# Effect of *Trichoderma Harzianum*, Beltanol and Bion in protecting seed and seedling of Okra (*Hibscus esculentus* L.) from infection with *Fusarium solani*

# تأثير معاملة الفطر *Trichoderma harzianum* و البلتانول (Beltanol) و البيون (Bion) في حماية بذور و بادرات الباميا (*Hibscus esculentus*) من الاصابة بالفطر *Fusarium solani* .

**محسن عبد علي محسن**
**كلية الزراعة – جامعة كربلاء**

**المستخلص**

هدفت الدراسة الى عزل وتشخيص المسبب المرضي لتعفن جذور الباميا ومقاومته باستعمال بعض عوامل الاستحثاث الكيميائية والاحيائية .اظهرت النتائج وجود عزلات الفطر *Fusarium solani* في جميع المناطق التي شملها المسح في محافظة كربلاء (مركز كربلاء ، عون ، الصلامية) . اذ بينت نتائج اختبار القدرة الامراضية لعزلات الفطر *F.solani* على بذور الرشاد ان جميع العزلات اثرت معنويا في خفض النسبة المئوية للإنبات وتفوقت العزلتين عون 1 ومركز كربلاء 1 بعدم نمو نباتاتها بالكامل مقارنة بمعاملة السيطرة البالغة 100% وفي اختبار القدرة المرضية لعزلات الفطر على بذور العائل اذ حققت جميع العزلات انخفاض معنوي في النسبة المئوية للإنبات واعطت العزلة F1 اكبر انخفاضا في نسبة الانبات اذ بلغت 33.33 % قياسا بمعاملة المقارنة البالغة 100% ، كما اوضحت نتائج تجربة التضاد للفطر *Trichoderma harizianum* ضد عزلات الفطر *F.solani* على الوسط الزرعي (Potato Dextrose Agar) وتحت الظروف المختبرية فعالية تضادية عالية احتلت الدرجة 1 مع العزلة F1 (عون1) واظهرت نتائج تجربة تأثير عامل المكافحة الاحيائية *T.harizianum* وعامل الاستحثاث الكيميائي البيون Bion (B) ضد عزلات الفطر الممرض *F.solani* تحت ظروف البيت الزجاجي كفاءة عالية ضد الفطر الممرض اذ حقق عامل المكافحة الاحيائية *T.harizianum* اعلى نسبة مئوية للانبات بلغت 93% واقل نسبة اصابة ونسبة تثبيط كانت 7% واعلى وزن جاف وطول للنبات بلغ 0.97 غم و32 سم بالتتابع ضد عزلة الفطر F1 واعطت معاملة عامل الاستحثاث البيون مع العزلة F3 نسبة انبات جيدة كانت 80% ونسبة اصابة ونسبة تثبيط بلغت 18 و20% ووزن جاف وطول النبات الذي كان 0.77 غم 26 سم قياسا بمعاملة المقارنة التي بلغت نسبة انباتها واصابتها 100% و0% ووزنها الجاف وطولها 0.68 غم و21.67 سم على التتالي . ومقارنة مع معاملات العزلات الفطرية بمفردها .

**Abstract:-**

This study was conducted to isolate and identify the **causative** agent for okra root rot disease and control it using some of biological and chemical induction factors. Results showed the presence of some isolates of *Fusarium solani* in all sites surveyed in Karbala province, representing the Center of Karbala city, **Auon** and **Al-Salamia**). It was also revealed that all the pathogenic isolates of *F. solani* had remarkable effect in reducing the percentage of cress seed germination with superiority of the two isolates Auon 1 and Karbala center 1 that fully prevented growth of plants compared with the germination percentage of the control treatment that was 100%. All *F. solani* isolates showed significantly reducing in seed germination percentage, and the highest influence seed germination was noticed upon applying the isolate1 (33.33%) compared with the control treatment (100%).

Results also revealed that the antagonistic fungus *Trichderma harzianum* had remarkable effect on all *F. solani* isolates with antagonistic ability reached 1 degree according to the Bell standard upon using the antagonistic fungus with the *F. solani* isolate1 (Auon 1).

Moreover, use of *T. harzianum* and the chemical induction Bion (B) under glasshouse condition also showed high efficacy against all isolates of *F. solani*. Highest percentage of seed germination, reached 93%, and less infection percentage as well as highest dry weight and plant length (0.97 g. and 32 cm, respectively) were found upon using *T. harzianum* against the *Fusarium* isolate 1. The use of Bion with *F. solani* 3 gave seed germination of 80%, infection percentage and inhibition percentage of 18% and 20%; however, dry weight (0.77 g.) and plant length 26 cm compared with the control treatment, wherein the seed germination, infection, dry weight and plant length were reached 100%, 0.00%, 0.68 g. and 21.67 cm. respectively.

## ألمقدمة

تعد الباميا ( *Hibscus esculentus* ) من محاصيل الخضر الاقتصادية المهمة في العراق والعالم حيث تزرع في المناطق الاستوائية وشبه الاستوائية وهي غنية ببعض العناصر الغذائية كالكالسيوم والمغنسيوم والفسفور كما انها تحتوي على بعض الفيتامينات والبروتينات و الكاربوهيدرات و الصمغ النباتي (1 و2و3) .

ان التوسع في زراعة محصول الباميا رافقه خسائر كبيرة في هذا المحصول تعزى الى عدة اسباب منها اصابتها بالعديد من المسببات المرضية و التي بضمنها المسببات المرضية الفطرية والتي سببت خسائر كبيرة في محصول الباميا تمثلت بخفض الحاصل ونوعيته ومن هذه الفطريات هي *Rhizoctonia bataticola* و *Macrophomina phaseolina* و *Fusarium solani* و *pythium butteri Cercospora abelmoschii* و*Erysiphe cichoracearum* (4 و 5 و 6) وهذه الفطريات تعمل على تلف وتعفن التقاوي الناجم عن الفطريات الموجودة في التربة مما ينجم عنه ضعف وموت النباتات فيضطر المزارع الى الترقيع هو اعادة الزراعة كليا مما يترتب على ذلك كلف اضافية وهدر في الموارد فضلا عن تأخر موعد الزراعة وبالتالي تدهور الانتاج في وحدة المساحة (7 ) ومن الممكن ان تحدث امراض الجذور خسائر غير مباشرة من حيث زيادة نفقات مكافحة هذ الامراض حيث تصرف مبالغ كبيرة لهذا الغرض وبالتالي تؤدي الى قلة المردود المادي (8 و 9) .

