تأثير بعض المبيدات الكيمياوية وعوامل المقاومة الاحيائية في الفطر *Alternaria solani* تحت ظروف المختبر

قيس كاظم زوين وعمر هاتف عبدالرزاق التابو [1]
قسم وقاية النبات–كلية الزراعة– جامعة تكريت

الخلاصــة

نفذت هذه الدراسة مختبريا لاختبار فاعلية مبيدين كيمياويين هما Folio gold 537 SC و الخليط (Valbon71.75 WG +Bravo50 SC) و عاملين للمقاومة الإحيائية هما الفطري *Trichoderma harzianum* و البكتيري *Bacillus subtilis* بصورة منفردة ، ضد الفطر *Alternaria solani* . أجريت الدراسة المختبرية بهدف اختبار فعالية العوامل الكيماوية والإحيائية في تثبيط نمو الفطر اذ اظهرت النتائج المختبرية وجود خاصية تضادية لبكتريا المقاومة الاحيائية *B.subtilis* تجاه الفطر *A.solani* في الوسط الزرعي، فقد سببت تثبيطاً تاماً في نمو الفطر بلغ 100% عند التخفيف 5.4×10^{-8} ، وتبين ايضا وجود مقدرة تضادية عالية لفطر المكافحة الإحيائية *T.harzianum* في نمو وتطور وتكاثر الفطر *A.solani*.اشارت النتائج الى توافقية فطر المكافحة الاحيائية *T.harzianum*والبكتريا *B.subtilis* ولم يكن للبكتريا تاثيرا تثبيطيا في نمو وتطور فطر المكافحة الاحيائية *T.harzianum*.أظهرت النتائج أن المبيد Folio goldحقق تثبيطاً تاما لمستعمرة الفطر مقداره 100% في جميع التراكيز المختبرية (م ح–50)(م ح)(م ح +50)، أما خليط (Bravo +Valbon) فقد سبب تثبيطا للمستعمرة الفطرية للمسبب بلغ 81.46 و 92.22 و 96.23% للتراكيز الثلاثة وعلى التوالي. اظهر المبيدان Folio gold 537 SC و الخليط (Valbon + Bravo) اقل نسبة تثبيط لفطر المكافحة الاحيائية *T. harzianum* بلغ 23.21 و 31.23 % عند التركيز النصف حقلي (م ح–50)، بينما لم يظهر المبيدان أي تأثير تثبيطي في بكتريا المكافحة الاحيائية *B.subtilis* عند التركيزين الحقلي (م ح) والنصف حقلي(م ح–50).

الكلمات المفتاحية:
مبيدات ، Alternaria solani ، bacillus subtilis، Trichoderma harzianum
للمراسلة:
عمر هاتف عبدالرزاق التابو
البريد الالكتروني:
omar500094@gmail.com
الاستلام : 16 / 1 / 2017
القبول : 15 / 4 / 2018

Effect of Some Chemical and Biological Treatment Against the Fungal *Alternaria solani*

Qais Khadim Zwain and Omar Hatif Altabo
Plant Protection Dept.- College of Agriculture- Tikrit University

ABSTRACT

This study was carried out to test the effectiveness of two chemical pesticides Folio gold 537 SC and the mixture of Bravo50 SC) + (Valbon71.75 WG and the two Bio control agent fungal *Trichoderma harzianum* and bacterial *Bacillus subtilis* individually against the fungus *Alternaria solani* the causal agent of Early Blight disease, laboratory study was conducted to test the effectiveness of chemical and biological factors in inhibiting the growth of pathogenic fungus, The results showed an antagonism property activity of bacterial bio-control agent. *B.subtilis* against the pathogenic fungus *A.solani* in the media culture , *B.subtilis* has caused complete inhibition in the growth of pathogenic fungus mycelia reached 100% at at dilution of 5.4×8^{-10}, also fungal bio-control agents *T.harzianum* showed a high ability of antagonism to the growth and development and reproduction of the pathogen *A.solani*. Results indicated a high compatibility between the fungal and bacterial bio agents *T.harzianum* and *B.subtilis* with no any antagonism effect of the bacterial bio agent *B.subtilis* in the growth and development of biological control fungus *T.harzianum*. Results showed that the fungicide Folio gold 537 SC achieved a complete inhibition 100% of pathogenic mycelial growth in all tested concentrations (RD -50) (RD) (RD + 50), and the mixture of (Bravo + Valbon) has achieved A significant inhibition for pathogen mycelial growth by of pathogen at 81.46 and 92.22 and 96.23% for the three

Key words:
fungicides , Alternaria solani , bacillus subtilis, *Trichoderma harzainum*
Corresponding author:
Omar Hatif Altabo
E-mail:
omar500094@gmail.com
Received: 16/1/2017
Accepted: 15/4/2018

[1] البحث مستل من رسالة ماجستير للباحث الثاني

concentrations respectively.

