تأثير بعض الأحياء المجهرية المضادة في مقاومة أمراض تعفن بذور و موت بادرات الطماطة المتسببة عن الفطريات *Rhizoctonia solani* (Kühn) و *Pythium aphanidermatum* (Fitz) Edson و *Fusarium solani* (Marti)

Effect of some anti microorganisms in controlling tomato seed rot and seedling damping – off diseases caused by the fungi *Rhizoctonia solani* (Kühn) , *Pythium aphanidermatum* (Fitz) Edson , and *Fusarium solani* (Marti)

عقيل نزال الكعبي
كلية الزراعة – جامعة كربلاء

الخلاصة :

هدفت هذه الدراسة تقييم كفاءة الفطريات *Tricoderma harzianum* و *Chaetomium elatum* و البكتريا *Pseudomonas fluorescence* في مقاومة مرض تعفن و موت بادرات الطماطة المتسبب عن الفطريات الممرضة *Rhizoctonia solani* و *Pythium aphanidermatum* و *Fusarium solani* . أظهرت النتائج أن للفطريات و البكتريا المضادة و رواشحها تأثيرا واضحا في خفض أقطار النمو ألشعاعي للفطريات الممرضة و كان أكثرها تثبيطا هي البكتريا *P. fluorescence* ، إذ بلغ معدل أقطار النمو الفطري (2.87 و 2.34 و 2.21 سم) للفطريات الممرضة *R. solani* و *P. aphanidermatum* و *F. solani* على التوالي و اختلفت هذه النتائج معنويا عن معاملة المقارنة التي بلغ فيها معدل أقطار نمو الفطريات 9.0 و 8.87 و 7.23 سم على التوالي بعد مرور ثلاثة أيام من التحضين . كما أفرزت النتائج عدم وجود تأثير سلبي للأحياء المضادة في عدد البذور النابتة في أطباق بتري ، إذ لم تظهر اختلافا معنويا عن عدد البذور النابتة في معاملة المقارنة في حين أحدثت الفطريات الممرضة انخفاضا معنويا في عدد البذور النابتة و البالغة 3.11 و 8.23 و 8.87 بذرة على التوالي . كما وجد إن المعاملة بالأحياء المضادة دورا مهما في حماية بذور و نباتات الطماطة من الإصابة بالفطريات الممرضة ، إذ أعطت جميع معاملات التداخل مع الفطريات الممرضة تأثيرا معنويا في زيادة نسبة إنبات البذور و خفض نسب البذور المتعفنة و البادرات الميتة و زيادة الوزن الجاف للمجموعين الخضري و الجذري و بفارق إحصائي عن نفس الصفات المدروسة عند المعاملة بالفطريات الممرضة لوحدها ، وكانت أفضل المعاملات زيادة في نسبة الإنبات وخفض عدد البذور المتعفنة البكتريا *P. fluorescence* و الفطر الممرض *F. solani* و البالغة 74.45 و 25.55 % على التوالي .

Abstract :

The study was carried out to evaluate the efficacy of the fungi *Tricoderma harzianum* and *Chaetomium elatum* and the bacterium *Pseudomonas fluorescence* for controlling tomato seed decay and seedling damping – off diseases caused by the pathogenic fungi *Rhizoctonia solani* , *Pythium aphanidermatum* , and *Fusarium solani* .The results showed that the antagonistic fungi and bacterium and their infiltration had remarkable effect for reducing the diameters of radial growth of the pathogenic fungi . The bacterium *P. fluorescence* was the most significantly effective agent in this regard on the growth diameter reached 2.87 , 2.34 and 2.21 cm of *R. solani P. aphanidermatum* , and *F. solani* , respectively compared with 9.00 , 8.87 , 7.23 cm in the control treatment . The results also showed that the antagonistic fungi had no effect on the seed germination percentage inside the Petri-dish . There was no significant difference between the number of germinated seeds in both the antagonistic fungi and bacterium treatment with control treatment . On the other hand , the pathogenic fungi caused a remarkable reduction in seed germination rates to reach 3.11 , 8.23 and 8.87 seeds in the above mentioned treatments , respectively . Moreover , antagonistic fungi played an important role in protecting seeds against fungal infection . All the integrated treatments had significant effect for increasing seed germination percentage and decreasing the percentages off seed rot , seedling death , and dry weight of root and shoot system compared with those of the pathogenic fungi treatment . The most effective treatment in this regard was *P. fluorescence* + *F. solani* treatment , for it caused 74.45 %increase of seed germination and 25.55 % reduction in the number of rotten seeds .

المقدمة Introduction

يكاد لا يخفى علينا بأهمية محصول الطماطة (*Lycopersicom esculentum* Mill.) لما له من قيمة غذائية و مردود مادي عالي و نظرا لهذه الأهمية انتشرت زراعته في عموم القطر مع تميز مناطق متخصصة في زراعته (غالي و آخرون ، 1997 و السامرائي ، 1998) .

يصاب المحصول بالعديد من الآفات الزراعية بشكل عام و مسببات أمراض النبات بشكل خاص و منها الفطريات *Rhizoctonia solani* و *Pythium aphanidermatum* و *Fusarium solani* و *F. oxysporum* و التي عدت من العوامل المحددة لزراعة هذا المحصول باعتبارها مسببات رئيسية لأمراض النبات و التي لها المقدرة على إصابة النبات بمراحل مختلفة من النمو (Bilgrami و Verma ، 1981) . استخدمت وسائل عديدة لتحجيم ألأضرار الناجمة عنها مثل استخدام المبيدات الكيميائية التي لا تعد حلا استراتيجيا إذ أدى استعمالها غير المدروس إلى حدوث الكثير من المشاكل البيئية و الصحية إضافة إلى إخلالها بالتوازن الطبيعي للإحياء (Mehrotra و آخرون ،1997 و اسطيفان و آخرون ،1999) فضلا عن ذلك فان الكثير منها فقد تأثيره الفعال بسبب تطور سلالات جديدة من المسببات المرضية المتحملة لفعل تلك المواد الكيميائية (Buchenaver ، 1995) ، و نظرا لهذه المشاكل اتجهت الكثير من الأنظار نحو تأهيل الأحياء المجهرية المفيدة ومنها الفطريات *Tricoderma harzianum* و *Chaetomium elatum* و البكتريا *Pseudomonas fluorescence* في مقاومة مسببات أمراض النبات (علوان ، 2005 و الحيدري ،2007) ، إذ تحتوي التربة على العديد من الأحياء الدقيقة التي تؤثر إحداها في الأخر بعلاقات مختلفة مثل التضاد و التطفل و التنافس فيما بينها استغلت هذه العلاقات في مقاومة مسببات أمراض النبات (Monte ، 2001) . و نظرا لأهمية هذا المحصول و تزايد الرقعة المزروعة في العراق و تعرضه بشدة للإصابة بالأمراض الفطرية فقد هدفت هذه الدراسة إلى توظيف الأحياء المضادة *Tricoderma harzianum* و *Chaetomium elatum* و البكتريا *Pseudomonas fluorescence* كأحد الطرق المهمة في مقاومة أمراض تعفن بذور و موت بادرات الطماطة المتسببة عن الفطريات الممرضة *Rhizoctonia solani* و *Pythium aphanidermatum* و *Fusarium solani* .