استعملت طرائق عدة لمكافحة امراض تعفن الجذور منها استعمال المبيدات الكيميائية وقد رافقت الاستعمال المكثف لهذه الطرائق تأثيرات سلبية في البيئة وصحة الانسان والاحياء غير المستهدفة ( 10 و11) ونتيجة لذلك بدأ التفكير في البدائل التي من أبرزها استعمال الكائنات الحية الدقيقة في برامج المكافحة الإحيائية او السيطرة الاحيائية لتقليل او الحد من المسببات المرضية وزيادة الإنتاج كماً ونوعاً وتأتي في مقدمة هذه العوامل الفطر *Trichoderma harzianum* (12 و 13) كما اتجهت الانظار في الآونة الاخيرة الى استعمال المركبات الكيميائية التي تعمل على استحثاث المقاومة في النباتات لما لها من اهمية بيئية وفعالية عالية ضد العديد من مسببات امراض النبات ولاسيما الفطرية منها مثل المركب Acibenzolar-S-Methyl (14و15و16و17) .

ونظرا لما لمحصول الباميا من اهمية للعائلة العراقية واتساع الرقعة الجغرافية المزروعة في العراق وتعرضه للإصابة بالفطريات مما يؤدي الى الخسائر الناجمة عنها فقد جاءت هذه الدراسة لتسلط الضوء وتهدف الى ما يلي :-

1. عزل وتشخيص الانواع الفطرية المرافقة لجذور نباتات الباميا.
2. اختبار قدرتها الامراضية.
3. اختبار مقاومة استعمال بعض مصادر الاستحثاث الكيميائية والبايولوجية ضد الفطريات المرافقة لها.

## المواد وطرائق العمل

### 1. عزل وتشخيص بعض الفطريات المسببة لأمراض تعفن الجذور لنباتات الباميا في محافظة كربلاء

جمعت عينات من نبات الباميا من بعض المناطق الزراعية في محافظة كربلاء المقدسة والتي شملت مركز المدينة ومنطقه عون ومنطقة الصلامية وتراوحت مساحة الحقول من 500-1500م للمدة من 2012/7/10 الى 2012/10/1 (جدول 1 ) . فحصت النباتات الواقعة ضمن تقاطع الاقطار لكل موقع وحسبت عدد النباتات المصابة في ضوء الاعراض الظاهرة على النباتات والتي تمثلت بوجود تقرحات وتلف القمه النامية للجذر وقاعدة الساق وتلونها بلون بني يتدرج من الفاتح الى الغامق مع اصفرار في الاوراق وخاصة السفلية منها . علما ان جميع الاصناف التي هي قيد الدراسة من النوع المحلي .

**جدول 1 . اماكن جمع عينات نبات الباميا في محافظة كربلاء المقدسة**

| رقم العينة | اسم المنطقة | تاريخ أخذ العينة |
|---|---|---|
| 1 | كربلاء - المركز 1 | 2012/7/22 |
| 2 | كربلاء – المركز 2 | 2012 /7/ 29 |
| 3 | كربلاء - عون1 | 2012/8/7 |
| 4 | كربلاء - عون2 | 2012/9/5 |
| 5 | كربلاء - الصلامية | 2012 /9/ 13 |

اخذت النباتات المصابة الى المختبر بعد وضعها في اكياس بولي أثلين وتعليمها وحفظت النباتات في الثلاجة عند 4 م° لا جراء العزل من كل موقع في اليوم التالي .جلبت العينات من الثلاجة لغرض تنظيفها وغسلها حيث قطعت من منطقه التاج واستبعد المجموع الخضري من نبات الباميا واخذ المجموع الجذري فقط ووضع تحت الماء الجاري لإزالة ما علق بها من تربه وشوائب وقطع الى أجزاء صغيره بطول (0.5 -1 سم) وعقمت سطحيا بغمرها بمحلول هايبوكلورات الصوديوم بتركيز 0.01 كلور حر لمدة 3 دقائق غسلت بعدها بماء مقطر معقم لمدة 2 دقيقه وجففت بورق ترشيح معقم ونقلت بعدها بواسطة ملقط معقم الى اطباق بتري تحتوي على الوسط الزرعي Potato Dextrose Agar (P.D.A.) والمضاف اليه المضاد الحيوي Tetracycline بتركيز 200 ملغم لكل لتر وذلك بعد تعقيم الوسط بجهاز المؤصدة عند درجة حراره 121 م° وضغط 15 باوند ولمدة 15 دقيقه . وتم وضع 4 قطع من اجزاء المجموع الجذري لنبات الباميا في كل طبق حاوي على وسط .P.D.A وبواقع 10 اطباق لكل عينة .ثم نقلت الى جهاز الحاضنة وعند درجة حراره25∓1 م° ولمده 4 أيام بعدها تم تنقية الفطريات النامية في الطبق وتم تصنيفها اعتمادا" على المفاتيح التصنيفية المعتمدة (18 و19)

**2. حفظ الفطريات المعزولة**

حفظت عزلات الفطريات التي تم الحصول عليها في أنابيب اختبار تحتوي على الوسط الزرعي Patato Carrot Agar (PCA) بشكل مائل والمكون من 20غم لكل من البطاطا والجزر والاكار حضر الوسط بوضع قطع البطاطا والجزر في وعاء حجم 1000مل ماء ووضع على نار هادئة لمدة نصف ساعه بعدها رشح على طبقه من قماش الشاش في أسطوانة مدرجه حجم 1000مل واضيف له 20غم اكار واكمل الحجم الى (1لتر) وبعدها عقم بجهاز المؤصدة وبعد التبريد أضيف المضاد الحيوي Tetracycline ووضعت الانابيب بصوره مائله لحين التصلب وبعدها لقحت باستعمال النيدل بطريقة الطعن أخذت من حواف المستعمرات الفطرية النامية على الوسط الزرعي بعمر 7 أيام ثم نقلت ووضعت الانابيب في الحاضنة لمدة 7أيام بعدها وضعت في الثلاجة .

