-Dibenzo-1,4,7,10,13,16,19,22,25,28-decaoxacyclotriacontan-2,20-diene</p>	 <p>Octadecanoic acid, octadecyl ester</p>	 <p>N-Heptyl-N'-(3-{{2-(heptyl-methyl-carbamoyl)-acetylamino}}-methyl)-cyclohexylmethyl)-N-methyl-malonamide</p>	 <p>Hexadecanoic acid, 1-{{(hexadecyloxy)methyl}}-1,2-ethanediyl ester</p>
 <p>Levo-menthoxyacetic acid</p>	 <p>Hexadecanoic acid, eicosyl ester</p>	 <p>beta.,.beta.-Carotene, neo B</p>	 <p>8-Amino-1,3,6-triazahomoadamantane</p>
 <p>Cholestane-3,6,7-triol,(3.beta.,.5.alpha.,.6.beta.,.7.beta)</p>	 <p>.beta.,.epsilon.-Carotene, neo</p>	 <p>N4,N4-Dicyclohexyl-N1-heptyl-2-(heptylmethylcarbamoyl)-N1-methylsuccinamide</p>	 <p>2-Bromopropionic acid, decyl ester</p>
 <p>Cycloheptadecanol</p>	 <p>6-Octadecenoic acid</p>	 <p>.psi.,.psi.-Carotene, 7,7',8,8',11,11',12,12',15,15'-decahydro-</p>	 <p>Pentacontanoic acid, 18-oxo-</p>
 <p>9-Octadecene, 1-{{2-(octadecyloxy)ethoxy}}-, (Z)-</p>	 <p>3-Octanone, 8-(6-tricosyl-2-methyl-1,3-dioxan-4-yl)-4-methyl-, [4R-[4.alpha.(R*),6.beta.a.]]-</p>	 <p>N,N-Dicyclohexyl-2-(2-{{(dicyclohexylcarbamoyl)-methoxy}}-ethoxy)-acetamide</p>	 <p>17-(1,5-Dimethylhexyl)-10,13-dimethyl-4-(2-nitrophenyl)hexadecahydrocyclopenta[a]phenanthrene</p>

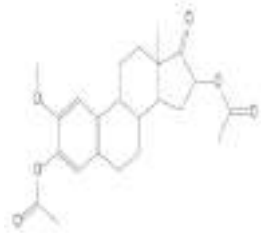
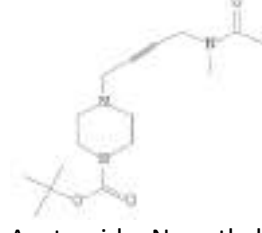
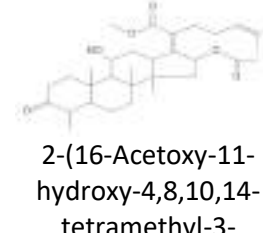





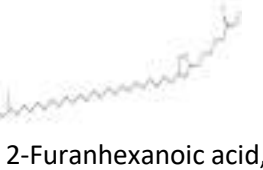


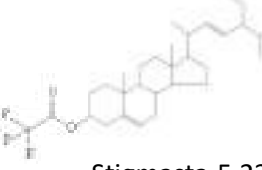
 <p>(1S,2R)-2-Acetoxy-1-[(2R,3S)-2,3-trans-3-acetoxy-3',4',7,8-tetramethoxyflavan-6-yl]-1-(3,4-dimethoxyphenyl)-3-(2,3,4-trimethoxy</p>	 <p>(1R,1S,8R,8Ar)-8-hydroxy-1-(2-acetoxyethyl)-1,2,5,5-tetramethyl-trans-decalin</p>	 <p>2,6,10,14,18,22-Tetracosahexaene, 2,6,10,15,19,23-hexamethyl-, (all-E)-</p>	 <p>9-Desoxy-9x-chloroingol 3, 7,8,12-tetraacetate</p>
 <p>Cyclotetradecane, 1,7,11-trimethyl-4-(1-methylethyl)-</p>	 <p>-Pregn 4-ene-3,20-dione, 11,21-bis[(trimethylsilyl)oxy]-, bis(O-methyloxime), (11.beta.)-</p>	 <p>.alpha.-d-Glucufuranose, 3-O-.beta.-d-mannofuranosyl-1,2:5,6-bis-O-(1-methylethylidene)-</p>	 <p>Octadecanoic acid, 9,10,18-tris[(trimethylsilyl)oxy]-, methyl ester</p>
 <p>Purine-2,6-dione, 8-(3-ethoxypropylamino)-1,3-dimethyl-3,9-dihydro-</p>	 <p>Benzene, 2-[(tert-butyl)dimethylsilyl]oxy]-1-isopropyl-4-methyl-</p>	 <p>Benzoic acid, 4-[(trimethylsilyl)oxy]-, trimethylsilyl ester</p>	 <p>Benzamide, 3-methoxy-N-[4-(1-methylcyclopropyl)phenyl]-</p>
 <p>2,7-Bis-dodecyloxy-fluoren-9-one</p>	 <p>Fluphenazine Enanthate</p>	 <p>Chol-8-en-24-al, 3-hydroxy-4,4,14-trimethyl-</p>	 <p>Pennogenin diacetate</p>

