

المكافحة الاصيائية لمرض التعفن الفحمي لنبات زهرة الشمس *Macrophmina phaseolina* بفطر

.*Trichoderma* spp و بعض انواع الفطر *Glomus* spp المايكورايزا

تاریخ القبول: 19/8/2014

تاریخ الاستلام: 2014/5/21

صباح لطيف علوان
قسم وقاية النبات - كلية الزراعة
جامعة الكوفة

* عبد النبي عبد الامير مطروه
قسم وقاية النبات - كلية الزراعة
جامعة البصرة
abdu1988875@yahoo.com

الخلاصة:

استخدم في هذه الدراسة فطر المايكورايزا *Trichoderma spp* وبعض انواع الفطر *Glomus sp* في مكافحة مرض التعنف الفحمي على نبات زهرة الشمس المتسبب عن الفطر *Macrophmina phaseolina* حيث وجد ان انواع الفطر *Trichoderma spp* لها دوراً تثبيطاً للفطر *Macrophmina phaseolina* حيث تفوقت جميع عزلات الفطر *Trichoderma spp* في قدرتها التصدادية تجاه الفطر الممرض *M. phaseolina* بطريقة المقع حيث بلغت منطقة الشريط 2.6 و 2.5 و 2.4 و 2.4 سم للفتريات *T.a* و *T.t* و *T.h* و *T.v* وعلى التوالي ، وبطريقة الزرع المزدوج حيث لوحظ تفوق الفطر *T.harizanum* على باقي انواع الفطر *Trichoderma spp* معنواً على *T.harizanum* . اما في تجربة الكشف عن المركبات الكيميائية في راشن الفطر *Trichoderma harizanum* بجهاز GCMS حيث تم التعرف على مجموعة من المواد الكيميائية التي تعمل كمضادات حياتية مثل Linoleic acid اما فيما يخص الفطر *Glomus sp* فقد وجد ان له القدرة على تحفيز المقاومة في نبات زهرة الشمس ضد الفطر الممرض *Macrophmina phaseolina* من خلال ترسيب اللكتين على جدران خلايا النبات عندما استعمل مع انواع الفطر الاحياني *Trichoderma spp* . كما تفوقت جميع انواع الفترات *Trichoderma spp* المستعملة في خفض شدة الإصابة بالفطر *M. phaseolina* عند استعمالها في التربة الملوثة بالفطر الممرض بثلاثة أيام إلا ان الفطر *Glomus sp* و *T.H* كانوا الأكثر تأثيراً وبفارق معنوي عن بقية الفترات .

الكلمات المفتاحية: (*Glomus sp* ، *Trichoderma* ، *Macrophomina phaseolina* ، زهرة الشمس)

جزء من اطروحة دكتوراه للباحث الاول

Microbiology classification : OR1-502

المقدمة :-

استخدمت طرائق عدة في مكافحة مرض التعفن الفحمي مثل المكافحة الكيميائية (Ijaz وآخرون ، 2012) الا ان بقاء الفطر بهيئة اجسام حجرية لمدة طويلة يجعل من مكافحته الامور الصعبه . بعد استخدام الكائنات الحية الدقيقة في مجال المكافحة الابيانيه من الاتجهات البديلة الناجحة والمرغوب بها ومن اهم هذه الكائنات الفطر *Trichoderma* ، كما اشارت دراسات عده ان فطريات المايكروابيزا ومنها الفطر *Glomus sp* تعمل على تحفيز المقاومة الجهازية في النبات (33) كما تعمل ايضا على زيادة جاهزية العناصر المعدنية ، و تثبيت التتروجين الجوي (35) كذلك لها دور حيوى في دورة العناصر الكبرى في الطبيعة ، كالكاربون ، التتروجين ، الفسفور ، الكبريت و البوتاسيوم . اذ تعمل على تحرير هذه العناصر من المركبات العضوية و بذلك تسهم في التقليل من استخدام الأسمدة المعدنية بنسبة تتراوح بين 50-20 % (25) و (19) ، وثبت أن لهذه الأحياء قابلية على إنتاج منظمات النمو و تثبيط نمو المسببات المرضية (11) و زيادة تحمل النبات لظروف الاجهاد البيئي(9) ونظرًا لأهمية هذا الموضوع وعدم وجود دراسات تفصيلية حوله في العراق ، فقد هدفت الدراسة إلى :

- ١- تقييم فاعلية فطر المايكورابيزا *Glomus sp* في خفض اصابة نبات زهرة الشمس بالفطر *M. phaseolina*
 - ٢- دراسة تقييم كفاءة انواع مختلفة من الفطر *Trichoderma* sp في نمو الفطر *M. phaseolina* مختبريا
 - ٣- تقييم كفاءة عناصر المكافحة الاحيائية في مكافحة مرض التعفن الفحمي حلبا.

بعد محصول زهرة الشمس *Helianthus annuus* L. الممحصول الزيتى الثاني في العالم بعد فول الصويا *Glycine max* L. وتصل نسبة الزيت في بذوره 47% فضلاً عن أن زيته من أفضل الزيوت النباتية الصحية الصالحة للتغذية البشرية لارتفاع نسبة الاحماس الدهنية غير المشبعة Oleic و Linoleic والتي تتراوح نسبتها بين 85%-91% في حين لا تزيد نسبة الأحاسن الدهنية المشبعة Palmitic و Stearic عن 9%-12%. (1) أن تلك المميزات وغيرها جعلت هذا المحصول ذات أهمية حقلية كبيرة بدخوله في الانتاج الزراعي والصناعي على نطاق واسع . يصاب نبات زهرة الشمس بالعديد من المسببات المرضية وبعد مرض التعفن الفحمي Charcoal rot المتسبب بالفطر عن أهم *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid الأمراض والعوامل المحددة لزراعة هذا المحصول (33) حيث يسبب هذا المرض خسائر اقتصادية كبيرة لعدة محاصيل حقلية ، وينتشر مرض التعفن الفحمي لزهرة الشمس في الكثير من مناطق زراعة هذا المحصول خاصة في المناطق التي تمتاز بقلة سقوط الامطار وارتفاع درجات الحرارة مع ملاحظة اعداد كبيرة من الاجسام الحجرية الصغيرة في قشرة ولب الساق وتكون الاعراض اكثر وضوها وقت التزهير (20) . يعد الفطر *M. phaseolina* من الفطريات المستوطنة في التربة ذات المدى العائلي الواسع والذي يصيب أكثر من 500 نوعاً نباتياً (26) كما وجد ان الإصابة بهذا الفطر تزداد كلما تعرض النبات لعوامل الإجهاد البيئي كارتفاع درجة الحرارة وقلة الرطوبة (6)