ثم حفظت عزلات الفطر *Fusarium solani* في أنابيب اختبار حاويه على تربه مزيجيه معقمه بجهاز المؤصدة لمدة ساعه وكررت عملية التعقيم في اليوم التالي وتم تلقيحها بقطع من الفطريات النامية على الوسط الزرعي ونقلت بعدها الى الحاضنة لمدة 15 يوم بعدها وضعت في الثلاجة لحين أجراء الاختبارات اللاحقة .

## 3. اختبارات القدرة الامراضية

**3 – 1. اختبار القدرة الامراضية للفطر*Fusarium solani* باستعمال بذور الرشاد**

اختبرت القدرة الامراضية للفطر *F.solani* التي تم الحصول عليها من النباتات المصابة ، حيث جهزت أطباق بتري حاويه على الوسط الزرعي Water Agar المحضر من إذابة 20غم من الأكار في لترمن الماء المقطر وعقم بجهاز المؤصدة واضيف له المضاد الحيوي Tetracycline بعد تبريد الوسط .

عند تصلب الوسط لقحت الاطباق في مركزها بقرص قطر 0.5 سم أخذت بالقرب من حواف المستعمرات الفطرية ولجميع العزلات بعمر 5 أيام بعدها حضنت الاطباق بالحاضنة لمدة 3 أيام وبعد ذلك زرعت بذور رشاد محلية بعد تعقيمها سطحيا بمحلول هايبوكلورات الصوديوم وبمعدل 15 بذره لكل طبق واستعملت 5 أطباق لكل عزله بالإضافة الى معامله المقارنة بدون فطر ممرض ووضعت الاطباق في الحاضنة (الموسوي ، 2012) .

أخذت النتائج بعد ثلاثة ايام وتم حساب النسبة المئوية للإنبات وحسب معادلة Abbot (20) الاتية :

$$\text{النسبة المئوية للإنبات} = \frac{\text{عدد البذور النابته}}{\text{عدد البذور الكلي}} \times 100$$

**3 – 2.الكشف عن تأثير العزلات الفطرية في نمو نباتات الباميا تحت ظروف البيت الزجاجي**

أجريت هذه التجربة في البيت الزجاجي التابع الى قسم وقاية النبات في كلية الزراعة بتاريخ 2012/10/3 وحسب تصميم تام التعشية (C R D) .

اعتمدت عزلات الفطر *F.solani* (وهي عون 1 (F1 ) وعون 2 (F2) ومركز كربلاء (F3) والتي حققت اعلى نسبة خفض لإنبات بذور الرشاد في التجربة السابقة حيث حضرت أطباق عليها عزلات الفطربعمر 7 أيام في الحاضنة .حضرت بذور الدخن المحلي وذلك بعد غسلها وتنظيفها للتخلص من الشوائب والأتربة ونقعت بالماء لمدة 6 ساعات بعدها أزيل الماء الزائد ووزعت البذور في دوارق زجاجيه سعة 250 ملم وبمعدل 50 غم لكل دورق عقمت الدوارق الثمانية بجهاز المؤصدة وبعد تبريدها لقحت بعزلات الفطر وبمعدل 4 اقراص ( بقطر 0.5 سم ) حضنت لمدة أسبوعين على ان ترج الدوارق كل خمسة أيام لضمان التهوية وتوزيع لقاح الفطر على البذور جميعها .

عقمت تربه مزيجيه بجهاز المؤصدة لمدة ساعه واحدة وكررت في اليوم التالي .حضرت أصص بلاستيكية بعد غسلها بالماء وتعقيمها بالقاصر10% ووزعت التربة بالاصص وأضيف لقاح كل عزله من عزلات الفطر بنسبة 1% وكررت ثلاث مرات لكل معامله بالاضافه الى معاملة المقارنة (دخن معقم غير ملقح بالفطر) بعدها زرعت الأصص ببذور الباميا صنف محلي وبواقع 5 بذور في كل أصيص سقيت كل ما احتاجت للماء وتم حساب نسبة الانبات التي احدثتها عزلات الفطر بعد اربعة اسابيع حسب معادلة Abbot (20) .

## 4. الاختبار الحيوي لمبيد البلتانول

حسب تعليمات الشركة المصنعة اضيف 1 مل / لتر من مبيد البلتانول الى دورق حاوي على وسط .P.D.A معقم ° ورج الوسط جيدا بعد أضافة المبيد وصب في أطباق بتري بعدها لقح بوضع قرص بقطر 0.5 سم من العزلات الفطرية بعمر 7 أيام وفي وسط كل طبق وبثلاثة مكررات لكل معامله فضلا عن معاملة المقارنة التي احتوت على الوسط الزرعي بمفرده.

حضنت الأطباق بالحاضنة لمدة 7 أيام بعدها تم حساب معدل النمو الفطري لكل معامله وذلك بقياس القطرين المتعامدين من نمو كل مستعمره وتم حساب النسبة المئوية للتثبيط باستخدام المعادلة الاتية :

$$\text{النسبه المئويه للتثبيط} = \frac{\text{متوسط قطر مستعمرة المقارنه} - \text{متوسط قطرمستعمرة المعامله}}{\text{متوسط قطر مستعمرة المقارنه}} \times 100$$

### 5. اختبار القدرة التضادية للفطر *T.harzianum* ضد عــزلات الفطريات المسببة لمرض تعفن جذور الباميا على الوسط الزرعي PDA

