مجلة جامعة تكريت للعلوم الزراعية المجلد (16) العدد (4) – (2016)
ISSN-1813-1646

عزل وتشخيص الفطريات المصاحبة لمرض تعفن جذور الباقلاء المتسبب عن الفطر *Rhizoctonia solani* (Kuhn) وانتخاب الأنواع المثبطة للمرض كعوامل مكافحة احيائية

1. مؤشرات المقاومة المستحثة بفعل الفطريات المعزولة وعلاقتها بالمرض

مآرب احمد عواد [1] وعبد الله عبد الكريم حسن
قسم وقاية النبات/ كلية الزراعة / جامعة تكريت

الكلمات المفتاحية:
مرض تعفن جذور، الباقلاء، مؤشرات المقاومة المستحثة، المكافحة الاحيائية، *Rhizoctonia solani*، *Trichoderma harzianum*، *T. viride*

للمراسلة :
عبدالله عبدالكريم حسن
البريد الالكتروني:
Abdullah_has67@yahoo.com

الخلاصة

عزلت وشخصت 16 عزلة من انواع مختلفة من الفطريات المصاحبة لمرض تعفن الجذور في الباقلاء من عدة مناطق من محافظة صلاح الدين ،فضلا عن 4 عزلات للفطر المسبب للمرض *Rhizoctonia. solani* اختيرت اشد العزلات امراضية وهي العزلة R.s.4 بعد تطبيق فرضيات كوخ عليها لغرض تنفيذ تجارب مؤشرات المقاومة المستحثة في نبات الباقلاء بفعل الفطريات المعزولة ضد هذا المرض ، شملت هذه المؤشرات البروتينات المتعلقة بالممرض Pathogen Related Proteins(PRP) والتي تضمنت انزيمات Peroxidase و β-1,3glucanase و Chitinase وانزيم Poly phenol oxidase وانزيم Phenyl alanine ammonia lyaseاظهرت النتائج ان فعالية هذه الانزيمات ارتفعت في نبات الباقلاء عند معاملتها بجميع الانواع الفطرية المعزولة بوجود الممرض *Rhizoctonia. solani* وعدم وجودهوعلى مدة ثلاث مراحل من عمر النبات الاولى بعد اسبوعين من الأنبات والثانية والثالثة بعد اسبوعين واربع اسابيع من المدة الاولى ، سجلت اعلى فعالية لانزيم البيروكسيديز في المرحلة الثالثة من عمر النبات المعامل بالفطر *Trichoderma harzianum* بعدم وجود الفطر الممرض *R.solani* اذ بلغت 7.86 وحدة /ملغ بروتين،اما بوجود الفطر الممرض فقد بلغت اعلى فعالية نوعية من قبل الفطر *Aspergillus oryzae* اذ بلغت 7.61 واظهر الفطر *T.harzianum* اعلى فعالية نوعية لانزيم البيتاكلوكانيز بوجود الفطر الممرض وعدم وجوده اذ بلغت 0.881 و0.852 وحدة /ملغ بروتين ، على التوالي. كما حقق الفطر *T.harzianum* اعلى فعالية نوعية لانزيم الكايتينيز بوجود وعدم وجود الفطر الممرض اذ بلغت 6.867 و6.548 وحدة /ملغ بروتين وقد ادت المعاملة بالفطر نفسه الى زيادة فعالية انزيم Poly phenol oxidase بوجود الفطر الممرضاذ بلغت اعلى فعالية نوعية 1.71 وحدة /ملغ بروتين ، في حين بلغت اعلى فعالية لأنزيم Phenyl alanine ammonia lyase عند المعاملة بالفطر *Trichoderma viride* اذ بلغت 0.191 و 0.161 (وحدة /ملغ بروتين) بوجود وعدم وجود الفطر الممرض على التوالي،كما وبينت النتائج ان جميع الفطريات المعزولة والمصاحبة لنبات الباقلاء قد خفضت من نسبة الأصابة وشدتها بالفطر الممرض *R.solani* وحقق عامل المكافحة الأحيائية *T. harzianum* قدرة عالية في خفض معنوي لنسبة وشدة الأصابة اذ بلغت 13.12% و0.06،على التوالي،ادت الفطريات *T. viride* و*T. harzianum* و *A. oryzae* عند وجودها مع الفطر الممرض الى زيادة الأوزان الجافة للمجموع الخضريلنباتات الباقلاء اذ بلغت 8.14و8.11و8.04غم على التوالي ،مقارنة بمعاملة الفطر الممرض لوحده التي بلغت 3.68غم، كما ادت المعاملة بهذه الفطريات الى زيادة الوزن الجاف للمجموع الجذري لنباتات الباقلاء اذ بلغ 6.71و5.66 و5.13غم للفطريات *T. harzianum* و *A. oryzae* و *T. viride* على التوالي، مقارنة بمعاملة الفطر الممرض*R.solani* لوحده اذ بلغ 2.02 غم.

[1] البحث مستل من رسالة ماجستير للباحث الاول

مجلة جامعة تكريت للعلوم الزراعية المجلد (16) العدد (4) – (2016)
ISSN-1813-1646

Isolation and Identification of Fugi Associated with Root Rot Disease in Broad Bean Caused by *Rhizoctonia solani (*Kuhn) and Select The Disease Repressor Species as Biological Control Agents
1. Induced Resistance Marker by Isolated Fungi and Their Relationship With The Disease

Maareb Ahmed Awad and Abdullah Abdulkareem Hassan
Plant protection Departement / Agriculture College /Tikrit University

Keywords:
root rot disease , broad bean , Induced resistance markers , biological control , *Rhizoctonia solani* , *Trichoderma harzianium*, *T. viride*

Correspondence:
Abdulla A. Hassan
E-mail:
Abdullah_has67@yahoo.com

ABSTRACT

Sixteen isolates of various fungal species associated with root rot disease in broad bean *Vicia faba* were isolated and identified from several regions in Salah Al-din governorate , in addition to 4 isolates of pathogen *Rhizoctonia solani*, the most severe isolate R.s.4 was selected after application of koch hypothesis on it, for study of induced resistance marker in broad bean by the isolated fungi. These markers include Pathogen Related Proteins (PRP); Peroxidase, β-1,3glucanase, Chitinase, Poly phenol oxidase and Phenyl alanine ammonia lyase. The results showed the activity of all these enzymes increased in broad bean treated with all isolated fungi in present and absence of pathogenic fungus *R. solani* along with three stages of plant growth, the first was after 2 weeks of seeds germination,second and third were after 2 and 4 weeks from the first stage.The maximum specific activity of peroxidase was 7.86 unit/mg protein which recorded in the third stage of plant growth that treated with *Trichoderma harzianum* in absence of the pathogen *R.solani* , while the maximum specific activity was 7.61 unit/mg protein which recorded in plants treated with *A.oryzae* in present of the pathogen. *T.harzianum* showed the maximum specific activity of β-1,3glucanase with and without the pathogen resulting in 0.881 and 0.852unit/mg protein,respectively. *T.harzianum* also showed the maximum specific activity of Chitinase with and without the pathogen resulting in 6.867 and 6.584unit/mg protein,respectively.the higher specific activity of Poly phenol oxidase in present of the pathogen was 1.71 unit/mg protein by plants treated with *T.harzianum*, in addition to the maximum specific activities of Phenyl alanine ammonia lyase were 0.191 and 0.161 unit/mg protein by plants treated with *T. viride* in present and absence of pathogenic fungus *R. solani* respectively.the results also showed that all isolated fungi reduce of infection percentage and disease severity, the significant reduction of infection and disease severity were 13.12% and 0,06 by *T. harzianum* .the fungi *T. viride*,*T. harzianum*,and *A. oryzae* in present of the pathogen lead to increase in shoot dry weight (resulting in 8.14,8.11 and 8.04g,compared to 3.68g in the pathogen alone) and root dry weight (resulting in 6.71,5.66 and 5.13g,compared to 2.02g in the pathogen*R.solani* alone).

المقدمــة :

تعد الباقلاء(*ViciafabaeL.*)faba beanمن المحاصيلواسعة الانتشار العائدة للعائلة البقولية Fabaceae التي تحتل المرتبة الثانية بعد العائلة النجيلية من حيث الأهميةوالتي تحتوي بذورها على نسبة بروتين عالية (Natalia وآخرون، 2008) وهو مايزيد من أهمية المحصول لقيمته الغذائية العالية وماتحتويه بذوره من كربوهيدرات فضلاًعن قدرته على تحسين صفات التربة من خلال تثبيته للنايتروجين الجوي في التربة عن طريق العقد الجذرية بالتعايش مع بكتريا (*Rhizobium*SPP.) (Kahalil و Erskine، 1999) فهو يدخل في التعاقب المحصولي بهدف تحسين خواص التربة (Carmen وآخرون، 2005) نظراً لأهمية هذا المحصول فإنه يتعرض ألى العديد من الآفات الزراعية التي تسبب خسائر اقتصادية بالحاصل كالإصابة بالآفات الحشرية والإمراض الفطرية والفيروسية والديدان الثعبانية والنباتات الزهرية المتطفلة، ومن أهم الأمراض الفطرية التي تصيب هذا المحصول هي مرض لفحة الاسكوكايتا ومرض تعفن الجذور وقواعد السيقان وصدا الباقلاء (Allen و Lenne ، 1998 و

ICARDA،2003) ، ويعد مرض تعفن الجذور الناجم عن الفطر *Rhizoctonia solani* من أهم تلك الأمراض والشائعة في العالم ومن ضمنها العراق مسبباً خسائر اقتصادية بهذا المحصول أذ يهاجم الفطر النباتات في جميع مراحل نموها مسببا تعفن البذور وموت البادرات قبل البزوغ وبعده (صالح وبدن ،2000)، وتعفن الجذور وقواعد السيقان (Tu وآخرون ،1996 وجبر ،2000)،وقد أظهرت نتائج المسح الحقلي الذي قام بها جبر (2001) انتشار مرض تعفن الجذور وقواعد السيقان في جميع الحقول التي شملها المسح في محافظات بغداد وديالى وبابل وواسط أذ تراوحت نسبة الإصابة من (3-15%)، وتستخدم لمقاومة هذا المرض عدد من الطرق الفيزياوية والكيمياوية والطرق الإحيائية والأكثر شيوعا هي استخدام المبيدات والمبخرات الكيمياوية ونظرا لخطورة هذه المواد وكلفتها العالية وسميتها على مستوى الإنسان والحيوان فضلا عن تأثيراتها في البيئة فقد لجأت الأبحاث ألى طرق مقاومة أخرى أكثر أمانا ولعل أبرزها المقاومة الإحيائية اذ استخدمت الكائنات الحية كعوامل مقاومة إحيائية(Biological control agents(BCAs للعديد من فطريات التربة الممرضة ومن هذه العوامل الفطر (*Trichoderma* spp) وأنواع عديدة منه استعملت كعوامل مكافحة حيوية قوية ضد فطريات التربة الممرضة (Papavizas، 1985) التي نجحت كبديل للمبيدات الكيميائية (Montealegre وجماعته ،2010)و فطريات المايكورايزا الحويصلية الشجيرية Vescular arbuscular mycorriza مثل : النوع *Glomus intaradices*(El-khallal ،2007) فضلا عنفطريات أخرى مثل (*Paecilomyces lilacinus*) و الفطر *Verticillium bigutatum*(حسين،2010) والفطر *Pleurotus*(حسن وآخرون،2011) إذ تمتلك هذه الفطريات عدداً من الآليات التي تجعلها عوامل مقاومة إحيائية فعالة مثل سرعة نموها ومنافستها على المواد الغذائية والمكان وإفرازها للعديد من المضادات الحيوية والأنزيمات فضلا عن تحفيزها للمقاومة الجهازية في النباتات وتحطيم خلايا المضيف بشكل رئيس من خلال التطفل (Benites واخرون ،2004).