The study revealed that the two Fungicides Folio gold 537 SC and the mixture of (Valbon + Bravo) Showed less inhibition impact on the fungal bio-control agent of bio control fungus *T. harzianum* reached up to 23.21 and 31.23% at half Of field recommended dosage (RD -50), while They showed no inhibitory effect on the bacterial Bio-control agent *B.subtilis* when Applied by 50% and 100 % of its field recommended dosages{(RD-50) and (RD} respectively.

المقدمة:

يعد الفطر *A.solani* من اهم الفطريات ة على نباتات الطماطة على مستوى العالم اذا يصيب الأوراق وحواملها والأغصان والثمار وحتى السيقان ويعد من العوامل المحددة لزراعه المحصول خاصة في المواسم الممطرة .يصيب مرض اللفحة المبكرة نباتات العائلة الباذنجانية بشكل عام وتعد الرطوبة النسبية والندى والامطار من العوامل الاساسية لحدوث المرض ،اذ تنبت كونيديا الفطر في فترة وجيزة في الجو الرطب وعلى مدى واسع من درجات الحرارة تتراوح ما بين 5 الى 35 م ودرجة الحرارة المثلى هي 30 وتنتشر الكونيديا بواسطة الرياح المحملة بالرطوبة فتسبب اصابات جديدة في الحقل. يصيب الفطر المجموع الخضري والثمار وتظهر اعراض الاصابة الاولية على الاوراق السفلى الاكبر عمرا بشكل بقع بنية صغيرة داكنة ثم تزداد البقع في الحجم والعدد حتى تشمل اغلب مناطق سطح الورقة (Agrios،2005). ان مكافحة هذا الفطر *A.solani* بصورة عامة اعتمدت على استخدام المبيدات الكيميائية الا ان التوجهات الحديثة في العالم تتجه نحو ايجاد طرائق بديلة عن المبيدات الكيمائية مثل استعمال عوامل المقاومة الاحيائية من الفطريات والبكتريا الموجودة في منطقة حول الجذر والتي لها الدور المهم في الحد من حدوث و تطور المرض ،اذ اظهرت العديد من اجناس الفطريات وانواع البكتريا الجذرية (PGPR) Promoting Rhizobacteria Plant Growth كفاءة ضد الفطريات ة فضلا عن دورها في تحفيز النبات للنمو(Brimner and boland ,2003).ان المكافحة الأحيائية من اكثر الطرق كفاءة واماناً، ويعد الفطر *Trichoderma spp.* احد اهم العوامل الاحيائية التي استعملت في هذا المجال حيث اثبت كفاءته ضد العديد من الفطريات ة وعلى مختلف المحاصيل والخضر المهمة مثل البطاطا والخيار والفلفل والطماطة وفي كلا الزراعتين المكشوفة و المحمية.

المواد وطـرائق العمل:

الوسط الغذائي دكستروز اكار البطاطا Potato Dextros Agar (PDA)

تم الحصول على الوسط الغذائي PDA بشكل جاهز من الأسواق المحلية إذ تم تجهيزه من شركة Salusea الهولندية وحضر الوسط الغذائي بإذابة 39 غرام منه في 1 لتر من الماء المقطر ووضع في دورق زجاجي سعة 1لتر وأحكم غلق الفوهة بواسطة قطعة من القطن الطبي وعقم في المؤصدة على درجة حرارة 121م^{o} وتحت ضغط 1.5 بار لمدة 15 دقيقة ثم برد الوسط الى درجة40 –45°م وقبيل تصلبه تم إضافة 250 ملغم/لتر من المضاد الحيوي Tetracycline وصبه في الأطباق تحت ظروف معقمة.

وسط الاكار المغذي Nutrient Agar

حضر وسط الأكار المغذي بإذابة 28 غم من المسحوق الجاهز من شركة (LABM) الأميركية في 1لتر ماء مقطر، وبعدها وضع في دورق زجاجي سعة 1 لتر وأغلق بسدادات من القطن الطبي المعقم' وعقم بالموصدة على درجة حرارة 121^{o}م وضغط 1.5 باوند /انج^{2} لمدة 15 دقيقة ثم تم تبريد الوسط وصبه في أطباق بتري قطر 9سم وترك ليتصلب بدرجة حرارة المختبر.

عاملا المقاومة الإحيائية *Trichoderma harzianum* و*Bacillus subtilis* :

تم الحصول على عاملي المقاومة الاحيائية التي شملت كل من:

الفطر *Trichoderma harzianum* من المستحضر التجاري المسمى Biocont-T من إنتاج شركة البركة الأردنية.

البكتريا *Bacillus subtilis* من قسم وقاية النبات– كلية الزراعة /جامعة تكريت.

المبيدات الكيمياوية المختبرة:

أستخدمت المبيدات الكمياوية المبينة تفاصيلها في الجدول (1) في التجارب الحقلية و المختبرية.

