المكافحة الإحيائية لمرض التعفن الفحمي على نبات زهرة الشمس المتسبب عن الفطر *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid

محمد عامر فياض هيفاء جاسم التميمي ليلى عبد الرحيم بنيان
كليـة الزراعـة/ جامعـة البصـرة
E-mail: m-a-fayadh@yahoo.com

الخلاصة

أجريت هذه الدراسة في حقول ومختبرات كلية الزراعة/جامعة البصرة للفترة من 2004-2006 بهدف دراسة تأثير بعض العوامل الاحيائية في مكافحة الفطر *Macrophomina phaseolina* المسبب لمرض التعفن الفحمي لزهرة الشمس. أظهرت نتائج هذه الدراسة تفوق العزلتين T_q و T_B للفطر *Trichoderma harzianum* (المعزولتين من القرنة والبرجسية) في تثبيط نمو الفطر *M.phaseolina* مقارنة بالعزلات الاخرى اذ بلغت منطقة التثبيط (C) 2.3 و2 سم مقارنة بـ 1.94 و 1.5سم للعزلتين T_M و T_A (المعزولتين من مطيحة وعويسيان). واظهرت النتائج ان نوع البكتريا*Pseudomons fluorescens* ثبط نمو الفطر *M.phaseolina* بنسبة 100% مقارنة بـ 65.3% لجنس البكتريا *Bacillus cereus*.

وفي التجربة الحقلية سجلت اقل نسبة وشدة اصابة في المعاملة المشتركة بين الفطر *T.harzianum* + البكتريا *P.fluorescens* بلغت 39.2 و 34.16% على التوالي وجاءت بعدها معاملة الفطر *T.harzianum* ومعاملة البكتريا *P.fluorescens* كلاً على انفراد اذ بلغت نسبة وشدة الاصابة 57.91 و41.66% و52.38 و39.16% على التوالي، وانعكس التأثير الايجابي للعوامل الإحيائية في معظم مؤشرات الحاصل المدروسة كمعدل حاصل النبات وقطر القرص وعدد البذور في القرص والنسبة المئوية للبذور الفارغة ووزن 100بذرة.

*** البحث جزء من رسالة دكتوراه للباحث الثالث**

يعد نبات زهرة الشمس .*Helianthus annuus* L من النباتات الاقتصادية المهمة في العالم والعراق يزرع المحصول بصورة رئيسية للحصول على بذوره التي تستخدم لاستخراج الزيت في كثير من دول العالم كالولايات المتحدة والأرجنتين وأوكرانيا وغيرها كما أن له استخدامات أخرى كصناعة الصابون والطب الشعبي والاستهلاك المباشر من قبل الإنسان (11). يصاب نبات زهرة الشمس بالعديد من الآفات الحشرية والمرضية ويعد مرض التعفن الفحمي Charcoal rot المتسبب عن الفطر Goid (Tassi) *Macrophomina phaseolina* من أهم العوامل المحددة لزراعة هذا المحصول (22).استخدمت وسائل متعددة للسيطرة على مرض التعفن الفحمي كالدورات الزراعية والبسترة الشمسية والمبيدات الكيمياوية إلا إنها لم تكن فعالة في معظم الأحيان بسبب المدى العائلي الواسع للفطر المسبب الذي يصل الى اكثر من 500 نوع نباتي (20) والى قابلية الفطر العالية على البقاء في التربة بهيئة أجسام حجرية لفترات طويلة تصل أكثر من ثلاث سنوات (8 ، 4) كما إن الإصابة بهذا الفطر تحدث في وقت مبكر من عمر النبات إلا إن الأعراض لا تظهر إلا في وقت نضج المحصول (14، 18). وفي ضوء العوامل المحددة لاستعمال المبيدات الكيمياوية خاصة تلك المتعلقة بالتلوث البيئي والتأثير على صحة الإنسان والإخلال في التوازن الطبيعي برزت المكافحة الاحيائية كحل عملي وأمين لمكافحة أمراض النبات خاصة تلك المستوطنة في التربة. وتحتل أنواع الجنس *Trichoderma* والبكتريا *Pseudomonas fluorescens* مكانة متميزة في المكافحة الاحيائية لما تمتلكه من خواص كالتنافس والتضاد والتطفل وتحفيز المقاومة الجهازية (15،

13). ونظراً لكون محصول زهرة الشمس من المحاصيل الاستراتيجية في العراق ولكون مرض التعفن الفحمي من العوامل المحددة لزراعة هذا المحصول فقد جاء هذا البحث بهدف تقييم كفاءة عزلات مختلفة من الفطر *Trichoderma harzianum* ونوعين من البكتريا *P.fluorescens* و *Bacillus cereus* في تثبيط نمو الفطر *M.phaseolina* مختبرياً وفي مكافحة مرض التعفن الفحمي حقلياً.

