IRAQI Academic Scientific Journals

Samarra Journal of Pure and Applied Science

SJPAS
مجلة سامراء للعلوم الصرفة والتطبيقية

www.sjpas.com

ISSN:2663-7405

# عزل وتشخيص الفطريات داخل النبات وتقييم كفاءتها في مقاومة مرضي التعفن الأبيض وموت البادرات على الطماطم

**عبد الله عبد الكريم حسن، عمر وائل ماجد ***

قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة تكريت(drabdullah.has67@tu.edu.iq) , (omaralwattar19945@gmail.com)*

البحث مستل من رسالة ماجستير الباحث الثاني

**معلومات البحث:**

تأريخ الاستلام: 2020/09/21
تأريخ القبـــول: 2020/11/20

**الكلمات المفتاحية:**

*فطريات داخل النبات، الطماطم*

**الخلاصة:**

تناولت الدراسة عزل فطريات داخل النبات من المجموعين الجذري والخضري لنباتات الطماطم المأخوذة من ثلاث مناطق مختلفة ضمن حدود محافظة صلاح الدين شملت أقضية بيجي والعلم والشرقاط. أُجريت إختبارات التضاد للعزلات الفطرية مع الممرضين *Sclerotinia sclerotiorum* و *Pythium aphanidermatum* باستخدام طريقة الزراعة المزدوجة وأظهرت نتائج التضاد أن أعلى تثبيط للعزلتين SLC1 وALS6 سجل ضد الممرض *P.aphanidermatum* وبنسبة تثبيط بلغت 75%.أما العزلات الفطرية BSR3 وBRM3 وSRS2 حققت أعلى فعالية تضاد تجاه الممرض *S.sclerotiorum* وبنسبة تثبيط بلغت 75% في المزرعة المزدوجة. شخصت العزلة الفطرية التي اعطت توافق في تضادها ضد الفطريين الممرضين على مستوى النوع ARC3 *Fusarium fujikuroi*. أوضحت نتائج التجربة الحقلية تأثير هذا الفطر في المعايير الخضرية الى تفوق معنوي لمحتوى نباتات الطماطة من الكلوروفيل في معاملة الفطر (ري + رش تركيز $10^{10}$ كونيدة/مل) بوجود الفطرين الممرضين *P. aphanidermatum* و *S. sclerotiorum* إذ بلغ 36.74 و34.66 سباد، على التتابع مقارنة بأدنى القيم في معاملة الممرضين فقط والتي بلغ فيهما محتوى الكلوروفيل 25.74 و23.21 سباد على التتابع. كما أبدت معاملة الفطر نفسها أعلى معدل ارتفاع للنبات وأوضحت نتائج تأثير الفطر ARC3 في نسبة إصابة النبات بوجود الفطرين الممرضين *P. aphanidermatum* و *S. sclerotiorum* تفوقاً معنوياً في خفض نسبة الإصابة في معاملة الفطر ( ري + رش تركيز $10^{10}$ كونيدة/مل )، إذ بلغت 15.14 و19.27% على التتابع مقارنة بأعلى قيم لنسبة الإصابة والتي بلغت 86.83 و 78.71% في معاملات الممرضين فقط، على التتابع.

**المقدمة:**

تُعد الطماطم *Solanum lycopersicum* L. من أهم محاصيل الخضراوات وتعود إلى العائلة الباذنجانية Solanaceae، موطنها الأصلي في أمريكا الجنوبية وتزرع على نطاق واسع ، إذ تعتبر مصدراً غذائياً مهماً لاحتوائها على العناصر المهمة مثل الفوسفور والمغنيسيوم والبوتاسيوم والحديد [1]. وتُعد ثاني أكبر محاصيل الخضر من حيث الإنتاج والاستهلاك إذ بلغت المساحة المزروعة على مستوى العالم 4.76 مليون هكتار وبإنتاج يصل إلى 182.2 مليون طن سنوياً، وتساهم قارة أسيا بنسبة 60% من إنتاج العالم [2]. أما في العراق فقد بلغت المساحة المزروعة في عام 2019 حوالي 91645 دونم إذ بلغ الإنتاج 619543 طن ومتوسط إنتاجية 6760.2 كغم/دونم [3]. ونظراً للأهمية الاقتصادية لمحصول الطماطم إلا إنهُ يتعرض للعديد من الأمراض الفطرية التي ينتج عنها خسارة في المحصول [4]. ويُعد مرض موت وسقوط البادرات من الأمراض المهمة إذ يصيب معظم

الخضراوات مثل الطماطم والفلفل والملفوف، وينتشر على نطاق واسع في الأنظمة الزراعية المعتمدة على التربة ويتسبب بخسائر عالية في الشتلات المزروعة [5]. كما ويصاب محصول الطماطم بمرض التعفن الأبيض المتسبب عن الفطر *S.sclerotiorum* الذي يُعد من الأمراض شديدة التأثير على المحاصيل بسبب وفرة الأجسام الحجرية الكامنة في التربة التي تسمح لبقاء الفطر في التربة لفترة تتراوح بين 8-10 سنوات والتي تكون قادرة على تنشيط المرض وبذلك تساهم في انتشاره [6]. وتُعد المكافحة الحيوية والتي تعتمد على الكائنات الحية الدقيقة ومن ضمنها فطريات داخل النبات Endophytes fungi أفضل من استخدام المواد الكيميائية بسبب تأثير الأخيرة السلبي على البيئة وتطور المسببات المرضية على مقاومة فعل المبيدات الفطرية [7، 8]. تستعمر فطريات داخل النبات أنسجة النبات الداخلية وتكمن أهميتها من خلال المنافسة على المواد الغذائية والمكان وتعزيز النمو وتحفيزها للمقاومة الجهازية للنبات وإفراز العديد من المضادات الحيوية والإنزيمات المحللة التي لها دور مهم في تثبيط نمو المسببات المرضية [9، 10]. تهدف الدراسة الحالية إلى تقييم كفاءة الفطريات داخل النبات المعزولة من أنسجة نباتات الطماطم في مكافحة مرض التعفن الأبيض المتسبب عن فطر *Sclerotinia sclerotiorum* وموت البادرات المتسبب عن فطر *Pythium-aphanidermatum* على الطماطم ودورها في تشجيع نمو هذا النبات.

