تقييم كفاءة حامض السالسيلك Salicylic acid (SA) والفطر *Trichoderma harzianum* في مقاومة مرض تعفن الجذور في الباميا المتسبب عن الفطر *Rhizoctonia solani*

ناجي سالم جاسم
قسم وقاية النبات / كلية الزراعة / جامعة البصرة

الخلاصة

هدفت الدراسة لمعرفة تأثير حامض السالسيلك (Salicylic acid (SA والفطرالاحيائي Trichoderma.harzianum ضد الفطر الممرض Rhizoctonia.solani المسبب لمرض تعفن الجذور Root Rot disease على نبات الباميا (Abelmoschus esculentus). اظهرت نتائج الدراسات المختبرية التأثير التثبيطي الكبير لحامض السالسيلك عند التركزيين 200و 250 ملغم/ لتر في الوسط الزرعي (PDA) المعقم حيث بلغ معدل النمو القطري للفطر الممرض 3.6 و1.8 سم على التوالي كما لم يكن للتركيز 200 ملغم/لتر من الحامض اي تأثير على معدل النمو القطري للفطر T.harzianum ولم تظهر اية فروق معنوية في تأثير نفس التركيز من الحامض على تجرثم الفطر الاحيائي مقارنة مع معاملة المقارنة (الفطر الاحيائي الغير معامل بالحامض)حيث بلغ معدل التجرثم 1.6 x 10^6 في حين كان هذا المعدل في معاملة المقارنة 4 x 10^6 . اظهرت نتائج تجربة البيت البلاستكي فعالية تركيز الحامض 200 ملغم/لتر + الفطرT.harzianum في خفض النسبة المئوية للاصابة وشدتها في الترب الملوثة بلقاح الفطر R. solani حيث بلغت 11.11 و 8.33 % على التوالي في حين ارتفعت هذه النسبة في معاملة الفطر الممرض (تربة ملوثة بالفطر الممرض فقط) الى 55.56 و 29.62 % على التوالي ، كما كان لتأثير معاملات حامض السالسيلك والفطر T.harzianum كلاً على انفراد او بتوافقهما معاً في الترب الملوثة بلقاح الفطر الممرض تأثيرات في تحسين مؤشرات النمو المدروسة فقد بلغ معدلات الوزن الرطب للمجموع الخضري والجذري في معاملة حامض السالسيلك + الفطر الإحيائي 6.35 و 4.87 غم على التوالي كما بلغ معدلات الوزن الجاف للمجموعين الخضري والجذري 2.36 و 1.67 غم على التوالي في حين بلغ معدلات أوزان هذه الصفات في معاملة الفطر الممرض فقط 4.96 و 2.92 غم بالنسبة للمجموعين الخضري والجذري الرطب على التوالي و 1.42 و 0.32غم على التوالي بالنسبة للوزن الجاف لهما كما بلغ معدل ارتفاع النبات في نفس المعاملة 16سم في حين بلغ هذا المعدل في معاملة الفطر الممرض 12.16 سم.

المقدمة

تعتبر الباميا *Abelmoschus esculentus* (L) Moench التي تعود إلى العائلة الخبازية Malvaceae من الخضروات المرغوبة في العراق وهي غنية في بعض العناصر الغذائية كالكالسيوم والمغنسيوم والفسفور. كما أنها تحتوي على بعض الفيتامينات بنسب متوسطة مثل Riboflavin (B_2) و Thiamine (B_1) وفيتامين C وفيتامين A وتحتوي بذورها الناضجة على حوالي 20% زيت قابل للأكل وتزرع الباميا لتؤكل قرونها (ثمارها) غير الناضجة والتي تحتوي على مواد مخاطية Mucilage بعد الطهي أو تجفف أو تجمد أو تعلب ثم تطهى (مطلوب وآخرون ، 1989) . تصاب الباميا بالعديد من الآفات الزراعية كالحشرات مثل المنّ Aphids والديدان القارضة Cut warms والأمراض المختلفة مثل البياض الدقيقيPowdery mildew والذبول Wilts وتعفن الجذور Root Rot والديدان الثعبانية Nematods. ويعد مرض تعفن الجذور المتسبب من العديد من فطريات التربة المختلفة ومنها الفطر *Rhizoclonia solani* من الأمراض المهمة التي تهدد زراعة هذا المحصول وتسبب خسائر كبيرة له. ومن الأعراض الرئيسية للمرض هي تعفن الجذور وقواعد سيقان النبات القريبة من سطح التربة مما يؤدي إلى ضعف النبات بشكل عام وذبوله بشكل سريع وموته وتشتد الإصابة بالمرض في المراحل المتقدمة من النبات وتؤدي إلى خسائر كبيرة في المحصول.

أن قدرة النباتات في الدفاع عن نفسها ضد المسببات المرضية المختلفة تظهر بوضوح بواسطة العديد من الآليات وبطرق متعددة (Karban و Baldwin ,1997) كالدفاعات الطبيعية الموجودة في النبات أو بواسطة إشارات خارجية أو داخلية تنشأ نتيجة عوامل حيوية (الأحياء المستخدمة في المقاومة الحيوية أو المسببات المرضية المختلفة) أو بواسطة عوامل غير حيوية باستخدام بعض المركبات الكيميائية الطبيعية مثل Salicylic acid (SA) و Ethylin و Jasmonic acid، حامض السالسليك Salicylic acid (SA) اعتبر حديثاً احد الهرمونات النباتية (Astrid وآخرون، 2009) يلعب دور أساسي في خفض الضرر المتسبب عن المسببات المرضية المختلفة مثل الفطريات والبكتريا والفايروسات وغيرها، كذلك يعتبر عامل مهم في حث ما يعرف بالمقاومة الجهازية المكتسبة Aquired Systemic Resistance (ASR) (Astrid وآخرون، 2009). أن لحامض السالسليك دور كبير في نقل الإشارات التي تؤدي إلى الاستجابات الدفاعية الواسعة والتي تشمل التصنيع الحيوي لبعض المركبات الايضية الثانوية (Pieterse و Vanloon، 1999 و Hayat وآخرون، 2010) مثل بعض المركبات القلويدية مثل Vincristine و Vinblasting في نبات Periwinkle (Idrees وآخرون، 2010). أن كثير من المصادر أشارت إلى أن حامض السالسليك يمكن

أن يؤثر في فعالية الإنزيمات المضادة للاكسدة وبذلك تسبب هذه زيادة متوسطة في أنواع جذور الأوكسجين الفعال Reaclive oxygen specie (ROS) مثل بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 (Ali وآخرون، 2006 وMahdovion وآخرون، 2007 و Harfouche وآخرون ، 2008 وWen وآخرون، 2012) والذي يعمل كمرسل ثانوي في تنظيم الاستجابات الدفاعية في النبات (Hayat وآخرون، 2010 و Jaspers و Kngasjarvi ، 2010).