طرائق العمل والمواد المستخدمة

1- عزل وتشخيص الفطر *Macrophomina phaseolina*

عزل الفطر *M.phaseolina* من نباتات زهرة الشمس مزروعة في حقول كلية الزراعة/جامعة البصرة، ظهرت عليها أعراض الإصابة بمرض التعفن الفحمي والمتمثلة بجفاف النبات وتلون قاعدة الساق بلون بني داكن مع تقشر قاعدة الساق ووجود الأجسام الحجرية السوداء منتشرة في قشرة ولب النبات. قطعت الاجزاء المصابة الى قطع صغيرة بطول 0.5-1سم وغسلت بماء جاري ثم عقمت بمحلول هايبوكلورات الصوديوم NaOCl تركيز 10% من المستحضر التجاري لمدة 2-3 دقائق ثم غسلت بماء مقطر معقم وجففت على ورق ترشيح معقم . ثم زرعت بمعدل 5 قطع نباتية في كل طبق بتري حاوي على وسط غذائي P.D.A معقم ومضاف اليه المضاد الحياتي Chloramphincol بتركيز 250 ملغم/لتر. حضنت الأطباق على درجة حرارة 27 ± 2مْ لمدة خمسة أيام ثم نقيت عزلات الفطر النامية بنقل طرف من الخيط الفطري لمستعمرة الفطر الى اطباق حاوية على وسط PDA وحضنت لمدة خمسة أيام عند درجة حرارة 27 ± 2مْ . بعدها شخص الفطر اعتماداً على الصفات التصنيفية التي اوردها Sinclair (19).

2- تحضير لقاح الفطر *M.phaseolina*

اتبعت طريقة Abawi و Pastor-Corrales (1) المحورة وذلك باستخدام بذور الدخن *Panicum miliaceum* بدلاً من بذور الرز في تحضير لقاح الفطر. غسلت بذور الدخن ونقعت لمدة 6 ساعات في ماء مقطر ثم جففت على ورق ترشيح لازالة الماء الزائد بعد ذلك نقلت البذور إلى دوارق زجاجية سعة 100 مل بواقع 50غرام بذور لكل دورق عقمت البذور بجهاز التعقيم البخاري Autoclave على درجة حرارة 121مْ وضغط 15 باوند/انج^2 لمدة ساعة واحدة بعد التعقيم ووصول درجة حرارة الدوارق الى درجة مناسبة لقح كل دورق بالفطر *M.phaseolina* بواقع خمسة أقراص قطر 0.5 سم لكل دورق، أخذت من حافة مزرعة فطرية حديثة بعمر 72 ساعة باستخدام ثاقب فليني معقم.

حضنت الدوارق لمدة 15 يوماً على درجة حرارة 27 ± 2مْ الى إن أصبحت جميع البذور مغطاة بشكل كامل بالأجسام الحجرية للفطر.

3- عزل عوامل المكافحة الإحيائية

بهدف الحصول على عزلات مختلفة من الفطر *T.harzianum* جلبت عينات تربة زراعية من مناطق مختلفة من محافظة البصرة هي مطيحة وعويسيان والبرجسية والقرنة جلبت العينات من منطقة الجذور Rhizosphere للنباتات الزراعية في تلك المناطق. خلطت العينات جيداً وجففت على

درجة حرارة المختبر ثم مررت من خلال منخل سعة فتحاته 2 ملم، واستخدمت طريقة التخافيف dilution plat لعزل الفطر *T.harzianum* وشخص الفطر اعتماداً على Rifai (17) واعطيت كل عزلة رمز يدل على اسم المنطقة التي عزل منها الفطر. اما بالنسبة للبكتريا *Pseudomonas fluorescens* و *Bacillus cereus* فقد تم الحصول عليها من مختبرات قسم علوم الحياة/كلية العلوم/جامعة الكوفة، نميت البكتريا *P.fluorescens* على وسط Kings Medium Broth (KB) ونميت البكتريا *B.cereus* على وسط Nutrient Broth واستخدمت طريقة Clark (6) في حساب التركيز الفعال من كل بكتريا في تثبيط نمو الفطر الممرض.

4- اختبار كفاءة عزلات مختلفة من الفطر *T.harzianum* في تثبيط نمو الفطر *M.phaseolina*

اعتمدت طريقة Aghighi وآخرون (2) في اختبار الكفاءة التضادية للفطر *T.harzianum* ضد الفطر الممرض *M.phaseolina* اذ قسم طبق بتري قطر 9سم حاوٍ على وسط غذائي P.D.A معقم الى أربعة أقسام متساوية لقح مركز كل طبق بقرص 0.5 سم من مستعمرة الفطر *M.phaseolina* بعمر 72 ساعة، ثم نقل الى كل طبق اربعة قطع بقطر 0.5 سم من كل عزلة من عزلات الفطر *T.harzianum* وضعت القطع على مسافة 3سم من مركز الطبق، تضمنت معاملة المقارنة تلقيح مركز الطبق بقرص من مستعمرة الفطر *M.phaseolina* . نفذت التجربة في ثلاث مكررات لكل عزلة حضنت الاطباق في درجة حرارة 25 ± 2مْ لمدة 7 أيام. وتم تحديد القدرة التضادية لعزلات الفطر الاحيائي وذلك بطرح مسافة نمو الفطر الممرض من جهة التضاد المباشر مع الفطر الاحيائي من المسافة الكلية بين الفطرين وفق المعادلة التالية:

$$C = A - B$$

حيث:

C = منطقة التثبيط .

A = المسافة الكلية بين الفطرين (3سم) .

B = مسافة نمو الفطر الممرض من جهة التضاد مع الفطر الاحيائي وصنفت القدرة التضادية الى ثلاث فئات كما يلي:

1- يعد الفطر الاحيائي ذو قدرة تضادية عالية إذ كانت قيمه $C \geq 2$ سم ويرمز له (+++).
2- يعد الفطر الاحيائي ذو قدرة تضاد متوسطة إذا كانت C من 1- 1.9 سم ويرمز له (++).
3- يعد الفطر الاحيائي ذا قدرة تضادية ضعيفة للفطر الممرض إذا كانت قيمة $C \geq 0.9$ سم ويرمز له (+).