**المواد وطرائق العمل:**

**عزل فطريات داخل النبات**

جمعت العينات النباتية من حقول مختلفة في محافظة صلاح الدين للموسم 2019- 2020 م ضمن ثلاثة أقضية هي: الشرقاط، بيجي، العلم، لغرض عزل فطريات داخل النبات وتشخيصها. بعد نقل العينات إلى المختبر، غسلت الأجزاء النباتية جيداً بماء الحنفية لمدة 30 دقيقة وتركت لتجف، بعدها تم تقطيع الأجزاء النباتية (الجذر والساق والأوراق) بواسطة مشرط معقم إلى قطع صغيرة بطول 1 سم ووضعت القطع كل جزء منها في أطباق بتري تحتوي على ماء مقطر معقم لإكمال عملية الغسل، نقلت القطع إلى أطباق أخرى تحتوي محلول هايبوكلورات الصوديوم NaOCl بتركيز1% (كلور حر) ولمدة 3 دقائق لغرض تعقيمها سطحياً، بعدها نقلت إلى أطباق أُخرى تحتوي على ماء مقطر معقم لغسلها من بقايا محلول هايبوكلورات الصوديوم ثم نشفت القطع باستخدام أوراق ترشيح معقمة، نقلت القطع وزرعت على أطباق بتري حاوية على الأوساط الغذائية وهي وسط أكار سابرويد دكستروز Sabouraud Dextrose Agar (SDA) ووسط أكار جيبك دوكس Czapek Dox Agar (CDA) ووسط أكار مستخلص الشعير Malt Extract Agar (MEA) ووسط أكار روز بينغال Rose Bengal Agar (RBA) ووسط أكار مستخلص نبات الطماطم (T.A) وبواقع 4 قطع لكل طبق بتري ذو قطر 9 سم، إذ استخدمت 4 أطباق بتري لكل وسط غذائي وجزء نباتي واحد ضمن المنطقة الواحدة، وكتبت الملاحظات المطلوبة على كل طبق بتري وتتضمن إسم المكان وتاريخ العزل واسم الوسط المستخدم ونوع الجزء النباتي ثم حضنت الأطباق على درجة حرارة 25 ± 2 مْ لمدة 4-7 أيام، نقيت العزلات بأخذ قرص بقطر 0.5 سم من طرف المستعمرة الفطرية بواسطة ثاقب فليني معقم و لكل عزلة ونقلها إلى طبق بتري يحتوي على الوسط الزرعي SDA وتحضينها في درجة حرارة 25 ± 2 مْ لمدة 4-7 أيام. قدرت النسبة المئوية لظهور العزلة الفطرية كما يلي:

% للظهور = (عدد القطع التي ظهر بها فطر معين/عدد القطع النباتية الكلية)× 100

**الفطريات الممرضة**

تم الحصول على عزلات نقية ومشخصة من الفطريات الممرضة *P. aphanidermatum* و*S.sclerotiorum* من مختبر أمراض النبات – قسم وقاية النبات/كلية الزراعة – جامعة تكريت. اذ تم اثبات امراضيتها حسب دراسة سابقة [11].

**اختبار التضاد المباشر لتقييم فعالية فطريات داخل النبات ضد الممرضين *P. aphanidermatum* و *S. sclerotiorum***

اختبرت الفعالية التضادية لفطريات داخل النبات المعزولة مع الممرضين بطريقة الزرع المزدوج Dual Culture Technique على أطباق بتري قطر9 سم حاوية على الوسط الزرعي MEA ولقح مركز كل نصف طبق بقرص (قطر 0.5 سم) من مستعمرات الفطريين الممرضين كل على حدة من مزرعة الفطر بعمر 5 أيام اخذ بواسطة ثاقب فلين معقم وفي نفس الوقت لقح وسط النصف الآخر بقرص أخذ من طرف مستعمرة لفطريات داخل النبات المعزولة، كررت كل معاملة ثلاث مرات من كل فطر وحضنت الأطباق عند درجة حرارة 25±2 مْ وبعد 7 أيام تم تقدير التضاد حسب سلم التقييس الخماسي المعد من قبل Bell وآخرون (1982) [12] . اجريت تجربة التضاد لجميع عزلات فطريات داخل النبات والبالغة 21 عزلة فطرية.

**معاملات التجربة**

تمت عملية نقل الشتلات إلى الأصص بتاريخ 2020/4/1 م، إذ تم زراعة 5 شتلات من الطماطم صنف شمس الاصيل بعمر 20 يوم في كل أصيص بواقع 3 أُصص لكل معاملة وذلك باستخدام تربة مزيجية سبق تعقيمها بالفورمالين (5%)، شملت التجربة

معاملتين الأولى المعاملة بالفطر داخل النبات *F. fujikuroi* ARC3 والثانية حالة الإصابة بمرضي موت البادرات والتعفن الأبيض. لقحت التربة بالممرض*P. aphanidermatum* ، من خلال ترطيب التربة قبل يوم واحد من تلقيحها بالممرض، ثم إضيفت 10 قطع بحجم 1 سم$^2$ من مستعمرة الممرض وبعمر 5 أيام، وضعت تحت سطح التربة بعمق 5 سم لكل أصيص، رطبت التربة قليلاً وغطيت فتحة الأصص بنايلون البولي إثلين للحفاظ على الرطوبة وتركت لمدة سبعة أيام لضمان انتشار الممرض. اما تلقيح نباتات الطماطة بالفطر الممرض *S.sclerotiorum* فقد تم بعمل شق طولي في منطقة الساق بطول 2 سم وتطعيم النبات بالجسم الحجري Sclerotia للفطر الممرض *S.sclerotiorum* مع بعض الخيوط الفطرية ومن ثم تغطية الجرح بواسطة شريط Para film للحفاظ على منطقة الجرح من الغبار و عدم التعرض للجفاف [13]

شملت المعاملة بالفطر *F. fujikuroi* ARC3 طريقة ري الشتلات بثلاث تراكيز $10^6$ و$10^8$ و $10^{10}$ كونيدة / مل (تم ضبط العدد باستخدام شريحة عد الخلايا) وطريقة رش النباتات بعد أسبوعين من نقل الشتال بالتراكيز الثلاثة نفسها وطريقة (الري+ الرش) بالتراكيز الثلاثة نفسها مناصفة، فضلاً عن معاملة السيطرة (معاملة بالماء المقطر المعقم فقط). أُجريت معاملة الري عن طريق ري النباتات بواقع100 مل/أُصيص من التركيز المطلوب وباستخدام syringe سعة 10 مل، تم توزيع المعلق الفطري في التربة وحول الشتلات المزروعة، وفي معاملة الرش تمت معاملة النباتات بـرش المعلق الفطري بمعدل 100مل/أُصيص من التركيز الخاص بكل معاملة وباستخدام مرشة يدوية. أما في معاملات (الري+ الرش) فقد تم تخصيص 100 مل من المعلق الفطري قسمت إلى قسمين الأول منها يتم من خلال سقي كل أُصيص بـ 50 مل من المعلق الفطري والثاني يرش بواقع 50 مل من كل تركيز لكل أُصيص حسب التركيز الخاص بكل معاملة.