المواد وطرائق العمل Materials and Methods

التربة المستخدمة في التجارب

جلبت تربة جمعت بصورة عشوائية من منطقة زراعية في البوحداري - محافظة النجف ، و عقم قسم منها في جهاز التعقيم البخاري (Autoclave) في درجة حرارة 121 مْ وضغط 15 باوند / انج^2 ولمدة ساعة واحدة ، تركت بعد ذلك لمدة 24 ساعة ثم أعيد تعقيمها بالطريقة نفسها لضمان عملية التعقيم (Dewan ، 1989) .

مصدر الأحياء المجهرية

تم الحصول على الفطريات التضادية *T. harzianum* و*C. elatum* والفطريات الممرضة *R. solani* و *P. aphanidermatum* و *F. solani* من مختبر الدراسات العليا في كلية الزراعة – جامعة الكوفة . أما البكتريا *P. flourescence* ، فقد تم الحصول عليها من مختبر الدراسات العليا في كلية العلوم – جامعة الكوفة.

إكثار لقاح الفطريات .

حضر لقاح الفطريات باستعمال بذور الدخن *Panicum maliaceum* L. وذلك بتنقيعها في الماء وغسلها جيداً لإزالة الأتربة والشوائب منها ، وضع كل 50 غم منها في دورق حجم 500 مل سدت فوهته بقطن وعقمت في جهاز التعقيم البخاري في درجة حرارة 121 مْ وضغط 15 باوند / انج2 ولمدة ساعة واحدة ثم أعيدت عملية التعقيم في اليوم التالي تحت نفس درجة الحرارة والضغط والوقت المذكور . لقح كل دورق بخمسة أقراص قطر كل منها 0.5 سم من الوسط الغذائي النامي عليها الفطر *T. harzianum* وهكذا مع باقي الفطريات الأخرى و بشكل منفرد مع ترك دوارق بدون تلقيح كمعاملة مقارنة ، حضنت الدوارق في درجة حرارة 25 ± 2 مْ لمدة 10ايام مع الأخذ بنظر الاعتبار رج الدوارق كل 2 - 3 أيام وذلك لتوزيع الفطر على جميع البذور (Dewan ، 1989) .

إكثار لقاح البكتريا *P. flourescence* .

تم إكثار البكتريا عن طريق تلقيح عدد من الدوارق الحاوية على الوسط الغذائي السائل (.P.D.B) بأقراص قطر كل منها 0.5 سم من الوسط الغذائي .P.D.A النامية عليه البكتريا *P. fluorescence* مع تجديد الوسط الغذائي بين فترة و أخرى (حسان ، 2005) .

تحضير رواشح الأحياء المضادة والفطريات الممرضة .

حضر وسط غذائي سائل (.P.D.B) في دوارق حجم 500 مل بمعدل 250 مل / دورق و عقم بجهاز التعقيم البخاري في درجة حرارة 121 مْ وضغط 15 باوند / انج2 ولمدة 20 دقيقة و بعد التعقيم لقحت الدوارق بأقراص قطر كل منها 0.5 سم من الوسط الغذائي (.P.D.A) النامية عليه الفطريات والبكتريا *P. flourescence* كلا على انفراد مع تنفيذ معاملة مقارنة بإضافة أقراص مماثلة من الوسط الغذائي المعقم فقط ، حضنت الدوارق في درجة حرارة 25 ± 2 مْ لمدة 28 يوماً مع الأخذ بنظر الاعتبار رج الدوارق كل 2 – 3 أيام . رشحت المزارع بعد نهاية مدة التحضين خلال ورق ترشيح نوع Whatman No.1 وأعيد الترشيح باستعمال مرشح قطر ثقوبه 0.45 ملي مايكرون وذلك بمساعدة جهاز التفريغ الهوائي وحفظت جميع الدوارق الحاوية على الراشح في الثلاجة لحين الاستعمال.

تأثير الأحياء المضادة والفطريات الممرضة في عدد البذور النابتة في المختبر .

اعتمدت طريقة Carling و Leiner (1986) مع بعض التحوير ، إذ تم زرع بذور طماطة صنف سوبر ماريموند معقمة سطحيا بمحلول هايبوكلورات الصوديوم بتركيز 1% لمدة 2 دقيقة في أطباق بتري حاوية على الوسط الغذائي (.P.D.A) بمعدل 20 بذرة/طبق وبشكل دائري بعد تلقيح مركز الطبق بقرص قطره 0.5 سم من الوسط الغذائي (.P.D.A) النامية عليه الأحياء المضادة والفطريات الممرضة كلاً على انفراد ، كررت كل معاملة أربعة مرات ، اخذين بنظر الاعتبار تنفيذ معاملة مقارنة بزراعة البذور على الوسط الغذائي بالطريقة نفسها وبدون التلقيح بأي فطر أو بكتريا . وحضنت الأطباق في درجة حرارة 25±2 مْ وبعد 10 أيام حسبت عدد البذور النابتة في كل مكرر من المكررات الداخلة في التجربة .

تأثير رواشح الأحياء المضادة والفطريات الممرضة في عدد البذور النابتة في المختبر .

عقمت كمية من البذور سطحياً بواسطة هايبوكلورات الصوديوم بتركيز 1% لمدة دقيقتين ثم غسلت بالماء المقطر المعقم وجففت على ورق ترشيح ، وزرعت بعد ذلك 20 بذرة في كل طبق بتري معقم حاوي على ورقتين ترشيح ثم عوملت البذور بـ 15 مل من راشح الأحياء المضادة والفطريات الممرضة المحضرة مسبقاً وكلاً على انفراد ، مع تنفيذ معاملة مقارنة بمعاملة البذور براشح الوسط الغذائي (.P.D.B) غير المعامل بأي من الفطريات والبكتريا ، وكررت كل معاملة أربعة مرات ، حضنت الأطباق في درجة حرارة 25±2 مْ لمدة 10 أيام بعدها تم حساب عدد البذور النابتة .

