تقويم كفاءة بعض عوامل المكافحة الاحيائية والمبيد Beltanol ضد الفطرين Rhizoctonia solani و Fusarium oxysporum المسببين لتعفن بذور وموت بادرات الرقي.

كامل سلمان جبر ذياب عبد الواحد فرحان احمد حميد رشيد
كلية الزراعة-جامعة بغداد . الكلية التقنية-المسيب

المستخلص

تضمنت الدراسة مقاومة مرض تعفن البذور وموت بادرات الرقي باستخدام بعض عوامل المكافحة الاحيائية. بينت نتائج اختبار المقدرة التضادية ان بعض انواع الفطر Trichoderma وهي T. viride و T. hamatum و T. pseudokoningii أظهرت درجة تضاد عالية ضد الفطر الممرض *F.oxysporum* وبلغت درجة تضادها 1.9، 2.0 ، 1.7 على التوالي. كما حقق النوعان T. viride و T. pseudokoningii درجة تضاد عالة ضد الفطر الممرض R. solani فقد بلغت درجة تضادهما 2.0و1.8 على التوالي في حين اخفق النوع T. hamatum في تحقيق درجة تضاد فعالة فقد كانت درجة التضاد في معاملته مع الفطر الممرض 2.2. اما الفطر *Paecilomyces lilacinus* فلم يحقق درجة تضاد عالية وبلغت درجة تضاده ضد الفطرين R. solani و F. oxysporum 3.2 و 3.0 على التوالي. واظهرت البكتريا Bacillus subtilis مقدرة تضادية عالية وادى استخدامها الى تثبيط نمو الفطرين الممرضين بنسبة 44.4% و 66.6% على التوالي كما اظهر المبيد Beltanol كفاءة عالية في تثبيط نمو الفطرين R. solani و F. oxysporum اذ منع نمو كلا الفطرين بالكامل. كما اظهر عاملا المكافحة الاحيائية T. pseudokoningii و B. subtilis والمبيد Beltanol بتركيز 1 مل / لتر كفاءة في حماية بذور وبادرات الرقي من الاصابة بالفطرين الممرضين R. solani و F. oxysporum اذ ادى استعمال عاملا المكافحة الاحيائية بوجود الفطرين الممرضين الى زيادة نسبة الانبات فقد بلغت في معاملاتهما 53.3%،66.6% و60%، 70% على التوالي وخفضتا شدة الاصابة الى 55.4%،32.3% و 53.2%،30.6% على التوالي في حين كانت نسبة الانبات وشدة الاصابة في معاملة المبيد Beltanol وبوجود الفطرين الممرضين بلغت 76.6%،80%و 33.8%،18.5% على التوالي قياسا مع معاملة المقارنة بوجود الفطرين الممرضين بمفردهما التي بلغت نسبة الانبات وشدة الاصابة فيها 6.6%،10% و 93%،90% على التوالي، واظهر عاملا المكافحة الاحيائية والمبيد الفطري كافة زيادة في الوزن الجاف للمجموع الجذري والخضري مقارنة بمعاملة الفطرين الممرضين بمفردهما.

The Iraqi Journal of Agricultural Science 39 (2) : 68-78 (2008) Juber et al .

EVALUATION THE EFFICIENCY OF SOME BIOCONTROL AGENTS AND BELTANOL AGAINST RHIZOCTONIA SOLANI AND FUSARIUM OXYSPORUM THE CAUSAL OF SEEDROT AND DAMPING OFF DISEASE OF WATERMELON.

Kamil S. Juber Theyab A. Farhan Ahmed H. Rasheed
College of Agriculture College Al-Musayab Technical
University of Baghdad

ABSTRACT

The study include control of seed rot and damping off disease of watermelon by using some of biocontrol agents. The result of antagonistic ability test of *Trichoderma spp.* on PSA culture media showed that all *Trichoderma* species (*T. viride* , *T. hamatum* and *T. pseudokoningii*) revealed a high degree of antagonistic against the pathogenic fungus *F. oxysporum* which were reached 1.9,2.0,1.7 respectively. The two antagonistic fungi *T. pseudokoningii* and *T. viride* also showed a high degree of antagonistic against the fungus *R. solani* which were reached 2.0 and1.8 respectively. while , *T. hamatum* failed to show efficacious antagonistic degree against the pathogenic fungus, the antagonistic degree in its treatment was 2.2. The *Paecilomyces lilacinus* fungus had a low antagonistic degree against *R. solani* and *F. oxysporum* which were 3.2 and 3.0 respectively. The bacteria *Bacillus subtilis* showed a highly antagonistic ability , where its using caused 66.6% and 44.4% growth inhibition against the two pathogenic fungi respectively . The Beltanol fungicide showed a higher efficiency in the growth inhibition of *R. solani* and

F. oxysporum where the growth of two fungi completely inhibited . The two Biocontrol agents , *T. pseudokoningii* and *B. subtilis* and Beltanol fungicide showed efficiency in the protection of watermelon seeds and seedling from the infection by the two pathogenic fungi *R. solani* and *F. oxysporum* . The use of the two biocontrol agents cause increase the percentage of seed germination in the presence of the two pathogenic fungi *R. solani* and *F. oxysporum* , the percentage of seed germination in their treatment reached 53.3% and 66.6% and 60%, 70% respectively , and reduced the percentage of disease severity with the presence of the two pathogenic fungi to 55.4% , 32.3% and 53.2% , 30.6% respectively, while the percentage of seed germination and disease severity in the Beltanol treatment in the presence of the two pathogenic fungi were reached 76.6% ,80% and 33.8% , 18.5% respectively compared with control treatment with the presence of the two pathogenic fungi *R. solani* and *F. oxysporum* only where the seed germination and disease severity were reached 6.6% , 10% and 93% , 90% respectively. All the biocontrol agents and the Beltanol fungicide treatments showed increase in shoots and root in dry weights of compared with the treatment of the two pathogenic fungi only .