المواد وطرق العمل

Macrophmina phaseolina عزل وتشخيص الفطر

جلبت عدد من نباتات زهرة الشمس المزروعة في بعض الحقول في محافظة القادسية والظاهرة عليها أعراض الإصابة بمرض التغفن الفحمي بشكل واضح (جفاف النبات وتلون قاعدة الساق بلونبني داكن مع تفسير قاعدة الساق وجود الأجسام الحجرية السوداء وانتشارها في قشرة ولب النبات) إلى المختبر. غسلت قواعد سيقان النباتات والمجموع الجنسي بماء الحنفية للتخلص من الأتربة والعوالق الأخرى ثم قطعت إلى قطع صغيرة بطول (0.5-1 سم) ثم عقمت بمحلول هايبوكلورات الصوديوم (NaOCl) بتركيز 10% من المستحضر التجاري لمدة (5-3) دقائق ثم غسلت بماء مقطر معقم. ثم جفت على ورق ترشيح بعدها زرعت بواقي خمس قطع نباتية في كل طبق بتري حاوي على وسط غذائي P.D.A معقم (Dextrose Agar مضاد له مضاد حيatic) عزل انواع الفطر الاحيائى

أخذت عينات عشوائية من ترب حقول مزروعة بنبات زهرة الشمس محافظة القادسية في شهر ايار لسنة 2012 كما اخذت تربة من البيوت البلاستيكية في صفوان محافظة البصرة في شهر شباط لسنة 2012 المزروعة بنباتي الطماطة والخيار المتميزة بالنمو عن النباتات الأخرى من منطقة الجذور Rhizosphere بعد خلط العينات كلا على حده و تركت في المختبر لتجف لمدة 24 ساعة ونخلت في منخل سعة فتحاته 2 ملم حضرت سلسلة تناهيف من عينات التربة (3 - 6). نقل 1 مل من كل تناهيف إلى أطباق بتري معقم قطر 9 سم وأضيف لها الوسط الغذائي P.D.A المعقم والمضاف إليه المضاد الحيائي Chloroamphenicol بتركيز 250 ملغم/لتر وبثلاث مكرات لكل تناهيف وكل تربة. حركت الأطباق حركة رجوية

Macrophmina phaseolina اختبار القرفة الامر اضية للفطر اضافة استعملت في هذه التجربة اصص بلاستيكية سعة 5 كغم ذات قطر 13 سم وعمق 14 سم تحتوي على مزيج من التربة والبتموس بنسبة 1:2 عقم مزيج التربة باستعمال الفورمالين التجاري وذلك بتحضير محلول مكون من 50:1 فورمالين / ماء استعمل المحلول بنسبة 3 لتر ماء / م 3 تربة (2) . بعد ذلك لقتحت الاصص بعلتني الفطر *Macrophmina phaseolina* عزلة رقم (1) وعزلة رقم (2) المحمل على بنور الدخن بنسبة 0.5%

الدرجة	الوصف
0	النبات سليم
1	1-25 من الأوراق صفراء
2	26-50 من الأوراق صفراء مع تلونبني بسيط في قاعدة الساق
3	51-75 الأوراق صفراء مع تلون قاعدة الساق بلونبني
4	76-100 الأوراق يابسة والنبات ميت بالكامل مع تفسير قاعدة الساق

ثم استخرجت شدة الإصابة حسب معادلة (23)

$$\text{مجموع عدد النباتات من الدرجة } 0 \times 0 + + \text{مجموع عدد النباتات من الدرجة } 4 \times 4$$

$$= \text{شدة الإصابة \%}$$

العدد الكلي للنباتات المفحوصة \times أعلى درجة

اختبار الكفاءة التضادية للفطر *Trichoderma.spp* ضد الفطر المرض *M.phaseolina* او لا طريقة البق Spotting

(٣) سـمـ وـفـقـ المـعـادـلـةـ التـالـيـةـ: التـضـادـ الـمـبـاـشـرـ مـعـ الـفـطـرـ الـاحـيـائـيـ مـنـ الـمـسـافـةـ الـكـلـيـةـ بـيـنـ الـفـطـرـيـنـ

$$C = A - B$$

حيث ان:-

$A =$ المسافة الكلية بين الفطرتين (3 سم).
 $B =$ مسافة نمو الفطر الممرض *M.phaseolina* من جهة التضاد المباشر.

C = المسافة المتبقية (منطقة التثبيط).

صنفت القدرة التضادية الى عدة فئات هي:

- 1- يُعد الفطر الاحياني ذا قدرة تضادية عالية للفطر الممرض إذا كانت قيمه $C \geq 2$ سم ويرمز له (+++).
 - 2- يُعد الفطر الاحياني ذا قدرة تضادية متوسطة للفطر الممرض إذا كانت C من 1-1.9 سم ويرمز له بالرمز (++).
 - 3- يُعد الفطر الاحياني ذا قدرة تضادية ضعيفة للفطر الممرض إذا كانت قيمة C من 0.9 سم ويرمز له بالرمز (+).

واختبرت العزلة الأكثر تشتباها للدراسات اللاحقة.

T.t و كرت كل معاملة ثلاثة مرات كما نفذت معاملة السيطرة وذلك بتلقيح مركز القسم الأول من الطبق بالفطر المرض المذكور أعلاه وفطر المقاومة الحيوية فقط وكل على انفراد . وحضرت الأطباق جميعها في الحاضنة بدرجة حرارة 28 ± 2 لمندة 4 أيام ، ثم جرى قياس معدل النمو القطري لكل من الفطرين الممرضين وفطر المقاومة الاحيائية باستخدام مسطرة شفافة . و تم تقيير درجة التضاد لكل فطر حسب المقاييس الذي ذكرها (8) وكما ياتي

