المقاومة الاحيائية لمرض تعفن بذور وموت بادرات الحنطة المتسبب عن الفطر *Rhizoctonia solani* باستخدام عزلة فعالة للفطر *Trichoderma harzianum* Rifai منماة على أوساط غذائية قليلة التكاليف

Biological control to seed decay &damping – off diseases on Wheat caused by *Rhizoctonia solani* fungi by using biological fungus *Trichoderma harzianum* Rifai growth on cheap culture media

عدنان عبد الجليل
جامعة كربلاء / كلية الزراعة

الخلاصة :

أستخدمت كل من أوراق نباتي القصب *Phragmites communis* والطرطيع *Schanginia aegyptioce* كمصادر للكاربون ومستخلص البطاطا والمحلول المغذي(يونيغرين) كمصادر للنايتروجين ومجموعة من العناصر الغذائية لغرض تنمية وإكثار عزلة للفطر الاحيائي *Trichoderma harzianum* . أظهرت نتائج التجارب المختبرية كفاءة جميع الأوساط االغذائية عند استخدامها بطرق مختلفة وكان أفضلها وسط مسحوق أوراق الطرطيع + المحلول المغذي (يونيغرين) حيث حقق كثافة بلغت 1.9 x 10^6 بوغ / 1 غم كذلك حقق أفضلية من الناحية الاقتصادية بالإضافة إلى ذلك اثبت كفاءة تثبيطية عالية ضد الفطر الممرض *Rhizoctonia solani* بلغت 100 % واثبت فعاليته ميدانياً من خلال الرفع المعنوي لنسبة الإنبات إلى 90 % وأيضا حقق خفض معنوي للنسبة المئوية لتعفن البذور وموت البادرات إلى 10 % مقارنةً بمعاملة السيطرة الملوثة التي بلغت نسبة الإنبات فيها 66.6 % والنسبة المئوية لتعفن البذور وموت البادرات 33 % في حين لم تختلف معنوياً عن معاملة المبيد الكيميائي vitavax ومعاملة السيطرة غير الملوثة .

Abstract:

This study was carried out to determine the effect of *Phragmites communis* & *Schanginia aegyptioce* leaves used as source of carbon and potato extract & nutrition solution (unigreen) used as source of nitrogen & other nutrients elements on the growth and probagetion of the biological fungus *Trichoderma harzianum* . The Laboratory experiments showed that although all the culture media were effective , *Schanginia aegyptioce* powder + nutrition solution (unigreen) was the most effective concerning the sporulation (1.9 x ^{6}10 spore/ gm).

Also It achieved better economical value since it verified highly effective on *Rhizoctonia solani* attained 100% since it increased significantly the percentage of seed emergence to 90 % & significantly decrease the percentage of seedling damping- off which reached 10 % compared with control treatment (contaminated) the percentage of seed emergence reached 66.6 % & the percentage of seedling damping- off reached 33 % . On the other rand, it did not differ significantly from the treatments of the chemical fungicide (vitavax) and control (uncontaminated) treatment.

المقدمة :

يعود محصول الحنطة *Triticum aestivium* L. إلى العائلة النجيلية Graminea وهو من أوسع المحاصيل انتشارا في العالم ويعتمد عليه كغذاء معظم سكان العالم (اليونس واخرون ، 1987).

يتعرض المجموع الخضري والجذري لنبات الحنطة وفي مختلف مراحل نموه إلى المئات من الكائنات الحية المجهرية ومنها مسببات أمراض تعفن الجذور وموت البادرات والذبول الوعائي التي تعتبر من أهم الإمراض التي تسبب خسائر كبيرة على المحاصيل الزراعية المختلفة فأمراض موت البادرات تسبب خسائر قد تصل إلى 100% في بعض المحاصيل .

يعتبر الفطر *Rhizoctonia solani* من مسببات أمراض تعفن البذور وموت البادرات و أكثرها أمراضية على نبات الحنطة (ديوان وجماعتة ، 2007) أضحت المبيدات الكيميائية الوسيلة الرئيسية في السيطرة على الآفات الزراعية ومنها الأمراض النباتية وبخاصة أمراض الجذور وموت البادرات حيث استخدمت ولازالت تستخدم على نطاق واسع في الحد من

أضرار هذه الأمراض ورافق هذا الاستخدام الواسع للمبيدات ظهور مشكلات عديدة من أهمها التأثيرات الجانبية المحتملة لهذه المركبات وخاصة بعد أن وصل تركيز بعض المبيدات في الكثير من المنتجات الغذائية النباتية والحيوانية مستوى جعل استهلاكها من قبل الإنسان غير مأمون بالإضافة إلى أن الاستخدام الواسع لبعض المبيدات أدى الظهور سلالات مقاومة من المسببات المرضية لتلك المبيدات(Abd-ElMoity ، 1985 وعلوان ، 2005)

دفعت المعطيات المشار إليها سابقاً بالعديد من الباحثين للدعوة إلى ضرورة العودة إلى تطبيق المبادئ الحيوية والطبيعية في معالجة الآفات الزراعية حيث اتجهت الاستراتيجيات الحديثة في المكافحة إلى استخدام الكائنات الحية الفعالة كعوامل احيائية لمكافحة الآفة اوترشيد استخدام المبيدات اوالحد منها او إيجاد البديل الملائم لها (أمين وجماعتة ، 2005) .

أثبت الدراسات خلال العقدين الماضيين نجاح الفطر *Trichoderma harzianum* في مقاومة العديد من الأمراض النباتية واعتباره من أفضل فطريات المقاومة الاحيائية استعمالاً وذلك لسهولة عزله من التربة وسرعة نموه وإكثاره ولتوفر متطلبات نموه بأسعار زهيدة فضلاً عن تعدد آليات عمله من تطفل وتضاد للممرضات وتشجيعه لنمو النبات وزيادة الإنتاج ، وهذه الخصائص شجعت العديد من الباحثين للعمل على توظيف هذا الفطر في المجال التطبيقي من خلال تحويله إلى منتجات صناعية سهلة الاستعمال والتداول وذات فعالية عالية ضد الممرضات النباتية (علوان ، 2005) .