نظرا لأهمية هذا المرض وانتشار المسبب المرضي في القطر بصورة عامة وفيمحافظة صلاح الدين بصورة خاصة ولعدم وجود دراسة مسبقة على مستوىالمحافظة تختص بدراسة الفطريات المصاحبة للمرض وكذلك انتخاب الأنواعالمثبطة للمرض كعوامل مكافحة إحيائية فقد أجريت هذه الدراسة التي تهدف إلى:

1- عزل وتشخيص الفطريات المصاحبة لمرض تعفن جذور الباقلاء من بعض مناطق محافظة صلاح الدين.

2- تقدير بعض مؤشرات المقاومة المستحثة بفعل الفطريات المعزولة وعلاقتها بالمرض.

المواد وطرائق العمل :

نفذ هذا البحث في كلية الزراعة / قسم وقاية النبات في جامعة تكريت للفترة من(1/تشرين الأول/2012-1/تشرين الأول/2013)

عزل وتشخيص الفطريات :

جرى عزل الفطر الممرض *R.solani* في اليوم التالي من جمع العينات من نباتات الباقلاء التي ظهرت عليها أعراض الإصابة بمرض تعفن الجذور وقواعد السيقان إذ أخذت 10عينات من كل منطقة وتم فصل منطقة الساق القريبة من سطح التربة ومنطقة الجذور عن باقي أجزاء النبات عند ارتفاع 5سم فوق منطقة التاج وغسلت الأجزاء النباتية (الجذور)بالماء الجاري لمدة 30 دقيقة ثم تركت لمدة قصيرة لتجف ، قطعت هذه الأجزاء إلى قطع صغيرة بطول 0.5 – 1 سم وعقمت بمحلول هايبوكلورايت الصوديوم (NaOCL)بتركيز1% لمدة 3 دقائق بعدها غسلت بالماء المعقم ثلاث مرات ثم جففت على ورق ترشيح نوع Whatman-N0.4 نقلت 5 قطع إلى أطباق بتري معقمة بقطر 9 سم تحتوي على 15-20 مل من الوسط الزرعي PDA ، كما اجري العزل من التربة بطريقة التخافيف واستخدم التخفيف 10^{-3} وزرعت في الوسك PDA استخدم 5 أطباق لكل عينة و وضعت الأطباق في الحاضنة على درجة حرارة 25±2 ْم مدة 3-5 ايام.

شخصت الفطريات على مستوى النوع اعتماداً على شكل المستعمرة وتركيب الحوامل والأبواغ والتراكيب الأخرى التي يكونها الفطرعلى وفق الأسس التصنيفية المعتمدة ,Booth(1971 وDomasch واخرون 1980).

تحضير لقاح الفطر *Rhizoctonia solani* والفطريات المصاحبة :

نقعت كميات من بذور الدخن المحلي *L. Panicum miliaceum* لمدة 6 ساعات بعدها غسلت جيدا بالماء ومن ثم وضع 50غم منها في دوارق زجاجية سعة 250 مل وأضيف لها 10مل من الماء المقطرلترطيبها وعقمت بجهاز الموصدة عند درجة حرارة 121°م وضغط 1.5 كغم /سم2لمدة ساعة واحدة ونميت عزلات الفطر *R. solani* والفطريات الأخرى على وسط بذور الدخن المحلي *P. miliaceum* اذ لقح بلقاح عزلات الفطر *R. solani* وبقية الفطريات كل على انفراد بمعدل خمسة أقراص قطر 0.5سم لكل عزلة ووضعت الدوارق في الحاضنة على درجة حرارة 25 ± 2°م لمدة (10 ايام) مع مراعاة رج الدوارق كل 2 - 3 يوم لضمان توزيع اللقاح الفطري وعدم تكتله (Dewan،1989).

مؤشرات المقاومة المستحثة في نبات الباقلاء بفعل الفطريات المعزولة وعلاقتها بالمرض:

نفذت هذه التجربة في أصص بلاستيكية سعة 2 كغم، ملئت الأصص بتربة مزيجية معقمة مسبقا بمادة الفورمالين التجاري37% بواقع 5% منه وبعد 7 ايام من التعقيم اجري تهويتها واجريت المعاملات الاتية:

1–التلقيح بـ 1غم من لقاح كل العزلات الفطرية المحمولة على بذور الدخن كل على حده بواقع ثلاثة اصص لكل عزلة مع ترك ثلاث اصص بدون تلقيح (سيطرة).

2– التلقيح بـ 1غم من لقاح كل العزلات الفطرية المحمولة على بذور الدخن كل على حده + التلقيح بـ 1غم من لقاح الفطر *R.solani*الممرض بواقع ثلاثة اصص لكل معاملة مع ترك ثلاثة اصص بدون تلقيح بالفطر الممرض.

بعد التلقيح رطبت الاصص بالماء المقطر المعقم وغطيت بالنايلون لضمان الرطوبة المستمرة وبعد ثلاثة أيام من تلويث التربة زرعت الأصص ببذور الباقلاء الصنف المحلي بعد تعقيمها سطحياً بمحلول هايبوكلورايت الصوديوم10% لمدة 3-2 دقيقة ، وبمعدل 10بذور/اص.

حسبت نسبة الأنبات بعد انبات البذور وظهور البادرات واخذت عينات من الجذور لكل المعاملات على ثلاث مراحل بعد اسبوعين من الأنبات والثانية بعد اسبوعين من المدة الاولى والثالثة بعد اسبوعينمن المدة الثانية لدراسة كل من مؤشرات المقاومة المستحثة المتمثلة بالبروتينات المرتبطة بالممرض PRPs والفينولات الكلية.

حضير المستخلص الأنزيمي:

اخذ 1غم من الجذر لكل معاملة وغسل جيدا وقطع الى قطع صغيرة وتم سحق الجذر في هاون خزفي موضوع في حمام ثلجي وأضيف له 10 مل من محلول الفوسفيت المنظم pH6 ورشح بورق الترشيح وبعدها وضع في أنابيب ونبذت في جهاز الطرد المركزي المبرد درجة 4 م بواقع 10.000 دورة/دقيقة لمدة 20 دقيقة لفصل الراشح عن الراسب وبعدها اخذ الراشح النباتي الذي يمثل المستخلص الأنزيمي .

تقدير إنزيم البيروكسيديز Peroxidase:

قدر انزيم البيروكسيديز حسب طريقة (Hammerschmidt وآخرون ،1982) من خلال قياس الأمتصاصية على طول موجي 470 نانوميتر لخليط التفاعل المكون من 2.5مل محلول بيروكسيد الهيدروجينH_2O_2 و 0.1 مل من المستخلص الأنزيمي لكل معاملة وعرفت الوحدة الأنزيمية بالتغير في الأمتصاصية بمقدار 0.01 لكل دقيقة.

قدرت الفعالية النوعية للأنزيم (وحدة /ملغ بروتين)حسب المعادلة التالية:

$$\text{الفعالية النوعية (وحدة/ملغ بروتين)} = \frac{\text{الفعالية الأنزيمية (وحدة/ مل)}}{\text{تركيز البروتين (ملغ/ مل)}}$$

تقدير إنزيم البيتا-3,1كلوكانيز β-glucanase1,3

قدر إنزيم البيتا كلوكانيز حسب طريقة (Pan واخرون، 1991) اذ يتكون مزيج التفاعل من إضافة 1مل من محلول β-glucan1,3 (المحضر من اذابة 5غم من β-glucan في 100مل بفر pH6) إلى 1مل من المستخلص الأنزيمي ثم حضن المزيج على درجة حرارة 35 م° في حمام مائي لمدة 40 دقيقة ثم يؤخذ 1 مل من المزيج بعد التحضين ويضاف اليه 1مل من محلول DNS(Di nitro salselic acid) ويعقبه التسخين بالحمام المائي على درجة حرارة 100 م لمدة 5 دقائق بعدها اجري تبريد سريع للأنابيب واضيف 2 مل ماء مقطر وقيست الامتصاصية بجهاز المطياف الضوئي على طول موجي540 نلنوميتر، لأستخراج فعالية الأنزيم وحدة /مل تم اعتماد المنحنى القياسي لتراكيز مختلفة من سكر الكلوكوز وتم التعبيرعن الفعالية الأنزيمية بالوحدات اللازمة لتحرير 1 مايكرومول من الكولكوز لكل مل بالدقيقة الواحدة ثم قدرت الفعالية النوعية للأنزيم (وحدة /ملغ بروتين) حسب المعادلة في الفقرة السابقة.

تقدير انزيم الكايتينيز Chitinase

لتقدير هذا الأنزيم اتبعت طريقة (Tweddell واخرون،1994) اضيف 1مل من محلول الكايتين الى 1مل من المستخلص الأنزيمي لكل معاملة وحضن المزيج في حمام مائي على درجة 37 م لمدة ساعتين ونبذت بالطرد المركزي بواقع 2000 دورة بالدقيقة لمدة دقيقتين فقط للتخلص من الشوائب ثم اخذ1 مل من المحلول بعد الطرد المركزي واضيف اليه 1مل من DNS ووضع المزيج في حمام مائي 100 م لمدة 5 دقائق بعدها بردت الأنابيب وقيست الأمتصاصية على طول موجي540 نانوميتر ولأستخراج فعالية الأنزيم وحدة/ مل تم اعتماد المنحنى القياسي لسكر N-acetyl glucoseamine ثم قدرت الفعالية النوعية للأنزيم حسب المعادلة في الأنزيم الأول.

تقدير انزيم Poly phenol oxidase

قدر انزيم بولي فينول اوكسيديز حسب طريقة (Mayer واخرون، 1965)من خلال قياس الأمتصاصية على الطول الموجي 470 نانوميتر لخليط التفاعل المتكون من 2.5 مل من محلول الكاتيكول chatechol المحضر من (اضافة 0.025 مل من إل Chatechol الى 100مل من محلول الفوسفيت المنظم ذو الرقم الهيدروجيني 6) و 0.1 مل من المستخلص الأنزيمي لكل معاملة وعرفت الوحدة الأنزيمية بالتغير الحاصل في الأمتصاصية بمقدار 0.01 لكل دقيقة ثم حسبت الفعالية النوعية للأنزيم حسب المعادلة في الأنزيم الأول.

تقدير انزيم Phenyl alanine- ammonialyase

قدر انزيم Phenyl alanine- ammonialyase حسب طريقة(Assis وآخرون، 2001)اذ يتكون مزيج التفاعل من اضافة 2.5 مل من المحلول المنظم Tris-Base pH8.8 الى 0.5 مل من المستخلص الأنزيمي واضيف اليها 3مل من 1m M Phenyl alanin حضن المزيج لمدة ساعة كاملة على درجة حرارة 35-30 وبعد التحضين اضيف 1مل من حامض HCL المركز و1مل من التولوين حرك المزيج لمدة 30 ثانية ونبذ بالطرد المركزي بسرعة 1000 دورة/دقيقة لمدة 5 دقائق اخذت طبقة

التولوين وقيست الأمتصاصية على طول موجي 290 نانوميتر مع تحضير الكفئ Blank للتولوين فقط لأستخراج فعالية الأنزيم (وحدة/ مل) تم اعتماد المنحنى القياسي لحامض السيناميك Cinamic acid عن طريق، يعبر عن الفعالية الأنزيمية بالوحدات اللازمة لتحرير 1 مايكرومول من حامض السيناميك لكل مل بالدقيقة الواحدة ثم قدرت الفعالية النوعية للأنزيم (وحدة /ملغ بروتين).