 <p>7-(4-Nitrobenzyl)-16-(toluene-4-sulfonyl)-1,4,10,13-tetraoxa-7,16-diazacyclooctadecane</p>	 <p>Androstane, 17-(2(5H)-oxofuran-4-yl)-3-(t-butyl)dimethylsilyloxy)-14-(trimethylsilyloxy)-</p>	 <p>1-(4,8,11-Trihexanoyl-1,4,8,11-tetraazacyclotetradec-1-yl)-hexan-1-one</p>	 <p>Cyclopenta[a,d]cycloocten-5-one, 1,2,3,3a,4,5,6,8,9,9a,10,10a-dodecahydro-7-(1-methylethyl)-1,9a-dimethyl-4-methylene</p>
 <p>2-Isopropyl-octahydrobenzo[e][1,2]oxazine-3-carbonitrile</p>	 <p>4-Piperidineacetic acid, 1-acetyl-5-ethyl-2-[3-(2-hydroxyethyl)-1H-indol-2-yl]-.alpha.-methyl-, methyl ester</p>	 <p>3,5,9-Trioxa-4-phosphapentacosan-1-aminium, 4-hydroxy-N,N,N-trimethyl-10-oxo-7-[(1-oxohexadecyl)oxy]-, hydroxide, inner salt, 4</p>	 <p>Guanidine, N-[4-(5-amino-1H-1,2,4-triazol-3-yl)butyl]-N''-cyano-N'-methyl-</p>
 <p>Hexatriacantanoic acid, methyl ester</p>	 <p>7-.alpha.-hydroxysolasodine, O(3),N-diacetate</p>	 <p>Hentriacontane-7,16,18-trione O-trimethylsilyl ether</p>	 <p>5,14,23-Octadecatrien-14,15-diol</p>
 <p>9-Hexadecenoic acid, methyl ester, (Z)-</p>	 <p>9-Hexadecenoic acid, octadecyl ester, (Z)-</p>	 <p>1,3,5-Triazine-2,4-diamine, 6-hydroxy-N,N-dicyclohexyl-</p>	 <p>26-t-Butyl-2,3,14,15-dibenzo-1,4,7,10,13,16,19,22-octaoxacyclotetracos-2,14-diene</p>





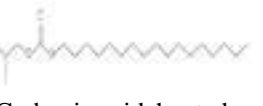
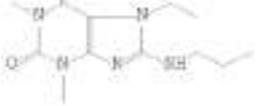


5 -*A.rutgeriense*




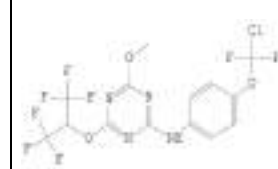
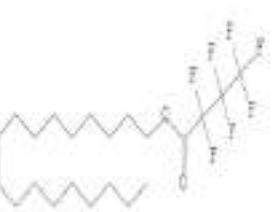

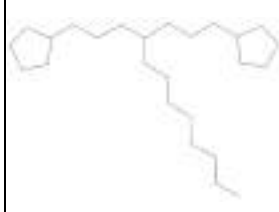
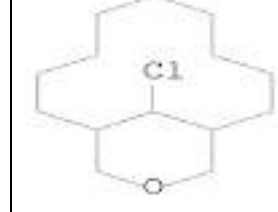



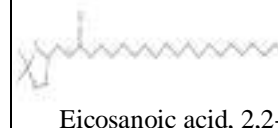
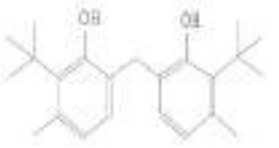
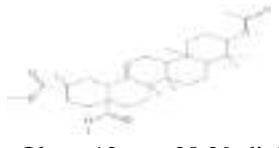