جدول (1) المبيدات المستخدمة في التجارب الحقلية و المختبرية

أسم المبيد التجاري	أسم المادة الفعالة و نسبتها	الجرعة الموصى بها (غم او مل/ لتر ماء)	اسم الشركة المنتجة و البلد
Folio gold 537 SC	Chlorothalonil 500 g/l + Metalaxyl-M 37.5 g/l	3	سنجنتا/ سويسرا
Bravo 50% SC Valbon 71.75 WG	Chlorothalonil 500 g/l Benthiavalicarb 1.75 g/kg + Mancozeb 700g/kg	1.5 +2	سنجنتا/ سويسرا كومياي/ اليابان

جدول (2) معدلات استخدام المبيدين الكيماويين في اختبارات الفعالية ضد المسبب المرضي واختبارات التوافقية مع عاملي المقاومة الإحيائية

المبيـــــد	معدل المعاملة (مل اوغم / لتر ماء)		
	م ح-50 %	م ح	م ح +50%
Folio gold 537 SC	1.5m/l .	3m/l	4.5m/l
Bravo 50% SC Valbon 71.75 WG	1g/l +0.75m/l	2g/l + 1.5m/l	3g/l +2.25m/l

***إذ إن م ح= المعدل الحقلي الموصى به (Recommended field rate)**

تنمية عزلة المسبب المرض *Alternaria solani*

نفذت هذه التجربة في مديرية زراعة كركوك / قسم المختبرات، تم الحصول على عزلة الفطر المسبب للمرض المستعملة في الدراسة من دائرة البحوث الزراعية/ وزارة العلوم والتكنلوجيا، على شكل أطباق بتري ، وتمت تنمية الفطر وتنشيطه في المختبر إذ نقل قرص(قطر 1سم) من المستعمرة الفطرية إلى الأطباق الحاوية على الوسط الزرعي PDA وحضنت بدرجة 27± 2° م لمدة 5 أيام.

فطر المقاومة الإحيائية *Trichoderma harzianum*

تمت تنمية فطر المقاومة الإحيائية *T. harzianum* في وسط البطاطا دكستروز أكار PDA المحضر حسب الفقرة اعلاه وبعد التعقيم برد الوسط الى درجة40 –45°م وقبيل تصلبه أضيف اليه المضاد الحيوي Tetracycline بواقع 250 ملغم لكل لتر/وسط ثم صب الوسط في أطباق بتري' وترك لحين تصلبه، وأخذت مسحة من المبيد الحيويBiocont-T ' وتم تلقيح الوسط الزرعي بها' وحضنت الأطباق بدرجة 25± 1° م لمدة 7 أيام.

البكتريا *Bacillus subtilis*

نميت البكتريا *B.subtilis* في وسط الاكار المغذي N.A المحضر حسب تعليمات شركة (labm) وبعد التعقيم صب الوسط في أطباق بتري قطرها 9سم لغرض تنمية البكتريا وتنشيطها إذ لقحت الأوساط بطريقة التخطيط' ثم حضنت على درجة 37 ° م لمدة 24 ساعة .

تأثير المبيدات الكيماوية في عوامل المقاومة الإحيائية والفطر *A.solani*

تأثير المبيدات الكيمياوية في فطر المقاومــة الإحيائي *T. Harzianum*والفطر *A.solani*

تم تطبيق هذا الاختبار بأجراء تقانة الغذاء المسمم Food Poisoned Technique إذ حضر الوسط الزرعي PDA حسب الطريقة السابقة' وبعد إضافة المضاد الحيوي Tetracycline 250ملغم/لتر اضيف المبيد Folio gold و خليط المبيدين Bravo + Valbon وبثلاثة تراكيز لكل منهما (جدول 1) ثم لقحت الأوساط بنقل قرص(قطر 1سم) من مستعمرة نشطة للفطر *T.harzianum* والفطر *A.solani*.' ثم حضنت الأطباق على درجة حرارة 25 ± 1°م لمدة 5 أيام للفطر *T.harzianum* و5ايام للفطر *A.solani*، وتم عمل ثلاثة مكررات لكل معاملة فضلاً عن معاملة المقارنة control (ماء مقطر ومعقم فقط) وقدرت أقطار المستعمرات(سم) عن طريق قياس معدل قطرين متعامدين' ثم استخرجت مساحة المستعمرات(سم)' ثم قدرت قيمة النمو الخضري Vegetative growth(VG) حسب المعادلة الآتية (Jasso de Rodriguez وآخرون2004).

VG= 100± (النسبة المئوية للاختزال او الزيادة)

$$\text{النسبة المئوية للاختزال او الزيادة} = \frac{\text{قيمة المعاملة – قيمة المقارنة}}{\text{قيمة المقارنة}} \times 100$$