أشارت العديد من الدراسات التي أجريت إلى كفاءة حامض السالسليك (SA) في كبح نشاط الكثير من المسببات المرضية، ففي دراسة أجراها Zhang-Shi Gong وآخرون (1999) باستخدام تراكيز مختلفة من Salicylic acid (SA) و Acetyl Salicylic Acid (ASA) على نبات الحنطة حيث وجد أن معاملة بذور الحنطة بالتراكيز 1 و 2غم من SA و ASA/كغم من بذور الحنطة أدت إلى زيادة نسبة إنبات البذور كما وجد أن هذه التراكيز تزيد فعالية إنزيمات alpha amyluse و Proteinase في اندوسبيرم البذرة وزيادة محتواها من السكريات المذابة Soluble sugers والبروتين Protein والحوامض الامينية الحرةFree amino acids ، كما وجد Elangovan وآخرون (1995) أن معاملة بذور الفاصوليا بالتراكيز (1-2mM) من حامض السالسليك أدت إلى زيادة نسبة إنبات البذور بمعدل 25 و 16% على التوالي، بينما أدت المعاملة بالتركيز 5mM من الحامض إلى تثبيط نمو البادرات ، وأوضح Sreenviasan (1996) أن معاملة بذور الكاكاو أو رش النباتات أو معاملة التربة بحامض السالسليك (AS) أدت إلى خفض الإصابة بالفطر *Phytophthora palmivora* والى تحضير المقاومة الجهازية في النباتات Induced Systemic Resistance (ISR) وفي دراسة أجرتها El-Mougy (2003) أوضحت فيها كفاءة حامض السالسليك في خفض شدة الإصابة بمرض تعفن جذور اللوبيا المتسبب عن الفطريات *R.solani* و*Fusarium* و *Sclerotium rolfsii* حيث تم معاملة البذور بحامض السالسليك بمعدل 2 أو 3 غم/كغم بذور أو رش التربة بالحامض بالتركيز 3غم/لتر ماء حيث أدت المعاملات إلى خفض إصابة البادرات قبل البزوغ بالفطريات الممرضة إلى (4 و 12.5%) و (12 و 22.7%) و (24 و 31.6%) على التوالي، كما بلغت الإصابة بالفطريات المذكورة في مرحلة بعد بزوغ البادرات إلى (16 و 19.6%) و (16 و 23.8%) و (20 و 25%) على التوالي.

أثبتت الدراسات الكفاءة التضادية العالية للفطر *Trichoderma*سيما النوع *T.harzianum* ضد طيف واسع من الممرضات على النباتات الاقتصادية (Freeman وآخرون، 2004 و Dubey وآخرون، 2007). أشارت معظم الدراسات إلى مقدرة الفطر *T.harzianum*على تشجيع نمو النباتات المعامل بها مع تأشير زيادة إنتاجها وفسر هذا التشجيع باحتمالية مقدرة الفطر على إفراز منظمات النمو Growth regulators مثل اندول حامض الخليك Indole-3-acetic acid (Malgozala وآخرون، 1997) كما له القدرة على إنتاج العديد من الإنزيمات المثبطة لنمو الفطريات مثل Chitinase و Glactinase التي تحلل جدران الخلايا الفطرية للفطريات الممرضة. بين Ramezani (2008) فعالية أربع أنواع من الفطر *Trichoderma* هي *T.harzianum* و *T.viride* و*T.polyspornm* و *T.hamatnm* ووجد أن جميعها لها القابلية في تثبيط نمو الفطر *Macrophomina phaseolina* وبلغت نسبة التثبيط 18.20 و 2.20 و 13.92 و 7.30% على التوالي. كما استخدمت عدة عزلات من الفطر *T.harzianum* في تثبيط نمو الفطرين *R.solani* و *Sclerctium rolfsii* بنسبة 76.6 و 82.8% على التوالي (Kncuk و Kivane ، 2003). أشار عبد الستار وآخرون (2006) أن استخدام الفطر الإحيائي *T.harzianum* قد قلل من شدة الإصابة بالفطر *M.phaseolina* على نبات السمسم إذ بلغت 3.6% بالمقارنة مع معاملة السيطرة البالغة 7.6% وزادت من كمية إنتاج الحاصل بنسبة 9.5% مقارنة بمعاملة السيطرة.

ولأجل تقليل المخاطر الناجمة عن استخدام المبيدات الكيميائية لما لها من اثر على التلوث البيئي ومخاطرها المباشرة على الإنسان والحيوان لذلك ارتأينا إجراء هذه الدراسة باستخدام ما يعرف بالمبيدات الآمنة على البيئة Enviromentral safe pestisrdes وتوسيع استخدامها في التطبيق على المستوى الحقلي.

طـــرق العمـــــل

التجارب المختبرية

1- عزل وتشخيص الفطر الممرض *Rhizoctonia solani*

جلبت نباتات باميا من البيوت البلاستيكية لكلية الزراعة-جامعة البصرة ظهرت عليها الأعراض المرضية المتمثلة بتعفن الجذور وقواعد السيقان ، غسلت قواعد السيقان والمجموع الجذري بالماء الجاري لمدة 30 دقيقة ثم تركت لفترة قصيرة لكي تجف، قطعت إلى قطع صغيرة (0.5-1سم) ثم عقمت بمحلول هايبوكلورايت الصوديوم NaOCl بتركيز 10% من المستحضر التجاري لمدة 2-3 دقيقة بعدها غسلت بالماء المقطر المعقم ثلاث مرات للتخلص من متبقيات المحلول المعقم ثم جففت على ورق ترشيح (Whatman No.4) نقلت 3-4 قطع إلى أطباق بتري تحتوي على الوسط الغذائي المعقم Potato Dextrose Agar (PDA) والمضاف إليه المضاد الحيوي Chloromphenical بمقدار 250 ملغم/لتر، وضعت الأطباق في الحاضنة على درجة حرارة 25 ± 1 لمدة أربع أيام بعدها اخرجت الأطباق وتم تنقية عزلات الفطر وشخص الفطر اعتماداً على الصفات الواردة في (1996) Ogoshi بعدها حفظت عزلة الفطر الممرض على الوسط الغذائي المائل الصلب المعقم (Slant) في الثلاجة تحت درجة حرارة 4□م لحين الاستعمال.

2- اختبار القدرة الامراضية للفطر *Rhizoctonia solani* في إنبات بذور الباميا ونمو بادراتها

لتأكيد القدرة الامراضية لعزلة الفطر *R.solani* ثم تعقيم تربة مزيجية رملية بجهاز المؤصدة Autoclave مرتين ليومين متتالين وبعد مرور 24 ساعة أضيف لقاح الفطر الممرض المحمل على بذور الدخن المحلي إلى التربة المعقمة وبنسبة 0.5 وزن/وزن ومزج اللقاح الفطري جيداً مع التربة باستخدام أكياس السيليوفين لضمان تجانس اللقاح مع التربة المعقمة بعدها وضعت التربة الملوثة في أصص بلاستيكية معقمة سعة 2 كغم وزعت بواقع 20 بذرة لكل أصص وبواقع ثلاثة مكررات للمعاملة أما معاملة المقارنة فقد تم إضافة الدخن المعقم إلى أص تربة معقمة (غير ملوثة بالفطر الممرض) وبعد أسبوعين حسبت النسبة المئوية للإنبات وحسبت النسبة المئوية للبادرات المصابة كما أعيد عزل الفطر من البادرات الميتة للتأكد من إصابتها بالفطر الممرض.