المقدمة

يعود محصول الرقي *Citrullus lanatus* (Thumb.) Matsum and Nakai الى العائلة القرعية *Cucurbitaceae* وهو احد محاصيل الخضر الصيفية المهمة في العراق، يمثل المرتبة الاولى من حيث المساحة والانتاج، بلغت المساحة المزروعة بالرقي في العراق 152000 دونم لعام 2003 وبلغ اجمالي الانتاج 380000 طن متري (19). يتعرض محصول الرقي للاصابة بالعديد من مسببات الامراض وتعد مسببات تعفن البذور وموت البادرات وتعفن الجذور والذبول من اهم العوامل المحددة لزراعة المحصول في معظم دول العالم(11،27،35). يعد الفطر *Rhizoctonia solani* واحد من اهم واخطر مسببات الامراض الفطرية القاطنة في التربة لاصابته مدى واسع من العوائل النباتية الاقتصادية ومن اهمها العائلة البقولية والعائلة القرعية والعائلة الخبازية والعائلة الصليبية ان تأثير هذا الفطر اكثر خطورة على الاجزاء التي تنمو تحت سطح التربة اذ يعد مسبباً رئيساً لمرض سقوط البادرات للعديد من محاصيل الخضر والفاكهة. وتكون خطورة الفطر على اشدها عندما يكون النبات في مراحل نموه المبكرة ، اذ يسبب موت البادرات خلال سبعة ايام (6،11،15،30،33،36). ويعد الفطر *Fusarium oxyspoum f. sp niveum* المسبب لمرض ذبول الرقي من اهم المشاكل التي تواجه زراعة محصول الرقي في العالم. يهاجم الفطر نبات الرقي في كل مراحل نموه اذ يؤدي الى تعفن البذور قبل الانبات وموت البادرات قبل وبعد البزوغ وتظهر بقع متحللة على المجموع الجذري وتلون الجهاز الوعائي باللون البني (21،28،39). استخدمت المبيدات الكيميائية لمعاملة البذور والتربة للحد من تأثير هذه المسببات كالمبيد Beltanol . وعلى الرغم من فعالية المبيدات الا ان هذا الاتجاه لا ينسجم مع الستراتيجيات الحديثة في العالم التي تعمل على تقليل استخدام المبيدات لما لها من آثار سلبية على البيئة والاحياء غير المستهدفة وصحة الانسان فضلاً عن ظهور السلالات المقاومة لفعلها ، لهذا ركزت معظم الدراسات على الكشف عن احياء مضادة للمسببات المرضية والعمل على تطوير كفاءتها كستراتيجية بديلة أو أحد عناصر المكافحة المتكاملة. وقد تركزت معظم الدراسات على انواع الجنس *Trichoderma* والذي شخصت انواع عدة منه مثل *T. harzianum* و *T. hamatum* و *T. pseudokoningii* والتي اظهرت كفاءة تضادية عالية ضد احياء التربة الممرضة تحت الظروف المختبرية واظهرت كفاءة عالية في الحد من تأثير المسببات المرضية تحت ظروف البيت الزجاجي والحقل (6،13). اظهرت البكتريا *Bacillus subtilis* كفاءة عالية في التأثير في فطريات التربة الممرضة كالفطر *R. solani* وانواع الجنس *Fusarium* (7،26). ولاهمية الرقي كمحصول خضر غذائي صيفي في القطر وللخسائر التي يعاني منها المزارعون بسبب الفشل في الانبات وموت نسبة كبيرة من البادرات قبل وبعد البزوغ لذا هدفت الدراسة الى مكافحة المسببات المرضية باستخدام عوامل المكافحة الاحيائية والمبيد الكيميائي Beltanol .

المواد وطرائق العمل

الاحياء المستخدمة في الدراسة:

عزل الفطران *Rhizoctonia solani* و *Fusarium oxysporum* من بادرات الرقي المريضة. فقد عزل الفطر الاول من عينة جمعت من منطقة جرف الصخر/محافظة بابل اظهرت البادرات فيها اعراض مرضية تمثلت بأصفرار الاوراق وتخصر منطقة التاج وتلون الجذور بلون بني قاتم وعزل الفطر الثاني من عينة جمعت من منطقة سدة الفلوجة/محافظة الانبار اظهرت فيها البادرات اعراض اصفرار الاوراق وتدليها وتلون الجذور بلون بني مصفر. وشخص الفطرين الى مستوى النوع اعتمادا على الصفات المزرعية لمستعمراتهما والمظهرية للتراكيب التي كونها كل فطر وبأستخدام المفاتيح التصنيفية المعتمدة (14،32) واختبرت مقدرتهما الامراضية(5). اما انواع الفطر *Trichoderma* وهي *T.hamatum* و *T. pseudokoningii* و *T. viride* فقد عزلت كفطريات مرافقة لبادرات الرقي المريضة التي جمعت من منطقة جرف الصخر/محافظة بابل وسدة الفلوجة وعامرية الفلوجة/محافظة الانبار على التتابع وشخصت بأستخدام التصنيفي الذي ذكر في Domsch واخرون (18). اما الفطر *Paecilomyces lilacinus* فقد عزل من المستحضر الحيوي الصمود وتم الحصول على البكتريا *Bacillus subtilis* من الدكتور كامل سلمان جبر/قسم وقاية النبات/كلية الزراعة/جامعة بغداد.اختبارات المقدرة التضادية لانواع الفطر *Trichoderma spp.* والفطر *Paecilomyces lilacinus* ضد الفطرين الممرضين *Rhizoctonia solani* و *Fusarium oxysporum* في الوسط الزرعي PSA . اجري هذا الاختبار لتقويم كفاءة انواع الجنس *Trichoderma* وهي *T. viride* و *T. hamatun* و *T. pseudokoningii* والفطر *Paecilomyces lilacinus* ضد الفطرين الممرضين *R. solani* و *F. oxysporum* . نفذ الاختبار باتباع تقانة الزرع المزدوج. حضر الوسط الزرعي PSA وعقم بالموصدة تحت درجة حرارة 121°م وضغط 1.5 كغم/سم² لمدة 20 دقيقة، وزع الوسط في اطباق بتري قطر 9 سم بواقع 15–20 مل / طبق وتركت الاطباق لحين التصلب ثم جرى تلقيحها بأخذ قرص بقطر 5 ملم بواسطة ثاقب الفلين المعقم من قرب حواف مستعمرة الفطرين الممرضين *R. solani* و *F. oxysporum* كلاً على انفراد والمنماة على وسط PSA بعمر 7 ايام ، وضع القرص في مركز نصف الطبق ، اما مركز نصف الطبق الاخر فقد تم تلقيحه بقرص قطر 5 ملم مأخوذ بواسطة ثاقب الفلين المعقم من قرب حواف مستعمرة فطر المكافحة الاحيائية المنماة على وسط PSA بعمر 7 ايام. استخدمت ثلاثة اطباق لكل معاملة اما معاملة المقارنة فقد لقحت ثلاثة اطباق بالفطر *R. solani* فقط وثلاثة اطباق بالفطر *F. oxysporum* فقط وضعت الاطباق في حاضنة تحت درجة 25 ± 2 م لمدة 8 ايام وبعد ذلك جرى قياس الاقطار المتعامدة لفطر المكافحة الاحيائية والفطر الممرض واخذ معدلها للمكررات جميعها لتحديد درجة التضاد حسب سلم (13) المؤلف من خمسة درجات تضادية وهي 1= فطر المكافحة الاحيائية يغطي الطبق بكاملة و 2= فطر المكافحة الاحيائية يغطي 3/4 مساحة الطبق و3= فطر المكافحة الاحيائية والفطر الممرض يغطي كل منهما نصف الطبق و4= الفطر الممرض يغطي 3/4 مساحة الطبق و5= الفطر الممرض يغطي الطبق بكامله. وعد الفطر مقاوم جيد اذا كان بالدرجة 1 او 2.اختبار المقدرة التضادية للبكتريا *Bacillus subtilis* ضد الفطرين الممرضين *Rhizoctonia solani* و *Fusarium oxysporum* في الوسط الزرعي PSA اشتمل هذا الاختبار عدداً من الخطوات :