وهذا ما هدف إليه البحث أيضا عن طريق اختبار الكفاءة التضادية لعزلة من الفطر الاحيائي *Trichoderma harzianum* والبحث عن وسط تخمري مناسب لتنمية الفطر عليه يتصف بكفاءة عالية في تنمية عزلة الفطرالاحيائي وانخفاض كلفته وسهولة استخدامه وتوفره في البلد وتقيم كفاءته ضد مرض تعفن بذور وموت بادرات الحنطة المتسبب عن الفطر الممرض *Rhizoctonia solani* .

المـــــواد وطـــرائق العمـــــل :

اختبار القدرة الامراضية للفطر *Rhizoctonia solani*

تم الحصول على عزلة من الفطر الممرض *Rhizoctonia solani* من مختبر الدراسات العليا في كلية الزراعة / جامعة الكوفة عقمت تربة مزيجية باستخدام جهاز التعقيم البخاري Autoclave بدرجة حرارة 121 م وضغط 1 جو لمدة 30 دقيقة قسمت إلى نصفين وجرى تلويث القسم الأول بالفطر الممرض *Rizoctonia solani* حسب طريقة Thoruson وجماعته (1971) حيث أضيفت محتويات طبق قطره 9سم من مزرعة الفطر الممرض إلى 90 مل ماء مقطر ثم مزج الخليط باستخدام الخلاط الكهربائي لمدة 1- 2 دقيقة ثم أضيف الخليط (العالق الفطري) إلى التربة وبنسبة 90 مل / 1 كغم تربة وزعت التربة الملوثة على أصص بلاستيكية معقمة سعة 150 غم / تربة وبواقع 5 مكررات في حين وزع القسم الثاني من التربة المعقمة على الأصص البلاستيكية وبنفس عدد المكررات وبعد 3 أيام زرعت بذور الحنطة صنف إباء 99 بعد تعقيمها بهايبوكلوريد الصوديوم (2%) لمدة دقيقتين ثم غسلها بماء معقم وزرعت 10 بذور بكل أصيص سقيت باحتراس وتم تغطيتها بالسيلوفين للحفاظ على الرطوبة وتركت في المختبر وبعد ها سجلت نسبة الإنبات وتعفن البذور وموت البادرات .

اختبار القدرة التضادية للفطرالاحيائي *Trichoderma harzianum* Rifai. ضد الفطر الممرض *Rizoctonia solani*

تم الحصول على عزلة للفطر الاحيائي *T.harzianum* من مختبر الدراسات العليا في كلية الزراعة / جامعة الكوفة معزولة من التربة ومشخصة وتم اكثارها على الوسط Potato Dextrose Agar (P.D.A.) معقم وحضنت في الحاضنة بدرجة حرارة 28 م لمدة أسبوع بعدها تم اختبار قدرتها التضادية با ستعمال طريقة الزرع المزدوج (Double-culture- technique) إذ قسم الطبق البتري الحاوي على الوسط الغذائي P.D.A إلى قسمين متساويين ، ولقح مركز القسم الأول بقرص قطرة 0.5 سم من الوسط الغذائي النامية علية مستعمرة *T.harzianum* بعمر 7 أيام.

أما مركز القسم الثاني فقد لقح بقرص مماثل من النمو الفطري للفطر الممرض *Rizoctonia solani* بعمر 7 أيام أيضا ، وكررت كل معاملة ثلاثة مرات ، مع تنفيذ معاملة مقارنة وذلك بتلقيح مركز القسم الأول من الطبق بالفطر الممرض *Rizoctonia solani* ونفس العدد من الأطباق لقحت بالفطر الاحيائي *T.harzianum* فقط للمقارنة أيضا .

وضعت الأطباق في الحاضنة عند درجة حرارة 28 مْ لمدة 7 أيام ، وبعد فترة التحضين تم قياس معدل أقطار النمو القطري للفطر الممرض والفطرالاحيائي (علوان ،2005)

و تم تحديد درجة التضاد حسب مقياس Bell وجماعتة (1982) المكون من خمسة درجات :-

- يغطي فطر المقاومة الاحيائية الطـــــبق بالكامل = 1
- يغطي فطر المقاومة الاحيائية ثلاثة ارباع الطبق = 2
- يغطي فطر المقاومة الاحيائية 1/2 الطبـــــق =3
- يغطي الفطر الممرض ثلاثة ارباع الطبـــــق = 4
- يغطي الفطر المـــمرض الطـــــبق بالكامـــــل =5

يعد فطر المقاومة الإحيائية مضادا للفطر الممرض والفطريات المرافقة إذا كان معدل القراءات يساوي أو اقل من (2) .

اختبار كفاءة عدد من الأوساط الغذائية لتنمية وإكثار عزلة الفطر الاحيـــــــــائي *T. harzianum*

جرى اختبار عدد من الأوساط الغذائية لغرض تنمية وإكثار عزلة الفطر الاحيـــــــــــــائي *T. harzianum* وتمثلت بالاتي :

1- الوســـط P.D.A.
2- مستخلص أوراق القصب + مستخلص البطاطا + مادة ألاكا ر(Agar)
3- مستخلص أوراق القصب + المحلول المغذي (يونيغرين*) + مادة ألاكا ر(Agar)
4- مستخلص أوراق القصب + مستخلص البطاطا + المحلول المغذي (يونيغرين) + مادة ألاكا ر(Agar)
5- مستخلص أوراق الطرطيع + مستخلص البطاطا + مادة ألاكا ر(Agar)
6- مستخلص أوراق الطرطيع+ المحلول المغذي (يونيغرين) + مادة ألاكا ر(Agar)
7- مستخلص أوراق الطرطيع + مستخلص البطاطا + المحلول المغذي (يونيغرين) + مادة ألاكا ر(Agar)

استخدمت مستخلص كل من أوراق القصب وأوراق الطرطيع كمصادر للكربون في الأوساط أعلاه .

وجرى تحضير مستخلص أوراق القصب *Phragmites communis* والطرطيع *Schanginia aegyptioce* من خلال جمع أوراق كل منهما من مجمع جامعة كربلاء غسلت وجففت بالمختبر مع التقليب المستمر بعدها سحقت العينات باستخدام جهاز الطاحونة الكهربائية ثم اخذ 100 غم من كل منها وأضيف إلى لتر من الماء القطر وجرى طبخها لمدة 30 دقيقة بدرجة حرارة الغليان بعدها تركت لتبرد ثم رشح الخليط باستخدام مناخل دقيقة وحفضت لحين الاستخدام.