3- تحضير لقاح الفطر الممرض *Rhizoctonia solani*

لغرض تحضير اللقاح القطري استخدمت بذور الدخن المحلي *Panicum miliaceua*، غسلت بذور الدخن جيداً بالماء الجاري للتخلص من الأتربة والعوالق الأخرى بعدها نقعت في الماء المعقم لمدة 6 ساعات ثم جففت على ورق جرائد بدرجة حرارة الغرفة ونقلت إلى دوارق زجاجية سعة 500 مل وبواقع 100غم/دورق رطبت بقليل من الماء المقطر المعقم، أغلقت الدوارق بأحكام وعقمت بجهاز المؤصدة Autoclave على درجة حرارة 121مْ وضغط 15 باوند/انج^2 لمدة 30 دقيقة وتركت لتبرد بعدها لقح كل دورق بالفطر *R.solani* وبمعدل 5 أقراص (فطر 0.5 سم) لكل دورق أخذت من مستعمرة حديثة للفطر الممرض باستخدام ثاقب فليني معقم حضنت الدوارق على درجة حرارة 2 ± 27مْ لمدة 15 يوم مع مراعاة رج الدوارق بين فترة وأخرى لضمان توزيع اللقاح الفطري استخدم اللقاح في تجربة الأصص.

4- اختبار الكفاءة التثبيطية لتراكيز حامض السالسليك Sclicylic acid في نمو الفطر *R.solani*

حضرت تراكيز الحامض 0 و 100 و 150 و 200 و 250 ملغم/لتر وذلك بعمل محلول قياسي من حامض السالسليك بإذابة 1غم من الحامض في 3 مل من الايثانول (99%) ثم أضيف إلى لتر من الماء المقطر المعقم وأخذت كميات معينة منه أضيفت إلى 100 مل من وسط PDA المعقم للحصول على التراكيز المطلوبة، عقمت الأوساط الغذائية المحتوية على هذه التراكيز بجهاز المؤصدة ثم تركت لتبرد صبت الأوساط في أطباق بتري وبمعدل ثلاث مكررات لكل تركيز ثم لقح مركز كل طبق بقرص قطر 0.5 سم مأخوذ من حافة مستقرة الفطر *R.solani* وبعمر 4-5 أيام ثم حضنت الأطباق في الحاضنة على درجة حرارة 2 ± 27مْ وبعد وصول النمو القطري للفطر الممرض في معاملة المقارنة (تركيز 5) حسب معدل النمو القطري للفطر الممرض وحسبت النسبة المئوية للتثبيط وفق معادلة About الواردة في شعبان والملاح (1983) .

$$\% \text{ للتثبيط} = \frac{\text{معدل النمو في معاملة المقارنة}-\text{معدل النمو في معاملة المعاملة}}{\text{معدل النمو في معاملة للمقارنة}} \times 100$$

5- تنمية وإكثار الفطر الإحيائي *Tichoderma harzianum*

تم الحصول على عزلة مشخصة للفطر الإحيائي *T.harzianum* من مختبر الأمراض للدراسات العليا في قسم وقاية النبات/كلية الزراعة/جامعة البصرة ، تمت تنمية وإكثار الفطر الإحيائي على الوسط الزرعي المعقم PDA وحفظ على نفس الوسط الصلب المائل (Slant). كما حمل لقاح الفطر على بذور الدخن المحلي بنفس الطريقة المستخدمة من الفطر *R.solani* حيث استخدم اللقاح في تجربة الأصص.

6- اختبار الكفاءة التضادية للفطر الإحيائي *Tichoderma harzianum* ضد الفطر الممرض *R.solani*

اعتمدت طريقة Bell وآخرون (1982) في اختبار الكفاءة التضادية للفطر الإحيائي *T.harzianum* ضد الفطر الممرض *R.solani* حيث قسم طبق بتري (قطر = 9سم) يحتوي على الوسط الغذائي PDA المعقم إلى قسمين متساويين ، لقح مركز القسم الأول بقرص قطره 0.5 سم مأخوذ من مزرعة الفطر *T.harzianum* حديثة النمو ولقح القسم الثاني بقرص مماثل مأخوذ من مزرعة الفطر *R.solani* حديثة النمو وأضيفت معاملة سيطرة لقح مركز الطبق فيها بقرص مأخوذ من نفس مستعمرة الفطر *R.solani* وبواقع ثلاثة مكررات لكلا المعاملتين ثم وضعت الأطباق في الحاضنة على درجة حرارة 2 ± 27مْ لحين وصول النمو للفطر الممرض في معاملة المقارنة إلى حافة الطبق حسبت بعدها درجة التضاد المكونة من خمسة درجات وهي:
1- الفطر التضادي يغطي كل الطبق بما فيه الممرض. 2- الفطر التضادي يغطي ثلثي الطبق. 3- الفطر التضادي يغطي نصف الطبق. 4- الفطر الممرض يغطي ثلثي الطبق.5- الفطر الممرض يغطي كل الطبق. ويعد الفطر التضادي فعالاً إذا كانت درجة التضاد 1 و 2.

7-اختيار تأثير حامض السالسليك Salicylic acid (SA) على تجرثم الفطر *T.harzianum*

أخذت أقراص من الأطباق المعاملة بتركيز الحامض (200 ملغم/لتر) ووضع قرص قطره 0.5 سم في أنبوبة اختبار تحتوي على محلول F.A.A المكون (Formalin : Acetic acid (glacial) : Ethanal 5%) بنسب (5:5:90) كما استخدمت نفس الطريقة لمعاملة المقارنة (بدون تركيز الحامض). استخدمت ست مكررات لكل معاملة بمعدل مكررين من كل طبق، رجت أنابيب الاختبار بقوة لإزالة الابواغ الكونيدية من الأقراص المحتوية على لقاح الفطر *T.harzianum* ، بعدها استخدمت شريحة

Haemocytometer (حجمها 0.025 mm^3) حيث تم حساب اعداد الابواغ الكونيدية في الحقول التي عددها 64 حقل أخذت ثمان قراءات من كل أنبوبة اختبار واستخرج معدل أعداد الابواغ الكونيدية في المعاملتين ويتم حساب اعدادها من المعادلة التالية :

عدد الابواغ في 1مل = معدل اعداد الكونيديا في الحقول × 2.5×10^5

8- تجربة البيت الزجاجي

استخدمت في هذه التجربة تربة مزيجية وبتموس بنسبة1:1عقمت بجهاز المؤصدة Autoclave مدة ساعة ليومين متتالين ثم عبئت في أصص بلاستيكية سعة1كغم وتضمنت التجربة ثمانية معاملات في ثلاثة مكررات لكل معاملة وشملت المعاملات ما يأتي: 1- معاملة المقارنة (بدون اي معاملة) 2- معامل الفطر الممرض *R. solani* بمفرده 3-معاملة حامض السالسليك بمفرده 4- معاملة حامض السالسليك + الفطر الممرض *R. solani* 5- معاملة حامض السالسليك + الفطر *T. harzianum* 6- معاملة حامض السالسليك + الفطر *R.solani* + الفطر الإحيائي *T.harzianum* .7- معاملة الفطر الإحيائي *T.harzianum* بمفرده . 8- معاملة الفطر الإحيائي *T.harzianum* + الفطر الممرض *R.solani*.

