كفاءة الفطرين *Trichoderma viride* و*T.koningii* في زيادة مقاومة نبات الطماطم للفطر الممرض *Alternaria alternata* المسبب لمرض التبقع الالترناري

هديل جاسب عباس[1] وعبد النبي عبد الأميرمطرود*[1]

(1). قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة البصرة، العراق.

(*للمراسلة: د.عبد النبي عبد الأمير مطرود. البريد الألكتروني (abdul_nabi.matrwod@uobasrah.edu.iq).

تاريخ الأستلام: 2022/07/27 تاريخ القبول:2022/11/29

الملخص

بينت هذه الدراسة قدرة عزلتي من الفطر الممرض *A.alternata* في الوسط Water Agar في أصابة بذور البندورة وكان أكثرها تأثيراً عزلة الثمار أذ بلغت 59% مقارنة بعزلة الأوراق التي بلغت 47%، كما أظهرت نتائج اختبار التضاد للفطر *T.viride* و*T.koningii* في الوسط الزرعي PDA قدرة تضادية عالية ضد الفطر الممرض *A.alternata* بطريقة البقع أذ بلغت منطقة التثبيط (2.3 ، 1.8)على التوالي. كما أظهرت رواشح فطريات المقاومة الأحيائية تثبيطاً للفطر الممرض *A.alternata* عند استخدامها بتراكيز (10و20و30)% مع الوسط الزرعي PDA تزداد بأزدياد التركيز. وعند تحليل رواشح الفطرين *T.viride* و *T.koningii* بتقنية جهاز GC-MS تم الحصول على العديد من المركبات الكيمائية التي لها دور في تثبيط المسببات الممرضة منها هذه المركبات n- Hexadecanoic acid والمركب Octadecanoic acid, docosyl ester. ممأدى الى زيادة محتوى الفينول الكلي في أوراق نبات الطماطم حيث أعطت معاملة *T.konhngii* أعلى محتوى من الفينول أذ بلغت 0.56 ملغم/غم مقارنة بمعاملة الفطر الممرض أذ بلغت 0.32 ملغم/غم. وأرتفع تركيز الكلورفيل في أوراق نبات الطماطم فأعطت معاملة *T.v+T.k* أعلى نسبة من الكلورفيل أذ بلغت 47.55 ملغم مقارنة بمعاملة الفطر *A.alternata* أذ بلغت 36.13 ملغم. مما قلل من شدة الأصابة بالفطر الممرض *A.alternata* حيث بلغت 19.66% في معاملة الفطر *T.konhngii* مقارنة بمعاملة الفطر الممرض حيث بلغت 50.36%.

الكلمات المفتاحية : نبات الطماطم، *Trichoderma koningii*، *Trichoderma viride*، *Alternaria alternata*

المقدمة

تعد نباتات الطماطم (*Solanum lycopersicum* L.) من نباتات الخضر المزروعة على نطاق واسع فهي ذات قيمة غذائية عالية تحتوي ثمار الطماطم من حيث التركيب الغذائي على كميات عالية من الرطوبة 95% والكربوهيدرات 3% ومجموع الدهون1% والبروتين 1.2% كما تحتوي على العديد من الفيتامينات منها A و C والمعادن مثل الكالسيوم والبوتاسيوم والصوديوم وغيرها (Melfi *et al*., 2018 ; Perveen *et al*.,2015). تصاب الطماطم بالعديد من الآفات الزراعية في كل من البيوت البلاستيكية

وأنظمة الزراعة المكشوفة كالحشرات مثل المنّ Aphids والديدان القارضة Cut warms والأمراض المختلفة مثل مرض البياض الدقيقي وتعفن الجذور وتبقع الأوراق والذبول، يعد مرض تبقع الأوراق الألترناري المتسبب عن الفطر *Alternaria alternata* من بين المسببات المهمة التي تصيب نبات الطماطم اذ يسبب العديد من الاعراض منها البقع على الاوراق وتنخر الساق والعفن الاسود على الثمار كما ان الاصابة بالفطر *A.alternata* تتطور الجني (Jabnoun-Khiareddine *et* ; Tilgen & Geoips,1982 Matrood *et al.*, 2021; *al.*,2016). بالنظر لما تسببه المبيدات الكيميائية من تأثير على البيئة وصحة الأنسان أتجهت الدراسات والبحوث الى طرق بديلة وآمنة لمقاومة أمراض النبات ومن بين هذه الطرق استخدام المواد المحرضة للمقاومة التي تعمل على توليد مجموعة من آليات الدفاع التركيبية أو الكيميائية بالنبات التي تعمل على تحجيم المسبب المرضي ولقد قسمت المقاومة المستحثة الى قسمين الاولى مقاومة مستحثة موضعية التي تحصل في موضع التداخل بين العائل والمسبب من خلال تحطيم خلايا العائل حول المسبب المرضي والثانية المقاومة الجهازية التي تحصل بعيداً عن موضع التداخل، المقاومة المستحثة يكون فيها عامل الأستحثاث كائنات حية دقيقة غير ممرض للنبات أو مواد كيمياوية ونواقل إشارة الأثيلين وحامض الجاسمونيك فيكون ناتج المقاومة هي بروتينات تختلف عن بروتينات المقاومة الجهازية المكتسبة مما تؤدي الى حصول زيادة بالأنتاج وتحسين نمو النبات (Ton *et* Matrood *et al.*,2022 ; Raba &Rashidi.,2013 ; *al.*,2005). أن عزلات الفطر ألاحيائي *Trichoderma* spp. له القدرة على أستحثاث المقاومة الجهازية من خلال زيادة فعالية أنزيم البيروكسديز والفينول في النباتات المعاملة بالفطر (حميد، 2002). كما ذكر Agrious (1997) أن دفاعات النبات تتحفز عند تعرضها الى مسببات خارجية حية أو غير حية بأنتاج الفايتوألكسينات فضلا عن أنتاجها السوبرين واللجنين.