اختبرت الــقدرة التضادية للفطر *T.harzianum* (Th) التي تم الحصول عليها من عملية العزل من تربة حقول كلية الزراعة (مختبر امراض النبات ) / جامعة كربلاء ضد العزلات الفطريات الممرضة (F1 وF2 وF3) حسب طريقة الزرع المزدوج إذ قسم طبق بتري قطره 9 سم حاوي على الوسط الزرعي PDA بخط وهمي إلى قسمين متساويين، ولقح مركز القسم الأول من الطبق بقرص 0.5 سم من مستعمرة الفطر الممرض بعمر 7 ايام ، بينما لقح القسم الأخر من الطبق بقرص مماثل من مزرعة الفطر *T.harzianum* نفذت التجربة بواقع أربعة مكررات. حضنت الأطباق بدرجة حرارة 25±1 م° لمدة 7 ايام وقد تم تقدير القدرة التضادية حسب ما مذكور في (21) والمكون من خمس درجات :

**الدرجة والمواصفات**

1- العامل الاحيائي *T.harzianum* يغطي كامل مساحة الطبق دون السماح للفطر الممرض بالنمو.
2 - العامل الاحيائي يغطي ثلثي مساحة الطبق، ويغطي الفطر الممرض الثلث الباقي .
3- العامل الاحيائي يغطي نصف مساحة الطبق، و الفطر الممرض يغطي النصف الأخر من الطبق .
4- العامل الاحيائي يغطي ثلث مساحة الطبق، بينما يغطي الفطر الممرض الثلثين المتبقيين من الطبق.
5- يغطي الفطر الممرض الطبق دون السماح للعامل الاحيائي بالنمو.

ويعد العامل الإحيائي فعالاً من الناحية التضادية عند إظهار درجة تضاد 1 أو 2 مع الفطر الممرض.

### 6. دور عامل الاستحثاث الكيميائي البيون و العامل الاحيائي الفطر *T.harzianum* في التأثير على العزلات الممرضة للفطر *F.solani* تحت ظروف البيت الزجاجي .

نفذت التجربة في البيت الزجاجي التابع الى قسم وقاية النبات / كلية الزراعة / جامعة كربلاء . حضر اللقاح الفطري لعزلات الفطر *F.solani* وهي F1 و F2 وF3 التي سببت انخفاض ملحوظ في إنبات بذور الرشاد اضيف لقاح الفطر المحمل على بذور الدخن المحلي الى تربة مزيجيه معقمة في جهاز المؤصدة بعدها وزعت في اصص سعة 1 كغم . اضيف لقاح كل عزلة من عزلات الفطر الى التربة بنسبــة 1 % ( وزن / وزن ) وكررت كل معاملة ثلاث مرات مع معاملة المقارنة (دخن معقم غير ملقح بالفطر) (22) كما اضيف عامل المكافحة الاحيائية *T. harzianum* محملاً على بذور الدخن الى تربة الاصص وخلط جيداً مع التربة وسقيت وتركت لمدة اسبوع (23 ) بعد اضافة اللقاح الفطري زرعت الاصص مباشرة ببذور الباميا صنف محلي المختبرة نسبة انباتها وبواقع 5 بذور في كل اصيص.

اما معاملة البيون فقد تم أضافتها مع البذور حيث حضر محلول وذلك بإذابة 0.75 ملغم/لتر ونقعت البذور في المحلول لمدة 6 ساعات قبل الزراعة وبعدها زرعت البذور في الاصص واضيف الـ Bion رشاً بعد عشرة ايام من زراعة الباميا وبتركيز 0.75 ملغم . لتر$^{-1}$ وبمعدل 100 مل .أصيص$^{-1}$ ( حسب توصيات الشركة المنتجة Syngenta ) وتم حساب نسبة الانبات ونسبة الإصابة بمرض تعفن الجذور التي تسببه عزلات الفطر الممرض *F.solani* بعد ثلاثة أسابيع من أجراء التجربة .

**النتائج والمناقشة**

**1. عزل وتشخيص الفطريات المدروسة**

بينت النتائج وجود عزلات الفطر *F.solani* في جميع العينات التي شملها المسح (كربلاء المركز ومنطقة عون والصلامية) وكان اعلى نسبة مئوية للعزلات الفطرية في عينات منطقة عون ويعزى سبب ذلك الى توفر الظروف البيئية المناسبة والتي ساعدت على انتشار وتطور الفطريات في تلك المنطقة وتشمل الظروف كنـــــــــــوع التربة والرطوبة والغطـــاء النبـــاتي وتراكم اللقاح الفطري وغيرها من الظروف (24 و25) .

**2. الكشف عن العزلات الفطرية الممرضة باستعمال بذور الرشاد**

اظهرت النتائج (جدول 2 ) ان جميع عزلات الفطر *F.solani* اثرت معنويا في خفض النسبة المئوية للإنبات اذ منعت عزلتي الفطر الممرض *F.solani* (عون 1 ومركز 1 ) انبات بذور الرشاد بالكامل وسببت العزلة عون 2 انخفاضاً في النسبة المئوية للإنبات بلغت 1.2 % مقارنةً بمعاملة السيطرة والتي كانت فيها نسبة الانبات 100% اما عزلتي الفطر الصلامية والمركز 2 اعطت نسبة انبات بلغت 18.4 و 29.0 % على التوالي .

