تأثير بعض العوامل البيئية على عملية التضاد بين الفطر *Trichoderma harzianum* Rifai والفطر *Rhizoctonia solani* Kuhn

زينة هادي عبيد — كلية العلوم – جامعة بابل

جواد كاظم عبود — كلية العلوم – جامعة بابل

رباب عمران راضي — كلية العلوم – جامعة بابل

الخلاصة

نفذت سلسلة من التجارب المختبرية لدراسة تأثير بعض العوامل البيئية على عملية التضاد بين فطر المكافحة الإحيائية *Trichoderma harzianum* Rifai والفطر الممرض *Rhizoctonia solani* Kuhn وقد تضمنت تلك التجارب بيان تأثير درجة الحرارة والرقم الهيدروجيني في معدلات نمو الفطر الممرض وفطر السيطرة الحيوية ومستوى كفاءته التضادية ضمن ثلاث درجات حرارية هي 15 و25 و35م وثلاثة أرقام هيدروجينية هي 4 و6 و8 ولمدة سبعة أيام وقد بينت النتائج أن أعلى زيادة معنوية في معدلات النمو للفطر *R. solani* كانت عند درجتي الحرارة 25 و35م بينما أظهرت درجة الحرارة 15م تأثيراً واضحاً في خفض معدلات النمو عند الأرقام الهيدروجينية كافة وكان الانخفاض أكثر وضوحاً عند الرقم الهيدروجيني 8 وعند الدرجات الحرارية كافة مقارنة ببقية الأرقام الهيدروجينية وفي المقابل ازدادت معدلات النمو بصورة كبيرة عند الرقم الهيدروجيني 6 وتلاه الرقم الهيدروجيني 4.

أما بالنسبة للفطر *T. harzianum* فقد أظهرت النتائج حصول زيادة معنوية كبيرة في معدلات النمو عند درجة الحرارة 25م وانخفضت عند درجتي الحرارة 15 و35م وفي الأرقام الهيدروجينية كافة باستثناء الرقم الهيدروجيني 4 الذي كان له تأثير واضح في زيادة معدلات النمو عند الدرجات الحرارية كافة وتباين تأثير الرقم الهيدروجيني 6 في معدلات النمو باختلاف درجات الحرارة في حين أظهر الرقم الهيدروجيني 8 تأثيراً كبيراً في خفض معدلات النمو. إن هذا التباين في معدلات النمو باختلاف درجات الحرارة والأرقام الهيدروجينية لفطر المكافحة الإحيائية قد انعكس بصورة كبيرة على معدل كفاءته التضادية فقد لوحظ بأن الفطر بلغ أعلى مستوى له في التضاد عند الرقم الهيدروجيني 4 وفي جميع درجات الحرارة بينما تباين تأثير الرقم الهيدروجيني 6 في التأثير في درجة التضاد باختلاف درجات الحرارة وأظهر الرقم الهيدروجيني 8 تأثيراً واضحاً في خفض الكفاءة التضادية للفطر عند الدرجات الحرارية كافة.

كما تضمنت الدراسة بيان دور آليتي التنافس والتطفل للفطر *T. harzinum* كإحدى الآليات المهمة في السيطرة الحيوية ضد الفطر *R. solani* وقد ظهر دور آلية التنافس جلياً من خلال سرعة نمو فطر المكافحة الاحيائية في وسط الـ Potato Dextrose Agar (PDA) مقارنة بالفطر الممرض فيما أوضحت الصور المجهرية لمنطقة التضاد التفاف خيوط الفطر *T. harzinum* على الغزل الفطري للمضيف وحصول تشوهات في جدران خلايا المضيف نتيجة لإفراز الفطر المسيطر للعديد من الإنزيمات والمركبات الايضية الأخرى.

Abstract

A series of laboratory experiments were conducted to study the effect of environmental parameters (temp. and pH) on the antagonism process between bio-control agent, Trichoderma harzianum Rifai and fungal pathogen, Rhizoctonia solani Kuhn. In particular on growth and antagonist activity of both fungi at different levels of temp. (15,25, 35 ^{0}C) and pH (4,6,8) along 7 days. The results revealed increasing the growth of R. solani at 25 and 35 ^{0}C, and reduced at 15 ^{0}C through all levels of pH. In contrast, the growth of T. harzianum was increased significantly at 25 ^{0}C, compared with that at 15 and 35^{0}C when using 6 and 8 pH.

Successive development of T. harzianum varied with different levels of Temp. and pH and that could reflected its antagonist activity, as more inhibition to the growth of fungal pathogen was obtained at pH 4 for all ranges of temp. used in this experiment in comparison with that at pH 6.

Microscopic photographs for antagonism process showed the twisting of T. harzianum mycelium around the mycelium of R. solani were coincided with collapsing and malformation of R. solani cell walls which possibly resulted from enzymatic secretion by bio-agent fungal.

المقدمة Introduction

بينت العديد من الدراسات قدرت عزلات الفطر *Trichoderma* في خفض نسبة الإصابة بالفطريات المرضيـة *R. solani* و *Fusarium oxysporum* و *F. culmorum* و *Sclerotium rolfsii* و *Pythium aphanidermatum* و *Gaeumannomyces gramini* var tritici تحت ظروف الحقل والبيت الزجاجي (Kucuk and Kivanc, 2003; Whipps, 1987; Chet and Baker, 1981; Elad *et al.*, 1980).وفي تحسين نمو وإنتاجية النبات وزيادة معدل الوزن الجاف للمجموع الخضري بنسبة 12.56% (Elad *et al.*, 1980; حميد، 2002).

يعد الفطر *Rhizoctonia solani* أحد أهم فطريات التربة المرضية، يمتاز الفطر بمداه العائلي الواسع إذ يصيب الكثير من نباتات المحاصيل الاقتصادية المهمة كنباتات العائلة الباذنجانية، والقرعية والحنطة والرز والبزاليا وقصب السكر والقطن وغيرها من النباتات (Montealegre *et al.*, 2003; Agrios, 1997). أشار (Hine, 1999) إلى أن الفطر يصيب 530 جنساً نباتياً سواء من ذوات الفلقة الوحدة أو من ذوات الفلقتين في منطقة اريزونا في الولايات المتحدة.

يسبب الفطر الكثير من الأمراض للنبات مثل مرض سقوط البادرات وتعفن الجذور واللفحة والقرحة وتعفن الثمار والمواد المخزونة وذلك تبعاً لنوع النبات وتختلف أعراض المرض حسب نوع العائل ومرحلة نموه والظروف البيئية المحيطة (Agrios, 1997; Asaka and Shoda, 1996 ; الوائلي، 2004).