تحضير لقاح البكتريا *Bacillus subtilis* جرى اكثار البكتريا *B. subtilis* على الوسط (KB) King's broth medium المكون من 20 غم بيبتون + 15 مل كليسرول + 2.5 غم K_2PO_4 + 6 غم $MgSO_4.7H_2O$ + 1 لتر ماء مقطر (37) . قسم الوسط في دوارق زجاجية سعة 250 مل عقمت الدوارق بالموصدة ثم جرى تلقيح الدوارق بالبكتريا *B. subtilis* بأخذ قرصين بواسطة ثاقب الفلين المعقم من مستعمرة البكتريا المنماة على وسط PSA لكل دورق جرى مزج مكونات الدورق بواسطة هزاز كهربائي لمدة عشرة دقائق وبعدها حضنت الدوارق بدرجة 23 ± 1 م لمدة 48 ساعة (25) .تحديد التركيز الفعال من لقاح البكتريا *Bacillus subtilis* المثبط لنمو الفطرين *Rhizoctonia solani* و *Fusarium oxysporum* تم تحضير عشرة انابيب اختبار تحوي كل انبوبة 9 مل ماء مقطر

معقم بعدها لقحت الانبوبة الاولى بالبكتريا بأخذ 1 مل من الوسط KB النامية فيه البكتريا بواسطة ماصة معقمة وضعت داخل الانبوبة وجرى مزج المكونات بتحريك الانابيب الاختبار باليد وتم تلقيح الانبوبة الثانية بأخذ 1 مل من الانبوبة الاولى بواسطة ماصة معقمة كررت العملية على باقي الانابيب للحصول على سلسلة من التخافيف (10^{-1} ... 10^{-10}) بعدها جرى تلقيح الاطباق الحاوية على PSA باخذ 1 مل من كل تخفيف بواسطة ماصة معقمة ووضعت بشكل بقع تبعد عن حافة الطبق 1 سم (5 بقعة / طبق) . تم استخدام طبقين لكل تخفيف كررت العملية نفسها على باقي التخافيف بعدها حضنت الاطباق في حاضنة تحت درجة حرارة 23 ± 1 م لمدة 48 ساعة جرى بعدها تلقيح الاطباق بالفطرين *R. solani* و *F. oxysporum* بأخذ قرص قطر 5 ملم بواسطة ثاقب فلين معقم من مستعمرة الفطر بعمر 7 ايام **ووضع في مركز الطبق ، كررت عملية التلقيح** على كافة الاطباق الملقحة بالبكتريا *Bacillus subtilis* . اما معاملة المقارنة فقد تم تلقيح الاطباق المعدة لها بالفطرين *R. solani* و *F.oxysporum* فقط بعدها وضعت الاطباق في حاضنة بدرجة حرارة 25 ± 2 م لمدة 5 ايام وجرى بعدها حساب مقدار التثبيط وذلك بحساب قطر مستعمرة الفطر المعامل بالبكتريا ومقارنته بمعاملة المقارنة (24) وكان التركيز الفعال 10^{-8} وقد حسبت النسبة المئوية للتثبيط وفق المعادلة التالية :

$$\% \text{ للتثبيط} = \frac{\text{معدل نمو الفطر في المقارنة} - \text{معدل نمو الفطر في المعاملة}}{\text{معدل نمو الفطر في المقارنة}} \times 100$$