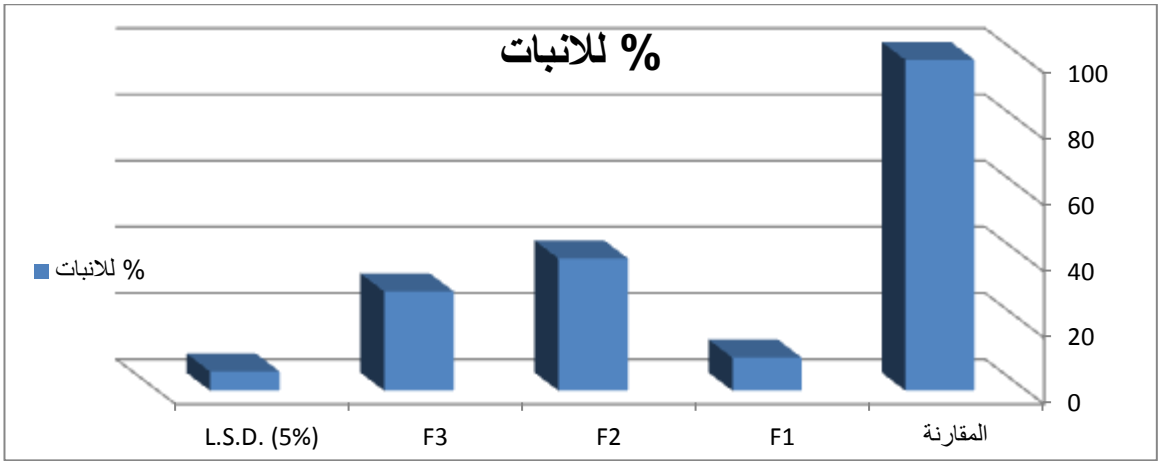
**جدول 2 . تأثير العزلات الفطرية في انبات بذور الرشاد تحت ظروف المختبر**

| المعاملة | النسبة المئوية للإنبات | المعاملة | النسبة المئوية للإنبات |
|---|---|---|---|
| عون 1 | 0.0 | الصلامية | 18.4 |
| عون2 | 1.2 | مركز 2 | 29.0 |
| مركز1 | 0.0 | المقارنة | 100.0 |
| L.S.D (0.05) | **2.77** | | |

وهذا الاختلاف في النسبة المئوية لإنبات بذور الرشاد بين عزلات الفطر *F.solani* يعود الى تباين العزلات الفطرية في افراز الانزيمات و السموم الفطرية المحللة لأنسجة البذور بالإضافة الى مواد ايضية مثبطة لنمو البذور .وهذه النتائج تتفق مع ما وجده (6) و (5) في قدرة الفطر *Fusarium* spp في التأثير على انبات بذور وتطور العديد من المحاصيل الاقتصادية المهمة.

**3.الكشف عن تأثير العزلات الفطرية على نمو وانبات بادرات الباميا تحت ظروف البيت الزجاجي**

أوضحت النتائج (شكل 1) إلى أن جميع العزلات المختبرة للفطر *F.solani* سببت انخفاضاً معنوياً في نسبة انبات بذور الباميا ولوحظ أن هناك تبايناً في القدرة الامراضية لعزلات الفطريات حيث كانت واضحة في العزلة F1 (عون 1) انخفضت النسبة المئوية للإنبات التي كانت في معاملاتها 10 % تلتها العزلتين F3 (مركز 1) وF2 (عون 2) التي بلغت نسبتهما 30 و 40 % على التوالي قياساً بمعاملة المقارنة البالغة 100 % . هذه النتائج تتفق مع ما وجده (26) حول انتشار مرض تعفن الجذور في الباميا اوضحوا ان الفطر *F.oxysporum* سجل نسبة اصابة 35% بالمرض في بذور الباميا غير المعاملة بالمبيدات الكيميائية .




**شكل 1. تأثير العزلات الفطرية على انبات بذور ونمو نباتات الباميا تحت ظروف البيت الزجاجي**

**4.اختبار القدرة التضادية للفطر *T. harzianum* ضد عــزلات الفطريات المسببة لمرض تعفن جذور الباميا على الوسط الزرعي PDA**

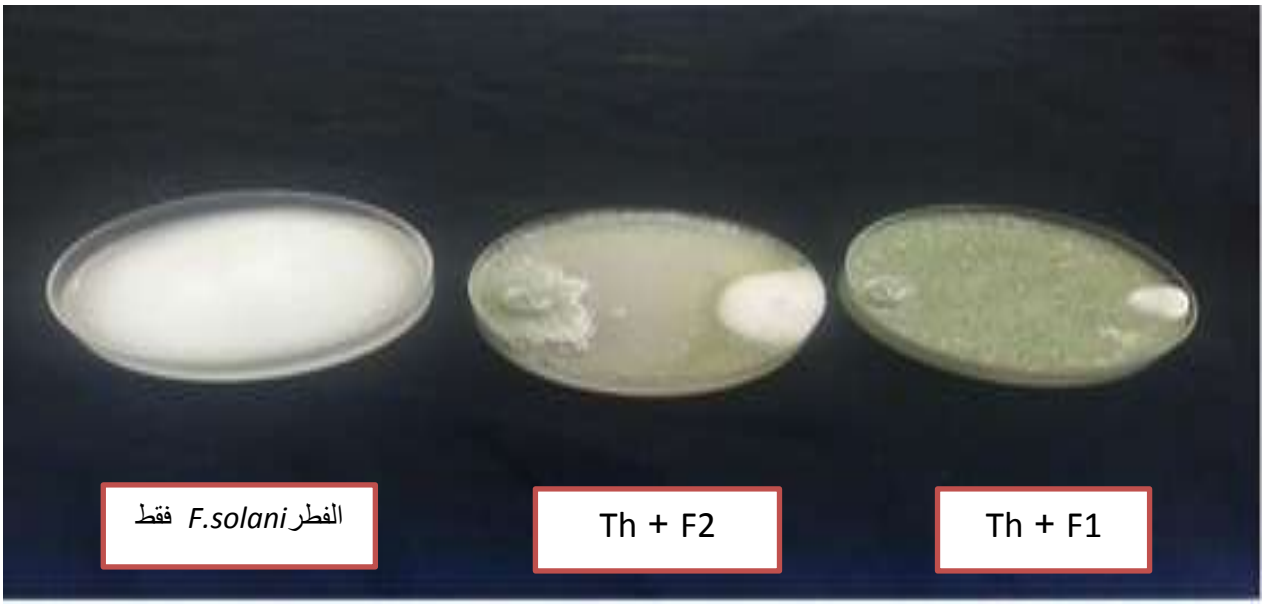
أوضحت النتائج (شكل 2) ان عامل المكافحة الاحيائية الفطر *T.harzianum* (Th) كان فعالاً من الناحية التضادية مع عزلات الفطر الممرض *F.solani* ، إذ حقق العامل الاحيائي مقدرة تضادية أحتلت الدرجة 1 حسب المقياس المذكور ( 21) مع العزلة F1 والدرجة 2 مع العزلة F2 وF3 . وهذا يتفق مع ما وجده (27) و (28) و (29 ) و (30) من امتلاك الفطر *T.harzianum*قدرة تضادية عالية ضد الفطريات الممرضة المسببة لمرض تعفن جذور الفاصوليا.

