Journal homepage
www.ajas.uoanbar.edu.iq
Anbar Journal of Agricultural Sciences
(University of Anbar – Agriculture College)

دراسة تأثير ثلاث احماض عضوية وراشح الفطر *Trichoderma harzianum* في نمو وامراضية الفطر *Alternaria alternata* وتحفيز مقاومة نبات الطماطم ضده

زينب عايد حمدان ساجد صلاح الدين سليم*

جامعة الأنبار – كلية العلوم

***المراسلة الى:** ساجد صلاح الدين سليم، قسم علوم الحياة، كلية العلوم، جامعة الانبار، الرمادي، العراق.

البريد الالكتروني: sc.saggedalseaidy@uoanbar.edu.iq

Article info

Received: 2021-06-22
Accepted: 2021-10-04
Published: 2021-12-31

DOI-Crossref:
10.32649/ajas.2021.175998

Cite as:
Hamdan, Z. A., and S. S. Selim. (2021). Astudy of the effect of three organic acids and the fungus trichoderma harzianum and its filtrate on the growth and pathogenesis of alternaria alternata and in stimulating tomato plant resistance against it. Anbar Journal of Agricultural Sciences, 19(2): 256-268.

©Authors, 2021, College of Agriculture, University of Anbar. This is an open-access article under the CC BY 4.0 license (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

الخلاصة

أجريت هذه الدراسة لمعرفة تأثير الأحماض العضوية البنزويك (BA) والسالسيلك (SA) والأوكزاليك (OA) وراشح مزرعة الفطر *Trichoderma harzianum* في نمو الفطر *Alternaria alternate* ودورها في تحفيز مقاومة نبات الطماطة ضد الاصابة بالفطر بطريقة رش النباتات قبل تلقيحها بسبورات الفطر (كأجراء وقائي) او بعده (كأجراء علاجي) بالتركيز 5×10^3 خلية/ مل اذ ثبط راشح الفطر *T. harzianum* بعد مدة حضن 10 أيام وبكفاءة تثبيطيه عالية لأقطار نمو مستعمرة الفطر *Alternaria* spp مختبريا وبعد 7 أيام في الحاضنة معدلا بلغ 21.67 ملم بالمقارنة مع معاملة السيطرة التي أعطت معدل قطر بلغ 50 ملم، وبلغت نسبة تثبيط الفطر *A.alternata* في تجربة التضاد مع الفطر *T. harzianum* 22. 84%. اما بخصوص فاعلية الاحماض العضوية فقد أعطت تثبيطا عاليا لنمو الفطر *A.solani* بلغ 100% في الاوساط المختبرية لمدة 7 أيام في الحاضنة عند التركيز 9 ملي مول لحامض البنزويك وتركيز 12 ملي مول لكل من السالسيلك والاوكزاليك كما بينت نتائج رش النباتات بالأحماض العضوية وراشح مزارع الفطر *Trichoderma* spp قبل التلقيح بالفطر *Alternaria* spp ارتفاع شدة الإصابة بدلالة زيادة عدد البقع ومساحتها في معاملة السيطرة التي تضمنت تلقيح نباتات طماطة بسبورات الفطر *Alternaria* spp الى 3.14 بقعة ورقة$^{-1}$ للعدد و7.69 ملم^2 للمساحة في حين انخفضت شدة الأصابة المعاملة بالرش بالأحماض العضوية وراشح مزارع الفطر *T. harzianum* قبل التلقيح بالفطر *Alternaria* spp ليبلغ معدل عدد بقع بلغ 0.96 و1.00 و1.27 و0.50 بقعة/ ورقة ومعدل

مساحة بلغ 2.47 و2.61 و3.17 و1.00 ملم² لكل من البنزويك تركيز 9 مليمول والسالسيلك والاوكزاليك تركيز 12 ملي مول وراشح *T. harzianum* بعمر 10 أيام على الترتيب كما تبين علاقة موعد الرش قبل او بعد التلقيح بالفطر *A.solani* بفاعلية الأحماض العضوية او راشح الفطر *T.harzianum* والتي تفوقت وبمعدل عدد بقع اقل أذ سجلت 1.23 بقعة/ ورقة وبين معاملة التلقيح بالفطر الممرض قبل الرش بالمواد سابقة الذكر والتي سجلت معدل عدد بقع 1.52 بقعة/ ورقة. وهذا يشير إلى أن هناك عاملا أستحث في نباتات الطماطمة عند رشها بالأحماض العضوية او براشح الفطر *T. harzianum* قد أوقف المسبب المرضي عن النمو وتطور أعراض الإصابة.

كلمات مفتاحية: الاحماض العضوية، راشح *Trichoderma harzianum* ، *A.solani*، تحفيز المقاومة، نبات الطماطة.

ASTUDY OF THE EFFECT OF THREE ORGANIC ACIDS AND THE FUNGUS *TRICHODERMA HARZIANUM* AND ITS FILTRATE ON THE GROWTH AND PATHOGENESIS OF *ALTERNARIA ALTERNATA* AND IN STIMULATING TOMATO PLANT RESISTANCE AGAINST IT

Z. A. Hamdan S. S. Selim*
University of Anabr – College of Sciences

***Correspondence to:** Sajid Salahuddin Selim, Department of biology, College of Sciences, University of Anabr, Ramadi, Iraq.
E-mail: sc.saggedalseaidy@uoanbar.edu.iq