أضيف لقاح الفطر الإحيائي *T.harzianum* إلى المعاملات التي يتواجد فيها بنسبة 1% وزن/وزن حيث خلطت جيداً مع التربة كما أضيف لقاح الفطر الممرض *R.solani* الى التربة بنفس النسبة بعد يومين من إضافة لقاح الفطر *T.harzianum* وخلط جيداً عقمت بذور الباميا تم الحصول عليها من السوق المحلية بواسطة محلول هايبوكلورات الصوديوم (NaOCl) بتركيز 10% من المستحضر التجاري لمدة ثلاثة دقائق بعدها غسلت بالماء المقطر المعقم ونشفت على ورق ترشيح بعد ذلك زرعت البذور في الأصص بمعدل 10 بذرة لكل أصيص أضيف تركيز حامض السالسليك (200 ملغم/لتر) إلى المعاملات التي يدخل فيها الحامض وذلك برش سطح التربة بمقدار 60 مل وذلك باستخدام مرشه معيرة لهذا الغرض. سقيت جميع الأصص باحتراس شديد وبعد أسبوعين تم حساب النسبة المئوية للإنبات وحساب عدد البادرات الميتة كما تم إعادة العزل للفطر الممرض من البذور المتعفنة والبادرات الميتة للتأكد من إصابتها بالفطر الممرض. وبعد تكون الأوراق الحقيقية للنباتات ثم خف النباتات إلى 5 نباتات لكل أص كما كان يتم رش المجموع الخضري للنباتات التي يدخل حامض السالسليك في معاملاتها بمقدار 50 مل من تركيز الحامض (200 ملغم/لتر) كل أسبوع .استمرت التجربة 45 يوماً من تاريخ بزوغ البادرات بعدها أخذت النتائج بحساب النسبة المئوية للاصابة اما شدة الاصابة فقد تم حسابها وفق مقياس مكون من (5-0) وصف من قبل Filion واخرون (2003)

$$\text{شدة الإصابة} = \frac{\sum(ab)\times 100}{AK}$$

حيث ان :

a - عدد النباتات التي لها نفس الدرجة من الاصابة . b – درجة الاصابة . A – عدد النباتات الكلية . K – اعلى درجة اصابة .

كما تم قياس اطوال النباتات والوزن الطري والجاف للمجموعين الخضري والجذري

النتائج والمناقشـــة

1- اختبار القدرة الامراضية للفطر *R.solani* في إنبات وموت بادرات الباميا

أظهرت نتائج القدرة الامراضية (جدول 1) قدرة الفطر الممرض *R.solani* على خفض النسبة المئوية لإنبات بذور الباميا وبادراتها حيث بلغت النسبة المئوية للإنبات وموت البادرات في معاملة الفطر الممرض فقط 30% و 80.56% على التوالي في حين بلغت النسبة المئوية للانيات في معاملة المقارنة 86.7%. أن نتائج هذه التجربة جاءت متفقة مع دراسات أخرى عديدة أشارت إلى تباين القدرة الامراضية لعزلات الفطر المختلفة بين عزلات شديدة الامراضية إلى عزلات ضعيفة أو غير ممرضة كما يسبب بعضها تعفن البذور قبل الإنبات بنسبة اكبر من موت البادرات أو النباتات الكبيرة أو العكس (Castanho وآخرون، 1978 و Rush وآخرون، 1994). أن قابلية الفطر *R.solani* على إفراز الإنزيمات المحللة كانزيم Cellulase و Pectinase وبعض السموم مثل Phenyl acetic acid ومشتقاته الهيدروكسيلية (Ogoshi ، 1996 و Rush وآخرون، 1994) لها تأثير كبير في إحداث الأعراض المرضية على النباتات المصابة بالمرض.

جدول (1) تأثير الفطر الممرض *R. solani* في كل من النسبة المئوية للإنبات وموت البادرات

Treatment	% للإنبات	% لموت البادرات
معاملة الفطر الممرض	*30.00	80.56
معاملة المقارنة	86.70	-
$R.L.S.D_{0.01}$	1.85	27.80

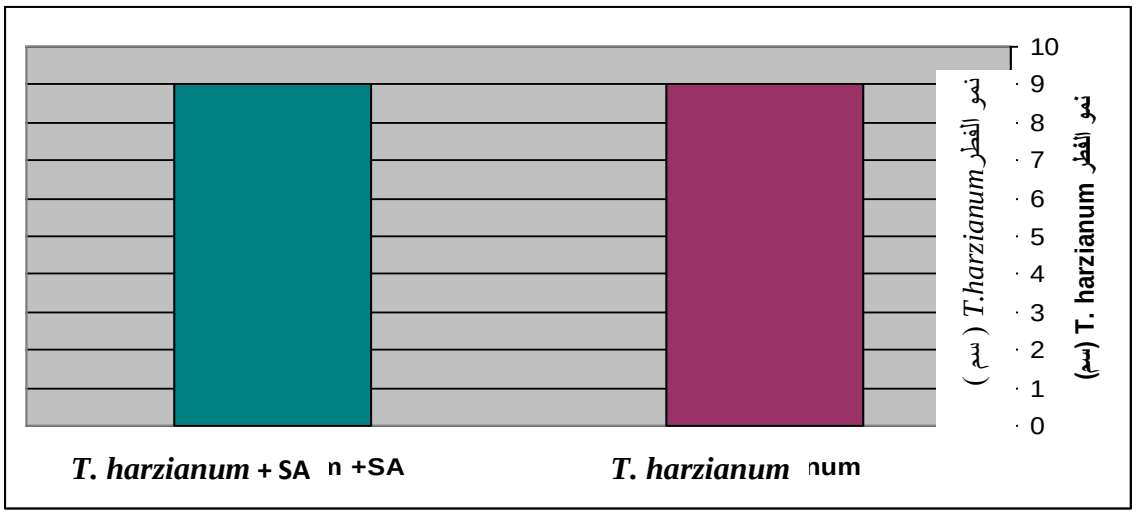
* كل رقم يمثل معدل ثلاثة مكررات

2- اختبار الكفاءة التثبيطية لحامض السالسليك Salicylic acid (SA) ضد الفطر الممرض *R.solani*