نظراً لأهمية مرض تبقع الأوراق الألترناري المُتسبب عن الفطر *A.alternata* كأَحد مُسببات أمراض تَبقع الاوراق على نبات الطماطم جرت هذهِ الدراسة بِهدف إِيجاد مواد آمنة للأنسان وبيئتهِ بعيداً عن المبيدات الكيمائية في القضاءَ أو الحد من مرض التبقع ألالترناري.

مواد البحث وطرائقه:

عزل وتشخيص الفطر الممرض *A.alternata*

جلبت أوراق وثمار طماطة مصابة بشكل بقعة ذات لون زيتوني مائل الى الأسود وضعت في أكياس نايلون ونقلت الى مختبر الأمراض كلية الزراعة/ جامعة البصرة، ثم غسلت بالماء لغرض ازالة الاتربة والشوائب الموجودة عليها ثم قطعت هذه الأجزاء الى قطع صغيرة بحجم 1 سم بعدها عقمت سطحيا بمحلول هايبوكلورات الصوديوم NaOCl بتركيز 3% من المستحضر التجاري لمدة 3 دقائق ثم غسلت بالماء المعقم لأزالة بقايا محلول التعقيم بعدها وضعت على ورق ترشيح من نوع Whatman No.1 لتجف، نقلت 2–3 قطع صغيرة الى أطباق بتري تحتوي وسط PDA المعقم ثم حضت الاطباق بدرجة حرارة 25±2 ْم لمدة 7 أيام بثلاث مكررات (مطرود، 2009).

اختبار القدرة الأمراضية للفطر *A. alternata* في الوسط Water Agar

زرعت عزلتي الفطر *A.alternata* على وسط W.A وحضنت بدرجة حرارة 25± 2 ْم لمدة 3 أيام، ثم زرعت بذور الطماطم المعقمة بمحلول هايبوكلورات الصوديوم (NaOCl) بتركيز 3% من محلول التجاري لمدة ثلاثة دقائق ثم غسلت بماء مقطر معقم وضعت بشكل دائري حول المستعمرات الفطرية بواقع 10 بذور في كل طبق بالأضافة الى وجود معاملة الشاهد وذلك بزراعة البذور على

نفس الوسط بدون فطر، ثم حضنت الأطباق على درجة حرارة 25±2°م لمدة 10 أيام ثم حسبت القدرة الأمراضية للفطر *A.alternata* حسب مقياس مكون من 6 درجات (مطرود، 2015).

الجدول(1): مقياس شدة الأصابة لعزلتي الفطر *A. alternate* في بذور نبات الطماطم

الدرجة	الوصف
0	البذور سليمة
1	تلون جزء من البادرات باللون البني مع أتصالها بالفطر
2	الفطر يغزو غلاف البذرة لكن البادرات سليمة
3	غلاف البذرة خال من الفطر لكن مصابة
4	غلاف البذرة والبادرات مصابة
5	البذور مصابة وغير نابتة

اختبار فطريات المقاومة الاحيائية في تثبيط الفطر *A. alternata* في الوسط PDA

استخدمت طريقة البقع حسب (Aghighi *et al.*,2004) قسم طبق بتري حاوي على وسط PDA الى اربعة اقسام متساوية لقح مركز الطبق بقرص قطره 0.5 سم من مستعمر الفطر الممرض *A.alternata* ولقح كل قسم من الاقسام الاربعة وعلى مسافة 3 سم من مركز االطبق بقرص قطره 0.5 من مستعمرة الفطر الاحيائي *T.viride* و*T.koningii* تضمنت معاملة الشاهد تلقيح طبق بتري حاوي على وسط PDA بالفطر الممرض *A.alternata* حضت الأطباق في درجه حرارة 25±2°م لحين وصول الفطر في معاملة الشاهد الى حافة الطبق تحديد القدرة التضادية بين الفطريات الأحيائية وذلك بطرح مسافة نمو الفطر الممرض اتجاه الفطر الاحيائي من المسافة الكلية بين الفطرين 3سم وفق المعادلة الأتية:

$$C=A - B$$

A= المسافة الكلية بين الفطريين 3سم

B= مسافة نمو الفطر الممرض *A.alternata* من جهة التضاد المباشر

C= المسافة المتبقية (منطقة التثبيط).

يعتبر الفطر الاحيائي ذا مقدرة تضادية عالية للفطر الممرض أذا كانت قيمة C ≤ 2 سم ويرمز له (+++).

يعتبر الفطر الاحيائي ذا مقدرة تضادية متوسطة للفطر الممرض أذا كانت قيمة C من 1 – 1.9 سم ويرمز له (++).

يعتبر الفطر الاحيائي ذا مقدرة تضادية ضعيفة للفطر الممرض اذا كانت قيمة C ≥ 0.9 سم ويرمز له (+) .