**تقدير نسبة إصابة النباتات بالممرضين *P. aphanidermatum* و *S.sclerotiorum***

قدرت نسبة الإصابة حسب المعادلة: % للإصابة = (عدد الشتلات المصابة / العدد الكلي)× 100

**تقدير محتوى الكلوروفيل (سباد)**

تم قياس المحتوى الكلي للكلوروفيل في الأوراق صباحاً (عمر النباتات 45 يوما) بوساطة جهاز قياس الكلوروفيل Chlorophyll meter وقيست نسبة الكلوروفيل لتسعة أوراق أخذت عشوائياً من كل وحدة تجريبية، إذ وضعت الورقة في الجهاز وثقبها تلقائياً من قبل الجهاز لضمان عدم الرجوع إليها في القراءات اللاحقة.

**تقدير ارتفاع النبات (سم)**

تم قياس ارتفاع نباتات الطماطم (عمر النباتات 45 يوما) وكان ذلك عن طريق أُخذ ثلاثة نباتات من كل مكرر وفصل المجموع الجذري عن الخضري، ثم قيست ارتفاع المجموع الخضري باستخدام شريط القياس من منطقة اتصال كل نبات مع الجذر والى أعلى قمة من النبات.

**التحليل الإحصائي**

نفذت تجارب هذه الدراسة بتصميم تام التعشية Completely Randomized Design (CRD) وأُجري تحليل التباين حسب البرنامج SPSS وتمت المقارنة بين المتوسطات حسب اختبار الفرق المعنوي الأصغر Least Significant Deference (LSD) عند مستوى احتمالية 0.05[14].

**النتائج والمناقشة:**

**عزل فطريات داخل النبات من أجزاء النبات المختلفة المزروعة في مناطق مختلفة**

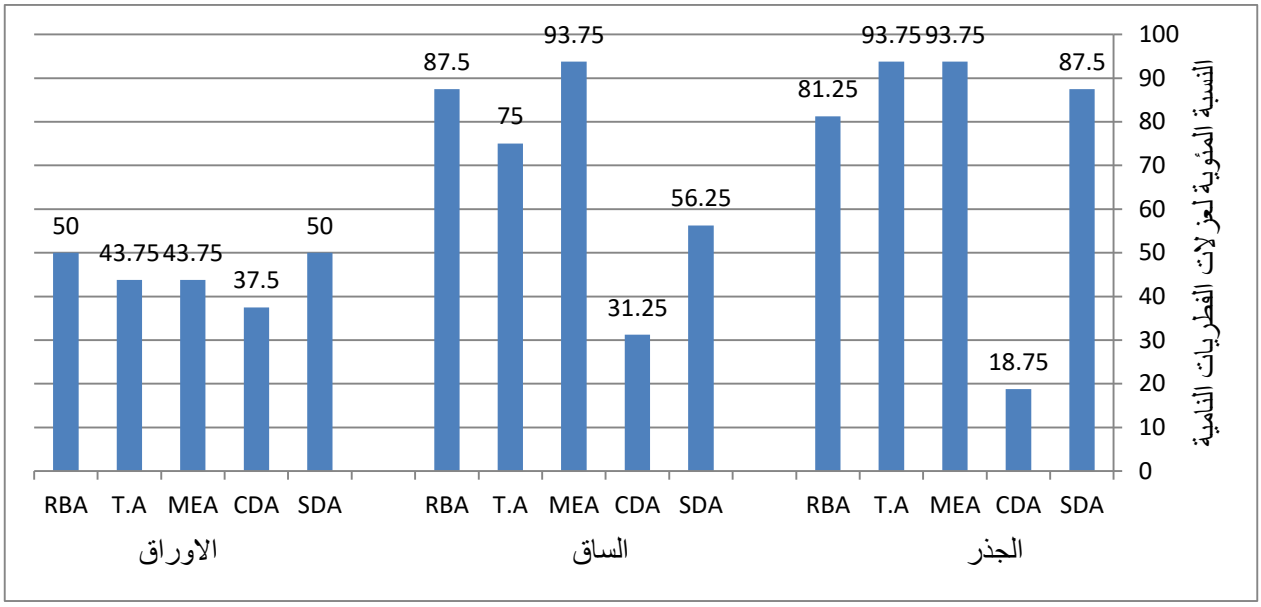
بينت نتائج الشكل 1عزل الفطريات من داخل أنسجة نباتات الطماطم المزروعة في أحد حقول قضاء بيجي، أن الأوساط الغذائية MEA و T.A حققت تفوقاً معنوياً على باقي الأوساط الأخرى على مستوى منطقة الجذر إذ بلغت نسبة نمو الفطريات المعزولة 93.75% بينما كانت أدنى نسبة نمو في الوسط CDA إذ بلغت 18.75%. أما على مستوى منطقة الساق، حقق الوسط MEA تفوقاً معنوياً على باقي الأوساط الأخرى وبنسبة نمو بلغت 93.75% بينما كانت أدنى نسبة نمو في الوسط CDA إذ بلغت 31.25%. أما نسبة نمو الفطريات المعزولة من الأوراق إذ حققت الأوساط RBA وSDA أعلى نسبة نمو للفطريات بلغت 50%. في حين كانت أدنى نسبة نمو للفطريات داخل النبات على الوسط CDA إذ بلغت 37.5%.

يوضح الشكل 2 عزل الفطريات من داخل أنسجة نباتات الطماطم المزروعة في أحد حقول قضاء العلم، إذ حقق الوسط الزرعي SDAأعلى نسبة نمو للفطريات من منطقة الجذر إذ بلغت 37.5%، في حين كانت أدنى نسبة نمو على الأوساط CDA و MEAإذ بلغت 18.75%. أما نتائج العزل من منطقة الساق فقد كانت أعلى نسبة نمو على الوسط SDA إذ بلغت 93.75% وقد حققت تفوقاً معنوياً على باقي الأوساط الأخرى بينما كانت أدنى نسبة نمو على الوسط CDA والتي بلغت 37.5%. أما بالنسبة