تعتبر درجة الحرارة من العوامل البيئية المهمة المؤثرة في مستوى نمو الفطر *R. solani* ونشاطه وفعاليته المرضية ويمتلك الفطر مدى واسع من درجات الحرارة يتراوح مابين 15 – 40 مْ في حين تتراوح أفضل درجة حرارة للنمو مابين 25 – 35 مْ (عباس، 1998).

وتشير المصادر الى أن الرقم الهيدروجيني الأمثل لنمو الفطر *R. solani* يتراوح مابين5 – 6 (Johnson and Leach, 2004; Agrios, 1997; Nelson *et al.*, 1996) في حين ذكر (تكسانة،1983) إلى أن أفضل رقم هيدروجيني لنمو كل من العزلتين المرضية وغير المرضية والعزلة المأخوذة من الخيار للفطر *R. solani* على وسط Czapek dox medium بدرجة حرارة 28 م يتراوح مابين 6 – 7 ولم يسجل أي نمو لجميع العزلات عند الرقم الهيدروجيني 2 و10 عدا عزلة الفول التي استطاعت النمو عند الرقم الهيدروجيني 10. كذلك تعد درجة الحرارة عاملاً بيئياً مهماً في تحديد نمو الفطر *Trichoderma* ونشاطه ودوره في السيطرة الحيوية.إذ ينموهذا الفطر *Trichoderma* في درجات حرارية معتدلة وضمن مدى يتراوح ما بين 5–36 م غير أن الدرجة الحرارية المثلى للنمو هي 30 م (Domsch, 1980) .

يؤدي الرقم الهيدروجيني دوراً مهماً في التأثير في مستوى نمو الفطر *Trichoderma* sp. ونشاطه ودوره في التأثير على الكثير من المسببات المرضية للنبات إذ يتحدد ذلك بمديات معينة من الرقم الهيدروجيني سواء كان في أثناء نموه في التربة أو على الأوساط الزرعية المحضرة (Kerdics *et al.*, 2003). فقد أشار (Papavizas, 1985) الى قدرة هذا الفطر على النمو في التربة وعلى مدى واسع من الرقم الهيدروجيني يتراوح ما بين 2.5 – 9.5 رغم أن معظم سلالات الفطر تفضل النمو في تربة قليلة أو معتدلة الحامضية.

تعزى الكفاءة التضادية لأنواع الفطر *Trichoderma* ضد العديد من المسببات المرضية إلى مجموعة من الآليات منها التنافس competition والتضاد الحيوي antibiosis والمقاومة المستحثة induced resistance والتطفل mycoparasitism والتي تعمل إما بصورة مفردة أو مجتمعة في القضاء على الكائن

الممرض (Howell, 2003; Sivan and Chet, 1989).ولدراسة ظروف نمو كلا الفطرين على انفراد أو الزرع المزدوج لكليهما وأهمية تلك الظروف على القدرة التضادية للفطر *T. harzianum*

لذا استهدفت الدراسة الحالية مايلي:

1. دراسة تأثير العوامل البيئية في نمو الفطر الممرض *R. solani* وكذلك في نمو فطر المكافحة الإحيائية *T. harzianm* وكفاءته التضادية.
2. بيان دور آليتي التنافس والتطفل للفطر *T. harzianum* في تثبيط نمو الفطر المرض.

المواد وطرائق العمل Materials & Methods

أ. الأوساط المستعملة

1. وسط اكار البطاطا والدكستروز Potato Dextrose Agar (PDA)

حضر حسب تعليمات الشركة المصنعة (idg) ويتكون من 4غم/لتر مستخلص البطاطا و20غم/لتر دكستروز و15غم/لتر آكار (Agar No. 1).

2. وسط مستخلص البطاطا والسكروز السائل Potato Sucrose Broth

ويتكون من مستخلص البطاطا (بواقع 200 غم بطاطا/لتر ماء مقطر) و20غم/لتر سكروز (Koneman *et al.*, 1979).

عقمت جميع الأوساط بدرجة حرارة 121م وضغط 1.5 بار لمدة 15 دقيقة ا، كما أضيف المضاد الحيوي الـ Chloramphenicol إلى الأوساط بنسبة 0.25غم/لتر لغرض منع نمو البكتريا.

ب. مصدر اللقاح الفطري

الفطر *Rhizoctonia solani*

تم الحصول على عزلة مرضية للفطر *R. solani* من قسم وقاية النبات في كلية الزراعة/جامعة بغداد، وقد عزلت من نباتات قطن مصابة.

الفطر *Trichoderma harzianum*

تم الحصول على عزلة الفطر *Trichoderma harzianum* من المبيد الحيوي البيوكونت Biocont-T-(Granular) الأردني المنشأ من قسم وقاية النبات في كلية الزراعة/ جامعة بغداد الذي يمتاز بكونه مقاوماً حيوياً فطرياً فعالاً لوقاية وعلاج النباتات من الأمراض الفطرية ومن بينها الأمراض التي يسببها الفطر *R. solani*. المادة الفعالة عبارة عن أبواغ حية للفطر *T. harzianum* بتركيز أعلى من 19×10^7 بوغ/غرام واستعمل بعد حله بالماء بنسبة تخفيف مماثلة للنسبة المستعملة في البيوت الزجاجية وهي 25 غرام/20 لتر وزرع بطريقة الصب (Pouring) في أطباق بتري حاوية على وسط أكار البطاطا والدكستروز Potato Dextrose Agar وحضن بدرجة حرارة 25م لمدة خمسة أيام وبعد ظهور المستعمرات أجريت عملية عزل لمستعمرات الفطر على وسط اكار البطاطا والدكستروز (PDA) للحصول على مستعمرات نقية للفطر.

ج. طرائق العمل:

تأثير الفطر *R. solani* في نسبة إنبات بذور الطماطة

اعتمدت طريقة Carling وLeiner (1986). إذ تم زرع بذور الطماطة *Lycopersicon esuclentum* Mill صنف Super marmonde المعقمة سطحياً بمحلول هيبوكلورات الصوديوم بتركيز 4% لمدة 4 – 5 دقيقة والتي جرى غسلها بالماء المقطر المعقم فيما بعد على أطباق بتري حاوية على الوسط الغذائي المعقم PDA بمعدل (20 بذرة/طبق) وبشكل دائري بعد تلقيح مركز الطبق بقرص قطره 10 ملم مأخوذ من

حافة مستعمرة الفطر *R. solani* النامي على الوسط PDA وبواقع ثلاثة مكررات مع الأخذ بنظر الاعتبار إجراء معاملة مقارنة بزراعة بذور الطماطة على الوسط الغذائي بالطريقة نفسها وبدون تلقيح الوسط بالفطر *R. solani*. تم حساب نسبة إنبات بذور الطماطة بعد مرور ستة أيام من الحضن بدرجة حرارة 25 م وحسب القانون التالي

$$\text{نسبة الإنبات} = \frac{\text{العدد الكلي للبذور} - \text{عدد البذور غير النابتة}}{\text{العدد الكلي للبذور}} \times 100$$