حساب الكثافة العددية للبكتريا *Bacillus subtilis*

بعد الحصول على التخفيف المثبط من البكتريا للفطرين الممرضين *R. solani* و *F. oxysporum* من التجربة السابقة جرى تحضير اربعة اطباق بتري قطر 9 سم حاوية على وسط PSA المعقم ، لقحت الاطباق بمعلق البكتريا 10^{-8} بأخذ 1 مل من التخفيف 10^{-8} واضافته الى الطبق كررت العملية على باقي الاطباق ثم نقلت الاطباق الى الحاضنة تحت درجة حرارة 23 + 1 م لمدة 48 ساعة بعدها حسب عدد المستعمرات في كل طبق واستخرج المعدل ثم ضرب في مقلوب التخفيف الفعال (16). وبناءً على ذلك يكون عدد المستعمرات 5×10^{9} (وحدة تكوين مستعمرة / مل) (7) . تقويم كفاءة المبيد Beltanol في تثبيط نمو الفطرين الممرضين *R. solani* و *F. oxysporum* في الوسط الزرعي PSA تم تحضير الوسط PSA في دورق سعة 500 مل عقم الوسط بالموصدة تحت درجة حرارة 121 م وضغط 1.5 كغم / سم^2 لمدة 20 دقيقة بعدها وزع الوسط PSA في اطباق بتري قطر 9 سم استخدم 4 اطباق لكل فطر ممرض و 8 اطباق لمعاملة المقارنة ، حضر المبيد Beltanol المادة الفعالة Chinosol (8-Hydroxy quinoline sulfate) من انتاج شركة Probelte الاسبانية باضافة 1 مل من المبيد الى 1 لتر ماء معقم ومزج جيداً بتحريكه باليد واضيف الى الاطباق بمقدار 1 مل لكل طبق بعدها جرى تلقيح 4 اطباق بالفطر *R. solani* و 4 اطباق بالفطر *F. oxysporum* باقراص قطر 5 ملم اخذت من قرب حواف مستعمرة الفطرين النامية على وسط PSA بعمر 7 ايام . اما معاملة المقارنة فقد جرى تلقيح 4 اطباق بالفطر *R. solani* و 4 اطباق بالفطر *F. oxysporum* . وضعت الاطباق في حاضنة بدرجة حرارة 25 ± 2 م لمدة 5 ايام بعدها جرى قياس الاقطار المتعامدة للفطرين الممرضين في الاطباق المعاملة بالمبيد ومعاملة المقارنة وتم حساب نسبة التثبيط.

تقويم كفاءة عاملي المكافحة الاحيائية للفطر *Trichoderma pseudokoningii* و *Bacillus subtilis* والمبيد Beltanol في حماية بذور وبادرات الرقي من الاصابة بالفطرين الممرضين *R. solani* و *F. oxysporum*

اجري هذا الاختبار في البيت الزجاجي / كلية الزراعة / جامعة بغداد بتاريخ 2005/5/25. حضر اللقاح الفطري للفطرين الممرضين *R. solani* و *F. oxysporum* وفطر المكافحة الاحيائية *Trichoderma pseudokoningii* حسب طريقة (17). واتبعت الطريقة نفسها في تعقيم التربة. وزعت التربة في اصص قطر 15 سم بواقع 1كغم/اصيص وزرعت الاصص ببذور الرقي بواقع 10 بذرة/اصيص مع مراعاة ما يلي :

1- جرى اضافة لقاح الفطر *T. pseudokoningii* بنسبة 10 غم / اصيص قبل اضافة لقاح الفطرين الممرضين *R. solani* و *F. oxysporum* بثلاثة ايام.

2- جرى تنقيع 60 بذرة رقي بمعلق البكتريا *Bacillus subtilis* بتركيز 5×10^9 وحدة تكوين مستعمرة / مل قبل الزراعة بـ 24 ساعة .

3- جرى اضافة المبيد Beltanol بتركيز 1 مل / لتر الى الاصص بعد 24 ساعة من اضافة لقاح الفطرين الممرضين *R. solani* و *F. oxysporum* بمعدل 100 مل / اصيص . نفذ هذا الاختبار في تجربتين منفصلتين الاولى للفطر الممرض *R. solani* وضمت المعاملات الاتية :1= الفطر *R. solani* بمفرده و 2= *R. solani* + *T. pseudokoningii* و3= *R. solani* + *B. subtilis* و4= *R. solani* + المبيد Beltanol . والثانية للفطر *F. oxysporum* وضمت المعاملات التالية: 1= الفطر *F. oxysporum* بمفرده و 2= *F. oxysporum* + *T. pseudokoningii* و 3= *F. oxysporum* + *Bacillus subtilis* و 4= *F. oxysporum* + المبيد Beltanol و 5= المقارنة (اضافة بذور دخن معقمة بواقع 10 غم / اصيص فقط)نفذت التجربتين حسب التصميم العشوائي الكامل CRD وبثلاث مكررات لكل معاملة وبعد مرور 20 يوماً من الزراعة جرى حساب عدد البادرات النابتة ومنها حسبت النسبة المئوية للانبات كما حسبت شدة الاصابة وفق الدليل المرضي الاتي: 0= النبات سليم والمجموع الجذري ابيض غير مصاب و2= تلون الجذر بالكامل مع اصفرار شامل للاوراق و3= يمتد التلون من الجذور الى قواعد السيقان و4= موت النبات. وحسبت النسبة المئوية لشدة الاصابة وفق المعادلة الاتية :

$$\text{شدة الاصابة \%} = \frac{\left[\text{عدد النباتات من الدرجة } 0 \times 0\right] + \left[\text{عدد النباتات من الدرجة } 1 \times 1\right] + \ldots + \left[\text{عدد النباتات من الدرجة } 4 \times 4\right]}{\text{عدد النباتات الكلي} \times 4} \times 100$$

وجرى حساب تأثير المعاملات المختلفة في الوزن الجاف للمجموع الجذري والخضري. وحللت النتائج حسب اختبار دنكن متعدد الحدود تحت احتمالية 5%.