قياس القدرة التضادية للفطريات *T. harzianum* و *C. elatum* والبكتريا *P. flourescence* ضد الفطريات الممرضة *R. solani* و *P. aphanidermatum* و*F. solani* في المختبر .

نفذت هذه التجربة باعتماد طريقة الزرع المزدوج لاختبار قدرة الفطريات الإحيائية *T. harzianum* و *C. elatum* و البكتريا *P. flourescence* ضد الفطريات الممرضة ، إذ قسم طبق بتري حاوي على الوسط الغذائي .P.D.A إلى قسمين متساويين ، ولقح مركز القسم الأول بقرص قطرة 0.5 سم من الوسط الغذائي النامي علية الأحياء التضادية بعمر 5 أيام و بشكل منفرد . أما مركز القسم الثاني فقد لقح بقرص مماثل من النمو الفطري للفطريات الممرضة وكلا على حدة ، وكررت كل معاملة أربعة مرات ، مع تنفيذ معاملة مقارنة وذلك بتلقيح مركز القسم الأول من الطبق بالفطر الممرض فقط .

وضعت الأطباق في الحاضنة في درجة حرارة 25 مْ + 2 لمدة ثلاثة أيام ، وبعد وصول نمو الفطر *R. solani* إلى حافة الطبق تم قياس معدل أقطار النمو الفطري لجميع الفطريات الممرضة (فياض ، 1997) .

تأثير رواشح الأحياء المضادة في النمو القطري للفطريات الممرضة *R. solani* و *P .aphanidermatum* و *F. solani* في المختبر .

أضيفت رواشح الأحياء المضادة المحضرة سابقا إلى الوسط الغذائي .P.D.A المعقم قبيل مرحلة التصلب وبالنسب (0 ، 15 ، 30 ، 45 ، 60%) ولكل فطر من الفطريات و البكتريا المضادة كلا على حدة مع تعديل نسبة الاكار المضافة إلى الوسط الغذائي ، صبت الأوساط الحاوية على رواشح الأحياء التضادية في أطباق بتري معقمة ، وكررت كل معاملة أربعة مرات مع تنفيذ معاملة مقارنة باستخدام راشح الوسط الغذائي .P.D.A غير المعامل بأي فطر أو بكتريا ، لقحت الأوساط الحاوية على الرواشح بعد تصلبها بأقراص قطر كل منها 0.5 من الوسط الغذائي .P.D.A والنامي عليه الفطريات الممرضة و حضنت الأطباق في درجة حرارة 25 ± 2 م° و بعد وصول نمو الفطر *R. solani* في معاملة المقارنة إلى حافة الطبق تم قياس النمو الفطري بأخذ معدل قطرين متعامدين من ظهر الطبق يمران بمركز المستعمرة التي يمثلها القرص ، وحسبت النسبة المئوية لتثبيط النمو القطري لكل فطر من الفطريات الممرضة بإتباع معادلة Abbot الواردة في شعبان والملاح (1993) .

$$\% \text{ لتثبيط النمو الفطري} = \frac{\text{معدل النمو القطري في المقارنة - معدل النمو القطري في المعاملة}}{\text{معدل النمو القطري في المقارنة}} \times 100$$

تأثير الأحياء المضادة والفطريات الممرضة في بعض مؤشرات النمو لنبات الطماطة .

بعد تحضير لقاح الأحياء المضادة والفطريات الممرضة (كما ذكر سابقاً) لوثت تربة معقمة وفق المعاملات الآتية(جدول 1) .

المعاملة		نسبة اللقاح (%)
Control	Control	1% بذور دخن معقمة فقط .
	T. harzianum	0.5 % بذور دخن معقمة ومحمل عليها الفطر *T. harzianum* مع 0.5 % بذور دخن معقمة فقط .
	C. elatum	0.5 % بذور دخن معقمة ومحمل عليها الفطر *C. elatum* مع 0.5% بذور دخن معقمة فقط .
	P. flourescence	أضيف اللقاح البكتيري بشكل وسط غذائي سائل (P.D.B.) بعمر 48 ساعة وبكثافة عددية 15×10^{-7} (وحدة تكوين مستعمرة/مل) بمعدل 100 مل/أصيص أثناء الزراعة طبقاً لطريقة الدليمي والهيتي (2001) .
	R. solani	0.5% بذور دخن معقمة ومحمل عليها الفطر *R. solani* مع 0.5% بذور دخن معقمة فقط .
	F. solani	0.5% بذور دخن معقمة ومحمل عليها الفطر *F. solani* مع 0.5 % بذور دخن معقمة فقط .
	P.aphanidermatum	0.5% بذور دخن معقمة ومحمل عليها الفطر *P. aphanidermatum* مع 0.5 % بذور دخن معقمة فقط .
T. harzianum	*R. solani*	0.5% بذور دخن معقمة ومحمل عليها الفطر *T. harzianum* مع 0.5 % بذور دخن معقمة ومحمل عليها الفطر *R. solani* .
	F. solani	0.5% بذور دخن معقمة ومحمل عليها الفطر *T. harzianum* مع 0.5 % بذور دخن معقمة ومحمل عليها الفطر *F. solani* .
	P.aphanidermatum	0.5% بذور دخن معقمة ومحمل عليها الفطر *T. harzianum* مع 0.5 % بذور دخن معقمة ومحمل عليها الفطر *P. aphanidermatum* .
C. elatum	*R. solani*	0.5% بذور دخن معقمة ومحمل عليها الفطر *C. elatum* مع 0.5 % بذور دخن معقمة ومحمل عليها الفطر *R. solani* .
	F. solani	0.5% بذور دخن معقمة ومحمل عليها الفطر *C. elatum* مع 0.5 % بذور دخن معقمة ومحمل عليها الفطر *F . solani* .
	P. aphanidermatum	0.5% بذور دخن معقمة ومحمل عليها الفطر *C. elatum* مع 0.5 % بذور دخن معقمة ومحمل عليها الفطر *P. aphanidermatum* .
P. flourescence	*R. solani*	أضيف اللقاح البكتيري بشكل وسط غذائي سائل (P.D.B.) بعمر 48 ساعة وبكثافة عددية 15×10^{-7} (وحدة تكوين مستعمرة / مل) بمعدل 100 مل/أصيص أثناء زراعة البذور مع 0.5 % من بذور الدخن المحمل عليها الفطر *R. solani* .
	F. solani	أضيف اللقاح البكتيري بشكل وسط غذائي سائل (P.D.B.) بعمر 48 ساعة وبكثافة عددية 15×10^{-7} (وحدة تكوين مستعمرة/مل) بمعدل 100 مل/ أصيص أثناء زراعة البذور مع 0.5 % من بذور الدخن المحمل عليها الفطر *F. solani* .
	P.aphanidermatum	أضيف اللقاح البكتيري بشكل وسط غذائي سائل (P.D.B.) بعمر 48 ساعة وبكثافة عددية 15×10^{-7} (وحدة تكوين مستعمرة / مل) بمعدل 100 مل/ أصيص أثناء زراعة البذور مع 0.5 % من بذور الدخن المحمل عليها الفطر *P. aphanidermatum* .