واختيرت العزلة الاكثر تثبيطاً في الدراسة اللاحقة.

5- اختبار كفاءة البكتريا *P.fluorescens* والبكتريا *B.cereus* في تثبيط الفطر *M.phaseolina*

استخدمت البكتريا *P.fluorescens* بتركيز 4×10^8 خلية/مل والبكتريا *B.cereus* بتركيز 4×10^5 خلية/مل.

أضيف 1مل من معلق كل بكتريا والنامية بعمر 48 ساعة الى أطباق بتري معقمة ثم صب فوقها 20مل من وسط الـ PDA حركت الاطباق حركة رحوية لضمان خلط البكتريا مع الوسط مع ترك معاملة دون اضافة لقاح بكتري كمعاملة مقارنة حضنت الأطباق في درجة حرارة 27 ± 1مْ لمدة 48 ساعة ثم لقح مركز كل طبق بقرص 0.5 سم من مستعمرة الفطر الممرض النامية بعمر 4 أيام ، حضنت جميع الاطباق في نفس درجة الحرارة لمدة 5 أيام حسب معدل النمو الشعاعي للفطر

في جميع الاطباق بأخذ معدل قطرين متعامدين يمران بمركز الطبق وحسب مقدار التثبيط في النمو وفق المعادلة.

معدل قطر مستعمرة الفطر في المقارنة – معدل قطر مستعمرة الفطر في المعاملة

% للتثبيط في النمو = × 100

معدل قطر مستعمرة الفطر في المقارنة

6- تقييم كفاءة عناصر المكافحة الإحيائية في حماية نبات زهرة الشمس من الإصابة بالفطر *M.phaseolina*

قسمت ارض التجربة الى ألواح 2 × 2م بعد حراثتها وتنعيمها بشكل جيد بعد ذلك لوثت التربة بلقاح الفطر الممرض المنمى على بذور الدخن وبمعدل 2 غرام/م طول. زرعت التربة ببذور زهرة الشمس صنف أقمار بمعدل 5 بذور/جورة واربعة خطوط لكل لوح نفذت التجربة وفق تصميم القطاعات العشوائية بثلاث مكررات وتضمنت المعاملات التالية:

1- تربة ملوثة ببذور الدخن المعقمة فقط (شاهد).
2- تربة ملوثة بالفطر الممرض *M.phaseolina*.
3- تربة معاملة بالبكتريا *P.fluorescens*.
4- تربة معاملة بالفطر الاحيائي *T.harzianum*.
5- تربة ملوثة بالفطر *M.phaseolina* + البكتريا *P.fluorescens* .
6- تربة ملوثة بالفطر *T.harzianum* + *M.phaseolina*.
7- تربة ملوثة بالفطر *T.harzianum* + *M.phaseolina* + البكتريا *P.fluorescens*.

وبعد اسبوعين من الزراعة حسبت % للانبات ثم خفت النباتات الى نبات واحد لكل جورة وبعد وصول النباتات الى مرحلة التزهير أخذت القياسات المطلوبة التالية: الفترة اللازمة لتزهير 50% من النبات % للإصابة وشدتها وارتفاع النبات، وقطر القرص وعدد البذور في القرص و% للبذور الفارغة ووزن 100 بذرة وحاصل النبات/غم.

النتائج والمناقشة

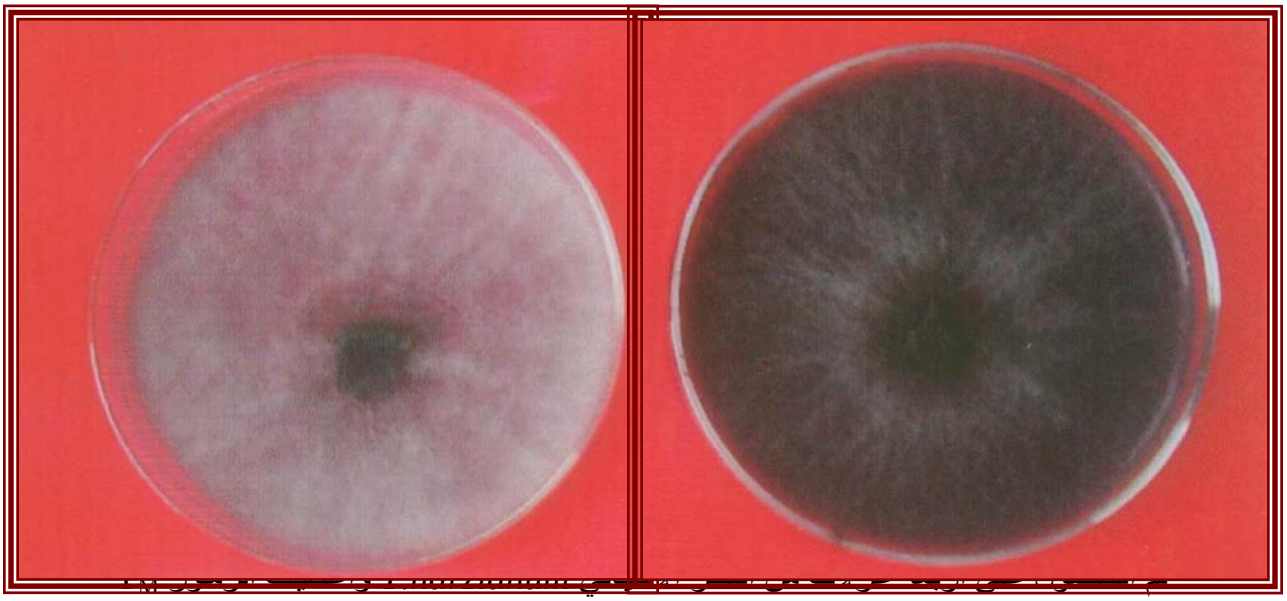
1- عزل الفطر الممرض *M.phaseolina* واختبار قدرته الامراضية