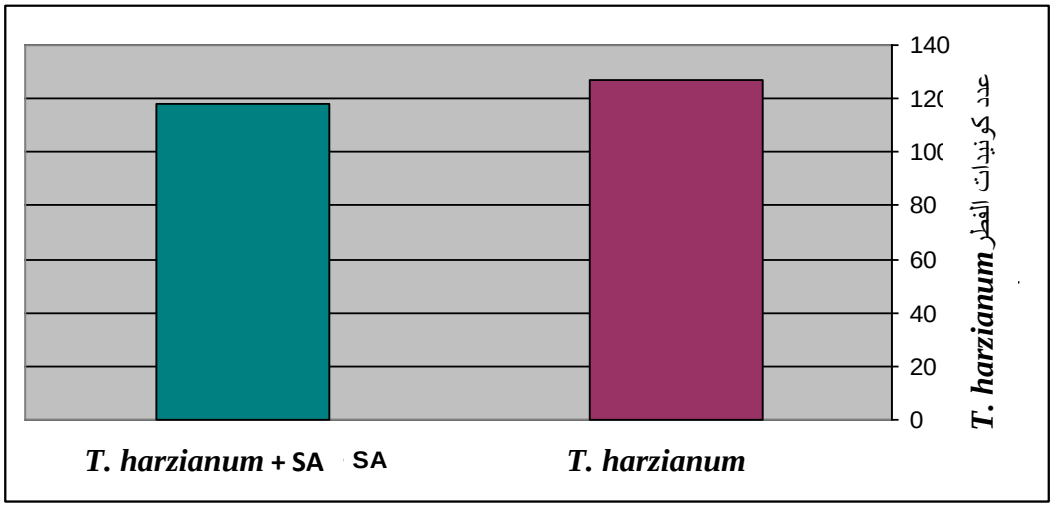
أظهرت النتائج ان التركيزين 200 و 250 ملغم/لتر لها تأثيرا كبيرا في خفض النمو القطري لمستعمرة الفطر الممرض على الوسط الزرعي P.D.A حيث بلغ معدل النمو القطري في معاملتيهما 3.6 و 1.8سم على التوالي في حين لم يكن للتراكيز المنخفضة من الحامض تأثير كبير في نمو الفطر. أن نتائج هذه التجربة تتفق مع دراسات أخرى فقد أشار Ozgonen وآخرون (1996) إلى أن جميع تراكيز حامض السالسليك (0.6-1.0 mM) قد ثبطت معدل نمو الغزل الفطري للفطر *Fusarium oxysporum* في ظروف الوسط الغذائي PDA المعقم حيث بلغ معدل نمو الغزل الفطري عند التركيز 0.5 mM بلغ 6.9 سم في حين تم تثبيط النمو بشكل كامل عند التركيز 0.6 mM من الحامض. وفي دراسة قام بها Kataria وآخرون (1997) استخدمت فيها محاليل كيميائية مثل 5-nitrosaliajlic acid وO-Acehyl salicylic acid باعتبارها مواد محفزة للمقاومة المستحثة للنبات أظهرت كفاءة في تثبيط نمو الفطر *R.solani* في الوسط الزرعي عند استخدامها بتراكيز 2.5 و 5 و 10 مليلتر ولم تتفق الدراسة مع ما ذكره حسان (2005) التي أظهرت فيها أن التراكيز الواطئة (100 mg/L) كفاءة عالية في تثبيط الفطر *Pythium aphanidermatum* في الوسط الزرعي PDA قد يعود السبب لاختلاف المسبب المرضي *R.solani* الذي يعتبر من الفطريات الراقية حيث يختلف تركيب جدار الجسم في كل منهما.

3- اختبار الكفاءة التثبيطية لحامض السالسليك ضد النمو القطري للفطر الإحيائي *T.harzianum*

بينت نتائج هذا الاختبار (شكل 1) أن تركيز الحامض 200 ملغم/لتر لم يكن له أي تأثير تثبيطي في النمو القطري للفطر الإحيائي *T.harzianum* في الوسط الزرعي PDA المعقم ولم يكن له أي تأثير على الشكل المظهري لمستعمرة الفطر الإحيائي مما يدل على وجود حالة توافق كبيرة بين هذا التركيز ونمو الفطر وتأتي أهمية هذا التوافق في اختبار هذا التركيز من الحامض في تجربة البيت البلاستيكي ضد مرض تعفن الجذور والمتسبب عن الفطر *R.solani* كما أوضحت نتائج (شكل 2) اختبار تأثير تركيز الحامض 200 ملغم/لتر على تجرثم الفطر الإحيائي انه لا يوجد أي تأثير لهذا التركيز على تجرثم الفطر حيث بلغ معدل التجرثم 1.6 × 10^6 كونيديا/مل في حين بلغ معدل التجرثم في معاملة المقارنة (الفطر الإحيائي غير المعامل بالحامض) بلغ 4 × 10^6 كونيديا/مل. أن نتائج هذه الاختبارات توضح أن هناك توافق تام بين تركيز الحامض (200 ملغم/لتر) والفطر الإحيائي *T.harzianum* وهذا التوافق له دور مهم في مقاومة المسببات المرضية الفطرية المختلفة .



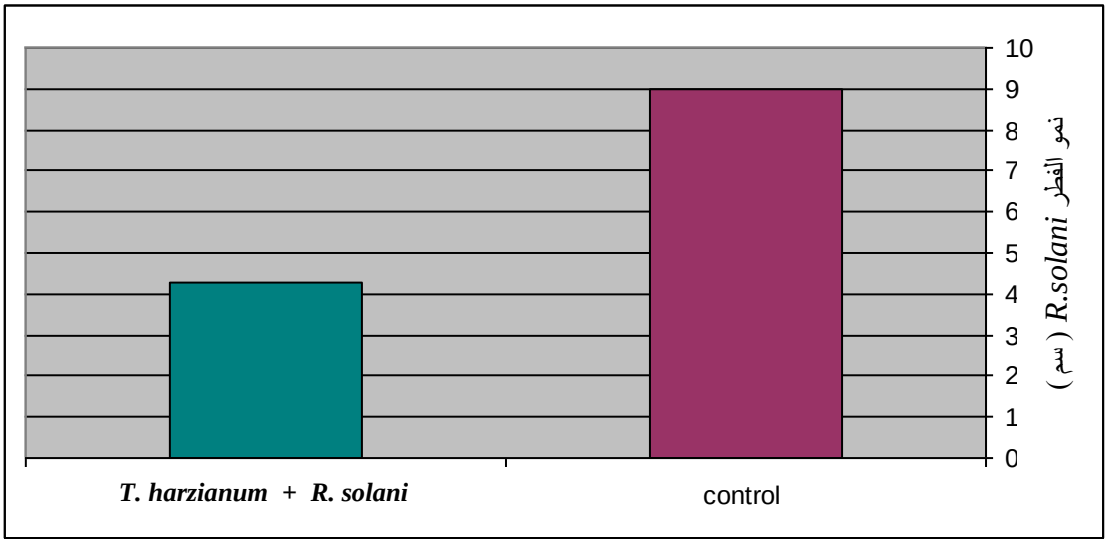
شكل (1) تأثير حامض السالسليك (SA) في نمو الفطر *T.harzianum*