اعتمدت طريقة (3) في اختبار الكفاءة التضاديه للانواع الفطرية ضد الفطر الممرض *Trichoderma.spp* حيث قسم صحن بترى قطر 8.5 سم حاو على وسط غذائي P.D.A مقسم الى أربعة اقسام متساوية ولقح مركز الطبق بفرص 0.5 سم من مستعمرة الفطر الممرض *M.phaseolina* عمر 72 ساعة. تم اخذ اللقاح بواسطه ثاقب فلين معقم ولقح كل قسم من الاقسام الأربعه وعلى مسافة 3 سم من مركز الطبق بفرص 0.5 سم من كل عزلة من عزلات الفطر التضادي *T.humatum* و *T.konngi* و *T.harizanum* و *T.t* و *T.r* و *T.a* و *T.viride* والذي يرمز لهم *T.h* و *T.t* و *T.r* و *T.a* و *T.viride* و *T.humatum* على التوالي ، اما معاملة المقارنة تضمنت تلقيح مركز الطبق بفرص مماثل من مستعمرة الفطر الممرض *M.phaseolina* فقط. نفذت التجربة بثلاثة مكررات لكل معاملة ووضحت الأطباق في الحاضنة عند درجة حرارة $25 \pm 1^\circ\text{C}$ لمدة 4 أيام. تم تحديد القدرة التضاديه للفطر الايجياني تجاه الفطر الممرض عند وصول نمو الفطر الممرض في معاملة المقارنة الى حافة الطبق وذلك بطرح مسافة نمو الفطر الممرض من جهة ثالثاً: طريقة الثالث المزدوج

استعملت تقنية الزرع المزدوج Double culture technique في أطباق بتري قطر 9 سم حاوية على الوسط P.D.A. المعقم، ولاختبار الفكرة التضادية للفطريات المستخدمة في الدراسة حيث لقحت حافة مركز نصف طبق بقدرس قطره 0.5 سم من حافة النمو القطري لمستعمرة الفطر *M.paseolina* و لقحت حافة النصف الآخر بقدرس مماثل لأنواع فطر المقاومة الحيوية *Tichodema.spp* *Tichodema* النامية على الوسط الغذائي P.D.A. وبعمر 5 أيام وهي a T.a و T.h و T.r و T.o (نحو ٣٠ يوماً) فطر المقاومة الإيجابية الدرجة

الفطر المضاد يعطي الطبق بكامله	1
الفطر المضاد يعطي ثلثي مساحة الطبق	2
الفطر المضاد والفطر الممرض كل منه	3
الفطر الممرض يعطي ثلثي مساحة الطبق	4
الفطر الممرض يعطي الطبق بالكامل	5

دراسة تأثير راشح مزرعة انواع الفطر *M.phaseolina* و *T.harzianum* في نمو الفطر

الفطر عن الراشح الفطري بمساعدة جهاز التفريغ الهوائي .(Vacuum)

حضرت بعدها سلسلة تراكيز من راشح كل عزلة من الفطريات الايجيانية 10، 20، 30 % أضيفت الى الوسط الغذائي P.D.A المعمق مع مراعاة تعديل نسبة الاكاران قبل تقييم الوسط. صبت الأوساط الغذائية الحاوية على الرواشح في أطباق بتري معقمة قطر 9 سم ثم لفحت الأوساط بعد تصفيتها بأغراض قظر كل منها 0.5 سم من الوسط الغذائي المنمي عليه الفطر الممرض M. phaseolina بعمر 72 ساعة في مركز كل طبق . كررت المعاملات بثلاثة مكررات لكل منها ثم حضنت الأطباق في الحاضنة في درجة حرارة $28 \pm 2^{\circ}\text{C}$ لمدة أسبوع ثم قيس معدل النمو القطري بأخذ معدل قطرين متsequدين يمران بمركز الطبق بعد وصول نمو الفطر في معاملة المقارنة الى حافة الطبق.

GC M

حضر الوسط الغذائي السائل Potato Dextrose المكون من مستخلص 200 غم بطاطا و 20 غم Dextrose/لتر ماء مقطر وزع في دوارق مخروطية سعة 250 مل وبمعدل 200 مل/دورة. عقم الوسط الغذائي بجهاز التفقييم البخاري على درجة حرارة 121°C وضغط 15 باوند/انج 2 لمدة 20 دقيقة. بردت الدوارق ولقح كل منها بقرص قطر 0.5 سم من الوسط الغذائي الممنى P.D.A عليه الفطريات T.h و T.v و T.A و T.T و T.R بعمر خمسة أيام كل على انفراد ثم حضنت الدوارق عند درجة حرارة 28 ± 2 لمرة 14 أيام مع مراعاة رج محتويات الدوارق كل 2-3 يوم رشحت مزمرة الفطر السابقة خلال ورق ترشيح نوع whatman filter paper No.1 فلتر ملی بور حجم 0.22 ملی مایکرون وذلك لضممان قفل ابواغ

التعرف على المركبات الموجودة في راش الفطر *T.harzanum* وزع الوسط الغذائي PD في دوارق زجاجية مخروطية حجم (250 مل) بمعدل (200 مل) لكل دوارق عمق الوسط الغذائي بجهاز التقييم البخاري ثم لفحت الدوارق بقعر صم 0.5 سم من الوسط لغذائي النامي عليه الفطر *T.harizanum* عبر اربعة أيام حضنت الدوارق على درجة حرارة 25 ملمدة 14 يوم أخذين

نوع Shimadzu

وبوادع 10 بذور لكل اصيص وسقيت بالماء كلما دعت الحاجة وبعد أسبوعين من الانتبات حسبت النسبة المئوية للثانيات ونسبة موتها البادرات وبعد سبعة أيام حسبت نسبة الاصابة وشدة الاصابة بالفطر *M. phaseolina* وحسبت نسبة اصابة الجذور بالفطر المايكرو ايزا بالنسبة للثانيات المعاملة به

حلت نتائج الدراسة بإستخدام التصميم تام التعيشية CRD وإختبار أقل فرق معنوي LSD على مستوى 0.5% لمقارنة النتائج واستعمل البرنامج الاحصائي Genstat في تحليل البيانات.

تأثير الفطر المايكورايزا *Glomus sp* وانواع الفطريات

استعمل في هذه التجربة مزيج من التربة والبتموس وبنسنة 2:1 ومقعمة بالفورمالين التجاري كما في الفقرة السابقة وضعت التربة في اصص بلاستيكية لوثت تربة الاصص بالفطر *M.phaseolina* بمعدل 0.5% وزن / وزن بعد ذلك ربطت بالماء ثم بعد ثلاثة ايام اظيف لقاح الفطريات الاحيائية T.a و T.h و T.r و T.t و T.v المحملة على بذور الدخن وبنسنة 5.5% وزن / وزن الى تربة الاصص ثم ربطت الاصص وبعد ثلاثة ايام زرعت بذور عباد الشمس وبمعدل 10 بذور لكل اصيص ، ثم اظيف لقاح فطر المايكورايزا Glomus sp المتكون من (لقاح الفطر + جذور مصابة + تربة جافة) الى الاصص ومعدل 20 غم لكل اصيص ثم زرعت ببذور زهرة الشمس صنف Panam النتائج والمناقشة

عزل الفطر الممرض واختبار قدرته المرضية

النسبة المئوية لموت البايرات 0 و 20% على التوالي، أما شدة الاصابة فقد تفوقت العزلة (1) معنويًا على العزلة 2 حيث بلغت شدة الاصابة 75.3% بينما العزلة 2 بلغت 0.06% وتفق هذه النتائج مع دراسات سابقة والتي اشير فيها الى اختلاف القردة الامراضية لعزلات الفطر فقد ذكر (28) ان عزلات الفطر *M.phaseolina* المعزولة من نبات زهرة الشمس من مناطق مختلفة في ايران اختلفت في قابليتها الامراضية وان اختلاف القردة الامراضية للفطر *M.phaseolina* في إصابة زهرة الشمس بمرض التعفن الفحمي قد اعزى الى حدوث الطفرات (28).