Abstract

The present study has investigated the activity of three organic acids (Benzoic, Salicylic and Oxalic and the effect of *Trichoderma harzianum* activity and its filtrate on the growth of *Alternaria alternata*. And to study thier role in stimulating the resistance of tomato plant against infection with (treatment procedure) inoculating with fungi sprouts at 5 ×10³cell/ ml concentration as the filtrate of *T. harzianum*. In a 10-day incubation period showed high inhibitory efficiency for the colony growth diameters of *A. alternata*. *T.* harzianum. Also gave a high inhibitory ability against the fungus *A. alternata*. The antagonistic experiment reached 22.84% also gave organic acids (benzoic, salicylic and oxalic) a high inhibition against *A. alternata*. It reached 100% in laboratory media for 7 days at a concentration of 9 mmol of benzoic acid and a concentration of 12 ml of each of salicylic and oxalic. The results of spraying plants showed an increase in the severity of infection as an indication of an increase. The number and area of spots in the control treatment that included inoculating tomato plants with *A. alternata*. To 3.14 spots/leaf per number and 7.69 mm² per area, while it reached when the treatment was sprayed with organic acids and the filtrate of *T.*

harzianum Before inoculation with *A. alternata***.** The spots numbers are 0.96, 1.00 and 1.27 And 0.50 spot /leaf and area rate

Keyword: Organic acids, *Trichoderma harzianum* filtrate, *Alternaria solani*, stimulating the resistance, Tomato plant.

المقدمة

يسبب الجنس *A. alternata* امراض اللفحة المبكرة Early Blight والتبقع الالترناري وتقرح الساق والذي يصيب محصول الطماطة (13). ويعد مرض اللفحة المبكرة واحد من أكثر الامراض انتشاراً وفي جميع انحاء العالم مسببا متوسط خسارة في المنتج يبلغ 33–57% (15).

يعد جنس *A.alternata* ممرض ورقي يعمل على اتلاف انسجة العائل من خلال الحد من القدرة على التمثيل الضوئي في حين ان هذا الجنس يبقى في المنتجات المخزنة مؤدياً الى اصابات كامنة تخترق الانسجة وتبقى في سبات حتى تتوفر الظروف الملائمة لإصابة المحاصيل بالعدوى (4). كما ان لهذا الجنس من الفطريات المقدرة على اصابة مدى واسع من النباتات وانتاج السموم والتي تعد مستقلبات ايضية ثانوية (1).

أن التحكم الكيميائي متاحًا لتقليل تأثيرات مرض التبقع ألألترناري على النباتات بشكل فعال وعلى نطاق واسع، ولكن التطبيق الميداني لهذه المبيدات الفطرية الكيميائية قد لا يكون مرغوبًا دائمًا لما لهذه المبيدات الكيميائية من اضرار بيئية وصحية خطيرة. مما حدا بالباحثين البحث عن وسائل حماية وعلاج بديلة تعتمد على الية تحفيز مقاومة النبات ضد الممرضات المختلفة إذ تثير النباتات سلسلة من ردود الفعل الدفاعية العامة، بما في ذلك أنتاج الألكسينات النباتية Phytoalexins والبروتينات المضادة، عند غزو الاحياء المجهرية والمسببات المرضية، تحدث العديد من هذه التفاعلات البايوكيميائية بسبب تنشيط الجينات المتعلقة بالدفاع، والتي بدورها تعمل على انتاج مركبات تقلل او تثبط الاصابات او الهجمات اللاحقة من اعدائها (9).

تحدث الاستجابة في كل من الاعضاء النباتية التي تمت مهاجمتها في الاصل (استجابة موضعية) وفي اجزاء بعيدة لم تتأثر او لم تتعرض للغزو المباشر (استجابة جهازية) احدى هذه الاستجابات هي المقاومة الجهازية المستحثة (ISR) او المقاومة الجهازية المكتسبة (SAR) للنبات ضد مسببات الامراض (5)، ويعد جنس *T. harzianum* من الاجناس الفطرية المستخدمة في تحفيز المقاومة والمكافحة الحيوية وذلك من خلال استخدام منتجات هذا الفطر او مستقلباته والتي تقلل من التأثيرات السلبية لمسببات الامراض النباتية وتعزز الاستجابات الايجابية من النبات (19).

كما يتم استخدام العديد من المواد الكيميائية لغرض حث المقاومة الجهازية في النباتات ضد الكثير من الممرضات النباتية وفي هذا الخصوص استهدف البحث دراسة دور بعض الاحماض العضوية (البنزويك والسالسيلك والأوكزاليك) او رواشح الفطر *T harzianum* في النمو الشعاعي لمستعمرات الفطر *A. alternata* وتحفيز مقاومة نبات الطماطة ضد الاصابة بالفطر *A.alternata*.

المواد وطرائق العمل

بعد عمليتي العزل والتنقية للفطر الممرض من ثمار الطماطة المصابة والتي ظهرت عليها أعراض الاصابة وتم تشخيصها وفق ما جاء في (11)، إذ تمت التنمية على وسط PDA المحضر وفق تعليمات شركة Oxoid المصنعة وعقم الوسط في جهاز المؤصدة (Autoclave) بدرجة حرارة 121°م وضغط 1.5 بار ولمدة 20 دقيقة. شخصت عزلة الفطر A.solani باعتماد الصفات الزرعية والصفات المظهرية من خلال فحص النموات الفطرية بأخذ أجزاء من المزرعة وفحصها مجهرياً وقد وباعتماد المفاتيح التصنيفية الواردة في (18) اما عزلة الفطر *Trichoderma harzianum* فقد تم الحصول عليها من مختبر الأحياء المجهرية في قسم علوم الحياة، كلية العلوم – جامعة الانبار.