تأثير المبيدات الكيمياوية في بكتريا المقاومة الإحيائية *B.subtilis*

تم إجراء هذا الاختبار بتطبيق الطريقة المشار اليها في الفقرة اعلاه، إذ حضر عالق البكتريا عن طريق إضافة 10 مل ماء مقطر معقم في إطباق نمو البكتريا النشطة المحضر حسب الفقرة المذكورة آنفا، ثم أجريت سلسلة تخافيف عشرية لغاية التخفيف10^{-8}' ثم وضع 1مل من هذا التخفيف في أطباق بتري' ثم صب الوسط الغذائي N.A المحضر مسبقا مع إضافة المبيد بالتركيز المقرر مع إجراء حركة بشكل رقم 8 لضمان تجانس توزيع عالق البكتريا المخفف مع الوسط، وكررت المعاملة ثلاث مرات لكل تركيز من التراكيز المدروسة من كل من المبيد Folio gold و خليط المبيدين Bravo + Valbon فضلا عن معاملة المقارنة(ماء مقطر ومعقم)،ثم حضنت الأطباق على درجة حرارة 37° م لمدة 24 ساعة، وقدرت أعداد المستعمرات بعد مدة التحضين وذلك بضرب إعداد المستعمرات x مقلوب التخفيف' واستخرجت نسبة التثبيط على النحو الآتي (Harisha،2007)

$$\text{النسبة المئوية للاختزال} = \frac{\text{عدد المستعمرات في المعاملة– عدد المستعمرات في المقارنة}}{\text{عدد المستعمرات في المقارنة}} \times 100$$

اختبار تأثير *B.subtilis* في نمو الفطر *A.solani* و الفطر الإحيائي *T.harzianum*

تم تحضير وسط PDA وبعد التعقيم صب في إطباق بتري معقمة قطرها 9سم' وتم تلقيح الأطباق ب0.1 مل من عالق البكتريا *B.subtilis* بتركيز $10^8 \times 5.4$خلية لكل مل على شكل بقع spots وعلى بعد 1سم من حافة الطبق وبواقع خمسة بقع لكل طبق وبخمسة مكررات وحضنت لمدة 48 ساعة بدرجة حرارة 27م±2°، ولقحت الأطباق بقرص قطره (0.5) سم من الفطر *A.solani* والفطر الإحيائي *T.harzianum* ووضعت الأقراص بوسط الطبق' وحضنت الأطباق جميعها في درجة حرارة27م±2° لمدة سبعة أيام(Ghazadeh و اخرون ،2008)، وبعدها تم حساب التثبيط في النمو الشعاعي بأخذ معدل قطرين متعامدين للمستعمرات النامية عند وصول النمو لكل قطر إلى حافة الطبق في معاملة السيطرة، وتم حساب مقدار التثبيط حسب المعادلة الآتية (el and Kazempour ،2007)

$$\%Inhibition = \frac{R1 - R2}{R1} \times 100$$

إذ إن R1 أقصى نمو شعاعي لمستعمرة الفطر الإحيائي في معاملة المقارنة

R2أقصى نمو شعاعي لمستعمرة الفطر الإحيائي في الاطباق الحاوية على اللقاح البكتيري

اختبار المقدرة التضادية للفطر *T.harzianum* ضد الفطر *A.solani*

تم إجراء هذا الاختبار بتطبيق تقانة الزرع المزدوج Dual Culture Technique اذ تم أخذ جزء من الفطر الإحيائي المنمى على PDA وبعمر أربعة أيام من مزرعته بواسطة ثاقبة فلين (5 ملم) ووضع في أحد أطراف الطبق الحاوي على PDA، وكذلك أخذ جزء من المستعمرة الفطرية للفطر *A.solani* بواسطة ثاقبة الفلين' وبعمر خمسة أيام ووضع في الطرف المقابل ، وحضنت على درجة حرارة(1 26±) م° لمدة خمسة أيام (ياس ، 2015) ، نفذت التجربة بثلاثة مكررات، وبعدها أخذت قياسات التثبيط المتمثلة بقطر نمو الغزل الفطري للفطرين بعد ثلاثة أيام ،وأسبوع وأسبوعين من تاريخ زراعتها ، وتم تقدير درجة التضاد حسب سلم (Bell وآخرون ، 1982) و على النحو الآتي :

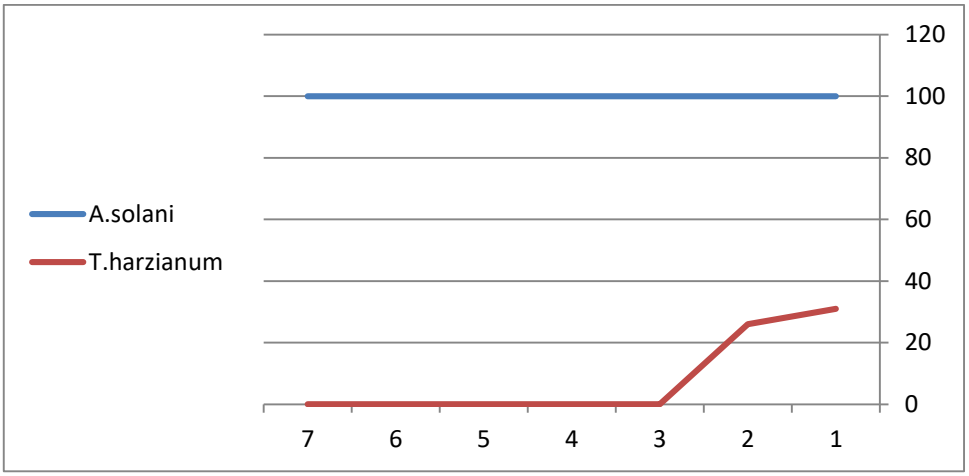
1. الفطر المضاد يغطي الطبق بكامله.
2. الفطر المضاد يغطي ثلاثة أرباع الطبق.
3. الفطر المضاد والفطر كل منهما يغطي نصف مساحة الطبق.
4. الفطر يغطي ثلاثة أرباع الطبق.
5. الفطر يغطي الطبق بكامله.