1 . تأثير درجة الحرارة والرقم الهيدروجيني في نمو الفطر *R. solani*

لحساب تأثير تداخل درجات الحرارة 15 25 و35 م والأرقام الهيدروجينية 4 و6 و8 في نمو الفطر الممرض *R. solani* وزع الوسط PDA المعقم على ثلاثة دوارق مخروطية حجم 500 مل بواقع 300 مل وسط لكل منها وعدلت الأرقام الهيدروجينية للأوساط إلى 6 و8 باستعمال محلول دارئ الفوسفات بتركيز 0.2 مولار وإلى الرقم الهيدروجيني 4 باستعمال محلول خلات الصوديوم الدارئ بتركيز 0.2 مولار وبعد تعقيمها بجهاز التعقيم البخاري صبت الأوساط في أطباق بتري قطرها 90 ملم بواقع 9 أطباق لكل رقم هيدروجيني بعدها لقحت الأطباق جميعها بقرص قطره 10 ملم مأخوذ من حافة مستعمرة الفطر *R. solani* النامي على الوسط PDA بعمر أربعة أيام وقسمت الأطباق التي لها الرقم الهيدروجيني نفسه إلى ثلاث مجاميع وحضنت كل مجموعة في واحدة من الدرجات الحرارية 15 25 و35 م لمدة سبعة أيام وبواقع ثلاثة مكررات لكل درجة حرارة وقيس نمو الفطر بأخذ معدل قطرين متعامدين من ظهر المستعمرة يمران بمركز القرص كل 24 ساعة.

2 . تأثير درجة الحرارة والرقم الهيدروجيني في نمو الفطر *T. harzianm*

اتبعت نفس الطريقة السابقة ولكن باستعمال قرص الفطر *T. harzianm* النامي على الوسط PDA وبعمر ثلاثة أيام.

3 . تأثير درجة الحرارة والرقم الهيدروجيني في الكفاءة التضادية للفطر المسيطر *T. harzianum* ضد الفطر الممرض *R. solani*

اعتمدت طريقة الزرع المزدوج (Ligocka *et al.*, 2002) لاختبار قدرة الفطر المسيطر *T. harzianum* في التضاد مع الفطر الممرض *R. solani* في أطباق بتري حاوية على الوسط PDA المعقم إذ لقح مركز النصف الأول من الطبق بقرص قطره 10 ملم من الفطر *T. harzianum* النامي على الوسط PDA وبعمر ثلاثة أيام أما مركز النصف الآخر من الطبق فقد لقحت بقرص مماثل من الفطر الممرض *R. solani* النامي على الوسط PDA وبعمر أربعة أيام وأجريت معاملة مقارنة وذلك بتلقيح مركز أحد نصفي الطبق بالفطر الممرض وجرى الاختبار عند ثلاثة أرقام هيدروجينية هي 4 6 و8 وذلك بتعديل قيمة الرقم الهيدروجيني للوسط إلى 4 باستعمال محلول الخلات الدارئ بتركيز 0.2 مولار وإلى الرقمين الهيدروجينيين 6 و 8 باستعمال محلول الفوسفات الدارئ بتركيز 0.2 مولار وقسمت الأطباق الحاوية على الرقم الهيدروجيني نفسه إلى ثلاث مجاميع وحضنت كل مجموعة في واحدة من الدرجات الحرارية 15 25 و35م وبواقع ثلاثة مكررات لكل درجة حرارة وقيست أقطار المستعمرات بعد مدة حضانة 7 أيام وقدرت درجة التضاد حسب مقياس Bell وجماعته (1982) والمكون من خمس درجات.

1. الفطر المضاد يغطي الطبق بكامله.
2. الفطر المضاد يغطي 3/4 مساحة الطبق.
3. الفطر المضاد والفطر الممرض كل منهما يغطي نصف مساحة الطبق.

4. الفطر الممرض يغطي 3/4 مساحة الطبق.
5. الفطر الممرض يغطي الطبق بكامله.

د.التحليل الإحصائي

حللت نتائج التجارب وفق نموذج التجارب العاملية بتصميم تام التعشية Factorial experiments with completely randomized design وقد استعمل اختبار أقل فرق معنوي (L.S.D.) Least Significant Difference تحت مستوى 0.05 لبيان معنوية النتائج (الراوي وخلف الله، 1980).