تحضير راشح الفطر Trichoderma spp: حضر الوسط PDB وفق ما اشار اليه (10) من دون إضافة الاكار ووزع على دوارق سعة 250 مل بواقع 200 مل / دورق وعقمت في جهاز المؤصدة على درجة 121° م وضغط 1،5 بار لمدة 20 دقيقة، لقحت الدوارق بأربعة اقراص قطر كل منها 5 ملم أخذت من أطراف مزارع الفطر *T. harzianum* بعمر 7 يوم. حضنت جميع الدوارق في الحاضنة الهزازة (120 دورة/ بالدقيقة) على درجة حرارة 25 ±2 ° م لمدة 5 او 10 او 15 او20 يوم ثم رشحت المزارع السائلة خلال ورق الترشيح نوع Whatman no.1 وعقمت باستخدام مرشحات بكتيرية قطر 0.22 ملي مايكرون بمساعدة جهاز تفريغ الهواء.

اختبار فاعلية راشح الفطر *T. harzianum* في تثبيط نمو الفطر *A.alternata* مختبريا ولمدد حضن مختلفة: بغرض اختبار تأثير مدة الحضن 5 و10 و15 و20 يوم في فاعلية راشح المزارع السائلة للفطر وكفاءته التثبيطية، اذ أخذ مقدار من كل راشح ورشح خلال ورق ترشيح نوع Whatman No1، خلط الراشح مع الوسط PDA المعقم قبل تصلبه وبنسبة 1 مل راشح / 10 مل من الوسط الغذائي (PDA)، مزج جيداً ثم صب في أطباق بتري بقطر 90 ملم وبواقع 20 مل في كل طبق وتركت لتتصلب، لقحت الأوساط بالفطر *A.alternata* بأخذ أقراص بقطر 5 ملم من حافة مستعمرة بعمر 7 ايام مستخدمين في ذلك ثاقب فليني معقمCork Borer . زرعت ثلاث مكررات لكل مدة زمنية. حضنت الاطباق بدرجة حرارة 25±2 °م، أخذت النتائج كل 24 ساعة وعلى مدى 7 ايام وذلك بقياس قطر المستعمرة النامية، اما معاملة المقارنة فقد تضمنت زراعة الفطر A. alternata على وسط PDA خالي من رواشح الفطر *T.harzianum*.

اختبار القدرة التثبيطية لفطر *T.harzianum* لنمو الفطر *A. alternata* في الاوساط المختبرية بطريقة الزراعة المزدوجة Dual Culture Method: أخذت اقراص بقطر 5 ملم من مزرعة الفطر *T.harzianum* بعمر 7 ايام وضعت على الوسط الغذائي PDA في اطباق حجم 90 ملم على جانب وعلى بعد 1سم من حافة الطبق، وعلى الجانب الاخر وعلى نفس المسافة عن حافة الطبق وضع قرص بنفس القطر من مزرعة فطر *A.alternata* بعمر 7 ايام من وحسب ما ورد في (12)، حضنت الاطباق بدرجة (25±2)°م وبواقع ثلاث مكررات لكل معامله مع الاخذ بنظر الاعتبار تنمية ثلاث مكررات للمعاملة السيطرة (مستعمرات

للفطر *A.alternata* بشكل مستقل) ولغرض المقارنة، وقد قيس قطر النمو لكلا القرصين كل 24 ساعة وعلى مدى7 أيام وقد حسبت النسبة المئوية باستخدام المعادلة:

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

تأثير تراكيز مختلفة من الأحماض العضوية في نمو الفطر *A. alternata* مختبريا: حضر المحلول القياسي تركيز 0.01 مول للحوامض العضوية السالسيلك والبنزويك والأوكزاليك ووفق ما جاء (17) اختبرت التراكيز 3 ،6 ،9، 12 ، 15 ملي مول إذ أكدت التجارب الاولية عدم تأثير هذه التركيز على النبات وقد تضمنت المعاملات مزج كل حامض على حدة مع وسط PDA بغية الحصول على التراكيز أعلاه بواقع ثلاث مكررات اما معاملة السيطرة فقد تضمنت استخدام وسط PDA دون إضافة اي من الأحماض المشار اليها سابقا، لقحت الأوساط بالفطر *A.alternata* بأخذ اقراص قطر5 ملم من حافات المستعمرة الفطرية النشطة بعمر 7 ايام باستخدام ثاقب فليني معقم *Cork Borer*. حضنت الاطباق بدرجة حرارة *2±25* °م، قيست اقطار المستعمرات النامية كل 24 ساعة وعلى مدى 7 ايام لمعرفة التركيز الاكثر تثبيطاً للنمو الفطري بالمقارنة مع المجموعة السيطرة.

تأثير رش المجموع الخضري بالأحماض العضوية او راشح الفطر T. harzianum قبل التلقيح بالفطر *A.alternata* وبعده في تحفيز المقاومة في نبات الطماطة: صممت التجربة بغرض دراسة تأثير الأحماض العضوية أو راشح الفطر *T. Harzianum* كل على انفراد في إمراضيه الفطر *A.alternata* من خلال تحفيز مقاومة نبات الطماطة. زرعت بذور الطماطة المعقمة سطحيا باستخدام القاصر التجاري بالتركيز 6% في اصص بلاستيكية حاوية على خليط التربة والبيتموس بنسبة 1\2 معقمة، تركت بعدها النباتات لتنمو حتى عمر الورقة الرابعة، رش المجموع الخضري بالأحماض العضوية (البنزويك والسالسيلك وألأوكزاليك) وفق التراكيز المؤثرة وراشح *T.harzianum10* أيام، تضمنت التجربة رش النباتات بالأحماض العضوية او براشح الفطر *T. harzianum* قبل التلقيح بسبورات الفطر *A.alternata* تركيز 5× 10^3 بعد خدش الورقة المركبة الثانية لكل مكرر في كل المعاملات (اجراء وقائي) او بعده (اجراء علاجي) اذ تضمنت كل معاملة 18 اصيص وبواقع 3 اصص لكل تركيز اذ لقحت المجموعة الأولى بسبورات الفطر *A. alternata* بعد 24 ساعة من الرش بالأحماض العضوية او براشح الفطر *T. harzianum* في الأجراء الوقائي او التلقيح قبل الرش بمدة 24 ساعة وتكرر العملية مع مجموعة ثانية وبنفس الترتيب بعد 48 ساعة لمجموعة أخرى مكونة من 3 اصص وهكذا مع المجاميع الأخرى وصولا الى 6 رشات حسبت بعدها اعداد الأوراق المصابة ومساحة النخرات الناتجة ومن الجدير بالذكر ان معاملة السيطرة تضمنت معاملة النباتات بالطريقة نفسها باستخدام الرش بالماء المقطر.