تقدير البروتين:

استخدمت طريقة بايوريت لتقدير البروتين في المستخلصات الأنزيمية لمعاملات التجربة حسب طريقة (Terrance، 1977)اضيف 1مل من المستخلص الأنزيمي في انابيب زجاجية ثم اضيف اليها 4 مل من محلول بايوريت مزجت جيدا وحضنت الأنابيب لمدة 20 دقيقة على درجة 37 م وقيست الأمتصاصية على طول موجي 540 نانوميتر. ولأستخراج تركيز البروتين تم اعتماد المنحنى القياسي لتقدير البروتين .

تقدير الفينولات الكلية :

اتبعت الطريقة المذكورة من قبل (Mahadevan و Sridhar،1986) قطع1غم من النسيج النباتي (جذور) الى1سم و وضعت الجذور في 10مل كحول اثيلي تركيز80% في حمام مائي مغلي لمدة 10 دقائق بعدها برد وسحق جيدا بالهاون الخزفي ورشح عبر قطعتي من الشاش ثم اضيف 15 مل كحول 80% وسحق مرة اخرى واكمل الحجم النهائي الى 25 مل. وضع 1مل من المستخلص الكحولي في انبوبة اختبار واضيف1مل من حامض HCL العيارية 0.05 مع اضافة 1مل من محلول ارنو ثم اكمل الحجم إلى 100مل بالماء المقطر) و 10 مل ماء مقطر و 2 مل من محلول هيدروكسيد الصوديوم (4 NaOH%) وتم قياس الأمتصاصية على طول موجي 515 نانوميتر ولأستخراج تركيز الفينولات تم اعتماد المنحنى القياسي لتراكيز مختلفة من الكاتيكول.

تقدير الأوزان الجذرية والخضرية الجافة:

حسب الوزن الجاف للمجموعين الخضري والجذري وفق طريقة Zhang و Krikham (1995)، بعد قلع النباتات غسلت جذورها جيدا اذ فصل المجموع الخضري عن المجموع الجذري من منطقة التاج وغسلت بالماء للتخلص من التربة العالقة بها.ثم جففت الأجزاء الخضرية والجذرية في الفرن الكهربائي (oven) على درجة حرارة 50 ^{o}م ولحين ثبات الوزن ثم استخرج معدل وزن المجموعين الخضري والجذري الجاف (غم).

تقدير نسبة اصابة النباتات:

بعد انتهاء المرحلة الثالثة من التجربة حسبت النسبة المئوية للإصابة كما يلي:

$$\text{\% انبات البذور} = \frac{\text{عدد البذور النابتة}}{\text{عدد البذور المزروعة الكلية}} \times 100$$

تقدير شدة اصابة النباتات:

بعد تقدير نسبة الأصابة قدرت شدة الأصابة لكل المعاملات وتم حساب شدة الإصابة حسب معادلة Mckinney (1923) فيما تم تقدير درجة الأصابة حسب مظهر الأصابة اعتمادا على الدليل الأتي:

الدرجة **مظهر الأصابة**

0 = النبات سليم والمجموع الجذري كبير والجذور بيضاء

1 = تلون بني بسيط على الجذور واصفرار لعدد محدود من الأوراق

2 = تلون الجذور بالكامل مع اصفرار شامل للأوراق

3 = يمتد التلون من الجذور الى قواعد السيقان

4 = موت النبات

شدة الاصابة = عدد النباتات في الدرجة 0×0 + ...عددالنباتات في الدرجة 4×4 /مجموع النباتات المفحوصة×4

النتائج والمناقشة :

بينت نتائج الجدول (1) تأثير الفطريات المصاحبة لنبات الباقلاء في الفعالية النوعية لأنزيم البيروكسيديز Peroxidase (وحدة/ملغ بروتين) بوجود الفطر الممرض *R.solani* وعدم وجوده تفوق الفعالية النوعيةلأنزيم البيروكسيديز Peroxidase في معاملات الفطريات بوجود الفطر الممرض *R.solani* مقارنة بمعاملات الفطريات لوحدها وبين الجدول نفسه أن أعلى فعالية نوعية لأنزيم البيروكسيديز Peroxidase سجلت من قبل الفطريات *T.harzianum* و *T. viride* و *A.oryzae* على التوالي إذ بلغ متوسط الفعالية النوعية لهذا الأنزيم 5.45 و 5.42و 5.42 (وحدة /ملغ بروتين)، على التوالي ، اما فعالية انزيم البيروكسيديز Peroxidase للفطريات المصاحبة بوجود الفطر الممرض *R.solani* فقد أظهرت الفطريات *A.oryzae* و *T. viride* و *T.harzianum* أعلى فعالية انزيمية اذ بلغت 5.86 و 5.63 و 5.57 على التوالي، و أظهرت النتائج أن فعالية انزيم البيروكسيديز Peroxidase كانت أعلاها في المرحلة الثالثة بوجود الفطر الممرض *R.solani* وعدم وجوده إذ بلغت 4.89 و4.37(وحدة /ملغ بروتين)،على التوالي،أما بوجود الفطر الممرض *R.solani* فقد بلغت اعلى فعالية نوعية من قبل الفطر *A.oryzae* بلغت 4.16 و 5.81 و7.61 للمراحل الثلاثة على ،التوالي،.

من خلال النتائج تبين ارتفاع قيمة الفعالية الأنزيمية للفطريات المصاحبة لنبات الباقلاء جميعها مقارنة بمعاملة السيطرة و ربما يعزى السبب في ذلك إلى تحفيز هذه الفطريات على انتاج هذا الإنزيم،كما أكدت دراسات سابقة (Howell ،1999) إذ بين أن بعض العوامل الإحيائية من فطريات وبكتريا حفزت مقاومة النبات عن طريق حث التعبير الجيني لأنزيم البيروكسيديز Peroxidase مما يؤدي الى مقاومة النبات للفطريات الممرضة.

خلال النتائج يلاحظ أن الفطريات جميعها أدت إلى تحفيز إنتاج الأنزيم في نبات الباقلاء عن طريق حث التعبير الجيني لأنزيم Peroxidase مما يؤدي إلى مقاومة النبات للفطريات الممرضة إذ تفوقت الفطريات *T.harzianum* و *T. viride* و *A.oryzae* مقارنة بالفطريات الأخرى، بينما سجلت الدراسة الحالية اول تسجيل للفطر *A.oryzae* في تحفيز المقاومة الجهازية للنبات من خلال ارتفاع فعالية الأنزيم، إن هذه النتائج تتفق مع ما ذكرته دراسات سابقة (ال مراد،2011) إذ بينت قدرة عزلات عامل المكافحة الأحيائية *Trichoderma spp.* في استحثاث المقاومة في نباتات اللوبيا من خلال رفع إنزيم البيروكسيديز peroxidase إذ تفوقت العزلة Tv1 معنويا على بقية العزلات وبلغت فعالية الأنزيم 1.52 وحدة /غم وزن رطب، وهذه النتائج تتفق أيضا مع ماتوصل إليه (Iriti و Faoro , 2003)من أن استحثاث المقاومة ضد المسبب المرضي يعود إلى التأثير في فعاليته انزيم peroxidaseإذ يعمل انزيم البيروكسيديز Peroxidase مع بيروكسيد الهيدروجين في تكسير إنزيمات المسبب المرضي ومنها أنزيم Pectinase ومن ثم تنشيط عملية تحطيم الجدار الخلوي واستحثاث الفايتوالكسينات فضلا عن الدفاعات

التركيبية لتقوية الجدران مثل بناء اللكنين و يتفاعل الإنزيم مع بروتينات الجدار الخلوي لتكوين روابط عرضية ومركبات متعددة مما يزيد من صلابة الجدار ا لخلوي وعدم مقدرة المسبب المرضي من اختراق جدران الخلية وإعاقة تقدمه (Hibar وآخرون، 2007).

ارتفعت الفعالية الأنزيمية بوجود المرض كردٍّ فعل للنبات لأن النبات المصاب بالممرضات يحفز مقاومة النبات فضلا عن دور الفطريات المصاحبة وأن زيادة فاعليته تعطي دلالة على حصول مقاومة في النبات لأمتلاكه فعلاً مضاداً للأحياء المجهرية ، وتتفق هذه النتائج مع كل من (Howell ،1999)، وتتماثل النتائج مع (Elkhallal،2007)إذ بينت أن انزيم Peroxidase ربما يكون أحد أجهزة الدفاع النشطة في النبات التي تستجيب للإصابة بالمسببات المرضية مثل الإصابة بالفطر *F.oxysporium.*

جدول(1) تأثير الفطريات المصاحبة لنبات الباقلاء في الفعالية النوعية لأنزيم البيروكسيديز Peroxidase(وحدة/ملغ بروتين) بوجود الفطر الممرض *R.solani* وعدم وجوده

الفطريات	الفطريات منفردة				الفطريات + الفطر الممرض*R.solani*			
	المرحلة الأولى	المرحلة الثانية	المرحلة الثالثة	متوسط المراحل	المرحلة الأولى	المرحلة الثانية	المرحلة الثالثة	متوسط المراحل
A .flavus	1.80 d	2.90 d	3.41 e	2.70cd	2.51 c	2.88 d	4.16 e	3.18bc
A. niger	2.12 c	2.38 d	4.11 de	2.87cd	2.12 c	3.11 cd	4.23 e	3.15bc
T. harzianum	3.61 a	4.88 ab	7.86 a	5.45 a	3.66 ab	5.18 a	7.88 a	5.57 a
A. oryzae	3.72 a	5.55 a	7.00ad	5.42 a	4.16 a	5.81 a	7.61 a	5.86 a
Rhizopus	0.41 e	0.67 f	1.07 f	0.71 e	0.53 e	1.22 e	1.22	0.99 d
***Aspergillus* sp.**	3.13 b	3.64 c	4.21d	3.66 bc	3.12 b	3.66 c	4.71 d	3.83bc
A.fumigates	2.51 c	2.51 d	4.00 e	3.00 bc	2.50 c	3.11 cd	4.50 de	3.37bc
F. oxysporium	3.33b	4.13 b	4.78 d	4.08 ab	3.42 ab	4.61 b	5.51 c	4.51ab
***Penicillum* sp.**	2.50 c	3.84 c	5.15 cd	3.83 bc	3.17 b	3.84 c	5.22 c	4.07ab
Heleminthosporium	3.33b	3.86 c	4.11 de	3.76 bc	3.33 b	3.86 c	5.12 cd	4.10ab
A. alternate	2.00cd	3.33 c	3.71 e	3.01 bc	3.12 b	4.15 bc	4.76 d	4.01ab
P. italicum	2.22 c	3.76 c	5.07 c	3.68 bc	3.25 b	4.89 b	5.58 c	4.57ab
***Stemophyllium* sp.**	3.45 a	5.55 a	6.17 b	5.05 a	3.76 ab	4.88 b	6.66 b	5.1 a
***Mucor* sp.**	0.86 e	1.80 ef	1.80 f	1.49 de	1.81 d	2.23 d	3.41 f	2.48 c
T. viride	3.36 b	5.76 a	7.14 a	5.42 a	3.36 b	5.77 a	7.77 a	5.63 a
R.solani	2.23 c	3.61 c	4.66 d	3.5 bc	*2.23 c	*3.61 c	*4.66 d	*3.5 bc
Control	0.17 f	0.19 g	0.19 g	0.18 e	0.17 f	0.19 g	0.19 g	0.18 d
متوسط الأنزيم في الفطريات	2.39 b	3.43 a	4.37 a		2.71 b	3.70 a	4.89 a	

تشير الحروف المتشابهه الى عدم وجود فروق معنوية والحروف المختلفة الى وجود فروق معنوية حسب اختبار دنكن متعدد الحدود تحت مستوى 5%.