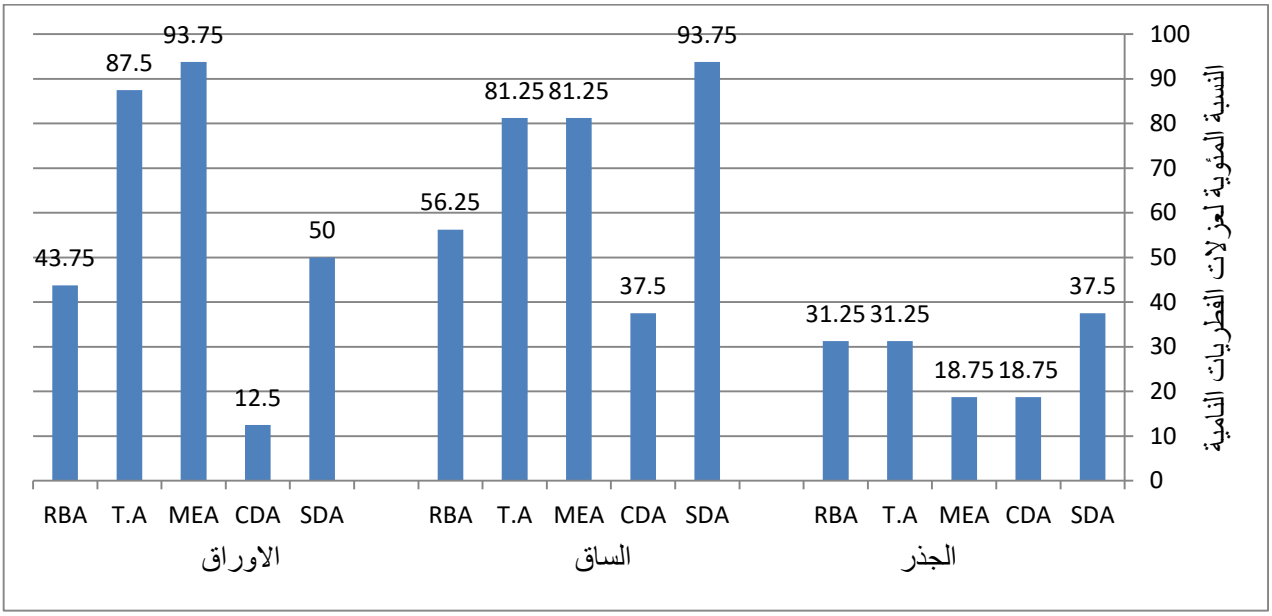
لنتيجة العزل من الأوراق فقد كانت أعلى نسبة نمو على الوسط MEA إذ بلغت 93.75% في حين أن أدنى نسبة نمو للفطريات المعزولة كانت على الوسط CDA إذ بلغت 12.5%.

كما توضح نتائج عزل الفطريات المدرجة في الشكل 3 أن أعلى نسبة نمو فطري من جذور نباتات المطاطة المعزولة من أحد حقول قضاء الشرقاط سجلت على الوسط T.A إذ بلغت 37.5% بينما كانت أدنى نسبة نمو على الأوساط CDA وMEA إذ بلغت 12.5%. أما على مستوى منطقة الساق، حقق الوسط MEA تفوقاً معنوياً على باقي الأوساط الأخرى بنسبة نمو بلغت 81.25% في حين كانت أدنى نسبة نمو على الأوساط RBA و CDA إذ بلغت 25 و18.75 % على التتابع. وأعطت نتائج العزل من الأوراق أعلى نسبة للوسط T.A بلغت 43.75% بينما كانت أدنى نسبة نمو للفطريات على الوسط RBA، إذ بلغت 6.25%.

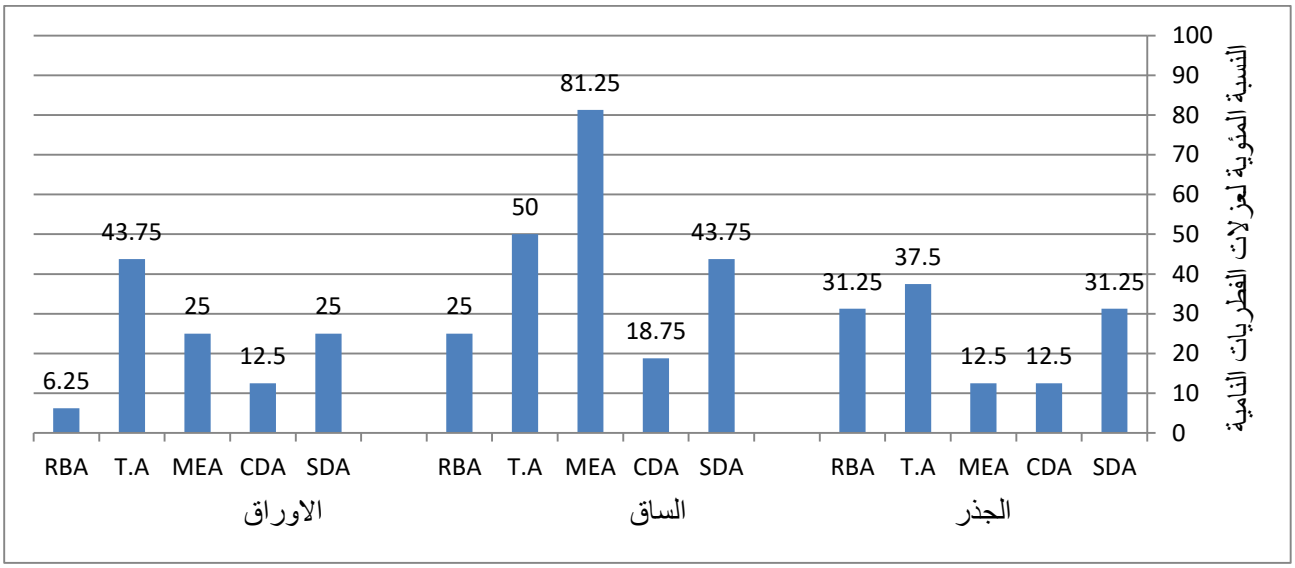
ولوحظ من خلال النتائج تباين في نسب وجود عزلات فطريات داخل النبات باختلاف المنطقة الجغرافية من جهة وباختلاف الجزء النباتي فضلاً عن اختلاف نوع الوسط الغذائي ويمكن تفسير ذلك بوجود أنواع مختلفة من الفطريات لها متطلبات غذائية مختلفة حسب نوع الوسط الغذائي [15-16]. كما ويمكن أن تفسر أسباب ذلك الاختلاف في تنوع عزلات فطريات داخل النبات إلى تأقلم عزلات معينة دون غيرها تبعا لبيئة المنطقة الجغرافية من حيث المناخ ونوع التربة ومحتواها من العناصر الغذائية والتي لها تأثير على كل من النبات المضيف والفطر داخله وبالتالي تعد عملية العزل من أجزاء نباتية مختلفة على أوساط غذائية مختلفة من نباتات الطماطم مزروعة بمناطق جغرافية مختلفة مهمة جداً لغرض الحصول على أكبر عدد من أنواع الفطريات داخل النبات.