لوثت تربة معقمة بالأحياء المضادة والفطريات الممرضة حسب المعاملات السابقة وذلك بوضعها في كيس سيلوفين وخلطها بصورة جيدة ، وزعت بعد الخلط في أصص أبعادها 13 x 13 سم ، أما البكتريا *P. flourescence* فقد أضيفت بصورة

مباشرة إلى التربة ، بعدها تم زرع البذور المعقمة سطحياً بمحلول هايبوكلورات الصوديوم بنسبة 1% لمدة 2 دقيقة وبواقع 25 بذرة لكل أصيص ، وكررت كل معاملة ثلاثة مرات ، ورتبت الأصص في البيت البلاستيكي بصورة عشوائية وسقيت باحتراس مع مراعاة السقي كلما دعت الحاجة لذلك و بعد 10 أيام من الزراعة حسبت النسبة المئوية لإنبات البذور وبعد مرور 28 يوماً من الزراعة حسبت النسبة المئوية لموت البادرات ، ثم قلعت خمسة نباتات اختيرت بصورة عشوائية من كل مكرر ضمن المعاملة الواحدة و غسلت جيدا تحت ماء جاري لإزالة الأتربة منها و تم فصل المجموع الخضري عن المجموع الجذري و تجفيفها في فرن كهربائي بدرجة حرارة 65 م° و لحين ثبوت الوزن لأخذ الأوزان الجافة لها . نفذت هذه التجربة في منطقة البوحداري – محافظة النجف خلال الفترة 10 / 12/ 2007 – 9 / 11/ 2008 .

تصميم التجارب و تحليلها إحصائيا .

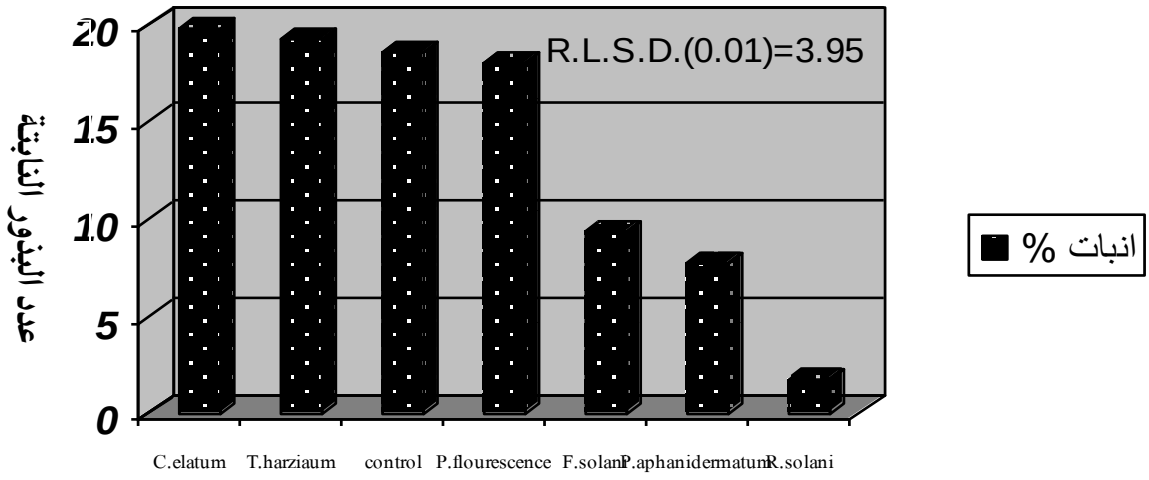
نفذت جميع التجارب وفق التصميم العشوائي الكامل C.R.D. كتجارب و حيدة العامل ، و قد تم مقارنة المتوسطات الحسابية باستخدام اقل فرق معنوي R.L.S.D. وتحت مستوى احتمال (0.01) للتجارب المختبرية و وتحت مستوى احتمال (0.05) لتجربة الأصص (الراوي وخلف الله ، 1980) .

النتائج و المناقشة Results and Discussion

تأثير الأحياء المضادة والفطريات الممرضة في عدد البذور النابتة في أطباق بتري .

أوضحت نتائج هذه التجربة عدم تأثير الفطريات *C . elatum* و *T. harzianum* والبكتريا *P. flourescence* في عدد البذور النابتة في أطباق بتري الحاوية على الوسط الغذائي P.D.A. ، فقد بلغ عدد البذور النابتة 19.28 ، 19.21 ، 18.0 بذرة على التوالي ولم تختلف هذه النتائج بفارق معنوي عن معاملة المقارنة التي وصل فيها عدد البذور النابتة 18.52 بذرة (شكل 1)، و قد يعود سبب زيادة نسبة الإنبات عند المعاملة بالفطر *C. elatum* إلى قدرته على إفراز بعض المواد الكيميائية إلى بيئته الخارجية محفزة إنبات البذور أو إن تلك المواد تعمل على تآكل الغلاف الخارجي للبذرة مشجعا إنباتها (Windham و آخرون ،1986 و ديوان وآخرون ، 2007) .