تم الحصول على عزلتين من الفطر *M.phaseolina* من نباتات زهرة الشمس مصابة بمرض التعفن الفحمي، تميزت العزلة (1) بلون رمادي مبيض في حين تميزت العزلة (2) بلون اسود داكن (صورة 1). واظهرت نتائج اختبار القدرة الامراضية ان العزلة (1) كانت أكثر اختزالاً للنسبة المئوية لإنبات البذور (جدول 1) إذ بلغت 46.66% مقارنة بـ 63.33% للعزلة (2) في حين بلغت النسبة المئوية لإنبات البذور في معاملة الشاهد 83.33% كما أظهرت النتائج وجود اختلافات معنوية بين معاملة الشاهد والعزلتين 1 و 2 في النسبة المئوية لموت البادرات بعد الإنبات إلا إن الفروقات لم تكن معنوية بين عزلتي الفطر 1 و 2 اذ بلغت النسبة المئوية لموت البادرات 63.82 و 59.36% على التوالي. وتتفق هذه النتائج مع دراسات سابقة اشير فيها الى اختلاف القدرة الامراضية لعزلات الفطر *M.phaseolina* المعزولة من مناطق مختلفة من البرازيل (8) كما وجد ان عزلات هذا الفطر المعزولة من عائل نباتي معين مثل فول الصويا تميل الى اصابة هذا العائل بشكل اكبر من اصابة غيرة على الرغم من المدى العائلي الواسع لهذا الفطر (16، 7، 22).

جدول (1): تاثير عزلات الفطر *M.phaseolina* في النسبة المئوية لانبات البذور وموت البادرات

عزلات الفطر *M.phaseolina*	% للانبات	لموت البادرات

العزلة (1)	46.66	63.88
العزلة (2)	63.33	59.36
المقارنة	83.33	0
المعدل	63.33	41.08
R.L.S.D عند مستوى احتمال 5%	10.16	11.33



صورة (1): عزلات الفطر الممرض *M.phaseolina*

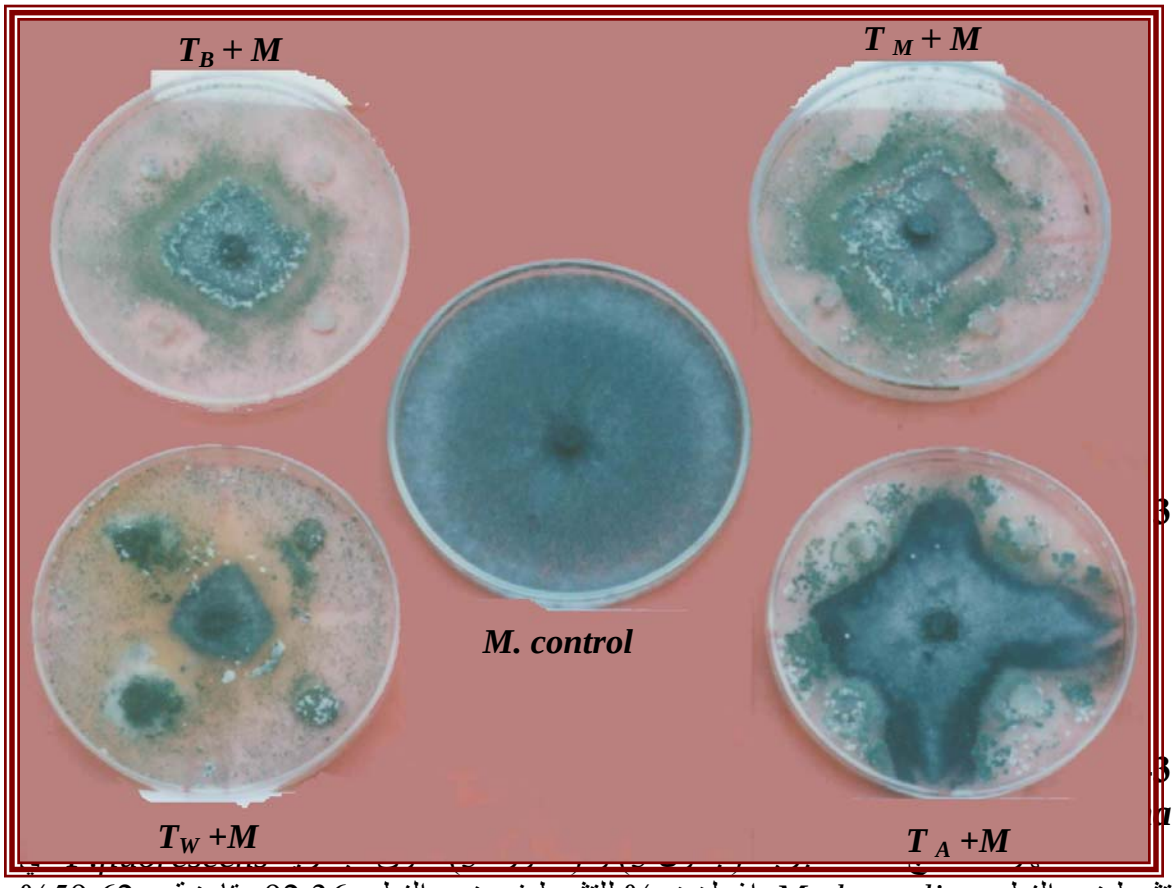
و T_A و T_B و T_q للدلالة على الحرف الاول من المنطقة التي عزل منها الفطر وهي مطيحة Meteha وعويسيان Awisyan والبرجسية Al-Brjsia والقرنة Qurna على التوالي وعند اختبار الكفاءة التضادية لهذه العزلات ضد الفطر الممرض *M.phaseolina* حققت العزلتان T_B و T_q قدرة تضادية عالية تجاه الفطر الممرض اذ بلغ قطر منطقة التثبيط (C) 2.3 و 2سم على التوالي بينما حققت العزلتان T_M و T_A قدرة تضادية متوسطة بلغت 1.94 و 1.5 سم على التوالي (جدول 2) (صورة 2) وتتفق هذه النتيجة مع ما توصل اليه العديد من الباحثين اذ بين Bell وآخرون (5) عند اختبارهم للكفاءة التضادية لـ 77 عزلة من الفطر *T.harzianum* تجاه 6 فطريات ممرضة وجود اختلافات واضحة في القدرة التضادية للعزلات اتجاه الفطريات الممرضة وفي دراسة اخرى وجد ان بعض عزلات الفطر *T.harzianum* تختلف في قابليتها على افراز المضاد الحياتي pyrones مما سبب اختلاف في كفاءتها التضادية تجاه الفطر *Gaemannomyces graminis* كما وجد ان بعض عزلات الفطر *T.harzianum* تتفاوت في انتاجها لانزيمات Chitinase و β-1,3 glucanase (9).