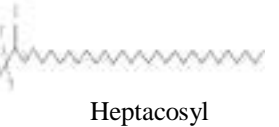
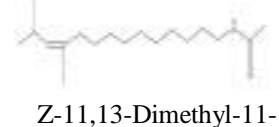
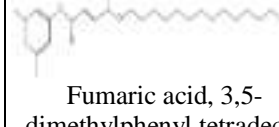
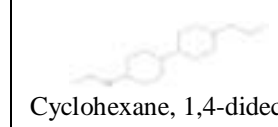
 Tetradecanoic acid, eicosyl ester	 Diethyl Phthalate	 Silane, dimethyl(2- chlorophenoxy)docosyl oxy-	 Cyclohexanepropanol, .alpha.,2,2,6- tetramethyl-
 17-(1,5-Dimethylhexyl)- 10,13-dimethyl-4-(2- nitrophenyl)hexadecah ydrocyclopenta[a]phen anthrene	 4-Norcaren-2-one, 1,3,5-tri-tert-butyl-3- [(1,3,5-tri-tert-butyl-4- oxo-2,5-cyclohexadien- 1-yl)methyl]-	 5.alpha.-Cholestan- 6.beta.-amine, N,N- dimethyl-	 Silane, methyltris[[5- methyl-2-(1- methylethyl)cyclohexyl] oxy]-
 tri(2-Ethylhexyl) trimellitate	 Cholestan-3-one, cyclic 1,2-ethanediyl acetal, (5.alpha.)-	 Tetradecanoic acid, 2- hydroxy-1,3- propanediyl ester	 1,2- Diborane(4)diamine, 1,2-diethyl-N,N,N',N'- tetramethyl-
 5.alpha.-Spirostan, 23- bromo-, (22S,23R,25R)-	 Docosanoic acid, 1,2,3- propanetriyl ester	 Deserpidine	 3,8-Dinitrocarbazole
 Hexadecanoic acid, octadecyl ester	 Diazene, bis[4- (decyloxy)phenyl]-	 Cyclooctacosane	 9-Hexadecenoic acid, 9- octadecenyl ester, (Z,Z)-
 Tetradecanoic acid, hexadecyl ester	 Heptafluorobutyric acid, n-octadecyl ester	 9-Hexadecenoic acid, tetradecyl ester, (Z)-	 Pentatriacontane


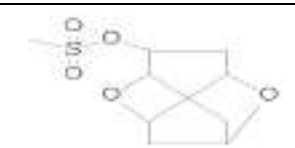
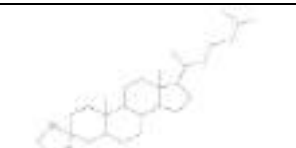


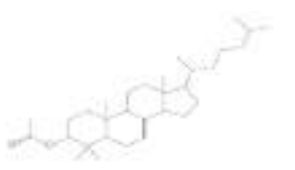
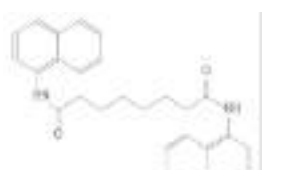
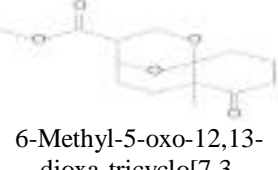




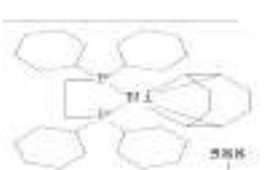

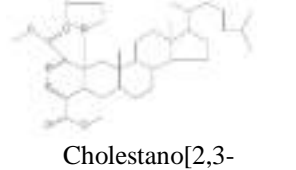
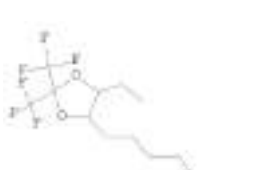