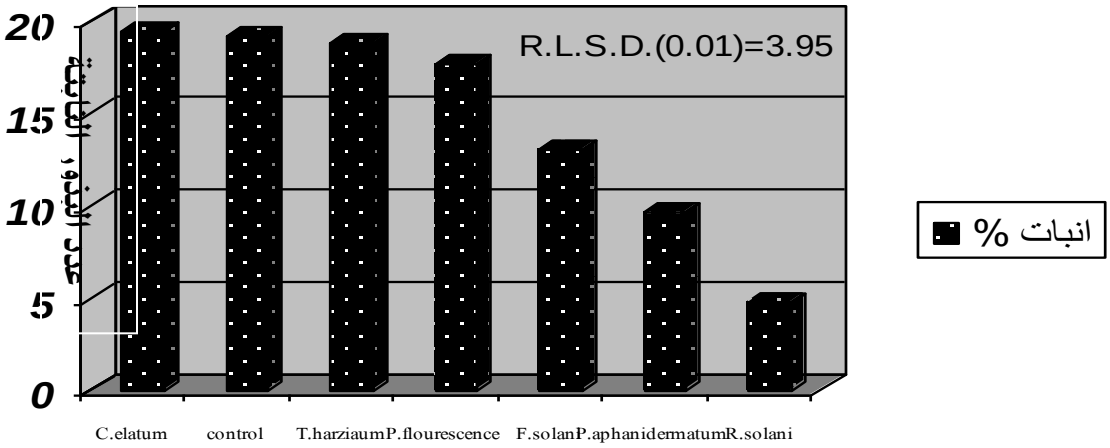
كما أظهرت الفطريات الممرضة *R. solani* و *P. aphanidermatum* و *F. solani* انخفاضا في عدد البذور النابتة وكان الفطر *R. solani* أكثرها تأثيرا في اختزال عدد البذور النابتة والبالغ 3.11 بذرة ، تلاه من ناحية التأثير الفطر *P. aphanidermatum* الذي قلل عدد البذور النابتة إلى 8.23 بذرة (من أصل 20 بذرة) ، واختلفت هذه النتائج معنوياً عن معاملة المقارنة . جاءت هذه النتائج متفقة مع ما توصل إليه Carling وLeiner (1986) و علوان ، 1996 وعباس (1998) الذين ذكروا إن لبعض عزلات الفطر *R. solani* قابلية أمراضية عالية على البطاطا و الحنطة ، كما أدت إلى خفض عدد بذور القرنبيط والحنطة النابتة في أطباق بتري ، وقد يرجع السبب في تقليل عدد البذور النابتة إلى مقدرة الفطر *R. solani* على إفراز إنزيمات محللة للسليلوز والبكتين تؤدي إلى تعفن البذور وفشلها في الإنبات (Weinhold و Sinsclair ، 1996) أو إلى قدرته على إفراز بعض المركبات السامة للنبات (Phytotoxins) مثل Phenyle acetic acid ومشتقاته الهيدوكسيدية مثل Meta - hydroxy P.A.A. و Para - hydroxy والتي تسبب قتلاً لأجنة البذور (Mandara وآخرون ، 1980 و عباس ، 1998) .



شكل (1) تأثير الأحياء المضادة والفطريات الممرضة في عدد البذور النابتة في الأطباق بتري .

تأثير رواشح الأحياء المضادة في عدد البذور النابتة في أطباق بتري .

أشارت نتائج التحليل الإحصائي المبينة في شكل (2) إلى عدم وجود فروقات معنوية في عدد البذور النابتة المعاملة براشح الأحياء التضادية *T. harzianum* و*C. elatum* والبكتريا *P. flourescence* عن معاملة المقارنة ، في حين اختلفت تلك النتائج معنوياً عند المعاملة براشح الفطريات الممرضة *R. solani* و*P. aphanidermatum* و*F. solani* التي بلغ فيها معدل البذور النابتة 4.78 و 9.62 و 13.01 بذرة على التوالي ، وقد يعزى السبب في خفض عدد البذور النابتة من جراء المعاملة برواشح الفطريات الممرضة إلى قدرة هذه الفطريات على إفراز الأنزيمات المحللة للسليلوز والبكتين وإفراز بعض المركبات السامة التي قد تؤثر سلبياً في إنبات بذور النبات (Weinhold و Sinsclar ، 1996) . وتدل هذه النتائج على عدم وجود أي تأثير سلبي لإفرازات هذه الأحياء في إنبات بذور الطماطة في حين أتضح تأثيرها التثبيطي في نمو الفطريات الممرضة وبذلك يكون استعمالها أكثر أماناً في تجارب المقاومة الحياتية ، و اتفقت هذه النتائج مع ما ذكر في دراسات بينت عدم وجود تأثير سلبي للأحياء المستخدمة في هذه الدراسة في إنبات ونمو نباتات مختلفة مثل اليوكالبتوس والفلفل والقطن والحنطة (Kumar و Marimutha ، 1994 و Lewis وآخرون ، 1996 و الحيدري ، 2007 و الجميلي و آخرون ، 2007) .



شكل (2) تأثير رواشح الأحياء المضادة والفطريات الممرضة في عدد البذور النابتة في أطباق بتري .

القدرة التضادية للفطريات *T. harzianum* و *C. elatum* والبكتريا *P. flourescence* ضد الفطريات الممرضة *R. solani* و *P. aphanidermatum* و *F. solani* .

أظهرت الأحياء التضادية تأثيرا واضحاً في تثبيط نمو الفطريات الممرضة في أطباق بتري الحاوية على الوسط الغذائي P.D.A. ، وكان أكثرها تأثيرا هي البكتريا *P. flourescence* ، إذ بلغ معدل النمو القطري للفطريات الممرضة *R. solani* و *P. aphanidermatum* و *F. solani* (2.78 و 2.34 و 2.21 سم) على التوالي قياسا بـ 9.0 و 8.87 و 7.23 سم على التوالي عند معاملة المقارنة جدول (2) .

فسرت أليه التثبيط عند المعاملة بالبكتريا *P. flourescence* إلى قابلية البكتريا على إنتاج العديد من المضادات الحياتية كالـ Pyrrolnitrin و Oomycin A والمركبات الايضيه السامة (Rosales وآخرون ، 1995) أو عن طريق تطفلها المباشر على الغزل الفطري وتحليله واستخدامه كمصدر من مصادر الطاقة أو بالمنافسة على المواد الغذائية ، كما تتمتع هذه البكتريا بقدرتها على إنتاج مجموعة من المركبات الفعالة حيوياً ضد الفطريات كالـ Siderophores و التي هي مركبات ذات أوزان جزيئيه واطئه ومخلبيه وذات جذب عالٍ للحديد الثلاثي و جعله غير جاهزٍ للأحياء الدقيقة الأخرى كالفطريات (Suslow ، 1982) . وتتفق هذه النتائج مع ما توصل أليه كل من Paulitz وآخرون ، (1998) و Ongena وآخرون ، (1999) و الدليمي (2000) والذين أشاروا في دراساتهم إلى الخاصية التضادية العالية للبكتريا *P. flourescence* تجاه العديد من الفطريات الممرضة تحت ظروف المختبر .