شكل (2) تأثير حامض السالسليك في عدد كونيدات الفطر *T. harzianum*

4- اختبار القدرة التضادية للفطر الإحيائي *T.harzianum* ضد الفطر الممرض *R.solani*

أظهرت نتائج التجربة التضادية (شكل 3) كفاءة عالية للفطر الإحيائي *T.harzianum* ضد الفطر الممرض *R.solani* في الوسط الزرعي PDA المعقم حيث بلغت منطقة التثبيط 1.76 سم. جاءت نتائج هذه التجربة متفقة مع نتائج العديد من الباحثين والتي أشارت إلى كفاءة الفطر *T.harzianum* في تثبيط العديد من المسببات المرضية ومنها الفطر *R.solani* ويعود سبب هذا التثبيط إلى امتلاك الفطر الإحيائي إلى العديد من الآليات التي تؤثر في نشاط المسببات المرضية المختلفة كالتطفل المباشر وإنتاج المضادات الحيوية مثل Trichodermin و Trichodermol و harzianolide وإفراز الإنزيمات Cellulase و B-(1,3)-glucans و Chitinase التي لها القدرة على تحطيم جدران الخلايا الفطرية (Behzad وآخرون، 2008 و Kuguk و Kivan ، 2002). كما تتفق نتائج هذا الاختبار مع ما ذكره الرفاعي (2004) بان للفطر *T.harzianum* تأثير كبير في الحد من نمو الفطر *R.solani* المسبب لمرض موت بادرات الطماطة إذ بلغ معدل النمو القطري للفطر الممرض *R.solani* 1.17 سم في أطباق الزرع المزدوج.



شكل (3) تأثير الفطر *T. harzianum* في نمو الفطر الممرض *R. solani*

5- تأثير حامض السالسليك Salicylic acid (SA) والفطر *T.harzianum* في تحفيز المقاومة الجهازية في نبات الباميا ضد الفطر *R.solani*

أوضحت نتائج تجربة البيت البلاستيكي (جدول) أن الفطر *R.solani* له قدرة عالية في إصابة نبات الباميا مسبباً لها مرض تعفن الجذور حيث بلغت النسبة المئوية للإصابة وشدتها 55.56 و 29.62% على التوالي في حين انخفضت هذه النسبة في معاملة حامض السالسليك + الفطر *T.harzianum* والفطر الممرض *R.solani* إلى 11.11 و 8.33% على التوالي مقارنة مع معاملة الفطر الممرض ، كما أظهرت النتائج أن كلاً من معاملتي حامض السالسليك + الفطر الممرض والفطر الإحيائي *T.harzianum* + الفطر الممرض قد خفضتا من النسبة المئوية للإصابة إلى 22.22 و 33.33% على التوالي، وشدة الإصابة إلى 21.29 و 6.67% على التوالي. كما أدت المعاملة بحامض السالسليك + الفطر الإحيائي المستخدمة في الدراسة إلى تحسين بعض مؤشرات النمو الخضري في النباتات المعاملة بالفطر الممرض إذ بلغ الوزن الرطب للمجموعتين الخضري والجذري 6.35 و 4.87 غم على التوالي كما بلغت معدلات الوزن الجاف للمجموعين الخضري والجذري 2.36 و 1.67 غم على التوالي في حين بلغ معدل هذه الأوزان في معاملة الفطر الممرض فقط 4.96 و 2.92 غم على التوالي بالنسبة للمجموع الخضري والجذري الرطب على التوالي و 1.42 و0.32 غم بالنسبة للمجموع الخضري والجذري الجاف على التوالي كما بلغ معدل طول النبات في معاملة الحامض + الفطر الإحيائي + الفطر الممرض 16.67سم في حين بلغ هذا المعدل في معاملة الفطر الممرض 12.16سم. أن نتائج هذه الدراسة تتفق مع العديد من الدراسات حول كفاءة حامض السالسليك فقد وجد أن المعاملة بـ 0.2 mM من حامض السالسليك قد خفضت من 73% من الأعراض المرضية على درنات البطاطا كما وجد أن اقل شدة إصابة تم تسجيلها عند استخدام التركيز 0.5mM من الحامض (Hadi و Balai، 2010). وفي دراسة أجراها Ozogonen وآخرون (1999) وجد أن المعاملة بحامض السالسليك عند التركيزين (0.5-1 mM) قد خفض من النسبة المئوية للإصابة بمرض الذبول الفيوزارسي على الطماطة إلى 43.75 و 25% على التوالي مقارنة بمعاملة الفطر الممرض حيث ارتفعت هذه النسبة إلى 62.5% ، كما بلغ معدل وزن الجذور عند التركيزين 14.0 و 16.6 غم على التوالي في حين كان معدل هذا الوزن في معاملة الفطر الممرض 3.6غم. وجد أن إضافة حامض السالسليك مع مياه السقي أو ترش على النباتات لها تأثير مثبط لمرض التعفن الطري البكتيري على درنات البطاطا وحث المقاومة الجهازية في نباتات البطاطا (El-Sayed, 1996) . كما تتفق هذه الدراسة مع الدراسة التي أجراها Sarwar وآخرون (2002) باستخدام تركيزين من حامض السالسليك (1-1.5 mM) حيث تم ة بذور اللوبيا Chickpea بتركيز الحامض وأظهرت نتائج هذه الدراسة انخفاض شدة الإصابة بمرض الذبول الفيوزارمي المتسبب عن الفطر *Fusarium oxysporum* F.sp ciceri 72% مقارنة مع 80% في معاملة المقارنة (الفطر الممرض فقط) كما ازداد وزن المجموع الخضري الجاف عند التركيزين 0.6 و 0.9 غم/نبات على التوالي مقارنة مع معاملة المقارنة حيث بلغ معدل هذا الوزن 0.5 غم/نبات كما اوداد معدل وزن المجموع الجذري الجاف إلى 0.5 و 0.36 غم/نبات على التوالي بينما انخفض معدل هذا الوزن في معاملة المقارنة إلى 0.2 غم/نبات .