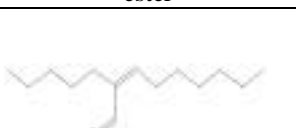

 <p>4-thiazolidinone-3-Benzyl-2-(3-ethyl-1-methyl-2-thiohydantoin-5-ylidene)-5-(3-methyl-2(3H)-benzothiazolylidene)-</p>	 <p>.beta.-D-Glucopyranose, 2,3,4,6-tetraacetate 1-[3-[4-(acetyloxy)phenyl]-2-propenoate]</p>	 <p>1,4-Bis-(1,3,7-trimethyl-2,6-dioxo-2,3,6,7-tetrahydro-1H-purin-8-ylxy)-benzene</p>	 <p>4-Piperidineacetic acid, 1-acetyl-5-ethyl-2-[3-(2-hydroxyethyl)-1H-indol-2-yl]-.alpha.-methyl-, methyl ester</p>
 <p>Mannono-1,4-lactone, 2,3:5,6-di-O-isopropylidene</p>	 <p>1-(3-Methyl-2-butenyl)-3,6-diazahomoadamantan-9-ol</p>	 <p>Octacosanoic acid, 2,4,6,8-tetramethyl-, methyl ester, [2R-(2R*,4R*,6R*,8R*)]-</p>	 <p>6-Aminocaproic acid, N-allyloxycarbonyl-, heptadecyl ester</p>
 <p>Trimristin</p>	 <p>Morpholino[5-(2-phenylethynyl)-2-furyl]methanone</p>	 <p>Trivinyl(hydroxymethyl) silane</p>	 <p>Phenol, 2,2'-methylenebis[6-(1,1-dimethylethyl)-4-methyl-]</p>
 <p>Behenic acid, dimethyl(pentafluorophenyl)silyl ester</p>	 <p>2-(E)-Heptenoic acid, (4S)-4-[(t-butoxycarbonyl-(R)-phenylalanyl-(S)-alanyl)amino]-6-methyl-, ethyl ester</p>	 <p>4-Methoxycarbonylmethylundec-3-enedioic acid, dimethyl ester</p>	 <p>Cyclohexane, 1,4-bis(benzylaminocarbonyl)-1,2,2,3,3,4,5,5,6,6-decafluoro-</p>
 <p>Nonacosanoic acid, 2,4,6-trimethyl-, methyl ester</p>	 <p>17-Pentatriacontene</p>	 <p>Eicosanoic acid, 9-hexadecenyl ester, (Z)-</p>	 <p>2-Dodecyloxyethanol acetate (ester)</p>

 <p>Estra-1,3,5(10)-trien-17-one, 3,16-bis(acetyloxy)-2-methoxy-, (16.alpha.)-</p>	 <p>Acetamide, N-methyl-N-[4-[4-t-butoxycarbonyl-1-hexahydropyrazinyl]-2-butynyl]-</p>	 <p>2-(16-Acetoxy-11-hydroxy-4,8,10,14-tetramethyl-3-oxohexadecahydrocyclopenta[a]phenanthren-17-ylidene)-6-methylhept-5-enoic acid</p>	 <p>3,9-Epoxy pregnane-11,14,18-triol-20-one, 16-cyano-3-methoxy-, 11-acetate</p>
 <p>Hexadecanenitrile</p>	 <p>9-Octadecenoic acid (Z)-, 9-hexadecenyl ester, (Z)-</p>	 <p>Glycerol 2-acetate 1,3-dipalmitate</p>	 <p>Z-9-Pentadecenol</p>
 <p>2-Furanhexanoic acid, 5-(24,26-dimethyloctacosyl)tetrahydro-, methyl ester</p>	 <p>Methyl 5,9-hexacosadienoate</p>	 <p>Z-2-Octadecen-1-ol</p>	 <p>Stigmasta-5,22-dien-3-ol, trifluoroacetate, (3.beta.,22E)-</p>

6- *Clouostachys rosea*

 <p>Oxacycloheptadecan-2-one</p>	 <p>Diethyl Phthalate</p>	 <p>l-(+)-Ascorbic acid 2,6-dihexadecanoate</p>	 <p>Cyclotetradecane, 1,7,11-trimethyl-4-(1-methylethyl)-</p>
 <p>Carbonic acid, heptadecyl isobutyl ester</p>	 <p>Purine-2,6-dione, 7-ethyl-1,3-dimethyl-8-propylamino-3,7-dihydro-</p>	 <p>Tetratriacontane, 1-bromo-</p>	 <p>Lup-20(29)-en-3-ol, acetate, (3.beta.)-</p>

			
Spiro[3-oxatricyclo[5.3.0.0(2,6)]decan-5-one-4,2'-cyclohexane], 1'-isopropyl-2,4'-dimethyl-, (1R,2S,6R,7R,1'S,4'R)-	1-Oxacyclotetradec-5-yn-2-one, 8-(t-butyl)dimethylsilyloxy-14-[4-(t-butyl)dimethylsilyloxy]butyl-	Decanoic acid, octadecyl ester	[4-(Chloro-difluoromethoxy)-phenyl]-[4-methoxy-6-(2,2,2-trifluoro-1-trifluoromethyl-ethoxy)-[1,3,5]triazin-2-yl]-amine
			
Oleyl alcohol, heptafluorobutyrate	Germanium, trimethoxy-methyl-	Dodecane, 1-cyclopentyl-4-(3-cyclopentylpropyl)-	13-Oxabicyclo[9.3.1]pentadecane, 15-chloro-
			