دراسة تأثير رواشح فطريات المقاومة الاحيائية في نمو الفطر الممرض *A. alternata*

حضر الوسط الزرعي السائل (PDB) Potato Dextros Broth وزع في دوراق زجاجية ثم عقم بواسطة جهاز التعقيم البخاري على درجة حرارة 121°م وضغط 15 باوند / انش^2 لمدة 20 دقيقة ولقح كل دورق ب5 أقراص كل قرص 0.5 سم من حافة مستعمرة الفطر الأحيائي النامي على وسط PDA ثم حضنت الدوراق في درجة حرارة 25±2°م لمدة 14 يوم مع الرج كل 3 ايام بعد ذلك رشحت المزرعة الفطرية بواسطة ورق ترشيح Whatman-No.1 ثم عقم الراشح عبر مرشح دقيق (Mllipore 0.22µm) بأستعمال جهاز التفريغ الهوائي واضيف راشح كل فطر الى وسط PDA بنسبة 10و20 و30 % مع مراعاة تعديل نسب الاكار قبل التعقيم صبت الاوساط الحاوية على الرواشح في أطباق بتري وبعد تصلب الوسط لقح مركز كل طبق بقرص قطره 0.5 سم من حافة مستعمرة الفطر الممرض *A.alternata* مع معاملة الشاهد تحتوي على الفطر الممرض في وسط PDA خال من الرواشح حضت الأطباق في درجة حرارة 25±2°م تم قياس نمو الفطر بأخذ معدل قطرين متعامدين يمر بمركز الطبق بعد وصول الفطر الممرض

الى حافة الطبق في معاملة المقارنة نفذت التجربة بثلاث مكررات لكل تركيز حسبت نسبة التثبيط حسب معادلة Abbot(1925) الواردة في شعبان والملاح (1993) الاتية :

$$\%\text{التثبيط} = \frac{\text{معدل قطر النمو في المقارنة}-\text{معدل طر النمو في المعاملة}}{\text{معدل قطر النمو في المقارنة}} \times 100$$

تشخيص المركبات الموجودة في رواشح فطريات المقاومة الأحيائية والتعرف عليها بتقنية GCMS

أخذ راشح الفطرين ثم وضع الراشح لكل فطر *T.viride* و *T.koningii* في أطباق بتري ووضعت في الفريز لمدة يوم واحد بعد التجميد نقلت الى جهاز التجفيد Freeze dryer بعدها أستخلصت العينات باستخدام الأيثانول 10% ثم أخذ 0.2 مل من المستخلص وحقن بجهاز GCMS لقراءة المواد والمركبات الموجودة في الراشح (مطرود ، 2015).

دراسة التأثير الحيوي لفطريات المقاومة الأحيائية في تحفيز وتشجيع نمو النبات في الحقل

وضع اللقاح الفطري المحمل على بذور الدخن للفطريات *Tviride* و*T.koningii* بنسبة 1% وزن/وزن (الفطر/تربة) بعد خلط التربة مع الفطر جيدا ثم سقيت التربة بعد أضافة الفطريات وتركت لمدة ثلاثة أيام مع أستمرار السقي ، ثم نقلت شتلات الطماطم بعمر 4 أسابيع عند بداية وصول النباتات الى مرحلة التزهير رشت بمعلق أبواغ الفطر الممرض *A.alternata*.

تضمنت التجربة المعاملات التالية:

Control،*T.koningii*،*T.viride*،*A.alternata*،*T.koningii* +*T.viride*،*T.viride*+ *A.alternata*، *T. koningii* + *A.alternata*

تم حساب شدة الأصابة بمقياس مكون من 5 درجات وفق معادلة Mckinney (1923) الواردة في مطرود(2015).

الجدول(2): مقياس شدة الأصابة للفطر *A.alternata* في نبات الطماطم

الدرجة	عدد البقع/ ورقة
0	لايوجد أصابة
1	3-1
2	6-4
3	9-7
4	موت الأوراق السفلى

$$\text{شدة الأصابة} = \frac{\text{مجموع(عدد البقع×رقم الدرجة)}}{\text{عدد البقع الكلي×أعلى درجة}} \times 100$$

تقدير المحتوى الكلي من الفينولات

سحق 1 غم من أوراق نبات الطماطم في هاون خزفي مع أضافة 10 مل ميثانول بتركيز 80% مع التحريك المستمر لمدة 15 دقيقة وفي درجة حرارة 70م° ثم أخذ 1 مل من الراشح مع 5 مل ماء مقطر معقم و 250 مايكروليتر كاشف فولين في أنبوبة زجاجية معقمة، حضن المحلول بدرجة حرارة 25م° لمدة 30 دقيقة، قدر ألامتصاص الضوئي بجهاز المطياف الضوئي بطول موجي 725nm حسبت كمية الفينول على أساس ملي الغرام من الفينولات لكل غم نسيج طري (Meena *et al*., 2008)

تقدير محتوى ألاوراق من الكلورفيل الكلي (ملغم. 100غم$^{-1}$) وزن طري

جمعت الورقة الرابعة بعد القمة النامية من نباتات الطماطم المعاملة وغير المعاملة في الحقل لكل معاملة أخذ 1غم من الورقة الطازجة ثم سحقت داخل هاون خزفي بعد أضافة 10 مل من الأسيتون بتركيز 80% لغرض أستخلاص صبغة الكلورفيل ثم رشحت بواسطة ورق الترشيح ثم وضعت داخل أنابيب اختبار وأجري لها عملية طرد مركزي على 3000 دورة/ دقيقة لمدة 10 دقائق ثم أخذ

3 مل من الرائق وضعت في الخلية الخاصة بجهاز المطياف الضوئي Spectrophotometer على الطولين الموجيين 663nm و 645nm وبعدها تم قياس الكلورفيل الكلي حسب المعادلة التالية (Porra, 2002).

الكلورفيل الكلي (ملغم/ 100غم) = 20.2 × O.D (645) + 8.02 × O.D (663).

علما أن O.D تمثل قراءة الجهاز الأمتصاصية.