جدول (2): الكفاءة التضادية للفطر الإحيائي *T.harzianum* ضد الفطر الممرض *M.phaseolina*

رمز العزلة	منطقة التثبيط (c) (سم)	القدرة التضادية
T_q + M	2.3	+++
T_B + M	2	+++

T_A + M	1.5	++
T_M + M	1.9	++
R.L.S.D عند مستوى احتمال 0.01	0.5	

M = *M.phaseolina*
Tc = *T.harzianum* Qurna isolate
T_B = *T.harzianum* Albrjsia isolate
T_A = *T.harzianum* Awisyan isolate
T_M = *T.harzianum* Muteha isolate



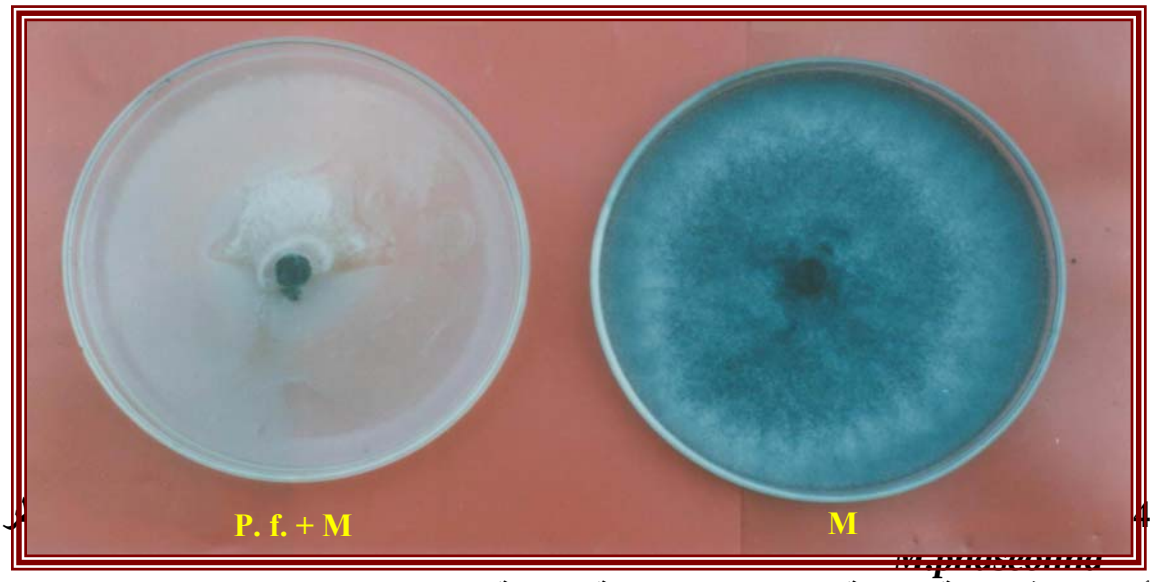
صورة (2): الكفاءة التضادية لعزلات الفطر الاحيائي *T.harzianum* ضد الفطر الممرض *M.phaseolina* (T_A، T_W، T_M، T_B)

تثبيط نمو الفطر *M.phaseolina* اذ بلغت % التثبيط في نمو الفطر 92.36 مقارنة بـ 59.62% لكليهما على التوالي. وتتفق هذه النتائج مع العديد من الدراسات والتي اشير فيها الى كفاءة البكتريا *P.fluorescens* في تثبيط نمو العديد من الفطريات الممرضة للنبات ومنها الفطر

M.phaseolina وقد أعزي ذلك الى كفاءة هذه البكتريا في انتاج العديد من المركبات المضادة للحياة مثل Pyoluteorin ومركبات Siderophore و HCN (15، 21، 23).