النتائج والمناقشة

اختبار فاعلية راشح الفطر *T. harzianum* في تثبيط نمو الفطر *A.alternata* مختبريا ولمدد حضن مختلفة: تشير النتائج المعروضة في جدول 1 كفاءة فاعلية رواشح الفطر *T. harzianum* والتي جمعت على فواصل

زمنية بلغت 5 أو 10 أو15 و20 يوما في تثبيط نمو الفطر *A.alternata* في وسط PDA الى تفوق راشح الفطر بالعمر 10 أيام في الفاعلية وبقطر مستعمرة بلغ 21.67 ملم عن مواعيد جمع الرواشح 5 و15 و20 يوما والتي سجلت معدلات نمو لمستعمرات الفطر *A.alternata* بلغت 28.95 ملم و29.48 ملم و34.52 ملم على الترتيب مع غياب الفروق المعنوية بين ما سجلته كل من مدة 5 يوم و 15 يوما. كما تبين النتائج ان جميع مدد جمع الرواشح سجلت تثبيطا واضحا في نمو الفطر *A.alternata* وبشكل معنوي عما سجلته معاملة السيطرة من معدل اقطار مستعمرات بلغت 50 ملم كما اظهرت النتائج المعروضة في الجدول 1 تأثيرا ملحوظا في معدلات النمو الفطري الذي بلغ ألأكثر تأثيرا في اليوم الأول للراشح في جميع مراحلة العمرية مقارنة مع معاملة السيطرة مع زيادة التأثير حتى توقف النمو ضمن معدلات ثابتة خلال اليومين 6، 7 ولاسيما الراشح بعمر 5 و15 يوم وقد يعود هذا الى تحول نمو الغزل الفطري الى مرحلة النمو السبوري التي تلجأ اليها الفطريات عند عدم توفر الظروف الملائمة المتمثلة حاليا بوجود الانزيمات ونواتج الأيض (Metabolite) للفطر T. harzianum القابلة للانتشار والتي اطلقها في وسط البطاطا السائل PDB (7).

جدول 1 فحص تأثير راشح الفطر *T. harzianum* في نمو الفطر *A.alternata* وعلى مدد زمنية مختلفة.

المعاملة	مدة الحضن (يوم)							المعدل
عمر الراشح (يوم)	1	2	3	4	5	6	7	معدل عمر الراشح
5 يوم	14.00 A	24.67 C	27.00 Cde	29.67 ef	32.33 F	34.00 F	34.00 F	28.95 B
10 يوم	13.33 A	18.00 B	20.33 B	23.33 bc	24.33 C	25.67 Cd	26.33 Cde	21.67 A
15 يوم	14.33 a	27.67 Cde	30.67 Ef	31.67 F	32.67 f	33.33 F	33.33 F	29.48 B
20 يوم	13.67 A	29.00 Def	29.67 Ef	35.00 F	40.67 g	44.00 G	50.00 H	34.52 C
السيطرة فطر فقط	18.67 B	28.00 Cde	42.67 G	53.00 H	57.00 i	65.67 J	85.00k K	50.00 D
متوسطات الأيام	16.73 A	25.47 B	30.07 C	34.53 D	37.40 E	40.534 F	45.73 G	

الارقام تمثل متوسطات لثلاث مكررات (مقاسة بملمتر)

المتوسطات متشابهة الاحرف الصغيرة او تلك الكبيرة افقيا او عموديا لا تختلف عن بعضها معنويا وحسب اختبار LSD متعدد الحدود وعلى مستوى معنوية 0.05.

يتضح من النتائج ان الفاعلية التثبيطية للراشح بلغت اعلاها عند الراشح بعمر 10 ايام كما اظهرت انخفاض الفعالية التثبيطية عندما يكون عمر الراشح 20 يوم وقد يعزى سبب ذلك الى تفكك او تحلل المادة المثبطة والتي قد تكون كونت مع مفرزات الفطر *A.alternata* معقدات ضعيفة او غير مستقرة سرعان ما تتفكك وتتحول الى مركبات أقل تأثيرا (3). وقد تعزى الفعالية التثبيطية التي فرضتها رواشح الفطر *T.harzianum* ومقدرتها على الحد من نمو الغزل الفطري للفطر *A.alternata* الى احتواء هذه الرواشح على افرازات الأيض الثانوي التي يفرزها الفطر *T. harzianum* خارج الخلية.