***القيم تمثل معاملة الفطر *R.solani* فقط وللتجربتين**

بينت نتائج الجدول(2) تأثير الفطريات المصاحبة لنبات الباقلاء في الفعالية النوعية لأنزيم البيتاكلوكانيز β- 1,3glucanase (وحدة/ملغ بروتين) بوجود الفطر الممرض *R.solani*وعدم وجوده تفوق الفعالية النوعيةلإنزيم البيتاكلوكانيز β- 1,3glucanase في معاملات الفطريات بوجود الفطر الممرض *R.solani* مقارنة بمعاملات الفطريات لوحدها وبين الجدول نفسه أن أعلى فعالية نوعية لإنزيم البيتاكلوكانيز β-1,3glucanase سجلت من قبل الفطريات *T.harzianum* و*T. viride* و *A.oryzae* بلغت 0.550 و0.484 و 0.474 (وحدة/ ملغ بروتين) على التوالي، أما فعالية انزيم البيتاكلوكانيز β- 1,3glucanase للفطريات المصاحبة بوجود الفطر الممرض *R.solani* فقد أظهرت الفطريات *T.harzianum* و *A.oryzae* و *T. viride* أعلى فعالية إنزيمية بلغت 0.595 و0.513 و0.510على التوالي، و أوضحت النتائج أن فعالية إنزيم البيتاكلوكانيز β-1,3glucanase كانت اعلاها في المرحلة الثالثة بوجود الفطر الممرض *R.solani* وعدم وجوده إذ بلغت 0.491 و 0.399 (وحدة /ملغ بروتين) على التوالي، مقارنة بالمرحلة الأولى بوجود الفطر الممرض *R.solani* وعدم وجوده إذ

مجلة جامعة تكريت للعلوم الزراعية المجلد (16) العدد (4) – (2016)
ISSN-1813-1646

بلغت 0.185 و0.145 (وحدة /ملغ بروتين)على التوالي، أما فيما يخص التداخل فقد أظهرت النتائج أن فعالية إنزيم البيتاكلوكانيز *β*-1,3glucanase تزداد بزيادة مرحلة الأختبار وأظهر الفطر *T.harzianum* اعلى فعالية نوعية لهذا الإنزيم للفطريات بدون وجود الفطر الممرض *R.solani* بلغت 0.278 و0.521 و 0.852 (وحدة /ملغ بروتين) للمراحل الأولى والثانية والثالثة، على التوالي، أما بوجود الفطر الممرض *R.solani* فقد بلغت أعلى فعالية نوعية من قبل الفطر *T.harzianum* اذ بلغت 0.298 و0.607 و 0.881 (وحدة /ملغ بروتين) للمراحل الثلاثة ،على التوالي،.

جدول(2) تأثير الفطريات المصاحبة لنبات الباقلاء في الفعالية النوعية لأنزيم البيتاكلوكانيز *β*-1,3glucanase (وحدة/ملغ بروتين) بوجود الفطر الممرض *R.solani* وعدم وجوده

الفطريات	الفطريات منفردة				الفطريات + الفطر الممرض *R.solani*			
	المرحلة الأولى	المرحلة الثانية	المرحلة الثالثة	متوسط المراحل	المرحلة الأولى	المرحلة الثانية	المرحلة الثالثة	متوسط المراحل
A .flavus	0.041 e	0.092 f	0.243 g	0.125 d	0.135d	0.164 e	0.637 c	0.312 bc
A. niger	0.111 cd	0.151 fg	0.589 d	0.283 cd	0.117 d	0.356 c	0.648 c	0.378 bc
T. harzianum	0.278 a	0.521 a	0.852 a	0.550 a	0.298 a	0.607 a	0.881a	0.595 a
A. oryzae	0.201 ad	0.431 b	0.792 b	0.474 a	0.256 b	0.482 b	0.801 a	0.513 a
Rhizopus	0.078 e	0.181 e	0.187	0.150 d	0.094 e	0.123 e	0.122 g	0.113 d
Aspergillus sp.	0.118 c	0.189 e	0.319 f	0.206 cd	0.197 c	0.223 d	0.387 e	0.269 cd
A.fumigates	0.109 cd	0.232 d	0.415 e	0.252 cd	0.191c	0.356c	0.481 d	0.342 bc
F. oxysporium	0.227 a	0.176	0.145	0.182 d	0.195 c	0.208 d	0.245 g	0.216 cd
Penicillum sp.	0.065 e	0.165 ef	0.405ef	0.211 cd	0.101 e	0.266 d	0.473 d	0.28 cd
Heleminthosporium	0.135 c	0.221 d	0.121 h	0.159 d	0.230b	0.308 c	0.319ef	0.285 cd
A. alternate	0.259 a	0.288 cd	0.132 h	0.226 cd	0.288 a	0.319 c	0.374 e	0.327 bc
P. italicum	0.172 b	0.220 de	0.352 f	0.248 cd	0.208 c	0.312 c	0.471 d	0.330 bc
Stemophyllium sp.	0.144 bc	0.302 c	0.551 d	0.332 bc	0.213 b	0.419 b	0.666 c	0.437 ab
Mucor sp.	0.102 d	0.117 fg	0.122 h	0.113 d	0.144 c	0.218 d	0.277 f	0.213 cd
T. viride	0.197 b	0.476 b	0.780 b	0.484 ab	0.257 b	0.478b	0.796 b	0.510 a
R.solani	0.161c	0.352c	0.639c	0.384bc	*0.161c	*0.352c	*0.639c	*0.384bc
Control	0.069 e	0.112 fg	0.144 h	0.108 d	0.069 e	0.112fg	0.144 h	0.108d
متوسط الأنزيم في الفطريات	0.145 b	0.248 b	0.399 a		0.185 c	0.311 b	0.491 a	

تشير الحروف المتشابهه الى عدم وجود فروق معنوية والحروف المختلفة الى وجود فروق معنوية حسب اختبار دنكن متعدد الحدود تحت مستوى 5%.

***القيم تمثل معاملة الفطر *R.solani* فقط وللتجربتين**

من خلال النتائج تبين تفوق الفعالية الإنزيمية للفطريات المصاحبة لنبات الباقلاء جميعها مقارنة بمعاملة السيطرة و ربما يعزى السبب في ذلك إلى تحفيز هذه الفطريات على انتاج هذا الإنزيم،واكد كل من (Zheng وآخرون، 2005) أن بعض العوامل الإحيائية من فطريات وبكتريا حفزت مقاومة النبات عن طريق حث التعبير الجيني لإنزيم البيتاكلوكانيز *β*-1,3glucanase مما يؤدي إلى مقاومة النبات للفطريات الممرضة، وخلال النتائج يلاحظ أن الفطريات جميعه أدت إلى تحفيز انتاج الإنزيم في نبات الباقلاء وتفوقت الفطريات *T.harzianum* و *T. viride* و *A.oryzae* مقارنة بالفطريات الأخرى وهذه النتائج تتفق مع ما ذكرته (Karsa وآخرون، 2010) إذ بينوا في دراستهم أن أستخدام الفطر *T.harzianum* لمقاومة الفطر الممرض *R.solani* المسبب لمرض تقرح الساق والقشرة السوداء على درنات البطاطا الذي يسبب تشوها للدرنات أدى إلى استحثاث نوعين من الإنزيمات التي تقوم بتثبيط إنزيمات الفطر الممرض *R.solani* وهي *β*-1,3glucanase و Chitinase

التي كان لها تأثير مثبط للفطر الممرض ،بينما سجلت الدراسة الحالية اول تسجيل للفطر *A.oryzae* في تحفيز المقاومة الجهازية للنبات من خلال ارتفاع فعالية هذا الإنزيم.

ان البيتا– كلوكان هو أحد البوليمرات الموجودة في جدار الخلايا الفطرية ومن ضمنها الفطر *R.solani* عند اصابة النبات بالمسببات المرضية يبدأ النبات بالدفاع عن نفسه عن طريق تنشيط فعل الجين المسؤول عن تصنيع البروتينات المرتبطة بالإمراضية (Dubos واخرون، 2011) ويؤدي انزيم β-1,3glucanase دوراً مهماً في التحليل المائي لهذه المركبات إلى وحدات ابسط (سكريات بسيطة) كلوكوز وسكريات قصيرة القطع مما يضعف الجدار الخلوي للفطر الممرض وبالتالي يضعف نموه.

يبين الجدول(3) تأثير الفطريات المصاحبة لنبات الباقلاء في الفعالية النوعية لأنزيم الكايتينيز Chitinase (وحدة/ملغ بروتين) بوجود الممرض *R.solani*وعدم وجوده تفوق الفعالية النوعيةلإنزيم الكايتينيز Chitinase في معاملات الفطريات بوجود الفطر الممرض *R.solani* مقارنة بمعاملات الفطريات لوحدها، وبين الجدول نفسه أن أعلى فعالية نوعية لإنزيم الكايتينيز Chitinase سجلت من قبل الفطريات *T.harzianum* و*T. viride* و *A.oryzae* إذ بلغ متوسط الفعالية النوعية لهذا الأنزيم 4.153 و 3.865 و 3.587 (وحدة /ملغ بروتين) ،على التوالي ،أما فعالية انزيم الكايتينيز Chitinase للفطريات المصاحبة بوجود الفطر الممرض *R.solani* فقد أظهرت الفطريات *T.harzianum* و *T. viride*و *A.oryzae* اعلى فعالية إنزيمية بلغت 4.621 و4.069 و3.727 على التوالي، و أظهرت النتائج أن فعالية انزيم الكايتينيز Chitinase كانت أعلاها في المرحلة الثالثة بوجود الفطر الممرض *R.solani* وعدم وجوده إذ بلغت 3.591 و 2.653 (وحدة /ملغ بروتين)على التوالي ،مقارنة بالمرحلة الأولى بوجود الفطر الممرض *R.solani*وعدم وجوده إذ بلغت 1.356 و1.286(وحدة /ملغ بروتين)على التوالي، اما فيما يخص التداخل فقد أظهرت النتائج ان فعالية انزيم الكايتينيز Chitinase تزداد بزيادة مرحلة الأختبار واظهر الفطر *T.harzianum* اعلى فعالية نوعية لهذا الأنزيم للفطريات وحدها بدون وجود الفطر الممرض *R.solani* بلغت 2.002 و 3.911 و 6.548 (وحدة /ملغ بروتين) للمراحل الأولى والثانية والثالثة، على التوالي، أما بوجود الفطر الممرض *R.solani* فقد بلغت أعلى فعالية نوعية من قبل الفطر *T.harzianum* بلغت 2.863 و 4.133 و 6.867 (وحدة/ ملغ بروتين) للمراحل الثلاثة على التوالي.

تبين من خلال النتائج ان الفطريات جميعها ادت الى زيادة الفعالية النوعية لأنزيم الكايتينيز مقارنة بالسيطرة ويعزى السبب الى تحفيز هذه الفطريات على انتاج هذا الإنزيم،و أكد (Harman، 2000 و Zarrin واخرون، 2009) أن بعض العوامل الإحيائية من فطريات وبكتريا حفزت مقاومة النبات عن طريق حث التعبير الجيني لأنزيم الكايتينيز Chitinase مما يؤدي الى مقاومة النبات للفطريات الممرضة،كما اكدت دراسات سابقة أن بعض العوامل الإحيائية من فطريات وبكتريا حفزت مقاومة النبات عن طريق حث التعبير الجيني لأنزيم الكايتينيز Chitinase مما يؤدي إلى مقاومة النبات للفطريات الممرضة وخلال النتائج يلاحظ أن جميع الفطريات أدت الى تحفيز انتاج الإنزيم في نبات الباقلاء إذ تفوقت الفطريات *T.harzianum* و *T. viride*و*A.oryzae* مقارنة بالفطريات الأخرى بينما سجلت الدراسة الحالية أول تسجيل للفطر*A.oryzae* في تحفيز المقاومة الجهازية للنبات من خلال ارتفاع فعالية هذا الإنزيم ، ارتفعت الفعالية الأنزيمية بوجود المرض كردٌ فعل للنبات لأن الفطر الممرض يحفز مقاومة النبات فضلا عن دور الفطريات المصاحبة وتتفق هذه النتائج مع ماتوصلت إليه (El-khallal، 2007) إذ بينت إن إصابة نباتات الطماطم بالفطر *F.oxysporum*أدت إلى زيادة فعالية انزيم glucanase *β-1,3* وانزيم Chitinase تدريجيا بأزدياد زمن الأصابة ، وتتفق أيضاً مع ماتوصل إليه (Blade وآخرون،2006) إذ وجد زيادة انزيم Chitinase في نبات البطيخ نتيجة الإصابة بالفطر *F.oxysporum*،إن الكايتين يدخل في تكوين جدران خلايا الفطريات والنيماتودا وهياكل مفصليات الأرجل كونه يعطي صلابة للتركيب البنائي للجدران ويحتوي على نسبة عالية من النتروجين الذي يحتاجه الفطر *T. harzianum* في النمو وبناء البروتوبلازم،لذا يهاجم الفطريات الحاوية على الكايتين ويلتف حول خيوطها الفطرية بشكل ملف ويبدأ بإفراز انزيم

الكايتينيز الذي يحلل خلايا الجدران لغرض امتصاص مكوناتها الداخلية ومن ثم التغذي عليها كونها مصدراً كاربونياً ايضا لنموه وبناء خلاياه ويحصل الفطر *T. harzianum* منها على الكاربون والنتروجين في وقت واحد (Lorito واخرون، 1994).