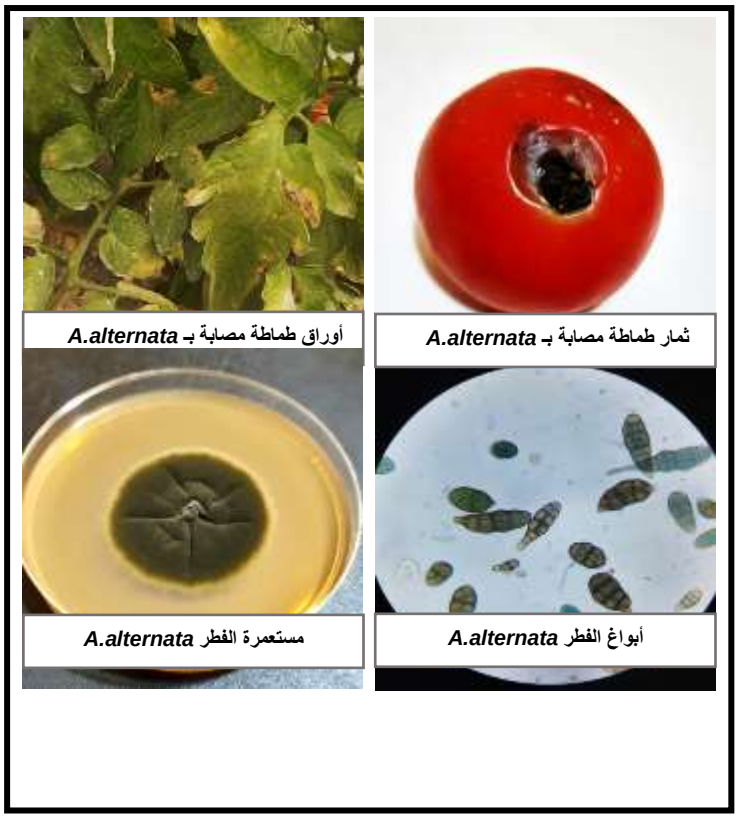
التحليل الأحصائي

نُفذت جميع التجارب المختبرية وفق تَصميم تام العشوائية Complet Randomized Desigin (CRD) أما تجارب الحقل نفذت وفق تَصميم القطاعات العشوائية الكاملة Randomized Complet Block Desigin (RCRD) وتَم مُقارنة جميع المتوسطات بأقل فرق معنوي L.S.D على مستوى أحتمال 0.01 للتجارب المختبرية و0.05 للتجارب الحقلية (الراوي وخلف، 1980). باستخدام البرنامج الأحصائي Spss.

النتائج والمناقشة

عزل وتشخيص الفطر الممرض *Alternaria alternata*

عزل الفطر *A.alternata* من وثمار واوراق الطماطم شكل (1) تميزت مستعمرات الفطر سطحها العلوي ذو لون زيتوني مائل الى الأسود ذو قوام مخملي وغير منتظمة الشكل وعند فحصها مجهريا على قوة (40x) ظهر حامل البوغ بشكل مفرد يحمل سلسلة من ألابواغ الصغيرة الحجم تتميز بوجود ثلاثة الى ثمانية حواجز مستعرضة مع وجود حواجز طولية ، ألابواغ عديمة العنق أو تحتوي عنق قصيرتتراوح أبعادها بحجم 23.45 إلى 46.90 × 7.70 إلى 14.00ميكرومتر وأكد هذه الصفات مع كل من العقبي (2017) ومطرود (2009).



الشكل1. عزل وتشخيص الفطر الممرض *A.alternata*

اختبار القدرة الأمراضية للفطر *A.alternata* في الوسط Water Agar

بعد الحصول على العزلتي من الفطر الممرض *A.alternata* عزلة أعطيت الرقم 1 عزلت من ثمار الطماطم وعزلة أعطيت الرقم 2 عزلت من الأوراق وعند اختبار القدرة الأمراضية للعزلتين في الوسط W.A جدول (3) أن العزلة رقم 1 كانت أكثر تأثير في النسبة المئوية لأصابة البذور أذ بلغت شدة الأصابة (59%) مقارنة بـ (47%) للعزلة رقم 1.

وقد يعود تفوق العزلة رقم 1 لقدرتها العالية على أفراز مركبات سامة مثل Alternariol و Alternic acid وغيرها من المركبات التي تشترك في أظهار شدة المرض النباتي (Douglas, 1984 ; Harven & Pero 1984). على ضوء هذه النتائج رشحت العزلة رقم 1 لإجراء الدراسات اللاحقة.

الجدول (3): شدة الأصابة لعزلتين من الفطر الممرض *A.alternata* في الوسط W.A مع بذور الطماطم.

عزلات الفطر *A.alternata*	% شدة الأصابة
العزلة رقم 1	59
العزلة رقم 2	47
L.S.D 0.01	8

تقييم كفاءة فطريات المقاومة الأحيائية في نمو الفطر الممرض *A.alternata*

أظهرت نتائج تجربة التضاد بطريقة البقع حسب Aghighi *et al.*, (2004) أن الفطر *T.viride* و *T.koningii* قدرة تضادية تجاه الفطر الممرض *A.alternata* جدول (4) أذ بلغت منطقة التثبيط (2.3 ، 1.8) على التوالي.

يعود تثبيط الفطر الممرض الى سرعة النمو للفطر *T.viride* و *T.koningii* والتنافس على المغذيات والقدرة على أنتاج الأنزيمات المحللة للجدار الخلوي التي تعمل ضمن آاليات التضاد والتتطفل لتحطيم الجدار الخلوي للفطر الممرض منها هذه الأنزيمات أنزيم Chitinase وCellulase وB-1,3- Glyconase و Protenase (Howell , 2003). كما أشار Rajkonda *et al.*,(2011) الى قدرة أنواع من الفطرالأحيائي *Trichoderma* spp. والمتمثلة بـ *T. koningii* و *T.viride* و *T.harzianum* و *T.virens* و *T.psedokoningii* في تثبيط الفطريات الممرضة في الوسط PDA في حين أختلفت فيما بينها في قدرتها التثبيطية للفطريات الممرض.