اختبار القدرة التثبيطية لفطر *Trichoderma harzianum* لنمو الفطر *A.solani* في الاوساط المختبرية بطريقة الزراعة المزدوجة Dual Culture Method: تأثر نمو الفطر *A.alternata* بشكل سلبي مسجلا قطر

مستعمرة بلغ 24.81 ملم وبفارق معنوي عما سجله الفطر عند تنميته منفردا في الوسط (الجدول 2) بمعدل نمو مستعمرة بلغ 49.11 ملم، وقد تباينت الزيادة في اقطار المستعمرات للعزلة النامية في المزرعة المزدوجة للفطرين بالمقارنة مع نمو العزلة المنفردة للفطر *A.alternata* وتتصف بكونها منتظمة في اقطار النمو في حين تعاني العزلة في حالة الزراعة المزدوجة مع فطر *T. harzianum* زيادة متذبذبة من نمو تصاعدي يبدأ من اليوم الاول ويستمر بالتصاعد ليصل أقصاه في اليوم الخامس ليتوقف في اليوم السادس ثم تبدأ معدلات النمو بالانخفاض في اليوم السابع. وقد سجل اعلى معدل تثبيط في اليوم السابع بنسبة تثبيط 84.22% وهو ما يؤكد ان الفاعلية التثبيطية تتناسب طرديا مع مدة الحضن التي سجلت اعلى معدل عند 57.56 في اليوم السابع ايضا. وهناك العديد من الإشارات الى زيادة الفاعلية التثبيطية للفطر *T.harzianum* مع زيادة مدة الحضن (16). أن ما يلاحظ من نمو قليل في مستعمرات عزلة A.alternata المنماة في المزرعة المزدوجة يؤكد القدرة التثبيطية للفطر *T. harzianum* من خلال افرازه لمواد طيارة ومستقلبات قابلة للانتشار في البيئة ولاسيما في المدد الاولى من النمو اي خلال 48 ساعة الاولى (14).

جدول 2 النمو القطري للفطر A. alternata (ملم) والنسبة المئوية (%) لتثبيطه باستخدام الفطر T. harzianum.

المعاملة	مدة الحضن							المعدل
	1	2	3	4	5	6	7	
Alternaria	19.33 b	27.67 cd	40.33 d	51.33 ef	56.00 F	65.00 g	84.33 I	49.11 B
***Alt* *Tri* نمو**	16.67 ab	38.00 D	47.67 e	56.33 F	61.00 f	69.67 g	75.00 H	52.01 C
Alt* *Tri* نمو	16.00 ab	21.33 bc	26.00 b	31.67 cd	32.67 d	32.67 d	13.33 a	24.81 A
معدل الايام	17.33 A	29.00 B	38.00 C	46.44 D	49.89 E	55.78 F	57.56 F	
نسبة التثبيط (%)	17.09) (9.95	22.8 2 (13.25)	35.48 (20.76)	38.40 (22.52)	41.78 (24.71)	49.84 (29.84)	84.22 (57.33)	

الارقام تمثل متوسطات لثلاث مكررات (مقاسة بملمتر)

المتوسطات متشابهة الاحرف الصغيرة او تلك الكبيرة افقيا او عموديا لا تختلف عن بعضها معنويا وحسب اختبار LSD متعدد الحدود وعلى مستوى معنوية 0.05.

اختبار تأثير ثلاث أنواع من الأحماض العضوية بتراكيز مختلفة في نمو الفطر *A.alternata* في الاوساط المختبرية ولمدد زمنية مختلفة: توضح نتائج الجدول 3 ان اعلى تأثير للأحماض في نمو عزلة الفطر A.alternata قد سجلت عند المعاملة بالحامض بنزويك وبمعدل قطر مستعمرة بلغ 10.23 ملم يليه كل من السالسيلك والأوكزاليك بأقطار مستعمرات 14.73 ملم و17.89 ملم على الترتيب ,وبفروق معنوية عما ابدته معاملة السيطرة بقطر مستعمرة بلغ 51 ملم. كما تميزت فاعلية الاحماض بنمط ثابت من التأثير تميز بتصاعد الفاعلية بشكل طردي مع زيادة تراكيزها لتصل اعلى معدلاتها عند التركيزين 12 ملي مول و15 ملي مول مثبطة نمو الفطر بشكل كامل وبنسبة 100%. كما تصاعدت فاعلية الأحماض مع تقدم مدة الحضن لتصل أقصاها عند اليوم الرابع من الحضن ثم يبدأ معدل الزيادة في قطر المستعمرة بالتناقص والثبات في المدد 5 و6 و7 أيام.

أن الأليات المسؤولة عن سمية المركبات العضوية والفينولات للكائنات الحية الدقيقة في أساس تثبيط الانزيم بواسطة المركبات المؤكسدة حدثت ربما من خلال التفاعل مع البروتينات او مع مجموعات كيميائية غير محددة (6 و17).