Heptacosyl trifluoroacetate	Pentadecyl trifluoroacetate	14-Octadecenal	Eicosanoic acid, 2,2-dimethyl-1,3-dioxolan-4-ylmethyl ester
			
Phenol, 2,2'-methylenebis[6-(1,1-dimethylethyl)-4-methyl-	Olean-12-ene-28,29-dioic acid, 3.beta.-hydroxy-, dimethyl ester, acetate	5.alpha.-Spirostan, 23-bromo-, (22S,23R,25R)-	9,19-Cyclolanost-24-ene-3,26-diol, diacetate
			
Oxalic acid, 2-ethylhexyl pentadecyl ester	9,9-Dimethoxybicyclo[3.3.1]nona-2,4-dione	Triacontane, 1-bromo-	Methyl 13-cyclopent-2-enyltridec-6-enoate - didimethylsulphide adduct
			
Heptacosyl trifluoroacetate	Z-11,13-Dimethyl-11-tetradecen-1-ol acetate	Fumaric acid, 3,5-dimethylphenyl tetradecyl ester	Cyclohexane, 1,4-didecyl-

 Docosanoic acid nonyl ester	 Methanesulfonic acid, 2,7-dioxatricyclo[4.3.1.0(3,8)]dec-5-yl ester	 Cholestan-3-one, cyclic 1,2-ethanediyl acetal, (5.alpha.)-	 1,1'-Bicyclohexyl, 4-ethoxy-4'-propyl-
 3-Desoxo-3,16-dihydroxy-12-desoxyphorbol 3,13,16,20-tetraacetate	 Cholest-7-en-3-ol, 4,4-dimethyl-, acetate, (3.beta.)-	 N,N'-Bis(1-naphthyl)suberamide	 6-Methyl-5-oxo-12,13-dioxatricyclo[7.3.1.0(1,6)]tridecane-10-carboxylic acid, methyl ester
 Hexadecanoic acid, hexadecyl ester	 Tetradecanoic acid, tetradecyl ester	 17-Pentatriacontene	 Fumaric acid, dinonyl ester
 Nickel, [(1,2,5,6-eta.)-1,5-cyclooctadiene][1,2-ethanediylbis[dicyclohexylphosphine]-P,P']-	 Cyclononane, 1,1,4,4,7,7-hexamethyl-	 Cholestano[2,3-d]cinnoline-3',6'-dicarboxylic acid, 4',5'-dihydro-4'-(1-pyrrolidinyl)-, dimethyl ester	 1,3-Dioxolane, 4-ethyl-5-octyl-2,2-bis(trifluoromethyl)-, cis-
 3-Chloropropionic acid, 4-hexadecyl ester	 9-Hexadecenoic acid, eicosyl ester, (Z)-	 2-Nonenal, 2-pentyl-	 cis-10-Heptadecenoic acid

جدول المحتويات

الصفحة	العنوان	التسلسل
الفصل الاول – المقدمة		
1	المقدمة	1
الفصل الثاني – استعراض المراجع		
3	Nematophagous fungi الفطريات المهلكة للديدان الثعبانية	1-2
4	Nematode-trapping fungi الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية	2-2
6	Metabolites Produced By Nematophagous Fungi منتجات الايض في الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية	3-2
10	Anguine tritici ديدان تأليل الحنطة	4-2
11	Trichoderma harzianum الفطر	5-2
13	Pseudomonas aeruginosa بكتيريا	6-2
13	(Abelmoschus esculentus) نبات الباميا	7-2
15	قابلية بعض الفطريات على تكسير النفط الخام	8-2
17	الطرق التحليلية في الأيض الفطري	9-2
17	Thin-Layer Chromatography (TLC) كروماتوغرافيا ذو الطبقة الرقيقة	1-9-2
18	High performance liquid chromatography (HPLC) تقنية	2-9-2
18	Gas Chromatography–Mass Spectrometry Techniques(GC-mass	3-9-2
الفصل الثالث - المواد وطرائق العمل		
19	Instruments and material used الأجهزة والمواد المستخدمة	1-3
21	تحضير الأوساط الزرعية	2-3
21	Corn Meal Agar (CMA) وسط اكار و خلاصة الذرة	1-2-3
21	Corn Meal Broth (CMB) وسط خلاصة الذرة السائل	2-2-3
21	Potato Dextrose Agar (PDA) تحضير الوسط اكار البطاطا والدكستروز	3-2-3
21	Potato Dextrose Broth (PDB) وسط مرق البطاطا والدكستروز السائل	4-2-3
21	Nutrient Broth (NB) تحضير وسط المرق المغذي السائل	5-2-3
21	Moller Hinton Agar (MHA) وسط	6-2-3
21	Glucose-peptone broth (G-PB) وسط	7-2-3
22	Minimal Synthetic Medium (MSM) وسط	8-2-3