جدول (2) القدرة التضادية للأحياء المضادة ضد الفطريات الممرضة *R. solani* و*P. aphanidermatum* و *F. solani*

الأحياء المضادة	الفطريات الممرضة (سم)		
	R. solani	*F. solani*	*P. aphanidermatum*
control	9.0	7.23.	8.87
C. elatum	4.72	4.83	4.36
P. flourescence	2.78	2.21	2.34
T. harzianum	3.82	2.45	2.27
R.L.S.D.(0.01)	0.61	0.54	0.71

تأثير رواشح الأحياء المضادة في تثبيط نمو الفطريات الممرضة في المختبر .

يبين الجدول (3) أن لإضافة راشح الفطر *T. harzianum* والبكتريا *P. flourescence* إلى الوسط الغذائي P.D.A. ، قد ثبط نمو الفطريات الممرضة وتفوق نسبتي الإضافة 45 ، 60 % في تثبيطهما لنمو الفطريات الممرضة ، إذ بلغت نسبة التثبيط 100% لجميع الفطريات الممرضة . اتفقت هذه النتائج مع ما ذكره حسناوي (1986) الذي أشار إلى حساسية الفطر *Sclerotinia sclerotiorum* لراشح مستعمرة الفطر *T. harzianum* ولاحظ العلاقة فيما بين تركيز الراشح المستعمل ونمو الفطر كانت عكسية ، كما ذكر في مصادر عديدة تأثير راشح مستعمرة الفطر *T. harzianum* المثبط لنمو العديد من الفطريات الممرضة مثل *G. graminis* var. *tritici* و *F. oxysporium* و *Macrophomina phaseolina* (فياض ، 1997 و عباس ، 1998 و الركابي ، 2008) . إن التأثير التثبيطي لراشح مستعمرة الفطر *T. harzianum* ، قد يعود إلى قدرة الفطر على إنتاج مركبات سامة مثل Trichothecin و Gliotoxin و Viridin و Trichodermine و pyrones (Ghisalberti و آخرون ، 1990) ، أو قد يعود لوجود العديد من الإنزيمات المحللة مثل protease و Lipase و Estrase و glactosidase - ß و phosphoamidase (Aziz وآخرون ، 1993) .

أما بالنسبة إلى التأثير التثبيطي للبكتريا فقد يرجع إلى قدرة البكتريا على إفرازها أنواعا مختلفة من المضادات الحياتية كالـ Pyrrolnitrin و 2,4-acetylphloroglucinol و Siderophres (Mavrodi و آخرون ، 2001 و Bakker و آخرون ، 2003) .

جدول (3) تأثير رواشح الأحياء المضادة في النسبة المئوية لتثبيط نمو الفطريات الممرضة

الأحياء المضادة	الفطر الممرض	نسبة الراشح (%)			
		15	30	45	60
T. harziaum	*R. solani*	60.47	68.90	100	100
	F. solani	70.31	80.94	100	100
	P. aphanidermatum	60.96	74.34	100	100
C. elatum	*R. solani*	9.05	29.33	37.28	60.83
	F. solani	17.28	21.0	46.78	69.98
	P. aphanidermatum	11.36	18.90	39.43	64.23
P. fluorescence	*R. solani*	48.34	66.10	100	100
	F. solani	77.16	84.38	100	100
	P. aphanidermatum	79.84	94.0	100	100
R.L.S.D.(0.01)	——	18.52	59.34	52.05	41.22

تأثير الأحياء المضادة في حماية بذور ونباتات الطماطة من الإصابة بالفطريات الممرضة

يتضح من النتائج المبينة في جدول (4) كفاءة الأحياء المضادة في حماية بذور و بادرات الطماطة من الإصابة بالفطريات الممرضة *R. solani* و*P. aphanidermatum* و *F. solani* التي أدت إلى اختزال إنبات البذور ، إذ بلغت نسبة الإنبات عند المعاملة بها (34.20 ، 39.42 ، 44.57%) كما أدت إلى زيادة تعفن البذور وموت البادرات بعد الإنبات ، انخفض هذا التأثير عند إضافة الأحياء المضادة *T. harzianum* و *C. elatum* و*P. fluorescence* و بوجود الفطريات الممرضة كلا على انفراد ، إذ بلغت نسبة الإنبات عند المعاملة بالفطر *T. harzianum* 70.00، 67.61 ، 72.01 % و بوجود الفطريات الممرضة على التوالي ، كما أدت الأحياء المضادة الأخرى إلى توفير حماية عالية للبذور من خلال زيادة نسبة الإنبات وتقليل نسبة تعفن البذور وموت البادرات والتي كانت لا تختلف معنوياً عن معاملة المقارنة في حين اختلفت المعاملات المذكورة معنوياً عن معاملات الفطريات الممرضة لوحدها . يتضح من ذلك كفاءة الأحياء المضادة في توفير الحماية لبذور وبادرات الطماطة ، كما بينت نتائج هذه التجربة عدم تأثير الفطريات المضادة على بذور وبادرات الطماطة معززا ذلك النتائج المختبرية ، إذ كانت لا تختلف معنوية نتائجها عن معاملة المقارنة .

كما تبين نتائج نفس الجدول الأثر الواضح للفطريات الممرضة في خفض معدلات الأوزان الجافة للمجموعين الخضري والجذري بفروق معنوية عن معاملة المقارنة ، و انخفض هذا التأثير عند إضافة الأحياء المضادة ، إذ أدت هذه الأحياء إلى تقليل تأثير الفطريات الممرضة في الوزن الجاف للمجموعين الخضري والجذري و كانت المعاملة بالبكتريا *P. fluorescence* و الفطر الممرض *F. solani* أكثر المعاملات تأثيرا في زيادة الأوزان الجافة للمجموعين الخضري و الجذري و البالغة 42.62 و 25.63 غم على التوالي و التي لم تختلف بفارق معنوي عن المعاملات الأخرى الحاوية على الفطريات التضادية . قد يعود سبب زيادة مؤشرات النمو المدروسة من جراء المعاملة بالبكتريا *P. fluorescence* إلى كبح

نشاط المسببات المرضية من خلال إنتاجها للعديد من المضادات الحيوية مثل Pyrrolnitrin و – 4 , 2 Diacetaylphloroglucinol و Siderophores (Bakker و آخرون ، 2003) أو من خلال قدرتها في المنافسة على المكان و الغذاء مع المسببات المرضية و إبعادها عن أسطح الجذور التي تمثل البيئة الملائمة لها (Suslow ، 1982) أو ربما يرجع التأثير إلى دور البكتريا على استحثاث المقاومة الجهازية لإنتاج مواد كيميائية ذات فعل مثبط أو قاتل للمسببات الممرضة للنبات (الدليمي ، 2000 و حسان ، 2005) . اتفقت هذه النتائج مع ما أشارت إلية دراسات بخصوص كفاءة هذه الأحياء التضادية في حماية عوائل نباتية مختلفة مثل فول الصويا و الطماطة والفلفل والحنطة و الخيار من الإصابة بالفطريات *R. solani* و *P. aphanidermatum* (السعدي ، 2004 و عبد المنعم ، 2008 و الركابي ، 2008) . كما اتفقت هذه النتائج مع ما توصل إلية الجميلي و آخرون (2007) إلى كفاءة البكتريا *P. fluorescence* في مقاومة مرض تعفن و موت بادرات الخيار المتسبب عن الفطر *P. aphanidermatum* و انعكاس ذلك ايجابيا في زيادة الأوزان الجافة للنباتات النامية .