**شكل 1:** النسب المئوية لوجود العزلات الفطرية داخل جذر وساق وأوراق نباتات الطماطم المزروعة في احد حقول قضاء بيجي – محافظة صلاح الدين ($LSD_{0.05}$= 0.61)




**شكل 2:** النسب المئوية لوجود العزلات الفطرية داخل جذر وساق وأوراق نباتات الطماطم المزروعة في احد حقول قضاء العلم – محافظة صلاح الدين (LSD $_{0.05}$= 0.55)

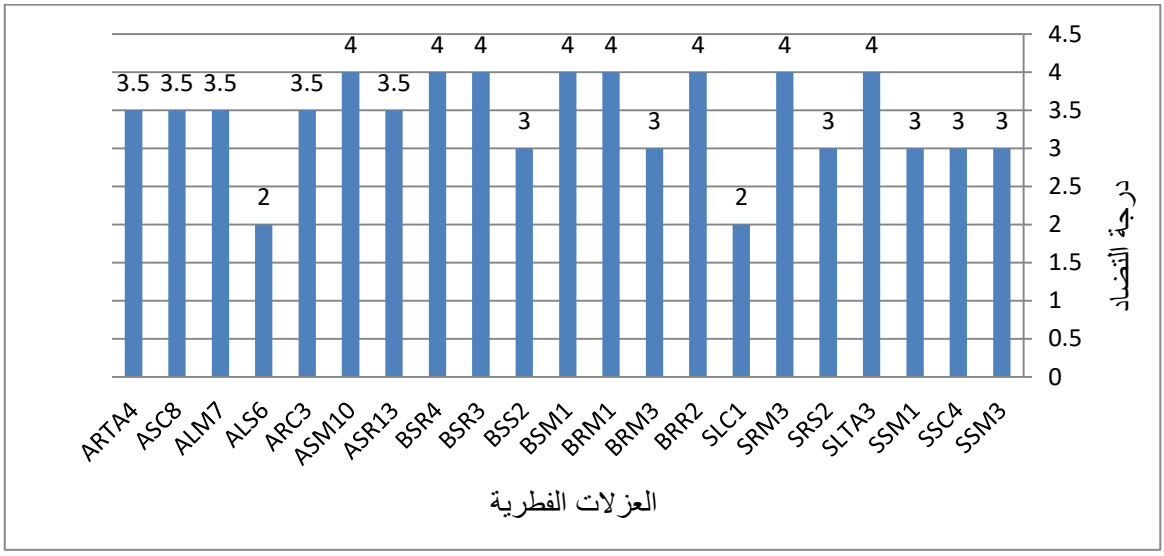



**شكل 3:** النسب المئوية لوجود العزلات الفطرية داخل جذر وساق وأوراق نباتات الطماطة المزروعة في أحد حقول قضاء الشرقاط – محافظة صلاح الدين (LSD $_{0.05}$= 0.53)

**اختبار التضاد المباشر ضد الممرضين *P.aphanidermatum* و*S.sclerotiorum***

**1.فعالية تضاد عزلات الفطريات داخل النبات ضد الممرض *P.aphanidermatum***

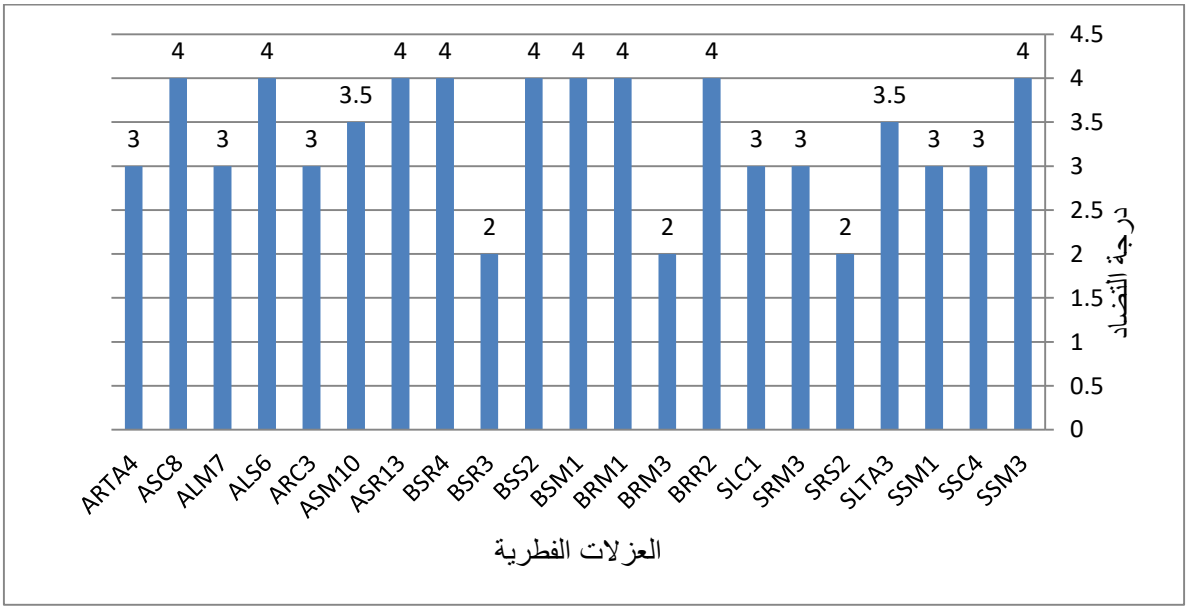
بينت النتائج في الشكل 4 وجود فروق عالية المعنوية للفطريات داخل النبات Endophytic fungi في تأثيرها على نمو الممرض *P.aphanidermatum*، إذ أظهرت العزلتين SLC1 وALS6 أعلى فعالية تضاد تجاه الممرض *P.aphanidermatum* إذ بلغت درجة التضاد 2 في المزرعة المزدوجة وبنسبة تثبيط بلغت 75% وأظهرت تفوقاً معنوياً عن بقية الفطريات الأخرى . تليها العزلات SSM1 و SSC4 و SSM3 و SRS2 وBRM3 وBSS2 بدرجة تضاد 3 وبنسبة تثبيط 50% في المزرعة المزدوجة. في حين أن العزلات الفطرية ASR13 وARC3 و ASC8 وALM7 وARTA4 أظهرت درجة تضاد أقل وبنسبة 37.5% ضد نمو الممرض، أما العزلات الفطرية SLTA3 وSRM3 وBRR2 وBRM1 وBSM1 وBSR3 وASM10 وBSR4 حققت أدنى نسبة تثبيط وبدرجة تضاد 4 إذ بلغت 25 % في المزرعة المزدوجة.




**شكل 4:** درجات تضاد عزلات الفطريات داخل النبات ضد ***P.aphanidermatum*** ($LSD_{0.05} = 0.21$)

**2.فعالية التضاد لعزلات الفطريات داخل النبات ضد الممرض *S.sclerotiorum***

بينت نتائج الشكل 5 وجود فروق عالية المعنوية للفطريات داخل النبات في تأثيرها على نمو الفطر الممرض *S. sclerotiorum* ، إذ أظهرت العزلات BSR3 و BRM3 و SRS2 أعلى فعالية تضاد تجاه الممرض *S. sclerotiorum* إذ بلغت درجة التضاد 2 في المزرعة المزدوجة وبنسبة تثبيط بلغت 75% وأظهرت تفوقاً معنوياً عن بقية العزلات الأخرى تليها العزلاتSSM1 وARC3 وSRM3 وSLC1 و SSC4 و ARTA4 وALM7 بدرجة تضاد3 وبنسبة تثبيط 50% في المزرعة المزدوجة في حين أن العزلات الفطرية SLTA3 وASM10 أظهرت درجة تضاد أقل و بنسبة 37.5% ضد نمو الممرض، أما العزلات الفطرية ASC8 وBRR2 وSSM3 وBRM1 وBSM1 وASR13 و ALS6 وBSR4 وBSS2 حققت أدنى درجة تضاد 4 وبنسبة نمو 25% في المزرعة المزدوجة. شخصت عزلة الفطر الأكفأ في تثبيط الفطريات الممرضة إلى مستوى النوع *F. fujikuroi* ARC3 حسب الاختبارات الكيموحيوية والجزيئية على تتابعات الجين ITS1(5.8 rRNA) [17].