استخدم مستخلص البطاطا والمحلول المغذي (يونيغرين) كمصادر للنيتروجين والعناصر الغذائية الأخرى وجرى تحضير مستخلص البطاطا من خلال اخذ 200 غم بطاطا بعد غسلها وتقطيعها قطعاً صغيرة وضعت في دورق زجاجي وأضيف إليها لتر من الماء المقطر غليت لمدة 20 دقيقة بعدها تركت لتبرد ثم رشح المزيج واخذ الراشح وعقم بجهاز التعقيم البخاري Autoclave لمد 20 دقيقة وحفض بالثلاجة لحين الاستخدام
(عبد الجليل ، 2004) .

* المحلول المغذي يونيغرين هو سماد ورقي متكامل يحوي على النيتروجين بنسبة 10 % والفسفور 4% والبوتاسيوم 7% وكميات قليلة تقدر بأجزاء من المليون لعناصر النحاس ، الزنك ، الحديد ، المنغنيز ، البورون والموليبدنم. إنتاج شركة أدونيس ش.م.ل- لبنان .

جرى خلط مستخلص كل من أوراق القصب وأوراق الطرطيع مع مستخلص البطاطا وبنسبة 2: 1 لكل منها وأضيفت مادة الاكار بنسبة 15 غم / 1 لتر وجرى تحضير وسط P.D.A. من اجل المقارنة

وزعت الأوساط في دوارق سعة 250 مل أضيف في كل دورق 100مل من كل وسط عقم بجهاز التعقيم البخاري Autoclave لمدة 20 دقيقة أضيف المحلول المغذي بمقدار 0 1 مل / لتر من خليط مستخلص الأوراق ومستخلص البطاطا و50 مل / لتر من مستخلص أوراق القصب وأوراق الطرطيع فقط كل على حدا يضاف المحلول المغذي بعد الانتهاء من التعقيم.

وزعت محتويات كل دورق في 5 أطباق بتري معقمة وبواقع 20مل لكل طبق وبعد تصلب الوسط لقحت جميع الأطباق بالفطر الاحيائي *T. harzianum* المنمى على الوسط P.D.A. وبعمر أسبوع بأقراص قطرها 0.5 سم وضع في مركز كل طبق حضنت جميع الأطباق بدرجة حرارة 28 م وجرى مراقبتها يومياً بعدها تم حساب النمو القطري للفطر الاحيائي وأيضا حساب عدد الابواغ بواسطة شريحة Haemocytometer بعد 14 يوم .

دراسة تأثير بعض المعاملات الأولية على المصدر الكربوني لعدد من الأوساط الغذائية السائلة في تنمية وإكثار عزلة الفطر الاحيـــــــــائي *T. harzianum*

أجري هدا الاختبار لتحديد الطريقة الأفضل في تهيئة المصدر الكربوني المتمثل بأوراق كل من القصـــــب *Phragmites communis* والطرطيع *Schanginia aegyptioce* باعتبارها مواد سليلوزية يفضل أجراء بعض المعاملات الأولية وجعلها أكثر ملائمةً لنمو عزلة الفطر الاحيائي *T. harzianum* وكذلك تقيم تأثير القوام السائل للوسط الغذائي على نمو وإكثار عزلة الفطر الاحيـــــــــائي اتبعت المعاملات الأولية التالية على مسحوق أوراق كل من القصب والطرطيع وتحضير مستخلصاتهما وهي :

- الطريقة الحرارية

جرى تحضير مستخلص أوراق القصب والطرطيع بنفس طريقة تحضيره في التجربة السابقة.

- الطريقة الحامضية

عرض المسحوق الجاف لأوراق القصب والطرطيع إلى حامض الكبريتيك المخفف تركيز 5% و يترك الخليط لمدة 24ساعة بعدها يجمع الراشح بواسطة مناخل دقيقة .

استخدم مستخلص البطاطا والمحلول المغذي (يونيغرين) كمصادر للنايتروجين والعناصر الغذائية الأخرى بنفس طريقة التجربة السابقة وبنفس النسب والتركيز .

استناداً إلى نتائج التجربة السابقة تم اختيار عدد من الأوساط الغذائية التي أثبتت أفضلية في تنمية وإكثار عزلة الفطر الاحيائي وجرى استخدامها كالأتي :

1- مستخلص أوراق القصب (الطريقة الحرارية) + مستخلص البطاطا
2- مستخلص أوراق القصب (الطريقة الحامضية) + مستخلص البطاطا
3- مستخلص أوراق القصب (الطريقة الحرارية) + المحلول المغذي (يونيغرين)
4- مستخلص أوراق القصب (الطريقة الحامضية) + المحلول المغذي (يونيغرين)
5- مستخلص أوراق الطرطيع (الطريقة الحرارية) + مستخلص البطاطا
6- مستخلص أوراق الطرطيع (الطريقة الحامضية) + مستخلص البطاطا
7- مستخلص أوراق الطرطيع(الطريقة الحرارية) + المحلول المغذي (يونيغرين)
8- مستخلص أوراق الطرطيع(الطريقة الحامضية) + المحلول المغذي (يونيغرين)

وزعت الأوساط في دوارق سعة 250 مل أضيف في كل دورق 100 مل من كل وسط عقمت جميع الدوارق بجهاز التعقيم البخاري Autoclave لمدة 20 دقيقة وأضيف المحلول المغذي بعد الانتهاء من التعقيم لقحت جميع الدوارق بإضافة خمسة اقراص قطر 0.5 سم من عزلة الفطر الاحيائي النامية على الوسط .P.D.A وبعمر أسبوع ذات كثافة لقاحية مقدارها 100.000 بوغ / 1 مل حضنت جميع الدوارق بدرجة حرارة 28 م لمدة 14 يوم مع الأخذ بنظر الاعتبار رج الدوارق كل يوم بعد الانتهاء من فترة التحضين قدرت أعداد السبورات في 1 مل لكل وسط وبطريقة التخافيف حيث استخدم التخفيف 1/ 1000 (بدن وديوان ، 1999) .