الجدول(4): الكفاءة التضادية للفطريات الأحيائية ضد الفطر *A.alternata* في الوسط PDA

الفطر	منطقة التثبيط	القدرة التضادية
T.viride	2.3	+++
T.koningii	1.8	++

تأثير رواشح الفطريات الأحيائية المعقمة بالترشيح في نمو الفطر *A.alternata* في الوسط PDA

أظهرت نتائج جدول (5) لراشح الفطرين *T.viride* و *T.koningii* أختلافات معنوية أذ بلغت أعلى نسبة تثبيط للفطر الممرض *A.alternata* (52.94)% عند استخدام راشح الفطر *T.viride* بتركيز30% بينما بلغت أعلى نسبة تثبيط للفطر الممرض(51.76)% عند أستخدم راشح الفطر *T.koningii* بتركيز 20% مما يدل على ان زيادة الراشح بتركيز اعلى يكون تأثيره اقل ربما ان الفطر الممرض أصبح متحمل للتراكيز العالية نتيجة تعرضه للتراكيز الواطئة او يعمل على تأيض المادة الكيميائية الى مادة اقل تأثيراً . وكما أشارت العديد من الدراسات الى كفاءة راشح الفطر *Trichoderma* sp. في تثبيط العديد من المسببات الممرضة للنبات ومنها *A.alternata* وقد يعود سبب ذلك الى أحتواء رواشح هذه الفطريات على العديد من المواد المثبطة لنمو الفطر الممرض (Domsch *et al.*,1980).

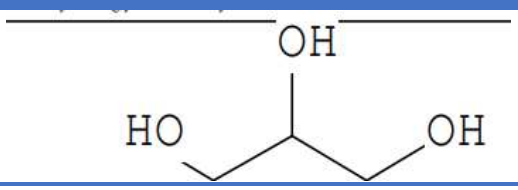
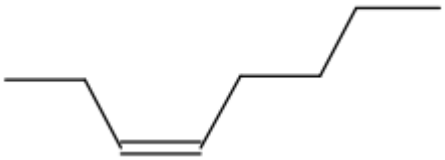
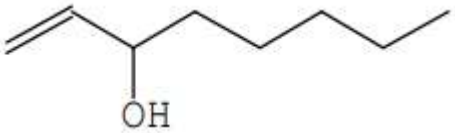
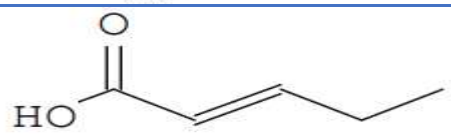
الجدول (5): تأثير تراكيز مختلفة من رواشح الفطريات الأحيائية في تثبيط نمو الفطر *A.alternata*

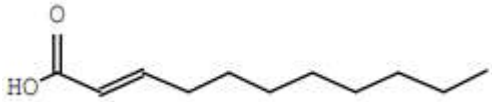
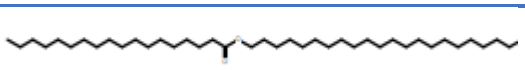
الفطر	% تثبيط نمو الفطر		
	تركيز الراشح		
	%10	%20	%30
T.viride	30.58	47.05	52.94
T.konhngii	50.58	51.76	47.05
LSD 0.01	للراشح1.88	للتركيز 3.91	للتداخل 3.4

تشخيص المركبات الموجودة في راشح الفطر *T.viride* و *T.koningii* بتقنية الـ GC-MS

حسب النتائج تم الحصول جدول (6) على العديد المركبات والمواد الموجودة في راشح الفطر *T.viride* و *T.koningii* ، لأحتوائها على العديد من المركبات منها المركب n-Hexadecanoic acid ذو فعالية تثبيطية جيدة ضد المسببات المرضية وهذا ما أشار اليه Siddique *et al.*,(2012) في اختبارات تثبيطية ضد *Aspergillus*, و *Mucor* و *Fusarium* . وكما تَم الكشف عن المُركب Octadecanoic acid, docosyl ester من المَعروف أَن الحَوامض الدَهنية تُعتبر مَن الحوامض المُضادة والمُثبطة للمُسببات المُمرضة وهَذا ما أشار اليه Zain (2009). وأيضاً استخدام بَعض الحَوامض الدهنية منها Octadecanoic acid في تَثبيط العَديد مَن الفطريات المُمرضة منها *Penicillium expansum* و *Aspergillus flavus* في الوسط الغذائي بِسبب قَدرتهِ التثَبيطية العالية تَجاه الفطريات المُختَبرة وعَدم تكوينها للأبَواغ. حَيثُ تَعمل هذهِ المُركبات منها 1-Octen-3-ol على تَثبيط نمو مُسببات الأمراض الجهازية بِواسطة تَعطيل مسارات حامض الجاسمونيك والساليسيليك ومن ثم تؤدي الى تَوفر مَعلومات محدودة حولَ جينات النبات مِما تعمل على المركبات العضوية من قبل المسبب المرضي، وكما أَن المُركبات المُنتجة من رواشح الفطريات التي تُؤثر بِشكل أيجابي على نمو النبات وأيضاً مُحتويات الكلورفيل (Vinale *et al*., 2008 ; Naznin *et al*., 2013).