وعدَّ فطر المقاومة الإحيائية فعالاً عند إظهاره قدرة تضادية 1 أو 2.

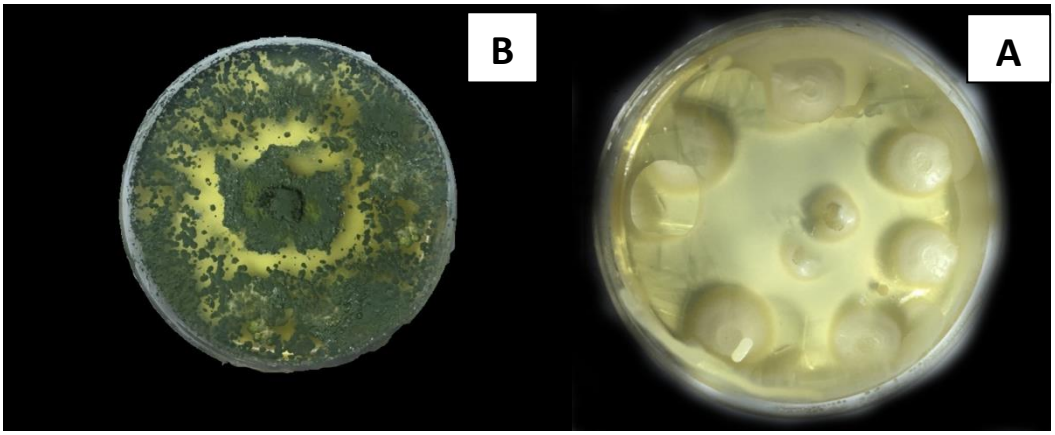
النتائج والمناقشة Results and discussion

اختبار تأثير *B.subtilis* في نمو الغزل الفطري للفطر *A.solani* والفطر الإحيائي *T.harzianum*

اظهرت نتائج هذا الاختبار وجود خاصية تضادية للبكتريا *B.subtilis* تجاه الفطر *A.solani* في الوسط الزرعي، فقد سببت تثبيطاً تاماً في نمو الفطر بلغ 100% بتخفيف 5.4×10^{-8} شكل (1) وذلك بالمقارنة مع نمو الفطر في أطباق المقارنة التي لم تستخدم فيها البكتريا. تتفق نتائج هذا الاختبار مع ما توصل إليه Leclere وآخرون (2005)، ان الجنس *Bacillus* يمتلك قدرة عالية على إنتاج العديد من المضادات الحيوية مثل Mycosubtili و IturinA التي لها المقدرة على تثبيط النمو الشعاعي للفطريات ة للنبات ، بينما ذكر Dawar وآخرون(2007) كفاءة استعمال البكتريا *B.subtilis* في تثبيط النمو الشعاعي للفطريات *Maycrophomina phaseolina* و*Rhizoctonia solani*' و *Fusarium* spp المسببة لأمراض تعفن الجذور لمجموعة من النباتات الحقلية ومنها الماش وزهرة الشمس بنسبة 100 % للنمو الشعاعي لهذه الفطريات على وسط PDA ايضا اوضح العاشور (2005) أن المستحضر الحيوي لبكتريا *B.cereus* ذو كفاءة تثبيطية عالية لنمو الغزل الفطري للفطريين *Rhizctonia solani* و*Pythium aphanidermatum* وضحت النتائج أيضا تفوق الفطر الإحيائي*T.harzianum* في قابلية التحمل للبكتريا *B.subtilis*، و حققت قدرة تضادية قليلة للبكتريا ضد المقاوم الإحيائي في الأيام الثلاثة الأولى من التجربة، ولكن بعد خمسة أيام من التجربة لم تحقق البكتريا أية قدرة تضادية اتجاه المقاوم الإحيائي فقد بدأ الغزل الفطري باستعادة نموه وانتشاره وهذا يتوافق مع ما وجده Abeysinghe (2008) وRadjacommare واخرون (2010) من امتلاك الفطر *T.harzianum* قدرة عالية لتجنب المواد التي تفرزها الأحياء المجهرية الأخرى المرافقة له ، وقد يعود تفسير ذلك لأسباب عدة جعلت من هذا الفطر عامل مكافحة إحيائية ناجح وكفوء ومنها إنتاج إنزيمات عديدة ومنها إنزيم Protease ، Chitinase وβ-1,3 glucanase أو المضادات الحيوية التي لا تتأثر بالمضادات الحيوية التي تفرزها البكتريا أو قد تكون من خلال المنافسة على المواد الأولية والمكان.