تقييم كفاءة عدد من الأوساط الغذائية الجافة في تنمية وإكثار وتحميل عزلة الفطر الاحيائي *T. harzianum*

أستناداً إلى التجارب السابقة والتي أظهرت فيها الأوساط التخمرية (خلاصة أوراق الطر طيع + محلول مغذي وخلاصة أوراق الطر طيع + مستخلص البطاطا) أفضلية في نمو وإكثار عزلة الفطر الاحيائي تم أجراء هذا الاختبار لتحديد كفاءة هذه الأوساط في تنمية وإكثار وتحميل الفطر الاحيائي *T. harzianum* وهي جافة .

عقم مسحوق أوراق الطرطيع باستخدام جهاز التعقيم البخاري Autoclave لمدة 30 دقيقة بعدها لقح مسحوق الأوراق بعد أن برد بالفطر الاحيائي حيث وضع 90 غم من المسحوق في وعاء جهاز الخلاط الكهربائي المعقم وأضيف إليه محتويات طبق بتري بقطر 9سم يحوي على عزلة الفطر الاحيائي النامية على وسط .P.D.A وبعمر 10 أيام ذات كثافة لقاحية مقدارها 100.000 بوغ / 1 مل وجرى تشغيل الجهاز لمدة 2 دقيقة لغرض توزيع لقاح الفطر الاحيائي وبشكل متساوي بعدها وزع في دوارق سعة 150 مل وبواقع 30 غم لكل دورق وبثلاث مكررات لكل معاملة أضيف مستخلص البطاطا المعقم للمعاملة الأولى والمحلول المغذي تركيز 10 % للمعاملة الثانية وبواقع 10 مل حضنت بعدها جميع الدوارق بدرجة حرارة 28 م اخذين بنظر الاعتبار رج الدوارق كل يوم لمنع تكون التكتلات ولمدة أسبوعين بعد الانتهاء من فترة التحضين قدرت أعداد السبورات في 1 غم لكل وسط تخمري وبطريقة التخافيف حيث استخدم التخفيف 1/ 1000 (علوان ، 2005 و العاشور , 2005) .

تقييم كفاءة المستحضر الحيوي مختبرياً

اعتماداً على ضوء نتائج التجارب السابقة تم اعتماد مسحوق أوراق الطرطيع + المحلول المغذي (يونيغرين) كوسط تخمري وكمادة حاملة لعزلة الفطر الاحيائي *T. harzianum* حيث جرى اختبار كفاءته ضد الفطر الممرض *Rizoctonia solani* وكالاتي عملت سلسلة من التخافيف للمستحضر الحيوي حتى التخفيف 1 / 1000 تحت ظروف معقمة وباستخدام ماصة معقمة لكل تخفيف نقل 1 مل من التخفيف الأخير إلى أطباق بتري معقمة ثم أضيف الوسط ألزرعي P.D.A المعقم وتم تحريك الأطباق بصورة رحوية لضمان توزيع اللقاح بصورة متساوية على الوسط حضنت الأطباق لمدة 24 ساعة بدرجة حرارة 28 م عملت معاملة للمقارنة باستخدام المبيد الكيميائي vitavax وذلك بتسميم الوسط ألزرعي P.D.A المعقم وبتركيز 5 غم / لتر وعملت معاملة مقارنة أخرى تتضمن الوسط ألزرعي P.D.A المعقم فقط وبواقع ثلاث مكررات لكل معاملة ، بعدها جرى تلقيح مراكز جميع الأطباق بأقراص قطرها 0.5 سم مأخوذة من حافة مستعمرة الفطر الممرض *Rizoctonia solani* بعمر أسبوع وحظنت جميع الأطباق بدرجة حرارة 28 م وبعد وصول

الفطر الممرض إلى حافة الطبق في معاملة المقارنة (الفطر الممرض فقط) حسبت نسبة التثبيط حسب معادلة Abbot الواردة في كتاب شعبان والملاح (1993) وذلك بأخذ معدل قطرين متعامدين من ظهر الطبق يمران بمركز القرص .

$$\text{نسبة التثبيط \%} = \frac{\text{معدل أقطار مستعمرات الفطر في المقارنة - معدل أقطار مستعمرات الفطر في المعاملة أي معاملة الفطر الممرض فقط}}{\text{معدل أقطار مستعمرات الفطر في المقارنة أي معاملة الفطر الممرض فقط}} \times 100$$

تقيم كفـــاءة المستحضر الحيوي لعزلة الفطر الاحيائي *T. harzianum* ميدانياً.

جلبت تربة مزيجية عقمت بالفورمالين بتركيز2% بعد ذلك ملئت أصص بلاستيكية قطرها 7 سم وسعتها 150 غم لوثت التربة بالفطر الممرض *R . solani* تركت جميع الأصص في المختبر لمدة 3 أيام ثم نفذت المعاملات وبمعدل ثلاث مكررات لكل معاملة زرعت البذور صنف إباء 99 بمعدل 10 بذرة / أصيص مع العلم أن البذور عقمت باستخدام محلول هايبوكلوريد الصوديوم تركيز 2% لمدة دقيقتين ثم غسلت بماء مقطر ونشفت بورق الترشيح.

وشملت المعاملات الآتية :

1- معاملة المستحضر الحيوي (مسحوق أوراق الطرطيع + المحلول المغذي)
وضعت التربة في كيس سيلوفان ثم أضيف إليها المستحضر الحيوي بنسبة 1% بعدها رج الخليط جيدا ليتجانس المستحضر مع التربة ثم وضعت التربة في الأصص وزرعت بالبذور .

2- معاملة المبيد الكيميائي فيتافكس vitavax
عفرت البذور بالمبيد الكيميائي بتركيز 5 غم / 1 كغم بذور بعد ذلك زرعت.

3- معاملة المقارنة الملوثة بالفطر الممرض فقط .
زرعت البذور في الأصص ذات التربة الملوثة بالفطر الممرض مباشرة .

4- معاملة المقارنة غير الملوثة بالفطر الممرض
زرعت البذور في الأصص ذات التربة غير الملوثة بالفطر الممرض مباشرة .

وبعد مرور أسبوعين تم حساب النسبة المئوية للإنبات والنسبة المئوية لتعفن البذور وموت البادرات ومعدل طول النبات (سم) والوزن الجاف للمجموع الخضري والجذري (غم) .