جدول(3) تأثير الفطريات المصاحبة لنبات الباقلاء في الفعالية النوعية لأنزيم الكايتينيز Chitinase (وحدة/ملغ بروتين) بوجود الفطر الممرض *R.solani* وعدم وجوده

الفطريات	الفطريات منفردة				الفطريات + الفطر الممرض *R.solani*			
	المرحلة الأولى	المرحلة الثانية	المرحلة الثالثة	متوسط المراحل	المرحلة الأولى	المرحلة الثانية	المرحلة الثالثة	متوسط المراحل
A .flavus	1.274 d	1.533 de	3. 464d	2.090 bc	0.841 de	2.458de	4.720 c	2.673 bc
A. niger	1.417 cd	1.723 d	3.266 a	2.135 bc	0.902 d	2.587de	3.803 d	2.430 bc
T. harzianum	2.002 a	3.911 a	6.548 d	4.153 a	2.863 a	4.133 a	6.867 a	4.621 a
A. oryzae	1.841bc	3.604 a	5.318 b	3.587 ab	1.833 b	3.786 b	5.563 b	3.727 ab
Rhizopus	0.525 g	1.294 e	1.446 f	1.088 c	0.911 d	2.023 ef	2.760 e	1.898 cd
***Aspergillus* sp.**	0.871 ef	2.017 cd	2.871 e	1.919 bc	0.703 e	2.116de	3.276 d	2.031 b
A.fumigates	0.506 g	2.649 b	2.829 e	1.994 bc	0.611 e	2.514de	2.811 e	1.978 cd
F. oxysporium	0.593 g	0.694 fg	0.892 g	0.726 c	0.813 d	2.055 ef	2.763 ef	1.877 bc
***Penicillum* sp.**	0.691 f	0.984 f	2.896 e	1.523 c	1.231 c	2.124 e	3.017de	2.124 bc
Heleminthosporium	1.503 c	2.763 b	0.753	1.673 c	1.617 bc	2.881cd	2.813 e	2.437 bc
A. alternate	2.522 a	1.154 ef	1.098fg	1.591 c	1.904 b	2.500de	2.801 e	2.401 bc
P. italicum	1.575 c	2.410 bc	1.763 f	1.916 bc	1.803 b	2.561de	3.12de	2.494 bc
***Stemophyllium* sp.**	1.935 ab	2.866 b	4.744 c	3.181 a	1.807 b	3.134 c	5.120bc	3.353 a
***Mucor* sp.**	0.526 g	0.831 f	1.021fg	0.792 c	0.701 e	1.716 f	2.540 f	1.652 cd
T. viride	2.091	3.633 a	5.872 b	3.865 a	2.508 a	3.816 b	5.883 b	4.069 a
R.solani	1.590c	1.690 d	2.689 e	1.989bc	*1.590c	*1.689 d	*2.689e	*1.989cd
Control	0.416 h	0.540 g	0.503 h	0.486 c	0.416 h	0.540 g	0.503 h	0.486 d
متوسط الأنزيم في الفطريات	1.286 b	2.017 ab	2.653 a		1.356 c	2.507 b	3.591 a	

تشير الحروف المتشابهه الى عدم وجود فروق معنوية والحروف المختلفة الى وجود فروق معنوية حسب اختبار دنكن متعدد الحدود تحت مستوى 5%.

***القيم تمثل معاملة الفطر *R.solani* فقط وللتجربتين**

اظهرت نتائج الجدول (4) الفطريات المصاحبة لنبات الباقلاء في الفعالية النوعية لأنزيم الكايتينيز Chitinase (وحدة/ملغ بروتين) بوجود الفطر الممرض *R.solani* وعدم وجودهتفوق الفعالية النوعية لأنزيم Poly phenol oxidase في معاملات الفطريات بوجود الفطر الممرض *R.solani* مقارنة بمعاملات الفطريات لوحدها ،وبين الجدول نفسه أن أعلى فعالية نوعية لإنزيم Poly phenol oxidase سجلت من قبل الفطريات *R.solani* و *T. viride* و *T. harzianum* ،على التوالي، اذ بلغ متوسط الفعالية النوعية لهذا الأنزيم 1.176 و 1.02 و 0.936 وحدة /ملغ بروتينعلى التوالي، أما فعالية انزيم Poly phenol oxidase للفطريات المصاحبة بوجود الفطر الممرض *R.solani* فقد أظهرت الفطريات *T. harzianum* و *R.solani* و *A.oryzae* أعلى فعالية انزيمية بلغت1.256 و 1.176 و 1.103 على التوالي، و أظهرت النتائج أن فعالية انزيم Poly phenol oxidase كانت أعلاها في المرحلة الثالثة بوجود الفطر الممرض *R.solani* وعدم وجود ه اذ بلغت 0.901 و 0.798وحدة /ملغ بروتين ،على التوالي، أما فيما يخص التداخل فقد أظهرت النتائج أن فعالية انزيم Poly phenol oxidase تزداد بزيادة مرحلة الأختبار واظهر الفطر *R.solani* أعلى فعالية نوعية لهذا الأنزيم بعدم وجود الفطر الممرض *R.solani* بلغت 0.61 و 1.21 و 1.71 وحدة /ملغ بروتين للمراحل الأولى والثانية والثالثة على التوالي، أما بوجود الفطر الممرض

R.solani فقد بلغت أعلى فعالية نوعية من قبل الفطر *T. harzianum* اذ بلغت 0.76 و 1.23 و 1.78 للمراحل الثلاثة على التوالي،.

تبين من خلال النتائج ان الفعالية النوعية لأنزيم Poly phenol oxidase ارتفعت في معاملات الفطريات جميعها مقارنة بمعاملة السيطرة و ربما يعزى السبب ذلك إلى تحفيز هذه الفطريات على انتاج هذا الأنزيم،وأكدت دراسات سابقة ان بعض العوامل الأحيائية من فطريات وبكتريا حفزت مقاومة النبات عن طريق حث التعبير الجيني لأنزيم Poly phenol oxidase مما يؤدي الى مقاومة النبات للفطريات الممرضة، يلاحظ ايضا من خلال النتائج ان الفطر *T.harzianum* ادى الى تحفيز انتاج الإنزيم في نبات الباقلاء وهذه النتائج تتفق مع (Jayalakshmi واخرون، 2009)إذ لاحظ في مستخلص الجذور المعاملة بالمقاوم الحيوي *T.harzianum* لنبات الحمص زيادة فعالية انزيمPoly phenol oxidase وانتاج المواد المثبطة Chymotrypsin وTrypsin،و تتفق هذه النتائج مع (ال مراد، 2011) اذ بين قدرة عزلات عامل المكافحة الأحيائية *Trichoderma spp.* في استحثاث المقاومة في نباتات اللوبيا من خلال رفع انزيم Poly phenol oxidase إذ تفوقت المعاملة بالعزلة Tv2 وبوجود المسبب المرضي على بقية المعاملات بلغت فعالية الأنزيم فيها 3.03 وحدة/غم وزن رطب.

جدول(4) تأثير الفطريات المصاحبة لنبات الباقلاء في الفعالية النوعة لأنزيم البولي فينول اوكسيديز Poly phenol oxidase (وحدة/ملغ بروتين) بوجود الفطر الممرض *R.solani* وعدم وجوده

الفطريات	الفطريات منفردة				الفطريات + الفطر الممرض *R.solani*			
	المرحلة الأولى	المرحلة الثانية	المرحلة الثالثة	متوسط المراحل	المرحلة الأولى	المرحلة الثانية	المرحلة الثالثة	متوسط المراحل
A .flavus	0.47 b	0.65 bc	0.81 bc	0.64 d	0.46 c	0.73 c	0.93 b	0.70 b
A. niger	0.25 cd	0.54 bc	0.94 b	0.57 de	0.30 e	0.55 d	1.12 ab	0.656bc
T. harzianum	0.57 a	0.88 a	1.36 a	0.936 bc	0.76 a	1.23 a	1.78 a	1.256 a
A. oryzae	0.41 b	0.91 a	1.33 a	0.88 c	0.43 c	1.32 a	1.56 a	1.103a
***Rhizopus* sp.**	0.12 de	0.33 d	0.37 e	0.273 gh	0.12 a	0.33 a	0.41 x	0.286 ef
***Aspergillus* sp.**	0.20 d	0.43 c	0.21 x	0.28 gh	0.23 f	0.51 de	0.51 e	0.416 cde
A.fumigates	0.35 c	0.47 c	0.49 d	0.43 ef	0.35 d	0.57 d	0.59 de	0.503 bcd
F. oxysporium	0.33 c	0.42 cd	0.83 d	0.526 de	0.41 cd	0.55 d	0.86 bc	0.606 bc
***Penicillum* sp.**	0.36 c	0.66 b	0.78 c	0.6 d	0.36 d	0.89 bc	1.11 ab	0.786 b
Heleminthosporium sp.	0.17 de	0.41 cd	0.46 d	0.346 fg	0.31 e	0.47 e	0.47 ef	0.416 cde
A. alternate	0.15 de	0.37 d	0.56 d	0.36 fg	0.23 f	0.31 e	0.54 e	0.36 def
P. italicum	0.47 b	0.58 b	0.76 c	0.603 d	0.53 b	0.58 d	0.83 c	0.64bc
***Stemophyllium* sp.**	0.33 c	0.61 b	0.84 b	0.593 de	0.33 e	0.70 c	0.77 c	0.6 bc
***Mucor* sp.**	0.12 de	0.25 de	0.31 ef	0.22 gh	0.21 f	0.30 e	0.33 g	0.28 ef
T. viride	0.43 b	0.97 a	1.66 a	1.02 ab	0.53 b	0.93 ab	1.65 a	1.03 a
R.solani	0.61a	1.21a	1.71a	1.176a	*0.61a	*1.21a	*1.71a	*1.176a
Control	0.13 de	0.16 e	0.16 f	0.15 h	0.13 de	0.16 e	0.16 f	0.15 f
متوسط الأنزيم في الفطريات	0.321 c	0.579 b	0.798 a		0.370 c	0.667 b	0.901 a	

تشير الحروف المتشابهه الى عدم وجود فروق معنوية والحروف المختلفة الى وجود فروق معنوية حسب اختبار دنكن متعدد الحدود تحت مستوى 5%.