الجدول (6): المركبات الموجودة في راشح الفطر *T.viride* و *T.koningii* بتقنية GC-MS

أسم المركب الكيميائي	تركيبه الكيميائي	صيغته الكيميائية	الوزن الجزيئي
n-Hexadecanoic acid		C16H32O2	**256**
3-Octene		C8H16	**112**
1-Octen-3-ol		C8H16O	**128**
2-Pentenoic acid		C5H8O2	**100**
2-Nonenal		C9H16O	**140**

184	C11H20O2		2-Undecenoic acid
592	C40H80O2		Octadecanoic acid, docosyl ester

تأثير فطريات المقاومة الأحيائية في محتوى الفينول الكلي في الحقل

بينت النتائج جدول (7) أن محتوى الفينولات أعلى في معاملة *T.k* اذ بلغت 0.56 ملغ/غم وزن رطب للمجموع الخضري أما معاملة الفطر الممرض بلغت 0.32 ملغ/غم . أَن الفطرين *T.koningii* و*T.viride* ذو كفاءَة عالية في تَثبيط العَديد من المُسببات التي تُصيب النبات سواء على المجموع الخضري أو الجذري من هذهِ الامراضَ مرض تَبقع الأوراق ومرض تَعفن جذور الطماطم والخيار والفَلفل الناتجة من عَدد من الفَطريات مِنها *A.alternata* *R.solani* و *F.solani* و *M.phaseolina* وذلك عَن طريق تَحفيز المُقاومة الجهازية بِالنبات مما أدى الى خفض شدة الأصابة بالفطريات الممرضة(Abdel-Kader *et al.*, 2012) وكما أكد آل مراد (2011) عند استخدام أنواع الفطر *Trichoderma spp.* قد يسبب في زيادة محتوى الفينولات في النبات ، أن زيادة محتوى الفينولات الكلي مقترنة بزيادة نشاط أنزيم البولي فينول أوكسيديز وأنزيم البيروكسيديز التي تكون بمثابة أستجابة أيجابية أولية ضد المسبب المرضي كما أن زيادة في نشاط أنزيم البولي فينول أوكسيديزوالبيروكسيديز لهما دور في أكسدة الفينولات الى كينونات وهي أكثر سمية للمسببات الممرضة من الفينولات .

الجدول(7): تأثير عوامل الأستحثاث في محتوى الفينول الكلي في أوراق نبات الطماطم

المعاملة	تركيز الفينولات ملغم/غم
Control	0.39
T.V	0.43
T.K	0.56
A.a	0.32
T.V+A.a	0.33
T.K+A.a	0.43
T.V+T.K	0.25
LSD 0.05	0.04

تأثير عوامل الأستحثاث في محتوى الكلورفيل في أوراق الطماطم

أظهرت نتائج التجربة جدول (8) أن الفطريات الأحيائية المستخدمة أعطت أعلى محتوى من الكلورفيل في أوراق نبات الطماطم ، بلغ محتوى الكلورفيل في معاملة *T.v +T.k* 47.55 ملغم مقارنة بمعاملة الشاهد أذ بلغت 40.93 ملغم ومعاملة الفطر الممرض *A.a* أذ بلغت 36.13ملغم. وجد أغلب المعاملات التي يدخل فيها عوامل الأستحثاث وأنواع الفطر *Trichoderma* أظهرت تفوق معنوي في محتوى الكلورفيل سبب هذة الزيادة في محتوى الكلورفيل تعود الى تحفيز مقاومة النبات و تحسين صفات التربة وزيادة جاهزية العناصر منها البوتاسيوم والفسفور وعناصر أخرى حيث تعمل على تحسين كفاءة أمتصاص عنصر النتروجين من الجذور (السامرائي، 2002).

الجدول (8): تأثير عوامل الأستحثاث في محتوى الكلورفيل في أوراق الطماطم

المعاملة	تقدير الكلورفيل/ملغم.100غم$^{-1}$
Control	40.93
T.V	40.08
T.K	29.61
A.a	36.13
T.V+A.a	24.77
T.K+A.a	32.02
T.V+T.K	47.55
LSD 0.05	0.19

تأثير فطريات المقاومة الأحيائية في شدة أصابة نبات الطماطم بالفطر الممرض في الحقل

أظهرت نتائج جدول (9) فطريات المقاومة الأحيائية المستخدمة في التجربة قد خفضت من شدة الأصابة في نباتات الطماطم المصابة بالفطر الممرض *A.alternata* الأ أن معاملة الفطر *T.k +A.a* كان لها الأثرالاكبر في خفض شدة الأصابة اذ بلغت 19.66% مقارنة بمعاملة الفطر الممرض التي بلغت 50.36%. أشارت دراسات عديدة منها Yigit & Diklitas (2007) ; Gajera *et al.*,(2012) أن أنواع الفطر *Trichoderma* تعد من أكثر الفطريات الأحيائية مهمة للمقاومة الفطريات الممرضة للنبات بسبب أمتلاكها آليات مختلفة منها التطفل المباشر والتنافس على المواد الغذائية وزيادة جاهزية العناصر وأنتاج السموم وكذلك أنتاج الأنزيمات منها Protease و Chitinase.

الجدول (9): دورالفطريات الاحيائية في شدة أصابة بالفطر *A.a* في تجربة االحقل

المعاملة	شدة الاصابة%
A.alternata	**50.36**
T.viride+ A.a	**24.15**
T.koningii+ A.a	**19.66**
LSD 0.05	**1.43**

الاستنتاجات

قدرة فطري التريكوديرما على تثبيط نمو الفطر الممرض *A.alternata* من خلال عملية التضاد، بالإضافة الى زيادة دفاعات النبات عن طريق زيادة محتوى الفينول والكلورفيل الكلي بالنبات وبالتالي تقليل شدة الأصابة بالفطر الممرض *A.alternata*.