ان امتلاك الفطر *T.harzianum* لهذه الخاصية قد يعود لأسباب عدة جعلت من هذا الفطر عامل مكافحة احيائية ضد العديد من الفطريات الممرضة للنبات ومنها الفطريات المسببة لتعفن الجذور ومن هذه الأسباب التطفل المباشر على الغزل الفطري للممرض عن طريق الالتفاف حول خيوطه وتحليل جدرانه بواسطة الأنزيمات التي يفرزها وإنتاج المضادات الحيوية والتي تؤثر بشكل سلبي في نمو الفطر الممرض (31 و 32). اضافة الى امتلاك الفطر *T.harzianum* قدرة تنافسية عالية على المكان والغذاء بسرعة نموه وامتلاكه لطاقة لقاحية عالية (33 و 34 و 35).

أظهرت النتائج (جدول 3 و شكل 3) أن جميع المعاملات المستعملة أدت الى زيادة في النسبة المئوية للإنبات و خفض النسبة المئوية للإصابة بمرض تعفن جذور الباميا . اذ اظهر العامل الاحيائي الفطر *T.harzianum* تحقيق اعلى نسبة مئوية للإنبات واقل نسبة تثبيط ونسبة اصابة اذ بلغت 93 و7 و7 % على التتالي واعلى طول ووزن جاف للمجموع الخضري بلغ 0.97 غم و32 سم بالتتابع وبوجود عزلة الفطر الممرض ***F.solani*** (F1) . تلتها معاملة الفطر الاحيائي مع العزلة F3 وF2 التي كانت النسبة المئوية للإنبات في معاملتهما 87 و80 % ونسبة اصابتهما 13 و 20 % ونسبة تثبيطهما 66 و60 % ووزنهما الجاف 0.91 و0.87 غم واطوال النبات فيهما 28 و26 سم على التتالي . قياسا بمعاملة المقارنة بدون اضافة والتي بلغت نسبة انباتها واصابتها ووزنها الجاف واطوال نباتاتهما 100 و 0 % و 0.68 غم و21.67 سم بالتتابع . وبالمقارنة مع معاملة العزلات الفطرية بمفردها والتي تراوحت النسبة المئوية للإنبات والنسبة المئوية للإصابة والوزن الجاف واطوال النباتات في معاملاتها 10 – 40 % و 60 – 90 % و 0.14 و 0.22 و0.26 غم و6.67 و10 و12 سم على التتالي. وتعود القدرة لعامل المقاومة الاحيائية الفطر

*T.harzianum* في زيادة النسبة المئوية للإنبات وخفض نسبة الإصابة بالفطريات الممرضة على التطفل المباشر والتفافه حول الغزل الفطري للفطر الممرض وتحطيمه لخلاياه (36 و37) .

فضلاً عن الإنزيمات والمضادات الحياتية المنتجة من قبل عامل المقاومة الاحيائية (38) ، أو عن طريق توغل عامل المقاومة الاحيائية ونفاذه داخل جذور النباتات المعاملة وتحفيزه على زيادة فاعلية إنزيمي Peroxidase وChitinase في النباتات المعاملة به (39)، فضلاً عن مقدرته على الانتشار والمنافسة على الغذاء والمكان أو من خلال هذه الآليات مجتمعة معاً (40) .




**شكل 2. تأثير العامل الاحيائي الفطر *T. harzianum* ضد عزلات الفطر*F.solani* تحت ظروف المختبر.**

**5.دور عامل الاستحثاث الكيميائي البيون و الفطر *T.harzianum* في التأثير على العزلات الممرضة للفطر *F.solani* تحت ظروف البيت الزجاجي .**

**جدول 3 . دور عامل الاستحثاث الكيميائي البيون و العامل الاحيائي الفطر*T.harzianum* في التأثير على العزلات الممرضة للفطر *F.solani* تحت ظروف البيت الزجاجي**

| المعاملة | | النسبة المئوية للإنبات | % للتثبيط | النسبة المئوية للإصابة | طول النبات سم | الوزن الجاف للمجموع الخضري (غم) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| عزلات الفطر *F.solani* | العزلة F1 | 33.33 | 66.67 | 85 | 6.67 | 0.14 |
| | العزلة F2 | 40 | 60 | 80 | 12 | 0.22 |
| | العزلة F3 | 34 | 66 | 77 | 10 | 0.26 |
| Beltanol (Bel) + F1 | | 45 | 55 | 58 | 15 | 0.31 |
| Bel + F2 | | 50 | 50 | 59 | 17.67 | 0.42 |
| Bel + F3 | | 60 | 40 | 44 | 19 | 0.49 |
| Bion (B) + F1 | | 70 | 30 | 27 | 20.33 | 0.71 |
| B + F2 | | 73 | 28 | 26 | 23 | 0.74 |
| B + F3 | | 80 | 20 | 18 | 26 | 0.77 |
| Trichderma (T) + F1 | | 93 | 7 | 7 | 32 | 0.97 |
| T + F2 | | 80 | 20 | 18 | 28 | 0.91 |
| T + F3 | | 87 | 13 | 10 | 26 | 0.87 |
| المقارنة | | 100 | 0 | 0 | 21.67 | 0.68 |
| (0.05) L.S.D | | 4.7 | 6.4 | 2 | 3.4 | 0.03 |

كما اعطت معاملة عامل الاستحثاث الكيميائي البيون مع العزلة F3 نسبة انبات جيدة بلغت 80 % وكانت النسبة المئوية للإصابة والتثبيط فيها 18 و20 % كما اعطت وزن جاف وطول نبات بلغ 0.77 غم و26 سم . ويعد دور الـــ Bion الإيجابي لأنه من المركبات المنشطة التي تتحرك بسهولة داخل النبات وأن وجوده يؤدي إلى زيادة محتوى الفينول في النبات والبروتينات ذات العلاقة بالإمراضية، وأن للبيون تأثيراً مباشراً في عملية اختراق الفطر لنسيج العائل ومنع انتشار خيوطه الفطرية فضلاً على دوره الرئيس في استحثاث المقاومـــة وتحفيز النبات على إنتاج حامـــــض السالسليك ( 41 و 42 و 43 ) .