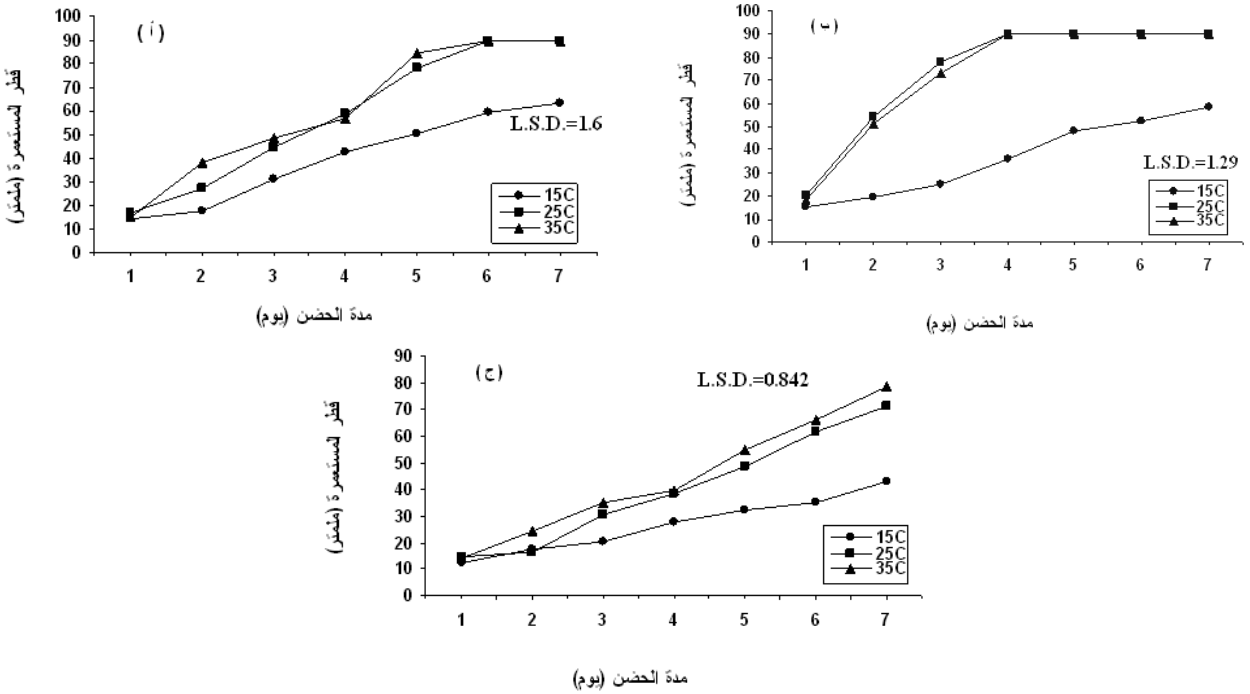
النتائج والمناقشة

تبين من الدراسة الحالية أن لعامل الحرارة دوراً مهماً في التأثير في نمو الفطر *R. solani* فقد أظهر الفطر مستويات مختلفة من النمو في درجات الحرارة 15 و25 و35م باختلاف الأرقام الهيدروجينية إلا أن نموه الأمثل كان عند درجتي الحرارة 25 و35م في حين انخفضت معدلات النمو بصورة كبيرة في درجة حرارة 15م (شكل 1). إن هذه النتائج جاءت متوافقة مع ما ذكره (عباس، 1998) من أن المدى الحراري الأمثل لنمو العزلات المرضية للفطر *R. solani* تراوح مابين (25 – 35) م وأن الانخفاض في معدلات النمو كان واضحاً في درجة حرارة 15م. كما تتفق أيضاً مع ما أشار إليه (Mazzola *et al.*, 1996) إلى أن العزلات المرضية لهذا الفطر والمأخوذة من نبات حنطة مصاب غطت مساحة الطبق بالكامل بعد مرور أربعة أيام من الحضن في درجة حرارة 25م وفي المقابل ذكر (تكسانة، 1983) بأن العزلات الممرضة من الفطر لم تتمكن من النمو عند درجة حرارة 35م وقد يرجع سبب هذا الاختلاف في النتائج إلى نوع العزلة والمنطقة التي أخذت منها وظروف التجربة.

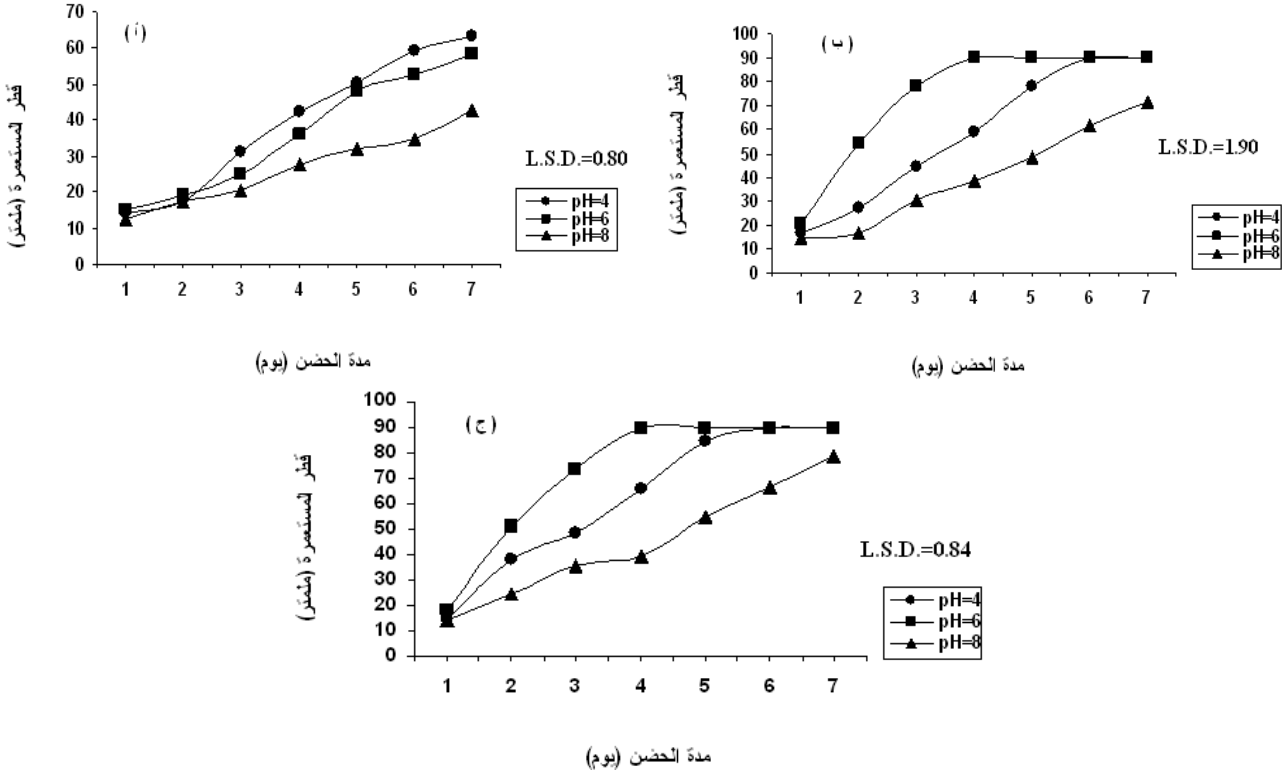
تتحدد درجات الحرارة المثلى لنمو الأحياء المجهرية بمدى تأثر تفاعلات الخلية التي تشترك فيها الإنزيمات لذا فإن الانخفاض السريع في معدلات النمو عند رفع درجة الحرارة أكثر من المثلى ربما ناتج عن الخلل الذي قد يحدث في عمل هذه الإنزيمات ويشار إلى الدرجة الحرارية الدنيا للنمو بأنها الدرجة التي بعدها يتوقف عبور المواد المذابة في الوسط خلال الغشاء السايتوبلازمي (السعد، 1990 ;Tanner, 1997).

أما بالنسبة لتأثير الرقم الهيدروجيني في نمو الفطر *R. solani* فقد تبين بأن الرقم الهيدروجيني 6 هو الأمثل للنمو باختلاف درجات الحرارة يليه الرقم الهيدروجيني 4 بينما انخفضت معدلات النمو عند الرقم الهيدروجيني 8 مقارنة ببقية الأرقام الهيدروجينية (شكل 2) وقد جاءت هذه النتائج متوافقة مع ما ذكره (تكسانة، 1983) من أن الرقم الهيدروجيني الأمثل لنمو العزلات الممرضة وغير الممرضة للفطر *R. solani* تراوح مابين 5-6 ويشار إلى أن هذا المدى من الرقم الهيدروجيني هو الأمثل لنمو الفطر في التربة (Agrios, 1997; Nelson *et al.*, 1996).