شكل (1) نسبة تثبيط بكتريا *B.subtilis* في نمو الغزل الفطري للفطر *A.solani* والفطر الإحيائي *T.harzianum*



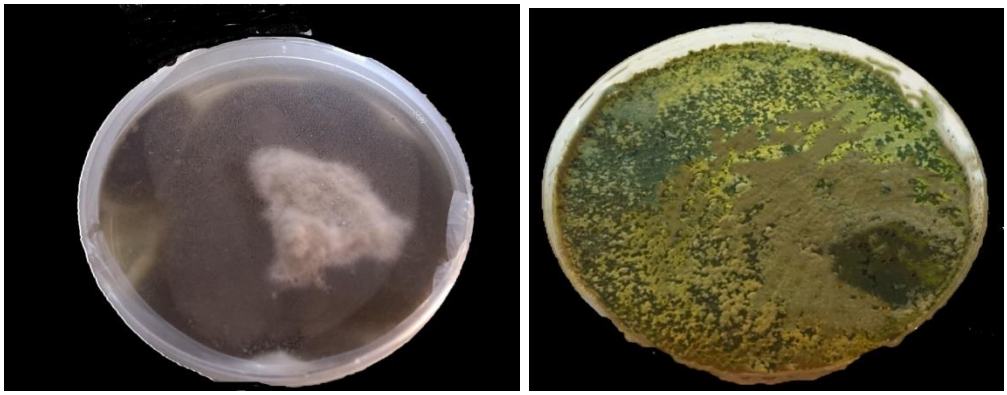
شكل (2) تأثير *B.subtilis* في نمو الغزل الفطري للفطر *A.solani* والفطر الإحيائي *T.harzianum*

A=*T.harzianum* + *B.subtilis* (بعد سبعة ايام من زراعةالفطر)

B=*A.solani* + *B.subtilis* (بعد سبعة ايام من زراعة الفطر)

أختبار تضادية للفطر الإحيائي *T.harzianum* ضد الفطر *A.solani*

أظهرت نتائج هذا الاختبار وجود مقدرة تضادية عالية بين فطر المكافحة الإحيائية *T.harzianum*والفطر *A.solani*، إذ حقق الفطر *T.harzianum*مقدرة تضادية بلغت 1 حسب السلم الذي وضعه Bell وآخرون (1982)، وهي أعلى درجات السلم بعد سبعة أيام من تلقيح الوسط الزرعي (الشكل 3) ، ولوحظ أن الفطر الإحيائي قد لامس الفطر ، وتلاه نمو مستعمرة الفطر الإحيائي فوق سطح الغزل الفطري للفطر ، وهذا يتوافق مع ما وجده العديد من الباحثين (Cook و Baker 1989 ، Deacon و Berry 1992 و Matroudi وآخرون 2009).إن امتلاك الفطر *T.harzianum* لخاصية التضاد قد يعود لأسباب عدة جعلته عامل مكافحة إحيائية جيداً ضد العديد من الفطريات ة للنبات' ومن هذه الأسباب امتلاكه آلية التطفل المباشر على الغزل الفطري للفطر عن طريق الالتفاف حول خيوطه' وتحليل جدرانه بواسطة الأنزيمات التي يفرزها أو تنافسه على الغذاء والمكان بسرعة نموه أو إنتاجه المضادات الحيوية التي تؤثر بشكل سلبي في نمو الفطر ، وتحد من تكاثره ،وأشارت العديد من البحوث إلى أن إنتاج chitinases و1,3glucanases β هي السمة الفعالة المرتبطة في مقدرة *Trichoderma spp* لمكافحة مسببات الأمراض النباتية (Haran وآخرون 1996،Zeilinge وآخرون 1999 و Kubicek وآخرون Brimner,2001 و Boland 2003 ، Harighi وآخرون 2007).



(A)اختبار التضاد (بعد سبعة أيام من تلقيح الوسط الزرعي)

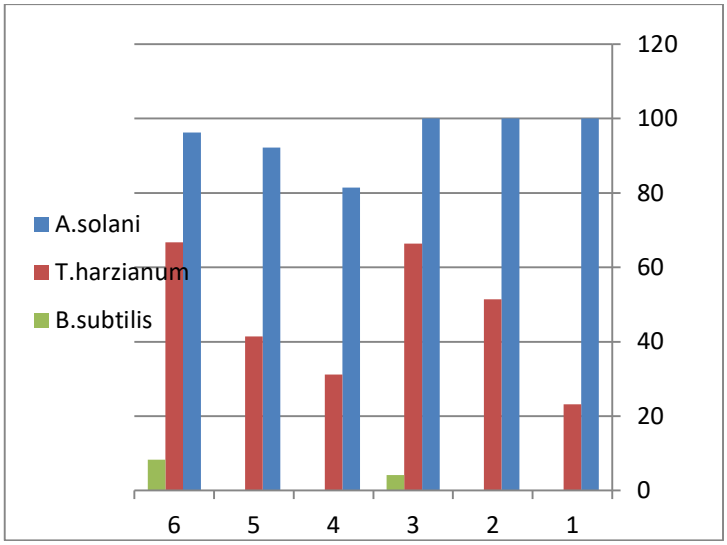
(B)الفطر (بعد سبعة أيام من تلقيح الوسط الزرعي)