النتائج والمناقشة

اختبار المقدرة التضادية لانواع الفطر *Trichoderma* والفطر *Paecilomyces lilacinus* ضد الفطرين الممرضين *Rhizoctonia solani* و *Fusarium oxysporum* في الوسط الزرعي PSA

تشير نتائج اختبار المقدرة التضادية لاربعة انواع من فطريات المكافحة الاحيائية وهي *T. viride* و *T. hamatum* و *T. pseudokoningii* و *P. lilacinus* ضد الفطر *R. solani* (جدول 1) ان نوعي الفطر *T. viride* و *T. pseudokoningii* حققا مقدرة تضادية عالية استناداً الى مقياس (13) اذ بلغت درجة تضادها مع الفطر *R. solani* 2.0 و 1.8 على التوالي. في حين اخفق النوع *T. hamatum* في تحقيق درجة تضاد فعالة فقد كانت درجة التضاد في معاملته مع الفطر الممرض 2.2. اما الفطر *Paecilomyces lilacinus* فلم يحقق درجة تضاد فعالة اذ بلغت درجة تضاده مع الفطر *R. solani* 3.2 حسب المقياس نفسه وقد يعود السبب الى ان هذا الفطر متخصص على النيماتودا فقط وليس له الية تأثير في فطريات التربة. كما حققت فطريات المكافحة الاحيائية مقدرة تضادية ضد الفطر *F. oxysporum* مشابهة تقريباً لتلك التي حققتها ضد الفطر *R. solani* (جدول 1) اذ حققت درجات تضاد 1.9 ، 2.0 ، 1.7 و 3.0 على التوالي. ان تباين انواع الفطريات في مقدرتها التضادية يعزى الى اختلاف الية تأثيرها على العائل فقد يؤثر البعض منها بأليه واحدة كالتطفل الفطري Mycoparasitism او بأكثر من الية كالتضادالحيوي Antibiosis والتنافس Competion. وهذه النتيجة تتفق مع ما ذكره العديد من الباحثين (4،9،13) الذين اشاروا الى تباين فطريات المكافحة الاحيائية في مقدرتها التضادية ضد مسببات الامراض .

جدول (1) اختبار المقدرة التضادية لبعض انواع الفطر *Trichoderma* والفطر *Paecilomyces lilacinus* ضد الفطرين الممرضين *R. solani* و *F. oxysporum*

عوامل المكافحة الاحيائية	درجة تضادها ضد الفطر الممرض	
	R. solani	*F. oxysporum*
T. viride -1	* 2.0	1.9
T. hamatum -2	2.2	2.0
T. pseudokoningii -3	1.8	1.7
Pacilomyces lilacinus -4	3.2	3.0

حسبت درجة التضاد بعد 8 ايام من الزرع المزدوج حسب مقياس Bell واخرون (13) المكون من خمسة درجات وهي :1=فطر المكافحة الاحيائية يغطي الطبق بكامله و2= فطر المكافحة الاحيائية يغطي¾ مساحة الطبق و3=فطر المكافحة الاحيائية والفطر الممرض يغطي كل منهما نصف الطبق و4=الفطر الممرض يغطي ¾ مساحة الطبق و5=الفطر الممرض يغطي الطبق بكامله. اختبار المقدرة التضادية للبكتريا *Bacillus subtilis* ضد الفطرين الممرضين *R. solani* و *F. oxysporum* في الوسط الزرعي PSA

بينت النتائج (جدول 2) ان استخدام البكتريا *Bacillus subtilis* بتركيز 5×10^9 وحدة تكوين مستعمرة / 1 مل كعامل مكافحة احيائية ادى الى تثبيط نمو الفطرين الممرضين R. *solani* و *F. oxysporum* في الوسط الزرعي PSA بنسبة بلغت 44.5% و 66% على التوالي مقارنةً مع معاملة المقارنة. ان كفاءة البكتريا *B. subtilis* في تثبيط نمو الفطرين الممرضين *R. solani* و *F. oxysporum* ربما يعزى الى مقدرة هذه البكتريا على افراز مجموعة من المضادات الحياتية كال Subtiline و Subtenoline و Difficidin و Prydifficidin و Bacitracin و Bacillin و Bacillomilin (34،31). او قد يعزى الى سرعة نموها وانتشارها على الوسط الزرعي الصلب وافرازها لنواتج الايض المختلفة التي تعمل على تثبيط نمو الفطرين الممرضين *R. solani* و *F. oxysporum* . وهذه النتيجة تتفق مع ما وجده (26،7) الذين اثبتوا مقدرة هذه البكتريا في تثبيط نمو مسببات الامراض .

جدول (2) اختبار المقدرة التضادية للبكتريا *Bacillus subtilis* ضد الفطرين الممرضين *R. solani* و *F. oxysporum* في الوسط الزرعي PSA

نوع المعاملة	معدل النمو القطري للفطر الممرض		نسبة التثبيط (%)	
	R. solani	*F. oxysporum*	*R. solani*	*F. oxysporum*
Bacillus subtilis -1	5	3	44.4	66.6
Control -2 (المقارنة)	9	9	0	0

كل رقم في الجدول يمثل معدل 4 مكررات.

تقويم كفاءة المبيد Beltanol في تثبيط نمو الفطرين الممرضين *R. solani* و *F. oxysporum* في الوسط الزرعي PSA

بينت النتائج (جدول 3) ان استخدام المبيد Beltanol بتركيز 1 مل / لتر ادى الى تثبيط نمو الفطرين الممرضين *R. solani* و *F. oxysporum* بنسبة 100% مقارنة مع معاملة المقارنة التي بلغت نسبة التثبيط في معاملتها للفطرين الممرضين *R. solani* و *F. oxysporum* 0.0% . وهذه النتيجة تؤكد المقدرة العالية لهذا المبيد في السيطرة على مسببات امراض التربة . وتتفق هذه النتائج مع ما وجده (7،3،2) اللذين وجدوا ان استخدام هذا

المبيد بالتركيز الموصى به (1 مل / لتر) ادى الى تثبيط نمو الفطريات الممرضة بشكل كامل على الوسط الزرعي PDA .

جدول (3) تقويم كفاءة المبيد Beltanol في تثبيط نمو الفطرين الممرضين *R. solani* و *F. oxysporium* في الوسط الزرعي PSA

نوع المعاملة	معدل النمو القطري للفطر الممرض		نسبة التثبيط (%)	
	R. solani	*F. oxysporum*	*R. solani*	*F. oxysporum*
Beltanol -1	0	0	100	100
Control -2 (المقارنة)	9	9	0	0

كل رقم في الجدول يمثل معدل 4 مكررات.

تقويم فعالية عاملي المكافحة الاحيائية *Trichoderma pseudokoningii* و *Bacillus subtilis* والمبيد Beltanol في حماية بذور وبادرات الرقي من الاصابة بالفطرين الممرضين *R. solani* و *F. oxysporum* .