تم الحصول على عزلة الفطر *M.phaseolina* من نباتات زهرة الشمس ظاهرة عليها أعراض الإصابة بمرض التفون الغ蓑ي بشكل واضح. اضافة الى العزلة المأخوذة من مختبرات كلية الزراعة وأظهرت نتائج اختبار القرفة الامرورية إن العزلة (1) كانت أكثر اخترالا للنسبة المئوية لإنبات البذور إذ بلغت هذه النسبة 56.70% مقارنة بـ 75.67% للعزلة رقم (2) في حين بلغت النسبة المئوية لإنبات البذور في معاملة المقارنة 86.66%. أظهرت النتائج وجود اختلافات معنوية بين معاملة المقارنة والعزلتين 1 و 2 في النسبة المئوية لموت البادرات بعد الإنبات إلا إن الفروقات لم تكن معنوية بين عزلتي الفطر 1 و 2 إذ بلغت

جدول (١) اختبار الامراضية لعزلتي الفطر *M.phaseolina* على نبات زهرة الشمس

% شدة اصابة زهرة الشمس الفطر <i>M.phaseolina</i>	% لموت بادرات زهرة الشمس	% لاتبات بذور زهرة الشمس	عزلات الفطر
75,3	30	56,70	العزلة (1)
67,3	20	75,67	العزلة (2)
0	0	86,66	المقارنة (بذور دخن معقم فقط)
6,07	11.38	1,334	L.S.D _{0.05}

وكذلك في التجارب المختبرية اللاحقة واختيرت العزلة ذات الكفاءة النضالية العالمية لاستخدامها في بعض تجارب الأصص أما الفطر *Glomus sp* فقد تم الحصول عليه من دائرة الحيوان الزراعي - وزارة العلوم والتكنولوجيا وهو عبارة عن: (نتربيا + حمض + آنهاغ الفطر)

عزل الفطر الاحياني *Trichoderma* spp تم الحصول على مجموعة من الفطريات ومن ضمنها عزلة من الفطر الاحياني *T. hamatum* وأعطيت الرموز T_h وعزلة من الفطر الاحياني *T. konngi* وأعطيت الرموز T_k للعزلات على النبات الذي اخذ منه وهي الخيار والطماطة على التوالي. وتم انتبار كفاءتها التضادية بالإضافة الى عزلتين من *T. harzianum* من ضمنها عزلة التحدي و ايضاً *T. veride* ضد الفطر الممرض

اختبار الكفاءة التخاثلية لـ *Trichoderma spp.* ضد *M. phaseolina*

جميع العزلات لها قدرة تضادية تجاه الفطر الممرض لما يمتلكه الفطر *Trichoderma spp* من الاليات متعددة يستطيع من خلالها مهاجمة الفطر الممرض وتشييده وهذا ما اكده (34) و (5) و (7) ان الفطر *T.harizanum* و *T.veride* له قدرة تشططية عالية تجاه الفطر الممرض *M.phaseolin*

تفوقت جميع عزلات الفطر *Trichoderma* spp في قدرتها التضادية تجاه الفطر الممرض *M.phaseolina* وبطريقة البقع حيث بلغت منطقة التثبيط 2.6 و 2.5 و 2.4 و 2.4 للنفطيات *T.h* و *T.r* و *T.t* و *T.a* و *T.v* على التوالى حيث لاتؤخذ هناك فرقاً معتبرة بين المعاملات، هذا بدل على ان

الفطر الممرض لما يمتلكه من البات مختلفة مثل التطفل والتضاد وانتاج السموم والمضادات الحياتية ، فقد اكده (15) اختلاف القدرة التضاديه لانواع الفطر *Trichoderma spp* تجاه الفطر الممرض *M.phaselolina* . كما اوضح (29) ان الفطر *T. konngi* . لهم قدرة تثبيطية عاليه تجاه الفطر الممرض *M.phaselolina* في الوسط الزراعي بسبب امتلاكهما البات مختلفه مثل التطفل والتضاد .

M.phaseolina (بالفطر ملي بور) في نمو الفطر المرضية وهذا مما يساعد في زيادة القدرة التضاديه للفطر *T.harzianum* (13) وتنتفق هذه النتائج مع العديد من الدراسات التي اشارت الى كفاءة راشح بعض الفطريات الاحيانيه ومنها *T.harzianum* في تثبيط النمو القطري للعديد من المسببات المرضية للنبات ومنها الفطر *M.phaseolina* وقد اعزى ذلك إلى احتواء راشح الفطر *T.harzianum* على العديد من المواد المثبطة لنمو الفطريات المرضية مثل *T.harzianum* له القدرة على انتاج المضادات الحيويه 6-pentyl- α -pyron و 6-chloro- α -pyron فضلاً عن إنزيمات *Pachybasin* و *Viriden* و *Gliotoxin* و *Chitinases* و *Endochitinases* و *Chitinases* . *Proteases* و β -glucanases . كما اشار (24) الى كفاءة راشح فطريات المكافحة الاحيانيه ومنها الفطر *T. pseudo-koningii* و *T. harzianum* العديد من المسببات المرضيه للنباتات ومنها الفطر *M. niger* و *F. solani* و *phaseolina* ويعود سبب ذلك الى احتواء راشح فطر المكافحة الاحيانيه على العديد من المواد المثبطة للنمو وأشار (21) عند استخدامه 18 عزله من الفطر *T.harzianum* اختلاف هذه العزلات في إفرازها للإنزيمات المحطة لجدار الخلايا مثل 3 trypsin-Like proteases و chymotrypsin-like proteases و 6- β -galactosidase و 6- β -glucuronidase . وكانت العزلة 19 أكثرها انتاجاً لهذه الإنزيمات وبذلك أعزى الاختلاف في القدرة التضاديه للعزلات المختلفة من الفطر *T.harzianum* للفطريات المرضية الى اختلاف هذه العزلات في انتاجها لهذه الإنزيمات .