النتـــائج والمناقشـــــة :

اختبار القدرة الامراضية للفطر *Rizoctonia solani*

أثبتت نتيجة هذا الاختبار جدول (1) القدرة الامراضية العالية لعزلة الفطر *Rizoctonia solani* من خلال تسببها بخفض لنسبة إنبات بذور الحنطة حيث بلغت 66% في حين معاملة المقارنة ارتفعت إلى 100 %
، أما النسبة المئوية لتعفن البذور وموت البادرات فقد بلغت 34 % في حين كانت في معاملة المقارنة 0% .
جاءت هذه النتيجة متفقة مع ما توصل إليه سعد (2001) وعلوان (2005) .
وأيضاً المعروف عن الفطر الممرض *Rizoctonia solani* قدرتة على إصابة النباتات في مختلف مراحل النمو ويعد من أهم مسببات تعفن البذور وموت البادرات في العراق ويسبب خسائر كبيرة (البهادلي وجماعته ، 1988) .

جدول (1) تأثير الفطر الممرض *Rizoctonia solani* في معدلات نسبة الإنبات وموت البادرات

المعامـــــــلة	النسبة المئوية للإنبات %	النسبة المئوية لموت البادرات %
المقـــــارنة	100	0
الفطر *Rizoctonia solani*	66	34

كل رقم في الجدول يمثل معدل ثلاث مكررات

اختبار القدرة التضادية للفطر الاحيائي *T. harzianum* ضد الفـــــطر الممـــــرض *Rizoctonia solani*

أظهرت نتائج هذا الاختبار القدرة التضادية العالية لعزلة الفطر الاحيائي *T . harzianum* ضد الفطر الممرض *R solani* حيث بلغت 1.2 حسب السلم الخماسي الذي ذكره Bell وجماعته(1982)
أشار Sharma و Roy (1979) و EL- Farnawany (1996) إلى أن القدرة التضادية للفطر الاحيائي *T. harzianum* تعود إلى الاستعمار السطحي لهايفات للفطر الاحيائي أو عن طريق اخترقه المباشر لهايفات الفطريات الممرضة أو عن طريق تكوين عضو لأصق Appresorium أو تكوين أشباه العقد على هايفات الفطر *R. solani* ، كما أنها قد تعود إلى إفراز واحد أو أكثر من المضادات الحياتية الآتية إلى البيئة مثل :
الـTrichodermin والـEmodine والـGlyatoxins اوالـPachybascine والتي تعمل على تثبيط نمو الفطريات الممرضة (Papavizaz، 1985).
أن هذه النتيجة تتفق مع نتائج دراسات سابقة فقد أبدى الفطر الاحيائي *T. harzianum* كفاءة عالية في قدرته التضادية ضد الفطريات الممرضة *Pythium* spp و *F.solani*، حيث تفوق معنويا على معاملة المقارنة ووصلت درجة تضاده إلى 1.33 مع الفطرين الممرضين وذلك حسب سلم التقييس الخماسي (عبد الله ، 2003).

اختبار كفاءة عدد من الأوساط الغذائية لتنمية وإكثار عزلة الفطر الاحيـــائي *T. harzianum*

أوضحت نتائج هذا الاختبار جدول (2) كفاءة جميع الأوساط التخمرية في تنمية وإكثار عزلة الفطر الاحيائي *T. harzianum* من خلال عدم وجود فرو قات معنوية بينها وبين الوسط ألزرعي P.D.A. وكان أفضلها الأوساط مستخلص أوراق الطرطيع + مستخلص البطاطا + أكار،مستخلص أوراق الطرطيع+ المحلول المغذي (يونيغرين) + أكار و مستخلص أوراق القصب + مستخلص البطاطا + أكار حيث بلغ قطر النمو9 سم لكل منها و عدد الابواغ 1.2×10^5 ، 1.1×10^5 و 9×10^4 / 1مل على التوالي

جدول (2) كفاءة عدد من الأوساط الغذائية لتنمية وإكثار عزلة الفطر الاحيـــــــائي *T. harzianum*

ت	الأوســـــــــــــــاط	أقطار النمو سم	معدل عدد عدد الاسبورات في 1مل	لوغارتيم معدل عدد الاسبورات
-1	الوسط ألزرعي P.D.A.	9	1.8×10^5	5.255
-2	مستخلص أوراق الطرطيع + مستخلص البطاطا + أكار	9	1.2×10^5	5.079
-3	مستخلص أوراق الطرطيع+ المحلول المغذي + أكار	9	1.1×10^5	5.041
-4	مستخلص أوراق القصب + مستخلص البطاطا + أكار	9	9×10^4	4.954
-5	مستخلص أوراق الطرطيع+ المحلول المغذي+ مستخلص البطاطا + أكار	8.66	4.8×10^4	4.681
-6	مستخلص أوراق القصب+ المحلول المغذي+ مستخلص البطاطا + أكار	9	3.2×10^4	4.505
-7	مستخلص أوراق القصب+ المحلول المغذي + أكار	8	2.8×10^4	4.447
	L.S.D	لا توجد اختلافات		لا توجد اختلافات

كل رقم في الجدول يمثل معدل 5 مكررات

قد يكون مرد ذلك إلى توفر المتطلبات الأساسية لنمو والتكاثر والمتمثلة بالمصدر الكاربوني والنايتروجيني والعناصر الغذائية الأخرى المتوفرة في هذه الأوساط و تتفق هذه النتيجة مع نتائج دراسات سابقة اثبت فيها الفطر الاحيائي *T. harzianum* القدرة على النمو والتكاثر على المصادر الطبيعية والمخلفات الصناعية والزراعية فقد استعمل السماد الحيواني وقش الحنطة ونشارة الخشب وقش الشعير والدخن ونخالة الرز والحنطة، وأوراق الجرائد وكذلك استخدمت بدور السلجم والمولاس وحبوب العائلة البقولية لتنمية وإكثار الفطر *T. harzianum* (طه ،1990 و Paning batam، 1997 والمالكي ، 2002 وسعد ، 2001، Wolffhechel و Funekjensen، 1992) .