أما كفاءة الفطر *T.harzianum* على تحفيز المقاومة الجهازية في النباتات المعامل به (Kleifeld و Chet ، 1992) فقد أشارت عدة بحوث إلى قدرة الفطر *T.harzianum* في كبح نشاط المسببات المرضية بواسطة العديد من الآليات مثل التطفل وإفراز الإنزيمات المحلل مثل Chitinase و Cellulase وكذلك التنافس على العناصر الغذائية المهمة مثل الحديد والكاربون (Chet ، 1990) وكما أدت المعاملة بالفطر *T.harzianum* إلى تحفيز المقاومة الجهازية في نباتات الحنطة وإزالة الضرر المتسبب عن الفطرين *R.solani* و *F.grominearum* وزيادة محصول الحنطة. كما وجد Galletti وآخرون (2006) أن معاملة بذور البنجر السكري بالفطر *T.harzianum* قد قلل من الإصابة بالفطر *R.solani* مقارنة مع النباتات غير المعاملة وفي دراسة أجراها Mukhtar (2008) وجد أن معاملة بذور الباميا بالفطر *T.viride* قد أدت إلى زيادة الحاصل . ووجد المراد والطائي (2006) أن استخدام الفطر الإحيائي *T.harzianum* قد خفض من نسبة موت وسقوط البادرات قبل وبعد البزوغ لنبات الفاصوليا المتسبب عن الفطريات *F.solani* و *R.solani* . فقد وجد أن الفطر الإحيائي *Trichoderma* له القدرة في تحفيز نمو النبات من خلال زيادة امتصاص الجذور للنتروجين (N) وإذابة العناصر الغذائية وجعلها أكثر جاهزية للنبات مثل الزنك والنحاس والحديد والمنغنيز (Altomare وآخرون، 1999)، وأكد Kucuk و Kivanc (2003) أن إضافة الفطر الإحيائي *Trichoderma* إلى التربة أدى إلى تثبيط الفطر الممرض *R.solani* و *Sclerotium rolfsii* بنسبة 76.6 و 82.8% على التوالي، وبين Mcleod وآخرون (1995) أن الفطر *Trichoderma* قد ثبط نشاط الفطر *Phytophthora cinnammomi* المسبب لمرض تعفن جذور نبات الافكادو Avocado وزيادة وزن المجموع الجذري ، وفي

دراسة أجراها Sunautapongsuk وآخرون (2006) أوضح فيها أن للفطر *Trichoderma* القدرة على إنتاج العديد من الحوامض العضوية التي تعمل على تذويب الفوسفات ومما يزيد من خصوبة التربة وينعكس ذلك ايجابياً على تحسين نمو النبات وزيادة الإنتاج.

جدول (2) تأثير العوامل الإحيائية في النسبة المئوية للإنبات وموت البادرات وبعض مؤشرات النمو الخضري لنبات الباميا المصاب بالفطر *R. solani*

المعاملات	النسبة المئوية للأصابة	النسبة المئوية لشدة الاصابة	طول النبات (سم)	معدل الوزن الرطب (غم)		معدل الوزن الجاف (غم)	
				المجموع الخضري	المجموع الجذري	المجموع الخضري	المجموع الجذري
السيطرة	*0.00	0.00	15.83	7.40	6.45	2.14	1.59
الممرض *R. solani*	55.56	29.62	12.16	4.96	3.62	1.42	1.32
SA	0.00	0.00	18.53	7.60	7.10	2.53	1.72
T. harzanium	0.00	0.00	16.60	8.13	6.72	2.37	1.73
SA+*T. harzanium*	0.00	0.00	17.40	7.81	7.23	2.83	2.07
SA+ الممرض *R. solani*	33.33	21.29	14.30	5.57	4.93	2.08	1.47
الممرض + *T. harzanium*	22.22	16.67	15.43	5.95	4.87	2.13	1.95
الممرض+ SA+ *T. harzanium*	11.11	8.33	16.67	6.35	5.17	2.36	1.67
R.L.S.D 0.05	20.40	6.94	2.28	0.79	1.03	0.62	0.46

* كل رقم يمثل معد ثلاثة مكررات

المصادر

حسان، آلاء خضير (2005). تقويم فعالية بعض عوامل الاستحثاث والمبيدات في حماية نبات الخيار من الإصابة بالفطر *Pythium aphandermatum* . رسالة ماجستير، كلية الزراعة، جامعة بغداد، 108 ص.

الرفاعي، فيصل عبد الرحمن محمد (2004). المكافحة المتكاملة لمرض موت بادرات الطماطة *Lycopersican esculantum* المتسبب عن الفطر *Rhizoctonia solani*. رسالة ماجستير، كلية الزراعة، جامعة البصرة، 86 ص.

شعبان، عواد ونزار مصطفى الملاح (1993). المبيدات . مطبعة جامعة الموصل 250 ص.

عبد الستار، مصطفى حسن واقبال محمد سالم وعبد الله احمد بايونس (2006). مكافحة الفطر *Macrophomina phaseolina* المتسبب لمرض تعفن الجذور الفحمي لمحصول السمسم فيزيائياً وكيميائياً. مجلة وقاية النبات العربية ، 24: 37-40.

المراد، نهال يونس وعلي كريم محمد الطائي (2006). المقاومة الحيوية لعفن جذور الفاصوليا. المؤتمر العربي التاسع لعلوم وقاية النبات. ملخص صفحة 214.

مطلوب ، عدنان ناصر وعز الدين سلطان محمد وكريم صالح عبدول. إنتاج الخضروات ، جزء 2 . مطبعة جامعة الموصل.

Ali, M., Yu, KW., Hahn, E. J. and Paek, KY (2006). Methyl Jasmonate and salicylic acid elicitation induces ginsenosides accumulation, enzymatic and non-enzymatic anticxidant in suspension culture Panax ginseng roots in bioreactors Plant Cell Rep. 25: 613-620.

Altomare, C., Novell, W. A., Bjorkman, T. and Harman, G. E. (1999). Solulbization of phosphates and micro nutrients by the plant growth promoting and Biocontrol fungus *Trichoderma harzianum* Rifai 1295-22. Appled. Environment Microbiology. 65(7): 2926-2933.

Astrid, Riedrger, N., Tiedemann, A. and Karlovsky, P. (2009). Salicylic acid and salicylic acid glucoside in xylem sap of *Brassica napus* infected with *Verticillium Longisporium*. J. Plant. Res (2009). 122: 571-579.

Behzad, H., Torbi-Giglou, M., Mohammadi, M. R., Davari, M. (2008). Biological potential of some Iranian *T.harzianum* isolates in the control of soilborn plant pathogenic fungi. African. J. Biotechnology.

Bell, D. K., Wells, C. D. and Mirkham, C.R. (1982). In vitro antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens. Phytopathology, 72: 377-382.

Castanho, B., Bulter, E. E. and Sheperd (1978). The association of double stranded RNA with *Rhizoctoni* decline. Phytopathology. 68: 1515-1519.

Chet, I. (1990). Biological control of soil borne pathogen with fungal antagonists in combination with soil treatment. In: Biological control of soil borne pathogens (pp 15-25). D. Hornby, R. J. Cooks Y. Henis, WH. KO. A. D. Rovira, B. S.

Dubey SC.,Suresh,M.and Singh,B.(2007).Evaluation of *Trichoderma* species against *Fusarium oxysporum* F.sp.Ciceris for integrated management of chickpea wilt. Boil.Contr. 40:118-127.