بالرغم من التغيرات الحاصلة في المحيط (الوسط) الذي ينمو فيه الفطر إلا أن سايتوبلازم الخلية يبقى محافظاً على نسبته من أيونات الهيدروجين والهيدروكسيل وذلك لأن الغشاء البلازمي يعد غير ناضح نسبياً لهذه الأيونات إلا أن الإنزيمات الموجودة في الغشاء السايتوبلازمي نفسه تتأثر بتركيز أيون الهيدروجين مما يؤدي إلى تأثر الفعاليات الأخرى التي من أبرزها ألفة هذه الإنزيمات الموجودة في الغشاء للمواد المذابة في الوسط (السعد، 1990).



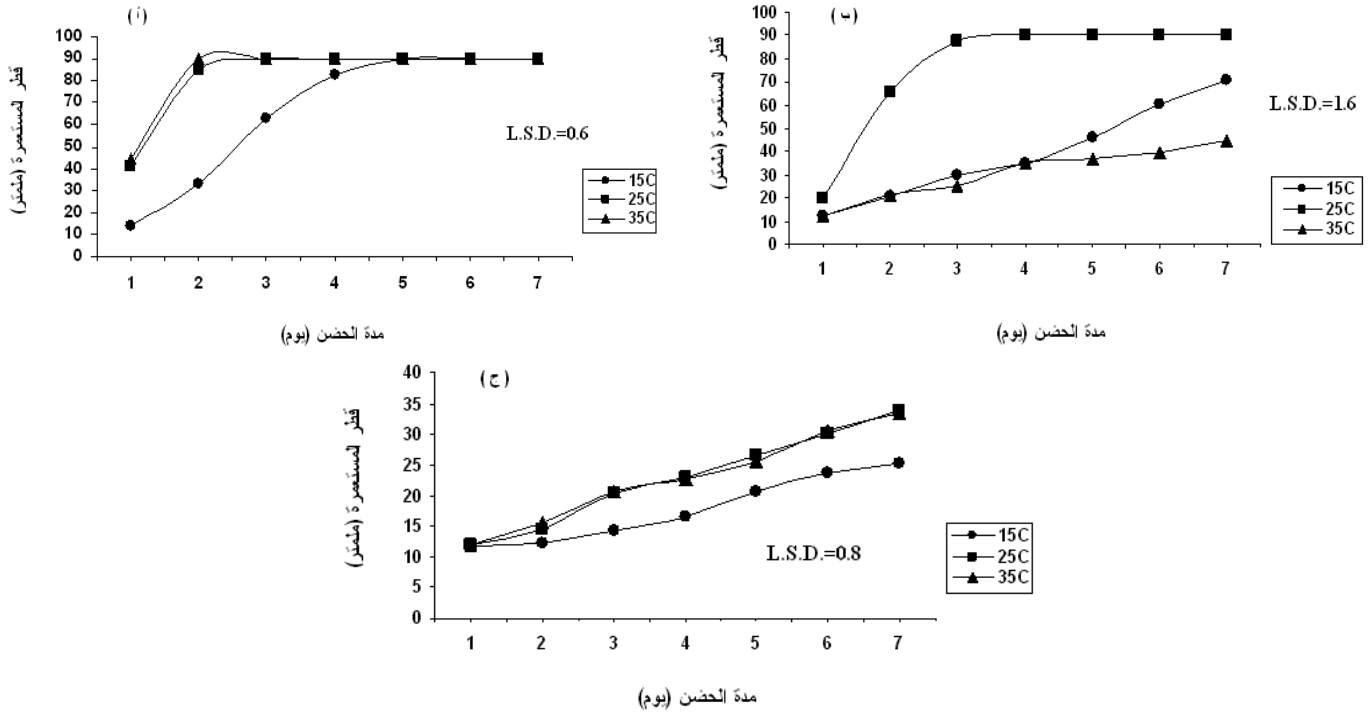
شكل رقم (1): تأثير درجات الحرارة في معدلات نمو الفطر *Rhizoctonia solani* النامي في وسط PDA عند الأرقام الهيدروجينية (أ) pH 4 و (ب) pH 6 و (ج) pH 8 وبواقع ثلاثة مكررات



شكل رقم (2): تأثير الرقم الهيدروجيني في معدلات نمو الفطر *Rhizoctonia solani* النامي في وسط PDA عند درجات حرارة (أ) 15م و(ب) 25م و(ج) 35م وبواقع ثلاثة مكررات

أظهرت نتائج معاملة بذور نبات الطماطة Mill *Lycopersicon esculentum* صنف Super marmande بالفطر الممرض *R. solani* إن نسبة إنبات هذه البذور كانت 40% بعد ستة أيام من تنميتها في وسط الـ PDA الملقح بقرص الفطر الممرض مقارنة بالبذور غير المعاملة.

وبهدف استكمال بعض جوانب الموضوع تم دراسة تأثير درجات الحرارة والرقم الهيدروجيني في معدلات نمو الفطر المسيطر *T. harzianum* وقد تبين من النتائج بأن الدرجة الحرارية المثلى لنمو الفطر كانت 25م باختلاف الأرقام الهيدروجينية وانخفضت معدلات النمو بصورة ملحوظة عند درجتي الحرارة 15 و35م عند جميع الأرقام الهيدروجينية باستثناء الرقم الهيدروجيني 4 الذي أظهر زيادة كبيرة في معدلات النمو عند كلتا الدرجتين الحراريتين (شكل 3).