اختبار تأثير بعض المعاملات الأولية على المصدر الكربوني لعدد من الأوساط الغذائية السائلة في تنمية وإكثار عزلة الفطر الاحيـــــــائي *T. harzianum*

أظهرت نتائج هذا الاختبار جدول (3) عدم وجود فرو قات معنوية بين المعاملات وحققت الأوساط الغذائية مستخلص أوراق الطرطيع (الطريقة الحرارية) + مستخلص البطاطا

مستخلص أوراق الطرطيع (الطريقة الحرارية) + المحلول المغذي
مستخلص أوراق القصب (الطريقة الحرارية) + مستخلص البطاطا
أفضلية حيث بلغت 1.3 x 10^5 ، 1.06 x 10^5 ، 9.8 x 10^4 بوغ / 1مل على التوالي أثبتت المعاملات الأولية التي عملت على المصدر الكاربوني للأوساط الغذائية المستخدمة في هذا الاختبار تأثيرها الايجابي على نمو وإكثار الفطر الاحيائي وقد يكون تفسير ذلك هوان المصدر الكاربوني لهذه الأوساط والمتمثل بأوراق كل من القصب والطرطيع يعتبر مواد سليلوزية يفضل أجراء بعض المعاملات الأولية سواء كانت التحلل الحامض أو استخدام مركبات خاصة مثل بيرو كسيد الهيدروجين القاعدي أو أجراء المعاملات الحرارية عليها والتي تودي لتحطيمها وتخريب التركيبة البلورية وفك ارتباطة بالمواد الأخرى وجعله أكثر ملائمةً لنمو عزلة الفطر الاحيائي *T. harzianum* (الخفاجي ، 1990)
وهذه النتيجة تتوافق مع ما توصل اليه الراوي والعاني (2007) عند استخدامها لمصادر كاربونية مختلفة تمثلت بقوالح الذرة الصفراء وقش الحنطة وسبوس الرز وقشور لتمر بالإضافة إلى ورق الترشيح والقطن والسيليلوز والمولاس وعصير التمر فضلاً عن السيليلوز النقي لغرض تنمية عزلة محلية للفـــطر *Aspergillus* sp. لغرض إنتاج إنزيم السيليليز حيث كان ألأفضل قش الحنطة المعامل ببيرو كسيد الهيدروجين القاعدي .

جدول (3) تأثير بعض المعاملات الأولية على المصدر الكربوني لعدد من الأوساط الغذائية السائلة في تنمية وإكثار عزلة الفطر الاحيـــــــائي *T. harzianum*

ت	الأوســـــــــــــــــاط	معدل عدد عدد الاسبورات في 1مل	لوغارتيم معدل عدد الاسبورات
1	مستخلص أوراق القصب (الطريقة الحرارية) + مستخلص البطاطا	9.8 x 10^4	4.991
2	مستخلص أوراق القصب (الطريقة الحامضية) + مستخلص البطاطا	2.2 x 10^4	4.352
3	مستخلص أوراق القصب (الطريقة الحرارية) + المحلول المغذي	1.6 x 10^4	4.204
4	مستخلص أوراق القصب (الطريقة الحامضية) + المحلول المغذي	0.3 x 10^4	3.477
5	مستخلص أوراق الطرطيع (الطريقة الحرارية) + مستخلص البطاطا	1.3 x 10^5	5.133
6	مستخلص أوراق الطرطيع (الطريقة الحامضية) + مستخلص البطاطا	2 x 10^4	4.301
7	مستخلص أوراق الطرطيع (الطريقة الحرارية) + المحلول المغذي	1.06 x 10^5	5.025
8	مستخلص أوراق الطرطيع (الطريقة الحامضية) + المحلول المغذي	2.16 x 10^4	4.334
	L.S.D.		لا توجد اختلافات

كل رقم في الجدول يمثل معدل 3 مكررات

تقيـــم كفاءة عدد من الأوساط الغذائية الجافة في تنمية وإكثار وتحميل عزلة الـــفطر الاحيـــائي *T. harzianum*

بينت نتائج هذا الاختبار جدول (4) كفاءة جميع الأوساط الغذائية المستخدمة في هذا الاختبار في تنمية وإكثار عزلة الفطر الاحيائي *T. harzianum* وكان أفضلها الوسط الغذائي مسحوق أوراق الطرطيع + المحلول المغذي حيث بلغت تركيز الابواغ 1.92 x 10^6 / غم والتي لم تختلف معنوياً عن المعاملة الاخرى.

جدول (4) كفاءة عدد من الأوساط الغذائية في تنمية وإكثار وتحميل الفطر الاحيائي

ت	الأوســـــــــــــــــاط	معدل عدد الابواغ في 1غم	لوغارتيم معدل عدد الابواغ
-1	مسحوق أوراق الطرطيع + المحلول المغذي (يونيغرين)	1.92 x 10^6	6.283
-2	مسحوق أوراق الطرطيع + مستخلص البطاطا	1.44 x 10^6	6.158
	L.S.D.		3.44

كل رقم في الجدول يمثل معدل 3 مكررات

قد يعود سبب كفاءة الأوساط المستخدمة في هذا الاختبار لاحتوائها على المتطلبات التغذوية للفطر الاحيائي من الكاربوهيدرات والبروتينات والأملاح المعدنية الخ ، إذ يمكن للفطر أن يحصل على احتياجه من الكاربون والطاقة من خلال مسحوق أوراق الطرطيع الذي يعتبر مصدر سليلوزي وللفطر القدرة على افراز إنزيمات محللة لهذه المركبات والاستفادة منها

فقد ذكر الحيدري والمصلح (1989) انه يمكن للفطر *T . viride* استخدام السليلوز كمصدر للكاربون بشكل مباشر لقدرتة على افراز الانزيمات المحللة .
أما بالنسبة للنيتروجين والأملاح المعدنية الأخرى فيمكن أن يحصل عليها من خلال خلاصة البطاطا والمحلول المغذي.
ذكر Paningbatam (1997) أن معاملة بذور الفلفل بكونيديا بالفطر *T. harzianum* المنمى على مسحوق نخالة الرز لمكافحة *Sclerotinia rolfsii* المسبب لمرض عفن الساق أعطت نتائج ايجابية في خفض الإصابة ، واستعمل Yildiz (1993) الفطر *Trichoderma* المنمى على نخالة الحنطة لحماية الحنطة من فطريات التربة.