**شكل 2 . كفاءة العامل الاحيائي حيث أ – الفطر الممرض *F.solani* (F1) فقط ، ب- العامل الاحيائي الفطر *T.harzianum* + F1 ، ج – المقارنة .**

وتراوحت نسبة الانبات في معاملة المبيد الكيميائي Beltanol مع العزلات الفطرية 45- 60 % والنسبة المئوية للإصابة من 44 – 59 % ووزن جاف وطول نبات كان 0.31 و 0.42 و0.49 غم و 15 و17.67 و19 سم بالتتابع .قياسا بمعاملة العزلات الفطرية بمفردها . لوحظ أن المبيد المستعمل كان فعالاً نوعا ما في السيطرة على الفطر ***F.solani*** المسبب لمرض تعفن الجذور . تشير دراسات سابقة الى كفاءة المبيد Beltanol في السيطرة على الفطريات الممرضة (22 و 44 و45) .

**المصـــادر :**


1. Baloch. A.F. (1994). Vegetable crops. Horticulture. National Book Foundation Islamabad: 489-537p.
2. Yadav, S.K. and B.S. Dhankhar.( 2001). Correlation studies between various field parameters and seed quality traits okra cv. Varsha uphar. Seed Research, 29: 84-88.
3. Khushk, A.M., U. Shar and M.A. Memon.( 2003). The cultivation of okra in Sindh and its economic view, PARC. Technology Transfer Institute, Tandojam. Publication in Sindh Zarat, 136: 17-18.
4. Mithal, M.J. (2006). Low cost and pollution free technology against root rot of okra. www.Pakistan.com
5. Naz, I., H. Khan, A.Ali, M.Ahmad, A.hussain and M. Tahir.(2009). Effect Of Various Sowing Dates And Cultivars On The Management Of Okra Root Rot Under Natural Field Condtions. Sarhad J. Agric. Vol.25,2:252-260.
6. Araini,A. R., M. Mithal, K.H. Wagan, S.N. Khuhro And M.I. Khaskheli.( 2012). Incidence And Chemical Control Of Okra Leaf Spot Disease. Pak. J. Bot., 44(5): 1769-1774.

7. **إبراهيم ، اسماعيل خليل وكركز محمد تاج الجبوري . (1998) .** السموم الفطرية آثارها ومخاطرها . دار الكتب والوثائق ببغداد ، الطبعة الاولى .
8. **ديوان ، مجيد متعب وعلي حسين البهادلي .( 1985) .** أمراض النبات . مؤسسة المعاهد الفنية - بغداد .
9. **Agrios, G.N. (1997) .** Plant Pathology 4th Ed. Academic press Inc. New York. p635.
10. **Brent, K. J. (1995).** Fungicide Resistance In crop pathogens: How can it be managed?. Published by GCPF, UK. 52pp.
11. **Lorenz, E. S. (2009).** Potential Health Effect of Pesticides. Pesticide Safety Fact sheet,# uo 198. The Pennsylrania state uni. 8pp.
12. **Shaban, W.I. and M.A. El-Bramawy. (2011).** Impact of dual inoculation with Rhizobium and *Trichoderma* on damping off, root rot diseases and plant growth parameters of some legumes field crop under greenhouse conditions. Int. Res. J. Agric. Sci. Soil Sci., 1(3): 098-108.
13. **Ahamd,Z., S.Ullah, F.Raziq, H.Khan And M. Idrees.( 2012).** Chemical And Biological Control Of Fusarium Root Rot Of Okra. Pak. J. Bot., 44(1): 453-457.
14. **Maxon – stein , K; S. Y. He , R. Hammerschmidt And A.L. Jones. (2002).** Effect of treating apple trees with acibenzolar –S-methyl on fire blight and expression of pathogenesis related protein genes. Plant Dis. 86 : 785-790.
15. **Agostini , J.P., P.M. Bushong and L.W. Timmer. (2003).** Green house evaluation of products that induce host resistance for control of scab, melanose , and *Alternaria* brown spot of citrus. Plant Dis. 87 : 69-74.
16. **Mondal , A.H., D.B. Nehl and S.J. Allen . (2005).** Acibenzolar –S- methyl induces systemic resistance in cotton against black root caused by *Thielaviopsis basicola*. Australian Plant Pathology . 34 : 499-507.
17. **الونداوي، درين صفوت جميل (2006).** الكشف عن مسببات أمراض جذور التفاح ومقاومتها. رسالة ماجستير. كلية الزراعة. جامعة بغداد.71 ص.
18. **Booth,C. (1977).** *Fusarium* laboratory guide to the identification of the major species Common Wealth Mycological Institute, Kew, surrey, England. 58 pp
19. **Leslie, J. F. and B.A. Summerell .( 2006) .** The *Fusarium* laboratory manual . 388 PP.
20. **شعبان ، عواد ونزار مصطفى الملاح .( 1993 ).** المبيدات .مؤسسة دار الكتب للطباعة و النشر . جامعة الموصل . ص 520 .
21. **Bell, D.K., Wells, H.D. and Markham, G.R. (1982).** In vitro antagonism of *Trichoderma* spp. against Six Fungal . Plant Pathogens. Phytopathology. 72 : 379-382.
22. **خضير ، وديجة محسن (2007).** المكافحة المتكاملة لمرض تعفن جذور الحمضيات المتسبب عن الفطر *Fusarium solani*. أطروحة دكتوراه . كلية الزراعة. جامعة بغداد.134 ص.
23. **المالكي، بشرى صبير عبد السادة .(2002).** تأثير المخلفات الحيوانية والمقاومة الاحيائية في الفطر *Pythium aphanidermatum* المسبب لمرض تعفن بذور وموت بادرات الخيار. رسالة ماجستير - كلية الزراعة - جامعة بغداد.
24. **Rakshit,A.(2009).** performance of *abelmoschus esculentus* grown in new alluvial region of west Bengal,India with different locally available organic manures.institute of agricultural science,Banaras Hindu Uni.,p:31-37
25. **Tariq.m., S .Dawar.,F.s.mehdi and M.j.Zaki.(2008).** Fertilizers in combination within the control of root rot diseases of okra and mung bean uni.Karachi.J.Bot., 40(5) : 2231-2236.
26. **Anam, M.K., Fakir, G.A., Khalequzzaman, K.M., Hoque, M.M. and Rahim, A. (2002) .** Effect of seed treatment on the Incidence of seed-borne diseases of Okra . Pakistan Journal of Plant Pathology. Vol.1 (1): 1-3 .
27. **Abd-EL-Kareem, F.( 2007).** Induced Resistance in Bean plants Againts Root Rot and *Alternaria* Leaf spot Diseases using Biotic and Abiotic Inducers under Field conditions. Res. J. of Agric. and Biol. Sci. 3(6): 767-774.
28. **Sallam, N. M. A., K. A. M. Abo- Elyousr and M. A. E. Hassan. (2008).** Evaluation of *Trichoderma* species as Biocontrol Agents For Damping-off and wilt Disease of Phoaseolus vulgaris L. and Efficacy of Suggested Formula. Egypt. J. Phtopathol. 36(1-2): 81-93.