***القيم تمثل معاملة الفطر *R.solani* فقط وللتجربتين**

بينت نتائج الجدول (5) تأثير الفطريات المصاحبة لنبات الباقلاء في الفعالية لألنوعية انزيم Phenyl alanine ammonia lyase (وحدة/ملغ بروتين) بوجود الفطر الممرض *R.solani* وعدم وجودهتفوق الفعالية النوعيةلأنزيم Phenyl alanine ammonialyase في معاملات الفطريات بوجود الفطر الممرض *R.solani* مقارنة بمعاملات الفطريات لوحدها وبين الجدول نفسه أن أعلى فعالية نوعية لأنزيم Phenyl alanine ammonialyase سجلت من قبل الفطريات *T. viride* و

*T.harzianum*و *A.oryzae* إذ بلغ متوسط الفعالية النوعية لهذا الأنزيم 0.102 و0.086 و0.079 (وحدة /ملغ بروتين) على التوالي ، أما فعالية انزيم Phenyl alanine ammonialyase للفطريات المصاحبة بوجود الفطر الممرض *R.solani* فقد أظهرت الفطريات *T. viride* و *T.harzianum* و *A.oryzae* أعلى فعالية انزيمية بلغت 0.119 و0.093 و0.081 على التوالي ، كما أظهرت النتائج أن فعالية انزيم Phenyl alanine ammonial4yase كانت اعلاها في المرحلة الثالثة بوجود الفطر الممرض *R.solani* وعدم وجوده إذ بلغت 0.105 و 0.067 (وحدة /ملغ بروتين)على التوالي مقارنة بالمرحلة الأولى بوجود الفطر الممرض *R.solani* وعدم وجوده إذ بلغت 0.0266 و 0.024(وحدة /ملغ بروتين)،على التوالي ، أما فيما يخص التداخل فقد أظهرت النتائج أن فعالية انزيم Phenyl alanine ammonialyase تزداد بزيادة مرحلة الأختبار وأظهر الفطر *T. viride* أعلى فعالية نوعية لهذا الإنزيم للفطريات وحدها إذ بلغت 0.073 و0.073 و 0.161 (وحدة /ملغ بروتين) للمراحل الأولى والثانية والثالثة على التوالي، أما بوجود الفطر الممرض *R.solani* فقد بلغت أعلى فعالية نوعية من قبل الفطر الفطريات *T. viride* فكانت 0.071 و 0.097 و0.191 (وحدة /ملغ بروتين) للمراحل الثلاثة على التوالي، من خلال النتائج يلاحظ أن الفطريات جميعها أدت إلى تحفيز انتاج الإنزيم و أكدت دراسات سابقة أن بعض العوامل الإحيائية من فطريات وبكتريا حفزت مقاومة النبات عن طريق حث التعبير الجيني لإنزيم Phenyl alanine ammonia lyase مما يؤدي الى مقاومة النبات للفطريات الممرضة وخلال النتائج يلاحظ أن الفطريات جميعها أدت إلى تحفيز انتاج الإنزيم في نبات الباقلاء إذ تفوقت الفطريات *T.harzianum* و *T. viride* و *A.oryzae* مقارنة بالفطريات الأخرى .

جدول(5) تأثير الفطريات المصاحبة لنبات الباقلاء في الفعالية النوعية لأنزيم Phenyl alanine ammonia lyase (وحدة/ملغ بروتين) بوجود الفطر الممرض *R.solani* وعدم وجوده

الفطريات	الفطريات منفردة				الفطريات + الفطر الممرض *R.solani*			
	المرحلة الأولى	المرحلة الثانية	المرحلة الثالثة	متوسط المراحل	المرحلة الأولى	المرحلة الثانية	المرحلة الثالثة	متوسط المراحل
A .flavus	0.012 e	0.023 e	0.093 c	0.042 c	0.012 d	0.034 d	0.096 c	0.047bc
A. niger	0.024 c	0.032 d	0.077 d	0.044 c	0.031bc	0.036 d	0.087 d	0.051 b
T. harzianum	0.033bc	0.072 a	0.153 a	0.086 b	0.033 b	0.076 b	0.171 a	0.093 a
A. oryzae	0.049 b	0.066 a	0.122b	0.079 b	0.061 a	0.072 b	0.111bc	0.081 a
Rhizopus	0.005 f	0.005	0.007 h	0.005 e	0.008 e	0.012 f	0.012	0.010 d
***Aspergillus* sp.**	0.023 c	0.055 b	0.059 e	0.045 c	0.033 b	0.056 c	0.070ef	0.053 b
A.fumigates	0.031 c	0.061 b	0.066de	0.052 c	0.030bc	0.066 c	0.065fg	0.053 b
F. oxysporium	0.025 c	0.025 e	0.027 f	0.025 d	0.014 d	0.028de	0.034 h	0.025cd
***Penicillum* sp.**	0.017de	0.019 e	0.043 e	0.025 d	0.021cd	0.030de	0.056 g	0.035 c
Heleminthosporium	0.015de	0.021 e	0.046 e	0.027 d	0.015 d	0.037 d	0.051 g	0.034 c
A. alternate	0.011e	0.024 e	0.019 fg	0.018de	0.021cd	0.031de	0.031 h	0.027 cd
Penicillum italicum	0.020 d	0.031 d	0.077 d	0.042 c	0.025 c	0.037 d	0.099 c	0.053 b
***Stemophyllium* sp.**	0.035bc	0.041cd	0.086 c	0.054 c	0.041 b	0.055 c	0.093cd	0.063 b
***Mucor* sp.**	0.007 f	0.009 g	0.011 g	0.008 e	0.007 e	0.013 f	0.013	0.011 d
T. viride	0.073 a	0.073 a	0.161 a	0.102 a	0.071 a	0.097 a	0.191 a	0.119 a
R.solani	0.013 e	0.054 b	0.086 c	0.051c	*0.013 e	*0.054 b	* 0.086 c	*0.051b
Control	0.017 de	0.015 f	0.017fg	0.016de	0.017de	0.015f	0.017fg	0.016 d
متوسط الانزيم في الفطريات	0.024 b	0.036 b	0.067 a		0.0266 b	0.044 b	0.105 a	

تشير الحروف المتشابهه الى عدم وجود فروق معنوية والحروف المختلفة الى وجود فروق معنوية حسب اختبار دنكن متعدد الحدود تحت مستوى 5%.

*القيم تمثل معاملة الفطر *R.solani* فقط وللتجربتين

أن انزيم PAL يحفز التفاعل الذي يحول الفينايل النين إلى امونيا و tras-cinnamic acid ويشترك انزيمPAL في اول خطوات مسار phenyl propanoids لهذا يشترك في البناء الحيوي لمركبات الفينولات المتعددة مثل الفلافونويدات وال phenyl propanoids واللكنين في النباتات ،ويحث انتاج الأنزيم نتيجة الأصابات المرضية للنبات فضلا عن بعض الهورمونات (Elkhallal،2007)، ولاحظ (Jayalakshmi واخرون،2009) في مستخلص الجذور المعاملة بالمقاوم الحيوي *T.harzianum* لنبات الحمص زيادة فعالية انزيم Phenyl alanine ammonia lyase وانتاج المواد المثبطة Chymotrypsin و Trypsin فضلا عن ذلك وجد أن فعاليتها مرتبطة طرديا مع المقاومة المستحثة في العائل ضد المسببات المرضية خلال تعرضه لها ودورها في تخليق اللكنين والسوبرين والميلانين بأكسدة الفينولات وتحويلها الى مواد أكثر سمية للمسببات المرضية(Hassan وآخرون ،2007)بينما سجلت الدراسة الحالية اول تسجيل للفطر *A.oryzae* في تحفيز المقاومة الجهازية للنبات من خلال ارتفاع فعالية الأنزيم Phenyl alanine ammonia lyase، ارتفعت الفعالية الأنزيمية بوجود المرض كردٍّ فعل للنبات لأن النبات المصاب بالممرضات يحفز مقاومة النبات فضلا عن دور الفطريات المصاحبة، تتفق هذه النتائج مع ماتوصل اليه (Zheng واخرون ،2005) إذ بين إن المعاملة بالفطر arbuscular mychorriza (AM)fungi كذلك ادى الى زيادة انزيم Phenyl alanine ammonialyase في عوائل نباتية مختلفة.يبين جدول(6) تأثير الفطريات المصاحبة لنبات الباقلاء في نسبة الأصابة(%) وشدة الأصابة بوجود الفطر الممرض *R.solani*وعدم وجوده ارتفاع نسبة الإصابة(%)وشدتها في معاملات الفطريات بوجود الفطر الممرض *R.solani* مقارنة بمعاملات الفطريات لوحدها ويبين الجدول نفسه أن أعلى نسبة مئوية للإصابة وشدتها سجلت من قبل الفطر *R.solani* إذ بلغت 93.78% و 0.79 يليها الفطر *F. oxysporium* إذ بلغت 58.31% و 0.48 على التوالي، مقارنة بعدم تسجيل أي إصابة في فطريات *T. harzianum* و *T. viride* و *A. oryzae* فضلا عن معاملة السيطرة ،أما بالنسبة للفطريات المصاحبة بوجود الفطر الممرض *R.solani* فقد أظهر الفطر *F. oxysporium* أعلى نسبة إصابة وشدتها بلغت 87.13% و 0.76 على التوالي، وبينت النتائج أن الفطريات المعزولة والمصاحبة لنبات الباقلاء جميعها قد خفضت من نسبة الأصابة وشدتها عند وجودها مع الفطر الممرض *R.solani* مقارنة بمعاملة الفطر الممرض *R.solani* لوحده وحقق عامل المكافحة الأحيائية *T. harzianum* قدرة عالية في خفض معنوي لنسبة الإصابة وشدتها إذ بلغت بوجود الفطر الممرض *R.solani*13.12% و 0.06على التوالي،وتتفق هذه النتائج مع ماوجده Hall واخرون 2001 و (Larkin،2004) .

لقد أحدث استعمال فطريات المكافحة الأحيائية خفضا معنويا في شدة اصابة النباتات بأمراض سقوط البادرات وتعفن الجذور والذبول المتسبب عن أنواع من فطريات التربة الممرضة ومنها *R.solani* (علوان ،2005),إن فعالية فطر المكافحة الاحيائية *T. harzianum* تعود إلى مقدرة عامل المكافحة الإحيائية على التطفل المباشر على الغزل الفطري للفطر الممرض وتحطيم خلايا الفطر الممرض (Elad واخرون، 1983)و ربما تكون ناتجة عن حمايته للجذور بتكوين مستعمرات حول الجذور أو أن البعض من المركبات الايضية التي ينتجها ربما تؤدي إلى زيادة حجم المجموع الجذري وصلابته وأن الفطر *T.harzianum* يؤثر في الفطر الممرض من خلال آليات عمله المتعددة كالتطفل الفطري أو إنتاجه مواداً مضادة أو منافسته على المكان والغذاء او تثبيط انزيماته (Lo واخرون ،1996 و Howell ، 1999).