تأثير رش المجموع الخضري لنبات الطماطة بالأحماض العضوية وراشح الفطر T.harzianum في أمراضية الفطر A.alternata: بينت نتائج تجارب رش المجموع الخضري لنبات الطماطة براشح الفطر *T.harzianum* ومحاليل الأحماض العضوية كل على انفراد وجود تناسبا طرديا للفعالية التثبيطية مع عدد الرشات المستلمة تمثلت باختفاء كلي لعدد البقع في جميع المعاملات عند الرشة الرابعة والخامسة (جدول 4). اما بخصوص تأثير علاقة موعد الرش قبل او بعد التلقيح بالفطر *A.alternata* بفاعلية الأحماض العضوية او راشح الفطر *T. harzianum*في تحفيز مقاومة النباتات الملقحة بالفطر الممرض وجود تباين فيما بين معاملة التلقيح بالفطر الممرض بعد الرش بالراشح *T. harzianum* او محاليل الأحماض كل على انفراد تمثل بتفوق معاملة النباتات بعد الرش على مثيلتها قبل الرش مع تسجيل تفوق واضح في تأثير الراشح *T. harzianum* على تأثير الأحماض العضوية وفي كلا موعدي الرش جدول 5، ان رش النباتات براشح الفطر *T.harzianum* قبل التلقيح بالفطر الممرض يعطي فعالية اكبر في الحد من انتشار الممرض (2) وهو ما يؤكد قدرة الراشح على تحفيز المقاومة في النبات بدلالة خفض عدد بقع الإصابة. أن انخفاض معدل مساحة البقع الناتجة من الاصابة بمرض التبقع الالترناري دليل على تحفيز مقاومة نبات الطماطة سواء رشت قبل التلقيح بالمعلق السبوري وهو ما اعطى تأثير أفضل في حالة التقليل من مساحة البقع أو بالرش بعد التلقيح والذي كان له ايضا الأثر الواضح بالمقارنة مع معاملة السيطرة، وهو ما يدل على حالة تحفيز المقاومة التي اكتسبتها النباتات ضد المسبب المرضي (جدول 6). ان تفوق *T. harzianum* في المعالجة الفعالة للسيطرة على المرض قد تعود الى عدد من البروتينات ذات الوظائف الأنزيمية أو بروتينات متجانسة مشفرة بواسطة جينات Avirulence (AVr) وoligosaccharides (8). أما فيما يخص الأحماض العضوية البنزويك والسالسيلك والاوكزاليك والتي لها المقدرة على أرسال أشاره داخلية تتم بوساطة المقاومة المستحثة في الورقة المصابة وتنتقل الى أجزاء نباتية اخرى، إذ تقوم بتنشيط المقاومة (17).

جدول 3 اختبار تأثير ثلاث أنواع من الأحماض العضوية بتراكيز مختلفة في نمو الفطر *A.alternata* في الاوساط المختبرية ولمدد زمنية مختلفة بدلالة قياس قطر المستعمرات ب (ملم).

الحوامض	التراكيز (ملل مول)	الزمن (يوم)							معدل تراكيز الأحماض	متوسطات الحوامض
		1	2	3	4	5	6	7		
البنزويك	3	11.00 e	17.67 h	29.00 N	31.33 O	36.00 Q	39.00 r	44.33 T	29.76 F	10.238 A
	6	3.00 b	6.00 C	14.33 G	19.33 I	29.67 no	34.33 pq	43.33 st	21.42 E	
	9	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	

	A	A	a	A	A	A	A	A	
	0.00 A	0.00 A	0.00 a	0.00 A	0.00 A	0.00 A	0.00 A	0.00 A	12
	0.00 A	0.00 A	0.00 a	0.00 A	0.00 A	0.00 A	0.00 A	0.00 A	15
	27.81 E	47.00 U	36.67 q	32.00 op	25.67 l	23.00 k	17.33 h	13.00 f	3
	25.28 D	39.00 R	32.33 op	29.00 N	25.67 L	21.67 J	17.33 h	12.00 f	6
14.733 B	20.57 B	28.67 mn	28.67 mn	30.33 no	25.00 L	17.67 H	14.00 g	8.67 d	9
	0.00 A	0.00 A	0.00 a	0.00 a	0.00 A	0.00 A	0.00 a	0.00 A	12
	0.00 A	0.00 A	0.00 a	0.00 a	0.00 A	0.00 A	0.00 A	0.00 A	15
	37.33 G	48.33 U	47.67 u	45.67 tu	42.00 S	37.33 qr	27.00 m	13.33 fg	3
	27.23 E	36.33 Q	36.00 q	33.00 op	30.33 no	25.00 l	17.67 h	12.33 f	6
17.895 C	24.85 D	33.33 P	32.00 op	30.00 no	26.00 lm	22.67 jk	16.33 h	13.67 fg	9
	0.00 A	0.00 A	0.00 a	0.00 a	0.00 A	0.00 A	0.00 a	0.00 a	12
	0.00 A	0.00 A	0.00 a	0.00 a	0.00 A	0.00 A	0.00 a	0.00 a	15
51 D		85.33 Y	71.33 x	56.67 w	53.67 v	43.00 st	28.00 m	19.00 i	السيطرة (بدون إضافة PDA
		21.356 G	19.11 F	17.311 E	14.822 D	12.711 C	8.889 B	5.80 A	معدل الزمن

	A	A	a	A	A	A	A	A	
	0.00 A	0.00 A	0.00 a	0.00 A	0.00 A	0.00 A	0.00 A	0.00 A	12
	0.00 A	0.00 A	0.00 a	0.00 A	0.00 A	0.00 A	0.00 A	0.00 A	15
	27.81 E	47.00 U	36.67 q	32.00 op	25.67 l	23.00 k	17.33 h	13.00 f	3
	25.28 D	39.00 R	32.33 op	29.00 N	25.67 L	21.67 J	17.33 h	12.00 f	6
14.733 B	20.57 B	28.67 mn	28.67 mn	30.33 no	25.00 L	17.67 H	14.00 g	8.67 d	9
	0.00 A	0.00 A	0.00 a	0.00 a	0.00 A	0.00 A	0.00 a	0.00 A	12
	0.00 A	0.00 A	0.00 a	0.00 a	0.00 A	0.00 A	0.00 A	0.00 A	15
	37.33 G	48.33 U	47.67 u	45.67 tu	42.00 S	37.33 qr	27.00 m	13.33 fg	3
	27.23 E	36.33 Q	36.00 q	33.00 op	30.33 no	25.00 l	17.67 h	12.33 f	6
17.895 C	24.85 D	33.33 P	32.00 op	30.00 no	26.00 lm	22.67 jk	16.33 h	13.67 fg	9
	0.00 A	0.00 A	0.00 a	0.00 a	0.00 A	0.00 A	0.00 a	0.00 a	12
	0.00 A	0.00 A	0.00 a	0.00 a	0.00 A	0.00 A	0.00 a	0.00 a	15
51 D		85.33 Y	71.33 x	56.67 w	53.67 v	43.00 st	28.00 m	19.00 i	السيطرة (بدون إضافة PDA
		21.356 G	19.11 F	17.311 E	14.822 D	12.711 C	8.889 B	5.80 A	معدل الزمن