الأخلاقيات البحثية:

هذا البحث جزء من رسالة ماجستير للباحث الأول، وتحت إشراف الباحث الثاني، كما أن جميع البيانات والصور أصيلة وليست مقتبسة.

المراجع

آل مراد ، نهاد يونس محمد.(2011) .قدرة بعض عزالت الفطر *Trichoderma* spp على انتاج إنزيم السيليوليز ودوره في استحثاث المقاومة ضد الفطر *Macrophomin phaseloin* . (22)(3)ص:.46-59.

الراوي ، خاشع محمود وعبد العزيز محمد خلف الله (1980). تصميم وتحليل التجارب الزراعية ، كلية الزراعة والغابات – جامعة الموصل – دار الكتب والطباعة والنشر ، 486 صفحة.السامرائي، فالح حسن سعيد(2002). تأثير عزلات الفطر *Trichoderma* spp إنبات بذور ونمو شتلات النارنج Sour Orange (*Citrus aurantium*) رسالة ماجستير. كلية الزراعة. جامعة بغداد 74 صفحة.

حميد، فاخر رحيم (2002) دراسة كفاءة عزلات الفطر *Trichoderma*.spp. في استحثاث المقاومة ضد الفطر *Rhizoctonia solani* وتحفيز النمو في اربعة اصناف القطن . رسالة ماجستير، كلية الزراعة، جامعة بغداد.

شعبان، عواد ونزار مصطفى الملاح.(1993). المبيدات. دار الكتب للطباعة والنشر. جامعة الموصل . 520 صفحة .

العقبي ، زهراء عبد اللطيف جاسم (2017). تقييم كفاءه المستحضر الأحيائية للفطر *Trichoderma viride* والأسمدة العضوية في مكافحة الذبول الفيوزارمي وتبقع أوراق الطماطم .رسالة ماجستير/جامعة البصرة.84 صفحة.

مطرود، عبد النبي عبد الامير(2009). تأثير بعض المبيدات الحشرية في أصابة نبات الطماطم بمرض تبقع الاوراق المتسبب عن الفطر *Alternaria alternata* (Fr)keissler. رساله ماجستير. كلية الزراعة /جامعة البصرة. 54صفحة.

مطرود، عبد النبي عبد الامير(2015). التكامل في مكافحة مرض التعفن الفحمي المتسبب عن الفطر *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid أطروحة دكتوراه.كلية الزراعة/جامعة الكوفة. 154صفحة.

Abdel-Kader, M.M.; El-Mougy, N.S.; Aly, M.D.E; Lashin, S.M. and El- Mohamady, R.S.(2012). Soil drench with fungicides alternatives against root rot incidence of some vegetables under greenhouse conditions. Inter. J. Agric. Forest. 2(2), 61-69.

Aghighi,s;Bonjar,G.H;G.H;Rawashdeh,R;Batayeh,S.andSaadoun,I.(2004).First report of antifungal spectra of activity of Iranian Actiomycetes strains against Alternaria strains,*Alternaria alternata* ,*Fusarium solani*, *phytophthora megasperma*,*verticillium dahlia* and *Saccharomyces* cerevisiae.Asian Journal of plant scieneces3(4):463-471.

Agrios, G.N. (1997). Plant Pathology. 4th Ed. Academic Press Inc. New York. P 635.

Cordovez,L.R.Pierik,R.Mumw,V.J.Carrion,J.M.Raaijmakers.(2017)Plant phenotypic and transcriptional changes induced by volailes from the fungal root pathogen *Rhizoctonia solani*.Fort.Plant Sci.,8,p.1262.

Domsch K.H; Gams W. and Anderson T.H.(1980). Compendium of Soil Fungi. Academic Press, New York, USA,. 1156pp.ovanovich ,Puplishers London (vol.1).859pp.

Douglas, S.K.; Jhon,J.R.and SChad,E.(1984).*Alternaria* toxin and their important in food . Journal of Food Protection 47:886-901.

Gajera,. H.P, Bambharolia. R.P, Patel. S.V, Khatrani. T.J. and Goalkiya. B.A. (2012).Antagonism of *Trichoderma* spp. against *Macrophomina phaseolina*: Evaluation of Coiling and Cell Wall Degrading Enzymatic Activities. J Plant Pathol Microb, 3:7.

Harven,D.J.and Pero, R.w. (1984) . structure and toxicity of the *Alternaria* metabolits . adv . chem. . 199 : 344-355

Howell, C. R. (2003). Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant disease : the history and evolution of current concepts. Plant Dis., 87, 4-10.

Jabnoun-Khiareddine,H.,Abdallah,R., El-Mohamedy,R., Abdel-Kareem,F., GueddesC−Chahed, M., Hajlaoui,A. and Daami-Remadi,M. (2016). Comparative efficacy of potassium salts against soil-borne and air-borne fungi and their ability to suppress tomato wilt and fruit rots. J. Microbiol. Biotechnol., 8(2): 45-55.

Matrood A.A.A, Rhouma A. and Mohammed T.F., (2022). Control of *Fusarium* wilt disease of cucumber using rhizospheric antagonistic fungi. Arab Journal of Plant Protection, 40(1): 62-69. https://doi.org/10.22268/AJPP-040.1.062069

Matrood A.A.A., Rhouma A. and Okon G.O., (2021). Evaluation of the biological control agent's efficiency against the causal agent of early blight of *Solanum melongena*. Arab Journal of Plant Protection, 39(3): 204-209. https://doi.org/10.22268/AJPP-039.3.204209

Meena, R.K., K.Patni and D.K.Arora.(2008).Study on phenolics and their oxidative enzyme in *Capsicum annuum* L. infected with geminvirus .As. J.Exp.Sci.22(3):307-310.