22	وسط Mineral Salt Media (MSM)	9-2-3
23	تحضير الكواشف	3-3
23	كاشف ماير Mayer's reagent:	1-3-3
23	كاشف دراجندروف Dragendroff reagent	2-3-3
23	كاشف وكتر Wagner's Reagent	3-3-3
23	كاشف Dinitrosalicylic acid	4-3-3
24	تحضير المحاليل	4-3
24	محلول Citrate- Phosphate Buffer (CPB)	1-4-3
24	محلول Tris-HCl Buffer	2-4-3
24	أنواع الفطريات الصائفة للديدان الثعبانية المستخدمة في الدراسة	5-3
25	تتمية الفطريات الصائفة للديدان الثعبانية في أوساط التخمر	6-3
25	استخلاص مركبات الايض الثانوي للفطريات الصائفة للديدان الثعبانية	7-3
25	اختبار تأثير راشح الفطريات الصائفة للديدان الثعبانية في نمو البكتيريا	8-3
25	السلالات البكتيرية المختبرة	1-8-3
26	اختبار تأثير الراشح الفطري على نمو البكتيريا	2-8-3
26	تأثير الدالة الحامضية (pH) في نمو الفطريات الصائفة للديدان الثعبانية في المزارع السائلة	9-3
27	تأثير الدالة الحامضية pH في الفعالية ضد بكتيرية لرواشح الفطريات الصائفة للديدان الثعبانية في المزارع السائلة	10-3
27	اختبار تأثير إضافة تراكيز مختلفة من راشح الفطر <i>T.harzianum</i> في نمو الفطريات الصائفة للديدان الثعبانية في المزارع السائلة	11-3
27	تحضير راشح الفطر <i>T.harzianum</i>	1-11-3
27	اختبار تأثير إضافة راشح الفطر <i>T.harzianum</i> في نمو الفطريات الصائفة للديدان الثعبانية	2-11-3
28	دراسة تأثير إضافة تراكيز مختلفة من راشح الفطر <i>Trichoderma harzianum</i> في الفعالية ضد بكتيرية لرواشح الفطريات الصائفة للديدان الثعبانية	12-3
28	تأثير إضافة تراكيز مختلفة من راشح البكتيريا <i>P.aeruginosa</i> في نمو الفطريات الصائفة للديدان الثعبانية في المزارع السائلة	13-3
28	تحضير راشح البكتيريا <i>P. aeruginosa</i>	1-13-3
28	اختبار تأثير إضافة راشح البكتيريا <i>P. aeruginosa</i>	2-13-3
29	دراسة تأثير تراكيز مختلفة من راشح البكتيريا <i>Pseudomonas aeruginosa</i> في الفعالية ضد بكتيرية لرواشح الفطريات الصائفة للديدان الثعبانية	14-3

29	أختبار السمية الخلوية لمستخلصات الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية المختبرة	15-3
30	تأثير رواشح الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية على يرقات نيماتود <i>Anguina tritici</i>	16-3
30	تنشيط يرقات النيماتود	1-16-3
30	اختبار تأثير الراشح الفطري على يرقات النيماتود	2-16-3
30	الكشف النوعي للمركبات الايضية الفطرية	17-3
32	تأثير الراشح الفطري للفطريات الصائدة للديدان الثعبانية في نسبة انبات بذور الباميا ومعدل طول أنبوب الانبات	18-3
32	تأثير الفطري للفطريات الصائدة للديدان الثعبانية نسبة نمو بذور نبات الباميا وطول أنبوب الانبات على وسط CMA	19-3
33	الكشف عن الانزيمات في رواشح الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية	20-3
33	الكشف عن انزيم Proteinase	1-20-3
33	تقدير الفعالية الانزيمية لأنزيم Proteinase	1-1-20-3
34	تأثير درجات الحرارة على الفعالية الانزيمية لأنزيم Proteinase	2-1-20-3
34	الكشف عن انزيم Chitinase	2-20-3
34	تقدير الفعالية الانزيمية لأنزيم Chitinase	1-2-20-3
35	تأثير درجات الحرارة على الفعالية الانزيمية لأنزيم Chitinase	2-2-20-3
35	اختبار قابلية الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية في تكسير النفط الخام	21-3
36	اختبار قابلية الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية على النمو بعد تكسير النفط الخام بعد مرور 30 يوم	22-3
36	الكشف عن المركبات الموجودة في الراشح الفطري بتقنية GC-Mas	23-3
36	التحليل الاحصائي Statistical Analysis	24-3
الفصل الرابع- النتائج والمناقشة		
37	تأثير رواشح الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية في نمو البكتيريا	1-4
38	تأثير الدالة الحامضية (pH) في نمو الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية في المزارع السائلة	2-4
41	تأثير الدالة الحامضية (pH) في الفعالية ضد بكتيرية لرواشح الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية في المزارع السائلة	3-4
42	تأثير اضافة تراكيز مختلفة من راشح الفطر <i>T.harzianum</i> في نمو الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية في المزارع السائلة	4-4
45	دراسة تأثير اضافة تراكيز مختلفة من راشح الفطر <i>T.harzianum</i> في الفعالية ضد بكتيرية لرواشح الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية	5-4