الارقام تمثل متوسطات لثلاث مكررات (مقاسة بملمتر)

المتوسطات متشابهة الاحرف الصغيرة او تلك الكبيرة افقيا او عموديا لا تختلف عن بعضها معنويا وحسب اختبار LSD متعدد الحدود وعلى مستوى معنوية 0.05.

جدول 4 تأثير رش المجموع الخضري لنبات الطماطة بالأحماض العضوية وراشح الفطر *T.harzianum* في أمراضية الفطر *A.alternata* بدلالة عدد البقع الناتجة.

ألمعاملات		عدد الرشات 1	2	3	4	5	6	معدل موعد الرشات	متوسطات المعاملات
البنزويك	بعد الرش	1.67 bc	1.33 bc	1.00 b	0.00 a	0.00 a	0.00 a	0.67 B	0.96 B
	قبل الرش	2.67 cd	2.33 cd	1.67 bc	1.00 b	0.00 a	0.00 a	1.28 E	
السالسيك	بعد الرش	2.33 cd	1.67 bc	1.33 bc	0.00 a	0.00 a	0.00 a	0.89 C	1.00 B
	قبل الرش	2.33 cd	1.67 bc	1.67 bc	1.00 b	0.00 a	0.00 a	1.11 D	
اوكزاليك	بعد الرش	2.67 cd	1.67 bc	1.33 bc	1.00 b	0.00 a	0.00 A	1.11 D	1.27 C
	قبل الرش	2.67 cd	2.33 cd	2.00 c	1.67 bc	0.00 a	0.00 a	1.44 F	
Trichoderma spp	بعد الرش	1.67 bc	1.33 bc	0.00 a	0.00 a	0.00 a	0.00 a	0.50 A	0.50 A
	قبل الرش	1.67 bc	1.33 bc	0.00 a	0.00 a	0.00 a	0.00 a	0.50 A	
السيطرة	بعد الرش	3.33 d	2.67 cd	3.00 d	3.00 d	3.33 d	2.67 cd	3.00 G	3.14 D
	قبل الرش	4.33 d	3.33 d	3.33 d	3.00 d	3.00 d	2.67 cd	3.28 H	
معدل عدد الرشات		2. 53 F	1.96 E	1.53 C	1.06 B	0.63 A	0.53 A		

الارقام تمثل متوسطات لثلاث مكررات (مقاسة بملمتر)

المتوسطات متشابهة الاحرف الصغيرة او تلك الكبيرة افقيا او عموديا لا تختلف عن بعضها معنويا وحسب اختبار LSD متعدد الحدود وعلى مستوى معنوية 0.05.

جدول 5 تأثير موعد الرش بالأحماض العضوية وراشح الفطر *T.harzianum* في أمراضية الفطر *A.alternata* بدلالة عدد النخرات الناتجة على أوراق الطماطة.

موعد الرش	عدد الرشات 1	2	3	4	5	6	المعدل
عدد النخرات الرش قبل التلقيح	**2.33 d**	**1.73 c**	**1.33 b**	**0.80 a**	**0.67 a**	**0.53 a**	1.23 A
عدد النخرات الرش بعد التلقيح	**2.73 e**	**2.20 d**	**1.73 c**	**1.33 b**	**0.60 a**	**0.53 a**	1.52 B
المعدل	2.53 E	1.965 D	1.53 C	1.065 B	0.635 A	0.53 A	

الارقام تمثل متوسطات لثلاث مكررات (مقاسة بملمتر)

المتوسطات متشابهة الاحرف الصغيرة او تلك الكبيرة افقيا او عموديا لا تختلف عن بعضها معنويا وحسب اختبار LSD متعدد الحدود وعلى مستوى معنوية 0.05.

جدول 6 تأثير الحوامض العضوية وراشح *T.harzianum* في مساحة التبقع في اوراق نبات الطماطة قبل وبعد التلقيح بالفطر الممرض *A.alternata*.

المعاملات		عدد الرشات 1	2	3	4	5	6	معدل موعد الرشات	متوسط المعاملات
البنزويك	بعد الرش	6.00 cd	5.00 cd	2.33 b	0.00 a	0.00 a	0.00 a	2.22 AB	2.47 B
	قبل الرش	6.33 cd	5.00 cd	4.67 c	0.00 a	0.00 a	0.00 a	2.72 B	
السالسيلك	بعد الرش	7.67 d	5.00 cd	2.33 b	0.00 a	0.00 a	0.00 a	3.00 B	2.61 B
	قبل الرش	4.67 bc	3.33 bc	3.00 bc	0.00 a	0.00 a	0.00 a	2.22 AB	
أوكزاليك	بعد الرش	7.67 d	4.00 bc	3.00 bc	2.33 b	0.00 a	0.00 a	2.89 B	3.17 C
	قبل الرش	8.00	5.33 cd	3.67 bc	3.33 bc	0.00 a	0.00 a	3.44 B	
T.harzianum	بعد الرش	4.00 bc	2.33 b	0.00 a	0.00 a	0.00 a	0.00 a	1.06 A	1.00 A
	قبل الرش	3.00 bc	2.67 bc	0.00 a	0.00 a	0.00 a	0.00 a	0.94 A	
السيطرة	بعد الرش	6.67 cd	8.00 d	8.00 d	8.33 d	7.67 d	6.33 cd	7.50 C	7.69 D
	قبل الرش	11.33 e	7.67 d	10.00 e	6.00 cd	7.00 d	5.33 cd	7.89 C	
معدل عدد الرشات		6.53 E	4.80 D	3.93 C	2.43 B	1.47 A	1.17 A		