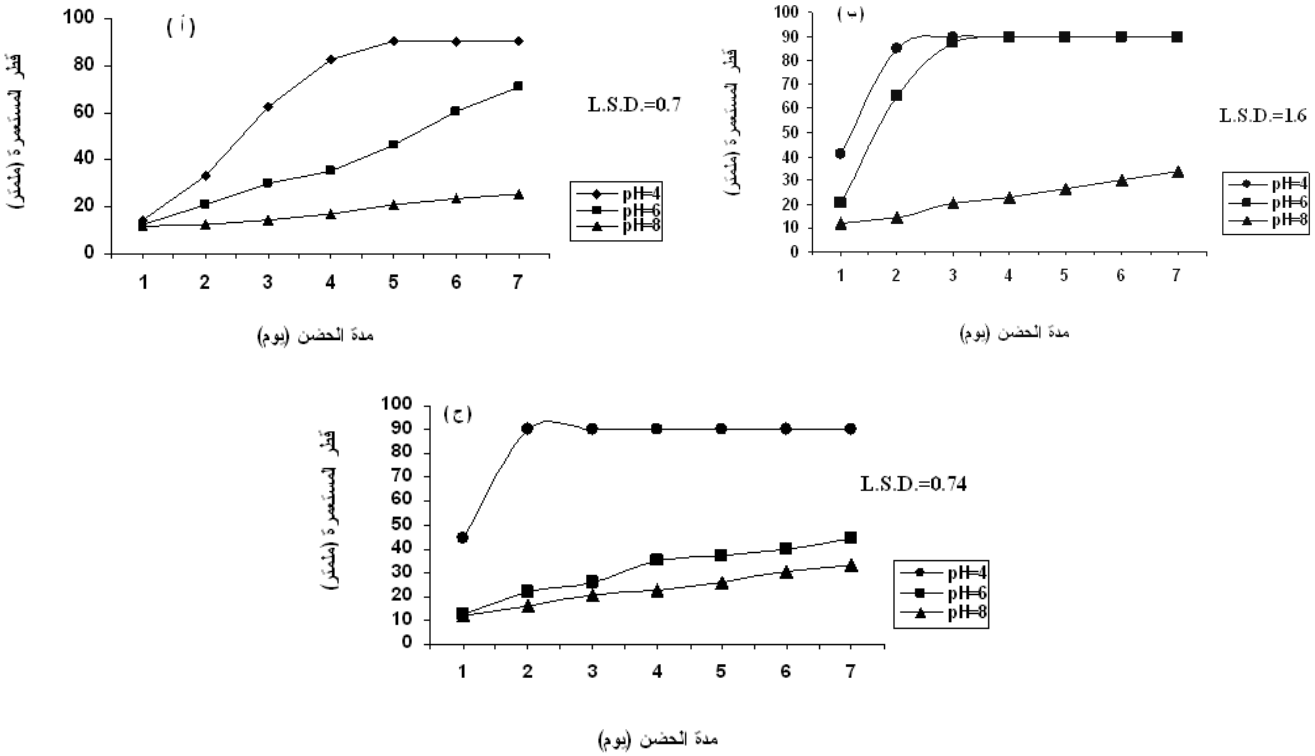
شكل رقم (3): تأثير درجات الحرارة في معدلات نمو الفطر *Trichoderma harzianum* النامي في وسط PDA عند الأرقام الهيدروجينية (أ) pH 4 و (ب) pH 6 و (ج) pH 8 وبواقع ثلاثة مكررات

إن هذه النتائج جاءت مقاربة لما ذكره (Domsch *et al.*, 1980) الذي أشار إلى أن الدرجة الحرارية المثلى لنمو الفطر *T. harzianum* كانت 30م وأن أقصى درجة حرارية للنمو هي 36م. كما أشار بعض الباحثين إلى أن الفطر المذكور يعد من الفطريات التي تنمو في درجات حرارية معتدلة وينخفض معدل نموه ونشاطه بارتفاع وانخفاض درجات الحرارة عند الحدود الدنيا والعليا (Kucuk and Kivanc, 2003). وتشير إحدى الدراسات إلى أن عدداً قليلاً جداً من سلالات الفطر *T. harzianum* قادرة على النمو في درجات الحرارة المنخفضة على الأوساط Yeast extract Agar, minimal media (Kredics *et al*., 2003).

وبالنسبة لتأثير الرقم الهيدروجيني في نمو الفطر *T. harzianum* فقد ظهر بأن معدلات نمو الفطر قد ازدادت بصورة كبيرة عند الرقم الهيدروجيني 4 باختلاف درجات الحرارة والسبب في ذلك قد يعود إلى تأثير حموضة الوسط في تأين المركبات الموجودة فيه ودرجة ارتباطها بالإنزيمات الموجودة في الغشاء البلازمي للفطر وكذلك تأثيرها في فعالية ونشاط هذه الإنزيمات وباقي إنزيمات الفطر ومن ثم زيادة سرعة العمليات الحيوية

المرتبطة بها التي من أبرزها سرعة تكوين الأبواغ وسرعة إنباتها في الوسط (Tanner, 1997; Morra, 1997).

وتباين تأثير الرقم الهيدروجيني 6 في معدلات نمو الفطر باختلاف درجات الحرارة فقد أظهرت درجة الحرارة 25م تأثيراً كبيراً في زيادة معدلات النمو بينما انخفض مستوى النمو في درجة حرارة 15م وازداد الانخفاض وضوحاً عند درجة حرارة 35م. أما بالنسبة للرقم الهيدروجيني 8 الذي يعد غير ملائم لنمو أغلب الفطريات (شكل 4) (Tanner, 1997) كان له تأثير واضح في خفض معدلات النمو عند درجات الحرارة كافة. إن هذا المدى من التأثير للرقم الهيدروجيني في نمو الفطر اتفق مع ما ذكره (Kredics *et al.*, 2003) في أن الفطر *T. harzianum* يمتلك القدرة على النمو في مدى واسع من الرقم الهيدروجيني يتراوح مابين 2 – 6 وأن الرقم الهيدروجيني 4 هو الأمثل لنمو الفطر.



شكل رقم (4): تأثير الرقم الهيدروجيني في معدلات نمو الفطر *Trichoderma harzianum* النامي في وسط PDA عند درجات حرارة (أ) 15 م و(ب) 25 م و(ج) 35 م وبواقع ثلاثة مكررات

إن تأثير العوامل البيئية في نمو الفطر *T. harzianum* انعكس على كفاءته التضادية مع الفطر *R. solani* وذلك من خلال تأثيرها في سرعة نمو الفطر وتجرثمه و الذي ينعكس على قدرته التنافسية وتطفله على الفطر الممرض أو من خلال افرازه للعديد من الانزيمات والمضادات الحياتية التي تسبب قتل خلايا المضيف أو تحد من نموه وانتشاره (Kucuk and Kivance, 2003; Kredics *et al.*, 2003) هذا فضلاً عن أن بعض العوامل البيئية الملائمة لنمو الفطر *T. harzianum* تكون في الوقت نفسه مثبطة لنمو الفطر الممرض (Hunter and Bodman, 2000).

اعتماداً على اختبار التضاد بوساطة الزرع المزدوج الذي اقترحه (Bell *et al.*, 1982) فإن الدرجة 2 تمثل أقل مستوى مقبول لتحديد قدرة الفطر *T. harzianum* في التضاد مع الفطر *R. solani* وأن زيادة هذه الدرجة عن ذلك يعكس ضعف القدرة التضادية للفطر مما يجعله غير مفيد في المكافحة الاحيائية لذلك وحسب

هذا التصنيف تم حساب تأثير درجة الحرارة والرقم الهيدروجيني على مستوى كفاءة الفطر التضادية ففي الرقم الهيدروجيني 4 نلاحظ بأن الكفاءة التضادية للفطر كانت عالية باختلاف درجات الحرارة الذي كان في الوقت نفسه مشجعاً لنمو الفطر بينما تباين تأثير الرقم الهيدروجيني 6 في كفاءة الفطر التضادية ضد الفطر الممرض باختلاف درجات الحرارة فقد أظهر الفطر قدرة تضادية عالية عند درجة حرارة 25م بينما انخفضت كفاءته في درجات الحرارة 15 و35م اللتان تعدان غير ملائمتين لنمو الفطر المسيطر (جدول 2). وأظهر الرقم الهيدروجيني 8 تأثيراً كبيراً في خفض كفاءة الفطر التضادية الذي يعود بصورة كبيرة إلى كونه غير ملائم لنمو الفطر (صورة 1).