**شكل 5**: درجات تضاد عزلات الفطريات داخل النبات ضد الفطر *S.sclerotiorum* ($LSD_{0.05}= 0.18$)

يلاحظ من خلال النتائج ان العزلات الفطرية التي اعطت اعلى درجات التضاد ضد الفطر الممرض *P.aphanidermatum* لم تعطي تضاداً ضد الفطر الممرض *S.sclerotiorum* والعكس صحيح ، لذا اختيرت عزلة الفطر *F. fujikuroi* ARC3 وذلك لتحقيقها تضادا لكلا الممرضين .

**تأثير المعاملة بالعزلة ARC في محتوى الكلوروفيل (سباد)**

توضح نتائج الجدول 1 إلى تأثير الفطر *F. fujikuroi* ARC3 في محتوى الكلوروفيل لنباتات الطماطم، إذ سجلت معاملة الفطر ARC (ري+ رش تركيز $10^{10}$كونيدة/مل) أعلى محتوى كلوروفيل بوجود الممرضين للمرضين *P. aphanidermatum* و*S. sclerotiorum* والتي بلغت 36.74 و34.66 سباد على التتابع، تليها معاملة الفطر (ري+ رش تركيز $10^{8}$ كونيدة / مل) بمحتوى كلوروفيل قد بلغ 36.22 و33.42 سباد على التتابع. مقارنةً بأدنى مستويات الكلوروفيل في معاملة السيطرة للممرضين *P. aphanidermatum* و*S. sclerotiorum* فقط إذ بلغت 25.04 و23.21 سباد على التتابع.

أن أهم عامل لارتفاع الكلوروفيل وجود حاملات الحديد Siderophores بفعل الفطريات داخل النبات ولهذا العنصر دور مهم في محتوى الكلوروفيل [16]. وكذلك يعزى ارتفاع محتوى الكلوروفيل في جميع المعاملات الفطرية مقارنةً بمعاملة السيطرة إلى أن فطريات داخل النبات تعمل على تعزيز نمو النبات وزيادة محتوى الكلوروفيل من خلال زيادة إنتاج الهرمون النباتي أندول حامض الخليك[18]. إذ تستحث فطريات داخل النبات مسارات التربتوفان tryptophan المسؤولة عن تكوين الهرمون أندول حامض الخليك IAA بكميات كبيرة وبذلك ينعكس إيجاباً على تحسين النمو الخضري. و في فطريات أخرى تعتمد على مسارات أخرى مثل مسار IPA وهو الأكثر استخداما للتخليق الحيوي لهرمون أندول حامض الخليك IAA [19-20].

**جدول1:** تأثير المعاملة بالفطر *F.fujikuroi* ARC3 في محتوى الكلوروفيل (سباد) لنبات الطماطة صنف (شمس الأصيل) تحت ظروف الإصابة بالممرضين *P. aphanidermatum* و *S. sclerotiorum* .

| المعاملات | النبات السليم | *P.aphanidermatum* | *S. sclerotiorum* | معدل المعاملات |
|---|---|---|---|---|
| ري تركيز $10^{6}$ كونيدة/مل | 38.77 | 32.32 | 27.03 | 32.70 |
| ري تركيز $10^{8}$ كونيدة/مل | 41.55 | 32.61 | 27.65 | 33.93 |
| ري تركيز $10^{10}$ كونيدة/مل | 42.31 | 33.40 | 28.20 | 34.63 |
| رش تركيز $10^{6}$ كونيدة/مل | 35.61 | 28.70 | 28.77 | 31.02 |
| رش تركيز $10^{8}$ كونيدة/مل | 37.36 | 29.84 | 30.56 | 32.58 |
| رش تركيز $10^{10}$ كونيدة/مل | 38.21 | 31.52 | 31.92 | 33.88 |
| ري+ رش تركيز $10^{6}$ كونيدة/مل | 42.87 | 34.58 | 33.08 | 36.84 |
| ري+ رش تركيز $10^{8}$ كونيدة/مل | 44.43 | 36.22 | 33.42 | 38.02 |
| ري+ رش تركيز $10^{10}$كونيدة/مل | 45.72 | 36.74 | 34.66 | 39.04 |
| السيطرة | 33.76 | 25.04 | 23.21 | 27.33 |
| معدل حالة الإصابة | 40.05 | 32.09 | 29.85 | |
| **LSD 0.05** | **المعاملات =1.12** | **حالة الإصابة =0.63** | **المعاملات × حالة الإصابة = 1.76** | |

**تأثير المعاملة بالعزلة ARC3 في إرتفاع (سم) النبات**

تشير نتائج الجدول 2 إلى تأثير الفطر *F. fujikuroi* ARC3 في ارتفاع نباتات الطماطم، فقد أعطت المعاملة (ري+ رش تركيز $10^{10}$كونيدة/مل) أعلى معدل ارتفاع بوجود *P. aphanidermatum* و*S. Sclerotiorum* والتي بلغت 39.63 و37.73 سم على التتابع، تليها معاملة الفطر (ري+ رش تركيز $10^{8}$ كونيدة/مل) إذ بلغت معدلات الارتفاع 39.11 و 37.08سم على التتابع، مقارنةً بأدنى مستويات الارتفاع في معاملة السيطرة للممرضين *P. aphanidermatum* و *S. sclerotiorum* والتي بلغت 21 و24 سم على التتابع. ويعود سبب زيادة ارتفاع النباتات المعاملة بالفطر بالمقارنةً مع معاملة السيطرة إلى دور الفطريات داخل النبات في إنتاج منظمات النمو النباتية مثل الجبرلينات والأوكسينات والسايتوكاينينات وزيادة كفاءة امتصاص ونقل المغذيات وبذلك يعزز من نمو النبات [21-22]، ويساهم الأوكسين أندول حامض الخليك والجبريلين في انقسام الخلايا وتضخمها واستطالتها مما يؤدي إلى زيادة طول النبات [23].