بينت النتائج (جدول 4 و 5) الكفاءة العالية لعاملي المكافحة الاحيائية في خفض عدد البذور المصابة والنسبة المئوية لشدة الاصابة في بادرات الرقي وبدرجات متفاوتة مقارنة مع معاملة التربة الملوثة بالفطريات الممرضة بمفردها اذ ادى استخدام *T. pseudokoningii* الى خفض عدد البذور المصابة في معاملته مع وجود الفطرين الممرضين *R. solani* و *F. oxysporum* كل على انفراد اذ بلغت النسبة المئوية للانبات في المعاملة 53.3% و 66.6% على التوالي. في حين كانت نسبة الانبات في معاملة التربة الملوثة بالفطرين *R. solani* و *F. oxysporum* بمفردهما 6.6% و 10% على التوالي . كما ادى استخدام الفطر *T. pseudokningii* بوجود الفطرين الممرضين *R. solani* و *F. oxysporum* الى خفض معنوي في شدة الاصابة بالفطرين وبلغت شدة الاصابة في معاملته 55.4% و 32.3% على التوالي مقارنة بمعاملة التربة الملوثة بالفطرين الممرضين بمفردهما التي بلغت شدة الاصابة فيهما 75% و 58.3% على التوالي. ان هذه النتيجة تتفق مع ما ذكره (4،10،22) الذين اشاروا الى مقدرة انواع الفطر *Trichoderma* في حماية البذور من الاصابة بمستوطنات التربة ومقدرته على استحثاث مقاومة في النباتات ضد الاصابة بالمسببات المرضية. ادى استخدام البكتريا *B. subtilis* الى زيادة النسبة المئوية لانبات البذور بوجود الفطرين الممرضين *R. solani* و *F. oxysporum* وبلغت النسبة المئوية للانبات في معاملتيهما 60% و 70% على التوالي مقارنة مع معاملة التربة الملوثة بالفطرين الممرضين بمفردهما. وهذه النتيجة تتفق مع ما وجده (38) تحت ظروف البيت الزجاجي بأن سلالة البكتريا *B. subtilis* H393 لها تأثير ضد مرض تعفن جذور الفلفل المتسبب عن الفطر *R. solani* اذ ادى تغطيس بذور الفلفل بمعلق البكتريا (10^6 خلية / مل) الى خفض معنوي لمرض تعفن جذور الفلفل وزيادة في الانتاج. وادى استخدام البكتريا *B. subtilis* الى خفض شدة الاصابة في معاملتها بوجود الفطرين الممرضين كل على انفراد وبلغت شدة الاصابة 53.2% و 30.6% على التوالي مقارنة مع معاملة التربة الملوثة بالفطرين الممرضين *R. solani* و *F. oxysporum* بمفردهما وبلغت شدة الاصابة بالفطرين 75% و 58.3% على التوالي. وهذه النتيجة تتفق مع ما ذكره (7،26) من مقدرة البكتريا في حماية البذور من الاصابة وتحفيز نمو النبات. ان تفوق البكتريا *B. subtilis* كعامل مكافحة احيائية قد يعود الى مقدرتها التنافسية العالية مقارنة بالفطرين الممرضين في استيطان الجذور واستغلال المواد الغذائية وافرازات الجذور التي تعد عوامل اساسية لنموها في الجذور وابعاد المسبب المرضي من البيئة المنافسة (20) او يعود الى مقدرة البكتريا *B. subtilis* على افراز

المضادات الحياتية مثل Subtenolin و Bacilin و Bacilomycin و Bacitracin التي تعمل على تحلل سايتوبلازم الخيوط الفطرية وتشوه قمم الخيوط الفطرية (31). كما اظهر المبيد Beltanol كفاءة عالية في زيادة النسبة المئوية للانبات بوجود الفطرين الممرضين اذ بلغت 76.6% و 80% على التوالي مقارنة مع معاملة الفطرين الممرضين بمفردهما اذ بلغت نسبة الانبات 6.6% و 10% على التوالي . كما ادى استخدام المبيد الى خفض شدة الاصابة بالفطرين *R. solani* و *F. oxysporum* اذ بلغت 33.8% و 18.5% على التوالي مقارنة مع معاملة التربة الملوثة بالفطرين بمفردهما اذ بلغت 75% و 58.3% على التوالي . ان هذا التأثير الذي احدثه استخدام المبيد Beltanol في رفع نسبة الانبات وخفض شدة الاصابة بالفطرين الممرضين R. solani و F. oxysporum يعزى الى مقدرة المبيد في التأثير في فعالية ونشاط الفطرين الممرضين من خلال تكوين مركبات مخلبية مع النحاس في انسجة العائل وهذا يسهل مروره الى داخل خلايا المسبب المرضي وبعدها يتحرر ليقتل المسبب المرضي (29،12) . وهذه النتائج تتفق مع ما ذكره (3،2) من مقدرة هذا المبيد في السيطرة على مستوطنات التربة.

جدول (4) تقويم كفاءة عاملي المكافحة الاحيائية *Trichoderma pseudokoningii* و *Bacillus subtilis* والمبيد *Beltanol* في حماية بذور وبادرات الرقي من الاصابة بالفطر *Rhizoctonia solani*

نوع المعاملة	النسبة المئوية للانبات	شدة الاصابة (%)	الوزن الجاف (غم)	
			المجموع الجذري	المجموع الخضري
R. solani -1	6.60 هـ	75.00 أ	0.11 جـ	0.53 د
T. pseudokoningii + *R. solani* -2	53.30 د	55.40 ب	0.26 ب	0.73 جـ
B. subtilis + *R. solani* -3	60.00 جـ	53.20 ب	0.29 أ ب	0.75 ب جـ
Beltanol + *R. solani* -4	76.60 ب	33.80 جـ	0.32 أ	0.78 أ ب
Control -5 (المقارنة) (تربة معقمة اضيف اليها بذور دخن معقمة فقط)	90.00 أ	0.00 د	0.36 أ	0.82 أ

كل رقم في الجدول يمثل معدل 3 مكررات.