48	تأثير إضافة تراكيز مختلفة من راسح البكتيريا <i>P.aeruginosa</i> في نمو الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية في المزارع السائلة	6-4
51	اختبار تراكيز مختلفة من راسح البكتيريا <i>P. aeruginosa</i> في الفعالية ضد بكتيرية لرواشح الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية	7-4
52	اختبار السمية الخلوية لمستخلصات الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية المختبرة	8-4
53	تأثير رواشح الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية على يرقات نيماتود <i>Anguina tritici</i>	9-4
55	الكشف النوعي للمركبات الايضية الفطرية	10-4
56	تأثير الراشح الفطري للفطريات الصائدة للديدان الثعبانية في نسبة انبات بذور الباميا <i>Abelmoschus esculentus</i> ومعدل طول أنبوب الانبات	11-4
61	تأثير الراشح الفطري للفطريات الصائدة للديدان الثعبانية في انبات بذور نبات الباميا ومعدل طول أنبوب الانبات على وسط CMA	12-4
63	الكشف عن الانزيمات في رواشح الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية	13-4
63	تقدير الفعالية الانزيمية لأنزيم proteinase	1-13-4
64	تقدير الفعالية الانزيمية لأنزيم Chitinase	2-13-4
65	تأثير درجات الحرارة على الفعالية الانزيمية لأنزيم proteinase	3-13-4
66	تأثير درجات الحرارة على الفعالية الانزيمية لأنزيم Chitinase	4-13-4
69	قابلية الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية في تكسير النفط الخام	14-4
69	قابلية الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية على النمو بعد تكسير النفط الخام بعد 30 يوم	15-4
75	الكشف عن المركبات الموجودة في الراشح الفطري بتقنية GC-Mass	16-4
78	الاستنتاجات	
79	التوصيات	
الفصل الخامس - المصادر		
80	المصادر العربية	1-5
82	المصادر الانكليزية	2-5
I	الملاحق	

قائمة الجداول

الصفحة	العنوان	التسلسل
19	الأجهزة والمواد المستخدمة في التجارب	1-3
20	الأوساط الزرعية والمواد الكيميائية المستخدمة في التجارب	2-3
24	الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية المستخدمة في التجارب	3-3
25	البكتريا المستخدمة في التجارب	4-3
39	تأثير قيم مختلفة من الدالة الحامضية (pH) على الوزن الطري (غم) للكثلة الحية للفطريات الصائدة للديدان الثعبانية المختبرة	1-4
40	تأثير قيم مختلفة من الدالة الحامضية (pH) على الوزن الجاف (غم) للكثلة الحية للفطريات الصائدة للديدان الثعبانية المختبرة	2-4
46	تأثير اضافة تراكيز مختلفة من راشح الفطر <i>T. harzianum</i> على الفعالية ضد بكتيرية لرواشح الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية	3-4
51	تأثير اضافة تركيز 10% من راشح البكتيريا <i>P. aeruginosa</i> على الفعالية ضد بكتيرية لرواشح الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية	4-4
55	المركبات الكيميائية التي تم الكشف عنها في رواشح الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية	5-4
64	الفعالية الانزيمية لأنزيمي proteinase و Chitinase في رواشح الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية المختبرة	6-4
66	تأثير درجات الحرارة على الفعالية الانزيمية لأنزيم Proteinase المنتج من قبل الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية	7-4
67	تأثير درجات الحرارة على الفعالية الانزيمية لأنزيم Chitinase المنتج من قبل الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية	8-4
70	قابلية الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية على تكسير النفط الخام	9-4
71	الوزن الطري والجاف للكثلة الحية (غم) وقيم الـ pH لمستعمرات الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية المختبرة بعد مرور 30 يوم من تكسير النفط الخام	10-4
76	المركبات الكيميائية المشتركة بين الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية المختبرة والمشخصة بتقنية GC-MS	11-4