لمرض التغفن الفحمي لنبات زهرة الشمس في الوسط الغذائي PDA كما اشار (32) الى قدرة انواع الفطر *Trichoderma spp* افراز سموم ومضادات تجاه الفطر الممرض *M.phaseolina* و عند اختبار الكفاءه التضاديه لانواع الفطر *Trichoderma spp* بطريقة الزرع الممزوج للاحظ تفوق الفطر *T.harzianum* معمونيا على باقي انواع الفطر *Trichoderma spp* وكان التثبيط من الدرجة (1) بينما بقية الفطريات لم تختلف معمونيا فيما بينها وكانت من الدرجة (2) . وهذا دليل واضح على قدرة الفطر *Trichoderma* على كبح نمو تاثير راشح مزرعة انواع الفطر *Tichodema.spp* المعقم حيويا (بالفطر ملي بور) في نمو الفطر المرضية . اشارت نتائج هذه التجربة الى وجود اختلافات معنوية في النسبة المئوية لتثبيط الفطر *M.phaseolina* إذ بلغ معدل التثبيط في نمو الفطر 1.17 و 19.15 و 36.50 و 3.27 و 3.16 و % T.v و T.t و T.r و T.h و T.a على التوالي كما يلاحظ من الجدول نفسه أن راشح الفطر R.T كان الأكثر فاعليه من بين الفطريات الأخرى في تثبيط الفطر الممرض ، كما وجد من الدراسة أن تاثير راشح الفطريات في نمو الفطر يزداد بزيادة التركيز المستعمل إذ بلغت النسبة المئوية لمعدل تثبيط نمو الفطر 2.10 و 16.21 و 18.44 و 10 للتركيز ، 20 ، 30 % على التوالي كما كان التداخل بين الراشح والتركيز معنويًا إذ اثر الراشح T.r و T.h بنسبة 30% بشكل اكبر من بقية التركيز وهذا ما يؤكد أن لعامل المقاومة الاحيانيه قدرة على انتاج مضادات حيانيه وإنزيمات لها القدرة على تثبيط نمو الفطريات المرضية للنبات . إذ وجد أن لهذا الفطر قدرة على انتاج بعض المضادات الاحيانيه مثل *Alamethacine*, *Isonitriels*, *Alkylpyrones*, *Diketopiperazines*, *sterroid Accetaldehyde*, *B*-glucanase 1,3 و الذي يعمل على تحطيم الكلوكان الموجود في جدران الغزول الفطريه لبعض الفطريات ومنها الفطر *M.phaseolina* حيث يعد الكلوكان المكون الرئيس للسكريات المتعددة والتي تدخل في تركيب جدار الخلية الفطريه ولجميع الفطريات عدا مجموعة الفطريات البياضية *Oomycetes* الذي يتكون من الكلوكان والسليلوز حيث تعد هذه الإنزيمات وإنزيم الكايتين من الإنزيمات التي تحمل جدران خلايا الفطريات

جدول (2) تاثير راشح الفطريات الاحيانيه المعقم في تثبيط نمو الفطر *M.phaseolina*

متوسط تاثير الراشح	% لتشبيط نمو الفطر			الفطريات الاحيانيه
	30	20	10	
1.17	1.17	1.17	1.17	T.a
19.15	29.41	26.86	1.17	T.h
36.50	52.94	50.67	5.88	T.r
3.27	7.50	1.17	1.14	T.t
1.16	1.17	1.17	1.15	T.v
متوسط تاثير التركيز للراشح = 2.493	18.44		2.10	R.L.S.D 0.05
	1.115 للتركيز = 1.439 للتداخل =			

تأثير راشح مزرعة انواع الفطر *Tichodema.spp* المعقم بالحرارة في نمو الفطر *M.phaseolina* اثبتت نتائج هذه التجربة الى وجود فروقات عالية المعنوية بين المعاملات في تاثير راشح الفطريات الاحيانيه ضد الفطر الممرض *M.phaseolina* حيث بلغ معدل التثبيط 70.40 و 2.493 على التوالي .

المحتمل ان هذه السموم الفطرية تتحول الى مركبات اكثر سمية بتأثير الحرارة حيث تؤدي الحرارة الى تلف الانزيمات والفيتامينات مثل الرايبوفلافين والمياثايونين الموجودة في رواش الفطريات و التي تقلل من الاثر السمي لسموم الفطريات لذلك تزداد سمية رواش الفطر حيث يعتقد ان هذه المركبات تعمل على تكوين مركبات معقدة مع السموم تثبط اثره السمي .

تشير الدراسة الى زيادة نسبة التثبيط بزيادة التركيز المستعمل من الراشح في تثبيط الفطر المرضي اذ بلغت النسبة المئوية لمعدل تثبيط نمو الفطر 27.10 و 36.20 و 39.10 لتركيز 10 ، 20 ، 30 % على التوالي كما كان التداخل بين الراشح والتركيز غير معنوي ، تدل هذه التجربة على قدرة الفطريات الاحيائية *Trichoderma spp* على تثبيط النمو للفطر المرضي بعد معاملة الراشح بالحرارة مما يؤكّد على ان العمل الابادي الذي يمارسه الفطر الاحيائي ضد الفطر المرضي عباره عن سموم فطرية ومن

جدول (3) تأثير رواش الفطريات الاحيائية المعقم بالحرارة في تثبيط نمو الفطر *M.phaseolina*

متوسط تأثير الراشح	% لتثبيط نمو الفطر			الفطريات الاحيائية	
	% لتركيز رواش الفطريات الاحيائية				
	30	20	10		
7.40	4.70	5.88	11.76	T.A	
54.90	55.29	62.35	47.05	T.H	
66.30	75.29	70.58	52.94	T.R	
32.2	44.70	40	11.76	T.T	
9.80	15.29	2.35	11.76	T.V	
متوسط تأثير التركيز		39.10	36.20	27.10	
للراشح = 7.36	5.70			لتركيز = R.L.S.D 0.05	
	N.S			للتدخل =	