جدول (3): تأثير البكتريا *P.fluorescens* والبكتريا *B.cereus* في تثبيط النمو القطري للفطر الممرض باستخدام طريقة الخلط

المعاملات	معدل النمو القطري للفطر الممرض	% للتثبيط % of
المقارنه M	9	
PF + M	0.68	92.36
B+M	3.6	59.62
R.L.S.D = 0.01	0.26	



صورة (4): تأثير البكتريا *P.fluorescens* في تثبيط النمو القطري للفطر الممرض في الوسط الزرعي P.D.A باستخدام طريقة الخلط

أ- التاثير في نسبة المئوية للانبات وشدة ونسبة الاصابة

أظهرت النتائج التجريبية (جدول 4) إن إضافة البكتريا *P.fluorescens* والفطر *T.harzianum* الى التربة الملوثة بالفطر أدى الى رفع النسبة المئوية لإنبات البذور من 45.99% في التربة الملوثة بالفطر *M.phaseolina* الى 66.66 و 76.44% عند إضافة البكتريا والفطر الاحيائي على التوالي كما أظهرت النتائج ان إضافة هذين العاملين الى التربة غير الملوثة بالفطر قد ادى الى رفع % للإنبات مقارنة بمعاملة الشاهد (تربة غير ملوثة بالفطر اذ بلغت % لانبات البذور 80.99 و 80.44 و 61.99% للمعاملات *P.fluorescens* و *T.harzianum* والشاهد على التوالي. وتتفق هذه النتائج مع عدة دراسات سابقة أشير فيها الى قدرة البكتريا *P.fluorescens* والفطر *T.harzianum* في افراز محفزات النمو اذ ازدادت نسبة انبات بذور الحنطة وتحسين نمو بادراتها في التربة المعاملة بالبكتريا *P.fluorescens* (24). كما فسرت قدرة البكتريا في زيادة انبات البذور وتحسين نمو النبات في انتاجها منظمات النمو مثل IAA ومضادات الحياة التي تحد من تاثير الفطريات المسببة لتعفن البذور (15) . كما اظهرت نتائج هذه التجربة ان اضافة البكتريا *P.fluorescens* والفطر *T.harzianum* كلاً على حدة او معاً قد ادى الى خفض النسبة المئوية

للاصابة وشدتها مقارنة بمعاملة الشاهد (تربة ملوثة بالفطر الممرض فقط) اذ انخفضت % للاصابة وشدتها من 65 و 62.96% على التوالي في معاملة الفطر *M.phaseolina* الى 52.38 و 39.66% في معاملة البكتريا *P.fluorescens* والى 57.91 و 41.66% في معاملة الفطر *T.harzianum* والى 39.2 و 34.6% في المعاملة المشتركة (البكتريا + الفطر *T.harzianum*).

استخدمت البكتريا *P.fluorescens* والفطر *T.harzianum* معاً في تثبيط انبات الاجسام الحجرية للفطر *Sclerotina sclerotium* كما وجد ان معاملة بذور الحنطة بخليط من البكتريا *P.fluorescens* والفطر *T.koningi* ادى الى السيطرة على مرض الفناء المتسبب عن الفطر *Gamyromyces graminis* وذكر Gupta واخرون (12) ان معاملة نبات فستق الحقل بالبكتريا *P.fluorescens* قد خفض بشكل كبير من اصابة النبات بالفطر *M.phaseolina*.

ان انخفاض % للاصابة وشدتها في المعاملة المشتركة قياساً بالمعاملات المنفردة للمعاملات الاحيائية قد يعود الى الفعل التازري بين المعاملتين اذ يقوم الفطر بانتاج الانزيمات المحللة لجدران خلايا الفطر الممرض مثل glucanases و B-glucosidase في حين تقوم البكتريا بانتاج المضادات الحياتية مثل Pyluteorin وغيرها (15 ، 21).

جدول (4): تاثير المكافحة الإحيائية في النسبة المئوية للإنبات وفي نسبة وشدة الاصابة

المعاملات	% للإنبات	% للإصابة	% لشدة الإصابة
مقارنة(1) بدون تلويث	61.9	31.6	25
مقارنة(2) M	45.9	65	62.9
P.fluorescens	80.9	24.3	17.5
T.harzianum	80.4	27.7	22.5
P.f + M	66.6	52.3	39.1
T + M	76.4	57.9	41.6
T + P.f + M	75.8	39.2	34.1
R.L.S.D عند مستوى احتمال 0.05	13.4	7.9	9.4