قائمة الأشكال

الصفحة	العنوان	التسلسل
35	دليل التفسير الحيوي Biodegradation للنفط الخام crude oil بعد مرور 7 أيام.	1-3
37	الفعالية ضد بكتيرية لمستخلص الايض الثانوي للفطريات الصائدة للديدان الثعبانية ضد عدد من البكتريا المرضية	1-4
43	تأثير إضافة تراكيز راشح الفطر <i>T. harzianum</i> على الوزن الطري (غم) للكثلة الحية للفطريات الصائدة للديدان الثعبانية المختبرة	2-4
44	تأثير إضافة تراكيز راشح الفطر <i>T. harzianum</i> في الوزن الجاف (غم) للكثلة الحية للفطريات الصائدة للديدان الثعبانية المختبرة	3-4
47	تأثير اضافة تراكيز مختلفة من راشح الفطر <i>T. harzianum</i> لراشح الفطر <i>A. microscaphoides</i> في الفعالية التثبيطية ضد عدد من البكتريا المرضية	4-4
47	تأثير إضافة تراكيز مختلفة من راشح الفطر <i>T. harzianum</i> لراشح الفطر <i>A. oligospora</i> في الفعالية التثبيطية ضد البكتريا المرضية <i>Proteus vulgaris</i> .	5-4
49	تأثير إضافة تركيز 10% من راشح البكتيريا <i>P. aeruginosa</i> في الوزن الطري للكثلة الحية للفطريات الصائدة للديدان الثعبانية المختبرة	6-4
49	تأثير تركيز 10% من راشح البكتيريا <i>P. aeruginosa</i> في الوزن الجاف للكثلة الحية للفطريات الصائدة للديدان الثعبانية المختبرة	7-4
52	تأثير إضافة راشح البكتيريا <i>P. aeruginosa</i> بتركيز 10% الى رواشح الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية المختبرة في الفعالية ضد بكتيرية،	8-4
53	تأثير راشح الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية في موت يرقات نيماتود <i>Anguina tritici</i>	9-4
57	تأثير رواشح الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية المختبرة على نسبة انبات بذور الباميا	10-4
58	تأثير راشح الفطريات الصائدة النيماتود المختبرة على طول أنبوب انبات بذور الباميا	11-4
59	صور توضح تأثير راشح الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية غير المعقم في انبات بذور الباميا مقارنة بمعاملة السيطرة	12-4
60	صور توضح تأثير راشح الفطريات المعقم في انبات بذور الباميا مقارنة بمعاملة السيطرة	13-4
61	تأثير الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية في نمو وزيادة أنبوب الانبات لبذور الباميا	14-4
62	صور توضح تأثير الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية في نمو بذور الباميا مقارنة بمعاملة السيطرة	15-4
72	قابلية الفطريات الصائدة للديدان الثعبانية على تكسير النفط الخام بعد 7 أيام بالمقارنة مع معاملة السيطرة	16-4
73	تحطيم النفط الخام وطبيعة النمو بعد مرور 30 يوماً بالمقارنة مع معاملة السيطرة	17-4
74	الخيوط الفطرية النامية في وسط MSM بعد تكسير النفط الخام بعد مرور 30 يوماً <i>A. eudermata</i> , <i>A. cookedickinson</i>	18-4

قائمة المختصرات

المختصر	الكلمة	المختصر	الكلمة
Pa	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Ao	<i>Arthrobotrys oligospora</i>
Sm	<i>Serratia marcesens</i>	Ac	<i>A .conoides</i>
Sa	<i>Staphylococcus aureus</i>	Ack	<i>A .cookedickinson</i>
G-PB	Glucose-peptone broth	Ae	<i>A .eudermata</i>
MSM	Mineral Salt Media	Am	<i>A .microcaphoides</i>
CMA	Corn Meal Agar	Ar	<i>A.rutgeriens</i>
CMB	Corn Meal Broth	At	<i>A .thaumasia</i>
PDB	Potato Dextrose Agar	Cr	<i>Clonostachys rosea</i>
TCA	trichlo- roacctic acid	Db	<i>Drechslerella brochopaga</i>
DNS	Dinitrosalicylic acid	Ec	<i>Escherichia coli</i>
		Pv	<i>Proteus vulagaris</i>