التعرف على المركبات الموجودة في رواش الفطر *Trichoderma harizanum* بتقنية GC MS

على الوقاية من مرض السرطان (27) كما ان المركب على الوقلة من مرض السرطان (27) كما ان المركب 1,3 Propanediol, 2-(hydroxymethyl)-2-nitro يسمى ايضا (trihydroxy) له قدره على تحفيز المقاومة الجهازية في النبات فقد اشار (10) الى تحفيز المقاومة الجهازية في نبات الشعير ضد مرض البياض الدقيقي بفعل هذه المادة كما يعتقد انها تشتراك مع jasmonic acid في نقل الاشارات داخل النبات وتحفيز المقاومة الجهازية (17)

تم الحصول على عدة مركبات مختلفة من رواش الفطر *Trichoderma harizanum* المحقونة بجهاز GCMS وكما موضحة بالجدول (4) حيث وجد انواع مختلفة من المركبات الكيميائية وان بعض هذه المواد الكيميائية المتحصل عليها لها قدرة تثبيطية لاحياء مختلفة مثل الفطريات والنematoda والحسيرات ومن هذه المركبات 9,12Octadecadienoic acid (Z,Z)-linoleic acid وهو حامض دهني والاحماس الدهنية مهمة للانسان فهي تدخل في تركيب وبناء الخلايا المناعية بشكل متين ولها فوائد كثيرة ومختلفة ولكل حامض دهني فوائد فالحامض الدهني Linoleic acid يعمل

جدول (4) المركبات الكيميائية المتحصل عليها بواسطة جهاز GCMS يوضح تركيبه الكيميائي وصيغته الكيميائية والوزن الجزيئي

الوزن الجزيئي	صيغته الكيميائية	تركيبه الكيميائي	اسم المركب الكيميائي	ت
280	C18H32O2		9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-	1
151	C4H9NO5		1,3-Propanediol, 2-(hydroxymethyl)-2-nitro	2
252	C16H28O2		Oxacycloheptadec-8-en-2-one	3
132	C6H12O3		Butoxyacetic acid	4
294	C19H34O2		9,12-Octadecadienoic acid, methyl ester	5

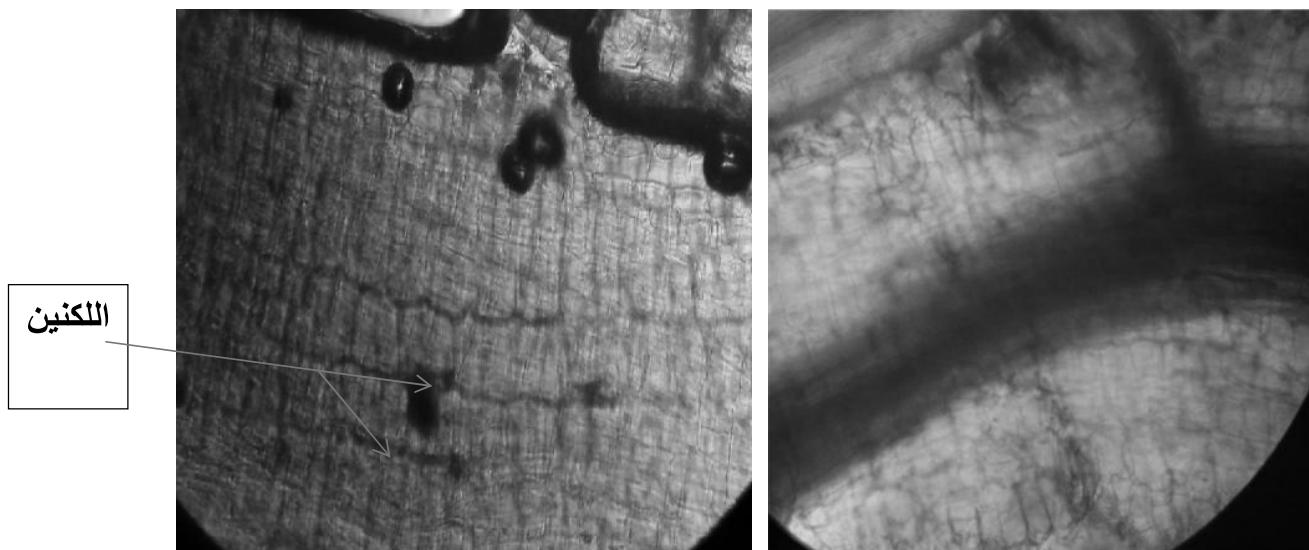
M.phaseolina في اصابة نبات زهرة الشمس بالفطر **Trichoderma spp** وانواع الفطر **Glomus sp** أظهرت نتائج هذه التجربة ان اضافة الفطريات الاحيائية **Glomus sp** و **T.v** و **T.t** و **T.h** و **T.a** الى التربة الملوثة بالفطر أدت الى خفض تأثير الفطر المرض في النسبة المئوية لنباتات البذور إذ ارتفعت هذه النسبة من 65% في التربة الملوثة بالفطر **Glomus** الى 88 و 86 و 82,33 و 82,33 و 82,33 % عند اضافة انواع الفطر **Trichoderma spp** وهي **T.v** و **T.t** و **T.h** و **T.a** و **T.r** على التوالي بينما لم تختلف النسبة المئوية في التربة الملوثة **Glomus** عند اضافة فطر المايكروابيزا **M.phaseolina** حيث بلغت 66%. كما بينت النتائج عدم وجود فروقات معنوية بين الفطريات الاحيائية مقارنة بمعاملة المقارنة (بدون فطر ممرض) إذ بلغت النسبة المئوية للنباتات في معاملة المقارنة 82% كما أظهرت نتائج هذه التجربة جدول (4) ان جميع انواع الفطريات **Trichoderma spp** والفطريات **Glomus sp** المستعملة قد خفضت من شدة الاصابة بالفطر الممرض بثلاثة أيام إلا ان الفطر **Glomus sp** و **T.v** و **T.h** كانوا الأكثر تأثيرا وبفارق معنوي عن بقية الفطريات اذ بلغت شدة الاصابة لهم 45,52 و 44,46 و 45,32 على التوالي مقارنة 77,21 لمعاملة المقارنة . بينما بلغت شدة الاصابة للفطريات **T.t** و **T.r** و **T.a** و **T.b** 59,92 و 54,51 و 52,11 كما بلغت نسبة وشدة الاصابة الجذور على قدرة هذه الفطريات الاحيائية المستخدمة في التجربة على خفض شدة الاصابة بالفطر الممرض . تتفق هذه النتائج مع دراسات عديدة اشارت الى إفراز الفطر **T.harzianum** الى عدة

جدول (5) يوضح تأثير الفطريات على اصابة نبات زهرة الشمس بالفطر *Trichoderma spp* وانواع الفطريات *Glomus sp* و *M.phaseolina*