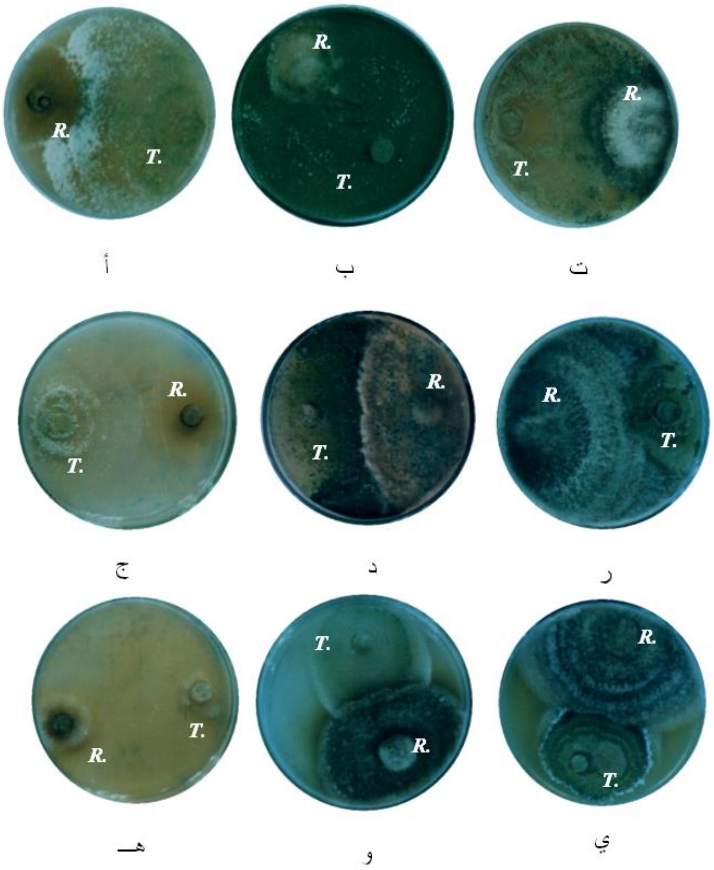
أشار حميد إلى أن بعض عزلات الفطر *T. harzianum* أظهرت درجة تضادية عالية 1.2 ضد الفطر *R. solani* عند تنميتها في وسط PSA برقم هيدروجيني 6 في درجة حرارة 25م. أن معظم سلالات الفطر *Trichodeirma* تنمو في درجات حرارية معتدلة مما يقلل من فرص حماية البذور النابتة من الإصابة بالسلالات الفطرية الممرضة المقاومة لدرجات الحرارة المنخفضة خلال موسم الشتاء البارد والربيع (Kerdics, 2003). كما بين Hunter وBodman (2000) بأن أغلب الفطريات المستعملة في السيطرة الحيوية والتي من أبرزها الفطر *Trichoderma* حساسة لتأثير العوامل البيئية وأن أنسب الظروف البيئية للتضاد، هي عند درجة الحرارة 25م ورقم الهيدروجيني يتراوح مابين 6 – 8.

إن قدرة الفطر *T. harzianum* في القضاء على الفطر *R. solani* تتجسد من خلال العديد من الآليات التي أبرزها آليتي التنافس والتطفل. ظهر دور آلية التنافس من خلال سرعة نمو الفطر *T. harzianum* مقارنة بالفطر الممرض *R. solani* وهي ناتجة عن سرعة استهلاكه للمواد الغذائية الموجودة في الوسط PDA وازدادت هذه الآلية وضوحاً عند تنمية كلا الفطرين بصورة منفردة ومزدوجة تحت ظروف بيئية تعد أكثر ملائمة لنمو الفطر المسيطر.

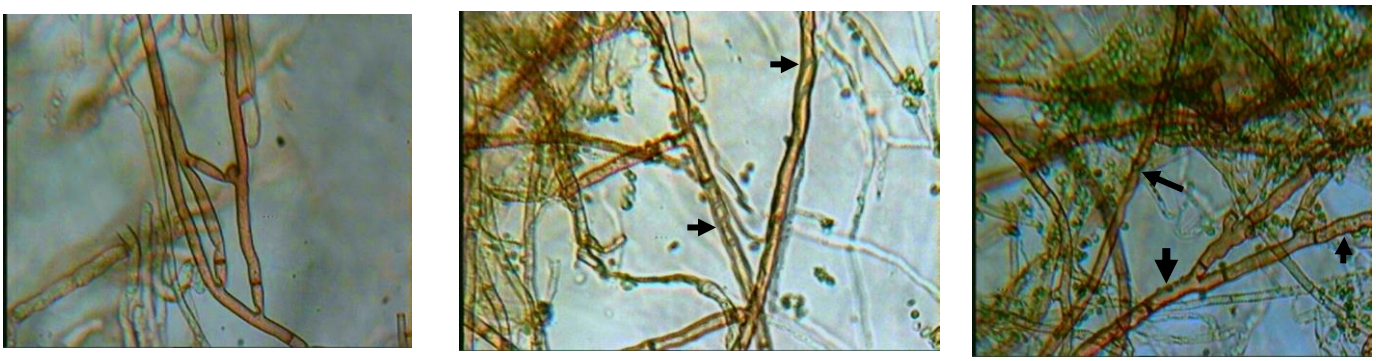
أما بالنسبة لآلية التطفل فقد تمثلت بالتفاف الفطر المسيطر على الغزل الفطري للمضيف *R. solani* وإنبات الإبواغ عليه وإحداث تشوهات في جدرانه وتحلل خلاياه نتيجة لإفراز الفطر *T. harzianum* للعديد من الإنزيمات والمضادات الحياتية (صورة 2).