جدول(6) تأثير الفطريات المصاحبة لنبات الباقلاء في نسبة الأصابة(%) وشدة الأصابة بوجود الفطر الممرض *R.solani* وعدم وجوده

الفطريات	الفطريات منفردة		الفطريات + الفطرالممرض *R.solani*	
	نسبة الأصابة(%)	شدة الأصابة	نسبة الأصابة(%)	شدة الأصابة
A .flavus	12.3 c	0.13 de	25.41 f	0.25 e
A. niger	9.2 d	0.11 ef	34.20 e	0.22 e
T. harzianum	0.0 f	0.00 h	13.12 g	0.06 f
A. oryzae	0.0f	0.00 h	27.72ef	0.08 f
Rhizopus	11.8 d	0.06 fg	48.31 c	0.48 bc
***Aspergillus* sp.**	5.21 e	0.11 ef	56.4 b	0.33 d
A.fumigates	7.43 e	0.11 ef	44.3 d	0.31 d
F. oxysporium	58.31e	0.48 b	87.13 a	0.76 a
***Penicillum* sp.**	11.24c	0.16 cd	42.61d	0.46 c
Helemintho sporium	7.13e	0.07 f	33.12 e	0.41 c
A. alternate	11.07d	0.08 f	40.71 d	0.43 c
P. italicum	8.21 e	0.08 f	44.5 d	0.52 b
Stemophyllium sp.	0.0 f	0.0 h	46.33 cd	0.48 b
***Mucor* sp.**	12.33d	0.04 g	51.82bc	0.53 b
T. viride	0.0f	0.00 h	15.23 g	0.06 f
R.solani	93.78 a	0.79 a	*93.78 a	*0.79 a
Control	0.0 f	0.00 f	0.00f	0.00f
متوسط نسبة الأصابة وشدة الأصابة	14.58 B	0.130 B	41.45 A	0.362 A

تشير الحروف المتشابهه الى عدم وجود فروق معنوية والحروف المختلفة الى وجود فروق معنوية حسب اختبار دنكن متعدد الحدود تحت مستوى 5%

***القيم تمثل معاملة الفطر *R.solani* فقط وللتجربتين**

يبين جدول(7) تأثير الفطريات المصاحبة لنبات الباقلاء في الأوزان الجافة للمجموعين الخضري والجذري (غم) بوجود الفطر الممرض *R.solani*وعدم وجودهتفوق الأوزان الجافة للمجموعين الخضري والجذري في معاملات الفطريات بدون الفطر الممرض *R.solani* مقارنة بمعاملات الفطريات بوجود الفطر الممرض *R.solani* إذ بلغ متوسط الأوزان الجافة للمجموعين الخضري والجذري في معاملات الفطريات المصاحبة لوحدها 6.37 و4.40 غم على التوالي، مقارنة بمتوسط الأوزان الجافة للمجموعين الخضري والجذري في معاملات الفطريات بوجود الفطر الممرض *R.solani* البالغ 5.67 و3.53 غم على التوالي و يشير الجدول إلى تأثير الفطريات على الأوزان الجافة للمجموعين الخضري والجذري إذ ادى الفطر الممرض*R.solani* إلى خفض في الوزن الجاف الجذري إذ بلغ 2.02 غم مقارنة بـ4.11 غم في معاملة السيطرة تلاه الفطر *F. oxysporium* إذ بلغ الوزن الجاف الجذري 2.13 غم مقارنة بمعاملة السيطرة التي بلغت 4.11 غم أدى الفطر الممرض*F. oxysporium* إلى خفض في الوزن الجاف الخضري إذ بلغ 3.13 غم مقارنة بـ 6.12 غم لمعاملة المقارنة وتلاه الفطر *R.solani* إذ بلغ الوزن الجاف الخضري 3.68 غم قياسا بـ 6.12 غم لمعاملة المقارنة في حين ادت الفطريات *T. viride* و *T. harzianum* و *A. oryzae* إلى زيادة الأوزان الجافة للمجموعين الخضري والجذري إذ بلغت 9.08و6.76 غم و 9.42و7.12 غم و 8.04 و 6.66غم على التوالي، مقارنة بمعاملة السيطرة التي بلغت 6.12 و4.11 غم لـلأوزان الجافة للمجموعين الخضري والجذري على التوالي، أما

بالنسبة للفطريات المصاحبة بوجود الفطر الممرض *R.solani* فقد أدى الفطر الممرض *F. oxysporium* إلى خفض في الوزن الجاف الجذري إذ بلغ 1.13 غم مقارنة بـ4.11غم في معاملة السيطرة كذلك أدى الفطر الممرض *F. oxysporium* الى خفض في الوزن الجاف الخضري إذ بلغ 2.22 غم مقارنة بـ6.12غم لمعاملة المقارنة، وآدت الفطريات *T. harzianum* و *T. viride* و *A. oryzae* إلى زيادة الأوزان الجافة للمجموع الخضري اذ بلغت 8.11 غم و8.14غم و8.51غم على التوالي ،مقارنة بمعاملة السيطرة التي بلغت 6.12 للأوزان الجافة للمجموع الخضري، أما بالنسبة للوزن الجاف للمجموع الجذري فأدت الفطريات *T. harzianum* و *A. oryzae* و *T. viride* إلى زيادة الأوزان الجافة للمجموع الجذري إذ بلغت6.71و5.66و5.13غم ،على التوالي ،مقارنة بمعاملة السيطرة التي بلغت 4.11للأوزان الجافة للمجموع الجذري.

جدول(7) تأثير الفطريات المصاحبة لنبات الباقلاء في الأوزان الجافة للمجموعين الخضري والجذري (غم) بوجود الفطر الممرض *R.solani* وعدم وجوده

الفطريات	الفطريات منفردة		الفطريات + الفطرالممرض *R.solani*	
	المجموع الجذري	المجموع الخضري	المجموع الجذري	المجموع الخضري
A .flavus	3.44 d	5.75 d	2.03 e	3.58 e
A. niger	3.47 d	5.78 d	3.17 d	5.02 d
T. harzianum	7.12 a	9.42a	6.71 a	8.11a
A. oryzae	6.66 a	8.04 a	5.66 b	8.51 b
Rhizopus	3.61 d	5.12 d	2.79 e	4.07 e
***Aspergillus* sp.**	4.02 cd	6.42 c	3.13 d	5.30 cd
A.fumigates	4.07 cd	6.71 c	3.18 d	5.67 cd
F. oxysporium	2.13 e	3.13 e	1.13 f	2.22 f
***Penicillum* sp.**	4.67 c	5.88 d	3.73 d	5.41 cd
Heleminthosporium	4.78 c	6.66 c	3.33 d	5.52 cd
A. alternate	4.14 c	6.74 c	2.61 e	5.21 cd
P. italicum	4.17 c	5.82 d	3.66 d	5.31 cd
***Stemophylliu* sp.**	5.65 b	7.12 b	4.88 c	8.44 b
***Mucor* sp.**	4.13 c	6.84 c	2.83 e	6.13 cd
T. viride	6.76 a	9.08a	5.13 b	8.14 a
R.solani	2.02 e	3.68 e	2.02 e*	3.68 e*
Control	4.11 c	6.12 cd	4.11 c	6.12 cd
متوسط المجموع الجذري والخضري	4.40 b	6.37 a	3.53 d	5.67 a

تشير الحروف المتشابهه الى عدم وجود فروق معنوية والحروف المختلفة الى وجود فروق معنوية حسب اختبار دنكن متعدد الحدود تحت مستوى 5%.

***القيم تمثل معاملة الفطر *R.solani* فقط وللتجربتين**

تتفق هذه النتائج مع ماتوصل إليه (علوان واخرون ،2012) إذ بينوا انخفاضا معنويا في الوزن الجاف للمجموعين الخضري والجذري بسبب قدرة فطريات الحقل الممرضة على التأثير السلبي على النباتات واتلاف المجموع الجذري وتتفق مع ما أشار إليه الوكيل ،(2006) من أن الفطريات *F.solani* و *lateritiumF.* و *Rhizoctonia sp.* تأثيراً سلبياً على العائل يحدث عن طريق الإخلال بالوظائف الحيوية للعائل كعملية البناء الضوئي والتنفس والتأثير على امتصاص الماء والعناصر الغذائية، وتتفق هذه النتائج مع (الحديثي،2002) إذ بين أن إضافة الفطر الحيوي *T. harzianum* أدى إلى زيادة انتاج نبات الطماطم وزيادة نموه من خلال زيادة نمو المجموع الجذري والبراعم الثمرية ونشاطها ويعزز النمو الخضري ويعطي النبات مقاومة للجفاف

وزيادة مقاومته للأمراض، ولم تتفق هذه النتائج مع (علوان واخرون ،2012)إذ بينوا أن الفطر *T. harzianum* لم يظهر اية فروق معنوية في الوزن الجاف للمجموعين الخضري والجذري 0.123 و0.053 غم مقارنة بمعاملة السيطرة 0.123 و0.053 وربما يعود ذلك إلى ضعف نشاطه بسبب عدم توافر القاعدة الغذائية الكافية للإستمرار في تدعيم النباتات.

إن زيادة الأوزان الجافة للمجموعين الخضري والجذري تعود إلى قدرة فطريات المقاومة الأحيائية على إفراز بعض المواد السامة أو لقدرتها التنافسية العالية إذ تحتل بكفاءة مواقع الممرضات (Cook وBaker، 1983) فضلا عن الدور الذي يؤديه فطر المقاومة الأحيائية في تحرير العناصر الغذائية كالنتروجين والكبريت والفسفور من خلال تحليله البروتين والكايتين والمواد الأخرى بفعل الأنزيمات التي يفرزها ، وأن الفطر يفرز بعض المواد المنظمة للنمو تتسبب في زيادة بعض معايير نمو النبات ،و تزيد من كفاءة امتصاص العناصر الغذائية الصغرى Mn،Fe،Cu،Zn،k من قبل النباتات التي ترتفع جاهزيتها وبذلك يزداد نمو المجموع الجذري و نشاطه مما يعزز النمو الخضري (الشيباني ،2005) وأن افرازات الفطر توفر حماية للجذور من الأصابة بالمسببات المرضية(Whipps، 1997)، و يعود سبب ذلك إلى التأثير الأيجابي للفطر *T. harzianum* عن طريق توفير حماية للجذور بتكوينه المستعمرات حول الجذور و انه يزيد من حجم المجموع الجذري وصلابة الجذور ، وربما يكون له تأثير مباشر في الفعاليات الحيوية للنبات (Yedidia واخرون ،1999) فضلا عن التطفل الفطري الذي يشمل نموه حول الفطر المستهدف او التصاق خيوطه بخيوط الفطر الممرض(Zexun واخرون،2004).

المصادر :

آل مراد ، نهاد يونس محمد.2011. قدرة بعض عزلات الفطر *Trichoderma* spp.علىانتاج إنزيم السيليوليز ودوره في استحثاث المقاومة للفطر *Macrophomin phaseolin* مجلة علوم الرافدين ،22 (3):46 –59.

جبر ،كامل سلمان.2000. مسح لمرض تعفن جذور وقواعد سيقان الباقلاء وتشخيصالفطريات المسببة له ومكافحته احيائيا.المؤتمر العربي السابع لعلوم وقاية النبات.22-26 .تشرين الأول/اكتوبر .عمان–الأردن.

جبر، كامل سلمان2001. مسح لمرض تعفن جذور وقواعد وسيقان الباقلاء وتشخيص الفطريات المسبب له ومكافحته احيائياً . مجلة العلوم الزراعية العراقية ،32(2): 127–132.

الحديثي،بهاء عبد الجبار عبد الحميد. 2002.النشاط الآنزيمي للفطر *Trichoderma harzianum* في التربة ونمو حاصل نبات الطماطة. أطروحة دكتوراه. كليةالزراعة– جامعة بغداد.

حسن،عبدالله عبد الكريم ،الكرطاني،عبد الكريم عريبي، افتخار موسى، خلدون فارس،2011. تقيم فعالية الفطر *Pleurotus* sp. كمبيد حيوي ضد ممرضات النبات: الديدان الثعبانية وفطريات التربة. المؤتمر العلمي الخامس، كلية الزراعة،جامعة تكريت، 26_27 نيسان.

حسين،عبير عبد الزهرة جبار،2010،عزل وتشخيص الفطريات المرافقة لبادرات الكجرات *Hibiscus sabdariffa L.* ومقاومة الممرضة منها احيائآ.رسالة ماجستير – كلية الزراعة– جامعة الكوفة.

الشيباني، جواد عبد الكاظم كمال.2005. تأثير اضافة المادة العضوية ال(Compost) والمبيد الحيوي(*Trichoderma harzianum*) والبكتيري(*Chroococcum Azotobacter*) في نمو وحاصل نبات الطماطة.اطروحة دكتوراه. كلية الزراعة. جامعة بغداد.