Elangovan, N., Stevens, T. and Kalaichelvan, P. T. (1995). Effect of Salicylic acid on *Phaseolus aureus* seed germination. J. of Ecotoxical and Environmental Monitoring, 5: 67-70.

El-Sayed,W.M.(1996).Induction resistance to bacterial soft rot disease of potato tubers by application of acetylsalicylic acid(Aspirin).Ann. Agric. Sci. Ain shams Univ., 41: 993-1006.

Filion,M.M.,M-St-Arnaud and S.H.Jabaji-Hare,(2003).Quantification of *Fusarium solani* f.sp. *phaseoli* in mycorrhizal bean plants and surrounding mycorrhizosphere soil using real time polymerase chain reaction and dirct isolation on selective media.Phytopathology,93:229–235.

Freeman, S., Miz, D., Kolesnik, I., Barbul, O., Zreibil, A., Maymon, M., Nitzani, Y., Kirshner, B., Rav-David, D., Bilu, A., Dag, A., Shafir, S. and Elad, Y. (2004). *Trichoderma biocontrol* of *Colletotrichum acutatum* and *Botrytis cinerea*, and survival in strawberry. Eur. J. Plant Pathol. 110: 361-370.

Hadi, M. R. and Balali, G. R. (2010). The effect of salicylic acid on the reduction of *Rhizoctonia solani* damage in the tubers of Marfona potato cultivar. American-Eurasian. J. Agric. and Environ. Sci. 7(4): 492-496.

Harfouch, A.l., Rugini, E., Mencarelli, F., Botondi, R. and Muleo, R. (2008). Salicylic acid induces H_2O_2 production and endochitinase gen expressed but not ethylene biosynthesis in *castanea sativa* in vitro model system. J. Plant. Physiol. 165: 734-744.

Hayat, Q., Hayat, S., Irfan, M. and Ahmad, A. (2010). Effect of exogenous salicylic acid under changing environment: A review. Environ. Exp. Bot. 68: 14-25.

Idrees,M.,Maeem,M.,Aftab,T.,Khan,M.and Moinuddin (2010).Salicylic acid mitigate salinity stress by improving antioxidant defence system and enhance vincristine and vinblastine alkaloids production in periwinkle (*Catharanthus roseu*(L) G. Don). Acta Physiol. Plant. 33: 987-999.

Jaspers, P. Kangasjarvi (2010). Reactive oxygen species in a biotic stress signaling. Physiol. Plant. 138: 405-413.

Karban, R. and Baldwin, I. T. (1997). Induced responses to herbivore. Chicago University Press. Chicago.

Kataria, H. R., Wilmasmeier, B., Buchenauer, L. (1997). Efficiency of resistance free radical scavengers and antagonistic strain of *Pseudomonas fluorescens* for contra *Rhizoctonia solani* AG-4 in bean and cucumber. Plant Pathology, 64: 879-909.

Kleifeld, O. and Chet, I. (1992). *Tichoderma harzianum* interaction with plants and infection on growth response. Plant and soil. 144: 267-272.

Kucuk, C. and Kuvane, M. (2003). Isolation of *Trichoderma* spp. and determination of their antifungal, Biochemical and physiological features. Turk. Journal Biol. 27: 247-253.

Mahdavien, K., Kalantari, K.M. and Ghorbanli, M. (2007). The effect of different concentrations of salicylic acid on protactive enzyme activities of peppar (Capsicum annuum L.) Plant Pak. J. Biol. Sci. 10: 3162-3165.

Malgorzata, M., Dorota, F., Alekandra, P. and Hanna, D. (1997). Promting effect of *Trichoderma* on cutting growth in bicontrol of fusarium carnation. Folia Horticulture Turae, 3-13.

Mcleod, A., Labuschagne, N. and Kotze, J. M. (1995). Evalution of *Trichoderma* for biological control of Avocado Root Rot in Bark medium artificially infested with *phytophthora cinnammomi*, south African Avacado Growers Association Yearbook. 18: 32-37.

Mukhtar,I.(2008).Influence of *Trichoderma species* on seed germination in Okra.Mycopath.6:47-50.

Sarwar, N., Hayat, M., Ikiamul, Z. CH. HAG., And Jamil F. F. (2005). Induction of systemic Resistance in Chickpea against Fusarium wilt by seed treatment with Salicylic acid and Bion. Pakistan. J. Bot., 37(4): 989-995.

Nehal, S. and El-Mougy (2004). Preliminary evaluation of salicylic acid and Acetylsalicylic acid efficacy for controlling root rot diseas of Lupin under greenhouse conditions. Egypt. J. Phylopathol, Vol. 32: 11-21.

Ogoshi, A. (1996). Introduction. The genus Rhizoctonia- 1-9pp. (c.f. Snech, B., Hare, H. J., Neak, E. F. and Gisse, J. 1996). *Rhizoctoni* species, Taxanomy, Mollecular Biology, Ecology, Pathology and disease control, Kluwer, Academic puplisher printed in Netherlands, 585pp.

Okey, E. N. and Sreenivasan, T. N. (1996). Salicylic acid: a factor in systemic resistance of cacao to *Phytophthora palmivora*. Brighton crop protect. Pests and Disease. 3: 955-960.

Ozgnen, H., Mchemt Bic, ici and Ali erkilic (2001). The effect of salicylic acid and Endomycorrhizal fungus *Glomus etunicatus* on plant development of tomatoes and *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici*. Turk. J. Agric. 25: 25-29.

Pieters CMJ. and Van Loon, LC. (1999). Salicylic acid independent plant defence pathways. Trends Plant Sci. 4: 52-58.

Ramezani, H. (2008). Biological control of Root-Rot of Egg plant caused by *Macrophomina phaseolina*. American. Eurasian. Journal Agric and Environ. Sci. 4(2): 218-220.

Rush, C. M., Carling, D. E., Harveson, R. M. and Mathieson, J. T. (1994). Prevalence and pathogenicity of Anastomosis group of *Rhizoctonia solani* from wheat and sugar beat in Texas. Plant Dis. 78: 349-352.

Sunautapongsuk, V., Nakapraves, P., Piriyaprin, S. and Manoch, L. (2006). Protease production and phosphate solubilization from polential biological control agents *Trichoderma viride* and *Azomonas agilis* from *Rhizosphare*. The American psychopathological Society, 12(7): 619-624.

Wen Xu, Y., Shnal Shuai Lv, Dan Zhao, Jun Wen Chen, Wen Ting Yang and Wel Wu (2012). Effect of salicylic acid on monoterpene produvtion and antiovidant systems in Houttuynia cordata. African Journal of Biotechnology Vol. 11(6): 1364-1372.

Zhang-Shi Gong, Gao-Ji Yin, Song-Ting Zhi, Zhangrum, S. G., Gao, J. Y. and Song, J. Z. (1999). Effect of Salicylic acid and aspirin on wheat seed germination under salt stress. Plant Physiol. Communication, 35: 29-32.