المعاملات التي تشترك بنفس الحرف لا توجد بينها فروقات معنوية حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمالية 5%.

جدول (5) تقويم كفاءة عاملي المكافحة الاحيائية *Trichoderma pseudokoningii* و *Bacillus subtilis* والمبيد Beltanol في حماية بذور وبادرات الرقي من الاصابة بالفطر الممرض *F. oxysporum*

نوع المعاملة	النسبة المئوية للانبات	شدة الاصابة (%)	الوزن الجاف (غم)	
			المجموع الجذري	المجموع الخضري
1- *F. oxysporum*	10.00 د	58.30 أ	0.14 ب	0.56 ب
2- *T. pseudokoningii* + *F. oxysporum*	66.60 جـ	32.30 ب	0.28 أ	0.74 أ
3- *B. subtilis* + *F. oxysporum*	70.00 جـ	30.60 ب	0.30 أ	0.76 أ
4- Beltanol + *F. oxysporum*	80.00 ب	18.50 جـ	0.34 أ	0.80 أ
5- Control (المقارنة) (تربة معقمة اضيف اليها بذور دخن معقمة فقط)	90.00 أ	0.00 د	0.36 أ	0.82 أ

كل رقم في الجدول يمثل معدل 3 مكررات.

المعاملات التي تشترك بنفس الحرف لا توجد بينها فروقات معنوية حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمالية 5%.كما بينت النتائج (جدول4 و 5) ان معاملات عاملي المكافحة الاحيائية المستخدمة كافة ادت الى زيادة في الوزن الجاف للمجموع الجذري والخضري في معاملاتهما بوجود الفطرين الممرضين *R. solani* و *F. oxysporum* مقارنة مع معاملة التربة الملوثة بالفطرين الممرضين بمفردهما. اذ ادى استخدام الفطر *T. pseudokoningii* الى زيادة الوزن الجاف للمجموع الجذري في معاملته بوجود الفطرين الممرضين اذ بلغت 0.26 و 0.28 غم وزيادة الوزن الجاف للمجموع الخضري اذ بلغ 0.73 و 0.74 على التوالي مقارنة مع معاملة التربة الملوثة بالفطرين الممرضين *R. solani* و *F. oxysporum* بمفردهما والتي بلغ الوزن الجاف للمجموع الجذري 0.11 و 0.14 غم على التوالي والوزن الجاف للمجموع الخضري 0.53 و 0.56 غم على التوالي. كما ادى استخدام البكتريا *B. subtilis* بوجود الفطرين الممرضين *R. solani* و *F. oxysporium* الى زيادة في الوزن الجاف للمجموع الجذري بلغت 0.29 و 0.30 غم على التوالي وزيادة الوزن الجاف للمجموع الخضري اذ بلغ 0.75 و 0.76 غم على التوالي مقارنة مع معاملة التربة الملوثة بالفطرين الممرضين بمفردهما التي بلغ الوزن الجاف للمجموع الجذري 0.11 و 0.14 غم والوزن الجاف للمجموع الخضري 0.53 و 0.56 غم على التوالي. كما ادى استخدام المبيد Beltanol الى زيادة في الوزن الجاف للمجموع الجذري والخضري بوجود الفطرين الممرضين *R. solani* و *F. oxysporum*. اذ بلغ الوزن الجاف للمجموع الجذري 0.32 و 0.34 غم والوزن الجاف للمجموع الخضري 0.78 و 0.80 غم على التوالي. وهذه النتائج تؤكد ما ذكره (3،8،23) من مقدرة هذه العوامل على تحسين معايير نمو النبات .

المصادر

1- الجبوري ، صبا باقر عبد خلف . 1998. اللقاح البكتيري *Pseudomonas fluorescens* على محصول القطن. الاستجابة والمقاومة الحيوية لمرض خناق القطن *Rihizoctonia solani Kuhn* . رسالة ماجستير. كلية الزراعة . جامعة بغداد.

2- الجبوري ، حرية حسين شهاب. 2002. تأثير استخدام معيق النمو الكلتار Cultar وبعض المستخلصات النباتية على اصابة نبات الباقلاء بمسببات تعفن الجذور. رسالة ماجستير. كلية الزراعة. جامعة بغداد.

3- الخزرجي ، ياسر عيدان باني محمود. 2004. دراسة انماط مختلفة لمكافحة مرض تعفن جذور الخيار المتسبب عن الفطر *Phytophthora drechsleri* . رسالة ماجستير. كلية الزراعة. جامعة بغداد .

4- الخفاجي ، هادي مهدي عبود. 1985. دراسة بايولوجية ووقائية للفطر *Pythium aphanidermatum* المسبب لمرضي سقوط بادرات الخيار في البيوت الزجاجية والبلاستيكية. رسالة ماجستير. كلية الزراعة. جامعة بغداد.

5- العيساوي، ذياب عبد الواحد فرحان.2006. عزل وتشخيص بعض الفطريات المرافقة لمرض موت بادرات وتعفن جذور الرقي ومقاومتها 11- الفطر *Verticillium dahliae*. اطروحة دكتوراه. كلية الزراعة. جامعة بغداد

12- Aegerter , B.J., T.R., Gordon , and R.M. Davis .2000. Occurrence and pathogenicity of fungi associated with melon root rot and vine decline in California . Plant Dis. 84 : 224-230.

13- Anonymous. (2001) Hydroxyquinoline sulfate. Pages 1-11.

14- Bell , D.K., H.D. Wells , and C.R. Markham .1982. In vitro antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens . Phytopathology . 72 : 379-382.

15- Booth, C.1977. Fusarium. Laboratory guide to the identification of the major species. Commonwealth Mycological Institute. Kew, Surrey, England.58 pp.

16- Christin , T.S., C.C. Powell. and G. Schmithenner .1981. A method of evaluating post emergence damping – off pathogen of Bedding Plants. Phytopathology . 71 (11) : 1225-1228.

17- Clark , F.E. 1965. Agar – plate methods for total microbial count (C.F. Black , 1965 . Method of soil analysis part. 2 Publisher Madison , Wisconsin , U.S.A. 572. pp.