جدول (2): تأثير درجات الحرارة والارقام الهايدروجينية في الكفاءة التضادية للفطر *T. harzinum* ضد الفطر *R. solani* في وسط الـ PDA بعد مدة حضانة سبعة أيام

الرقم الهيدروجيني pH	ظروف الحضن Temperature	درجة التضاد
4	15 Cº	1.4
	25 Cº	1.45
	35 Cº	1.26
6	15 Cº	2.4
	25 Cº	1.3
	35 Cº	2.8
8	15 Cº	3.96
	25 Cº	2.9
	35 Cº	3.26



صورة (1): تأثير الفطر *T. harzianum* في نمو الفطر *R. solani* بعد مدة حضن سبعة ايام في وسط PDA عند: أ- pH 4 و 15 م هـ، ب- pH 4 و 25 م هـ ، ت- pH 4 و 35 م هـ ، ج- pH 6 و 15 م هـ ، د- pH 6 و 25 م هـ ، ر- pH 6 و 35 م هـ، هـ - pH 8 و 15 م هـ ، و- pH 8 و 25 م هـ ، ي- pH 8 و 35 م هـ



ج ب أ

صورة (2): تأثير الفطر المضاد *T. harzianum* في الصفات المظهرية للفطر الممرض *R. solani* : أ- خيوط الفطر الممرض في معاملة السيطرة . ب- التفاف خيوط الفطر المضاد حول خيوط الفطر الممرض. ج- تشوه مظهر الخيوط الفطرية للفطر الممرض وتجمع ابواغ الفطر المضاد على خيوط الفطر الممرض، قوة التكبير 400x

المصادر

الراوي، خاشع محمود وعبد العزيز خلف الله. 1980. تصميم وتحليل التجارب الزراعية. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي. مطبعة مؤسسة دار الكتب للطباعة والنشر. جامعة الموصل. 488 صفحة.

السعد، مها رؤوف 1990. مبادئ فسلجة الأحياء المجهرية. مطابع التعليم العالي في الموصل. جامعة بغداد. 400 صفحة.

الوائلي، ضياء سالم علي (2004). دراسة مرض موت بادرات الطماطا ومكافحتها المتكاملة في مزارع الزبير وسفوان في البصرة، أطروحة دكتوراه، كلية علوم – جامعة البصرة.

تكسانة، عبد العزيز. 1983. المقاومة الحياتية لبعض فطريات التربة المرضية باستخدام عزلة غير مرضية للفطر *Rhizoctonia solani Kuhn*. رسالة ماجستير–كلية العلوم– جامعة بغداد. 71 صفحة.

حميد، فاخر رحيم. 2002. دراسة كفاءة عزلات الفطر *Trichoderma* spp في استحثاث المقاومة ضد الفطر *Rhizoctonia solani* وتحفيز النمو في أربعة أصناف من الفطر. رسالة ماجستير – كلية الزراعة – جامعة بغداد. 80 صفحة.

عباس، محمد حمزة 1998. دراسة حياتية ووقائية للفطر *Rhizoctonia solani* Kuhn المسبب لتعفن بذور وموت بادرات الحنطة. رسالة ماجستير – كلية الزراعة – جامعة البصرة. 88 صفحة.

Agrios, G.N. (1997). Plant Pathology. 4th ed. Academic Press. London. pp: 150-203.

Asaka, O. and Shoda, M. (1996). Biocontrol of *Rhizoctoina solani* damping-off of tomato with *Bacillus subtilus* R B 14. Appl. Environ. Microbiol., 62: 397-404.

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

Carling, D.E. and Leiner, R.H. (1986). Isolation and characterization of *Rhizoctonia solani* and binudeat *Rhizoctonia solani* like fungi from aerial stem and subterraneans of potato plants. Phytopathol., 76: 725-729.

Chet, I. and Baker, R. (1981). Isolation and biocontrol potential of *Trichoderma hamatum* from soil naturally suppressive to *R. solani*. Phytopathol., 71: 286-290.

Domsch, K.H.; Gams, W. and Anderson, T. (1980). Compendium of soil fungi. Academic press, p. 859.

Elad, Y.; Chet, I. and Katan, Y. (1980). *Trichoduma harzianum* a biocontrol agent effective against *Sclerotium rolfsii* and *Rhizoctonia solani*. Phytopathol., 70: 119-121.

Hine, R. (1999). Disease of Urban plants. University of Arizona.

Howell, C.R. (2003). Mechanisms employed by *Trichderma* species in the biological control of plant disease: The history and evolution of current concepts. Plant Disease, 87: 4-10.

Hunter, M. and Bodman, K. (2000). Beneficial microbes in soil-less potting media, IDS contracting Australia. 1300 724 131.

Johnson, S.B. and Leach, S.S. (2004). *Rhizoctonia* disease on potatoes. University of Maine Cooperative Extension, Bulletin, 2273.

Koneman, E.W.; Roberts, G.D. and Wright, S.E. (1979). Practical laboratory mycology. 2nd ed. The Williams and Wilkins Co., USA, pp: 165-167.

Kredics, L.; Antal, Z.; Manczinger, L.; Szekeres, A.; Kevei, F. and Nagy, E. (2003). Influence environmental parameters on *Trichoderma strains* with biocontrol potential. Food Technol. Biotechnol., 41: 37-42.

Kucuk, C. and Kivance, M. (2003). Isolation of *Trichoderma* spp. and determination of their antifungal, biochemical and physiological features. Turk. J. Biol., 27: 247-253.

Ligocka, A.; Paluszak, Z.L. Sadowski, S. and Dziedic, T. (2002). Enzymatic and antagonistic potential observed in flax-root-infecting fungi. Electronic J. of Polish Agricultural Universities, Agronomy, Vol. 5, Issue. 1.

Mazzola, M.; Wong, O. and Cook, P.J. (1996). Virulence of *Rhizoctonia oryzae* and *R. solani* AG-8 on wheat and detection of *R. oryzae* in plant tissue by PCR. Phytopathol. 86: 354-360.

Montealegre, J.R.; Reyes, R.; Perez, L.M.; Herrera, R.; Silva, P. and Besoain, X. (2003). Selection of bioantagonistic bacteria to be used in biological control of *Rhizoctonia solani* in tomato. Environ. Biotchnol., 6: 1-8.

Morra, M.J. (1997). Assessmental of Extracellular enzymatic activity in soil. In: Manual of environmental microbiology (ed. Hurs, C.J.; Knudsen, G.R.; Mclnerney, M.J.; Stetzenbach, L.D. and Walter, M.V.) American Society for Microbiology, Washington. pp. 459-465.

Nelson, B; Helms, T.; Christianson, T. and Kural, L. (1996). Characterization and pathogenicity of *Rhizoctonia* from soybean. Plant Disease, 80: 74-80.

Papavizas, G.C. (1985). *Trichoderma* and Gliocladium: biology, ecology and potential for biocontrol. Phytopathol., 23: 23-54.

Sivan, A. and Chet, I. (1989_b). The possible role of competition between *Trichoderma harzianum* and *Fusarium oxysporum* of rhizosphere colonization. Phytopathol., 79: 198-203.

Tanner, R.S. (1997). Cultivation of bacteria and fungi. In: Manual of environmental microbiology (ed. Hurs, C.J.; Knudsen, G.R.; Mclnerney, M.J.; Stetzenbach, L.D. and Walter, M.V.) American Society for Microbiology, Washington. pp. 52-60.

Whipps, J.W. (1987). Effect of media on growth and interactions between a range of soil-borne glasshouse pathogens and antagonistic fungi. New Phytol., 107: 127-142.