شكل (3) اختبار المقدرة التضادية للفطر الإحيائي *T.harzianum* ضد الفطر *A.solani*

دراسة التأثير السمي للمبيد الكيمياوي Folio gold 537 SC وخليط المبيديـــــن (Valbon 71.75 + Bravo50% SC) WGفي نمو الفطر *A. solani* والعاملين الإحيائيين الفطري *T. harzianum* والبكتيري *B. subtilis* مختبرياً

أوضحت النتائج كما في الشكل (4) أن الفطر *A.solani* كان أكثر حساسية للمبيدين الكيمياويين المستخدمين في الدراسة بالمقارنة مع الفطر الإحيائي *T.harzianum* والبكتريا *B.subtilis* ، إذ أظهرت النتائج أن المبيد Folio gold 537 SC حقق تثبيطاً تاما لمستعمرة الفطر مقداره 100% في جميع التراكيز المختبرة (م ح−50)(م ح)(م ح +50)، أما تأثير خليط المبيدين Valbon 71.75 WG+ Bravo 50% SC في الفطر فتمثل في حدوث نمو بسيط فقط وبفروق معنوية عن معاملة المقارنة(بدون مبيد) في جميع التراكيز المختبرة (م ح−50%) (م ح) (م ح +50%)، إذ كانت نسبة التثبيط في نمو المستعمرة الفطرية بلغت81.46 و 92.22 و 96.23% على التوالي .أما تأثير المبيدين المستخدمين في التجربة في الفطر الإحيائي*T.harzianum*فقد كان الفطر أكثر نموا من الفطر *A.solani* إذ سبب المبيد Folio gold 537 SC نسب تثبيط في نمو المستعمرة الفطرية(23.21 و 51.43 و66.36)%عند التركيز(م ح−50)(م ح)(م ح +50)على التوالي، أماخليط المبيدين Valbon 71.75 WG+ Bravo 50% SC فقد سجلا نسب التثبيط (31.23 و41.43 و 66.71)% عند التركيز (م ح−50%)،(م ح)،(م ح+50%)على التوالي ، و سجل الفطر *T.harzianum* نمواً أكثر بالمقارنة بالفطر *A.solani* ليس في معاملات المبيدين المدروسة فقط بل حتى في معاملة السيطرة إذ بلغ قطر المستعمرة 9 سم مقارنة بالفطر *A.solani* الذي بلغ 8 سم، في حين تفوق العامل الإحيائي البكتيري *B.subtilis* في قابلية التحمل لسمية المبيدات المستخدمة في التجربة بالمقارنة مع الفطرين *A.solani* والإحيائي *T.harzianum* ، إذ اظهرت النتائج أن كلا المبيدين لم يسببا أي اختزال لمستعمرات البكتريا عند التركيزين (م ح−50%) (م ح) ، أما نسبة الاختزال عند التركيز (م ح+ 50%) للمبيدين Folio gold 537 SC وخليط المبيدين Valbon 71.75 WG+Bravo 50% SC فكانت 4.2 % و 8.29% على التوالي.إذ ان المبيدات الكيميائية تختلف في تأثيرها على الفطريات' ويعود سبب ذلك إلى امتلاك الفطريات لبعض الأنزيمات التي تعمل على تحليل المبيدات وهذا يتفق مع Omar و اخرون(2006) و موسى (2016) من أن أنواع الجنس *Trichoderma* لها القابلية على تحمل عدة أنواع من المبيدات الفطرية' ولكن مستوى التحمل يختلف حسب نوع المبيد المستخدم' إذ يعمل على تحطيم المبيدات العضوية المكلورة وتحليلها، وهذا ينعكس على سرعة نموه ونشاطاته الإنزيمية' وكذلك يختلف أيضه وتكيفه بوجود المبيدات، وقد تعود قابلية البكتريا *B.subtillus* على تحمل هذه السمية العالية للمبيدات إلى كون المبيدات متخصصة على الفطريات ومع ذلك فإنها تعد مواداً ذات سمية أثرية على البكتريا' وحسب سمية المبيد ومادته الفعالة' وحسب التركيب الوراثي للبكتريا وقدرتها الإنزيمية والأيضية لتكسير

تلك المواد أو تأييضها، وقد يعود السبب ايضاً إلى أن هذه البكتريا ربما قامت بتحطيم حيوي Biodegredation للمبيدات المستعملة (Bollag ، 1974).



شكل (4) التأثير السمي للمبيد الكيمياوي Folio gold 537 SC و Bravo 50% SC+ Valbon 71.75 WG في نمو الفطر *A.solani* والعاملين الإحيائيين الفطري *T.harzianum* والبكتيري *B.subtilis* مختبرياً

المصادر:

عجيل، حليم قاسم (2015). وبائية مرض اللفحة المبكة على الطماطة المتسبب عن الفطر alternaria solani على هجين الطماطة s-19 و s-10 المستنبط محليا في الزراعة المحمية، رسالة ماجستير. كلية الزراعة .جامعة بغداد.