Melfi,M.T., Nardiello,D., Cicco, N., Candido,V .andCentonze, D.(2018). Simultaneous determination of water-and fat-soluble vitamins, lycopene and beta-carotene in tomato samples andpharmaceutical formulations: Double injection single run by reverse-phase liquid chromatography with UV detection. J. Food Compost. Anal. , 70: 9–17.

Naznin, H.A., Kimura, M., Miyazawa, M., Hyakumachi, M., (2013). Analysis of volatile organic compounds emitted by plant growth promoting fungus Phoma sp. GS8-3 for growth promotion effects on tobacco. Microbes Environ. 28, 42–49.

Perveen,R., Suleria,H.A.R., Anjum,F.M., Butt,M.S., Pasha,I. and Ahmad,S.(2015). Tomato (*Solanum lycopersicum*) carotenoids and lycopenes chemistry; metabolism, absorption, nutrition, and allied health claims—A comprehensive review. Crit Rev Food Sci Nutr., 55(7): 919–929.

Porra, R.J. (2002).The chequered history of the development and use of stimulation quantios for the accurate determination of chlorophylls A and B. Photosynthesis Research, 73(1-3): 149-156.

Raba, F and Z.A Rashidi , (2013). Degradation of the Plant defence hormone salicylic acid by the biotrophic fungus Ustilago maydis. Molecular Microbiology, 89(1),179-188.

Rajkonda, J. N.; Sawant, V. S.; Ambuse , M. G.and Bhale, U. N. (2011) . Inimical potential of *Trichoderma* species against pathogenic fungi . Journal Plant Sciences Feed, (1) : 10- 13.

Siddiquee, S., Cheong, B. E., Taslima, K., Kausar, H., & Hasan, M. M. (2012). Separation and identification of volatile compounds from liquid cultures of *Trichoderma harzianum* by GC-MS using three different capillary columns. *Journal of Chromatographic Science*, *50*(4), 358–367. https://doi.org/10.1093/chromsci/bms012

Tilgen,W.H.and Gepois.(1982) Nature and etont of losses in fresh kepaked Tomato.phytopathology .72:266_267.

Ton, J., G. Jakab, V. Toquin, V. Flors, A. Iavicoli, M.N. Maeder, J.P. Métraux,and B. Mauch-Mani ,(2005). Dissecting the β-aminobutyric acid-induced priming phenomenon in *Arabidopsis*. Plant Cell, 17:987–999.

Vinale, F., Sivasithamparam, K., Ghisalberti, E.L., Marra, R., Woo, S.L., Lorito, M., (2008). *Trichoderma*–plant–pathogen interactions. Soil Biol. Biochem. 40, 1–10.

Yigit, F and Dikilitas, M. (2007). Control of *Fusarium* wilt of tomato by combination of *Pseudomonas fluorescens*, non-pathogen *Fusarium* and *Trichoderma harzianum* T22 in greenhouse conditions, PlantPathology,6, 159-163.

Zain.M.E. (2009) . Effect of Olive Oil on Secondary Metabolite and Fatty Acid Profiles of *Penicillium expansum*, *Aspergillus Flavus*, *A. Parasiticus* and *A. Ochraceus*.Australian Journal of B asic and Applied Sciences, 3(4): 4274- 4280.

Efficiency of *Trichoderma viride* and *T.koningii* in Increasing Tomato Plant Resistance to *Alternaria alternata* that Causes Alternaria Spot Disease

Hadeel Chasib Abbas[(1)] and Abd al-Nabi Abd al-Amir Matroud[*(1)]

(1). Plant Protection Department, College of Agriculture, Basrah University,Iraq.

([*] Corresponding author: Dr. Abdulnabi Abbdul Ameer Matrood. E-Mail: abdul_nabi.matrwod@uobasrah.edu.iq).

Received: 27/07/2022 Accepted: 29/11/2022

Abstract:

This study showed the ability of two isolates of the pathogenic fungus *A.alternata* in the water agar medium. The isolate of fruits had the most effect on the severity of infection of tomato seeds in the dish, reaching 59% compared to isolate the leaves, which amounted to 47%. The results of the antagonism test for *T.viride* and *T. .koningii* in PDA culture medium had a high antagonistic ability against *A.alternata* by spot method, the inhibition zone reached (2.3, 1.8), respectively. The filtrates of biological resistance fungi showed inhibition of the pathogenic fungus *A.alternata* when used at concentrations of (10,20,30)% with PDA culture medium. When analyzing the infiltrates of *T.viride* and *T.koningii* using GC-MS technique, several chemical compounds that have a role in inhibiting pathogens were obtained, including n-Hexadecanoic acid and Octadecanoic acid. As for the total phenol content in the leaves of the tomato plant, *T.konhngii* treatment gave the highest content of phenol, as it reached 0.56 mg. Also, chlorophyll was increased in tomato leaves, so the *T.v + T.k* treatment gave the highest percentage of chlorophyll, which amounted to 47.55 mg, compared to the fungus *A.alternata* treatment, which amounted to 36.13 mg .The biological resistance fungi also reduced the severity of infection with the pathogenic fungus *A.alternata*, which amounted to 19.66% in the treatment of *T.konhngii*, compared to the treatment of the pathogenic fungus, which amounted to 50.36%.

Key words: Tomato, *Trichoderma koningii*, *Trichoderma viride*, *Alternaria alternata*.