جدول 2: تأثير المعاملة بالفطر *F.fujikuroi* ARC3 في إرتفاع (سم) نبات الطماطم صنف) شمس الأصيل) تحت ظروف الإصابة بالممرضين*P. aphanidermatum* و *S. sclerotiorum*.

| المعاملات | النبات السليم | *P.aphanidermatum* | *S. sclerotiorum* | معدل المعاملات |
|---|---|---|---|---|
| ري تركيز $10^6$ كونيدة/مل | 36 | 33.91 | 30.33 | 33.41 |
| ري تركيز $10^8$ كونيدة/مل | 39 | 35 | 30.80 | 34.93 |
| ري تركيز $10^{10}$ كونيدة/مل | 41 | 36 | 31.04 | 36.01 |
| رش تركيز $10^6$ كونيدة/مل | 33 | 30 | 32.51 | 31.83 |
| رش تركيز $10^8$ كونيدة/مل | 33.83 | 32 | 33.39 | 33.07 |
| رش تركيز $10^{10}$ كونيدة/مل | 35 | 33.12 | 35.14 | 34.42 |
| ري+رش تركيز $10^6$ كونيدة/مل | 40 | 37 | 35.68 | 37.56 |
| ري+رش تركيز $10^8$ كونيدة/مل | 43 | 39.11 | 37.08 | 39.73 |
| ري+رش تركيز $10^{10}$كونيدة/مل | 45 | 39.63 | 37.73 | 40.78 |
| السيطرة | 33 | 21 | 24 | 26 |
| معدل حالة الإصابة | 37.88 | 33.67 | 32.77 | |
| LSD 0.05 | المعاملات =0.51 | حالة الإصابة =0.31 | المعاملات × حالة الإصابة=1.03 | |

**تأثير المعاملة بالعزلة ARC3 في نسبة الإصابة المرضية (%) للنبات**

تشير نتائج الجدول 3 إلى تأثير *F. fujikuroi* ARC3 في نسبة الإصابة المرضية للطماطم، إذ سجل أعلى تأثير للفطر في خفض نسبة الإصابة في معاملة الفطرARC3 (ري+ رش تركيز$10^{10}$كونيدة/مل) لكل من الممرضين *P. aphanidermatum* و*S. Sclerotiorum* والتي بلغت15.14 و19.27% على التتابع، كما أعطت المعاملة (ري+ رش تركيز$10^8$ كونيدة/مل) أعلى تأثير في خفض نسبة الإصابة إذ بلغت17.08 و22.63%على التتابع، مقارنةً بأدنى تأثير للفطر في خفض نسبة الإصابة في معاملة السيطرة للممرضين *P. aphanidermatum* و*S. sclerotiorum* والتي بلغت 86.83 و78.71% على التتابع. أما معاملات النباتات السليمة فلم تسجل فيها أي نسبة إصابة بالفطريات الممرضة نتيجة عدم تلقيحها بالممرضات. ويعزى هذا إلى أن تثبيط المرض يرجع بصورة رئيسية إلى أن فطريات داخل النبات تفرز العديد من المواد المثبطة لنمو الفطريات الممرضة منها حاملات الحديد Siderophores وسيانيد الهيدروجين HCN وحامض السالسليك salicylic acid وأوكسيد النتريك nitric oxide والهرمون النباتي أندول حامض الخليك IIA وباقي المركبات الفينولية وجميعها تمنع تطور الأعراض وتقلل من حدوث المرض[24-25].

**جدول 3:** تأثير المعاملة بالفطر *F.fujikuroi* ARC3 في نسبة الإصابة المرضية (%) لنبات الطماطم صنف (شمس الأصي) تحت ظروف الإصابة بالممرضين *P. aphanidermatum* و *S. sclerotiorum* .

| معدل المعاملات | *S. sclerotiorum* | *P.aphanidermatum* | النبات السليم | المعاملات |
|---|---|---|---|---|
| 23.63 | 47.60 | 23.31 | 0.00 | ري تركيز $10^{6}$ كونيدة/مل |
| 21.31 | 43.32 | 20.61 | 0.00 | ري تركيز $10^{8}$ كونيدة/مل |
| 19.40 | 39.77 | 18.43 | 0.00 | ري تركيز $10^{10}$ كونيدة/مل |
| 26.72 | 27.16 | 53.00 | 0.00 | رش تركيز $10^{6}$ كونيدة/مل |
| 24.09 | 24.08 | 48.19 | 0.00 | رش تركيز $10^{8}$ كونيدة/مل |
| 21.87 | 21.30 | 44.33 | 0.00 | رش تركيز $10^{10}$ كونيدة/مل |
| 13.97 | 21.72 | 20.21 | 0.00 | ري+رش تركيز $10^{6}$ كونيدة/مل |
| 13.23 | 22.63 | 17.08 | 0.00 | ري+رش تركيز $10^{8}$ كونيدة/مل |
| 11.47 | 19.27 | 15.14 | 0.00 | ري+رش تركيز $10^{10}$ كونيدة/مل |
| 55.18 | 78.71 | 86.83 | 0.00 | السيطرة |
| | 34.55 | 34.71 | 0.00 | معدل حالة الإصابة |
| المعاملات × حالة الإصابة=1.83 | | حالة الإصابة=0.66 | المعاملات=1.41 | LSD 0.05 |

## References


1. Bhowmik, D., Kumar, K. S., Paswan, S., & Srivastava, S. (2012). Tomato-a natural medicine and its health benefits. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, 1(1), 33-43.
2. FAOSTAT (2018), "Production Crops Area harvested / Production quantity – Tomatoes, FAO Statistics online database, Food and Agriculture Organization, Rome,www.fao.org/faostat/en .
3. مديرية الإحصاء الزراعي. (2019). الجهاز المركزي للإحصاء. العراق. http://www.cosit.gov.iq/documents/agriculture/agri
4. Pawar, B. T. (2014). Report of bacterial diseases of tomato from Marathwada region of Maharashtra, India. *Research Journal of Recent Sciences*, *3*(ISC-2013)), 302-304.
5. Horst, R. K. (Ed.). (2013). Westcott's plant disease handbook. Springer Science & Business Media.
6. Reis, E. M., & Tomazini, S. L. (2005). Viability of *Sclerotinia sclerotiorum* sclerotia at two depths in soil.Summa Phytopathologica, 31, 97-99.
7. Al-Sadi, A. M., Al-Masoodi, R. S., Al-Ismaili, M., & Al-Mahmooli, I. H. (2015). Population structure and development of resistance to hymexazol among Fusarium solani populations from date palm, citrus and cucumber. Journal of Phytopathology, 163(11-12), 947-955.
8. Huang, L. Q., Niu, Y. C., Su, L., Deng, H., & Lyu, H. (2020). The potential of endophytic fungi isolated from cucurbit plants for biocontrol of soilborne fungal diseases of cucumber. *Microbiological research*, *231*, 126369.
9. Strobel, G. 2018. The emergence of endophytic microbes and their biological promise. J. Fungi 4 (2). Available from: https://doi.org/10.3390/jof4020057
10. Bamisile, B.S., Dash, C.K., Akutse, K.S., Keppanan, R., Wang, L., 2018. Fungal endophytes: beyond herbivore management. Front. Microbiol. 9, 544. Available from: https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00544.
11. Hassan, A.A. and Hassan,A.A.(2019). Bio-synthesis of silver nanoparticles by an edible mushroom Pleurotus sp and evaluation of its efficacy in control of damping off disease on wheat. College of Agriculture- University of Tikrit - IRAQ.
12. Bell, D.K., Wells, H.D. & Markham, G.R. (1982). In vitro antagonism of *Trichoderma* spp. against six fungal plant pathogens. Phytopathology 72:379-382.