جدول (4) تأثير الأحياء المضادة في حماية بذور ونباتات الطماطة من الإصابة بالفطريات الممرضة

المعاملة	نسبة الإنبات	نسبة تعفن البذور	نسبة موت البادرات	الوزن الجاف (ملغم / نبات)	
				م. خضري	م. جذري
Control	78.65	21.35	1.00	39.42	23.32
T. harzianum	74.00	26.00	2.00	43.25	23.89
P. flourescence	69.50	30.50	3.00	45.82	25.50
C. elatum	79.00	21.0	1.00	40.30	22.17
T. harzanum +R. solani	70.00	30.00	3.00	40.21	24.67
T. harzianum +Py.*	67.61	32.39	2.89	40.37	25.05
T. harzanum +F. solani	72.01	27.99	2.78	36.81	23.02
P. fluorescenc+R. solani	62.48	37.52	7.00	32.67	22.25
P. flourescence+Py.	73.00	27.00	6.93	34.24	24.32
P. flourescence +F. solan	74.45	25.55	2.04	42.62	25.63
C. elatum +R. solani	70.32	29.68	3.00	30.32	21.92
C. elatum +Py.	70.46	29.54	3.09	34.01	22.41
C. elatum+ F. solani	68.43	31.57	4.68	32.94	21.94
R. solani	34.20	65.80	17.50	14.08	9.62
P. aphandermatum	39.42	60.58	14.63	17.49	11.35
F. solani	44.57	55.43	11.87	19.04	13.71
R. L. S. D. (0.05)	14.02	10.04	17.06	11.74	3.97

- *تعني الفطر *Pythium aphanidermatum*
- كل رقم في الجدول يمثل معدل ثلاث مكررات .

المصادر References

- السامرائي ، إسماعيل خليل . 1998 . ظاهرة الاصفرار الحديدي وأثرها في انخفاض الإنتاجية في المحاصيل الزراعية . مجلة الزراعة العراقية . (1) : 14 – 16 .
- اسطيفان ، زهير عزيز ومحمد صادق حسين وهناء حمد الزهر ون وباسمه جورج انطون ومماركو شموئيل كوركيس .1999 . تأثير نيماتودا تعقد الجذور و فطر الفيوزاريم على جذور الطماطه ومكافحتها إحيائيا وكيميائيا . مجلة الزراعة العراقية ،1(1) : 71- 80 .
- الحيدري ، علي عاجل جاسم . 2007 . تشخيص الفطريات المسببة لموت بادرات الباميا و مقاومتها بتقنيات مختلفة للفطر *Trichoderma harzianum* Rafai . رسالة ماجستير . كلية الزراعة – جامعة الكوفة .
- الجميلي ، سامي عبدالرضا علي و ثامر خضير مرزة و آلاء عبدعلي الخفاف . 2007 . تقييم كفاءة المبيدين الحيويين فلوراميل و الباسلين في السيطرة على مرض تعفن و موت البادرات المتسبب عن الفطر *Pythium aphanidermatum* لنبات الخيار في المشتل . مجلة جامعة كربلاء ، 5 (4) ، 296 - 402 .

- الدليمي ، إسماعيل عباس جديع . 2000 . تقويم كفاءة البكتريا *Pseudomonas fluorescens* Migula في استحثاث مقاومة جهازية في نبات الخيار ضد الفطرين *Pythium aphanidermatum* (Edson) Fitz و Rostow *Pseudoperonospora cubensis* (Berk and Curt) . أطروحة دكتوراه . كلية الزراعة . جامعة بغداد .

- الدليمي ، إسماعيل عباس وأياد عبد الواحد الهيتي . 2001 . المقاومة الإحيائية لمسبب مرض سقوط البادرات *Pythium aphanidermatum* تحت ظروف البيت الزجاجي . مجلة العلوم الزراعية العراقية . 33 (6) : 113- 119 .

- الراوي , خاشع محمود وعبد العزيز خلف الله . 1980 . تصميم وتحليل التجارب الزراعية – وزارة التعليم العالي والبحث العلمي – مطبعة مؤسسة دار الكتب للطباعة والنشر – جامعة الموصل . 488 صفحة.

- الركابي ، فراس علي احمد . 2008 . تأثير مستخلصات النمو الخضري لبعض الأدغال على الفطريات المرضية لجذور الطماطة وفطر المقاومة الإحيائية *Trichoderma harzianum* Rafai . رسالة ماجستير – كلية الزراعة – جامعة الكوفة .

- السعدي ، ماجدة هادي مهدي . 2004 . فعالية البكتريا *Rhizobium japonicum* والفطر *Trichoderma*.sp لأمراض تعفن جذور فول الصويا *Glycin max* L. Merrill . رسالة ماجستير – كلية الزراعة – جامعة بغداد .

- حسان ، آلاء خضير . 2005 . تقويم فاعلية بعض عوامل الاستحثاث و المبيدات في حماية نبات الخيار من الإصابة بالفطر الممرض *P. aphanidermatum* . رسالة ماجستير . كلية الزراعة جامعة بغداد .

- حسناوي ، محمد جبير . 1986 . دراسة و مقاومة حياتية للفطر *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib) de Bary على محصول الباذنجان في البيوت البلاستيكية . رسالة ماجستير – كلية الزراعة – جامعة بغداد . 62 صفحة .

- ديوان ، مجيد متعب و جمال حسين كاظم و هدى جميل باقر . 2007 . تأثير بعض الفطريات المحيطة بجذور الأدغال في الفطر *Rhizoctonia solani* (Kühn) وإنبات وحاصل الحنطة . مجلة جامعة كربلاء 5 (3) : 106 – 115 .

- شعبان ، عواد ونزار مصطفى الملاح . 1993. المبيدات . دار الكتب للطباعة والنشر. جامعة الموصل . 51 صفحة .