18- Dewan , M.M. 1989. Identity and frequency of occurrence of fungi in root of wheat and Rye grass and their effect on take-all and host growth . Ph. D. Thesis Univ. West Australia , 210 pp.

19- Domsch, K.H.,W. Gams and T. Anderson.1980. Compendium of soil fungi V.1. Academic press.USA. 859pp.

20- FAO .2003. **Food** and Agriculture Organization of the United Nations Book. Rome Italy . Vol. 57 .

21- Handlesmann , J. and E.V. Stabble .1996. Biocontrol of soil borne pathogens. The plant cell. 8 : 1855-1869.

22- Hopkins , D.L., and G.W. Elmstrom. 1975. Chemical control of fusarium wilt of watermelon. Proc. Fla. State Hortic. Soc. 88 : 196-200.

23- Indar , J., M., Abamsky , D. Cohen , and I. Chet. 1994. Plant growth enhancement and disease control by *Trichoderma harzianum* in vegetable seedling grown under commercial بالطرق الاحيائية والكيميائية. رسالة ماجستير.الكلية التقنية.المسيب.هيئة التعليم التقني.

6- جبر ، كامل سلمان. 2000. مسح لمرض تعفن جذور وقواعد سيقان الباقلاء وتشخيص الفطريات المسببة له ومكافحته حيوياً. المؤتمر العربي السابع لعلوم وقاية النبات. 22-26 تشرين الاول / اكتوبر. عمان – الاردن.

7- حسون ، ابراهيم خليل. 2005. المكافحة البايولوجية والكيميائية لمسبب مرض تقرح ساق البطاطا *Rhizoctonia solani*. اطروحة دكتوراه. كلية الزراعة. جامعة بغداد.

8- حافظ ، حمدية زاير علي. 2001. المكافحة المتكاملة لمرض التعفن الفحمي على السمسم المتسبب عن الفطر *Macrophomina phaseolina*. رسالة ماجستير. كلية الزراعة. جامعة بغداد .

9- سرحان ، عبدالرضا طه وماجد هزاع البياتي. 1991. التضاد الحيوي للفطر *Alternaria alternata* باستخدام بعض الفطريات والبكتريا . كلية العلوم / جامعة صلاح الدين – اربيل . مجلة العلوم الزراعية العراقية. المجلد (22) – العدد (1) : 991.

10- طه ، خالد حسن . 1990. المقاومة المتكاملة لمرض ذبول الخضراوات الوعائي المتسبب عن

34- Parry , M., P.C.B. Turnbull , and J.R. Gibson .1983. A color of Atlse of Bacillus species. Wolfe medical pupl. Ltds.
35- Pivonia , S., Cohen , R., Kafkafi , U., Benze'ev , I.S., and Katan , J. .1997. Sudden wilt of melons in southern Israel : Fungal agents and relationship with plant development. Plant Dis. 81 : 1264-1268.
36- Sanford , G.B. 1941. Pathogenecity
37- Montealegre , J.R., R. Rodrigo , P.M. Luz , H. Rodrigo , S. Polyana , and B. Ximena. 2003. Selection of bioantagonistc bacteria to be used in biological control of *Rhizoctonia solani* in tomato. J. Biotec. 6 : 115-127.
38- Parmeter, J.R. and H.S. Whitney.1970. Taxonomy and nomencleature of the imperfect stage. In: J.R.Parmeter. *Rhizoctonia solani.* Biology and pathology. University of California Berkely. Los Angeles p:7-19.
39- tests on sugar beets of random isolates of *Rizoctonia solani* Kuhn from potato . Sci. Agric. 21 : 746-749.
40- Schaad , N.W. 1980. Laboratory Guide for identification of plant pathogenic bacteria 72 pp.
41- Sid-Ahmed , A., M. Eziyyanl , Z.S. Perez , and M. Candela . 2003. Effect of chitin on biological control activity of *Bacillus spp.* and *Trichoderma harzianum* against root rot disease in pepper (*Capsicum annium*) plants. European Journal of plant pathology. Log : 633-637.
42- Zhou , X.G., and K.L. Everts .2004. Suppression of fusarium wilt of watermelon by soil amendment with hariy vetch . Plant Dis. 88 : 1357-1365.
condition . Eur.J. Plant Pathol. 100 : 337-346.
24- Jaime , R.M., R. Rodrigo , M.P. Luz , , S., Polyana , and B. Ximena .2003. Selection of bioantagonistic bacteria to be used in biological control of *Rhizoctonia solani* in tomato. Electronic. Journal of Biotechnology 6(2):58-71.
25- Katan , J. and A. Gamliel .1993. Supperession of major and minor pathogens by Pseudomons fluoresens in solarized and non solarized soil. Phytopathology. 83 : 68-75.
26- Lebin , S.D., J.A. Wadi , , and G.D. Easton .1987. Effect of Pseudomonas fluorescens on potato plant growth and control of *Verticillium dahliae.* Phytopathology . 1592-1595.
27- Mahammad , S. and N.A. Amusa .2003. In-vitro inhibition of growth of some seedling blight inducing pathology by compost inhibiting microbes. African J. Biotech. 2 (6) : 161-164.
28- Martyn , R.D. 1987. *Fusarium oxysporum F. sp. niveum* race 2 : A highly aggressive race to the United States. Plant Dis. 71 : 233-236.
29- Martyn , R.D. 1996. Fusarium wilt of water melon pages 13-14 in : compendium of cucurbit Dis. Zitter. T.A., D.L. Hopkins and E.D.S. Thomas , American Phytopathological Soc. St. Paul , Mn.
30- Meister , R.T. 2000. Farm chemical Handbook. Listing for (Beltanol) willough by OH. Vol. 86 . P. 45.
31- Menzies , I.D. 1970. The first
32- century of *Rhizoctonia solani* Biology and pathology pp-3-5 (J.R. Parameter dr.ed.) University of California Press. Berkely , Los Angeles and London.
33- Papavizas , G.C. , and R.D. Lumsden .1980. Biological control of soil borne fungal propagules. Ann. Rev. Phytopathology : 18 : 389-413.