تقييم كفاءة المستحضر الحيوي مختبرياً

اثبتت المستحضرات الحيوية كفاءة تضادية عالية ضد الفطر الممرض *Rizoctonia solani* بلغت 100% ولم تختلف عن معاملة المبيد الكيميائي Vitavax التى ثبطت أيضا الفطر الممرض 100%
تعود كفاءة المستحضر الاحيائي إلى عزلة الفطر الاحيائي *T. harzianum* والذي يعرف عنه امتلاكه للعديد من الآليات التي تؤثر على الفطر الممرض كالتطفل المباشر وإفراز الإنزيمات أو إنتاج المضادات الحيوية مثل Trichodermin فضلاً عن التنافس بين الفطرين وكذلك افراز عدد من الانزيمات مثل Cellulases و β-(1-3)-glucanase و Chitinase و Protanases التي لها القدرة على تحطيم جدران خلايا الفطريات الممرضة للنبات . (علوان، 2005)
أظهرت العديد من الدراسات القابلية التطفلية للفطريات *Trichoderma viride* و *T.harizianum* و *T.lingnorum* ضد العديد من الفطريات مثل *R. solani* و *F. solani* و *Pythium spp.* (Mathivanan وجماعته ، 2000 وآدم، 2000 والعميري، 2001) .
كذلك اثبت الفطر *T.harzianum* كفاءة عالية في مقاومة وتقليل شدة الإصابة بأمراض الجذور المتسببة عن الفطريات *R. solani* *F. solani* و *P. aphanidermatum* على ا لبزاليا وأحداث تحسناً في موشرات نمو النبات وانتاحيته من حاصل البذور ونسبة البروتين فيها (اللشي ، 1999)

تقييم كفاءة المستحضر الحيوي لعزلة الفطر الاحيائي *T. harzianum* ميدانياً

أوضحت نتائج هذا الاختبار جدول (5) كفاءة المستحضر الحيوي حيث رفع النسبة المئوية للإنبات وبشكل معنوي الى 90 % وحقق خفض معنوية للنسبة المئوية لتعفن البذور وموت البادرات إلى 10 % كذلك سبب زيادة معنوية بطول النبات إلى 18 سم مقارنةً بمعاملة المقارنة (الملوثة) التي بلغت نسبة الإنبات فيها 66.6 % ونسبة تعفن البذور وموت البادرات 33 % وطول النبات 6.3 سم في حين لم يختلف معنوياً عن معاملة المبيد الكيميائي Vitavax ومعاملة المقارنة غير الملوثة في زيادة معدل النسبة المئوية للإنبات وطول النبات فقط .

جدول (5) كفاءة المستحضر الحيوي لعزلة الفطر الاحيائي *T. harzianum* ميدانياً.

ت	المعاملات	النسبة المئوية للإنبات %	النسبة المئوية لتعفن البذور وموت البادرات %	طول النبات (سم)	الوزن جاف للمجموع الخضري (غم)	الوزن الجاف للمجموع الجذري(غم)
-1	المستحضر الحيوي	90	10	18	0.012	0.03
-2	المبيد الكيميائي Vitavax	96.6	3	18	0.016	0.03
-3	المقارنة الملوثة بالفطر الممرض	66.6	33	6.3	0.005	0.03
-4	المقارنة غير الملوثة بالفطر الممرض	100	0	18	0.02	0.06
	L.S.D	20.8	2.34	3.31	لا توجد اختلافات	لا توجد اختلافات

يتضح من هذا أن المستحضر الحيوي قد نجح في إعطاء حماية للبذور والبادرات من الإصابة بالفطر الممرض *R. solani* والسبب يعود إلى المادة الفعالة للمستحضر الحيوية والمتمثلة بعزلة الفطر الاحيائي *T. harzianum* الذي يمتلك عدد من آليات المقاومة الحيوية منها إنتاج المضادات الحيوية وعدد من الإنزيمات المحللة التي تمتلك صفة تثبيط الأحياء المجهرية الممرضة للنبات والتطفل الفطري واستحثاث المقاومة الجهازية وزيادة جاهزية العناصر الغذائية للنبات وهذه النتيجة تنطبق

مع نتائج العديد من الدراسات فقد اثبت المستحضر T-CGP-5 مادته الفعالة عزلة للفطر الاحيائي *T. harzianum* كفاءة في حماية بذور وبادرات نبات الحنطة من التأثير السلبي للفطرين *R. solani* و *P. aphanidermatum* (علوان، 2005) ووجد عباس (1998) ان انسب طريقة لمقاومة مرض تعفن بذور وموت بادرات الحنطة المتسب عن الفطر *R.solani* هي بإضافة الفطر *T. harzianum* إلى التربة ومعاملة البذور بمبيد بنليت 4غم/كغم بذور إذ سجلت أعلى نسبة مئوية للإنبات بلغت 94.5% بوجود العزلة الممرضة .

المـــــــــصادر:

أمين ، أمين وفدي ، عباس خير ، حسن هندي و مصطفى سيد مصطفى . 2005. تأثير مبيدي فايديت وراجبي والمستحضر الحيوي نيمالس منفردة او مضافاً مع المواد العضوية في مكافحة نيماتودا تعقد الجذور على الموز . مجلة وقاية النبات العربية . 23 (1) : 37-43 .

- أدم ، كمال إبراهيم . 2000. المقاومة المتكاملة لتعفن جذور وموت بادرات الطماطة ، أطروحة دكتوراة – كلية الزراعة والغابات – جامعة الموصل

- اللشي ، نجوى بشير . 1999. أمراض جذور البازلاء الفطرية ومقاومتها . رسالة ماجستير . كلية الزراعة والغابات – جامعة الموصل

- ألعاشور. علي جابر . 2005 . انتاج مستحضر حيوي من لقاح البكتريا *Bacillus cerius* للسيطرة على أمراض موت البادرات لمحصول الحنطة . رسالة ماجستير . كلية العلوم – جامعة الكوفة

- اليونس ، عبد الحميد أحمد و محمد محفوظ عبد القادر وزكي عبد الياس . 1987. محاصيل الحبوب – جامعة الموصل . 368 صفحة

- الخفاجي , زهرة محمود .1990. التقنية الحيوية . جامعة بغداد . صفحة 886

- المالكي ، بشرى صبير عبد السادة . 2002 . تأثير المخلفات الحيوانية والمقاومة الاحيائية في الفطر *Pythium aphanidermatum* (Edison) Fitz. المسبب المرضي تعفن بذور وموت بادرات الخيار . رسالة ماجستير . كلية الزراعة . جامعة بغداد .