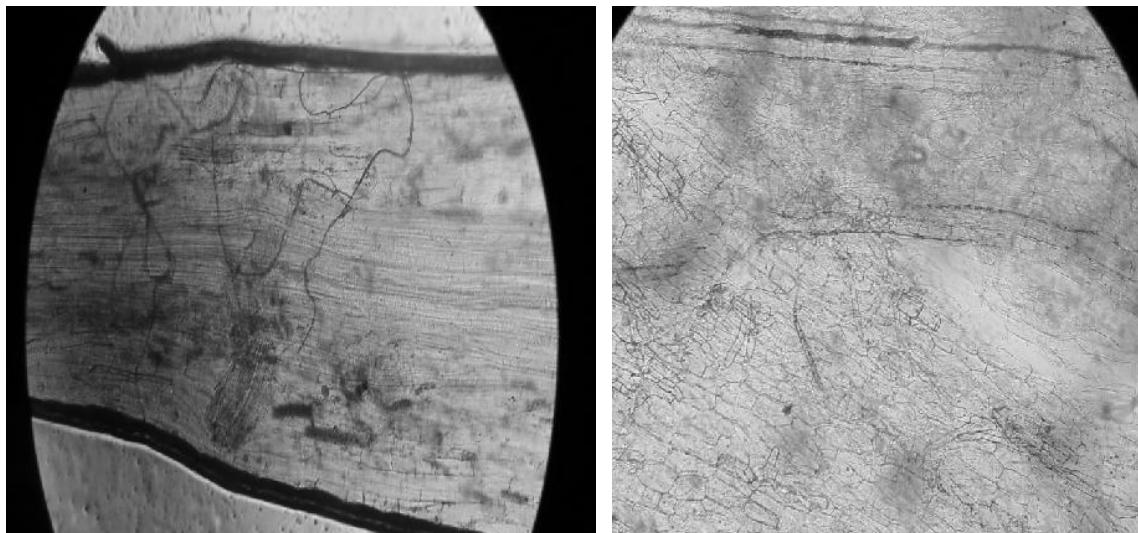
الفطريات	% انبات البذور	% شدة الاصابة	% اصابة جذور المایکورایزا	% شدة اصابة جذور المایکورایزا
<i>Gloms sp</i>	68	45,52	60	70
T .a	88	52,11	-	-
T .h	86	45,32	-	-
T .r	82,33	54,51	-	-
T .t	82,33	59,92	-	-
T .v	82,33	44,46	-	-
<i>M.phaseolina</i>	65	77,21	-	-
المقارنة (بدون اضافة)	82	0	-	-
L.S.D	6,059	0,0035	-	-

اصابة جذر النبات بالفطر *Glomus sp*

Control



صورة (1) توضح ترسيب اللكتن على الجدار الخلوي لجذر نبات زهرة الشمس

شدة اصابة جذر النبات بالفطر *Glomus sp*

Control

صورة (2) توضح شدة الاصابة جذور نبات زهرة الشمس بالفطر *Glomus sp*

المصادر

6. Almeida, A. M. R., Amorim., L., Filho, A. B., Jorres, E., Farias, J. R., Benato, L. C., Pinto, M. C., Pinto, M. C. and Valentin, N. (2003). Progress of soybean charcoal rot under tillage and no tillage system in Brazil. *Fito pathologia bra.* Vol. 28 (2) : 115 – 122.
7. Anis,.M Zaki. M.J. Dawar. S. (2010) . effect of oilseed cakes alone or in combination *Trichoderma* species for the control of with charcoal rot of sunflower (*helianthus annus* l.) *Pak. J. Bot.*, 42(6): 4329-4333, 2010.
8. Bell, D. K., Wells, H. D. and Markham, C. R. (1982). In vitro antagonism of *Trichoderma* species against six fungal Plant Pathogens *Phytopathology*. 72 (4) : 379 – 382.
9. Brundrett,M.C. (1991). Mycorrhizas in natural ecosystems. In Advances in Ecological Research, Vol. 21. Eds. A Macfayden, M Begon, A H Fitter. pp 171- 313. Academic Press, London, UK.
10. Cowley T, Walters D. 2005.. Local and systemic effects of oxylipins on powdery mildew infection in barley. *Pest Management Science* 61: 572–576.
1. جدعان ، حامد وفائق هنا مرجانه وهناء شاكر الفلاحي (1999). تحليل الصفات النوعية لتركيب مختلفة من بذور زهرة الشمس. *مجلة العلوم الزراعية العراقية*، 30 (1) : 165- 170
2. طواجن ، احمد محمد موسى (1979) بيئة البيوت الزجاجية .573-571 مطبعة جامعة البصرة .
3. Aghighi, S., Shahidi-Bongjar, G. H., Rawashdeh, R., Batayneh, S. and Saadoun, I. (2004). First report of antifungal spectra of activity of Iranian Actinomycetes strains against. *Alternaria* strains, *Alternaria alternata*, *Fusarium solani*, *Phytophthora megasperma*, *Verticillium dahliae* and *Saccharomyces cerevisiae*. *Asian Journal of Plant Sciences* 3 (4) : 463 – 471.
4. Akhtar,M.S. Siddiqui.Z.A.(2007). Effects of *Glomus fasciculatum* and *Rhizobium* sp. on the growth and root-rot disease complex of chickpea. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*. 40(1): 37 – 43.
5. Alice,.A. Sundravadana.s (2012) . Effects of Biocontrol Agents and Plant Products on *Macrophomina phaseolina* and Colchicine Content in *Gloriosa superba* . *Plant Protect. Sci* Vol. 48, 2012, No. 3: 110-115