4- التأثير في مؤشرات نمو النبات والحاصل

أوضحت نتائج هذه التجربة (جدول 5) ان إضافة عناصر المكافحة الاحيائية المتمثلة بالفطر *T.harzianum* والبكتريا *P.fluorescens* بشكل منفرد او معاً الى التربة الملوثة بالفطر *M.phaseolina* قد حسن من معظم مؤشرات النمو والحاصل المدروسة قياساً بمعاملةالمقارنة 2 (تربة ملوثة بالفطر الممرض *M.phaseolina*) إذ بلغ معدل ارتفاع النبات 144.15سم وقطر القرص 11.03 سم ومعدل عدد البذور في القرص 629.9 بذرة و % للبذور الفارغة 20.58% ووزن 100% بذرة 4.43 غرام وحاصل النبات الواحد 24.65 غرام في معاملة الفطر

T.harzianum + البكتريـا *P.fluorescens* مقارنـة 102.5سـم و 6.75 سـم 282.4 بـذرة و 26.75% و 2.22 غرام و 12.84 غرام للصفات نفسها على التوالي في معاملة الشاهد (تربة ملوثة بالفطر الممرض *M.phaseolina*).

ان تحسين مؤشرات النمو والزيادة الحاصلة في الحاصل نتيجة استخدام عناصر المكافحة الاحيائية قد تعود بالدرجة الاساس الى تقليل التاثير السلبي للفطر الممرض (25) كما اعزيت الزيادة في معدل ارتفاع نباتات الطماطة عند استخدام الفطر *T.harzianum* الى السيطرة على الممرضات في محيط الجذور وزيادة امتصاص العناصر الغذائية (3) كما ذكر Ehteshamul-Hagne (10) ان استخدام البكتريا *P.fluorescens* قلل من التاثير السلبي للفطر *M.phaseolina* وزاد من حاصل نبات زهرة الشمس.

جدول (5): تأثير المكافحة الإحيائية للفطر *M.phaseolina* في ارتفاع النبات وبعض مؤشرات الحاصل لنبات زهرة الشمس

المعاملات	ارتفاع النبات(سم)	قطر القرص(سم)	عدد البذور في القرص	% للبذور الفارغة	وزن 100 بذرة/غم	حاصل النبات (غم)	% للزيادة في الحاصل*
معاملةالمقارنة (1)	111.55	9.36	420.2	18.66	3.22	19.4	51.09
معاملة االمقارنة (2) تربة ملوثة بالفطر M	102.5	6.75	282.4	26.75	2.32	12.84	
P.fl	133.95	12.8	629.9	14.66	4.16	24.13	87.92
T	134.04	11.06	596.65	17.33	4.24	21.62	68.38
P.fl + M	117.3	9.63	485.84	21.83	3.08	21.95	70.95
T + M	127.18	8.45	618.85	22	3.09	20.01	55.84
T + Pfl + M	144.15	11.03	623.8	20.58	4.43	24.65	91.97
R.L.S.D عند مستوى احتمال 0.05	8.3	2.1	42.63	4.09	1.08	4.97	

*** حسبت النسبة المئوية للزيادة في الحاصل حسب المعادلة التالية:**

$$\% \text{ للزيادة} = \frac{\text{حاصل النبات في المعاملة – حاصل النبات في المقارنة (2)}}{\text{حاصل النبات في المقارنة(2)}} \times 100$$

المصادر

1- Abawi, G. S. and Pastor–Corrales, M. A. (1989). Charcoal rot screening procedure and virulence of *Macrophomina phaseolina* lsolates on dry edible beans. Turrialba. 39: 200 – 207.
2- Aghighi, S., Shahidi–Bongjar, G. H., Rawashdeh, R., Batayneh, S. and Saadoun, I. (2004). First report of antifungal spectra of activity of lranian Actinomycetes strains against. Alternaria strains, *Alternaria alternata*, *Fusarium solani*, *Phytophthora megasperma*, *Verticillium dahliae* and *Saccharomyces cerevisiae*. Asian Journal of Plant Sciences 3 (4) : 463 – 471.
3- Altomare, C., Norvell, W. A., Bjorkman, T. and Harman, G. E. (1999). Solubilization of phosphates and micronutrients by plant promoting and biocontrol fungus *Trichoderma harzianum* Rifai. Applied Environ. Microbiol 65: 2926 – 2933.
4- Baird, R. E., Watson, C. E. and Scruggs, M. (2003). Relative Longevity of *Macrophomina Phaseolina* and associated Mycobiota on residual soyabean roots in soil. Plant Disease: 87: 563 – 566.
5- Bell, D. K., Wells, H. D. and Markham, C. R. (1982). In vitro antagonism of *Trichoderma* species against six fungal Plant Pathogens Phytopathology. 72 (4) : 379 – 382.
6- Clark, F. E. (1965). Agar – plates. Method for total microbial (C.F.): Black, C. A. 1965. Methods of soil analysis part 2. publisher Madeson, Winconsin. USA., : 1572
7- Cloud, G. L., Rupe, J. C. (1991). Morphological instability on chlorate medium of isolates of *Macrophomina phaseolina* from soybean and sorghum. Phytopathology. 81: 832 – 895.
8- Dhingra, O. D. and Sinclair, J. B. (1973). Variation among isolates of *Macrophomina phaseolina* from different regions. Phytopathology 76: (2) 200 – 204.
9- El-Katatny, M. H., Hetta, A. M., Shaban, Q. M. and El- komy, H. M., (2003). Improved of cell wall degrading enzymes production by alginate encapsulated *Trichoderma* spp. Food Technol. Biotechnol, 41(3): 219 – 225.
10- Etheshamul–Haque, S., Zaki, M. J., Vahidy, A. A. and Ghaffer, A. (1998). Effect of organic amendments on efficacy of *Pseudomonas aeruginosa* in the control of root rot disease of sunflower. Pak. J. Bot. 30 (1): 45 – 50.
11- Gill, S., Dutky, E., Balge, R., Maclachlan, W. and Klick, S. (2003). Producing annual sun flower as cut flower. College of agriculture and Natural resources, Univ. Maryland. Extensin Publication Fs- 686, 1 – 7.