الارقام تمثل متوسطات لثلاث مكررات (مقاسة بملمتر)

المتوسطات متشابهة الاحرف الصغيرة او تلك الكبيرة افقيا او عموديا لا تختلف عن بعضها معنويا وحسب اختبار LSD متعدد الحدود وعلى مستوى معنوية 0.05.

المصادر

1. Abdullah, Z. K., A. Al-Duboon., B. A. Abbas., and T. M. Muhsin. (2013). A study on the Enzymatic Activity of some Alternaria Species and the Effect of some Environmental Factors in their Radial Growth. Basrah Journal of Agricultural Sciences, 26(1): 263-274.
2. Alka., R. K. Patil., and B. K. Prajapati. (2017). Effect of *Trichoderma* Spp. and its culture filtrate antagonists on growth and management of *Rhizopus* rot of tomato fruit in vitro and in vivo. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, 6(4): 394-398.
3. Al-Saeedi, S. S. S. (2004). Stimulating resistannce in the tomato plant *Lycopersicon escculentum* Mill against infection with the Tomato Msaic Virus by plant extracts. PhD thesis. College of Science. Al-Mustansiriya University.
4. Báez-Flores, M. E., Troncoso-Rojas, R., Osuna, M. A. I., Domínguez, M. R., Pryor, B., and Tiznado-Hernández, M. E. (2011). Differentially expressed cDNAs in Alternaria alternata treated with 2-propenyl isothiocyanate. Microbiological research, 166(7): 566-577.
5. Choudhary, D. K., Prakash, A., and Johri, B. N. (2007). Induced systemic resistance (ISR) in plants: mechanism of action. Indian Journal of Microbiology, 47(4): 289-297.
6. Christie, T. (1965). The effects of some phenolic compounds upon the growth of two species of Phytophthora. New Zealand Journal of Agricultural Research, 8(3): 630-635.
7. El-Katatny, M. H., and Emam, A. S. (2012). Control of postharvest tomato rot by spore suspension and antifungal metabolites of Trichoderma harzianum. Journal of microbiology, biotechnology and food sciences, 1(6): 1505-1528.
8. Harman, G. E., Howell, C. R., Viterbo, A., Chet, I., and Lorito, M. (2004). Trichoderma species opportunistic, avirulent plant symbionts. Nature reviews microbiology, 2(1): 43-56.
9. Jayalakshmi., S. K., Raju, S., Usha, R. S., Benagi, V., and Sreeramulu, K. (2009). Trichoderma harzianum L1 as a potential source for lytic enzymes and elicitor of defense responses in chickpea (Cicer arietinum L.) against wilt disease caused by Fusarium oxysporum f. sp. ciceri., Australian Journal of Crop Science, 3(1):44-52.
10. Johnston, A., and Booth, C. (1983). Plant pathologist's pocketbook. Commonwelth Mycological Institute. 2nd. ed. Pp. 439.
11. Kakraliya, S. S. Choskit, D. Pandit, D., and Abro, S. (2017). Effect of Bio-Agents, Neem Leaf Extract and Fungicides Against Alternaria Leaf Blight of Wheat (Triticum aestivum L.). Natural Products Chemistry and Research, 5: 295.
12. Kayim, M., Yones. A. M., and Endes, A. (2018). Biocontrol of Alternaria alternata causing leaf spot disease on faba bean (Vicia faba L.) using some Trichoderma harzianum ısolates under in vitro condition, Research Article, Araştırma Makalesi, 22(2): 169-178.
13. Kumar, T. R., and Praveen, K. M. (2019). Survey and Screening of Tomato Varieties against Early Blight (Alternaria solani) Under Field Condition, International journal of pure and applied bioscience, 7 (2): 629-635.

14. Leal, Y. D., Pozo-Martínez L., and Martínez-Coca, B. (2018). In vitro antagonism of Trichoderma asperellum Samuels, Lieckfeldt and Nirenberg, against Fusarium spp. Isolates. Revista de Protección Vegetal, 33(1).
15. Mamgain, A., Roychowdhury, R., and Tah, J. (2013). Alternaria pathogenicity and its strategic controls. Research Journal of Biology, 1: 1-9.
16. Otadoh, J. A., Okoth, S. A., Ochanda, J., and Kahindi, J. P. (2011). Assessment of Trichoderma isolates for virulence efficacy on Fusarium oxysporum f. sp. phaseoli. Tropical and subtropical agroecosystems, 13(1): 99-107.
17. Shabana, Y. M., Abdel-Fattah, G. M., Ismail, A. E., and Rashad, Y. M. (2008). Control of brown spot pathogen of rice (Bipolaris oryzae) using some phenolic antioxidants. Brazilian Journal of Microbiology, 39: 438-444.
18. Thomma, B. P. (2003). Alternaria spp.: from general saprophyte to specific parasite. Molecular plant pathology, 4(4): 225-236.
19. Vinale, F., Sivasithamparam, K., Ghisalberti, E. L., Marra, R., Woo, S. L., and Lorito, M. (2008). Trichoderma–plant–pathogen interactions. Soil Biology and Biochemistry, 40(1): 1-10.