صالح،يحيى عاشور،محمد محسن بدن.2000.المقاومة الكيمياوية والحياتية للفطر *Rhizoctonia solani* المسبب لموت البادرات في الآصابة.مجلة البصرة للعلومالعدد1 المجلد213.

علوان، ديار صكبان، الكرطاني، عبدالكريم عريبي سبع، الزبيدي، نجم عبد الله .2012. تقويم كفاءة فطري المقاومة الآحيائية *Trichoderma harzianum* و *Trichoderma viride* في حماية بذور وبادرات الحبة السوداء.*Nigella sativa L.*

وبادراتها من الآصابة بفطريات الحقل الممرضة *Fusarium lateritium* و *Fusarium solani* و *Rhizoctonia sp.* وتأثيرها على بعض صفات النمو. مجلة ديالى للعلوم الزراعية،(2)4:105-115.

علوان، صباح لطيف. 2005 . امكانية تصنيع مبيد احيائي من الفطر Rrafai *Trichoderma harzianum* لمكافحة مرض تعفن البذور وموت البادرات في الحنطة.أطروحة دكتوراه ، كلية التربية للبنات ، جامعة الكوفة ص 133.

الوكيل،محمد عبد الرحمن.2006.اساسيات امراض النبات .كلية الزراعة. جامعة المنصورة.جمهورية مصر العربية.ذ

Allen, D.j., and m. Lenne, (1998). The Pathology of food pasture legumes. C. A. B. International in association with the International crops research Institute for the semi-arid Tropics (ICRISAT).

Assis,J.S.,.Maldonado,T.Munoz,M.I.Escribano and C.Merodio ,2001.Effect of high carbon dioxide concentration on PAL activity and Phenolic contents in ripeniny cherimoya fruit.Postharvest Bio.Techmol .,23:33-39.

Benites,T.;A.M.Rincon;M.C.Limon and A.Codon.2004.Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strain .Interational microbiology. 7(4):249-260.

Blade, J.A.,R.Franciso,A. Queroz,P.A Regaloda,C.P. Ricardo, and M.M. Veloso, 2006. Immunolocalization of a class III chitinase in two muskmelon cultivars reacting differently to *Fusarium oxysporum* F.S.P.melons.J.Plant Physiol.,163:19-25.

Booth, C. (1971). The genus Fusarium.Common. Mycol. Inst Surry,U.K. 237 PP.

Carmen, M.A.,Z.J,Carmen.,S,Salvador.,N,Diego.R.,M Maria Teresa.,and T,Maria.2005. Detection for Agronomic Traits in Faba bean(*Vicia faba* L.).Agric.Conspec.Sci.Vol.70 (2005) No. 3

Chet,I.,Harman,G.E.,and Baker,R.1981.*Trichoderma hamatum* its hyphal interaction with *Rizoctonia solani* and Microbiol Ecol.7:29-38.

Cook,R.,J. and Baker,K.F.1983.The nature andpractice of biological Control of plant pathogens.The American Phytopathol.Soci. st.Paul.Mn.539pp.

Dewan, M. M. 1989 . Identify and frequency of occurrence of fungi in root of Wheat and Ryegrass and their effect on take – all and hostgrowth. Ph.D. Thesis. Univ. West Australia, 210pp.

Domasch,K.H.Gams,W.and Anderson,T.H.1980.Compendium of soil fungi.Vol.l Academic press.London.

Dubos C and C. Plomion C.2011. Drought differentially affects expression of PR-10 protein in needles of maritime pine (*Pinus pinasterait*) seedling: J Exp. bot;52:1143-4.

El- Khallal. S. M.2007. Induction and modulation of resistance in tomato plants against Fusarium wilt disease by bioagent fungi (arbuscular mycorrhiza) and/or hormonal elicitors (Jasmonic acid & Salicylic acid): 2-Changes in the antioxidant enzymes, phenolic compounds and pathogen related-proteins.Australian Journal of Basic and Applied Sciences,1(4): 717-732.

Elad,Y.;Chet,I.;Boyle,P.and Henis,Y.1983.Parasitism of *Trichoderma* spp.on *Rhizoctonia solani* and *Sclerotium rolfsii* scanningelectronic microscopy and fluorescence microscopy. Phytopathology.73:85-88.

Hall, B., K. Davies, and T. Wicks .2001 .Biological and chemical control of *Rhizoctonia*.HRDC Project PT 98036 south Australin.Research and development Institute Plant Research Center GPO Box 397.ADELATDE SA 5001. pp. 1 – 49.

Hammerschmidt.R.,Nuckles,Em.and Kuc,J.1982 Association of enhanced peroxidase activity with induced systemic resistance of cucumber to colletotrichum lagemarium. Physiology and plant pathology 20:73-82.

Harman, G. E .2000 . The myths and dogmas of biocontrol Changes in percptions derived from research on *Trichoderma harzianum* strain T – 22. Plant. Dis. 84 : 377 – 393.

Hassan, E.; Maggie, M.; Saieda, S. Abd El-Rahman ; El-Abbasi, I.H. ;Mikhail , M.S. (2007).Changes in peroxidase activity due to resistance induced against fababean chocolate spot disease. *Egypt J. Phytopathol*.(35), 35-48.

Hibar ,K.;M. Daami and M.El Mahjoud (2007) . Induction of resistance in tomato plants aginst *Fusarium oxysporum* f.sp.*radicis lycopersici* by *Trichoderma*spp.. Tunisian J. Plant protect.2:47-58.

Howell, C. R .1999 . Selective isolation from soil and separation in vitro of P and Q Strains of *Trichodermavirens* with differential media, Mycologia, 91 : 930 – 934

ICARDA.2003.:Faba bean pathology progress report.food Legume Improvement program. ICARDA. Aleppo. Syria.

Iriti, M., and F. Faoro .2003 . Benzothiadiazole (BTH) Induce cell – Death independent Resistance in Pl vulgaris against Uromyes appendiculatus Journal of Phylopathology. 151: 171– 180.

Jayalakshmi, S.K; Raju; S.; Usha Ra, S. ni ; Benagi, V.I. ; Sreeramulu , D. K. (2009).*Trichoderma harzianum* L1 as potential source for lytic enzymes and elicitor of defense responses in chickpea (*Cicer arietinum* L.) against with disease caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *cieeri*.*Australian J. Crop Sci.* 3, 44-52.

Karsa , E.Mostafa; R.Z Mohammad and H.S Halel.2010. Transformation of potato (*Solanum tuberosum* CV. savalan) by chitinese and B-1.3- glucanae -genes of mycoparasitic fungi towards improving resistance to *Rhizoctonia solani* AG-3:Iran Journal of Bio –technology 8 : 73 – 81.

Khalil,S.,&Erskine,W.1999.Breeding for orobanch resistance in *Faba bean* and lentil,In J.I.Cuevo,M.T.moreno, D.Rubiales,&J.C.S. llevo(Eds.)Resistance to broomrape.The state of the art(PP.63-76).Spain:Juntade Auda lucia.

Khalil,S.,&Erskine,W.1999.Breeding for orobanch resistance in *Faba bean* and lentil,In J.I.Cuevo,M.T.moreno, D.Rubiales,&J.C.S. llevo(Eds.)Resistance to broomrape.The state of the art(PP.63-76).Spain:Juntade Auda lucia.

Larkin, R.P .2004 . Development of integrated biological and cultural approaches for control of Powdery Scab and other soil borne disease. USDA, ARS, New England Plant, soil, and water lab Univer.of Maine, Orone, ME O 44469 WWW–Maine Potatos.com / Pdf / Potresgrant – 04.

Lo, C. T., E. B. Nelson, and G. E. Harman .1996 .Biological control of turfgrass disease with rhizosphere competent strain of *Trichodermaharzianum*.Plant. Dis. 30 : 736 – 741.

Lorito,M.;Peterbauer, C; Hayes, C,K. and Harman, G.E.1994. Synergistic interaction between fungal cell wall degrading Enzymes and different antifungal compounds enhances Inhibition of spore germination.Microbiology.140:623-629.

Mahadevan, A. and Sridhar, R.1986. Methods in physiological plant pathology.Sivakami publications, Indira nagar, India.

Mayer,A.M.,Harel,E.and Shaul,R.B.1965.Assay of catechol oxidase acritical comparison of methods phytochemistry 5:783-789.

Mckinney, H. H. 1923. Influence of soil temperature and moisture on infection of wheat seedling by *Helminthosporium sativum*. J. Agric. Res. 26: 195-217.

Montealegre,J.;L.Valderrama;S.Sanchez;R.Herrera;X .Besoain and L. Perez.2010.Biological conrol of *Rhizoctoniasolani* in tomato with *Trichodermaharzianum* mutants.Electronic Journal of Biotechnology. 13(2):1-11.

Natalia Gutierrez ., C. M, Avila., M. T, Moreno., and A.M, Torres, 2008. Development of SCAR markers linked to zt-2, one of the genes controlling absence of tannins in faba bean, Australian Journal of Agricultural Research, 59,pp 62–68.

Pan,S.Q.,X.S.Ye and J.Kuc.1991 Association of β-1,3 glucanase activity and isoform pattern with systemic resistance to blue mould in tobacco induced by stem injection with pernospara tabacive or leaf in oculation with tobacco mosaic virus.physiol.Mol.plant pathol.,39:25-39.

Papavizas, G.C.1985. *Trichoderma and Gliocladium*, biology and potential for biocontrol. *Ann. Rev. Phytopathol*. 23, 32-54.

Terrance.G.Cooper.(1977).The Tools of Biochemistry. John Wily and Sons Inc. USA.

Tu,C.C.,Hsieh,T.F.,and Chang Y.C.1996.Vegetable diseases incited by *Rhizoctonia* spp.In *Rhizoctonia* species.Taxonomy,Molecular, Biology,Ecology,Pathology and Disease control.(eds.)Sneh, B.,Hare,S.j.Neate,S.and Dijst,G.Kluwer Academic Publishers Dordrecht the Netherlands,pp.359-369.

Tweddell,R.J,,S.H.Jabaji-Hare and P.M. Charest ,1994.Production of chitinase andβ-1 ,3glucanase by *stachybortyseleyans*, amycoparasite of *Rhizoctonia solani* Appl Environ.Microbiol. ,60:489-495.

Whipps,J.M.1997.Developments in the biological control of soil-borne borne plant pathogens.Advances in Botanical Research.126-134.

Yedida, I., N. Benhamou, and I. Chet . 1999 . Induction of defense responses in Cucumber Plants (*Cucumis sativus* L.) by biocontrol agent *Trichodermaharzianum*. Appl. Environ. Microbiol.65 : 1061 – 1070.

Zarrin,F.,M.Saleemi,M.Zia,T.Sultan,M.Aslam,R.Rehman and M.F. Chandhary.2009.Antifungal activity of plant growth promoting Rhizobactera isolates against *Rhizoctonia solani* in wheat.African Journal of Biotechnology 8(2):219-225.

Zaxun,L.U.,Ricardo,T.,Sheridan,W.,Susanne,Z.,Matteo,L.and Janet K.J.2004.In vivo study of *Trichoderma* Pathogen Plant Interactions using constitutive and Inducible Green fluorescent Protein Repoter systems.Appl.and Enviro.Microbiol.70:3073.

Zhang,J.and M.B.Kirkham.1995.Water Rlation of Water stressed split.root C4(sorghum bicolor poaceae) and C3 (*Helianthus annuns* L.) (Asteraceae) plants.American .J.of *Botany*-82(10):1220-1229.

Zheng,H.Z.,C.I.Cui,Y.T.Zharg,D.wary.Yu.Jing and Y.K.Kum, 2005. Active changes of lignifications-related enzymes in pepper response to *Glomus intraradices* and/or *Phytophthora capsici* .J. Zhejiang Uni Sci.,6B(8):778-786.