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

- عبد المنعم ، أسامة عبد الكريم . 2008 . تأثير الأسمدة الحيوانية في الكثافة العددية للفطريات في الترب الصحراوية و أهميتها على مؤشرات النمو و حاصل نباتات الطماطة . رسالة ماجستير– كلية الزراعة – جامعة الكوفة .

- علوان ، صباح لطيف . 1996 . السيطرة الحيوية للفطر *R. solani* المسبب لذبول الحنطة باستخدام عزله غير ممرضه للفطر *R. solani* والفطر *T. harzianum* مجلة البصرة للعلوم الزراعية . 9 (2) : 45 -51 .

- علوان ، صباح لطيف . 2005 . إمكانية تصنيع مبيد إحيائي من الفطر *Trichoderma harzianum* Rafai لمكافحة مرض تعفن البذور وموت البادرات في الحنطة . أطروحة دكتوراه . كلية التربية للبنات – جامعة الكوفة . 98 صفحة.

- غالي , فائز صاحب وضياء سالم ومحمد سعيد . 1997 . تأثير مواعيد زراعة الطماطة إلى إصابتها ببعض الأمراض في البصرة . مجلة البصرة للعلوم الزراعية . 10(1) : 65 – 76 .

- فياض ، محمد عامر .1997 . استجابة تراكيب وراثية مختلفة من زهرة الشمس *Heliathus annus* L للإصابة بالفطر *Macrophomina phaseolina* ودور بعض الطرق الإحيائية في المقاومة . أطروحة دكتوراه . كلية الزراعة . جامعة بغداد .

- Aziz . A.Y. , Foster, H. A. & Fairhurst , C. P. .1993. Extracellular enzymes of *Trichoderma harzianum* . & *T. polysporum* in relation to biological control of Dutch elm disease. Arboricultural - journal . 7:159 - 170 . (Abstract) .

- Bakker , P. A. H. M. , Ran , L. X. , Pieterse , C. M. J. and Vanloon , L.C. . 2003. Under standing the involvement of rhizobacteria mediated induction of systemic resistance in biocontrol of Plant Disease. Can. J. Plant Pathol. 25 : 5 - 9 .

- Bilgrami , K. S. and R. N. Verma .1981. Physiology of fungi , 2nd Revised Edition. New Delhi , India , pp. 507.

- Buchenaver , H. .1995. DMI-fungicides : Side effects on the Plant and Problems of resistance . In Modern Selective Fungicides – Properties , Applications , Mechanisms of Action (H – Lyr , ed) Gustav Fisher – Verlag , Jena Germany , 280 – 290 .

- Carling , D. E . , Helm , D. J. , Leiner , R.H. . 1989 . In vitro sensitivity of *Rhisoctonia solani* and other multinucleate & Binucleate *Rhisoctonia* to selected fungicides . Plant Dis. 70 : 577- 578 .
- Dewan , M.M. . 1989 . Identity and frequency of occurrence of fungi in roots of Wheat and rye grass and their affection take-all and host growth. Ph. D. Htesic , Univ. Wes. Australia. 210 pp.
- Ghisalberti , E. L. , Narbey , M. J. , Dewan , M. M. and Sivasithamparam , k. . 1990 .Viability among strain of *Tricoderma harzianum* in their ability and to reduce take – all to produce Pyrones . Plant and Soil . 121 : 287 – 291 .
- Kumar , A. & Marimutha , T. .1994 . Biological control of damping - off of *Eucalyptus camaldulensis* caused by *Rhizoctonia solani* with *Trichoderma viride* and decomposed coconut coir pith . Plant disease research . 9:116 -121.
- Lewis , J. A. , Lumssden , R. D. and Locke , G. C. . 1996 . Biocontrol of Damping - off diseases caused by *Rhizoctonia solani* and *Pythium ultimum* with alginate prills of *Gliocladium verens* , *Trichoderma harzianum* , and vriow food bases . Biocontrol Sci. Technol. 2 : 163 - 173 .
- Mandara , N. B. , Orellana , R. G. , Warther , J. D. Werely , J. E. Duthy , S. R. , Finegord , H & Weathinggton , B. C. .1980 . Phytotoxins in *Rhizoctonia solani* : Isolation and biological activity of M – Hydroxy – and – M – Methoxy phenyl acetic acid . J. Agric . Food . Chem. 28 : 71 – 75 .
- Mavrodi , O. V. , Mespadden – Gardener , B. B. , Thomashow , L. S. , Mavrodi , D.V. , Bonsall , R. F. and Weller , D.M. 2001.Genetic diversity of PhLD from 2 , 4 - diacetyl phloroglucinol producing florescent *Pseudomonas spp*.Phytopathology . 91 : 35 - 43.
- Mehrotra , R.S. , Aneja , K. R. and Aggarwal , A. .1997. Fungal control agents. In : Environmentally approaches to crop disease control (Rechcigl , N. A. and Rechcigl , J. E. P. 111-137. CRC Press .
-Monte , E. . 2001. .Understanding *Trichoderma* :between biotechnology and microbial ecology . Int. Microbiol. 4:1- 4.
- Ongena , M. , Daayf , F. , Jacques , P. , Thonart , P. , Benhamou , N. , Paulitz , T.C. , Cornelis , P. , Koedam , N. and Belanger , R.R. 1999 . Protection of Cucumber against *Pythium* root rot by *Pseudomonads fluorescent* : Predominant role of induced resistance over siderophores and antibiosis . Plant Pathology . 48 : 66 -76.
- Paulitz , T.C. , Chen , C. , Belanger , R. and Benhamou , N. 1998. Induced systemic resistance by *Pseudomonas spp*. against *Pythium* root rot. Biological Control . 1 : 310 – 323 .
- Rosales , A. M. , Thomashow , L. , Cook , R. J. and New , T. W. .1995 . Isolation and identification of antifungal metabolites produced by rice. Associated antagonistic *Pseudomonas* spp. Phytopathology . 85 : 1028 – 1032 .
- Suslow , T. V. . 1982. Role of root colonizing bacteria in plant growth 187 – 223 , In Mount , M. S. and G. H. Lacy , (eds). Phytopathology. V. 1.
- Weinhold , A. S. , Sinsclair , J. . 1996 . *Rhizoctonia solani* : Penetration , colonization and Host response , P. : 163 – 174 . (C. F. sneh , et al. , 1996) .
- Windham , M.T. , Elad , Y. and Baker , R. .1986. Amechanism for increased plant growth induced by *Trichoderma* spp. Phytopathology . 76 : 518-521.