13. Dickson, M. H. and Petzoldt, R. (1996). Straw test for resistance to white mold in beans.Annual Report of the Bean Improvement Cooperative . 39: 142-143.

14. الراوي، خاشع محمود وعبدالعزيز محمد خلف الله، 1980. تصميم وتحليل التجارب الزراعية. دار الكتب للطباعة والنشر، جامعة الموصل.

15. Murphy, B. R., Batke, P. S., Doohan, F. M., & Hodkinson, T. R. (2015). Media Manipulations and the Culture of Beneficial Fungal Root Endophytes. International Journal of Biology; Vol. 7, No. 3;94-102.

16. Rajini, S. B., Nandhini, M., Udayashankar, A. C., Niranjana, S. R., Lund, O. S., Prakash, H. S. (2020). Diversity, plant growth-promoting traits, and biocontrol potential of fungal endophytes of *Sorghum* bicolor. Plant pathology., vol.69, no.4, pp. 642-654.

17. حسن، عبدالله عبدالكريم و ماجد، عمر وائل (2020) التشخيص الجزيئي لعزلات الفطريات داخل نباتات الطماطة واختبار كفاءتها في مقاومة بعض الامراض الفطرية و استحثاث مقاومة النبات وتحسين معاير نموه الخضرية والانتاجية. مرسل للنشر الى مجلة وقاية النبات العربية.

18. Khan, A.L., Kang, S.-M., Dhakal, K.H., Hussain, J., Adnan, M., Kim, J.-G. and Lee, I.-J. 2013. Flavonoids and amino acid regulation in *Capsicum annuum* L. by endophytic fungi under dierent heat stress regimes. Sci. Hortic. 155, 1–7

19. Hilbert M. 2012. Biochemical and molecular analyses of the biosynthesis pathway of the indole derivatives in *Piriformospora indica* [dissertation]. Marburg: Philipps-Universität Marburg.

20. Mehmood A., Hussain A. , Irshad M., Khan N., Hamayun M., Ismail, Afridi S.G. & Lee I. (2018). IAA and flavonoids modulates the association between maize roots and phytostimulant endophytic *Aspergillus fumigatus* greenish, Journal of Plant Interactions, 13:1, 532-542, DOI: 10.1080/17429145.2018.1542041

21. Jaber, L.R. and Enkerli, J., 2017. Fungal entomopathogens as endophytes: can they promote plant growth? Biocontr. Sci. Technol. 27 (1), 28-41.

22. Lopez, D.C. and Sword, G.A. 2015. The endophytic fungal entomopathogens *Beauveria bassiana* and *Purpureocillium lilacinum* enhance the growth of cultivated cotton (*Gossypium hirsutum*) and negatively affect survival of the cotton bollworm (*Helicoverpa zea*). Biol. Contr 89, 53-60.

23. Xu L, Wu C, Oelmüller R and Zhang W.(2018). Role of Phytohormones in *Piriformospora indica*-Induced Growth Promotion and Stress Tolerance in Plants: More Questions Than Answers. *Front Microbiol*.;9:1646. Published 2018 Jul 31. doi:10.3389/fmicb.2018.01646

24. Potshangbam M, Devi SI, Sahoo D and Strobel GA (2017) Functional characterization of endophytic fungal community associated with *Oryza sativa* L. and *Zea mays* L. Front Microbiol 8:325.

25. Chowdhary, K. and Sharma, S. Plant Growth Promotion and Biocontrol Potential of Fungal Endophytes in the Inflorescence of *Aloe vera* L.. Proc. Natl. Acad. Sci., India, Sect. B Biol. Sci. (2020). https://doi.org/10.1007/s40011-020-01173-3

IRAQI Academic Scientific Journals

Samarra Journal of Pure and Applied Science

SJPAS

www.sjpas.com

ISSN:2663-7405

# Isolation and characterization of endophytic fungi and evaluation of their efficiency in control of white rot and damping off diseases on Tomato

**Abdullah Abd Al-kareem Hassan[1], Omar Wael Majid[2*]**

Department of Plant Protection, College of Agriculture, University of Tikrit, Iraq

## Article Information

Received: 21/09/2020
Accepted: 20/11/2020

**Keywords:**
*Fusarium fujikuroi ARC, Pythium aphanidermatum, Sclerotinia sclerotiorum*

## Abstract

The study dealt with isolating fungi inside the plant from the root and shoot systems of tomato plants taken from three different regions including Baiji, Al-Alam and Sharqat within Salah al-Din province. Anti-fungal tests were performed with *Sclerotinia sclerotiorum* and *Pythium aphanidermatum* using the double culture method. The results indicates the highest inhibition of the two endophyte fungal isolates, SLC1 and ALS6, against *P.aphanidermatum*, had an inhibition rate of 75%. The fungal isolates BSR3, BRM3 and SRS2 achieved the highest antagonist activity against *S.sclerotiorum*, with an inhibition rate of 75% in double culture. The fungal isolate that gave consensus against the fungal pathogens at the type level *Fusarium fujikuroi* ARC3. The most efficient fungal isolate was identified at the species level *Fusarium fujikuroi* ARC3 and the results of the field experiment showed the effect of this fungus on vegetative markers to superiority of the chlorophyll content of tomato plants in the treatment of the treatment of fungus ARC3 (irrigation + spraying concentration of $10^{10}$ conidia/ml) in the presence of pathogens *P. aphanidermatum* and *S. sclerotiorum* superior on other treatments in chlorophyll content in tomato plants resulting in 36.74 and 34.66 spad, Sequentially, compared to 25.74 and 23.21 spad in these pathogens alone. The same treatment illustrates the highest of height plant elevation rate. The results cocern the effect of the endophytic fungus ARC3 on the percentage of plant infection in the presence of *P. aphanidermatum* and *S. sclerotiorum* present a significant superiority in reducing the infection rate in the treatment of ARC3 (irrigation + spraying concentration of $10^{10}$ conidia/ml), reaching 15.14 and 19.27%, Sequentially, compared to the highest infection rate of 86.83 and 78.71% for pathogen-only treatments, Sequentially.