12- Gupta, C., Dubey, R. and Maheshwari, D. (2002). Plant growth enhancement and suppression of *Macrophomina phaseolina* causing charcoal rot of peanut by fluorescent pseudomonas. Biology and Fertility of Soil, 35 (6): 399– 405.

13- Kredics, L., Antal, Z., Manczinger, L., Szekeres, A., Kevei, F. and Nagy, E. (2003). Influence of environmental parameter on *Trichoderma* strain with Biocontrol potential, food Technol. Biotechnol. 41(1): 37 – 42.

14- Malvick, D. (2004). Interaction between weather and crop disease. Crop Sciences, Univ. Illinois, 1–8.

15- Pal, K. K., Tilak. K. R. B. R., Saxcna, A. K., Dey, R. and Singh, C. S. (2001). Supperssion of Maize root disease caused by *Macrophoming phaseolina*, *Fusarium moniliforme* and *Fusarium graminearum* by plant growth promoting rhizobacteria, Microbiolological Research, 156 (3), 209 – 223.

16- Pearson, C. A. S., Leslie, J. F. and Scwenk, F. W. (1986). Variable chlorate resistance in *Macrophoming phaseolina* from corn, Soybean and Soil, Phytopathology, 76: 646 – 649.

17- Rifai, M. A. (1969). A revision of the Genus Trichoderma commonwealth Mycol. Paper, 116: 1 – 56.

18- Schwartz, H. F. and Gent, D. H. (2005). Charcoal rot. Sunflower Circular No. XIV, 1–2.

19- Sinclair, J. B. (1982). Compendium of soybean disease 2nd ed. American phytopathologyical Soc. St. Paul. MN. pp: 104.

20- Sinclair, J. B. (1984). Root and stalk rot caused by *Macrophomina phaseolina* in Legumes and other crops. Proceedings of the consultative group discussion on research needs and strategies for control of sorghum root and stalk rot disease (1983). India, ICRISAT.

21- Srivastava, A. K., Singh, T., Jana, T. K. and Arora, D. K. (2001). Induced resistance and control of charcoal rot in *Cicer arietinum* (Chickpea) by *Pseudomonas fluorescent.* Can. J. Bot. 79 (7): 787-795.

22- Su, G., Suh, S. O., Schnieder R. W. and Russin, J. S. (2001). Host Specialization in the charcoal rot fungus, *Macrophomina phaseolina*, Phytopathology 91: 120 – 126.

23- Van peer, R., Vankuik, A. J., Rattink, H. R. and Schippers, B. (1990). Control of Fusarium wilt in corniation grown on rock wood by *Pseudomonas* spp. Strain WCS 4171 and by Fe-EDDHA. Netherland J. Plant Path. 94: 119-152.

24- Weller, D. M. and Cook, R. J. (1986). Increased growth of wheat by seed treatments with *Fluorescent pseudomonas*, and implications of *Pythlum* control. Can. J. Plant Pathol. 8: 328-334.
25- Yedidia, I., Benhamou, N. and Cliet, I. (1999). Induction of defense responses in cucumber plant (*Cucumis sativus L.*) by the biocontrol agent, *Trichoderma harzianum*. App. Enviromental Microbiol. 65 : 1061-1070.

Basrah J.Aagric.Sci.,22 (2) 2009

BIOLOGICAL CONTROL OF CHARCOAL ROT DISEASE ON SUNFLOWER CAUSED BY *MACROPHOMINA PHASEOLINA* (TASSI) GOID

Mohammed A. Fayyadh H. J. Al-Tmeme Layla A. Benyan
College of Agriculture/University of Basrah

SUMMARY

This study was carried out at College of Agriculture, Basrah University from 2004-2006, in order to investigate the effect of some Biological agents to control of *Macrophomina phaseolina* the causal agent of charcoal rot disease on sunflowers. The result has shown that isolates of *T.harzianum* ; T_q and T_B isolated from Qurna twon and Berjisiyah respectively, had a high antagonistic activities against the fungus *M.phaseolina* in comparison with the isolates from Muttaiha and Owasian T_M and T_A, the zone of inhibition (C) has been reached to 2.3 and 2 cm compared to 1.94 and 1.5 for T_M and T_A respectively. The results had shown that the bacteria *P.fluorescens* had higher antagonistic activity against *M.phaseolina* than *Bacillus cereus* as the inhibition zone had reached 100% compared to 65.36% for *B.cereus*.

field experiment revealed lower infection percentage and disease severity was recorded in combination treatment (*P.fluorescens* + *T.harzianum*) which reached 39.2 and 34.16% followed by *T.harzianum* and *P.fluorescens* treatment alone 57.91, 41.66, 52.38, 39.16% respectively. Positive effect of biological agent was reflected in all growth and yield parameters of Sunlower

مجلة البصرة للعلوم الزراعية , المجلد 22 , العدد 2 , 2009