29. **Akrami, M., A. S. Ibrahimov, D. M. Zafari and E. Valizadeh. (2009).** Control Fusarium Rot of Bean by Combination of *Trichoderma harzianum* and *Trichoderma asperellum* in Greenhouse Condition. Agric. J. 4(3):121-123.
30. **Siameto, E. N., S. Okoth, N. O. Amugune, and N. C. Chege.( 2011).** Molecular characterization and Identi fication of Biocontrol Isolates of *Trichoderma harzianum* From Embu District, Kenya. Tropical and Subtropical Agroecosystems. 13:81-90.
31. **Chet, I, and R. Baker . (1981) .** Isolation and biocontrol of *Trichoderma hamatum* from soil naturally suppressive of *Rhizoctonia solani*. Phytopathology. 71: 286–290.
32. **Harman , G. E. (1996) .** *Trichoderma* for Biocontrol of plant pathogens : From Basic Research to commercialized Products. Cornell community , Conference on Biological control , cornell Uni. 7pp.
33. **Elad , Y. and Y. Hadar . (1981) .** Biological control of *Rhizoctonia solani* by *Trichoderma harzianum* in carnation . Plant Dis.65 :675 – 677.
34. **Nederhoff, E. (2001).** Biological control of root Disease-especially with *Trichoderma*. Grower. 56(5):24-25.
35. **Adekunle, A.T., T. Ikotun, D. A. Florini and K. F. Cardwell. (2006).** Field Evaluation of selected formulations of *Trichoderma* species as seed treatment to control damping-off of cowpea caused by *Macrophomina phaseolina*. African J. of Biotechnol. 5(5):419-424.
36. **Elad, Y., Chet, I., Boyle, P. and Henis, Y. (1983).** Parasitism of *Trichoderma* spp on *Rhizoctonia solani* and *Sclerotium rolfssi* scanning electron microscopy and fluorescence microscopy. Phytopatholgy . 73:85-88 .
37. **طه ، خالد حسن .(1990).** المقاومة المتكاملة لمرض ذبول الخضروات الوعائي المتسبب عن الفطر Verticillium dahliae Kleb. أطروحة دكتوراه. كلية الزراعة-جامعة بغداد .
38. **Benhamou, N. and Chet, I. (1997).** Cellular and Molecular Mechanism is involved in the Interaction between *Trichoderma harzianum* and *Pythium ultimum* . Appl. and Envi. Microbiology . 63 : 2095 – 2099 .
39. **Yedidia, I., Benhamou, N., and Chet, I. (1999).** Induction of defense responses in cucumber plants (*Cucumis sativus* L.) by the biocontrol agent *Trichoderma harzianum*. Appl. Environ. Microbiol. 65:1061-1070.
40. **سعد ، نجاة عدنان . (2001).** التداخل بين ديدان العقد الجذرية *Meloidogyne javanica* والفطر *Rhizoctonia solani* في الباذنجان ومقاومته احيائياً . رسالة ماجستير. كلية الزراعة . جامعة بغداد.
41. **Morris, S. W., B. Vernooij, S. Titatarn, M. Starrett, S. Thomas, C, C. Wiltse, R. A.Frederiksen, A. Bhandhufalck, S. Hulbert, and S. Uknes. (1998).** Induced resistance responses in maize. Mol. Plant. Microbe. Interact. 7. 643 – 658.
42. **Ishii, H., Y. Tomita, T. Horio, Y. Narnsaka Y. Nakazaw, and J. T. (1994).** Prevalence and pathogenicity of anastomsis group of *Rhizoctonia solani* from wheat and sugar beat in Texas. Plant Dis 78: 349-452.
43. **Rohilla, R. S. and U. R. Singh . (2001) .** Mode of action acibenzolar–s–methehyl against sheath blight of rice, caused by *Rhizoctonia solani* Kühn Pest Management Science. 58: 63 – 69.
44. **الهاشمي ، محمد نديم قاسم . (2011 ).** التكامل في مكافحة مرض التعفن الفحمي المتسبب عن الفطر Macrophomina phaseolina على محصول البطيخ .Cucumis melo L . رسالة ماجستير. كلية الزراعة . جامعة بغداد. 87 ص.
45. **الموسوي ، محسن عبد علي محسن . (2012 ).** تحديد مسببات مرض تعفن جذور وقواعد سيقان اللوبياء ومقاومته باستعمال بعض عوامل الاستحثاث الكيميائية والاحيائية .99 ص.