- البهادلي ، علي حسين ، مجيد متعب ديوان ، كامل سلمان جبر ، منصور ناجح الراوي . 1988. تعقيم ترب البيوت البلاستيكية بأستخدام الطاقة الشمسية . خلاصة بحوث الموتمر العربي الاول لعلوم الحياة . بغداد ص 122 - 123 .

- الراوي ، أكرم ثابت واسوان حمد عبد الله عبود البيارعاني . 2007. انتاج السليوليزات من Aspergillus sp. المعزولة محلياً ودراسة بعض خصائصها واستعمالاتها التطبيقية . مجلة العلوم الزراعية العراقية – 38 (3) : 24-35 .

- العميري، نوفل محمد اسماعيل. 2001. المقاومة المتكاملة لمرض موت بادرات الطماطة . اطروحة دكتوراه. كلية الزراعة والغابات / جامعة الموصل. العراق

- الحيدري ، نظام كاظم و رشيد محجوب المصلح . 1989. الاحياء المجهرية الصناعية – بيت الحكمة - جامعة بغداد .

- بدن ، محمد حسن ومجيد متعب ديوان . 1999. تأثير بعض المبيدات على كثافة فطريات التربة غير المستهدفة . مجلة البصرة للعلوم الزراعية . 12 (1) : 71- 82 .

- حميد ، سميرة كاظم . 2001 . تقنية مستحدثة في انتاج مبيد حيوي من لقاح سلالة *Pseudomonas fluorscens* CHAO . رسالة ماجستير . كلية العلوم . جامعة الكوفة .

- سعد ، نجاة عدنان . 2001. التداخل بين ديدان العقد الجذرية *Meloidogyne javanica* والفطر *Rhizoctonia solani* في الباذنجان ومقاومته احيائياً. رسالة ماجستير – كلية الزراعة – جامعة بغداد.

- شعبان ، عواد ونزار مصطفى الملاح . 1993 . المبيدات ، مؤسسة دار الكتب للطباعة والنشر. جامعة الموصل عبد الجليل ، عدنان . 2004. مقاومة مرض تعفن البذور وموت البادرات الطماطة المتسبب عن الفطر *Pythium aphanidermatum* (Edison) Fitz باستخدام التكامل بين بعض المبيدات الكيميائية والمبيد الاحيائي (فلوراميل) . رسالة ماجستير . كلية الزراعة . جامعة الكوفة

- عبد الله ، عفيف محمد راجح . 2003. الفطريات الممرضة والمنتجة للسموم المصاحبة لبذور القطن ومكافحتها – اطروحة دكتوراه . كلية الزراعة والغابات – جامعة الموصل .

- علوان , صباح لطيف . 2005. امكانية تصنيع مبيد احيائي من الفطر *T.harzianum* لمكافحة مرض تعفن البذور وموت البادرات – أطروحة دكتوراة . كلية التربية – جامعة الكوفة . 100 صفحة

- عباس ، محمد حمزة . 1998 . دراسة مرض تعفن وموت بادرات الحنطة المتسبب عن الفطر *Rhizoctonia solani* (Kuhu) في منطقة البصرة . رسالة ماجستير . كلية الزراعة . جامعة البصرة

- ديوان ، مجيد متعب و عبد الرحمن حسن يحى . 1984 . أمراض النبات العملي موسسة المعاهد الفنية – دار التقني للطباعة والنشر .
- ديوان ، مجيد متعب و صباح لطيف علوان وعقيل نزال الكعبي . 2007 . تأثير الفطريات المعزولة من جذور الحنطة على مرض موت البادرات ونمو النبات . المؤتمر العلمي الثالث- جامعة كربلاء .
- طه ، خالد حسن . 1990 . المقاومة المتكاملة لمرض ذبول الخضروات الوعائي المتسبب عن الفطر *Verticillium dahliae* . رسالة دكتوراه . جامعة بغداد
- Abd El- Moity , T.H. (1985) Effect of single and mixture of *T.harzianum* isolates on controlling three different soil-borne pathogens . Egypt . Microbiol . Special Issue., 111-120 .
-Bell, D.K. ; Wells, H.D. & Markham , C.R. (1982) Invitro antagonism of *Trichoderma* species against six fungal pathogen . Phytopahtol. 72: 379-382
-Danielson , R.M. and Davey C.B. (1973) . The abundance of *Trichoderma* propagules and the distribution of species in forest soil . Soil Biol. Biochem . 5 : 485-494
-El-Farnawany, M . and Shama, S. 1996 . Biological control of *Rhizoctonia solani* affecting bean seedlings damping-off . Alex . J .Agri . Res.41:253-260.
-EL-Farnawany.M.A. 1996. Effect off *Trichoderma harzianum* on forms of infection cushions formed by *Rhizoctonia solani* Kuhn. In response to bean seedling infection. Assiut Journal of Agricultural, Sciences. Vol27. No. 1.
-Papavizas, G.C.1985. *Trichoderma* and *Gliocldium* :Biology and potential for biocontrol .Ann. Rev. Phytopahtol. 23:23-54.
-Paningbatam, R.A. (1997) *Trichoderma* species for the biological of sweet pepper stem rot (*Sclerotinia rolfesii*) philippine . Phytopahtol. 30 (1)16-25
-Sharma,R.B. and Roy A.N. 1979. Boll rot of cotton from Agra. Current Science 48: 413-414. Mathivanan,N;Srinivasan,K. and Chelliah,S.2000.Biological control of soil-borne disease of cotton ,eggplant, okra and sunflower
- *Trichoderma viride.*zeitschrift. Jornal of Plant disease and Protection by.107(3):235-244.
-Thoruson , J.B. ; K.L. Athowanal & F. A. Laviolette (1971). The effect of temperature on the pathogenicity of *Pythium aphanidermatum , P. debarganum & P. ultimum* on soybean . . Phytopahtol. 61(7-8) : 933.
-Wolffhechel, H. and Funckjenesen , D. (1992) Use of *Trichoderma harzianum* and *Gliocldium virens* for Biological control of post- emergence damping – of f and root of cucumber caused by *Pythium ultimum* German Phytopahtol. 136: 221-230
-Yildiz , F. (1993) The role and potential of *Trichoderma* control agent. Anadoluse , 3: 112-128 (Abst.)