موسى، مصطفى ياسين طه .(2016) .استخدام بعض الطرق الكيميائية والحيوية والتكامل بينها في مقاومة مرض موت وسقوط البادرات على صنفين من محصول الطماطة المتسبب عن فطر. *Fusarium oxysporum f. sp.lycopersci* رسالة ماجستير كلية الزراعة.جامعة تكريت.

Abeysinghe , S. (2008). Effect of combined use of *Bacillus subtilis* CA32 and *Trichoderm aharzianum* RUO1 on biological control of *Rhizoctonia solani* on *Solanummelongena* and *Capsicum annuum*.Plant Pathology J. .76. 181-194.

Agrios, G.N. (2005). Plant pathology 5th edition.Academic Press, New York.U.S.A.

Bell,D.K.; Wells, H.D. and Markham, G.R.(1982). In vitro antagonism of *Trichoderma* spp against six fungal plant pathogens. Phytopathology 72:379-382

Bollag. J. M. (1974) "Microbial Transformation of Peticides". Advanc,Appl. Microbial. No-18.75-130

Brimner TA, and Boland GJ. (2003) A review of the non-target effects of fungi used to biologically control plant diseases. Agriculture, Eosyst.& Environ. 100: 3-16.

Brimner TA, and Boland GJ. (2003) A review of the non-target effects of fungi used to biologically control plant diseases. Agriculture, Eosyst.& Environ. 100: 3-16.

Cook , R . J . and Baker , K . F . (1983) . The nature and practiceof Biological . control of plant pathogens . The American phytopathol. SociPaul . Mn . 539 pp

Dawar,S.;Arjumund,S.;Tariq,M.and Zaki,M.J.(2007).Use of sea weed and bacteria in the control of root rot mash bean and sunflower .Pak.J.Bot.39(4):1359-1366.

Deacon JW and Berry LA .(1992). Modes of actions of mycoparasites in relation to biocontrol of soilborne plant pathogens. In: Tjamos E.C. Papavizas G.C. Cook R.J. (eds). Biological control of plant diseases. Plenum Press, New York. pp157-167.

Ghazadeh,A.K.;ALIzadeh,A.and N. Safaie (2008) Biological control of Fusarium wilt of potato using , antagonistic strains of of bacteria , Iran. J. Plant Path. Vol. 44.

Haran , S., H. Schickler and I. Chet.(1996). Molecular mechanism of lytic enzymes involved in the biocontrol activity of *Trichoderma harzianum*. Microbiology . 142 : 2321 – 2331 .

Harighi MJ; Zamani MR and Motallebi M. (2007). Evaluation of antifungal activity of purified chitinase 42 from *Trichoderma atroviride* PTCC5220, Biotechnology 6(1), 28-33.

Harisha.S.(2007).An Introduction to practical Biotechnology Laxmi publication LTD.New Delhi.pp.534.

Kazempour,M.N.and EL Ahinia,S.A **(2007)** Biological Control of *Fusarium fujikuroi*, the Causal Agent of Bakanae Disease byRice Associated Antagonistic Bacteria, *Bulgarian Journal of Agricultural Science,* **13**, 393-408.

Kubicek CP; Mach RL; Peterbauer CK and Lorito M .(2001).*Trichoderma*: from genes to biocontrol. *J. Plant Pathol*. 83(2), 11-23.

Leclere ,V.; Bechet, M.; Adam, A.; Guez, J.S.; Wathelet, B.; Ongena , M.;Thonart , P. ; Chollet-Imbert , M. and Jacques , P. (2005). Mycosubtilin over production by *Bacillus subtilis* BBG 100 enhances the organisms antagonistic and biocontrol activities .Appl. Environ .Microbiol.71:4577-4585.

Matroudi S, Zamani MR and Motallebi M. (2009). Antagonistic effects of three species of *Trichoderma* sp. on *Sclerotinia sclerotiorum,* the causal agent of canola stem rot. Egyptian Journal of Biology, Vol. 11, pp 37-44

Omar, I., T. M. O'Neill and S. Rossall. (2006). Biological control of Fusarium crown and root rot of tomato with antagonistic bacteria and integrated control when combined with the fungicide carbendazim Plant Pathol. 55: 92-99

Radjacommare,R.;Venkatesan ,S.and Samiyappan ,R.(2010). Biological control of phytopathogenic fungi of vanilla through lytic action of *Trichoderma* species and *Pseudomonas fluorescens* .Archives of Phyto.and Plant Prot .43(1):1-17.

Zeilinger S. ; Galhaup C. ; Payer K. ; Woo SL. ; Mach RL. ; Feket C. ; Lorito M. and KubicekCP.(1999). Chitinase gene expression during mycoparasitic interaction of *Trichoderma harzianum* with its host. Fung. Gene.& Biol. 26(2): 131-140.

Jasso de Rodriguez,D. ; D.Hermández-Castillo ; R.Rodriguez-Garia and J.L.Angulo Sánchez. (2004). Antifugal activity *in vitro* of *Aloe vera* pulp and liquid fraction against plant pathogenic fungi . *Indust.crops & products.* 21: 81-87 .