- Agri. Research. 26: 195 – 217. (C. F.) ; Juber, K. S. (1996). Biological control for disease complex of root knot nematode *Meloidogyne javanica* and the fungus *Fusarium solani*. Ph. D. Thesis, college of agric. Univ. Baghdad.
24. Odebode, .A.C. (2006). Control of postharvest pathogens of fruits by culture filtrate from antagonistic fungi. Journal of plant protection research vol. 46, no. 1
25. Praharaj,C.S ., Dhruv,K and Sharma,R.C.(1999). Fertilizer economy in potato production by biofertilizer . potato global research and development . Vol (2),p:915-919 .
26. urkayastha, S., B. Kaur, N. Dilbaghi and A. Chaudthury,(2006).Characterization of *Macrophomina phaseolina*, the charcoal rot pathogen of cluster bean, using conventional techniques and PCRbased molecular markers. Pl. Pathol., 55: 106–16
27. Rajeswari, G. Murugan M. Mohan. V.R.(2012). GC-MS analysis of bioactive components of *Hugonia mystax* L. (Linaceae). Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. Volume 3 Issue 4 Page No. 301
28. Rayatpanah, S. Dalili.S.A.(2012). Diversity of *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid Based on Chlorate Phenotypes and Pathogenicity. Journal of Biology. Vol. 4, No. 2
29. Shalini S, Kotasthane. A.S .(2007). Parasitism of *Rhizoctonia solani* by strains of *Trichoderma* spp. Ejeaf Chemistry 6: 2272-2281.
30. Sinclair, J. B. (1982). Compendium of soybean disease 2nd ed. American phytopathological Soc. St. Paul. MN. Pp: 104.
31. Sommich,I.E;Hahlbrock.K.1998.pathogen defence in plants aparadigm of biological complexity.Trends in plant science.3,86-90
32. Sreedevi, B., Charitha Devi, M. Saigopal, D.V.R. (2011). Isolation and screening of effective *Trichoderma* spp. against theroot rot pathogen *Macrophomina phaseolina*. Journal of Agricultural Technology 2011 Vol. 7(3): 623-635.
33. Su, G., Suh, S. O., 33.Schnieder R. W. and Russin, J. S. (2001). Host Specialization in the charcoal rot fungus, *Macrophomina phaseolina*, Phytopathology 91: 120 – 126.
11. Davison,J.1988. Plant beneficial bacteria. Biotechnology, 6,p:282-286.
12. Dhingra, O. D. and Sinclair, J. B. (1973). Variation among isolates of *Macrophomina phaseolina* from different regions. Phytopathology 76: (2) 200 – 204.
13. El-Katatny, M.H ;W. Somitsch ;K.H. Robra ;M.S. El-Katatny and G.M. Gubitz.(2000). Production of chitinase and B-1,3-glucanase by *Tridoderma harzianum* for control of the phytopathogenic fungus *Sclerotium rolfsii*. Food Technol. Biotechnol. 38: 173 – 180.
14. Eriksson, O.E. and Winka, K. (1997) Supraordinal taxa of Ascomycota. Myconet 1: 1–16. P
15. Gajera,. H.P, Bambharolia. R.P, Patel. S.V, Khatrani. T.J. and Goalkiya. B.A.2012. Antagonism of *Trichoderma* spp. against *Macrophomina phaseolina*: Evaluation of Coiling and Cell Wall Degrading Enzymatic Activities. J Plant Pathol Microb, 3:7.
16. Ghisalberti, E. L. and Sivasithamparam, K. (1991). Antifungal antibiotics produced by *Trichoderma* spp. Soil Biol. Biochem 23:1011–1020.
17. Hatcher.P.E, Paul. N.D. (2000). Beetle grazing reduces natural infection of *Rumex obtusifolius* by fungal pathogens. New Phytologist 146: 325–333.
18. Ijaz,,s. Sadaqat.H.A . Khan.,M.N.(2012). A review of the impact of charcoal rot *Macrophomina phaseolina* on sunflower. Journal of Agricultural Science, Page 1 of 6.
19. Indiresh,K.M., Speeramulu,K.R.,Patil,S.V and Venkatesh.2003. Response of potato to biofertilizers at graded levels of chemical fertilizer . Journal of Indian Potato Association, 30 (1-2),p :79-80
20. Jimenez – Diaz , R. M. ; M. A. Blanco – Lopez and W. E. Sackston . (1983)Incidence and Distribution of charcoal rot of sunflower caused by *Macrophomina phaseolina* in Spain . Pl. Dis., 67 : 1033-1036 .
21. Kredics, L., Antal, Z., Manczinger, L., Szekeres, A., Kevei, F. and Nagy, E. (2003). Influence of environmental parameter on *Trichoderma* strain with Biocontrol potential, food Technol. Biotechnol. 41(1): 37 – 42.
22. Kuguk, C. and Kivang, M. (2003). Isolation of *Trichoderma* spp. And determination of their antifungal, biochemical and physiological featurd. Turk. J. Biol. 27: 247 – 253.
23. Mickenny, H. H. (1923). Influence of soil temperature and moisture on infection of wheat seedling by *Helminthosporium sativum*

Journal of Environmental Science and Technology Vol. 5(8), pp. 616-621.

35.Vessey,JK.2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. Plant and Soil 255,p:571-586.

34.Ullah,M.H. Khan,M.A .Sahi S. T. Habib A.(2011). Evaluation of antagonistic fungi against charcoal rot of sunflower caused by *Macrophomina phaseolina* (TassiAfrican

The ability of the fungus Glomus sp and some species of Trichoderma spp in suppression Macrophomina phaseolina pathogenic fungus that causes charcoal rot disease of sunflower

Received: 21/5/2014

accepted:19/8/2014

Sabah L. Alwan Abdulnabi A Matlood*

Department of Plant Protection. Department of Plant Protection.

College of Agric -Univ. of Kufa College of Agric -Univ. of Basrah

Abdu1988875@yahoo.com

Abstract

The study used Glomus sp and some species of Trichoderma spp in Resistance - disease of charcoal rot of sunflower plant that caused by *Macrophomina phaseolina* where it found that the types of Trichoderma spp have inhibition a role to *Macrophomina phaseolina* where all isolates of Trichoderma spp have a good ability towards the pathogenic *M. phaseolina* in spot inhabitation method where the inhibition zone was 2.6 , 2.5, 2.4 , 2.4 and 2.4 cm for *T.h*, *T. r* , *T. t* , *T.a* and *T.v* , respectively, as well as the double inhabitation method the *T.harizanum* was significantly the best comparative with the rest of the types of Trichoderma spp. the study, the GCMS device was identified many chemical compounds of Trichoderma harizanum that act as anti- biotic such as Linoleic acid

It was found that Glomus sp have ability to motivate resistance in sunflower plant against pathogenic fungus *M. phaseolina* through deposition lignin on the walls of plant cells when used types of bio-agent Trichoderma spp . outweigh all kinds of fungus Trichoderma spp used may have reduced the severity of infection by the fungus *M.phaseolina* when used in contaminated soil fungus pathogen three days but the fungus Glomus sp and *T.h* and *T.v* were the most influential and significant difference from other rest of fungi.

Key words: (Sunflower, *M acrophomina phaseolina* ,*Trichoderma* ,*Glomus sp*)

(*) part of thesis for the first author

Microbiology classification : QR1-502